

UNIVERSIDAD DE GRANADA



FACULTAD DE CIENCIAS

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÁNICA

PROGRAMA DE DOCTORADO EN QUÍMICA

**DISOCIACIÓN HOMOLÍTICA Y HETEROLÍTICA
DE ENLACES O-H: APLICACIONES PRÁCTICAS
E IMPLICACIONES EN QUÍMICA, FÍSICA Y
BIOQUÍMICA**

MEMORIA DE TESIS DOCTORAL

presentada por

SANDRA RESA ACOSTA

para optar al título de

DOCTOR EN QUÍMICA

con mención de DOCTOR INTERNACIONAL

Granada, 2019

Editor: Universidad de Granada. Tesis Doctorales
Autor: Sandra Resa Acosta
ISBN: 978-84-1306-365-2
URI: <http://hdl.handle.net/10481/58098>

El trabajo recogido en esta memoria ha sido realizado en el grupo de investigación “Materiales Orgánicos Funcionales” (FQM-367) del Departamento de Química Orgánica de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Granada, financiado por el Ministerio de Educación y Ciencia y la Consejería de Innovación, Ciencia y Empresa de la Junta de Andalucía. El trabajo se ha realizado gracias a un contrato de investigación predoctoral del Programa de Formación del Profesorado Universitario (FPU) del Ministerio de Educación, Cultura y Deporte.

Prólogo

La presente memoria de Tesis Doctoral titulada *“Disociación Homolítica y Heterolítica de enlaces O-H: Aplicaciones Prácticas e Implicaciones en Química, Física e Bioquímica”* se encuentra dividida en tres capítulos bien diferenciados. En dos de ellos (Capítulos I y II) se desarrollan sistemas con grupos OH sensibles a rupturas homolíticas y heterolíticas. El primer capítulo se centra en el campo de las disociaciones homolíticas de enlaces O-H, de gran importancia en sistemas biológicos. Para estudiar este proceso se ha realizado la síntesis de una serie de complejos metálicos de Fe(II) con grupos O-H y (CO)N-H en su estructura, evitando su labilidad en disolución. La coordinación de estos grupos al centro metálico origina una disminución en el valor de la energía libre de disociación de enlace (BDFE) de los mismos, permitiendo que actúen como potenciales agentes de transferencia de átomos de hidrogeno. En el Proyecto de Investigación predoctoral original se incluyó como objetivo la introducción de quiralidad en estos sistemas donadores de átomos de hidrógeno. Aunque no pudo accederse a ese tipo de sistemas se ha conseguido el diseño de estructuras que pueden fácilmente adecuarse a transferencias quirales de átomo de hidrógeno.

El segundo capítulo se centra en procesos de disociación heterolítica de enlaces O-H y sus aplicaciones en el campo de la química biológica. Por ello, en este capítulo se abordará el desarrollo de sistemas fluorescentes sensibles al pH que permitan la detección de compuestos de interés biológico como los biotioles, iones fosfato y acetato, cuya desregulación podría estar relacionada con algún tipo de disfunción celular. La introducción de quiralidad en estos sistemas, aunque sencilla tiene limitaciones en cuanto a la respuesta quiroóptica esperada, especialmente en procesos de luminiscencia quiral (CPL). Por ello se optó por explorar sistemas fluorescentes con altos valores de disimetría como primer paso para generación de sondas fluorescentes con emisión polarizada circular (“quiral”).

En este contexto se engloba el Capítulo III. En él se describe el estudio y caracterización de distintos sistemas helicoidales con el objetivo de encontrar mejores repuestas quiroópticas para desarrollo de posibles sistemas fluorescentes con buenos valores del factor de disimetría de cara a futuras aplicaciones.

Los Capítulos I y III están organizados en varias secciones como son la introducción de las temáticas principales tratadas, describiendo los principales antecedentes relacionados con dichos temas, los objetivos a desarrollar en cada capítulo, la discusión

de los resultados obtenidos y las conclusiones que se extraen de dicho trabajo. Por último, la parte experimental de cada capítulo describe los protocolos experimentales empleados en cada caso, así como la caracterización espectroscópica de los nuevos compuestos obtenidos y las medidas realizadas utilizando técnicas como voltametría cíclica (CV), dicroísmo circular (CD), luminiscencia circularmente polarizada (CPL) o dicroísmo circular vibracional (VCD). El Capítulo II se ha redactado siguiendo un formato ligeramente distinto. El uso de este nuevo formato se justifica de manera detallada en la sección de Introducción de dicho capítulo.

Finalmente, se han incluido una lista de publicaciones donde se exponen los resultados obtenidos en distintas colaboraciones científicas durante el periodo predoctoral.

Prologue

The present PhD Thesis report entitled “Homolytic and Heterolytic Dissociation of O-H bonds: Practical Applications and Implications in Chemistry, Physics, and Biochemistry” is divided into three different chapters. In two of them (Chapters I and II) systems with OH groups sensitive to homolytic and heterolytic ruptures are studied. The first chapter focuses on the field of homolytic dissociations of O-H bonds, of great importance in biological systems. To study this process, the synthesis of a series of metallic complexes of Fe (II) with O-H and (CO) N-H groups in its structure has been carried out, avoiding its lability in solution. The coordination of these groups to the metal center causes a decrease in the value of the free energy of bond dissociation (BDFE), allowing them to work as potential hydrogen atom transfer agents. The introduction of chirality in these hydrogen atom donor systems was included in the original Predoctoral Research Project. Although such systems could not be accessed, the design of structures that can easily be adapted to chiral hydrogen atom transfers has been achieved.

The second chapter focuses on heterolytic dissociation processes of O-H bonds and their applications in the field of biological chemistry. Therefore, this chapter will address the development of pH sensitive fluorescent systems that allow the detection of compounds with biological interest such as biothiols, phosphate, and acetate ions, whose deregulation could be related to some type of cellular dysfunction. The introduction of chirality in these systems, although simple, has limitations in terms of the expected chiroptical response, especially in chiral luminescence (CPL) processes. Therefore, it was decided to explore fluorescent systems with high values of dissymmetry as the first step for the generation of fluorescent probes with circular polarized emission (“chiral”).

In this context, Chapter III is included. It describes the study and characterization of different helical systems with the aim of finding better chiroptical responses for the development of possible fluorescent systems with good values of the factor of dissymmetry for future applications.

Chapters I and III are organized into several sections such as the introduction of the main topics discussed, describing the main background related to these issues, the objectives to be developed in each chapter, the discussion of the results obtained and the conclusions from the work. Finally, the experimental part of each chapter describes

the experimental protocols used in each case, as well as the spectroscopic characterization of the new compounds obtained, and the measurements made using techniques such as cyclic voltammetry (CV), circular dichroism (CD), circularly polarized luminescence (CPL) or vibrational circular dichroism (VCD). Chapter II has been written in a slightly different format. The use of this new format is justified in detail in the Introduction section of that chapter.

Finally, a list of publications has been included where the results obtained in different scientific collaborations during the predoctoral period are exposed.

CAPÍTULO I	
COMPLEJOS METÁLICOS DE Fe(II) COMO POTENCIALES AGENTES DE TRANSFERENCIA DE ÁTOMOS DE HIDRÓGENO	27
INTRODUCCIÓN	29
1. Proton-Coupled Electron Transfer (PCET)	31
1.1 Transferencia concertada (CPET) vs transferencia secuencial	31
1.2 Termoquímica de los procesos PCET	35
2. PCET catalizados por complejos metálicos en la naturaleza.	40
3. Complejos metálicos biomiméticos.	54
4. Complejos sintéticos como donadores de átomos de hidrógeno	71
4.1 El agua como donador de átomos de hidrógeno.	72
5. PCET a larga distancia mediados por cadenas de agua	78
6. Reactividad de enlaces N-H por coordinación a metales.	80
OBJETIVOS	85
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	91
1. Diseño y síntesis de ligandos y complejos de Fe(II)	93
1.1 Síntesis de los ligandos 1-4	93
1.2 Síntesis de complejos de Fe(II)	95
2. Coordinación de los complejos de Fe(II)	102
2.1 Estructuras de rayos X de los complejos 11-15 y 19	102
2.2 Estudios de RMN de los complejos de Fe(II)	104
2.3 Estudios de las propiedades magnéticas de los complejos 12-14	117
3. Determinación de los valores de BDFE	121
3.1 Medidas de pK_a	121
3.2 Medidas electroquímicas	132
3.3 Determinación de la BDFE	132
CONCLUSIONES	147

EXPERIMENTAL SECTION	151
CAPÍTULO II	
SISTEMAS FLUORESCENTES COMO SONDAS CELULARES PARA LA DETECCIÓN DE BIOTIOLES, FOSFATOS Y ACETATOS	171
INTRODUCCIÓN	173
OBJETIVOS	179
RESULTS AND DISCUSSION	187
PART I: New Dual Fluorescent Probe for Simultaneous Biothiol and Phosphate Bioimaging	189
PART II: Efficient acetate sensor in biological media based on a selective Excited State Proton Transfer (ESPT) reaction	205
PART III: Design, synthesis and photophysical studies of improved xanthene dye to detect acetate	219
CONCLUSIONS	233
EXPERIMENTAL SECTION	238
PART I	240
PART II	254
PART III	270
CAPÍTULO III	
DESARROLLO DE ESTRUCTURAS HELICOIDALES EXTENSAS	275
INTRODUCCIÓN	277
1. Nanociencia	279
2. Técnicas Espectroscópicas Quiroópticas	284
2.1 Conceptos básicos de polarización	284
2.2 Dicroísmo Circular (CD)	286
2.3 Luminiscencia circularmente polarizada (CPL)	288
2.4 Dicroísmo Circular Vibracional (VCD)	290

3.	Clasificación de los foldámeros	292
3.1	Foldámeros abióticos	293
3.1.1	Oligómeros aromáticos unidos por enlace de hidrógeno	293
3.1.2	Oligómeros aromáticos basados en interacciones solvofóbicas y/o π -stacking	302
a.	Foldámeros estabilizados por unidades aromáticas idénticas adyacentes	303
b.	Foldámeros estabilizados por unidades aromáticas donante-receptor adyacentes	308
c.	Foldámeros estabilizados por unidades alifáticas	311
d.	Foldámeros estabilizados por unidades aromáticas no adyacentes	313
4.	Plegamiento derivado del reconocimiento molecular	329
4.1	Reconocimiento de moléculas neutras	332
4.2	Reconocimiento de aniones	339
4.3	Reconocimiento de cationes	343
5.	Quiralidad supramolecular	347
5.1	Nanoestructuras quirales	348
5.2	Nanoestructuras quirales derivadas del “grapado” molecular	355
6.	Interruptores Moleculares	360
6.1	Interruptores moleculares quiroópticos basados en foldámeros	362
6.2	Interruptores moleculares de CPL	370
	OBJETIVOS	375
	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	381
1.	Disulfóxidos de <i>orto</i> -fenilenetilenos (<i>o</i> -OPEs)	383
1.1	Diseño y síntesis de disulfóxidos de <i>o</i> -OPEs (<i>S,S</i>)- 2-8	383
1.2	Estudio de los desplazamientos químicos por RMN	390
1.3	Estudio de las propiedades ópticas	392

1.3.1	Estudio de las medidas de UV y CD de los compuestos (<i>S,S</i>)- 2-8 y sus correspondientes metalofoldámeros de Ag(I)	392
1.3.2	Estudio de las medidas de VCD de los compuestos (<i>S,S</i>)- 4-8 y sus correspondientes metalofoldámeros de Ag(I)	405
1.4	Estudio de las propiedades fotofísicas	407
1.4.1	Estudio de las propiedades de fluorescencia y fotodegradación de los compuestos (<i>S,S</i>)- 2-8	408
1.4.2	Análisis de los compuestos (<i>S,S</i>)- 3 y (<i>S,S</i>)- 4 mediante espectroscopía de emisión en tiempo resuelto (TRES)	411
1.5	Estudio de las propiedades quiroópticas mediante CPL	413
1.6	Cálculos teóricos	415
1.6.1	Cálculos teóricos de CD de los compuestos (<i>S,S</i>)- 2-8	415
1.6.2	Cálculos teóricos de CD de los metalofoldámeros de Ag(I) (<i>S,S</i>)- 2-8	418
1.6.3	Cálculos teóricos de VCD de los compuestos (<i>S,S</i>)- 4 , (<i>S,S</i>)- 6 y (<i>S,S</i>)- 7	422
2.	<i>ortho</i> -Fenilenetilenos (<i>o</i> -OPES) con un solo grupo sulfóxido	425
2.1	Diseño y síntesis de <i>o</i> -OPEs (<i>S</i>)- 22-28 que presentan un único grupo sulfóxido enantiopuro	425
2.2	Estudio de los desplazamientos químicos por RMN.	430
2.3	Estudio de las propiedades quiroópticas.	434
2.3.1	Estudio de las medidas de CD	435
2.3.2	Estudio de las medidas de VCD	441
2.4	Cálculos teóricos	443
2.4.1	Cálculos teóricos de CD de los compuestos (<i>S</i>)- 22-28 .	444
2.4.2	Cálculos teóricos de VCD de los compuestos (<i>S</i>)- 22-28	447
	CONCLUSIONS	451
	EXPERIMENTAL SECTION	455
	ANEXOS	491
	Lista de Publicaciones	493

Lista de Abreviaturas y Acrónimos

Å	Angstrom 10^{-10} m
AFM	Atomic Force Microscopy / Microscopía de Fuerza Atómica
Asn	Asparagina
Asp	Ácido Aspártico
BDE	Bond Dissociation Energy / Energía de Disociación de Enlace
BDFE	Bond Dissociation Free Energy / Energía Libre de Disociación de Enlace
BODIPY	Boron-dipyrromethene / Borodipirrometano
cAMP	3',5'-cyclic adenosine monophosphate / Adenosín 3',5'-monofostato cíclico
CD	Circular Dichroism / Dicroísmo Circular
CEP	Concerted electron/proton / Transferencia concertada de protón-electrón
CISS	Chiral-Induced Spin Selectivity Effect / Selectividad de espín inducido por quiralidad
C_m	Constante de Curie
COSY	Correlations Spectroscopy / Espectroscopía de correlación
CPET	Concerted proton-electron transfer / Transferencia concertada de protones y electrones
CPL	Circularly Polarized Luminescence / Luminiscencia Circularmente Polarizada
CV	Cyclic Voltammetry / Voltametría cíclica
Cys	Cisteína
D	Parámetro axial de ZFS para un solo ión
DABCO	1,4-diazobicyclo[2.2.2]octano
DAN	1,5-dialcoxinaftaleno
DFB	1,2-difluorobenceno
DFT	Density Functional Theory / Teoría del funcional de la densidad

DHA	9,10-dihidroantraceno
DMAP	Dimetilaminopiridina
DMEM	Dulbecco´s modified Eagle´s medium / Medio de Cultivo Eagle modificado por Dulbecco
DMF	Dimetilformamida
DMSO	Dimetilsulfóxido
DNBS	2,4-dinitrobencenosulfinato
DNBS-GG	Derivado con 2,4-dinitrobencenosulfinato del GG
E°	Potencial de Oxidación Estándar
EPR	Electron Paramagnetic Resonance / Resonancia Paramagnética Electrónica
EPT	Electron-proton Transfer / Transferencia Electrones y Protones
ESPT	Excited State Proton Transfer / Transferencia de Protones en Estado Excitado
ET	Electron Transfer / Transferencia de Electrones
ETPT	Electron transfer-proton transfer / Transferencia de Electrones-Transferencia de Protones
FcPF ₆	Ferrocenium hexafluorophosphate / Hexafluorofosfato de Ferroceno
FCS	Fluorescence correlation spectroscopy / Espectroscopia de Correlación de Fluorescencia
FLIM	Fluorescence Lifetime Imaging Microscopy / Microscopía de Tiempo de Vida de Imagen Fluorescente
FRET	Förster Resonance Energy Transfer / Transferencia de Energía de Resonancia de Förster
g	Factor g
GA	Global Analysis / Análisis Global
g_{abs}	Factor de Disimetría de Absorción
GG	Granada Green
Glu o E	Ácido Glutámico

g_{lum}	Factor de Disimetría de Luminiscencia
GSH	Glutati3n
HAT	Hydrogen Atom Transfer / Transferencia de 3tomo de hidr3geno
Hcy	Homocisteína
His o H	Histidina
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation / Correlaci3n Heteronuclear a Larga Distancia
HRMS	High Resolution Mass Spectrometry / Espectrometría de Masas de Alta Resoluci3n
HRP	Horseradish Peroxidase / Peroxidasa del Rábano Picante
Ile	Isoleucina
IN	Indolocarbazol-naftiridina
IP	Indolocarbazol-piridina
IR	Infrarrojo
k	Constante de Boltzmann
Leu	Leucina
LPMO	Lytic Polysaccharide Monooxygenases / Monooxigenasas Líticas de Polisacáridos
MM	Mecánica Molecular
MMO	Metano monooxigenasa
MOM	Metoximetiléter
MS-EPT	Multiple Site-Electron Proton Transfer / Transferencia Divergente de Electrones y Protones
N	Número de Avogadro
NAD(P)H	Nicotinamida Adenina Dinucleótido (fosfato) Reducida
NDI	1,4,5,8-naphthalenetetracarboxilic acid diimide / diimida del 3cido 1,4,5,8-naftalenotetracarboxílico
Nle	Norleucina

NMM	N-metilmaleimida
NO₂BF₄	Tetrafluoroborato de nitronio
ODCB	<i>o</i> -Diclorobenceno
OG	Oregon Green
OPE_s	Oligo(PhenyleneEthynylene) _s / Oligómeros de Fenilacetileno (Fenilenetinilenos)
P₆₈₀	Clorofila P ₆₈₀
PAA	Ácido Peracético
PCET	Proton-Coupled Electron Transfer / Transferencia de Electrones acoplados a Protones
PEG	Polietilenglicol
PG	Pensilvania Green
PHM	Peptidylglycine α -Hydroxylating Monooxygenase / Peptidilglicina α -Hidroxil Monooxigenasa
pK_a	Constante de acidez
PNA_s	Peptide Nucleic Acid / Ácido Nucleico Peptídico
Porp	Porfirina
PSII	Photosystem II / Fotosistema II
PT	Proton Transfer / Transferencia de Protones
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
RNR	Ribonucleotide Reductases / Ribonucleótido Reductasas
ROS	Reactive Oxygen Species / Especies Reactivas de Oxígeno
SEM	Scanning Electron Microscope / Microscopio Electrónico de Barrido
SWV	Square Wave Voltammogram / Voltamograma de Onda Cuadrada
TBAPF₆	Hexafluorofosfato de <i>n</i> -butilamonio
TEM	Transmission Electron Microscope / Microscopio Electrónico de Transmisión
TEMPO	(2,2,6,6-Tetramethylpiperidin-N-yl)oxyl / N-oxilo-2,2,6,6-Tetrametilpiperidina

TFA	Ácido Trifluoroacético
TG	Tokio Green
TH	Triphenylmethane / Trifenilmetano
TH ⁻	Anión Tritilo
TMS	Trimetilsililo
TMSA	Trimetilsililacetileno
TPEN	N,N,N',N'-tetrakis(2-piridilmetil)etano-1,2-diamina
TREAT·HF	Triethylamine trihydrofluoride / Trihidrofloruro de trietilamina
UV-Vis	Ultravioleta-Visible
Val	Valina
VCD	Vibrational Circular Dichroism / Dicroísmo Circular Vibracional
VPO	Vapor phase osmometry / Osmometría de Presión de Vapor
Yz	Tirosina Z
ZFS	Zero Field Splitting / Desdoblamiento a campo cero
ϑ	Constante de Weiss
χ_m	Susceptibilidad Magnética
α KG	α -ketoglutarate / α -cetoglutarato
ϕ	Rendimiento Cuántico
τ	Fluorescence Decay Lifetime / Tiempo de vida de fluorescencia
ε	Coefficiente de Absorción Molar
μ_B	Magnetón de Böhrr

CAPÍTULO I

Complejos metálicos de Fe(II)
como potenciales agentes de
transferencia de átomos de
hidrógeno

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

1. Proton-Coupled Electron Transfer (PCET)

La transferencia de electrones (ET) y protones (PT) son dos de los procesos más extendidos y fundamentales en química. Muchas reacciones en multitud de áreas de la química implican una transferencia tanto de protones como de electrones.¹ Este grupo de reacciones se conocen por el acrónimo PCET (del inglés “*proton-coupled electron transfer*”).

De forma general, podemos definir PCET como cualquier proceso que involucra la transferencia de al menos un protón y un electrón. Estos pueden transferirse entre la misma o diferentes zonas moleculares, y pueden hacerlo en la misma o en diferentes direcciones. Las reacciones PCET pueden ser secuenciales, con un intermedio estable correspondiente a la transferencia de electrones o protones, o concertadas, sin dicho intermedio estable.²

Las reacciones PCET han tenido un amplio y creciente interés como refleja el gran número de publicaciones y revisiones sobre el tema.³ Debido a que el término PCET se ha utilizado para describir muchas y diferentes reacciones redox, los investigadores han acuñado términos nuevos y más específicos, lo que ha generado cierta confusión en esta área. A continuación, describiremos algunos de los diversos ejemplos existentes para este tipo de procesos.

1.1 Transferencia concertada (CPET) vs transferencia secuencial

Existen muchos procesos PCET que involucran transferencias múltiples de protones y electrones, pero en la presente tesis doctoral nos centraremos en los procesos que implican la transferencia de un único protón y electrón (H^+/e^-). Por lo tanto, comenzaremos realizando una distinción entre estos procesos.

¹ J. M. Mayer, *Annu. Rev. Phys. Chem.* **2004**, *55*, 363-390.

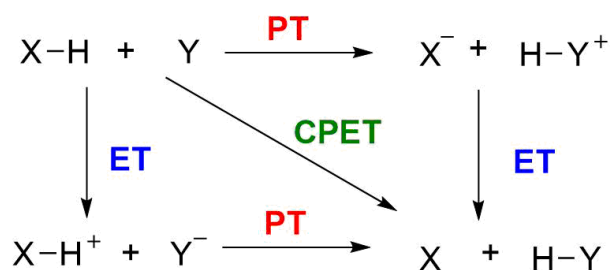
² S. Hammes-Schiffer, *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, *137*, 8860-8871.

³ a) C. Costentin, *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 2145-2179; b) R. I. Cukier, D. G. Nocera, *Annu. Rev. Phys. Chem.* **1998**, *49*, 337-369; c) J. L. Dempsey, J. R. Winkler, H. B. Gray, *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 7024-7039; d) S. Hammes-Schiffer, *Acc. Chem. Res.* **2001**, *34*, 273-281; e) S. Hammes-Schiffer, A. V. Soudackov, *J. Phys. Chem. B*, **2008**, *112*, 14108-14123; f) M. H. V. Huynh, T. J. Meyer, *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 5004-5064; g) D. R. Weinberg, C. J. Gagliardi, J. F. Hull, C. F. Murphy, C. A. Kent, B. C. Westlake, A. Paul, D. H. Ess, D. G. McCafferty, T. J. Meyer, *Chem. Rev.* **2012**, *112*, 4016-4093; h) J. J. Warren, T. A. Tronic, J. Mayer, *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 6961-7001.

Originalmente, el término PCET hacía referencia a reacciones en las cuales el protón y el electrón se transferían en un paso concertado y único.⁴ Pero dado que el término PCET ha perdido su connotación mecanística, Savéant y colaboradores propusieron el término “*concerted proton-electron transfer*” (CPET), que hace explícito el mecanismo.⁵ Este término es equivalente a CEP (*concerted electron/proton*) usado por Hammarström y colaboradores,⁶ EPT (*electron-proton transfer*) usado por Meyer y colaboradores.^{3f}

Por otro lado, estarían los procesos por pasos o secuenciales, en los que hay una transferencia electrónica (ET) inicial seguida de la transferencia protónica (PT), o viceversa.

Esto puede entenderse mejor con lo mostrado en el Esquema 1, donde las líneas horizontales representan la transferencia protónica (PT), las líneas verticales la transferencia electrónica (ET) y la línea diagonal el proceso de CPET.



Esquema 1. Transferencia concertada vs secuencial.

Muchas veces la distinción entre un proceso concertado y uno secuencial no suele estar muy clara o no es posible realizarla, particularmente en los procesos ultrarrápidos, donde la existencia de un intermedio estable es confusa.

Dentro de los procesos concertados podemos diferenciar dos tipos. En primer lugar, tendríamos la transferencia de átomo de hidrógeno (HAT), siendo este tipo de reacciones las más estudiadas y fundamentales dentro del campo de las PCET.⁷ Este hecho ha generado la aparición de un gran número de definiciones nuevas acerca de la HAT. Para evitar confusiones, emplearemos el término HAT como lo definen Mayer y

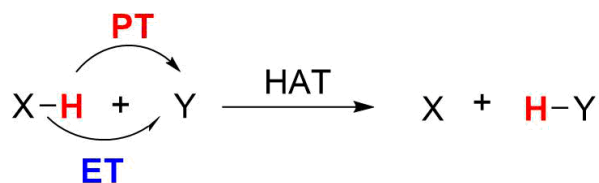
⁴ R. A. Binstead, B. A. Moyer, G. J. Samuels, T. J. Meyer, *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103*, 2897-2899.

⁵ C. Costentin, D. H. Evans, M. Robert, J.-M. Savéant, P. S. Singh, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 12490-12491.

⁶ M. Sjödin, S. Styring, B. Åkermark, L. Sun, L. Hammarström, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 3932-3936.

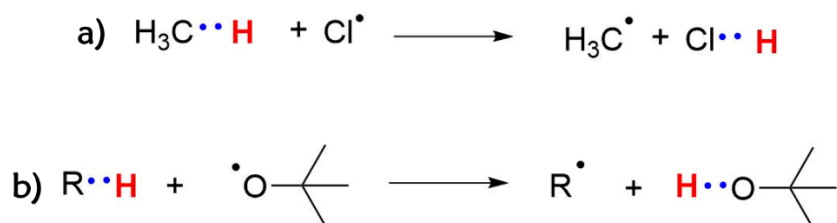
⁷ a) J. K. Kochi, *Free Radicals*, Ed.; Wiley: New York, **1973**; b) M. J. Perkins, *Free Radical Chemistry*; Ellis Horwood: New York, **1994**.

colaboradores: “proceso concertado por el cual la transferencia de H^+ y e^- tiene lugar desde un único donador a un único receptor”.^{3h} Según esta definición, la HAT sería una clase de CPET.



Esquema 2. Transferencia de átomo de hidrógeno (HAT).

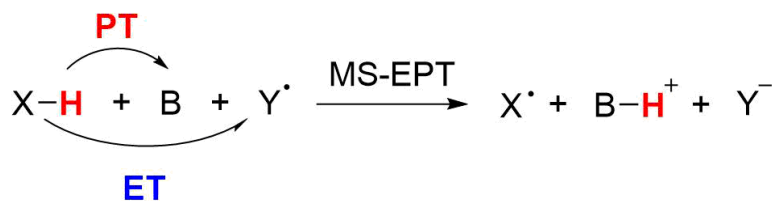
Entre los procesos HAT más conocidos se encuentra la transferencia de átomo de hidrogeno de hidrocarburos a radicales oxilo o a halógenos (Esquema 3).⁸



Esquema 3. (a) Halogenación; (b) Oxidación de alcanos.

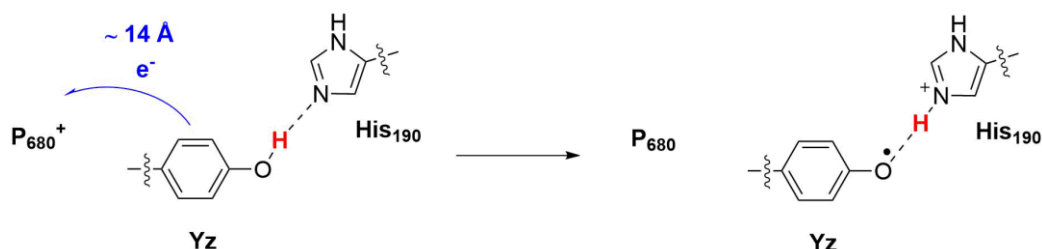
En segundo lugar, tendríamos los procesos concertados en los cuales la transferencia de H^+ y e^- tiene lugar desde un compuesto hacia diferentes reactivos o viceversa. Es decir, un donador de protones y electrones transfiere simultáneamente electrones y protones a diferentes aceptores, o un aceptor de protones y electrones acepta protones y electrones de diferentes donadores. Este tipo de procesos se conocen como “*multiple site-electron proton transfer*” (MS-EPT). Así, por ejemplo, X-H se puede oxidar a X^\cdot mediante la transferencia de protones a una base cercana y la transferencia de electrones a un oxidante cercano (Esquema 4).⁸

⁸ J. W. Darcy, B. Koronkiewicz, G. A. Parada, J. M. Mayer, *Acc. Chem. Res.* **2018**, *51*, 2391-2399.



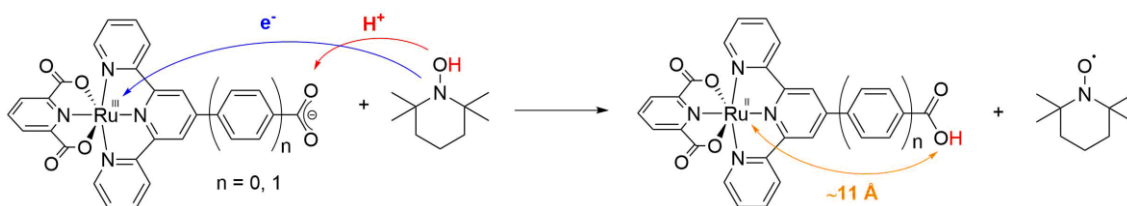
Esquema 4. Proceso de MS-EPT.

El fotosistema II (PS II) es un ejemplo de reacción MS-EPT, en el que tiene lugar la oxidación de la unidad de tirosina-histidina (Yz-D1-His₁₉₀) por la transferencia de electrones a la especie P₆₈₀⁺, mientras que la transferencia de hidrógeno se produce a la histidina 190.



Esquema 5. Oxidación de la tirosina en el fotosistema II.

A pesar de esta clara distinción, hay un gran número de reacciones que se encuentran a mitad de camino entre los procesos tipo HAT y los tipo MS-EPT, tal como ocurre con la reacción del Esquema 6.³¹Error! Marcador no definido.h



Esquema 6. Transferencia concertada de átomo de hidrógeno a larga distancia.

Esta reacción involucra la transferencia concertada de H⁺ y e⁻ (H[•]) desde el enlace O-H del TEMPO-H al complejo de rutenio(III). En este sentido, dicho proceso podría ser clasificado como HAT. Pero desde otro punto de vista, el protón es transferido al oxígeno carboxílico que se encuentra a 11 Å de distancia del centro del rutenio que acepta el

electrón, sin que haya comunicación entre ambos sitios, por lo que podría describirse como un MS-EPT.⁹

Para saber si una reacción tiene lugar por un mecanismo concertado o secuencial es necesario conocer la termoquímica de cada paso, que se tratará en el siguiente apartado.

1.2 Termoquímica de los procesos PCET

Antes de comenzar con la termodinámica de los procesos PCET y para entender mejor los siguientes apartados, hay que hacer una distinción entre los términos BDE y BDFE. El primero de ellos significa energía de disociación de enlace, mientras que el segundo implica la energía libre de disociación de enlace. La diferencia por tanto entre ambos términos es la inclusión de los factores entálpicos y entrópicos dentro de los valores de BDFE (como se verá más adelante de forma más detallada), mientras que el término BDE sólo engloba los factores entálpicos.

La energía libre de disociación de enlace (BDFE) es uno de los parámetros que se tienen en cuenta a la hora de estudiar la termoquímica en procesos tipo PCET. Este parámetro nos da idea de la fortaleza de un enlace determinado, lo que ha demostrado ser útil en estudios de mecanismos de reacción y en la evaluación de las estabildades de los radicales. Para su determinación se han empleado una gran variedad de métodos,¹⁰ pero la mayoría de los valores de BDFE se han determinado basándose en modificaciones del método propuesto por Nicholas y Arnold, para estimar la acidez de cationes radicales en fase gas.¹¹

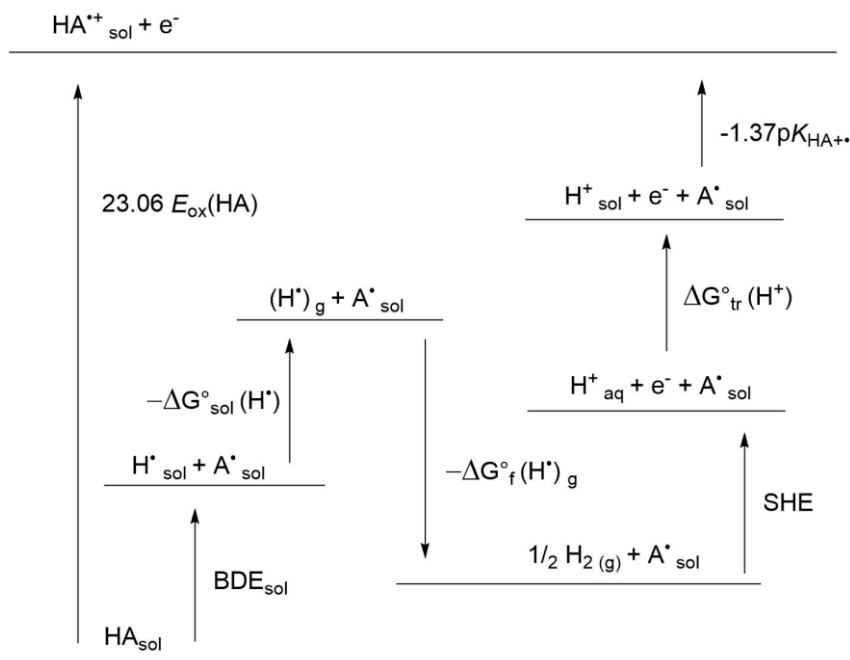
Así Bordwell, en 1988, determinó el valor de energía de disociación de enlace (BDE) de una serie de sustratos del tipo H-A (C-H, S-H, O-H y N-H) en disoluciones de DMSO apoyándose en ciertas modificaciones del método de Nicholas y Arnold basado en el siguiente ciclo termodinámico.¹²

⁹ a) V. W. Manner, A. G. DiPasquale, J. M. Mayer, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 7210-7211; b) V. W. Manner, J. M. Mayer, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 29, 9874-9875.

¹⁰ a) S. W. Benson, *J. Chem. Ed.* **1965**, *42*, 502-518; b) D. M. Golden, S. W. Benson, *Chem. Rev.* **1969**, *69*, 125-134; c) D. F. McMillen, D. M. Golden, *Ann. Rev. Phys. Chem.* **1982**, *33*, 493-532.

¹¹ A. M. P. Nicholas, D. R. Arnold, *Can. J. Chem.* **1982**, *60*, 2165-2179.

¹² a) F. G. Bordwell, J.-P. Cheng, J. A. Harrelson, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 1229-1231; b) F. G. Bordwell, J.-P. Cheng, G.-Z. Ji, A. V. Satish, X. Zhang, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 9790-9795.



Esquema 7. Ciclo termodinámico de Bordwell y colaboradores.

A partir del proceso indicado en el ciclo anterior se puede obtener la Ecuación 1, donde $\Delta G^\circ_{\text{sol}}(\text{H}^\bullet)$ es la energía libre de solvatación del átomo de hidrógeno; $\Delta G^\circ_{\text{f}}(\text{H}^\bullet)_{\text{g}}$ es la energía libre de formación del átomo de hidrógeno; y $\Delta G^\circ_{\text{tr}}(\text{H}^+)$ es la energía libre de transferencia del protón del agua al disolvente adecuado.

$$\text{BDE} = 1.37\text{p}K_{\text{HA}^{\bullet+}} + 23.06 E_{\text{ox}}(\text{HA}) + \Delta G^\circ_{\text{sol}}(\text{H}^\bullet) + \Delta G^\circ_{\text{f}}(\text{H}^\bullet)_{\text{g}} - \Delta G^\circ_{\text{tr}}(\text{H}^+)$$

Ecuación 1

La sustitución de la ecuación anterior en la Ecuación 2, obtenida por Bordwell y Bausch¹³ para conocer los valores de acidez de una serie de cationes radicales, origina la Ecuación 3.

$$\text{p}K_{\text{HA}^{\bullet+}} = \text{p}K_{\text{HA}} + [E_{\text{ox}}(\text{A}^\bullet) - E_{\text{ox}}(\text{HA})]23.06/1.37$$

Ecuación 2

¹³ a) F. G. Bordwell, M. J. Bausch, *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 1979-1985; b) F. G. Bordwell, M. J. Bausch, *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 2473-2474.

$$\text{BDE} = 1.37\text{p}K_{\text{HA}} + 23.06 E_{\text{ox}}(\text{A}^-) + \Delta G^{\circ}_{\text{sol}}(\text{H}^{\bullet}) + \Delta G^{\circ}_{\text{f}}(\text{H}^{\bullet})_{\text{g}} - \Delta G^{\circ}_{\text{tr}}(\text{H}^+)$$

Ecuación 3

La ecuación 3 proporciona un método para estimar la BDE combinando las constantes de acidez ($\text{p}K_{\text{a}}$) con los potenciales de oxidación (E°), ambos medidos en el mismo disolvente. Inicialmente, Wiberg,¹⁴ Ebersson¹⁵ y Breslow¹⁶ emplearon aproximaciones similares, aunque su popularidad y su gran uso fue extendido por Bordwell y colaboradores.

Un año después, Tilset y Parker desarrollaron un método similar que permitía estimar los valores de energía libre de disociación de enlace (BDFE) de hidruros metálicos M-H.¹⁷ Los métodos de Bordwell y Tilset son prácticamente idénticos, pero Bordwell se centra más en valores de BDE, mientras que la modificación de Tilset distingue más claramente entre BDE y BDFE.

Una variación de este ciclo termodinámico se muestra en el Esquema 8. En este caso, la energía libre de disociación de enlace (BDFE) vendría dada por el potencial de oxidación ($-E^{\circ}[\text{AH}^{\bullet+/0}]$), la acidez del correspondiente catión radical ($\text{p}K_{\text{a}}[\text{AH}^{\bullet+}]$) y por la energía libre para formar un átomo de hidrógeno solvatado a partir del protón y del electrón en disolución ($-FE^{\circ}[\text{H}^{\bullet+}]$).¹⁸

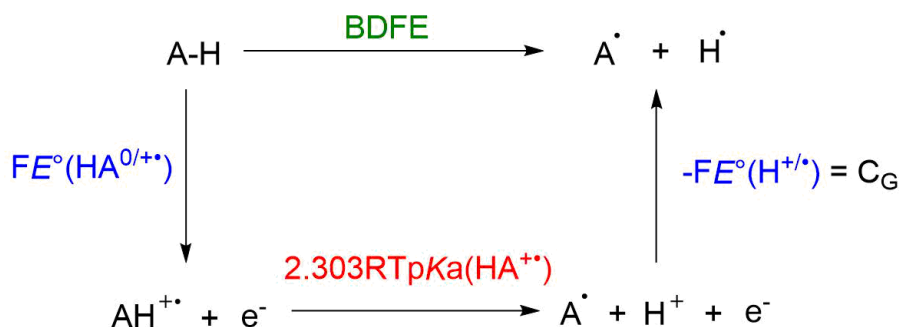
¹⁴ K. B. Wiberg, G. Foster, *J. Am. Chem. Soc.* **1961**, *83*, 423-429.

¹⁵ L. Ebersson, *Acta Chem. Scand.* **1963**, *17*, 2004-2018.

¹⁶ B. Jaun, J. Schwarz, R. Breslow, *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 5741-5748.

¹⁷ a) M. Tilset, V. D. Parker, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 6711-6717; b) M. Tilset, V. D. Parker, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 2843-2843.

¹⁸ E. A. Mader, A. S. Larsen, J. M. Mayer, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 5153-5166.



Esquema 8

Los valores de pKa y E° son parámetros termodinámicos medidos en disolución bajo unas condiciones específicas (disolvente, temperatura, electrolito, fuerza iónica, etc.). El término $\text{FE}^\circ(\text{H}^{+/ \cdot})$ es específico para estas condiciones y el electrodo de referencia, pero es válido para todos los compuestos del tipo A-H, por lo que se considera una constante, donde el subíndice G del término C_G implica energía libre. Para poder comparar este valor de BDFE con los obtenidos por otros métodos, como por ejemplo los obtenidos por fase gas (valores de entalpías) es necesario introducir la contribución entrópica.

$$\text{BDE}(\text{AH}) = \text{BFDE}(\text{AH}) - T\Delta S^\circ(\text{AH}) + T\Delta S^\circ(\text{A}^\cdot) + T\Delta S^\circ(\text{H}^\cdot)$$

Ecuación 4

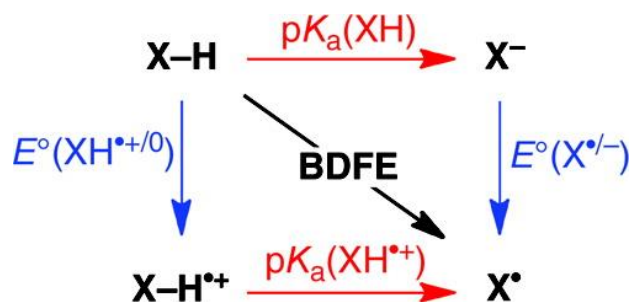
Cuando la diferencia $T\Delta S^\circ(\text{AH}) - T\Delta S^\circ(\text{A}^\cdot)$ es cercana a cero, es decir, las entropías de las especies AH y A^\cdot son muy similares, lo que suele ocurrir en compuestos orgánicos, la Ecuación 4 se convierte en una nueva ecuación, donde C_H incluye $-\text{FE}^\circ(\text{H}^{+/ \cdot})$ y $T\Delta S^\circ(\text{H}^\cdot)$.^{3h,18}

$$\text{BDE}(\text{AH}) \approx \text{FE}^\circ(\text{HA}^{0/+}) + 2.303\text{RTpKa}(\text{HA}^{+ \cdot}) + \text{C}_H$$

$$\text{C}_H = \text{C}_G + T\Delta S^\circ(\text{H}^\cdot)$$

Ecuación 5

Tras conocer estos antecedentes, podemos resumir que la energía libre de disociación de un enlace (BDFE) en una PCET vendría dada por un ciclo termodinámico como el que se muestra a continuación:



Esquema 9. Ciclo termoquímico de una PCET.

Por lo tanto, la termoquímica de las reacciones de transferencia de H^+ y e^- estarían caracterizadas por cinco parámetros: la acidez/basicidad de las formas oxidadas y reducidas, que viene dado por los valores de pK_a de los pares $XH^{•+}/X^•$ y XH/X^- ; los potenciales de reducción de las especies protonada y desprotonada, $E^\circ[XH^{•+}/XH]$ y $E^\circ[X^•/X^-]$; y la energía libre de disociación de enlace (BDFE).^{3h} Esta BDFE es simplemente la suma de las energías de dos de los pasos del ciclo termoquímico para llegar al mismo punto. Tendríamos por tanto dos caminos equivalentes (ET/PT o PT/ET), en los que la suma de las energías de cada proceso debe ser la misma,¹⁹ lo que se refleja en la siguiente ecuación:

$$\text{BDFE} = 2.3RTpK_a(XH) + nFE^\circ(X^•/X^-) = nFE^\circ(HX^{•+}/HX) + 2.3RTpK_a(XH^{•+})$$

Ecuación 6

Donde R es la constante de los gases (1.987 cal/K·mol), T es la temperatura en kelvin (298.15 K) y F es la constante de Faraday (23.06 kcal/V·mol). Sustituyendo los valores de las constantes anteriores en la Ecuación 6 y expresándolo todo en las mismas unidades, obtendríamos la siguiente ecuación, con la que poder determinar el valor de BDFE.

$$\text{BDFE} = 1.37pK_a + 23.06E^\circ + C \text{ (kcal mol}^{-1}\text{)}$$

Ecuación 7. Ecuación para determinar la BDFE.

Donde C es una constante asociada con el potencial estándar de reducción de $H^+/H^•$ y que depende del disolvente, de las condiciones de reacción, del electrodo de referencia.

¹⁹ J. M. Mayer, I. J. Rhile, *Biochim. Biophys. Acta* **2004**, 1655, 51-58.

Además, engloba valores entrópicos y su valor ha sido tabulado por Mayer y colaboradores.²⁰

Los valores de pK_a en la mayoría de los casos se determinan mediante valoraciones ya sea frente al pH (en medios acuosos) o frente a un ácido o base conocido (en disolventes orgánicos). Existe una extensa base de datos de ácidos/bases que pueden usarse en diferentes disolventes orgánicos gracias al trabajo de Izutsu,²¹ Bordwell,²² Kütt²³ y otros. Los potenciales redox se determinan, por lo general, electroquímicamente, usando como valor del potencial termodinámico (E°) el potencial medio ($E_{1/2}$) entre los picos anódico y catódico de una voltametría cíclica.²⁴ Ambos parámetros deben determinarse en condiciones lo más parecidas posibles.

2. PCET catalizados por complejos metálicos en la naturaleza

La mayoría de las principales transformaciones biológicas, como la oxidación del agua, la reducción del oxígeno, la producción de hidrógeno o la reacción de reducción del CO_2 implican reacciones de tipo PCET. En ellas, los metales de transición desempeñan un papel fundamental en una serie de procesos y metabolismos de oxidación biológicos, ya que tienen un gran impacto en los perfiles energéticos de la reacción al disminuir las barreras de activación. Además, a través de múltiples pasos de transferencia de H^+/e^- , se puede evitar la formación de especies altamente cargadas que requieren una elevada energía de formación mediante un proceso de transferencia electrónica puro. Este hecho, a su vez, puede permitir el acceso a especies con estados de oxidación que de otra forma no serían accesibles. La gran mayoría de las enzimas que realizan los procesos de PCET presentan en sus centros activos complejos metálicos de iones de la primera fila de transición (metales 3d). Esto ha generado, durante las últimas décadas, una creciente inquietud por

²⁰ E. A. Mader, *Hydrogen Atom Transfer Reactions of Iron and Cobalt Tris Alpha-Diimines: A Study of Intrinsic and Thermodynamic Effects*. Ph.D. dissertation, University of Washington, Seattle, WA, December **2007**.

²¹ K. Izutsu, *Acid-Base Dissociation Constants in Dipolar Aprotic Solvents*; Chemical Data Series No. 35; Blackwell Scientific: Oxford U.K., **1990**.

²² a) F. G. Bordwell, *Acc. Chem. Res.* **1988**, *21*, 456-463. b) En la siguiente página web pueden encontrarse los valores de pK_a medidos por Bordwell en DMSO de un gran número de compuestos, así como sus referencias. <http://www.chem.wisc.edu/areas/reich/pkatable/>.

²³ I. Kaljurand, A. Kütt, L. Sooväli, T. Rodima, V. Mäemets, I. Leito, I. A. Koppel, *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 1019-1028.

²⁴ A. J. Bard, L. R. Faulkner, *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*, 2nd ed.; John Wiley and Sons: Hoboken, NJ, **2001**, pp 178-180.

investigar reacciones de PCET mediadas por este tipo de complejos metálicos, con el fin de imitar a la naturaleza.²⁵

Los centros activos de las metaloenzimas han evolucionado con el propósito de activar el oxígeno molecular (O_2) para generar intermedios reactivos de metal-oxígeno como superóxido, peróxido, hidropéroxido, -óxido e hidróxido en alto estado de oxidación (ver Figura 1) y utilizar el poder oxidante de dichos intermedios en la oxidación de sustratos orgánicos, así como en la producción y el consumo de energía en la fotosíntesis y la respiración, respectivamente.^{25c} Las especies metal-oxígeno, además, son empleadas en procesos de oxidación en la industria química o en síntesis orgánica, ya que catalizan una gran variedad de transformaciones químicas como la hidroxilación de enlaces C-H inertes, la epoxidación de alquenos, desalquilaciones, etc.

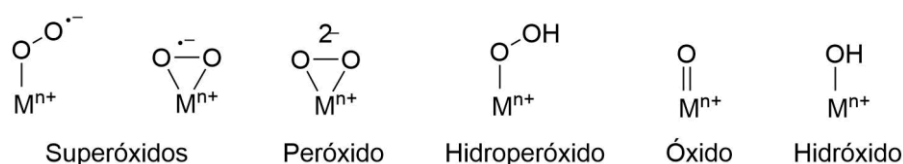


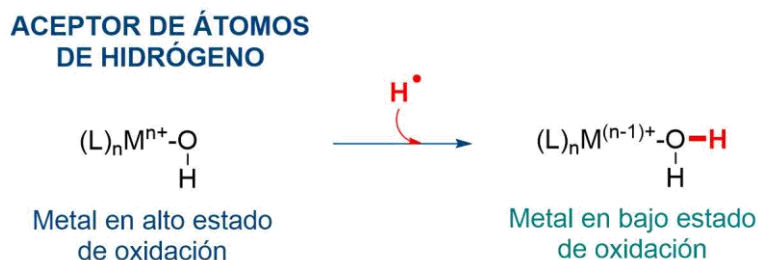
Figura 1. Especies reactivas metal-oxígeno.

En los catalizadores redox artificiales, la aparición de una u otra especie metal-oxígeno como intermedio activo en diferentes reacciones de oxidación es bastante aleatoria y altamente dependiente del catalizador. De hecho, en muchos casos, estas especies pueden coexistir simultáneamente en un mismo proceso, lo que provoca la baja selectividad de los productos esperados. Sin embargo, en la naturaleza, la aparición o la “elección” por parte de la enzima de una de estas especies metal-oxígeno es extremadamente estricta, debido a la alta especificidad de las reacciones enzimáticas, por lo que su aparición en las diversas categorías de metaloenzimas depende en gran medida de sus diferencias en cuanto a la reactividad.^{25f}

De entre la gran variedad de procesos que las especies metal-oxígeno pueden realizar, un ejemplo clásico es el empleo de oxo/hidroxo complejos de metales en alto estado de oxidación ($M^{n+}=O/M^{n+}-OH$) para generar el hidroxido/aquo complejo correspondiente

²⁵ a) I. Siewert, *Chem. Eur. J.* **2015**, *21*, 15078-1509; b) S. Fukuzumi, Y.-M. Lee, W. Nam, *Dalton Trans.* **2019**, *48*, 9469-9489; c) W. Nam, Y.-M. Lee, S. Fukuzumi, *Acc. Chem. Res.* **2018**, *51*, 2014-2022; d) S. Fukuzumi, *Coord. Chem. Rev.* **2013**, *257*, 1564-1575; e) M. Guo, T. Corona, K. Ray, W. Nam, *ACS Cent. Sci.* **2019**, *5*, 13-28; f) Z. Chen, G. Yin, *Chem. Soc. Rev.* **2015**, *44*, 1083-1100.

($M^{(n-1)+}=OH/M^{(n-1)+}-OH_2$), por abstracción de un átomo de hidrógeno del sustrato (Esquema 10).



Esquema 10. Oxo o hidroxilo complejo metálico como aceptor de átomos de hidrógeno.

El radical resultante obtenido del sustrato tras la abstracción del átomo de hidrógeno puede ser transformado posteriormente de distintas maneras.²⁶

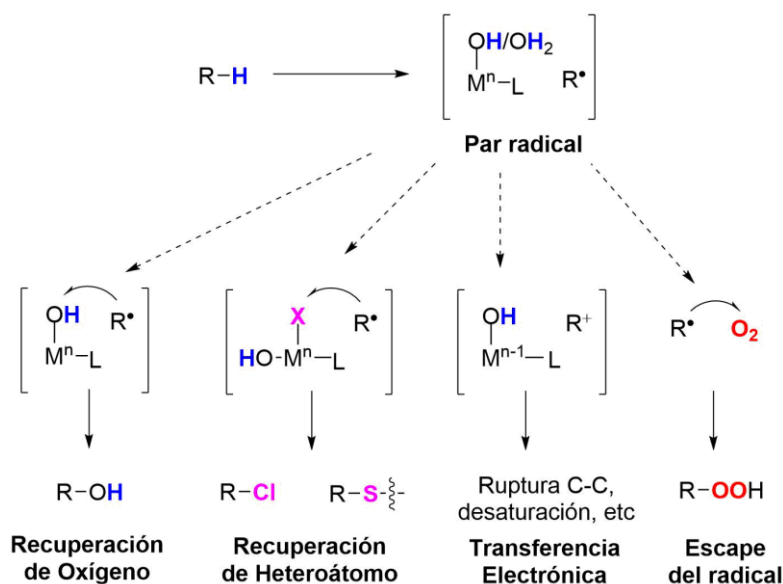


Figura 2. Biotransformaciones posibles tras la abstracción de átomo de hidrógeno.

Uno de los ejemplos más conocidos y estudiados son los citocromos P450,²⁷ que constituyen una gran familia de enzimas. Estas hemoproteínas se encuentran ampliamente distribuidas y presentes en todas las formas de vida: plantas, bacterias, insectos, mamíferos, etc. En todas ellas, el grupo prostético está constituido por una protoporfirina IX de Fe(III).

²⁶ X. Huang, J. T. Groves, *J. Bio. Inorg. Chem.* **2017**, *22*, 185-207.

²⁷ a) M. T. Green, J. H. Dawson, H. B. Gray, *Science*, **2004**, *304*, 1653-1657; b) J. Rittle, M. T. Green, *Science* **2010**, *330*, 933-937; c) Y. Wang, H. Chen, M. Makino, Y. Shiro, S. Nagano, S. Asamizu, H. Onaka, S. Shaik, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 6748-6762; d) B. Meunier, S. P. de Visser, S. Shaik, *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 3947-3980.

Por otro lado, unido covalentemente a la proteína por el átomo de azufre se encuentra un ligando de cisteína proximal (ver Figura 3).

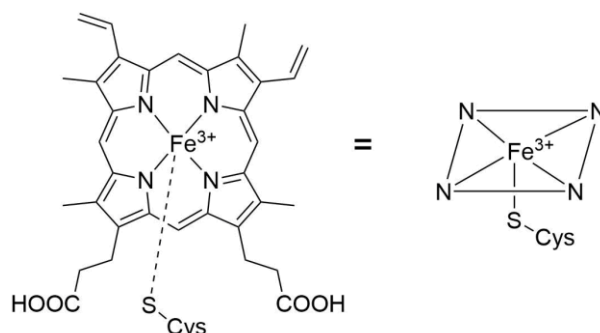


Figura 3. Estructura del grupo prostético del citocromo P450.

Estas metaloenzimas de hierro desempeñan un papel fundamental en una variedad de procesos biológicos, tales como el metabolismo o la defensa inmune, jugando un papel clave en la transformación oxidativa de moléculas endógenas y exógenas. Estas enzimas son potentes oxidantes capaces de catalizar la hidroxilación de enlaces carbono-hidrógeno saturados, la epoxidación de enlaces dobles, la oxidación de heteroátomos, reacciones de dealquilación, oxidaciones de compuestos aromáticos, etc. Como medio de oxidación, los citocromos P450 usan oxígeno molecular, insertando uno de sus átomos en un sustrato y reduciendo el segundo oxígeno a una molécula de agua empleando dos electrones proporcionados por el compuesto NAD(P)H, a través de una proteína reductasa. Puesto que solo uno de los dos átomos de oxígeno inicialmente presentes en el oxígeno molecular O_2 permanece en el sustrato oxidado, a los citocromos P450 se les denominan monooxigenasas.

De entre la variedad de reacciones que estas enzimas son capaces de realizar, en las reacciones de hidroxilación de enlaces C-H están implicados procesos de transferencia de átomos de hidrógeno. En el caso de la hidroxilación, la especie metal-oxígeno activa es un oxocomplejo de Fe(IV) π -catión-radical ($O=Fe^{IV}-Porf^{+\cdot}$) conocido como Compuesto I (Cp-I), generado por oxidación con un agente oxidante (ver Figura 4 paso A). El Cp-I actúa abstrayendo un átomo de hidrógeno del sustrato originando un radical y la especie reducida, un hidroxocomplejo de Fe(IV) llamado Compuesto II (Cp-II) (ver Figura 4 paso B). Rápidamente, el Cp-II se combina con el radical previamente generado dando lugar

al producto de hidroxilación, mediante un mecanismo de recuperación de oxígeno (ver Figura 4 paso C) acuñado por Groves y colaboradores.^{26,28}

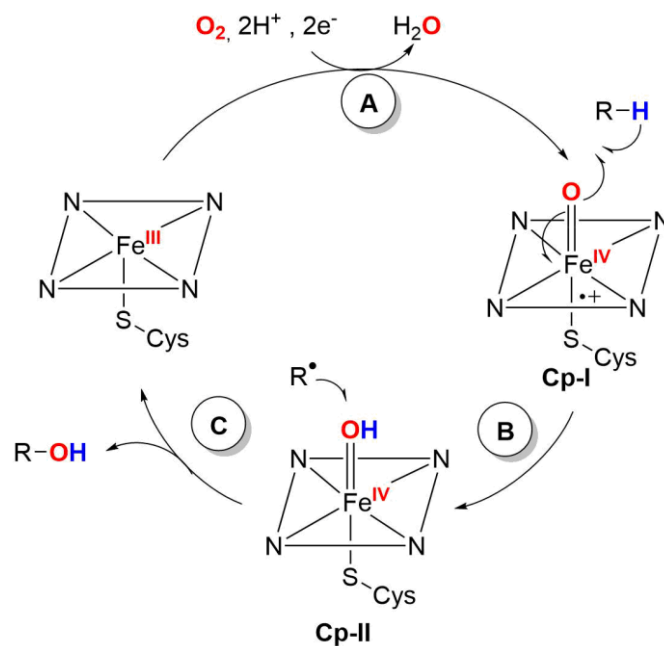
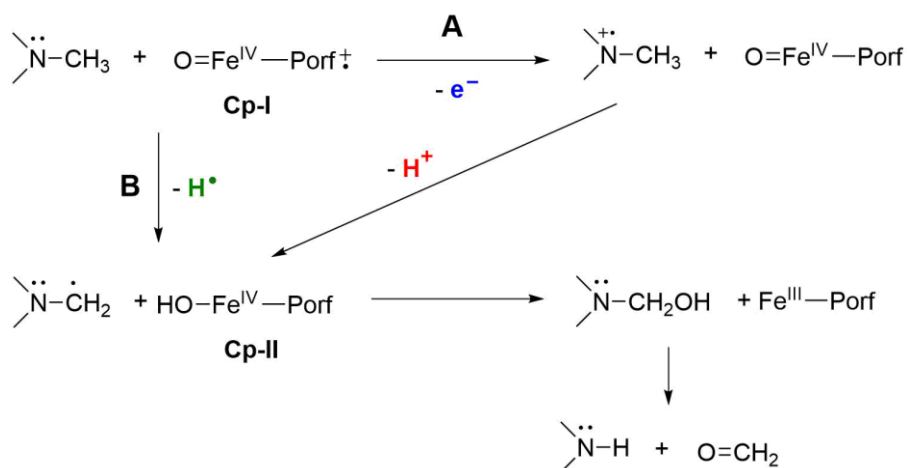


Figura 4. Mecanismo de hidroxilación alifática de un enlace C-H catalizadas por el citocromo P450.

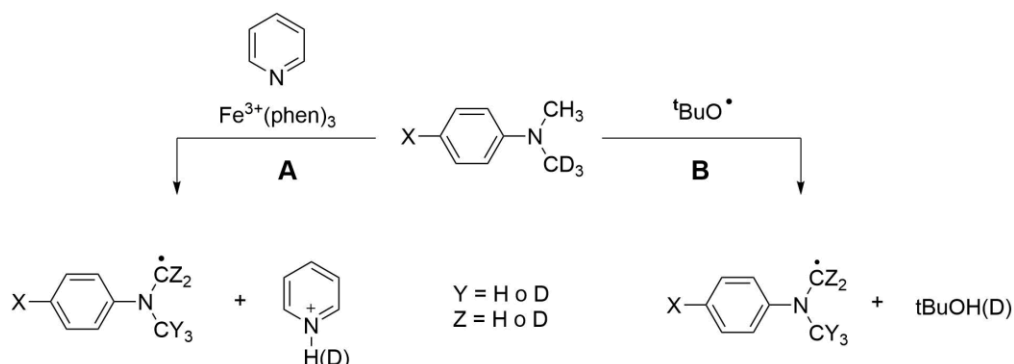
La reacción de dealquilación oxidativa es una importante biotransformación que puede ser catalizada por un gran número de metaloenzimas, entre las que se encuentra el citocromo P450. El conocer el mecanismo por el cual tiene lugar dicha reacción es crucial para entender el metabolismo de los compuestos xenobióticos, así como la causa de ciertas enfermedades como el Parkinson. En un primer momento se propuso que la oxidación de aminas llevada a cabo por el citocromo P450 tenía lugar tanto por un mecanismo de transferencia de electrón/protón como por un mecanismo de abstracción de hidrógeno (Esquema 11).

²⁸ a) J. T. Groves, *J. Chem. Educ.* **1985**, *62*, 928-931; b) J. T. Groves, G. A. McClusky, *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, *98*, 859-861.



Esquema 11. Mecanismos propuestos para la dealquilación de aminas por el citocromo P450.

Poco después, Dinnocenzo y colaboradores²⁹ estudiaron los perfiles de efecto isotópico de la desprotonación con piridina y la abstracción de un átomo de hidrogeno por el radical *t*-butoxilo para una serie *p*-anilinas *N,N*-sustituidas, con el fin de comparar dichos valores con los obtenidos para seis sistemas diferentes de citocromos P450. Los resultados obtenidos aportaron grandes evidencias que apoyaban un mecanismo basado en la abstracción de átomo de hidrógeno para la dealquilación oxidativa de aminas por los citocromos P450.

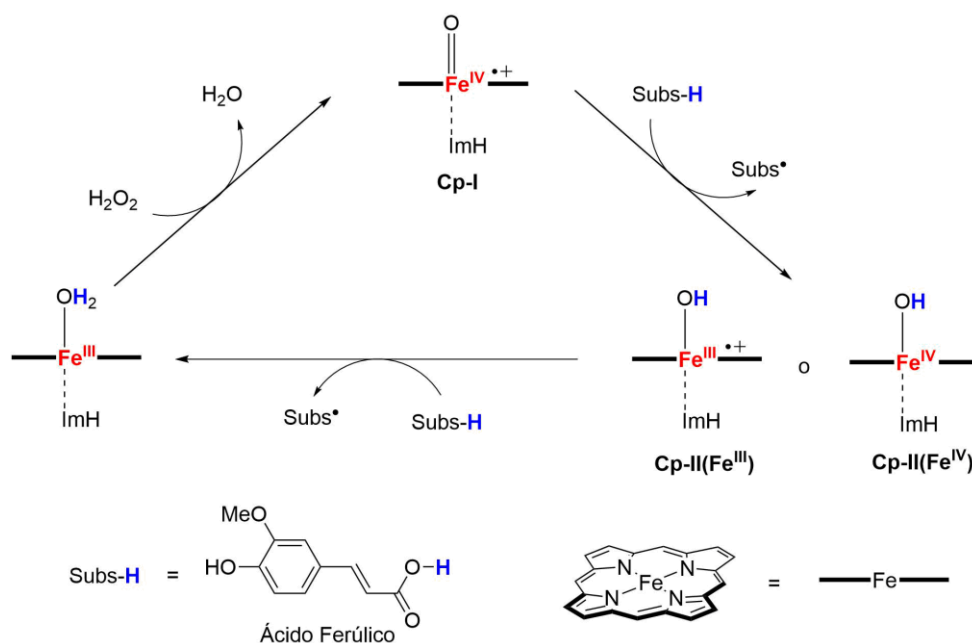


Esquema 12. Mecanismos estudiados para la desprotección (A) y abstracción de átomo de hidrógeno (B) por Dinnocenzo y colaboradores.

El citocromo P450 no es la única enzima que utiliza intermedios de oxohierro en alto estado de oxidación para realizar la activación de enlaces C-H, si no que estos intermedios reactivos se encuentran altamente presentes en un gran número de enzimas. De esta

²⁹ S. B. Karki, J. P. Dinocenzo, J. P. Jones, K. R. Korzekwa, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 3657-3664.

forma, las peroxidasas, otro tipo de metaloenzimas que presentan iones de hierro en alto estado de oxidación en sus centros activos, también están involucradas en procesos de PCET y utilizan dos especies activas en sus ciclos catalíticos: el Cp-I y el Cp-II. Así, por ejemplo, la peroxidasa del rábano picante (HRP) cataliza el acoplamiento oxidativo de un gran número de fenoles aromáticos, tales como el ácido ferúlico, usando H_2O_2 como cofactor.³⁰ El ciclo catalítico, que se muestra en el Esquema 13, comienza con la oxidación de un acuocomplejo de Fe(III) para generar un oxocomplejo de Fe(IV) (Cp-I), la primera especie activa del ciclo. Este compuesto, al presentar dos equivalentes de oxidación, realiza la oxidación de una molécula de ácido ferúlico por abstracción de un átomo de hidrógeno produciéndose la segunda especie activa (Cp-II). El Cp-II sigue siendo un potencial agente de oxidación, por lo que es capaz de oxidar una segunda molécula de ácido ferúlico regenerándose el acuocomplejo de Fe(III) inicial.



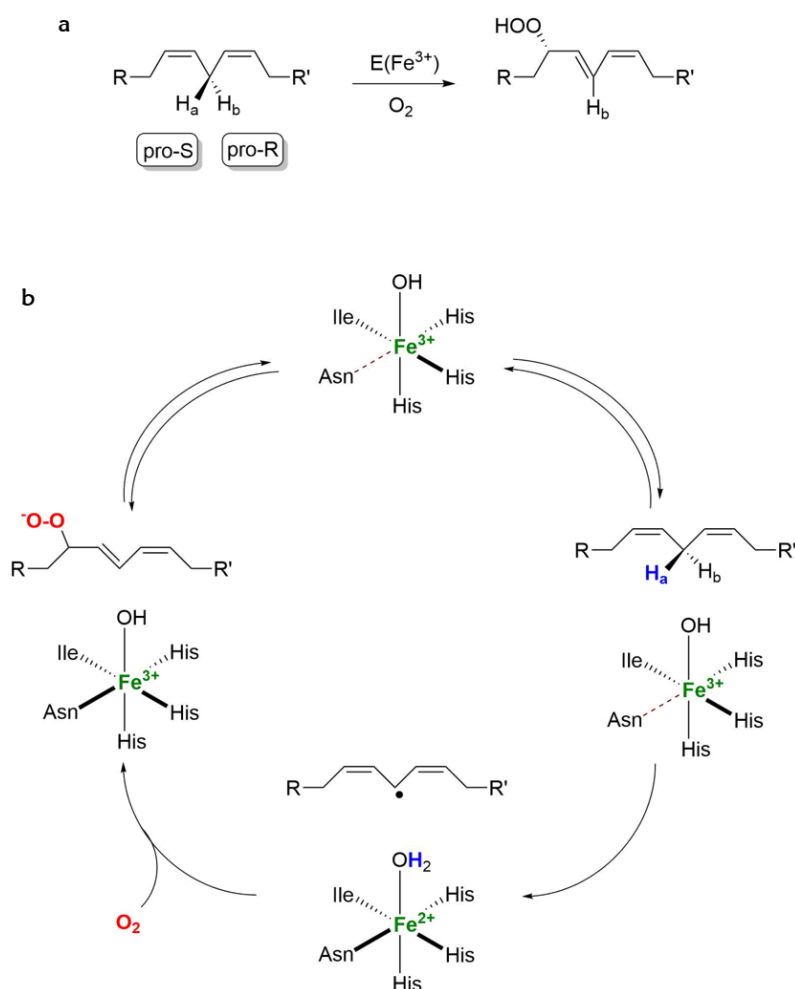
Esquema 13. Ciclo catalítico esquemático de la oxidación del ácido ferúlico por las peroxidasas.

A parte de las enzimas hemo, hay grandes familias de enzimas de tipo no hemo³¹ que también presentan átomos de hierro en alto estado de oxidación en su centro activo y que se encargan de la activación de enlaces C-H. Una de estas familias son las lipoxigenasas, dioxigenasas de hierro no hemo, que catalizan la hidroperoxidación

³⁰ a) E. Derat, S. Shaik, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 8185-8198; b) E. Derat, S. Shaik, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 13940-13949.

³¹ E. I. Solomon, K. M. Light, L. V. Liu, M. Srncic, S. D. Wong, *Acc. Chem. Res.* **2013**, *46*, 2725-2739.

regioespecífica y estereoespecífica de los ácidos grasos insaturados que contienen la unidad (1*Z*,4*Z*)-pentadieno (Figura 5a). Estas enzimas, presentes en todas las plantas y animales, tienen por sustratos predominantes el ácido linoleico y linolénico en plantas, mientras que en animales es el ácido araquidónico. En ellas se ha encontrado que el paso clave de su mecanismo es la abstracción de un átomo de hidrógeno de los ácidos grasos insaturados por parte de un hidroxilo complejo de Fe(III). Dicha abstracción implica la protonación del ligando OH y la reducción del Fe(III), generándose un acuocomplejo de Fe(II) en el cual el nuevo enlace OH es lo suficientemente fuerte para ser la fuerza impulsora de la reacción general.³² El posterior ataque del oxígeno molecular a una de las posiciones terminales del pentadienil radical generado origina la formación del producto de hidroperoxidación, en el cual los nuevos dobles enlaces conjugados tienen una configuración *E/Z*.³³

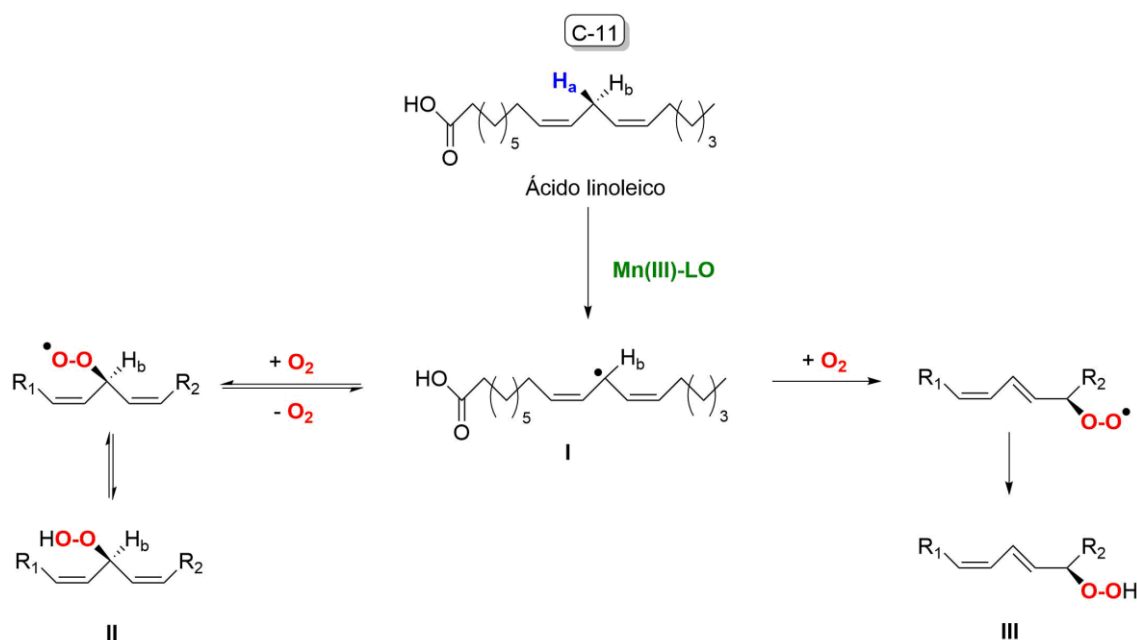


³² E. I. Solomon, J. Zhou, F. Neese, E. G. Pavel, *Chem. Biol.* **1997**, *4*, 795-808.

³³ M. Hamberg, B. Samuelsson, *J. Biol. Chem.* **1967**, *242*, 5329-5335.

Figura 5. (a) Reacción catalizada por lipoxigenasas. (b) Mecanismos de abstracción de átomo de hidrógeno del ciclo catalítico de las lipoxigenasas.

De igual forma, Oliw y colaboradores³⁴ comunicaron la existencia de una lipoxigenasa de Mn(III) (Mn(III)-LO) en el hongo *Gäumannomyces graminis*, donde el grupo Mn(III)-OH catalizaba la abstracción del átomo de hidrógeno pro-5 del C-11 del ácido linoleico. El intermedio I generado podía convertirse reversiblemente en el producto II a través del 11(S)-peroxi radical correspondiente, o bien dar lugar al producto III a través del 13(R)-peroxi radical de forma irreversible.



Esquema 14. Mecanismo propuesto para la oxigenación del ácido linoleico catalizado por Mn(III)-LO.

Otro ejemplo notable es la superfamilia de las dioxigenasas de Fe(II) dependientes de α -cetoglutarato (α KG), que catalizan la hidroxilación selectiva de enlaces C-H alifáticos. El mecanismo de reacción es análogo al que presentan los citocromos P450, en el cual un oxocomplejo de Fe(IV) abstrae un átomo de hidrógeno del sustrato. El radical resultante es capturado por un hidroxocomplejo de Fe(III), similar a Cp-II del citocromo P450, para generar el producto de hidroxilación (Figura 6c). Dentro de esta gran familia de enzimas, las α KG halogenasas se encargan de catalizar la cloración de enlaces C-H alifáticos de los sustratos mediante un mecanismo de recuperación de halógeno, tras la abstracción del

³⁴ a) C. Su, E. H. Oliw, *J. Biol. Chem.* **1998**, *273*, 13072-13079; b) M. Hamberg, C. Su, E. Oliw, *J. Biol. Chem.* **1998**, *273*, 13080-13088.

átomo de hidrógeno.^{26,35} De igual forma, Bollinger y colaboradores³⁶ encontraron que las α KG halogenasas también eran capaces de catalizar las reacciones de nitración y azidación de enlaces C-H alifáticos siguiendo el mismo mecanismo. Tras la abstracción inicial de átomo de hidrogeno se formaría el correspondiente radical del sustrato y un azido/nitrito hidroxocomplejo de Fe(III), que posteriormente se encargará de formar el enlace C-N₃ y C-NO₂, respectivamente.

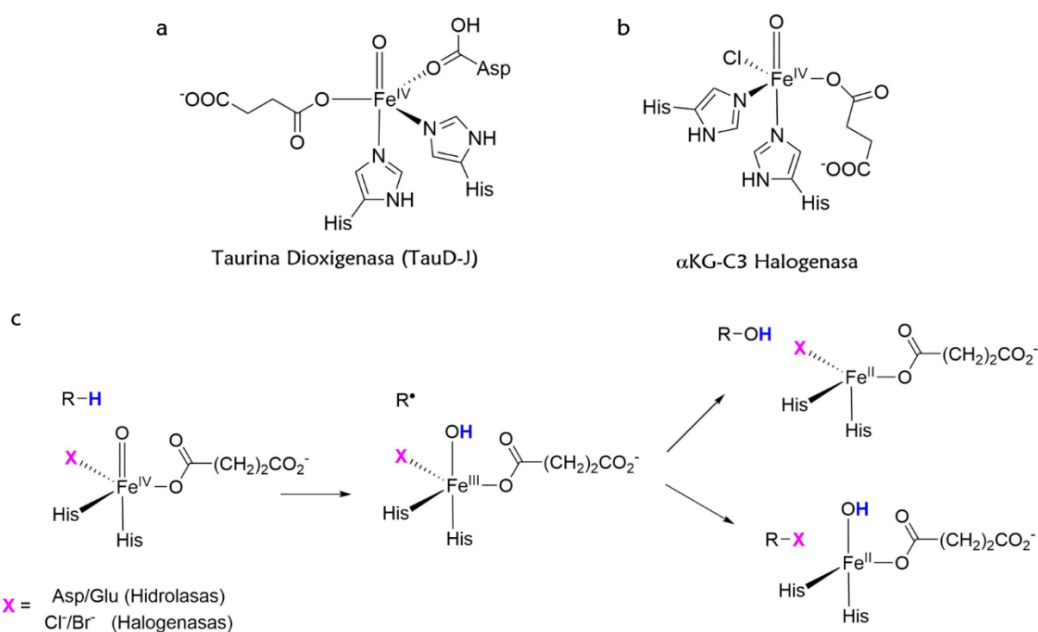


Figura 6. (a) y (b) Estructura de enzimas de oxo-Fe(IV) no-hemo; (c) mecanismo de hidroxilación vs halogenación.

Las hidrolasas de dihierro no hemo son otro ejemplo de enzimas que emplean especies en alto estado de oxidación para activar los enlaces C-H. En esta familia de enzimas el intermedio reactivo es un complejo de bis- μ -oxohierro(IV) llamado compuesto Q. En las metano monooxigenasas (MMO), este compuesto Q inicia la secuencia de abstracción de átomo de hidrógeno/recuperación del radical para hidroxilar hidrocarburos, incluido el metano, el cual presenta una BDFE de 104 kcal/mol.³⁷

³⁵ C. Krebs, D. G. Fujimori, C. T. Walsh, J. M. Bollinger, Jr. *Acc. Chem. Res.* **2007**, *40*, 484-492.

³⁶ M. L. Matthews, W.-c. Chang, A. P. Layne, L. A. Miles, C. Krebs, J. M. Bollinger Jr. *Nat. Chem. Biol.* **2014**, *10*, 209-215.

³⁷ (a) R. Banerjee, Y. Proshlyakov, J. D. Lipscomb, D. A. Proshlyakov, *Nature* **2015**, *518*, 431-434; (b) M.-H. Baik, M. Newcomb, R. A. Friesner, S. J. Lippard, *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 2385-2419.

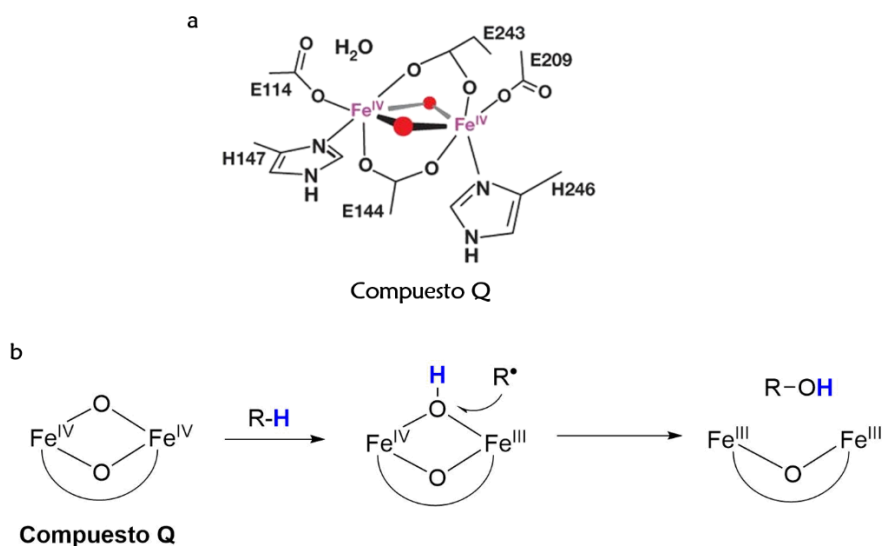


Figura 7. (a) Estructura del compuesto Q y (b) mecanismo de hidroxilación de metano.

Por su parte, las ribonucleótido reductasas (RNR) catalizan la conversión de ribonucleótidos en desoxirribonucleótidos en todos los organismos (Figura 8a). Estas enzimas desempeñan un papel esencial en la replicación y reparación del ADN al proporcionar todos los precursores monoméricos (desoxirribonucleótidos) para estos procesos. Las RNR se dividen en tres clases, en función del metalocofactor requerido para el proceso de iniciación radicalario.³⁸ Más concretamente, las RNR de clase I presentan un clúster de dihierro como cofactor, que se encarga de la reducción de los nucleótidos. Una descripción más detallada del mecanismo de dicho clúster fue proporcionada por Bollinger y colaboradores.³⁹ Así, por ejemplo, en las RNR de *Escherichia coli* la oxidación de la tirosina 122 (Y122) es llevada a cabo por un hidroxocomplejo de Fe(III) (Ver Figura 8b Intermedio X) originando un radical tirosilo necesario para llevar a cabo la reducción de los ribonucleótidos.⁴⁰

³⁸ J. Stubbe, D. G. Nocera, C. S. Yee, M. C. Y. Chang, *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 2167-2201.

³⁹ a) J. Baldwin, W. C. Voegtli, N. Khidekel, P. Moenne-Loccoz, C. Krebs, A. S. Pereira, B. A. Ley, B. H. Huynh, T. M. Loehr, P. J. Riggs-Gelasco, A. C. Rosenzweig, J. M. Bollinger, Jr. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 7017-7030; b) C. Krebs, S. Chen, J. Baldwin, B. A. Ley, U. Patel, D. E. Edmondson, B. H. Huynh, J. M. Bollinger, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 12207-12219.

⁴⁰ N. Mitic, M. D. Clay, L. Saleh, J. M. Bollinger, E. I. Solomon, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 9049-9065.

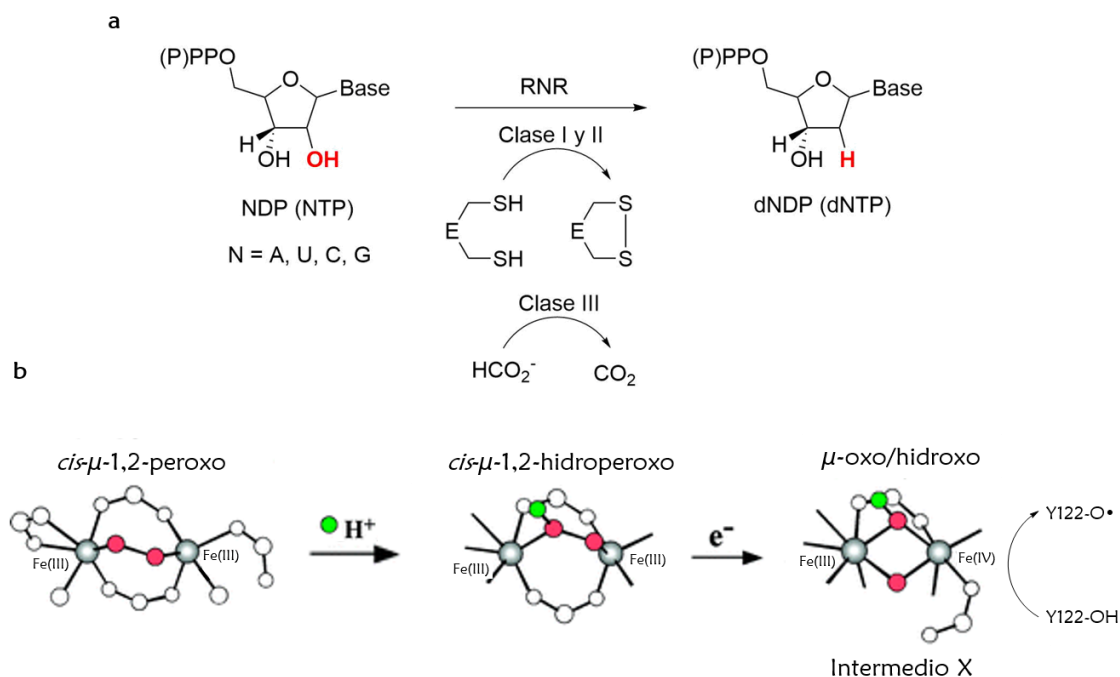


Figura 8. (a) Reducción de ribonucleótidos por las RNR; (b) Oxidación de la Y122 por el intermedio X.

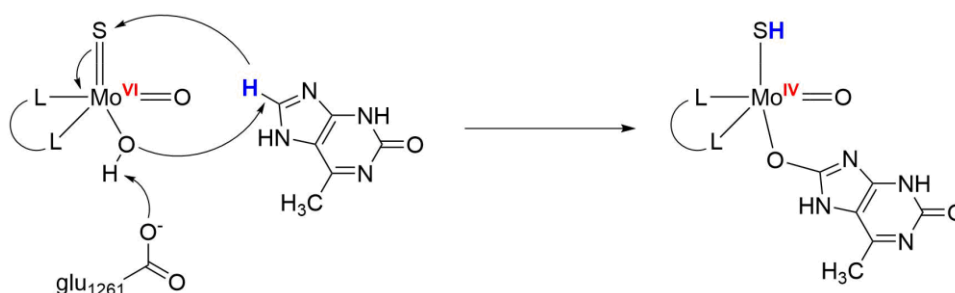
Como se ha indicado anteriormente, las RNR de clase I convencionales presentan un clúster de dihierro(II) que reacciona con el oxígeno generando el intermedio X, el cual se encargará de la oxidación de la Y122. Por otra parte, se ha encontrado que las RNR de *Chlamydia trachomatis* carecen del residuo de tirosina necesario para llevar a cabo su actividad, ya que éste se encuentra sustituido por fenilalanina. En su lugar, la reducción de los ribonucleótidos tiene lugar gracias a un cofactor heterodinuclear de manganeso y hierro, que tras reaccionar con oxígeno molecular origina un clúster de Mn(IV)-Fe(III). Este centro activo es un potente oxidante al igual que el sistema formado por el complejo de dihierro y el tirosil radical, pudiendo realizar la misma función que su homólogo homodinuclear, representando una nueva clase de RNR.⁴¹

Poco después y de forma similar, se encontró que las RNR de *Mycobacterium tuberculosis* presentaban en su centro activo un clúster de hidroxilo y aquo complejos de

⁴¹ a) K. Roos, P. E. M. Siegbahn, *Biochemistry* **2009**, *48*, 1878-1887; b) W. Jiang, D. Yun, L. Saleh, E. W. Barr, G. Xing, L. M. Hoffart, M. A. Maslak, C. Krebs, J. M. Bollinger Jr., *Science* **2007**, *316*, 1188-1191; c) N. Voevodskaya, F. Lendzian, A. Ehrenberg, A. Gräslund, *FEBS Lett.* **2007**, *581*, 3351-3355; d) J. M. Bollinger Jr., W. Jiang, M. T. Green, C. Krebs, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **2008**, *18*, 650-657; e) J. M. Younker, C. M. Krest, W. Jiang, C. Krebs, J. M. Bollinger, Jr., M. T. Green, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 15022-15027; f) W. Jiang, J. M. Bollinger, Jr., C. Krebs, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 7504-7505.

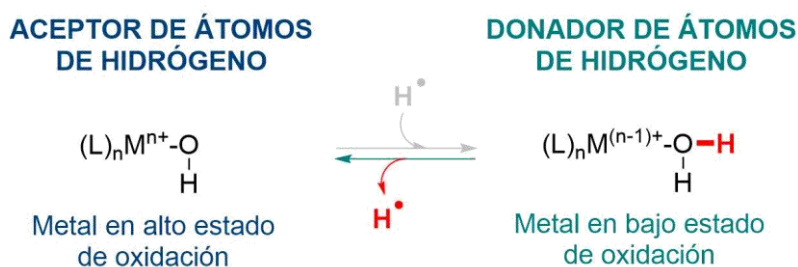
manganeso/hierro que actúan como cofactores y cuyo potencial catalítico estaba determinado por la formación de un enlace entre un residuo de valina y tirosina.⁴²

Incluso en las xantinas oxidasas, enzimas que catalizan la hidroxilación del enlace CH en la posición 8 de la hipoxantina, se ha encontrado que, a pesar de tener dos grupos funcionales en su centro activo, $\text{Mo}^{\text{VI}}=\text{O}$ y $\text{Mo}^{\text{VI}}-\text{OH}$, es el hidroxomolibdeno el que se encarga de realizar dicha hidroxilación. El mecanismo comienza con la abstracción de un protón del grupo $\text{Mo}-\text{OH}$ catalizada por una base, lo que permite el ataque nucleofílico en el sustrato y la transferencia de hidruros del sustrato al grupo $\text{Mo}=\text{S}$ en el sitio activo.⁴³



Esquema 15. Mecanismo de hidroxilación de las xantinas oxidasas.

Menos frecuente es el proceso inverso al mostrado anteriormente (Esquema 16), en el cual la BDFE de un enlace O-H disminuye considerablemente por coordinación a un centro metálico, pudiendo actuar como donador de átomos de hidrógeno.



Esquema 16. Hidroxo o aquo complejo metálico como donador de átomos de hidrógeno.

El ejemplo más conocido en la naturaleza es el de fotosistema II (PSII). El PSII se encuentra en plantas, algas y cianobacterias y es el encargado de oxidar el agua a oxígeno molecular, mediante una serie de pasos inducidos por luz solar durante la fotosíntesis,

⁴² C. S. Andersson, M. Högbom, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2009**, *106*, 5633-5638.

⁴³ A. L. Stockert, S. S. Shinde, R. F. Anderson, R. Hille, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 14554-14555.

produciendo hasta 50 moléculas de O_2 por segundo. Dentro de este sistema se encuentra el complejo encargado de realizar dicha transformación, conocido como complejo productor de oxígeno (OEC), el cual está constituido por un clúster de cinco núcleos metálicos, cuatro de ellos son cationes de manganeso y el quinto es un catión de calcio. Tres de los iones de manganeso y el ión de calcio se encuentran en cuatro de las esquinas de un cubo distorsionado con átomos de oxígeno en las otras esquinas del cubo. El cuarto átomo de manganeso se encuentra coordinado a uno de los oxígenos del cubo (Figura 9a).⁴⁴ El PSII es excitado por la luz produciendo la oxidación del cromóforo $P_{680} \rightarrow P_{680}^+$, el cual se encarga a su vez de oxidar la tirosina Z (Yz) generando un radical tirosilo (Yz $^{\bullet}$). La función de este radical tirosilo es abstraer un átomo de hidrógeno de una de las dos moléculas de agua coordinadas al clúster de manganeso, quien evolucionará a través de cinco estados intermedios, hasta producir en el último paso el oxígeno molecular.⁴⁵ Este proceso sería termodinámicamente inviable en ausencia de metal, ya que la BDE del agua (BDFE = 122.7 kcal/mol,^{3h} BDE = 117.6 kcal/mol⁴⁶) es mucho mayor que la BDE de la tirosina (BDFE = 86 kcal/mol, BDE = 87.8 kcal/mol).^{3h}

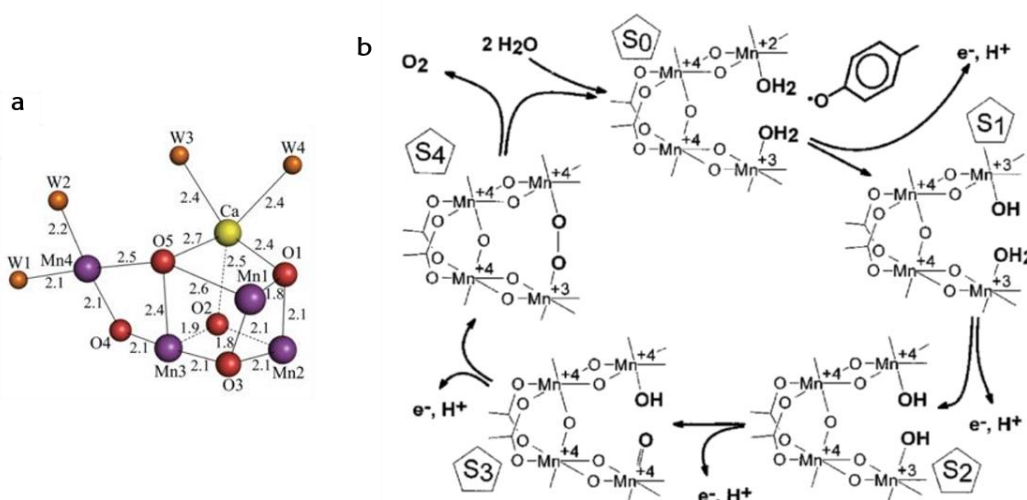


Figura 9. (a) Estructura clúster de Mn-Ca; (b) modelo propuesto por Babcock para la oxidación del agua.⁴⁵

⁴⁴ a) A. W. Rutherford, A. Boussac, *Science* **2004**, *303*, 1782-1784; b) Y. Umena, K. Kawakami, J.-R. Shen, N. Kamiya, *Nature*, 2011, 473, 55-60.

⁴⁵ a) C. W. Hoganson, G. T. Babcock, *Science* **1997**, *277*, 1953-1956; b) D. F. Ghanotakis, C. F. Yocum, *Annu. Rev. Plant. Physiol. Plant. Mol. Biol.* **1990**, *41*, 255-276; c) J. Limburg, G. W. Brudvig, R. H. Crabtree, *Biomimetic Oxidations Catalyzed by Transition Metal Complexes* (Ed.: Bernard Meunier), Imperial College Press, London, **2000**, 509-541; d) J. M. Keough, D. L. Jenson, A. N. Zuniga, B. A. Barry, *J. Am. Chem. Soc.* 2011, *133*, 11084-11087; e) R. J. Pace, R. Stranger, S. Petrie, *Dalton Trans.* **2012**, *41*, 7179-7189.

⁴⁶ B. Ruscic, A. F. Wagner, L. B. Harding, R. L. Asher, D. Feller, D. A. Dixon, K. A. Peterson, Y. Song, X. Qian, C.-Y. Ng, J. Liu, W. Chen, D. W. Schwenke, *J. Phys. Chem. A* **2002**, *106*, 2727-2747.

3. Complejos metálicos biomiméticos.

Como hemos visto en el apartado anterior, un gran número de intermedios metálicos oxigenados se encuentran presentes en los centros reactivos de la mayoría de las metaloenzimas, encargándose de multitud de procesos biológicos de forma quimio, regio y estereoselectiva. Entender el mecanismo y el funcionamiento de dichos procesos ha hecho que numerosos grupos de investigación dediquen un gran esfuerzo en explorar y diseñar nuevos complejos metálicos que sirvan como modelos sintéticos, imitando muchos aspectos de la reactividad, propiedades y funciones de las enzimas.

En 1979, Groves y colaboradores publicaron los primeros ejemplos de complejos de Fe(III) de tipo hemo. Este complejo se encargaba de catalizar la hidroxilación de enlaces C-H y epoxidación de alquenos, empleando yodosilbenzeno como agente oxidante, mediante un mecanismo de recuperación de oxígeno, en el que supusieron que estaba implicado un oxocomplejo de hierro.⁴⁷ Poco después, para corroborar su hipótesis, el grupo de Groves, sintetizó el primer oxocomplejo porfirínico de Fe(IV) (**IV**) a partir de la oxidación de un complejo de Fe(III) con ácido *m*-cloroperbenzoico en una mezcla de DCM:MeOH a -78°C .⁴⁸ Estos compuestos brindaron la oportunidad de estudiar modelos más simples de centros metálicos presentes en peroxidasas y el citocromo P450.

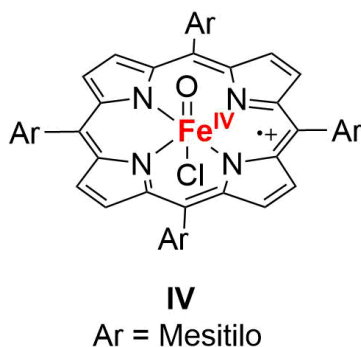


Figura 10. Primer oxocomplejo porfirínico de Fe(IV) sintetizado por Groves.

Desde entonces se han realizado un gran número de modificaciones en el esqueleto porfirínico, obteniéndose nuevos complejos metaloporfirínicos que catalizan la funcionalización de enlaces C-H saturados, lo que ha permitido obtener un mayor

⁴⁷ J. T. Groves, T. E. Nemo, R. S. Myers, *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, *101*, 1032-1033.

⁴⁸ J. T. Groves, R. C. Haushalter, M. Nakamura, T. E. Nemo, B. J. Evans, *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103*, 2884-2886.

conocimiento sobre los factores que controlan la eficiencia catalítica de estas metaloenzimas.⁴⁹

Entre estas metaloporfirinas, los análogos de manganeso se han estudiado ampliamente, ya que son importantes intermedios en las reacciones de transferencia de oxígeno. Todas estas reacciones tienen en común ciertas características mecánísticas, ya que todas se inician con la abstracción de un átomo de hidrógeno llevada a cabo por un intermedio de oxomanganeso (V) generando el correspondiente hidroxomanganeso (IV) y el radical alquílico. Posteriormente, este radical genera el producto de hidroxilación mediante un mecanismo de recuperación de oxígeno.⁵⁰ Recientemente, el grupo de Groves ha demostrado que las metaloporfirinas de manganeso también son capaces de catalizar halogenaciones alifáticas de enlaces C-H, generando enlaces C-Cl, C-Br, C-F e incluso C-N, mediante la activación directa de enlaces C-H, empleando un mecanismo de recuperación de halógeno/heteroátomo.⁵¹

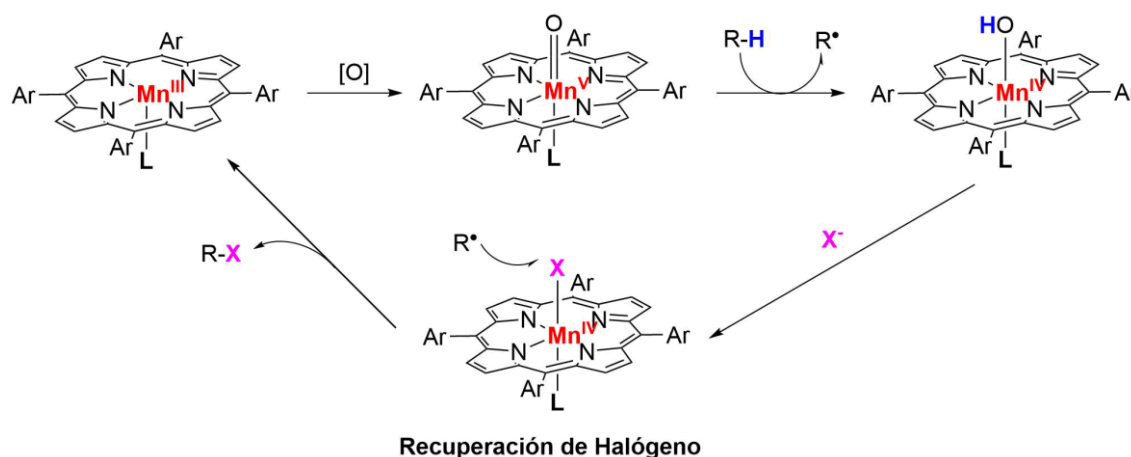


Figura 11. Mecanismo de recuperación de halógeno por metaloporfirinas de Mn(IV).

Recientemente, el grupo de Groves sintetizó un hidroxocomplejo porfirínico de Fe(II) capaz de abstraer rápidamente átomos de hidrógeno de sustratos bencílicos, como

⁴⁹ a) C.-M. Che, V. K.-Y. Lo, C.-Y. Zhou, J.-S. Huang, *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 1950-1975; b) M. Costas, *Coord. Chem. Rev.* **2011**, *255*, 2912-2932; c) H. Fujii, *Coord. Chem. Rev.* **2002**, *226*, 51-60; d) X. Huang, J. T. Groves, *Chem. Rev.* **2018**, *118*, 2491-2553.

⁵⁰ W. Liu, M.-J. Cheng, R. J. Nielsen, W. A. Goddard III, J. T. Groves, *ACS Catal.* **2017**, *7*, 4182-4188.

⁵¹ a) G. Li, A. K. Dilger, P. T. Cheng, W. R. Ewing, J. T. Groves, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2018**, *57*, 1251-1255; b) W. Liu, X. Huang, M.-J. Cheng, R. J. Nielsen, W. A. Goddard III, J. T. Groves, *Science* **2012**, *337*, 1322-1325; c) W. Liu, J. T. Groves, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 12847-12849; d) X. Huang, T. Zhuang, P. A. Kates, H. Gao, X. Chen, J. T. Groves, *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, *139*, 15407-15413; e) X. Huang, J. T. Groves, *ACS Catal.* **2016**, *6*, 751-759; f) X. Huang, T. M. Bergsten, J. T. Groves, *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, *137*, 5300-5303.

fluoreno, xanteno, trifenilmetano o DHA, cuyos valores de energías de enlace C-H son menores de 85 kcal/mol.⁵²

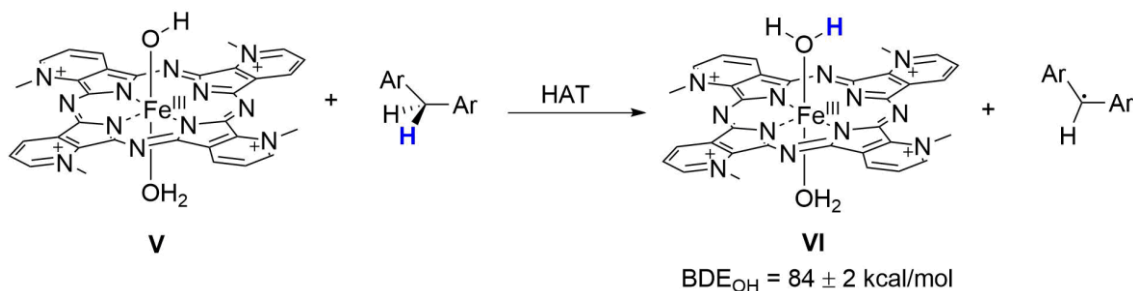


Figura 12. Reactividad del complejo V.

La posibilidad de poder variar la esfera de coordinación de modelos sintéticos es una poderosa herramienta que ha permitido elucidar el papel de los ligandos que forman parte de dicha esfera y que aportan una reactividad determinada a los centros metálicos. Así, por ejemplo, Stack y colaboradores sintetizaron y caracterizaron un complejo de Fe(III) con un grupo metoxilo exógeno en posición axial (**VII**). Para la síntesis, los autores emplearon el ligando **VIII**, que proporcionaba una esfera de coordinación similar a la que presentaban las lipoxigenasas de mamíferos, en la cual predominan los residuos de histidina.⁵³ El complejo **VII** reaccionaba abstrayendo un átomo de hidrógeno de enlaces C-H débiles de hidrocarburos insaturados, tales como tolueno, generando una especie radical y el correspondiente complejo de Fe(II) reducido (**IX**). En este nuevo complejo, el valor de la BDFE de la molécula de MeOH unida al Fe(II) era de 83.5 kcal/mol, lo que suponía una disminución de 19 kcal/mol en comparación con la BDFE del MeOH libre (BDFE = 102.5 kcal/mol).^{3h, 54}

⁵² H. Gao, J. T. Groves, *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, *139*, 3938-3941.

⁵³ a) R. T. Jonas, D. P. Stack, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 8566-8567; b) C. R. Goldsmith, R. T. Jonas, D. P. Stack, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 83-96.

⁵⁴ J. A. Kerr, *Chem. Rev.* **1966**, *66*, 465-500.

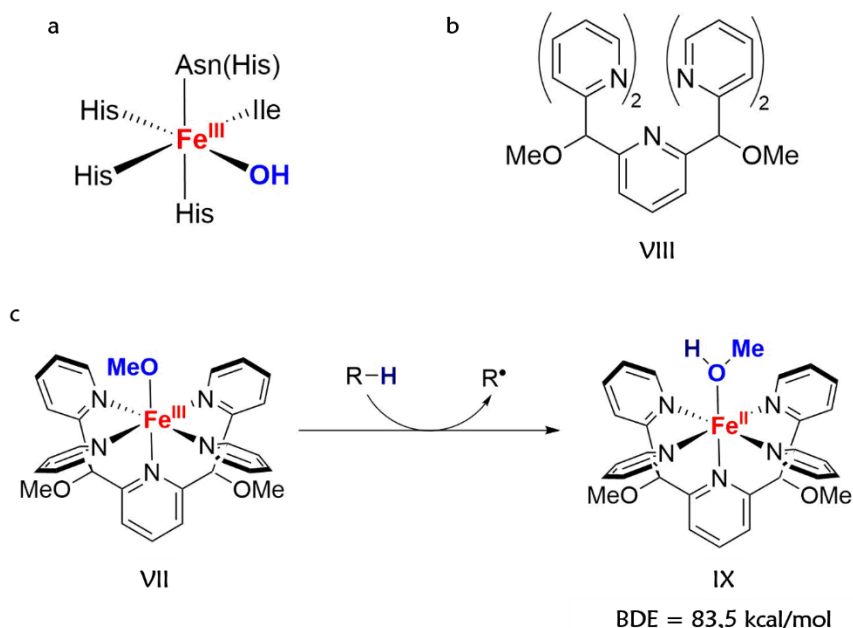


Figura 13. (a) Representación de lipoxigenasas; (b) estructura del ligando **VIII** y (c) reducción del complejo **VII**.

De forma similar y alentados por el descubrimiento de Oliv,³⁴ este mismo grupo sintetizó un hidroxocomplejo mononuclear de Mn(III) **X** que catalizaba reacciones de oxidación de forma similar que su análogo de Fe(III) **VII**.⁵⁵ En este caso, el valor de la BDFE de la molécula de agua coordinada al centro de Mn(II) tras la abstracción de átomo de hidrógeno fue de 82 kcal/mol, ligeramente más débil que el formado tras la reducción del complejo **IX**. Poco después sintetizaron el complejo **XII** por analogía a los anteriores, presentando la misma reactividad ante los enlaces C-H débiles.⁵⁶ La sustitución de hierro por manganeso supuso una ligera mejora en el proceso de abstracción de átomo de hidrogeno, mientras que la sustitución del ligando hidróxido por el metoxilo originó un oxidante más favorable.

⁵⁵ C. R. Goldsmith, A. P. Cole, T. D. P. Stack, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 9904-9912.

⁵⁶ C. R. Goldsmith, T. D. P. Stack, *Inorg. Chem.* **2006**, *45*, 6048-6055.

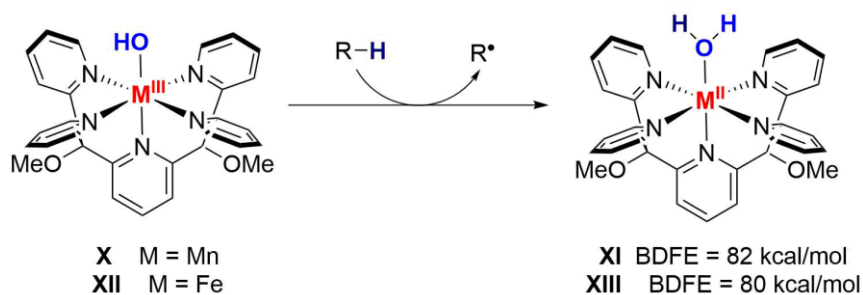


Figura 14. Reducción de los hidroxocomplejos de Mn(III) y Fe(III).

El grupo de Mayer, alentado por los resultados obtenidos por Stack,^{53a} publicó la síntesis de un complejo de Fe(III) que imitaba la estructura de las lipoxigenasas. Este complejo era capaz de abstraer átomos de hidrogeno de sustratos con enlaces C-H débiles con una BDE de hasta 80 kcal/mol como el 9,10-dihidroantraceno (DHA, BDE = 78 kcal/mol), xanteno (BDE = 75.5 kcal/mol), 1,4-cicloexadieno (CHD, BDE = 77 kcal/mol) y el éster etílico del ácido linoleico (BDE = 78 kcal/mol).⁵⁷

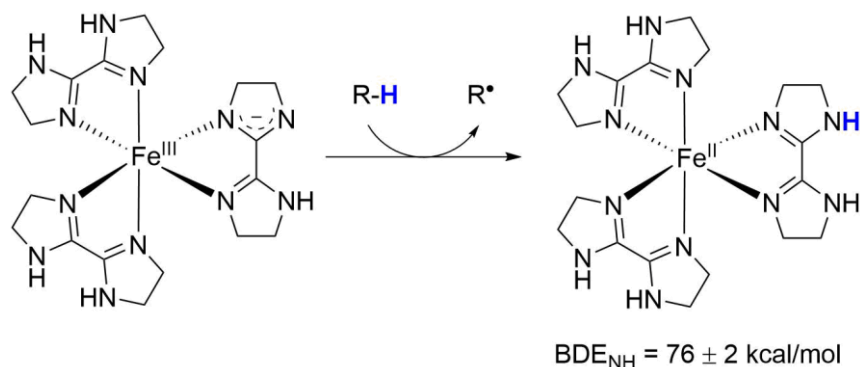


Figura 15. Estructura y reactividad del complejo de Fe(III).

El hierro es también el elemento típico que se encuentra en el centro activo de las hidrolasas y las desaturasas, dos clases de enzimas oxidoreductasas. Las hidrolasas se encargan de transformar los enlaces C-H en enlaces C-OH por la incorporación de un átomo de oxígeno mediante el mecanismo de recuperación de oxígeno. Por su parte, las desaturasas transforman una cadena alquílica $R_2CH-CHR_2$ en $R_2C=CR_2$ mediante la introducción de un enlace doble por un mecanismo de doble abstracción de átomo de hidrógeno. Ambos procesos presentan como etapa inicial común la abstracción de un átomo de hidrógeno, pero se han descubierto varios ejemplos en los que las desaturasas

⁵⁷ J. P. Roth, J. M. Mayer, *Inorg. Chem.* **1999**, *38*, 2760-2761.

realizan la función de hidrolasas y viceversa. Por ello, el grupo de Brudvig y Crabtree⁵⁸ estudiaron el comportamiento de tres complejos modelo de Mn frente a una serie de sustratos con enlaces C-H débiles, ya que hasta el momento no se había sintetizado ningún modelo de manganeso con actividad de desaturasa. Los datos teóricos y experimentales mostraron que los tres catalizadores presentaban una reactividad similar, generando una mezcla de productos correspondientes tanto a la desaturación como a la hidroxilación. De esta forma, se ponía de manifiesto que ambos procesos presentan un camino inicial común y que la obtención de un producto u otro dependía de la orientación del radical generado tras la primera abstracción del átomo de hidrógeno, con respecto al grupo OH enlazado al centro metálico. Por lo tanto, el complejo de hidroxomanganeso era capaz de promover ambos caminos de reacción.

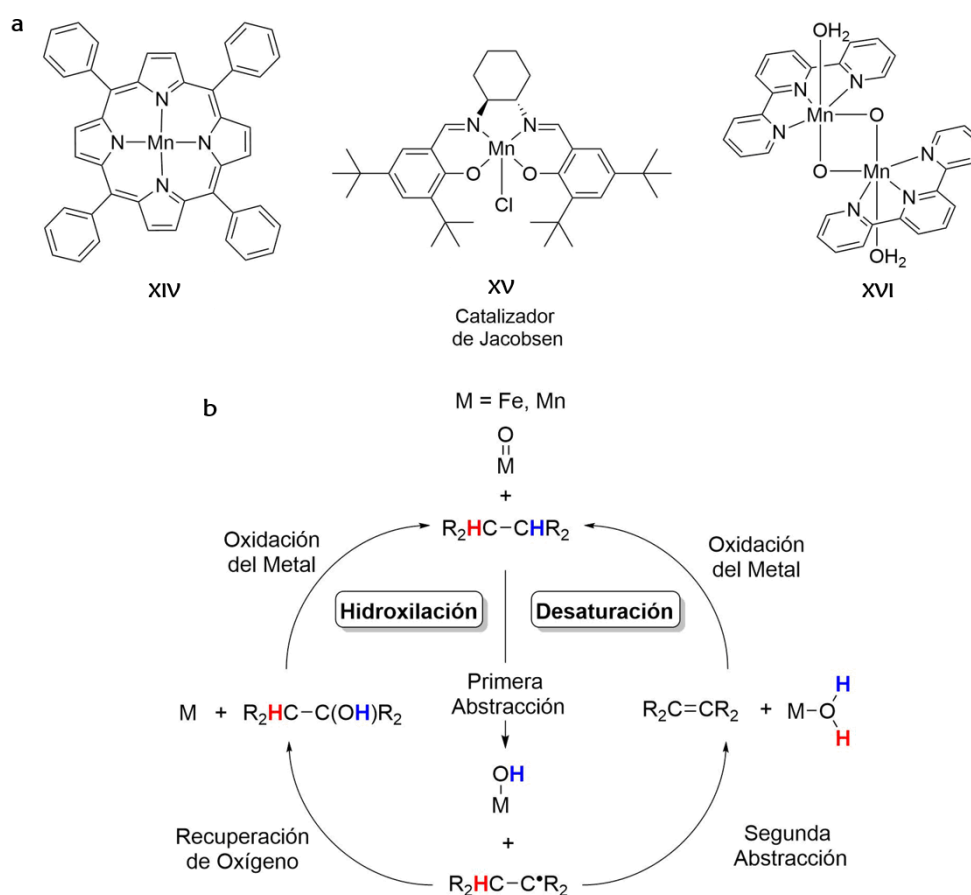


Figura 16. (a) Catalizadores de Mn empleados en el estudio; (b) mecanismo de reacción para la hidroxilación y la desaturación.

⁵⁸ J. F. Hull, D. Balcells, E. L. O. Sauer, C. Raynaud, G. W. Brudvig, R. H. Crabtree, O. Eisenstein, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 7605-7616.

El grupo de Groves, basándose en sus estudios previos sobre proceso de conversión de enlaces C-H alifáticos no reactivos en enlaces C-F mediante un catalizador de manganeso porfirínico,⁵¹ decidieron buscar un nuevo catalizador que cubriera las deficiencias del mismo, ya que no solo obtenían el producto de fluoración sino también el correspondiente producto de oxidación. Así, tras probar una serie de complejos de manganeso, encontraron que el catalizador de Jacobsen⁵⁹ (XV) junto con el trihidrofluoruro de trietilamina (TREAT·HF) como fuente de iones fluoruro generaba los mejores resultados sin observar el producto de oxidación. El mecanismo propuesto para la fluoración con este nuevo complejo de manganeso era análogo al propuesto para los complejos porfirínicos (ver Figura 11). Tras la generación *in situ* del complejo de manganeso fluorado (XVII) tendría lugar la oxidación del mismo, obteniéndose el complejo de Mn(V). Este complejo se encarga de abstraer un átomo de hidrógeno del sustrato dando lugar a un radical alquílico y el correspondiente hidroxocomplejo de Mn(IV), que posteriormente, mediante un mecanismo de recuperación de halógeno, daría lugar al compuesto de fluoración, regenerándose de nuevo el catalizador.⁶⁰ Este nuevo procedimiento para catalizar la formación directa de enlaces C-F presentó un gran alcance y una alta tolerancia a distintos grupos funcionales, así como a diversas moléculas biológicamente activas. Esto les permitió desarrollar un protocolo para el marcaje selectivo con ¹⁸F diversos sustratos y fármacos, obteniendo así radiofármacos, los cuales tienen aplicaciones muy importantes en investigación biomédica.

⁵⁹ Catalizador usado originariamente para realizar transferencia de oxígeno: E. N. Jacobsen, W. Zhang, A. R. Muci, J. R. Ecker, L. Deng, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 7063-7064.

⁶⁰ a) W. Liu, J. T. Groves, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 6024-6027, b) X. Huang, W. Liu, H. Ren, R. Neelamegam, J. M. Hooker, J. T. Groves, *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 6842-6845.

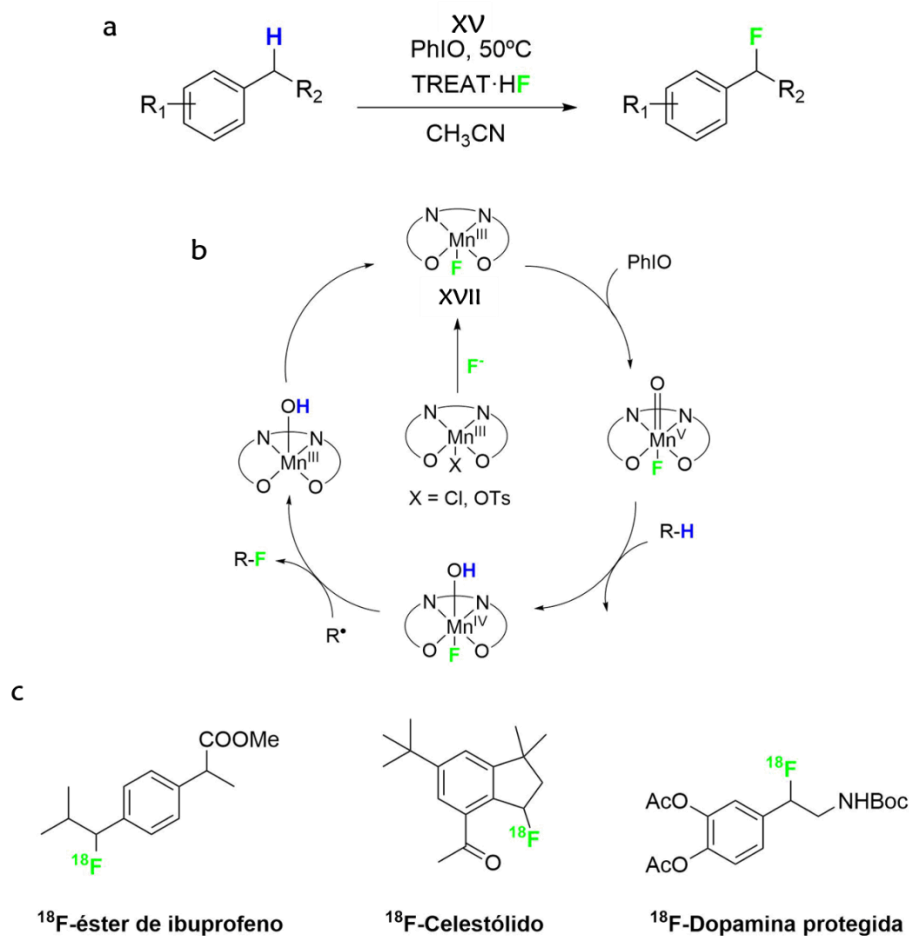


Figura 17. (a) Método y (b) ciclo propuesto para el proceso de fluoración; (c) ejemplos de moléculas biológicamente activas marcadas.

Una gran cantidad de complejos de manganeso mono, di, tri y tetranucleares en distintos estados de oxidación se han sintetizado con el objetivo de descubrir el mecanismo de producción de oxígeno del PSII. Entre ellos destaca el primer complejo bimetalico de manganeso capaz de oxidar enlaces C-H débiles mediante la abstracción de un átomo de hidrogeno sintetizado por Mayer y colaboradores.⁶¹ A través de los valores de potencial electroquímico y de pK_a los autores obtuvieron los valores de BDE para los complejos **XIX** y **XX** generados tras la primera y segunda abstracción de átomo de hidrógeno.

⁶¹ K. Wang, J. M. Mayer, *J. Am. Chem. Am.* **1997**, *119*, 1470-1471.

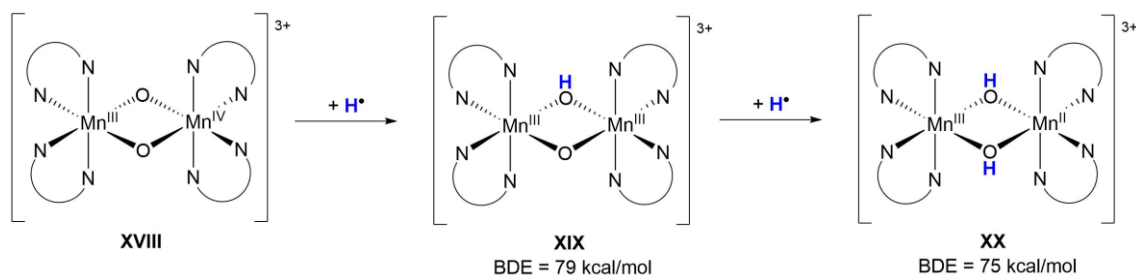


Figura 18. Reactividad de los complejos **XVIII** y **XIX**.

Menos frecuentes son los ejemplos de síntesis de hidroxocomplejos de Mn. Entre ellos destaca el primer complejo monomérico tetravalente de manganeso(IV) **XXII** sintetizado y caracterizado por Busch y colaboradores.⁶² Mediante espectroscopía de rayos X y resonancia Raman demostraron que este complejo presentaba dos grupos hidroxilo como ligandos en posición *cis*. Por otra parte, con ayuda de la estructura de rayos X, estudios de EPR, electroquímicos y medidas de pK_a establecieron el estado de oxidación del centro metálico.

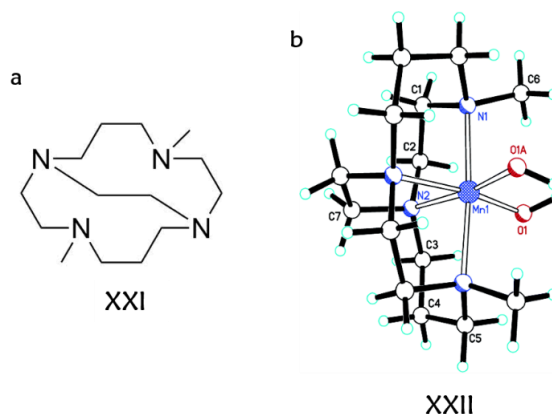


Figura 19. (a) Ligando **XXI** usado para la síntesis del complejo **XXII**; (b) Estructura de rayos X del complejo **XXII**.

De forma similar, el grupo de Costas sintetizó y caracterizó dos nuevos complejos mononucleares no porfirínicos de Mn(IV) con grupos hidroxilo (**XXIII**) y oxido (**XXIV**) como ligandos.⁶³ Al igual que el caso anterior,⁶² el complejo **XXIII** presentaba dos grupos hidroxilo en posición *cis* uno respecto del otro. Este complejo podía transformarse en su

⁶² G. Yin, J. M. McCormick, M. Buchalova, A. M. Danby, K. Rodgers, V. W. Day, K. Smith, C. M. Perkins, D. Kitko, J. D. Carter, W. M. Scheper, D. H. Busch, *Inorg. Chem.* **2006**, *45*, 8052-8061.

⁶³ I. Garca-Bosch, A. Company, C. W. Cady, S. Styring, W. R. Browne, X. Ribas, M. Costas, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 5648-5653.

base conjugada **XXIV** mediante la adición de 1 equivalente de $t\text{BuOK}$ en una mezcla 5:1 $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$, lo que pudo ser monitorizado mediante espectroscopía UV-Visible (Figura 20a). Además, este proceso era reversible y la adición de 1 equivalente de $\text{CF}_3\text{SO}_3\text{H}$ regeneraba el hidroxocomplejo **XXIII**. Los autores estudiaron la reactividad de ambos complejos frente a distintos sustratos para realizar la oxidación de enlaces C-H. Así, mientras que el complejo **XXIII** reaccionaba directamente con el sustrato mediante una abstracción de átomo de hidrógeno (Figura 20b), el complejo **XXIV** pasaba a través de un proceso asociativo reversible entre el sustrato y el oxocomplejo de Mn(IV), formando una especie intermedia **XXV**, teniendo lugar la abstracción de átomo de hidrógeno en el segundo paso de reacción (Figura 20c).

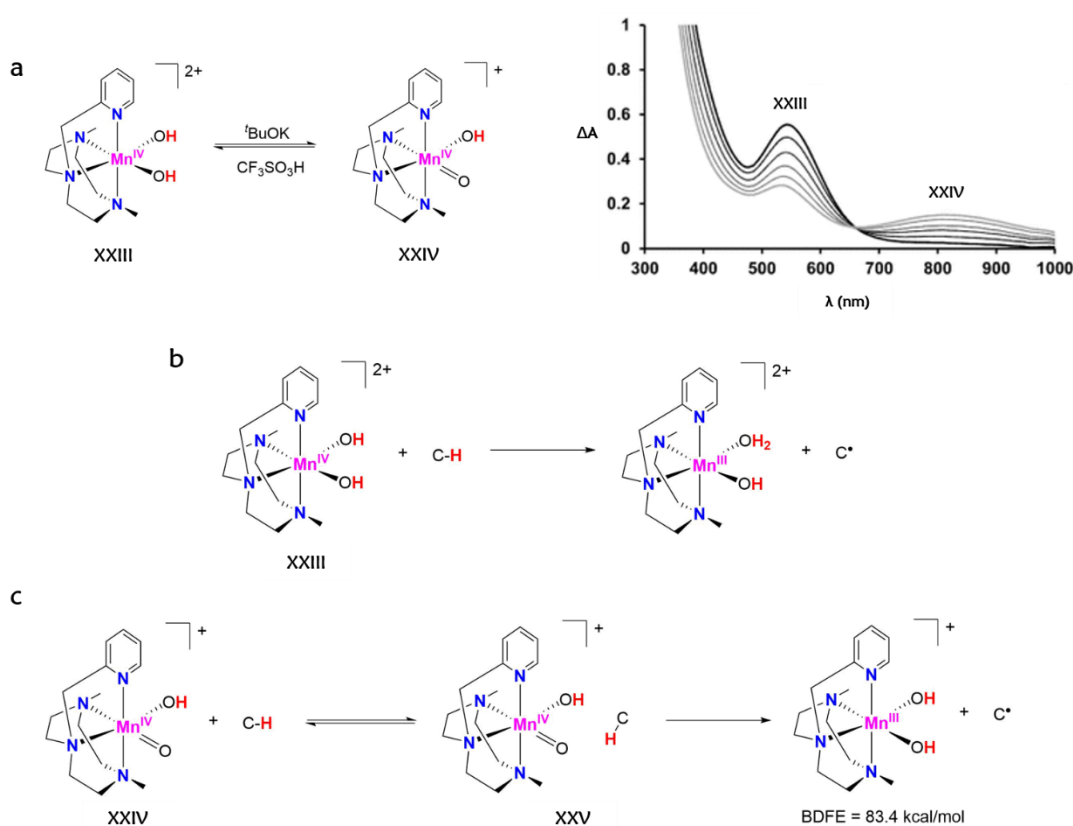


Figura 20. (a) Interconversión entre **XXIII** y **XXIV**; abstracción del átomo de hidrógeno por el complejo de Mn(IV) (b) **XXIII** y (c) **XXIV**.

Por otra parte, el grupo de Borovik⁶⁴ desarrolló una serie de oxocomplejos monoméricos de manganeso con el objetivo de poder comparar su reactividad y conocer el mecanismo de la reacción de oxidación que tenía lugar en presencia de sustratos con C-

⁶⁴ T. H. Parsell, M.-Y. Yang, A. S. Borovik, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 2762-2763.

H. Estudios de reactividad con distintos sustratos demostraron que los complejos **XXVI** y **XXVIII** eran capaces de reaccionar con enlaces C-H con BDE inferiores a 80 kcal/mol. Sin embargo, el mecanismo de reacción seguido fue distinto en cada caso. Esto fue atribuido a la diferencia de basicidad de los oxocomplejos de manganeso.

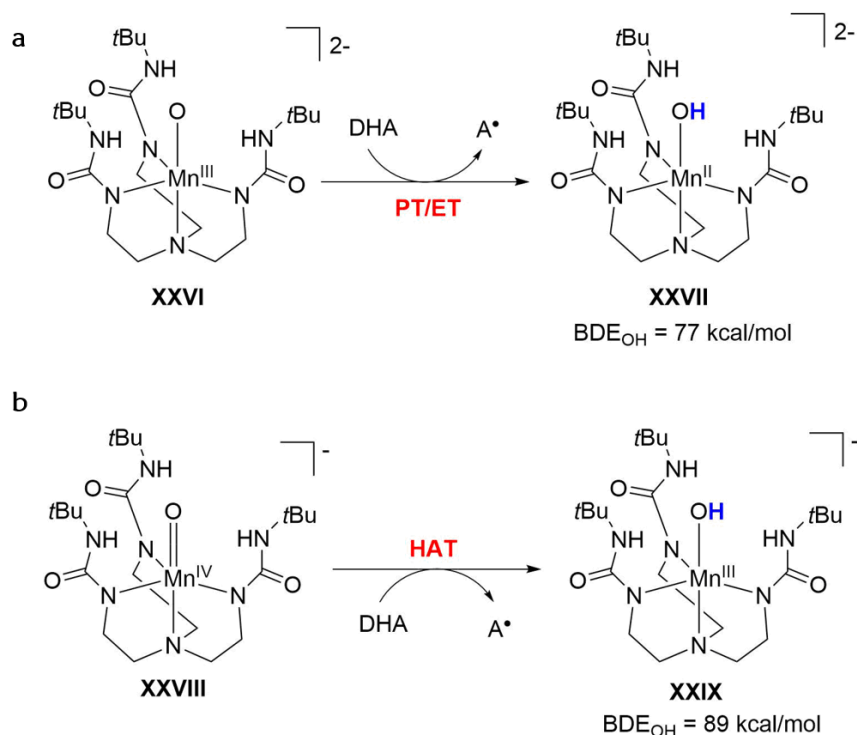


Figura 21. Mecanismo de reacción del complejo (a) **XXVI** y (b) **XXVIII** (A^* = antraceno).

Puesto que la mayoría de las enzimas oxigenasas presentan grupos de hierro no hemo con sitios de unión en posición *cis*, la síntesis de oxocomplejos de Fe(IV) con ligandos tetradentados presenta especial relevancia desde el punto de vista biológico. Así, Costas y colaboradores llevaron a cabo la caracterización química y espectroscópica de un oxocomplejo de Fe(IV) constituido por el ligando tripodal tetradentado **XXX**, el cual dejaba disponibles dos vacantes en posición *cis* para la unión a un grupo oxido y un segundo ligando exógeno.⁶⁵ Este complejo presentaba dos isómeros, ya que las vacantes disponibles no eran equivalentes. Mediante cálculos de DFT pudieron demostrar que el isómero **XXXI** era 2.1 kcal/mol energéticamente más favorable que el **XXXIII**. La principal característica que presentaba el compuesto sintetizado, en comparación con otros oxocomplejos de Fe(IV) de estructura similar, era su alta estabilidad a temperatura

⁶⁵ A. Company, I. Prat, J. R. Frisch, Dr R. Mas-Ballest, M. Güell, G. Juhász, X. Ribas, Dr E. Münck, J. M. Luis, L. Que, Jr., M. Costas, *Chem. Eur. J.* **2011**, *17*, 1622-1634.

ambiente, lo que permitió evaluar distintos aspectos de su reactividad biológicamente relevantes, como la transferencia de átomos de oxígeno a sulfuros, reacciones de abstracción de átomo de hidrogeno y el intercambio del grupo oxido por el átomo de oxígeno procedente de una molécula de agua externa. De esta forma, los autores estudiaron la oxidación de enlaces C-H activados y pudieron observar como tenía lugar la formación del hidroxocomplejo de Fe(III) (**XXXIV**) tras la abstracción de átomo de hidrogeno a distintos sustratos, tales como el ciclohexano con un valor de BDE de 99.3 kcal/mol. Esta reactividad solo era comparable con la del oxocomplejo **XXXV**, el cual representaba uno de los escasos ejemplos de especies oxometálicas capaces de romper enlaces tan fuertes como el del ciclohexano a temperatura ambiente.⁶⁶ Sin embargo, a pesar de dicha estabilidad, con el tiempo este complejo se transformaba en una nueva especie bimetalica **XXXVI**, la cual se caracterizó mediante espectroscopía UV-Vis, masas y rayos X.

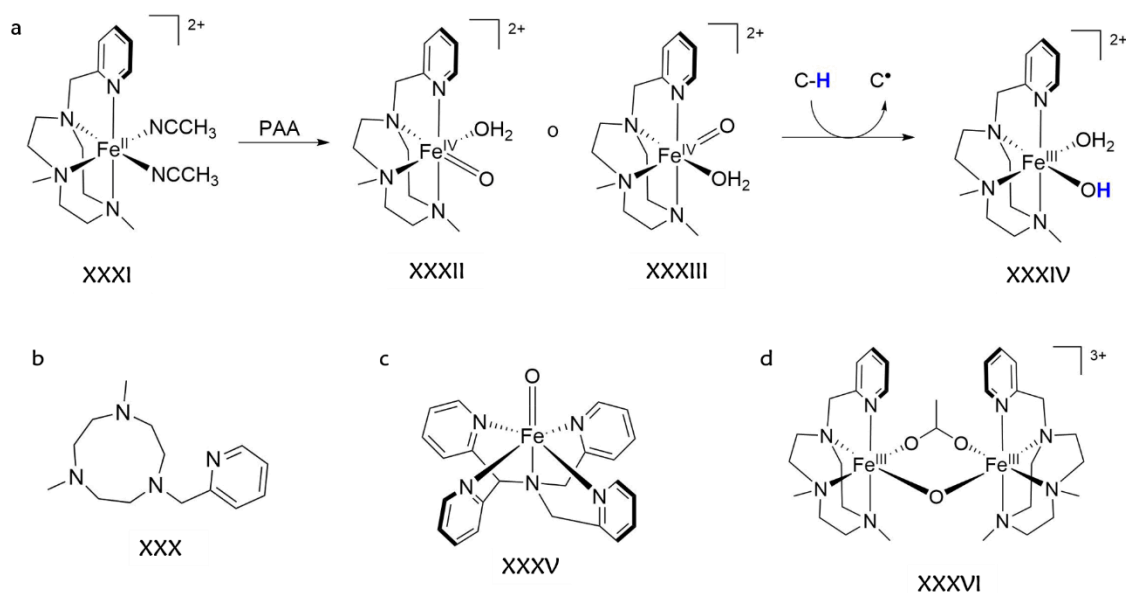


Figura 22. (a) Formación y reactividad de los complejos **XXXI** y **XXXIII**; (b) ligando **XXX**; (c) complejo similar al sintetizado por Costas y (d) dímero del complejo **XXXII/XXXIII**.

Como se vio en el apartado 2.1, en la naturaleza las MMOs son las enzimas encargadas de realizar la hidroxilación del metano mediante el compuesto Q situado en su centro activo. Hasta la fecha, solo se habían publicado dos complejos de dihierro(IV), los cuales

⁶⁶ a) J. Kaizer, E. J. Klinker, N. Y. Oh, J.-U. Rohde, W. J. Song, A. Stubna, J. Kim, E. Münck, W. Nam, L. Que, Jr., *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 472-473; b) D. Wang, M. Zhang, P. Bühlmann, L. Que, Jr., *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 7638-7644.

presentaban una reactividad muy baja en comparación con la desarrollada por el centro activo de las MMOs.⁶⁷ Basándose en estos antecedentes, el grupo de Que sintetizó y caracterizó un nuevo complejo bimetálico de dihierro (IV) **XXXVII** capaz de romper enlaces fuertes C-H y O-H de alcoholes alifáticos por primera vez.⁶⁸ El complejo **XXXVII** estaba constituido por un ligando pentadentado, con cuatro átomos de nitrógeno y otro de oxígeno como grupos donadores unidos al centro metálico. El poder de oxidación de este complejo se debía a su elevado potencial redox (+1.5 V vs Fc/Fc⁺), lo que le permitía romper enlaces C-H con BDE de hasta 100 kcal/mol como el ciclohexano (BDE = 99.3 kcal/mol). Por otra parte, cuando realizaron estudios de reactividad con alcoholes alifáticos tales como metanol (BDE_{CH} = 96.1 kcal/mol, BDE_{OH} = 105.2 kcal/mol) y *t*-butanol (BDE_{CH} = 100 kcal/mol, BDE_{OH} = 106.3 kcal/mol) observaron la ruptura de los enlaces O-H, a pesar de tener una mayor energía de enlace. Por tanto, este complejo era capaz de disociar homolíticamente tanto enlaces C-H como O-H, representando el primer ejemplo de un complejo de hierro capaz de activar enlaces O-H con BDE mayores de 100 kcal/mol.

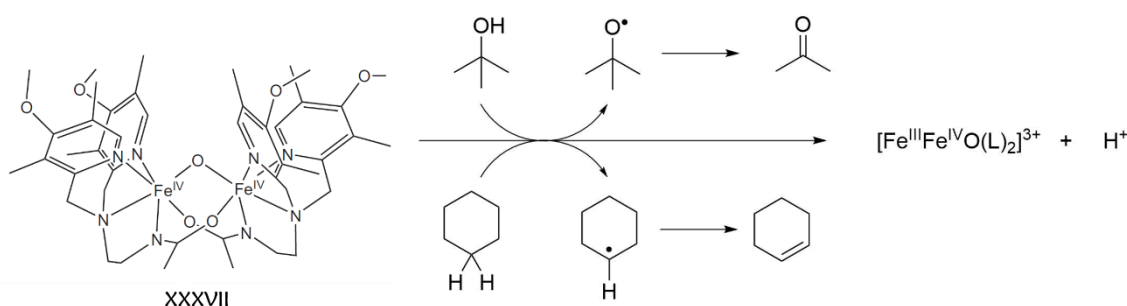


Figura 23. Estructura y reactividad del complejo **XXXVII**.

Poco después, este mismo grupo y basándose de nuevo en el centro activo de las MMOs, publicó la síntesis de un nuevo complejo bimetálico de hierro⁶⁹ **XXXVIII**, de cien a mil veces más reactivo hacia la ruptura de enlaces C-H que sus análogos estructurales sintetizados anteriormente por este grupo (**XXXIX**, **XL** y **XLI**).^{67b,70} Los autores obtuvieron

⁶⁷ a) A. Ghosh, F. T. de Oliveira, T. Yano, T. Nishioka, E. S. Beach, I. Kinoshita, E. Münck, A. D. Ryabov, C. P. Horwitz, T. J. Collins, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 2505-2513; b) G. Xue, D. Wang, R. De Hont, A. T. Fiedler, X. Shan, E. Münck, L. Que, Jr., *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **2007**, *104*, 20713-20718.

⁶⁸ D. Wang, E. R. Farquhar, A. Stubna, E. Münck, L. Que, Jr., *Nat. Chem.* **2009**, *1*, 145-150.

⁶⁹ G. Xue, R. De Hont, E. Münck, L. Que Jr., *Nat. Chem.* **2010**, *2*, 400-405.

⁷⁰ a) Y. Dong, H. Fujii, M. P. Hendrich, R. A. Leising, G. Pan, C. R. Randall, E. C. Wilkinson, Y. Zang, L. Que Jr., B. G. Fox, K. Kauffmann, E. Münck, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 2778-2792; b) H.-F. Hsu, Y. Dong, L. Shu, V. G. Young, Jr., L. Que, Jr., *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 5230-5237; c) G. Xue, A. T. Fiedler, Marlène Martinho, E. Münck, L. Que, Jr., *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **2008**, *105*, 20615-20620.

el complejo **XXXVIII** a partir de dos caminos distintos. Por un lado, mediante la oxidación del complejo **XXXIX** con un equivalente de ferroceno a -80°C o bien a partir del tratamiento de **XL** con tres equivalentes de Bu_4NOH a -60°C . Todos estos complejos, relacionados estructuralmente entre sí, eran capaces tanto de transferir un átomo de oxígeno a la difenil(pentafluorofenil)fosfina como de realizar la abstracción de un átomo de hidrógeno del 9,10-dihidroantraceno (DHA) ($\text{BDE} = 78 \text{ kcal/mol}$), pero solamente el complejo **XXXVIII** presentó una alta reactividad hacia la ruptura de enlaces C-H, demostrando su gran poder oxidante.

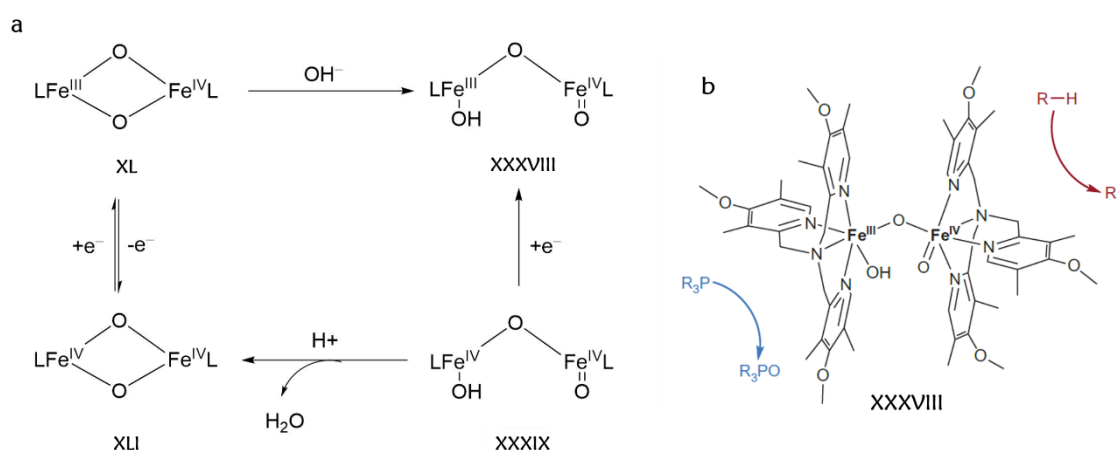


Figura 24. (a) Interconversión de complejos de dihierro; (b) estructura del complejo **XXXVIII**.

El cobre es otro de los elementos presentes en los centros activos de muchas melatoenzimas, como oxidasas y oxigenasas.⁷¹ Por ello, especies oxigenadas de cobre están implicadas en un amplio rango de reacciones de oxidación. Son muchos los complejos de cobre que se han sintetizado con el objetivo de entender el mecanismo de reacción los intermedios oxigenados.⁷² Así por ejemplo, Tolman y colaboradores sintetizaron y caracterizaron un nuevo intermedio oxigenado de Cu(III) **XLII**.⁷³ Además, inspirados por la reactividad que presentaban los hidroxocomplejos de Fe(III) , Mn(IV) y Mn(III) para la activación de enlaces C-H, decidieron examinar el comportamiento que presentaba su nuevo complejo de Cu(III)-OH ante el DHA y el 2,4,6-*tert*-butilfenol. Tras realizar los

⁷¹ E. I. Solomon, U. M. Sundaram, T. E. Machonkin, *Chem. Rev.* **1996**, *96*, 2563-2605.

⁷² a) E. A. Lewis, W. B. Tolman, *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 1047-1076; b) L. M. Mirica, X. Ottenwaelder, T. D. P. Stack, *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 1013-1045; c) L. Q. Hatcher, K. D. Karlin, *J. Biol. Inorg. Chem.* **2004**, *9*, 669-683; d) S. Itoh, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2006**, *10*, 115-122; e) L. Que Jr., W. B. Tolman, *Nature* **2008**, *455*, 333-340.

⁷³ P. J. Donoghue, J. Tehranchi, C. J. Cramer, R. Sarangi, E. I. Solomon, W. B. Tolman, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 17602-17605.

análisis oportunos, pudieron observar que el complejo **XLII** reaccionaba abstrayendo un átomo de hidrogeno de los sustratos generando el correspondiente radical y un acuocomplejo de Cu(II). La reactividad que presentó este complejo de Cu(II) fue mayor que la mayoría de complejos de hierro, manganeso y cobre sintetizados hasta la fecha, y solo podía ser comparable con la reactividad del complejo **XXXVIII** (ver Figura 24).⁶⁹

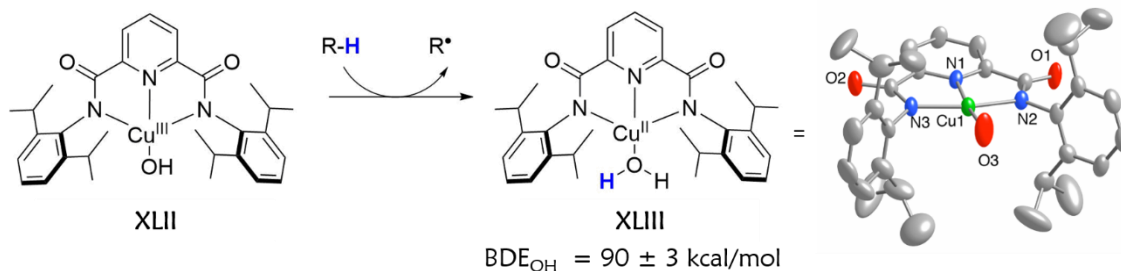


Figura 25. Estructura y reactividad del complejo **XLII**.

Alentados por los resultados obtenidos, el grupo de Tolman realizó una serie de estudios para determinar el valor de BDE del enlace O-H formado en el acuocomplejo **XLIII**, con el objetivo de entender mejor la reactividad de dicho compuesto antes los sustratos con enlaces C-H.⁷⁴ Comenzaron sus estudios empleando THF como disolvente, pero el cambio de color producido tras la disolución del complejo **XLIII** en THF originó el complejo **XLIV**, en el cual se había producido una reacción de intercambio entre el agua y una molécula de disolvente, lo que pudo comprobarse mediante espectroscopía UV-Vis, rayos X, CV y EPR (Figura 26). El hecho de que el complejo **XLII** fuera capaz de reaccionar con el propio THF, abstrayéndole un átomo de hidrógeno, les obligó a emplear 1,2-difluorobenceno (DFB) como disolvente para evaluar la reactividad de dicho complejo frente a distintos sustratos. El compuesto **XLII**, a pesar de ser un oxidante débil ($E_{1/2} = -0.074 \text{ V vs. Fc}^+/\text{Fc}$ en THF), demostró ser capaz de abstraer un átomo de hidrógeno de sustratos con enlaces C-H más fuertes que el del THF ($BDE = 92 \text{ kcal/mol}$). Esto fue posible gracias el elevado valor de BDE obtenido para el enlace OH de $90 \pm 3 \text{ kcal/mol}$, lo que puso de manifiesto su viabilidad como posible especie reactiva en reacciones de oxidación, incluso en los centros metálicos de enzimas de cobre como las monooxigenasas líticas de polisacáridos (LPMO).⁷⁵

⁷⁴ D. Dhar, W. B. Tolman, *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, *137*, 1322-1329.

⁷⁵ N. Gagnon, W. B. Tolman, *Acc. Chem. Res.* **2015**, *48*, 2126-2131.

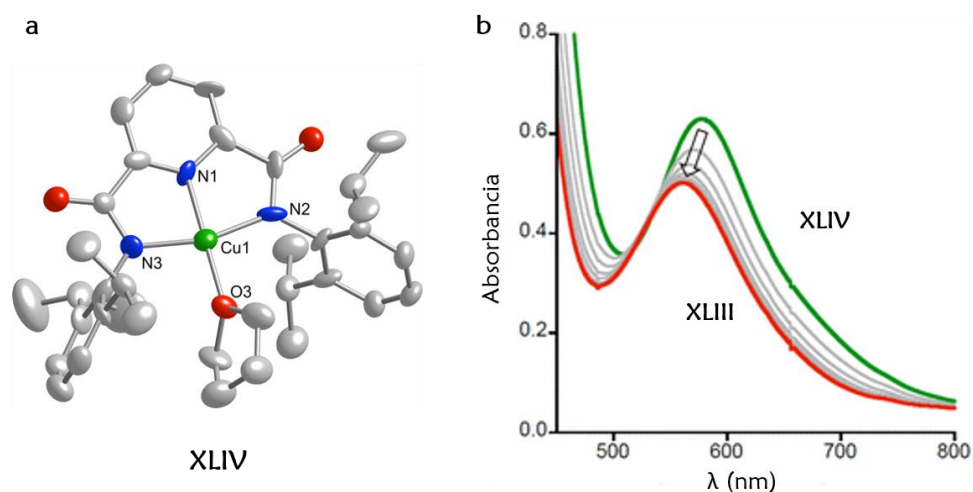


Figura 26. (a) Estructura de rayos X del complejo **XLIV**. (b) Cambios observados en el espectro de absorción del compuesto **XLIV** en THF tras la adición de cantidades crecientes de H_2O .

El grupo de Tolman, con el objetivo de mejorar el poder oxidante de su hidroxocomplejo de Cu(III) **XLIII**, publicó la síntesis de dos nuevos de complejos de Cu(III) similares al anterior, variando las características electrondonantes del ligando (Figura 26). Con ello pretendían averiguar cómo afectaban estas modificaciones electrónicas a los valores de BDE de los enlaces O-H de los acuocomplejos finales y a la reactividad de los hidroxocomplejos de Cu(III) frente a sustratos con enlaces C-H. Tras realizar las medidas de pK_a y potencial redox para cada uno de los nuevos compuestos, calcularon los valores de BDE y observaron que una mejora en los valores de potencial se ve afectada por una disminución en el valor de pK_a , obteniéndose valores de BDE muy similares para los acuocomplejos finales. Solo tenía lugar una ligera compensación entre ambos parámetros mostrando los mejores para el acuocomplejo **XLV**.⁷⁶

⁷⁶ D. Dhar, G. M. Yee, A. D. Spaeth, D. W. Boyce, H. Zhang, B. Dereli, C. J. Cramer, W. B. Tolman, *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138*, 356-368.

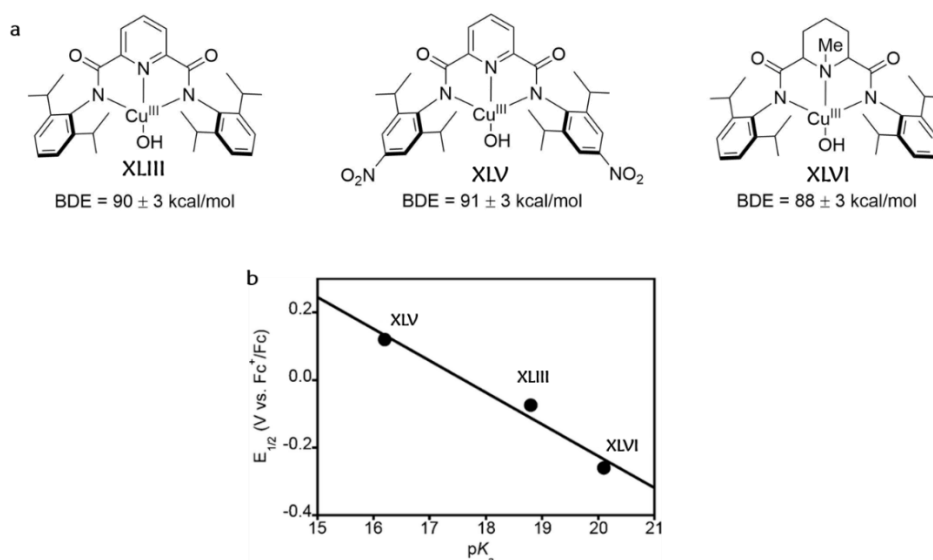


Figura 27. (a) Estructura de los hidroxocomplejos de Cu(III); (b) gráfica de $E_{1/2}$ para la pareja Cu^{3+}/Cu^{2+} frente al pK_a .

Poco después, mediante el estudio de la reactividad del hidroxocomplejo de Cu(III) **XLIII** con una serie de fenoles sustituidos en posición *para*, comprobaron que la abstracción de átomo de hidrogeno podía tener lugar por medio de dos mecanismos distintos. Por un lado, con los fenoles menos ácidos transcurría mediante un mecanismo CPET, obteniéndose el radical fenoxilo directamente, mientras que la aparición de una especie intermedia tenía lugar cuando se empleaban los fenoles más ácidos implicando un mecanismo PT/ET.⁷⁷

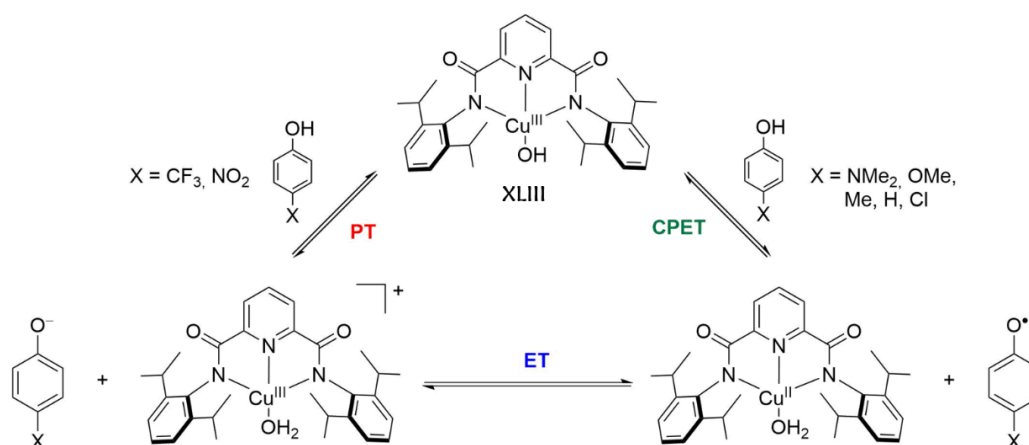


Figura 28. Mecanismo CPET vs PT/ET según el tipo de fenol empleado como sustrato.

⁷⁷ D. Dhar, G. M. Yee, T. F. Markle, J. M. Mayer, W. B. Tolman, *Chem. Sci.* **2017**, *8*, 1075-1085.

4. Complejos sintéticos como donadores de átomos de hidrógeno

En el apartado 2.1 del presente capítulo se mencionó que el PSII es de los pocos, si no el único, proceso que tiene lugar en la naturaleza en el cual se produce la transferencia de un átomo de hidrógeno, procedente de una molécula de agua unida a un clúster de manganeso, hasta un radical tirosilo. Esta reacción, aparentemente sencilla, es la responsable de la producción de casi todo el oxígeno del planeta. Sin embargo, es una reacción termodinámicamente desfavorable ya que la BDE del agua es de 117.6 kcal/mol,⁴⁶ unas 35 kcal/mol mayor que la de la tirosina (BDFE = 86 kcal/mol, BDE = 87.8 kcal/mol).^{3h} Para que este proceso fuera viable, sería necesario que la BDE del agua unida al clúster de manganeso se redujera unas 30 kcal/mol. Por ello, el mecanismo de oxidación del agua en el complejo productor de oxígeno (OEC) del PSII, ha sido siempre uno de los grandes misterios en química, que ha traído de cabeza a un gran número de científicos.

No fue hasta finales del siglo XX, cuando Pecoraro y colaboradores⁷⁸ demostraron por primera vez que la BDE del agua se veía reducida, entre 25-37 kcal/mol, por coordinación al manganeso, lo cual suponía que la abstracción de átomo de hidrógeno por parte de la tirosina era posible, ya que la nueva BDE del agua estaba entre los 82-94 kcal/mol. Para ello emplearon una serie de complejos dímeros de manganeso (Figura 28), que simularan el clúster del PSII.

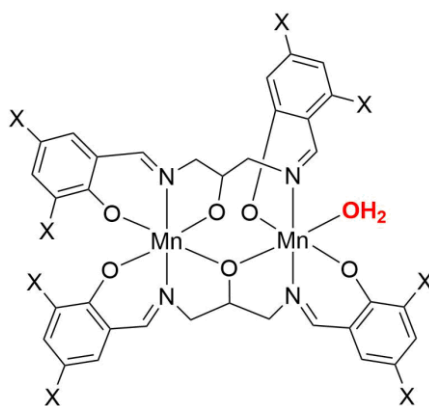


Figura 29. Estructura de los complejos dímeros sintetizados por Pecoraro y colaboradores.

⁷⁸ a) M. J. Baldwin, V. L. Pecoraro, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 11325-11326; b) M. T. Caudle, V. L. Pecoraro, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 3415-3416.

4.1 El agua como donador de átomos de hidrógeno

Esta habilidad del manganeso, de disminuir la BDE de los grupos OH, ha hecho que otros grupos de investigación se centren en este tipo de reactividad, extendiéndolo a otros metales, pudiendo actuar el agua como una potencial fuente de átomos de hidrogeno.

Así, por ejemplo, Borovik y colaboradores sintetizaron una serie de complejos monoméricos de manganeso y de hierro con grupos oxo e hidroxilo terminales, en los que la fuente de los mismos fue el agua.⁷⁹ Los valores de BDE de los enlaces O-H en los hidroxocomplejos de hierro y manganeso se determinaron medidas de pK_a y potencial electroquímico en DMSO. Para corroborar los valores obtenidos, realizaron estudios de reactividad con sustratos que tenían valores conocidos de energías de enlace X-H. Así, por ejemplo, el complejo **XLVII** reaccionaba con el radical TEMPO (BDE = 70 kcal/mol), generando el correspondiente oxocomplejo de Fe(III) y TEMPO-H, demostrando su capacidad como donador de átomos de hidrógeno. Por otra parte, no se observó ningún tipo de reacción cuando el complejo **XXVII** se puso en presencia de TEMPO radical, pero por el contrario si tuvo lugar la reacción entre el complejo **XXVI** y el TEMPO-H, así como con el hidroxocomplejo de Fe(II) **XLVII**, demostrando su menor capacidad como donador de átomos de hidrógeno. Gracias a estos estudios se comprobó una disminución de los valores de BDE de los enlaces O-H por coordinación al centro metálico.

⁷⁹ a) R. Gupta, C. E. MacBeth, V. G. Young, Jr., A. S. Borovik, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 1136-1137; b) R. Gupta, A. S. Borovik, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 13234-13242; c) A. S. Borovik, *Acc. Chem. Res.* **2005**, *38*, 54-61; d) A. S. Borovik, *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 1870-1874.

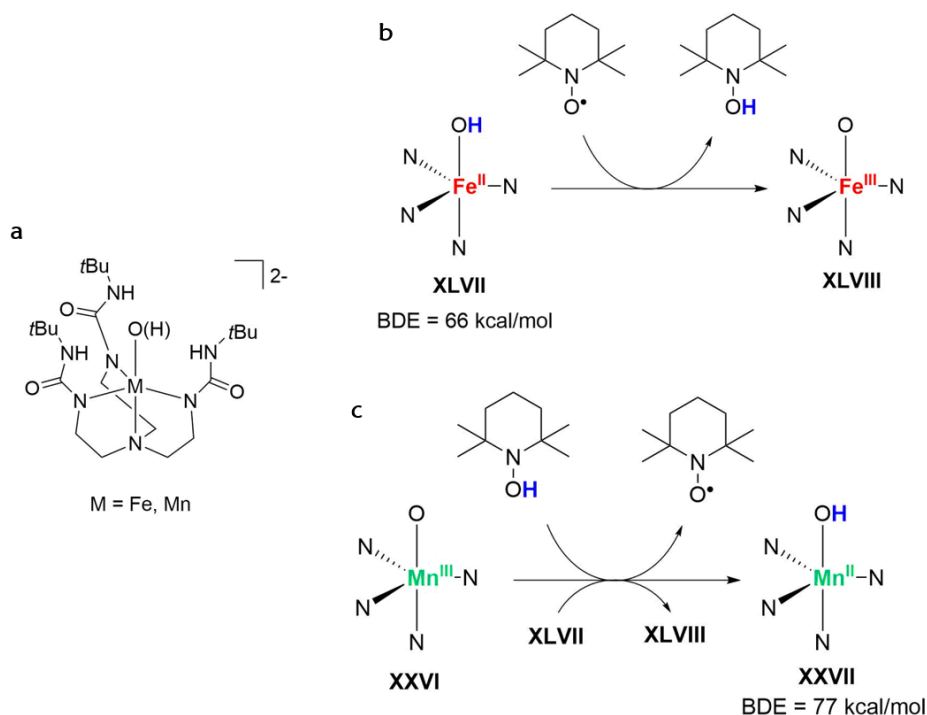


Figura 30. (a) Estructura de los complejos de Borovik; reactividad de los complejos (b) XLVII y (c) XXVI.

Por otra parte, nuestro grupo de investigación⁸⁰ presentó evidencias experimentales y teóricas que indicaban que el agua podía actuar como una fuente de átomos de hidrógeno eficiente en reducciones de radicales carbonados mediadas por complejos de titanio(III). El catalizador empleado fue el cloruro de bis(ciclopentadienil)-titanio(III) (Cp₂TiCl) en combinación con 10 equivalentes de agua. El valor teórico de la BDE en el aquo complejo **XLIX** formado era tan solo de 49.4 kcal/mol, observándose así un gran descenso con respecto al valor teórico correspondiente (108.1 kcal/mol). Estas evidencias además fueron apoyadas por los trabajos de Newcomb, quien determinó la constante de velocidad para la reacción de transferencia de átomo de hidrógeno desde el complejo **XLIX** a radicales alquílicos secundarios. El valor de esta constante fue de $1.0 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, tan solo un orden de magnitud más baja que la correspondiente al HSnBu₃ ($k = 1.4 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$).⁸¹

⁸⁰ a) J. M. Cuerva, A. G. Campaña, J. Justicia, A. Rosales, J. L. Oller-López, R. Robles, D. J. Cárdenas, E. Buñuel, J. E. Oltra, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 552-5526; b) T. Jiménez, A. G. Campaña, B. Bazdi, M. Paradas, D. Arraéz-Román, A. Segura-Carretero, A. Fernández-Gutiérrez, J. E. Oltra, R. Robles, J. Justicia, J. M. Cuerva, *Eur. J. Org. Chem.* **2010**, 4288-4295.

⁸¹ J. Jin, M. Newcomb, *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 7901-7905.

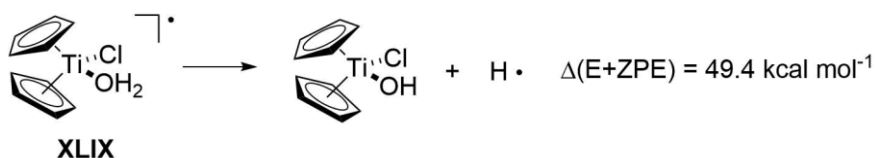


Figura 31. Disminución de la BDE del agua por el complejo **XLIX**.

Este proceso resultó ser un gran método para la apertura reductora de epóxidos mono, di y trisustituidos, así como de sustratos estéricamente impedidos, dando como producto final el correspondiente alcohol con regioquímica anti-Markovnikov (A) siendo, por tanto, una alternativa exitosa a la reacción de hidrobromación/oxidación. Además, es un método barato, seguro y mucho más eficiente que el propuesto por RajanBabu y Nugent⁸² para este tipo de sustratos (B).

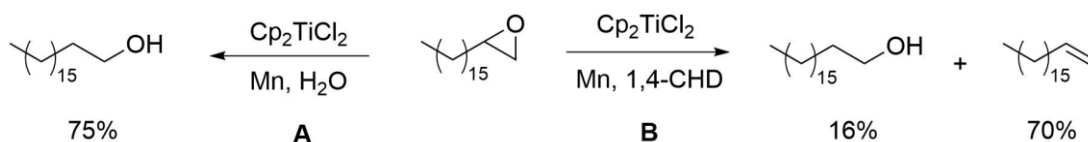


Figura 32. Método de apertura de epóxidos por el complejo **XLIX**.

Con este nuevo método de reducción también demostraron que carbonos radicalarios de muy distinta naturaleza podían reducirse mediante un proceso HAT por combinación de $\text{Cp}_2\text{TiCl}/\text{H}_2\text{O}$. Además de presentar datos experimentales que apoyaban la existencia del aquo complejo **XLIX**.⁸³

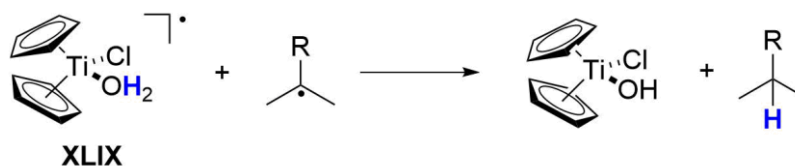


Figura 33. Reducción de carbonos radicalarios por el complejo **XLIX**.

Por otra parte, nuestro grupo de investigación llevó a cabo un exhaustivo estudio sobre la capacidad de coordinación de otros posibles agentes donadores de átomos de hidrogeno al complejo Cp_2TiCl , tales como el metanol, fenol, aminas primarias y

⁸² T. V. RajanBabu, W. A. Nugent, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 986-997.

⁸³ a) M. Paradas, A. G. Campaña, M. L. Marcos, J. Justicia, A. Haidour, R. Robles, D. J. Cárdenas, J. E. Otra, J. M. Cuerva, *Dalton Trans.* **2010**, *39*, 8796-8800; b) M. Paradas, A. G. Campaña, T. Jiménez, R. Robles, J. E. Oltra, E. Buñuel, J. Justicia, D. J. Cárdenas, J. M. Cuerva, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 12748-127556.

secundarias. Los resultados experimentales sugirieron que tan solo el agua y las aminas era capaces de disociar el dímero $(Cp_2TiCl)_2$ (**L**) y por tanto coordinarse al centro metálico. Tras conocer estos resultados, se realizaron estudios teóricos y experimentales para conocer si, además del agua, las aminas, el metanol o el fenol eran capaces de actuar como donadores de átomos de hidrógeno. Finalmente, solo el agua presentó lo mejores resultados, puesto que podía coordinarse al titanio y además ejercer como donador de átomos de hidrógeno.^{83b}

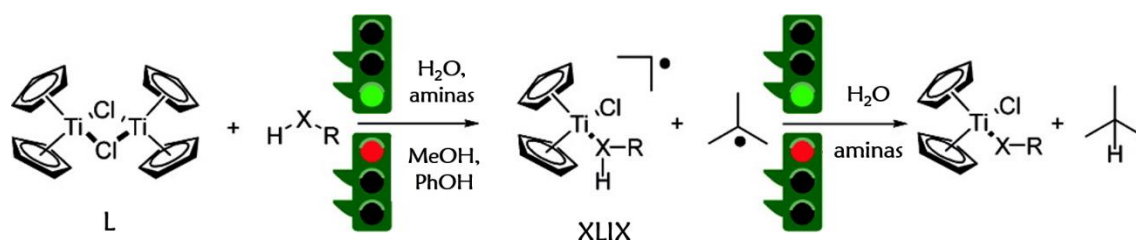


Figura 34. Coordinación de distintos compuestos al complejo **L** y reactividad del complejo **XLIX**.

El grupo de Wood⁸⁴ desarrolló una variante de la reacción de Barton-McCombie mediada por trialquilboranos, en la que los hidruros metálicos podían ser sustituidos por agua como fuente de átomos de hidrógeno. Este método permitía convertir los xantatos de metilo de alcoholes primarios, secundarios y terciarios, en los correspondientes alcanos con rendimientos de buenos a excelentes. Los valores teóricos para la BDE del agua por coordinación en el acuocomplejo de trialquilborano mostró una disminución a 73 kcal/mol, en comparación con las 116 kcal/mol del agua no complejada (ambos datos obtenidos con el mismo método). Estos resultados experimentales fueron posteriormente apoyados por los trabajos de Newcomb.⁸⁵

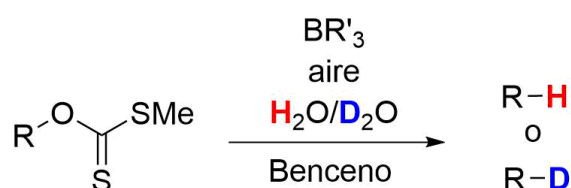


Figura 35. Variante de la Barton-McCombie de Wood.

⁸⁴ D. A. Spiegel, K. B. Wiberg, L. N. Schacherer, M. R. Medeiros, J. L. Wood, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 12513-12515.

⁸⁵ J. Jin, M. Newcomb, *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 5098-5103.

De manera simultánea y muy similar a los resultados publicados por Wood, Renaud y colaboradores publicaron un método para la reducción de organoboranos a alcanos bajo condiciones suaves de reacción, en el que la fuente de átomos de hidrógeno el metanol. De nuevo esto no hubiera podido ser posible sin la coordinación del metanol a compuesto de boro.⁸⁶

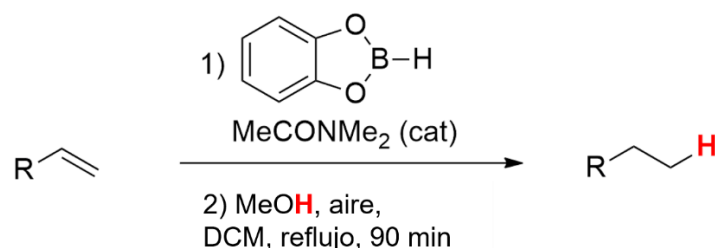


Figura 36. Método para la reducción de organoboranos a alcanos de Renaud.

El reactivo de Kagan (SmI_2) es uno de los reductores monoelectrónicos más usados en química orgánica para la reducción de haluros de alquilo y funciones carbonílicas.⁸⁷ La popularidad del mismo radica en su compatibilidad con una gran variedad de aditivos y codisolventes que incrementan la efectividad y versatilidad del reactivo. En la última década, el agua ha emergido también como un aditivo particularmente valioso en estos procesos mediados por Sm , ya que ha permitido la reducción de un gran número de sustratos, que hasta el momento suponían un reto.⁸⁸ Así, Curran y Hasegawa demostraron que la adición de agua aceleraba la reducción de los grupos funcionales y propusieron que su efectividad se debía a la coordinación entre el agua y el SmI_2 , aunque el mecanismo de la reacción no estaba claro.⁸⁹

Posteriormente, Flowers y colaboradores presentaron un detallado estudio mecanístico de la reducción con $\text{SmI}_2\text{-H}_2\text{O}$ de sustratos no coordinantes, tales como los arenos, y observaron que esta reacción tenía lugar por medio de un proceso de PCET. El

⁸⁶ D. Pozzi, E. M. Scanlan, P. Renaud, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 14204-14205.

⁸⁷ a) M. Szostak, N. J. Fazakerley, D. Parmar, D. J. Procter, *Chem. Rev.* **2014**, *114*, 5959-6039; b) M. Szostak, M. Spain, D. J. Procter, *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 9155-9183.

⁸⁸ a) M. Szostak, M. Spain, D. Parmar, D. J. Procter, *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 330-346; b) R. A. Flowers II, *Synlett* **2008**, *2008*, 1427-1439; c) A. Dahlen, G. Hilmersson, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2004**, *2004*, 3393-3403; d) H. Y. Harb, D. J. Procter, *Synlett* **2012**, *23*, 6-20.

⁸⁹ E. Hasegawa, D. P. Curran, *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 5008-5010.

análisis termodinámico realizado reveló que se producía un debilitamiento del enlace O-H del agua de al menos 72.7 kcal/mol debido a la coordinación al SmI_2 .⁹⁰

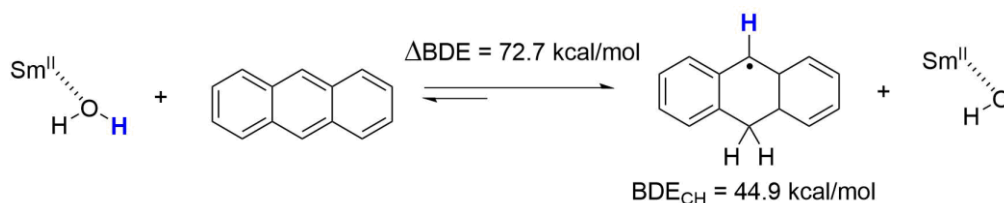


Figura 37. Reducción del antraceno por el sistema $\text{SmI}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$.

En trabajos posteriores, el grupo de Flowers demostró que la reducción con el sistema $\text{SmI}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ no estaba limitada a arenos y podía extenderse a grupos carbonilo, como aldehídos y cetonas desactivadas, teniendo lugar también a través de un proceso tipo PCET.⁹¹

Poco después, Mayer presentó la reducción de enaminas usando la combinación de SmI_2 y H_2O , cuya reducción tiene lugar a través de un proceso de PCET. Las enaminas presentan un doble enlace C-C rico en electrones debido a la donación por resonancia del par de electrones del nitrógeno, lo que las convertía en sustratos interesantes de estudio para este tipo de procesos de reducción.⁹² La realización de un análisis termoquímico por parte de los autores mostró que la BDE del enlace O-H del agua en el sistema $\text{SmI}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ era tan solo de 26 kcal/mol, un valor increíblemente bajo y que demuestra su capacidad de reducción.

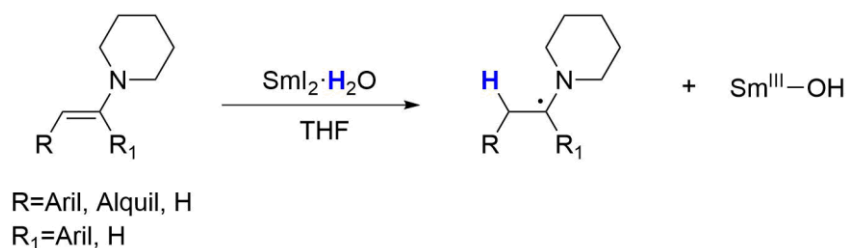


Figura 38. Reducción de enaminas por el sistema $\text{SmI}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$.

⁹⁰ a) T. V. Chciuk, R. A. Flowers II, *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, *137*, 11526-11531; b) T. V. Chciuk, W. R. Anderson Jr., R. A., Flowers II, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 6033-6036.

⁹¹ a) T. V. Chciuk, W. R. Anderson Jr., R. A., Flowers II, *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138*, 8738-8741; b) T. V. Chciuk, W. R. Anderson Jr., R. A., Flowers II, *J. Am. Chem. Soc.* **2018**, *140*, 15342-15352.

⁹² S. S. Kolmar, J. M. Mayer, *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, *139*, 10687-10692.

En los estudios realizados, tanto por Flowers como por Mayer, la fuerza impulsora de la reacción era la disminución de la energía del enlace O-H en el acuocomplejo formado con Sml_2 , lo cual ha permitido realizar la reducción de una amplia variedad de sustratos, como las enaminas o compuestos carbonílicos desactivados.

5. PCET a larga distancia mediados por cadenas de agua

El mecanismo de disociación homolítica de enlaces OH debido a la presencia de un metal, comentado en los apartados anteriores, podría explicar otros procesos que tienen lugar a larga distancia y los cuales no pueden justificarse mediante un mecanismo clásico de transferencia electrónica, como los que ocurren en los centros redox de los sistemas enzimáticos.

Por ejemplo, nuestro grupo de investigación centró sus esfuerzos por entender el mecanismo de estos procesos a larga distancia, por el cual tenía lugar la hidroxilación del carbono terminal en péptidos extendidos de glicina.⁹³ En este proceso está involucrada la peptidil glicina α -hidroxilmonooxigenasa (PHM), una enzima que presenta en su centro activo dos complejos de cobre separados una distancia de 10-11 Å.⁹⁴

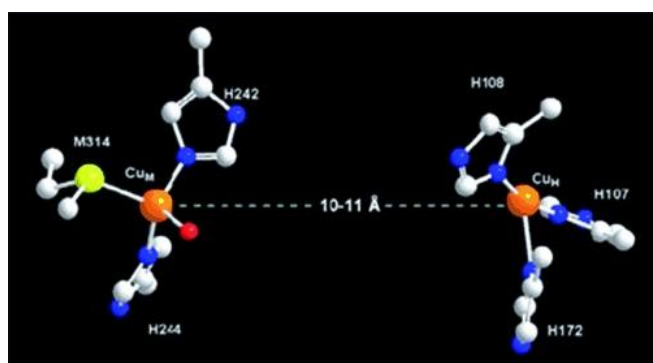


Figura 39. Centro activo de la PHM.

En este estudio se presentaron por primera vez evidencias teóricas sólidas sobre un mecanismo novedoso para este proceso, basado en una cadena de moléculas de agua, que podía explicar la transferencia electrónica entre dos centros metálicos a través de un “cable” de moléculas de agua.

⁹³ D. J. Cárdenas, J. M. Cuerva, M. Alías, E. Buñuel, A. G. Campaña, *Chem. Eur. J.* **2011**, *17*, 8318-8323.

⁹⁴ S. T. Prigge, A. S. Kolhekar, B. A. Eipper, R. E. Mains, L. M. Amzel, *Science* **1997**, *278*, 1300–1305.

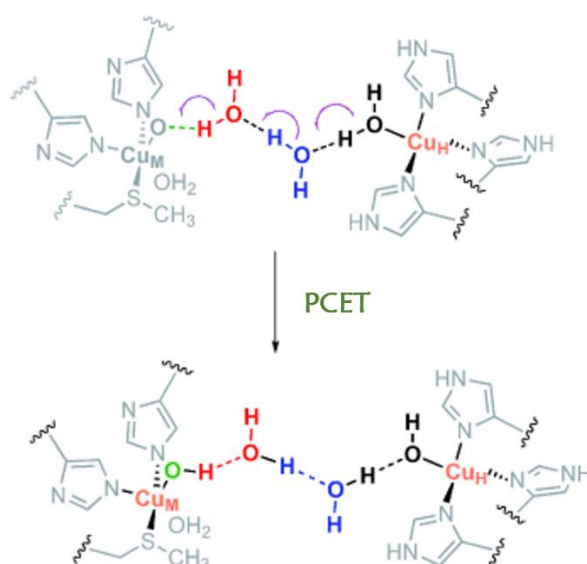


Figura 40. Transferencia de átomo de hidrógeno a larga distancia.

Este proceso ha servido para explicar la antigua controversia existente sobre la interconversión entre iones simples de Fe(II) y Fe(III) en agua.⁹⁵ Este proceso presenta una constante de velocidad anormalmente rápida que determina la eficiencia del proceso global de transferencia electrónica ($k_{ET} = 10^{10} \text{ mol}^{-1}\text{s}^{-1}$). Además, esta transferencia se ha observado incluso en disoluciones acuosas a -78°C , demostrando que este fenómeno tendría lugar de manera muy eficaz incluso a distancias extremadamente largas (100 \AA).⁹⁶

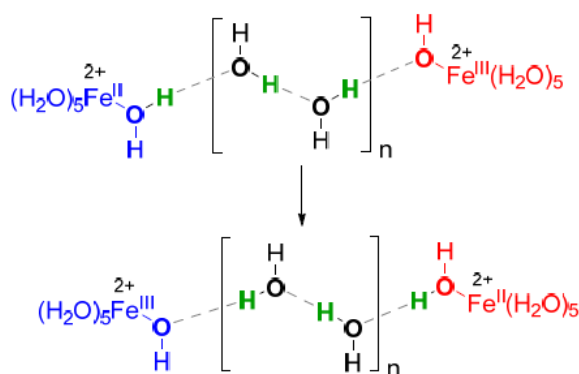


Figura 41. Interconversión de Fe(II)/Fe(III) en agua.

⁹⁵ (a) J. Silverman, R. W. Dodson, *J. Phys. Chem.* **1952**, *56*, 846-852; (b) J. Hudis, R. W. Dodson, *J. Am. Chem. Soc.* **1956**, *78*, 911-913; (c) J. T. Hupp, M. J. Weaver, *Inorg. Chem.* **1983**, *22*, 2557-2564; (d) L. Eimer, A. I. Medalia, R. W. Dodson, *J. Chem. Phys.* **1952**, *20*, 743-744.

⁹⁶ R. A. Horne, *J. Inorg. Nucl. Chem.* **1963**, *25*, 1139-1146.

El agua actuaría por tanto formando “cables basados en átomos de hidrógeno”, conectando centros metálicos y mediando transferencias electrónicas a largas distancias, mediante la rotura y formación de varios enlaces O-H, por lo que este fenómeno podría no encontrarse solamente en enzimas capaces de conectar acuo- e hidroxocomplejos.

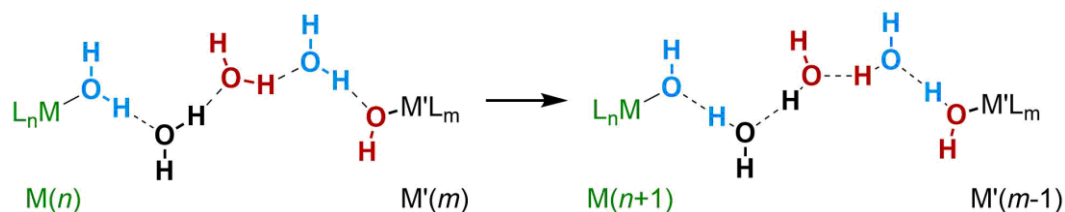


Figura 42. Esquema general de “cable” de moléculas de agua.

Todos estos resultados demuestran que el agua puede ser un remarkable agente de transferencia de átomos de hidrógeno, además de ser un reactivo barato y seguro.

6. Reactividad de enlaces N-H por coordinación a metales

El cambio de reactividad que presentan los enlaces O-H por coordinación a un centro metálico ha hecho que estos estudios se extiendan a compuestos similares, como los que presentan enlaces N-H (amidas, imidazoles,⁹⁷ imidazolininas⁹⁸ y aminas), demostrando que el debilitamiento de los enlaces X-H por coordinación a metales de baja valencia, no es solo un fenómeno ligado al agua o a alcoholes.

Las amidas presentan valores de BDE muy elevados (BDE= \sim 95-110 kcal/mol; BDFE_{calc.}= \sim 93-108 kcal/mol).⁹⁹ Recientemente, el grupo del profesor Gansäuer¹⁰⁰ desarrolló dos nuevos sistemas catalíticos para la transferencia de átomos de hidrógeno que involucraban la ruptura de enlaces N-H en un complejo de titanoceno (III) que presentaba grupos amida en su estructura. Los cálculos teóricos realizados de indicaron que había una activación del enlace N-H, mostrando un gran descenso en la BDFE (34.5 kcal/mol) por coordinación al Ti(III).

⁹⁷ J. J. Warren, J. M. Mayer, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 2774-2776.

⁹⁸ J. P. Roth, J. M. Mayer, *Inorg. Chem.* **1999**, *38*, 2760-2761.

⁹⁹ a) F. G. Bordwell, J. A. Harrelson, T.-Y. Lynch, *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 3337-3341; b) F. G. Bordwell, G.-Z. Ji, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 8398-8401; c) F. G. Bordwell, S. Zhang, X.-M. Zhang, W.-Z. Liu, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 7092-7096; d) J.-P. Cheng, Y. Zhao, *Tetrahedron*, **1993**, *49*, 5267-5276; e) J. R. B. Gomes, M. D. M. C. Ribeiro da Silva, M. A. V. Ribeiro da Silva, *J. Phys. Chem. A* **2004**, *108*, 2119-2130.

¹⁰⁰ Y.-Q. Zhang, V. Jakoby, K. Stainer, A. Schmer, S. Klare, M. Bauer, S. Grimme, J. M. Cuerva, A. Gansäuer, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2016**, *55*, 1523-1526.

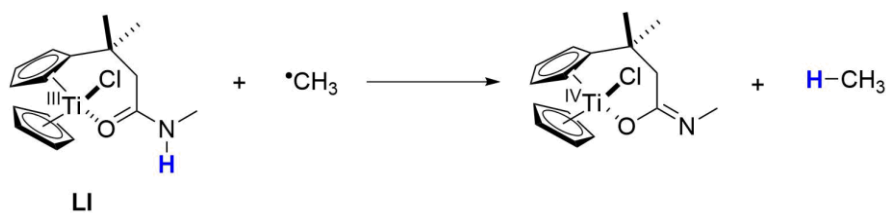


Figura 43. Reducción de un metil radical por el complejo de Ti(III) **LI**.

Por otra parte, el grupo de Knowles¹⁰¹ describió un nuevo protocolo catalítico de aminación reductora donde los enlaces N-H de arilamidas (BDFE = ~100 kcal/mol) eran desestabilizados unas 33 kcal/mol por coordinación a un complejo de titanoceno(III) (**LII**), permitiendo la abstracción de un átomo de hidrógeno por el TEMPO (débil aceptor de átomos de hidrógeno) mediante un proceso de PCET (Figura 44).

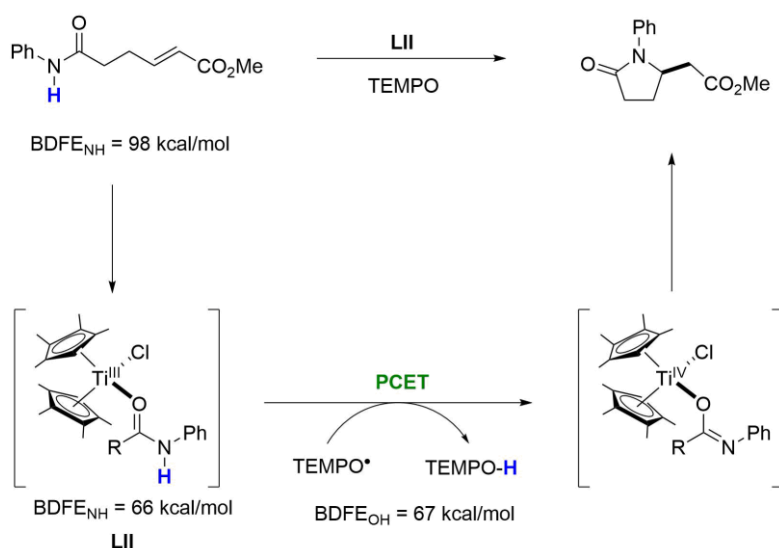


Figura 44. Aminación reductora mediante PCET

El grupo del profesor Flowers,¹⁰² basándose en los trabajos de Gansäuer y Knowles previamente mencionados, propusieron el debilitamiento de enlaces N-H de amidas secundarias por coordinación a especies de Sm(II), lo cual supuso el descubrimiento de un nuevo aditivo, compatible con el SmI₂ y que permitía una transferencia de hidrógeno a un gran número de sustratos. En este caso, los valores teóricos encontrados de BDFE para

¹⁰¹ K. T. Tarantino, D. C. Miller, T. A. Callon, R. R. Knowles, *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, *137*, 6440-6443.

¹⁰² T. V. Chciuk, A. M. Li, A. Vazquez-Lopez, W. R. Anderson Jr., R. A. Flowers II, *Org. Lett.* **2017**, *19*, 290-293.

los enlaces N-H presentó un rango de 70.8-63.1 kcal/mol, lo que está en consonancia con los valores obtenidos en el caso de complejos de Ti(III).

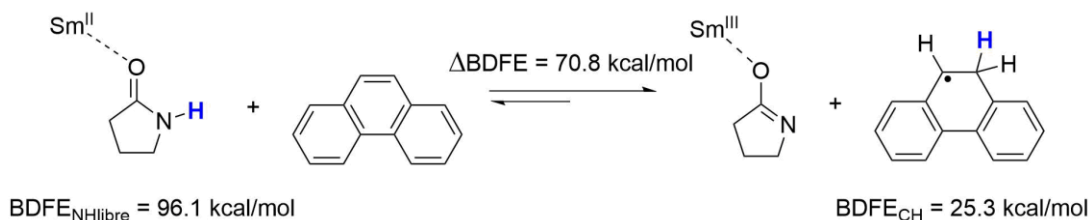


Figura 45. Empleo de amidas como fuente de átomos de hidrógeno.

Por otra parte, el grupo de Chirik realizó la síntesis de metallocenos de titanio y zinc que presentaban grupos N-H en su estructura, con el objetivo de llevar a cabo la síntesis de amoníaco a partir de ellos.¹⁰³ Mediante estudios teóricos y experimentales determinaron los valores de BDFE de los enlaces N-H en el titanoceno y zirconoceno. Además, pudieron observar que la coordinación del amoníaco en ambos metallocenos disminuía su valor de BDFE en unas 40 kcal/mol en comparación con el valor para el amoníaco libre en fase gas (BDFE = 99.4 kcal/mol). Poco después, este mismo grupo sintetizó una familia de metallocenos de titanio y de zinc con grupos amida, hidrazida e imida en su estructura. Con ellos pretendían formar enlaces N-H que, en última instancia, servirían para la síntesis catalítica de aminas o hidrazinas mediante una PCET, utilizando H_2 como fuente de átomos de hidrógeno.¹⁰⁴

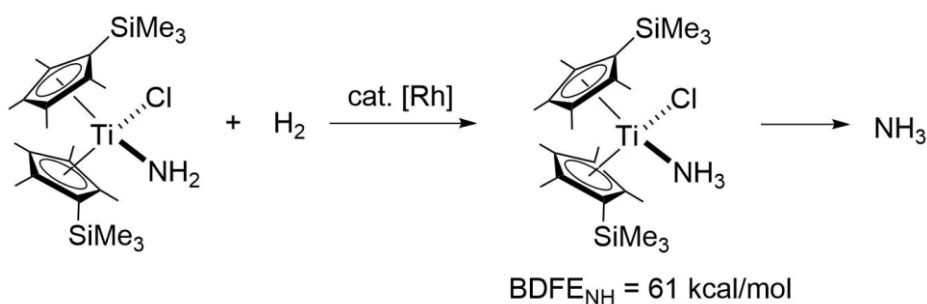


Figura 46. Síntesis catalítica de NH_3 mediante PCET.

Este mismo grupo realizó la síntesis de una serie de complejos de molibdeno capaces de promover la ruptura de las moléculas de amoníaco, agua o hidrazina por coordinación

¹⁰³ I. Pappas, P. J. Chirik, *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, *137*, 3498-3501.

¹⁰⁴ I. Pappas, P. J. Chirik, *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138*, 13379-13389.

al centro metálico. Gracias a esta coordinación los valores de BDE de los enlaces O-H y N-H disminuyen en gran medida, lo que permite la posterior producción de hidrógeno.¹⁰⁵

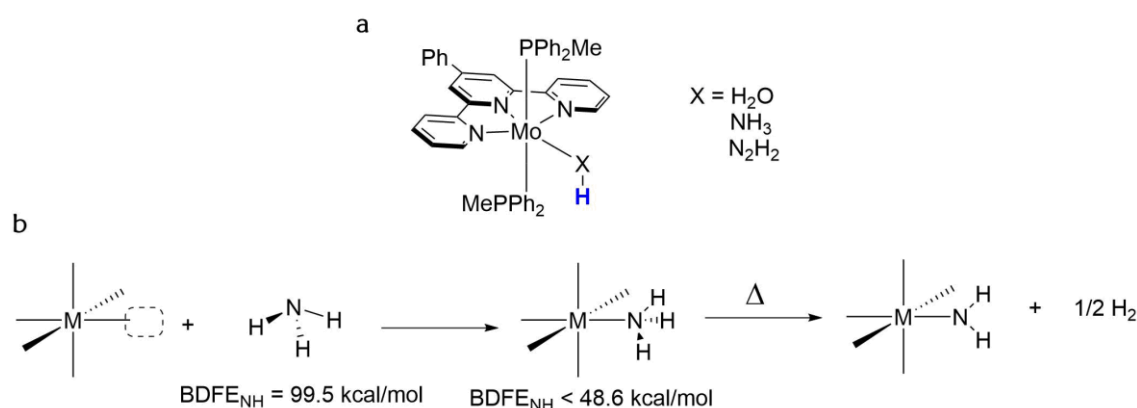


Figura 47. (a) Estructura general de los complejos de molibdeno; b) mecanismo que permite la producción de hidrógeno.

Poco después y de forma similar, este grupo publicó también la síntesis de unos nuevos complejos de molibdeno, usando la bis(imino)piridina y la terpiridina como ligandos. Estos nuevos complejos, al igual que sus análogos anteriores, permitieron la formación de H₂. La ventaja que presentaron estos complejos frente a sus predecesores fue que la activación de los enlaces N-H podía ser reversible. Además, a partir de ellos se podía acceder a complejos de molibdeno con un grupo nitruro terminal.¹⁰⁶ Inspirados en este trabajo sintetizaron y publicaron la interconversión de un nuevo complejo de molibdeno mediante PCET.¹⁰⁷

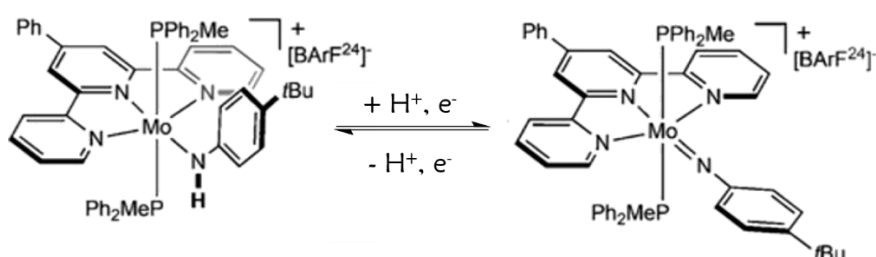


Figura 48. Interconversión entre el imido y el amido complejo de molibdeno.

¹⁰⁵ a) M. J. Bezdek, S. Guo, P. J. Chirik, *Science*, **2016**, *354*, 730-733; b) J. Hoover, *Science* **2016**, *354*, 707-708.

¹⁰⁶ G. W. Margulieux, M. J. Bezdek, Z. R. Turner, P. J. Chirik, *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, *139*, 6110-6113.

¹⁰⁷ M. J. Bezdek, P. J. Chirik, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2018**, *57*, 2224-2228.

CAPÍTULO I

OBJETIVOS

Los antecedentes mostrados anteriormente demuestran que el proceso de debilitamiento del enlace O-H por coordinación con metales es bastante general y podría tener implicaciones en los campos de la Química y la Bioquímica. Así, por ejemplo, se podrían desarrollar transferentes de átomos de hidrógeno como alternativa a los anteriormente señalados de forma más controlada en el aspecto estérico y por tanto más útiles en reducciones enantioselectivas. En este sentido, metales de transición con una esfera de coordinación controlada podrían ser una buena aproximación a este objetivo.

En cualquier caso, es necesario en primer lugar profundizar en el conocimiento de este tipo de fenómenos de transferencia en metales de transición. En la presente Tesis Doctoral nos propusimos aportar luz sobre procesos de debilitamiento de enlaces O-H mediados por metales de transición. Así, nos planteamos llevar a cabo el diseño y la síntesis de una serie de ligandos derivados del mep¹⁰⁸ (mep = *N,N'*-dimetil-*N,N'*-bis(2-piridilmetil)etano-1,2-diamina), que permitieran realizar un estudio teórico-experimental, y de las posibles aplicaciones, del grado de debilitamiento de enlaces O-H/(CO)N-H por coordinación con diferentes metales. Aunque los ligandos pueden ser utilizados con numerosos metales de la Tabla Periódica, como estudio inicial usaremos como modelo la pareja de especies metálicas Fe(II)/Fe(III).

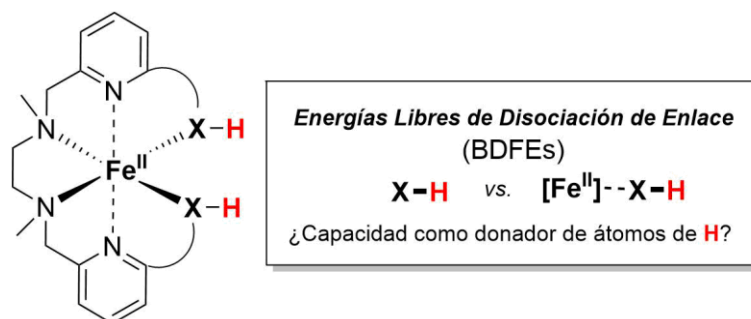


Figura 49. Hipótesis de trabajo.

Una de las principales ventajas que presentaría este estudio con respecto a los pocos estudios experimentales previos es que los grupos X-H estudiados forman parte del propio ligando, lo que impide su labilidad en disolución.

Además, mediante este estudio obtendríamos valores de BDFE de enlaces amida, ya que hasta la fecha no hay valores experimentales acerca del debilitamiento de estos enlaces

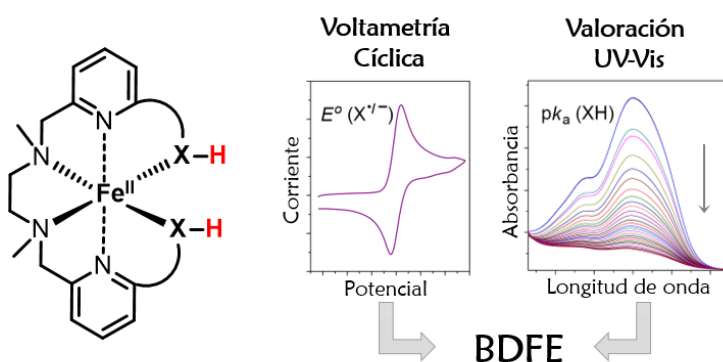
¹⁰⁸ H. Toftlund, E. Pedersen, S. Yde-Andersen, *Acta Chem. Scand., Ser. A* **1984**, *38*, 693-697.

por coordinación a metales. La activación de enlaces amida por complejación sería una alternativa interesante como nuevos agentes donadores de átomos de hidrógeno, ya que estas pueden obtenerse fácilmente a partir de ácidos carboxílicos y aminas, ampliando la diversidad estructural. Además, de obtener resultados satisfactorios sería fácil introducir quiralidad en el sistema aprovechando la química de aminoácidos y péptidos, pudiendo generar en el caso más favorable un “pocket” peptídico con el átomo de Fe(II) en el centro activo del sistema.

Como se ha dicho anteriormente, la modificación de la BDFE de los grupos X-H por coordinación a Fe(II) permitiría su uso como fuentes potenciales de átomos de hidrogeno, en comparación con otros agentes donadores descritos en bibliografía.¹⁰⁹

Los valores de BDFE de los enlaces O-H/(CO)N-H se obtendrán experimentalmente usando la Ecuación 7 propuesta por Bordwell,¹² teniendo en cuenta el esquema termodinámico de reacciones de protonación-reducción (ver Esquema 9).

Por su parte, el valor de BDFE, tal y como se expuso en la introducción, se relaciona con medidas experimentales de pK_a y electroquímicas en DMSO. Por tanto, mediante valoraciones espectrofotométricas de UV-Vis obtendremos los correspondientes valores de pK_a de nuestros compuestos objetivo.¹¹⁰ Las medidas electroquímicas se estudiarán mediante voltamperometría cíclica y de onda cuadrada.¹¹¹



¹⁰⁹ A. Gansäuer, L. Shi, M. Otte, I. Huth, A. Rosales, I. Sancho-Sanz, N. M. Padial, J. E. Oltra, *Radicals in Synthesis III. Topics in Current Chemistry*, ed. M. Heinrich and A. Gansäuer, Springer, Berlin, Heidelberg, 2011, pp. 93–120.

¹¹⁰ a) W. S. Matthews, J. E. Bares, J. E. Bartmess, F. G. Bordwell, F. J. Cornforth, G. E. Drucker, Z. Margolin, R. J. McCallum, G. J. McCollum, N. R. Vanier, *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, *97*, 7006-7014; b) W. N. Olmstead, Z. Margolin, F. G. Bordwell, *J. Org. Chem.* **1980**, *45*, 3295-3299.

¹¹¹ a) N. Elgrishi, K. J. Rountree, B. D. McCarthy, E. S. Rountree, T. T. Eisenhart, J. L. Dempsey, *J. Chem. Educ.* **2018**, *95*, 197-206; b) G. A. Mabbott, *J. Chem. Educ.* 1983, *60*, 697-702.

Figura 50. Metodología de trabajo.

De esta forma obtendremos los valores de pK_a y E^0 para cada uno de nuestros compuestos objetivos, lo cuales nos servirán para determinar los valores de BDFE de los grupos OH/(CO)NH introduciendo dichos valores en la Ecuación 7. Con los datos obtenidos mediante nuestro estudio podremos determinar la posible aplicación práctica de este tipo de compuestos en síntesis orgánica.

El par Fe(II)/Fe(III) fue seleccionado con el objetivo de obtener bajos valores de BDFE. Para ello es necesario que los potenciales de reducción sean razonablemente negativos. Por ello, se examinaron metales cuyo potencial fuera negativo y más pequeño que el del sistema Fc/Fc⁺, el cual usaremos como referencia para nuestras medidas electroquímicas. Viendo las tablas de potenciales, pocos son los metales que podrían cumplir las características que buscamos, además de ser fácilmente manipulables. Por todo ello decidimos emplear el sistema Fe(II)/Fe(III), ya que cedía fácilmente electrones y era razonablemente ácido de Lewis, además de ser altamente accesible y ser uno de los metales cuya presencia era más abundante en la naturaleza.

CAPÍTULO I

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. DISEÑO Y SÍNTESIS DE LIGANDOS Y COMPLEJOS DE Fe(II)

1.1 Síntesis de los ligandos 1-4

Para comenzar nuestro estudio, planteamos la síntesis de los ligandos **1-4** (ver Figura 51), utilizando el compuesto comercial *N,N'*-dimetiletilendiamina como material de partida. Posteriormente, utilizamos dichos ligandos para la preparación de nuestros complejos objetivo.

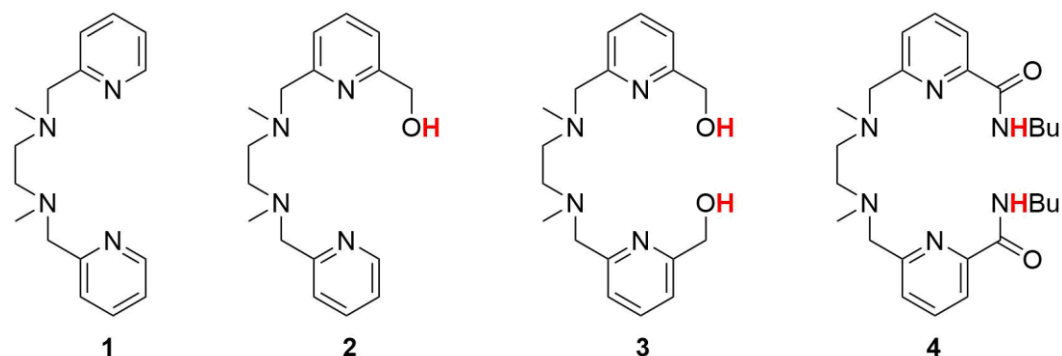
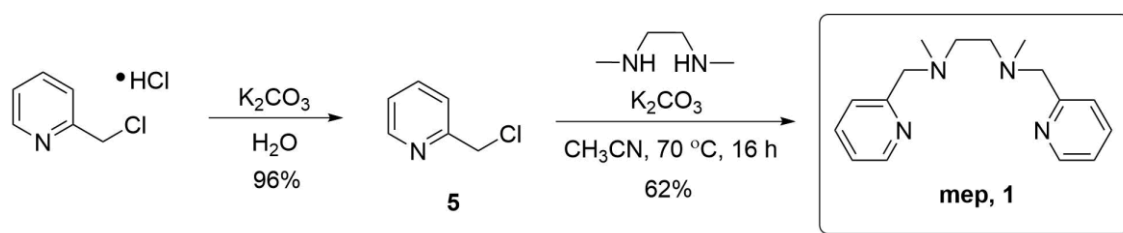


Figura 51. Estructura de los ligandos objetivo.

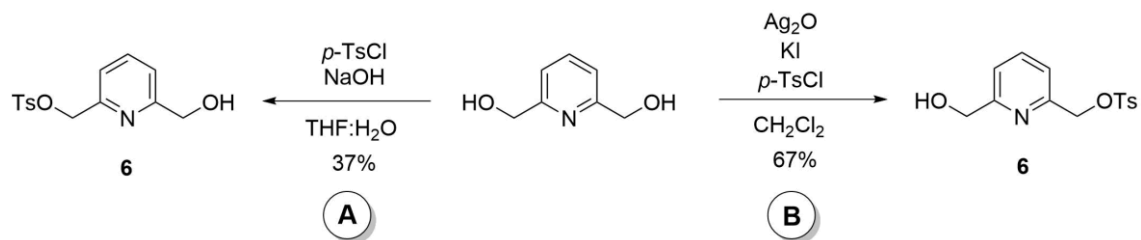
En primer lugar, se llevó a cabo la síntesis del ligando *N,N'*-dimetil-*N,N'*-bis(2-piridilmetil)etano-1,2-diamina (mep, **1**)¹⁰⁸ que no presenta grupos hidroxilo o amida en su estructura y que sirve como complejo modelo. El tratamiento con K_2CO_3 del producto comercial hidrocloreto de 2-(clorometil)piridina generó el compuesto **5** con un excelente rendimiento. Tras la posterior reacción de alquilación entre la *N,N'*-dimetiletilendiamina y el compuesto **5** pudimos obtener el ligando **1** con un rendimiento del 62%.



Esquema 17. Síntesis del ligando mep(1).

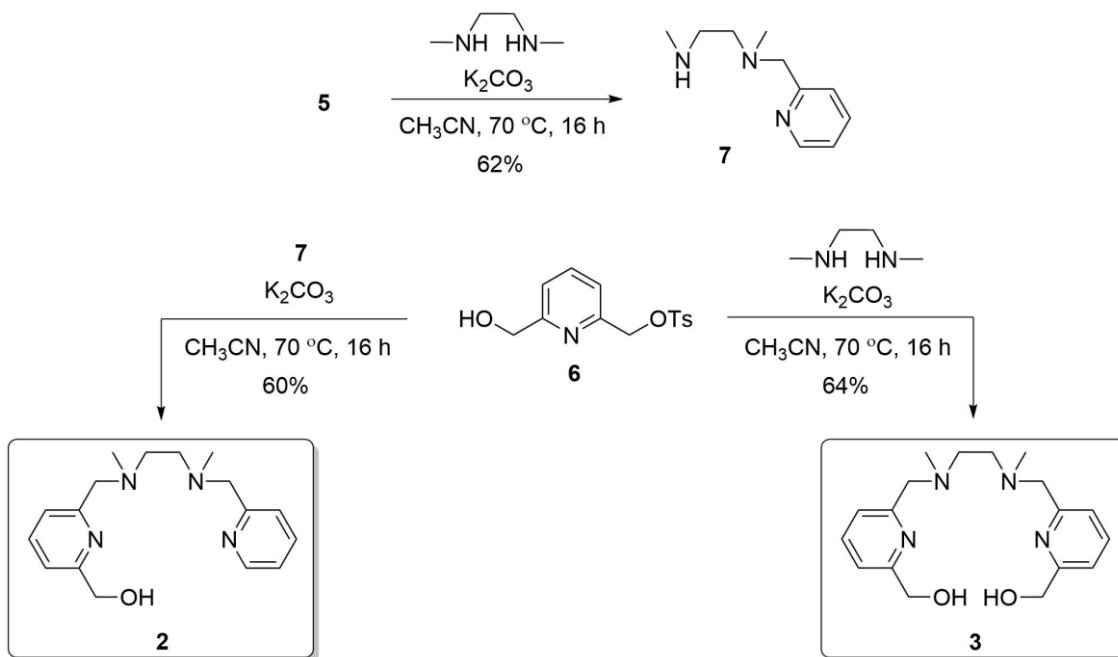
A continuación, realizamos la síntesis de los ligandos **2-4**, que presentaban grupos hidroxilo o amida unidos covalentemente a la estructura. Con estos complejos se pretenden evitar problemas derivados de la labilidad de los grupos sujetos de este estudio (OH, (CO)NH) en disolución.

Los ligandos con grupos hidroxilo en su estructura (**2** y **3**) se obtuvieron a partir del sintón común **6**, el cual se sintetizó mediante dos reacciones de tosilación bajo diferentes condiciones, tal y como se muestra en el Esquema 18. Inicialmente, empleamos el método A, pero los bajos rendimientos, así como la obtención de una gran cantidad de producto de ditosilación, nos llevó a buscar otro método más adecuado. Mediante el método B conseguimos obtener el compuesto **6** con mejores resultados, tanto en rendimiento como en selectividad hacia el producto de monotosilación.



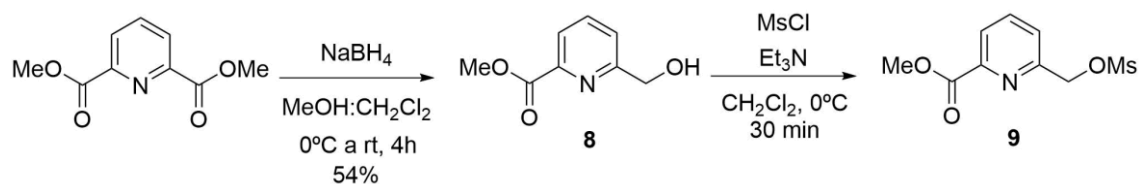
Esquema 18. Distintos métodos de obtención del compuesto **6**.

Una vez optimizada la preparación del sintón **6**, se utilizó en la síntesis de los ligandos **2** y **3**. Mediante una reacción de alquilación entre el compuesto **6** y el compuesto **7** pudimos obtener el ligando **3** con un rendimiento moderado. Por su parte, aplicando la misma reacción entre el fragmento **6** y la *N,N'*-dimetiletilendiamina preparamos el ligando **2** también con un rendimiento moderado.



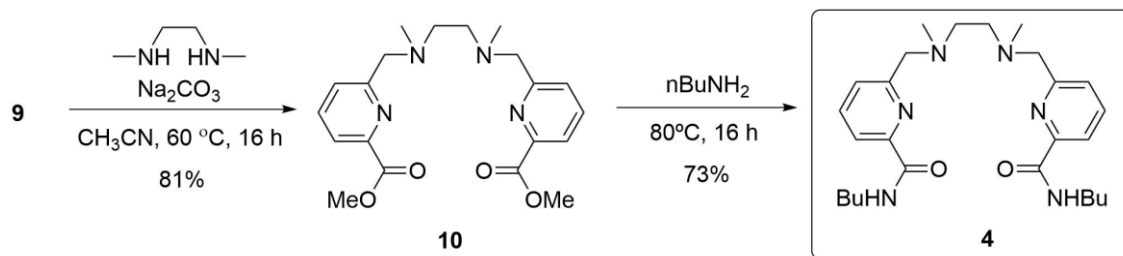
Esquema 19. Síntesis de los ligandos **2** y **3**.

Por otra parte, para llevar a cabo la síntesis del ligando con grupos amidas en su estructura (compuesto **4**), realizamos en primer lugar la reducción con NaBH_4 del compuesto comercial 2,6-piridindicarboxilato de dimetilo, para obtener el compuesto **8** con un rendimiento del 54%. La posterior reacción de mesilación del compuesto **8** generó el compuesto **9**. Desafortunadamente, por motivos de inestabilidad, el compuesto **9** no pudo aislarse, por lo que el crudo de reacción se empleó directamente en la siguiente etapa.



Esquema 20. Síntesis del sintón **9**.

Seguidamente, el crudo de reacción del compuesto **9** se trató con Na_2CO_3 y N,N' -dimetiletilendiamina en acetonitrilo, para generar el compuesto **10** con buen rendimiento. Por último, el tratamiento del compuesto **10** con *n*-butilamina a 80°C permitió la obtención del ligando amida final **4**.



Esquema 21. Síntesis del ligando **4**.

1.2 Síntesis de complejos de Fe(II)

Una vez sintetizados los ligandos **1-4**, nos centramos en la obtención de los correspondientes complejos de Fe(II), los cuales se emplearon posteriormente en los estudios para evaluar la BDFE de los enlaces hidroxilo y amida.

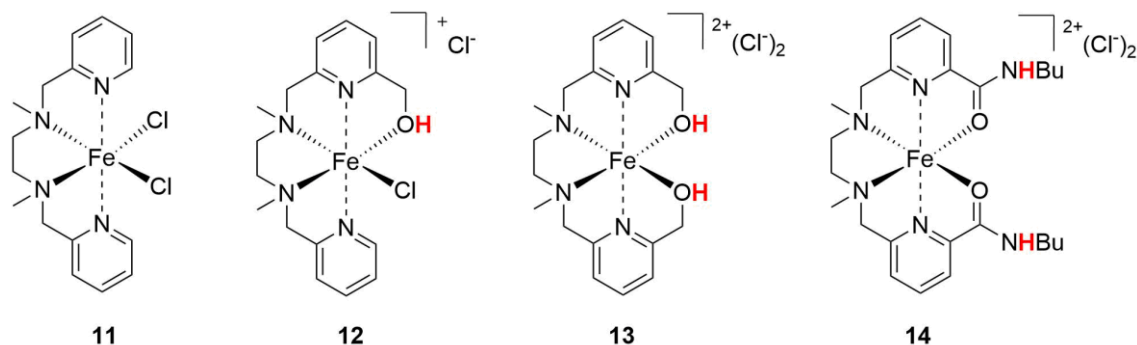
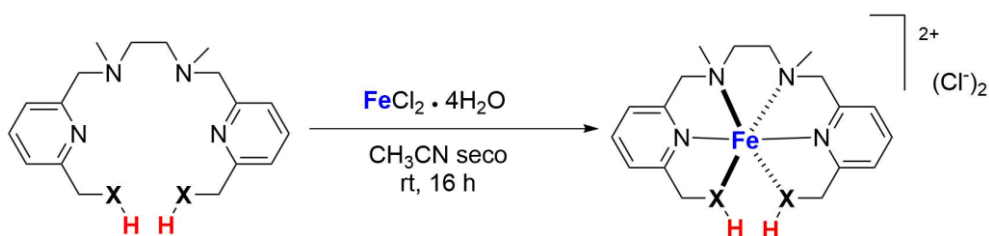


Figura 52. Estructuras de los complejos objetivo 11-14.

Para ello, utilizamos una metodología general consistente en la adición de FeCl_2 bajo atmósfera inerte, a una disolución de cada uno de los ligandos en CH_3CN . De esta manera obtuvimos los complejos 11-14 con rendimientos de buenos a excelentes (72%-98%).

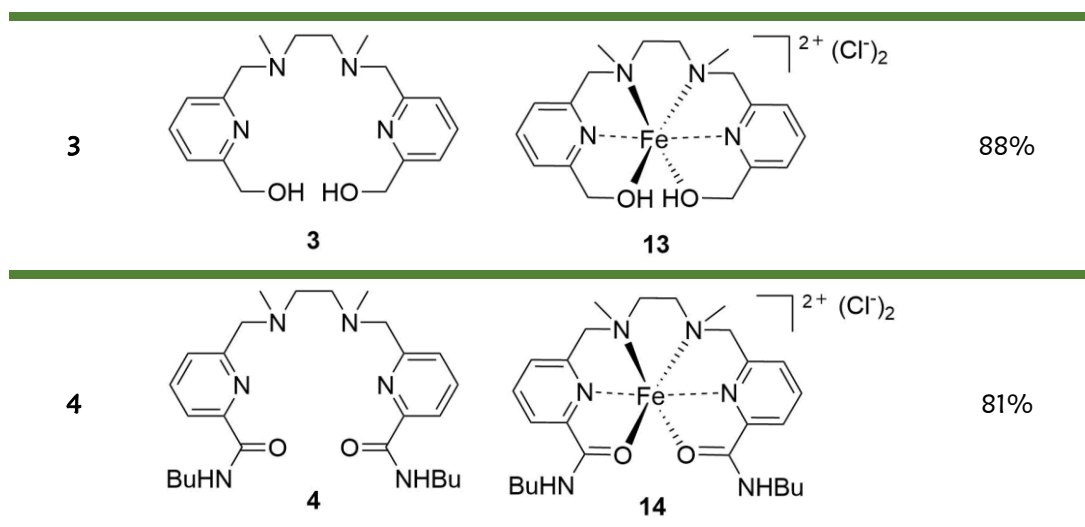


Esquema 22. Esquema de reacción representativo para la síntesis de complejos de Fe(II).

En la Tabla 2 se muestran todos los resultados relacionados con la síntesis de los complejos de Fe(II) 11-14.

Tabla 1. Rendimiento de los complejos de Fe(II).

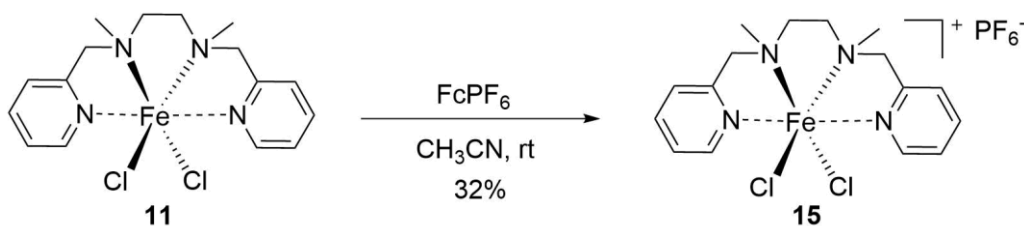
Entrada	Producto de Partida	Producto Final	Rendimiento
1	 mep, 1	 11	72%
2	 2	 12	98%



Para realizar el proceso de caracterización, así como para la obtención de los valores experimentales de BDFE se emplearon los monocristales de cada uno de los complejos de Fe(II) sintetizados, garantizando de esta forma tanto la pureza con el control exacto de posibles impurezas que pudiesen interferir en el estudio.¹¹²

Además de los complejos de Fe(II) (**11-14**) objeto de nuestro estudio, llevamos a cabo la síntesis de otra serie de complejos metálicos a partir de ellos, que nos sirvieron (como se verá más adelante) para corroborar tanto la coordinación al centro metálico de los grupos hidroxilo/amida como la presencia de las especies Fe(II)/Fe(III) en las estructuras.

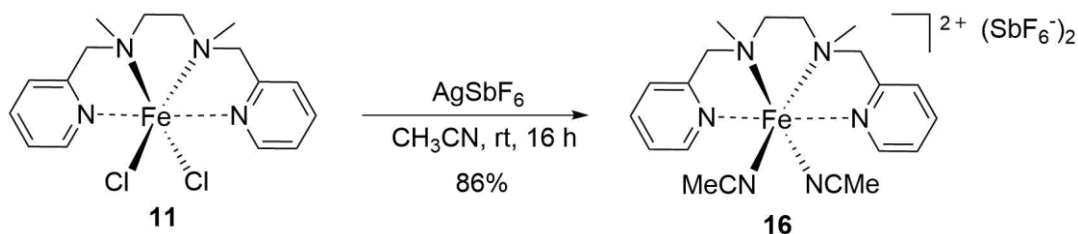
En primer lugar, realizamos la oxidación del complejo **11** empleando hexafluorofosfato de ferrocenio (FcPF₆). A pesar de obtener el complejo de Fe(III) **15**, el rendimiento conseguido no fue bueno.



Esquema 23. Síntesis del complejo **15**.

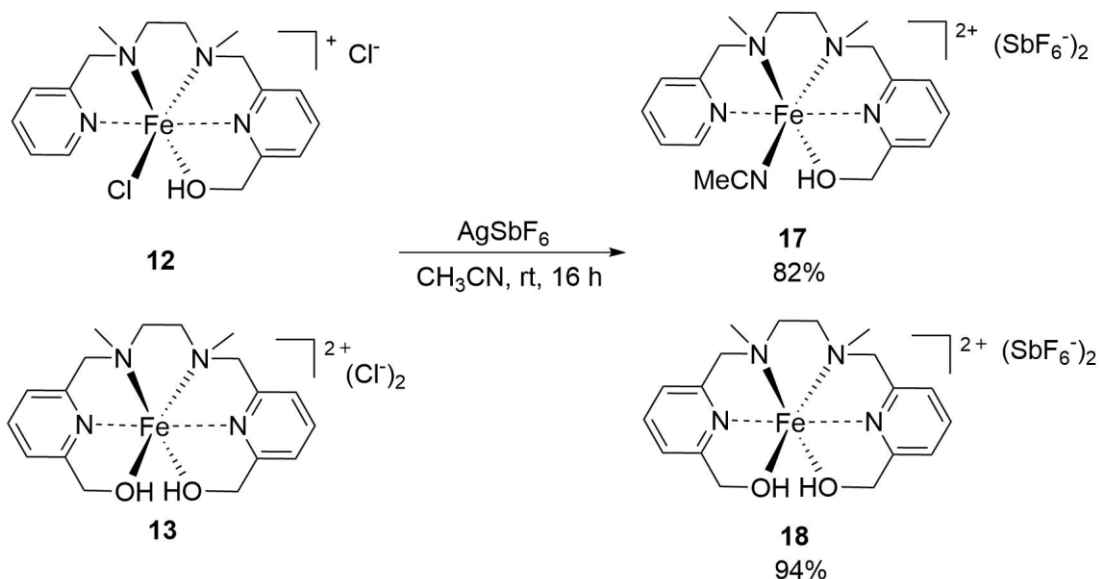
¹¹² Para obtener más información ver apartado 2.1 de la Sección de Resultados y Discusión; y apartado 7 de la Sección Experimental.

Por otra parte, partiendo del mismo complejo **11** y mediante tratamiento con AgSbF_6 en ausencia de luz, obtuvimos el compuesto **16** con un 86% de rendimiento. En este caso, los iones cloruro se reemplazaron por moléculas de acetonitrilo, que poseen una capacidad para coordinarse al ión Fe(II) mayor que el anión SbF_6^- .



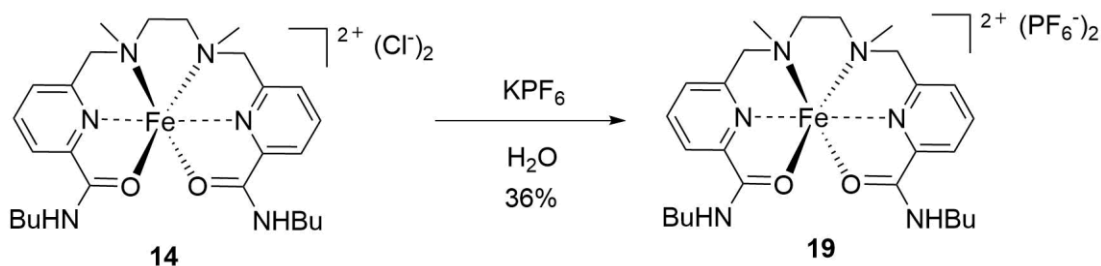
Esquema 24. Síntesis del complejo **16**.

Siguiendo la misma estrategia de síntesis, se obtuvieron los complejos **17** y **18** a partir de los compuestos **12** y **13**, respectivamente, con excelentes rendimientos. En el caso del complejo **17**, se pudo comprobar de nuevo como los iones cloruro coordinados al centro metálico habían sido reemplazados por las moléculas de acetonitrilo, teniendo como contraión al anión SbF_6^- .



Esquema 25. Síntesis de los complejos **17** y **18**.

Por último, el tratamiento de una disolución acuosa del complejo **14** con KPF_6 originó el complejo **19** con un rendimiento del 36%.

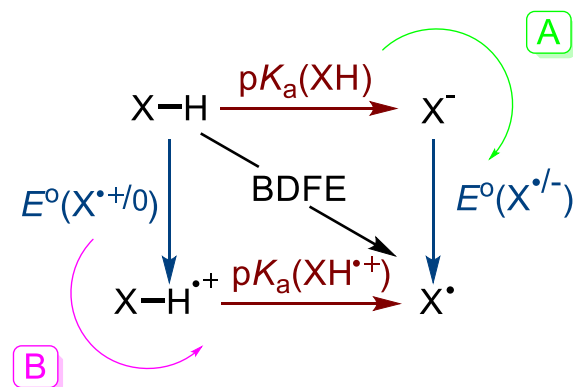


Esquema 26. Síntesis del complejo 19.

Al igual que con los complejos **11-14**, llevamos a cabo una profunda caracterización de los nuevos complejos de Fe(II) y Fe(III) mediante espectroscopía de ¹H RMN, infrarroja (IR), espectrometría de masas de alta resolución (HRMS) y análisis elemental.¹¹³ Además, también obtuvimos monocristales de los complejos **15** y **19**, para su estudio mediante la técnica de difracción de rayos X, tal y como se mostrará en el apartado 3.1.

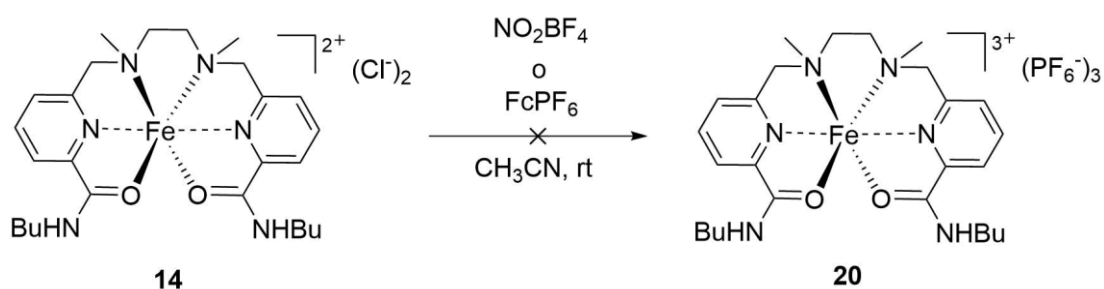
Tal y como indica el siguiente esquema, para determinar el valor de BDFE se pueden emplear dos caminos distintos, implicando ambas medidas de p*K*_a y potenciales de reducción. El distinto orden de las medidas implica por tanto a especies intermedias diferentes. Es decir, por un lado, podríamos realizar la medida de p*K*_a y a continuación la medida electroquímica de los compuestos desprotonados (camino A), o bien, realizar la medida electroquímica del compuesto inicial para posteriormente determinar el p*K*_a del producto oxidado (camino B). Ya que con los complejos sintetizados hasta el momento solo era posible acceder al valor de BDFE solo por el camino A, nos planteamos la síntesis de los complejos de Fe(III) con el objetivo de poder llegar a los mismos resultados por el camino B.

¹¹³ Ver Parte Experimental.



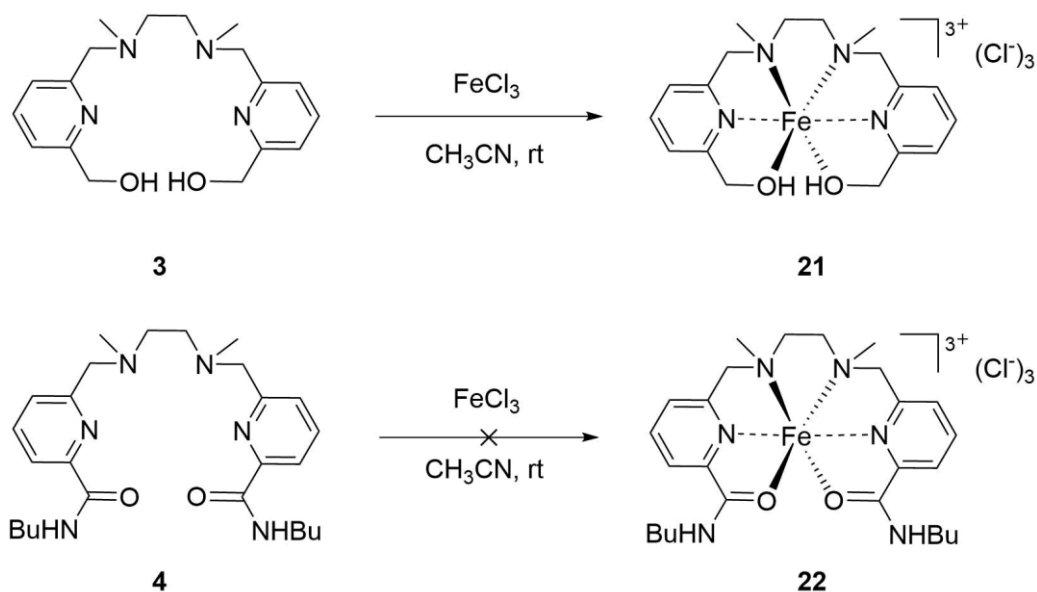
Esquema 27. Caminos posibles del ciclo termodinámico para la determinación de BDFE.

Desafortunadamente, tras varios intentos de realizar la oxidación del complejo **14** con FcPF_6 y NO_2BF_4 , tal y como se consiguió con el complejo **15** (Ver Esquema 23), no llegamos a obtener el complejo oxidado, ya que tenían lugar reacciones de descomposición de los complejos tratados.

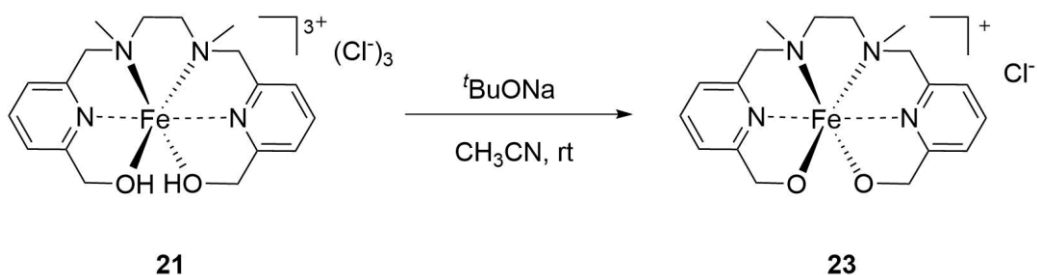


Esquema 28. Síntesis fallida del complejo **20**.

Por ello, decidimos generar el complejo de Fe(III) mediante la adición directa de FeCl_3 a una disolución de los ligandos **3** y **4**. Utilizando este procedimiento sintético sí conseguimos obtener el complejo de Fe(III) análogo al complejo **13** (compuesto **21**, ver Esquema 22), mientras que en el caso del complejo **14** no fue posible, ya que tras un intento de cristalización la estructura de rayos X obtenida mostró la presencia de la especie de Fe(II) en lugar de Fe(III) . No se ha encontrado justificación para este hecho.

Esquema 29. Síntesis de los complejos **21** y **22**.

Tras obtener el compuesto **21**, al no poder obtener cristal del mismo, tratamos el crudo de reacción directamente con $t\text{BuONa}$ para generar el producto oxidado y totalmente desprotonado **23**.

Esquema 30. Síntesis del complejo **23**.

Aunque los complejos **21** y **23** no pudieron ser correctamente caracterizados, si pudieron usarse en medidas electroquímicas. Por tanto, nuestro objetivo de obtener el valor de BDFE según el camino B (ver esquema 20) no fue posible, pero si pudimos demostrar que con la generación del complejo desprotonado *ex situ* y su obtención *in situ* en la celda electrolítica llegamos al mismo punto del ciclo termodinámico (ver apartado de medidas electroquímicas).

2. COORDINACIÓN DE LOS COMPLEJOS DE Fe(II)

Una vez realizada la síntesis de los complejos de Fe(II) objetivo de nuestro estudio, necesitábamos confirmar inequívocamente que había tenido lugar la coordinación entre los átomos de Fe(II) y los grupos hidroxilo o amida de los diferentes complejos. Para caracterizar los complejos y poder corroborar dicha coordinación, se realizaron estudios de resonancia paramagnética electrónica (EPR), espectroscopía de ^1H RMN y cristalografía de rayos X. Mediante el uso de las dos primeras técnicas pudimos comprobar la presencia de iones Fe(II) y la coordinación al átomo de Fe(II) de los grupos OH/(CO)NH en disolución. La difracción de rayos X de monocristal nos confirmó dicha coordinación en estado sólido.

2.1 Estructuras de rayos X de los complejos 11-15 y 19

Como hemos mencionado anteriormente, para comprobar que se había producido la coordinación de los grupos hidroxilo o amida a los centros metálicos, llevamos a cabo la caracterización de los cristales obtenidos de cada uno de los complejos de Fe(II) mediante difracción de rayos X de monocristal.

En el caso de los complejos **11-13**, los cristales se obtuvieron por difusión de Et_2O sobre una disolución de $\text{CH}_3\text{CN}/\text{CH}_3\text{OH}$ del correspondiente complejo. En el caso del complejo **14**, la difusión tuvo lugar sobre una disolución de DMF.

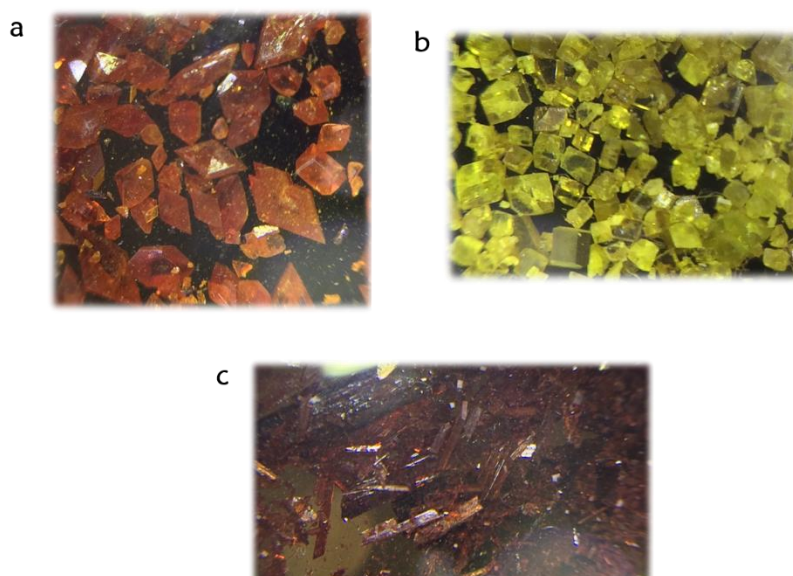


Figura 53. Imágenes de los cristales de los complejos (a) **11**, (b) **13**, y (c) **14**.

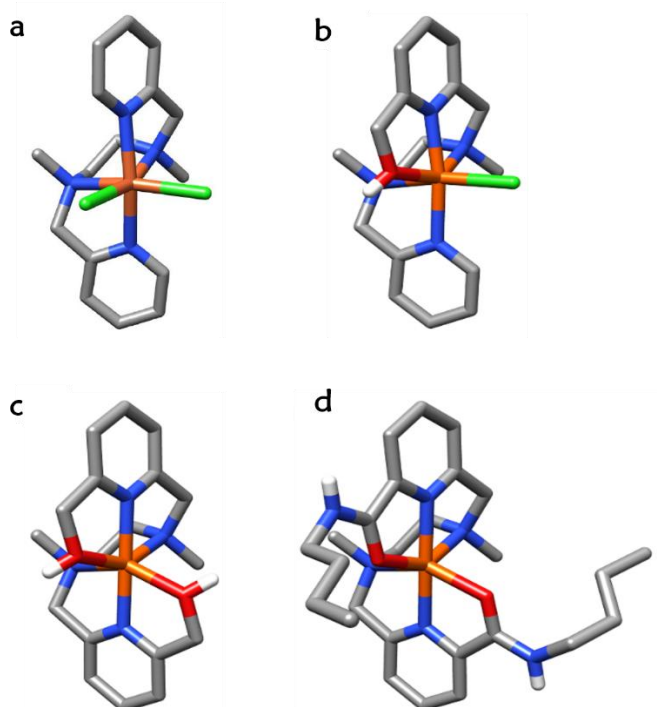


Figura 54. Estructuras de Rayos X de (a) **11**, (b) **12**, (c) **13** y (d) **14**.

Como puede verse en la Figura 54, en todos los casos pudo corroborarse la coordinación de los grupos hidroxilo y carbonilo al centro metálico de Fe(II) en estado sólido, desplazando a los contraiones de cloro. Además, los ligandos que contienen nitrógeno adoptaron una posición que dejó dos vacantes adyacentes, las cuales fueron ocupadas por los ligandos con átomos de oxígeno, presentando una coordinación *cis*.

La difusión de Et₂O sobre una disolución de acetonitrilo de los complejos **15** y **19** por separado, generó los monocristales de los correspondientes compuestos.

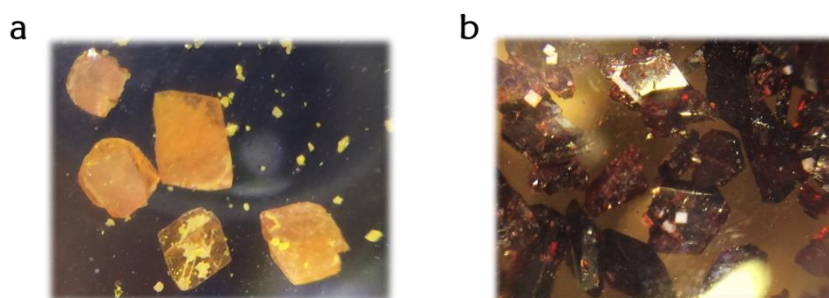


Figura 55. Imágenes de los cristales de los complejos (a) **15** y (b) **19**.

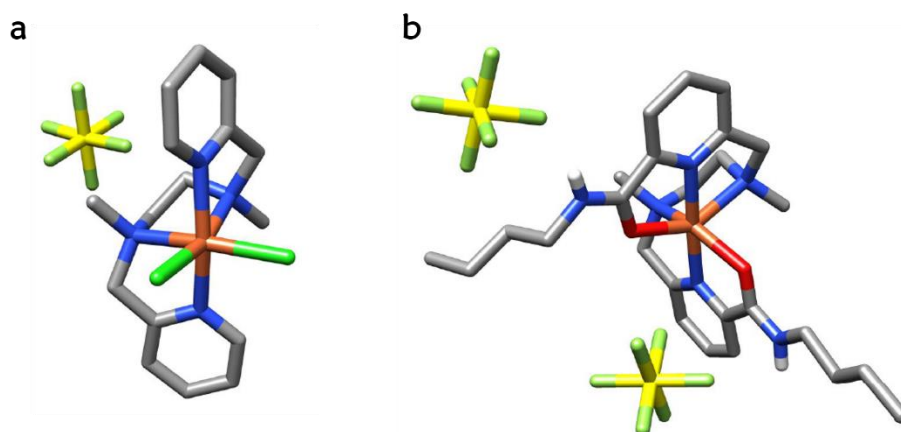


Figura 56. Estructuras de Rayos X de (a) **15** y (b) **19**.

De nuevo, podemos observar como en estos complejos se confirma la coordinación al centro metálico, con una orientación *cis* de los ligandos. Además, con el complejo **15** pudimos comprobar como los contraiones cloruro fueron sustituidos por los iones PF_6^- , mientras que los que se encontraban coordinados al Fe(III) permanecían inalterados, demostrando el mayor poder coordinante de los mismos frente a los PF_6^- .

2.2 Estudios de RMN de los complejos de Fe(II)

Una vez demostrada la coordinación al centro metálico en estado sólido, pasamos a comprobar que dicha coordinación se mantenía en disolución. Para ello se procedió a estudiar los complejos **11-14** mediante espectroscopía de ^1H RMN en diversos disolventes, tanto coordinantes como no coordinantes.

Puesto que la presencia del átomo de Fe(II) en los complejos sintetizados generaba desplazamientos totalmente inusuales en las señales de protones, a causa del paramagnetismo del mismo, los espectros de ^1H RMN se registraron en el rango de -40 a 160 ppm, obteniéndose señales fuera de la zona diamagnética, aunque esto presentó el inconveniente de no poder asignar las señales observadas en el espectro a cada uno de los protones correspondientes.

Comenzamos las medidas con el complejo modelo **11**, ya conocido y caracterizado previamente por el grupo de Goldsmith.¹¹⁴ Como se puede ver en la Figura 57, se distinguen nueve señales distintas, correspondientes a las nueve clases de protones

¹¹⁴ C. M. Coates, K. Hagan, C. A. Mitchell, J. D. Gorden, C. R. Goldsmith, *Dalton Trans.* **2011**, *40*, 4048-4058.

presentes en dicho complejo, de acuerdo con lo esperado para este complejo simétrico. Tal y como se ha comentado antes, fue imposible asignar las señales a cada protón.

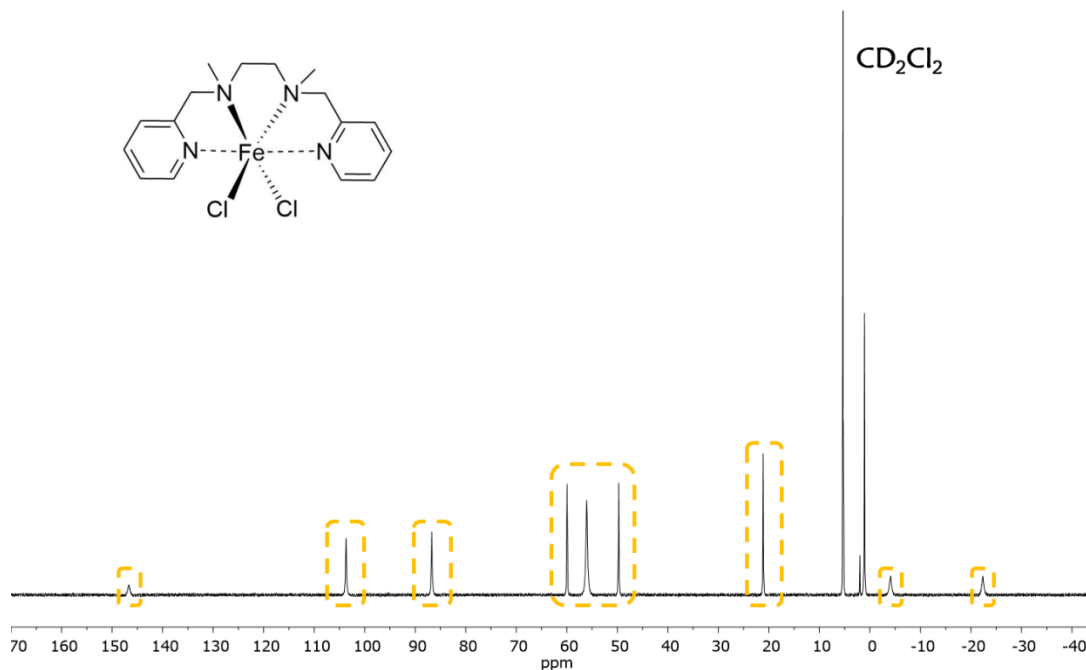


Figura 57. ¹H RMN (500 MHz, CD₂Cl₂) del complejo 11.

Cuando el experimento se llevó a cabo en acetonitrilo, se registró una situación similar, con nueve señales perfectamente identificables y con el mismo desplazamiento que en CD₂Cl₂. Esto nos indica que, en disolventes no coordinantes, la unión al centro metálico de los iones cloruro permanece inalterada, de igual forma que observamos en la estructura de rayos X (ver Figura 54a).

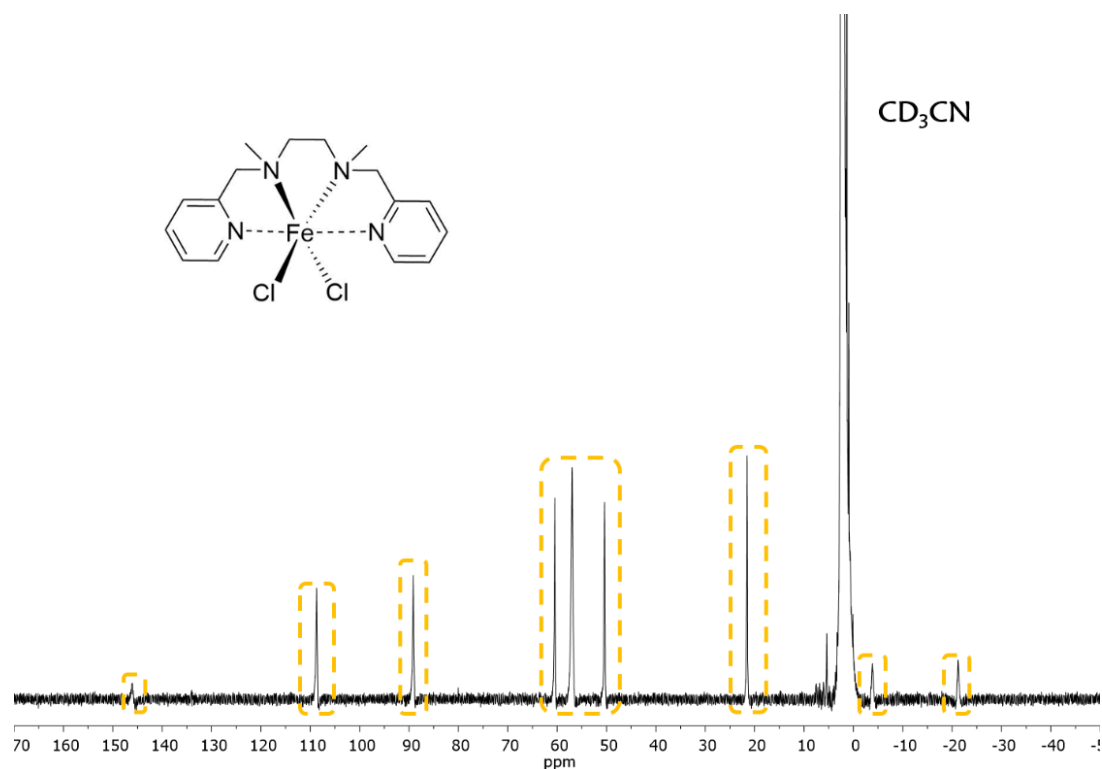


Figura 58. ¹H RMN (500 MHz, CD₃CN) del complejo 11.

Por otra parte, cuando el estudio espectroscópico se realizó empleando disolventes coordinantes tales como el DMSO-*d*₆ o el MeOD,¹¹⁵ la situación que nos encontramos fue más complicada, ya que las señales fueron indistinguibles entre sí, como se muestra en la Figura 59.

¹¹⁵ El espectro de ¹H RMN en CD₃OD no se muestra ya que apenas se distinguen señales en el mismo, debido al intercambio entre distintas configuraciones metal-ligando.

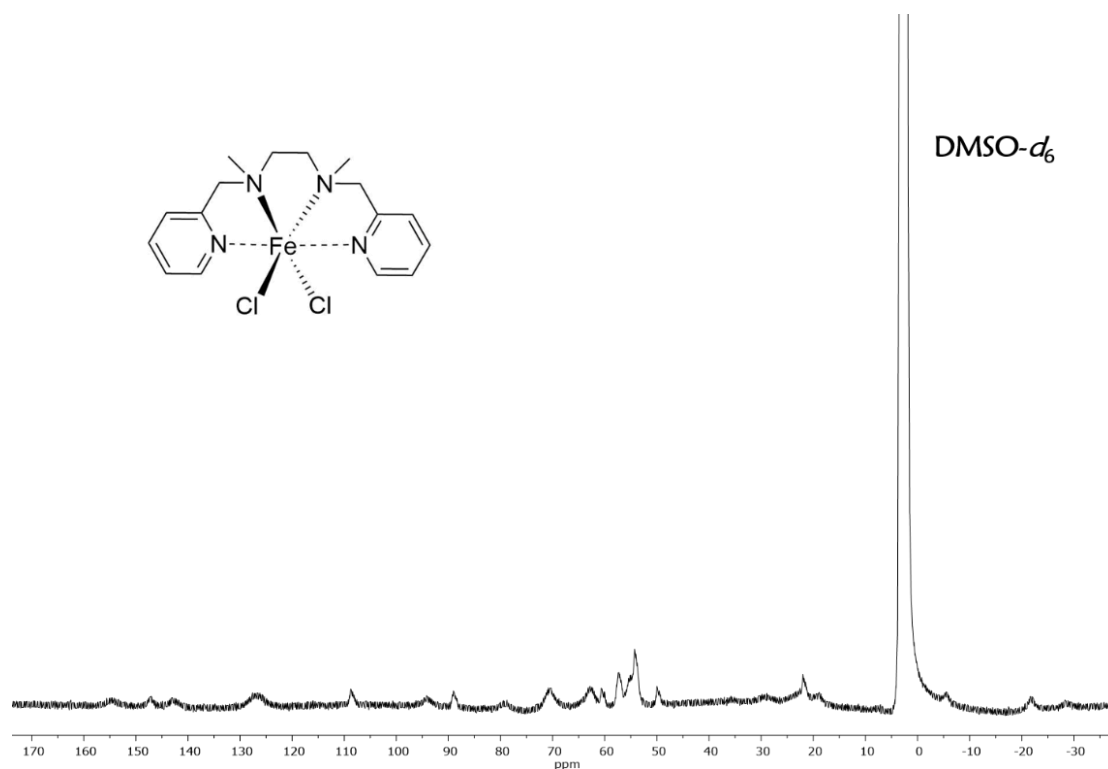


Figura 59. ^1H RMN (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) del complejo **11**.

La aparición de nuevas señales, así como el ensanchamiento de las mismas, sugieren una disociación parcial de los iones cloruros del centro metálico (Figura 60) o incluso un equilibrio entre distintas configuraciones, tal y como describió el grupo de Goldsmith.¹¹⁴Error! Marcador no definido.

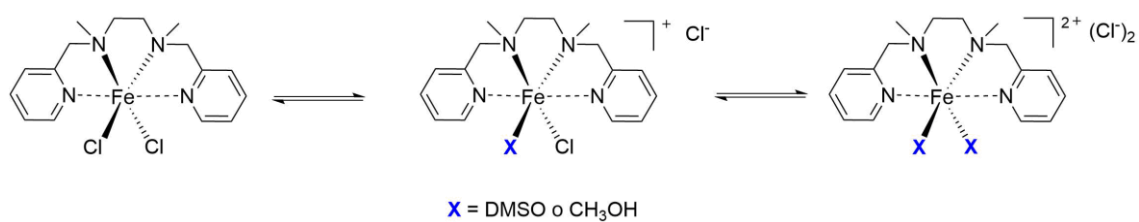


Figura 60. Equilibrio parcial/total del complejo **11** con el disolvente.

Para corroborar la estructura del complejo modelo **11**, realizamos el intercambio de los iones cloruro por un anión no coordinante, como el SbF_6^- . El complejo **16** obtenido se caracterizó por ^1H RMN en $\text{DMSO}-d_6$, donde mostró de nuevo nueve señales

características de un complejo simétrico,¹¹⁶ lo cual estaba en consonancia con los espectros anteriormente mostrados.

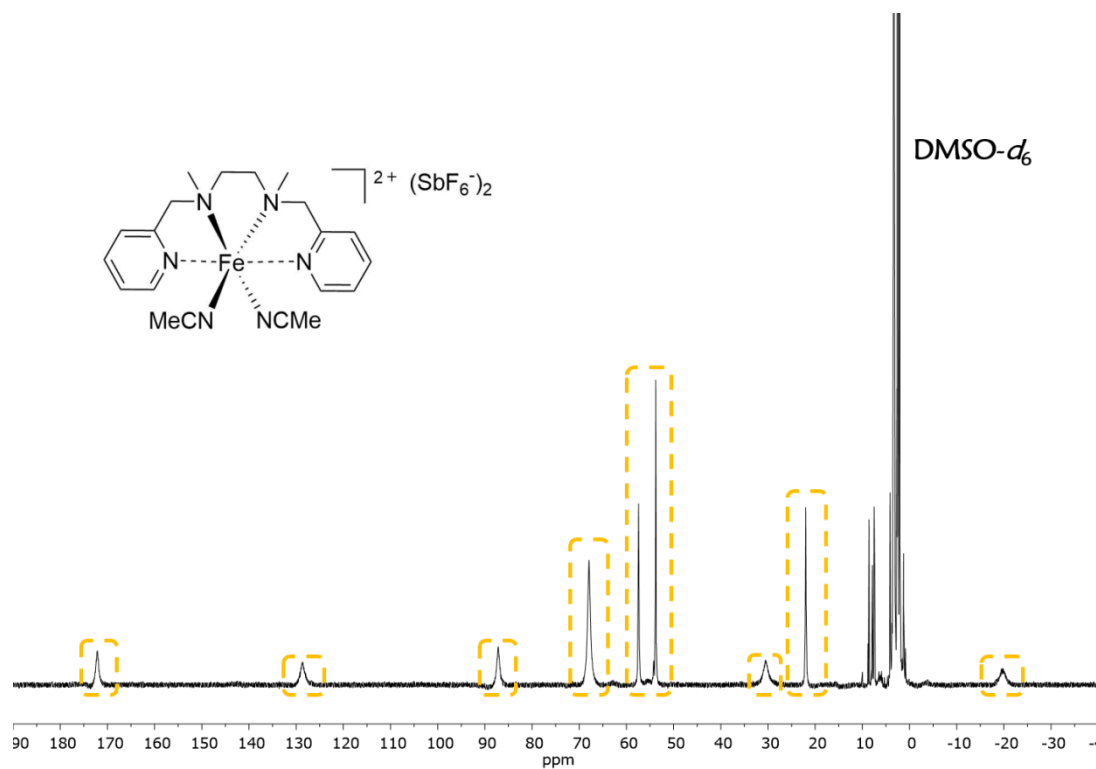


Figura 61. ^1H RMN (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) del complejo **16**.

En cambio, el espectro recogido en CD_3CN presentó solamente siete señales características, además de un ensanchamiento de las mismas. Es probable que dicho ensanchamiento cause el solapamiento de alguna de las señales impidiendo su visibilidad.

¹¹⁶ El espectro de ^1H RMN en CD_3OD también fue recogido para el complejo **16**, pero el número de señales disminuye considerablemente debido a los equilibrios entre distintas configuraciones metal-ligando.

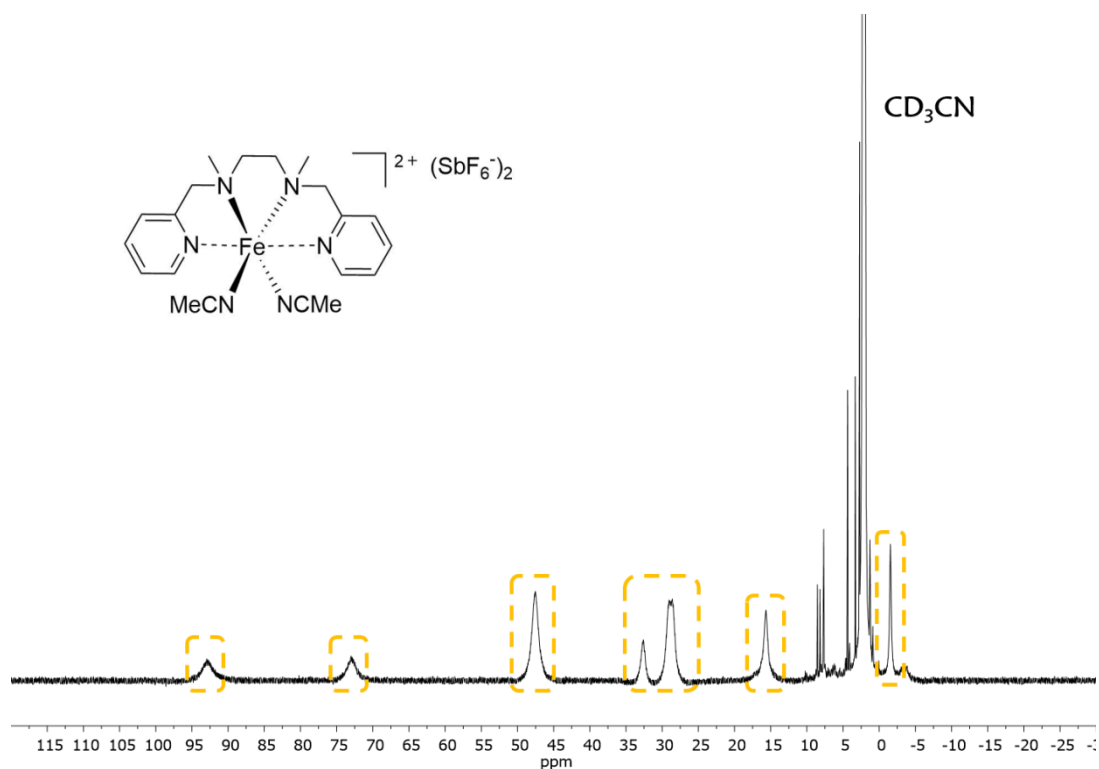


Figura 62. ¹H RMN (500 MHz, CD₃CN) del complejo **16**.

Una vez comprobada la coordinación de los complejos modelos de Fe(II), **11** y **16**, en disolución pasamos a analizar los complejos que presentaban grupos OH o (CO)NH en su estructura. Comenzamos con el complejo **12**, el cual es un compuesto asimétrico, por lo que el número de señales observables en el espectro debería ser mayor que en el caso anterior. Así, en el espectro de ¹H RMN del complejo **12** en CD₂Cl₂ pueden distinguirse claramente doce señales. En este sentido, hay que indicar que el número de señales esperado debería ser mayor, y puesto que no es posible realizar la integral de dichas señales, fue imposible asignar cada una de ellas a su protón correspondiente.

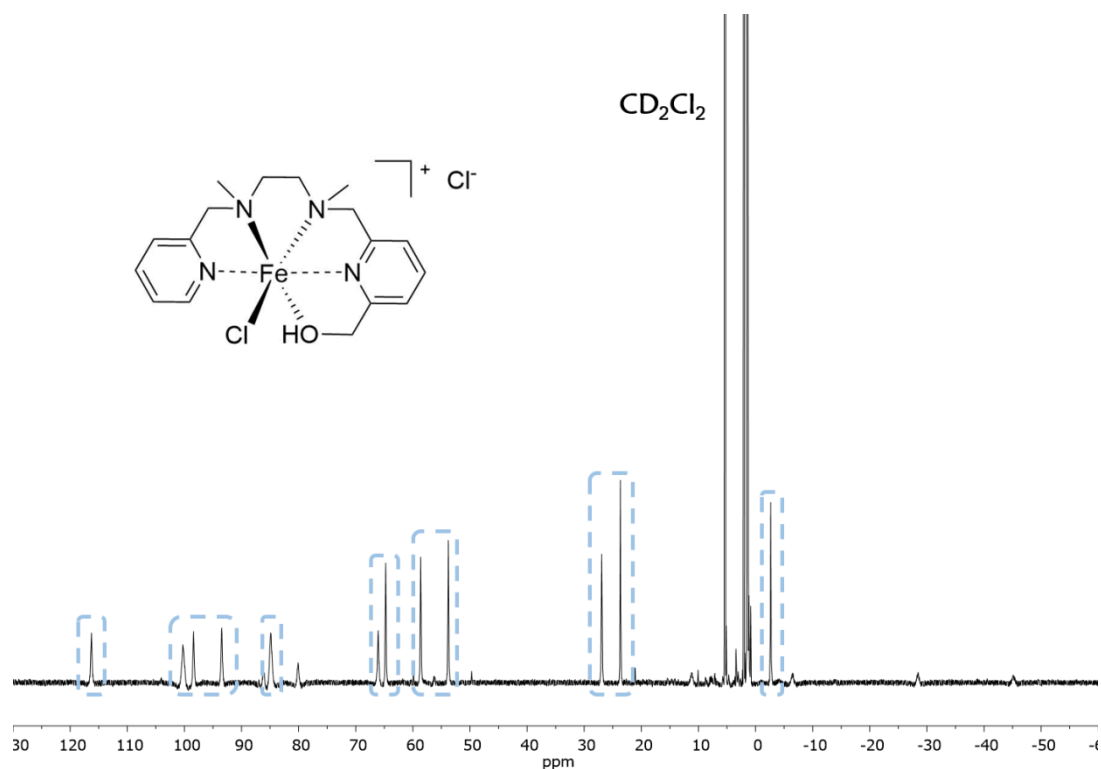


Figura 63. ^1H RMN (500 MHz, CD_3CN) del complejo **12**.

El mismo patrón de señales se encontró cuando el espectro del complejo **12** se realizó en $\text{DMSO}-d_6$, aunque algunas de ellas presentaban ligeros ensanchamientos. La similitud entre todos estos espectros sugiere una estructura similar en todos los casos que solo es posible si el grupo hidroxilo ha permanecido coordinado en todo momento.

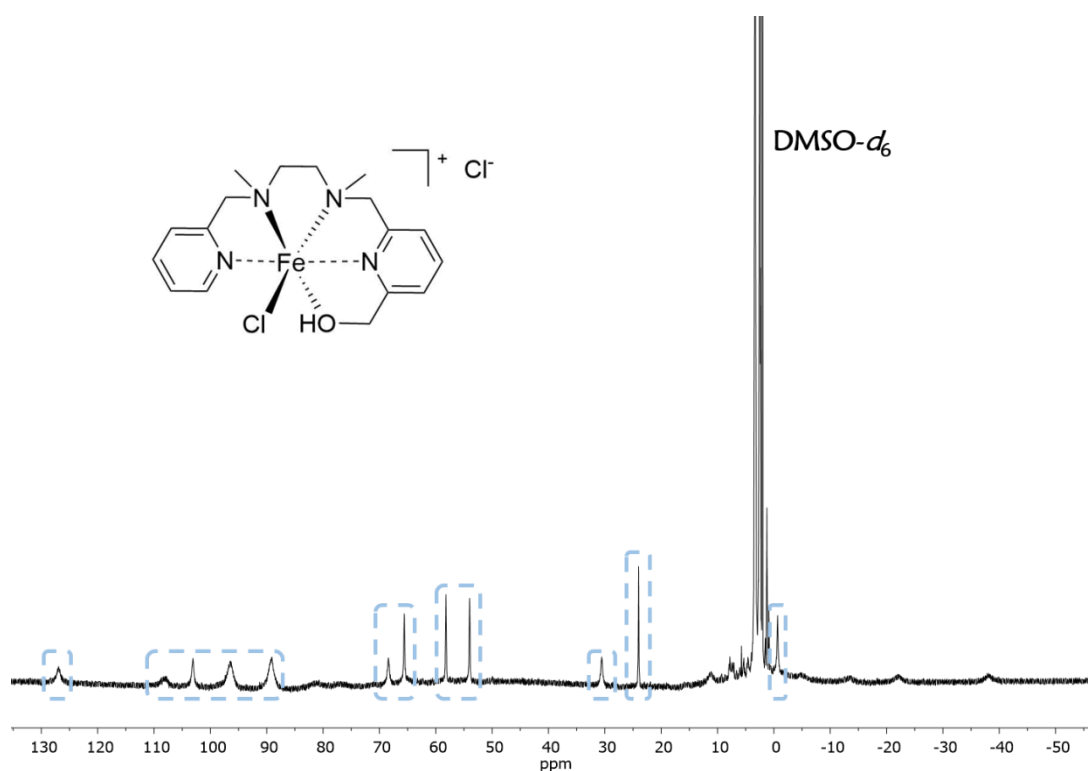


Figura 64. ^1H RMN (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) del complejo 12.

Por el contrario, cuando empleábamos disolventes más coordinantes que el $\text{DMSO-}d_6$, tales como D_2O o CD_3OD , el número de señales se reducía a once y el patrón de las mismas se modificaba ligeramente con respecto a los anteriores (Figura 63 y 64). En estos disolventes la situación en disolución parece ser más compleja mediante procesos dinámicos de coordinación/descoordinación. En este caso, no pudimos obtener espectros de ^1H RMN del complejo 17, que tenía SbF_6^- como contraión, debido a problemas de solubilidad.

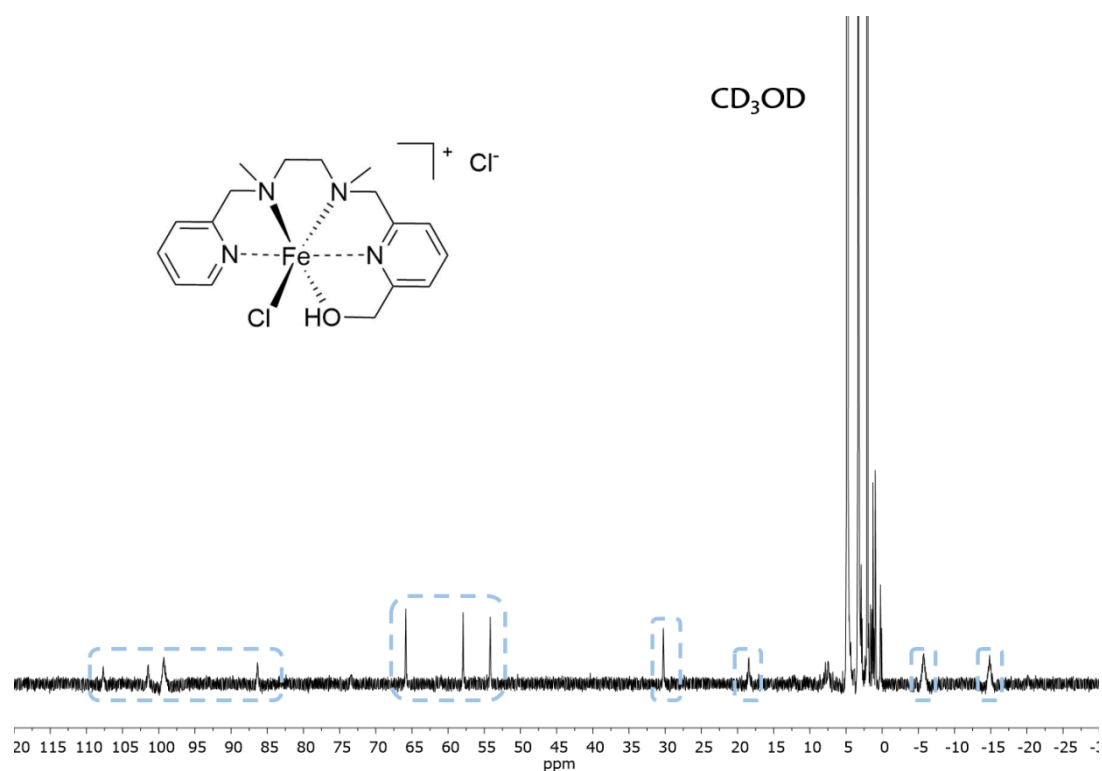


Figura 65. ^1H RMN (500 MHz, CD_3OD) del complejo 12.

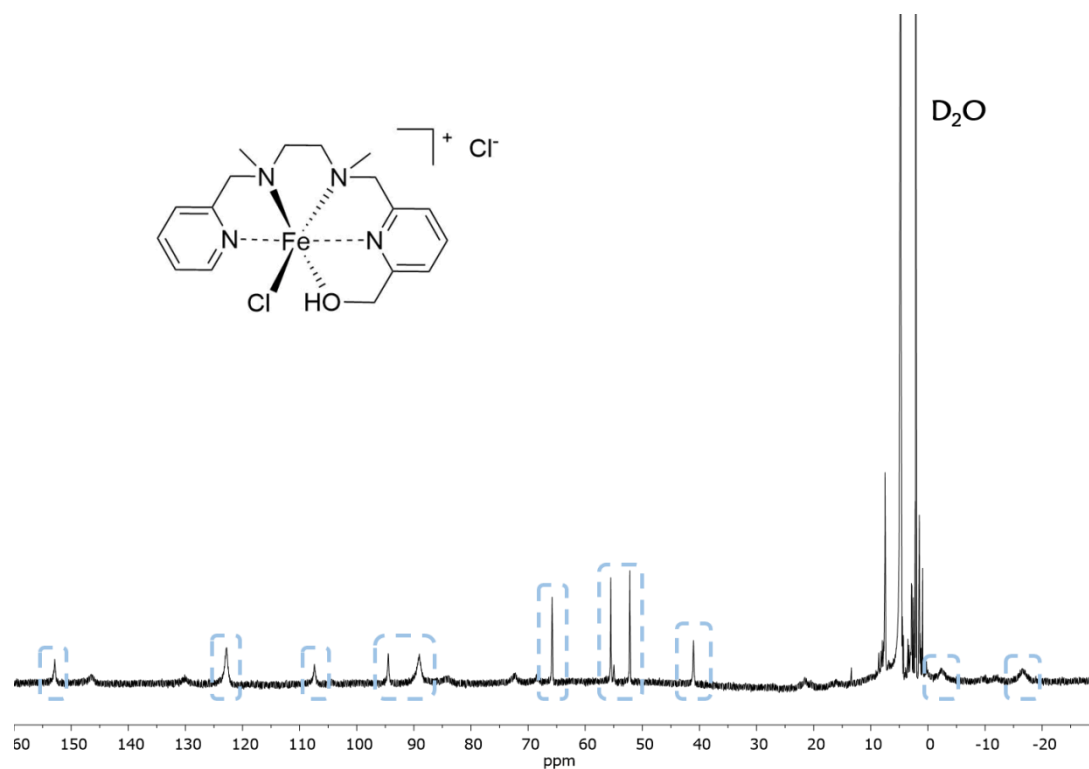


Figura 66. ^1H RMN (500 MHz, D_2O) del complejo 12.

En el complejo 13, el número de señales de RMN se vuelve a reducir, lo que encaja con un producto de estructura más simétrica. En el espectro realizado en CD_3OD podemos

observar once señales, cuando en realidad el complejo **13** presenta diez tipos de hidrógenos distintos (Figura 67). Este hecho nos sugiere la presencia de un equilibrio rápido entre distintas configuraciones metal-ligando. Afortunadamente, en el espectro de ^1H RMN en $\text{DMSO}-d_6$ (Figura 68) disolvente requerido para las medidas posteriores, el número de señales se reduce hasta siete señales, aunque anchas y no integrables. Esta simetría sugiere que la estructura en estado sólido se mantiene en disolución. Desafortunadamente, el estudio en disolventes no coordinantes, tales como CD_2Cl_2 o CD_3CN , no pudo realizarse debido a problemas de solubilidad. Algo similar ocurrió con su análogo **18**, con SbF_6^- como contraión.

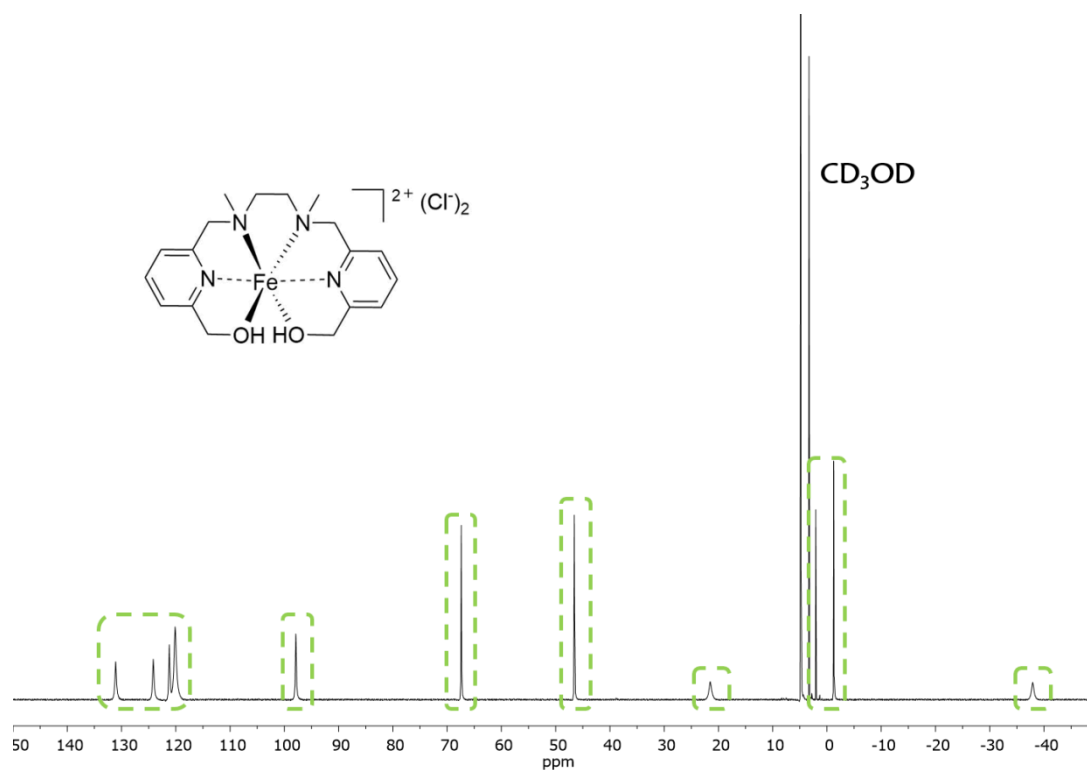


Figura 67. ^1H RMN (500 MHz, CD_3OD) del complejo **13**.

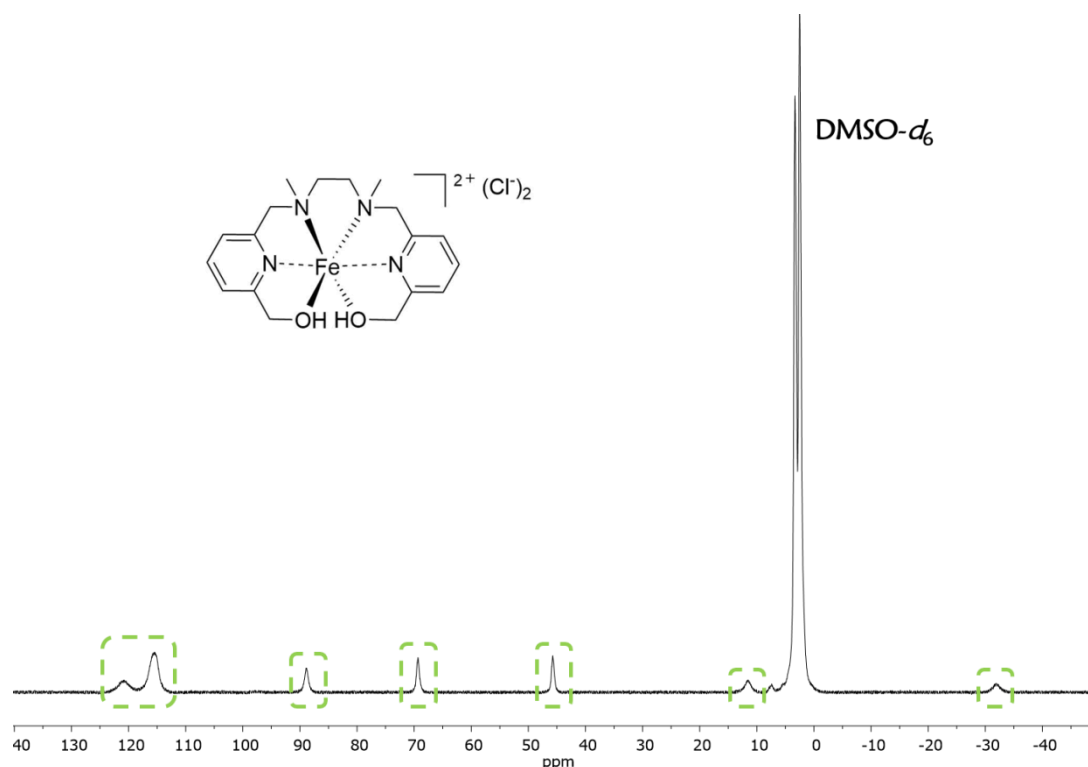


Figura 68. ^1H RMN (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) del complejo **13**.

Por último, el estudio del complejo **14** presentó un espectro de ^1H RMN con un patrón similar de señales en los distintos disolventes en los que se realizaron los mismos (CD_3OD , CD_3CN , CD_2Cl_2 , $\text{DMSO}-d_6$). Esto pone de manifiesto que este complejo tiene una estructura similar en disolución, confirmando la coordinación al centro metálico. Puesto que la cadena de la *n*-butilamina no está influenciada por la presencia del metal, pueden verse en algunos espectros un triplete y un cuádruple correspondientes al metilo y metileno terminales en la zona diamagnética del espectro.

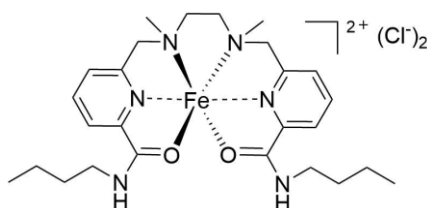
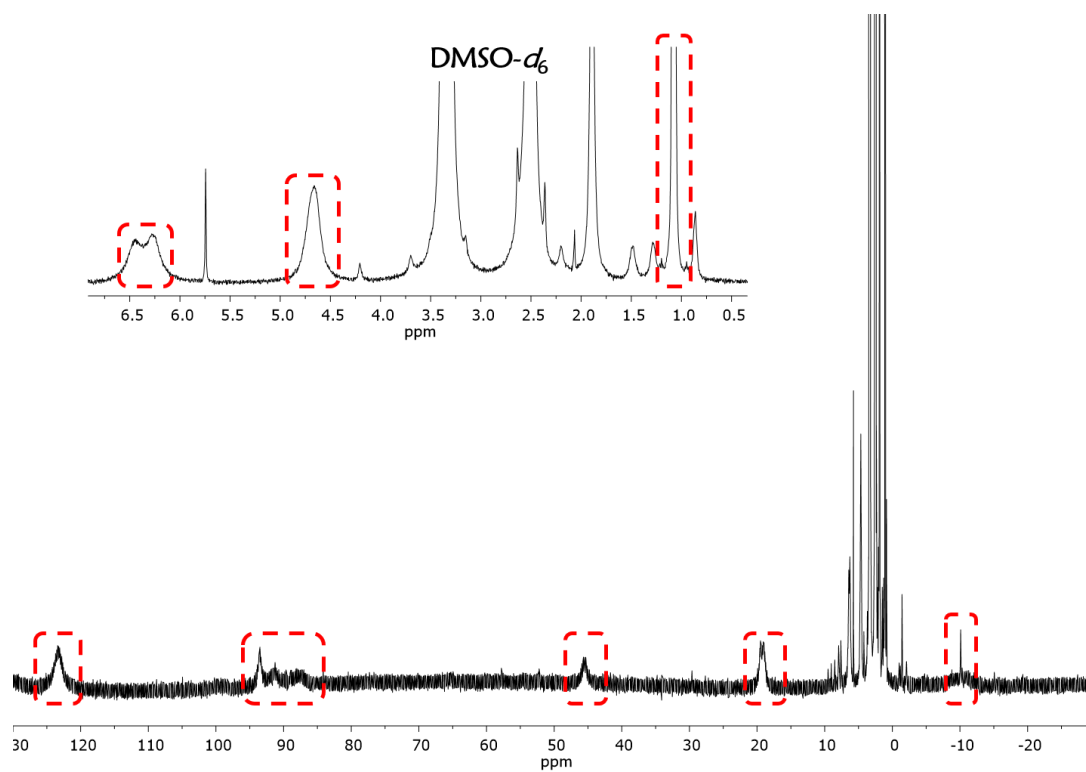
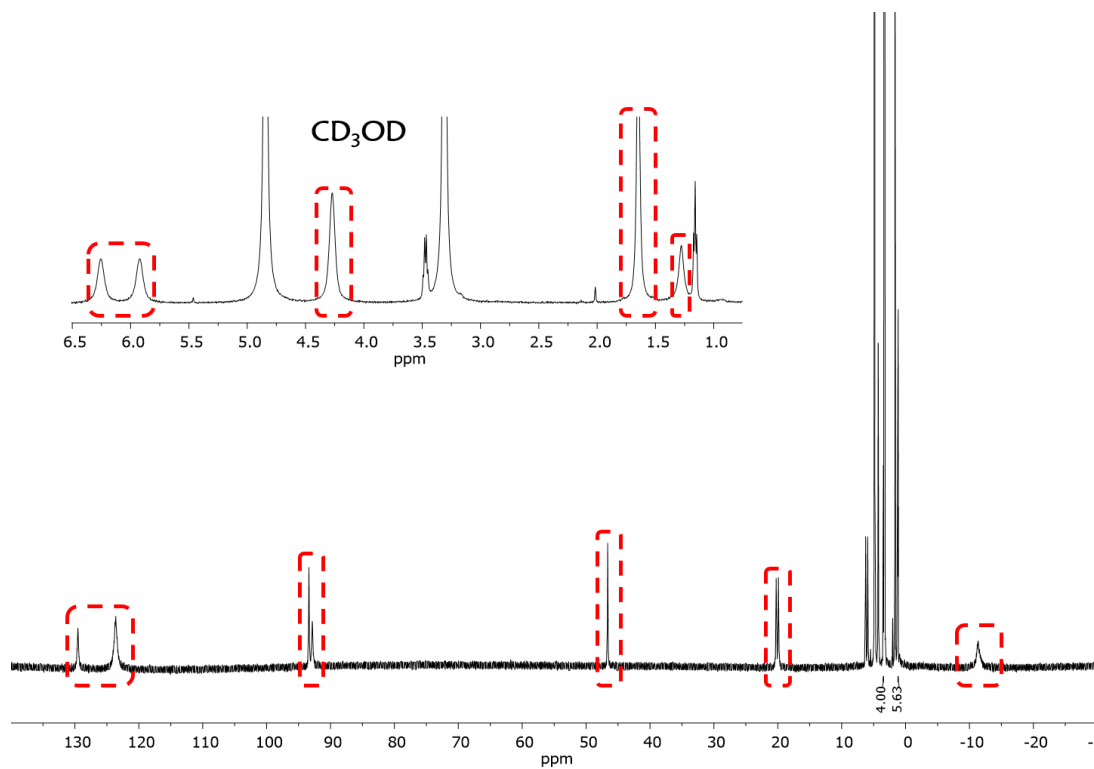


Figura 69. Estructura del complejo **14**.

Figura 70. ^1H RMN (500 MHz, DMSO- d_6) del complejo 14.Figura 71. ^1H RMN (500 MHz, CD_3OD) del complejo 14.

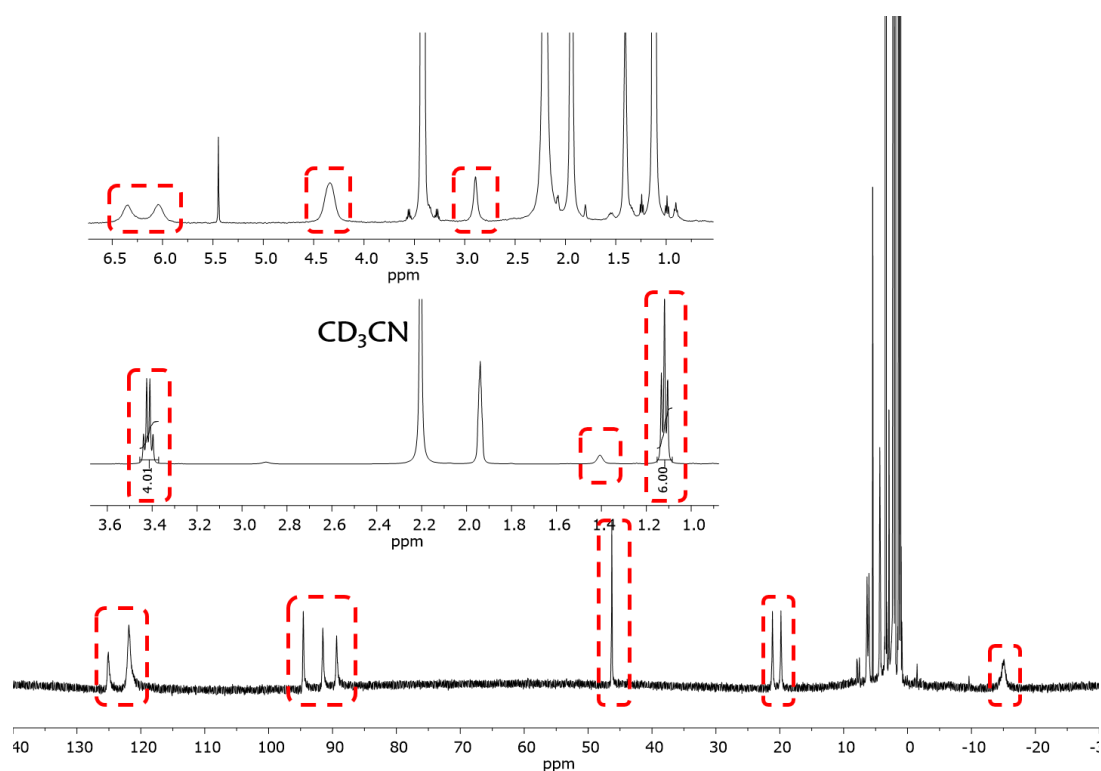


Figura 72. ^1H RMN (500 MHz, CD_3CN) del complejo 14.

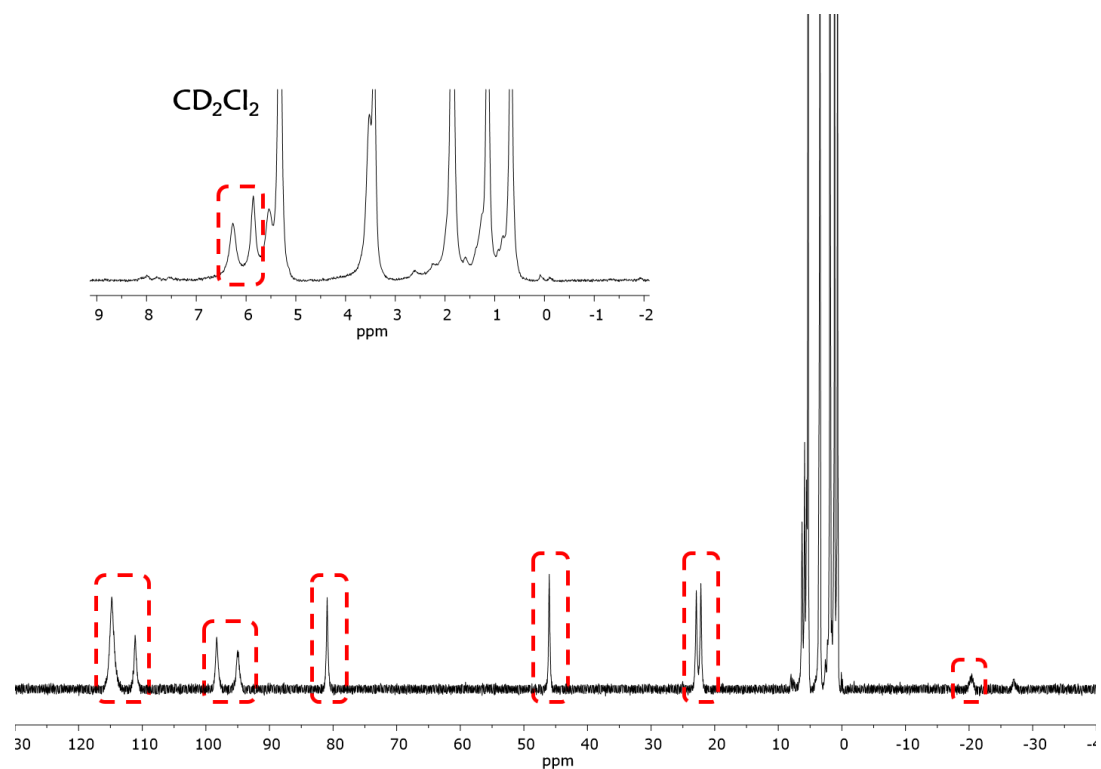


Figura 73. ^1H RMN (500 MHz, CD_2Cl_2) del complejo 14.

Como resumen se puede decir que en disolventes como CD_2Cl_2 o DMSO en todos los casos los grupos laterales sujetos de este estudio permanecían coordinados en disolución.

Especialmente relevante es el resultado en DMSO ya que este es el disolvente habitual en las medidas experimentales de BDFE. En D₂O o MeOD la situación parece más compleja. Por otra parte, el paramagnetismo de las especies examinadas causó el ensanchamiento de las señales y la pérdida de información derivada de las constantes de acoplamiento, lo que imposibilitó una asignación clara de los protones de estos compuestos.

2.3 Estudios de las propiedades magnéticas de los complejos 12-14

Para continuar con la caracterización de los complejos sintetizados, se realizaron estudios de resonancia paramagnética electrónica (EPR) con el fin de comprobar el comportamiento magnético de los complejos **12-14** y la permanencia del estado +2 del centro metálico. El presente estudio fue llevado en su totalidad por Luis Lezama, Catedrático de Química Inorgánica de la Facultad de Ciencia y Tecnología de la UPV/EHU.

Tras realizar las medidas de la banda X a los cristales de los correspondientes complejos, pudimos observar que ninguno de los compuestos presentó señal de EPR, tal y como era de esperar debido al comportamiento de sistemas de hierro de alto espín con estado de oxidación +2 ($S = 2$) y al paramagnetismo mostrado en los espectros de ¹H RMN. Esto es así puesto que el Fe(II) es un ión de tipo no Kramer (posee un número par de electrones desapareados) lo que generalmente se traduce en tiempos cortos de relajación de red de espín (longitudinal) y grandes desdoblamientos a campo cero (ZFS), causando la ausencia de señales de EPR en condiciones experimentales normales.¹¹⁷

Otras de las propiedades magnéticas que se estudiaron fue la susceptibilidad magnética (χ_m). En este caso, la evolución térmica de la susceptibilidad magnética de los complejos

¹¹⁷ R. L. Carlin, *Magnetochemistry*, **1986**, Springer-Verlag, Berlin.

12-14 presentó una tendencia similar, observándose un aumento continuo de la misma con el descenso de la temperatura, sin llegar a observarse un máximo relativo.

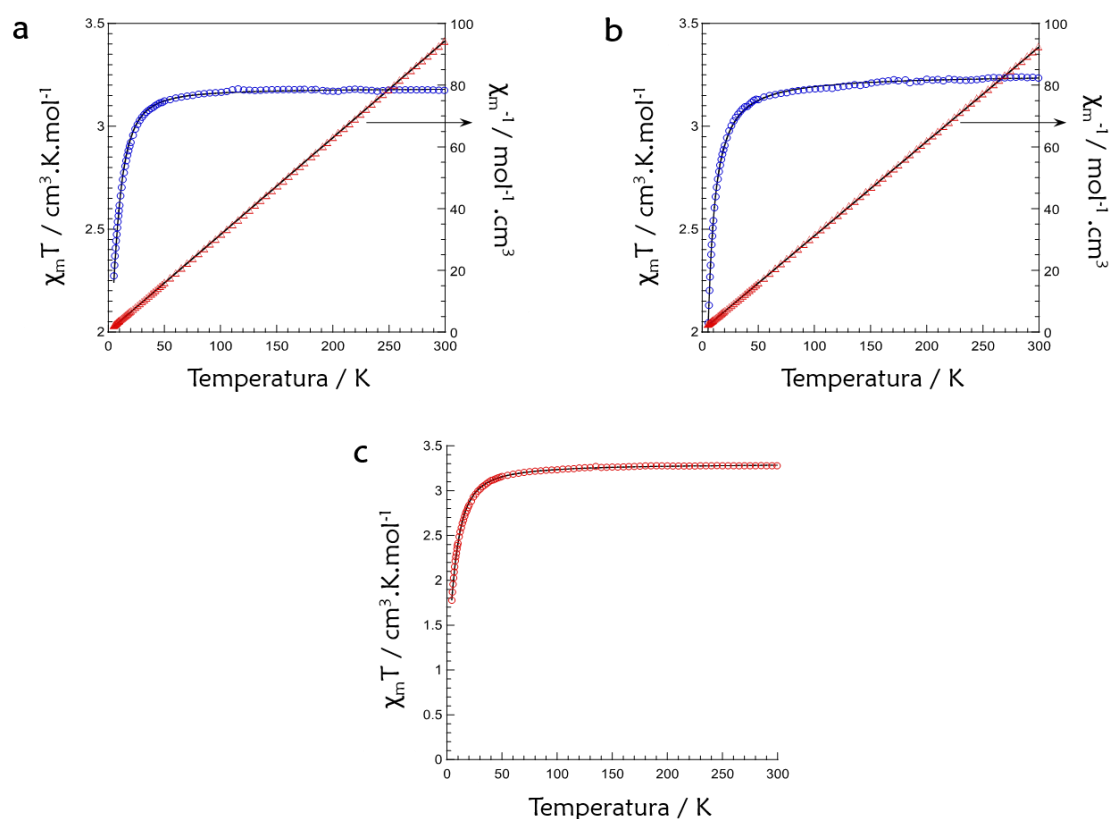


Figura 74. Comportamiento magnético del compuesto (a) **12**; (b) **13** y (c) **14**. Los datos experimentales de $\chi_m T$ se representan junto con el mejor ajuste obtenido con la ecuación 8 (línea sólida). La línea continua corresponde a la ley de Curie-Weiss.

Como puede observarse en las gráficas anteriores, la ley de Curie-Weiss se cumple por debajo de los 50 K con valores para la constante de Curie (C_m) dentro del rango para compuestos de Fe(II) de alto espín y bajas temperaturas de Weiss (θ). A temperatura ambiente los valores de susceptibilidad magnética son ligeramente más altos que los pronosticados para complejos $S=2$ ($3.00 \text{ cm}^3 \text{ K mol}^{-1}$). En el caso del producto $\chi_m T$, este se mantiene constante para los tres compuestos a altas temperaturas (300-50 K), observándose una fuerte caída hasta los 5 K. Este comportamiento es característico de sistemas con interacciones antiferromagnéticas, pero en este caso esto es debido probablemente al desdoblamiento a campo cero de los iones de Fe(II).¹¹⁸

¹¹⁸ S. A. Cantalupo, S. R. Fiedler, M. P. Shores, A. L. Rheingold, L. H. Doerrer, *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2012**, *51*, 1000-1005.

Tabla 2. Valores experimentales para los complejos **12**, **13** y **14**.

Compuesto	C_m (cm ³ K mol ⁻¹)	θ (K)	χ_m (cm ³ K mol ⁻¹)
12	3.18	-0.6	3.17
13	3.26	-1.8	3.23
14	3.31	-1.9	3.28

Los datos experimentales de susceptibilidad magnética se ajustaron a la siguiente expresión analítica¹¹⁹, que describe la evolución térmica de χ_m para un ion $S = 2$ con desdoblamiento a campo cero:

$$\chi_m = \frac{2Ng^2\mu_B^2}{3k(T-\theta)} \left[\frac{e^{-x} + 4e^{-4x} + \frac{6}{x}(1 - e^{-x}) + \frac{4}{3x}(e^{-x} - e^{-4x})}{1 + 2e^{-x} + 2e^{-4x}} \right]$$

Ecuación 8. Ecuación de la susceptibilidad magnética.

Donde N es el número de Avogadro, μ_B es el magnetón de Bóhr, k la constante de Boltzmann, g es la media del factor g , θ es la constante de Weiss y $x = D/kT$, donde D es el parámetro axial de ZFS para un solo ión.

El mejor ajuste por mínimos cuadrados (líneas sólidas en la Figura 29) se obtuvo con los valores que se muestran en la tabla siguiente para cada uno de los complejos. Los valores de θ se fijaron a partir de los gráficos de χ_m^{-1} vs. T (Figura 29). Los valores calculados para $|D|$ fueron similares a los observados para complejos de Fe(II) de alto espín y lo suficientemente altos para explicar la ausencia de señales en EPR de la banda χ .¹²⁰

Tabla 3. Valores obtenidos por ajuste de mínimos cuadrados para $|D|/k$ y g .

Compuesto	$ D /k$ (K)	g
12	10.6	2.06

¹¹⁹ M. E. Pascualini, N. V. Di Russo, A. E. Thuijs, A. Ozarowski, S. A. Stoian, K. A. Abboud, G. Christou, A. S. Veige, *Chem. Sci.* **2015**, *6*, 608-612.

¹²⁰ R. Boča, *Coord. Chem. Rev.*, **2004**, *248*, 757-815.

13	7.3	2.08
14	9.7	2.09

Por otra parte, se realizaron medidas de magnetización isotérmica para el compuesto **14**, las cuales fueron recogidas en un campo de hasta 7T y a varias temperaturas, entre 2-7 K. Como puede verse en la gráfica de la Figura 75a, las desviaciones de los datos experimentales de la función de Brillouin son bastante notables, lo que confirma el gran desdoblamiento de campo cero del Fe(II) en el compuesto **14**.

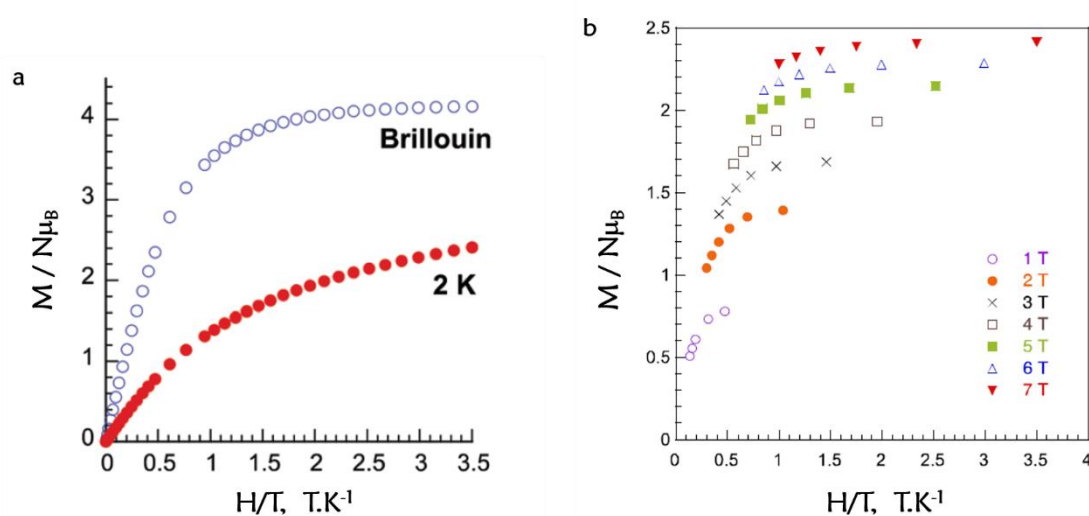


Figura 75. (a) Dependencia del campo de la magnetización medida a 2 K. La función de Brillouin para $S = 2$ se muestra con fines comparativos y (b) datos de magnetización a baja temperatura recopilados en diversos campos aplicados para el compuesto **14**.

Además, en el gráfico de magnetización (Figura 75b) puede verse la separación significativa entre las curvas, indicativo de una fuerte anisotropía magnética en el estado fundamental. La magnetización de campo alto se satura a 2.41 BM, más baja que la 4 BM esperada para un sistema isotrópico con cuatro electrones no apareados y $g = 2$, pero consistente con una anisotropía axial significativa.¹²¹

¹²¹ D. E. Freedman, W. H. Harman, T. D. Harris, G. J. Long, C. J. Chang, J. R. Long, *J. Am. Chem. Soc.*, **2010**, *132*, 1224-1225.

3. DETERMINACIÓN DE LOS VALORES DE BDFE

Una vez caracterizados todos los complejos y comprobado que los grupos hidroxilo y amida a valorar permanecen coordinados al centro metálico, tanto en disolución de DMSO como en estado sólido, nos centramos en las medidas de las energías libres de disociación de enlace (BDFE) de dichos grupos funcionales.

Tal y como se mencionó en la introducción de la presente Tesis Doctoral, los valores de BDFE pueden obtenerse por combinación de medidas de pK_a y los potenciales de oxidación de acuerdo con el método de Bordwell.¹² Este se basa en el ciclo termodinámico que se muestra en la Figura 76, el cual sigue la Ecuación 9.

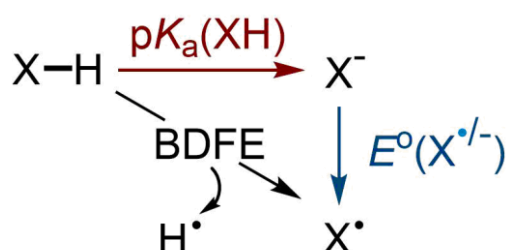


Figura 76. Ciclo termodinámico.

$$\text{BDFE} = 1.37pK_a + 23.06E^\circ + 71,1 \text{ (kcal mol}^{-1}\text{)}$$

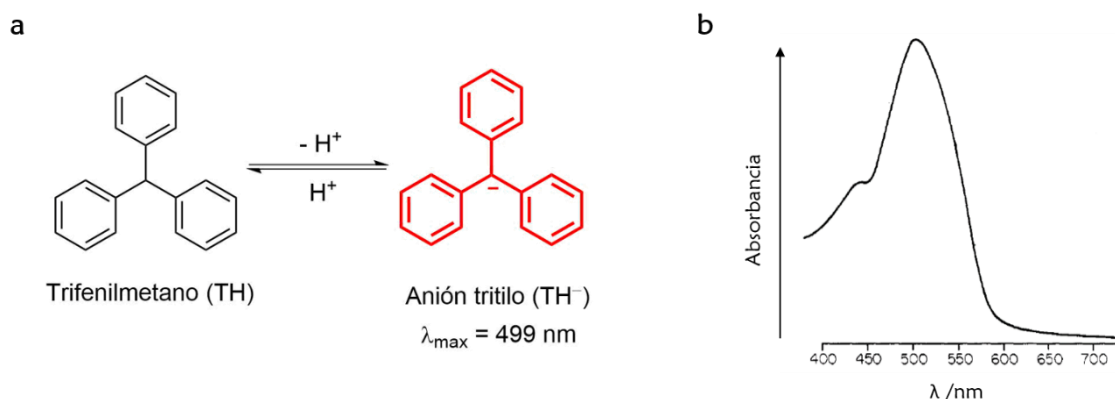
Ecuación 9. Ecuación del cálculo de la BDFE en DMSO.

En nuestro caso, todas las medidas se realizaron en DMSO, siendo 71.1 el valor de la constante C_G reportado por Mayer y colaboradores frente al sistema Fc^+/Fc .^{3h, 20}

3.1 Medidas de pK_a

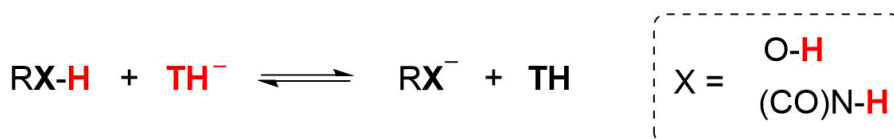
Para determinar los valores de pK_a de cada uno de nuestros ligandos **2-4** y complejos **12-14**, **17** y **18**, nos basamos en el método del indicador, desarrollado por Bordwell y colaboradores.¹¹⁰ Este método consiste en relacionar la acidez de dos ácidos mediante la valoración de una disolución de un ácido, que contiene una concentración conocida de su anión coloreado (en nuestro caso el trifenilmetano, TH), con una disolución de un segundo ácido, cuyo anión es incoloro o absorbe en una longitud de onda diferente al primero (nuestros compuestos a medir). La concentración del anión coloreado se mide espectrofotométricamente después de cada adición del segundo ácido, y la posición de equilibrio se calcula a partir de ésta y las concentraciones conocidas de las dos disoluciones ácidas. Para ello, es necesario que el valor de pK_a de uno de los ácidos sea conocido.

El trifenilmetano (TH) es un sólido incoloro, cuyo esqueleto es la base de muchos tintes sintéticos usados en la industria textil. La desprotonación del TH por la acción de una base genera el anión tritilo (TH⁻) que absorbe fuertemente en la región visible ($\lambda_{\text{max}} = 499 \text{ nm}$ en DMSO), lo que le confiere una coloración roja. Esto permite que la pareja TH/TH⁻ pueda emplearse como indicador en valoraciones espectrofotométricas. Puesto que el valor de pK_a del TH en DMSO es conocido ($pK_a = 30.6$),¹¹⁰ lo pudimos emplear como indicador de nuestras valoraciones.



Esquema 31. (a) Equilibrio entre el TH y su anión tritilo TH⁻; (b) espectro de absorbancia¹²² del TH⁻.

Así, mediante valoraciones UV-Vis en DMSO usando como indicador el anión del trifenilmetano (TH⁻) obtuvimos los valores de pK_a , tanto de los ligandos como de los correspondientes complejos y derivados. Puesto que el TH⁻ es una base, empleamos este anión para generar la desprotonación de nuestros ligandos y complejos con grupos hidroxilo/amida.

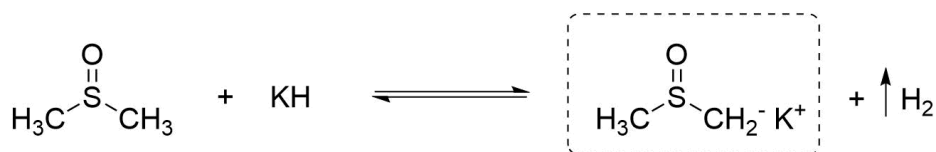


Esquema 32. Equilibrio acido-base entre grupos hidroxilo/amida y trifenilmetano.

Por tanto, teniendo en cuenta lo anteriormente indicado, el primer paso es la obtención del anión tritilo mediante la desprotonación del TH, para lo que empleamos una disolución de una base fuerte como es el anión dimsilo. Para preparar dicha disolución

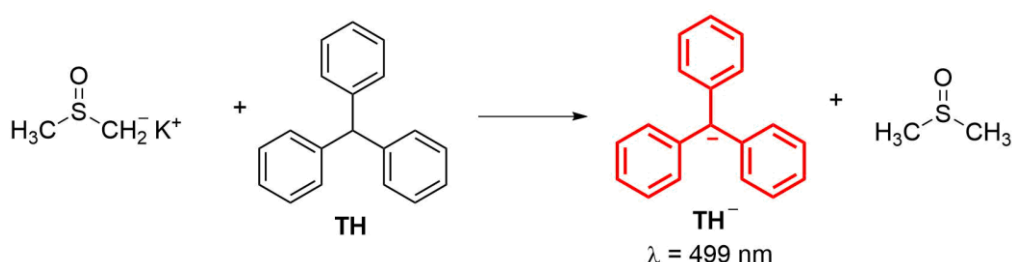
¹²² L. M. Tolbert, *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 3531-3534.

se disolvió KH, previamente lavado con hexano, en DMSO anhidro, bajo una atmósfera de argón.¹²³



Esquema 33. Desprotonación del DMSO.

La adición de unas gotas de esta disolución a otra de TH en DMSO, generó la aparición de un color rojo brillante en la misma, característico del anión tritilo.



Esquema 34. Desprotonación del TH.

Una vez obtenida la disolución del anión indicador, pasamos a realizar la valoración de UV-Vis. En una cubeta de UV, que contenía dicha disolución en DMSO, se fueron añadiendo volúmenes conocidos (2 μL , 5 μL , 10 μL o 20 μL dependiendo de la valoración a realizar) de una disolución 0.02 M del ligando/complejo a valorar. Tras cada adición se realizaba la medida espectrofotométrica de la nueva disolución para conocer su nuevo valor de absorbancia. De esta forma, observábamos la desaparición del color rojo de la disolución, así como la disminución de la absorbancia del anión tritilo, indicativo del desplazamiento del equilibrio del Esquema 21 hacia la derecha y, por tanto, la desprotonación de nuestros compuestos a valorar.

A continuación, se muestran las curvas de valoración obtenidas para los ligandos **2-4** (Figuras 77-79) y de los complejos de Fe(II) **12-14**, **17** y **18** (Figuras 80-84), conforme va aumentando la concentración de los mismos en la disolución de TH^- en DMSO.

¹²³ Ver sección experimental.

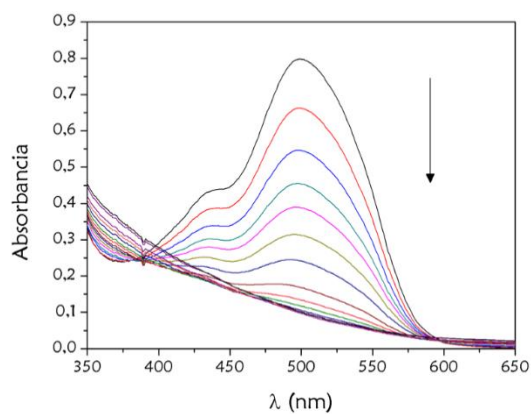
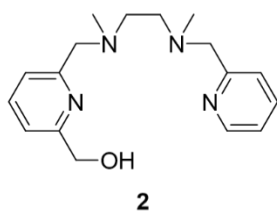


Figura 77. Valoración UV-Vis del ligando **2** en DMSO a 25°C.

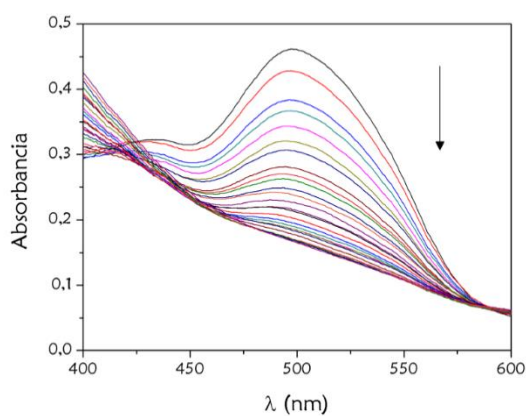
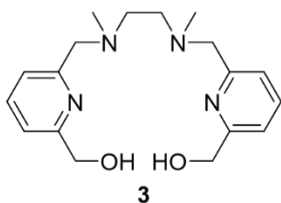


Figura 78. Valoración UV-Vis del ligando **3** en DMSO a 25°C.

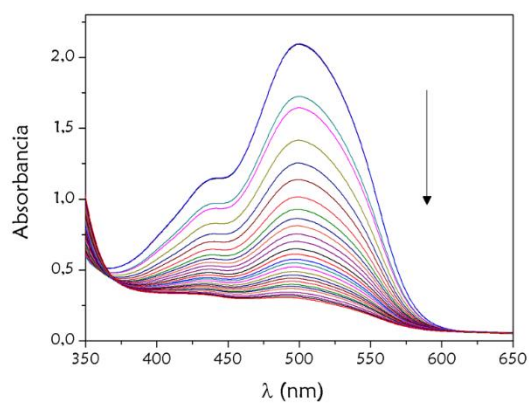
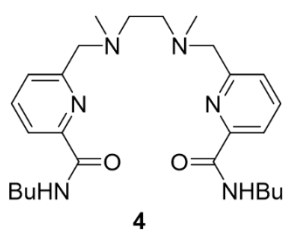


Figura 79. Valoración UV-Vis del ligando **4** en DMSO a 25°C.

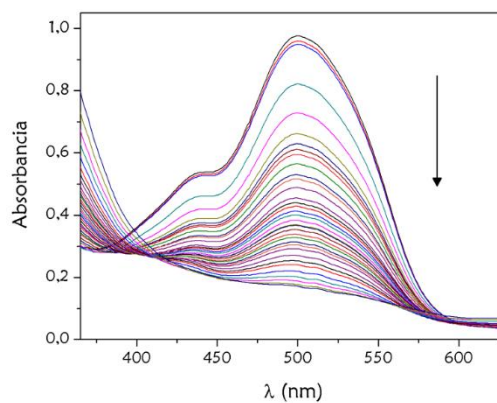
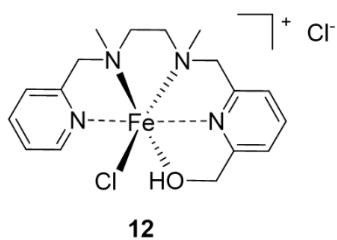


Figura 80. Valoración UV-Vis del complejo **12** en DMSO a 25°C.

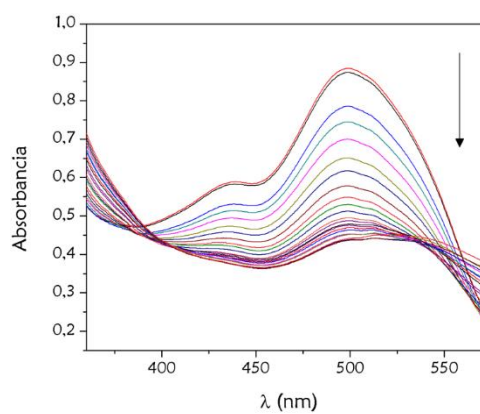
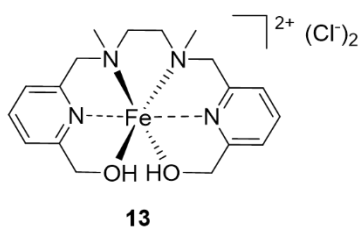


Figura 81. Valoración UV-Vis del complejo **13** en DMSO a 25°C.

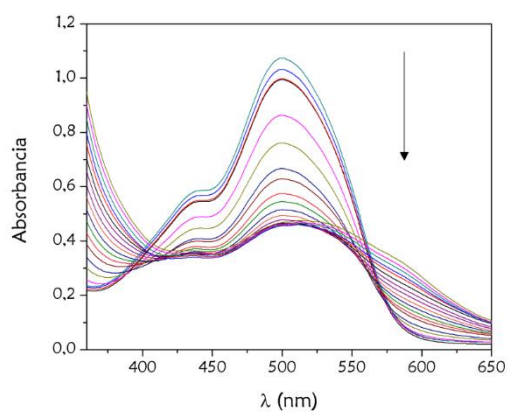
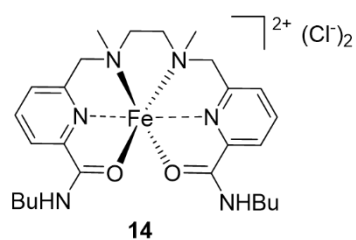


Figura 82. Valoración UV-Vis del complejo **14** en DMSO a 25°C.

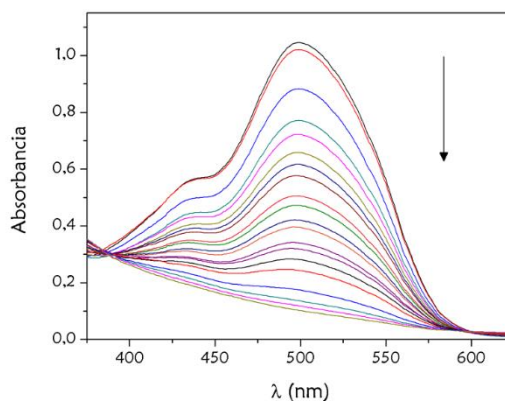
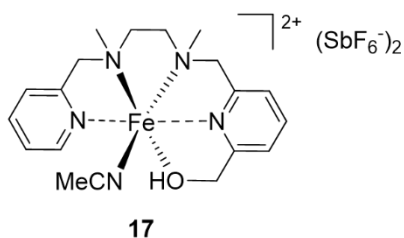


Figura 83. Valoración UV-Vis del complejo **17** en DMSO a 25°C.

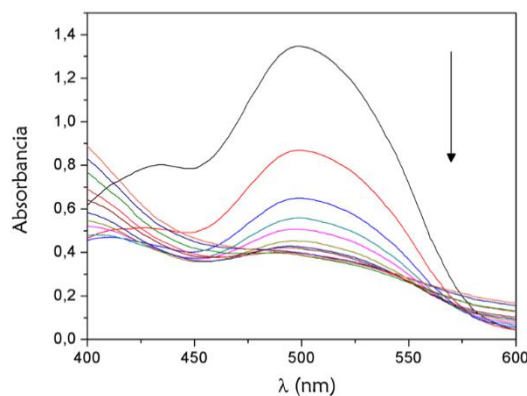
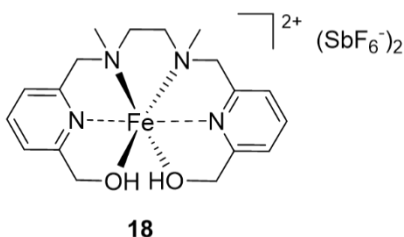


Figura 84. Valoración UV-Vis del complejo **18** en DMSO a 25°C.

Como puede verse en las gráficas anteriormente mostradas, tanto en el caso de los ligandos como en el de los complejos pudimos observar una disminución de la absorbancia a 499 nm, así como una desaparición del color rojo, correspondiente al anión tritilo, conforme va aumentando la concentración de ligando/complejo añadido. Esto es indicativo de la protonación del anión tritilo, lo que va acompañado de la desprotonación de los ligandos/complejos (ver esquema 21).

Tras obtener las curvas de valoración UV-Vis y puesto que la absorbancia es directamente proporcional a la concentración de anión tritilo, representamos gráficamente la absorbancia a 499 nm frente a la concentración añadida de ligando/complejo (Figuras 85-87), ya que el sistema cumple con la ley de Lambert-Beer. A partir de estas gráficas pudimos obtener el punto de equivalencia mediante extrapolación lineal de las rectas con diferentes pendientes antes y después del mismo. El

punto de intersección entre ambas curvas corresponde al punto de equivalencia, a partir del cual pudimos obtener el valor de pK_a para cada uno de nuestros compuestos.

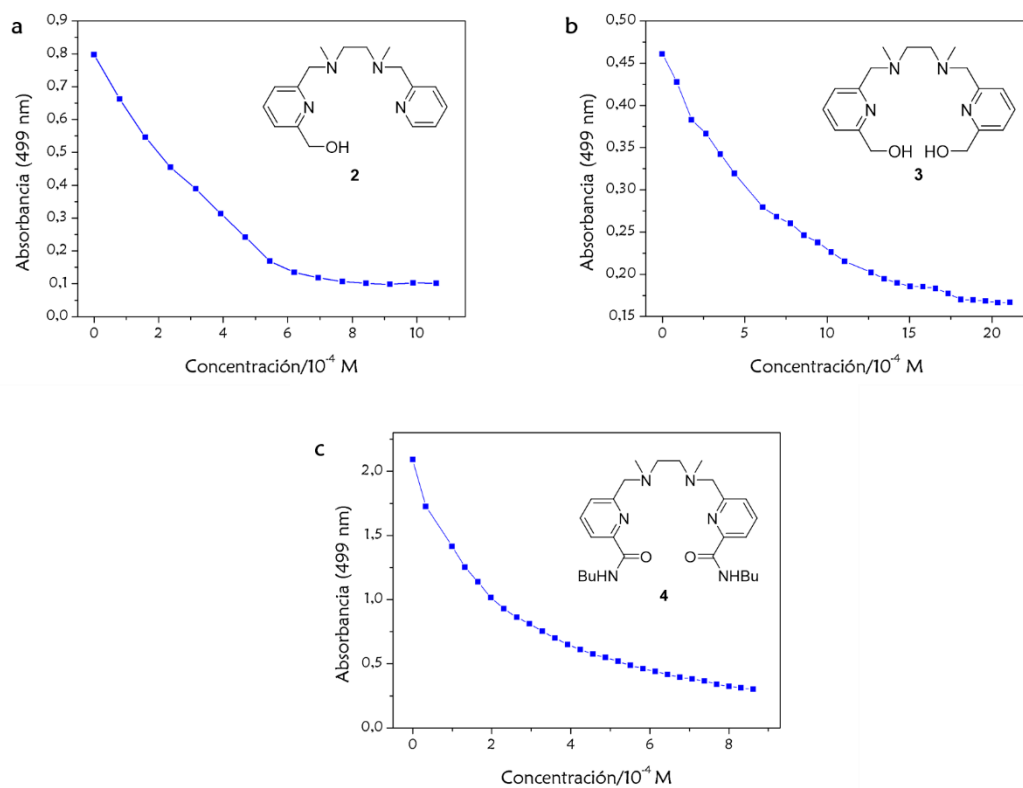


Figura 85. Absorbancia a 499 nm vs. (a) [2] M, (b) [3] M y (c) [4] M.

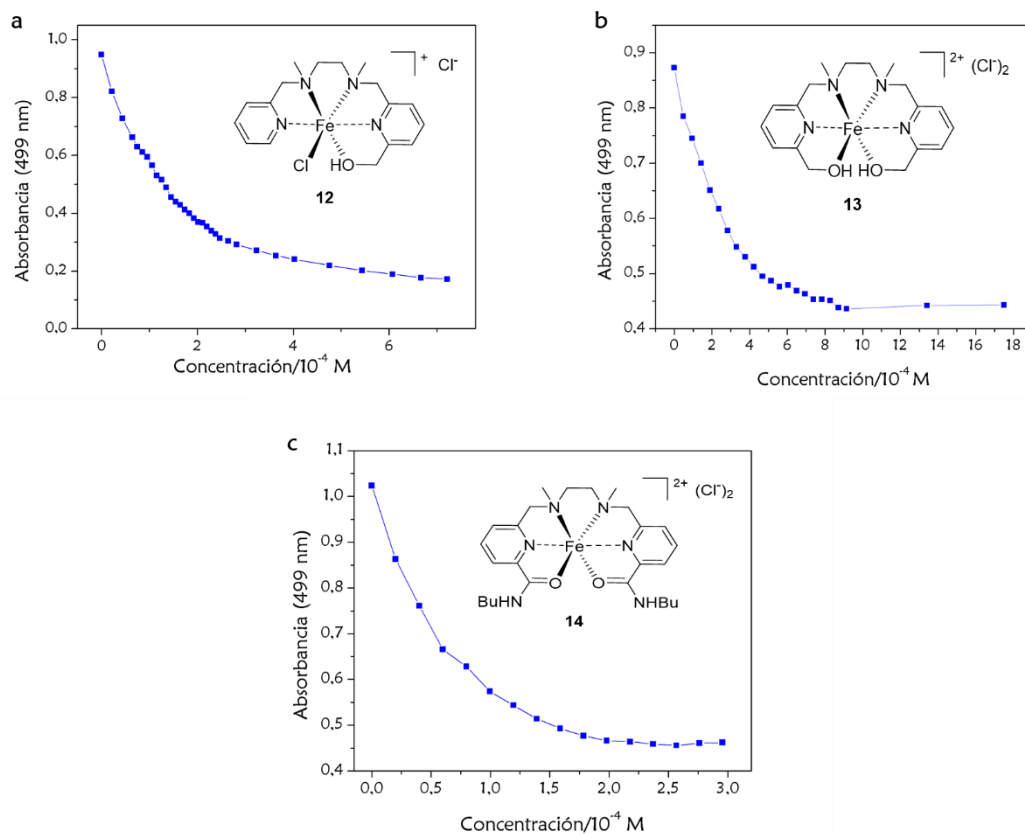


Figura 86. Absorbancia a 499 nm vs. (a) [12] M, (b) [13] M y (c) [14] M.

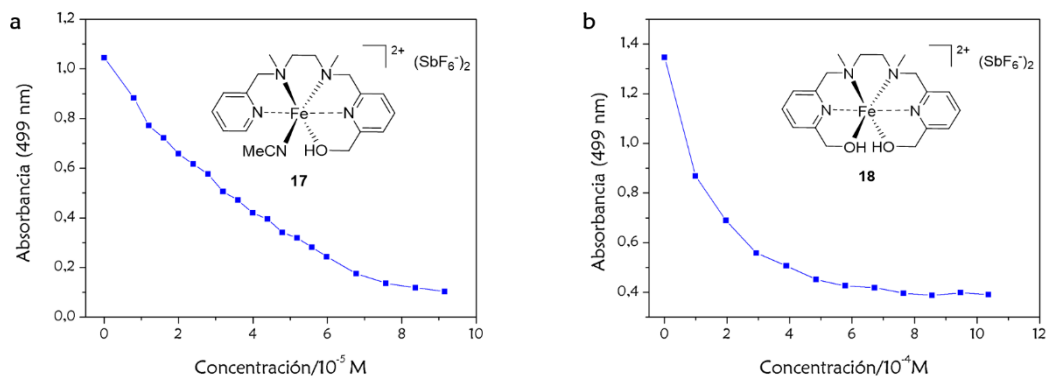
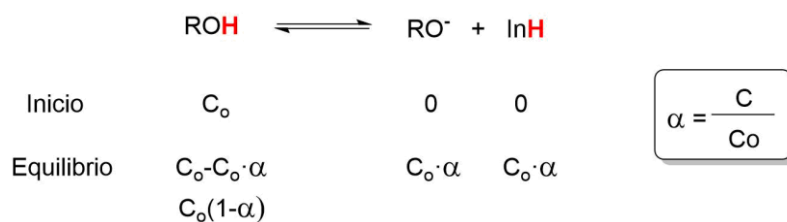


Figura 87. Absorbancia a 499 nm vs. (a) [17] M y (b) [18] M.

A partir de las gráficas anteriores obtuvimos los correspondientes valores de pK_a considerando las siguientes observaciones. Teniendo en cuenta el equilibrio químico que tiene lugar para nuestros ligandos/complejos, así como el grado de disociación de los mismos, tendremos lo siguiente:



Donde α es el grado de disociación; C y C_0 son la concentración disociada y la inicial de nuestro ligando/complejo respectivamente, expresadas ambas en mol/L. Sabiendo que nuestro sistema cumple con la ley de Lambert-Beer pudimos obtener la concentración inicial del indicador $[\text{In}^-]_0$, ya que inicialmente la absorbancia solo se debe al indicador.

$$A_0 = \varepsilon \cdot l \cdot [\text{In}^-]_0 \implies [\text{In}^-]_0 = A_0 / \varepsilon \cdot l$$

$$\varepsilon = 14092 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}; l = 1 \text{ cm}$$

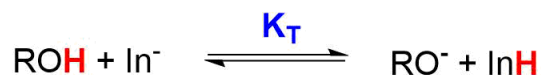
Ecuación 10. Ley de Lambert-Beer para el indicador.

Sabemos, además, que en el punto de corte obtenido a partir de las gráficas anteriores por extrapolación $[\text{ROH}] + [\text{RO}^-] = C_0$. Por lo tanto, teniendo el valor de la concentración inicial (C_0) tanto de nuestro compuesto como del indicador ($[\text{In}^-]_0$) podemos calcular el grado de disociación como:

$$\alpha = \frac{C}{C_0} = \frac{C_0 - [\text{In}^-]_0}{C_0}$$

Ecuación 11. Grado de disociación de nuestro ligando/complejo.

El equilibrio global que tiene lugar entre nuestro ligando/complejo y el indicador es el siguiente:



Donde K_T es igual a:

$$K_T = \frac{[\text{RO}^-] [\text{InH}]}{[\text{ROH}] [\text{In}^-]} \times \frac{[\text{H}^+]}{[\text{H}^+]} = \frac{K_{\text{ROH}}}{K_{\text{InH}}}$$

Multiplicando la constante K_T por la concentración de protones, aplicando logaritmos y sabiendo que $pK_a = -\log K_a$ obtendremos:

$$\log K_T = \log K_{ROH} - \log K_{InH}; \implies -pK_T = -pK_{ROH} + pK_{InH};$$

Reordenando términos y conociendo que el valor de pK_{InH} es de 30.6,¹¹⁰ nos quedaría la siguiente ecuación de la cual podremos obtener el valor de pK_{ROH} , o lo que es lo mismo el valor de pK_a para cada uno de nuestros ligandos y complejos.

$$pK_{ROH} = pK_T + pK_{InH}$$

Ecuación 12. Ecuación para obtener el pK_{ROH} .

Tras realizar los cálculos necesarios obtuvimos los valores de pK_a , los cuales se recogen en la Tabla 5.

Tabla 4. Valores experimentales de pK_a para los ligandos **2-4** y los complejos **12-14, 17 y 18**.

Ligando	Valor de pK_a	Complejo	Valor de pK_a	Complejo	Valor de pK_a
2	27.6	12	26.5	17	24
3	28.3 / 29.4	13	23.8	18	22.6
4	22.0	14	19.7	-	-

En el caso de los ligandos **2-4**, los valores de pK_a obtenidos están en consonancia con los datos publicados para alcoholes bencílicos ($pK_a = 26.93-26.71$)¹²⁴ y benzamidas ($pK_a = 23.5$).^{99b} Teniendo en cuenta la estructura de nuestros ligandos, tanto en el compuesto **3** como en el **4** eran posibles dos desprotonaciones por la presencia de dos grupos hidroxilo y dos grupos amidas, respectivamente. Pero, como puede verse en la Tabla 5, solo en el caso del ligando **3** pudimos determinar el valor de pK_a de las dos desprotonaciones, mientras que para el ligando **4** solo se pudo obtener un único valor de

¹²⁴ F. G. Bordwell, W.-Z. Liu, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 8777-8781.

pK_a . Esto puede deberse probablemente a que ambas desprotonaciones presentaban valores muy similares de pK_a , lo que las hacía indistinguibles.

Con los resultados presentados en la tabla 5 pudimos realizar una comparación entre los valores de pK_a de los ligandos libres **2-4** y sus correspondientes complejos de Fe(II) **12-14**. Tal y como esperábamos, observamos una mayor acidez para los complejos metálicos en relación a los ligandos, debido a la presencia del metal, lo que puso de manifiesto el carácter como ácido de Lewis del Fe(II).

Posteriormente, se realizó la evaluación de los resultados obtenidos para cada una de las parejas ligando/complejo. Así, en el caso del complejo **12** observamos una ligera disminución del valor de pK_a con respecto al ligando **2**, lo que podía deberse a la baja acidez de Lewis que presentaba el átomo de Fe(II) en este complejo monocatiónico, al estar rodeado de cuatro átomos de nitrógeno donadores. Por otra parte, tal y como se comentó en la sección 3.2, otro de los aspectos a tener cuenta era la posibilidad de que se produjera un equilibrio rápido entre las especies coordinadas y no coordinadas en disolución por la presencia del anión cloruro coordinante. Por tanto, para evaluar este factor se realizó la síntesis del correspondiente complejo **17**, derivado del intercambio de los iones cloruro por iones SbF_6^- (ver Esquema 25). Como se esperaba, este complejo dicatiónico presentó un valor de pK_a menor que para el caso del complejo **12** y una variación de 3 unidades de pK_a con respecto al ligando **2**. Desafortunadamente, no pudimos obtener la estructura de rayos X del complejo **17**.

Por otra parte, en el complejo **13**, a diferencia de su correspondiente ligando **3**, no pudimos discriminar entre las dos etapas de desprotonación posibles, pero si observamos la disminución en el valor de pK_a obtenido para este complejo, demostrando la mayor acidez de los protones de los dos grupos hidroxilo debido a la coordinación al centro metálico. En este caso, la disminución de valor de pK_a fue mucho más marcada en comparación con su análogo monohidroxilado **12**, debido probablemente al carácter dicatiónico del mismo. Esta mayor variación en el valor de pK_a también se pudo comprobar en el complejo **18**, derivado del intercambio de cloruro por SbF_6^- , mostrando un valor de pK_a muy similar al del complejo **13**.

Por último, en el complejo **14**, al igual que en el caso anterior, fue imposible discriminar entre las dos etapas de desprotonación. Pero de nuevo el valor de pK_a obtenido fue menor en comparación con su correspondiente ligando **4**, demostrando una vez más el aumento de la acidez del resto (CO)NH debido a la presencia del metal.

El aumento del carácter ácido de los complejos de Fe(II) en relación a sus correspondientes ligandos supuso un gran avance en nuestro estudio, ya que habíamos conseguido disminuir el valor de uno de los factores determinantes y a tener en cuenta a la hora de obtener los valores de BDFE de nuestros complejos (ver ecuación 9).

3.2 Medidas electroquímicas

Una vez determinados los valores de pK_a de los complejos objetivo, solo restaba la obtención de los correspondientes potenciales de oxidación para determinar experimentalmente la BDFE de los enlaces O-H y (CO)N-H de nuestros complejos.

Las medidas electroquímicas se realizaron bajo atmosfera de Ar a 25°C en una celda electrolítica de tres electrodos, usando una disolución 0.1 M de hexafluorofosfato de *n*-butilamonio (TBAPF₆) en DMSO como electrolito soporte. Como electrodo de trabajo se empleó un electrodo de carbono, un cable de platino como contraelectrodo y un cable de plata como electrodo de referencia.¹²⁵ Para obtener los valores de potencial de las especies desprotonadas, las medidas electroquímicas se realizaron en presencia de base, en nuestro caso dimisilo potásico, obtenido como se mencionó en el apartado anterior (ver Esquema 33). De esta forma, conseguimos generar las especies desprotonadas *in situ*. Además, tal y como se comentó anteriormente, todas las medidas electroquímicas se realizaron usando los cristales de los complejos obtenidos.

En primer lugar, intentamos llevar a cabo las medidas electroquímicas de los ligandos **1-4**, pero desafortunadamente no pudimos obtener el correspondiente valor del E^0 para los ligandos desprotonados mediante voltametría cíclica, debido a reacciones de descomposición por la presencia de la base que originaba la irreversibilidad del proceso redox. Por ello, decidimos emplear los valores existentes de BDFE para el alcohol bencílico (BDFE=101.7 kcal/mol)¹²⁴ y la benzamida (BDE=107 kcal/mol; BDFE_{calc.}=102.6 kcal/mol)^{99b} por similitud con nuestros ligandos.

En cuanto a los complejos de Fe(II), comenzamos con las medidas electroquímicas del complejo modelo **11** en DMSO. En la siguiente figura se muestran los voltamogramas cíclico y de onda cuadrada obtenidos para dicho complejo.

¹²⁵ Para conocer más detalles sobre las medidas electroquímicas ver Sección Experimental.

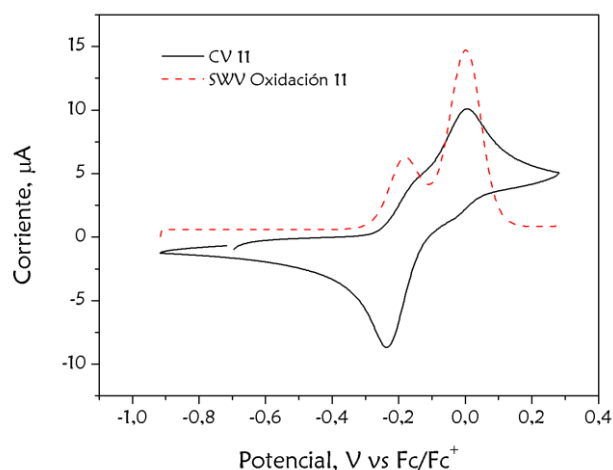


Figura 88. Voltamograma cíclico y onda cuadrada de oxidación de una disolución del complejo **11** (4 mM) en DMSO a 25°C ($v = 0.1$ V/s)

Como puede verse en la Figura 88, observamos dos picos de oxidación completamente reversibles a -0.21 y -0.03 V frente al Fc/Fc^+ , tal y como refleja tanto la voltametría cíclica como la onda cuadrada.^{114,126} La presencia de dos picos de oxidación sugirió la existencia de dos estructuras distintas que se encontraban en equilibrio en disolución. Para confirmar nuestras suposiciones utilizamos el complejo **16** (ver Esquema 24), en el cual los iones cloruro habían sido sustituidos por iones SbF_6^- . Las medidas electroquímicas de este complejo fueron más complejas, pero nuevamente se observaron dos picos de oxidación reversibles a -0.04 V y 0.16 V, presentando el mismo patrón electroquímico en ambos complejos (Figura 89). Los potenciales se desplazaron hacia valores más positivos, ya que el complejo **16** se volvía catiónico haciendo más difícil su oxidación en comparación con el complejo modelo **11**, que presentaba iones cloruro.

¹²⁶ L. S. Morris, M. P. Girouard, M. H. Everhart, W. E. McClain, J. A. van Paridon, R. D. Pike, C. Goh, *Inorg. Chim. Acta*, **2014**, *413*, 149–159.

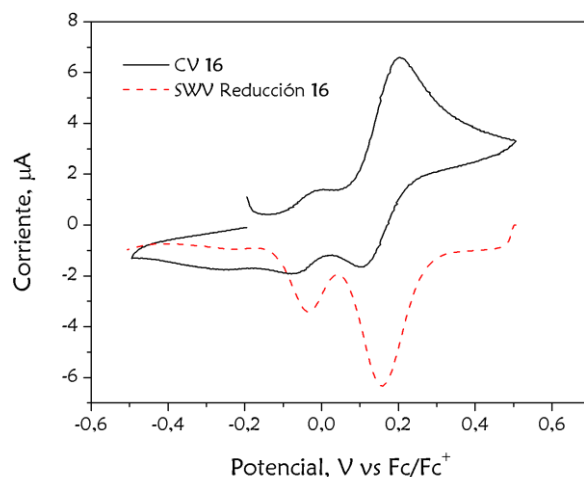


Figura 89. Voltamograma cíclico y onda cuadrada de reducción de una disolución del complejo **16** (4 mM) en DMSO a 25°C ($\nu = 0.1$ V/s)

Ya que los dos picos de oxidación que se obtuvieron en ambos voltamogramas no podían ser atribuidos a procesos de coordinación/descoordinación de los ligandos cloruro, se atribuyeron finalmente a la presencia de un equilibrio rápido entre las configuraciones *cis* y *trans* de los grupos piridilo (Figura 90).

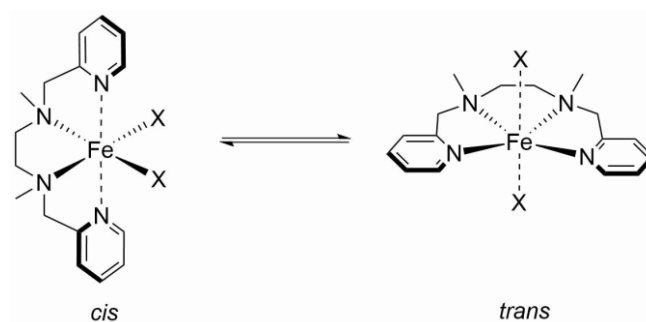


Figura 90. Equilibrio *cis-trans*.

Por otra parte, el análisis electroquímico del complejo **12** mostró dos picos reversibles de oxidación a -0.35 y -0.06 V (Figura 91, línea negra continua). En este caso, al estar coordinado a un donador electrónico, el grupo hidroxilo, este complejo se oxida más fácilmente que el complejo **11**. De nuevo, estos picos fueron atribuidos a un proceso de equilibrio similar, el anteriormente mencionado para los complejos **11** y **16**.

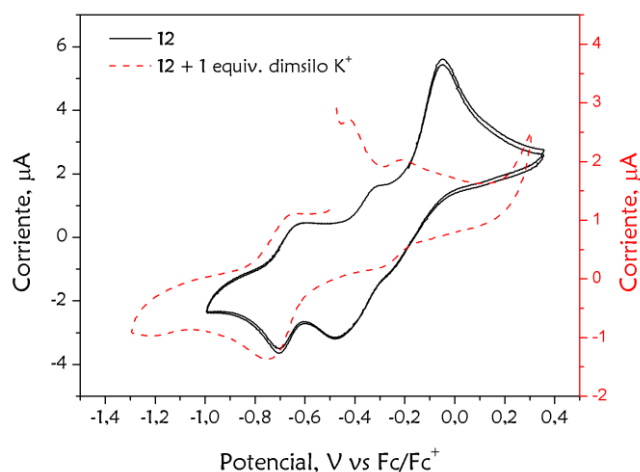


Figura 91. Voltamograma cíclico de una disolución del complejo **12** (4 mM) en DMSO en ausencia y en presencia de base ($v = 0.1$ V/s)

En presencia de 1 equivalente de base (Figura 91, línea roja discontinua) los picos observados inicialmente desaparecieron casi por completo, lo que fue acompañado por la aparición de un nuevo pico de oxidación reversible a -0.73 V, correspondiente a la especie totalmente desprotonada. Como puede verse en el voltamograma realizado antes de la adición de la base, aparece un pico similar al mismo voltaje que el obtenido tras la adición de base. Este hecho podría deberse a la existencia de un proceso de desprotonación parcial en disolución. Esto se refleja claramente en la onda cuadrada realizada antes de la adición del dimsilo potásico (Figura 92).

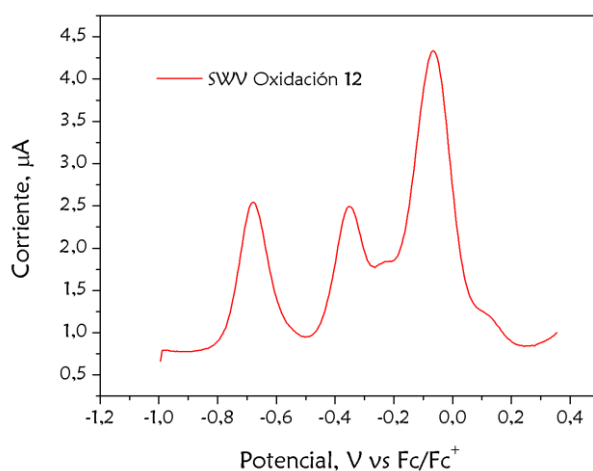


Figura 92. Onda cuadrada de oxidación de una disolución del complejo **12** (4 mM) en DMSO a 25°C ($v = 0.1$ V/s)

Continuando nuestro estudio electroquímico, pudimos observar que el voltamograma del compuesto **13** presentaba dos picos de oxidación irreversibles a -0.36 y $+0.06$ V, valores muy similares a los del complejo **12** (Figura 93, línea continua negra). Esto no era de extrañar ya que ambos complejos presentan estructuras muy similares.

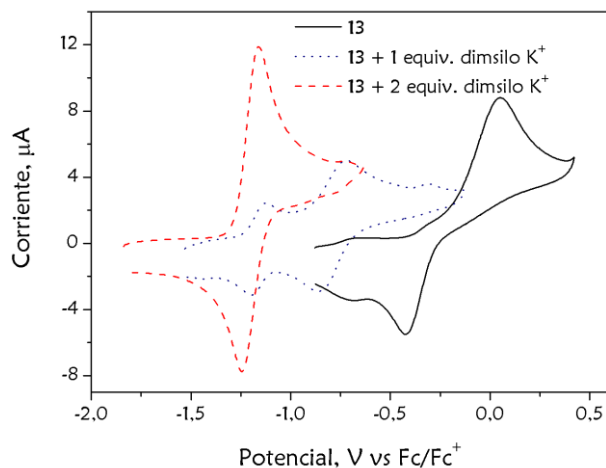


Figura 93. Voltamograma cíclico de una disolución del complejo **13** (4 mM) en DMSO en ausencia y en presencia de base ($v = 0.1$ V/s)

Cuando añadimos 1 equivalente de base (Figura 93, línea azul discontinua), pudimos observar la aparición de un pico reversible a -0.78 V, el cual se atribuyó al derivado monodesprotonado. Este valor estaba en consonancia con el valor del potencial obtenido para el complejo **12** en presencia de un equivalente de base (-0.73 V). Además, al igual que en el caso de su análogo anterior, este nuevo pico puede observarse, aunque levemente, antes de la adición de base al complejo **13**. Esto puede verse más claramente reflejado en el voltamograma de onda cuadrada realizado antes de la adición de base (Figura 94).

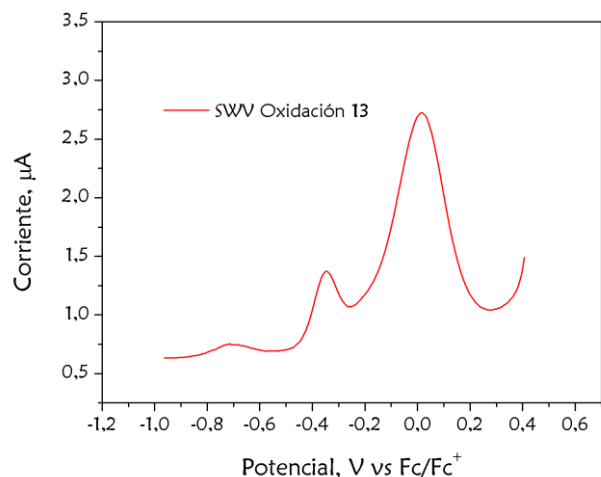


Figura 94. Voltamograma de onda cuadrada de oxidación de una disolución del complejo **13** (4 mM) en DMSO en ausencia de base ($\nu = 0.1 \text{ V/s}$).

La adición de un exceso de base al complejo **13** generó un voltamograma cíclico en el que apareció un nuevo pico totalmente reversible a -1.2 V . Este desplazamiento a potenciales más negativos concuerda con un complejo de Fe(II) con dos ligandos alcóxidos donantes, es decir, con el complejo **13** doblemente desprotonado, haciendo que se oxide más fácilmente. Como puede verse tanto en el voltamograma cíclico como en el de onda cuadrada, este pico a -1.2 V puede apreciarse cuando adicionamos 1 equivalente de base. La aparición de este pico en el voltamograma antes de la adición de un exceso de base, así como el pico que aparece a -0.78 V en ausencia de base, fueron atribuidos a procesos de desprotonación parcial en disolución. En la siguiente figura se muestra el voltamograma de onda cuadrado obtenido en ausencia y presencia de base, donde pueden verse con mayor claridad los picos observados en las voltametrías cíclicas mostradas anteriormente.

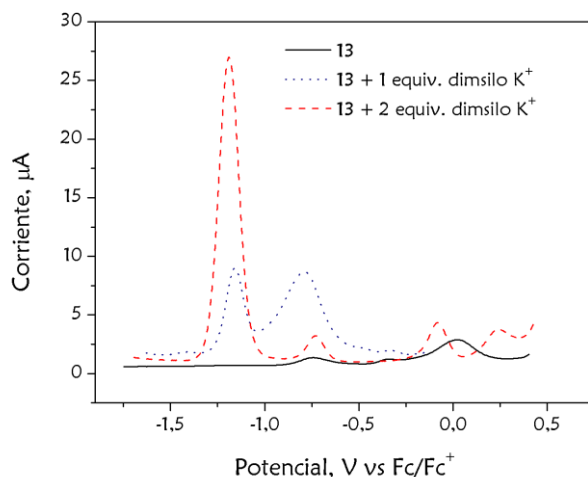


Figura 95. Voltamograma de onda cuadrada de oxidación de una disolución del complejo **13** (4 mM) en DMSO en presencia y ausencia de base ($v = 0.1$ V/s).

Una situación similar a la anterior se observó cuando las medidas electroquímicas se realizaron para el complejo **18**, derivado del compuesto **13** por intercambio de los iones cloruro por SbF_6^- (ver Esquema 25). Puesto que en este caso no pudimos obtener la estructura de rayos X de este complejo, las medidas se realizaron empleando el sólido obtenido tras la reacción. Los voltamogramas cíclico y de onda cuadrada en ausencia de base del complejo **18** presentaron dos picos de oxidación reversibles a -0.2 V y $+0.12$ V. Al igual que en el caso del complejo **16** (Figura 90), los potenciales obtenidos para el compuesto **18** se desplazaron hacia valores más positivos, ya que hubo un cambio del entorno químico y electrónico, haciendo a estos complejos más difíciles de oxidar debido a la carga neta positiva que tenían tras el intercambio de los iones cloruro por SbF_6^- . En presencia de un equivalente de base apareció un pico reversible a -0.73 V, valor similar al obtenido para los complejos monodesprotonados **12** y **13**. Mientras que la adición de dos equivalentes de base generaba un pico reversible a -1.19 V, correspondiente con el producto doblemente desprotonado, muy similar al valor obtenido para el complejo **13**.

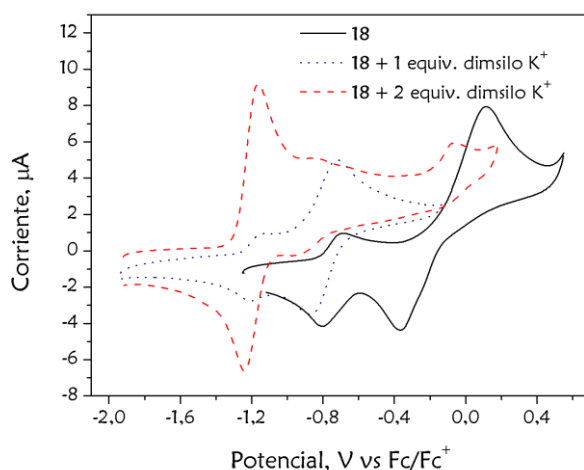


Figura 96. Voltamograma cíclico de una disolución del complejo **18** (4 mM) en DMSO en ausencia y en presencia de base ($\nu = 0.1$ V/s).

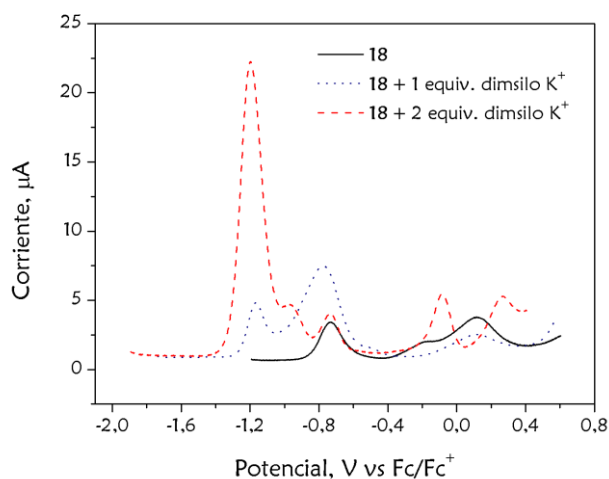


Figura 97. Voltamograma de onda cuadrada de oxidación de una disolución del complejo **18** (4 mM) en DMSO en presencia y ausencia de base ($\nu = 0.1$ V/s).

Por último, las medidas electroquímicas realizadas al complejo **14** mostraron una situación más complicada, lo que queda reflejado en la Figura 98. A pesar de ello, en ausencia de base, observamos la aparición de un pico reversible a -0.38 V atribuible a la pareja Fe(II)/Fe(III) (Figura 98, línea negra continua). Por otra parte, en ausencia de base también pudimos apreciar la presencia de un pico a -1.87 V, el cual pudo asociarse con la pareja Fe(II)/Fe(I).

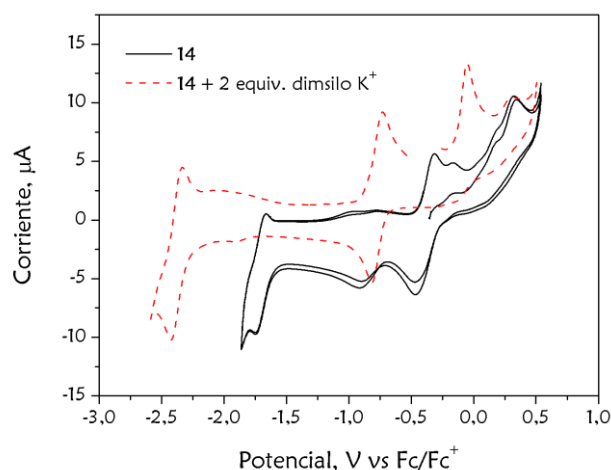


Figura 98. Voltamograma cíclico de una disolución del complejo **14** (4 mM) en DMSO en ausencia y en presencia de base ($v = 0.1$ V/s).

Las observaciones previas, sobre la presencia de varios picos, así como la complejidad de las medidas electroquímicas para el complejo **14** pueden contemplarse en el voltamograma en ausencia de base.

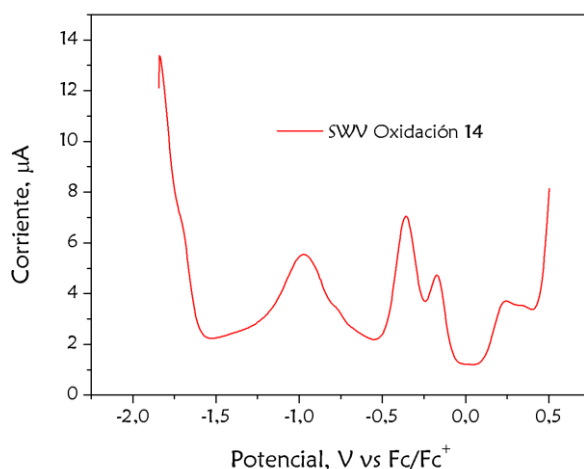


Figura 99. Voltamograma de onda cuadrada de oxidación de una disolución del complejo **14** (4 mM) en DMSO en ausencia de base ($v = 0.1$ V/s).

Cuando adicionamos un exceso de base apareció un pico claramente reversible y muy intenso perteneciente al complejo totalmente desprotonado (Figura 98, línea roja discontinua). Al igual que sin base, en el voltamograma con base pudimos observar el pico perteneciente a la pareja Fe(II)/Fe(I) a un potencial de -2.39 V. Desafortunadamente, en el caso del complejo **14** fue imposible apreciar la presencia de algún pico perteneciente al complejo monodesprotonado.

Hasta el momento, todas las medidas llevadas a cabo se realizaron generando los complejos desprotonados *in situ* en la celda electrolítica. Pero puesto que estas especies no se pudieron aislar y por tanto no se pudo realizar la caracterización de las mismas, decidimos crear un complejo desprotonado *ex situ* para posteriormente realizar las medidas electroquímicas necesarias. De esta forma podríamos confirmar que los potenciales que estábamos midiendo correspondían realmente a las especies desprotonadas por la presencia de la base y no eran artefactos o productos de descomposición causados por el dimisilo potásico.

Para ello tratamos el complejo **13** con FeCl_3 obteniéndose el complejo de Fe(III) **21** (ver Esquema 29), el cual tras un tratamiento con $t\text{BuONa}$ generó el correspondiente producto de desprotonación **23** (ver Esquema 30). De esta manera, conseguimos generar el complejo desprotonado de Fe(III), realizando así el otro camino posible del ciclo termodinámico (camino B del Esquema 27).

Tras haber realizado las medidas electroquímicas al nuevo complejo **23**, realizamos una comparación entre los voltamogramas obtenidos para el complejo **13** y **23**. Gracias a esta comparación pudimos comprobar que tanto el complejo desprotonado *in situ* en presencia de un exceso de base como el complejo desprotonado obtenido *ex situ* presentaban un pico al mismo valor de potencial e indistinguible en el voltamograma. De esta manera, pudimos demostrar que todas las especies generadas *in situ* en la celda electroquímica por la presencia de dimisilo potásico eran realmente los complejos desprotonados que íbamos buscando y por tanto no estábamos incurriendo en un error al realizar las medidas de potencial (Figura 100).

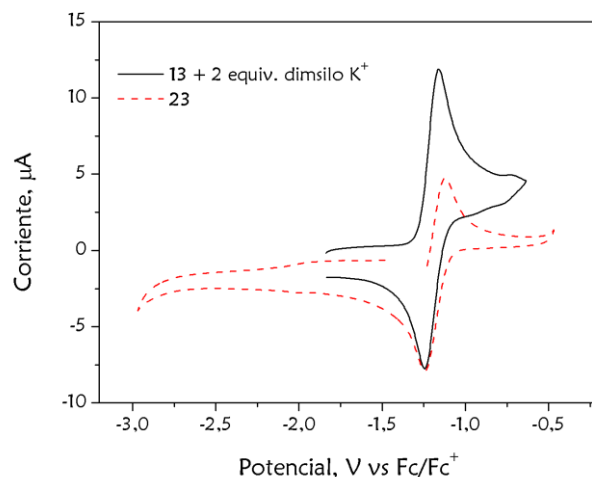


Figura 100. Comparación de los voltamogramas cíclicos de una disolución en DMSO del complejo **13** (4 mM) en presencia de un exceso de base (línea negra continua) y del complejo **21** previamente desprotonado (línea roja discontinua) ($v = 0.1$ V/s).

En la siguiente tabla se recogen para mayor claridad los valores de potencial registrados para cada uno de los complejos medidos electroquímicamente.

Tabla 5. Valores de potenciales obtenidos para los complejos **11-14** y **16-18**.

Complejo	Valor de E^p (V)		Complejo	Valor de E^p (V)	
	Ausencia de base	Presencia de base		Ausencia de base	Presencia de base
11	-0.03 -0.21	-	16	-0.04 +0.16	-
12	-0.06 -0.35	-0.73	17	-	-
13	+0.06 -0.36	-0.78 (1 equiv) -1.20 (2 equiv)	18	+0.12 -0.2	-0.73 (1 equiv) -1.19 (2 equiv)
14	-0.38 (Fe ²⁺ /Fe ³⁺) -1.87 (Fe ²⁺ /Fe ⁺)	-0.76 (Fe ²⁺ /Fe ³⁺) -2.39 (Fe ²⁺ /Fe ⁺)	19	-	-

3.3 Determinación de la BDFE

Una vez realizadas todas las medidas electroquímicas y obtenidos los valores de pK_a , pudimos determinar los valores de BDFE de los enlaces O-H y (CO)N-H para cada uno de nuestros compuestos objetivo, siguiendo la ecuación 9. En la siguiente tabla se reúnen los valores experimentales de BDFE, pK_a y E^p , así como los valores de BDFE obtenidos mediante estudios teóricos DFT.

Tabla 6. Valores de pK_a , E^0 , BDFE experimentales y calculados para los sistemas estudiados.

Compuesto	pK_a	E^0	BDFE (kcal/mol)	BDFE calc. ¹²⁷ (kcal/mol)
2	27.6	-	101.7 ¹²⁴	89.6
3	28.3 / 29.4	-	101.7 ¹²⁴	90.9
4	22.0	-	102.6 ^{99b}	93.7
12	26.5	-0.732	90.5	71.9
13	23.8	-0.78	85.7	74.3
	23.8	-1.2	76.0	64.5
14	19.7	-0.76	-	90.6
			80.5	80.6

Como puede verse en la tabla anterior, los datos teóricos obtenidos mediante cálculos DFT (Gaussian09, B3LYP/6-31G(d,p)) presentan una buena correlación cualitativa con los valores experimentales obtenidos para los tres complejos de Fe(II), lo que queda perfectamente reflejado en los siguientes ciclos termodinámicos.

Así, para el caso del complejo **12**, el valor de BDFE obtenido es de 90.5 kcal/mol, lo que supone una disminución de unas 10 kcal/mol por coordinación al centro metálico con respecto al ligando libre **2** (101.7 kcal/mol). Por su parte, la disminución de BDFE producida teniendo en cuenta los valores teóricos, tanto para el ligando como para el complejo, fue de 17.7 kcal/mol, estando en consonancia con los datos experimentales.

¹²⁷ Los valores teóricos de BDFE para los complejos **12-14** han sido calculados a partir de complejos modelos de 12-14.

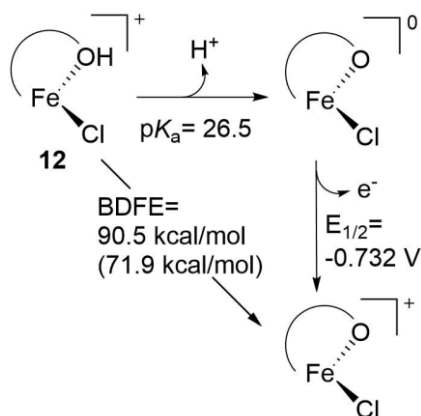


Figura 101. Ciclo termodinámico para **12** en DMSO. Los valores teóricos calculados por DFT se muestran entre paréntesis.

En el complejo **13** pudimos obtener el valor de BDFE para los dos grupos hidroxilo. Para el primer OH coordinado este valor es de 85.7 kcal/mol, lo cual está en consonancia con el valor obtenido para el complejo **12** (90.5 kcal/mol). El valor del segundo grupo hidroxilo cae hasta las 76 kcal/mol, lo cual es consistente con un aumento de la densidad electrónica del centro metálico por la presencia de los ligandos alcóxidos. Además, estos valores de BDFE obtenidos para el complejo **13** son muy similares a los recientemente publicados para acuocomplejos de Fe (II).¹²⁸ Por otra parte, el valor de BDFE del segundo grupo hidroxilo se encuentra en el mismo rango de otros donadores de átomos de hidrógeno como el 1,4-ciclohexadieno (BDE = 76 kcal/mol; BDFE = 67.8 kcal/mol). En este caso, la comparación entre el descenso de los valores de BDFE para el primer grupo hidroxilo fue de 16 kcal/mol, para los valores experimentales, y de 16.6 kcal/mol, para los valores teóricos, viendo de nuevo como hay una gran concordancia entre ambos.

¹²⁸ a) H. Gao, J. T. Groves, *J. Am. Chem. Soc.*, **2017**, *139*, 3938-3941; b) L. M. Brimes, M. K. Coggins, P. C. Y. Poon, S. Toledo, W. Kaminsky, M. L. Kirk, J. A. Kovacs, *J. Am. Chem. Soc.*, **2015**, *137*, 2253-2264.

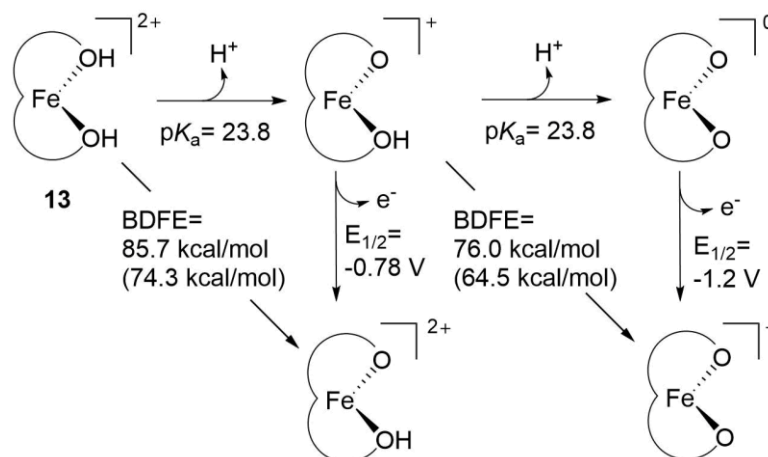


Figura 102. Ciclo termodinámico para **13** en DMSO. Los valores teóricos calculados por DFT se muestran entre paréntesis.

Por último, el complejo **14** presentó un valor experimental de BDFE de 80.5 kcal/mol, que encaja perfectamente con el valor teórico obtenido para el segundo grupo amida coordinado. En el caso de la amida, el descenso en el valor de la BDFE es menor que en el caso de los grupos hidroxilo, probablemente por la estabilización de la carga negativa que lleva a cabo el grupo carbonilo, por lo que tiene menos influencia en la estructura electrónica del metal.

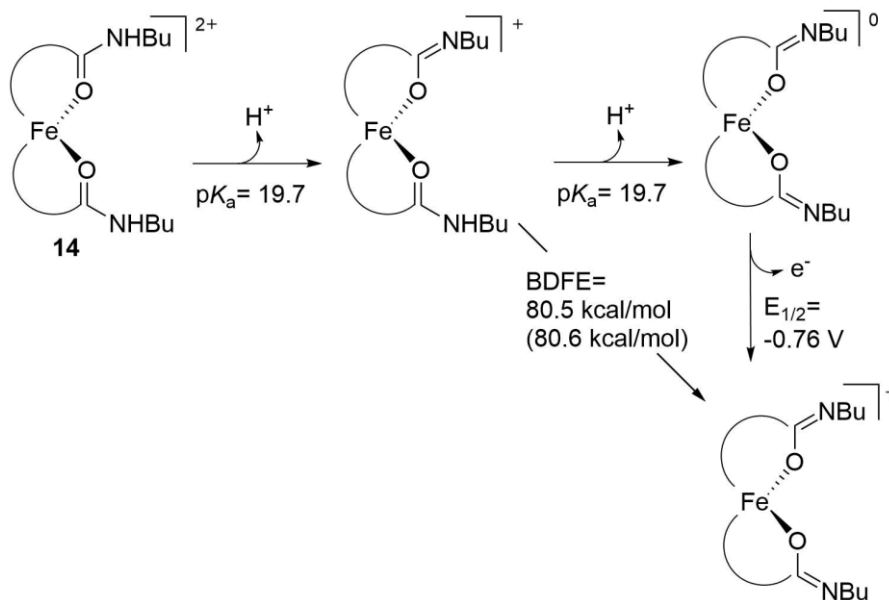


Figura 103. Ciclo termodinámico para **14** en DMSO. Los valores teóricos calculados por DFT se muestran entre paréntesis.

En resumen, hemos demostrado que en los nuevos complejos sintetizados las energías libres de disociación de enlace experimental (BDFE) de los enlaces O–H y (CO)N–H se reducen notablemente a 76.0 y 80.5 kcal/mol respectivamente, estando dentro del rango

de valores de los donantes de átomos de hidrógeno habitualmente empleados. Lo que implicaría que, en ciertos entornos químicos, los grupos hidroxilo y amidas coordinados con Fe (II) pueden transformarse en donantes razonables de átomos de hidrógeno. Esta estrategia podría extenderse fácilmente a otros centros metálicos para poder evaluar la influencia de la coordinación de metales en el debilitamiento de enlaces X-H.

Además, las amidas son especialmente atractivas ya que podrían contener información quiral permitiendo la generación de donadores de átomos de hidrogeno quirales.

CHAPTER I

CONCLUSIONS

Conclusions

- We have synthesized new *N,N*-dimethyl-*N,N'*-bis(2-pyridylmethyl)-ethane-1,2-diamine (mep) derivatives (**2-4**) as potential scaffolds for BDFE determination in hydroxyl and carbamoyl groups by coordination with transition metals.
- The experimental BDFE hydroxyl and carbamoyl groups in Fe(II) complexes (**12-14**) has been determined, showing a weakening from 100.8 kcal/mol to 76 kcal/mol for hydroxyl group and 108 kcal/mol to 80.5 kcal/mol for carbamoyl group.
- Experimental values of BDFE of amide bonds coordinated to transition metals has been measured for the first time.

CHAPTER I

EXPERIMENTAL SECTION

GENERAL INFORMATION

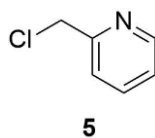
All reagents and solvents (CH_2Cl_2 , EtOAc, hexane, CH_3CN , CH_3OH) were purchased from standard chemical suppliers and used without further purification. Anhydrous solvents (CH_3OH , CH_2Cl_2 , CH_3CN and DMSO) were purchased from standard suppliers. Thin-layer chromatography analysis was performed on aluminium-backed plates coated with silica gel 60 (230–240 mesh) with the F_{254} indicator. The spots were visualized with UV light (254 nm) and/or stained with phosphomolybdic acid (10% ethanol solution) and subsequent heating. Chromatography purifications were performed with silica gel 60 (40–63 μm) or with neutral aluminium oxide (50–200 μm).

^1H NMR spectra were recorded on Varian 300, 400 or 500 MHz spectrometers, at a constant temperature of 298 K. Chemical shifts are reported in ppm using residual solvent peak as the reference (CHCl_3 : $\delta = 7.26$ ppm, CH_3OH : $\delta = 3.31$ ppm, CH_3CN : $\delta = 1.94$ ppm, DMSO: $\delta = 2.50$ ppm, CH_2Cl_2 : $\delta = 5.32$ ppm). Data are reported as follows: chemical shift, multiplicity (s: singlet, d: doublet, t: triplet, q: quartet, quint: quintuplet, hept: heptuplet, m: multiplet, dd: doublet of doublets, dt: doublet of triplets, td: triplet of doublets, bs: broad singlet), coupling constant (J in Hz) and integration; ^{13}C NMR spectra were recorded at 75, 101 or 126 MHz using broadband proton decoupling and chemical shifts are reported in ppm using residual solvent peaks as the reference (CHCl_3 : $\delta = 77.16$ ppm, CH_3OH : $\delta = 49.00$ ppm). Carbon multiplicities were assigned by DEPT techniques.

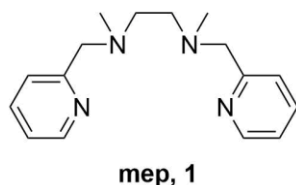
High-resolution mass spectra (HRMS) were recorded using EI at 70 eV on a Micromass AutoSpec (Waters) or by ESI mass spectrometry carried out on a QSTAR ABSciex mass spectrometer. IR-ATR spectra were recorded on a Perkin Elmer Spectrum Two IR Spectrometer. UV-Visible spectra were recorded on a Specord 200 Plus Analytik Jena UV-Visible spectrophotometer. Elemental analysis was carried out using a LECO CHNS-932 elemental analyser. Complexes characterization was performed on single-crystals.

1. Synthesis and analytical characterization of ligands.

The following known compounds were prepared as previously described, isolated as pure samples and showed NMR spectra identical to reported data: **1**,¹²⁹ **5**,¹³⁰ **6**,¹³¹ **8**,¹³² **11**,¹¹⁴ **16**.¹²⁹



Compound 5. 2-(Chloromethyl)pyridine hydrochloride (1.00 g, 6.10 mmol, 1 equiv.) was dissolved in 10 mL of water and K_2CO_3 (1.69 g, 12.20 mmol, 2 equiv.) was carefully added. The mixture was stirred for 15 min, CH_2Cl_2 (20 mL) was added and further stirred for 15 min. The reaction was extracted with CH_2Cl_2 (x3). Combined organic layers were dried over Na_2SO_4 , filtered and solvent evaporated. Compound **5** was isolated pure (0.76 g, 96% yield) as a red liquid without further purification. **1H NMR** (500 MHz, $CDCl_3$): δ 8.57 (d, $J = 4.5$ Hz, 1H), 7.71 (td, $J = 7.7, 1.8$ Hz, 1H), 7.46 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.23 (ddd, $J = 7.5, 4.8, 1.1$ Hz, 1H), 4.67 (s, 2H). **^{13}C NMR** (126 MHz, $CDCl_3$): δ 156.7 (C), 149.6 (CH), 137.2 (CH), 123.1 (CH), 122.9 (CH), 46.8 (CH_2). **HRMS (EI):** m/z $[M]^+$ calcd for C_6H_6ClN : 127.0189; found: 127.0189.



Compound 1 (mep): Compound **5** (0.70 g, 5.48 mmol, 2.1 equiv.) was dissolved in CH_3CN (20 mL) and K_2CO_3 (1.08 g, 7.82 mmol, 3 equiv.) followed by *N,N'*-dimethylethylenediamine (0.28 mL, 2.61 mmol, 1 equiv.) were added. The reaction was stirred at 70 °C for 16 h. Then the solids were filtered off and solvent removed under *vacuo*. The residue was purified by flash column chromatography (Al_2O_3 , CH_2Cl_2 : CH_3OH , 95:5) to give **1** (0.44 g, 62% yield) as a brownish syrup. **1H NMR** (500 MHz,

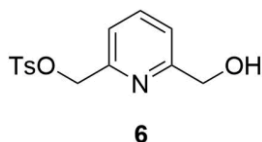
¹²⁹ M. C. White, A. G. Doyle, E. N. Jacobsen, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 7194-7195.

¹³⁰ R. Ding, Y. He, X. Wang, J. Xu, Y. Chen, M. Feng, C. Qi, *Molecules* **2011**, *16*, 5665-5673.

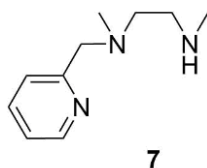
¹³¹ T. Zhang, E. V. Anslyn, *Tetrahedron* **2004**, *60*, 11117-11124.

¹³² X. Zeng, D. Coquière, A. Alenda, E. Garrier, T. Prangé, Y. Li, O. Reinaud, I. Jabin, *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 6393-6402.

CDCl₃): δ 8.53 (d, J = 4.8 Hz, 2H), 7.63 (td, J = 7.7, 1.8 Hz, 2H), 7.41 (d, J = 7.8 Hz, 2H), 7.15 (dd, J = 7.5, 4.9 Hz, 2H), 3.72 (s, 4H), 2.69 (s, 4H), 2.29 (s, 6H). ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃): δ 159.1 (C), 149.2 (CH), 136.6 (CH), 123.4 (CH), 122.2 (CH), 64.1 (CH₂), 55.4 (CH₂), 42.9 (CH₃). **HRMS (ESI)**: m/z [M+H]⁺ calcd for C₁₆H₂₃N₄: 271.1917; found: 271.1913. **IR (ATR)**: 2791, 1589, 1569, 1473, 1433, 1361, 1031, 756 cm⁻¹.

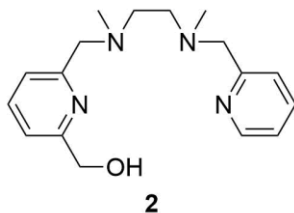


Compound 6. According with a previously described procedure,¹³¹ tosyl chloride (3.02 g, 15.82 mmol, 1.1 equiv.) was added over a suspension of 2,6-dihydroxymethyl pyridine (2.00 g, 14.38 mmol, 1 equiv.), silver oxide (5.68 g, 21.57 mmol, 1.5 equiv.) and potassium iodide (0.48 g, 2.88 mmol, 0.2 equiv.) in CH₂Cl₂ (100 mL) at -20 °C. The reaction was removed from the cooling bath and stirred for 3 h at room temperature. Then the mixture was filtered through a fritted glass filter, and washed with ethyl acetate. The residue was purified by flash column chromatography (SiO₂, CH₂Cl₂ and then EtOAc) to give compound **6** (2.82 g, 67% yield) as a pink syrup. **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃): δ 7.84 (d, J = 8.3 Hz, 2H), 7.70 (t, J = 7.7 Hz, 1H), 7.36 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.34 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 7.18 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 5.15 (s, 2H), 4.71 (s, 2H), 3.50 (bs, 1H), 2.46 (s, 3H). **¹³C NMR** (126 MHz, CDCl₃): δ 158.7 (C), 152.6 (C), 145.1 (C), 137.6 (CH), 132.8 (C), 129.9 (CH), 128.1 (CH), 120.5 (CH), 120.1 (CH), 71.5 (CH₂), 63.7 (CH₂), 21.7 (CH₃). **HRMS (EI)**: m/z [M]⁺ calcd for C₁₄H₁₅NO₄S: 293.0722; found: 293.0721.

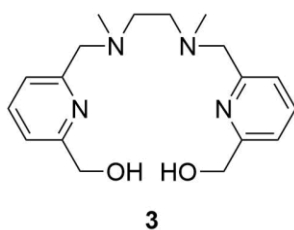


Compound 7. Compound **5** (0.70 g, 5.48 mmol, 1 equiv.) and *N,N*-dimethylethylenediamine (1.20 mL, 10.96 mmol, 2 equiv.) were dissolved in CH₃CN (30 mL) and K₂CO₃ (1.51 g, 10.96 mmol, 2 equiv.) was added. The reaction was stirred at 60 °C for 16 h. Then the solids were filtered off and solvent removed under *vacuo*. The residue was purified by flash column chromatography (SiO₂, CH₂Cl₂: CH₃OH: Et₃N, 9: 1: 0.5) to give **7** (0.67 g, 68% yield) as a brownish syrup. **¹H NMR** (300 MHz, CDCl₃): δ 8.53 (d, J = 4.8 Hz, 1H), 7.65 (td, J = 7.7, 1.8 Hz, 1H), 7.39 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 7.15 (dd, J = 7.0, 5.0 Hz, 1H), 3.66 (s, 2H), 2.73–2.66 (m, 2H), 2.63–2.56 (m, 2H), 2.41 (s,

3H), 2.27 (s, 3H). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ 159.3 (C), 149.1 (CH), 136.6 (CH), 123.1 (CH), 122.1 (CH), 64.1 (CH_2), 56.6 (CH_2), 49.1 (CH_2), 42.6 (CH_3), 36.1 (CH_3). **HRMS (ESI):** m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{N}_3$: 180.1495; found: 180.1500.

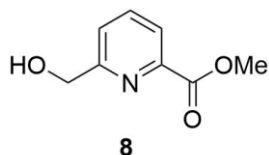


Compound 2. Compounds **7** (0.50 g, 2.79 mmol, 1 equiv.) and **6** (1.27 g, 4.32 mmol, 1.55 equiv.) were dissolved in CH_3CN (16 mL) and K_2CO_3 (1.16 g, 8.37 mmol, 3 equiv.) was added. The reaction was stirred at 60 °C for 16 h. Then the solids were filtered off and solvent removed under *vacuo*. The residue was purified by flash column chromatography (Al_2O_3 , CH_2Cl_2 : CH_3OH , 95:5) to give **2** (0.50 g, 60% yield) as a brownish syrup. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3): δ 8.51 (ddd, $J = 4.9, 1.8, 0.9$ Hz, 1H), 7.62 (td, $J = 7.8, 1.8$ Hz, 1H), 7.60 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.41 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.29 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.13 (ddd, $J = 7.6, 4.9, 1.2$ Hz, 1H), 7.10 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H), 4.72 (s, 2H), 3.69 (s, 4H), 2.64 (s, 4H), 2.27 (s, 6H). ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3): δ 159.3 (C), 158.6 (C), 158.3 (C), 149.2 (CH), 137.2 (CH), 136.6 (CH), 123.3 (CH), 122.1 (CH), 121.7 (CH), 118.9 (CH), 64.2 (CH_2), 63.9 (CH_2), 55.5 (CH_2), 55.4 (CH_2), 43.0 (CH_3), 43.0 (CH_3). **HRMS (ESI):** m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{25}\text{N}_4\text{O}$: 301.2022; found: 301.2014. **IR (ATR):** 3280, 2920, 2846, 2800, 1660, 1593, 1576, 1455, 1436, 1358, 1070, 1033, 760 cm^{-1} .

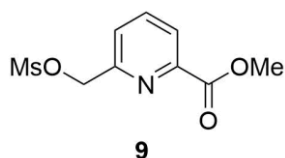


Compound 3. Compound **6** (1.50 g, 5.11 mmol, 2.1 equiv.) was dissolved in CH_3CN (55 mL) and K_2CO_3 (1.01 g, 7.30 mmol, 3 equiv.) and *N,N*-dimethylethylenediamine (0.27 mL, 2.43 mmol, 1 equiv.) were added sequentially. The reaction was stirred at 60 °C for 16 h. Then the solids were filtered off and solvent removed under *vacuo*. The residue was purified by flash column chromatography (Al_2O_3 , CH_2Cl_2 : CH_3OH , 96:4) to give **3** (0.51 g, 64% yield) as a brownish syrup. ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD): δ 7.77 (t, $J = 7.7$ Hz, 2H), 7.41 (d, $J = 7.8$ Hz, 2H), 7.36 (d, $J = 7.8$ Hz, 2H), 4.67 (s, 4H), 3.66 (s, 4H), 2.63 (s, 4H), 2.26 (s, 6H). ^{13}C NMR (126 MHz, CD_3OD): δ 161.8 (C), 159.1 (C),

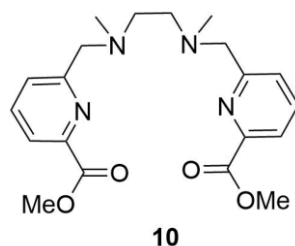
138.9 (CH), 123.2 (CH), 120.3 (CH), 65.5 (CH₂), 64.4 (CH₂), 56.0 (CH₂), 43.2 (CH₃).
HRMS (ESI): m/z [M+H]⁺ calcd for C₁₈H₂₇N₄O₂: 331.2129; found: 331.2130. **IR (ATR):** 3197, 2846, 2814, 1595, 1576, 1441, 1357, 1092, 1072, 1040, 999, 969, 783, 618 cm⁻¹.



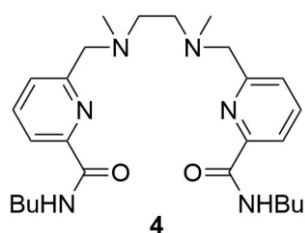
Compound 8. Under Ar atmosphere, NaBH₄ (0.39 g, 10.3 mmol, 1.01 equiv.) was slowly added over a solution of dimethyl 2,6-pyridinedicarboxylate (2.00 g, 10.2 mmol, 1 equiv.) in dry CH₃OH: CH₂Cl₂ (7:3, 100 mL) at 0 °C. The cooling bath was removed and the mixture was stirred for 3 h at rt. Then NH₄Cl aq. sat. solution was added carefully at 0°C and the mixture was extracted with CH₂Cl₂ (x3). The combined organic phases were dried over Na₂SO₄, filtered and evaporated. The residue was purified by flash column chromatography (SiO₂, hexane: EtOAc, 4:6) to give **8** (992 mg, 58% yield) as a white solid. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 8.03 (dd, *J* = 7.7, 0.9 Hz, 1H), 7.85 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.55 (dd, *J* = 7.8, 0.9 Hz, 1H), 4.87 (s, 2H), 3.99 (s, 3H), 3.67 (bs, 1H). ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃): δ 165.6 (C), 160.2 (C), 147.0 (C), 137.7 (CH), 124.0 (CH), 123.8 (CH), 64.6 (CH₂), 52.9 (CH₃). **HRMS (ESI):** m/z [M]⁺ calcd for C₈H₉NO₃: 167.0582; found: 167.0585.



Compound 9. Under Ar atmosphere, compound **8** (0.90 g, 5.38 mmol, 1 equiv.) and Et₃N (2.25 mL, 16.15 mmol, 3 equiv.) were dissolved in dry CH₂Cl₂ (54 mL) and the flask was cooled to 0 °C. MsCl (0.50 mL, 6.5 mmol, 1.2 equiv.) was added and the reaction stirred until completion (~40 min, TLC). NaHCO₃ sat. aq. was added and phases separated, the aqueous phase was extracted with CH₂Cl₂ and combined organic phases were dried over Na₂SO₄, filtered and evaporated. The crude material was used in the next step without further purification due to its instability.



Compound 10. Crude compound **9** (5.38 mmol, 3 equiv.) was dissolved in CH_3CN (57 mL) and Na_2CO_3 (0.76 g, 7.2 mmol, 4 equiv.) followed by *N,N'*-dimethylethylenediamine (0.19 mL, 1.80 mmol, 1 equiv.) were added. The reaction was stirred at 60 °C for 16 h. Then the solids were filtered off and solvent removed under *vacuo*. The residue was purified by flash column chromatography (SiO_2 , CH_2Cl_2 : CH_3OH , 95:5) to give **10** (0.56 mg, 81% yield) as a yellowish solid. **^1H NMR** (400 MHz, CDCl_3): δ 7.93 (dd, $J = 7.6, 1.3$ Hz, 2H), 7.73 (t, $J = 7.7$ Hz, 2H), 7.66 (dd, $J = 7.7, 1.3$ Hz, 2H), 3.92 (s, 6H), 3.79 (s, 4H), 2.64 (s, 4H), 2.25 (s, 6H). **^{13}C NMR** (101 MHz, CDCl_3): δ 165.8 (C), 160.3 (C), 147.3 (C), 137.4 (CH), 126.3 (CH), 123.6 (CH), 63.7 (CH_2), 55.4 (CH_2), 52.8 (CH_3), 42.9 (CH_3). **HRMS (ESI):** m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{27}\text{N}_4\text{O}_4$: 387.2026; found: 387.2027.



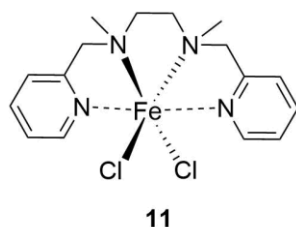
Compound 4. Compound **10** (0.47 g, 1.20 mmol, 1 equiv.) was dissolved in *n*BuNH₂ (20 mL) and the reaction was stirred at 80 °C for 16 h. Solvent was removed under *vacuo* and the residue was purified by flash column chromatography (SiO_2 , CH_2Cl_2 : CH_3OH , 95:5) to give **4** (373 mg, 73% yield) as a brownish solid. **^1H NMR** (500 MHz, CDCl_3): δ 8.15 (s, 2H), 8.08 (dd, $J = 7.7, 1.1$ Hz, 2H), 7.78 (t, $J = 7.7$ Hz, 2H), 7.54 (dd, $J = 7.7, 1.1$ Hz, 2H), 3.72 (s, 4H), 3.46 (q, $J = 6.8$ Hz, 4H), 2.64 (s, 4H), 2.29 (s, 6H), 1.62 (p, $J = 7.6$ Hz, 4H), 1.42 (h, $J = 7.3$ Hz, 4H), 0.96 (t, $J = 7.4$ Hz, 6H). **^{13}C NMR** (126 MHz, CDCl_3): δ 164.3 (C), 158.0 (C), 149.4 (C), 137.6 (CH), 125.3 (CH), 120.6 (CH), 63.9 (CH_2), 55.4 (CH_2), 42.9 (CH_3), 39.1 (CH_2), 31.8 (CH_2), 20.2 (CH_2), 13.8 (CH_3). **HRMS (ESI):** m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{26}\text{H}_{41}\text{N}_6\text{O}_2$: 469.3285; found: 469.3286. **IR (ATR):** 3308, 2952, 2929, 2804, 1657, 1526, 1453, 712 cm^{-1} .

2. Synthesis and analytical characterization of iron complexes.

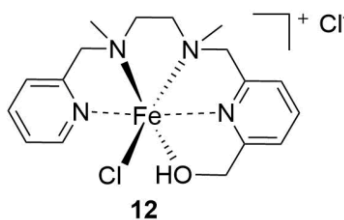
Representative protocol for synthesis of iron (II) complexes.

Under Ar atmosphere, the corresponding free ligand (1 equiv.) was dissolved in anhydrous CH₃CN, FeCl₂·4H₂O (1 equiv.) was added and the mixture stirred for 16 h. Then Et₂O (~20 mL) was added and the slurry was stirred for 15 min. The solid was filtered, washed with Et₂O several times to give the corresponding iron (II) complexes powder. Single-crystals of complexes were grown by vapor diffusion using CH₃CN/CH₃OH or DMF as solvent and Et₂O as precipitant.

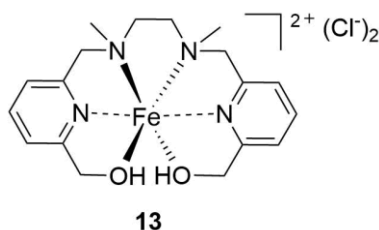
Synthesis and characterization of iron complexes.



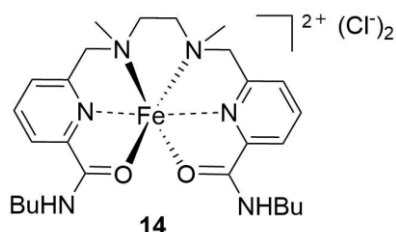
Complex 11. According to previously described procedure, complex **11** was prepared from **1** (345 mg, 1.23 mmol) and FeCl₂·4H₂O (254 mg, 1.23 mmol) in anhydrous CH₃CN (3 mL) to give complex **11** (365 mg, 72% yield) as yellow powder. Single-crystals of **11** were grown by vapor diffusion using CH₃CN (with a few drops of CH₃OH) as solvent and Et₂O as precipitant. ¹H NMR (500 MHz, CD₂Cl₂): Major signals observed: δ 146.7, 103.7, 86.7, 60.0, 56.1, 49.7, 21.1, -4.1, -22.4. ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 154.8, 147.0, 142.3, 126.5, 108.7, 94.3, 88.8, 78.8, 70.2, 62.4, 60.2, 57.3, 54.0, 49.6, 23.6, 21.9, 18.8, -5.7, -22.1. **HRMS (ESI):** *m/z* [M-Cl]⁺ calcd for C₁₆H₂₂N₄ClFe: 361.0876; found: 361.0868. **HRMS (ESI):** *m/z* [M-Cl₂]²⁺ calcd for C₁₆H₂₂N₄Fe: 163.0591; found: 163.0591. **IR (ATR):** 2970, 1601, 1467, 1432, 1303, 1080, 1052, 1013, 978, 817, 777 cm⁻¹. **Elemental Analysis:** Calcd for C₁₆H₂₂N₄FeCl₂·0.5H₂O: C, 47.67; H, 5.41; N, 14.07; found: C, 47.32; H, 5.71; N, 13.80.



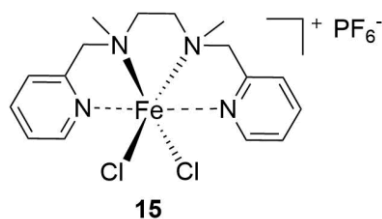
Complex 12. According to previously described procedure, complex **12** was prepared from **2** (102 mg, 0.34 mmol) and $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (68 mg, 0.34 mmol) in anhydrous CH_3CN (3 mL) to give complex **12** (142 mg, 98% yield) as yellow powder. Single-crystals of **12** were grown by vapor diffusion using CH_3CN (with a few drops of CH_3OH) as solvent and Et_2O as precipitant. $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CD_2Cl_2): Major signals observed: δ 116.3, 100.2, 98.4, 93.4, 84.8, 66.1, 64.8, 58.6, 53.8, 27.0, 23.7, -2.7 . $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): Major signals observed: δ 126.9, 108.1, 103.1, 96.4, 89.1, 68.4, 65.6, 58.2, 54.0, 30.5, 24.0, -0.7 . $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CD_3OD): Major signals observed: δ 107.7, 101.4, 99.3, 86.4, 65.9, 57.9, 54.2, 30.3, 18.4, -5.7 , -14.8 . $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, D_2O): Major signals observed: δ 152.9, 122.9, 107.4, 94.5, 89.0, 65.8, 55.5, 52.2, 41.1, -2.4 , -16.7 . **HRMS (ESI):** m/z $[\text{M}-\text{HCl}]^+$ calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{23}\text{N}_4\text{OClFe}$: 390.0904; found: 390.0892. **IR (ATR):** 2815, 2714, 1580, 1605, 1443, 1039, 817, 769 cm^{-1} . **Elemental Analysis:** Calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{N}_4\text{OFeCl}_2 \cdot 0.5\text{CH}_3\text{CN}$: C, 48.29; H, 5.74; N, 14.08; found: C, 48.19; H, 5.61; N, 14.01.



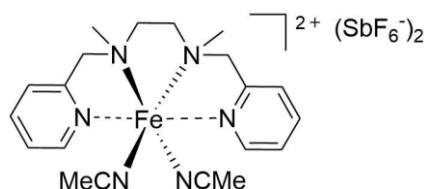
Complex 13. According to previously described procedure, complex **13** was prepared from **3** (334 mg, 1.01 mmol) and $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (201 mg, 1.01 mmol) in anhydrous CH_3CN (3 mL) to give complex **13** (444 mg, 88% yield) as yellow powder. Single-crystals of **13** were grown by vapor diffusion using CH_3CN (with a few drops of CH_3OH) as solvent and Et_2O as precipitant. $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CD_3OD): Major signals observed: δ 131.1, 124.2, 121.2, 120.1, 97.9, 67.4, 46.6, 21.5, 2.1, -1.3 , -37.9 . $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): Major signals observed: δ 120.8, 115.5, 88.8, 69.4, 45.7, 11.5, -32.0 . **HRMS (ESI):** m/z $[\text{M}-\text{H}_2\text{Cl}_2]^{2+}$ calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{N}_4\text{O}_2\text{Fe}$: 192.0618; found: 192.0625. **IR (ATR):** 1604, 1579, 1419, 1029, 816, 770, 745 cm^{-1} . **Elemental Analysis:** Calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{26}\text{N}_4\text{O}_2\text{FeCl}_2 \cdot 0.5\text{H}_2\text{O}$: C, 46.38; H, 5.84; N, 12.02; found: C, 46.29; H, 5.60; N, 11.99.



Complex 14. According to previously described procedure, complex **14** was prepared from **4** (314 mg, 0.67 mmol) and $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (133 mg, 0.67 mmol) in anhydrous CH_3CN (7 mL) to give complex **14** (346 mg, 81% yield) as red powder. Single-crystals of **14** were grown by vapor diffusion using DMF as solvent and Et_2O as precipitant. $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CD_3OD): Major signals observed: δ 129.5, 123.6, 93.4, 92.8, 46.6, 20.3, 19.9, 6.3, 5.9, 4.3, 1.7, 1.3, -11.4. $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CD_3CN): Major signals observed: δ 125.1, 121.9, 94.6, 91.5, 89.4, 46.3, 21.2, 19.8, 6.4, 6.0, 4.3, 3.4 (q, $J = 7.0$ Hz, 4H), 2.9, 1.4, 1.1 (t, $J = 7.0$ Hz, 6H), -15.1. $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CD_2Cl_2): Major signals observed: δ 114.8, 111.1, 98.3, 95.0, 80.9, 46.0, 22.9, 22.2, 6.3, 5.9, -20.3. $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): Major signals observed: δ 123.3, 93.5, 91.3, 87.9, 45.5, 19.5, 19.0, 6.5, 6.3, 4.7, 1.1 (t, $J = 6.9$ Hz, 1H), -10.1. **HRMS (ESI):** m/z $[\text{M}-\text{HCl}_2]^+$ calcd for $\text{C}_{26}\text{H}_{39}\text{N}_6\text{O}_2\text{Fe}$: 523.2478; found: 523.2464. **HRMS (ESI):** m/z $[\text{M}-\text{Cl}_2]^{2+}$ calcd for $\text{C}_{26}\text{H}_{40}\text{N}_6\text{O}_2\text{Fe}$: 262.1275; found: 262.1280. **IR (ATR):** 2957, 2864, 1626, 1599, 1549, 1465, 826, 767, 532 cm^{-1} . An elemental analysis could not be obtained for this complex.

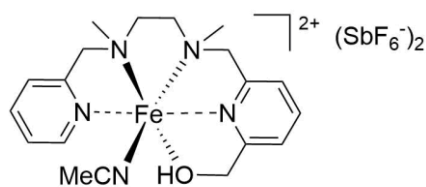


Complex 15. Compound **11** (109 mg, 0.27 mmol, 1 equiv.) was dissolved in CH_3CN (3 mL) and Cp_2FePF_6 (91 mg, 0.27 mmol, 1 equiv.) was added and the mixture stirred for 8 h at rt. The solution was turned green. Then, solvent was removed under reduced pressure. The crude was washed with Et_2O , redissolved with methanol and precipitated with Et_2O affording **15** (48 mg, 32%) as a green powder. Single-crystals of **15** were grown by vapor diffusion using CH_3CN as solvent and Et_2O as precipitant.



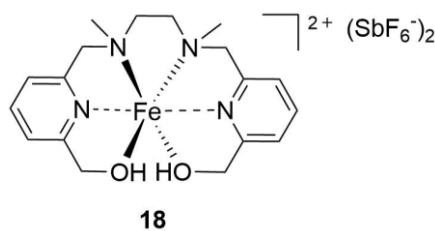
16

Complex 16. Under argon atmosphere, compound **11** (104 mg, 0.26 mmol, 1 equiv.) was dissolved in dry CH₃CN (6 mL) and AgSbF₆ (180 mg, 0.52 mmol, 2 equiv.) was added. The reaction was wrapped with aluminum foil and stirred at rt for 16 h. Then, the reaction was diluted with CH₃CN (6 mL) and passed through a short pad of celite, using CH₃CN as eluent, to remove silver salts. After filtering through a PTFE filter, solvent was removed under reduce pressure affording **16** (198 mg, 86%) as a yellowish solid. ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): Major signals observed: δ 172.2, 128.7, 87.2, 67.9, 57.4, 53.8, 30.5, 22.0, -19.8. ¹H NMR (500 MHz, CD₃CN): Major signals observed: δ 92.7, 73.0, 47.6, 32.6, 29.1, 28.5, 15.7, -1.6. ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD): Major signals observed: δ 144.72, 110.67, 84.59, 62.93, 51.33, 49.85, 11.99, -4.30. HRMS (ESI): *m/z* [M-C₂H₆N₂(SbF₆)₂]²⁺ calcd for C₁₆H₂₂N₄Fe: 163.0591; found: 163.0597. IR (ATR): 1611, 1450, 1303, 1025, 977, 762, 653 cm⁻¹. Elemental Analysis: Calcd for C₂₀H₂₈N₆FeF₁₂Sb₂: C, 27.30; H, 3.21; N, 9.55; found: C, 27.25; H, 3.17; N, 8.80.

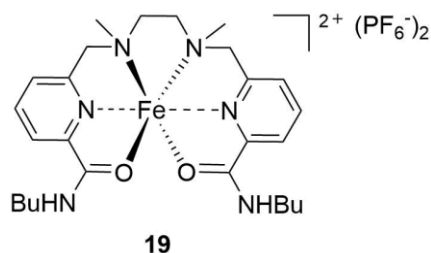


17

Complex 17. Under argon atmosphere, compound **12** (225 mg, 0.53 mmol, 1 equiv.) was dissolved in dry CH₃CN (6 mL) and AgSbF₆ (362 mg, 1.06 mmol, 2 equiv.) was added. The reaction was wrapped with aluminum foil and stirred at rt for 16 h. Then, the reaction was diluted with CH₃CN (6 mL) and passed through a short pad of celite, using CH₃CN as eluent, to remove silver salts. After filtering through a PTFE filter, solvent was removed under reduce pressure affording **17** (376 mg, 82%) as a purplish solid.



Complex 18. Under argon atmosphere, compound **13** (100 mg, 0.22 mmol, 1 equiv.) was dissolved in dry CH₃CN (6 mL) and AgSbF₆ (151 mg, 0.44 mmol, 2 equiv.) was added. The reaction was wrapped with aluminum foil and stirred at rt for 16 h. Then, the reaction was diluted with CH₃CN (6 mL) and passed through a short pad of celite, using CH₃CN as eluent, to remove silver salts. After filtering through a PTFE filter, solvent was removed under reduce pressure affording **18** (177 mg, 94%) as a greenish solid. **HRMS (ESI):** *m/z* [M-H₂(SbF₆)₂]⁺ calcd for C₁₈H₂₄N₄O₂Fe: 384.1243; found: 384.1243. **IR (ATR):** 1739, 1609, 1447, 1217, 1026, 819, 787, 654 cm⁻¹. **Elemental Analysis:** Calcd for C₁₈H₂₆N₄O₂FeF₁₂Sb₂: C, 25.20; H, 3.06; N, 6.53; found: C, 26.38; H, 3.04; N, 6.60.



Complex 19. Compound **14** (226 mg, 0.38 mmol, 1 equiv.) was dissolved in H₂O (5 mL) and KPF₆ (350 mg, 1.90 mmol, 5 equiv.) was added. The resulting precipitate was washed twice with water and was dried under reduced pressure affording **19** (111 mg, 36%) as a red powder. Single-crystals of **19** were grown by vapor diffusion using CH₃CN as solvent and Et₂O as precipitant. **IR (ATR):** 3405, 2934, 2874, 1633, 1598, 1549, 824, 556 cm⁻¹. **HRMS (ESI):** *m/z* [M-H(PF₆)₂]⁺ calcd for C₂₆H₃₉N₆O₂Fe: 523.2478; found: 523.2460. **HRMS (ESI):** *m/z* [M-(PF₆)₂]²⁺ calcd for C₂₆H₄₀N₆O₂Fe: 262.1275; found: 262.1274. **Elemental Analysis:** Calcd for C₂₆H₄₀F₁₂N₆O₂FeP₂: C, 38.34; H, 4.95; N, 10.32; found: C, 38.46; H, 4.71; N, 10.32.

3. Measurement of p*K*_a values

p*K*_a measurements were carried out on a Specord 200 Plus Analytik Jena UV-Visible spectrophotometer by UV-vis titration using triphenylmethane anion as the indicator.

Preparation of potassium dimsyl solution

Under an argon atmosphere, KH in mineral oil was washed with several portions of dry hexane. Then, KH (50 mg) was dissolved in dry DMSO (5 mL) and bubbles appeared immediately. The flask was wrapped with aluminum foil and stirred under argon until the bubbling ceased. The solution was kept under argon at 0 °C and it was stable for 1 day. The dimethyl solution reacts rapidly with water, carbon dioxide and oxygen. During formation, reaction and storage of dimethyl sodium these substances should be excluded as much as possible. Particular caution should be exercised with larger quantities of dimethyl sodium solutions because it is explosive.

Preparation of triphenylmethane anion solution

In a UV-vis cuvette and under an Ar atmosphere, a 0.06 M solution of triphenylmethane (30 mg) in dry DMSO (2 mL) was prepared. Three or four drops of potassium dimethyl solution were added and solution turned red. Red color must be constant before starting the titration, keeping initial absorbance maximum at 499 nm around 1.0.

UV-vis titration

Depending on the titration experiment, 2 µL, 5 µL, 10 µL and 20 µL aliquots of a 0.02 M solution of ligand or iron (II) complex were added gradually to solution of triphenylmethane anion in DMSO and UV-vis spectra were recorded between 400–600 nm at 25 °C. (Final added volume did not exceed the 10% of initial volume in any case). Decrease of absorbance maximum at 499 nm was plotted against the concentration of the ligand/iron complex.

4. Cyclic and square voltammograms

Electrochemical measurements were carried out under an Ar atmosphere at 25 °C using a PGSTST204 potentiostat galvanostat (Metrohm Autola B. V.) with a three-electrode cell in 0.1 M solution of tetra-*n*-butylammonium hexafluorophosphate (TBAPF₆) in DMSO as the supporting electrolyte. A glassy carbon disc was used as the working electrode, a platinum wire as the counterelectrode, and a silver wire as the quasireference electrode. The Pt-wire and Ag-wire were flamed to ensure the absence of impurities.

Dry DMSO was used as solvent to prepare a 0.1 M solution of tetra-*n*-butylammonium hexafluorophosphate (TBAPF₆) which was used as work solution. A 4 mM solution of corresponding compound was prepared using the work solution. All of the

voltammograms were initiated from the null current potential and the scan was initiated in both the positive and the negative directions at a scan rate of 0.1 V/s. Potential values are referred to the ferrocene/ferrocenium system (Fc/Fc⁺), being ferrocene added as internal reference after each measurement. For the working conditions, the electroactive domain was between -2.0 and 1.0 V *vs* Fc/Fc⁺. CV measurements were recorded before and after the addition of excess of base (dimethyl potassium solution).

5. Physical measurements

X-band EPR measurements were carried out on a Bruker ELEXSYS 500 spectrometer equipped with a super-high-Q resonator ER-4123-SHQ, a maximum available microwave power of 200 mW and standard Oxford Instruments low temperature devices. Samples were placed in quartz tubes and spectra were recorded at different temperatures between 5 and 300 K. The magnetic field was calibrated by a NMR probe and the frequency inside the cavity (~9.4 GHz) was determined with an integrated MW-frequency counter. Variable temperature (5–300 K) magnetic susceptibility measurements on polycrystalline samples were carried out with a Quantum Design MPMS3 SQUID magnetometer under a magnetic field of 0.1 T. The experimental susceptibilities were corrected for the diamagnetism of the constituent atoms by using Pascal's constants. Magnetization as a function of the applied field (H) was measured using the same magnetometer at several temperatures below 10 K after cooling the samples in zero-field. During the measurement, the field was swept between 0 and 7 T.

6. Single crystal X-Ray Analysis

The X-ray diffraction data were collected on a Bruker D8 Venture diffractometer equipped with a Photon 100 detector using Mo or Cu radiation sources or a Bruker Smart APEX diffractometer with an APEX detector using a Mo radiation source. The structures were solved with SHELXT¹³³ and refined using the full-matrix least-squares against F₂ procedure with SHELX 2016¹³⁴ using the WinGX32¹³⁵ software.

Single crystals of compound **3** were obtained by slow evaporation of a solution of the compound in a CH₂Cl₂/CH₃OH mixture. To crystallize the compounds **11**, **12** and **13**, the

¹³³ G. M. Sheldrick, *Acta Crystallogr., Sect. A: Found. Crystallogr.*, **2015**, *71*, 3-8.

¹³⁴ G. M. Sheldrick, *Acta Crystallogr., Sect. A: Found. Crystallogr.*, **2008**, *64*, 112-122.

¹³⁵ L. J. Farrugia, *J. Appl. Crystallogr.*, **2012**, *45*, 849-854.

complexes were dissolved in CH₃CN with a few drops of MeOH. If solids were present, the mixtures were filtered or slightly heated to obtain clear solutions. X-ray diffraction quality crystals were grown by slow diffusion of Et₂O into the CH₃CN/CH₃OH solutions of the corresponding complexes. Crystals suitable for single crystal X-ray diffraction of **14** and **19** were obtained by slow diffusion of Et₂O into a solution of the complex in DMF or CH₃CN, respectively. Single crystals of **15** were obtained by diffusion of Et₂O into a solution of the compound in CH₃CN.

In general, C–H hydrogen atoms were placed in idealized positions ($U_{\text{eg}}(\text{H}) = 1.2 U_{\text{eg}}(\text{C})$ or $U_{\text{eg}}(\text{H}) = 1.5 U_{\text{eg}}(\text{C})$) and were allowed to ride on their parent atoms, except the H atoms of some CH₂ groups in the ethylene moieties, which were refined. O–H and N–H hydrogen atoms were located during the refinement (Q-peaks with values between 0.63 and 0.82) and subsequently refined. A DFIX restraint had to be used to model the N–H distance in one of the amide groups of **19**. A summary of the X-ray diffraction measurement and refinement data is given in Tables 8-9. The data for **11**¹³⁶ and **15**¹³⁷ are in agreement with those previously reported.

Table 7. Crystal data and structure refinement for compounds **12** and **13**¹³⁸

Identification code	12 ·CH ₃ CN	13
Chemical formula	C ₁₉ H ₂₇ Cl ₂ FeN ₅ O ₂	C ₁₈ H ₂₆ Cl ₂ FeN ₄ O ₂
M_r	468.20	457.18
Crystal size [mm ³]	0.429 × 0.341 × 0.102	0.537 × 0.409 × 0.266
Crystal system	Monoclinic	Monoclinic
Space group	P21/ <i>n</i>	C2/ <i>c</i>
a [Å]	10.5537(6)	10.0933(6)
b [Å]	11.6440(6)	11.4226(7)
c [Å]	17.9699(10)	17.1223(10)
α [°]	90	90
β [°]	100.349(2)	95.803(2)
γ [°]	90	90
Volume [Å ³]	2172.3(2)	1963.9(2)
Z	4	4

¹³⁶ N. Raffard, V. Bolland, J. Simaan, S. Létard, M. Nierlich, K. Miki, F. Banse, E. Anxolabéhère-Mallart, J.-J. Girerd *C. R. Chim.*, **2002**, *5*, 99-109.

¹³⁷ A. Trehoux, Y. Roux, R. Guillot, J.-P. Mahy, F. Avenier *J. Mol. Catal. A: Chem.*, **2015**, *396*, 40-46.

¹³⁸ In common: Wavelength: 0.71073 Å. Temperature, 100 K. Refinement method, full-matrix least-squares on F^2 . Absorption correction: Numerical.

ρ_{calcd} [Mg m ⁻³]	1.432	1.546
μ [mm ⁻¹]	0.960	1.062
F(000)	976	952
θ range [°]	2.447 to 28.831	2.701 to 30.544
<i>hkl</i> ranges	-13/14, -13/15, -24/24	-14/13, -16/16, -24/23
Reflections collected	40442	39656
Independent reflections	5640	3005
R_{int}	0.0815	0.0384
Completeness [%]	99.9	99.8
Final R indices [$I > 2\sigma(I)$]	$R_1 = 0.0637$, $wR_2 = 0.1548$	$R_1 = 0.0220$, $wR_2 = 0.0566$
R indices (all data)	$R_1 = 0.0789$ $wR_2 = 0.1688$	$R_1 = 0.0231$ $wR_2 = 0.0566$
Goodness-of-fit on F^2	1.075	1.080

Table 8. Crystal data and structure refinement for compounds **14** and **19**¹³⁹

Identification code	14 ·H ₂ O	19
Chemical formula	C ₂₆ H ₄₂ Cl ₂ FeN ₆ O ₃	C ₂₆ H ₄₀ F ₁₂ FeN ₆ O ₂ P ₂
M_r	613.40	814.43
Crystal size [mm ³]	0.07 × 0.07 × 0.07	0.320 × 0.160 × 0.030
Wavelength [Å]	1.54178	0.71073
Crystal system	Monoclinic	Triclinic
Space group	$P2_1/n$	$P-1$
a [Å]	12.2396(6)	10.9740(19)
b [Å]	10.7040(5)	12.663(2)
c [Å]	22.9106(11)	13.902(3)
α [°]	90	107.517(2)
β [°]	97.493(2)	108.430(2)
γ [°]	90	96.563(2)
Volume [Å ³]	2975.9(2)	1700.3(5)
Z	4	2
ρ_{calcd} [Mg m ⁻³]	1.369	1.591
μ [mm ⁻¹]	6.021	0.639
F(000)	1296	836
θ range [°]	3.892 to 65.194	1.653 to 26.278
<i>hkl</i> ranges	-14/14,-12/12,-26/26	-13/13,-15/15,-17/17
Reflections collected	23853	17141
Independent reflections	5075	6772

¹³⁹ In common: Temperature, 100 K. Refinement method, full-matrix least-squares on F^2 . Absorption correction: Multi-scan.

R_{int}	0.0273	0.0370
Completeness [%]	99.7	99.3
Final R indices [$I > 2\sigma(I)$]	$R_1 = 0.0260$ $wR_2 = 0.0639$	$R_1 = 0.0495$ $wR_2 = 0.1251$
R indices (all data)	$R_1 = 0.0286$ $wR_2 = 0.0657$	$R_1 = 0.0608$ $wR_2 = 0.1362$
Goodness-of-fit on F^2	0.954	1.040

Table 9. Crystal data and structure refinement for compounds **6**, **11** and **15**¹⁴⁰

Identification code	3	11	15
Chemical formula	$\text{C}_{18}\text{H}_{26}\text{N}_4\text{O}_2$	$\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{Cl}_2\text{FeN}_4$	$\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{Cl}_2\text{F}_6\text{FeN}_4\text{P}$
M_r	330.43	397.12	542.09
Crystal size [mm^3]	0.389 x 0.267 x 0.128	0.453 x 0.218 x 0.100	0.600 x 0.422 x 0.398
Wavelength [\AA]	1.54178	0.71073	0.71073
Crystal system	Monoclinic	Orthorhombic	Monoclinic
Space group	$P21/c$	$Pbcn$	$P21/c$
a [\AA]	8.5565(3)	14.1995(7)	9.2912(6)
b [\AA]	11.9424(5)	8.0887(5)	17.6962(12)
c [\AA]	8.8195(4)	15.0900(8)	12.8115(9)
α [$^\circ$]	90	90	90
β [$^\circ$]	105.2960(10)	90	97.226(2)
γ [$^\circ$]	90	90	90
Volume [\AA^3]	869.30(6)	1733.17(16)	2089.7(2)
Z	2	4	4
ρ_{calcd} [Mg m^{-3}]	1.262	1.522	1.723
μ [mm^{-1}]	0.675	1.182	1.118
F(000)	356	824	1100
θ range [$^\circ$]	5.359 to 72.490	2.700 to 40.380	2.210 to 28.405
hkl ranges	-10/10,-14/14,-9/10	-25/25,-14/9,-27/27	-12/12,-23/23,-17/16
Reflections collected	11133	30851	44448
Independent reflections	1710	5484	5220
R_{int}	0.0344	0.0314	0.0268
Completeness [%]	99.5	100.0	99.9
Final R indices [$I > 2\sigma(I)$]	$R1 = 0.0354$ $wR2 = 0.0858$	$R1 = 0.0289$ $wR2 = 0.0642$	$R1 = 0.0390$ $wR2 = 0.1028$
R indices (all data)	$R1 = 0.0368$ $wR2 = 0.0872$	$R1 = 0.0433$ $wR2 = 0.0694$	$R1 = 0.0412$ $wR2 = 0.1044$

¹⁴⁰ In common: Temperature, 100 K. Refinement method, full-matrix least-squares on F^2 . Absorption correction: Numerical

Goodness-of-fit on F ²	1.055	1.049	1.128
-----------------------------------	-------	-------	-------

7. Theoretical calculations

Technical details

DFT theoretical calculations were performed with Gaussian 09.¹⁴¹ The calculations were carried out at the B3LYP/6-31G(d,p) level for C, H, N, O and S atoms, while the LanL2DZ effective core potential of Wadt and Hay and its basis set was used for Fe.¹⁴² The calculations were done in DMSO using the polarizable continuum model with the integral equation formalism (IEFPCM) included in Gaussian 09.¹⁴³ Calculations of Fe(II)(mep(CONHBu)₂) complexes were carried out using a ultra-fine integration grid. Frequency calculations were performed to confirm the optimized structures corresponded to an energy minimum. Bond dissociation free energy (BDFE) theoretical values were calculated as the difference between the free energy of the deprotonated or doubly deprotonated Fe(III) complexes and the sum of the free energies of the starting Fe(II) complexes and a H atom, calculated independently. The value of the sum of electronic and thermal free energies was used. High spin systems were considered for both Fe(II) and Fe(III) complexes. Counterions were not included in the calculations. A BDFE value in better agreement with the experimental one was obtained for the Fe(II)(mep(OH)) system if the coordinated Cl atom was replaced by a DMSO molecule.

¹⁴¹ M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, B. Mennucci, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Caricato, X. Li, H. P. Hratchian, A. F. Izmaylov, J. Bloino, G. Zheng, J. L. Sonnenberg, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, T. Vreven, J. A. Montgomery Jr., J. E. Peralta, F. Ogliaro, M. Bearpark, J. J. Heyd, E. Brothers, K. N. Kudin, V. N. Staroverov, T. Keith, R. Kobayashi, J. Normand, K. Raghavachari, A. Rendell, J. C. Burant, S. S. Iyengar, J. Tomasi, M. Cossi, N. Rega, J. M. Millam, M. Klene, J. E. Knox, J. B. Cross, V. Bakken, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R. E. Stratmann, O. Yazyev, A. J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J. W. Ochterski, R. L. Martin, K. Morokuma, V. G. Zakrzewski, G. A. Voth, P. Salvador, J. J. Dannenberg, S. Dapprich, A. D. Daniels, O. Farkas, J. B. Foresman, J. V. Ortiz, J. Cioslowski, D. J. Fox, *Gaussian 09, Revision B.01*, Gaussian, Inc., Wallingford CT, **2010**.

¹⁴² P. J. Hay, W. R. Wadt, *J. Chem. Phys.* **1985**, *82*, 270-283.

¹⁴³ J. Tomasi, B. Mennucci, R. Cammi, *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 2999-3094.

CAPÍTULO II

Sistemas fluorescentes como
sondas celulares para la
detección de biotioles, fosfatos
y acetatos

CAPÍTULO II

INTRODUCCIÓN

En el presente capítulo de esta Tesis Doctoral, titulado “*Sistemas fluorescentes como sondas celulares para la detección de biotioles, fosfatos y acetatos*” se plantea la síntesis de una serie de compuestos con esqueleto de xanteno que actúen como sondas fluorescentes para la detección de biotioles, iones fosfato y acetato.

Tal y como se explicará de forma más detallada en los siguientes apartados, los derivados fluorescentes abordados actúan como sondas celulares para la detección de diversos compuestos de interés en Biomedicina presentes en los seres vivos, tales como biotioles, iones fosfatos y acetatos. Estos compuestos desempeñan un papel clave en los sistemas biológicos como marcadores de estrés oxidativo, transducción de señales y almacenamiento de energía en sistemas biológicos o en el metabolismo de carbohidratos y ácidos grasos. Por ello, la detección y la cuantificación de estos compuestos tanto dentro de la célula como en el medio extracelular sería de gran relevancia en el estudio de procesos biológicos, ya que su desregulación está relacionada con la disfunción celular, lo que supondría un avance en la detección de manera precoz de enfermedades relacionadas con niveles anormales de estos compuestos.

Los objetivos y resultados presentados a continuación se han desarrollado y obtenido gracias a la extensa colaboración con el grupo de Fotoquímica y Fotobiología (FQM247) del Departamento de Fisicoquímica de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Granada, cuyo responsable es el Prof. Ángel Orte. Dentro de esta colaboración la labor llevada a cabo por nuestro grupo de investigación en el contexto de la presente Tesis doctoral, ha sido el diseño y síntesis de derivados fluorescentes que cumplieran los requisitos necesarios para el desarrollo de los objetivos finales propuestos por el grupo del Prof. Ángel Orte, así como su caracterización y estudio mecanístico completo. Puesto que el presente capítulo abarca aspectos muy concretos del campo de especialización del grupo del Prof. Ángel Orte, se ha decidido emplear los borradores no editados de los artículos sobre estos trabajos para facilitar la comprensión del trabajo en su conjunto, así como para conseguir la mayor coherencia posible en la exposición del trabajo de investigación realizado.

Por otra parte, la presentación de los resultados mostrados en las siguientes secciones se ha realizado en inglés ya que, según la normativa para optar al Título de Doctor con Mención Internacional, se exige la escritura de parte de la Tesis Doctoral en una lengua distinta a las lenguas oficiales en España y que sea lengua habitual para la comunicación

de resultados científicos. Por ello, hemos optado por mantener en inglés la exposición de los trabajos descritos en este capítulo.

Por los motivos expuestos anteriormente, el presente capítulo de esta Tesis Doctoral está escrito en un formato distinto al empleado en los Capítulos I y III de la misma.

CAPÍTULO II

OBJETIVOS

Los objetivos que se pretende desarrollar en el presente capítulo se plantearon teniendo en cuenta la gran experiencia en técnicas de espectroscopia y microscopía de fluorescencia y su aplicación en el diseño de sensores fluorescentes intracelulares, así como en el desarrollo de estudios biofísicos de relevancia médica del grupo de Fotoquímica y Fotobiología del Departamento de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Granada, así como la experiencia previa de nuestro grupo de investigación en la síntesis de compuestos con esqueleto de xanteno que presentaron interesantes propiedades fotofísicas.¹ De forma general estos objetivos pueden resumirse en el diseño y la síntesis de derivados fluorescentes que cumplan ciertos requisitos para actuar como sondas celulares que permitan la detección de compuestos de interés en procesos biológicos mediante el uso de estudios fotofísicos.

Durante los últimos años la estructura de la fluoresceína (Figura 1) se ha ido modificando y mejorando con el propósito de obtener nuevos derivados fluorescentes que presentaran propiedades fotofísicas mejoradas y con otras posibles aplicaciones con respecto a este compuesto. Ejemplo de ello son los aril derivados sintetizados como el Granada Green (GG),² Tokio Green (TG),³ Pensilvania Green (PG),⁴ Oregon Green 488 (OG488)⁵ o los alquil derivados como la *i*-Propilxatenona (*i*-Prop-Xanth).⁶ Todos estos compuestos mostraron mejoras importantes en su comportamiento fotofísico, como altos rendimientos cuánticos, variedad en valores de pK_a , alta fotoestabilidad, menor sensibilidad ante el pH, mayor hidrofobicidad, así como la sustitución del grupo carboxilo y la ausencia de un grupo arilo en posición C-9, considerados hasta ese momento como indispensables.²⁻⁶

¹ a) M. C. González-García, P. Herrero-Foncubierta, S. Castro, S. Resa, J. M. Álvarez-Pez, D. Miguel, J. M. Cuerva, E. García-Fernández, A. Orte, *Front. Chem.* **2019**, *7*:129; b) L. Espinar-Barranco, P. Luque-Navarro, M. A. Strnad, P. Herrero-Foncubierta, L. Crovetto, D. Miguel, M. D. Girón, A. Orte, J. M. Cuerva, R. Salto, J. M. Álvarez-Pez, J. M. Paredes, *Dyes Pigments* **2019**, *168*, 264-272; c) V. Puente-Muñoz, J. M. Paredes, S. Resa, J. D. Vílchez, M. Zitnan, D. Miguel, M. D. Girón, J. M. Cuerva, R. Salto, L. Crovetto, *Sci. Rep.-UK* **2019**, *9*, 1659; d) P. Herrero-Foncubierta, J. M. Paredes, M. D. Girón, R. Salto, J. M. Cuerva, D. Miguel, A. Orte, *Sensors* **2018**, *18*: 161; e) L. Crovetto, A. Orte, J. M. Paredes, S. Resa, J. Valverde, F. Castello, D. Miguel, J. M. Cuerva, E. M. Talavera, J. M. Álvarez-Pez, *J. Phys. Chem. A* **2015**, *119*, 10854-10862.

² A. Martínez-Peragón, D. Miguel, A. Orte, A. J. Mota, M. J. Ruedas-Rama, J. Justicia, J. M. Álvarez-Pez, J. M. Cuerva, L. Crovetto, *Org. Biomol. Chem.* **2014**, *12*, 6432-6439.

³ Y. Urano, M. Kamiya, K. Kanda, T. Ueno, K. Hirose, T. Nagano, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 4888-4894.

⁴ L. F. Mottram, S. Boonyarattanakalin, R. E. Kovel, B. R. Peterson, *Org. Lett.* **2006**, *8*, 581-584.

⁵ a) W.-C. Sun, K. R. Gee, D. H. Klaubert, R. P. Haugland, *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 6469-6475; b) R. P. Haugland "Handbook of Fluorescent Probes and Research Products" 9th ed; Molecules Probes, Inc: Eugene, OR, **2002**.

⁶ A. Martínez-Peragón, D. Miguel, R. Jurado, J. Justicia, J. M. Álvarez-Pez, J. M. Cuerva, L. Crovetto, *Chem. Eur. J.* **2014**, *20*, 447-455.

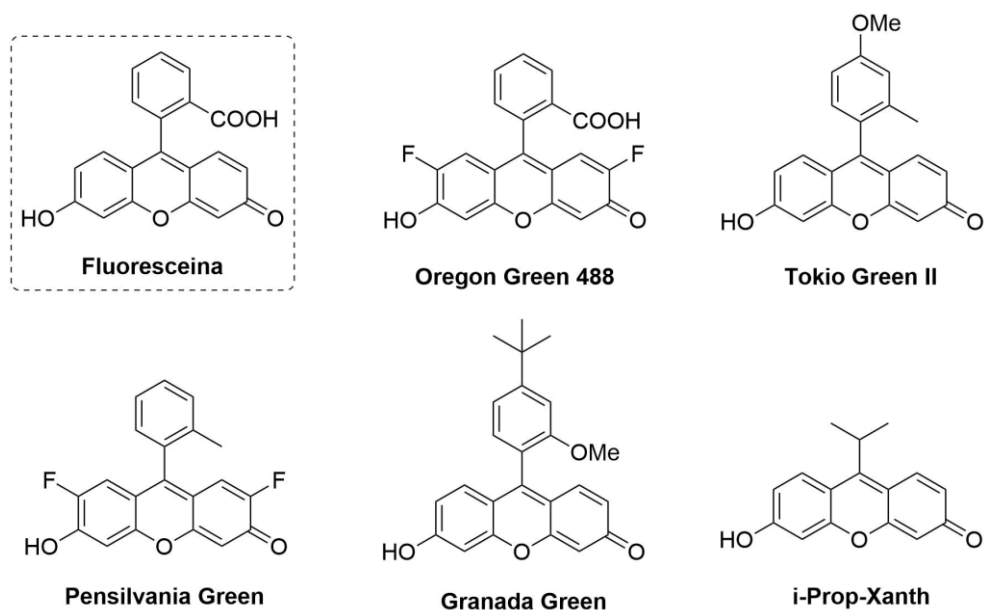


Figura 1. Estructura de la fluoresceína y de distintos derivados fluorescentes.

Basándonos en la estructura de la fluoresceína y teniendo en cuenta las notables propiedades de los compuestos modificados mostrados anteriormente, en la presente Tesis Doctoral nos planteamos la realización de dos objetivos: en primer lugar, la síntesis de un sistema fluorescente OFF-ON que fuera sensible a los biotioles e iones fosfato y, por otra parte, el desarrollo de derivados fluorescentes que permitieran la detección de iones acetato en el medio intracelular.

Hasta la fecha no se había sintetizado ninguna sonda fluorescente con capacidad de detectar biotioles e iones fosfato de manera simultánea en un mismo experimento. Normalmente, el procedimiento empleado para la detección de varios metabolitos es la utilización de dos fluoróforos y/o distintos experimentos. Por ello, la detección simultánea de estos metabolitos, relevantes en los organismos vivos, mediante una sola molécula podría aportar información para comprender la relación existente entre ambos en células sanas y desreguladas. Para este tipo de análisis en sistemas biológicos *in vivo*, las sondas fluorescentes han resultado ser una herramienta poderosa. Por lo tanto, para la consecución del primer objetivo se diseñó y sintetizó el 2,4-dinitrobenzenosulfonato derivado fluorescente del GG (**DNBS-GG**, Figura 2), como sonda dual que permitiera la detección simultánea de biotioles e iones fosfato en una sola molécula.

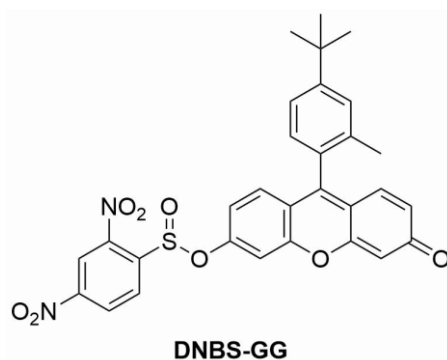


Figura 2. Estructura del derivado fluorescente **DNBS-GG**.

El **DNBS-GG** presentaría un grupo sensible a los biotioles como el 2,4-dinitrobenzenosulfonilo. La adición nucleofílica aromática altamente selectiva de biotioles al anillo deficiente de electrones del **DNBS-GG** liberaría un fragmento fluoróforo, el **GG**, que serviría para proporcionar información sobre la concentración de iones fosfato presentes en el medio biológico.

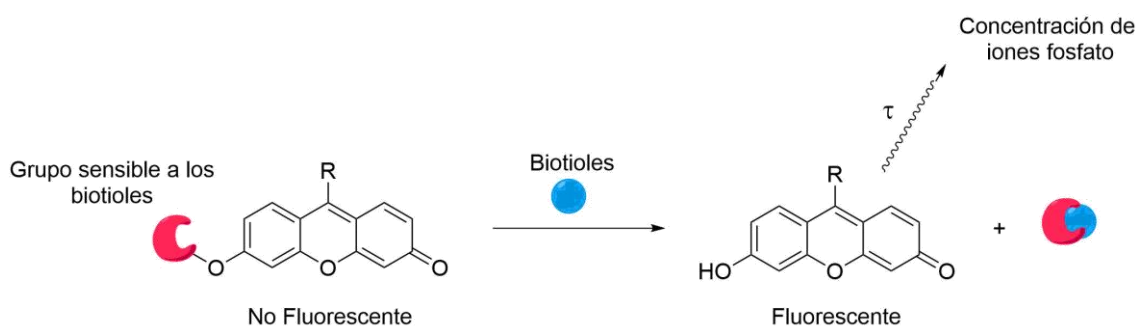


Figura 3. Hipótesis de trabajo del primer objetivo.

La medición de iones fosfato intracelulares como marcador de diferenciación de osteoblastos y deposición ósea combinada con el ensayo de los niveles de biotioles como marcador de estrés oxidativo sería una herramienta útil para abordar procesos patológicos que combinan alteraciones del metabolismo óseo con aumento del estrés oxidativo, como la obesidad y la diabetes. Ello indica el alto interés farmacológico y en el campo de la Medicina que presenta el desarrollo de este tipo de sondas.

En lo que respecta al segundo objetivo de este capítulo, hay que indicar que es conocido que todos los aniones presentan equilibrios ácido-base en agua, lo que en un principio puede emplearse para discriminar entre ellos. Además, se ha visto que las reacciones de transferencia de protones en estado excitado (ESPT) originan cambios en

los tiempos de vida de derivados fluorescentes,⁷ los cuales se relacionan con la presencia del aceptor o donante de protones correspondiente, permitiendo la detección de los mismos. Para que este proceso pueda emplearse en la detección de un determinado anión es necesario que el proceso de transferencia de protones sea selectivo al mismo. Para ello el pK_a del derivado fluorescente y del compuesto a determinar deben ser similares, impidiendo así la interferencia con otros aniones con características ácido-base diferentes. Este procedimiento presenta la ventaja de que la detección puede llevarse a cabo en agua, por tanto, la única limitación que presenta es el valor de pK_a del derivado fluorescente.

En relación con estos fenómenos, se ha demostrado que los colorantes que presentan un esqueleto de xanteno en su estructura pueden ajustar su valor de pK_a realizando diversas modificaciones en dicha estructura, además de presentar interesantes propiedades fotofísicas.

Por tanto, la combinación de los dos fenómenos anteriores podría permitir el diseño de compuestos capaces de detectar de manera completamente selectiva la presencia de aniones de un tipo en medios complejos, con alta presencia de otro tipo de aniones, como son los sistemas biológicos.

Por estos motivos y basándonos en la experiencia previa de nuestro grupo de investigación en la síntesis de distintos derivados fluorescentes, nos planteamos como segundo objetivo del presente capítulo la síntesis de un derivado fluorescente que permitiera detectar cuantitativamente y de forma completamente selectiva iones acetato en agua y en sueros sintéticos. Teniendo en cuenta los requisitos anteriores, necesitábamos sintetizar un derivado fluorescente que tuviera un pK_a similar al de los iones acetato (4.76) y que además no presentara en su estructura ningún otro grupo funcional que pudiera estar involucrado en equilibrios ácido-base. Los derivados propuestos se muestran en la siguiente figura.

⁷ J. M. Paredes, M. D. Girón, M. J. Ruedas-Rama, A. Orte, L. Crovetto, E. M. Talavera, R. Salto, J. M. Álvarez-Pez, *J. Phys. Chem. B* **2013**, *117*, 8143-8149.

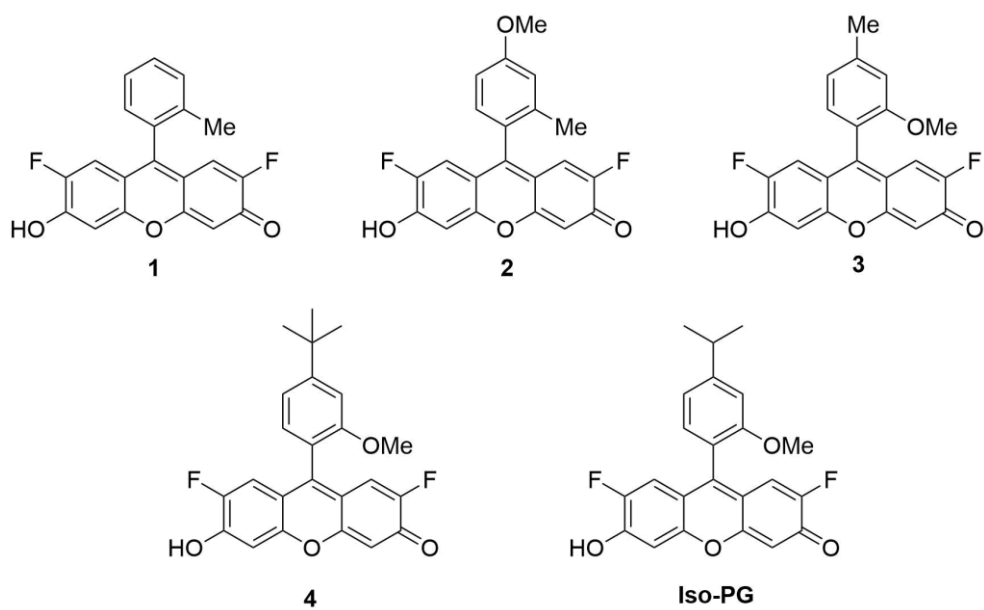


Figura 4. Estructuras de derivados fluorescentes del segundo objetivo.

Los compuestos propuestos, una vez sintetizados, se someterán a los correspondientes estudios fotoquímicos para determinar su viabilidad en los procesos de detección de iones acetato de forma selectiva tanto en agua como en muestras de suero sintético.

CHAPTER II

RESULTS AND DISCUSSION

CHAPTER II

RESULTS AND DISCUSSION

PART I:

*New Dual Fluorescent Probe for
Simultaneous Biothiol and
Phosphate Bioimaging*

Fluorescent probes of low toxicity for multiplex sensing are remarkable tools for the analysis of biological systems.⁸ To this end, different properties of the sensor must be related to unrelated bioanalytes, which is a difficult task. Within this context, we focused on very different naturally occurring compounds, such as biothiols and phosphate anions. Both of these compounds are widely present in living organisms and are relevant because their deregulation is related to cellular dysfunction. Biological thiols play crucial roles in biological systems; thus, in the last two decades, there has been a great effort to develop new methods to detect them. Among the methods for detecting and quantifying biological thiols, fluorescence approaches have proved to be the most suitable due to their advantages derived from their high sensitivity, simplicity and low cost.⁹ Phosphate ions play important roles in signal transduction and energy storage in biological systems; thus, their detection and quantification inside the cell and in the extracellular media are relevant parameters in biological studies.¹⁰ Measurement of intracellular phosphate as a marker of osteoblast differentiation and bone deposition combined with the assay of biothiol levels as marker of oxidative stress would be a useful tool to address pathological processes that combine alterations of bone metabolism with increased oxidative stress as obesity and diabetes.¹¹

To our knowledge, no fluorescent probes with the ability to simultaneously measure both of these parameters have been described to date. Therefore, we believe that a fluorescence-based multiplexed probe that can jointly sense biological thiols and inorganic phosphates, both inside and outside the cell, would be of broad interest and utility.

The key point in this study is the careful selection of the fluorophore. In recent years, fluorescein-based compounds have evolved to yield simple structures that can retain their striking photophysical properties. Thus, for example, some aryl-³ and alkyl-substituted xanthenones⁶ have simplified the original prototropic equilibrium in fluorescein, improving the analysis of photophysical data (Figure 1). Therefore, they have been used

⁸ a) C. Ding, A. Zhu, Y. Tian, *Acc. Chem. Res.* **2014**, *47*, 20-30; b) P. D. Howes, R. Chandrawati, M. M. Stevens, *Science* **2014**, *346*, 1247390.

⁹ X. Chen, Y. Zhou, X. Peng, J. Yoon, *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39*, 2120-2135.

¹⁰ a) N. Majed, Y. Li, A. Z. Gu, *Curr. Opin. Biotech.* **2012**, *23*, 852-859; b) S. Khoshniat, A. Bourguine, M. Julien, P. Weiss, J. Guicheux, L. Beck, *Cell. Mol. Life Sci.* **2011**, *68*, 205-218; c) C. Bergwitz, H. Jüppner, *Adv. Chronic Kidney D.* **2011**, *18*, 132-144.

¹¹ T. Yokota, S. Kinugawa, M. Yamato, K. Hirabayashi, T. Suga, S. Takada, K. Harada, N. Morita, N. Oyama-Manabe, Y. Kikuchi, K. Okita, H. Tsutsui, *Diabetes Care* **2013**, *36*, 1341-1346.

as fluorescent probes for many biologically relevant analytes, such as β -galactosidase,^{3,12} hydrogen peroxide,¹³ nucleotide pyrophosphatases/ phosphodiesterases,¹⁴ UDP-glucuronosyltransferase,¹⁵ and BlaC hydrolase of *Mycobacterium tuberculosis*⁶ as well as in western blot analysis.¹⁷ Within this context, a new methodology based on the dependence of the fluorescence decay time of these xanthene-based dyes on the phosphate buffer concentration at near physiological pH was recently developed in our laboratories.⁷ The highest sensitivity was obtained with a customized compound, called Granada Green (GG), with a fine-tuned pK_a value of 7.3.²

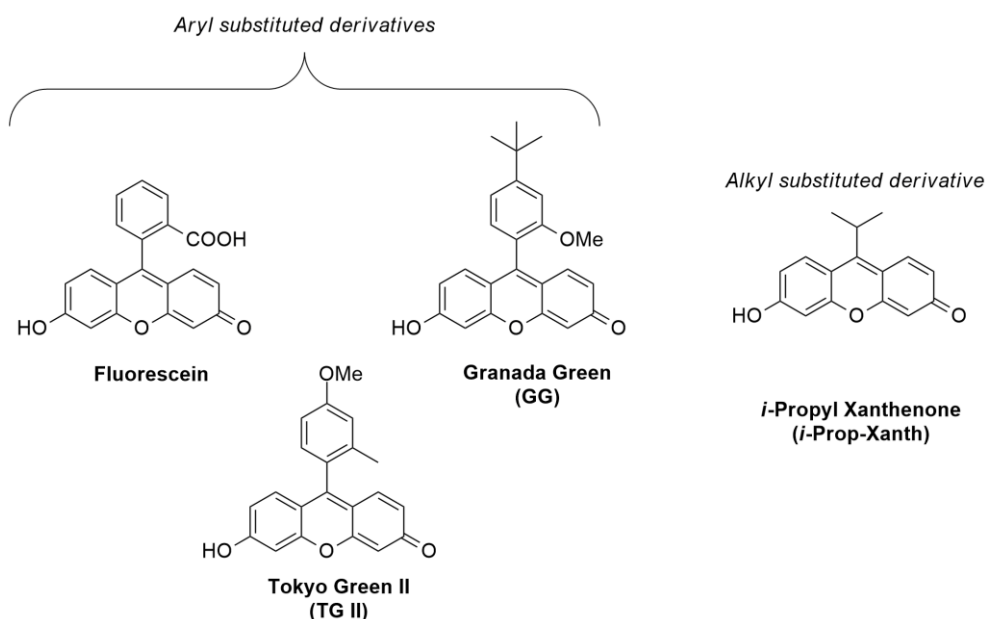


Figure 1. Xanthene-based fluorescent compounds.

Considering the remarkable properties of these compounds, we decided to demonstrate their selective ON-OFF fluorogenic behaviour towards biological thiols. In this manner, the liberated fluorophore could be used for dual purposes, as follows: a) for

¹² M. Kamiya, D. Asanuma, E. Kuranaga, A. Takeishi, M. Sakabe, M. Miura, T. Nagano, Y. Urano, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 12960-12963.

¹³ D. Srikun, A. E. Albers, C. I. Nam, A. T. Iavarone, C. J. Chang, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 4455-4465.

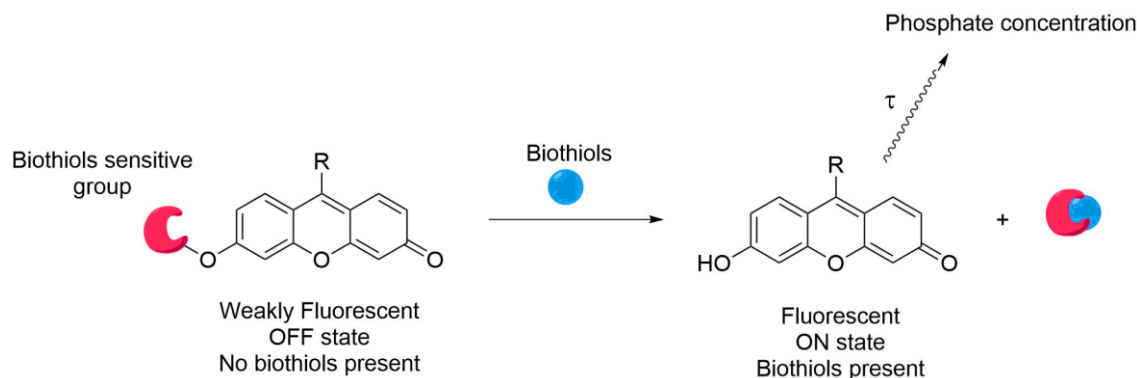
¹⁴ M. Kawaguchi, T. Okabe, S. Okudaira, K. Hanaoka, Y. Fujikawa, T. Terai, T. Komatsu, H. Kojima, J. Aoki, T. Nagano, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 12021-12030.

¹⁵ T. Terai, R. Tomiyasu, T. Ota, T. Ueno, T. Komatsu, K. Hanaoka, Y. Urano, T. Nagano, *Chem. Commun.* **2013**, *49*, 3101-3103.

¹⁶ Y. Cheng, H. Xie, P. Sule, H. Hassounah, E. A. Graviss, Y. Kong, J. D. Cirillo, J. Rao, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 9360-9364.

¹⁷ M. Kamiya, Y. Urano, N. Ebata, M. Yamamoto, J. Kosuge, T. Nagano, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 5439-5441.

detecting the presence of biothiols and b) for providing information on the local phosphate concentration (Scheme 1).



Scheme 1. Xanthone-based fluorescent compounds and proposed function of the simultaneous probe.

In 2005, Maeda et al. reported that 2,4-dinitrobenzenesulfonyl fluorescein derivatives can act as ON-OFF fluorescent probes towards thiols because of the highly selective aromatic nucleophilic addition of thiols to the highly electron-deficient aromatic ring.¹⁸ These seminal studies allowed the extension of the reactive 2,4-dinitrobenzenesulfonyl derivatives to new fluorescent compounds, such as cyanine,¹⁹ merocyanine,²⁰ boron-dipyrromethene (BODIPY),²¹ benzothiazol²² and coumarin.²³ Remarkably, despite the excellent properties of xanthene-based dyes, the corresponding 2,4-dinitrobenzenesulfonyl derivatives have not been described to date. We then prepared the corresponding 2,4-dinitrobenzenesulfonates of 9-[1-(2-methyl-4-methoxy-phenyl)]-6-hydroxy-3H-xanthen-3-one (**TG II**), 9-[1-(4-tert-butyl-2-methoxyphenyl)]-6-hydroxy-3H-xanthen-3-one (Granada Green, **GG**, compound **I** in Experimental Part I), and 6-hydroxy-9-isopropyl-3H-xanthen-3-one (***i*-Prop-Xanth**) which, unfortunately, presented a fast and unselective hydrolysis reaction in aqueous or methanolic solutions (Figure 2). Moreover, the poor solubility in pure water was also limiting for *in vivo* bioimaging purposes. One

¹⁸ a) H. Maeda, H. Matsuno, M. Ushida, K. Katayama, K. Saeki, N. Itoh, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 2922-2925; b) H. Maeda, K. Yamamoto, I. Kohno, L. Hafsi, N. Itoh, S. Nakagawa, N. Kanagawa, K. Suzuki, T. Uno, *Chem. Eur. J.* **2007**, *13*, 1946-1954.

¹⁹ D. Maity, T. Govindaraju, *Org. Biomol. Chem.* **2013**, *11*, 2098-2104.

²⁰ S.-P. Wang, W.-J. Deng, D. Sun, M. Yan, H. Zheng, J.-G. Xu, *Org. Biomol. Chem.* **2009**, *7*, 4017-4020.

²¹ X. Li, S. Qian, Q. He, B. Yang, J. Li, Y. Hu, *Org. Biomol. Chem.* **2010**, *8*, 3627-3630.

²² W. Sun, W. Li, J. Li, J. Zhang, L. Du, M. Li, *Tetrahedron Lett.* **2012**, *53*, 2332-2335.

²³ a) J. Li, C.-F. Zhang, Z.-Z. Ming, W.-C. Yang, G.-F. Yang, *RSC Adv.* **2013**, *3*, 26059-26065; See also: b) J. Bouffard, Y. Kim, T. M. Swager, R. Weissleder, S. A. Hilderbrand, *Org. Lett.* **2008**, *10*, 37-40; c) M. Li, H. Ge, R. L. Arrowsmith, V. Mirabello, S. W. Botchway, W. Zhu, S. I. Pascu, T. D. James, *Chem. Commun.* **2014**, *50*, 11806-11809.

possible reason for this undesirable solvolysis reaction is the low pK_a value of the starting hydroxyxanthenones, which enhances their properties as nucleofuges in a direct substitution reaction at the electron deficient sulfur center.

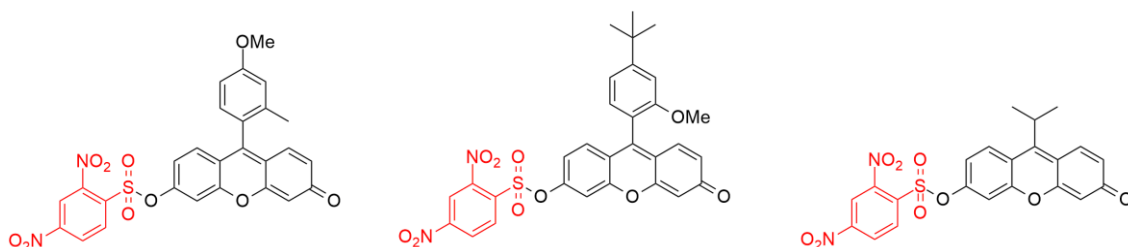


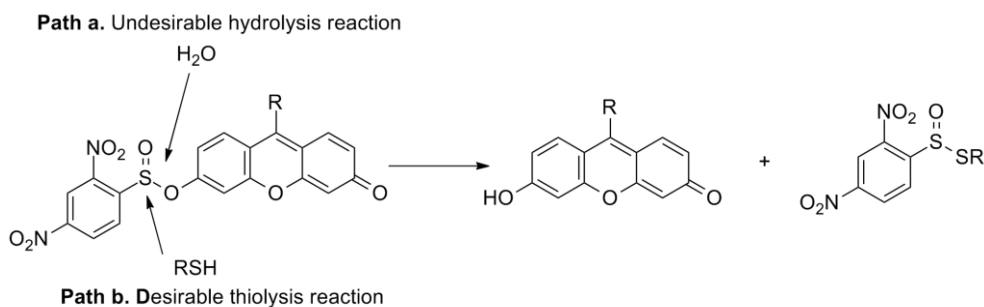
Figure 2. 2,4-dinitrobenzenesulfonates derivatives.

After obtaining these unfruitful results, we thought that the undesirable hydrolysis reaction (Scheme 2, path a) could be changed to the desired reaction if it is transformed in a selective thiolysis²⁴ reaction (Scheme 2, path b).²⁵ Therefore, a new biothiol-sensitive group could be developed is the thiolysis reaction takes place in aqueous solution without the interference of oxygenated nucleophiles. In this study, we present the synthesis of the 2,4-dinitrobenzenesulfinate (**DNBS**) derivative of GG, **DNBS-GG**, a new sulfinate-based²⁶ biothiol-sensitive group based on such selective thiolysis reaction (Figure 3). This compound presents an excellent performance in terms of avoiding undesirable hydrolysis reactions, thus increasing the specificity of the fluorogenic probe towards biothiols. Moreover, **DNBS-GG** shows an excellent behaviour as a dual probe for biothiols and phosphate anions at near-neutral pH in vitro and in extracellular medium.

²⁴ It is known that sulfonate esters can be *trans*-thioesterified by thiols at high temperatures: a) A. K. Chakraborti, M. K. Nayak, L. Sharma, *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 8027-8030; b) T. Okuyama, H. Takano, K. Senda, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1996**, *69*, 2639-2644; c) T. Okuyama, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1996**, *69*, 3281-3287.

²⁵ A selective hydrolysis reaction is also the basis of the analysis of superoxide ion: H. Maeda, K. Yamamoto, Y. Nomura, I. Kohno, L. Hafsi, N. Ueda, S. Yoshida, M. Fukuda, Y. Fukuyasu, Y. Yamauchi, N. Itoh, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 68-69.

²⁶ A related approach based on *t*-butyl sulfinate thiolysis has been recently reported, although the direct application to our case was unsuccessful owing to the lability of the final product towards unselective hydrolysis in aqueous and methanolic solutions: S. R. Malwal, A. Labade, A. S. Andhalkar, K. Sengupta, H. Chakrapani, *Chem. Commun.* **2014**, *50*, 11533-11535.



Scheme 2. Working hypothesis.

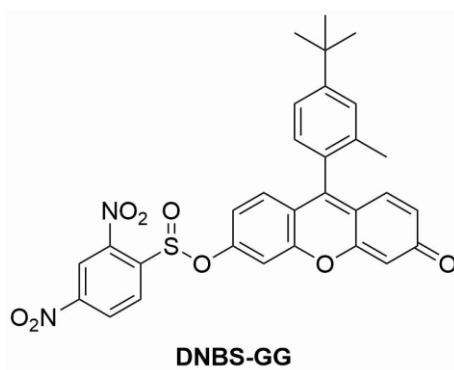


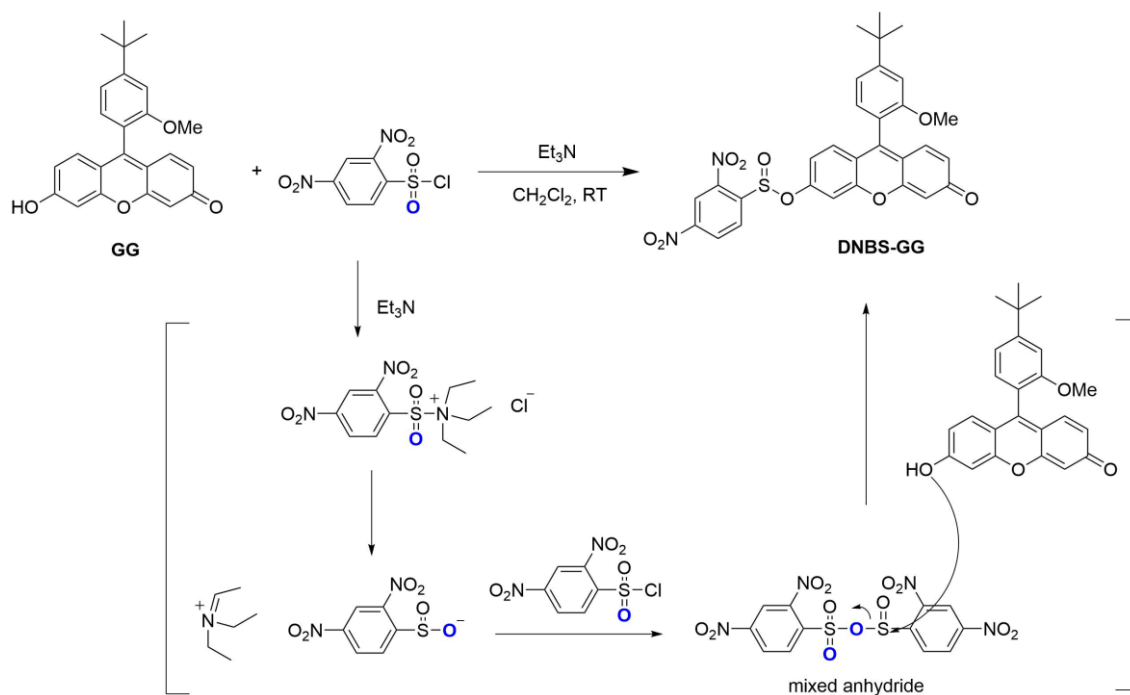
Figure 3. Structure of DNBS-GG.

For our purposes, the fluorescent probe should fulfill three primary conditions: i) the nucleophilic aromatic substitution reaction should be turned off, ii) the water-promoted hydrolysis reaction should be diminished and iii) the thiolysis reaction should be selective. To this end, less deactivated aromatic sulfonates were prepared, but they were unreactive towards any of the previously mentioned reactions. One solution would be the use of other less electrophilic functional groups, such as sulfonates ($R^1\text{-SO-O-R}^2$). Additionally, the dipolar moment of the resulting molecule could increase its water solubility. The required sulfinate moiety must also be in a carefully balanced equilibrium between the undesirable hydrolysis and the desirable thiolysis reactions. Thus, the probe must be sufficiently robust to resist hydrolysis but must also react with sulfur nucleophiles.

After some experimentation, we found that both the xanthene dye and the substitution of the sulfinate group are key factors for the success of the approach. Only the combination of **GG** as a xanthene dye and the 2,4-dinitro substitution of the benzene sulfinate in **DNBS-GG** was shown to be appropriate for this application, being stable and soluble in water and presenting the expected selective reactivity towards biothiols. However, the corresponding **DNBS** derivatives of **TG II** and **Prop-Xanth** were labile

towards water. The reason for this different reactivity is unclear but could be related to the higher pK_a value of **GG**.

The primary synthetic problem in this study is that the required 2,4-dinitrobenzenesulfinyl chloride has not been described to date.²⁷ Therefore, we used an unusual reaction of electron-deficient sulfonyl chlorides, which allows the *in situ* reduction of the sulfur atom from $S(+6)$ to $S(+4)$ using triethylamine as a reductant (Scheme 3).²⁸



Scheme 3. Synthesis of **DNBS-GG**.

To explore the use of the new fluorescent probe to detect biologically relevant substances containing a thiol group (e.g., cysteine, homocysteine and glutathione), the temporal dependence of the **DNBS-GG** fluorescence emission in the presence of these biothiols was investigated at the pH values of 9 (at which **DNBS-GG** shows the highest sensitivity to biothiols due to the influence of the pK_a value of the aliphatic thiols on the reaction), 4.80 (to check there are not undesirable hydrolysis under acidity conditions, ruling out any potential interference of lysosomal actions in the use of the dye in cells), and 7.35 (interesting for physiological applications). The fluorescence emission of **DNBS-**

²⁷ Even the corresponding 2,4-dinitrobenzenesulfinyl acid has not been described to date using known protocols, see: C. Lee, L. Field, *Synthesis* **1990**, 1990, 391-397.

²⁸ T. Netscher, P. Bohrer, *Tetrahedron Lett.* **1996**, 37, 8359-8362.

GG in the absence of biothiols was very weak. However, in presence of biothiols, an emission band centered at 520 nm, characteristic of **GG**, gradually increased over time. This fluorescence increase indicates the cleavage of **DNBS-GG** and its separation into two moieties, releasing the fluorescent compound **GG** from the electron-withdrawing 2,4-dinitrobenzene-sulfinate moiety. Figure 3a shows representative fluorescence emission spectra at different reaction times of **DNBS-GG** in the presence of glutathione (GSH) at pH 7.35. Similar reactions were found upon reaction with cysteine (Cys) and homocysteine (Hcy) (Figure 4b and Figure S1 in Experimental Part I). The absorption spectra of **DNBS-GG** (Figure S2 in Experimental Part I) exhibit a clear change upon reaction with thiols in which from a dual absorption band with maxima at 436 and 461 nm, the reaction gave rise to the spectral profile characteristic of free **GG** (absorption maximum at 495 nm).

We then attempted to analyze the fate of the **DNBS**-based fragment. Control experiments using sodium propionate as a nucleophile showed that the nucleophilic attack does not occur in the aromatic ring, as expected. The *S*-nucleophile attacks the sulfur electron-deficient center, initially leading to the thiolysis of **DNBS-GG**. After the hydrolysis of the resulting propyl 2,4-dinitrobenzenethiosulfinate²⁹ we were able to isolate the 2,4-dinitrobenzenesulfonic acid.^{30,31} This result is relevant because the *S*-nucleophile can be slowly regenerated over time and can influence the overall kinetics of the process.

²⁹ a) T. Takata, Y. H. Kim, S. Oae, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1981**, *54*, 1443-1447; b) S. Oae, T. Takata, *Tetrahedron Lett.* **1980**, *21*, 3213-3216.

³⁰ S. Detoni, D. Hadzi, *J. Chem. Soc.* **1955**, 3163-3169.

³¹ a) C. S. Baker, H. A. Strobel, *J. Phys. Chem.* **1979**, *83*, 728-732; b) H. Koshima, H. Miyamoto, I. Yagi, K. Uosaki, *Mol. Cryst. Liq. Cryst.* **2004**, *420*, 79-89.

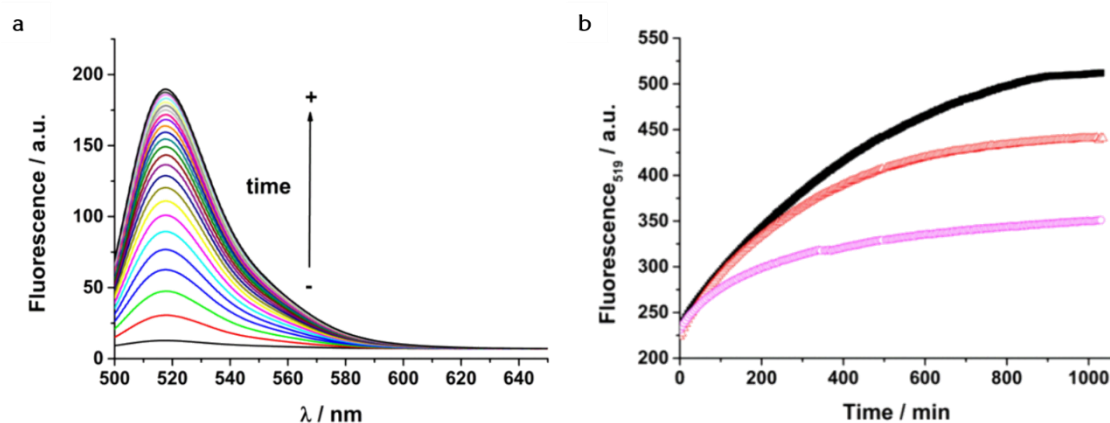


Figure 4. (a) Fluorescence emission spectra ($\lambda_{\text{ex}}=485$ nm) of DNBS-GG ($6.5 \mu\text{M}$) in the presence of $6.5 \mu\text{M}$ GSH at $\text{pH}=7.35$ in 10 mM Tris solution, recorded every five minutes until reaching 1300 minutes. (b) Fluorescence intensity at $\lambda_{\text{ex}}=485$ nm and $\lambda_{\text{em}}=519$ nm vs. time of DNBS-GG ($6.5 \mu\text{M}$) in the presence of $6.5 \mu\text{M}$ GSH (■), Cys (Δ), or Hcy (O) at $\text{pH}=9$ and 40°C .

To optimize the experimental conditions to use the **DNBS-GG** in biothiol detection, we further investigated the effects of the probe concentration and reaction time in the temporal generation of the fluorescent signal. First, we studied the limit in the linearity of the fluorescence signal with the concentration of the free dye (Fig. S3 and S5 in Experimental Part I). The maximum suitable concentration of the probe was selected as $6.5 \mu\text{M}$. Because we intend to perform the detection inside living cells, biological experimental conditions were established for the reaction at 37°C and $\text{pH} = 7.35$. Figure 2b shows the fluorescence intensity of **DNBS-GG** in the presence of Cys, Hcy or GSH at 519 nm, increasing sharply with the reaction time from 0 h to 3 h and then reaching a nearly constant value at approximately 3 h. Figure S4 shows the relative response of **DNBS-GG** towards Cys, Hcy and GSH after 2 h of reaction under physiological experimental conditions. The results confirm a highly similar sensitivity of the probe towards the three biothiols.

To study the specific response of the probe to biothiols, we also investigated the potential interference by the presence of other amino acids (lacking a thiol group) or by reactive oxygen species (ROS). The increase in the fluorescence emission intensity of **DNBS-GG** in the presence of L-alanine, L-serine, H_2O_2 , or Fe(II) was low (Figure S4 in Experimental Part I). The low response to ROS indicates that the probe would be a good candidate for thiol detection in cases of cellular stress due to high levels of ROS in which the thiols are the first to respond to oxidative stress.

In previous studies, we demonstrated the fluorescence decay time of **GG** to be a good estimator of the phosphate ion concentration.² Given that the product of the reaction

between **DNBS-GG** and thiols is the free **GG**, the measurements of the fluorescence decay time must provide the basis for a dual sensor. To test the capability of the **DNBS-GG** dye to jointly estimate the concentrations of phosphate and biothiols, we studied the reaction between $6.5 \mu\text{M}$ **DNBS-GG** and GSH in the presence of phosphate buffer at different concentrations over the range of 0 to 0.4 M and at $\text{pH} = 7.35$. Experimental measurements were completed in the time-resolved regime, and Figure 5 shows the recovered results. As can be observed, the recovered lifetimes show a decrease with the phosphate concentration, revealing that the product of the **DNBS-GG** cleavage is the free **GG**, which is sensitive towards phosphate ions via an excited-state proton transfer reaction (Scheme S1 in Experimental Part I).

The recovered fluorescence lifetimes after the reaction with the thiols are in excellent agreement with those previously published for free **GG** in the presence of phosphate ions (Figure 5).²

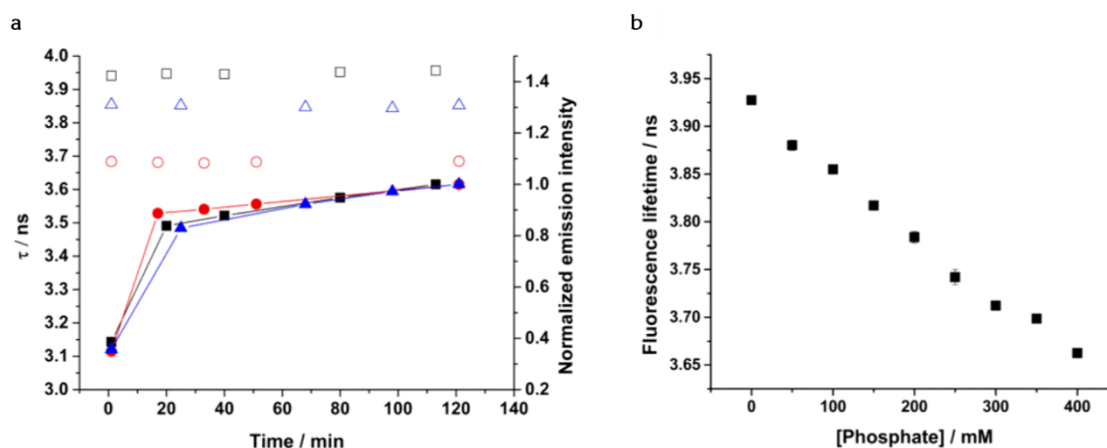


Figure 5. (a) Fluorescence decay time (open symbols, left y-axis) and normalized emission intensity (closed symbols, right y-axis) of **DNBS-GG** (6.5×10^{-6} M) in the presence of GSH (6.5×10^{-6} M) at $\text{pH} = 7.35$ and 0 (black squares), 200 (blue triangles), and 400 mM (red circles) total phosphate concentration. (b) Average of the fluorescence decay time of **DNBS-GG** (6.5×10^{-6} M) in the presence of GSH (6.5×10^{-6} M) at $\text{pH} = 7.35$, collected every 10 minutes for 1 h of reaction in the presence of different amounts of total phosphate ranging between 0 and 400 mM.

The innovative dual probe for the detection of thiols and phosphate ions was also tested intracellularly by fluorescence lifetime imaging microscopy (FLIM). **DNBS-GG** was added to the extracellular medium of HeLa cell cultures, and FLIM images were collected at different times. The evaluation of the fluorescence intensity changes displayed with time due to their own biological thiols shows that the probe is cell membrane-permeable and can selectively detect thiols in living cells (Figure 6a and 6c). To verify this statement, an excess of N-methyl maleimide (NMM) was added to the extracellular medium to block

the cellular thiols. The fluorescence signal of the probe did not appreciably change with time (Figure 6b and 6c).

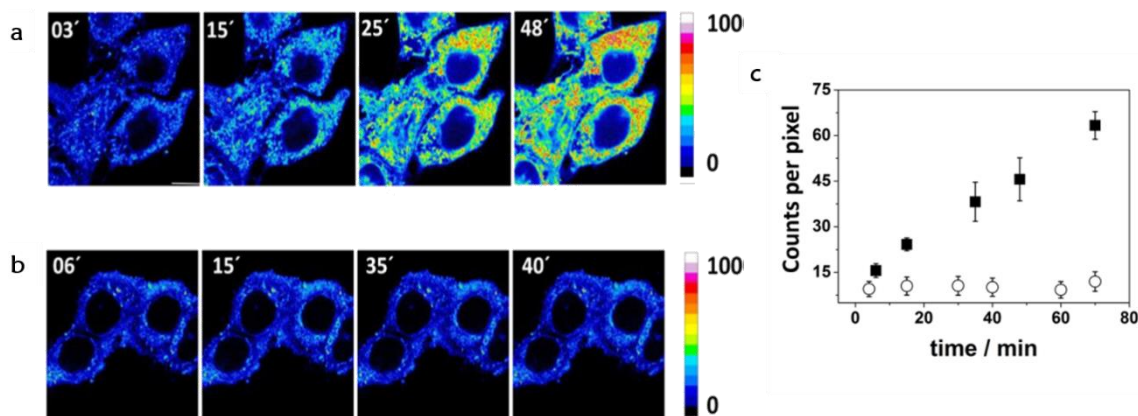


Figure 6. Fluorescence intensity images of cell cultures with DNBS-GG (1×10^{-7} M) at different reaction times (in minutes). (a) Physiological conditions with natural thiols present; (b) cells incubated with an excess of NMM. Scale bars represent $10 \mu\text{m}$. (c) Average number of photons per pixel containing the fluorescence of the probe (cell cytoplasm) from cells under physiological conditions (black squares) or incubated with an excess of NMM (open circles). Error bars represent standard deviations from the measurements of at least five different cells.

To verify the phosphate sensitivity using changes in the fluorescence lifetime, the cells were incubated with α -toxin, a non-specific ionophore that opens membrane pores to allow a free flow of small ions, including the phosphate buffer added to the extracellular media. Along with the increase in the fluorescence emission due to reaction with the internal thiols, the FLIM images show the changes in the fluorescence lifetime of the probe because of the changes in the total phosphate concentration (Figure 7 and 8). In previous paper we recovered by FCS kinetic rate constant of buffer mediated proton transfer reaction in ground state to different buffers and show that only suitable buffer, like phosphate, makes the reaction fast enough to compete with fluorescence emission, so we could assign these changes in lifetime to phosphate ESPT among other cell species. Although $\Delta\tau$ shows a large error bar, this is intrinsic to cell to cell variation. Nevertheless, in previous articles we have shown the excellent feasibility and specificity of this method for following variations of phosphate concentration in living cells between 10 mM to 600 mM.^{2,7,32}

³² J. M. Paredes, A. Orte, L. Crovetto, J. M. Alvarez-Pez, M. J. Ruedas-Rama, E. M. Talavera, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2010**, *12*, 323-327.

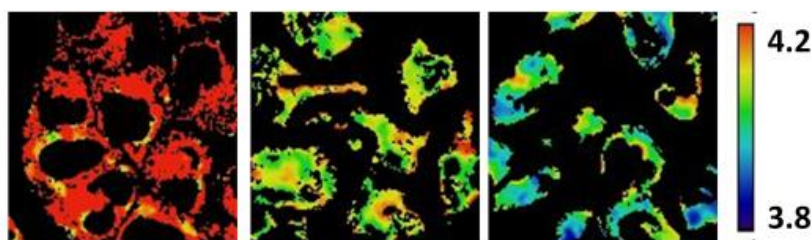


Figure 7. FLIM images of cells incubated with α -toxin and with DNBS-GG (1×10^{-7} M) at pH=7.35 with phosphate concentrations of 0, 100 and 200 mM, applying an arbitrary color scale. FLIM images were collected after 30 minutes to allow the reaction of DNBS-GG with the intrinsic thiols. Scale bar represents 10 μ m.

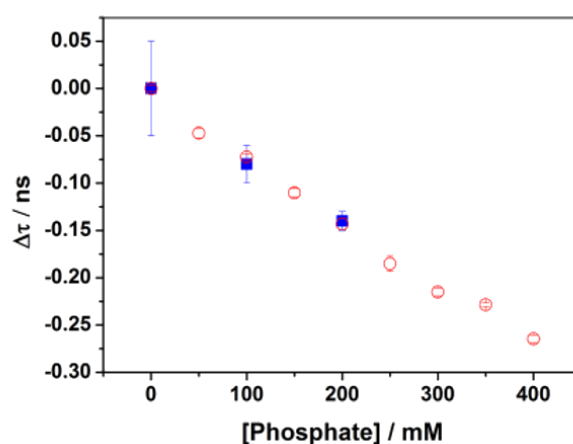


Figure 8. Recovered lifetime of DNBS-GG in α -toxin-treated cells in the presence of different phosphate concentrations. Error bars represent standard deviations from the measurements of at least five different images containing multiple cells.

We show that this dye is capable of detecting thiols and phosphate at a time. The combined sensing of inorganic phosphate and glutathione has a clear biological relevance. In bone tissue, regulation of bone synthesis and degradation is modulated by oxidative stress. The molecular bases of these interactions have been proposed and the role of specific genes that promote oxidative stress in the development of osteoporosis has been described (for example NOX4 gene promotes oxidative stress and osteoporosis³³ while FoxO1 gene expression exerts a protective effect³⁴). In addition, sensing of phosphate based energy-rich compounds and oxidative stress is relevant in biology in pathological processes that include alteration of the energetic metabolism combined with an increase

³³ C. Goettsch, A. Babelova, O. Trummer, R. G. Erben, M. Rauner, S. Rammelt, N. Weissmann, V. Weinberger, S. Benkhoff, M. Kampschulte, B. Obermayer-Pietsch, L. C. Hofbauer, R. P. Brandes, K. Schröder, *J. Clin. Invest.* **2013**, *123*, 4731-4738.

³⁴ M.-T. Rached, A. Kode, L. Xu, Y. Yoshikawa, J.-H. Paik, R. A. DePinho, S. Kousteni, *Cell Metab.* **2010**, *11*, 147-160.

in oxidative stress. Examples of these situations are cancer,³⁵ obesity, diabetes¹¹ and hypoxia.³⁶ Studies to use our dye in some of these biological diseases and sensibility against phosphate compounds are in progress.

Finally, we have designed and synthesized a new sulfinyl xanthene derivative that can act as a simultaneous dual sensor of different analytes, such as biological biothiols and phosphate anion. Its mechanism of action implies thiolysis of the sulfinyl group of the weakly fluorescent **DNBS-GG** by biological biothiols, releasing a fluorescent **GG** moiety that simultaneously responds to phosphate anions through its fluorescence decay time. The efficiency of this new dye as a dual sensor was probed in *in vitro* experiments at two significant pH values: pH = 9, where the probe is faster and more sensitive to biothiols, and pH = 7.35, required for biological applications. In both cases, we could detect the presence of cysteine, homocysteine or glutathione and determine phosphate concentration at a time. Note that this probe is suitable for thiol detection in cases of cellular stress due to its low response to ROS. Moreover, this new dye was tested intracellularly by FLIM in HeLa cells, showing permeability through the cell membrane. Again, the increase in the fluorescence intensity confirms its ability to detect thiols, and the changes in the fluorescence lifetime enable its behavior as a phosphate concentration sensor.

³⁵ J. A. Hess, M. K. Khasawneh, *BBA Clin.* **2015**, *3*, 152-161.

³⁶ A. Almeida, M. Delgado-Esteban, J. P. Bolaños, J. M. Medina, *J. Neurochem.* **2002**, *81*, 207-217.

CHAPTER II

RESULTS AND DISCUSSION

PART II:

Efficient acetate sensor in biological media based on a selective Excited State Proton Transfer (ESPT) reaction

Acetate, the ionized form of acetic acid, is a critical metabolite in fatty acids and carbohydrate metabolism.³⁷ The importance of acetate in the metabolism goes further than a physiological process as it is directly and/or indirectly involved in cancer metabolism,^{38,39} and consequently several acetate role studies about different cancer types can be found in literature.^{40,41} In particular, it is relevant in the colorectal tumor, one of the most prevalent cancers in the world nowadays. One of the roles acetate has in cancer is that it participates in cancer cells apoptosis⁴² and its detection and study could help to achieve a better understanding of cell death mechanism and could also help to discover new tools for colorectal cancer prevention.^{37,43}

Due to its biological and physiopathological importance, the availability of new probes to detect acetate in situ in biological samples is essential for metabolism research in which acetate is involved. A very successful approach in this field has been the interaction between the probe and the acetate anion by complementary hydrogen bonding.⁴⁴ Nevertheless, such kind of interactions can also occur with other anions such as phosphate, iodine, bromide or fluoride.⁴⁵ Moreover the nature of this interaction precludes, in general, the use of pure water as solvent owing to the undesirable competition of water with the hydrogen-bond based interaction.^{46,47} To the best of our knowledge there are only two strategies in literature in which water is exclusively used as solvent. First implies chemical derivatization of acetate in basic media followed by gas

³⁷ Z. T. Schug, B. Peck, D. T. Jones, Q. Zhang, S. Grosskurth, I. S. Alam, L. M. Goodwin, E. Smethurst, S. Mason, K. Blyth, L. McGarry, D. James, E. Shanks, G. Kalna, R. E. Saunders, M. Jiang, M. Howell, F. Lassailly, M. Z. Thin, B. Spencer-Dene, G. Stamp, N. J. F. van den Broek, G. Mackay, V. Bulusu, J. J. Kamphorst, S. Tardito, D. Strachan, A. L. Harris, E. O. Aboagye, S. E. Critchlow, M. J.O. Wakelam, A. Schulze, E. Gottlieb, *Cancer Cell* **2015**, *27*, 57-71.

³⁸ S. A. Comerford, Z. Huang, X. Du, Y. Wang, L. Cai, A. Witkiewicz, H. Walters, M. N. Tantawy, A. Fu, H. C. Manning, J. D. Horton, R. E. Hammer, S. L. McKnight, B. P. Tu, *Cell* **2014**, *159*, 1591-1602.

³⁹ M. Yoshimoto, A. Waki, Y. Yonekura, N. Sadato, T. Murata, N. Omata, N. Takahashi, M. J. Welch, Y. Fujibayashi, *Nucl. Med. Biol.* **2001**, *28*, 117-122.

⁴⁰ A. J. Lakhter, J. Hamilton, R. L. Konger, N. Brustovetsky, H. E. Broxmeyer, S. R. Naidu, *J. Biol. Chem.* **2016**, *291*, 21869-21879.

⁴¹ T. Mashimo, K. Pichumani, V. Vemireddy, K. J. Hatanpaa, D. K. Singh, S. Sirasanagandla, S. Nannepaga, S. G. Piccirillo, Z. Kovacs, C. Foong, Z. Huang, S. Barnett, B. E. Mickey, R. J. DeBerardinis, B. P. Tu, E. A. Maher, R. M. Bachoo, *Cell* **2014**, *159*, 1603-1614.

⁴² C. Marques, C. S. F. Oliveira, S. Alves, S. R. Chaves, O. P. Coutinho, M. Côte-Real, A. Preto, *Cell Death Dis.* **2013**, *4*, 1603-1614.

⁴³ C. A. Lyssiotis, L. C. Cantley, *Cell* **2014**, *159*, 1492-1494.

⁴⁴ C. Suksai, T. Tuntulani, *Chem. Soc. Rev.* **2003**, *32*, 192-202.

⁴⁵ A. K. Mahapatra, G. Hazra, J. Roy, P. Sahoo, *J. Lumin.* **2011**, *131*, 1255-1259.

⁴⁶ W. Huang, H. Lin, H. Lin, *Sensor. Actuat. B-Chem.* **2011**, *153*, 404-408.

⁴⁷ Y. Jiang, L.-L. Sun, G.-Z. Ren, X. Niu, Z.-Q. Hu, *Talanta* **2016**, *146*, 732-736.

chromatography analysis.⁴⁸ The second one is the use of commercially available kits. These can be based on kinetic processes or the use of enzymes. Nevertheless, they present some drawbacks related with the necessity of clear samples, interferences with either compounds (i.e. -SH containing reagents) or other enzymes present in the samples. Moreover, in all the cases the total acetate anion is determined by derivatization of the compound, which prevents from measuring changes in acetate concentration during the analysis in dynamic samples. In this sense it would be interesting to base the analysis in a parameter which is not affected by turbidity and/or the sample composition and that allows a dynamic detection in real time. Therefore, the challenge in this field is to retain the acetate sensitivity and selectivity in water in a dynamic way. To this end a very different approach is required.

A common feature of all the anions is the acid-base characteristics in water, which in principle can be used to discriminate between them. Within this context, it is known that Excited State Proton Transfer (ESPT) reactions⁷ promote changes in fluorescent molecules, which can be detected and related with the presence of the corresponding proton donor/acceptor. ESPT reaction is faster than fluorescence emission and depends on the proton donor/acceptor concentration. Therefore, fluorescence decay lifetime (τ) can be used to monitor the analyte concentration.⁴⁹ This fluorescent parameter (τ) presents several advantages over fluorescence intensity such as independence on the dye concentration or easily differentiation of autofluorescence interferences.⁵⁰ Moreover, this approach is fully compatible with water and the selectivity of the transfer process is based on the similarities in pK_a between the dye and the analyte (proton donor/acceptor), which precludes any interference of anions with different acid-base characteristics.⁵¹ The approach is only limited by the existence of the suitable dye with the required pK_a .

Xanthene-based dyes seem to be ideal for this purpose owing to the remarkable photophysical properties they present and the possibility of a fine-tuning of the pK_a . In particular, Tokyo³^{Error! Marcador no definido.}^{4,7,49} and Granada Green derivatives² had previously shown remarkable “on/off” properties and possibility of ESPT, but they present an

⁴⁸ S. Tumanov, V. Bulusu, E. Gottlieb, J. J. Kamphorst, *Cancer Metab.* **2016**, *4*.

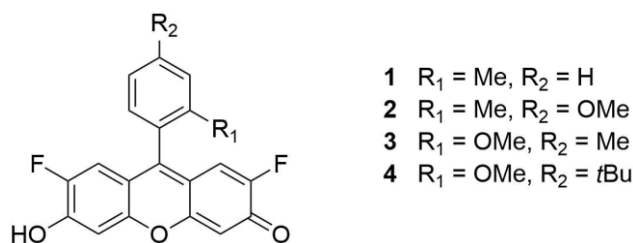
⁴⁹ J. M. Paredes, L. Crovetto, R. Ríos, A. Orte, J. M. Álvarez-Pez, E. M. Talavera, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2009**, *11*, 5400-5407.

⁵⁰ J. R. Lakowicz, “*Principles of Fluorescence Spectroscopy*” 3rd ed. Springer, **2006**.

⁵¹ S. Resa, A. Orte, D. Miguel, J. M. Paredes, V. Puente-Muñoz, R. Salto, M. D. Girón, M. J. Ruedas-Rama, J. M. Cuerva, J. M. Álvarez-Pez, L. Crovetto, *Chem. Eur. J.* **2015**, *21*, 14772-14779.

unsuitable pK_a value of 6-7. Fluorinated Oregon Green xanthenes⁵² present a lower pK_a , achieving the optimal situation in which the buffer and the dye have a similar pK_a . Nevertheless, the presence of a carboxylic acid in the structure results in complex acid-base equilibria and consequently complex analysis. Pennsylvania Green compounds⁴¹ are a smart combination of the Tokyo and Oregon Green dyes resulting in an interesting combination of photophysical and acid-base characteristics. However, the simplest one (**1**, Scheme 1) presents an undesirable fluorescence in both neutral and anionic structures, which precludes its use as an “on/off” probe.

In this work, we have synthesized new Pennsylvania-Based dyes **2-4**, being one of them (**2**) able to quantitatively detect acetate concentration in water. Compound **2** was studied deeply in order to obtain the rate constants involved in the ESPT reaction promoted by acetate, and to verify its use as an acetate probe in synthetic serum.



Scheme 1. Molecular structure of the synthesized compounds.

The careful selection of the pK_a of the fluorescent probe is crucial for the acetate anion sensing. For this reason, we decided to use 2,7-difluorinated xanthene as fluorescent core owing to the inductive effect of fluorine atoms and the consequent increase in the acidity of xanthenes derivatives. We have recently reported that the pK_a of a functionalized xanthene can be also fine tuned with a judicious selection of the substitution at C-9.²¹ It is also known that the “on/off” characteristics can be modulated by the substituents in the C-9 position.³ After some synthetic effort we found that Pennsylvania-type xanthene **2** presented the best photophysical and acid-base characteristics for our objective. Based on our previously described methodology⁵¹ we synthesized compounds **1-4** in good yields as it is described in the Experimental Part II.^{3,6}

⁵² A. Orte, R. Bermejo, E. M. Talavera, L. Crovetto, J. M. Álvarez-Pez, *J. Phys. Chem. A* **2005**, *109*, 2840-2846.

Absorption measurements for compound **2** in water strongly depend on the pH (Figure 1). Spectra showed a maximum at 492 nm at higher pH values measured (corresponding to the anion form) and two maxima (450/478 nm) at lower pH values (corresponding to the neutral form). The isobestic point suggests a chemical equilibrium between two species; i.e. the neutral and anion forms as chemical structures suggest. From those spectra the pK_a and the molar absorption coefficients $\epsilon_l(\lambda_{abs})$ could be extracted using non-linear global fitting of absorbance surface *vs* pH and λ_{abs} ⁵³ (see Experimental Part II). Experimental pK_a corresponds to 4.04 ± 0.02 , around three units lower than the non-fluoride compounds^{2,54} and reasonably close to the acetate pK_a value (4.76). Figures 1b and 1c show plots of individual absorbance at different pH values and the recovered values of molar absorption coefficients of both neutral (ϵ_N) and anionic form (ϵ_A) in the absence of acetate buffer.

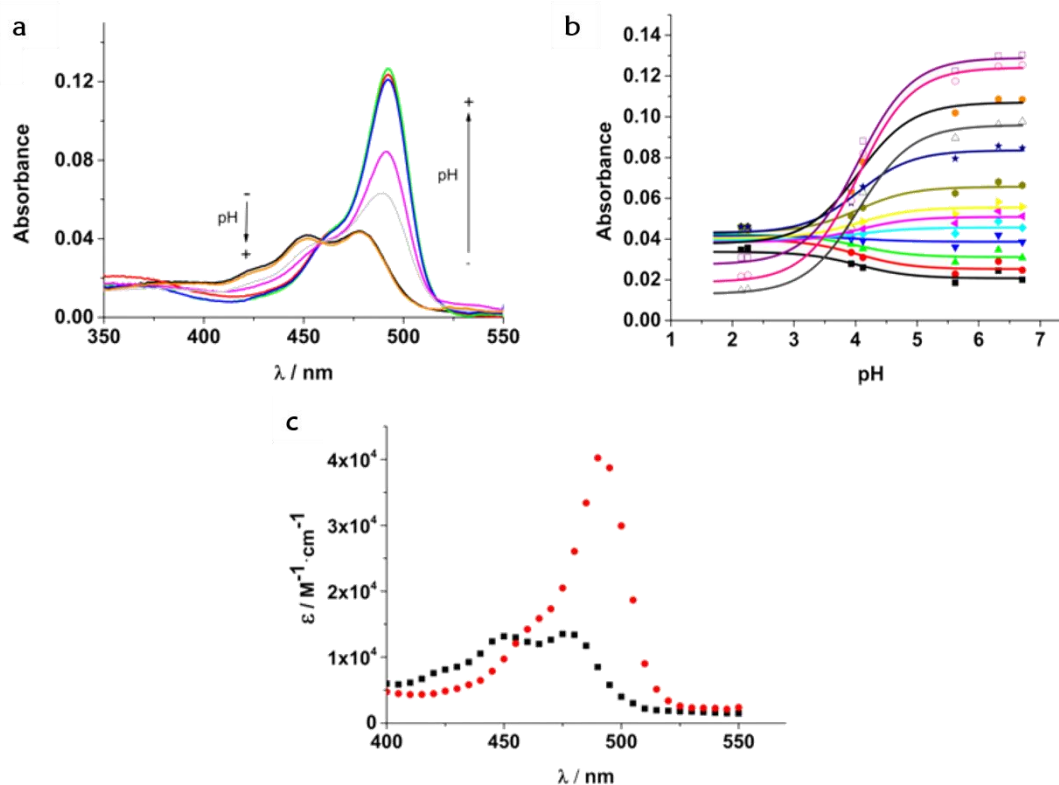


Figure 1. (a) Absorption spectra of compound **2** (3.2×10^{-6} M) at different pH values (from 2.14 to 6.71). (b) Curves generated by fitting the individual $A(\lambda_{abs})$ versus pH data. (c) Recovered molar absorption coefficients versus wavelength for the neutral (black) and anionic (red) form of compound **2**.

⁵³ J. Yguerabide, E. Talavera, J. M. Álvarez, B. Quintero, *Photochem. Photobiol.* **1994**, *60*, 435-441.

⁵⁴ L. Crovetto, J. M. Paredes, R. Ríos, E. M. Talavera, J. M. Álvarez-Pez, *J. Phys. Chem. A* **2007**, *111*, 13311-13320.

As can be observed, the shape of the absorption coefficients is similar to the previous dyes as shown in bibliography.²⁻⁴ For the anion, it is shown a maximum at 492 nm and a shoulder at around 460 nm. The neutral absorption coefficient shows two maxima at 450 and 480 nm. However, it is almost three times lower than the anion maximum.

A steady-state fluorescence study resulted in the emission spectra profiles corresponding to the two prototropic species involved in the chemical equilibrium. The anionic species have an emission maximum at 515 nm and the neutral emission maxima are centered at 510 nm (see Figure S4 in Experimental Part II). Moreover, the quantum yields (Φ) of every species were calculated: 0.65 for the anionic one and a very low value of 0.02 for the neutral one, which is an ideal photophysical characteristic for our purpose.

We recovered the pK_a in the excited state (pK_a^*) by steady-state fluorescence using high acetate concentration so that buffer mediated ESPT reaction would occur during the excited lifetime. The resulting pK_a^* (4.42 ± 0.07) was similar to the pK_a in the ground state (Figure S5 in Experimental Part II). Figure 2 shows the emission spectra of compound **2** at different pH values. It is remarkable the very low intensity values at lower pH with a decrease of about 160 times in the fluorescence signal, evidencing the “on/off” character of the dye.

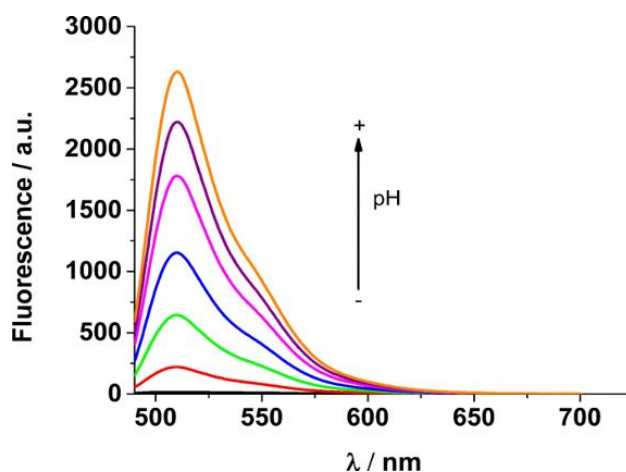


Figure 2. Fluorescence emission spectra of compound **2** (6×10^{-6} M) in acetate (400 mM) solution at different pH values (from 1.37 to 7.79).

Finally, using time-resolved fluorescence, we recovered the decay times. In concordance with steady-state emission, anion species decay time (3.30 ns) is higher than neutral one, becoming almost insignificant (0.02 ns).

Some xanthene derivatives can undergo an ESPT reaction when an appropriate proton donor/acceptor, as acetate, is present. These reactions can modify the steady-state or time-resolved fluorescence signal. Important experimental information of the ESPT reaction mechanism is accessible through time-resolved fluorescence measurements, by which the kinetic behavior of the system in the excited state can be obtained. Figure 3a shows the scheme involved in the ESPT reaction and fluorescence emission for the two species of compound **2** present at the pH range studied, considering a causal, linear, time-invariant, intermolecular system. The theory of buffer-mediated ESPT reactions has been well established (See Experimental Part II).⁵⁵

Firstly, we measured compound **2** in absence of acetate buffer. We realized a global analysis of 40 curves corresponding to $C^B = 0$ mM, at pH range from 4.28 to 6.65, at $\lambda_{ex} = 485$ and 440 nm and $\lambda_{em} = 510, 520, 530, 540$ and 550 nm, providing pH independent reliable decay time estimations: $\tau_1 = 0.021 \pm 0.003$ ns and $\tau_2 = 3.300 \pm 0.002$ ns ($\chi^2 = 1.176$). This behavior confirms that in the absence of acetate ions the buffer-mediated ESPT reaction does not occur. When the pH was much higher than the pK_a value, only the anion species is present. In this condition, fluorescence decay was given by a monoexponential function with the decay time $\tau_2 = 3.300 \pm 0.002$ ns. At high pH values the proton concentration is very low, and hence the reprotonation reaction in the excited state is very slow and does not compete with the radiative constant. Therefore, this decay time unequivocally defines a value for $k_{02} = 1/\tau_2$. Decreasing the pH, the neutral species were also presented, being the main form at pH values lower than the pK_a . However, the anionic form is preferentially excited at $\lambda_{ex} = 485$ nm, due to its large molar absorption coefficient. Moreover, the higher quantum yield of anionic species, as well as the low fluorescence quantum yield of the neutral form (“on/off”), makes the fluorescence of this latter one difficult to detect. Although such shorter decay time appears at lower values of pH (pH below 3.8) results in a very small α_1 contribution in the full decay time. By using $\lambda_{ex} = 440$ nm, the neutral form was preferentially excited, and the short decay time ($\tau_1 = 0.021 \pm 0.003$ ns) is detectable even at higher pH values (pH higher than 4.50); but keeping in any case a small α_1 contribution. In contrast, the τ_1 decay time may not be specifically assigned to the neutral, k_{01} , radiative constant because this decay time also

⁵⁵ L. Crovetto, A. Orte, E. M. Talavera, J. M. Álvarez-Pez, M. Cotlet, J. Thielemans, F. C. De Schryver, N. Boens, *J. Phys. Chem. B* **2004**, *108*, 6082-6092.

contains the excited-state dissociation rate constant k_{21} . From the global analyses of decay traces collected in the absence of acetate buffer, we estimated a value for $k_{02} = (3.02 \pm 0.01) \times 10^8 \text{ s}^{-1}$ and for the sum of rate constants $(k_{01} + k_{21}) = (5.25 \pm 0.71) \times 10^{10} \text{ s}^{-1}$.

In order to fully describe the ESPT reaction mediated by acetate buffer the following fluorescence decay surface was collected: pH range from 3.11 to 8.05, and different C^B (0, 21, 85, 170, 200, 340 and 400 mM) as a function of λ_{em} (510, 520, 530, 540 and 550 nm), with λ_{ex} of 485 and 440 nm.

The complete decay surface was analyzed by using the global analysis (GA) approach, which allows the direct determination of the underlying rate constants k_{ij} .^{55,56} Recovered decay times were fit to equation S7-12 (in Experimental Part II) in order to obtain the kinetic constants of the proton transfer reaction in the excited state (Figure 3b).

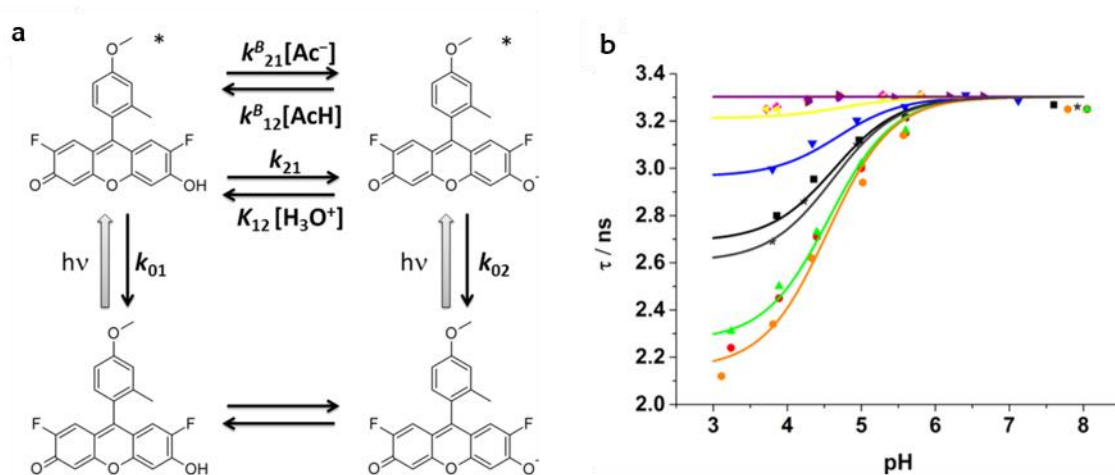


Figure 3. (a) Kinetic model of ground- and excited-state proton-transfer reactions of compound **2** in presence of acetate buffer. (b) Global fitting (solid lines) of the theoretical equations (eqs S7–S12 in Experimental Part II) to the decay times at different acetate buffer concentrations (0, 21, 85, 170, 200, 340 and 400 mM) and pH values (3.17–8.05).

The good fitting obtained provided estimations, compiled in Table 1, for all the rate constants in Figure 3a. The rate constant values clearly show the much faster deactivation of the neutral form, around two orders of magnitude more rapid than the anion deactivation, which causes the fluorescence being dominated by the anion emission. This correspondence of the simulated curves with the decay times obtained and the sensitivity

⁵⁶ N. Boens, N. Basaric, E. Novikov, L. Crovetto, A. Orte, E. M. Talavera, J. M. Álvarez-Pez, *J. Phys. Chem. A* **2004**, *108*, 8180–8189.

toward the acetate concentration establishes **2** as an appropriate dye for screening the concentration of acetate at pH around 4.

Table 1. Recovered ESPT rate constant values from the Global Analysis of the Fluorescence decays of Figure 3b.

Rate Constant	Value
$(k_{01}+k_{21}) / s^{-1}$	$5.25 (\pm 0.71) \times 10^{10}$
k_{02} / s^{-1}	$3.02 (\pm 0.01) \times 10^8$
$k_{12}^B / M^{-1} s^{-1}$	$4.07 (\pm 0.12) \times 10^8$
$k_{21}^B / M^{-1} s^{-1}$	$1.99 (\pm 0.34) \times 10^{11}$

In order to study the specific response of the dye to acetate in biological samples, we also investigated the potential interference by the presence of other anions presented in serum (pyruvate, glucose, phosphate, bicarbonate and fluoride). No changes in the fluorescence of the dye were found in the presence of these anions except from fluoride, where was observed a slight effect, but without significance in biological samples (see in Experimental Part II).

To take advantage of these results, we checked the capability of the dye to determine acetate in biological samples through Fluorescence Lifetime Imaging Microscopy (FLIM) using synthetic serum. As monoexponential behavior in decay traces is a useful property for a fluorescence-lifetime based sensor dye, we selected a pH value in which **2** had monoexponential decay in the presence of acetate in order to obtain higher sensitivity. To mimic the liquid biopsies, we used commercial solution of Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM) (Sigma-Aldrich D6546) containing inorganic salts, aminoacids, vitamins, high glucose, and other components at different acetate concentration ranging from 15 mM to 120 mM at pH 4.00. To recover the FLIM images, a biexponential function model was used to analyze the decay in each pixel. Shorter decay time was fixed at 1.5 ns that include the background signal of the medium autofluorescence, as well as the possible dye-matrix interactions. The longer decay time was freely fitted being tuned by the acetate concentration. Figure 4a shows the FLIM images representing the dependent decay times recovered at different acetate concentration. By using an arbitrary color scale the difference in the decay times can be appreciated by change in the colors. Figure 4b shows the respective histograms recovered from Figure 4a.

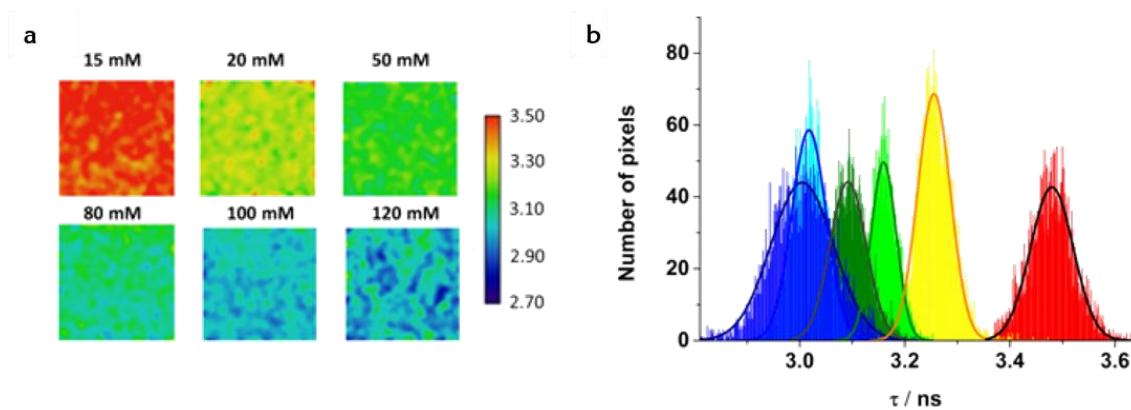


Figure 4. (a) FLIM images from compound **2** in DMEM medium with different acetate concentration at pH = 4.00. (b) Histograms of lifetimes recovered from Figure 4a.

The average lifetimes of FLIM were also recovered and are shown in Figure 5, joint with the lifetimes predicted by the kinetic constants at pH 4.00. Even using samples with a complex matrix, the similarity between the lifetime predicted and the experimental is staggering.

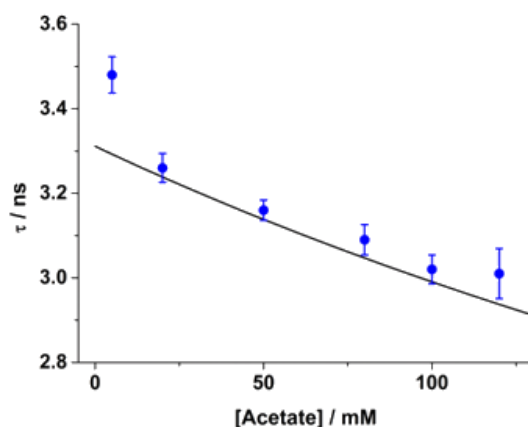


Figure 5. Decay time (dot) of the dye in DMEM medium at pH 4.00 obtained from FLIM images and recovered lifetime (line) from the kinetic constants. Scale bars represent the standard deviation.

In summary, a new fluorescent compound **2** has been synthesized, allowing acetate determination in biological samples using fluorescence decay time sensors.

We recovered the kinetic constants of the species involved in the chemical equilibrium presented in the pH range of interest. Finally, to inspect its future application as acetate sensor in liquid biopsies, we checked the ability of this new dye to detect acetate concentration changes using synthetic serum by FLIM. The results were very similar to the decay times predicted by the kinetic constants. Furthermore, it is remarkable that, under

the conditions of the experiments performed in this work, the dye achieved the millimolar order sensitivity.

CHAPTER II

RESULTS AND DISCUSSION

PART III:

*Design, synthesis and
photophysical studies of
improved xanthene dye to
detect acetate*

The development of new tools to diagnose and treat current illnesses is nowadays based on the knowledge of how processes occur at cellular level. In this context, the use of fluorescent molecules to detect and quantify key analytes inside cells is one of the more dominant approaches. These compounds are then useful tools in sensing a wide variety of analytes,⁵⁷ as enzymatic activity markers⁵⁸ and have also been used in superresolution techniques.⁵⁹ Among the huge amount of fluorescent compounds employed in fluorescence microscopy techniques, xanthene derivatives have been extensively used due to their high absorption and excellent fluorescent properties.⁶⁰ In a recent paper we investigated the photophysics of new fluorinated fluorescein derivatives,⁶¹ based on an structural combination of the so-called Tokyo³ and Pennsylvania Green family.⁴ Remarkably, these xanthenes showed both the characteristic ESPT reaction promoted by the presence of appropriate buffer and the “on/off” fluorescent character.

On the other hand, alcoholism is one of the most important economical, social and medical problems in the world. One of the biomarkers commonly used for the detection of excessive alcohol consumption and alcoholism is the concentration of acetate anion. Acetate is formed due a second oxidative step from acetaldehyde. When ethanol is oxidized, the levels of acetate are fastly increased so the presence of this alcohol in the blood can be detected by the maintenance of this high level constant.^{62,63}

The fluorescence kinetics and the deterministic and the numerical identifiability of the model of the intermolecular ESPT reaction in presence of adequate proton donor/acceptor have been previously studied.^{56,64} This model establishes the need of using dyes with pK_a values comparable to pK_a of the proton donor/acceptor of interest to have a maximal effect on the lifetime and obviously on the rate constant. That is, the effect is magnified when there is an exact concordance between both pK_a s. Therefore, fine tuning

⁵⁷ J. L. Kolanowski, F. Liu, E. J. New, *Chem. Soc. Rev.* **2018**, *47*, 195-208.

⁵⁸ H. Xie, J. Mire, Y. Kong, M. Chang, H. A. Hassounah, C. N. Thornton, J. C. Sacchetti, J. D. Cirillo, J. Rao, *Nat. Chem.* **2012**, *4*, 802-809.

⁵⁹ Z. Yang, A. Sharma, J. Qi, X. Peng, D. Y. Lee, R. Hu, D. Lin, J. Qu, J. S. Kim, *Chem. Soc. Rev.* **2016**, *45*, 4651-4667.

⁶⁰ L. M. Wysocki, J. B. Grimm, A. N. Tkachuk, T. A. Brown, E. Betzig, L. D. Lavis, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 11206-11209.

⁶¹ V. Puente-Muñoz, J. M. Paredes, S. Resa, A. M. Ortuño, E. M. Talavera, D. Miguel, J. M. Cuerva, L. Crovetto, *Sens. Actuators B Chem.* **2017**, *250*, 623-628.

⁶² U.-M. Korri, H. Nuutinen, M. Salaspuro, *Alcohol. Clin. Exp. Res.* **1985**, *9*, 468-471.

⁶³ R. P. Roine, U.-M. Korri, R. Ylikahri, A. Penttilä, J. Pikkariainen, M. Salaspuro, *Alcohol Alcohol.* **1988**, *23*, 123-126.

⁶⁴ W. Qin, N. Basarić, N. Boens, *J. Phys. Chem. A* **2005**, *109*, 4221-4230.

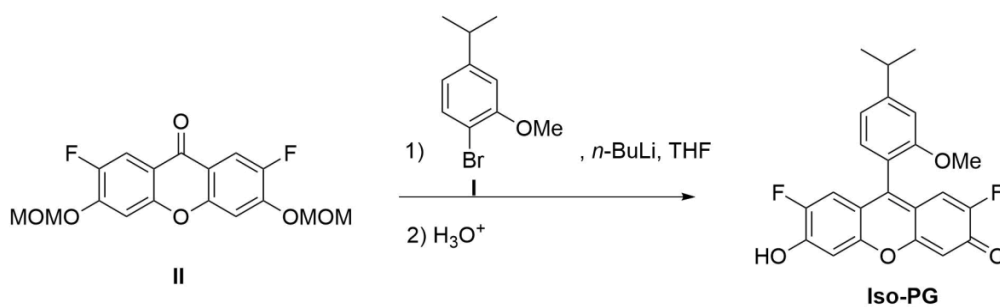
of the fluorophore is required to obtain the best response and selectivity. Based on it, we have synthesized a new Pennsylvania-based dye presenting an isopropyl group as substituent (**Iso-PG**) in order to obtain a pK_a closer to acetate buffer and thus improve ESPT reaction.

This change could make the new dye useful not only in the determination of acetate in human pathologies where its metabolism is involved, as tumors or alcoholism^{38,41,43} but also in microbiology where is important in prokaryotic metabolism depending on the bacteria density⁶⁵ or in fast growing microbial culture.⁶⁶ The effect of substituent in the pK_a values of xanthenes has been previously shown.²

In this part, the ground-state equilibrium between the neutral and anionic forms of the dye were explored first. Next, the acetate buffer-mediated ESPT reactions and the relevant kinetic model and dynamics were studied in detail by means of steady-state and time-resolved fluorescence measurements and compared with the previously dyes. Finally, the applicability of the dye for quantification acetate concentration in artificial blood plasma solution by FLIM was also analyzed.

1. Synthesis

Iso-PG was prepared based on a synthetic strategy previously described by our group.^{51,61} Thus, organolithium derivative of 1-bromo-4-isopropyl-2-methoxybenzene^{21Error!} Marcador no definido. was added to previously described MOM-protected ketone,⁶¹ affording after acidic hydrolysis **Iso-PG** in good yield.



Scheme 1. Synthesis of **Iso-PG**.

⁶⁵ L. Han, S. O. Enfors, L. Haggstrom, *Biotechnol. Lett.* **2002**, *24*, 483-488.

⁶⁶ A. S. Ciggin, M. Majone, D. Orhon, *Bioresour. Technol.* **2012**, *119*, 331-338.

2. Photophysics Studies

2.1 Absorption measurements and ground-state equilibria

The visible absorption spectra of aqueous solutions of **Iso-PG** as a function of pH in the range between 3.48 and 9.73 were recorded. pH variation changes in absorbance were clearly observed. Figure 1 shows a change in absorption spectra of solutions at different pH values due to ground-state proton reactions, that it is known that occurs in regions of pH dictated by the ground-state pK_a values. An isosbestic point can be distinguished around 446 nm suggesting the presence of two species in chemical equilibrium at the experimental conditions used. At high pH values absorption spectra showed a maximum at 491 nm that decreased when pH diminished. At acid pH values, absorption spectrum presents two maxima at 477 and 452 nm, both less intense than the one observed at basic pH.

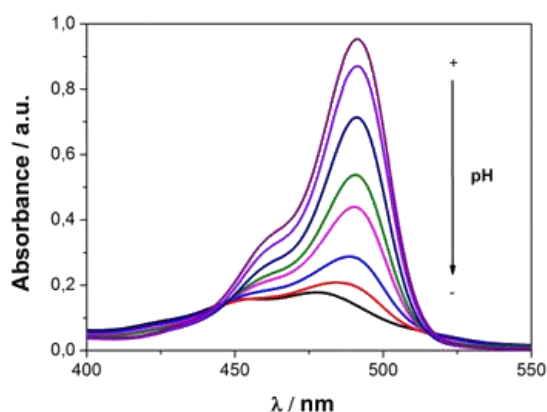


Figure 1. Absorption spectra of **Iso-PG** (4×10^{-5} M) at different pH values (3.48, 4.04, 4.35, 4.66, 4.92, 5.37, 6.28 and 9.73).

Chemical structure of the dye, absorption spectra and previous studies of analogous structures^{61,67} suggest that in this pH range **Iso-PG** presents two absorbing prototropic forms corresponding to neutral (N) and anionic (A) structures.

If a neutral/anion system follows Beer's law, at any wavelength (λ_{abs}) and pH, the absorbance (A) is given by the expression

⁶⁷ A. Orte, L. Crovetto, E. M. Talavera, N. Boens, J. M. Álvarez-Pez, *J. Phys. Chem. A* **2005**, *109*, 734-747.

$$A(\text{pH}, \lambda_{\text{abs}}) = C \left(\sum_i \alpha_i(\text{pH}, \text{p}K_{N-A}) \varepsilon_i(\lambda_{\text{abs}}) \right) d \quad (1)$$

where C is the total concentration of the dye, d is the optical path length, $\varepsilon_i(\lambda_{\text{abs}})$ is the wavelength-dependent molar absorption coefficient of the i th prototropic form of the dye, and $\alpha_i(\text{pH}, \text{p}K_{N-A})$ is the fraction of the dye in the i th prototropic form, which depends on both pH and $\text{p}K_{N-A}$.

$$\alpha_N = \frac{[H^+]}{[H^+] + K_{N-A}} \quad (2)$$

$$\alpha_A = \frac{K_{N-A}}{[H^+] + K_{N-A}} \quad (3)$$

The global fit of the entire absorbance, A , vs. pH vs. λ_{abs} surface to the corresponding acid-base equilibrium equations allows the determination of the molar absorption coefficients $\varepsilon_i(\lambda_{\text{abs}})$ of the two acid-base species and the $\text{p}K_a$. In this global fitting, the apparent $\text{p}K_a^{\text{app}}$ was a linked parameter over the whole surface, while $\varepsilon_i(\lambda_{\text{abs}})$ were locally adjustable parameters at each wavelength for each species. Plots of the individual A/C vs pH curves at different wavelengths and the generated curves from the fitting are shown in Figure 2. Fitted curves allow recover a $\text{p}K_a^{\text{app}}$ value of 4.91 ± 0.04 , very similar to the acetic acid/acetate buffer $\text{p}K_a$ value (4.76).

The global fit also allows the calculation of the molar absorption coefficients for both neutral and anion species. These values are represented in Figure 2b, which shows a consistent isosbestic point at 446 nm.

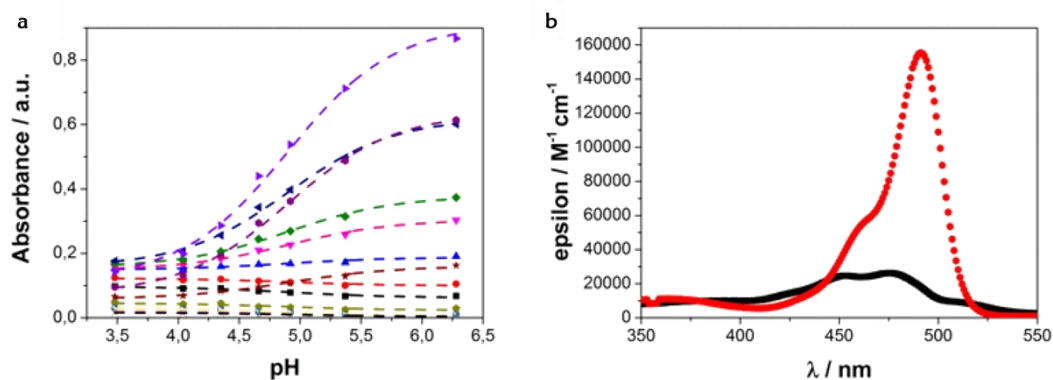


Figure 2. (a) Fitted curves of equation 1 to experimental data from Figure 1. (b) Calculated molar absorption coefficient at different wavelength for the neutral (black squares) and anion (red circles) forms of **Iso-PG**.

2.2 Steady-State studies

The total fluorescence signal $F(\lambda_{\text{ex}}, \lambda_{\text{em}}, [\text{H}^+])$ at a defined proton concentration $[\text{H}^+]$ due to excitation at λ_{ex} and observed at emission wavelength λ_{em} can be expressed as

$$F(\lambda_{\text{ex}}, \lambda_{\text{em}}, [\text{H}^+]) = \frac{F_{\text{min}} [\text{H}^+] + F_{\text{max}} K_a}{K_a + [\text{H}^+]} \quad (4)$$

where F_{min} indicates the fluorescence signal of the neutral form of the dye and F_{max} denotes the fluorescence signal of the anion form of Iso-PG. To obtain these parameters, samples at different pH values were measured (see Figure 3a). As can be appreciated, the signal is enormously reduced with the decrease of the pH value. This interesting “on/off” characteristics could allow the use of this dye as pH probe around the pK_a of the chemical equilibrium between the neutral and anionic species. Fitting equation 4 to the fluorescence data $F(\lambda_{\text{ex}}, \lambda_{\text{em}}, [\text{H}^+])$ as a function of $[\text{H}^+]$ is shown in Figure 3b, yielding values for K_a , F_{min} , and F_{max} . Data recover shown values of $pK_a = 5.038$ was similar to the pK_a in the ground-state obtain from Figure 2a.

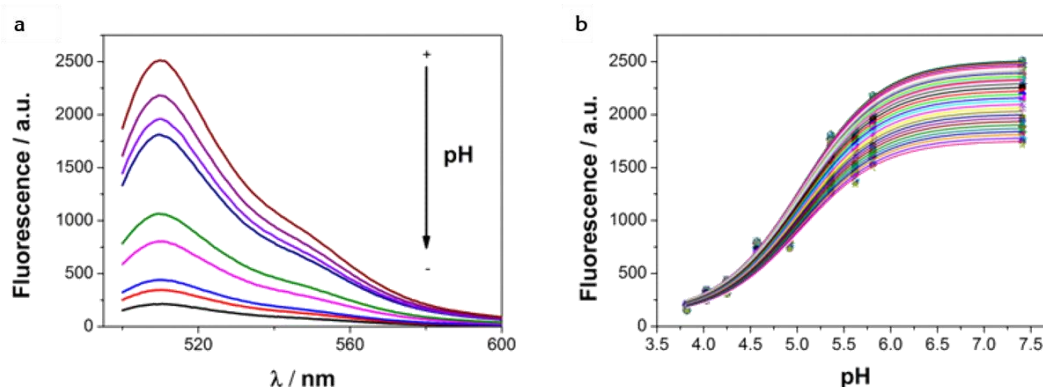


Figure 3. (a) Steady-state emission spectra ($\lambda_{\text{ex}} = 485 \text{ nm}$) of $1 \times 10^{-6} \text{ M}$ Iso-PG aqueous solutions at different pH from 3.40 to 7.45 (b) Plot of the experimental steady-state fluorescence intensity versus pH, from solutions of $1 \times 10^{-6} \text{ M}$ Iso-PG without acetate buffer, and fitted plot from eq. 4 to experimental data (Lines).

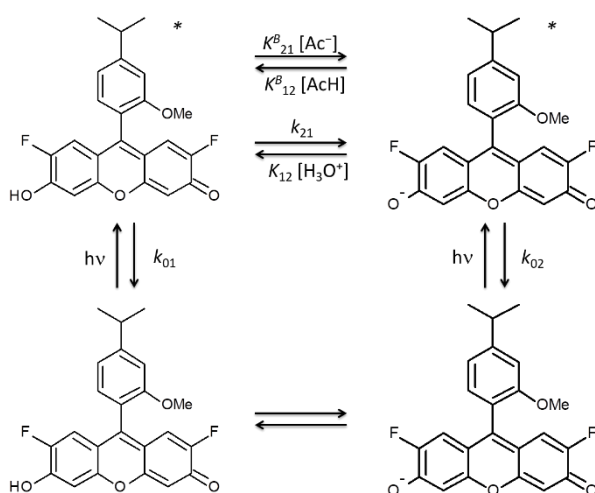
Quantum yield values from steady-state fluorescence measurements were calculated for the anion form using fluorescein in 0.1 M NaOH as a reference ($\Phi_{\text{fluor}} = 0.95$). The quantum yield of the neutral form was obtained by fitting the steady-state fluorescence spectra to the equilibrium equation 5 once the values of ϕ_A were known.

$$F(\lambda_{\text{ex}}, \lambda_{\text{em}}, [\text{H}^+]) = C^{\text{dye}} K_a [\phi_N \varepsilon_N \alpha_N + \phi_A \varepsilon_A \alpha_A] \quad (5)$$

Results showed the “on/off” characteristics of this dye obtaining a quantum yield of 0.677 and 0.014, respectively studied for the anionic and neutral species. It is remarkable the value of the anionic form is 50 times higher than the neutral one, that keeps a value close to zero.

2.3 Exited State Proton transfer reaction studies

The theory and methods of solving buffer-mediated ESPT reactions are well-established.^{2,54,55,68}



Scheme 2. Kinetic model of ground- and excited-state proton-transfer reactions of compound **Iso-PG** in presence of acetate buffer.

If the photophysical system as shown in Scheme 2 is excited by an infinitely short light pulse that does not significantly alter the concentrations of the ground-state species, then the fluorescence δ -response function, $f(\lambda_{em}, \lambda_{ex}, t)$, at emission wavelength λ_{em} due to excitation at λ_{ex} is given by:

$$f(\lambda_{ex}, \lambda_{em}, t) = p_1 e^{\gamma_1 t} + p_2 e^{\gamma_2 t} \quad t \geq 0 \quad (6)$$

in which equation 6 has been written in the common biexponential format, where

$$\gamma_{1,2} = \frac{-(a+c) \mp \sqrt{(c-a)^2 + 4bd}}{2} \quad (7)$$

⁶⁸ J. M. Álvarez-Pez, L. Ballesteros, E. M. Talavera, J. Yguerabide, *J. Phys. Chem. A* **2001**, *105*, 6320-6332.

$$a = k_{01} + k_{21} + k_{21}^B [R] \quad (8)$$

$$b = k_{12} [H^+] + k_{12}^B [RH] \quad (9)$$

$$c = k_{02} + k_{12} [H^+] + k_{12}^B [RH] \quad (10)$$

$$d = k_{21} + k_{21}^B [R] \quad (11)$$

$[R]$ and $[RH]$ are related to the total buffer concentration, $C^B = [R] + [RH]$, by the expressions $[RH] = C^B [H^+] / ([H^+] + K_a^B)$ and $[R] = C^B K_a^B / ([H^+] + K_a^B)$, where K_a^B is the dissociation constant for the reversible reaction $RH \leftrightarrow R + H^+$.

The γ factors are related to the lifetimes τ_1 and τ_2 by the expression

$$\tau_{1,2} = -\frac{1}{\gamma_{1,2}} \quad (12)$$

For a complete characterization of the excited state, we firstly measured the fluorescence lifetime of the dye at different pH values between 3.82 and 7.61 in absence of acetic acid/acetate buffer. The decay curves were registered using two different excitation (440 and 485 nm) and four emission wavelengths (500, 510, 520 and 530 nm). A global analysis was carried out with the complete decay curves and a monoexponential character was found above a pH value of 4.1, resulting a fluorescence lifetime value of 3.290 ± 0.010 ns, corresponding with the anion form. Below pH 4.00 the decays curves were characterized by a biexponential character obtaining the same 3.29 ns fluorescence lifetime and other with a value of 0.020 ± 0.001 ns corresponding with the neutral specie. An example of the decays can be observed in Figure 4a.

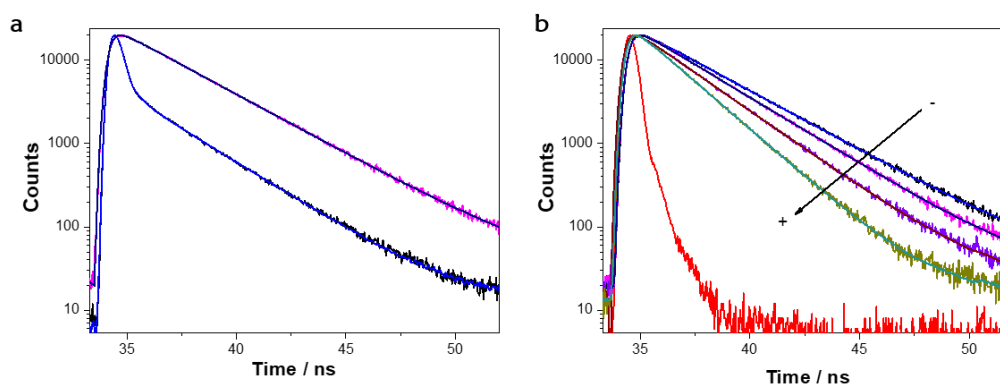


Figure 4. a) Histograms of the numbers of counts ($\lambda_{ex} = 440$ nm, $\lambda_{em} = 510$ nm) of Iso-PG (1×10^{-6} M) at pH 2.5 (biexponential) and 7.5 (monoexponential) in absence of acetate buffer. b) Histograms of the numbers

of counts ($\lambda_{\text{ex}} = 485 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 510 \text{ nm}$) of Iso-PG ($1 \times 10^{-6} \text{ M}$) at different acetate concentration (0.07, 0.175, 0.35 and 0.7 M). The arrow indicates the increase in the acetate concentration.

However, to resolve the acetic acid/acetate-mediated ESPT reaction was necessary to carry out a deepest study using different buffer concentration (0, 0.07, 0.175, 0.35 and 0.7 M), three different emission wavelengths and pH values (Figure 4b). Combining all of these variables a total of 135 decay traces were recorded. Using equations 6-12 we could resolve the system and obtain the rate constants involved in the decay processes and in the buffer mediated ESPT reaction. The results obtained are shown in Table 1.

Table 1. Estimated Rate Constant Values by Compartmental Analysis of the Fluorescence Decay Surface.

Kinetic constant	Value
$k_{01} \text{ (s}^{-1}\text{)}$	$(5.01 \pm 0.72) \times 10^{10}$
$k_{02} \text{ (s}^{-1}\text{)}$	$(3.040 \pm 0.006) \times 10^8$
$k_{12}^B \text{ (M}^{-1}\text{s}^{-1}\text{)}$	$(4.21 \pm 0.09) \times 10^8$
$k_{21}^B \text{ (M}^{-1}\text{s}^{-1}\text{)}$	$(4.13 \pm 0.72) \times 10^{10}$

Recovered values 5.01×10^{10} and 3.040×10^8 from k_{01} and k_{02} respectively give a values of τ using equation $k_{0i} = 1/\tau_i$ of 0.020 ns for the shorter fluorescence lifetime and 3.28 ns for the longer fluorescence lifetime. These values are in excellent agreement with those obtained in the global analysis. Also the values of these rate constants show that deactivation of neutral form is faster, around two order of magnitude than the anion, and it implies that fluorescence signals are dominated by the anion emission. Values from rate constants mediated from presence of acetate (k_{12}^B and k_{21}^B) show that ESPT reaction could be competitive with the radiative rate constants k_{01} and k_{02} , and consequently give changed in lifetime in presence the acetate buffer.^{52,56}

To asseverate the validity of the kinetic constants, we simulated the fluorescence lifetime at different pH values using the same buffer concentration that the one used in the experimental study. Figure 5 shows the experimental data (points) and simulation (curves) using the kinetic constants from Table 1. As can be observed, there is an excellent similarity between the experimental fluorescence lifetimes and the simulations. Therefore, kinetic constants and equations are a useful tool to estimate acetic acid/acetate concentration in samples measuring the fluorescence lifetime at any pH below ~ 6.00 .

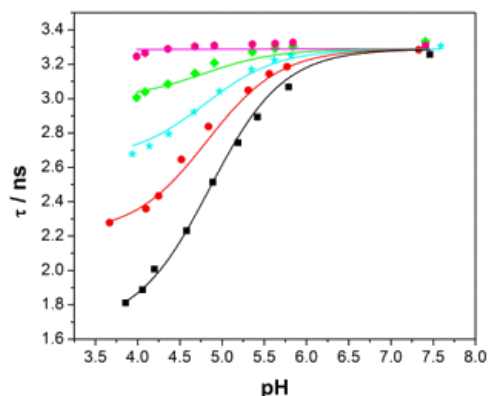


Figure 5. Dependence of the decay times τ on pH at the buffer concentrations of 0 (pink), 0.07 (green) 0.1750 (blue), 0.35 (red) and 0.7 M (black). The decay times (solid lines) have been calculated according to equations 6-12 using the globally estimated rate constant values compiled in Table 1.

More interestingly, when we compared the sensitivity of our dye to acetic acid/acetate buffer with similar dyes, a higher dependence of the fluorescence lifetime with the buffer concentration could be found for **Iso-PG**. In this sense, Figure 6 illustrates the simulations of **Iso-PG** (solid lines) and its immediate precursor, the **2-Me-4-OMe-PG**⁶¹ (dashed lines), showing again a higher decrease of fluorescence lifetime for **Iso-PG**. Thus, both the higher sensitivity and the possibility of achieving an easy quantification of acetate anion makes this dye a better choice in liquid samples.

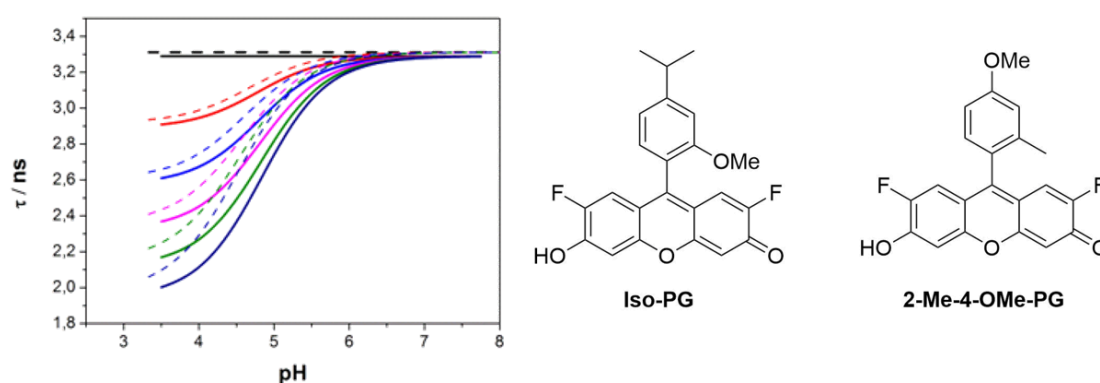


Figure 6. Simulation of fluorescence lifetime from rate constant for **Iso-PG** (solid line) and previous dye (**2-Me-4-OMe-PG**)⁶¹ (dashed line).

3. Competitive studies with other anions

As this dye can be potentially used as acetate probe as biomarker of alcoholism, we checked by time resolved fluorescence the effect of most common anions present in blood medium (KCl and sodium monohydrogen phosphate) at pH 4.2 at usual concentration,

i.e. 4mM and 2mM respectively. Two fluorescence lifetimes of 3.24 ± 0.01 ns (KCl) and 3.28 ± 0.01 ns ($\text{H Na}_2\text{PO}_4$) were obtained. As we have not obtained a change in the fluorescence lifetime in the presence of these salts, we can conclude that at usual concentrations these anions do not cause ESPT reaction. Finally, we performed some experiments in artificial serum using FLIM to asseverate the capacity of this dye to detect changes in acetate concentration. Figure 7a shows the FLIM images obtained using different acetate concentrations (0, 100, 200, 300, 400 and 600 mM). As can be observed, using an arbitrary colour scale representing the lifetime (from 1.5 to 3.2), an intense colour change is appreciated with the incorporation of acetate buffer. In Figure 7b, the increment of lifetime over the acetate concentration is represented.

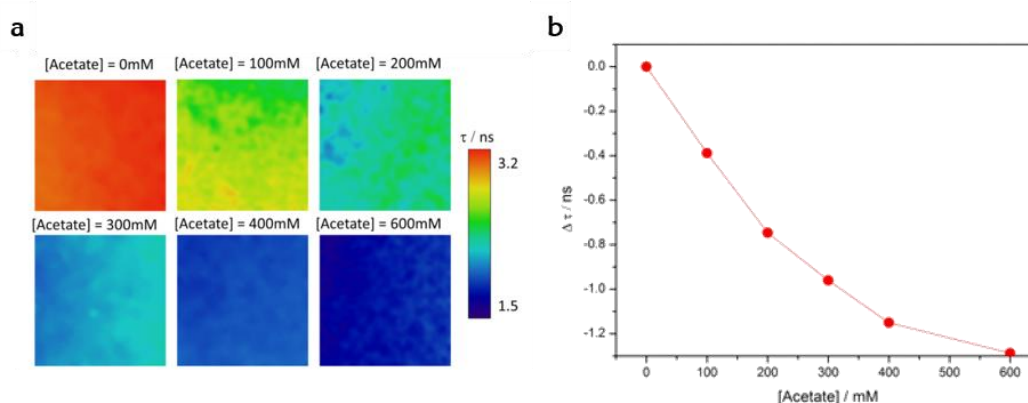


Figure 7. (a) FLIM images obtained in artificial serum using different acetate concentrations (0, 100, 200, 300, 400 and 600 mM). (b) Average lifetime vs acetate concentration.

Finally, we have studied the photophysics of a new fluorescent compound. The most remarkable characteristic is the “on/off” property. The buffer mediated ESPT reaction has been deeply studied and the kinetic constant recovered. Moreover, combining the kinetic constant and the theoretical equations it is possible to determine the acetate concentration in a liquid sample. As a proof of concept, considering that this dye can be potentially used as acetate probe in live samples we have used it to measure its concentration in artificial serum.

CHAPTER II

CONCLUSIONS

Conclusions

- We have designed and synthesized a new sulfinyl xanthene derivative, combining a group sensible to thiols and the known structure of GG (DNBS-GG). This compound worked as an OFF/ON probe able to detect biological thiols and phosphate anion simultaneously in *in vitro* experiments at pH = 9 and pH = 7.35, required for biological applications.
- We have synthesized and studied by photophysical methods new Pennsylvania-based dyes with low pK_a values. New fluorescent probe **2** shown the appropriate features to detect acetate concentration in water in biological samples, verifying its use as acetate biomarker in liquid biopsies,
- We have synthesized a new fluorinated fluorescent probe **Iso-PG** and we have studied its photophysical behaviour. This compound was used to determine acetate concentration in water in biological samples including serum with good results.

CHAPTER II

EXPERIMENTAL SECTION

CHAPTER II

EXPERIMENTAL SECTION

PART I

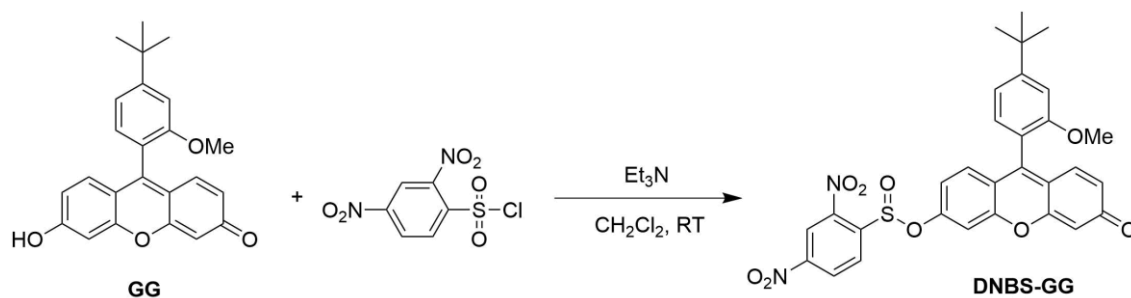
1. General information

All reactions were performed in dry glassware under air atmosphere. All of the commercially available reagents (2,4-dinitrobenzenesulfonyl chloride and 2,4-dinitrobenzenesulfonic acid) and solvents (triethylamine, dichloromethane and methanol) were used without further purification. TLC was performed on aluminium-backed plates coated with silica gel 60 (230-240 mesh) with F_{254} indicator. The spots were visualized with UV light (254 nm) and/or staining with Ce/Mo reagent or phosphomolybdic acid solution and subsequent heating. NMR spectra were measured at room temperature. ^1H NMR spectra were recorded at 500 or 600 MHz. Chemical shifts are reported in ppm using a residual solvent peak as a reference (Acetone- d_6 δ 2.05, CD_3OD δ 3.31). Data are reported as follows: chemical shift, multiplicity (s: singlet, d: doublet, dd: doublet of doublets), coupling constant (J in Hz) and integration. ^{13}C -NMR spectra were recorded at 126 or 151 MHz using broadband proton decoupling, and chemical shifts are reported in ppm using residual solvent peaks as a reference (Acetone- d_6 δ 29.84, CD_3OD δ 49.00). Carbon multiplicities were assigned by DEPT techniques.

High-resolution mass spectra (HRMS) were recorded on a Micromass AutoSpec using electron impact (EI) at 70 eV or fast atom bombardment (FAB).

2. Synthesis and characterization data of the DNBS-GG and compound I, II, III

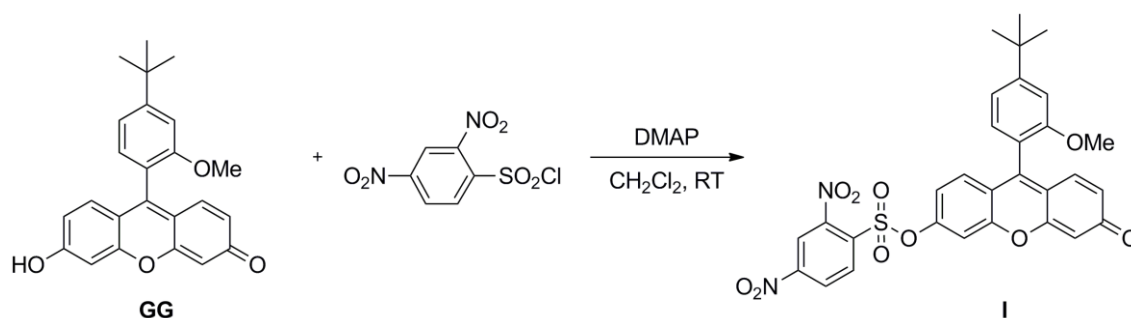
2.1 Synthesis of DNBS-GG



Granada Green (**GG**, 20 mg, 0.056 mmol) was dissolved in 2 mL of Et_3N and 2 mL of CH_2Cl_2 . Then, 2,4-dinitrobenzenesulfonyl chloride (29 mg, 0.11 mmol) was added (Scheme 3). The reaction was monitored by TLC, and 29 mg of the chloride were added every 60 minutes until no starting material was observed. The solvent was then evaporated, and the residue was purified by flash chromatography (CH_2Cl_2 :MeOH mixtures) to give the corresponding **DNBS-GG** (16 mg, 50%) as a dark orange solid: ^1H -NMR (600 MHz, Acetone- d_6) δ 8.95 (d, $J = 2.7$ Hz, 1H), 8.60 (dd, $J = 9.2, 2.8$ Hz, 1H),

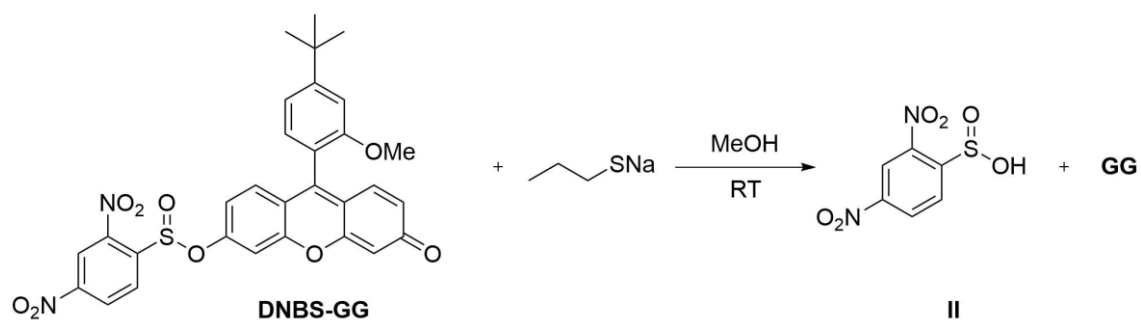
7.66 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 7.35 (s, 1H), 7.34 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 7.29 – 7.25 (m, 3H), 7.17 (dd, $J = 8.8, 2.4$ Hz, 1H), 7.08 (d, $J = 9.8$ Hz, 1H), 6.44 (dd, $J = 9.8, 1.7$ Hz, 1H), 6.16 (d, $J = 1.7$ Hz, 1H), 3.82 (s, 3H), 1.44 (s, 9H). ^{13}C -NMR (151 MHz, Acetone- d_6) δ 187.1 (C), 161.1 (C), 160.9 (C), 159.5 (C), 157.9 (C), 156.2 (C), 148.1 (C), 146.1 (C), 143.7 (C), 133.7 (CH), 133.2 (CH), 133.0 (CH), 132.8 (CH), 132.1 (CH), 130.2 (C), 124.8 (CH), 124.6 (CH), 123.2 (C), 121.0 (C), 120.9 (C), 120.5 (CH), 118.3 (CH), 111.7 (CH), 109.4 (CH), 107.9 (CH), 57.8 (CH₃), 37.7 (C), 33.3 (CH₃). LSIMS (FAB) m/z calcd. for C₃₀H₂₄N₂O₉S [M⁺]: 588.12; obtained: 588.12.

2.2 Synthesis of sulfonyl derivative I



Granada Green (**GG**, 67 mg, 0.179 mmol) and 4-dimethylaminopyridine (DMAP) (33 mg, 0.269 mmol) were dissolved in 2 mL of dry CH₂Cl₂. Then, 2,4-dinitrobenzenesulfonyl chloride (57 mg, 0.215 mmol) was added. The reaction was monitored by TLC and stirred at room temperature until no starting material was observed. The solvent was then evaporated, and the residue was purified by flash chromatography (CH₂Cl₂: MeOH mixtures) to give the corresponding product **I** (96 mg, 89%) as a brown solid. ^1H NMR (500 MHz, Acetone- d_6) δ 8.99 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H), 8.72 (dd, $J = 8.7, 2.3$ Hz, 1H), 8.44 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 7.43 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 7.33 (d, $J = 1.6$ Hz, 1H), 7.26 (dd, $J = 7.9, 1.6$ Hz, 1H), 7.23 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.20 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.13 (dd, $J = 8.8, 2.4$ Hz, 1H), 7.08 (d, $J = 9.8$ Hz, 1H), 6.44 (dd, $J = 9.8, 1.9$ Hz, 1H), 6.16 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H), 3.78 (s, 3H), 1.42 (s, 9H). ^{13}C NMR (126 MHz, Acetone- d_6) δ 185.4 (C), 158.9 (C), 157.8 (C), 156.3 (C), 153.5 (C), 152.9 (C), 152.0 (C), 149.8 (C), 145.5 (C), 135.0 (CH), 132.8 (C), 131.9 (CH), 131.5 (CH), 131.3 (CH), 131.1 (CH), 128.2 (CH), 122.5 (C), 122.0 (CH), 121.5 (C), 119.0 (CH), 118.8 (C), 118.7 (CH), 111.5 (CH), 110.0 (CH), 106.4 (CH), 56.1 (CH₃), 36.0 (C), 31.6 (3 CH₃). LSIMS (FAB) m/z calcd. for C₃₀H₂₅N₂O₁₀S [M⁺⁺H]: 605.12; obtained: 605.12.

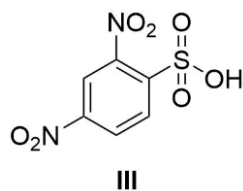
2.3 Synthesis of 2,4-dinitrobenzenesulfonic acid II by thiolysis of DNSB-GG



DNSB-GG (16 mg, 0.027 mmol) was dissolved in 1 mL of MeOH, and sodium propionate (2.6 mg, 0.027 mmol) was added. The reaction was stirred at room temperature, and 2.6 mg of sodium propionate was added every 24 h until no starting material was observed by TLC (2-3 eq, 48-72 h was required to consume starting material). The solvent was then removed, and the residue was purified by flash chromatography (CH_2Cl_2 :MeOH mixtures) to give the corresponding 2,4-dinitrobenzenesulfonic acid **II** as a white solid. $^1\text{H NMR}$ (600 MHz, CD_3OD) δ 8.72 (d, $J = 2.8$ Hz, 1H), 8.50 (dd, $J = 9.3, 2.8$ Hz, 1H), 7.50 (d, $J = 9.3$ Hz, 1H). $^{13}\text{C NMR}$ (151 MHz, CD_3OD) δ 158.5 (C), 141.5 (C), 130.1 (CH), 122.3 (CH), 115.6 (CH). **IR (KBr)**: 3116 (97.28), 3119 (97.45), 1604 (81.4), 1534 (80.38), 1348 (78.29), 1303 (82.41), 1095 (85.11) cm^{-1} (%T). All of the techniques employed afforded extensive fragmentations in the high-resolution mass spectra.

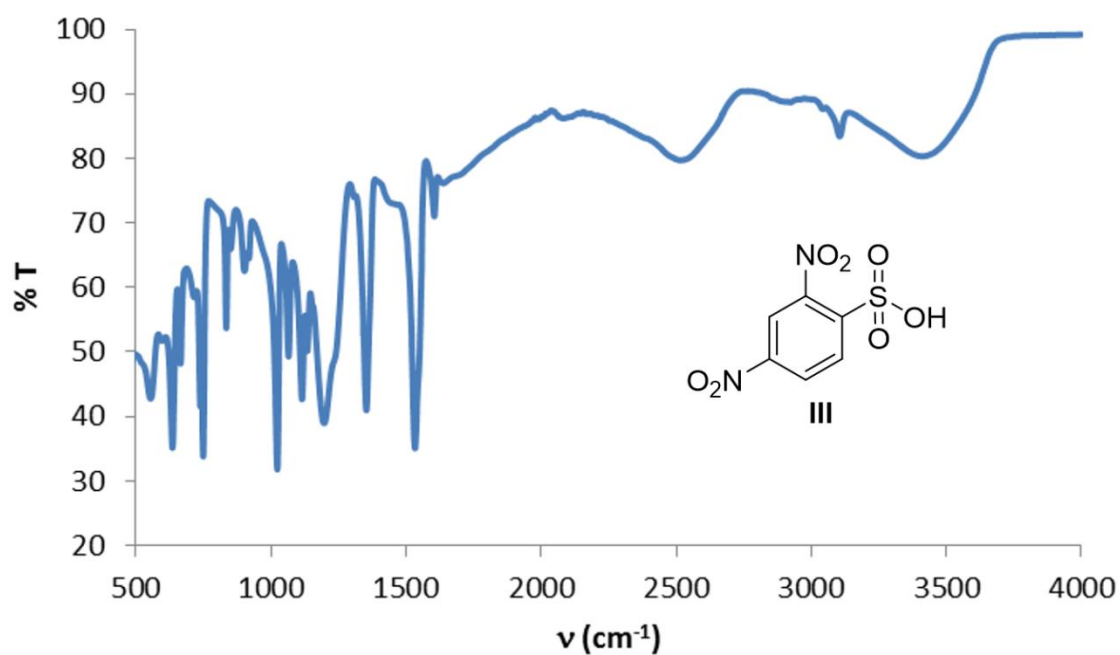
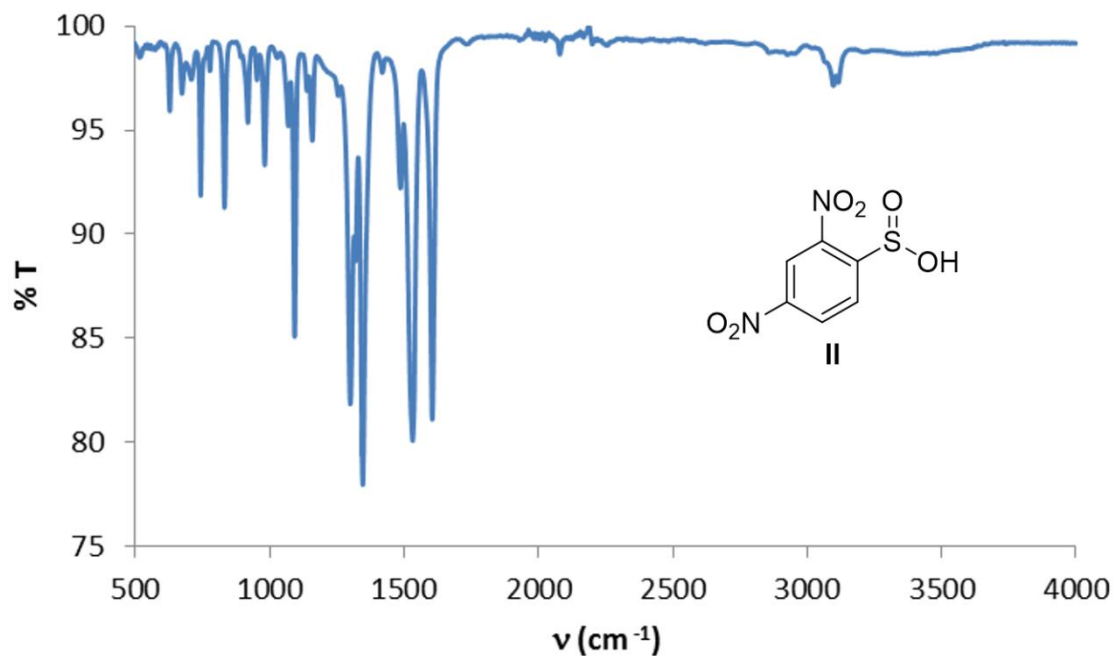
Concerning the structure of 2,4-dinitrobenzenesulfonic acid, its identity could be easily confirmed by comparison with commercially available 2,4-dinitrobenzenesulfonic acid.

2.4 Data of commercially available 2,4-dinitrobenzenesulfonic acid III:



$^1\text{H NMR}$ (600 MHz, CD_3OD) δ 8.52 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H), 8.49 (dd, $J = 8.6, 2.3$ Hz, 1H), 8.28 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H). $^{13}\text{C NMR}$ (151 MHz, CD_3OD) δ 150.0 (C), 149.5 (C), 144.0 (C), 132.3 (CH), 126.9 (CH), 120.0 (CH). **IR (KBr)**: 3407 (80.33), 2509 (79.74), 1535 (35.42), 1354 (41.37), 1200 (39.1), 1113 (43.88), 1025 (32.35) cm^{-1} (%T).

3. IR spectra of 2,4-dinitrobenzenesulfonic acid II and 2,4-dinitrobenzenesulfonic acid III



4. Preparation of Solutions

Tris buffer solutions were prepared by mixing the required amounts of Trizma base and Tris-HCL (both from Sigma) to obtain the desired pH.

For the preparation of phosphate buffer ($pK_a^B = 6.8$) solutions, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ and $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (both from Fluka, puriss. p.a.) were used. All of the solutions were prepared using Milli-Q water as a solvent. All of the chemicals were used as received without further purification.

A stock solution of **DNBS-GG** (10^{-4}M) in ethanol was prepared. Using this stock solution, water solutions with a final concentration of $1 \times 10^{-5}\text{ M}$ of dye and $\text{pH} = 7.35$ in Tris buffer were prepared. The required amounts of this solution and thiol stock solution were added to obtain the desired concentrations of **DNBS-GG** and thiol in Tris buffer (20 mM) at $\text{pH} = 7.35$.

Solutions of all of the compounds for time-resolved fluorescence measurements were prepared so that the absorbance of the final solutions at λ_{ex} was lower than 0.1. Solutions were kept cool in the dark when not in use to avoid possible deterioration by exposure to light and heat. The solutions were not degassed.

5. Cell culture

The human epithelioid cervix carcinoma (HeLa; ATCC No CCL-2) cell line was provided by the Cell Culture Facility, University of Granada. HeLa cells were grown in Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM) supplemented with 10% (v/v) fetal bovine serum (FBS), 2 mM glutamine, 100 U/mL penicillin, and 0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ streptomycin in a humidified 5% CO_2 incubator.

For the FLIM microscopy experiments, HeLa cells were seeded onto 25 mm coverslips in 6-well plates at a density of $11\,250\text{ cells}/\text{cm}^2$. On the day of the experiment, cells were washed twice with Krebs-Ringer phosphate medium (118 mMNaCl, 5 mMKCl, 1.2 mM MgSO_4 , 1.3mM CaCl_2 , 1.2 mM KH_2PO_4 , 30 mM HEPES, pH 7.4) and incubated in the same medium with effectors. When N-methyl maleimide (NMM) was used to block the intracellular thiols, the cells were pre-incubated with 1 mM NMM for 20 min. NMM was maintained in the medium during the FLIM experiments.

6. Cell Permeabilization

Cells were permeabilized as described in the literature.² Briefly, HeLa cells were seeded onto coverslips in 12-well plates. On the day of the experiment, the cells were washed twice with phosphate buffered saline (PBS) and were perforated by incubation for 15 minutes at 37°C with 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ α -toxin in permeabilization buffer (20 mM potassium

MOPS, pH 7.0, 250 mM mannitol, 1 mM potassium ATP, 3 mM MgCl₂, and 5 mM potassium glutathione). Subsequently, the cells were washed twice with PBS and were analyzed by FLIM in the presence of different concentrations of phosphate in the assay medium.

7. Instrumentation

Absorption spectra were recorded on a Perkin-Elmer Lambda 650 UV/vis spectrophotometer with a temperature-controlled cell.

Steady-state fluorescence emission spectra were performed on a JASCO FP-6500 spectrofluorometer equipped with a 450 W Xenon lamp for excitation and an ETC-273T temperature controller at 20°C. The pH of the solutions was measured immediately before the fluorescence measurements at the same temperature.

Fluorescence decay traces of solutions were recorded by the single-photon timing method using a FluoTime 200 fluorometer (PicoQuant, Inc.). The excitation was achieved using a LDH-485 (PicoQuant, Inc.), and the observation was performed through a monochromator at 515 nm. The pulse repetition rate was 20 MHz. Fluorescence decay histograms were collected in 1320 channels using 10 × 10 mm cuvettes. The time increment per channel was 36 ps. Histograms of the instrument response functions (using a LUDOX scatterer) and sample decays were recorded until they typically reached 2×10^4 counts in the peak channel. Three fluorescence decays were recorded for all of the samples. The fluorescence decay traces were individually analyzed using an iterative deconvolution method with exponential models using FluoFit software (PicoQuant).

Fluorescence lifetime images were recorded with a MicroTime 200 fluorescence lifetime microscope system (PicoQuant, Inc.) and the time-tagged time-resolved (TTTR) methodology, which permits fluorescence decay histograms to be reconstructed from molecules in the confocal volume. The excitation source consisted of an LDH 470 nm pulsed laser (PicoQuant) operating at a repetition rate of 20 MHz. The light beam was directed onto a dichroic mirror (500dcxr) to the oil immersion objective (1.4 NA, 100×) of an inverted microscope system IX-71 (Olympus). The collected fluorescence light was filtered by an HP500LP long-pass filter (AHF/Chroma) and focused onto a 75- μ m confocal aperture. After the aperture, the transmitted light was refocused onto a single photon avalanche diode SPCM-AQR 14 (Perkin Elmer) after the signal passed through a 520/35 filter (Chroma). The data acquisition was performed with a TimeHarp 200 TCSP module

(PicoQuant, Inc.) in the TTR mode, which enabled the reconstruction of the lifetime histogram. Raw images were recorded by raster scanning of an $80 \times 80 \mu\text{m}$ area with a resolution of 512×512 pixels. The photons of each pixel were temporally sorted with respect to the excitation pulse in the histograms with a time resolution of 29 ps/channel.

7.1 Absorption and steady-state fluorescence

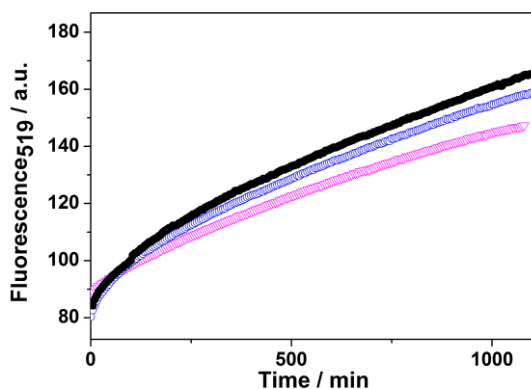


Figure S1. Fluorescence intensity at $\lambda_{\text{ex}}=485$ nm and $\lambda_{\text{em}}=519$ nm vs. time of DNSB-GG ($6.5 \mu\text{M}$) in the presence of $6.5 \mu\text{M}$ of GSH (black), Cys (red), or Hcy (pink) at $\text{pH}=7.35$ and 37°C .

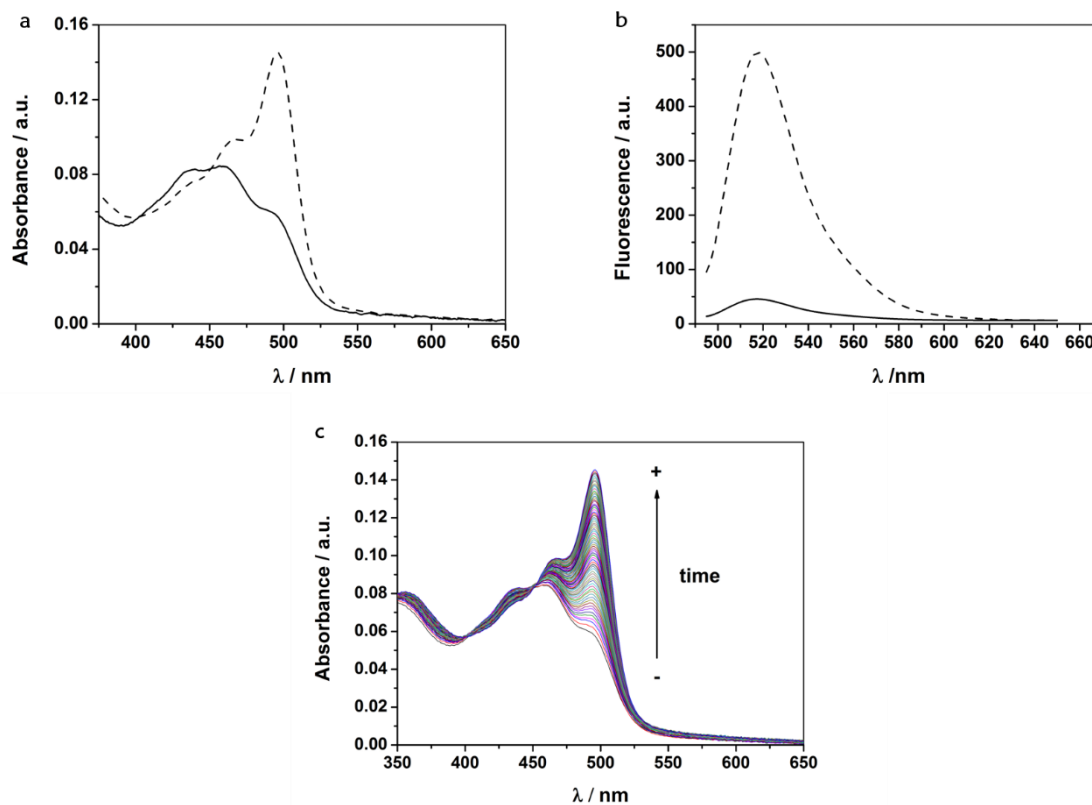


Figure S2. (a) Absorption spectra of DNSB-GG (6.5×10^{-6} M) in Tris (20 mM) solution at pH=7.35, without thiol (—) and with thiol (1×10^{-5} M) after 24 h (---). (b) Fluorescence emission spectra of DNSB-GG (1×10^{-6} M) in Tris (20 mM) solution at pH=7.35, without thiol (—) and with thiol (1×10^{-6} M) after 24 h (---). (c) Absorption spectra of DNSB-GG (6.5×10^{-6} M) in Tris (20 mM) solution at pH=7.35, (—) in the presence of thiol (1×10^{-6} M) recorded every 5 minutes.

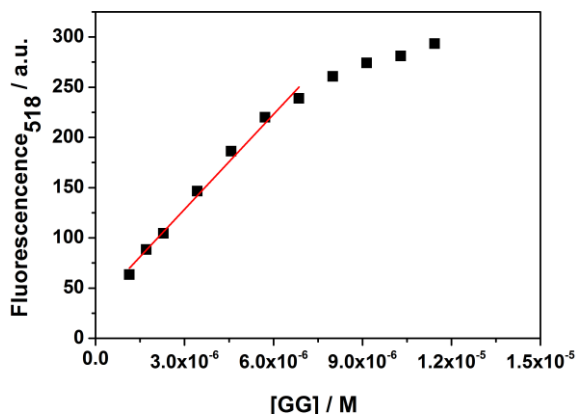


Figure S3. Kavanagh law of **GG** at $\lambda_{ex}=485$ nm and $\lambda_{em}=518$ nm.

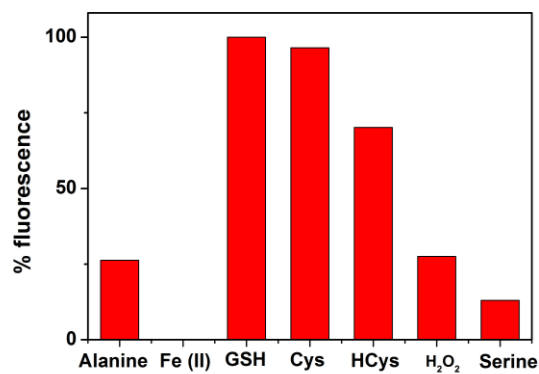


Figure S4. Relative increase in fluorescence after 2 h of DNSB-GG 6.5×10^{-6} M in the presence of glutathione, cysteine, homocysteine, different amino acids, Fe(II) and H₂O₂ at pH=7.35.

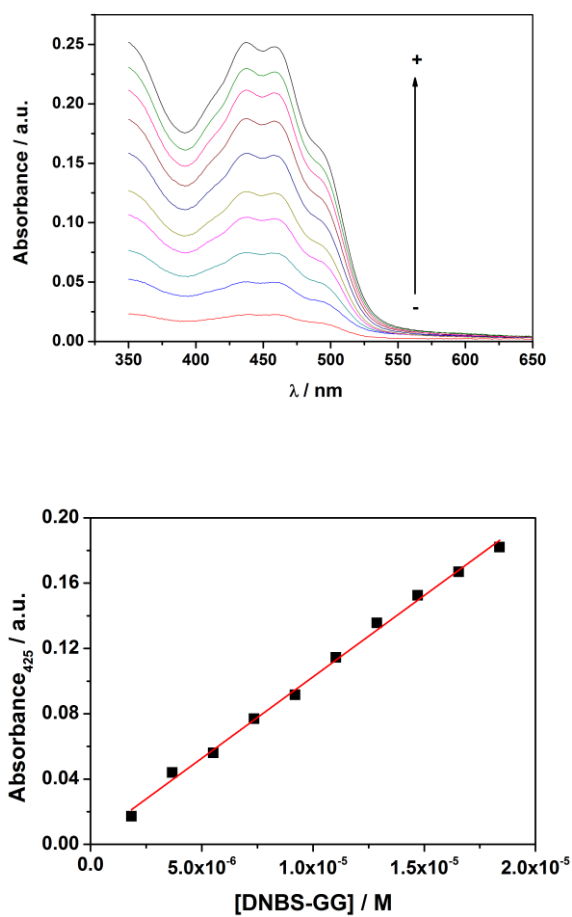
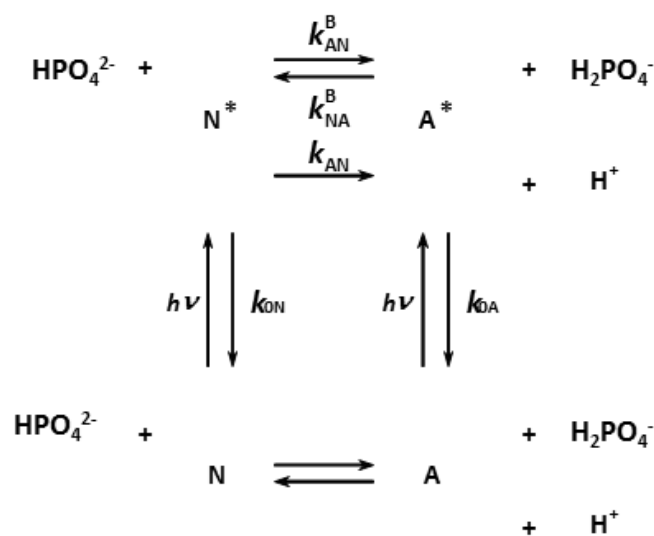


Figure S5. Beer's law of DNSB-GG at 461 nm.

8. Excited State Proton Transfer Reaction



Scheme S1. Kinetic Model of an Excited-State Proton Transfer Reaction, Promoted by a Suitable Proton Acceptor or Donor.

Scheme S1 represents the dynamic, linear, time-invariant, intermolecular system studied. It consists of two distinct types of ground-state species and their corresponding excited-state species (**N** neutral, **A** anion). Both species are two different prototropic forms of the considered dye at neutral pH. Thus, the ground-state species are related through the acid-base equilibria, determined by the corresponding pKa. Excited-state species **N*** and **A*** are created upon photoexcitation, and they can decay by fluorescence (F) and nonradiative (NR) processes. We include those decay processes in rate constant k_{0i} (equal to $k_{\text{Fi}} + k_{\text{NR}i}$) for species i^* . In this study, we consider the excited-state process promoted by species of an added buffer, H_2PO_4^- and HPO_4^{2-} . Hence, H_2PO_4^- could promote an excited-state protonation with **A***, represented by rate constant k_{NA}^{B} . Likewise, HPO_4^{2-} could react with **N*** resulting in an excited-state deprotonation, whose rate constant is denoted by k_{AN}^{B} . We also include the deprotonation of excited state **N*** (represented by rate constant k_{AN}).

The fluorescence decay traces should be influenced by the presence of ESPT reactions, if kinetic rate constant of buffer mediated proton transfer are fast enough to compete with

fluorescence emission, causing the decay times to be dependent on the pH and on the buffer concentration.^{55,67,68,69}

We show in previous paper that **GG** undergoes an ESPT reaction, which interconverts the neutral and anion forms in the presence of phosphate at near neutral pH and which strongly alters the fluorescence emission signal.²

⁶⁹ N. Boens, W. Qin, N. Basaric, A. Orte, E. M. Talavera, J. M. Álvarez-Pez, *J. Phys. Chem. A* **2006**, *110*, 9334-9343.

CHAPTER II

EXPERIMENTAL SECTION

PART II

1. Synthetic part

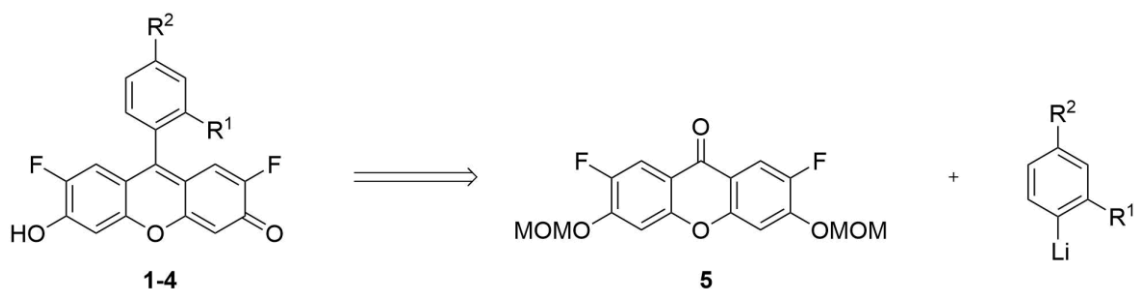
1.1 General details

All reagents were used as purchased from standard chemical suppliers and used without further purification. Reactions involving organometallic compounds were carried out under Ar atmosphere. TLC was performed on aluminium-backed plates coated with silica gel 60 (230-240 mesh) with F₂₅₄ indicator. The spots were visualized with UV light (254 nm). All chromatography purifications were performed with silica gel 60 (35-70 μ m). NMR spectra were measured at room temperature. ¹H NMR spectra were recorded at 300, 400, 500 or 600 MHz. Chemical shifts are reported in ppm using residual solvent peak as reference (CHCl₃: δ = 7.26 ppm, CH₂Cl₂: δ = 5.32 ppm, (CH₃OH: δ = 3.31 ppm). Data are reported as follows: chemical shift, multiplicity (s: singlet, d: doublet, t: triplet, q: quartet, quint: quintuplet, hept: heptuplet, m: multiplet, dd: doublet of doublets, dt: doublet of triplets, td: triplet of doublets, bs: broad singlet), coupling constant (*J* in Hz) and integration; ¹³C NMR spectra were recorded at 75, 101, 126 or 151 MHz using broadband proton decoupling and chemical shifts are reported in ppm using residual solvent peaks as reference (CHCl₃: δ = 77.16 ppm, CH₂Cl₂: δ = 54.0 ppm, (CH₃OH: δ = 49.00 ppm). Carbon multiplicities were assigned by DEPT and HSQC techniques. High resolution mass spectra (HRMS) were recorded using EI at 70eV on a Micromass AutoSpec (Waters) or by ESI-TOFF mass spectrometry carried out on a Waters Synapt G2 mass spectrometer. Known compounds **1**,⁴ **6**⁷⁰ were isolated as pure samples and showed NMR spectra matching those of the reported ones.

1.2 Synthesis

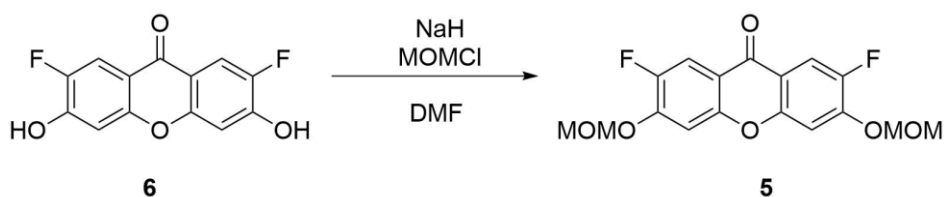
The corresponding synthesis was accomplished employing a very simple methodology^{3,6} using as a key step a nucleophilic addition of an organolithium derivative to the corresponding MOM-protected 2,7-difluoroxanthenone derivative **5** (Scheme S1).

⁷⁰ Z. R. Woydziak, L. Fu, B. R. Peterson, *J. Org. Chem.* **2012**, *77*, 473-481.



Scheme S1

Synthesis of compound 5:

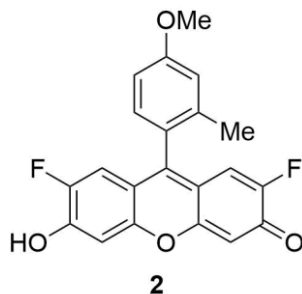


Compound **6**⁷⁰ (930 mg, 3.5 mmol) was dissolved in DMF dry (10 mL) and then NaH (703 mg, 17.6 mmol) was added. After stirring for 15 minutes the solution was treated with MOMCl (1.1 mL, 14.0 mmol) and the mixture was stirred at room temperature for 3 h. It was then diluted with EtOAc (20 mL), washed with saturated HCl (aq) (2 x 15 mL), dried over anhydrous Na₂SO₄ and the solvent removed under reduced pressure. The residue was purified by flash chromatography (EtOAc/Hexane mixtures) to give the corresponding protected ketone **5** in an 89 % yield, showing the following spectroscopic data: ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.94 (d, *J* = 10.6 Hz, 2H), 7.26 (d, *J* = 6.6 Hz, 2H), 5.35 (s, 4H), 3.55 (s, 6H). ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 174.7 (t, *J* = 2.1 Hz, C), 153.5 (d, *J* = 1.4 Hz, C), 151.2 (d, *J* = 13.3 Hz, C), 150.1 (d, *J* = 247.2 Hz, C), 115.5 (d, *J* = 6.2 Hz, C), 112.1 (d, *J* = 20.7 Hz, CH), 104.9 (s, CH), 95.5 (s, CH₂), 56.9 (s, CH₃). **HRMS (ESI):** *m/z* [M-H]⁺ calcd for C₁₇H₁₅F₂O₆: 353.0837; found: 353.0837.

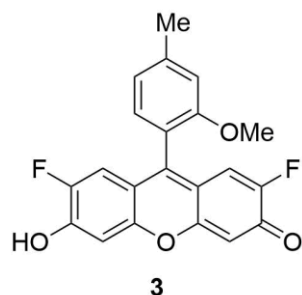
General procedure for the synthesis of compounds 1-4:

A solution of the corresponding bromoaryl derivative (0.2 mmol, 1 eq.) in THF (2 mL) at -78 °C, was treated with *n*-BuLi (0.22 mmol, 1.1 eq). After keeping the reaction at that temperature for 20 minutes ketone **5** (0.1 mmol, 0.5 eq) was added to the solution. Then, the mixture was stirred at -78 °C for 15 minutes and after allowed to reach room temperature. The reaction was monitored by TLC and after consumption of ketone **5** and then HCl (10%) was added promoting and a colour change from pale yellow to orange. Finally, solvent was removed under reduced pressure and residue was submitted

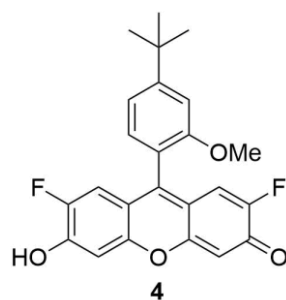
to flash chromatography in CH₂Cl₂:MeOH mixtures, affording compounds **1-4**, whose spectroscopic data are reported below:



Compound 2. Orange solid obtained in 62 % yield. ¹H NMR (500 MHz, MeOD) δ 7.16 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.08 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 7.03 (dd, *J* = 8.5, 2.5 Hz, 1H), 6.89 (d, *J* = 7.1 Hz, 2H), 6.81 (d, *J* = 11.1 Hz, 2H), 3.92 (s, 3H), 2.04 (s, 3H). ¹³C NMR (126 MHz, MeOD) δ 162.6 (s, C), 156.4 (s, C), 155.6 (s, C), 154.5 (d, *J* = 249.5 Hz, C), 148.1 (s, C), 139.0 (s, C), 131.4 (s, CH), 125.3 (s, C), 117.2 (s, CH), 116.1 (d, *J* = 8.0 Hz, C), 113.1 (s, CH), 113.0 (d, *J* = 22.1 Hz, CH), 106.2 (d, *J* = 4.0 Hz, CH), 55.9 (s, CH₃), 19.9 (s, CH₃). HRMS (EI, 70 eV): *m/z* [M]⁺ calcd for C₂₁H₁₄F₂O₄: 368.0860; found: 368.0860.



Compound 3. Orange solid obtained in 68 % yield. ¹H NMR (500 MHz, MeOD) δ 7.14 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.06 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 7.01 (dd, *J* = 8.4, 2.6 Hz, 1H), 6.67 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H), 6.66 (d, *J* = 11.5 Hz, 2H), 3.92 (s, 3H), 2.05 (s, 3H). ¹³C NMR (126 MHz, MeOD) δ 170.94 (d, *J* = 17.0 Hz), 160.81 (s), 156.14 (s), 155.4 (s), 154.96 (d, *J* = 249.5 Hz), 137.33 (s), 129.81 (s), 124.78 (s), 115.58 (s), 111.36 (s), 110.48 (d, *J* = 22.4 Hz), 110.44 (d, *J* = 8.3 Hz), 104.71 (d, *J* = 5.4 Hz), 54.45 (s), 18.43 (s). HRMS (ESI): *m/z* [M-Na]⁺ calcd for C₂₁H₁₄F₂NaO₄: 391.0752; found: 391.0743.



Compound 4. Orange solid obtained in 54 % yield. $^1\text{H NMR}$ (600 MHz, MeOD) δ 7.28 (d, $J = 1.6$ Hz, 1H), 7.27 (dd, $J = 7.8$ Hz, $J = 1.6$ Hz, 1H), 7.15 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 6.71 (d, $J = 11.6$ Hz, 2H), 6.64 (d, $J = 7.5$ Hz, 2H), 3.77 (s, 3H), 1.46 (s, 9H). $^{13}\text{C NMR}$ (151 MHz, MeOD) δ 172.3 (d, $J = 17.8$ Hz, C), 157.8 (s, C), 157.5 (s, C), 156.8 (s, C), 156.2 (d, $J = 248.9$ Hz, C), 155.0 (t, $J = 5.2$ Hz, C), 131.1 (s, CH), 120.3 (s, C), 118.9 (s, CH), 112.2 (d, $J = 22.5$ Hz, CH), 111.9 (d, $J = 8.6$ Hz, C), 110.0 (s, CH), 105.9 (d, $J = 5.2$ Hz, CH), 56.1 (s, CH_3), 36.2 (s, C), 31.7 (s, CH_3). **HRMS (EI, 70 eV):** m/z $[\text{M}]^+$ calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{20}\text{F}_2\text{O}_4$: 410.1330; found: 410.1333.

2. Sample preparation

A stock solution of dyes (9×10^{-5} M) in 10^{-3} M NaOH was prepared using Milli-Q water. For samples preparation in acetate buffer solutions, sodium acetate and acetic acid (both Sigma puriss. p.a.) were used in appropriate amounts to obtain the required pH and dye concentration. Solutions without buffer were prepared using NaOH and HClO_4 (0.01 M) both from Sigma-Aldrich, spectroscopic grade. All the solutions were prepared using Milli-Q water as a solvent. All of the chemicals were used as received without further purification. The solutions were kept cool in the dark when not in use to avoid possible deterioration through exposure to light and heat.

3. Photophysics Studies

Absorption spectra were recorded using a Perkin-Elmer Lambda 650 UV/Vis spectrophotometer with a Peltier temperature controller. Steady-state fluorescence emission spectra were collected using a JASCO FP-8300 spectrofluorometer equipped with a 450-W xenon lamp for excitation with an ETC-273T temperature controller. All measurements were recorded at room temperature using 10×10 mm cuvettes. The pH of the solutions was measured immediately before and after recording each spectrum.

Fluorescence decay traces of solutions were recorded by the single-photon timing method using a FluoTime 200 fluorometer (PicoQuant, Inc.).^{50,71} The excitation was achieved using a LDH-485 and LDH-440 (PicoQuant, Inc.), and the observation was performed through a monochromator at 510, 515, 520 and 525 nm. The pulse repetition rate was 20 MHz. Fluorescence decay histograms were collected in 1320 channels using 10 × 10 mm cuvettes. The time increment per channel was 37 ps. Histograms of the instrument response functions (using a LUDOX scatterer) and sample decays were recorded until they typically reached 2 × 10⁴ counts in the peak channel. Three fluorescence decays were recorded for all of the samples. The fluorescence decay traces were individually analyzed using an iterative deconvolution method with exponential models using FluoFit software (PicoQuant).

3.1 Absorption studies

If a neutral/anion system follows Beer's law, at any wavelength (λ_{abs}) and pH, the absorbance (A) is given by the expression:

$$A(\text{pH}, \lambda_{abs}) = C \left(\sum_i \alpha_i(\text{pH}, \text{p}K_{N-A}) \varepsilon_i(\lambda_{abs}) \right) d \quad (\text{S1})$$

where C is the total concentration of the dye, d is the optical path length, $\varepsilon_i(\lambda_{abs})$ is the wavelength-dependent molar absorption coefficient of the i th prototropic form of the dye, and $\alpha_i(\text{pH}, \text{p}K_{N-A})$ is the fraction of the dye in the i th prototropic form, which depends on both pH and $\text{p}K_{N-A}$.

$$\alpha_N = \frac{[H^+]}{[H^+] + K_{N-A}} \quad (\text{S2})$$

$$\alpha_A = \frac{K_{N-A}}{[H^+] + K_{N-A}} \quad (\text{S3})$$

3.2 Steady-State studies

The total fluorescence signal $F(\lambda_{ex}, \lambda_{em}, [H^+])$ at proton concentration $[H^+]$ due to excitation at λ_{ex} and observed at emission wavelength λ_{em} can be expressed as

⁷¹ D. O'Connor, D. Phillips, *Time-correlated single photon counting*, Academic Press, 1984.

$$F(\lambda_{\text{ex}}, \lambda_{\text{em}}, [\text{H}^+]) = \frac{F_{\text{min}} [\text{H}^+] + F_{\text{max}} K_a}{K_a + [\text{H}^+]} \quad (\text{S4})$$

where F_{min} indicates the fluorescence signal of the neutral form of the dye and F_{max} denotes the fluorescence signal of the anion form of 2-Me-TM. Fitting eq. S4 to the fluorescence data $F(\lambda_{\text{ex}}, \lambda_{\text{em}}, [\text{H}^+])$ as a function of $[\text{H}^+]$ yields values for K_a , F_{min} , and F_{max} .

Quantum yield values from steady-state fluorescence measurements were calculated for the anion forms using fluorescein in 0.1 M NaOH as a reference ($\phi_{\text{fluo}} = 0.95$). The quantum yield of the neutral form was obtained by fitting the steady-state fluorescence spectra to the equilibrium equation S5 once the values of ϕ_A were known.

$$F(\lambda_{\text{ex}}, \lambda_{\text{em}}, [\text{H}^+]) = C^{\text{dye}} K_a [\phi_N \varepsilon_N \alpha_N + \phi_A \varepsilon_A \alpha_A] \quad (\text{S5})$$

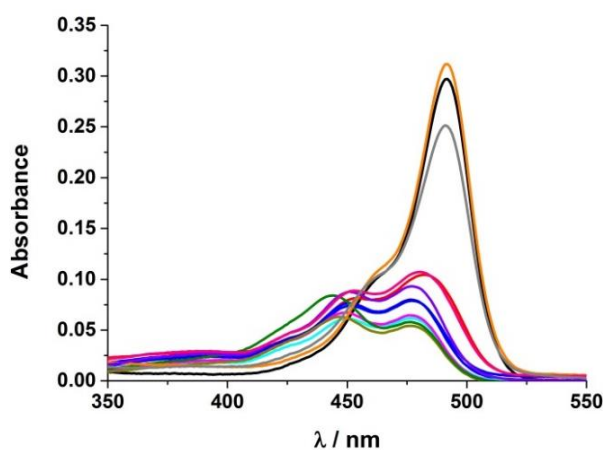


Figure S1. Absorption spectra of compound **1** (6×10^{-6} M) at different pH concentration (from 1.02 to 6.06).

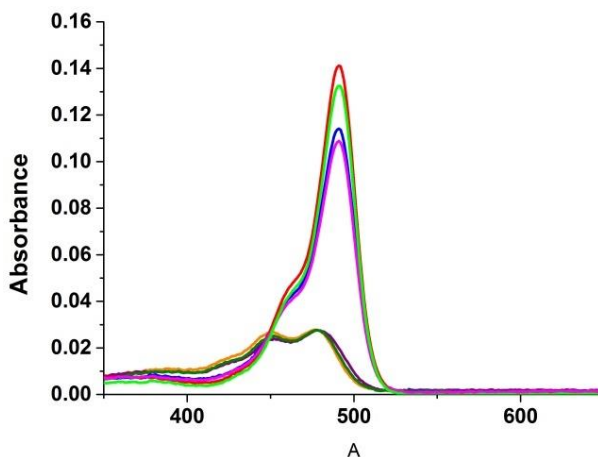


Figure S2. Absorption spectra of compound **3** (3.2×10^{-6} M) at different pH concentration (from 2.65 to 7.73).

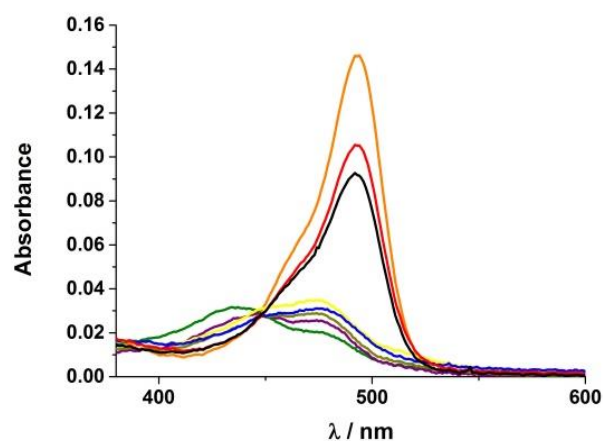


Figure S3. Absorption spectra of compound **4** (3.2×10^{-6} M) at different pH concentration (from 0.83 to 6.04).

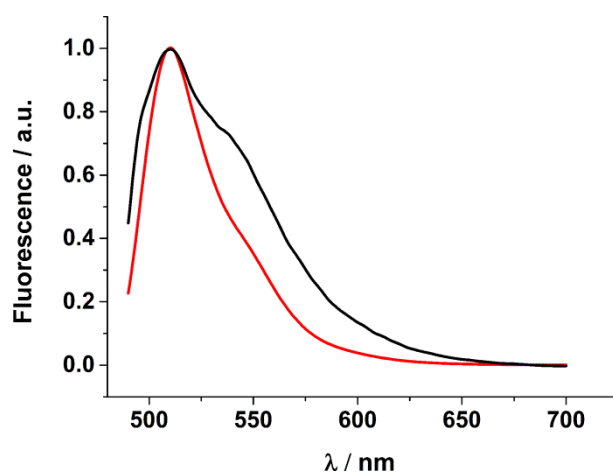


Figure S4. Normalized fluorescence emission of anion and neutral species of compound **2**.

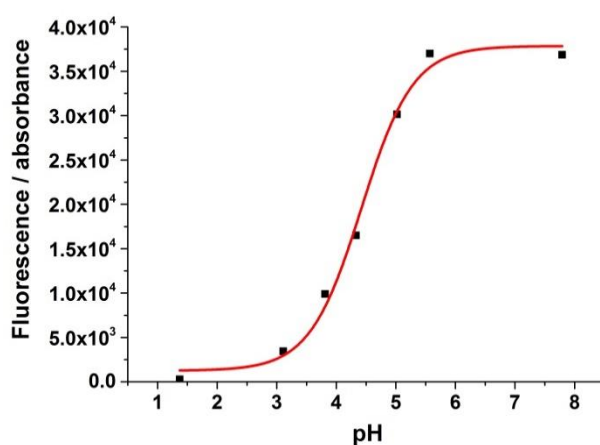


Figure S5. Curves generated by fitting (equation 5) the normalized fluorescence by absorbance versus pH. Data from Figure 2.

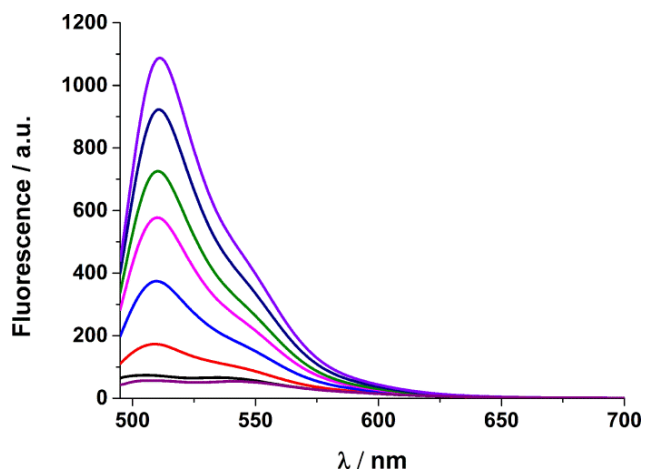


Figure S6. Fluorescence emission spectra of compound **1** (6×10^{-6} M) in acetate (255 mM) solution at different pH values (from 1.84 to 9.33).

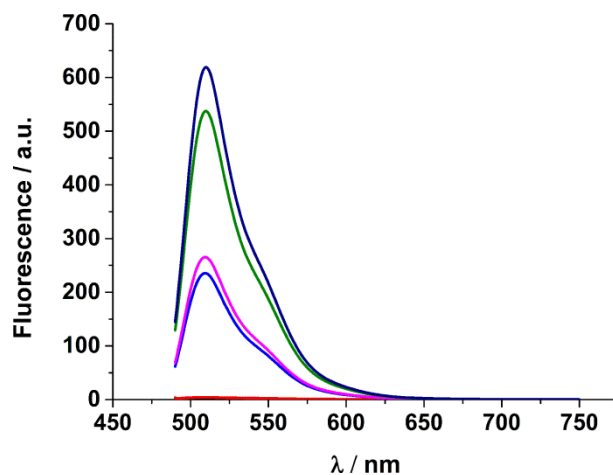


Figure S7. Fluorescence emission spectra of compound **3** (6×10^{-6} M) in acetate (255 mM) solution at different pH values (from 1.84 to 8.06).

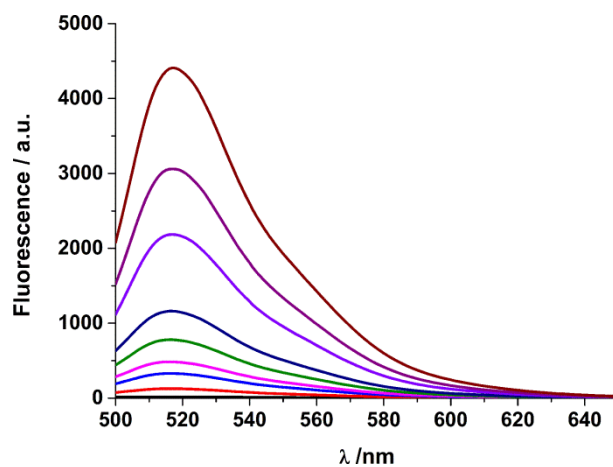


Figure S8. Fluorescence emission spectra of compound **4** (6×10^{-6} M) in acetate (340 mM) solution at different pH values (from 1.95 to 7.23).

Table S1. Photophysical parameters of all compounds.

Compound	λ_{\max} abs anion	λ_{\max} abs neutral	Isosbestic point	$\text{pK}_a(\text{abs})/\text{pK}_a^*$	Φ_A/Φ_N	$\tau_{\text{anion}}/\text{ns}$	$\tau_{\text{neutral}}/\text{ns}$
1	492	445/480	457	4.66 ± 0.06	0.79/0.12	4.80	4.00
2	492	450/478	458	$4.04 \pm 0.02/$ 4.15 ± 0.07	0.65/0.02	3.30	0.02
3	492	450/478	450	$4.78 \pm 0.02/$	0.56/0.01	3.22	0.02
4	492	440/474	447	$4.32 \pm 0.13/$ 4.27 ± 0.03	0.64/0.04	3.75	0.008

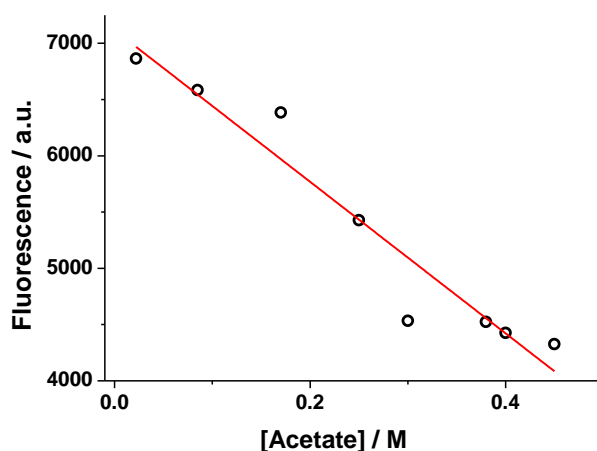


Figure S9. Dependence of the fluorescence emission to acetate concentration. In the range of acetate studied was found an acceptable linearity between fluorescence emission and acetate concentration at pH = 4.00. Linear fit obtained a $R^2 = 0.92$.

4. Exited State Proton transfer reaction studies

The theory and methods of solving buffer-mediated ESPT reactions are well-established.^{2,54,55,68}

If the photophysical system as shown in Figure 3a (see Results and Discussion Part II) is excited by an infinitely short light pulse that does not significantly alter the concentrations of the ground-state species, then the fluorescence δ -response function, $f(\lambda_{\text{em}}, \lambda_{\text{ex}}, t)$, at emission wavelength λ_{em} due to excitation at λ_{ex} is given by

$$f(\lambda_{\text{ex}}, \lambda_{\text{em}}, t) = p_1 e^{\gamma_1 t} + p_2 e^{\gamma_2 t} \quad t \geq 0 \quad (\text{S6})$$

in which eq S6 has been written in the common biexponential format, where

$$\gamma_{1,2} = \frac{-(a+c) \mp \sqrt{(c-a)^2 + 4bd}}{2} \quad (S7)$$

$$a = k_{01} + k_{21} + k_{21}^B [R] \quad (S8)$$

$$b = k_{12} [H^+] + k_{12}^B [RH] \quad (S9)$$

$$c = k_{02} + k_{12} [H^+] + k_{12}^B [RH] \quad (S10)$$

$$d = k_{21} + k_{21}^B [R] \quad (S11)$$

$[R]$ and $[RH]$ are related to the total buffer concentration, $C^B = [R] + [RH]$, by the expressions $[RH] = C^B [H^+] / ([H^+] + K_a^B)$ and $[R] = C^B K_a^B / ([H^+] + K_a^B)$, where K_a^B is the dissociation constant for the reversible reaction $RH \leftrightarrow R + H^+$.

The γ factors are related to the lifetimes τ_1 and τ_2 by the expression

$$\tau_{1,2} = -\frac{1}{\gamma_{1,2}}. \quad (S12)$$

5. Material and methoFLIM analysis

FLIM images were collected by a Pico Quant MicroTime 200 microscope system with an excitation source of LDH-485 laser. The light beam passed through a dichroic mirror (510dcsr, Chroma) and through the oil immersion objective (1.4 NA, 100 \times) specific to an inverted microscope system (IX-71, Olympus). After passing the immersion objective, the fluorescence light was filtered by a long-pass filter (500LP, AHF/Chroma) and directed to a 75- μ m confocal aperture. The light was transmitted to a FF01-520/35 bandpass filter (Thorlabs) and focused on single-photon avalanche diodes (SPCM-AQR 14, Perkin Elmer). The data were collected by a TimeHarp 200 TCSPC module (PicoQuant) and raw Fluorescence lifetime images were acquired by a scanner with 512 \times 512 pixels resolution. To obtain the fitted FLIM images, it was realized a binning of 2 \times 2 in SymphoTime software and the matrix data were exported and analyzed by a home-coded *Fiji ([Fiji Is Just] ImageJ)* program.⁷² For this aim, and firstly of all, outliers data points were removed using a selective median filter that replaces a pixel by the median of the pixels in the

⁷² J. Schindelin, I. Arganda-Carreras, E. Frise, V. Kaynig, M. Longair, T. Pietzsch, S. Preibisch, C. Rueden, S. Saalfeld, B. Schmid, J.-Y. Tinevez, D. J. White, V. Hartenstein, K. Eliceiri, P. Tomancak, A. Cardona, *Nat. Methods* **2012**, *9*, 676-682.

surrounding (s.d. = 7 pixels) if it deviates from the median by more than a certain value. Finally, in order to achieve a larger number of counts in each pixel, it was done a binning of 4 x 4 and later, a Gaussian smoothing function (s.d. = 1 pixel) filters were applied.

6. Competitive studies with other anions

We checked common anions present in cell culture medium (pyruvate, glucose, phosphate and bicarbonate) at pH 4 and normal concentration in medium by time resolved fluorescence. Lifetime of the dye is not changed (Table S2).

Table S2. Lifetime of compound **2** (6×10^{-6} M) at pH=4 in presence of different anions.

Anion	Lifetime / ns	error
bicarbonate 0.04 M	3.22	0.0018
bicarbonate 0.024 M	3.24	0.0019
pyruvate 0.00125 M	3.24	0.0025
glucose 25 mM	3.23	0.0021
phosphate 4.5 mM	3.14	0.0021
phosphate 20mM	3.15	0.0017

Also, F^- and CN^- (Table S3) were measurements. Only F^- anions show some reaction with dye, but lower than acetate (Figure S9). Normal concentration in serum for F^- ⁷³ (0.7 μ M - 8 μ M) is around 100 times lower than acetate concentration⁷⁴ (0.074 - 0.621 mM.) For these reasons, fluorescence or lifetime decrease in serum could be assigned exclusively to acetate.

Table S3. Lifetime of compound **2** (6×10^{-6} M) at pH=4 in presence of different CN^- concentrations.

CN^- / mM	Lifetime/ ns	error
0	3.28	0.0052
100	3.29	0.0034
200	3.29	0.0038
300	3.28	0.0030
400	3.29	0.0028
500	3.29	0.0030
600	3.29	0.0035
700	3.29	0.0029

⁷³ D. R. Taves, *Nature* **1966**, *211*, 192-193.

⁷⁴ Z. T. Schug, J. V. Voorde, E. Gottlieb, *Nat. Rev. Cancer* **2016**, *16*, 708-717.

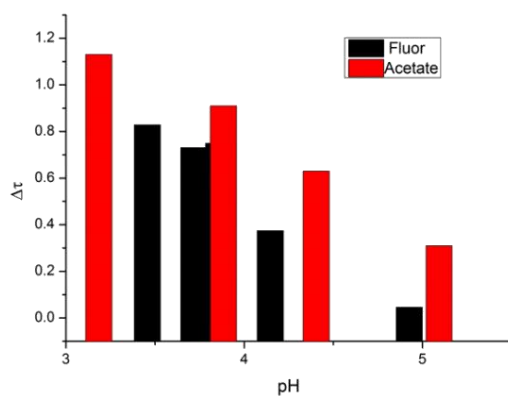


Figure S10. Lifetime changed between dye (6×10^{-6} M) without acetate or fluor anions and in presence of one of them (500 mM) at different pHs.

CHAPTER II

EXPERIMENTAL SECTION

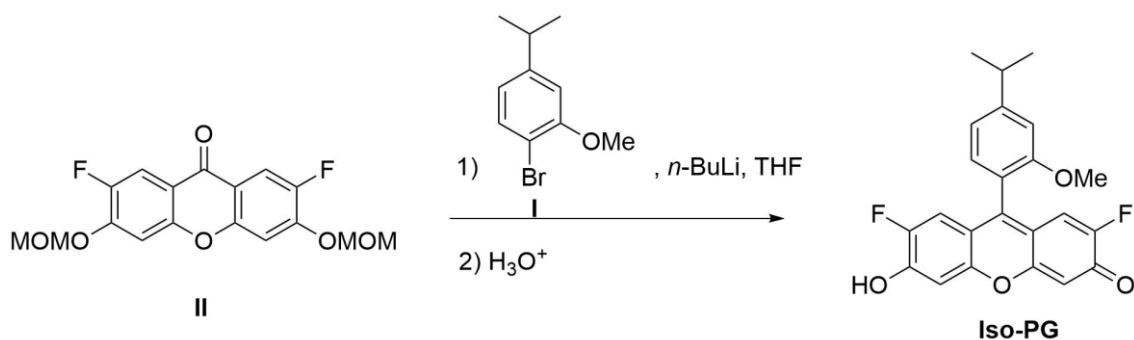
PART III

1. Synthetic part

1.1 General details

Deoxygenated solvents and reagents were used for the reaction involving *n*-BuLi. THF was freshly distilled from Na. TLC was performed on aluminium-backed plates coated with silica gel 60 (230-240 mesh) with F254 indicator. The spots were visualized with UV light (254 nm) and/or staining with Ce/Mo reagent or phosphomolybdic acid solution and subsequent heating. Products were purified by flash chromatography on Merck silica gel 50. Yields refer to analytically pure samples. ¹H NMR spectra were recorded at 400 MHz at room temperature. Chemical shifts are reported in ppm using residual solvent peak as reference (CH₃OH: δ 3.34). Data are reported as follows: chemical shift, multiplicity (s: singlet, d: doublet, t: triplet, m: multiplet, hept: heptuplet), coupling constant (J in Hz) and integration. ¹³C-NMR spectra were recorded at 101 MHz using broadband proton decoupling and chemical shifts are reported in ppm using residual solvent peaks as reference (CD₃OD: δ 49.86). Carbon multiplicities were assigned by DEPT techniques. ¹H and ¹³C NMR of bromide **I** and ketone **II** matched with previously described High resolution mass spectra (HRMS) were recorded on a Micromass AutoSpec using EI at 70eV.

1.2 Synthesis of compound Iso-PG



A solution of 2-bromo-5-isopropyl-1-methoxybenzene **I** (46mg, 0.2 mmol, 1 eq) in THF (2 mL) at -78°C was treated with *n*-BuLi (0.22 mmol, 1.1 eq). After keeping the reaction at that temperature for 20 minutes, ketone **II** (98.6mg, 0.2 mmol, 1 eq) was added to the reaction. Then, the mixture was stirred at -78°C for 15 min and after allowed to reach room temperature. The reaction was monitored by TLC and after consumption of ketone **II** HCl (10%) was added, promoting a color change from pale yellow to orange. Finally, solvent was removed under reduced pressure and residue was submitted to flash chromatography in CH₂Cl₂: MeOH mixtures, affording **Iso-PG** in a 68% yield. Its spectroscopic data are: ¹H NMR (400 MHz, MeOD) δ 7.12 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 7.09 (d,

$J = 8.5$ Hz, 1H), 7.01 (dd, $J = 8.5, 2.5$ Hz, 1H), 6.67 (s, 2H), 6.64 (d, $J = 4.4$ Hz, 2H), 3.93 (s, 3H), 2.53 (hept, $J = 6.8$ Hz, 1H), 1.10 (d, $J = 6.8$ Hz, 6H). ^{13}C NMR (101 MHz, MeOD) δ 172.5 (d, $J = 17.8$ Hz, C), 162.7 (s, C), 156.97 (d, $J = 11.2$ Hz, C), 156.95 (s, C), 156.2 (d, $J = 249.3$ Hz, C), 149.9 (s, C), 131.2 (s, CH), 124.9 (s, C), 112.8 (d, $J = 5.6$ Hz, CH), 112.3 (d, $J = 8.5$ Hz, C), 112.2 (s, CH), 111.9 (s, CH), 106.1 (d, $J = 5.5$ Hz, CH), 55.9 (s, CH_3), 32.3 (s, CH), 24.3 (s, CH_3). HRMS (ESI): m/z [M-Na] $^+$ calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{18}\text{F}_2\text{O}_4$: 419.1065; found: 419.1060.

2. Materials and methods

2.1 Reactive

The chemical products used in this work have been: MilliQ water, acetic acid and sodium acetate, sodium hydroxide, perchloric acid, sodium chloride, potassium chloride and disodium phosphate salt. All reactive were acquired from Sigma-Aldrich.

2.2 Sample preparation

A stock solution of Iso-PG (4×10^{-4} M) was prepared in water adding 10 μL of NaOH (0.1 M). This stock solution was kept in dark and 4°C. Stock solutions (0.7M) of acetic acid and sodium acetate were prepared using MilliQ as solvent. Work solutions were prepared adding the adequate volume from stock solutions to obtain the desired acetate concentration and pH. NaOH and HClO_4 were used to adjust the pH value in the acetate absence solutions. Iso-PG was added to all samples to obtain a final concentration of 4×10^{-5} M for the absorption experiments and 1×10^{-6} M for the fluorescence experiments.

2.3 Instrumentation

Absorption spectra were acquired in a Perkin-Elmer Lambda 650 UV/Vis double-beam spectrophotometer. Steady-state fluorescence spectra were acquired using a JASCO FP-8300 spectrofluorimeter using as excitation a 150W xenon lamp. Time resolved fluorescence decays were acquired through the time-correlated-single-photon-counting (TCSPC) in a FluoTime200 fluorimeter (PicoQuant, Inc). As excitation sources we used a LDH-485 and LDH-440 head lasers (PicoQuant, Inc) and the emission wavelength selected by a monochromator were 500-510, 520 and 530 nm. The pulse repetition rate was 20 MHz and the histograms were obtained in 1320 channels with a resolution of 37ps. Laser response functions were acquired using LUDOX as scatterer. All decay histograms were obtained with 2×10^4 counts in the maximum. All measurements were realized at room temperature using 10x10 mm cuvettes.

FLIM images were acquired using a Microtime 200 confocal fluorescence lifetime microscope (PicoQuant, Inc.) through the time-tagged time resolved (TTTR) methodology, which allows reconstruct the fluorescence decay histograms. The excitation source was the LDH-485 nm pulse laser. The excitation light beam was directed to a dichroic mirror (510 dcsr) and afterwards to the oil immersion objective (1.4 NA, 100×) of an inverted microscope system IX-71 (Olympus). The fluorescence was filtered by a long-pass HP500LP filter (AHF/Chroma) and focus in a 75µm pinhole. Finally, the fluorescence arrived to a single photon avalanche diode SPCM-AQR 14 (Perkin-Elmer). Raw images were recorded scanning an area of 80 × 80 µm with a resolution of 512 × 512 pixels.

2.4 Data analysis

Data graphical representation and fitting was realized using Originpro 8.5 software (OriginLab, corp). Fluorescence decay curves were analyzed individually and globally through an iterative deconvolution method with exponential models using the software FluoFit (PicoQuant, Inc.). FLIM images data were analyzed using SymphoTime software (PicoQuant, Inc.) and *FIJI is just image j*.⁷² The fitted FLIM instrument response function was reconstructed to analyze the histogram of each pixel using a monoexponential model. All decay histograms were fitted applying the maximum likelihood estimator (MLE) which yield correct parameter sets for low count rates.⁷⁵ The FLIM images obtained were exported and analyzed in *FIJI is just image j*⁷² using home-made macros. This instruction includes a 10×10 binning process and a Gaussian smoothing function (s.d. = 1 pixel).

⁷⁵ M. Maus, M. Cotlet, J. Hofkens, T. Gensch, F. C. De Schryver, J. Schaffer, C. A. M. Seidel, *Anal. Chem.* **2001**, *73*, 2078-2086.

CAPÍTULO III

Desarrollo de estructuras
helicoidales extensas

CAPÍTULO III

INTRODUCCIÓN

1. Nanociencia

En la naturaleza, la mayoría de las funciones interesantes que tienen lugar en los sistemas biológicos, tales como reconocimiento molecular, el almacenamiento de información y la catálisis, son realizadas por biomacromoléculas: estructuras compactas y estables en disolución. Su plegamiento proporciona una orientación espacial precisa de los grupos funcionales que conforman el sitio activo, por lo que presentan una gran afinidad, especificidad y actividad catalítica.

Por otro lado, el autoensamblaje de moléculas es de gran importancia en los procesos biológicos. Teniendo en cuenta el limitado número de posibles estructuras biopoliméricas (mayoritariamente proteínas, ácidos ribonucleicos y polisacáridos), no es de extrañar que el autoensamblaje sea una herramienta poderosa para enfrentarse a diversos desafíos químicos y proporcionar la base para el diseño de máquinas moleculares con capacidades únicas, con el fin de imitar las funciones biológicas. Esto ha supuesto una gran motivación para los químicos que, durante décadas, han estado buscando extrapolar el poder de la catálisis biológica y su especificidad a los sistemas sintéticos.

El desarrollo de nuevos esqueletos moleculares que adopten conformaciones ordenadas en disolución ha sido una de las áreas de la química que más rápidamente ha evolucionado, como lo demuestran las diversas estructuras que se han generado (Figura 6), dando lugar a la nanociencia/química supramolecular.^{1,2}

¹ D. J. Hill, M. J. Mio, R. B. Prince, T. S. Hughes, J. S. Moore. *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 3893-4011.

² S. Hecht, I. Huc, *"Foldamers: Structure, Properties and Applications"* Wiley-VCH, **2007**.

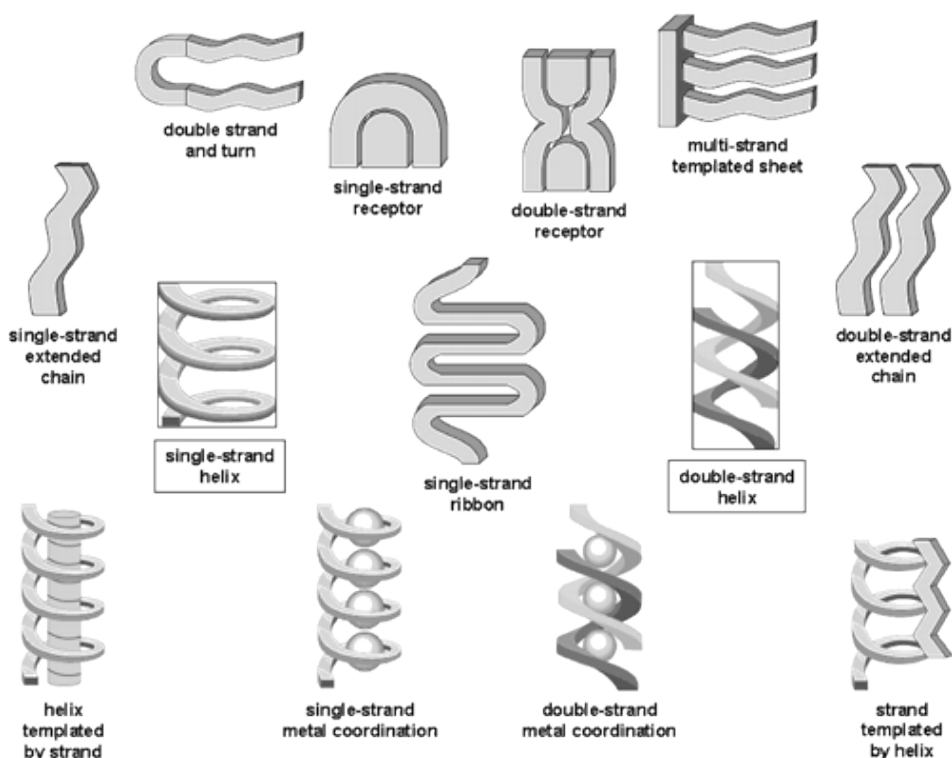


Figura 1. Diferentes estructuras secundarias de plegamiento.¹

La nanociencia se puede definir, por tanto, como la capacidad de controlar y/o manipular los niveles atómicos, moleculares o supramoleculares para crear estructuras, dispositivos y sistemas con nuevas propiedades y funciones resultantes del autoensamblaje de estructuras más pequeñas. Se han utilizado dos estrategias distintas para explorar el dominio nanométrico: “*top-down*” y “*bottom-up*”. Mientras que el método “*top-down*” manipula piezas de materia progresivamente más pequeñas, el método “*bottom-up*” permite construir materiales a nanoescala a partir de moléculas más pequeñas. Por tanto, el autoensamblaje “*bottom-up*” proporciona una de las formas más eficientes para la fabricación de estructuras más complejas (nanoestructuras) de forma controlada, donde moléculas más pequeñas se mantienen unidas mediante interacciones no covalentes como el π -stacking, enlaces de hidrógeno, interacciones hidrofóbicas o interacciones electrostáticas. El uso de interacciones no covalentes presenta la ventaja de formarse de manera espontánea y reversible mediante un equilibrio termodinámico. Por eso, el autoensamblaje mediante interacciones no covalentes es una valiosa herramienta para la síntesis de nanoestructuras tales como hélices, cápsulas, rejillas...³

³ a) M. A. Mateos-Timoneda, M. Crego-Calama, D. N. Reinhoudt, *Chem. Soc. Rev.* **2004**, *33*, 363-372; b) D. S. Bag, T. C. Shami, K. U. B. Rao, *Def. Sci. J.* **2008**, *58*, 626-635.

Fue Gellman⁴ quien, en 1996, acuñó por primera vez el término foldámero. En un primer momento, describía “*cualquier polímero con una fuerte tendencia a adoptar una conformación compacta específica*”.⁵ Pero una revisión más exhaustiva, realizada por Moore, proporcionó una nueva definición de foldámero como “*cualquier oligómero que se pliega en una conformación ordenada en disolución, cuya estructura está estabilizada por un conjunto de interacciones no covalentes entre unidades monoméricas no adyacentes*”.¹ Con esta nueva definición se abarcaba tanto a los foldámeros de una sola cadena como a los foldámeros de varias cadenas que se asocian y se pliegan. Por tanto, un foldámero presenta las siguientes características:

- Es una molécula en cadena, lo que significa que hay algún motivo que se repite regularmente a lo largo del esqueleto de la misma.
- Son de tamaño oligomérico y no polimérico.
- Presentan un carácter conformacional dinámico, es decir, tiene lugar un plegamiento. Los oligómeros en los que no puede producirse este plegamiento, como los helicenos, no pueden considerarse foldámeros. (Figura 2a).

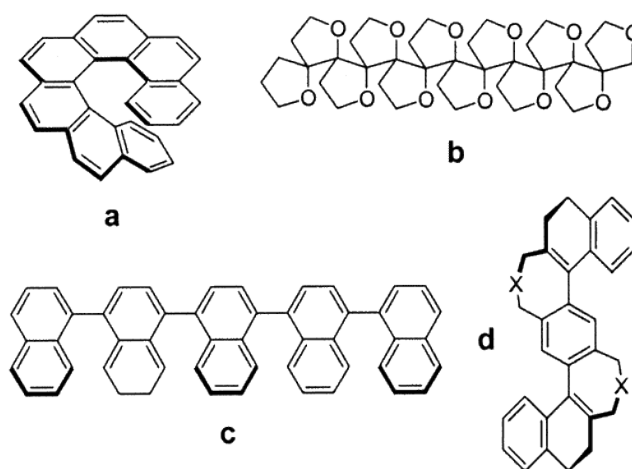


Figura 2. Moléculas clasificadas como no foldámeros: (a) helicenos; (b) polioxapoliespiroalcanonas; (c) oligonaftalenos; (d) moléculas “geländer”.

⁴ D. H. Appella, L. A. Christianson, I. L. Karle, D. R. Powell, S. H. Gellman, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 51, 13071-13072.

⁵ S. H. Gellman, *Acc. Chem. Res.* **1998**, *31*, 173-180.

(d) La estructura plegada tiene interés en disolución, lo que implica que el disolvente es parte fundamental del estado plegado, pudiendo originar fluctuaciones en la cadena debido al entorno dinámico.

(e) El plegamiento se produce gracias a interacciones no covalentes entre unidades monoméricas no adyacentes. Los oligómeros que presentan conformaciones estables predeterminadas como los mostrados en la Figura 2b-d, no son considerados como foldámeros.

De forma general, foldámero se refiere principalmente a moléculas de tamaño mediano (alrededor de 500-5000 uma) que se pliegan en estructuras secundarias definidas, intrínsecamente dinámicas (hélices, giros y láminas), que pueden imitar a las biomacromoléculas, a pesar de tener un tamaño más pequeño.⁶

Antes de que se acuñara el término foldámero, ya se habían diseñado y sintetizado con éxito análogos de ácidos nucleicos y péptidos, con el fin de imitar las estructuras y propiedades biológicas de sus análogos naturales. Ejemplo de ello son los ácidos nucleicos peptídicos (PNAs)⁷ y las oligoglicinas *N*-sustituidas (peptoides).⁸

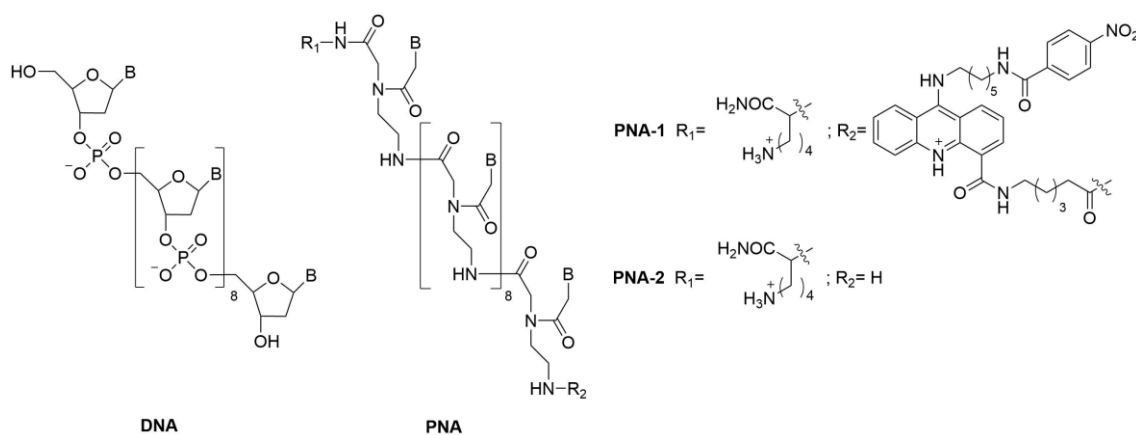


Figura 3. Comparación de la estructura del ADN con los PNAs.

⁶ G. Maayan, M. Albrecht, "Metallofoldamers. Supramolecular Architectures from Helicates to Biomimetics" Wiley-VCH, 2013.

⁷ P. E. Nielsen, M. Egholm, R. H. Berg, O. Buchardt, *Science* **1991**, 254, 1497-1500.

⁸ R. J. Simon, R. S. Kania, R. N. Zuckermann, V. D. Huebner, D. A. Jewell, S. Banville, S. Ng, L. Wang, S. Rosenberg, C. K. Marlowe, D. C. Spellmeyer, R. Tan, A. D. Frankel, D. V. Santi, F. E. Cohen, P. A. Bartlett, *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, **1992**, 89, 9367-9371.

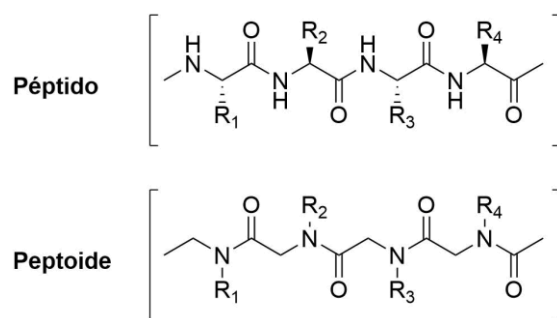


Figura 4. Comparación de la estructura de los péptidos con los peptoides.

Según esto, los foldámeros presentan características comunes con los péptidos, proteínas y ácidos nucleicos, los “foldámeros naturales”. Las funciones que realizan estos foldámeros naturales dependen de su conformación y estructura, por lo que el plegamiento, la flexibilidad y los cambios estructurales en estos compuestos son factores determinantes para el correcto desarrollo de sus funciones.

Son varios los factores que afectan al plegamiento y a los cambios estructurales de los foldámeros naturales como la secuencia primaria, la composición de las subunidades, la naturaleza y el tipo de interacciones en las subunidades o la presencia de cofactores. Entre estos factores, los centros metálicos desempeñan un papel clave en los cambios conformacionales, ya que muchas proteínas o péptidos requieren de iones metálicos para su correcta y óptica función y/o para la participación en interacciones específicas con proteínas, membranas, ácidos nucleicos y otras biomoléculas. Este tipo de compuestos se conocen por el nombre de *metaloproteínas* o *metalopéptidos*. También se conocen ciertos antibióticos que necesitan la presencia de iones metálicos para funcionar correctamente, conocidos como *metaloantibióticos*.

Estas metaloproteínas y metalopéptidos han inspirado a los científicos que comenzaron a diseñar y sintetizar foldámeros abióticos en los que la coordinación a un centro metálico promoviera diversas interacciones dando lugar a estructuras plegadas controladas, imitando a los modelos naturales. Por analogía, estos compuestos se denominan metalofoldámeros y engloba a todos aquellos oligómeros/foldámeros de secuencia específica, que están diseñados para adoptar estructura plegadas y ordenadas en presencia de iones metálicos.^{6,9}

⁹ G. Maayan, *Eur. J. Org. Chem.* **2009**, 5699-5710.

Así el grupo de Moore publicó en 1999 el primer ejemplo de un oligómero abiótico, cuya estructura adoptaba una conformación determinada en disolución gracias a la coordinación con cationes de Ag(I).

Desde entonces se ha sintetizado un gran número de metalofoldámeros con diversas aplicaciones entre ellas el reconocimiento específico de iones (ver apartado 4.2 y 4.3), mientras que otros presentan aplicaciones como materiales sensibles en función de su capacidad de plegarse y desplegarse ante los cambios en el estado de oxidación del ion de metal.

2. Técnicas Espectroscópicas Quiroópticas

Las (nano)estructuras quirales presentan interesantes propiedades quiroópticas que derivan de su disimetría. Estas moléculas tienen la capacidad de interactuar de manera diferente y muy específica con la luz polarizada, lo que tradicionalmente se ha empleado para obtener información acerca de la estructura tridimensional de la molécula, demostrando por tanto ser un método importante para la caracterización estructural tanto de moléculas pequeñas como de macromoléculas. En la actualidad, la interacción de las moléculas quirales con la luz polarizada es un campo de estudio del que se pueden obtener diversas y prometedoras aplicaciones.

Existen distintos tipos de técnicas experimentales¹⁰ para determinar el efecto de la luz polarizada en una molécula asimétrica. Entre ellas se encuentran la rotación óptica (α), la dispersión óptica rotatoria (ORD), el dicroísmo circular (CD), la luminiscencia circularmente polarizada (CPL), el dicroísmo circular vibracional (VCD), la actividad óptica Raman (ROA) y la fluorescencia detectada de dicroísmo circular (FDCCD).

En la presente tesis, nos centraremos en solo en tres de ellas, las cuales han sido altamente útiles para el desarrollo de los objetivos propuestos. Pero, para entender realmente estas técnicas es necesario entender los conceptos básicos de la polarización.

2.1 Conceptos básicos de polarización

Las ondas electromagnéticas son el resultado de las oscilaciones periódicas entre un campo magnético y un campo eléctrico que se propagan a la velocidad de la luz a través del espacio y del tiempo. En cualquier punto de un haz de luz, el campo magnético y

¹⁰ H. G. Brittain, *Appl. Spectrosc. Rev.* **2000**, *35*, 175-201.

eléctrico son siempre perpendiculares entre sí, y también a la dirección de propagación de la onda.

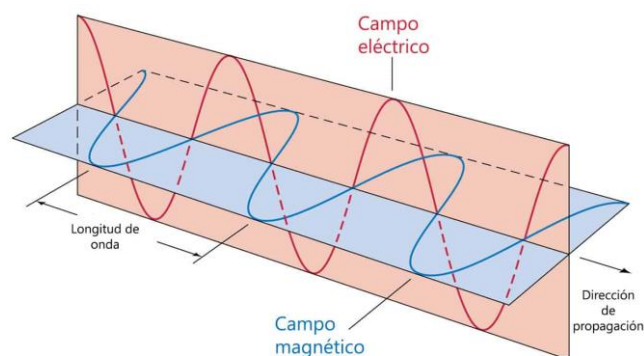


Figura 5. Dibujo esquemático de una onda electromagnética.

Es una práctica habitual considerar solo el comportamiento del vector eléctrico al describir las propiedades de la luz polarizada, aunque también es posible utilizar el vector magnético de igual manera. Por lo tanto, para evitar confusiones en las siguientes figuras solo se mostrará el campo eléctrico.

La luz linealmente polarizada es aquella cuyas oscilaciones están limitadas a un solo plano, pudiendo describirse como la combinación de dos estados fundamentales perpendiculares entre sí. Así, tendremos luz vertical y horizontalmente polarizada.

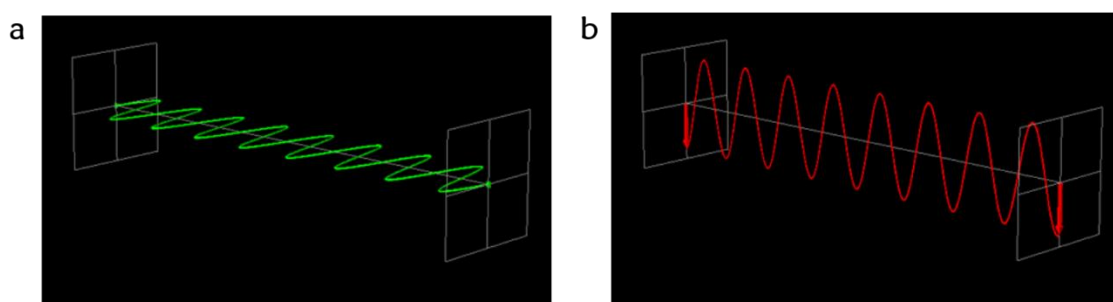


Figura 6. Luz (a) horizontal y (b) verticalmente polarizada.

Si uno de los anteriores estados fundamentales se encuentra desfasado en un cuarto de onda (90°), la combinación de ambos produce una rotación del vector eléctrico resultante en sentido horario o antihorario. Su desplazamiento a lo largo de la dirección de propagación determina un movimiento envolvente del vector eléctrico con forma helicoidal. Este movimiento nos da como resultado luz circularmente polarizada (CPL), que puede propagarse avanzando la hélice hacia la izquierda o hacia la derecha. Cuando la luz describe una hélice en el sentido de las agujas del reloj, a medida que la onda se

propaga hacia el observador tendremos luz circularmente polarizada a la derecha (R-CPL). Por el contrario, si la hélice se mueve en sentido antihorario obtendremos luz circularmente polarizada a la izquierda (L-CPL). Por lo tanto, la polarización circular confiere un carácter quiral a un haz de luz, debido a la quiralidad helicoidal asociada al modo de propagación correspondiente (izquierda o derecha). Esta característica quiral es la base de la fotónica quiral, también conocida como óptica quiral o simplemente quiroóptica.

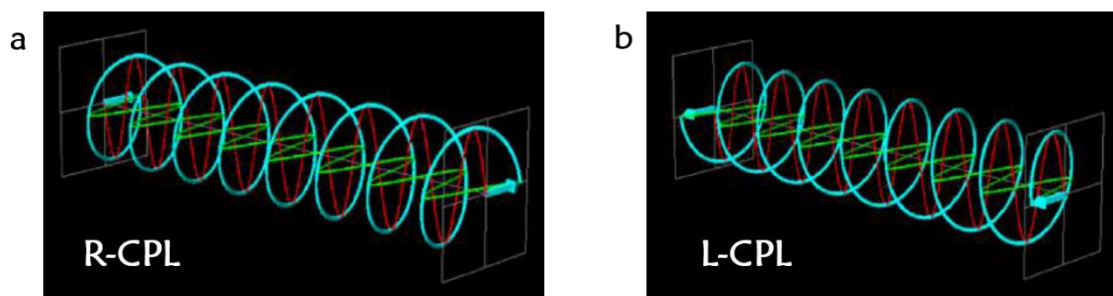


Figura 7. Luz circularmente polarizada.

2.2 Dicroísmo Circular (CD)

Una de las técnicas quiroópticas más ampliamente estudiada y utilizada ha sido el dicroísmo circular. Esta técnica es de gran ayuda en el estudio de diversos campos como la determinación de la estructura secundaria y terciaria en proteínas, el análisis de ácidos nucleicos o la determinación absoluta de configuraciones en diversas moléculas.^{11,12}

El dicroísmo circular es una técnica espectroscópica basada en la absorción diferencial de la luz polarizada circularmente hacia la izquierda y hacia la derecha por parte de una muestra, pudiéndose usarse como fuente de información sobre las estructuras quirales en sus estados fundamentales.

$$CD = \Delta A = A(L-CPL) - A(R-CPL)$$

Ecuación 1

¹¹ John C. Sutherland, "Comprehensive Chiroptical Spectroscopy, Volume 1: Instrumentation, Methodologies, and Theoretical Simulations" Wiley-VCH, 2012, pp 37-63.

¹² H. Tanaka, Y. Inoue, T. Mori, *ChemPhotoChem* 2018, 2, 386-402.

Por lo tanto, el CD es positivo si $A(L-CPL) > A(R-CPL)$ y negativo si $A(L-CPL) < A(R-CPL)$. Para los dos enantiómeros de una molécula quiral, el CD en cada frecuencia de luz es de igual magnitud, pero de signo opuesto. Sus espectros de CD son, por tanto, imágenes especulares.

Teniendo en cuenta la ley de Lambert-Beer, que define el proceso de transición electrónica en la espectroscopía UV-Vis, se puede expresar esta diferencia de absorbancias como:

$$\Delta A = A(L-CPL) - A(R-CPL) = [\epsilon_L - \epsilon_R] \cdot l \cdot c = \Delta\epsilon \cdot l \cdot c$$

Ecuación 2

donde c es la concentración molar del soluto quiral, ϵ es el coeficiente de extinción molar y l el paso de luz.

Los datos recibidos por el detector son transformados para expresarse en un espectro, donde se muestra el grado de elipticidad en función de la longitud de onda. La elipticidad (θ) se puede relacionar con la diferencia entre los coeficientes de extinción de luz polarizada circular a la izquierda y a la derecha ($\Delta\epsilon$), según la siguiente ecuación:

$$\theta = \Delta\epsilon \cdot 3298$$

Ecuación 3

Debido a la dificultad en la medida absoluta de la intensidad de absorción es común calcular el factor de disimetría (g_{abs}), que representa la diferencia de la intensidad de la absorción hacia la izquierda y la derecha entre la media total de la absorción. Además, se emplea como factor a la hora de comparar datos de distintas moléculas entre sí. Los valores típicos de g_{abs} son del orden de 10^{-3} a 10^{-4} .

$$g_{abs} = \frac{\epsilon_L - \epsilon_R}{(\epsilon_L + \epsilon_R)/2}$$

Ecuación 4

2.3 Luminiscencia circularmente polarizada (CPL)

La luminiscencia circularmente polarizada¹³ (CPL, por sus siglas en inglés) ha surgido como una poderosa herramienta en el área de ciencia de los materiales, con una creciente tendencia de investigación en este campo. Sin embargo, de entre las diversas técnicas espectroscópicas quiroópticas disponibles en la actualidad, el CPL juega un papel menor debido al elevado coste de los pocos instrumentos comerciales disponibles, así como a la complejidad de los mismos, limitando en gran medida la aplicación generalizada de esta técnica. A pesar de ello, se están estudiando sus potenciales aplicaciones relacionadas con procesos de emisión, más interesantes en muchos casos que los procesos de absorción,¹² tales como materiales luminiscentes quirales, fuentes de emisión encriptadas o biosensores.¹⁴ Un ejemplo de este hecho lo podemos encontrar en la naturaleza, ya que la detección selectiva de luz polarizada circular es utilizada por la langosta mantis como medio de comunicación secreto entre machos y hembras, ya que poseen tanto un emisor de CPL (en partes de la cola) como el receptor quiral en los ojos.¹⁵



Figura 8. Langosta Mantis.

Mientras que la espectroscopía de CD se basa en la absorción diferencial de la luz circularmente polarizada hacia la derecha y hacia la izquierda, la luminiscencia circularmente polarizada (CPL) permite medir la diferencia en la intensidad de luminiscencia (ΔI) de la luz polarizada circularmente a la izquierda (IL) frente a la luz polarizada circularmente a la derecha (IR). Por tanto, el CPL nos proporciona información sobre moléculas quirales en el estado excitado, complementaria a la información obtenida mediante CD. Por convenio, esta diferencia se define por la expresión dada en la ecuación:

¹³ J. P. Riehl, F. S. Richardson, *Chem. Rev.* **1986**, *86*, 1-16.

¹⁴ J. P. Riehl, G. Muller, "Comprehensive Chiroptical Spectroscopy, Volume 1: Instrumentation, Methodologies, and Theoretical Simulations" Wiley-VCH, **2012**, pp 65-90.

¹⁵ H. H. Thoen, M. J. How, T. Chiou, J. Marshall, *Science* **2014**, *343*, 411-413.

$$\Delta I = I_L - I_R$$

Ecuación 5

Al igual que en el caso de la espectroscopía de CD, es difícil medir las intensidades de emisión absolutas. Por lo tanto, lo más común es describir el grado de CPL en términos del factor de disimetría de luminiscencia (g_{lum}), que representa la relación de la diferencia de intensidad dividida por la intensidad de luminiscencia total promedio, cuyos valores se encuentran entre -2 y +2 (emisión completamente polarizada a la derecha e izquierda, respectivamente).¹⁶

$$g_{lum} = \frac{I_L - I_R}{(I_L + I_R)/2}$$

Ecuación 6

Hasta la fecha, los niveles más altos de CPL se han logrado principalmente a partir de complejos de lantánidos quirales, que muestran valores de $|g_{lum}|$ dentro del rango de 0.05 a 0.5. Excepcionalmente, se ha reportado un valor de 1.38 para un complejo de Eu(III).¹⁷ Sin embargo, las eficiencias de emisión de estos complejos suelen ser pequeñas, debido a la naturaleza de las transiciones electrónicas involucradas. Este hecho dificulta su uso en ciertas aplicaciones de CPL como, por ejemplo, en el láser de CPL. Por lo tanto, el desarrollo de moléculas orgánicas simples y quirales (CPL-SOM) que emitan CPL de manera eficiente, con grandes valores de g_{lum} y altos rendimientos cuánticos, es un objetivo interesante en el campo de la fotónica. Desafortunadamente, las CPL-SOM aún son escasos y, por lo general, muestran valores muy pequeños de g_{lum} (10^{-3} - 10^{-5}), lo que ha generado un creciente interés en el desarrollo de mejores CPL-SOM, especialmente durante los últimos cinco años.^{12,18}

¹⁶ N. Chen, B. Yan, *Molecules* **2018**, *23*, 3376-3408.

¹⁷ J. L. Lunkley, D. Shirotni, K. Yamanari, S. Kaizaki, G. Muller, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 13814-13815.

¹⁸ E. M. Sánchez-Carnerero, A. R. Agarrabeitia, F. Moreno, B. L. Maroto, G. Muller, M. J. Ortiz, S. de la Moya, *Chem. Eur. J.* **2015**, *21*, 13488-13500.

2.4 Dicroísmo Circular Vibracional (VCD)

La determinación de la configuración absoluta de una molécula ha sido a menudo un problema difícil de resolver. Esto se hace especialmente crítico en el caso de moléculas de productos naturales, donde el número de centros quirales es bastante elevado.

A lo largo de los años, se han desarrollado diversos métodos para solucionar este problema como la difracción de rayos X, métodos de RMN o la síntesis orgánica estereocontrolada. Sin embargo, la necesidad de cristales de alta calidad para la difracción de rayos X o el elevado coste y esfuerzo que requieren los métodos sintéticos, así como la imposibilidad de una evaluación directa de la estereoquímica absoluta en disolución hacen que estas técnicas no logren satisfacer por completo la determinación de la configuración absoluta. Como alternativa, se encuentran los métodos quiroópticos como el CD (comentado anteriormente) o el dicroísmo circular vibracional (VCD) entre otros.¹⁹

El VCD, técnica espectroscópica relativamente nueva y no muy extendida, es la extensión del CD a las regiones de infrarrojo e infrarrojo cercano del espectro, donde tienen lugar las transiciones vibracionales del estado fundamental de una molécula, además de ser una especialización de la espectroscopía de IR. De igual forma, que el CD se basa en el efecto de la quiralidad en las transiciones electrónicas, el VCD hace lo correspondiente, pero en las transiciones vibracionales. En otras palabras, el VCD es para la espectroscopía de IR, lo que el CD es para la espectroscopía UV-Vis.²⁰

A pesar de la estrecha relación que guardan el VCD y CD, la primera presenta numerosas ventajas sobre la segunda, como son la obtención de espectros de alta calidad sin tratar estados electrónicos excitados, además de no necesitar cromóforos en la estructura. Además, dado que el número de niveles vibracionales es mucho mayor que el número de niveles electrónicos, el VCD proporciona más información que el CD. En el caso de moléculas flexibles, una resolución más alta permite la determinación simultánea de configuración y conformación. Por lo que, de forma general, la evaluación de los de los espectros VCD puede llevarse a cabo de manera más confiable y, por lo tanto, la probabilidad de una interpretación incorrecta es mucho menor que en el caso de la espectroscopía CD. Sin embargo, presenta la desventaja en comparación con el CD, que

¹⁹ a) L. G. Felipe, J. M. Batista Jr., D. C. Baldoqui, I. R. Nascimento, M. J. Kato, Y. He, L. A. Nafie, M. Furlan, *Org. Biomol. Chem.* **2012**, *10*, 4208-4214; b) G. Yang, Y. Xu, *Top. Curr. Chem.* **2011**, *298*, 189-236.

²⁰ D. Kuroski, *Anal. Chim. Acta* **2017**, *990*, 54-66.

las señales obtenidas por VCD son mucho más pequeñas en relación al espectro de IR previamente obtenido, alrededor de unos cuatro órdenes de magnitud inferiores. El hecho de que la sensibilidad de la medición en la región IR sea más baja que en la UV-Vis ha causado que el estudio del VCD haya estado por detrás del estudio experimental del CD, a pesar de la riqueza de información que proporciona el VCD.²¹

Tabla 1. Comparación de características de CD y VCD.

Característica	CD	VCD
Región espectral	UV-Vis	IR
Tipo de Transición	Electrónica	Vibracional
Estado electrónico	Fundamental y excitado	Fundamental
Observable	Cromóforo	Modos vibracionales
Muestras	Moléculas con cromóforos	No hay restricciones
Información	pobre	rica
Factor de anisotropía	10^{-3} a 10^{-4}	10^{-4} a 10^{-5}
Análisis	Difícil	Fácil
Sensibilidad	Alta	Baja

Experimentalmente, el VCD se define como la diferencia en la absorbancia de la radiación IR circularmente polarizada izquierda y derecha (ver ecuación 2).

En general, las señales de VCD registran intensidades que varían entre 10^{-4} y 10^{-5} unidades de absorción. De ahí la necesidad de que los equipos de medida estén altamente optimizados para conseguir un mayor rendimiento y la sensibilidad necesaria.

En la mayoría de los casos, los estudios de VCD consisten en una combinación de mediciones espectrales y cálculos de las estructuras electrónicas mediante la teoría del funcional de la densidad (DFT). El espectro de VCD de una molécula quiral depende de su estructura tridimensional, más concretamente de su conformación y configuración absoluta y solo se miden de manera confiable cuando las muestras con químicamente

²¹ Y. Hamada, S. Shin, *Journal of the University of the Air* **2001**, *19*, 113-143.

puras. De ahí, que el punto de partida para obtener un espectro de VCD sea obtener un buen espectro de IR, de lo contrario no se detectarían las pequeñas diferencias de absorbancia. Por tanto, el resultado de una medición de VCD son dos espectros de vibración: el espectro de IR y el espectro de VCD. A continuación se muestra el espectro de VCD de los dos enantiómeros del alcanfor.²²

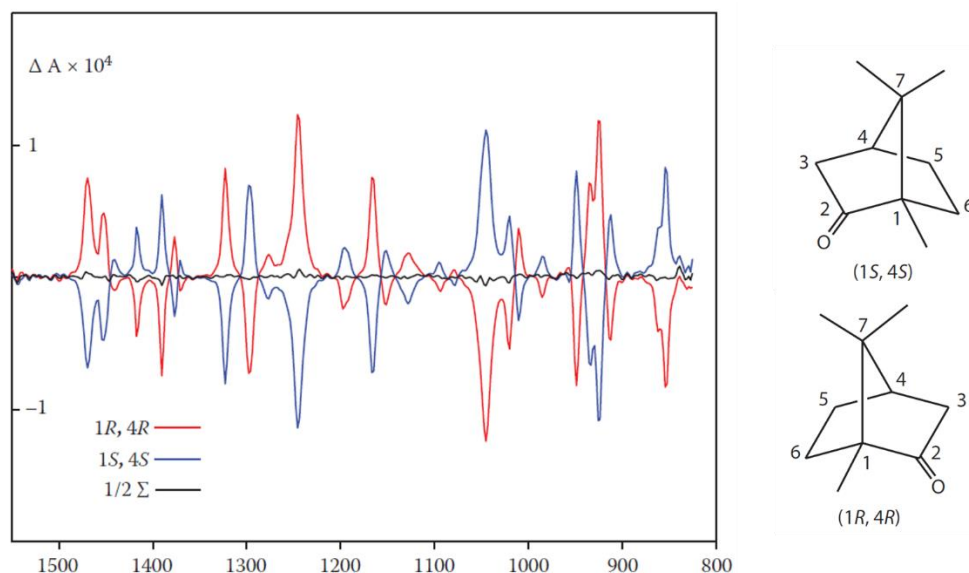


Figura 9. Espectro de VCD de (1S, 4S) y (1R, 4R) alcanfor.

Gracias a la riqueza de bandas y a la alta sensibilidad a los cambios conformacionales moleculares, el VCD no solo es capaz de determinar la configuración absoluta de moléculas quirales, también puede determinar la conformación en disolución de moléculas pequeñas y macromoléculas grandes como péptidos, proteínas, ácidos nucleicos, carbohidratos, productos naturales y moléculas farmacéuticas o para identificar compuestos quirales en una columna cromatografía. En este sentido, el VCD se está empleando como una sonda espectral de identificación cualitativa o cuantitativa de compuestos.

3. Clasificación de los foldámeros

Se han publicado muchas revisiones sobre el campo de los foldámeros,²³ pero no fue hasta 2011 cuando Guichard y Huc realizaron una revisión en la cual dividían a los

²² P. J. Stephens, F. J. Devlin, J. R. Cheeseman, "VCD Spectroscopy for Organic Chemists" Taylor & Francis Group, **2012**.

²³ a) A. R. Sanford, B. Gong, *Curr. Org. Chem.* **2003**, *7*, 1649-1659; b) E. Yashima, K. Maeda, H. Iida, Y. Furusho, K. Nagai, *Chem. Rev.* **2009**, *109*, 6102-6211; c) E. Yashima, N. Ousaka, D. Taura, K. Shimomura, T. Ikai, K. Maeda, *Chem. Rev.* **2016**,

foldámeros en dos grandes familias: los bióticos y los abióticos.²⁴ Los foldámeros bióticos son aquellos cuyo diseño y síntesis han sido guiados por analogía con los biopolímeros con los que comparten principios de plegamiento.^{6,24} En general son peptidomiméticos derivados de aminoácidos naturales o no naturales,²⁵ constituidos principalmente por cadenas alifáticas que pueden asumir una amplia variedad de conformaciones. Gracias al trabajo de Gellman⁴ y Seebach²⁶ sobre la síntesis y el análisis conformacional de los β -péptidos, demostraron la capacidad de los mismos de adoptar conformaciones helicoidales más estables que los α -péptidos. Esto hizo que las investigaciones en el campo de los foldámeros bióticos floreciera, incluyendo nuevas investigaciones sobre sus homólogos superiores γ y δ -péptidos.

3.1 Foldámeros abióticos

En contraste, los foldámeros abióticos presentan esqueletos y modos de plegamiento distintos a los biopolímeros. Por lo general, se basan en cadenas ricas en fragmentos aromáticos rígidos.²⁵

Dependiendo de la fuerza motriz para el plegamiento, estos oligómeros aromáticos no naturales se pueden clasificar en dos categorías principales, aunque hay varios casos en los que se aplica una combinación de ambos: (a) moléculas que se pliegan debido a enlaces de hidrógeno entre las unidades de repetición y (b) aquellas en las que el plegado se debe principalmente a interacciones solvofóbicas o aromáticas.²⁷

3.1.1 Oligómeros aromáticos unidos por enlace de hidrógeno²⁸

En el caso de los foldámeros unidos mediante enlaces de hidrógeno, el plegamiento generalmente requiere un disolvente no polar como el cloroformo, para que no se interrumpa el patrón de enlaces de hidrógeno. En este tipo de foldámeros, el proceso de plegamiento depende de la organización de las unidades donantes yceptoras de enlace

116, 13752-13990; d) E. Yashima, K. Maeda, Y. Furusho, *Acc. Chem. Res.* **2008**, *41*, 1166-1180; e) D.-W. Zhang, X. Zhao, J.-L. Hou, Z.-T. Li, *Chem. Rev.* **2012**, *112*, 5271-5316.

²⁴ G. Guichard, I. Huc, *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 5933-5941.

²⁵ H. Juwarker, J. Suk, K. Jeong, *Chem. Soc. Rev.* **2009**, *38*, 3316-3325.

²⁶ D. Seebach, M. Overhand, F. N. M. Kühnle, B. Martinoni, L. Oberer, U. Hommel, H. Widmer, *Helv. Chim. Acta*, **1996**, *79*, 913-941.

²⁷ I. Saraogi, A. D. Hamilton, *Chem. Soc. Rev.* **2009**, *38*, 1726-1743.

²⁸ a) E. A. Archer, H. Gong, M. J. Krische, *Tetrahedron* **2001**, *57*, 1139-1159; b) D.-W. Zhang, W.-K. Wang, Z.-T. Li *Chem. Rec.* **2015**, *15*, 233-251; c) Para ver más ejemplos sobre sistemas de foldámeros unidos por enlace de hidrógeno ver Ref. 23.

de hidrógeno introducidas en la estructura para favorecer ciertas configuraciones. Según la funcionalidad de los grupos donadores y aceptores que formarán los enlaces de hidrógeno, estos foldámeros pueden dividirse en dos categorías: aquellos en los que los anillos aromáticos están conectados a través de enlaces amida (es decir, oligoamidas) y otros en los que no lo están.²⁷

Las oligoamidas aromáticas han sido la clase de foldámeros abióticos más estudiados.²⁹ Hamilton y colaboradores³⁰ publicaron uno de los primeros ejemplos de un plegamiento helicoidal de oligómeros de arilamida (ver Figura 10). Demostraron que la combinación de derivados del ácido antranílico y de la 2,6-piridindicarboxamida forma enlaces de hidrógeno intramoleculares en las oligoamidas resultantes. La fuerte tendencia del enlace amida a adoptar una disposición *trans* provoca el plegamiento helicoidal de la estructura, permitiendo interacciones de tipo π entre los anillos de antranilamida terminales.

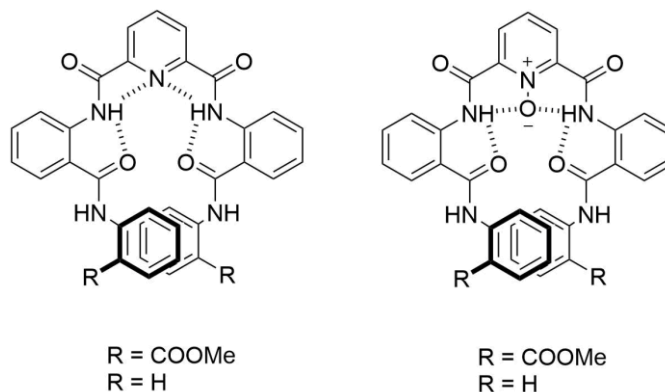


Figura 10. Oligómeros de arilamida.

Basándose en la capacidad que poseen los derivados de antranilamida para formar enlaces de hidrógeno intramoleculares entre los grupos NH y CO adyacentes, el grupo de Hamilton³¹ desarrolló una nueva familia de oligoantranilamidas, constituidas por subunidades de 2,6-piridindicarboxamida y 4,6-dimetoxi-1,3-diaminobenceno acopladas a grupos de antranilamida. Estos nuevos esqueletos originan estructuras helicoidales extendidas con hasta dos vueltas de hélice.

²⁹ I. Huc, *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, 17-29.

³⁰ a) Y. Hamuro, S. J. Geib, A. D. Hamilton, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1994**, *33*, 446-448; b) Y. Hamuro, S. J. Geib, A. D. Hamilton, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 7529-7541.

³¹ Y. Hamuro, S. J. Geib, A. D. Hamilton, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 10587-10593.

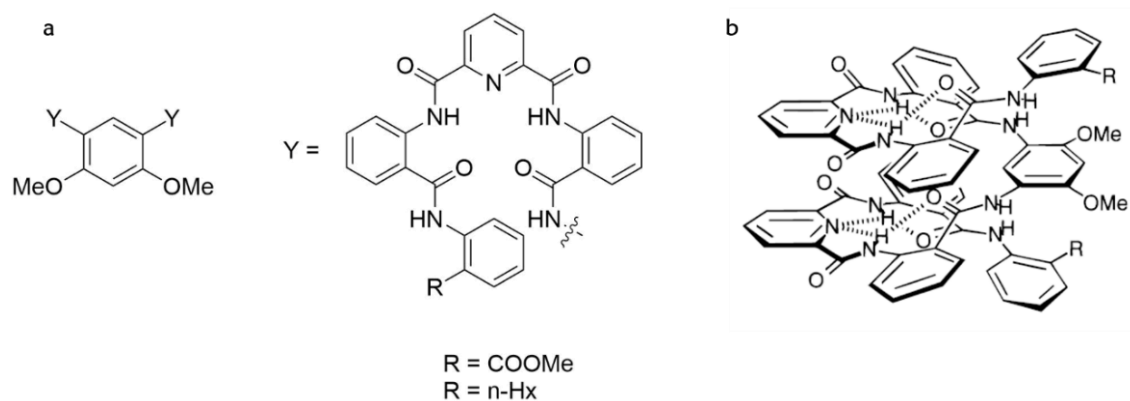


Figura 11. (a) Esqueleto y (b) estructura helicoidal de oligoantranilamidas.

Años más tarde, este mismo grupo describió una nueva familia de estructuras de oligoamida donde la sustitución sistemática y controlada de los anillos de benceno por piridinas permitió variar la curvatura del esqueleto (Figura 12a), generando estructuras miméticas a las α -hélices.³² Esta curvatura era originada por la presencia de enlaces de hidrógeno para satisfacer los requisitos geométricos, consiguiendo la estabilización de la estructura. La sustitución de los anillos de piridina por anillos de benceno suponía la pérdida de los enlaces de hidrógeno con los nitrógenos de las piridinas, provocando un enderezamiento de la estructura (Figura 12b). Las estructuras **II** y **III**, con un enlace de hidrógeno más que **I**, presentaban curvaturas intermedias.

³² I. Saraogi, C. D. Incarvito, A. D. Hamilton, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 9691-9694.

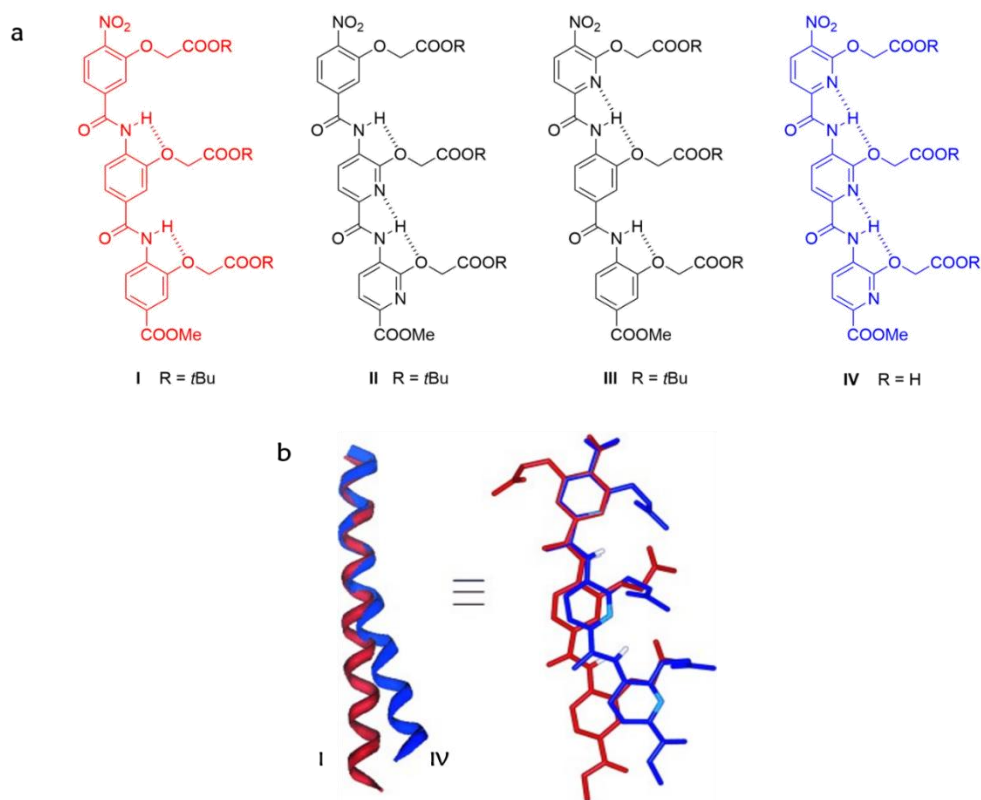


Figura 12. (a) Estructuras de oligoamidas; (b) representación de las estructuras de I y IV superpuestas.

El grupo de DeGrado³³ diseñó foldámeros antibacterianos anfifílicos. En ellos, el átomo de azufre actúa como un aceptor de enlaces de hidrógeno bifurcado, lo que da lugar a una conformación rígida de carácter hidrófobo e hidrófilo en caras opuestas de la estructura (Figura 13a). Este mismo grupo modificó la estructura de los oligómeros de arilamida, introduciendo nuevos grupos capaces de formar enlaces de hidrógeno, para aumentar la solubilidad así como la rigidez conformacional (Figura 13b).³⁴

³³ a) G. N. Tew, D. Liu, B. Chen, R. J. Doerksen, J. Kaplan, P. J. Carroll, M. L. Klein, W. F. DeGrado, *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, **2002**, *99*, 5110-5114; b) D. Liu, S. Choi, B. Chen, R. J. Doerksen, D. J. Clements, J. D. Winkler, M. L. Klein, W. F. DeGrado, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 1158-1162.

³⁴ S. Choi, D. J. Clements, V. Pophristic, I. Ivanov, S. Vemparala, J. S. Bennett, M. L. Klein, J. D. Winkler, W. F. DeGrado, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 6685-6689.

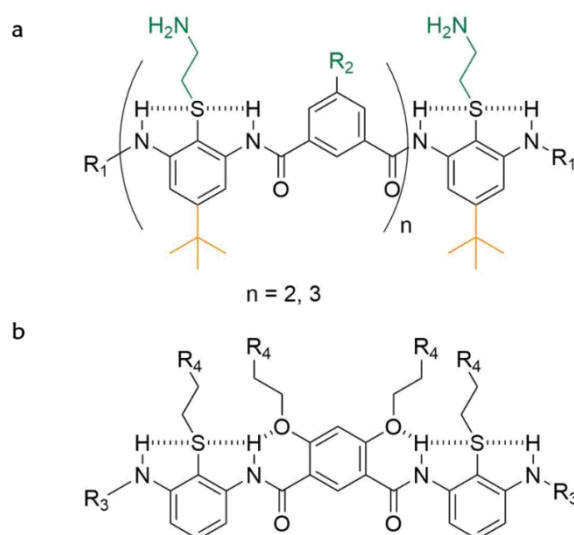


Figura 13. Esqueletos de oligómeros de arilamida de DeGrado.

Poco después, el grupo de Tew³⁵ sintetizó análogos estructurales antibacterianos a los publicados previamente por DeGrado y colaboradores (ver Figura 13), en los que el anillo de benceno fue reemplazado por un anillo de pirimidina. En las nuevas estructuras, los átomos de nitrógeno del anillo de pirimidina permitían la formación de enlaces de hidrógeno adicionales dotando a las estructuras de una mayor rigidez, además de presentar una actividad antibacteriana mucho más potente.

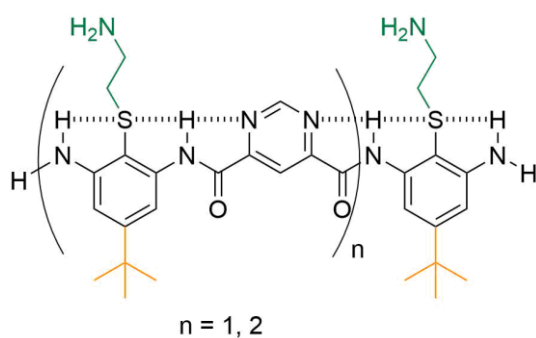


Figura 14. Modificación del esqueleto de arilamidas por Tew.

Posteriormente, Lehn y colaboradores publicaron una nueva familia de foldámeros compuestos por la repetición de unidades de 2,6-diaminopiridina y 2,6-piridindicarbonilo que adoptaban conformaciones helicoidales, tanto en disolución como en estado sólido, gracias a los enlaces de hidrógeno y a interacciones de tipo π -stacking, en cloroformo y

³⁵ H. Tang, R. J. Doerksen, T. V. Jones, M. L. Klein, G. N. Tew, *Chem. Biol.* **2006**, *13*, 427-435.

dimetilsulfóxido.³⁶ Tras la adición de ácido, se produce la protonación regioselectiva de los anillos de 2,6-diaminopiridina, lo que conduce a un cambio de conformación permitiendo la formación de nuevos enlaces de hidrógeno entre los grupos carbonilo y los cationes de piridinio (Figura 15a) y, por tanto, la pérdida del carácter helicoidal. Esta pérdida de helicidad es completamente reversible y se restablece cuando se agrega exceso de trietilamina al sistema.³⁷ Estos foldámeros son racémicos en disolución, pero muestran quiralidad cuando se disuelven en disolventes quirales (L- y D- tartrato de dietilo).³⁸

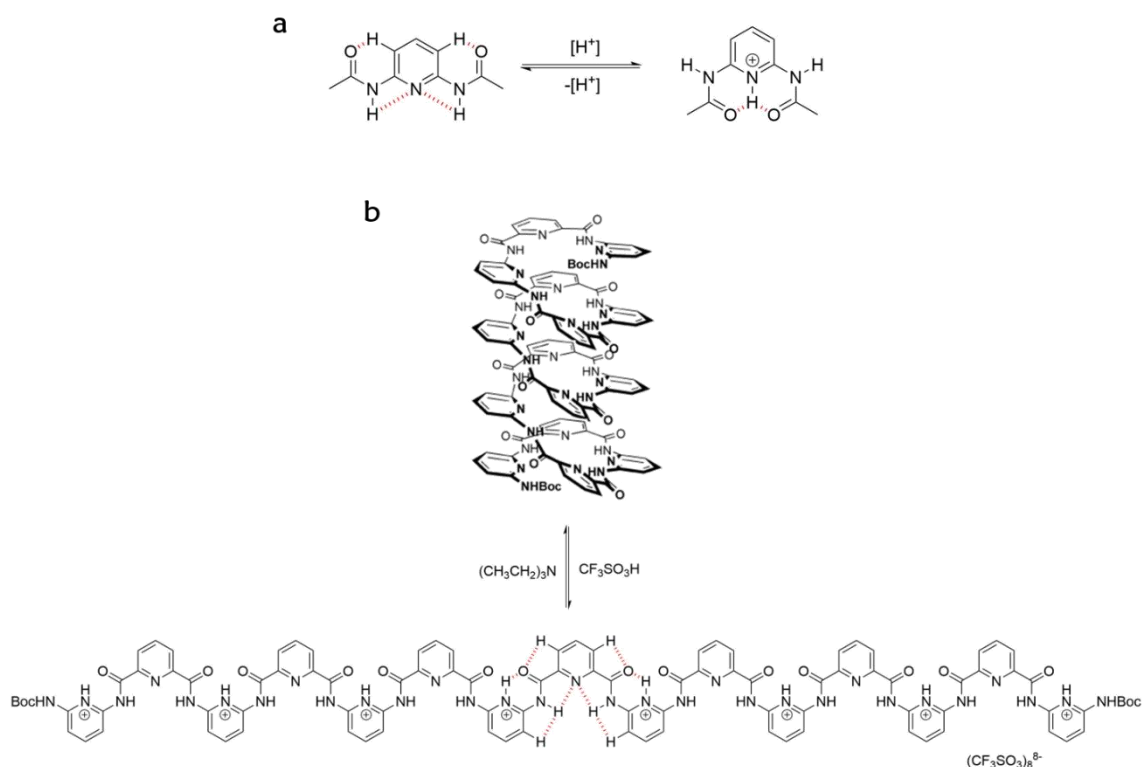


Figura 15. (a) Cambios conformacionales de las unidades de 2,6-diamocarbonipiridina inducidos por protonación/desprotonación; (b) plegamiento reversible de oligoamidas.

En un intento por obtener ensamblajes de orden superior a partir de sistemas de arilamida, Huc y colaboradores³⁹ sintetizaron oligómeros de ácido 7-amino-8-fluorquinolin-2-carboxílico (ver Figura 16a). Mediante difracción de rayos X, descubrieron que

³⁶ a) V. Berl, I. Huc, R. G. Khoury, M. J. Krische, J. M. Lehn, *Nature* **2000**, *407*, 420-423; b) V. Berl, I. Huc, R. G. Khoury, J. M. Lehn, *Chem. Eur. J.* **2001**, *7*, 2798-2809.

³⁷ E. Kolomiets, V. Berl, I. Odriozola, A. M. Stadler, N. Kyritsakas, J. M. Lehn, *Chem. Commun.* **2003**, 2868-2869.

³⁸ E. Kolomiets, V. Berl, J. M. Lehn, *Chem. Eur. J.* **2007**, *13*, 5466-5479.

³⁹ Q. Gan, C. Y. Bao, B. Kauffmann, A. Grelard, J. F. Xiang, S. H. Liu, I. Huc, H. Jiang, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2008**, *47*, 1715-1718.

las subunidades del tetrámero **V** adoptaban una disposición de cuádruple hélice, mientras que el octámero **VI** dimerizaba como una hélice antiparalela (Figura 16b y c).

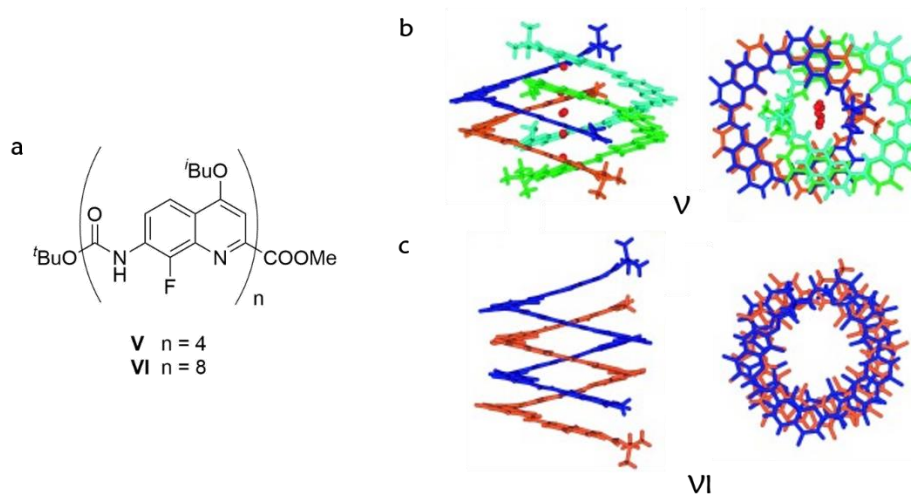


Figura 16. (a) Estructura de oligómeros de 7-amino-8-fluoro-quinolin-2-carboxílico; (b) hélice cuádruple de **V** y (c) hélice doble de **VI**.

Similar al grupo amida, el grupo urea se distingue por su rigidez, planaridad y capacidad de formar enlaces de hidrógeno. Según esto, el grupo de Gong⁴⁰ preparó una familia de foldámeros basados en oligoureas aromáticas, cuyo plegamiento se debe a la formación de enlaces de hidrógeno intramoleculares entre los diferentes grupos amidas. La organización de las estructuras de diarilureas **VII**, debidas a la formación de dos enlaces de hidrógeno muy fuertes, dejaba los extremos del foldámero muy cerca, lo que permitió realizar una ciclación y obtener el macrociclo **VIII**, selectivo a la coordinación de cationes de potasio.

⁴⁰ A. M. Zhang, Y. H. Han, K. Yamato, X. C. Zeng, B. Gong, *Org. Lett.* **2006**, *8*, 803-806.

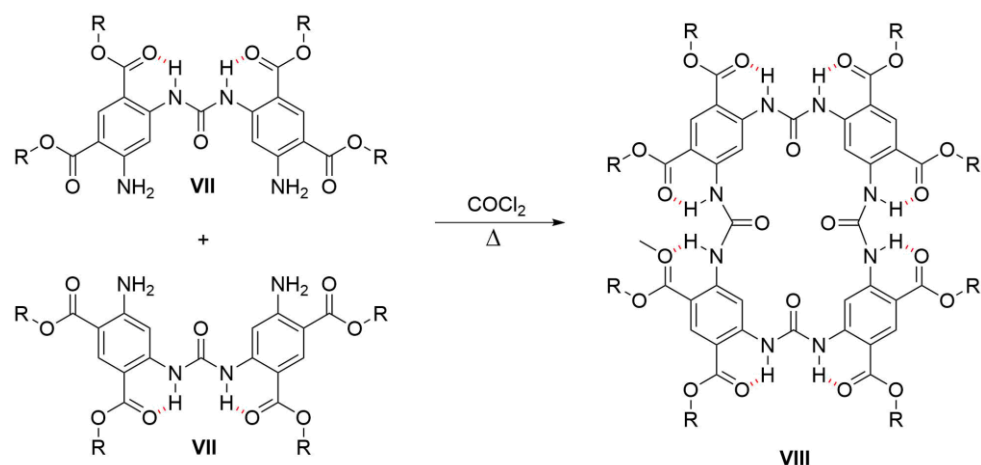


Figura 17. Síntesis del macrociclo VIII.

Más recientemente, este mismo grupo realizó la síntesis de oligoureas aromáticas en las que las cadenas laterales del éster IX se reemplazaron por grupos de éter fenólicos como se observa en el compuesto X (Figura 18a).⁴¹ Esta modificación, les permitió obtener oligoureas de mayor longitud, que adoptaban conformaciones helicoidales en DMF con hasta cuatro vueltas de hélice, además de presentar una cavidad interior hidrófila de tamaño subnanométrico.

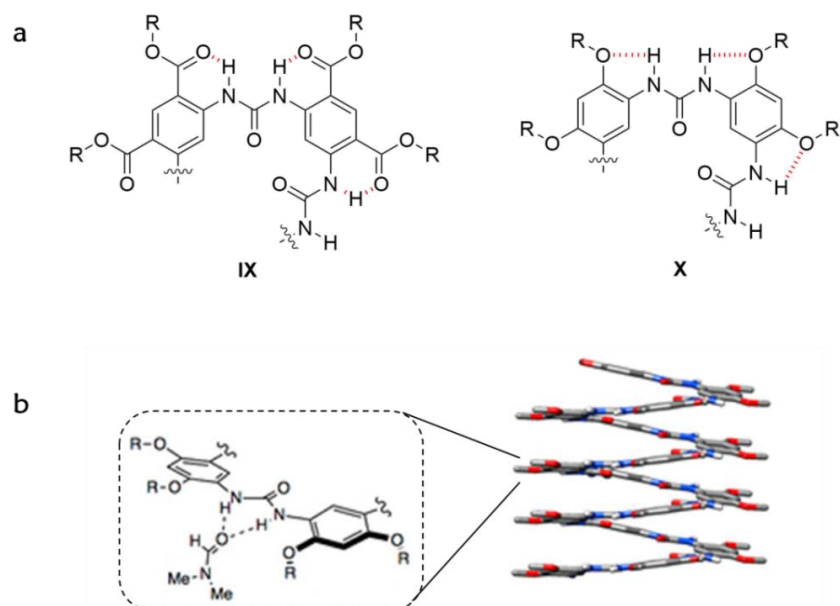


Figura 18. (a) Comparación de estructuras de oligómeros; (b) conformación helicoidal de oligoureas.

⁴¹ T. Hu, A. L. Connor, D. P. Miller, X. Wang, Q. Pei, R. Liu, L. He, C. Zheng, E. Zurek, Z.-l. Lu, B. Gong, *Org. Lett.* **2017**, *19*, 2666-2669.

Por otra parte, Meijer y colaboradores⁴² describieron el plegamiento de oligómeros de poli(ureidofalimida) debido a las interacciones por enlaces de hidrógeno entre los hidrógenos de urea y el grupo carbonilo del fragmento de ftalimida (Figura 19). Para ampliar el alcance de este sistema, incorporaron a la estructura diversas funcionalidades, entre ellas unidades de PEG (polietilenglicol), con el objetivo de incrementar su solubilidad en agua.⁴³ El plegamiento en medio acuoso, impulsado por interacciones solvofóbicas y enlaces de hidrógeno, pudo ser monitorizado por CD mediante la introducción de centros quirales en las cadenas de PEG. El cambio de disolvente, de THF a agua, originó a su vez un cambio en el sentido de la helicidad de la estructura.

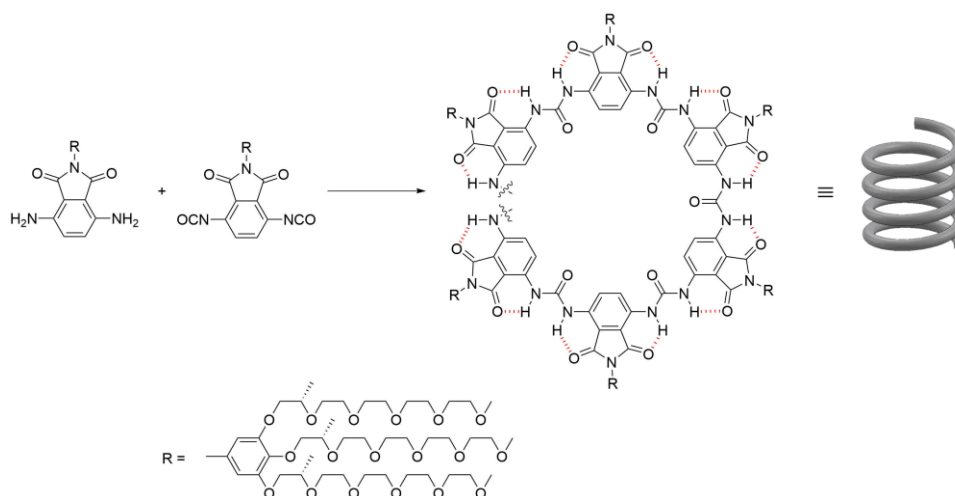


Figura 19. Plegamiento helicoidal de la poli(ureidofthalimida) por la formación de enlaces de hidrógeno.

Otro tipo de foldámeros que basan su plegamiento en interacciones por enlaces de hidrógeno son aquellos basados en hidrazidas, publicados por el grupo de Li.⁴⁴ Estos foldámeros forman vesículas esféricas al calentarse en metanol, gracias a la cooperación entre enlaces de hidrógeno, interacciones de Van der Waals y π -stacking, lo que pudo demostrarse usando técnicas de imagen como la microscopía electrónica de barrido (SEM), microscopía de fuerza atómica (AFM) y microscopía electrónica de transmisión (TEM). Estas estructuras, fácilmente modificables, podrían encontrar aplicaciones de interés en nanotecnología e ingeniería biomédica.

⁴² J. J. van Gorp, J. A. J. M. Vekemans, E. W. Meijer, *Chem. Commun.* **2004**, 60-61.

⁴³ a) R. W. Sinkeldam, M. van Houtem, G. Koeckelberghs, J. Vekemans, E. W. Meijer, *Org. Lett.* **2006**, *8*, 383-385; b) R. W. Sinkeldam, M. van Houtem, K. Pieterse, J. Vekemans, E. W. Meijer, *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 6129-6137.

⁴⁴ W. Cai, G. T. Wang, Y. X. Xu, X. K. Jiang, Z. T. Li, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 6936-6937.

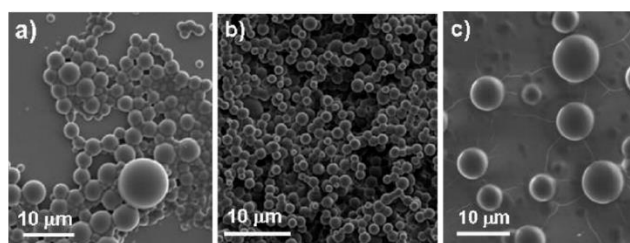
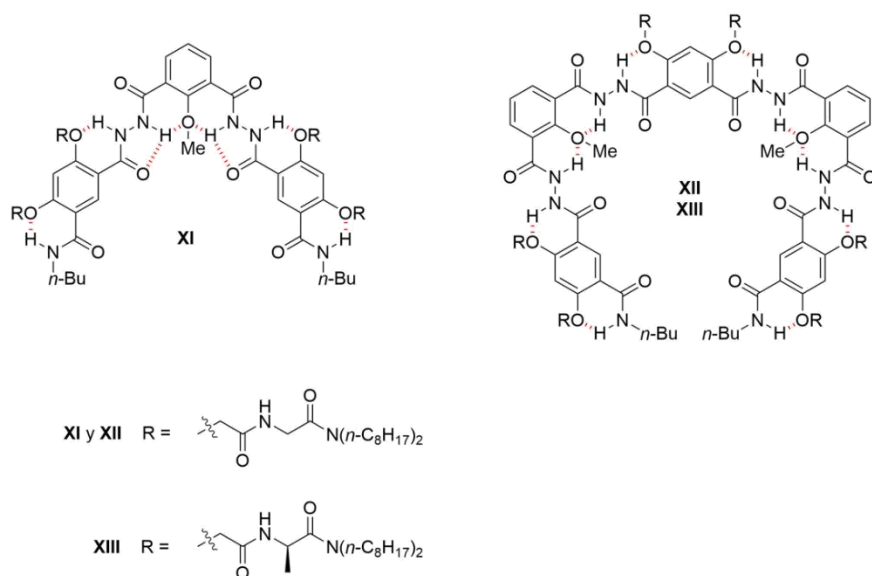


Figura 20. Imágenes de SEM de las vesículas formadas por (a) **XI**; (b) **XII**; (c) **XIII**.

3.1.2 Oligómeros aromáticos basados en interacciones solvofóbicas y/o π -stacking

Este tipo de foldámeros están formados, generalmente, por sistemas de anillos hidrofóbicos que poseen cadenas polares en su estructura. El plegamiento, en este caso, es inducido por interacciones de tipo π -stacking, así como por las interacciones entre las cadenas laterales y el disolvente, que evitan el contacto con el esqueleto central de la estructura. A diferencia de los foldámeros mencionados en el apartado anterior, que basan su plegamiento en enlaces de hidrógeno, esta clase de foldámeros hidrofóbicos permiten el uso de disolventes de naturaleza más polar, como disoluciones acuosas.

Los foldámeros basados en este tipo de interacciones pueden clasificarse en cuatro categorías: (a) foldámeros estabilizados por unidades aromáticas idénticas adyacentes, (b) foldámeros estabilizados por unidades aromáticas donante-receptor adyacentes, (c) foldámeros estabilizados por unidades alifáticas y (d) foldámeros estabilizados por unidades aromáticas no adyacentes. Los términos adyacente y no adyacente se refieren a la relación existente entre las unidades que contribuyen significativamente al plegamiento (Figura 21). El foldámero aromático más simple que puede imaginarse consistiría en

unidades aromáticas idénticas enlazadas mediante espaciadores. En tal estructura, las unidades que interactúan entre sí estarían separadas solo por espaciadores (Figura 21a). Por otro lado, en la estructura de la Figura 21b, las unidades que interactúan entre sí (A–B o C–D) se encuentran separadas por espaciadores, así como por otra unidad aromática (C o B), clasificándose como foldámeros estabilizados por unidades no adyacentes.²⁷

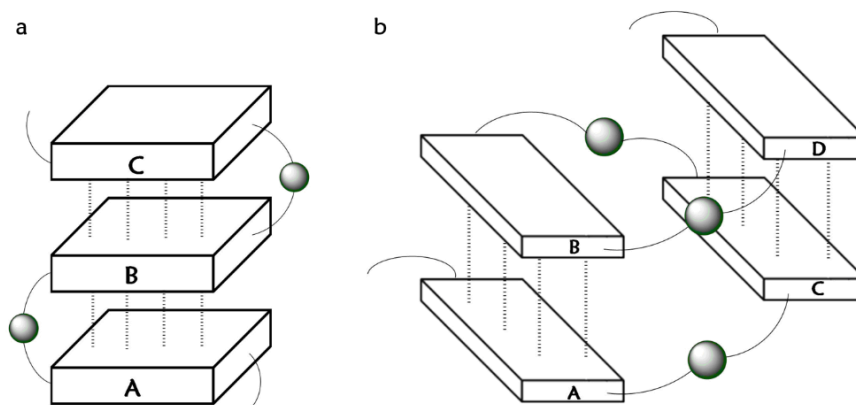


Figura 21. Representación esquemática de foldámeros estabilizados por (a) unidades aromáticas adyacentes y (b) no adyacentes. A, B, C y D representan las unidades aromáticas y los círculos el espaciador entre las mismas. Las líneas de puntos denotan interacciones solvofóbicas, van der Waals y electrostáticas.

a. Foldámeros estabilizados por unidades aromáticas idénticas adyacentes

Algunos de los primeros foldámeros aromáticos de este tipo fueron desarrollados por Shudo y colaboradores.⁴⁵ Estos foldámeros se basan en amidas, ureas y guanidinas que presentan orientación a *cis* gracias a la presencia de varios grupos de tipo alquilo en los átomos de nitrógeno (Figura 22a). Estos autores demostraron que tanto el compuesto **XIV** como el **XV** adoptaban conformaciones multicapas plegadas mediante interacciones de tipo π -stacking en estado sólido y en disolución, lo que fue confirmado por rayos X y espectroscopia de RMN de ^1H y NOE (Figura 22b).⁴⁶

⁴⁵ a) K. Yamaguchi, G. Matsumura, H. Kagechika, I. Azumaya, Y. Ito, A. Itai, K. Shudo, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 5474-5475; b) A. Tanatani, H. Kagechika, I. Azumaya, R. Fukutomi, Y. Ito, K. Yamaguchi, K. Shudo, *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 4425-4428; c) A. Tanatani, H. Kagechika, I. Azumaya, K. Yamaguchi, K. Shudo, *Chem. Pharm. Bull.* **1996**, *44*, 1135-1137.

⁴⁶ A. Tanatani, K. Yamaguchi, I. Azumaya, R. Fukutomi, K. Shudo, H. Kagechika, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 6433-6442.

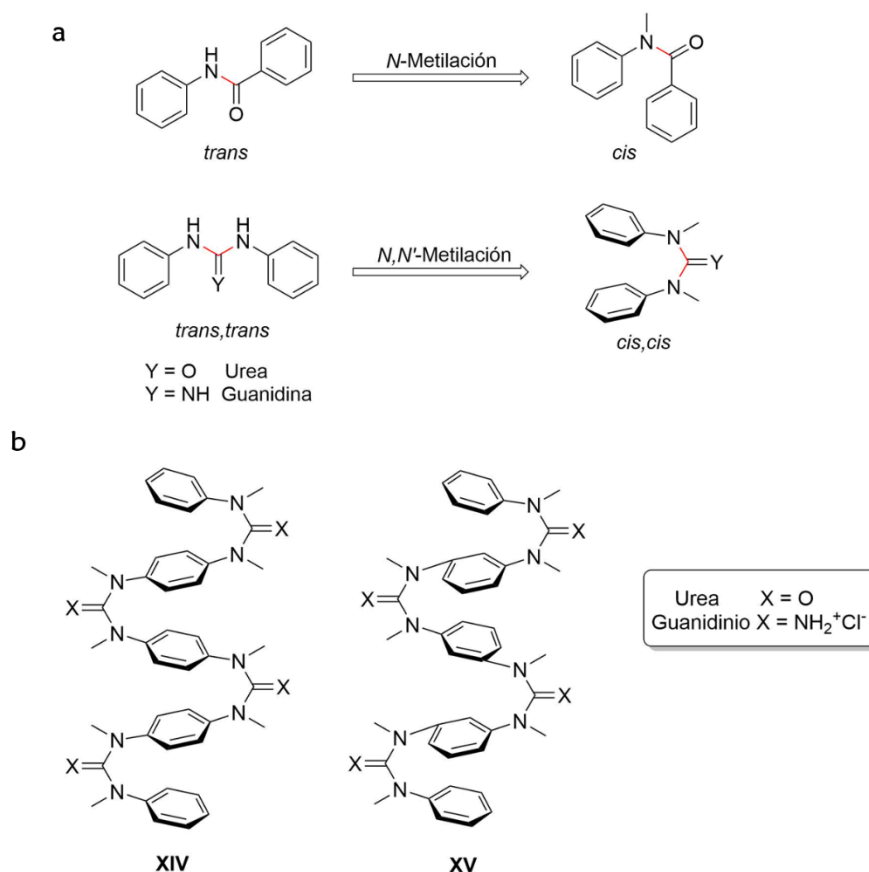


Figura 22. (a) Preferencia por conformación *cis* de amidas, ureas y guanidinas *N*-metiladas; (b) estructura de tetra *p*-fenilureas y *p*-guanidinas (**XIV**); y *m*-fenilureas y *m*-guanidinas (**XV**).

Siguiendo con el mismo tipo de estructuras, el grupo de Tanatani introdujo sustituyentes quirales en los átomos de nitrógeno de los anillos aromáticos centrales de la estructura de oligo(*m*-fenilurea).⁴⁷ De esta forma pudieron determinar mediante CD y VCD la configuración absoluta helicoidal, demostrando así la inducción de quiralidad desde las cadenas laterales al esqueleto central. Además, se pudo extender este estudio a oligoureas de mayor longitud, de hasta seis enlaces urea.⁴⁸

⁴⁷ M. Kudo, T. Hanashima, A. Muranaka, H. Sato, M. Uchiyama, I. Azumaya, T. Hirano, H. Kagechika, A. Tanatani, *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 8154-8163.

⁴⁸ M. Kudo, K. Katagiri, I. Azumaya, H. Kagechika, A. Tanatani, *Tetrahedron* **2012**, *68*, 4455-4463.

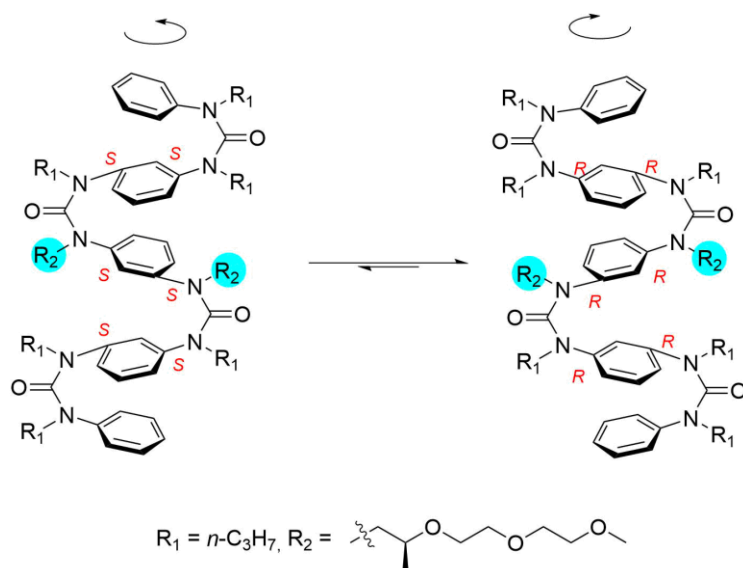


Figura 23. Conformación preferencial helicoidal por la presencia de la cadena quiral.

El grupo de Kohmoto⁴⁹ sintetizó carboxamidas que presentaban grupos de naftaleno en la estructura, las cuales adoptaban una conformación helicoidal tanto en disolución como en estado sólido. Demostraron que la sustitución del nitrógeno no estaba limitada solamente a grupos metilo, sino que podían emplearse grupos más voluminosos como el bencilo o el (*S*)-1-(1-naftil)etilo, promoviendo la conformación *cis* más favorable para el plegamiento. La introducción de un auxiliar quiral como (*S*)-1-(1-naftil)etilo permitió controlar la helicidad del foldámero, dando lugar al predominio de una hélice, lo que condujo a la inducción de una señal de CD.

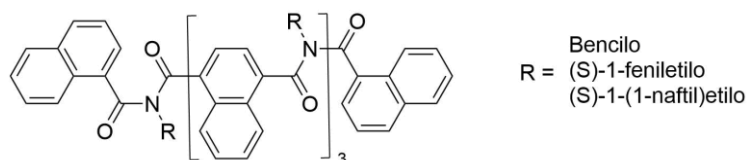


Figura 24. Estructuras de las diferentes carboxamidas sintetizadas por el grupo de Kohmoto.

Vögtle y colaboradores⁵⁰ prepararon foldámeros compuestos por varias unidades de [3.3]metaciclofano mediante un método iterativo, con el objetivo de sintetizar un ciclofano tubular. El análisis estructural mediante rayos X y espectroscopia de RMN demostró que estas moléculas presentaban una conformación en forma de zig-zag (tipo

⁴⁹ H. Masu, M. Sakai, K. Kishikawa, M. Yamamoto, K. Yamaguchi, S. Kohmoto, *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 1423-1431.

⁵⁰ a) S. Breidenbach, S. Ohren, M. Nieger, F. Vögtle, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1995**, 1237-1238; b) S. Breidenbach, S. Ohren, F. Vögtle, *Chem. Eur. J.* **1996**, *2*, 832-837.

meandro), en las que los anillos de benceno estaban en planos paralelos con los grupos tosilo orientados hacia fuera, permitiendo el plegamiento de la estructura mediante interacciones de tipo π -stacking (Figura 25a). Con el objetivo de extender la versatilidad de este método, los grupos tosilo fueron reemplazados por otros sustituyentes, así como los anillos de benceno por unidades de bifenilo, aumentando el diámetro y el tamaño de la cinta molecular (Figura 25b).⁵¹

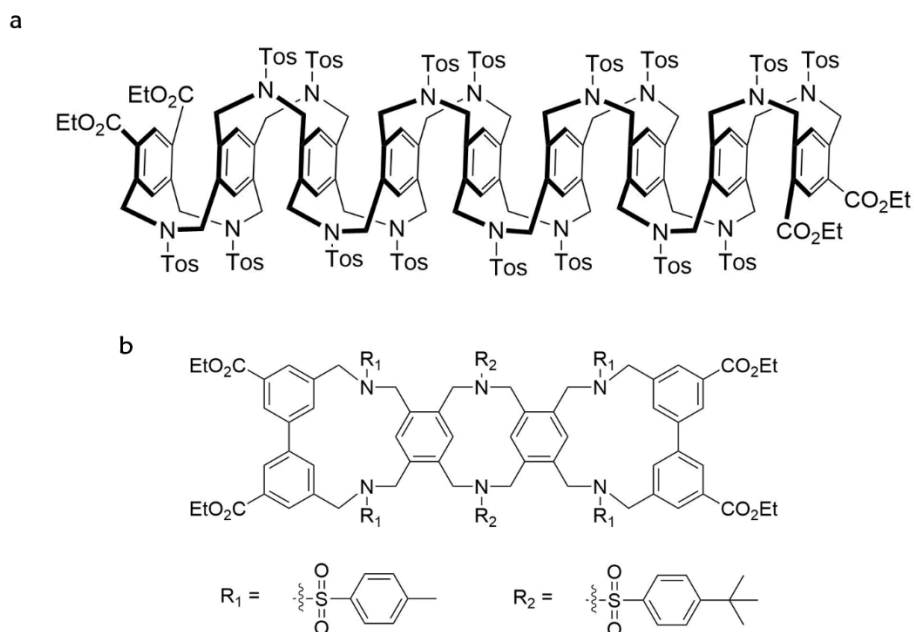


Figura 25. (a) Estructura en zig-zag y (b) modificaciones de las estructuras de foldámeros de [3,3]metaciclofano.

En 2003, el grupo del Prof. Rathore⁵² sintetizó una serie de oligofluorenos con un grupo metileno como único espaciador, apilados por π -stacking. Estos foldámeros conservaban su conformación tanto en disolución como en estado sólido, según se demostró mediante espectroscopia de RMN y cristalografía de rayos X. La diferencia entre éste y la mayoría de foldámeros es que los grupos aromáticos están en las cadenas laterales en lugar de en la cadena principal de la molécula. Con los fluorenos estrechamente apilados, el potencial de oxidación disminuía de 1.74 V para el monofluoreno a 1.14 V para el derivado de tetrafluoreno. Esto podría proporcionar cierta comprensión acerca del fenómeno de transporte de electrones observado en el ADN a través de bases apiladas

⁵¹ W. Boomgaarden, F. Vögtle, M. Nieger, H. Hupfer, *Chem. Eur. J.* **1999**, *5*, 345-355.

⁵² R. Rathore, S. H. Abdelwahed, I. A. Guzei, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 8712-8713.

mediante π -stacking. Además, este fenómeno podría permitir el desarrollo de cables moleculares para su aplicación práctica en el campo emergente de la nanotecnología.

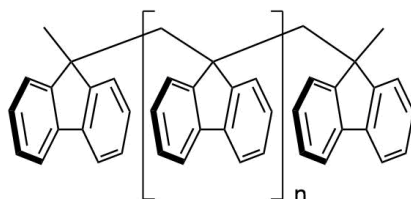


Figura 26. Estructura de oligofluorenos.

Janssen y colaboradores⁵³ sintetizaron polímeros de distinta longitud basados en unidades del cromóforo bisimida perileno conectados por cadenas de politetrahidrofurano. Estas estructuras se organizaban en disolución de *o*-diclorobenceno (ODCB) gracias al apilamiento π de los cromóforos, demostrando su gran estabilidad incluso en disolventes aromáticos. Estudios de absorción UV-Vis y fluorescencia revelaron este apilamiento π , el cual disminuía al aumentar la temperatura y la longitud de las cadenas de politetrahidrofurano.

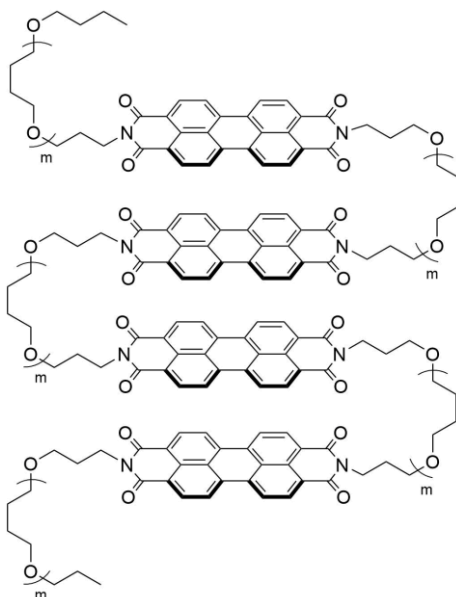


Figura 27. Estructura apilada de bisimida perileno.

⁵³ a) E. E. Neuteboom, R. A. J. Janssen, E. W. Meijer, *Synthetic Met.* **2001**, *121*, 1283-1284; b) E. E. Neuteboom, S. C. J. Maskers, E. W. Meijer, R. A. J. Janssen, *Macromol. Chem. Phys.* **2004**, *205*, 217-222.

b. Foldámeros estabilizados por unidades aromáticas donante-receptor adyacentes

Una forma de mejorar la selectividad en las interacciones entre los anillos es polarizar los sistemas aromáticos y hacer que una unidad sea rica en electrones y la otra deficiente. Así, con dos tipos diferentes de unidades monoméricas en un oligómero lineal, podríamos obtener diferentes plegamientos. A este tipo de foldámeros se les denominó “*aedamers*” (foldámeros electroceptor-donantes).

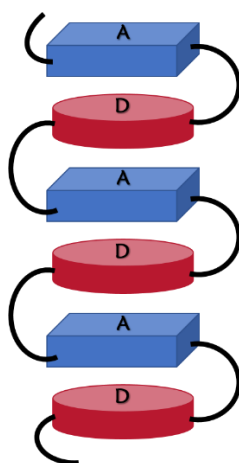


Figura 28. Representación esquemática de un “*aedamers*”.

Esta estrategia fue desarrollada por Iverson y colaboradores⁵⁴, que sintetizaron foldámeros de este tipo intercalando el 1,5-dialcoxinaftaleno (DAN) rico en electrones y derivados diimida del ácido 1,4,5,8-naftalenotetracarboxílico (NDI) pobre en electrones, separados por enlaces sustituidos alternativamente con aminoácidos hidrófobos e hidrófilos (Figura 29a).⁵⁵ A temperatura ambiente, estas moléculas plegaron en estructuras helicoidales en una disolución tampón, debido a las interacciones solvofóbicas y aromáticas. Aprovechando las propiedades inherentes de reconocimiento entre las unidades donantes y receptoras, estos autores consiguieron obtener dos tipologías de plegamiento distintas en disoluciones acuosas en función del patrón sintético (Figura 29b).⁵⁶

⁵⁴ R. S. Lokey, B. L. Iverson, *Nature* **1995**, *375*, 303-305.

⁵⁵ a) J. Q. Nguyen, B. L. Iverson, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 2639- 2640; b) V. J. Bradford, B. L. Iverson, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 1517- 1524.

⁵⁶ G. J. Gabriel, S. Sorey, B. L. Iverson, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 2637-2640.

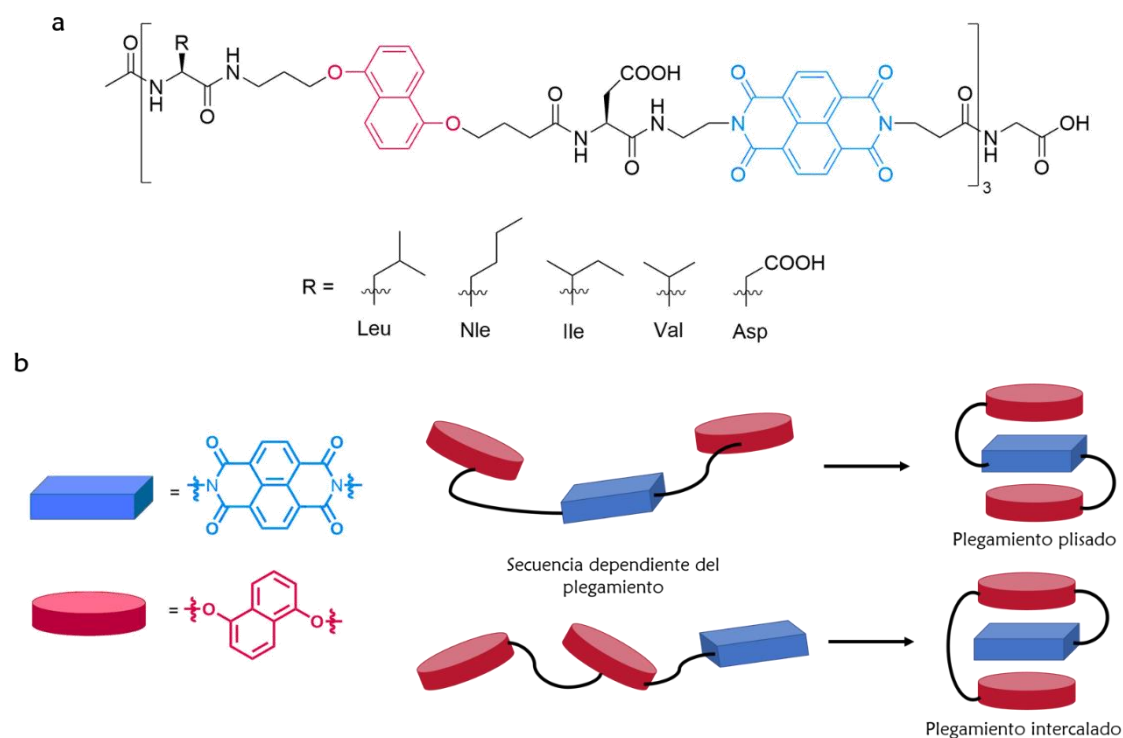


Figura 29. (a) Estructuras y (b) diferentes tipologías de plegamiento de *aedamers*.

Aprovechando esta estrategia, se pudieron generar foldámeros de doble cadena a partir de una cadena aceptora y otra donadora.⁵⁷

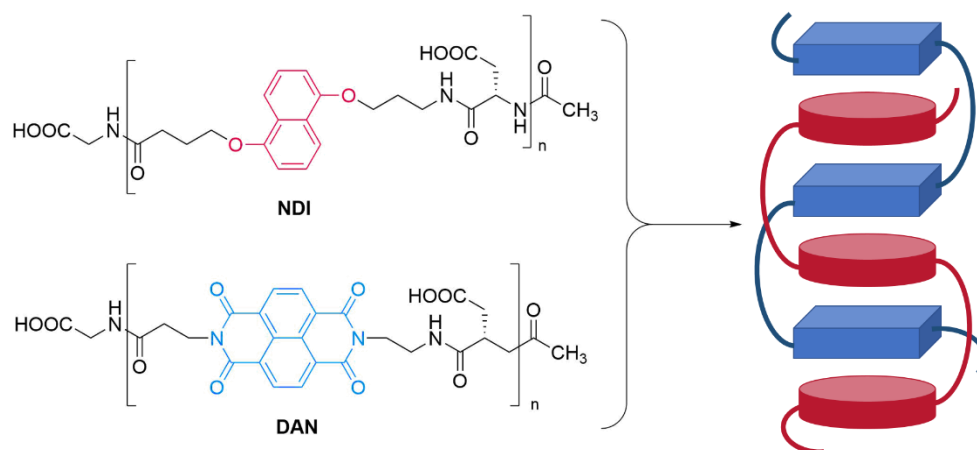


Figura 30. Síntesis de cadena doble de *aedamers*.

⁵⁷ G. J. Gabriel, B. L. Iverson, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 15174-15175.

Otro ejemplo de foldámero tipo “*aedamers*” fue presentado por Ramakrishnan y colaboradores.⁵⁸ En este caso emplearon espaciadores mucho más largos entre las unidades aromáticas en comparación con las estructuras mostradas anteriormente. En concreto, se empleó el espaciador oligo(oxietileno), que favorece el plegamiento de las cadenas debido a interacciones solvofóbicas, a la vez que es capaz de coordinarse con iones de metales alcalinos, dando rigidez a la estructura y favoreciendo las interacciones aromáticas.

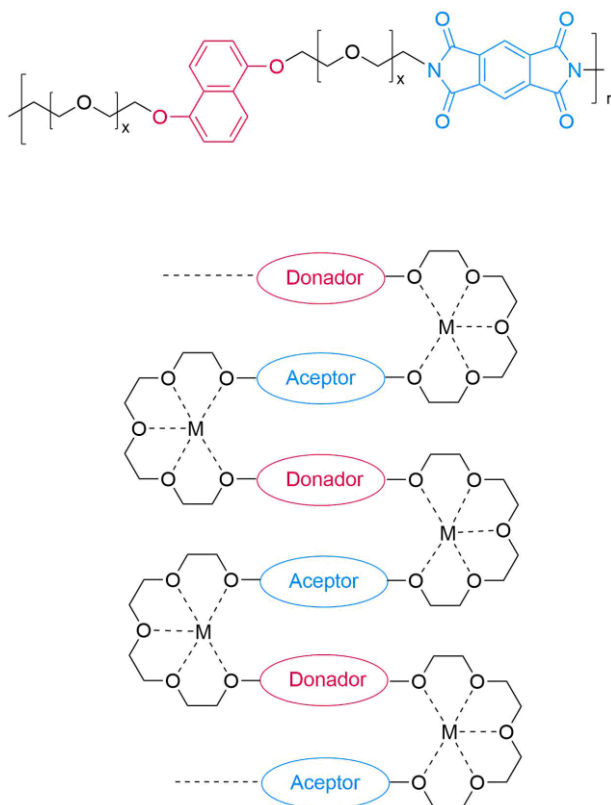


Figura 31. Estructura de *aedamers* sintetizado por Ramakrishnan.

Gunter y colaboradores⁵⁹ publicaron el plegamiento de naftalendiimidias (NDI) y porfirinas conectadas mediante secuencias de PEG. El plegado es impulsado por las interacciones π - π entre los sistemas aromáticos, originando estructuras en forma de S. El plegamiento se interrumpe por la presencia de disolventes aromáticos competitivos, como

⁵⁸ a) S. Ghosh, S. Ramakrishnan, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2004**, *43*, 3264-3268; b) S. Ghosh, S. Ramakrishnan, *Macromolecules* **2005**, *38*, 676-686.

⁵⁹ Z. Merican, K. D. Johnstone, M. J. Gunter, *Org. Biomol. Chem.* **2008**, *6*, 2534-2543.

el benceno, cuando la porfirina está impedida estéricamente, se encuentra protonada o está hexacoordinada.

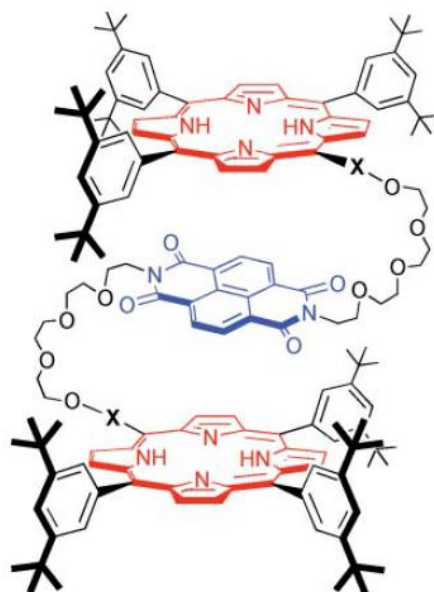


Figura 32. Aedamer a base de porfirinas y naftalendiimidias.

c. Foldámeros estabilizados por unidades alifáticas

El uso de compuestos alifáticos para construir estructuras bien definidas suele ser difícil ya que, a diferencia de los grupos aromáticos que tienen unas orientaciones preferidas, los productos alifáticos presentan poca restricción geométrica en los procesos de agregación, puesto que los más utilizados suelen ser cadenas de hidrocarburos flexibles, con libertad de movimiento.

En este sentido, Zhao y colaboradores⁶⁰ solventaron este problema empleando el ácido cólico como unidad base para la construcción de estructuras mayores. El ácido cólico presenta una serie de características que lo hacían muy útil para tal fin: (a) una estructura bastante rígida formada por cuatro anillos fusionados, que le otorga una curvatura natural; (b) es anfifílico, ya que presenta una cara hidroxilada (cara α) y otra con hidrocarburos (cara β); y (c) la distancia entre el carboxilo y el grupo hidroxilo en posición C-3 es aproximadamente de 1.4 nm. Por lo tanto, oligómeros con pocas unidades de repetición alcanzarían varios nanómetros en dimensión.

⁶⁰ Y. Zhao, Z. Zhong, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 17894-17901.

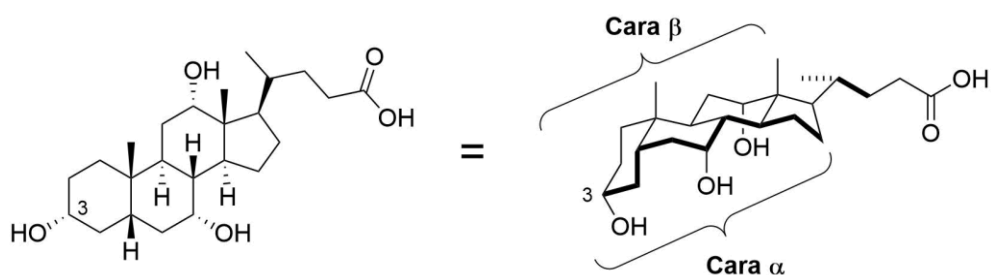


Figura 33. Estructura del ácido cólico.

Gracias a estas características, estos autores pudieron sintetizar un foldámero a base de colatos que podían plegarse en disolventes apolares originando estructuras helicoidales con una cavidad interna hidrofílica de tamaño nanométrico, dando lugar a una micela inversa (Figura 34). En este caso, el plegamiento solo era impulsado por las interacciones solvofóbicas, lo que lo hacía altamente sensible a los cambios de disolvente. Pequeñas variaciones en la composición del disolvente (<0.5%) pueden ser detectadas fácilmente. La alta sensibilidad hacia el cambio de disolvente probablemente se deba a la falta de otras interacciones intramoleculares (por ejemplo π -stacking o enlace de hidrógeno).

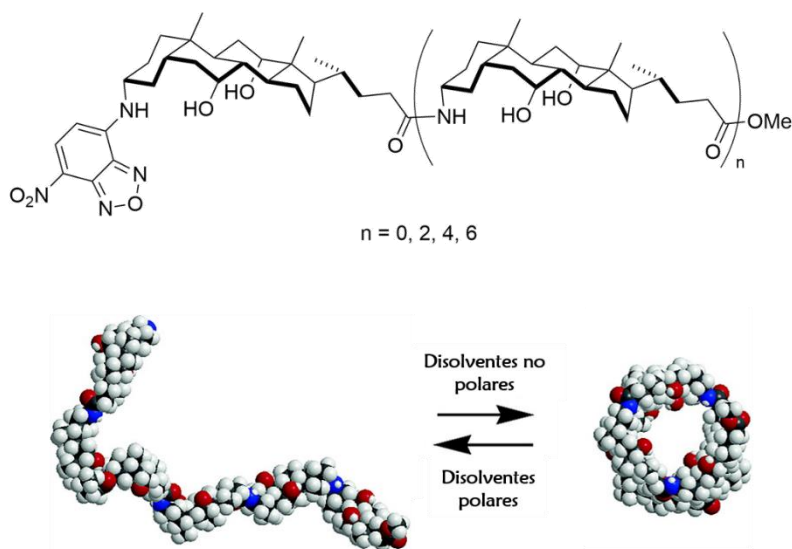


Figura 34. Plegamiento del foldámero a base de colatos.

Estos cambios conformacionales fueron aprovechados por este mismo grupo para la síntesis de un sensor de iones Hg(II) .⁶¹ Los foldámeros se funcionalizaron con metionina, permitiendo la coordinación a los iones de mercurio. Además, se introdujo un grupo

⁶¹ a) Y. Zhao, Z. Zhong, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 9988-9989; b) Y. Zhao, Z. Zhong, *Org. Lett.* **2006**, *8*, 4715-4717.

dansilo, permitiendo estudiar el comportamiento conformacional de estas estructuras mediante la transferencia de energía de resonancia de fluorescencia (FRET).

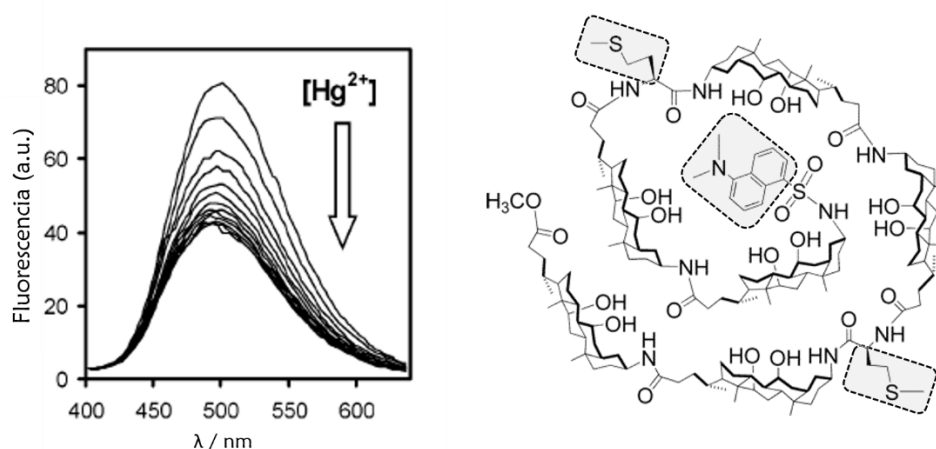


Figura 35. Sensor de iones Hg(II).

d. Foldámeros estabilizados por unidades aromáticas no adyacentes

Como hemos visto en los casos anteriores, las conformaciones de los foldámeros estaban predeterminadas por las configuraciones de los enlaces o favorecidas por espaciadores cortos entre las unidades aromáticas, y era poco probable que las estructuras se desplegaran. Para conseguir la reversibilidad en el plegamiento es necesario introducir flexibilidad en la estructura, que es lo que se consiguió con los “*aedarmers*”. Pero las estructuras finales estaban limitadas a columnas de anillos aromáticos apilados. Por ello, para obtener otro tipo de motivos de plegamiento es necesario estabilizar los foldámeros mediante interacciones entre unidades no adyacentes.²

Uno de los primeros ejemplos de esta clase de foldámeros fue publicado por Moore y colaboradores.⁶² En este trabajo describieron por primera vez que, en disolución, oligómeros de *m*-fenilacetileno (*m*-OPE) adquieren de forma espontánea una conformación helicoidal estable gracias a las interacciones solvofóbicas, dejando en su interior una cavidad tubular bien definida ($n > 8$). Las interacciones de π -stacking entre los anillos aromáticos eran sensibles a la longitud de la cadena, la polaridad del disolvente y a la temperatura. Espectros de UV, ¹H RMN y fluorescencia demostraron la formación

⁶² a) J. C. Nelson, J. G. Saven, J. S. Moore, P. G. Wolynes, *Science* **1997**, *277*, 1793-1796; b) R. B. Prince, J. G. Saven, P. G. Wolynes, J. S. Moore, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 3114-3121; c) S. Lahiri, J. L. Thompson, J. S. Moore, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 11315-11319.

de la hélice en acetonitrilo, mientras que, en disolventes clorados como cloroformo, estas estructuras se encuentran prácticamente desplegadas.

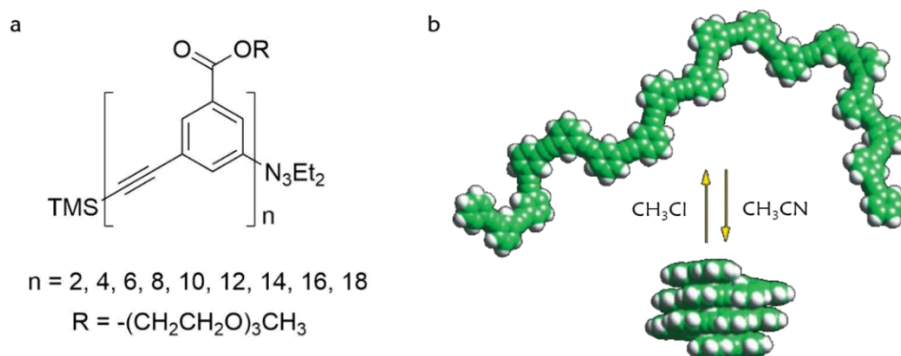


Figura 36. (a) Oligómeros de *m*-OPE; (b) transición conformacional para *m*-OPE ($n = 18$).

Para conocer el papel que desempeñaban las cadenas laterales en el plegamiento de las estructuras, este mismo grupo decidió reemplazar las cadenas laterales de trietilenglicol por cadenas laterales quirales.⁶³ Mediante espectroscopia de ¹H RMN y UV pudieron demostrar una vez más la existencia del plegamiento en acetonitrilo, todo lo contrario a lo que ocurría en cloroformo. Además, la presencia de la cadena quiral permitió seguir el plegamiento por CD, demostrando la transferencia de quiralidad desde la cadena lateral a la hélice (*M*) (Figura 37c).

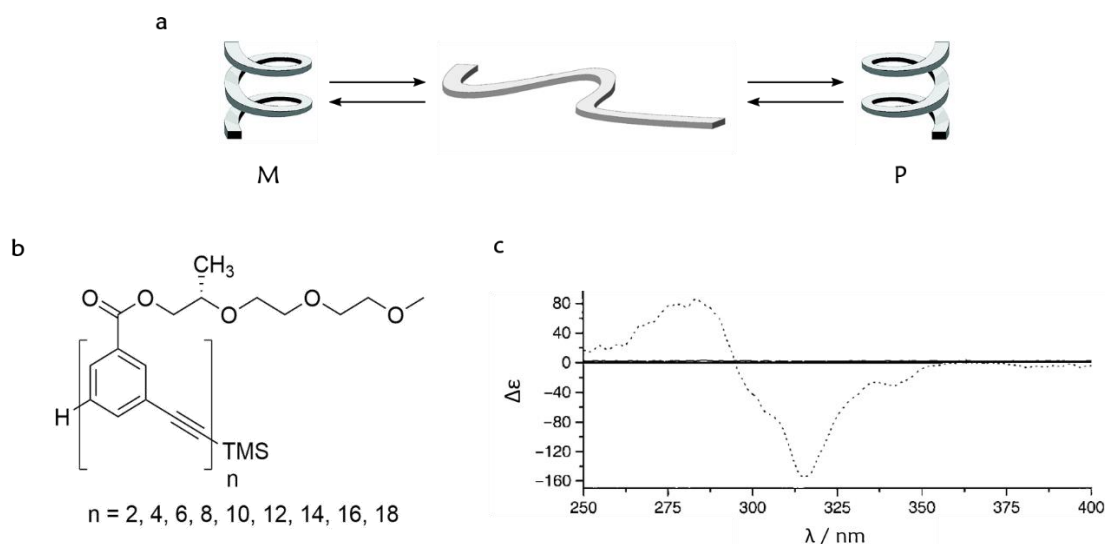


Figura 37. (a) Equilibrio entre hélice *M*/*P* - “random coil”; (b) estructura y (c) espectro de CD de *m*-OPEs quirales.

⁶³ R. B. Prince, L. Brunsveld, E. W. Meijer, J. S. Moore, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 228-230.

Para ampliar su conocimiento en el campo de los *m*-OPEs, el grupo de Moore introdujo cadenas alquílicas apolares en las unidades de *m*-fenilacetileno (Figura 38a).⁶⁴ De esta manera pudieron comprobar que el comportamiento de estos nuevos *m*-OPEs era similar al que presentaban sus análogos polares, es decir, adoptaban estructuras plegadas helicoidalmente en heptano, mientras que en cloroformo se encontraban totalmente desplegadas. Mediante medidas de CD también comprobaron como la transición conformacional de estos oligómeros era dependiente de la temperatura (Figura 38b).

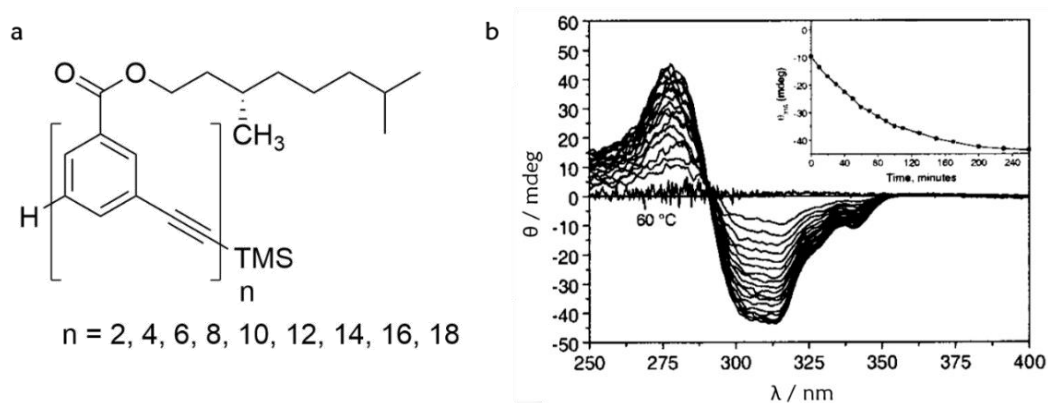


Figura 38. (a) Oligómeros de *m*-OPE; (b) dependencia de la temperatura en función del tiempo.

Estos mismos autores modificaron de nuevo la estructura de los *m*-OPEs para comprobar como afectaba la combinación de un enlace de hidrógeno junto con las interacciones de tipo π -stacking.⁶⁵ Para ello, compararon las propiedades de plegamiento de los isómeros **XVI** y **XVII**, en mezclas cloroformo/acetonitrilo. Los resultados obtenidos demostraron que la presencia de este nuevo enlace estabilizaba la estructura **XVI** en 1.2 kcal mol⁻¹, lo que la hacía más tolerante a la desnaturalización, admitiendo hasta un 5.3 vol % más de cloroformo que la estructura **XVII**, ya que la presencia de este enlace bloquea la unidad de difenilacetileno en la conformación *cis* requerida para la formación de la hélice (Figura 39b).

⁶⁴ L. Brunsveld, R. B. Prince, E. W. Meijer, J. S. Moore, *Org. Lett.* **2000**, *2*, 1525-1528.

⁶⁵ J. M. Cary, J. S. Moore, *Org. Lett.* **2002**, *4*, 4636-4666.

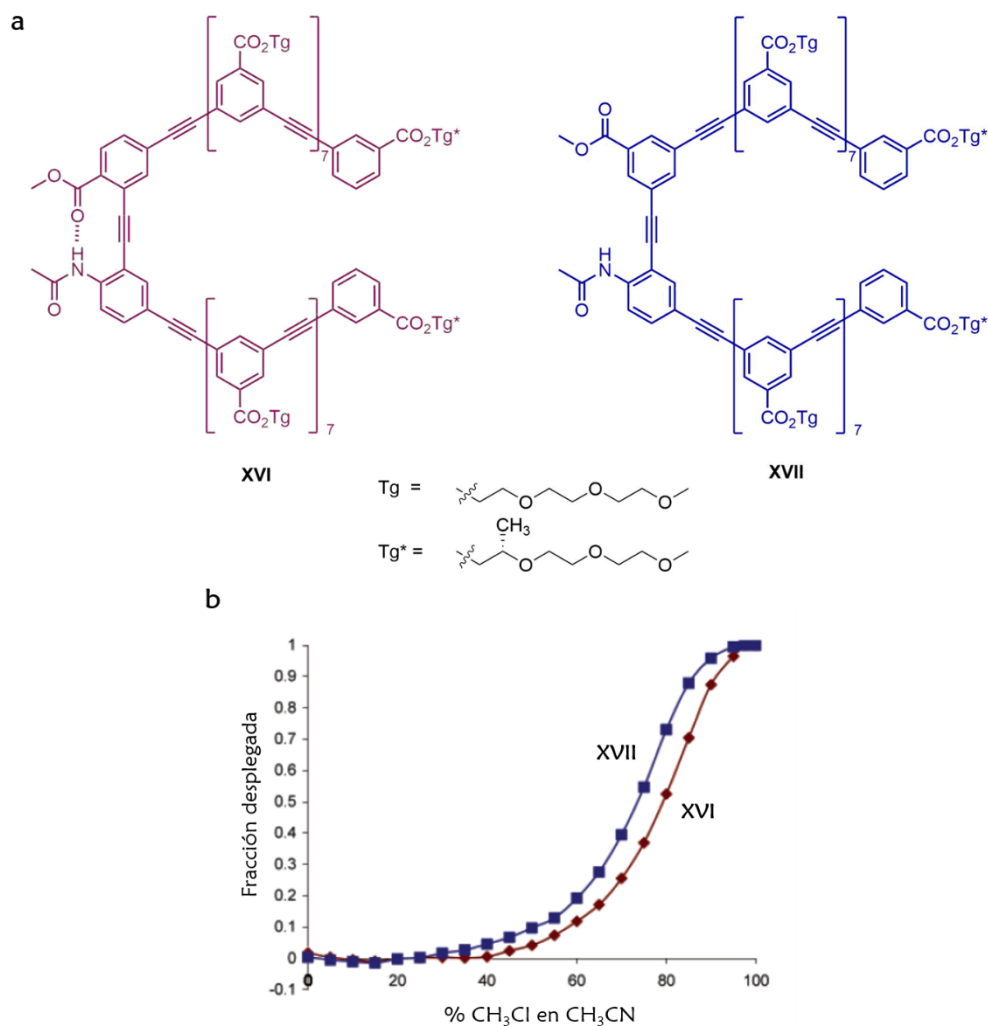


Figura 39. (a) Estructura de nuevos *m*-OPEs; (b) valoración de UV.

Muchas de las técnicas espectroscópicas utilizadas para determinar las conformaciones de los foldámeros son de baja resolución, por lo que obtener datos estructurales fiables en disolución supone un gran reto. Por ello, Moore y colaboradores⁶⁶ usaron métodos de “*spin labeling*” para corroborar inequívocamente la estructura helicoidal de los *m*-OPEs en disolución. Para ello, sintetizaron una nueva familia de *m*-OPEs, que presentaban dos radicales TEMPO en la estructura separados por varias unidades de repetición (Figura 40a). Mediante la realización de medidas de resonancia paramagnética electrónica (EPR) a estos nuevos compuestos marcados, pudo comprobarse la interacción espín-espín entre ambos grupos radicales nitroxido. Esta interacción solo era posible si dichos grupos se

⁶⁶ K. Matsuda, M. T. Stone, J. S. Moore, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 11836-11837.

solapaban, poniendo de manifiesto la presencia de una estructura helicoidal en disolución (Figura 40b).

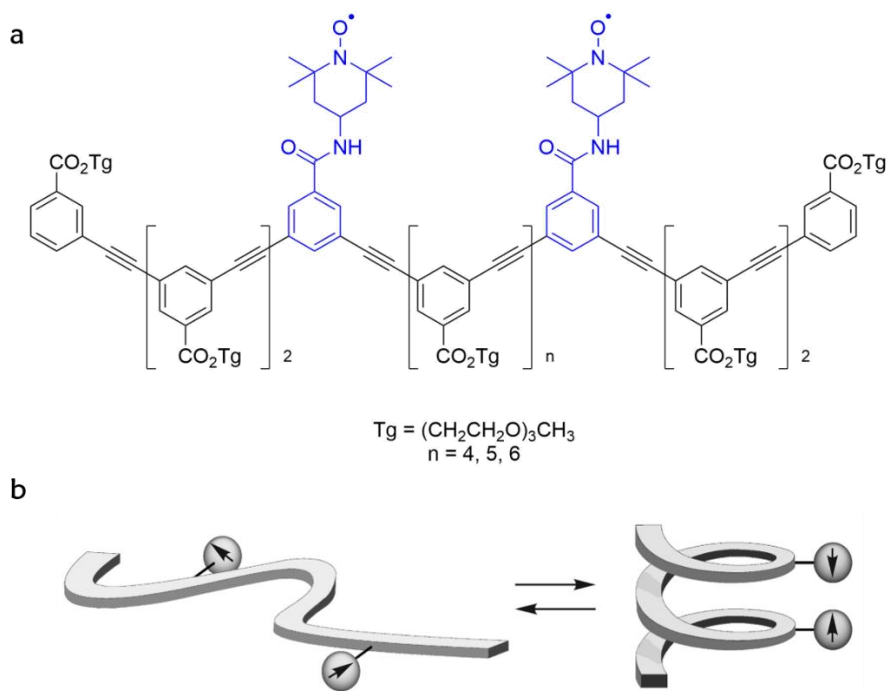


Figura 40. (a) Estructura de *m*-OPEs marcados con TEMPO; (b) interacción espín-espín a causa del plegamiento.

Yamaguchi y colaboradores⁶⁷ realizaron estudios sobre oligómeros de etinil[4]heliceno. Mediante espectroscopia de ¹H RMN, UV-Vis y dicroísmo circular (CD) en cloroformo, pudieron comprobar las grandes diferencias que había entre los compuestos de esta nueva familia (Figura 41a). Así, para los oligómeros de mayor orden ($n > 7$) encontraron una estructura plegada favorecida por las interacciones de tipo π , mientras que los de menor orden ($n < 7$) se encontraban como cadenas orientadas al azar. Mediante espectroscopia de CD, en una gran variedad de disolventes aromáticos, pudo seguirse el proceso de plegamiento de la estructura XVIII, el cual demostró ser totalmente dependiente del tiempo (Figura 41b). Gracias al análisis de osmometría de presión de vapor (VPO) demostraron que el oligómero XVIII, con 7 unidades de heliceno en la estructura, solían adoptar una conformación helicoidal dimérica en benceno, fluorobenceno y trifluorometilbenceno, mientras que en cloroformo y tolueno la estructura se encontraba totalmente desplegada (Figura 41c).

⁶⁷ H. Sugiura, Y. Nigorikawa, Y. Saiki, K. Nakamura, M. Yamaguchi, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 14858-14864.

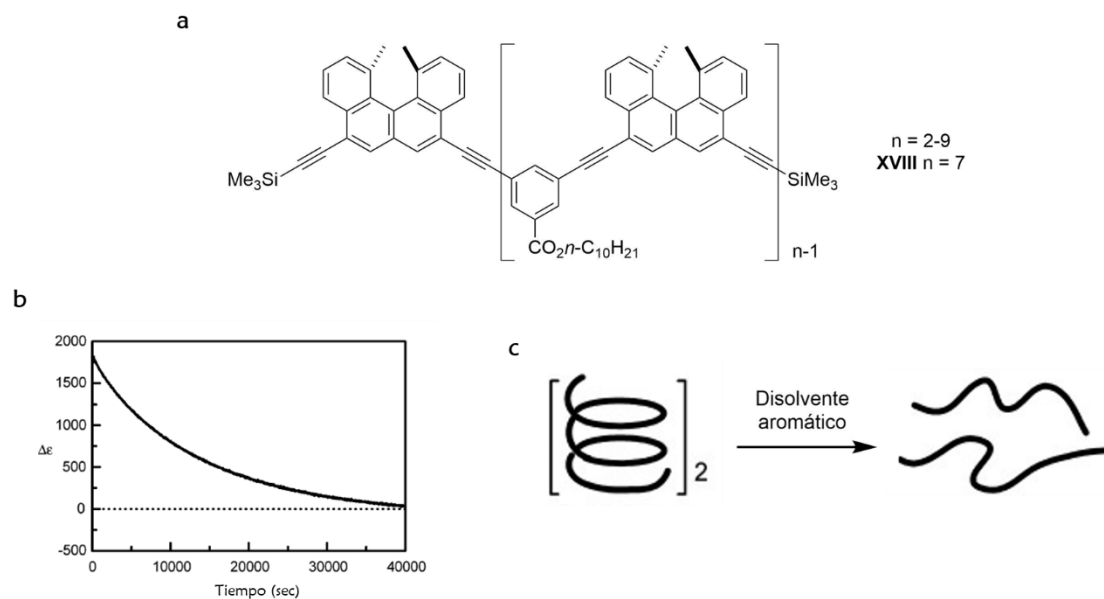


Figura 41. (a) Oligómeros de etinilheliceno; (b) dependencia del CD con respecto al tiempo y (c) cambio conformacional según disolvente del compuesto **XVIII**.

El grupo de Li y Chen⁶⁸ demostró que oligómeros de etilenglicol, que incorporan unidades de 2,3-naftaleno en su estructura, pueden adoptar una conformación plegada en disolventes polares, como resultado del apilamiento aromático intramolecular impulsado por las interacciones solvofóbicas. Los plegamientos de los oligómeros se corroboraron por UV-Vis, ¹H RMN, fluorescencia y cálculos de mecánica molecular (MM), en mezclas de acetonitrilo/cloroformo. Los oligómeros de mayor orden demostraron tener mayor capacidad para plegarse en acetonitrilo, formando una cavidad similar a la que presentan los éteres corona, concretamente 18-corona-6, lo que les permitió albergar en su interior complejos de amonio o etano-1,2-diamonio (Figura 42). Por el contrario, derivados de amonio secundario no fueron capaces de coordinarse. Además, demostraron que la posición que ocupaban las unidades de naftaleno eran las adecuadas para favorecer la formación de este plegamiento.

⁶⁸ J.-L. Hou, M.-X. Jia, X.-K. Jiang, Z.-T. Li, G.-J. Chen, *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 6228-6237.

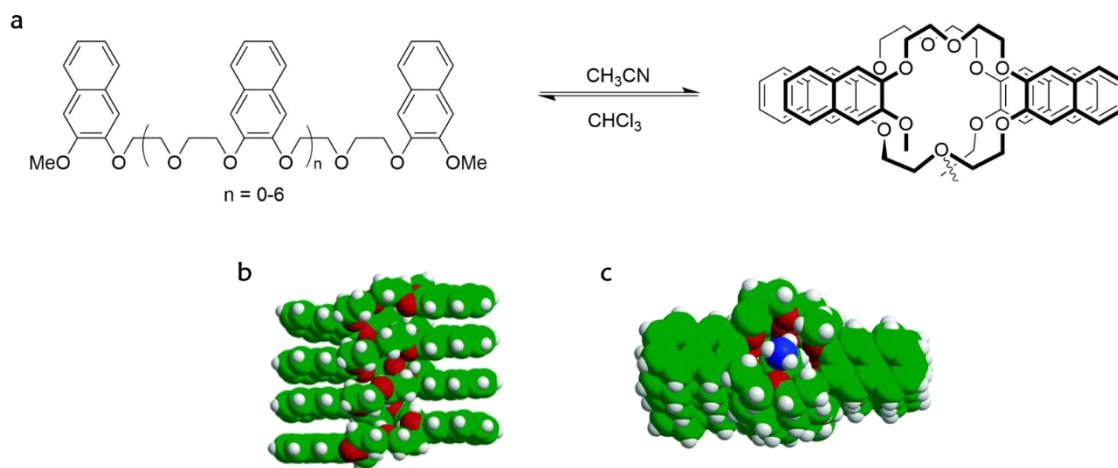


Figura 42. (a) Plegamiento/despliegue de oligonaftalenos. Estructuras de mínima energía para (b) el oligonaftaleno más largo ($n=6$) y (c) su correspondiente complejo con etano-1,2-diamina.

En 2006, Hecht y colaboradores modificaron el esqueleto de los *m*-OPEs descritos por Moore introduciendo unidades de azobenceno en la estructura, con el fin de aprovechar sus propiedades como fotointerruptor.⁶⁹ Diseñaron un foldámero en el que dos unidades, lo suficientemente cortas para no poder plegarse sobre sí mismas, estaban unidas mediante un *trans*-azobenceno (Figura 43a). En esta conformación, la estructura se encuentra totalmente plegada en forma helicoidal gracias a las interacciones solvofóbicas en acetonitrilo. En cambio, cuando se irradia con luz a 365 nm, el azobenceno sufre un cambio a la conformación *cis*, perdiéndose la helicidad de la estructura global en segundos. Dicha helicidad puede recuperarse, tras horas, por aplicación de calor o luz (Figura 43b). Este fenómeno puede seguirse mediante CD, gracias a la presencia de grupos quirales en la estructura. La señal de CD observada presenta un efecto Cotton positivo (hélice *P*), totalmente inversa a la obtenida por Moore⁶³ en los casos anteriores presentados (Figura 37c y 43c). Además, el comportamiento conformacional de plegado podía seguirse mediante espectroscopia de absorción UV-Vis en acetonitrilo con adiciones sucesivas de cloroformo.

⁶⁹ A. Khan, C. Kaiser, S. Hecht, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 1878-1781.

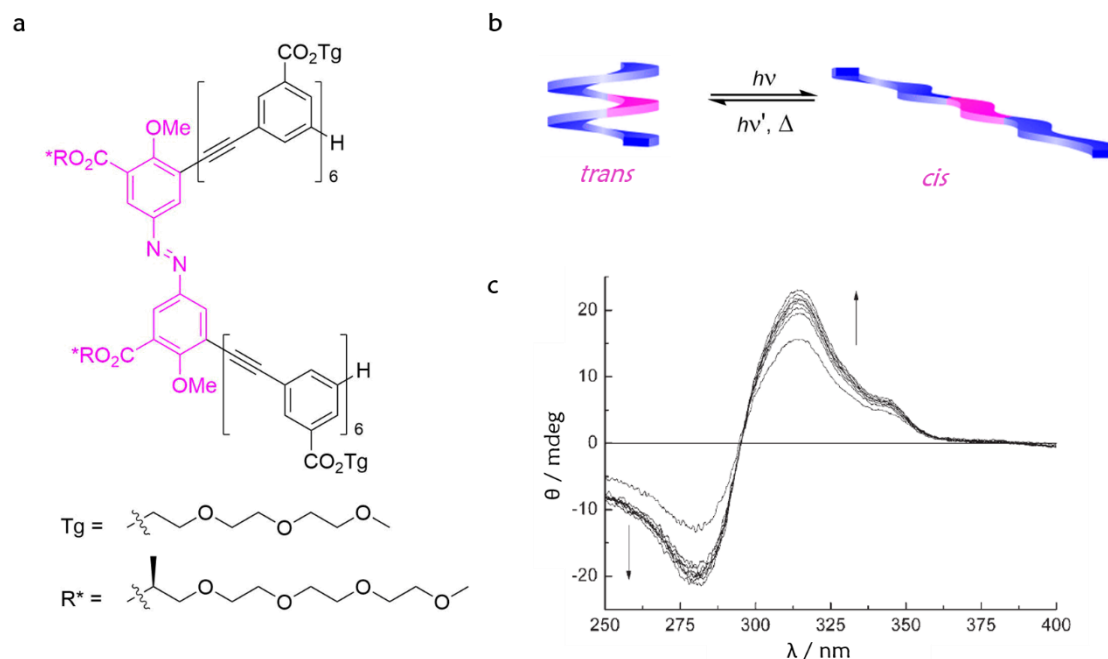


Figura 43. (a) Estructura de azobenceno *m*-OPE; (b) cambio configuracional *cis/trans*; (c) espectro de CD del azobenceno *m*-OPE.

Ese mismo año, el grupo de Inouye⁷⁰ publicó la síntesis de poli(*m*-etnilpiridinas) solubles en agua gracias a la introducción de cadenas de PEG. Estas estructuras adoptaban conformaciones helicoidales en disolventes polares debido a las interacciones solvofóbicas que permitían el π -stacking intramolecular entre los anillos de piridina, mientras que en disolventes apolares se encontraban totalmente abiertas. Estudios de ¹H RMN, UV-Vis y fluorescencia confirmaron estos resultados. En la conformación helicoidal, los átomos de nitrógeno piridínicos se encontraban orientados hacia el interior de la cavidad formada, lo que permitía el reconocimiento de azúcares mediante la formación de enlaces de hidrógeno. Espectros de CD demostraron que las estructuras plegadas se asociaban a los azúcares en un medio 100% prótico (MeOH/agua 10/1), además de comprobar que había una transferencia de quiralidad del azúcar a la hélice.

⁷⁰ M. Waki, H. Abe, M. Inouye, *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 7839-7847.

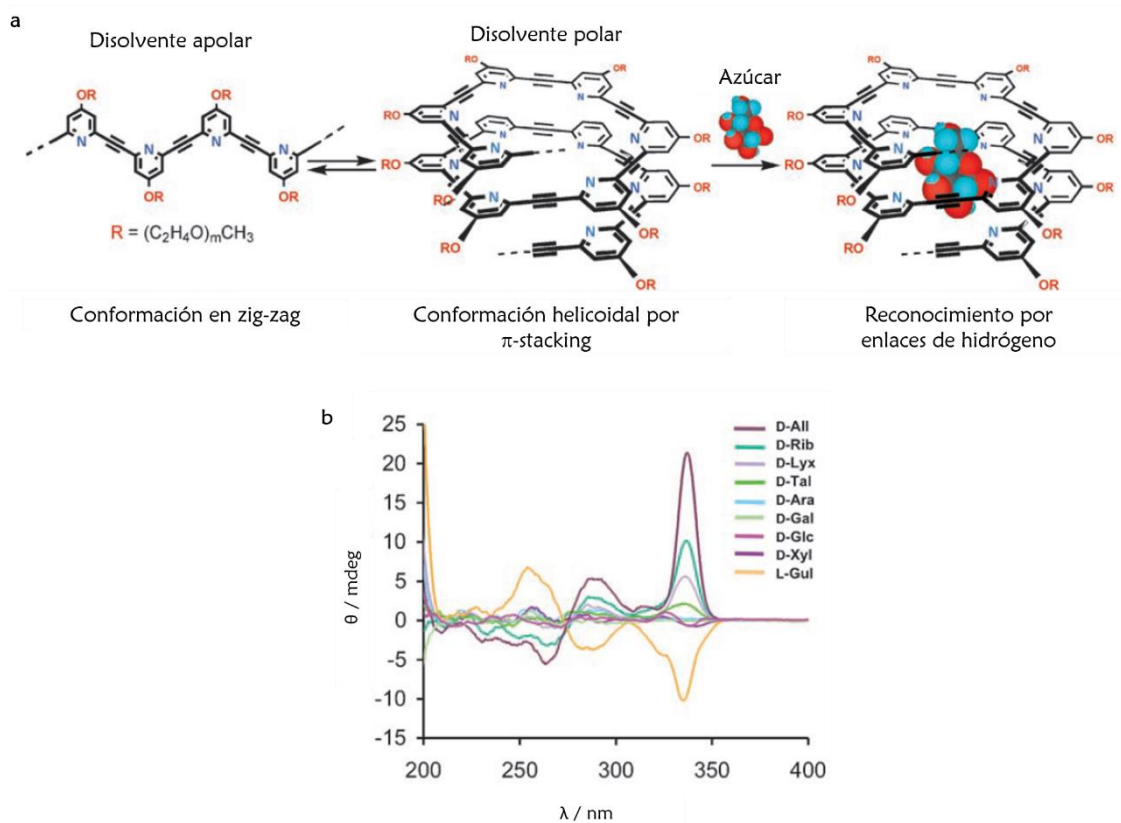


Figura 44. (a) Cambio conformacional de *m*-etinilpiridinas y reconocimiento molecular; (b) espectro de CD con distintos monosacáridos.

Recientemente, este mismo grupo ha sintetizado una nueva familia de oligómeros de *m*-etinilfenoles con cadenas alquílicas laterales, que adoptan espontáneamente una conformación helicoidal en disolución con hasta cinco anillos por vuelta, gracias a la formación de puentes de hidrogeno entre los grupos hidroxilo, así como a las interacciones de π -stacking entre anillos (Figura 45 a y b).⁷¹ Mediante espectroscopía de ¹H RMN, UV-Vis y CD pudieron comprobar que la adición de aminas causaba un desplazamiento de las señales, debido al proceso de desprotonación que tenía lugar. Cuando la amina adicionada era quiral observaron una transferencia de quiralidad hacia la estructura helicoidal (Figura 45c y d). El empleo de disolventes, tales como MeOH o DMSO, interrumpían la formación helicoidal ya que actuaban como inhibidores de los enlaces de hidrógeno.

⁷¹ T. Hayashi, Y. Ohishi, S. Hee-Soo, H. Abe, S. Matsumoto, M. Inouye, *J. Org. Chem.* **2018**, *83*, 8724-8730.

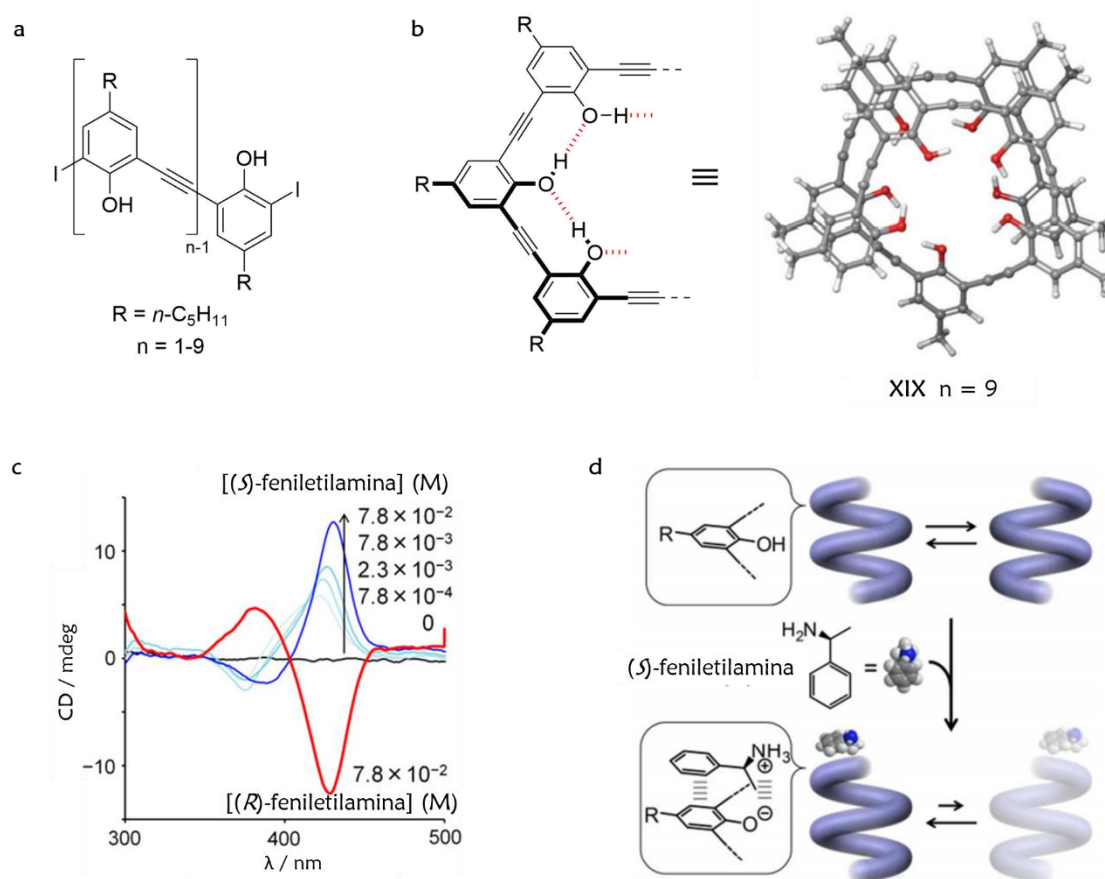


Figura 45. (a) Estructura de *m*-etilfenoles; (b) formación de puentes de hidrógeno y estructura obtenida por cálculos de DFT; (c) espectro de CD de XIX y (d) mecanismo propuesto para la inducción quiral.

El grupo de Yashima y Furusho⁷² publicó la formación de una doble hélice en agua basada en unidades de oligoresorcinoles, totalmente dependiente de la temperatura, la composición del disolvente y la longitud de la cadena. Mediante espectroscopía de ¹H RMN, UV-Vis y medidas de osmometría de presión de vapor (VPO) determinaron que, en disolventes menos polares como el metanol y a altas temperaturas, las estructuras se encontraban totalmente desplegadas. Por el contrario, disolventes más polares, como el agua, y las bajas temperaturas favorecían la formación de una hélice doble gracias a las interacciones solvofóbicas. En este caso, debido a la congestión estérica los anillos no pueden apilarse, a diferencia de lo que ocurre con las estructuras tipo *m*-OPEs. La introducción de grupos quirales en los extremos de la cadena permitió el seguimiento por

⁷² a) H. Goto, H. Katagiri, Y. Furusho, E. Yashima, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 7176-7178; b) H. Goto, Y. Furusho, K. Miwa, E. Yashima, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 4710-4719.

CD, lo que pudo corroborar estos resultados, además de observarse la preferencia por una helicidad *P*.

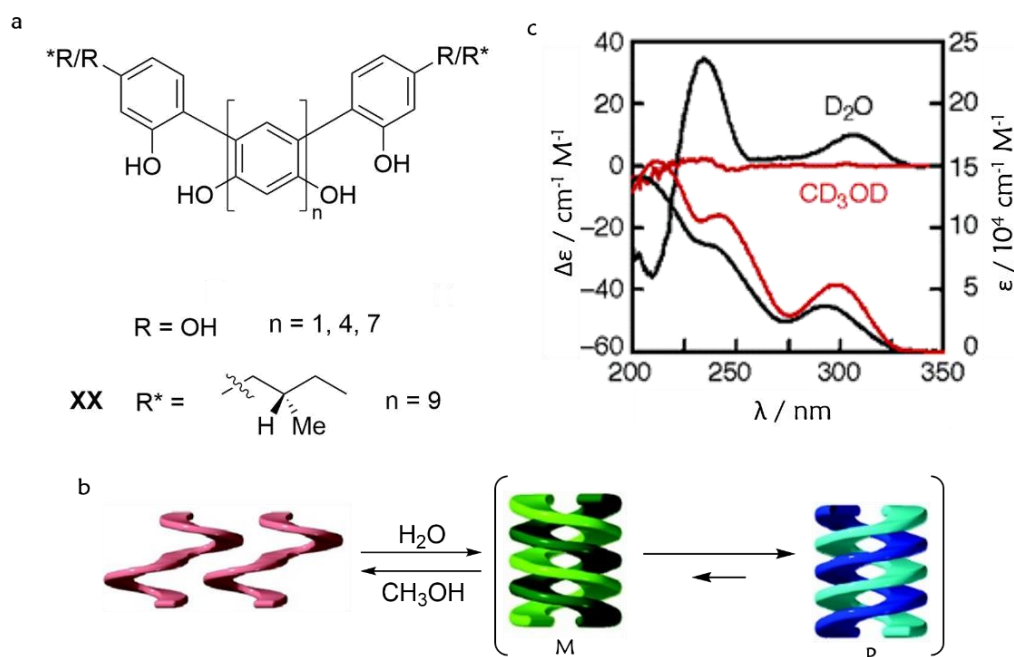


Figura 46. (a) Estructura de oligoresorcinols; (b) formación de la doble helice y (c) espectro de CD y UV-Vis del compuesto **XX**.

Años después, este mismo grupo presentó la síntesis de un nuevo esqueleto de poli(*m*-fenilenos) sustituido en posición 5 por una cadena de PEG quiral (Figura 47a). En este caso, demostraron el plegamiento helicoidal de la estructura en una sola hélice, estabilizada por interacciones solvofóbicas, a diferencia de la familia anteriormente presentada. Por tanto, se pudo determinar que la posición del sustituyente determinaba la formación de una o dos hélices. Al igual que sus análogos anteriores, esta hélice era favorecida en agua, mientras que en metanol no adoptaba dicha conformación, lo cual puede comprobarse mediante espectroscopía de CD (Figura 47c). Cálculos realizados mediante mecánica molecular (MM) apoyan estos resultados.⁷³

⁷³ T. Ben, H. Goto, K. Miwa, H. Goto, K. Morino, Y. Furusho, E. Yashima, *Macromolecules* **2008**, *41*, 4506-4509.

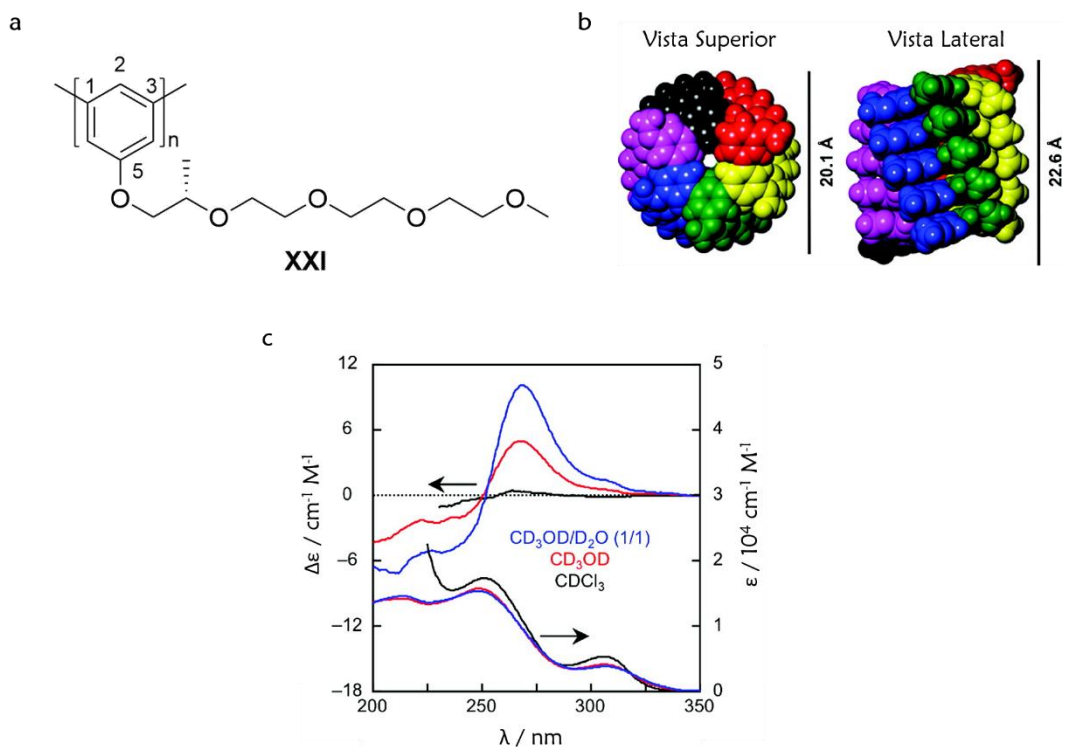


Figura 47. (a) Estructura de poli(*m*-fenilenos); (b) vista superior y lateral obtenidas por MM y (c) espectros de CD y UV-Vis del compuesto **XXI**.

Hasta el momento, la mayoría de foldámeros aromáticos que basan su plegamiento en este tipo de interacciones presentan una conectividad *meta* y han sido más estudiados debido a su tendencia a adoptar conformaciones helicoidales. De manera similar se comportan los *o*-fenilacetilenos (*o*-OPEs), capaces de formar estructuras helicoidales con tres unidades de fenilacetileno por vuelta, generando hélices tubulares con una cavidad interior de menor tamaño que sus análogos *m*-OPEs. Tew y colaboradores realizaron una serie de estudios computacionales⁷⁴ que predijeron que los *o*-OPEs estaban entálpicamente favorecidos para adoptar conformaciones helicoidales bajo condiciones solvofóbicas, acompañado con una pérdida de entropía, al igual que ocurría en el caso de los *m*-OPEs. Teniendo presentes estos resultados, el grupo de Tew decidió explorar más detalladamente esta familia de *o*-OPEs, ya que además habían sido menos estudiados que sus análogos *m*-OPEs.⁷⁵

⁷⁴ R. A. Blatchly, G. N. Tew, *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 8780-8785.

⁷⁵ R. H. Grubbs, D. Kratz, *Chem. Ber.* **1993**, *126*, 149-157.

Tew y colaboradores demostraron mediante espectroscopía de 1D y 2D RMN que oligómeros de *o*-OPEs con tan solo cuatro unidades de repetición eran capaces de adoptar conformaciones helicoidales en disolventes polares.⁷⁶ Para ello, sintetizaron tres tetrámeros con diferentes riquezas electrónicas (Figura 48a). Examinando los espectros de ¹H RMN obtenidos tras la valoración con acetonitrilo, observaron un desplazamiento hacia campo alto de los protones de los anillos 1 y 4, mientras que los protones de los anillos 2 y 3 permanecían prácticamente inalterables, siendo mayor el grado de desplazamiento para el compuesto π deficiente (Figura 48b). Esto sólo podía explicarse mediante un apilamiento de la estructura, favorecido por las interacciones solvofóbicas, permitiendo interacciones intermoleculares de tipo π . Además, fue el primer ejemplo de una caracterización bidimensional en disolución de un plegamiento para esqueletos de fenilacetilenos sin enlaces de hidrógeno. Otro estudio posterior más exhaustivo mediante espectroscopía HMBC, COSY y ¹³C RMN aportó la información necesaria para asignar la secuencia completa de los protones aromáticos, además de confirmar la conformación helicoidal de estos *o*-OPEs.⁷⁷

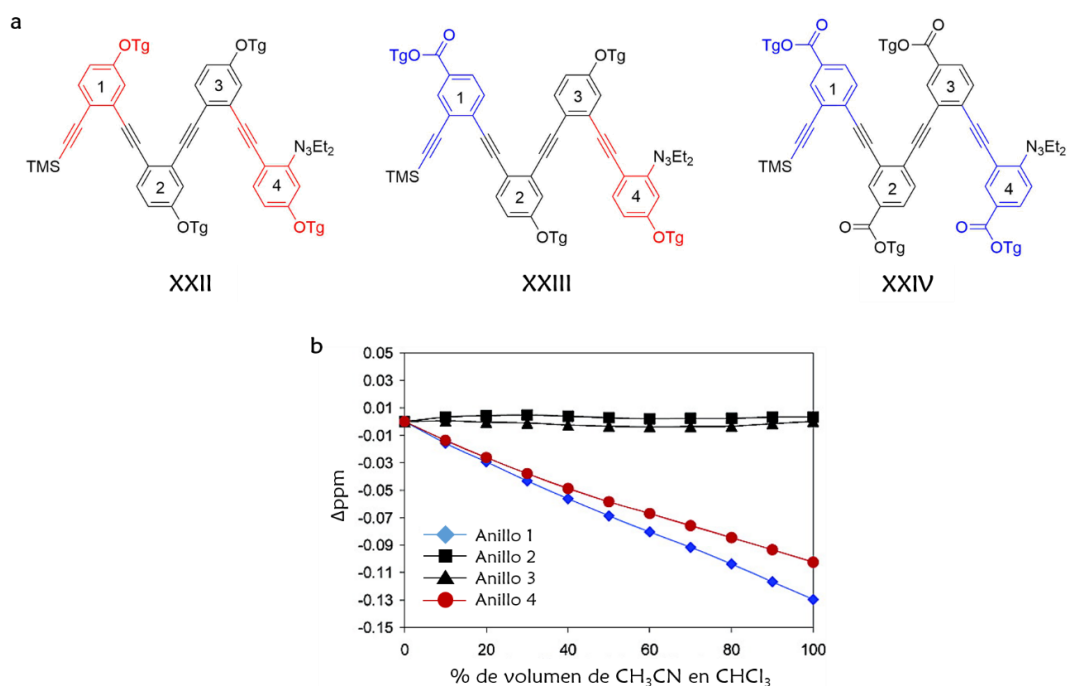


Figura 48. (a) *o*-OPEs con distintas configuraciones electrónicas; (b) valoración de RMN con acetonitrilo para el compuesto **XXIII**.

⁷⁶ T. V. Jones, M. M. Slutsky, R. Laos, T. F. A. de Greef, G. N. Tew, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 17235-17240.

⁷⁷ M. M. Slutsky, T. V. Jones, G. N. Tew, *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 342-347.

Continuando con su estudio en el campo de los *o*-OPEs, el grupo de Tew sintetizó dos nuevos foldámeros de 6 y 9 unidades de repetición, alternando cadenas polares y apolares en su estructura, con el fin de obtener un haz helicoidal.⁷⁸ Desafortunadamente, no alcanzaron su objetivo principal, pero demostraron una vez más que este tipo de compuestos adoptaban conformaciones helicoidales en disolventes polares, permitiendo interacciones entre los anillos apilados. Esto supuso un hito destacable, ya que las nuevas estructuras presentaban una composición anfifílica. Este nuevo carácter anfifílico les aportó propiedades distintas, en relación a sus análogos anteriormente sintetizados.

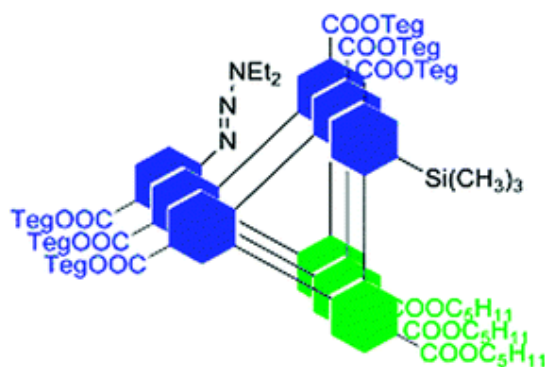


Figura 49. Ejemplo de *o*-OPE anfifílico sintetizado por el grupo de Tew.

Debido a la distinta geometría estructural de los *o*-OPEs, la longitud mínima de la cadena para poder plegarse era de cuatro unidades de repetición, lo que supone una longitud mucho menor que en el caso de los *m*-OPEs. Al aumentar la longitud del esqueleto de los *o*-OPEs las posibles conformaciones del estado plegado se volvían más complejas. Por ello, Tew y colaboradores publicaron un nuevo artículo donde examinaron las interacciones de π -stacking mediante valoraciones de disolvente y temperatura, verificando que la conformación “correcta” para este tipo de compuestos era helicoidal totalmente plegada, descartando de esta manera las posibles conformaciones parcialmente plegadas.⁷⁹

⁷⁸ M. M. Slutsky, T. S. Phillip, G. N. Tew, *New J. Chem.* **2008**, *32*, 670-675.

⁷⁹ T. V. Jones, M. M. Slutsky, G. N. Tew, *New J. Chem.* **2008**, *32*, 676-679.

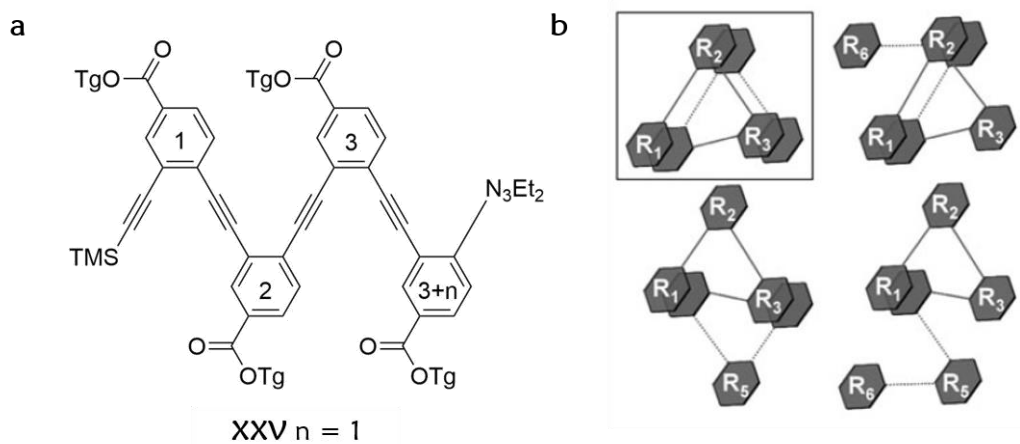


Figura 50. (a) Oligómeros de *o*-OPEs; (b) cuatro de las muchas conformaciones posibles para **XXV**. La conformación plegada “correcta” es la recuadrada.

En 2010, este mismo grupo describió el comportamiento de oligómeros de *o*-OPEs sustituidos con cadenas quirales apolares, cuyo plegamiento era inducido por interacciones solvofóbicas.⁸⁰ Estudios de ¹H RMN mostraron un desplazamiento hacia campo alto de los protones aromáticos en heptano, como resultado de las interacciones de π -stacking, consistente con una conformación helicoidal. Basándose en las publicaciones de Moore,⁶⁴ que comúnmente usaba la espectroscopía UV y el CD en sus estudios de *m*-OPEs, el grupo de Tew decidió emplear estas técnicas para la caracterización de sus *o*-OPEs. Desafortunadamente, los cambios en UV no fueron los suficientemente robustos para una clara interpretación, en contraste con sus análogos *m*-OPEs. Por otra parte, aunque los valores de CD obtenidos no fueron muy buenos, si confirmaron una conformación helicoidal dependiente del disolvente, de la temperatura y de la longitud del foldámero.

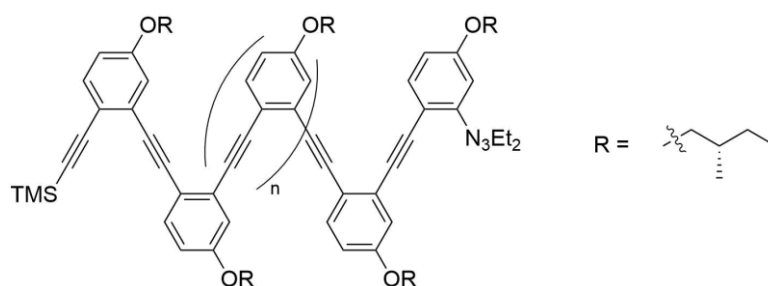


Figura 51. Estructura de oligómeros de *o*-OPEs sustituidos con cadenas quirales apolares.

⁸⁰ a) T. V. Jones, R. A. Blatchly, G. N. Tew, *Org. Lett.* **2003**, *5*, 3297-3299; b) J. Jang, M. M. Slutsky, T. V. Jones, G. N. Tew, *New J. Chem.* **2010**, *34*, 307-312.

El grupo de Hecht⁸¹ también estudió los oligómeros de tipo α -OPEs. Mediante espectroscopia óptica de absorción y emisión observaron que la transición entre la conformación extendida *trans* y la conformación helicoidal *cis* era dependiente e inducida por el disolvente, lo que proporcionaba evidencias del plegamiento impulsado por las interacciones solvofóbicas en el esqueleto de α -OPEs, confirmando los resultados obtenidos por Tew.

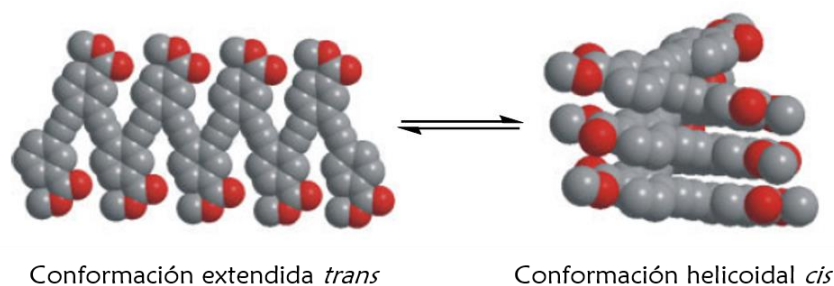


Figura 52. Cambio conformacional *cis-trans*.

El grupo de Zhao sintetizó una nueva familia de foldámeros basados en oligómeros de α -fenilacetilenos-*alt-p*-fenilacetilenos, que presentaban cadenas alquílicas apolares (XXVI) y polares (XXVII).⁸² Estas nuevas estructuras eran capaces de adoptar conformaciones helicoidales en ciclohexano y metanol, respectivamente, permitiendo interacciones de tipo π entre los anillos aromáticos. De nuevo pudo comprobarse mediante espectroscopía UV-Vis y de fluorescencia que la fuerza impulsora de este plegamiento eran las interacciones solvofóbicas. Posteriormente, este mismo grupo, usando el esqueleto de oligómeros de α -fenilacetilenos-*alt-p*-fenilacetilenos sintetizaron los foldámeros XXVIII y XXIX que presentaban cadenas quirales en su estructura.⁸³ Mediante espectroscopía UV-Vis y CD pudieron seguir el plegamiento de las mismas, observándose un comportamiento similar al de sus análogos aquirales. Además de esto, demostraron que cambios en el disolvente conducían a la formación de agregados intermoleculares.

⁸¹ A. Khan, S. Hecht, *J. Poly. Sci. Part A: Poly. Chem.* **2006**, *44*, 1619-1627.

⁸² a) N. Zhu, W. Hu, S. Han, Q. Wang, D. Zhao, *Org. Lett.* **2008**, *10*, 4283-4286; b) N. Zhu, Q. Yan, Z. Luo, Y. Zhai, D. Zhao, *Chem. Asian J.* **2012**, *7*, 2386-2393.

⁸³ Z. Luo, N. Zhu, D. Zhao, *Chem. Eur. J.* **2016**, *22*, 11028-11034.

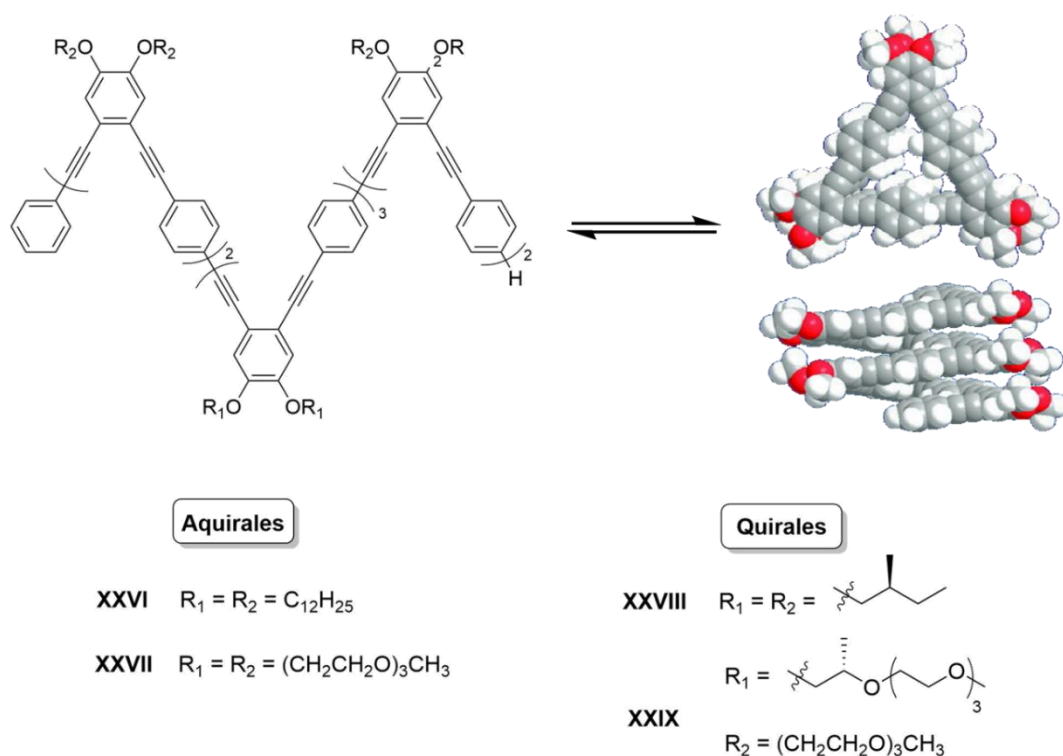


Figura 53. Estructura de oligómeros de α -fenilacilenos-*alt-p*-fenilacilenos.

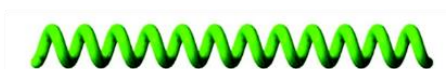
Como se ha visto a lo largo de este apartado, la introducción de cadenas laterales externas tiene el objetivo de aumentar la solubilidad, así como el de introducir anfifilicidad, sitios externos para formar enlaces de hidrógeno o funciones como la luminiscencia. Por otra parte, las cadenas laterales internas no solo desempeñan un papel importante en el plegamiento helicoidal, sino que también inducen otras funciones, como la capacidad de reconocimiento de moléculas pequeñas e iones metálicos (Sección 4). En particular, la unión de auxiliares quirales a las cadenas laterales internas y/o externas o la encapsulación de moléculas quirales permitiría la introducción de quiralidad en el esqueleto del foldámero, de modo que el plegamiento helicoidal se pueda detectar fácilmente mediante CD, CPL o VCD, dotándolos de funciones como el “*switching*” molecular (Sección 6).

4. Plegamiento derivado del reconocimiento molecular

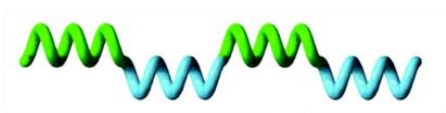
Uno de los fenómenos más importantes y fundamentales que tienen lugar en los sistemas biológicos es el reconocimiento molecular. No solo regula las estructuras biológicas tridimensionales de las proteínas y los ácidos nucleicos, sino que también determina funciones como el transporte, la catálisis y la inducción de señales. Por todas estas razones, se ha convertido en un objetivo de estudio de alta importancia en el campo de la química.

En este sentido, inspirados por los modelos naturales, los químicos han diseñado nuevos sistemas sintéticos que pueden reconocer una gran variedad de compuestos. Los foldámeros son ideales para el desarrollo de este tipo de funciones debido a la naturaleza dinámica y flexible de su plegamiento, lo que les permite adaptarse conformacionalmente a estímulos externos o a interacciones con otras moléculas, contrastando con la estructura rígida de los polímeros helicoidales. Además, sus características estructurales los convierten en candidatos ideales para el desarrollo de nuevos receptores.^{23b}

A) Polímeros helicoidales estáticos



B) Polímeros helicoidales dinámicos



C) Foldámeros

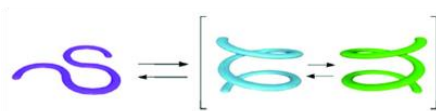


Figura 54. Comparación de las características estructurales.

Como hemos visto hasta este momento, por lo general, el cambio estructural entre las conformaciones plegada y extendida de los foldámeros implica cambios en la temperatura o en la composición del disolvente. Pero estímulos alternativos como el pH, la coordinación de metales o el empleo de luz también están asociados a este tipo de cambio de conformación. Así, por ejemplo, las interacciones solvofóbicas, los enlaces de hidrógeno intramoleculares entre las cadenas laterales del foldámero, las interacciones intramoleculares de tipo π entre las unidades aromáticas, la coordinación con metales y la presencia de momentos dipolares a menudo inducen el plegamiento helicoidal de compuestos orientados al azar estabilizando la conformación helicoidal tanto en estado sólido como en disolución.

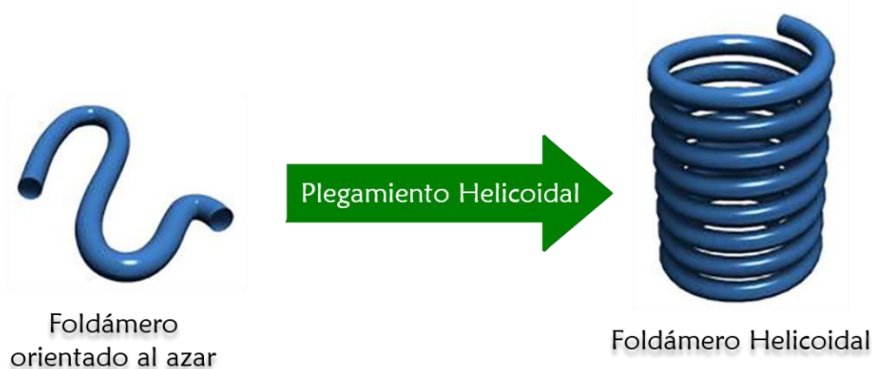


Figura 55. Plegamiento helicoidal.

Durante las últimas décadas, se han dedicado muchos esfuerzos al diseño y síntesis de foldámeros que posean una cavidad interna al plegarse, pudiendo actuar como receptores de huéspedes de tamaño, forma y funcionalidad complementarios.⁸⁴ En comparación con los sitios de unión en los receptores sintéticos convencionales, que están preorganizados por enlaces covalentes, los sitios de unión dentro de las cadenas de foldámero son más dinámicos y adaptables. En este sentido, los foldámeros pueden considerarse como una nueva clase de receptor sintético, que simula los receptores biológicos.

El reconocimiento molecular mediante foldámeros puede clasificarse en dos categorías principales. El primero es el reconocimiento de pequeños huéspedes, como iones y moléculas pequeñas. En general, este tipo de foldámeros están diseñados para adoptar conformaciones helicoidales de manera que se generen cavidades internas donde las moléculas pequeñas pueden unirse. La unión de este tipo de foldámeros puede describirse como *endo*-reconocimiento. Por otra parte, estaría el reconocimiento de biomacromoléculas como las proteínas y el ADN. En este tipo de reconocimiento, el huésped suele ser más grande que la molécula receptora. En este caso, el foldámero está diseñado para proyectar la funcionalidad hacia afuera que complementará la superficie del objetivo deseado. Este es un caso de *exo*-reconocimiento. En la presente tesis, solamente nos centraremos en el primer tipo de reconocimiento indicado.²

⁸⁴ C. L. Vonnegut, B. W. Tresca, D. W. Johnson, M. M. Haley, *Chem. Asian J.* **2015**, *10*, 522-535.

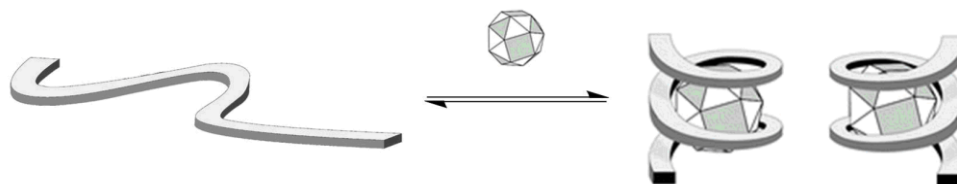


Figura 56. Ejemplo de *endo*-reconocimiento.

4.1 Reconocimiento de moléculas neutras

Los azúcares juegan un papel clave en procesos biológicos de gran importancia, como son la diferenciación y el reconocimiento celular. Esto ha hecho que se conviertan en importantes objetivos terapéuticos, atrayendo la atención de muchos investigadores en el campo de la química supramolecular. Así, el grupo de Li publicó la síntesis de foldámeros de oligohidrazida que actuaban como receptores sintéticos de azúcares mediante fuertes interacciones intermoleculares.⁸⁵ Las interacciones entre los azúcares y la cavidad interior formada tenían lugar por medio de enlaces de hidrógeno, induciendo una configuración helicoidal en cloroformo. Mediante espectroscopía 1D y 2D RMN, se pudo demostrar tanto la conformación plegada de las estructuras como la unión con los azúcares. Esto se ratificó mediante estudios de CD, donde se pudo ver una transferencia de la quiralidad del azúcar al esqueleto de oligohidrazida, que desaparecía tras la adición de metanol, como consecuencia de la interrupción de la interacción entre el huésped y el receptor.

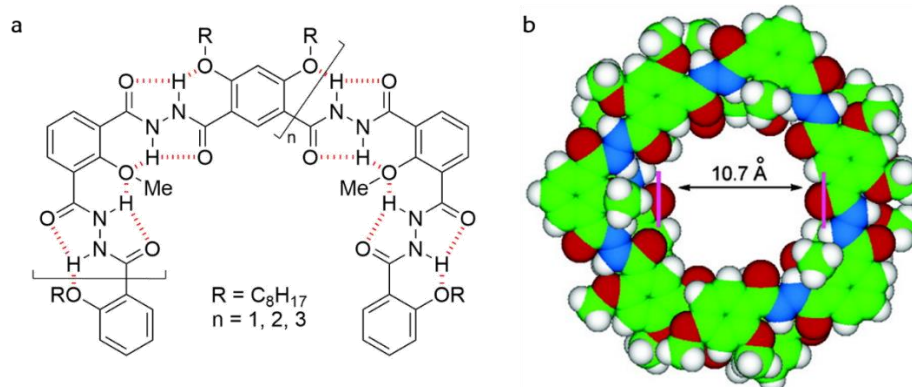


Figura 57. (a) Esqueleto de oligohidrazidas; (b) conformación de mínima energía para $n=5$, obtenida mediante MM.

⁸⁵ J.-L. Hou, X.-B. Shao, G.-J. Chen, Y.-X. Zhou, X.-K. Jiang, Z.-T. Li, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 12386-12394.

Siguiendo con el reconocimiento de azúcares, el grupo de Inouye⁸⁶ estudió el plegamiento de oligómeros de *m*-etilpiridinas en disolventes apolares (Figura 58a). Estas estructuras adoptaban una conformación desplegada ya que los nitrógenos piridínicos se encontraban en lugares opuestos y alternos de la cadena, cancelando los dipolos (Figura 58b). En cambio, en presencia de azúcares eran capaces de adoptar una conformación helicoidal gracias a la formación de enlaces de hidrógeno entre los nitrógenos piridínicos y los grupos hidroxilo de los azúcares. De nuevo, mediante estudios de CD se pudo demostrar la coordinación entre la estructura helicoidal y los azúcares, así como la transferencia de quiralidad. La modificación de las cadenas en los anillos piridínicos permitió captar la inversión de la helicidad, derivada de la conversión anomérica entre la β -glucosa y la α -glucosa y viceversa. Así, cada anómero de la D-glucosa inducía una helicidad opuesta.⁸⁷

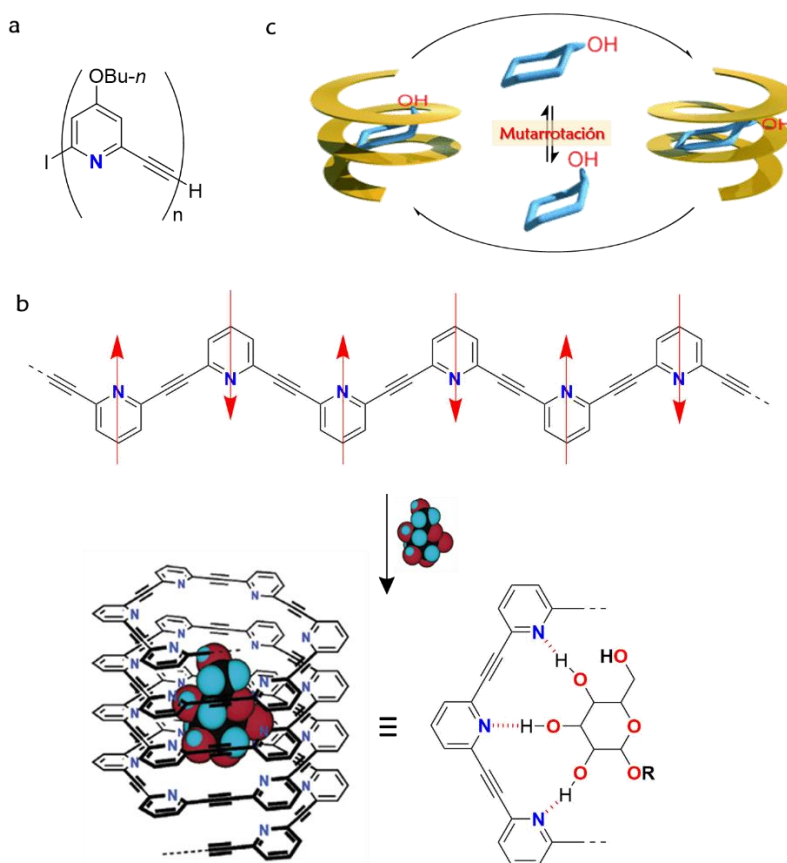


Figura 58. (a) Estructura de oligómeros de *m*-etilpiridinas; (b) plegamiento inducido por coordinación con el azúcar; (c) inversión de la helicidad causada por la mutarrotación de la D-glucosa.

⁸⁶ M. Inouye, M. Waki, H. Abe, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 2022-2027.

⁸⁷ M. Waki, H. Abe, M. Inouye, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 3059-3061.

Este mismo grupo, experto en el reconocimiento molecular de azúcares, desarrolló dos nuevos esqueletos de oligómeros de *m*-etilpiridinas en los que alternaban unidades de piridona⁸⁸ y fenoles⁸⁹ con anillo de piridina, con el fin de mejorar y modificar la afinidad por diversos azúcares, así como su solubilidad en medios polares y apolares. Ambas familias de oligómeros adoptaban orientaciones al azar en ausencia de azúcares. En cambio, en presencia de los mismos se pudo observar el plegamiento helicoidal. Dicha transformación se monitorizó mediante espectroscopia UV-Vis, fluorescencia y CD, además de producirse una transferencia de la quiralidad.

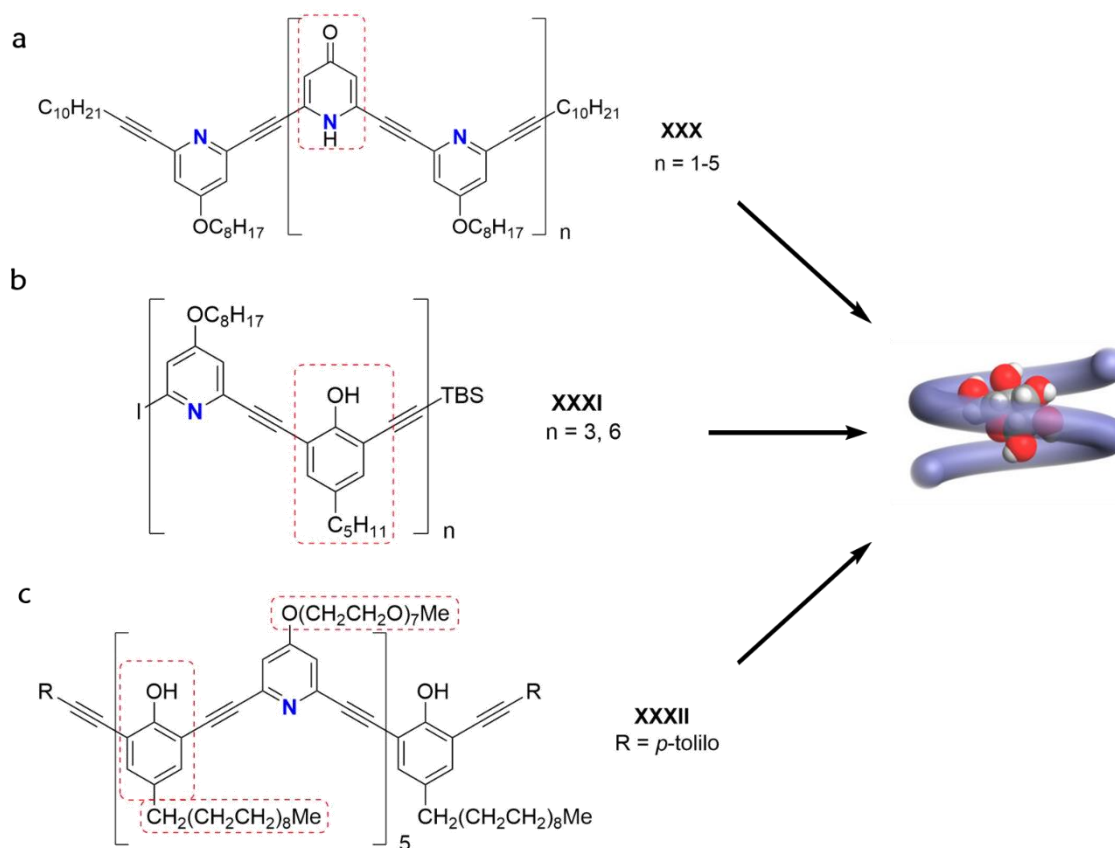


Figura 59. Esqueletos de oligómeros de (a) piridina-piridona, (b) piridina-fenol apolar y (c) piridina-fenol polar.

Por otra parte, Lehn y colaboradores sintetizaron un oligómero de isoftalamida compuesto por una secuencia lineal de unidades donador-aceptor de enlaces de hidrógeno.⁹⁰ Tras la adición de ácido cianúrico en cloroformo, la estructura sufre un

⁸⁸ H. Abe, H. Machiguchi, S. Matsumoto, M. Inouye, *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 4650-4661.

⁸⁹ a) Y. Ohishi, H. Abe, M. Inouye, *Chem. Eur. J.* **2015**, *21*, 16504-16511; b) Y. Ohishi, H. Abe, M. Inouye, *Eur. J. Org. Chem.* **2017**, 6975-6979.

⁹⁰ V. Berl, M. J. Krische, I. Huc, J.-M. Lehn, M. Schmutz, *Chem. Eur. J.* **2000**, *6*, 1938-1946.

cambio conformacional que pudo seguirse mediante ^1H RMN. Experimentos de NOE demostraron la unión entre el huésped y el receptor. La estructura estaba estabilizada además por interacciones solvofóbicas y de π -stacking.

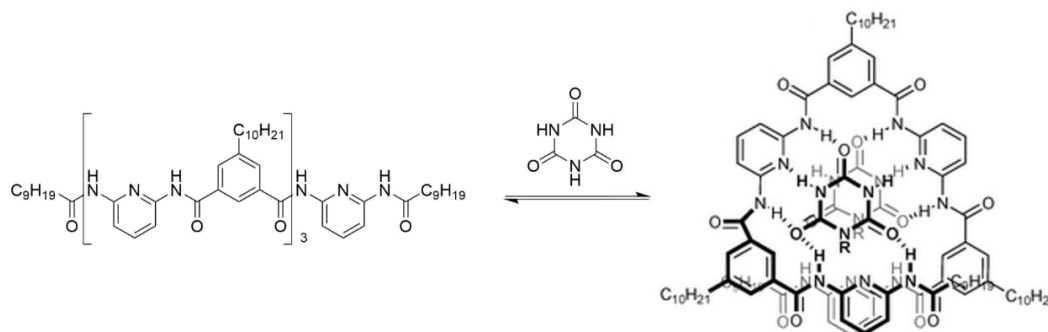


Figura 60. Plegamiento en presencia de ácido cianúrico.

El grupo de Huc⁹¹ consiguió realizar la encapsulación completa de una molécula de agua en cloroformo. Diseñaron una capsula basada en unidades de oligoamida, alternando la 2,6-diaminopiridina y el ácido 2,6-piridindicarboxílico. Comprobaron que esta secuencia era capaz de adoptar una conformación helicoidal tanto en disolución como en estado sólido, creando una cavidad polar donde podían albergarse moléculas polares pequeñas, tales como el agua o el metanol. Este estudio lo extendieron a oligómeros con más unidades de repetición, demostrando que en función del número de piridinas podían encapsularse hasta dos moléculas de agua (Figura 61b). Estas oligoamidas superiores podían unirse a otras moléculas polares de pequeño tamaño, tales como hidracina, peróxido de hidrógeno y ácido fórmico.

⁹¹ a) J. Garric, J.-M. Léger, I. Huc, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 1954-1958; b) J. Garric, J.-M. Léger, I. Huc, *Chem. Eur. J.* **2007**, *13*, 8454-8462.

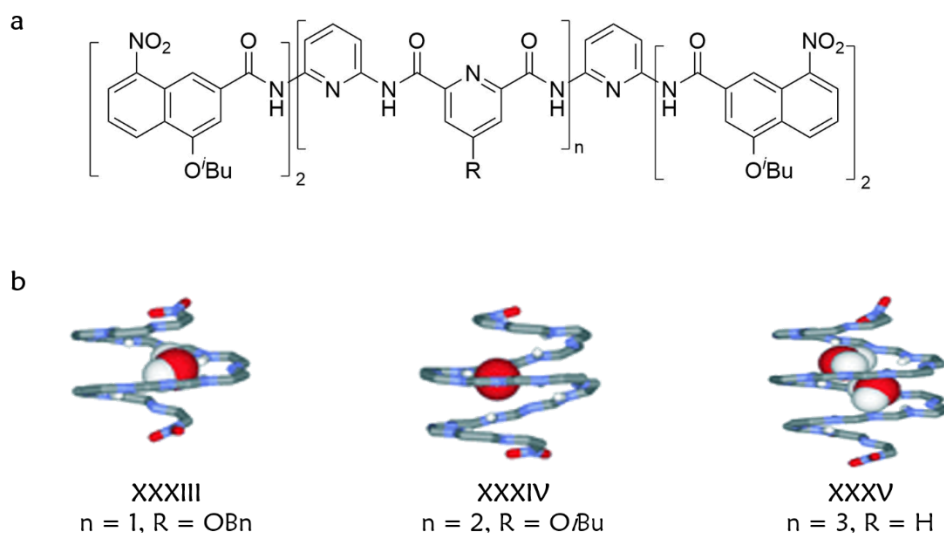


Figura 61. (a) Esqueleto de oligoamidas; (b) estructuras de rayos X de los compuestos **XXXIII**, **XXXIV** y **XXXV** encapsulando moléculas de agua.

Recientemente, el grupo de Jeong sintetizó una serie oligómeros de indolocarbazol-piridina (IP)⁹² e indolocarbazol-naftiridina (IN)⁹³ capaces de adoptar una conformación helicoidal tanto en estado sólido como en disolución, gracias a interacciones de tipo π e interacciones dipolares entre dos anillos aromáticos conectados a través de un triple enlace (Figura 62a). El cambio conformacional pudo observarse mediante espectroscopia 1D y 2D de RMN, UV-Vis y fluorescencia. Las estructuras helicoidales formadas presentaban unas cavidades internas capaces de albergar tres, cuatro y hasta cinco moléculas de agua (Figura 62b y c). El empleo de unidades de naftiridina en lugar de piridina originaba estructuras helicoidales con cavidades de mayor tamaño que podían albergar moléculas orgánicas más grandes como monosacáridos.

⁹² a) H.-G. Jeon, J. Y. Jung, P. Kang, M.-G. Choi, K.-S. Jeong, *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138*, 92-95; b) J. S. Kim, H.-G. Jeon, K.-S. Jeong, *Chem. Commun.* **2016**, *52*, 3406-3409.

⁹³ J. Y. Hwang, H.-G. Jeon, Y. R. Choi, J. Kim, P. Kang, S. Lee, K.-S. Jeong, *Org. Lett.* **2017**, *19*, 5625-5628.

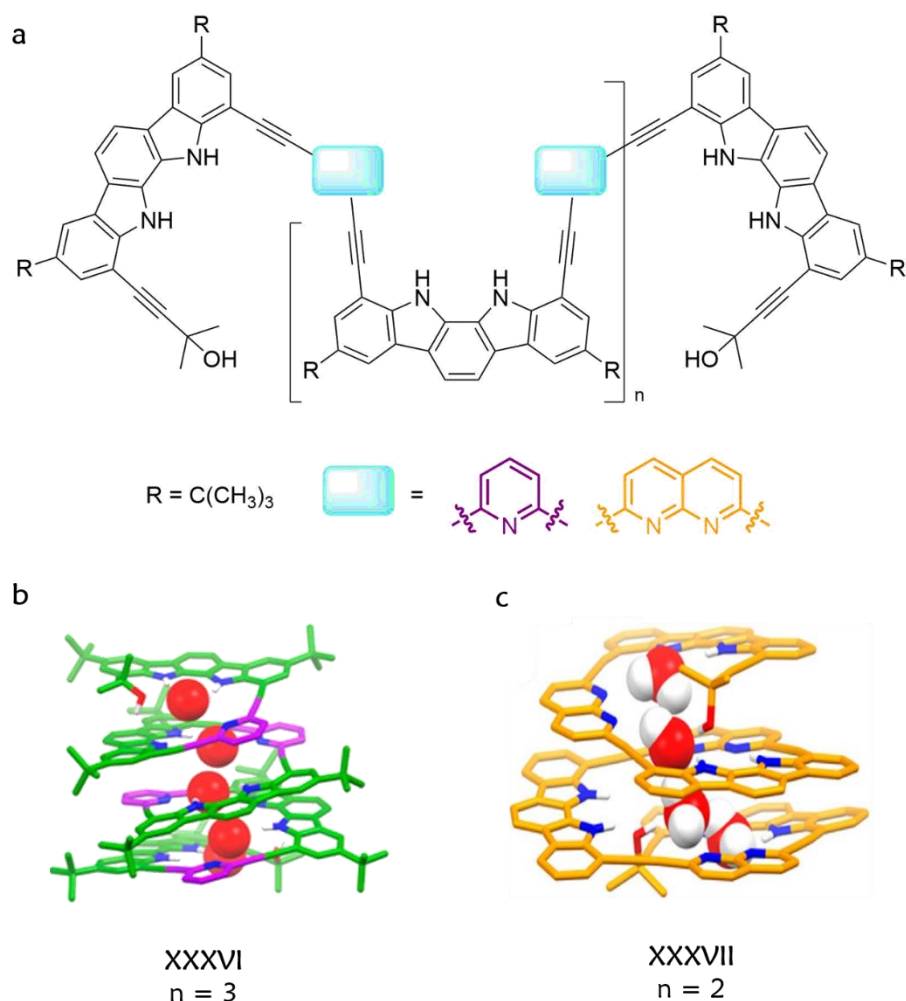


Figura 62. (a) Esqueleto de IP e IN. Estructuras de rayos X de (b) IP XXXVI y (c) IN XXXVII.

Como se indicó anteriormente, el grupo de Moore es especialista en preparar foldámeros de *m*-OPEs, cuyo plegamiento estaba inducido por interacciones solvofóbicas. Estas estructuras, en el estado plegado, adoptaban una conformación helicoidal donde se creaba una cavidad hidrofóbica capaz de albergar moléculas de pequeño tamaño. Esto fue aprovechado por este mismo grupo para el reconocimiento molecular de una serie de monoterpenos quirales, mediante una asociación reversible 1:1, demostrada mediante estudios de CD.⁹⁴ Medidas de espectroscopía UV-vis demostraron que la constante de asociación variaba linealmente con la composición de agua, indicando que las interacciones hidrofóbicas eran la fuerza motriz para esta asociación. Para extender el estudio, prepararon el foldámero **XXXIX** soluble en agua por la introducción de cadenas de hexaetilenglicol. Los estudios de CD y espectroscopía UV demostraron que los nuevos

⁹⁴ R. B. Prince, S. A. Barnes, J. S. Moore, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 2758-2762.

compuestos presentaban un comportamiento similar a sus análogos apolares, pudiendo albergar monoterpenos en su interior.⁹⁵

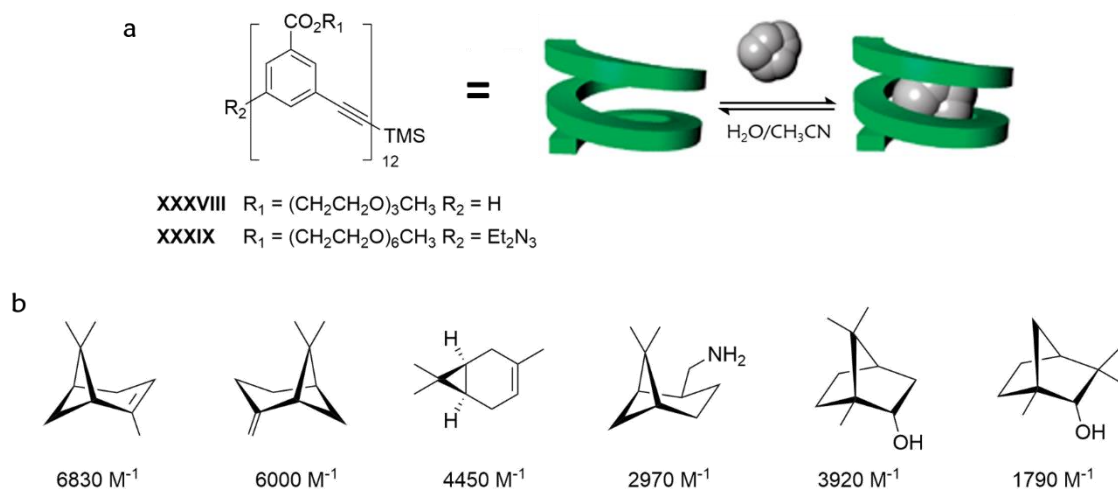


Figura 63. (a) Estructura y plegamiento de *m*-OPE; (b) monoterpenos y constantes de coordinación.

Por otro lado, la incorporación de una unidad de *N,N*-dimetilaminopiridina (DMAP) en la secuencia del esqueleto de un oligómero de *m*-OPEs le permitió actuar como un receptor molecular al unirse al yoduro de metilo. La reacción de metilación se vio acelerada debido a que en la conformación plegada las moléculas de yoduro de metilo se encuentran muy próximas al nitrógeno de la DMAP.⁹⁶

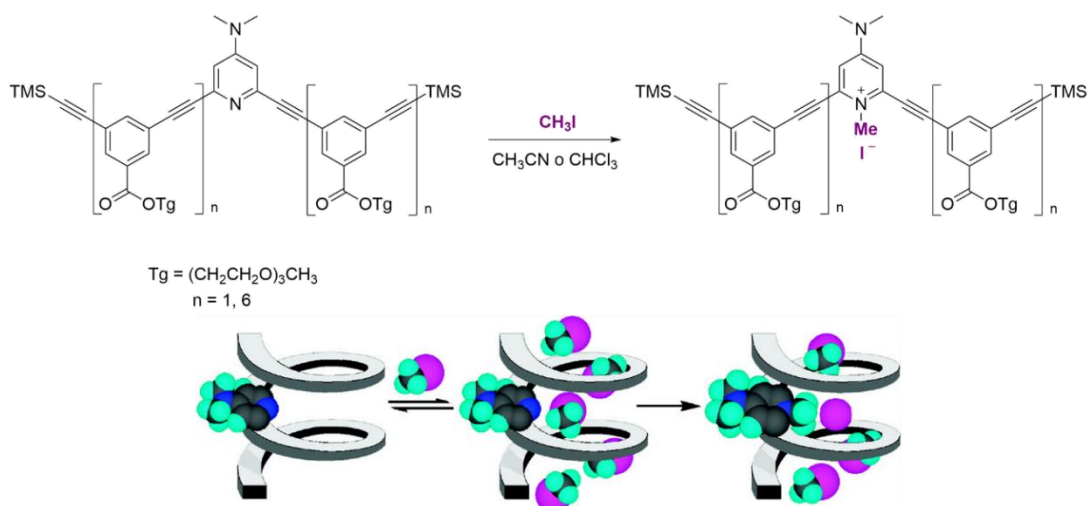


Figura 64. Estructura del receptor molecular de yoduro de metilo.

⁹⁵ M. T. Stone, J. S. Moore, *Org. Lett.* **2004**, *6*, 469-472.

⁹⁶ J. M. Heemstra, J. S. Moore, *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 9234-9237.

El grupo de Moore, también aprovechó los oligómeros de mayor longitud para el reconocimiento de moléculas tipo varilla. Así, la unión de derivados de *N,N'*-difeníl-2,5-dimetilpiperazina a la cavidad helicoidal e hidrófoba de estos oligómeros originó un gran efecto Cotton en el espectro de CD de este tipo de compuestos, demostrando el fenómeno de asociación.⁹⁷

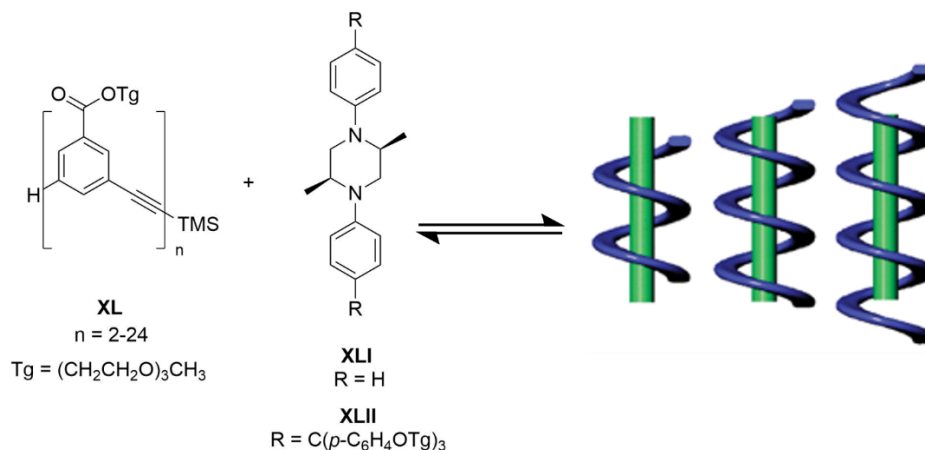


Figura 65. Reconocimiento de moléculas tipo varilla.

4.2 Reconocimiento de aniones

En los últimos años, el reconocimiento de aniones se ha convertido en un campo de investigación interesante en química supramolecular debido a la relevancia biológica y ambiental de los mismos. La mayoría de los aniones son buenos aceptores de enlaces de hidrógeno. Por ello, es necesario que los foldámeros que actuarán como receptores posean en su estructura grupos donantes apropiados capaces de incorporar aniones mediante enlaces de hidrógeno. Algunos de los monómeros más utilizados presentan protones de los grupos NH de amidas, ureas, pirroles e indoles y protones de grupos CH polarizados de heterociclos aromáticos con carga neutra o positiva, como el 1,2,3-triazol.⁹⁸

En este contexto, el grupo de Jeong publicó la síntesis de una serie de oligoindoles⁹⁹ que contenían cuatro, seis y ocho indoles, los cuales adoptaban una conformación helicoidal en presencia de aniones. Estos foldámeros presentaban una estructura extendida

⁹⁷ a) A. Tanatani, M. J. Mio, J. S. Moore, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 1792-1793; b) A. Tanatani, T. S. Hughes, J. S. Moore, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 325-328; c) K. Goto, J. S. Moore, *Org. Lett.* **2005**, *7*, 1683-1686.

⁹⁸ H. Juwarker, K.-S. Jeong, *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39*, 3664-3674.

⁹⁹ K.-J. Chang, B.-N. Kang, M.-H. Lee, K.-S. Jeong, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 12214-12215.

en disolución (*s-trans*) mientras que, en presencia de cloruros, adoptaban una conformación plegada (*s-cis*) formando una hélice, en la que los grupos NH de los indoles se encuentran mirando hacia el centro de la cavidad generada. Esto permite la unión de los aniones cloruro mediante enlaces de hidrógeno, lo que queda demostrado por el desplazamiento hacia campo bajo de los protones de los grupos NH, además de un desplazamiento a campo alto de los protones aromáticos, indicativo de interacciones π , lo cual solamente es posible en una conformación plegada. La modificación de los grupos funcionales de los extremos de la estructura de oligoindoles generó una nueva clase de foldámeros altamente fluorescentes¹⁰⁰ que, de nuevo, adoptaban una conformación helicoidal en presencia de aniones cloruro. Estos nuevos compuestos podían asociarse a otros aniones tales como F⁻, Br⁻, I⁻, CN⁻, NO₃⁻, CH₃COO⁻, N₃⁻ bajo las mismas condiciones, con constantes de asociación en el rango de 10³ a 10⁶, determinadas mediante fluorescencia.

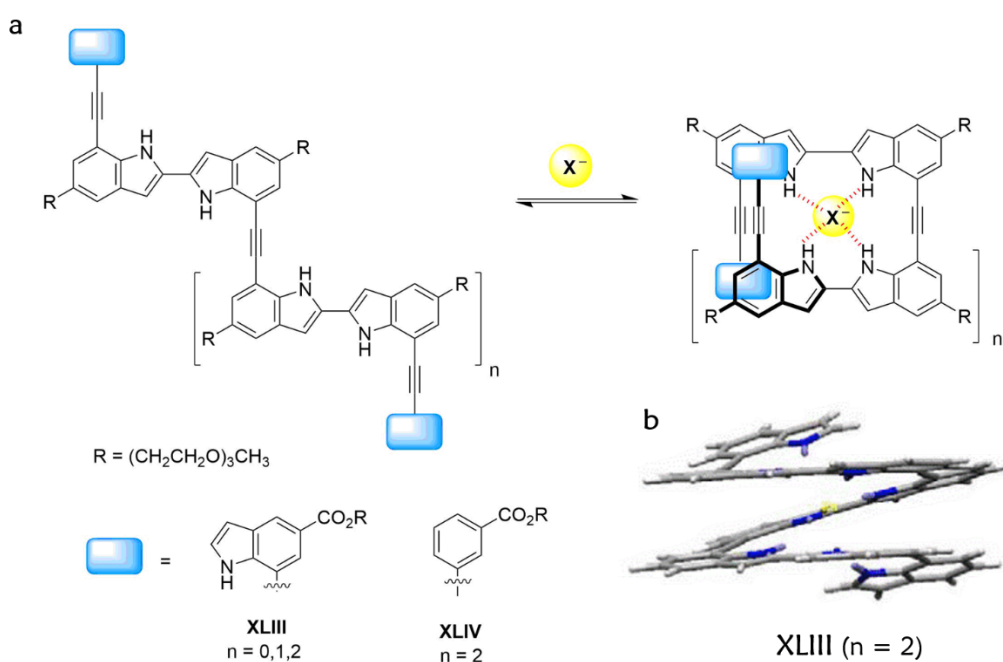


Figura 66. (a) Plegamiento de oligoindoles; (b) estructura de mínima energía para **XLIII** ($n = 2$).

En 2008, este mismo grupo, preparó una serie de indolocarbazoles que poseían superficies π extendidas en relación a sus análogos anteriores, lo que les proporcionaba un aumento del apilamiento π - π .¹⁰¹ Estas nuevas estructuras adoptaban conformaciones

¹⁰⁰ U.-I. Kim, J.-M. Suk, V. R. Naidu, K.-S. Jeong, *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 11406-11414.

¹⁰¹ J.-M. Suk, K.-S. Jeong, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 11868-11869.

plegadas en presencia de haluros en medio acuoso, cuyas constantes de asociación fueron determinadas mediante valoraciones de ^1H RMN (Figura 67a). Para expandir la utilidad de los indolocarbazoles, modificaron su estructura para obtener el compuesto **XLVI**, el cual contenía hasta ocho grupos capaces de formar enlaces de hidrógeno en presencia de aniones, seis grupos NH de los indoles y dos grupos OH alifáticos.¹⁰² El plegamiento inducido por la presencia de aniones sulfato generó una cavidad con ocho donadores de enlaces de hidrógeno. La conformación helicoidal propuesta para el compuesto **XLVI** se pudo confirmar mediante estudios de espectroscopía UV-Vis y fluorescencia, además de comprobarse la asociación por cristalografía de rayos X (Figura 67b).

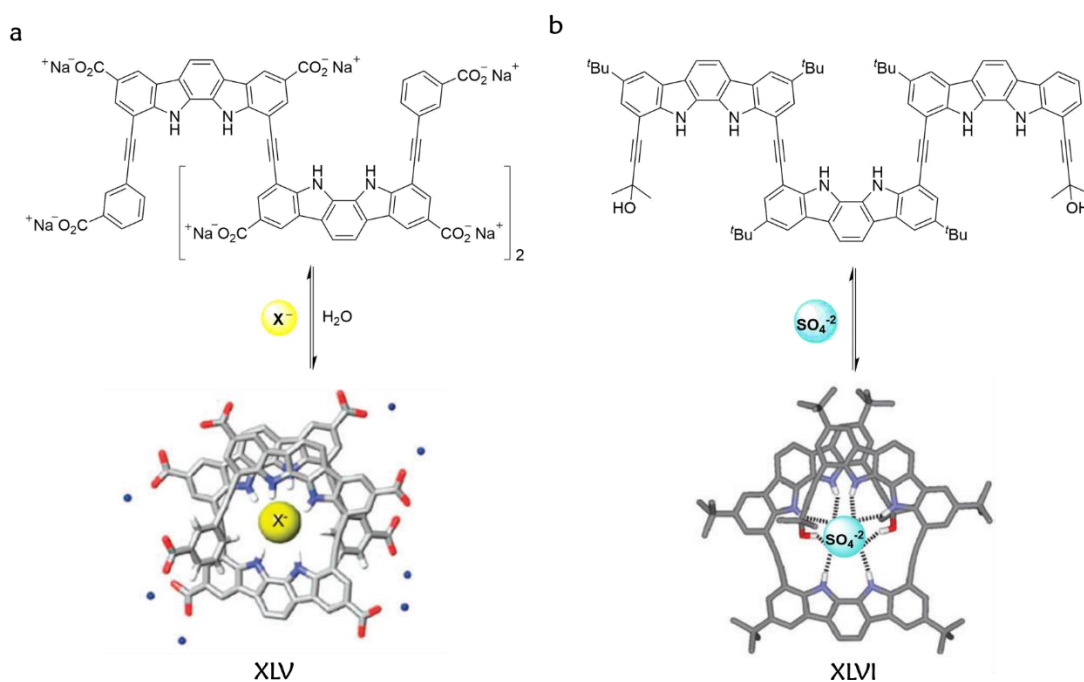


Figura 67. Plegamiento inducido por la presencia de (a) haluros y (b) iones sulfato.

En 2008, Craig y colaboradores publicaron un oligómero acíclico basado en unidades de 1,2,3-triazol, que podía plegarse en presencia de cloruros (Figura 68a).¹⁰³ Estos compuestos presentan la característica de no tener los clásicos grupos funcionales donantes de enlaces de hidrógeno, sino que el fenómeno de asociación tiene lugar por medio de enlaces C-H. Gracias a la polaridad que presentaban los triazoles, se creaba una cavidad electropositiva que permitía dicha unión.

¹⁰² J.-I. Kim, H. Juwarker, X. Liu, M. S. Lah, K.-S. Jeong, *Chem. Commun.* **2010**, 46, 764-766.

¹⁰³ H. Juwarker, J. M. Lenhardt, D. M. Pham, S. L. Craig, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, 47, 3740-3743.

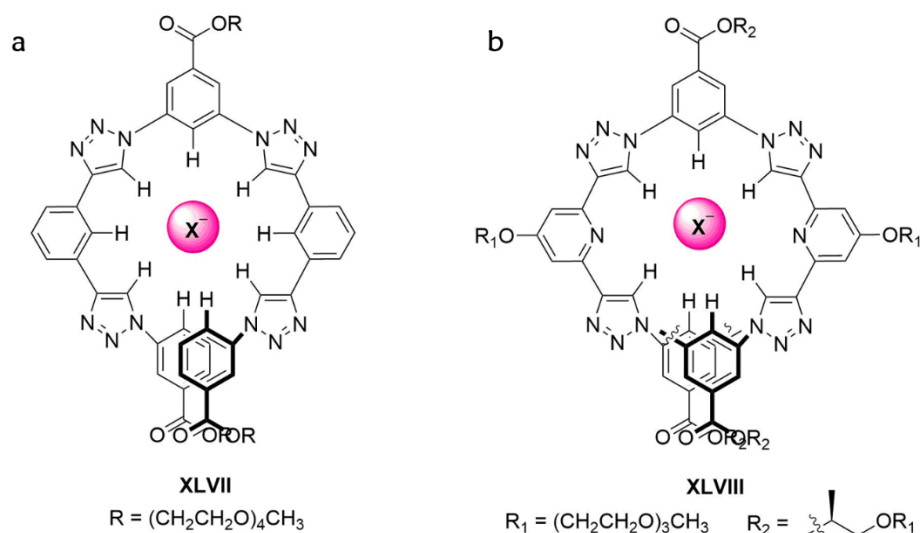


Figura 68. Oligotriazoles sintetizados por (a) Craig y col.; (b) Meudtner y Hecht (ver referencia 103).

Simultáneamente, Meudtner y Hecht¹⁰⁴ sintetizaron una estructura similar (Figura 68b) pero que presentaba cadenas quirales y alternaba unidades de aril, piridil y 1,2,3-triazol. En este caso, las repulsiones dipolo-dipolo entre los heterociclos obligan al oligómero a adoptar una conformación helicoidal en mezclas de agua-acetonitrilo, permitiendo la unión a haluros. Además, dicha conformación se encontraba estabilizada por la presencia de interacciones de tipo π y efectos solvofóbicos. Curiosamente, la asociación a los cloruros y bromuros inducía un cambio en la helicidad de la estructura, representando el primer ejemplo de inversión de la helicidad en respuesta a un estímulo externo aquiral.

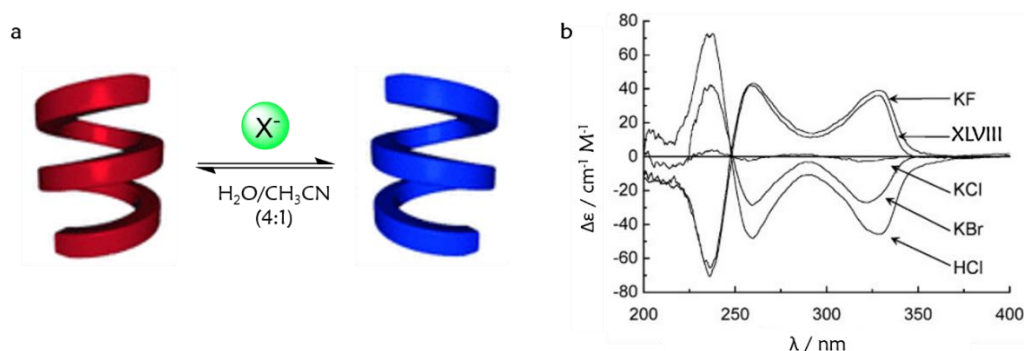


Figura 69. (a) Inversión de helicidad por estímulo aquiral; (b) espectro de CD de **XLVIII** en presencia de distintos aniones.

¹⁰⁴ R. M. Meudtner, S. Hecht, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 4926-4930.

Otro tipo de esqueleto empleado para el reconocimiento de aniones han sido las arilamidas. Así, el grupo de Li describió el plegamiento de una serie de oligómeros lineales de arilamida, basados en la repetición de unidades de benceno y naftaleno.¹⁰⁵ Dicho plegamiento tenía lugar en DMSO en presencia del anión 1,3,5-bencenotricarboxilato debido a la formación de enlaces de hidrógeno entre los átomos de hidrógeno de los grupos amida y de los anillos aromáticos con los oxígenos cargados negativamente del anión. Estudios de 1D y 2D RMN, fluorescencia y UV-Vis confirman la estructura helicoidal, siendo el primer ejemplo descrito en bibliografía de empleo de un anión orgánico para inducir el plegamiento.

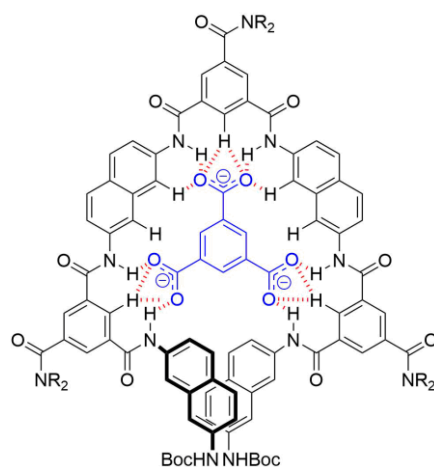


Figura 70. Reconocimiento de anión orgánico.

4.3 Reconocimiento de cationes

Otros sustratos que también ha sido susceptibles de establecer interacciones con esta familia de moléculas son los cationes. Así, la formación de una conformación helicoidal de los *m*-OPEs, desarrollados por Moore y colaboradores, originaba una cavidad interior. La modificación de esta cavidad por la introducción de seis grupos ciano en la estructura permitió el reconocimiento de cationes de plata, lo que indujo el plegamiento de la estructura incluso en disolventes que no facilitaban dicho plegamiento, como el THF.¹⁰⁶ Mediante valoraciones de ¹H RMN y UV-Vis, corroboraron el fenómeno de coordinación con la Ag(I), demostrando que esta unión era la fuerza motriz para el plegamiento. Estos

¹⁰⁵ Y.-X. Xu, G.-T. Wang, X. Zhao, X.-K. Jiang, Z.-T. Li, *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 7267-7273.

¹⁰⁶ R. B. Prince, T. Okada, J. S. Moore, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 233-236.

nuevos oligómeros eran capaces de introducir en su estructura hasta dos equivalentes de cationes de plata.

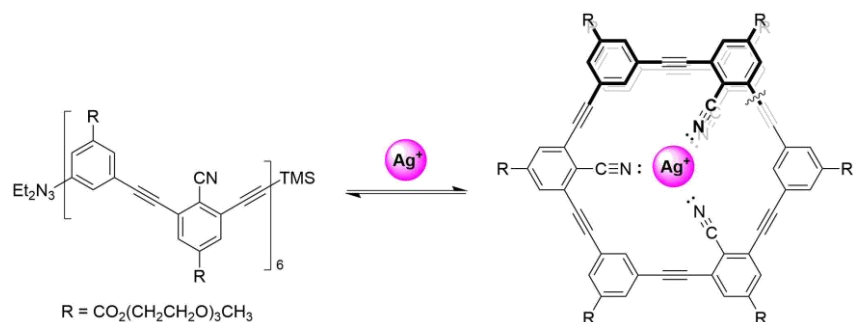


Figura 71. Reconocimiento de Ag(I) por el oligomero de *m*-OPE sintetizado por el grupo de Moore.

El grupo de Lehn¹⁰⁷ publicó un nuevo tipo de foldámero compuesto por la alternancia de heterociclos de pirimidina y 1,8-naftiridina, que eran capaces de coordinarse con cationes alcalinos y grupos amonio, induciendo el plegamiento de la estructura (Figura 72a). Mediante la modificación del esqueleto con anillos de piridina e hidrazona, este mismo grupo demostró la capacidad de adoptar una conformación helicoidal en presencia de triflatos de Pb(II), Cd(II) y Hg(II) (Figura 72b).¹⁰⁸ En ambos casos, la espectroscopía 1D y 2D RMN demostró el plegamiento de las estructuras, así como la coordinación a los cationes.

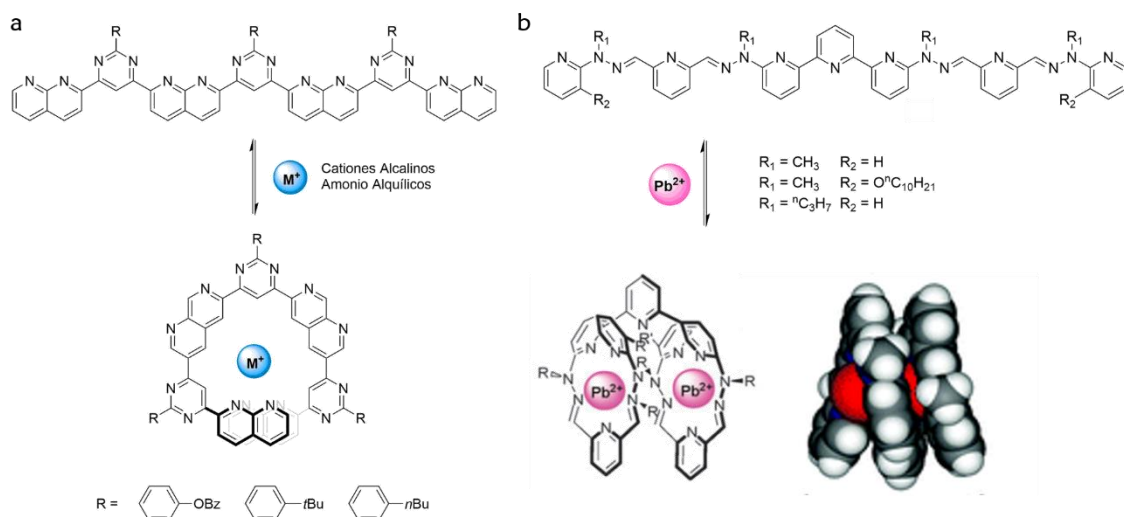


Figura 72. Plegamiento inducido por cationes (a) alcalinos o amonios alquílicos y (b) de Pb(II).

¹⁰⁷ A. Petitjean, L. A. Cuccia, J.-M. Lehn, H. Nierengarten, M. Schmutz, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 1195-1198.

¹⁰⁸ A.-M. Stadler, N. Kyritsakas, J.-M. Lehn, *Chem. Commun.* **2004**, 2024-2025.

Fox y colaboradores realizaron la síntesis y caracterización de un nuevo metalofoldámero basado en ligandos tipo salen y salophen.¹⁰⁹ Este foldámero adoptaba una conformación helicoidal en presencia de Ni(II) y Cu(II), tanto en estado sólido como en disolución, lo cual se confirmó mediante cristalografía de rayos X y RMN. La resolución quiral de este metalofoldámero se producía espontáneamente por cristalización, lo cual podía revertirse rápidamente al enfriar a 5 °C. Los estudios electroquímicos demostraron que tras la reducción del metalofoldámero de Cu(II) a Cu(I) tenía lugar una reorganización estructural que interrumpía la helicidad. La modificación de los grupos terminales permitió un mayor control sobre la helicidad de la estructura.

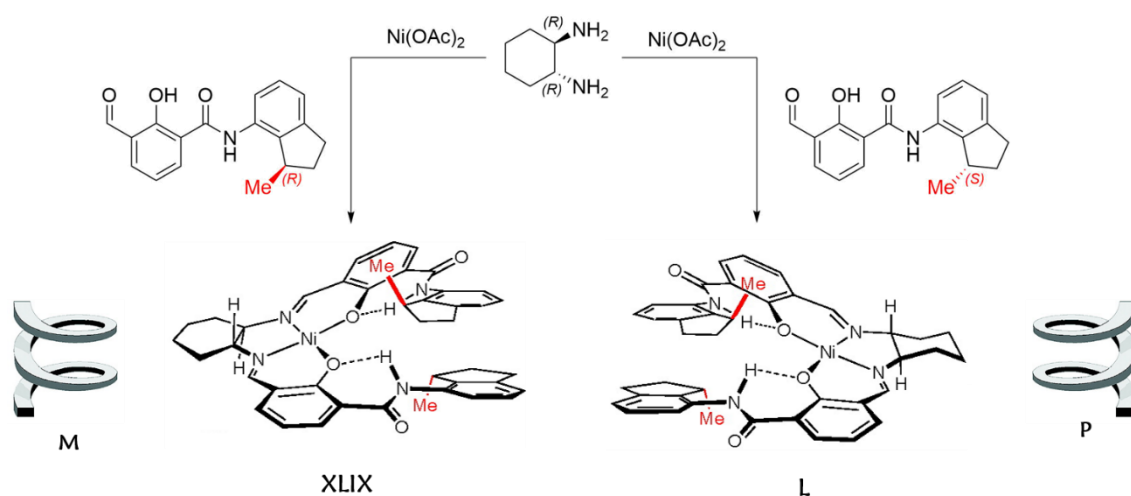


Figura 73. Conformación helicoidal preferencial en presencia de Ni(II).

Como ya se explicó anteriormente, el grupo de Zhao y Zhong demostró que el ácido cólico podía usarse como unidad de repetición para la construcción de foldámeros. La introducción de un grupo dansilo en la estructura permitió la detección de iones Hg(II) (ver Figura 35).⁶¹ Puesto que el foldámero a base de unidades de ácido cólico era apolar y, por tanto, insoluble en agua, los autores decidieron incorporarlo a micelas, para solventar dicho problema y poder realizar la detección de iones Hg(II) en agua (Figura 74a).¹¹⁰ Esta estructura se aprovechó poco después por este mismo grupo para la construcción de un nuevo foldámero fluorescente, que contenía dos unidades de ácido

¹⁰⁹ a) F. Zhang, S. Bai, G. P. A. Yap, V. Tarwade, J. M. Fox, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 10590-10599; b) Z. Dong, J. N. Plampin III, G. P. A. Yap, J. M. Fox, *Org. Lett.* **2010**, *12*, 4002-4005.

¹¹⁰ Y. Zhao, Z. Zhong, *Org. Lett.* **2006**, *8*, 4715-4717.

glutámico y dos grupos pireno en los extremos de la cadena, capaz de detectar cationes de Zn(II) (Figura 74).¹¹¹

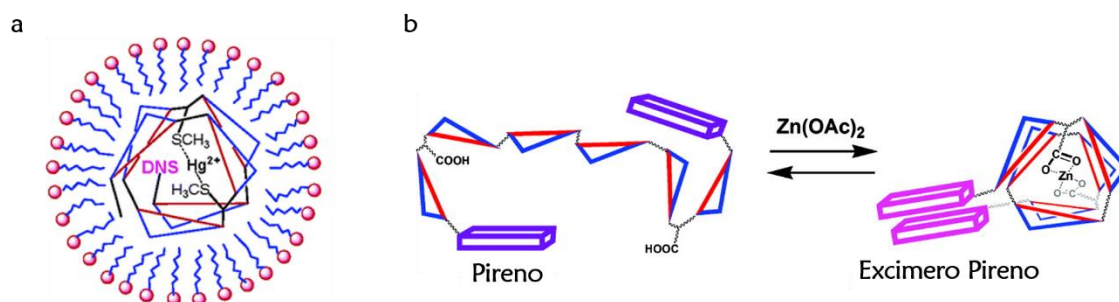


Figura 74. Detección de iones (a) Hg(II) y (b) Zn(II) por el foldámero a base de ácido cólico.

Nuestro grupo de investigación, inspirado por los trabajos realizados por Moore basados en el plegamiento de *m*-OPEs y con los precedentes publicados por Youngs¹¹² y Komatsu¹¹³, los cuales sintetizaron los primeros metalocomplejos donde más de un triple enlace interactuaba con cationes de Ag(I), decidió desarrollar una nueva familia de *o*-OPEs foldámeros que pudieran coordinarse a metales carbofílicos.¹¹⁴ Un profundo estudio teórico y experimental demostró que, tanto los compuestos cíclicos como acíclicos sintetizados, eran capaces de coordinarse a cationes de Ag(I) mediante interacciones carbofílicas con al menos tres grupos alquino. De esta forma, se demostró por primera vez, como la interacción alquino-Ag(I) inducía el plegamiento helicoidal de las estructuras de *o*-OPEs, abriendo la posibilidad al desarrollo de nuevos compuestos con aplicaciones en ciencia de los materiales y/o en catálisis asimétrica.

¹¹¹ Z. Zhong, Y. Zhao, *Org. Lett.* **2007**, *9*, 2891-2894.

¹¹² J. D. Ferrar, A. Djebli, C. A. Tessier, W. J. Youngs, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 647-649.

¹¹³ T. Nishinaga, T. Kawamura, K. Komatsu, *J. Chem. Soc.; Chem. Commun.* **1998**, 2263-2264.

¹¹⁴ A. Martín-Lasanta, L. Álvarez de Cienfuegos, A. Johson, D. Miguel, A. J. Mota, A. Orte, M. J. Rueda-Rama, M. Ribagorda, D. J. Cárdenas, M. C. Carreño, A. M. Echavarren, J. M. Cuerva, *Chem. Sci.* **2014**, *5*, 4582-4591.

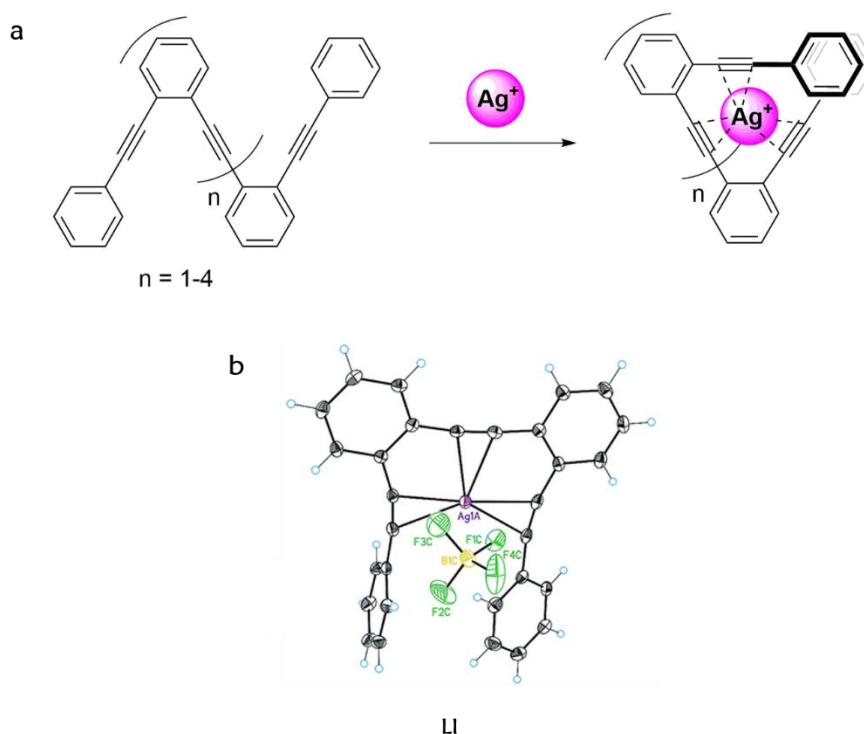


Figura 75. (a) Plegamiento inducido por iones Ag(I) , (b) estructura de rayos X del compuesto **LI** ($n=1$).

5. Quiralidad supramolecular

La quiralidad es uno de los fenómenos más fascinantes que se encuentran en la naturaleza y puede observarse desde niveles moleculares hasta supramoleculares y macroscópicos.

La quiralidad supramolecular ha recibido una gran atención debido a su relación con estructuras biológicas naturales y las posibles nuevas aplicaciones de estos materiales tales como interruptores quiroópticos, reconocimiento molecular y catálisis asimétrica. La quiralidad supramolecular surge de la disposición asimétrica de las unidades de repetición en los sistemas de autoensamblaje formados mediante interacciones no covalentes. Por lo tanto, es posible que cualquier tipo de molécula, ya sean quiral o aquiral, pueda autoensamblarse para formar nanoestructuras quirales. En comparación con la quiralidad molecular, la quiralidad supramolecular puede ser regulada más fácilmente por las condiciones o estímulos externos tales como el pH, la temperatura y los disolventes, entre otros.¹¹⁵

¹¹⁵ a) L. Zhang, L. Qin, X. Wang, H. Cao, M. Liu, *Adv. Mater.* **2014**, *26*, 6959-6964; b) L. Zhang, T. Wang, Z. Shen, M. Liu, *Adv. Mater.* **2016**, *28*, 1044-1059; c) Y. Wang, J. Xu, Y. Wang, H. Chen, *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 2930-2962.

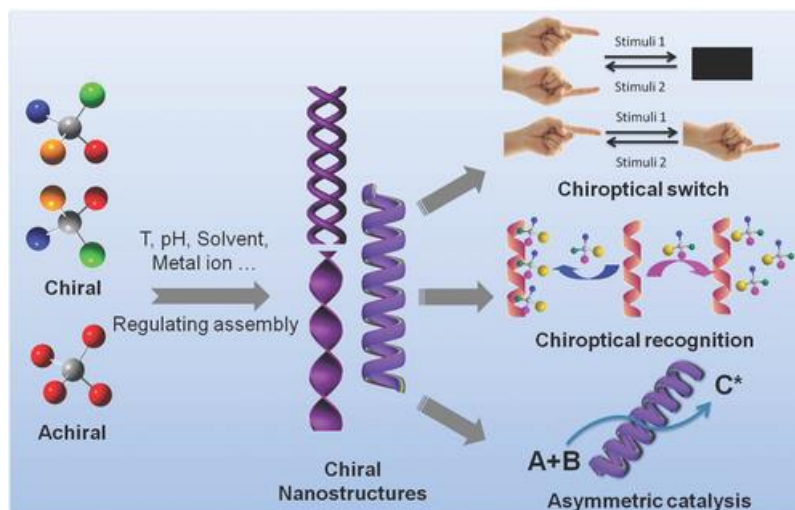


Figura 76. Obtención y aplicaciones de las nanoestructuras quirales.

5.1 Nanoestructuras quirales

En ausencia de un estímulo quiral los foldámeros se presentan como una mezcla racémica, ya que existe un equilibrio dinámico entre las dos posibles conformaciones *P* y *M* (según el giro de la estructura helicoidal). No existe un mecanismo único para introducir la quiralidad en las nanoestructuras. Por lo general, los métodos más empleados son la complejación con moléculas quirales (Figura 77a), introducción de cadenas quirales (Figura 77b) o subunidades quirales en el esqueleto (Figura 77c), de tal forma que a través del autoensamblaje de las distintas unidades de repetición se produzca una transferencia de la quiralidad molecular a las nanoestructuras.

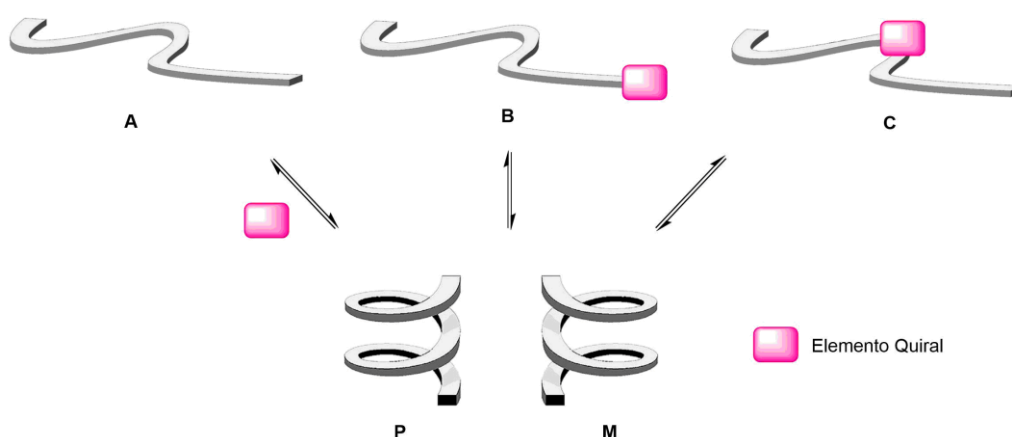


Figura 77. Inducción de quiralidad por (a) estímulo quiral externo, (b) cadenas laterales quirales y (c) subunidades quirales del esqueleto.

El grupo de Moore previamente demostró la transferencia de quiralidad desde las cadenas laterales al esqueleto helicoidal.^{63,64} Para comprobar la capacidad que poseían las

cadena quirales de transferir la quiralidad sintetizaron oligómeros de *m*-OPEs mixtos, en los que se introdujeron varias unidades quirales en uno de los extremos del foldámero.¹¹⁶ Mediante experimentos de CD y UV-Vis demostraron un efecto “*Sargento-Soldado*”¹¹⁷ intramolecular, de tal forma que la presencia de una sola unidad quiral era suficiente para transferir la quiralidad al resto de la estructura helicoidal. Al igual que sus análogos anteriores, estos foldámeros mixtos adoptaban una conformación helicoidal en acetonitrilo, mientras que en cloroformo se orientaban al azar.

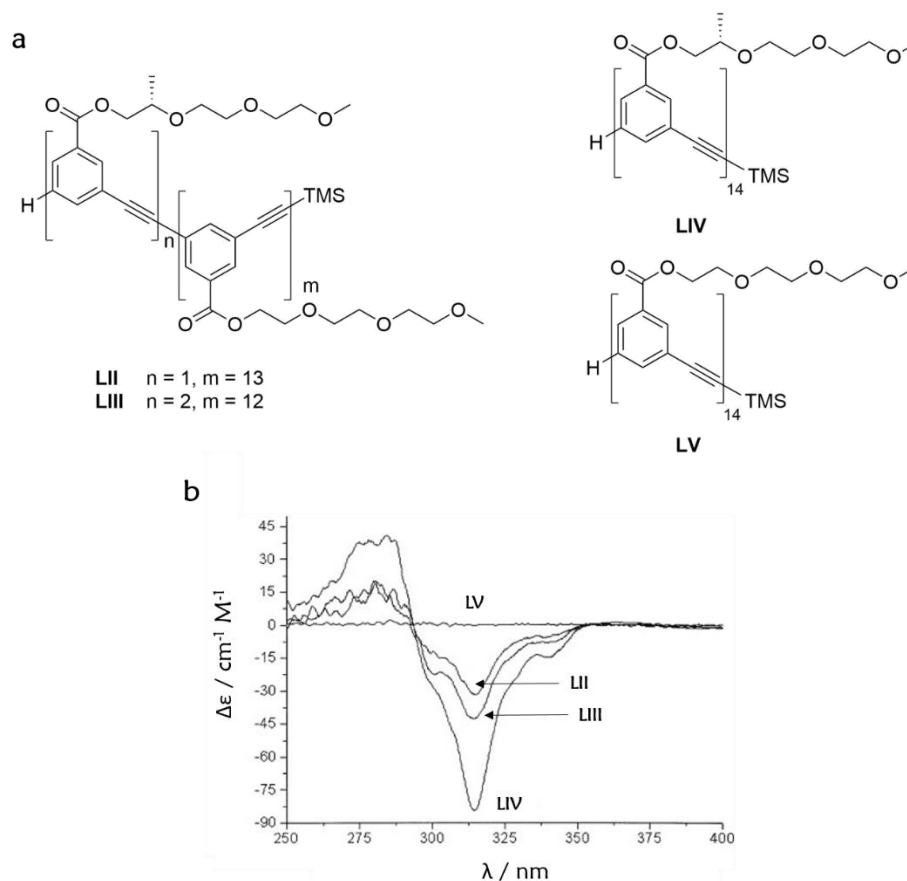


Figura 78. (a) Comparación y (b) espectro de CD de estructuras mixtas (LII y LIII) con sus análogos anteriores (LIV y LV).

Por otra parte, este mismo grupo introdujo en mitad del esqueleto de *m*-OPEs un binaftol ópticamente activo, permitiendo la formación mayoritaria de una de las hélices (Figura 79a).¹¹⁸ Puesto que el compuesto era ópticamente activo, mostró señal de CD en

¹¹⁶ R. B. Prince, J. S. Moore, L. Brunsveld, E. W. Meijer, *Chem. Eur. J.* **2001**, *7*, 4150-4154.

¹¹⁷ M. M. Green, M. P. Rediy, R. J. Johnson, G. Darling, D. J. O'Leary, G. Willson, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 6452-6454.

¹¹⁸ M. S. Gin, T. Yokozawa, R. B. Prince, J. S. Moore, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 2643-2644.

un disolvente no helicogénico¹¹⁹ como el cloroformo, mientras que en acetonitrilo, disolvente helicogénico, las señales de CD se incrementaron debido a la formación de una conformación helicoidal preferencial, así como a una transferencia de quiralidad desde el agente quiral al resto del esqueleto. Un comportamiento similar se obtuvo cuando el binaftol fue sustituido por un heliceno (Figura 79b).¹²⁰ En ambos casos se demostró la preferencia por una conformación helicoidal *M*.

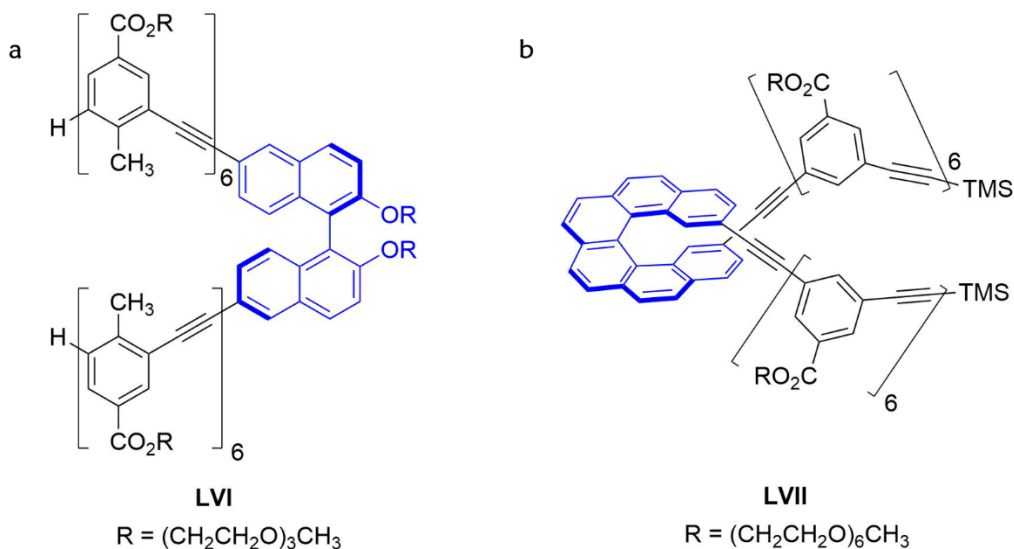


Figura 79. Estructura de *m*-OPEs con elementos quirales en el esqueleto: (a) binaftol y (b) heliceno.

La sustitución del heliceno y del binaftol por un esqueleto más flexible a base de ácido tartárico generó de nuevo una conformación helicoidal preferencial.¹²¹ En este caso el grupo de Moore observó cómo dependía la protección que presentaran los derivados del ácido tartárico en la transferencia de la quiralidad. Así, el empleo de trimetilsilil (TMS) como grupo protector originaba una importante señal de CD, mientras que el grupo isopropilideno o la no protección no discriminaban en la helicidad pudiendo incluso inhibir la formación de la estructura helicoidal.

¹¹⁹ D. J. Hill, J. S. Moore, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2002**, *99*, 5053-5057.

¹²⁰ M. T. Stone, J. M. Fox, J. S. Moore, *Org. Lett.* **2004**, *6*, 3317-3320.

¹²¹ M. S. Gin, J. S. Moore, *Org. Lett.* **2000**, *2*, 135-138.

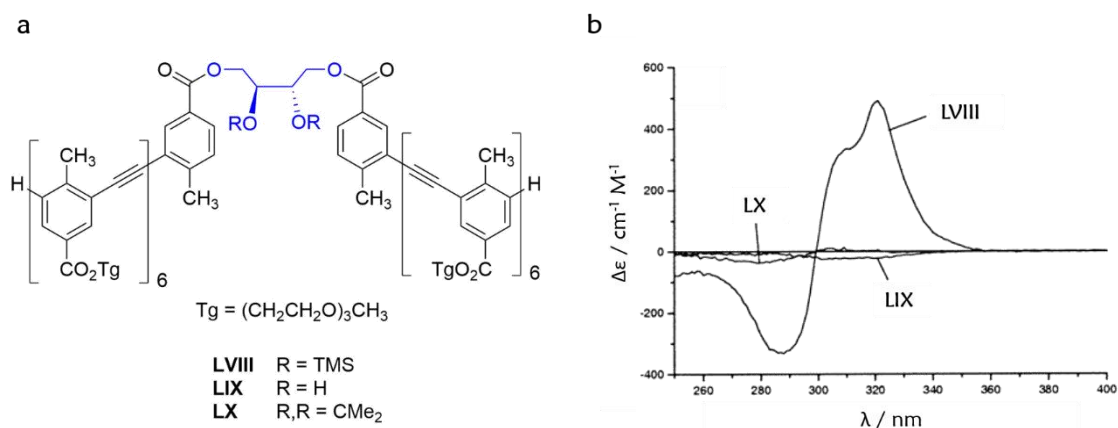


Figura 80. Estructura y espectro de CD de los compuestos LVIII, LIX y LX.

De manera similar, el grupo de Yamaguchi sintetizó una serie de etinilhelicenos⁶⁷ con distintas cadenas laterales, que podían agregarse formándose hélices dobles.¹²²

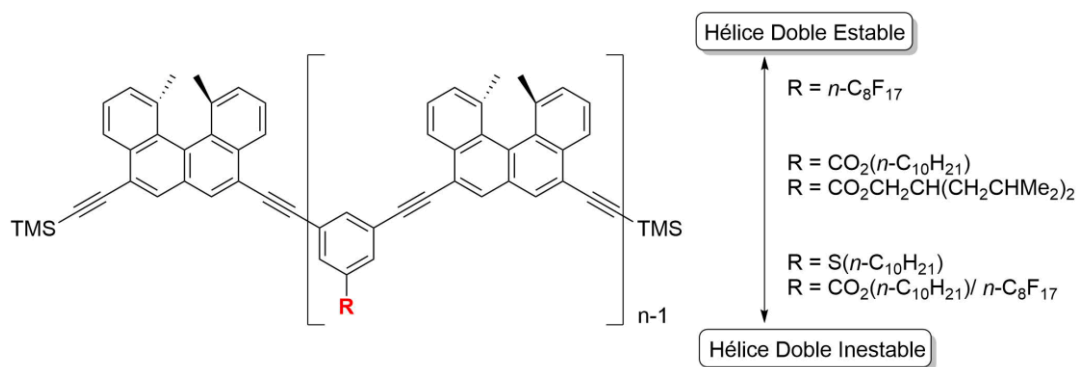


Figura 81. Estructuras y estabilidades de etinilhelicenos de Yamaguchi.

Como se mencionó anteriormente, el grupo de Li sintetizó esqueletos de oligohidrazidas capaces de reconocer una gran variedad de azúcares adoptando conformaciones plegadas en presencia de los mismos.⁸⁵ La introducción de dos unidades de *R*- o *S*-prolina en la estructura, les permitió observar una conformación helicoidal preferencial tras la adición de glucosa a la disolución, lo que quedó demostrado mediante la técnica de CD.¹²³

¹²² N. Saito, R. Terakawa, M. Shigeno, R. Amemiya, M. Yamaguchi, *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 4841-4858.

¹²³ C. Li, G.-T. Wang, H.-P. Yi, X.-K. Jiang, Z.-T. Li, R.-X. Wang, *Org. Lett.* **2007**, *9*, 1797-1800.

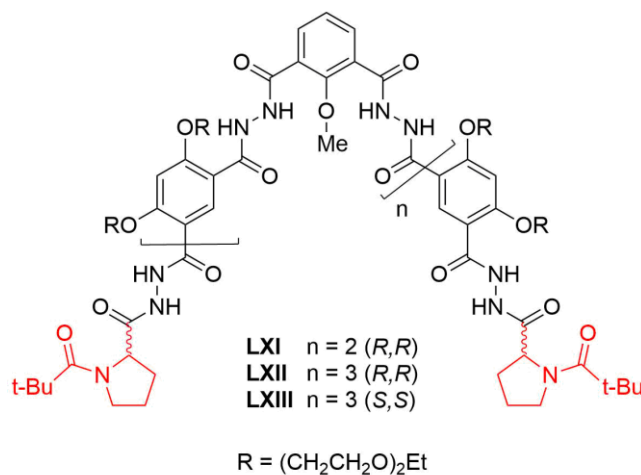


Figura 82. Estructura de oligohidrazinas quirales.

Por otra parte, Hecht y colaboradores sintetizaron foldámeros de *m*-OPEs que presentaban cadenas de oligoetilenglicol derivadas de L- y D-alanina, conectadas al esqueleto mediante enlaces amida. La estructura estaba estabilizada por la presencia de enlaces de hidrógeno, lo que permitió el autoensamblaje en cristales de dos dimensiones, que se pudieron estudiar mediante microscopía de fuerza atómica (AFM). De esta manera se demostró la preferencia helicoidal tanto en disolventes polares como apolares.¹²⁴

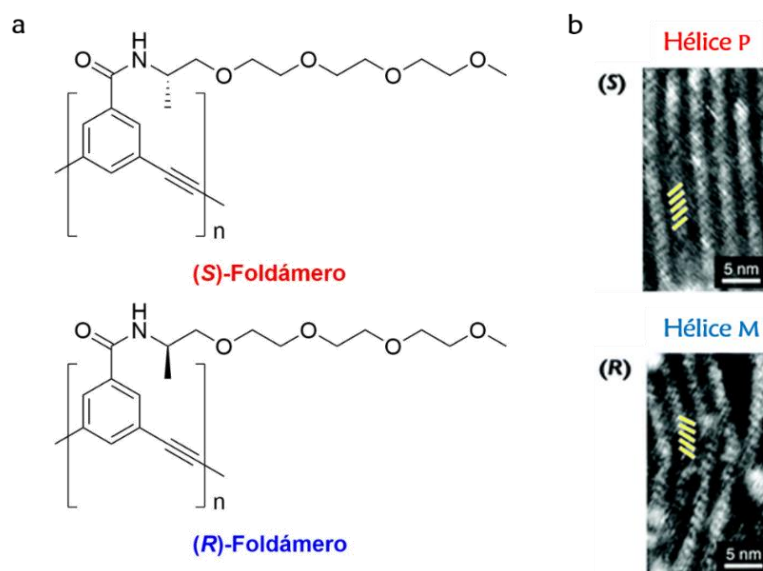


Figura 83. (a) Estructuras e (b) imágenes de AFM de alta resolución de *m*-OPEs quirales sintetizados por Hecht y colaboradores.

¹²⁴ M. Banno, T. Yamaguchi, K. Nagai, C. Kaiser, S. Hecht, E. Yashima, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 8718-8728.

Como ya se expuso anteriormente, el grupo de Jeong sintetizó foldámeros cuyo esqueleto estaba construido por oligoindoles.⁹⁹ Extendiendo su estudio con este tipo de compuestos, introdujeron en los extremos de los tetraindoles grupos (*S*)- y (*R*)-feniletilamina. Estos compuestos adoptaban una conformación helicoidal tras la coordinación a aniones cloruro mediante enlaces de hidrógeno. Los experimentos de CD demostraron la efectiva transferencia de quiralidad desde la cadena al esqueleto de oligoindoles durante el plegamiento, permitiendo la formación preferencial de uno de los dos isómeros helicoidales. Cálculos teóricos sugirieron que la hélice *P* del (*S,S*)-oligoindol es más estable que la correspondiente hélice *M*.¹²⁵

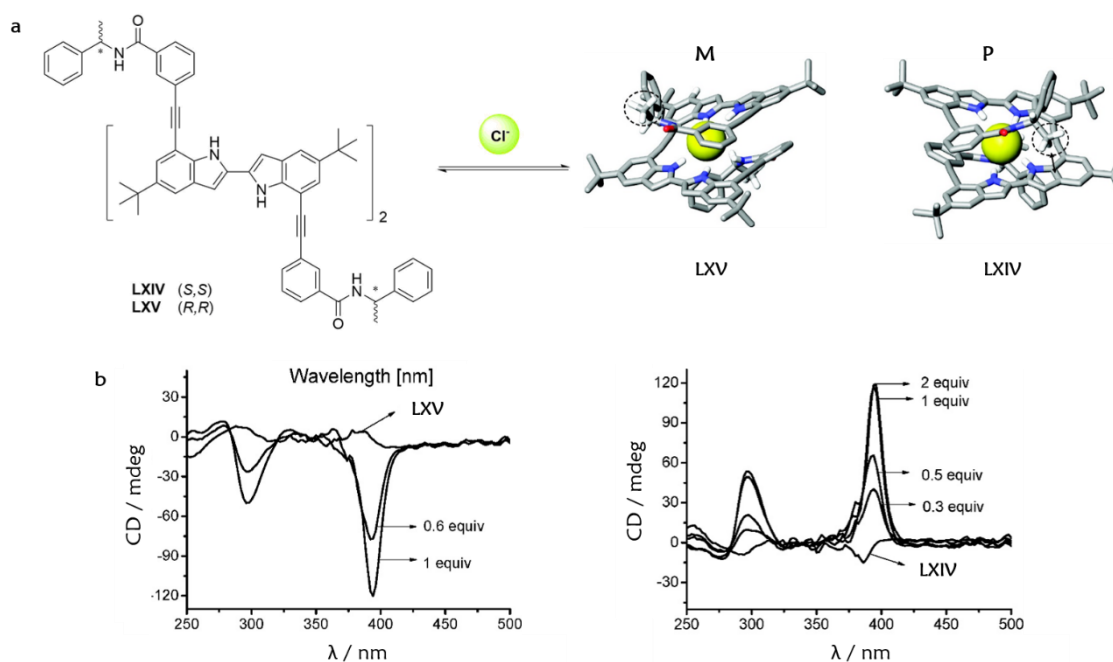


Figura 84. (a) Estructura y (b) espectros de CD de oligoindoles quirales LXIV y LXV.

Este mismo grupo sintetizó un foldámero quiral que presentaba tres unidades de indolocarbazol, en cuyos extremos introdujeron grupos amidas quirales. Estas estructuras, al igual que las anteriores, adoptaban una conformación helicoidal en presencia de cloruros mediante interacciones por enlaces de hidrógeno. Los experimentos de CD demostraron también la transferencia de la quiralidad desde los grupos amida al esqueleto de indolocarbazol, adoptándose una conformación preferencial (hélice *M*), lo que pudo corroborarse mediante difracción de rayos X. Además, también se observó la alta

¹²⁵ V. R. Naidu, M. C. Kim, J.-m. Suk, H.-J. Kim, M. Lee, E. Sim, K.-S. Jeong, *Org. Lett.* **2008**, *10*, 5373-5376.

sensibilidad que presentaban ante la polaridad del disolvente y a la unión de aniones, haciéndolos útiles en el desarrollo de sensores o interruptores moleculares.¹²⁶

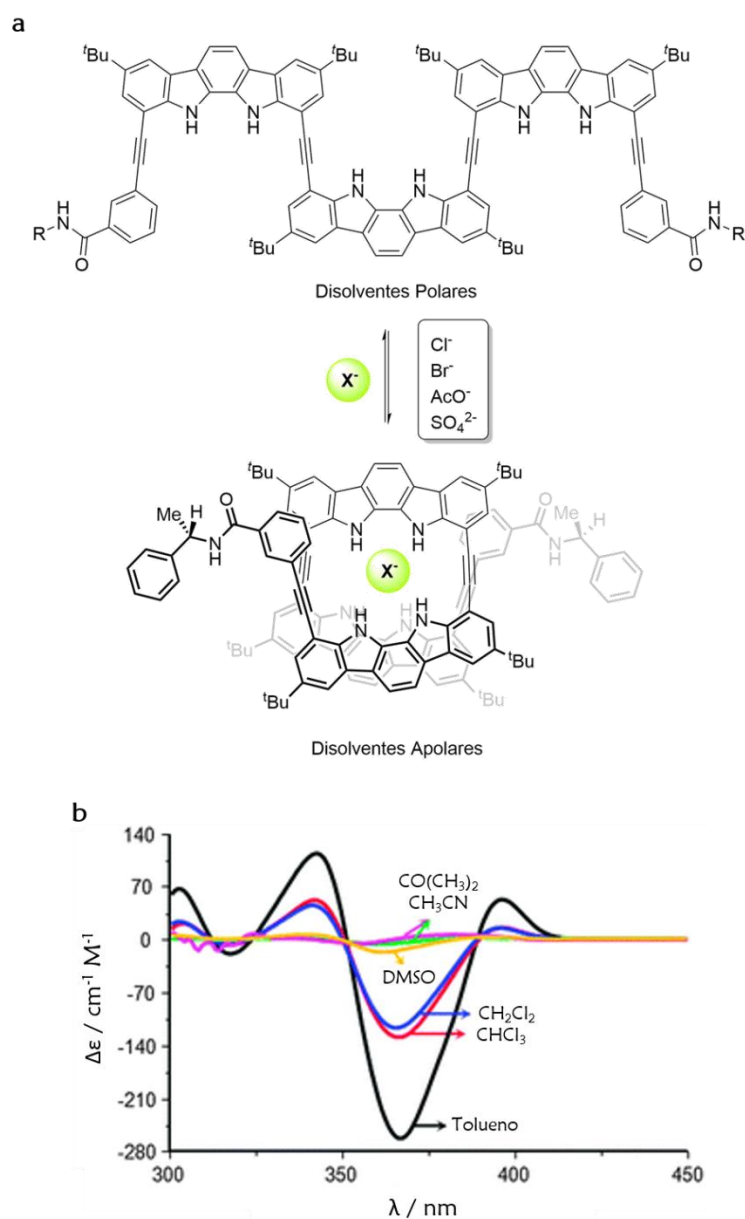


Figura 85. (a) Plegamiento y (b) espectro de CD de indolocarbazol quiral.

Recientemente, este grupo modificó la estructura de los indolocarbazoles, sintetizando una nueva familia de foldámeros híbridos que intercalaba anillos de piridina en el esqueleto principal.⁹² La introducción de distintos grupos quirales en los extremos así como las restricciones conformacionales permitió controlar la orientación preferencial de la

¹²⁶ D. A Kim, P. Kang, M.-G. Choi, K.-S. Jeong, *Chem. Commun.* **2013**, 49, 9743-9745.

hélice formada. Mediante RMN de protones, espectroscopía de CD y análisis de rayos X consiguieron determinar la magnitud y tendencia hacia una y otra estructura helicoidal. Al igual que sus análogos anteriores, estos foldámeros eran capaces de atrapar en su cavidad interior hasta cuatro moléculas de agua, mediante la formación de enlaces de hidrógeno.¹²⁷

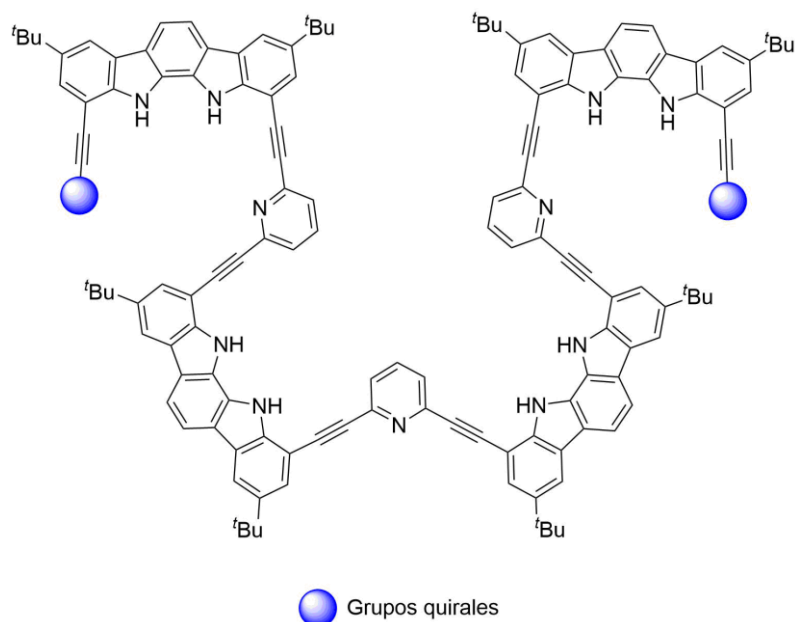


Figura 86. Estructura indolocarbazol-piridina quiral.

5.2 Nanoestructuras quirales derivadas del “grapado” molecular

Como se expuso en secciones anteriores, las estructuras helicoidales se pueden estabilizar mediante diversas interacciones no covalentes, como las interacciones solvofóbicas, la coordinación a metales, los enlaces de hidrógeno, etc. Sin embargo, las estructuras helicoidales estabilizadas por estas interacciones no son lo suficientemente robustas para mantener de forma permanente la quiralidad helicoidal. Puesto que las estructuras helicoidales son intrínsecamente dinámicas y se encuentran habitualmente como mezclas racémicas, otra manera de realizar la síntesis enantioselectiva de este tipo de estructuras sería mediante la estabilización de los sistemas helicoidales por medio de enlaces covalentes y, dependiendo de la aproximación sintética, una subsiguiente resolución.

¹²⁷ J. Kim, H.-G. Jeon, P.Kang, K.-S. Jeong, *Chem. Commun.* **2017**, *53*, 6508-6511.

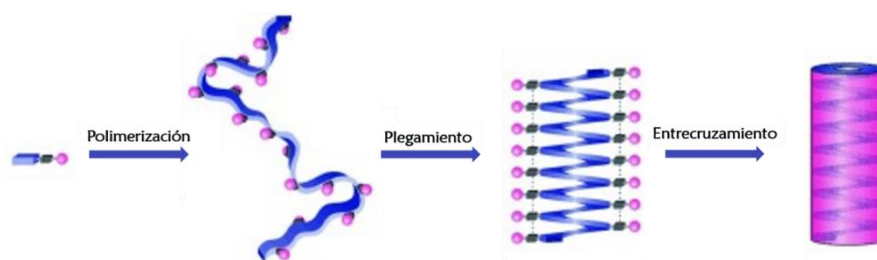


Figura 87. Proceso de entrecruzamiento o grapado.

Esta metodología fue utilizada por primera vez por el grupo de Hecht y Khan, que publicaron la síntesis de un nanotubo derivado de un proceso de entrecruzamiento intramolecular entre las distintas unidades de un foldámero en su conformación helicoidal.¹²⁸ Modificaron el esqueleto de los *m*-OPEs de Moore, introduciendo en la estructura grupos cinamato. La irradiación de este oligómero en un disolvente que favorecía la helicidad (acetonitrilo) originó el entrecruzamiento entre las cadenas laterales de la estructura, mediante una reacción de fotodimerización [2+2]. Los estudios de estos compuestos mediante espectroscopía de RMN, UV-Vis y fluorescencia fueron consistentes con la presencia de una estructura helicoidal estabilizada covalentemente. Es de destacar que en estos casos se obtuvo el racémico.

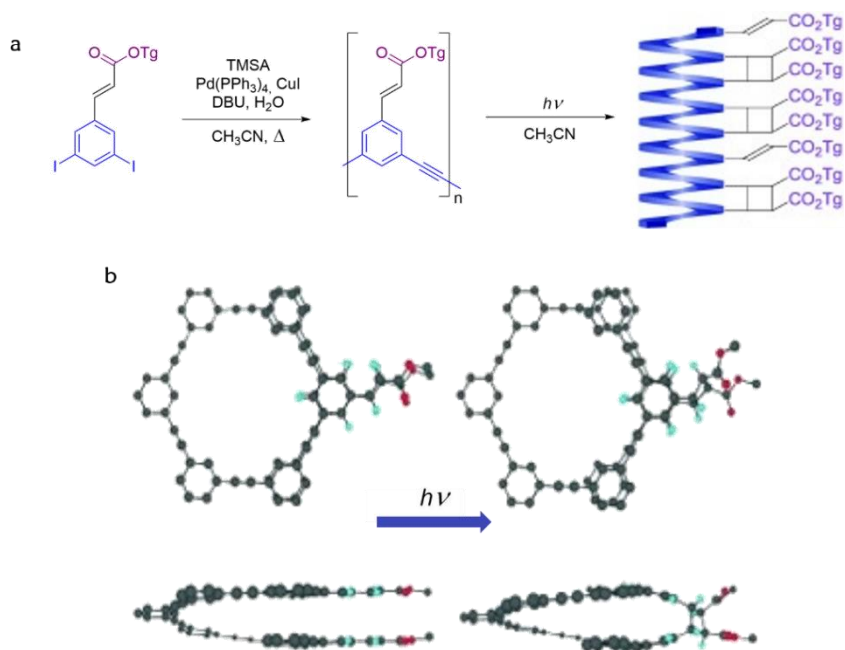


Figura 88. (a) Síntesis e irradiación del *m*-OPE; (b) vista superior y lateral del entrecruzamiento.

¹²⁸ S. Hecht, A. Khan, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 6021-6024.

Toyota y colaboradores realizaron la síntesis de un macrociclo basado en unidades de 1,8-antrilenoetileno.¹²⁹ Puesto que el antraceno es capaz de realizar procesos de dimerización mediante una reacción de cicloadición [4+4], el grupo de Toyota decidió aprovechar esta característica para sintetizar un foldámero acíclico basado en antraceno que pudiera plegarse tras su irradiación.¹³⁰ La reacción de cicloadición bloquearía el estado plegado a través de enlaces covalentes. Mediante la aplicación de calor el proceso podía ser reversible, pudiendo actuar como interruptor molecular. De nuevo se obtuvo un producto final racémico.

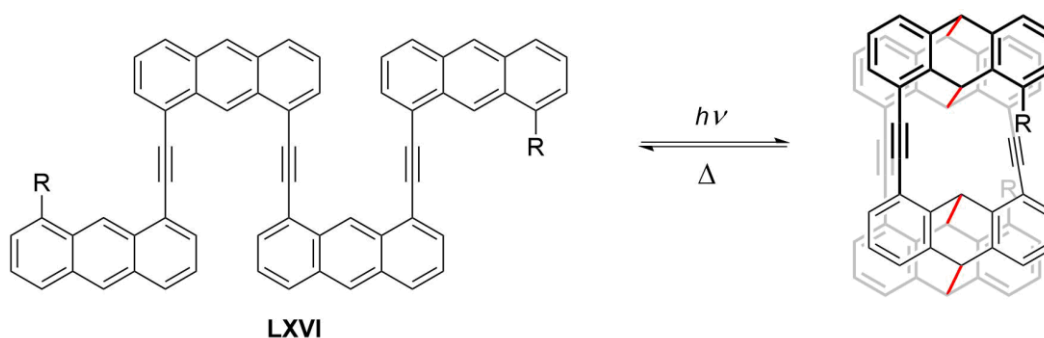


Figura 89. Fotociclación y cicloreversión termal del compuesto LXVI.

Por otra parte, el grupo de Moore¹³¹ realizó el cierre covalente de oligómeros de *m*-OPEs, mediante una reacción de aminación reductora, cuando estos presentaban una conformación helicoidal, originando de nuevo un racémico. Para ello prepararon una serie de *m*-OPEs para comprobar la eficacia del “grapado” en distintas posiciones.



Figura 90. Grapado de oligómeros de *m*-OPEs.

¹²⁹ a) S. Toyota, M. Goichi, M. Kotani, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 2248-2251; b) S. Toyota, S. Suzuki, M. Goichi, *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 2482-2487.

¹³⁰ S. Toyota, M. Kuga, A. Takatsu, M. Goichi, Tetsuo Iwanaga, *Chem. Commun.* **2008**, 1323-1325.

¹³¹ R. A. Smaldone, E.-C. Lin, J. S. Moore, *J. Pol. Sci. Part A: Polymer Chemistry* **2010**, *48*, 927-935.

En 2012, nuestro grupo de investigación describió la síntesis de α -OPEs funcionalizados con grupos oxigenados, como éteres alílicos y alcoholes benzílicos, que se pueden cerrar covalentemente por medio de reacciones de esterificación¹³² con derivados de diácidos o mediante metátesis de alquenos.¹³³ El cierre, empleando diésteres quirales como el L-tartrato, permitió la transferencia de la quiralidad desde el centro estereogénico al esqueleto de α -OPEs cíclico. La unidad quiral fue capaz de inducir en los sistemas helicoidales una configuración *P* o *M*, dependiendo de la posición de los grupos oxigenados.

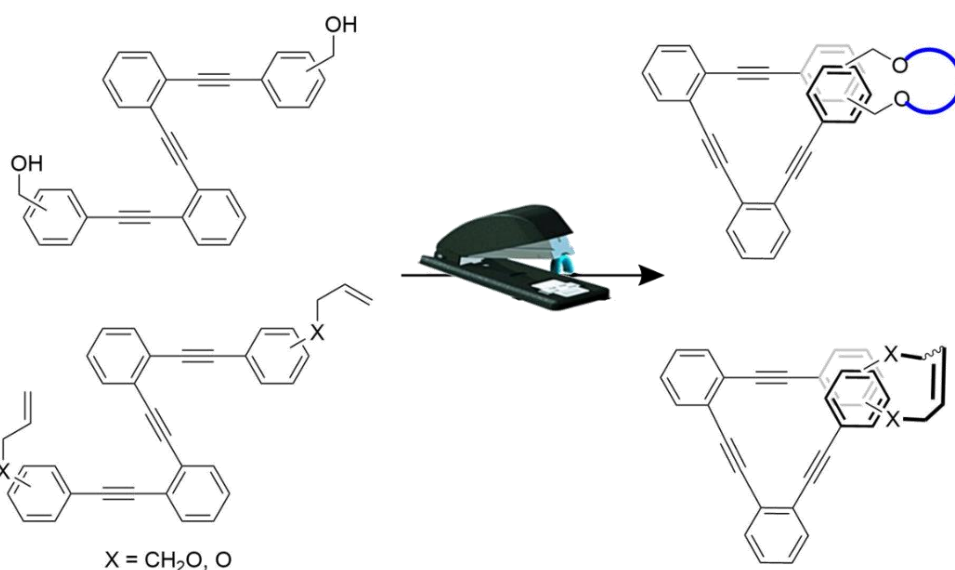


Figura 91. Grapado de α -OPEs.

Basándose en el esqueleto central las estructuras anteriormente mostradas, nuestro grupo de investigación describió una nueva clase de α -OPE enantiopuros grapados covalentemente mediante una unidad quiral de 2,3-butanodiol. Estos compuestos presentaron excelentes respuestas tanto en CD como en CPL, mostrando valores uno de los valores más altos de g_{lum} (0.011) descrito para moléculas orgánicas pequeñas (Figura 92a).¹³⁴ Aprovechando las excelentes propiedades quiroópticas que presentaba el compuesto **LXVII**, nuestro grupo de investigación decidió modificar dicha estructura

¹³² S. P. Morcillo, L. Álvarez de Cienfuegos, A. J. Mota, J. Justicia, R. Robles, *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 2277-2281.

¹³³ N. Fuentes, A. Martín-Lasanta, L. Álvarez de Cienfuegos, R. Robles, D. Choquesillo-Lazarte, J. M. García-Ruiz, L. Martínez-Fernández, I. Corral, M. Ribagorda, A. J. Mota, D. J. Cárdenas, M. C. Carreño, J. M. Cuerva, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 13036-13040.

¹³⁴ S. P. Morcillo, D. Miguel, L. Álvarez de Cienfuegos, J. Justicia, S. Abbate, E. Castiglioni, C. Bour, M. Ribagorda, D. J. Cárdenas, J. M. Paredes, L. Crovetto, D. Choquesillo-Lazarte, A. J. Mota, M. C. Carreño, G. Longhi, J. M. Cuerva, *Chem. Sci.* **2016**, *7*, 5663-5670.

aumentando la rigidez y el impedimento estérico, con el fin de incrementar el valor de g_{lum} . Los nuevos derivados preparados mostraron los mismos valores de g_{lum} que su análogo anterior **LXVII**, poniendo de manifiesto la robustez como emisor orgánico que presentaba dicho compuesto.¹³⁵

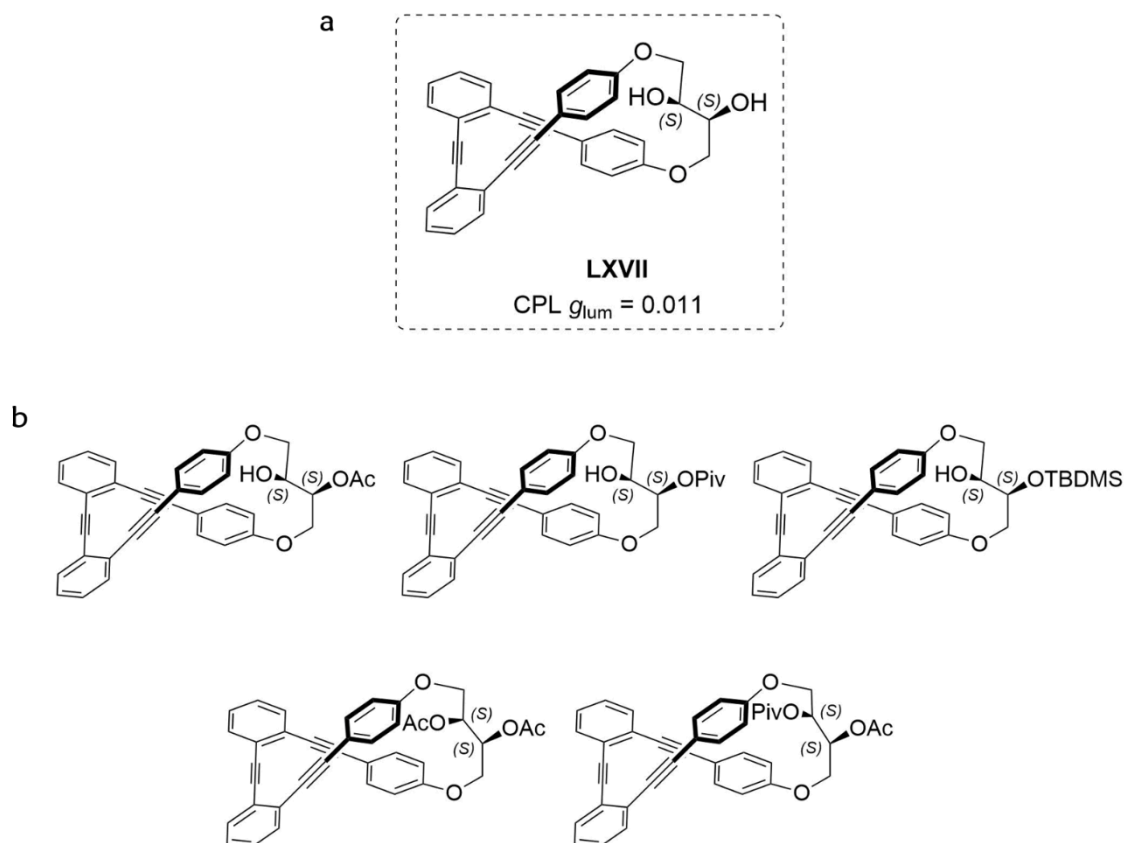


Figura 92. (a) Emisor de CPL común; (b) nuevas estructuras derivadas de **LXVII**.

El grupo de Jeong también utilizó la estrategia del grapado molecular para obtener un macrociclo el cual permitía determinar la configuración absoluta y el exceso enantiomérico de α -aminocarboxilatos basándose en la respuesta de CD.¹³⁶ La formación del macrociclo tenía lugar *in situ* por la presencia de un (amino)carboxilato, que permitía el plegamiento de la estructura, y una diamina, que generaba el grapado de la estructura por la formación de una diimina con las unidades de aldehídos terminales (Figura 93a). Cuando la diamina empleada era quiral y el (amino)carboxilato no, como el acetato, observaron la formación preferencial de una hélice, lo cual dependía del enantiómero de

¹³⁵ P. Reiné, J. Justicia, S. P. Morcillo, G. Mazzeo, E. García-Fernández, A. Rodríguez-Diéguéz, L. Álvarez de Cienfuegos, S. Abbate, J. M. Cuerva, G. Longhi, D. Miguel, *Chirality* **2018**, *30*, 43-54.

¹³⁶ M. J. Kim, Y. R. Choi, H.-G. Jeon, P. Kang, M.-G. Choi, K.-S. Jeong, *Chem. Commun.* **2013**, *49*, 11412-11414.

la diamina empleada (Figura 93b). En cambio, cuando la diamina era aquiral y el amino-carboxilato quiral (aminoácidos), la señal de CD que obtenían dependía exclusivamente de la estereoquímica y de la concentración del amino-carboxilato coordinado a la cavidad interna del macrociclo (Figura 93c). Permitiendo así su uso como sonda para determinar la configuración absoluta y el exceso enantiomérico de carboxilatos.

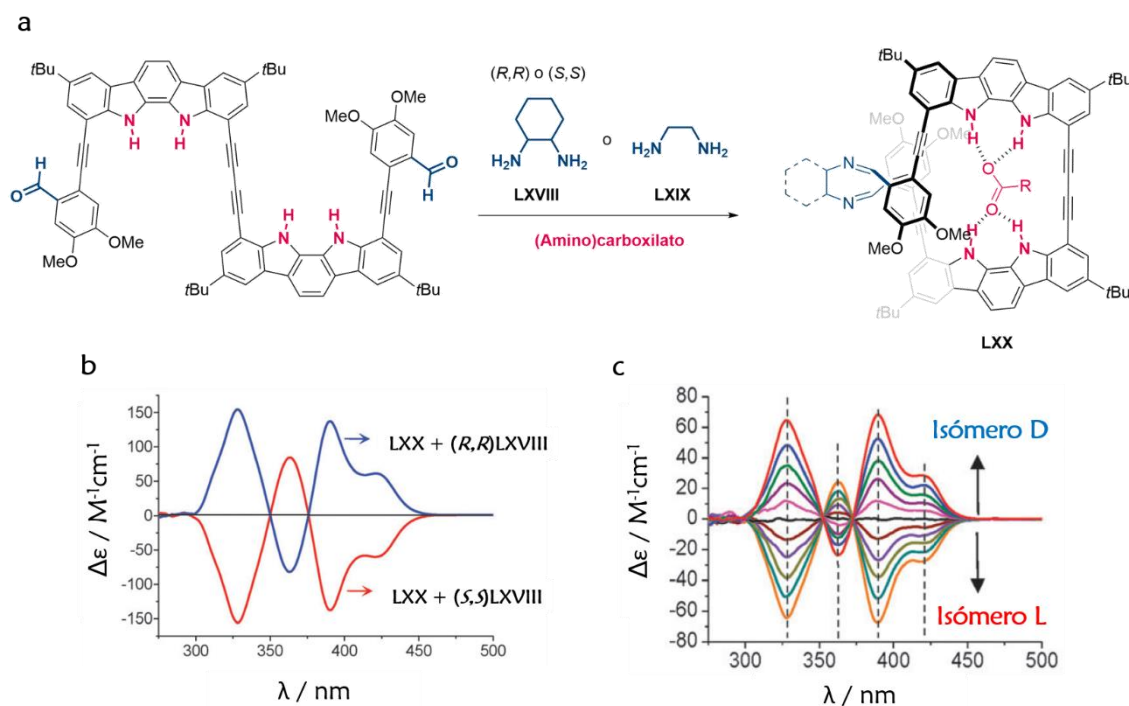


Figura 93. (a) Formación del macrociclo LXX. Espectros de CD del macrociclo LXX con (b) amina quiral LXVIII y (c) aminocarboxilato quiral.

6. Interruptores Moleculares

Muchos de los procesos presentes en la naturaleza y en los sistemas vivos tales como el plegamiento de proteínas, el transporte de membrana, la translocación, procesos de modificación postraduccional o la regulación epigenética, entre otros, están controlados a nivel molecular por procesos de reconocimiento que se activan mediante “*interruptores moleculares*”.

Durante mucho tiempo, los químicos han dedicado un gran esfuerzo a replicar las altas afinidades y selectividades de los sistemas naturales. El uso de materiales orgánicos ofrece la ventaja de una fácil fabricación, la posibilidad de transformar compuestos orgánicos en las estructuras deseadas mediante ingeniería molecular y un ajuste preciso de una gran variedad de propiedades físicas mediante pequeños cambios en la estructura. Por ello, la

construcción de moléculas cuyas propiedades físico-químicas puedan ser moduladas como respuesta a un estímulo externo presenta una gran oportunidad para ejercer el control a escala subnanométrica.

En los últimos años ha surgido un interés creciente por el desarrollo de materiales que respondan a propiedades químicas, eléctricas, ópticas y físicas entre otras permitiendo su uso como “interruptores moleculares”. Así, un “*interruptor molecular*” podría definirse como una molécula capaz de interconvertirse de manera reversible entre dos estados diferenciados y estables (ON-OFF) por la aplicación de un estímulo externo (luz, calor, presión, campos magnéticos o eléctricos, cambio de pH o reacciones químicas). Por tanto, los requisitos básicos que deben presentar estos sistemas para su aplicación práctica son la biestabilidad y la diferenciación de sus estados ON y OFF para lo cual deben presentar diferentes propiedades medibles como espectros de absorción, emisión de fluorescencia, índices de refracción, conductancia, estructuras geométricas o potenciales redox entre otras. Además de estos dos requisitos principales, es necesario que los interruptores quiroópticos presenten estabilidad química, lectura no destructiva, tiempos de respuesta rápidos, reproducibilidad y resistencia a la fatiga.¹³⁷



Figura 94. Funcionamiento de un interruptor molecular.

Los interruptores moleculares presentan propiedades muy importantes que los convierten en potenciales candidatos para una gran variedad de aplicaciones como la bioimagen, la administración controlada de fármacos, los diodos orgánicos emisores de luz, la electrónica molecular, los sensores (bio)químicos, los sistemas de transporte, la catálisis o el almacenamiento de datos.

¹³⁷ H. Isla, J. Crassous, *C. R. Chim.* **2016**, *19*, 39-49.

De entre la gran variedad de interruptores moleculares existentes, en la presente tesis doctoral nos centraremos en los interruptores moleculares quiroópticos,¹³⁸ que son aquellos en los cuales sus propiedades quiroópticas cambian de manera reversible debido a estímulos externos como la temperatura, la luz, el ambiente químico etc...

6.1 Interruptores moleculares quiroópticos basados en foldámeros

Siguiendo el tema del presente capítulo, los interruptores moleculares que se verán a continuación están basados en foldámeros, por lo que en principio los cambios conformacionales posibles para que estos compuestos actúen como interruptores moleculares son la transición hélice-hélice, *M* a *P* o viceversa (Figura 95a), o la transición hélice - “*random coil*” (Figura 95b), independientemente del estímulo que genere dicho cambio.

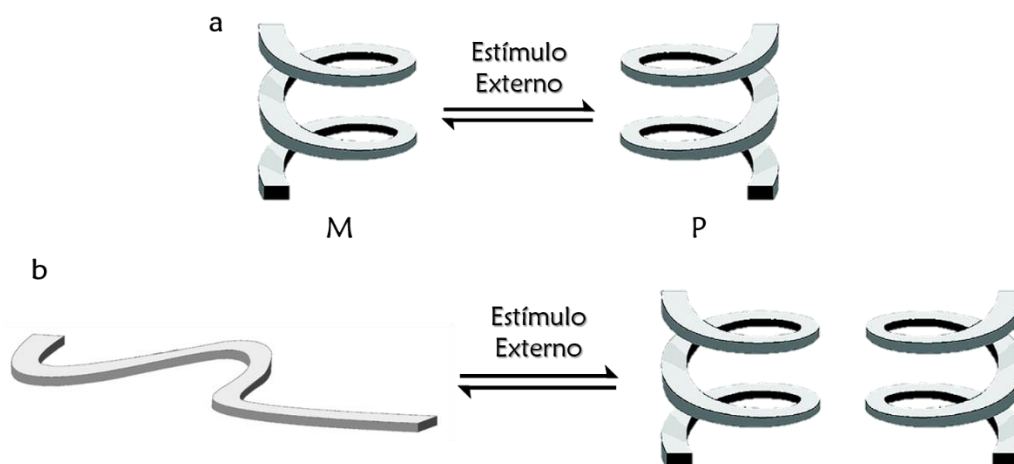


Figura 95. Transición (a) hélice-hélice y (b) hélice-“*random coil*”.

El grupo de Novak sintetizó una serie de complejos de titanio quirales, los cuales se usaron para llevar a cabo reacciones de polimerización de carbodiimidas aquirales, que resultaron ser selectivas en la formación de moléculas con conformación helicoidal.¹³⁹ La reacción entre el catalizador **LXXI** y la carbodiimida **LXXII** originó el polímero **LXXIII** con alta estereoselectividad, el cual demostró actuar como un interruptor molecular altamente sensible ante el cambio de temperatura y polaridad del disolvente. El fenómeno del “*switching molecular*” tenía lugar en tolueno a 38.5 °C y con la adición de un 10% de

¹³⁸ B. L. Feringa, R.A. van Delden, N. Koumura, E. M. Geertsema, *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 1789–1816.

¹³⁹ H.-Z. Tang, P. D. Boyle, B. M. Novak, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 2136-2142.

THF en una mezcla THF/tolueno a temperatura ambiente. Todo esto pudo ser corroborado mediante espectroscopía de UV-Vis, rotación óptica y CD. De esta forma, demostraron por primera vez como un polímero helicoidal sin elementos quirales en su estructura podía actuar como un interruptor quiroóptico.

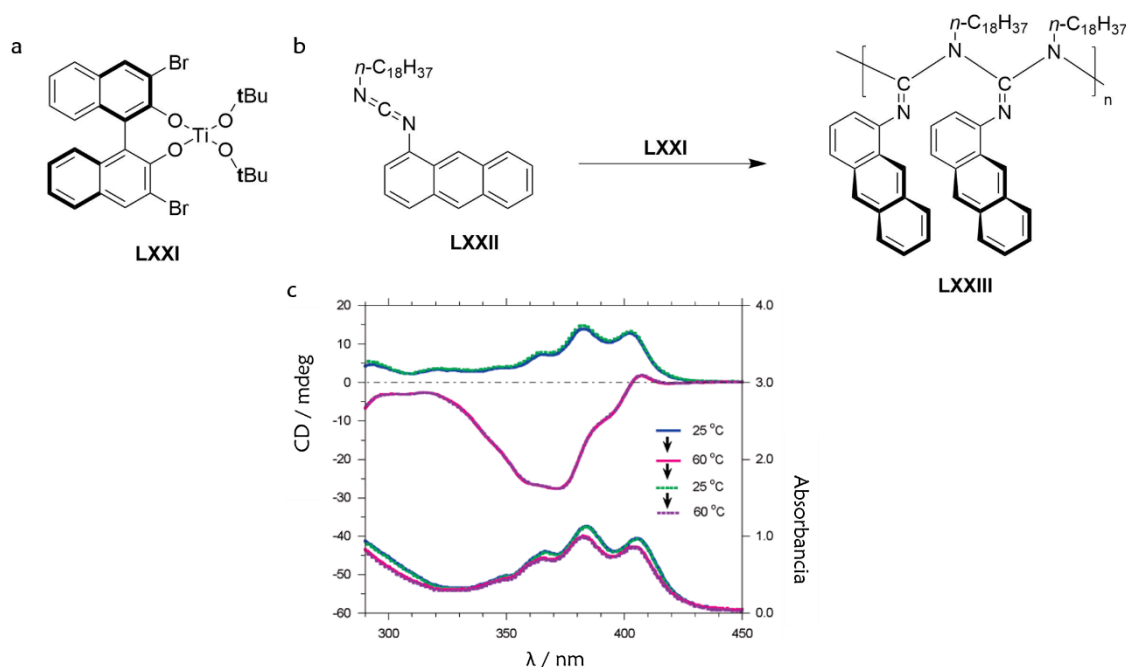


Figura 96. (a) Estructura del catalizador; (b) reacción de polimerización; (c) espectro de CD y UV-Vis del *switching* molecular del compuesto LXXIII.

Como ya se mencionó anteriormente, el grupo de Yamaguchi publicó la síntesis de un foldámero de etinilheliceno (LXXIV), el cual adoptaba una hélice doble en presencia de ciertos disolventes aromáticos.⁶⁷ Un año después, demostraron que esta misma estructura presentaba un comportamiento de interruptor molecular basado en cambios de temperatura a altas concentraciones (1 mM).¹⁴⁰ Dicho comportamiento se debía a la transición entre la hélice doble y una orientación al azar, lo cual tenía lugar por calentamiento a 55°C y posterior enfriamiento a 10°C, respectivamente. Este proceso resultó ser altamente reproducible, presentando grandes variaciones en la intensidad de las señales de CD (Figura 97b).

¹⁴⁰ H. Sugiura, M. Yamaguchi, *Chem. Lett.* **2007**, *36*, 58-59.

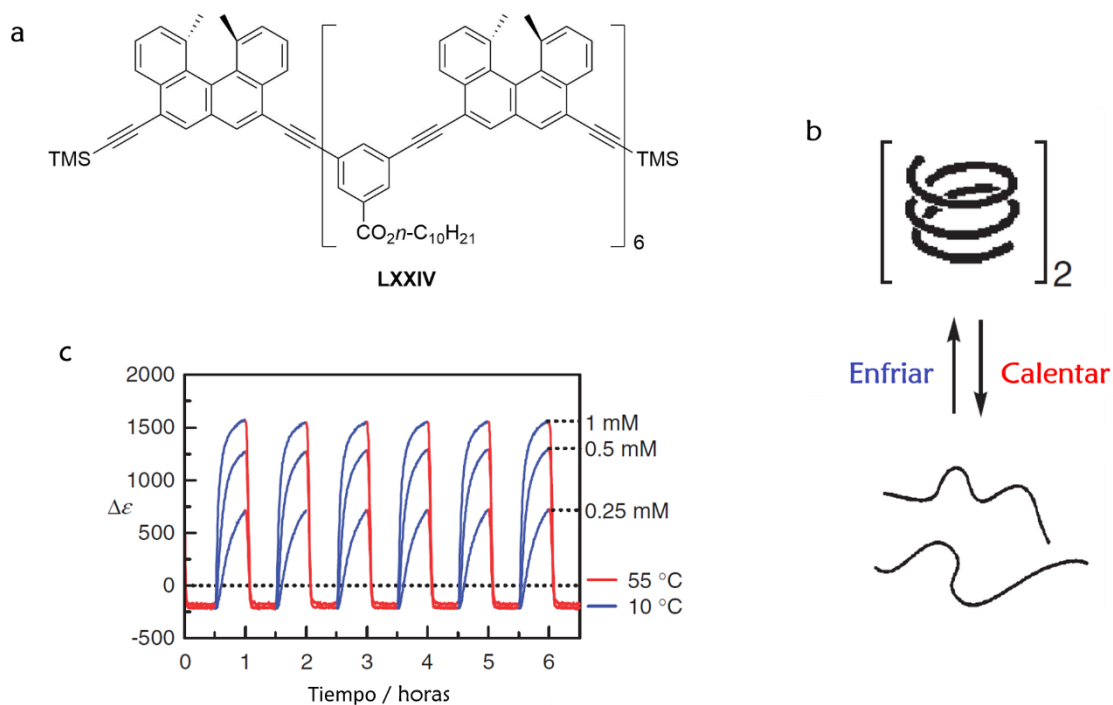


Figura 97. (a) Estructura de **LXXIV**; (b) proceso y (c) perfil del de *switching* por enfriamiento/calentamiento.

Este mismo grupo, con el objetivo de comparar y entender mejor el cambio estructural que sufría el compuesto **LXXIV**, sintetizaron otros dos nuevos foldámeros que contenían dos mitades de hexa(etinilheliceno) unidas mediante un espaciador flexible de hexadecametileno y otro rígido de butadieno.¹⁴¹ Ambas estructuras presentaron una conformación de doble hélice a altas concentraciones, como su análogo anterior. En cambio, el comportamiento como interruptor molecular resultó ser distinto entre dichas estructuras, demostrando que la presencia del espaciador causaba un fuerte efecto en la transición entre hélice doble y una orientación al azar. Puesto que la velocidad de plegamiento de **LXXV** era inferior a la del compuesto **LXXVI**, el *switching* molecular de **LXXV** solo ocurría a mayores concentraciones y temperaturas que las requeridas en el caso del compuesto **LXXVI** (Figura 98b y c).

¹⁴¹ H. Sugiura, R. Amemiya, M. Yamaguchi, *Chem. Asian J.* **2008**, *3*, 224-260.

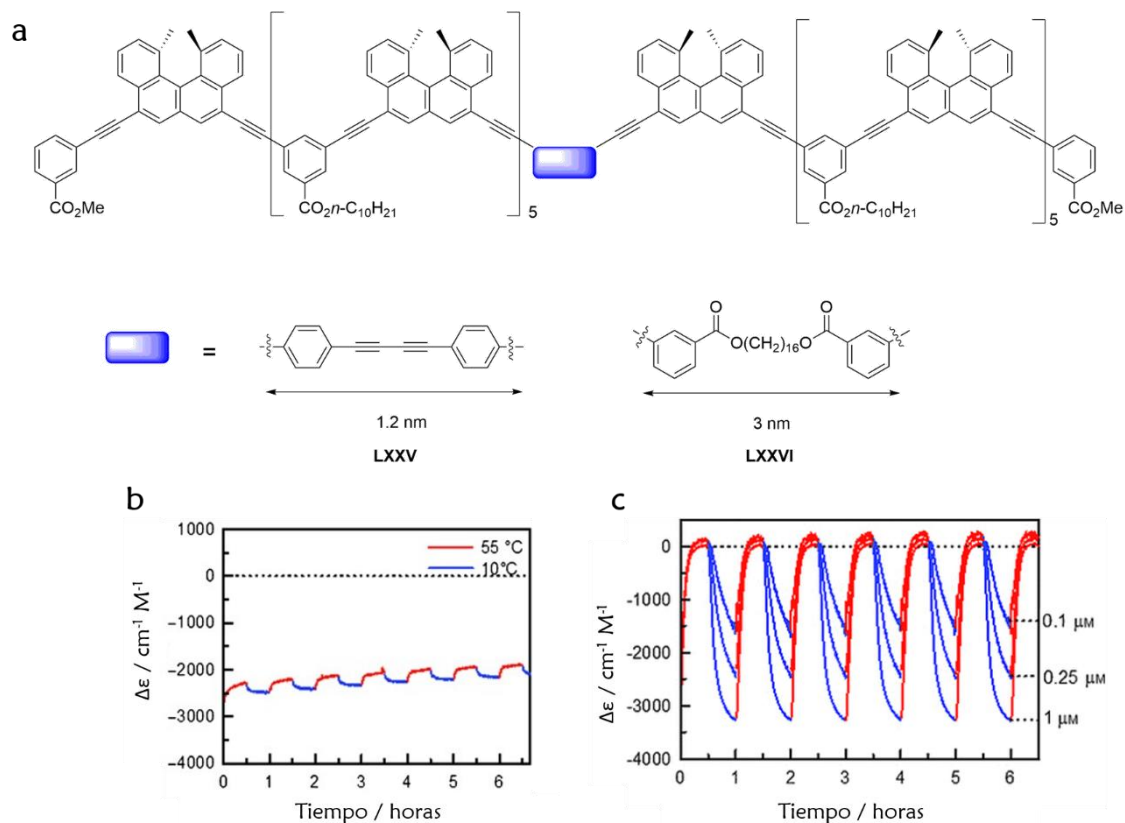


Figura 98. (a) Estructuras de los nuevos etinilhelicenos. Perfil del *switching* molecular de (b) LXXV y (c) LXXVI.

Por otra parte, Chen y colaboradores sintetizaron una nueva clase de oligoamidas aromáticas basadas en unidades de fenantrolina dicarboxamidas que adoptaban conformaciones helicoidales bien definidas tanto en disolución como en estado sólido.¹⁴² La modificación de estas estructuras por la introducción de una unidad quiral de (*R*)-fenilamino, permitió obtener una conformación helicoidal preferencial *M*, lo que pudo ser corroborado por espectroscopía de CD y rayos X.¹⁴³ Además, estas nuevas estructuras presentaron un comportamiento de interruptor molecular controlado por la presencia de un ácido o base. Así, la adición de ácido trifluoroacético a una disolución de estas oligoamidas en acetonitrilo originó cambios en los espectros de CD, ¹H RMN y UV-Vis, confirmando la transición hacia una conformación desplegada. Por el contrario, la adición de base a la disolución anterior permitió revertir los efectos causados por el ácido, recuperando así las señales originales de CD, ¹H RMN y UV-Vis.

¹⁴² a) Z.-Q. Hu, H.-Y. Hu, C.-F. Chen, *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 1131-1138; b) H.-Y. Hu, J.-F. Xiang, Y. Yang, C.-F. Chen, *Org. Lett.* **2008**, *10*, 69-72.

¹⁴³ H.-Y. Hu, J.-F. Xiang, Y. Yang, C.-F. Chen, *Org. Lett.* **2008**, *10*, 1275-1278.

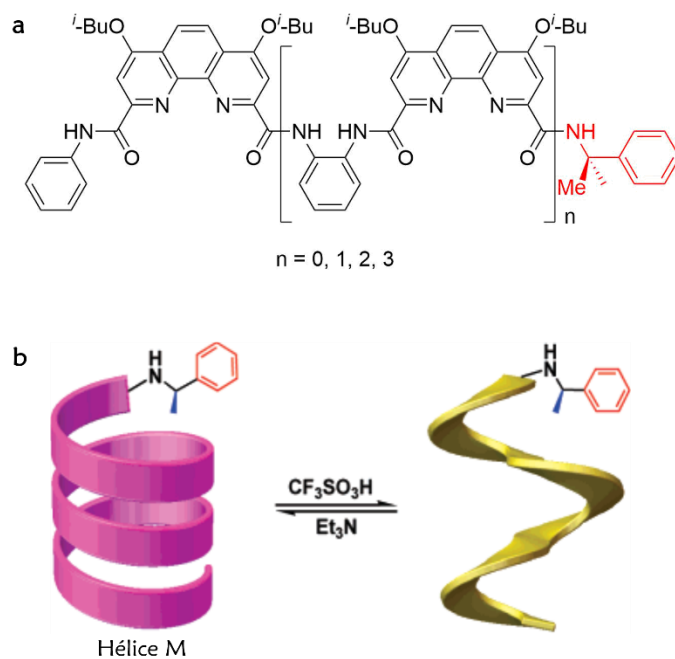


Figura 99. (a) Estructura de oligoamidas a base de fenantrolina y (b) proceso de *switching* molecular.

Otro ejemplo que emplea fenantrolina como una de las unidades presentes en la estructura del foldámero es el publicado por Lee y colaboradores.¹⁴⁴ Este grupo sintetizó dos estructuras basadas en unidades de piridina y fenantrolina, las cuales adoptaban una conformación helicoidal preferencial en disoluciones acuosas, debido a la presencia de cationes de Ag(I). En este caso, el fenómeno de “*switching molecular*” que tenía lugar era la extensión/contracción de la estructura helicoidal (comportamiento tipo muelle) debido a los cambios de temperatura (Figura 100b). Mediante estudios de fluorescencia, UV-Vis, CD y TEM pudieron corroborar tal comportamiento.

¹⁴⁴ H.-J. Kim, E. Lee, H.-S. Park, M. Lee, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 10994-10995.

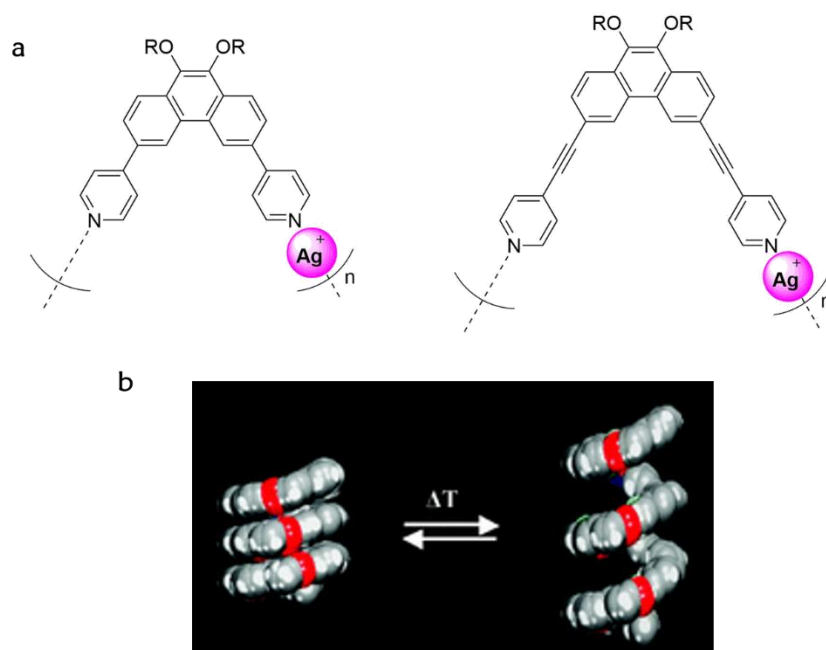


Figura 100. (a) Estructuras a base de fenantrolina y (b) proceso de *switching* molecular tipo muelle.

El grupo de Jeong sintetizó un foldámero a base de indolocarbazoles que se plegaban en presencia de iones sulfato.¹⁰² Basándose en la misma unidad de repetición, este grupo diseñó dos nuevos foldámeros con grupos quirales en los extremos, que adoptaban una conformación helicoidal preferencial.¹⁴⁵ Esta conformación era favorecida, a diferencia de su análogo anterior **XLVI** (ver Figura 67b), por la introducción de un espaciador butadiinil, el cual permitía la formación de enlaces de hidrógeno entre los grupos NH de los indolocarbazoles y los oxígenos de los grupos amidas. La adición de iones sulfato en diclorometano originó un cambio de helicidad, lo que quedó demostrado mediante espectroscopía de CD. La señal original de CD pudo recuperarse de nuevo por la adición del compuesto **XLVI**, que coordinaba más fuertemente a los aniones sulfato, demostrando el comportamiento como interruptor molecular de estas estructuras.

¹⁴⁵ J.-m. Suk, V. R. Naidu, X. Liu, M. S. Lah, K.-S. Jeong, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 13938-13941.

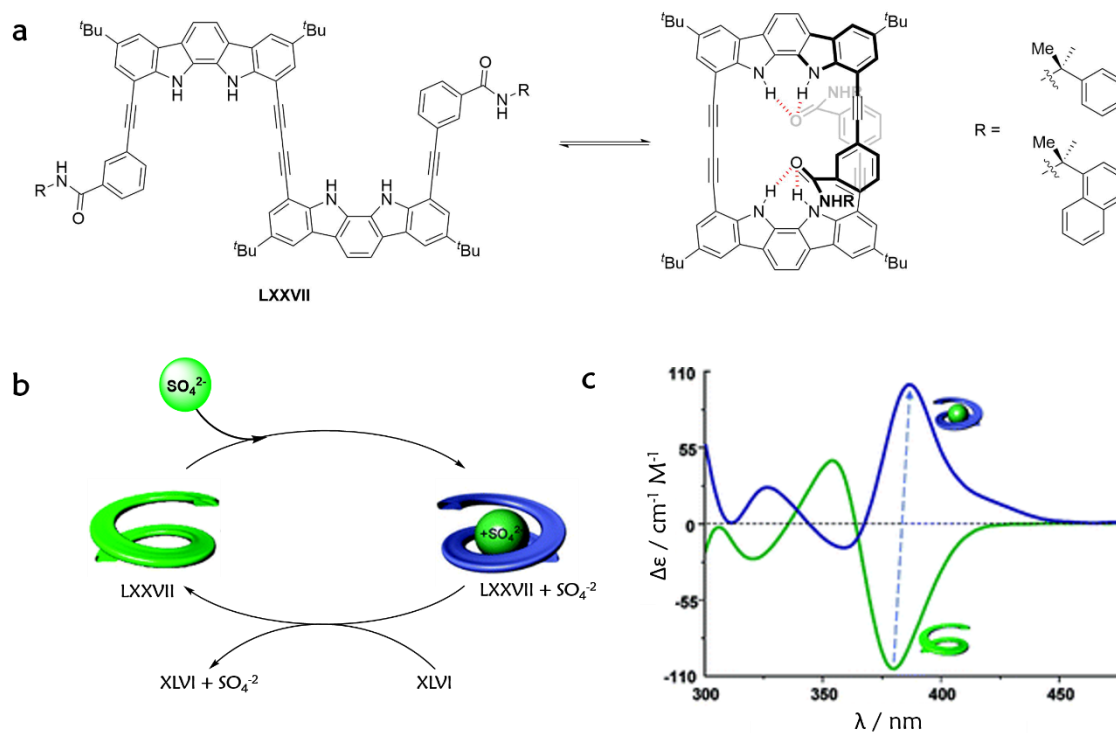


Figura 101. (a) Estructura de indolocarbazol quiral. (b) Representación esquemática y (c) espectro de CD del *switching* molecular de **LXXVII**.

Este mismo grupo, aprovechando el compuesto **XLVI**, demostró por primera vez la transferencia de quiralidad desde un anión orgánico quiral a dicha estructura.¹⁴⁶ Además, pudieron comprobar que en presencia del huésped quiral adenosín 3',5'-monofostato cíclico (cAMP), el oligómero de indolocarbazol **XLVI** podía actuar como interruptor molecular jugando con la protonación/desprotonación del cAMP (**LXXVIII**). La adición de ácido a una disolución de **XLVI** y cAMP (**LXXVIII**) originaba la protonación de este último provocando la disociación del complejo formado. Esto podía ser revertido mediante la adición de una base como la 1,4-diazobiciclo[2.2.2]octano (DABCO).

¹⁴⁶ J.-m. Suk, D. A Kim, K.-S. Jeong, *Org Lett.* **2012**, *14*, 5018-5021.

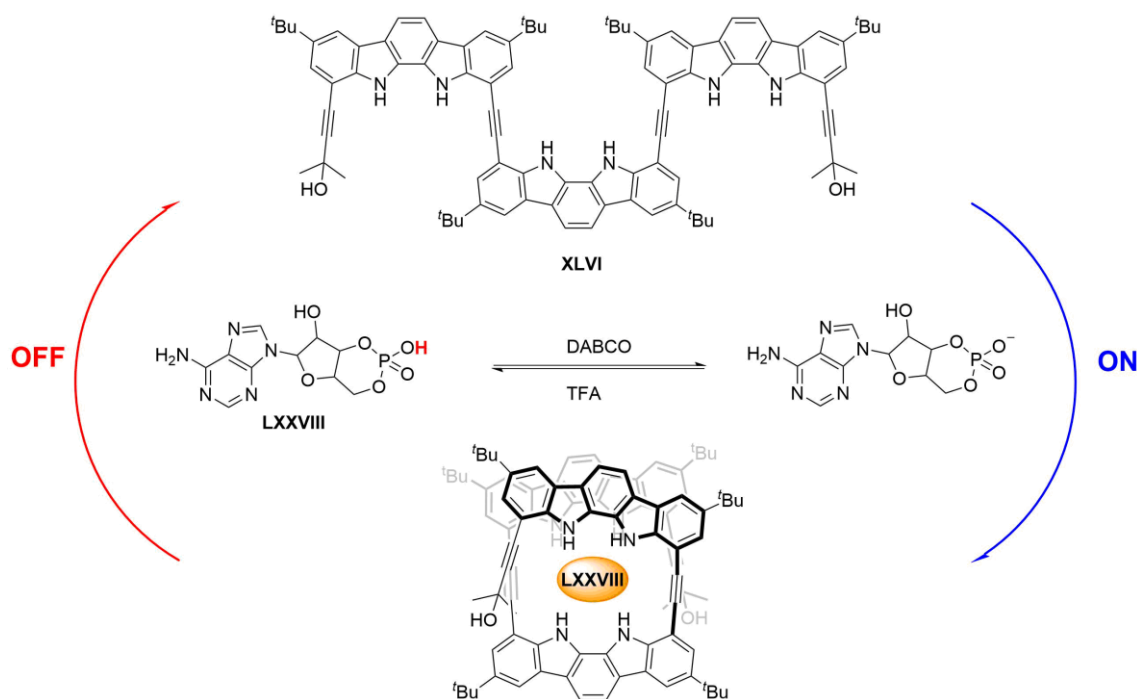


Figura 102. Proceso de *switching* molecular entre **XLVI** y **LXXVIII**.

Como se mencionó anteriormente, el grupo de Jeong sintetizó una serie de foldámeros a base de indolocarbazoles y unidades de piridina intercaladas altamente fluorescentes en disolventes polares. Por el contrario, en disolventes apolares estos compuestos adoptaban conformaciones helicoidales perdiéndose la fluorescencia a causa *queching* causado por el apilamiento de anillos (ver Figura 62).⁹² Aprovechando estas estructuras y basándose en su experiencia en el reconocimiento de aniones, decidieron adicionar una serie de aniones a estos compuestos en disolventes apolares.¹⁴⁷ Dicha adición originó la regeneración de la fluorescencia de los compuestos **LXXIX** y **LXXX**, siendo los iones F^- y SO_4^{2-} los que dieron mejor resultado. Esto se debía a las repulsiones que tenían lugar en el interior de la cavidad generada entre los aniones y los nitrógenos de los anillos de piridina (Figura 103b). Un estudio posterior para comprobar si la helicidad podía recuperarse demostró que la adición de ácido perclórico protonaba los anillos de piridina eliminándose las repulsiones con los aniones y por tanto perdiéndose la fluorescencia. De esta forma comprobaron que la fluorescencia de estos compuestos podía modularse por la adición de ácido/base actuando como el primer interruptor ON-OFF fluorescente a base de foldámeros (Figura 103c).

¹⁴⁷ H.-G. Jeon, H. B. Jang, P. Kang, Y. R. Choi, J. Kim, J. H. Lee, M.-G. Choi, K.-S. Jeong, *Org. Lett.* **2016**, 18, 4404-4407.

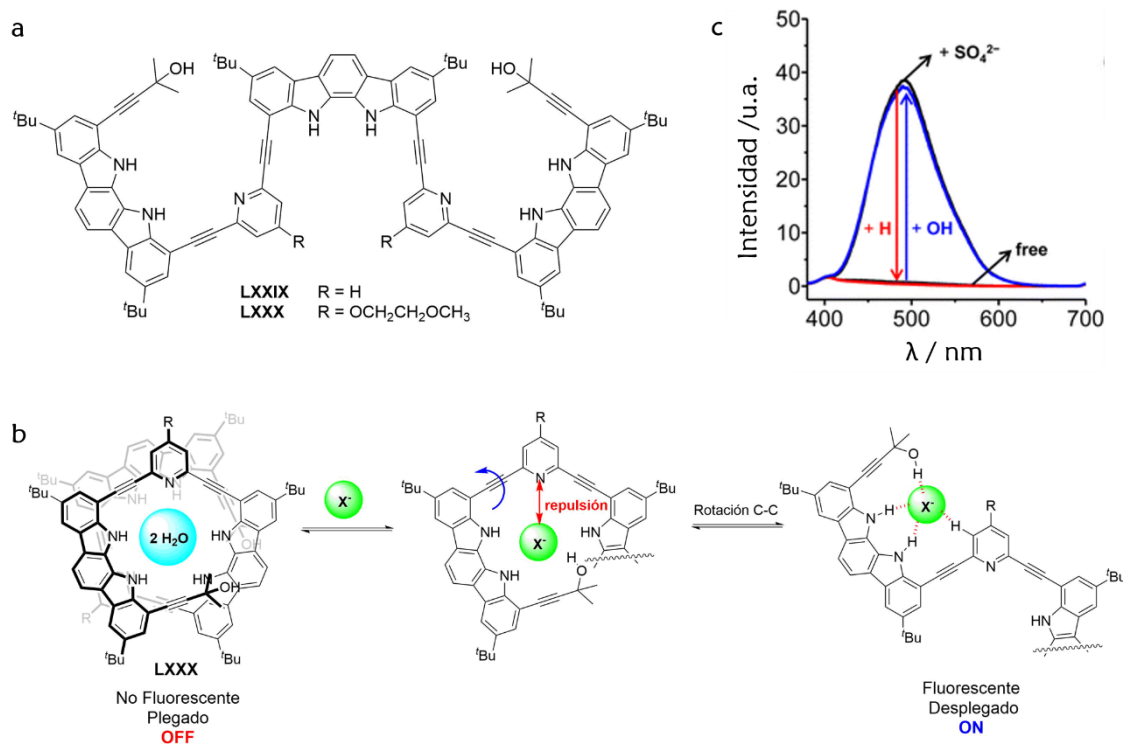


Figura 103. (a) Estructura de LXXIX y LXXX; (b) mecanismo de repulsión y desplegamiento de la estructura; (c) modulación del *switching* molecular.

6.2 Interruptores moleculares de CPL

Entre las técnicas de detección más comunes empleadas para diferenciar los estados ON/OFF de estos materiales se encuentran la espectroscopía UV-Vis, la fluorescencia o el dicroísmo circular. Adicionalmente, tal y como se ha mencionado anteriormente, el CPL ha demostrado ser una poderosa herramienta de análisis cuya aplicabilidad está en auge. En este sentido, el desarrollo de nuevas estructuras quirales capaces de responder a estímulos externos y cuyos cambios puedan ser detectados mediante CPL, supone un gran reto además de originar una metodología altamente sensible y específica.

Entre los pocos casos existentes de interruptores quiroópticos de CPL, se encuentra la familia de *o*-OPEs grapados sintetizados por nuestro grupo de investigación.¹³³ La restricción estructural que presentaba esta familia de compuestos fue aprovechada por nuestro grupo para obtener una nueva clase de compuestos activos en CPL, que mostraron valores excelentes de g_{lum} , hasta 0.011, siendo uno de los más altos descritos hasta la fecha para un compuesto orgánico de pequeño tamaño.¹³⁴ Además, estos compuestos resultaron ser selectivos a la unión con iones $Ag(I)$, mediante interacciones carbofílicas,¹¹⁴ por lo que su emisión en CPL pudo modularse en presencia de los mismos, ya que tras la adición de

Ag(I) provocaba una planarización de la estructura perdiendo la helicidad y por tanto la emisión de CPL.

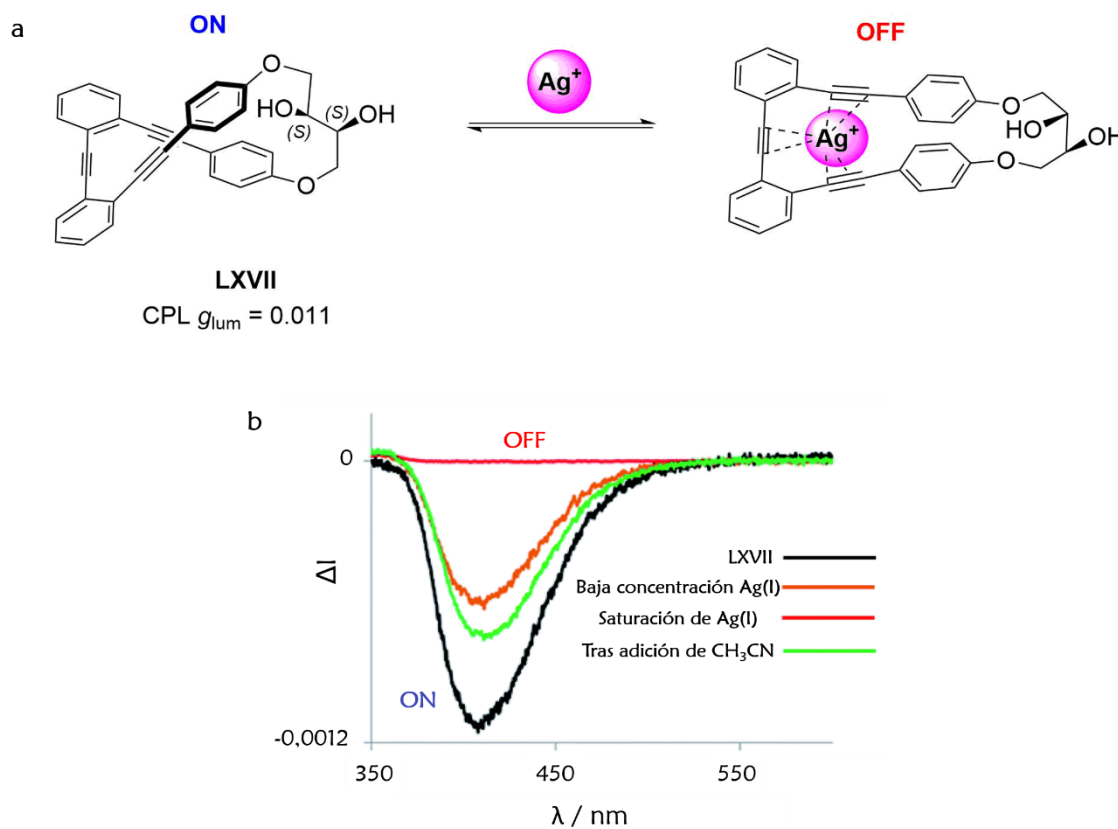


Figura 104. Proceso del switching molecular de **LXVII** por la adición de Ag(I).

Recientemente, nuestro grupo de investigación, describió una síntesis más eficiente para acceder al esqueleto de **LXVII**, mediante una macrociclación entre el compuesto **LXXXI** y el producto comercial **LXXXII**. Gracias a este desarrollo, se pudieron sintetizar nuevos derivados que presentaban el esqueleto central de α -OPE helicoidal unido a dos unidades de pireno en los extremos. La combinación de ambas estructuras en una sola molécula, permitió obtener diferentes emisiones de CPL, lo que pudo aprovecharse para sintetizar la primera sonda ratiométrica de CPL,¹⁴⁸ basándose en la modulación de la emisión de CPL del esqueleto de α -OPE por la presencia de cationes Ag(I).

¹⁴⁸ P. Reiné, J. Justicia, S. P. Morcillo, S. Abbate, B. Vaz, M. Ribagorda, A. Orte, L. Álvarez de Cienfuegos, G. Longhi, A. G. Campaña, D. Miguel, J. M. Cuerva, *J. Org. Chem.* **2018**, *83*, 4455-4463.

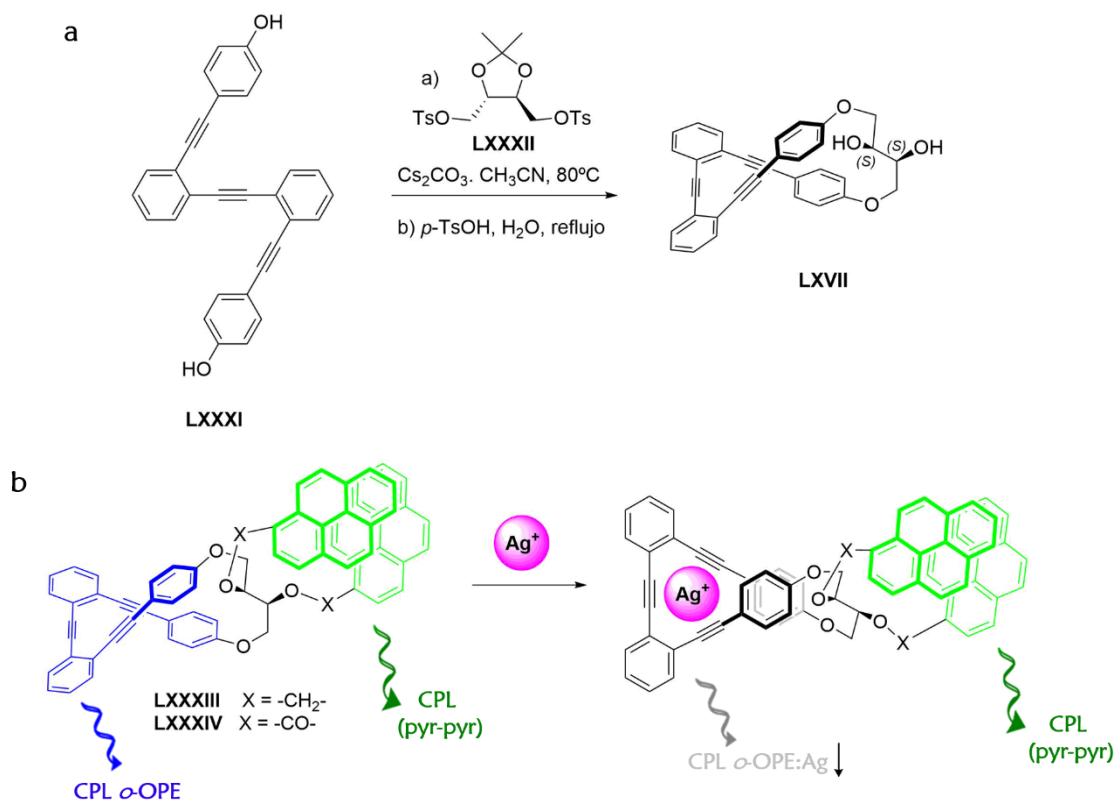


Figura 105. (a) Síntesis de esqueleto de LXVII; (b) funcionamiento de sonda ratiométrica.

Por otra parte, nuestro grupo de investigación, especialista en la síntesis $\sigma\text{-OPEs}$, desarrolló un nuevo esqueleto de $\sigma\text{-OPEs}$ con dos grupos sulfóxidos en los extremos. En estos compuestos el proceso de “switching” dependía de las interacciones oxofílicas de una serie de cationes metálicos con los átomos de oxígeno de los grupos sulfóxidos terminales, lo cual permitía el plegamiento helicoidal de la estructura.¹⁴⁹ El proceso de coordinación y las propiedades quiroópticas fueron examinadas mediante espectroscopía de ^1H RMN, CD, CPL y VCD, mostrando en ambos tipos de estructuras una estequiometría de $(\sigma\text{-OPE})_2:[\text{M}]$, lo que pudo ser comprobado mediante difracción de rayos X. Los valores de g_{lum} variaron bastante en función del carácter magnético del metal. Así, los metales diamagnéticos causaron un aumento del valor de g_{lum} , alcanzando un valor máximo de 0.7×10^{-2} para el complejo $(\text{LXXXVI})_2:\text{Sc}(\text{III})$, mientras que los metales paramagnéticos mostraron valores muchos más bajos y similares a los esqueletos de $\sigma\text{-OPEs}$ sin coordinar.

¹⁴⁹ P. Reiné, A. M. Ortuño, S. Resa, L. Álvarez de Cienfuegos, V. Blanco, M. J. Ruedas-Rama, G. Mazzeo, S. Abbate, A. Lucotti, M. Tommasini, S. Guisán-Ceinos, M. Ribagorda, A. G. Campaña, A. Mota, G. Longhi, D. Miguel, J. M. Cuerva, *Chem. Commun.* **2018**, *54*, 13985-13988.

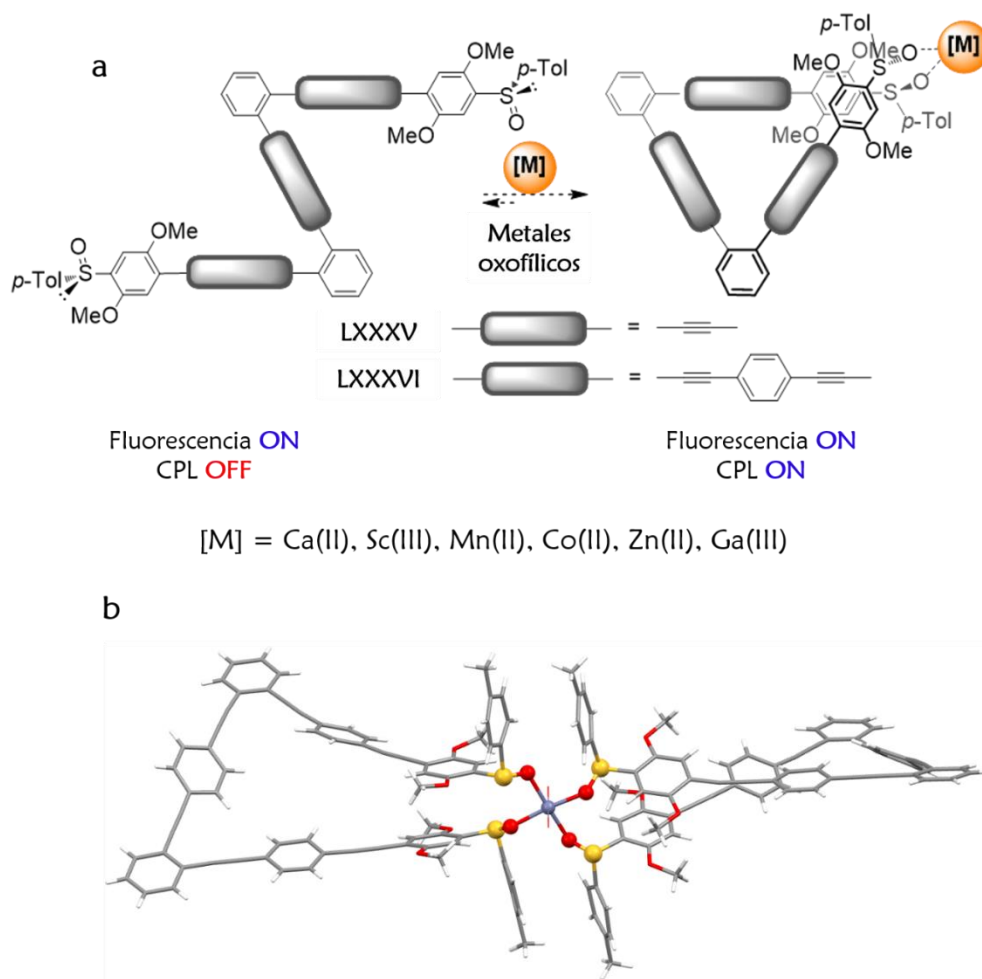


Figura 106. (a) Proceso de *switching* molecular; (b) estructura de rayos X de $(\text{LXXXVI})_2:\text{Zn}(\text{II})$.

Otro de los pocos ejemplos existentes de foldámeros interruptores de CPL fue descrito por Crassous y colaboradores.¹⁵⁰ Estos autores sintetizaron el primer bisheliceno terpiridina (**LXXXVII**) cuya conformación molecular se veía fuertemente modificada por la coordinación a Zn(II), causando grandes cambios (quiro)ópticos los cuales pudieron seguirse mediante espectroscopía UV-Vis, CD, fluorescencia y CPL. Para corroborar la reversibilidad del proceso de unión de Zn(II), se adicionó TPEN, un ligando competitivo para el zinc (Figura 107c). Tras el tratamiento con TPEN el sistema volvió a su conformación nativa, demostrando su uso como interruptor molecular tras varios ciclos de repetición.

¹⁵⁰ H. Isla, M. Srebro-Hooper, M. Jean, N. Vanthuyne, T. Roisnel, J. L. Lunkley, G. Muller, J. A. G. Williams, J. Autschbach, J. Crassous, *Chem. Commun.* **2016**, *52*, 5932-5935.

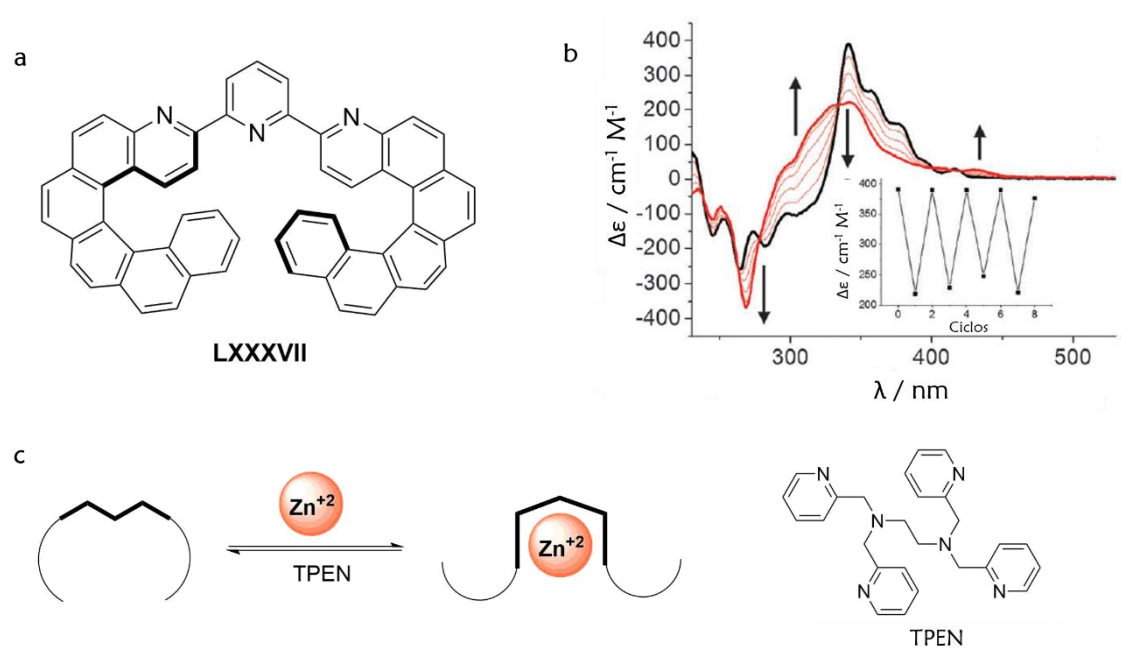


Figura 107. (a) Estructura de bisheliceno terpiridina **LXXXVII**; (b) evolución del espectro de CD tras la adición de Zn(II) y gráfica del switching molecular de **LXXXVII**; (c) representación esquemática del cambio conformacional de **LXXXVII**.

CAPÍTULO III

OBJETIVOS

Como ya hemos visto en la introducción de la presente Tesis Doctoral, de entre la gran variedad de familias de foldámeros abióticos existentes, aquellos cuyo esqueleto principal está compuesto a base de unidades de ariletinilenos representan uno de los grupos más atractivos debido a su accesibilidad sintética, su compatibilidad con un gran número de sustituyentes y a su facilidad de plegamiento.¹⁵¹

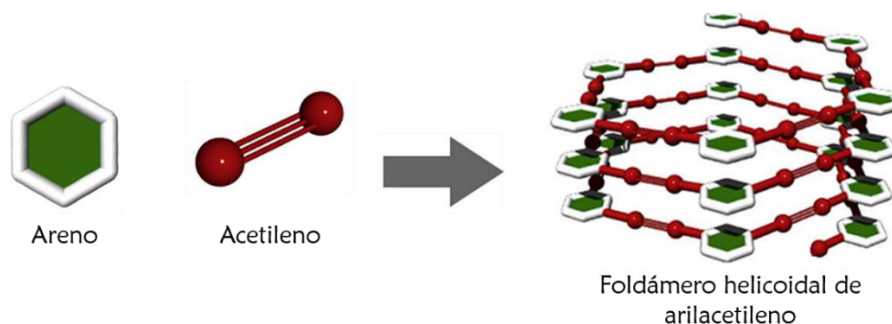


Figura 108. Representación esquemática de la síntesis de ariletinilenos.

A parte de sus estructuras únicas y su capacidad de plegado, los ariletinilenos son de especial interés ya que al estar contruidos modularmente permiten la realización de modificaciones químicas, facilitando su plegamiento, así como al desarrollo de nuevas funciones. Además, en las conformaciones plegadas, los ariletinilenos poseen una cavidad interna definida, lo que les da la oportunidad de actuar como sistemas nanoporos o nanoreactores quirales imitando en cierta medida sistemas biológicos.

Entre este tipo de compuestos destacan los oligómeros de ariletinileno de tipo *m*-fenilacetilenos (*m*-OPEs), estudiados ampliamente por Moore, Hecht, Abe e Inouye, Yamaguchi y Yashima; y los oligómeros de *o*-fenilacetilenos (*o*-OPEs) caracterizados por Tew y nuestro grupo de investigación.

Por tanto, teniendo en cuenta los antecedentes expuestos en el apartado anterior, y basándonos en la experiencia previa de nuestro grupo de investigación en el campo de la síntesis y estudio de las propiedades quiroópticas de compuestos con estructura de *o*-OPEs¹⁵² y su plegamiento en disolución mediante cationes de Ag, nos planteamos como primer objetivo del presente capítulo el realizar la síntesis de una nueva familia de compuestos homoquirales con estructura general de tipo *o*-OPE, cuyo plegamiento

¹⁵¹ a) M. Toya, H. Ito, K. Itami, *Tetrahedron Lett.* **2018**, *59*, 1531-1547; b) B.-B. Ni, Q. Yan, Y. Ma, D. Zhao, *Coordin. Chem. Rev.* **2010**, *254*, 954-971.

¹⁵² Ver Referencias: 113, 132, 133, 134, 147 y 148.

estuviera basado en interacciones carbofílicas entre iones Ag(I) y el mencionado esqueleto de α -OPE. Estos sistemas helicoidales π -extensos quirales presentarían en su estructura dos caminos por los que podrían moverse los electrones: el esqueleto conductor orgánico y el cable de cationes de Ag(I) situado en el interior de la estructura helicoidal. De forma ideal, el movimiento de los electrones a través de la estructura conjugada helicoidal generaría un campo magnético que podría permitir a estos sistemas actuar como nanosolenoides.¹⁵³ Además, la conducción a través de la estructura helicoidal abriría las puertas para el desarrollo de sistemas que puedan actuar como filtros de espín basándose en el efecto de selectividad de espín inducido por quiralidad (Chiral-Induced Spin Selectivity Effect, CISS).¹⁵⁴ Este efecto que está revolucionando la electrónica orgánica y que está llamado a ser de gran utilidad en diversas aplicaciones dentro del campo de la espintrónica (electrónica basada en el espín electrónico en lugar de la carga). Tanto para la obtención de nanosolenoides a escala nanométrica, como para generar sistemas con efecto CISS es necesario la generación de hélices extensas conductoras y homoquirales. Una aproximación sencilla es la propuesta en este capítulo.

¹⁵³ a) K. Yamamoto, T. Hirayama, M. Kusunoki, S. Yang, S. Motojima, *Ultramicroscopy* **2006**, *106*, 314-319; b) F. Xu, H. Yu, A. Sadrzadeh, B. I. Yakobson, *Nano Lett.* **2016**, *16*, 34-39; c) S. Tongay, S. Dag, E. Durgun, R. T. Senger, S. Ciraci, *J. Phys.: Condens. Matter.* **2005**, *17*, 3823-3836.

¹⁵⁴ a) K. Ray, S. P. Ananthavel, D. H. Waldeck, R. Naaman, *Science* **1999**, *283*, 814-816; b) D. H. Waldeck, *J. Phys. Chem. Lett.* **2012**, *3*, 2178-2187; c) V. Kiran, S. P. Mathew, S. R. Cohen, I. Hernández Delgado, J. Lacour, R. Naaman, *Adv. Matter.* **2016**, *28*, 1957-1962; d) S. Dalum, P. Hedegard, *Nano Lett.* **2019**, *19*, 5253-5259.

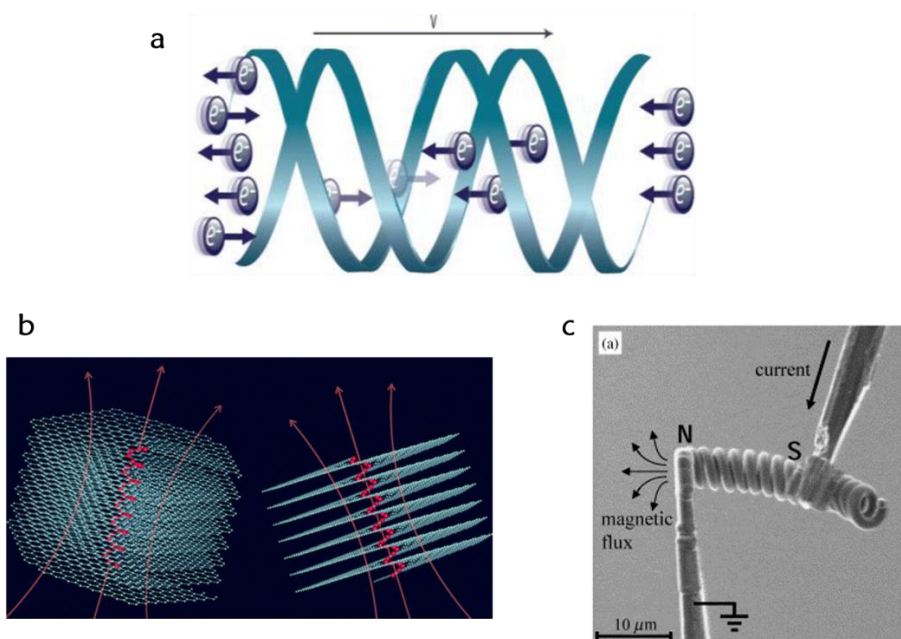


Figura 109. (a) Efecto CISS. (b) Nanosolenoides de grafeno.^{153b} (c) Inducción de campo magnético en bobinas de carbono micrométricas.^{153c}

Para la realización de este objetivo se seleccionó el grupo sulfóxido presente en (*S*)-1 como inductor quiral. Esta elección se realizó por las siguientes razones: (a) su fácil disponibilidad; (b) su capacidad de mantener la conformación del sulfóxido gracias a la disposición de los grupos metoxilo y sulfínico del anillo aromático, es decir, gracias a los diferentes entornos estéricos que presenta; (c) la presencia de este grupo quiral podría ser capaz de inducir la quiralidad al sistema global siguiendo el principio de “*sargento-soldado*”;¹¹⁷ (d) este grupo permite usarse en presencia de otros grupos funcionales adicionales, para que los quelatos metálicos den rigidez a la estructura, mejorando la inducción quiral y actuando como un grupo funcional alostérico.

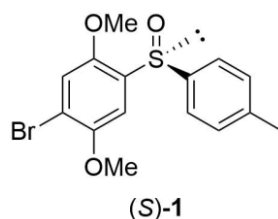


Figura 110. Estructura del inductor quiral elegido.

La introducción de este grupo permitirá además el estudio de las propiedades quiroópticas de los metalofoldámeros de Ag(I) mediante el uso de las técnicas de dicroísmo circular (CD), luminiscencia circularmente polarizada (CPL) y dicroísmo circular vibracional (VCD).

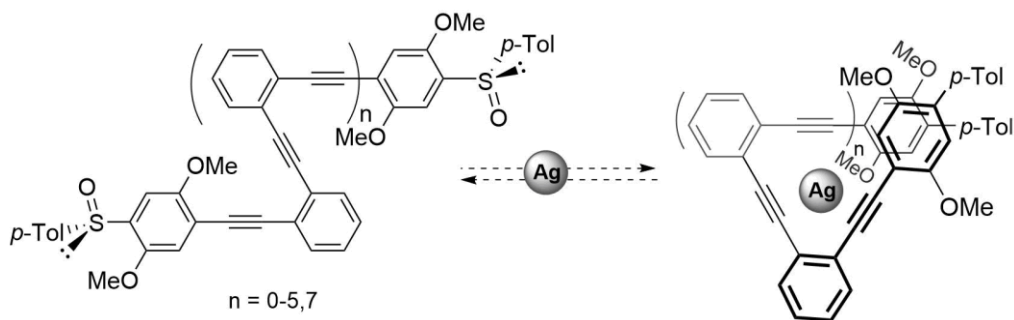


Figura 111. Hipótesis de trabajo del Objetivo 1.

Además, nos planteamos el uso de esta familia de compuestos homocirales como interruptores de CPL, ya que la modulación de la polarización en la emisión de moléculas quirales ha sido poco explorada.

En caso de que la inducción asimétrica del grupo sulfóxido presente en (*S*)-1 fuese eficaz, nos plantearíamos cuál es número mínimo requerido para obtener de forma enantiopura sistemas helicoidales extensos. En ese caso un segundo objetivo del presente capítulo, consistiría en la comparación entre dos familias de productos con uno o dos grupos sulfóxidos enantiopuros respectivamente.

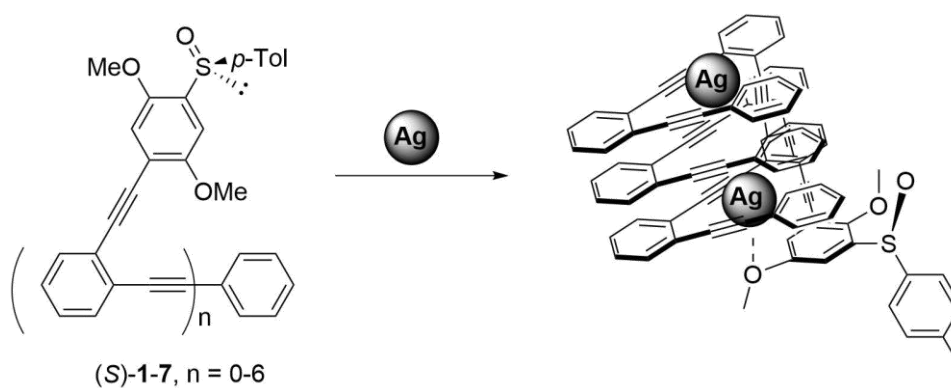


Figura 112. Hipótesis de trabajo del Objetivo 2.

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tras comentar los objetivos a desarrollar en el presente capítulo, pasamos a describir los resultados obtenidos en nuestro estudio con las dos nuevas familias de α -OPES sintetizadas. La estrategia de síntesis que se siguió con ambas familias, así como la posterior etapa de caracterización de las propiedades quiroópticas fue muy similar en los dos casos. Dividiremos la presente sección en dos apartados dedicados cada una de ellas. El primero está dedicado a compuestos simétricos con dos sulfóxidos quirales en su estructura, mientras que el segundo abarca el estudio de sus análogos con un solo grupo sulfóxido y su comparación con los resultados del apartado anterior.

La presencia de quiralidad en el esqueleto era el requisito imprescindible que debían cumplir las dos nuevas familias de foldámeros a sintetizar. Por ello, tal y como se comentó en los objetivos del presente capítulo, se decidió emplear el grupo (*S*)-1,4-dimetoxi(*p*-tolilsulfinil)benceno como inductor quiral (Figura 113). Este sustrato se eligió debido a su fácil accesibilidad¹⁵⁵ y a su capacidad de inducir la transferencia de quiralidad desde el átomo de azufre al resto de la estructura,¹⁵⁶ habiéndose utilizado previamente dicha capacidad para controlar la conformación y la configuración en interruptores fotoeléctricos de azobenceno.¹⁵⁷

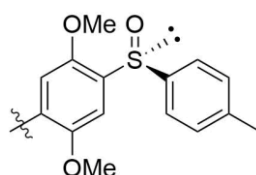


Figura 113. Grupo (*S*)-1,4-dimetoxi(*p*-tolilsulfinil)benceno

1. DISULFÓXIDOS DE *orto*-FENILENETINILENOS (α -OPES)

1.1 Diseño y síntesis de disulfóxidos de α -OPEs (*S,S*)-2-8

Para comenzar con el desarrollo de nuestro primer objetivo, nos planteamos la síntesis de una nueva familia de compuestos homoquirales que presentaban dos grupos sulfóxidos (*S*)-1 en su estructura, con el fin de determinar sus estructuras y sus propiedades ópticas y

¹⁵⁵ El compuesto (*S*)-1 fue suministrado por las Profs.^a M. C. Carreño, y M. Ribagorda y el estudiante de doctorado S. Guisán, del Departamento de Química Orgánica de la Universidad Autónoma de Madrid.

¹⁵⁶ a) M. C. Carreño, I. García, I. Núñez, E. Merino, M. Ribagorda, S. Pieraccini, G. P. Spada, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 7089-7100.; b) Tesis Doctoral José Antonio Fernández Salas, Universidad Autónoma de Madrid.

¹⁵⁷ a) G. Hernández-Torres, M. C. Carreño, A. Urbano, F. Colobert, *Chem. Eur. J.* **2011**, *17*, 1283-1293; b) A. M. Del Hoyo, A. Urbano, M. C. Carreño, *Org. Lett.* **2016**, *18*, 20-23; c) I. Núñez, E. Merino, M. Lecea, S. Pieraccini, G. P. Spada, C. Rosini, G. Mazzeo, M. Ribagorda, M. C. Carreño, *Chem. Eur. J.* **2013**, *19*, 3397-3406.

quiroópticas. Dichas propiedades se podrán comparar con las obtenidas en compuestos de tipo α -OPEs con un único sulfóxido, los cuales se verán en el apartado siguiente de esta sección. En la Figura 114 se muestra la estructura de los compuestos objetivos de este primer apartado.

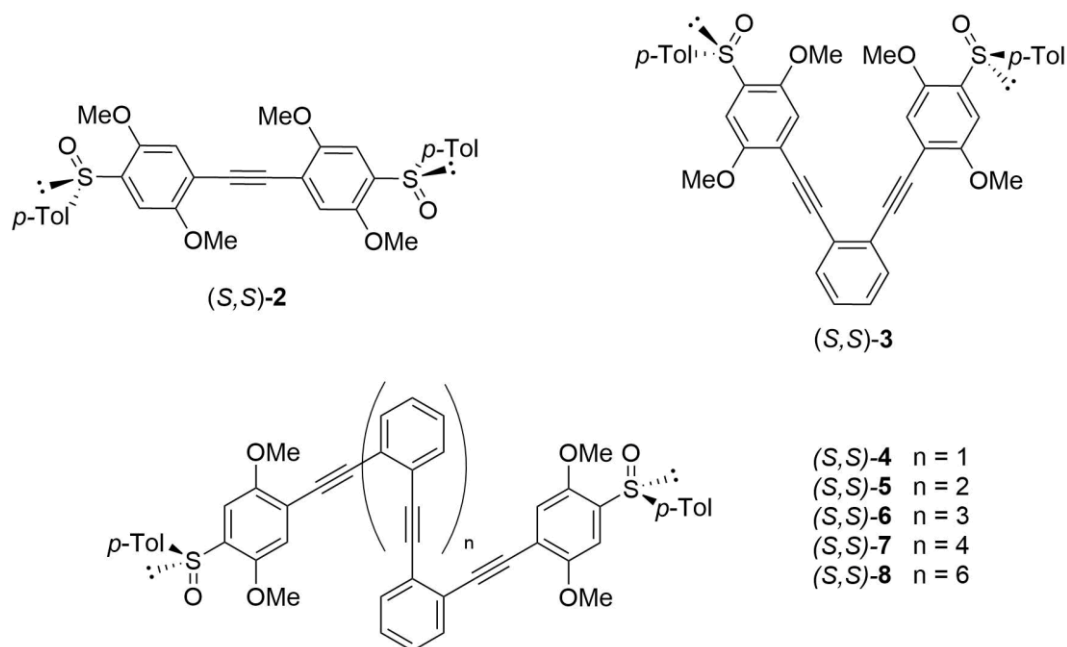
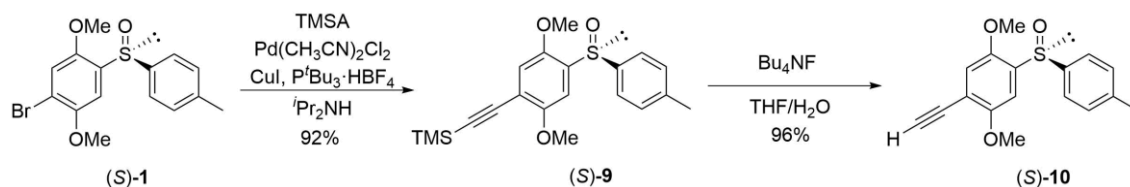


Figura 114. Estructuras de disulfóxidos de α -OPEs objetivo.

Para comenzar con la síntesis de esta familia de foldámeros, realizamos la funcionalización del compuesto (S)-1 con el TMSA mediante una reacción de acoplamiento de Sonogashira, para obtener el derivado (S)-9, que tras la desprotección del grupo TMS origina el compuesto (S)-10 (ver Esquema 1). De esta forma obtuvimos el sintón común (S)-10 para todos los compuestos, el cual se utilizará en la última etapa de síntesis para obtener los disulfóxidos objetivo (S,S)-2-8.

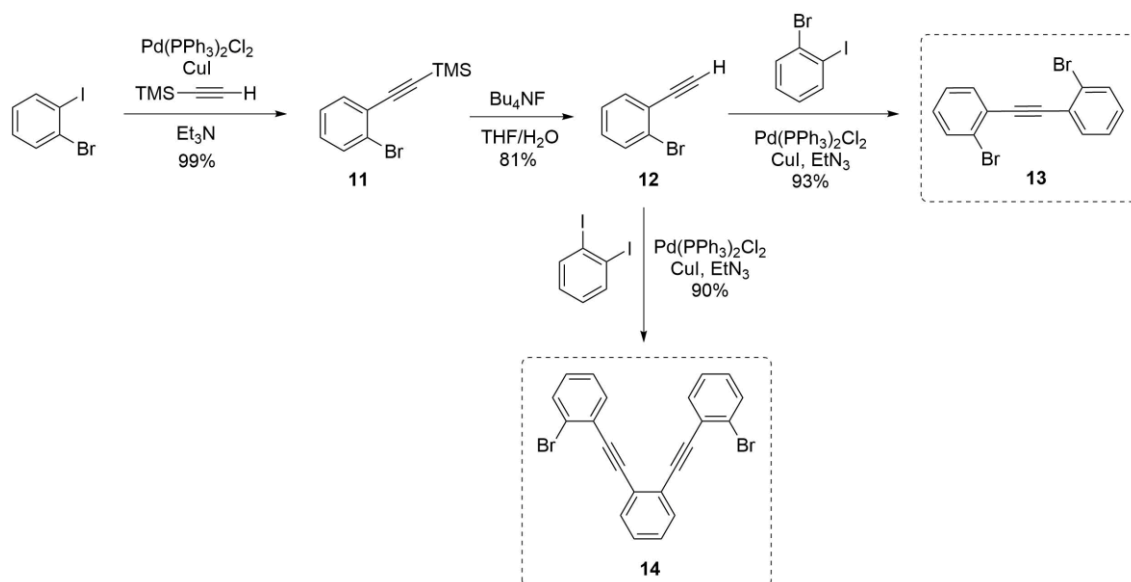


Esquema 1. Síntesis del sintón común (S)-10.

A continuación, pasamos a preparar los esqueletos de bromuros de arilo de α -OPEs 13, 14, 17, 20 y 21, lo cuales servirán para sintetizar en la última etapa de reacción los disulfóxidos objetivo. Para ello, se siguió una secuencia general de reacciones de

acoplamiento de Sonogashira y reacciones de desprotección, en las cuales los rendimientos fueron de buenos a excelentes.

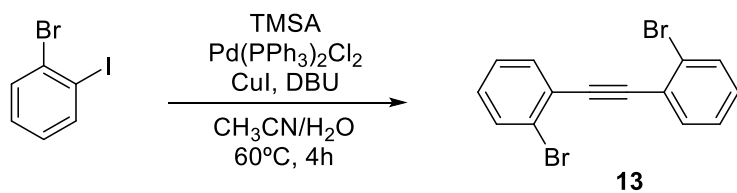
Utilizando el 1-bromo-2-iodobenceno como material de partida y tras un acoplamiento de Sonogashira seguido de la correspondiente etapa de desprotección obtuvimos el sintón **12** con un rendimiento del 81%. De nuevo, un acoplamiento de Sonogashira entre el sintón **12** y el producto comercial 1-bromo-2-iodobenceno generó el intermedio **13**. Por otra parte, aplicando la misma reacción entre el compuesto **12** y el producto 1,2-diiodobenceno preparamos el bromuro de arilo **14**. Tanto, el intermedio **13** como el **14** se obtuvieron con excelentes rendimientos. El siguiente esquema de reacción muestra las síntesis comentadas.



Esquema 2. Síntesis de los intermedios **13** y **14**.

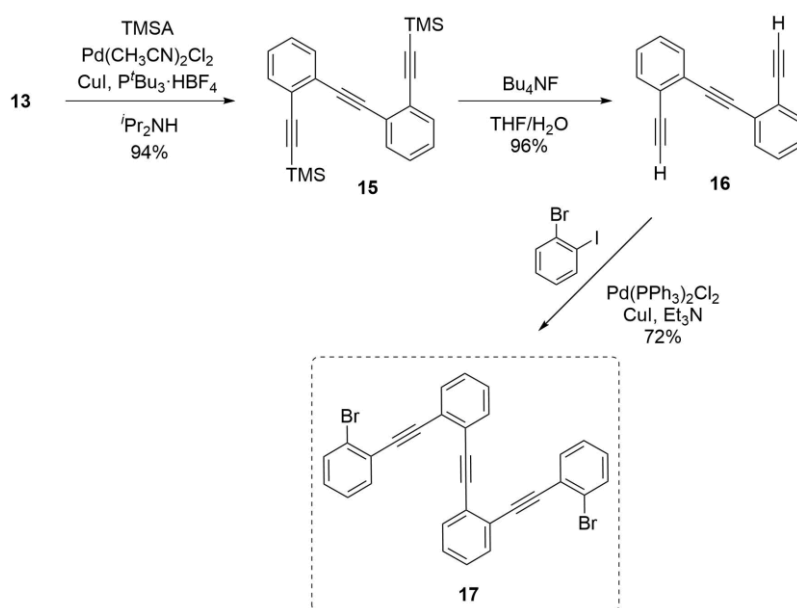
Aunque inicialmente el compuesto **13** se obtenía a través del procedimiento mostrado en el Esquema 2, una modificación en el procedimiento nos permitió obtenerlo en una sola etapa de manera cuantitativa. Para ello empleamos una reacción que implicaba un doble acoplamiento de Sonogashira entre el 1-bromo-2-iodobenceno y TMSA, tal y como se muestra en el Esquema 3.¹⁵⁸

¹⁵⁸ M. J. Mio, L. C. Kopel, J.B. Braun, T. L. Gadzikwa, K. L. Hull, R. G. Brisbois, C. J. Markworth, P. A. Grieco, *Org. Lett.* **2002**, *4*, 3199-3202.



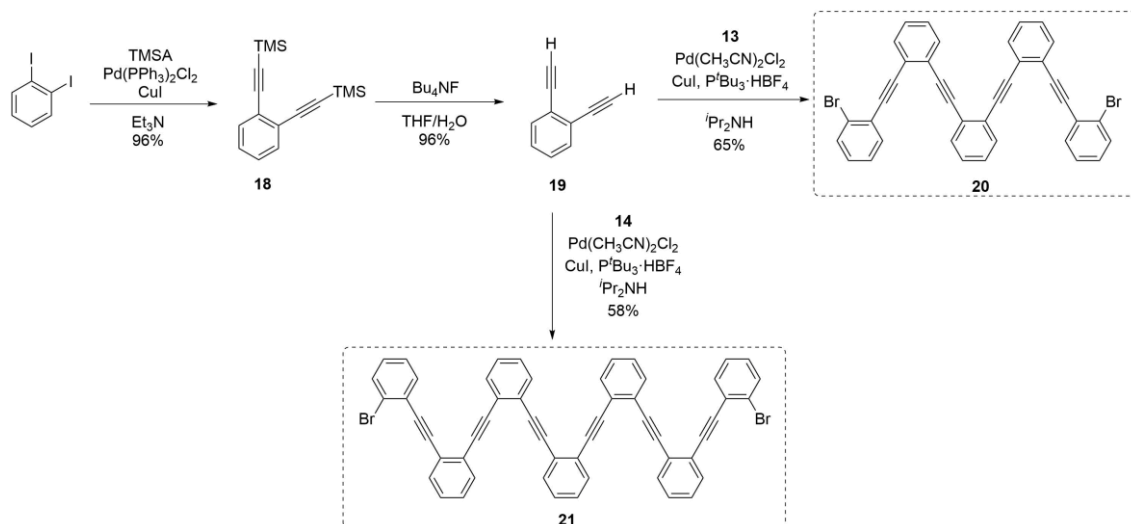
Esquema 3. Síntesis alternativa del intermedio **13**.

El compuesto **13** se empleó posteriormente en la síntesis del compuesto **17**, mediante la secuencia sintética que se indica en el Esquema 4.



Esquema 4. Síntesis del intermedio **17**.

Finalmente, siguiendo la misma estrategia sintética de acoplamiento de Sonogashira seguido de una etapa de desprotección obtuvimos el compuesto **19** a partir del producto comercial 1,2-diiodobenceno con un excelente rendimiento. Este sintón se empleó en la síntesis de los intermedios **20** y **21**, mediante un acoplamiento con los fragmentos **13** y **14** respectivamente, con rendimientos de buenos a moderados.



Esquema 5. Síntesis de los intermedios 20 y 21.

Por último, la síntesis de los compuestos objetivo (*Δ,Δ*)-2-8 (ver Figura 114) se completó mediante reacciones de acoplamiento de Sonogashira entre el compuesto (*Δ*)-10 y los bromuros/yoduros de arilo que se muestran en la Figura 115. De esta manera obtuvimos los disulfóxidos finales (*Δ,Δ*)-2-8 en un único paso y con rendimientos de excelentes a moderados (89%-54%).

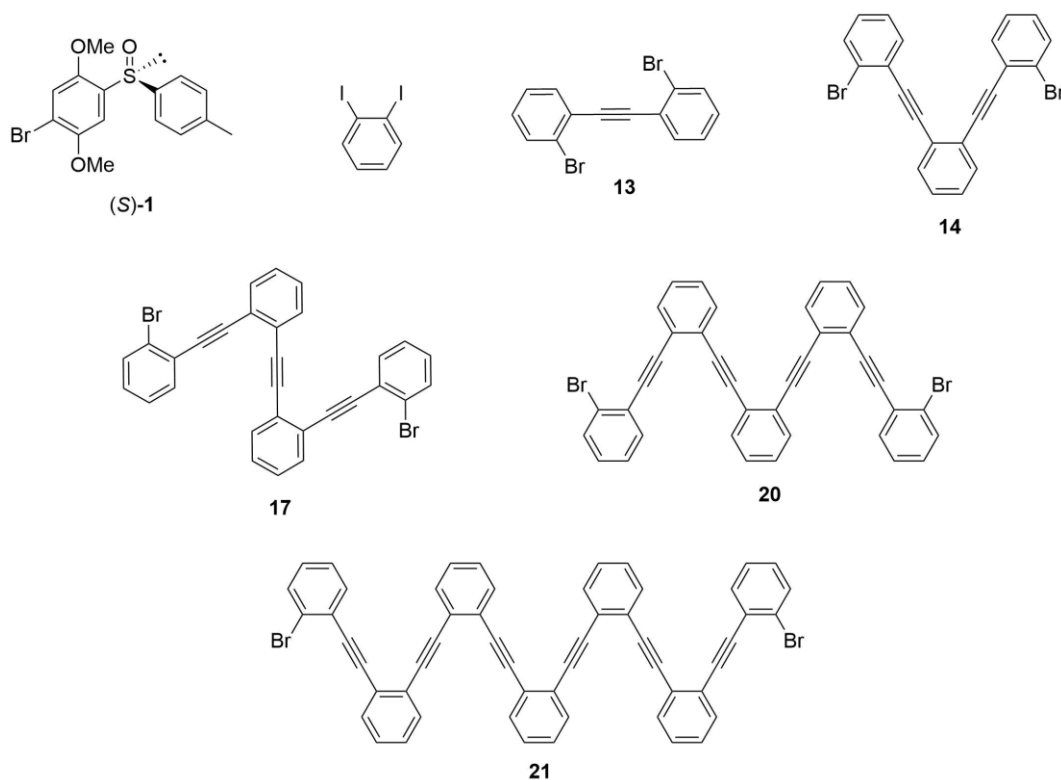
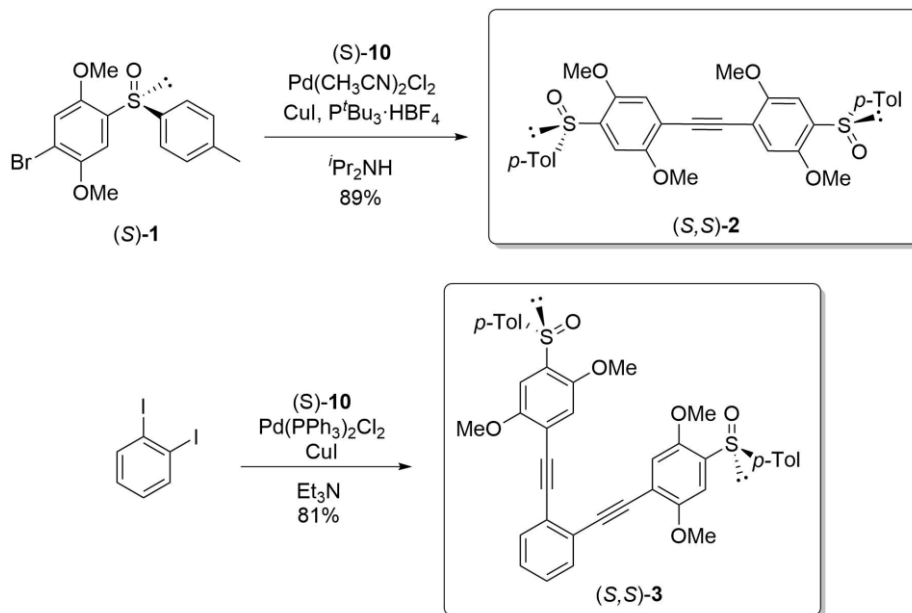


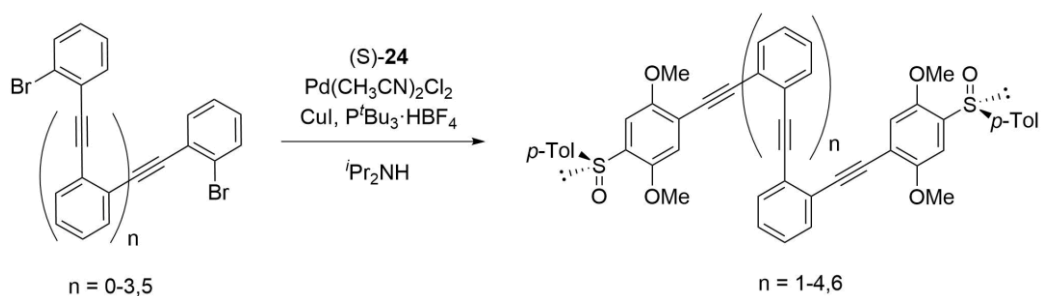
Figura 115. Estructura de los bromuros/yoduros de arilo para la síntesis de los disulfóxidos finales.

Así, la síntesis de los compuestos (*S,S*)-**2** y (*S,S*)-**3** se llevó a cabo partiendo del compuesto (*S*)-**1** y del 1,2-diiodobenceno comercial, respectivamente, tal y como se indica en el Esquema 6, con excelentes rendimientos.



Esquema 6. Síntesis de disulfóxidos (*S,S*)-**2** y (*S,S*)-**3**.

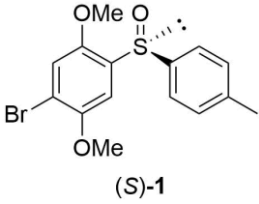
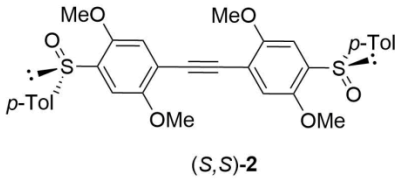
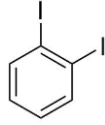
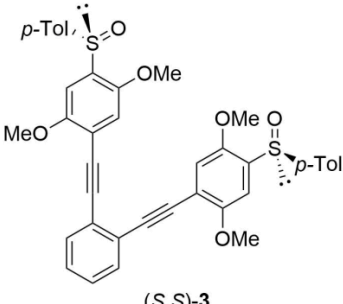
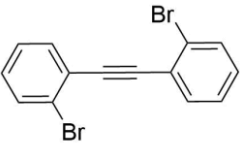
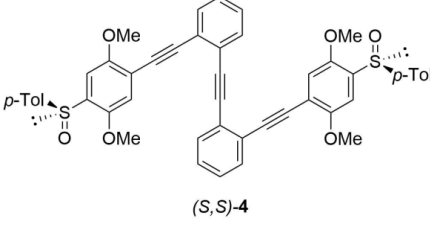
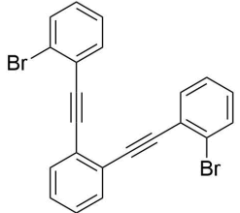
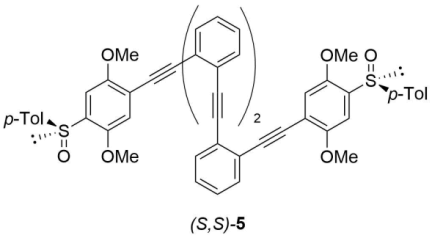
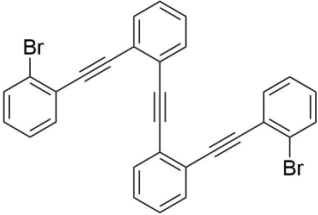
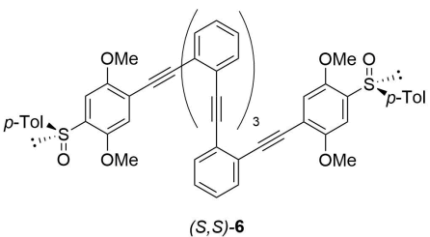
Por otra parte, los disulfóxidos (*S,S*)-**4-8** se sintetizaron por acoplamiento de Sonogashira del sintón común (*S*)-**10** con los correspondientes bromuros de *o*-OPEs **13**, **14**, **17**, **20** y **21** obtenidos previamente.

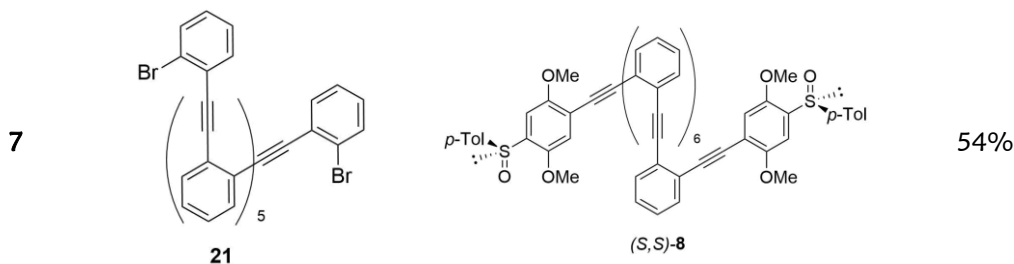
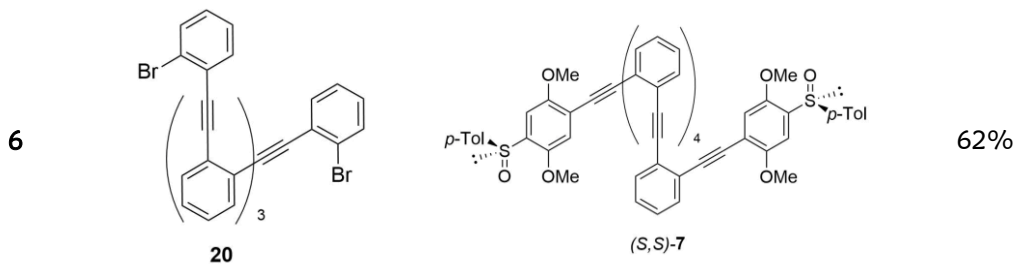


Esquema 7. Síntesis de disulfóxidos (*S,S*)-**4-8**.

En la siguiente tabla se resumen los resultados obtenidos tras la realización de estos acoplamientos.

Tabla 2. Síntesis de disulfóxidos (*S,S*)-2-8.

Entrada	Substrato de partida	Producto Final	Rendimiento
1	 <p>(<i>S</i>)-1</p>	 <p>(<i>S,S</i>)-2</p>	89%
2		 <p>(<i>S,S</i>)-3</p>	81%
3	 <p>13</p>	 <p>(<i>S,S</i>)-4</p>	73%
4	 <p>14</p>	 <p>(<i>S,S</i>)-5</p>	70%
5	 <p>17</p>	 <p>(<i>S,S</i>)-6</p>	63%



1.2 Estudio de los desplazamientos químicos por RMN

Una vez sintetizados todos los compuestos deseados comenzamos con una caracterización de todos ellos mediante espectroscopía de RMN tanto en presencia como en ausencia de cationes de Ag(I). Como se verá más adelante, todos los estudios presentados posteriormente fueron apoyados por los cambios apreciados en los desplazamientos químicos en los espectros de ^1H y ^{13}C de RMN realizados, tanto antes como después de la adición de iones Ag(I) a cada uno de los compuestos (S,S)-2-8.

Para observar dichos cambios, realizamos valoraciones con AgBF_4 de cada uno de los foldámeros indicados en este estudio, usando una mezcla 9:1 CD_2Cl_2 :acetona- d_6 como disolvente. Tras cada adición de Ag(I), se registraron los correspondientes espectros de ^1H RMN. A continuación, se muestran los espectros representativos de ^1H y ^{13}C RMN del compuesto (S,S)-6.

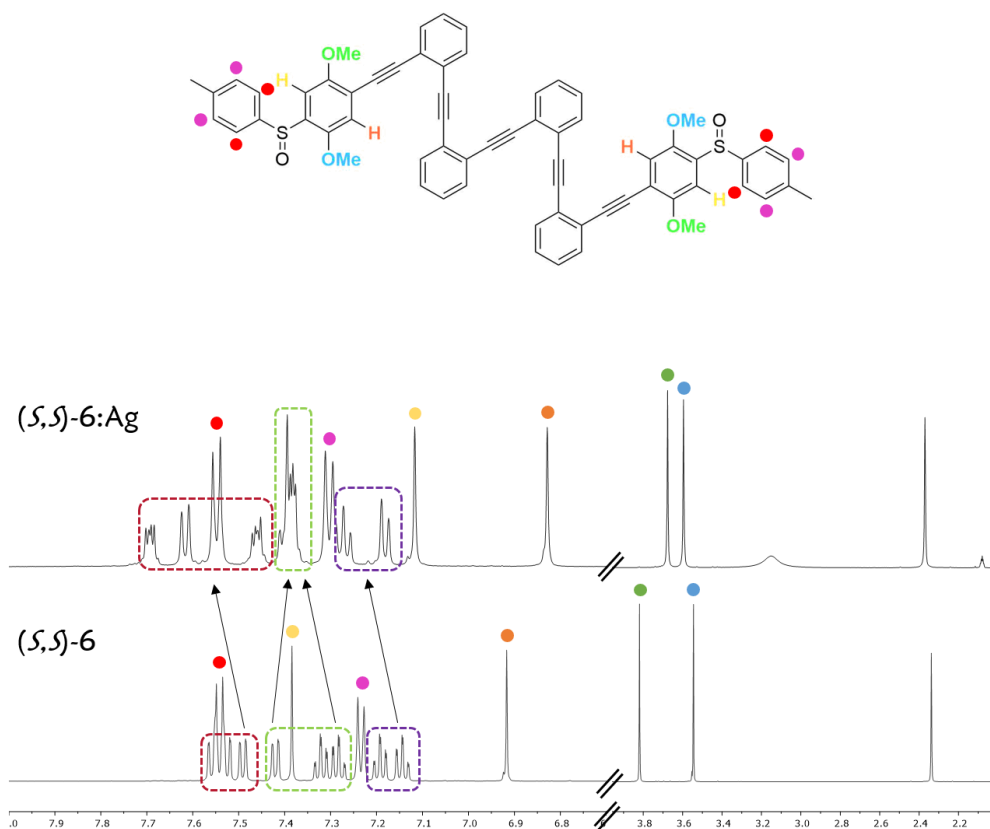


Figura 116. Espectro de ^1H RMN del compuesto (S,S)-6.

Como podemos comprobar mirando la Figura 116, en el espectro de ^1H RMN se producen cambios tanto en las señales aromáticas como en las alifáticas, lo que confirmaba los procesos de plegamiento por coordinación de Ag(I) a la estructura. En el caso del espectro de ^1H RMN pudimos observar un desplazamiento hacia campo alto de los grupos metoxilo, así como de los hidrógenos aromáticos correspondientes al grupo sulfóxido, poniendo de manifiesto el solapamiento y el π -stacking entre anillos. Por otra parte, vemos como por coordinación a la Ag(I) se produce una mayor resolución en el espectro indicativo de una estructura rígida, a diferencia de lo observado en ausencia de Ag(I) cuando la estructura era totalmente flexible.

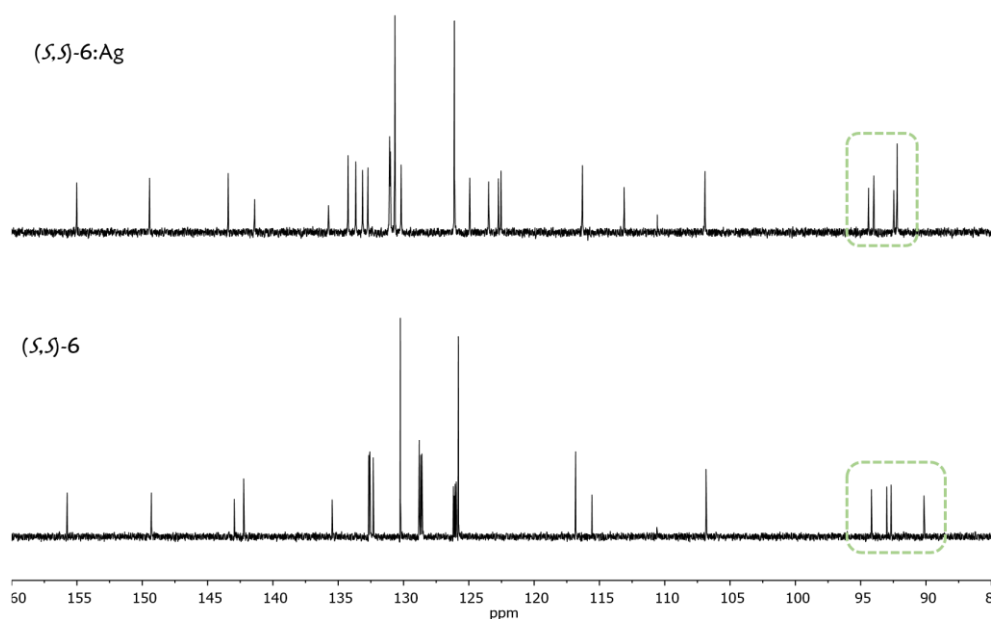


Figura 117. Espectro de ^{13}C RMN del compuesto (S,S)-6.

En cuanto al espectro de ^{13}C RMN, observamos desplazamientos químicos en las señales correspondientes a los carbonos acetilénicos debido a la coordinación con la Ag(I), además de una mayor separación de las señales de los carbonos aromáticos, como consecuencia de una estructura más rígida. Como ejemplo se ilustra el comportamiento en ^{13}C RMN del compuesto (S,S)-6 (Figura 117). El desplazamiento en los carbonos acetilénicos también pudo observarse en el espectro de ^{13}C RMN del compuesto (S,S)-2, que aunque no presentó señales en CD (ver Sección 1.3.1) y parecía que se veía inalterado por la presencia de Ag(I), pudimos ver ligeros desplazamientos químicos en los carbonos acetilénicos, demostrando así una interacción de los alquinos con los iones Ag(I).

1.3 Estudio de las propiedades ópticas

El siguiente paso en nuestro estudio fue el análisis de las propiedades quiroópticas de nuestros compuestos mediante las técnicas de dicroísmo circular (CD) y dicroísmo circular vibracional (VCD), tanto en presencia como en ausencia de Ag(I) para comprobar si la presencia de dichos cationes era determinante para mantener una estructura helicoidal necesaria para el desarrollo de sistemas helicoidales extensos.

1.3.1 Estudio de las medidas de UV y CD de los compuestos (S,S)-2-8 y sus correspondientes metalofoldámeros de Ag(I)

En primer lugar, evaluamos mediante CD el plegamiento de los foldámeros de α -OPEs (S,S)-2-8 en dos disolventes distintos, basándonos en la metodología publicada por Moore

y Hill,¹¹⁹ mediante la cual medían el carácter helicogénico de una serie de disolventes para estructuras de *m*-OPEs, similares a las nuestras. Según esto, elegimos el CH₃CN y el CH₂Cl₂ como disolvente helicogénico y no helicogénico, respectivamente.

Las medidas de absorción UV y de CD se realizaron con un instrumento Jasco 815SE usando una cubeta de cuarzo de 2.0 mm de paso óptico. Para ello, se prepararon disoluciones en CH₂Cl₂ para cada uno de los compuestos del estudio, con una concentración de 5-10 x 10⁻⁵ M. Los resultados obtenidos para las medidas de UV y CD se muestran en la Figura 118 y 119, respectivamente.

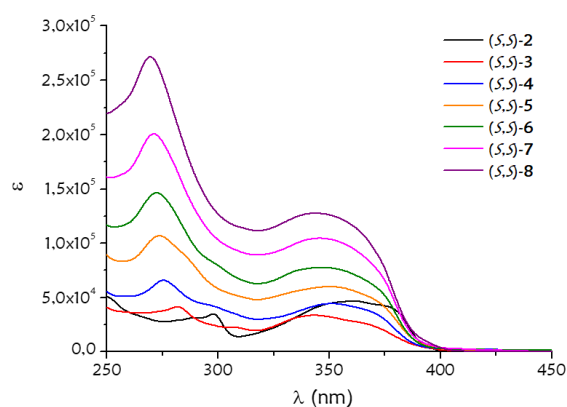


Figura 118. Espectro de absorción de (*S,S*)-2-8 en CH₂Cl₂.

Como puede verse, en el espectro de absorción anterior, podemos distinguir dos bandas principales de absorción, una a $\lambda \approx 260-280$ nm y otra a $\lambda \approx 330-380$ nm. La primera de ellas corresponde a la absorción del grupo sulfóxido, mientras que la segunda es característica de la estructura aromática de fenilnetinilenos correspondiente a la transición $\pi \rightarrow \pi^*$.

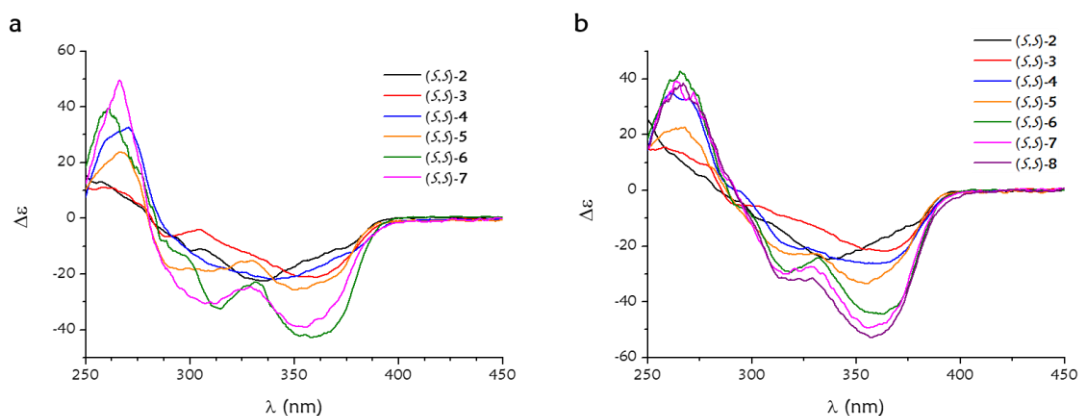


Figura 119. Espectros de CD de (*S,S*)-2-8 en (a) CH₃CN y (b) CH₂Cl₂.

Por otro lado, en los espectros de CD registrados sugerían la preferencia hacia estructuras helicoidales incluso en ausencia de cationes Ag(I) . Además se encontró una tendencia similar en los dos disolventes seleccionados (CH_3CN y CH_2Cl_2). Los compuestos (S,S) -**2-8** presentan una banda positiva a $\lambda = 260\text{-}270$ nm correspondiente al grupo (S) -sulfóxido, apreciándose un ligero desplazamiento al rojo para los compuestos más conjugados (S,S) -**4-8**. Además, podemos ver como para los compuestos con menor número de unidades de fenilnetinilenos, (S,S) -**2** y (S,S) -**3**, los espectros de CD sólo presentan una banda negativa a $\lambda = 330\text{-}370$ nm perteneciente a los grupos aromáticos, lo que sugiere la transferencia de quiralidad desde el grupo sulfóxido hacia el sistema aromático. En cambio, los compuestos de mayor orden (S,S) -**4-8** presentan dos bandas negativas a $\lambda \approx 320$ nm y 360 nm, también asociadas a la absorción de los grupos aromáticos. La intensidad de estas bandas se acentúa más con el aumento de las unidades de fenilnetinilenos ($\Delta\epsilon = -25$ a -55), alcanzando un valor máximo para el compuesto (S,S) -**8**. Esto indica un mayor plegamiento con el aumento de la longitud de la cadena, formándose foldámeros helicoidales quirales, independientemente del carácter helicogénico del disolvente. Por otra parte, las bandas de CD presentan un efecto Cotton negativo, lo que sugiere una conformación helicoidal M para estas estructuras.

Con el fin de poder comparar todas las estructuras, usamos el factor de disimetría de absorción (g_{abs}), y pudimos comprobar que éste no aumentaba linealmente con el número de alquinos (Figura 120). Además, los valores de g_{abs} obtenidos fueron relativamente bajos ($0.5\text{-}1 \times 10^{-3}$) en comparación con los esperados para estructuras helicoidales.¹² Todo esto son evidencias que reflejan el desorden conformacional existente en la estructura de estos foldámeros en disolución, que aumenta con el número de alquinos. Esto también demuestra que, independientemente del disolvente empleado, estas estructuras presentan una tendencia intrínseca a adoptar una conformación helicoidal en disolución; y que el plegamiento inducido por las interacciones solvofóbicas es mínimo. La presencia del grupo sulfóxido es de hecho capaz de dirigir dicho plegamiento de forma selectiva hacia una de las estructuras helicoidales, aunque no de forma satisfactoria.

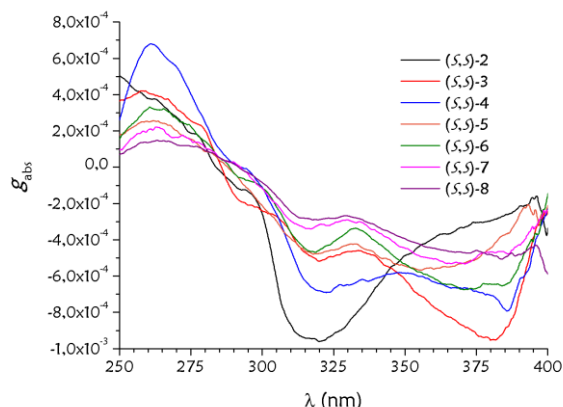


Figura 120. Valores de g_{abs} para los compuestos (S,S)-2-8 en CH_2Cl_2 .

Como se ha expuesto anteriormente en la presente tesis, en los últimos años nuestro grupo de investigación ha adquirido una gran experiencia en el campo de los foldámeros basados en α -OPEs, así como en su comportamiento antes estímulos externos, como la adición de iones $Ag(I)$.^{114,130,131} Basándonos en los resultados obtenidos, decidimos estudiar el efecto de la presencia de iones $Ag(I)$ en la estructura, así como un estudio de las propiedades quiroópticas de los compuestos (S,S)-2-8 con $Ag(I)$, ya que los grupos sulfóxidos y metoxilo de la estructura ofrecen sitios adicionales de coordinación, distintos a los alquinos del esqueleto de α -OPEs. Para ello, cada uno de los productos se disolvió en una mezcla de CH_2Cl_2 /acetona (9:1) en presencia de un exceso de una sal de plata con un contraión no coordinante, como es el $AgBF_4$. Empleamos esa mezcla de disolventes ya que la sal de $Ag(I)$ era insoluble en una disolución pura de CH_2Cl_2 .

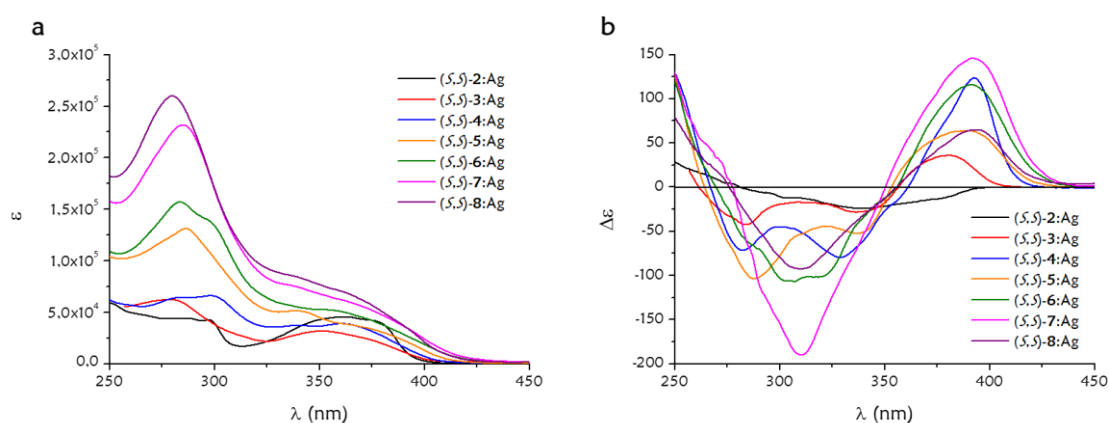


Figura 121. Espectro de absorción (a) y CD (b) para los metalofoldámeros de $Ag(I)$ en CH_2Cl_2 .

No se observan cambios apreciables entre el espectro de absorción en presencia de iones $Ag(I)$ (Figura 121a) con respecto a lo observado en la Figura 118, referidos a los compuestos de menor orden de la familia de α -OPEs (S,S)-2-3. Sin embargo, para los

compuestos de mayor orden (*S,S*)-4-8, sí encontramos una ligera disminución de la segunda banda de absorción a $\lambda \approx 330\text{-}380$ nm, correspondiente a la transición $\pi \rightarrow \pi^*$ en el sistema, lo que podría indicar una posible interacción de los iones Ag(I) con el esqueleto de feniletenilenos.

Los cambios más apreciables los podemos ver en los espectros de CD, siendo el hecho más significativo la aparición de un efecto Cotton positivo a $\lambda \approx 390$ nm, lo que pone de manifiesto un cambio estructural que modifica la quiralidad del foldámero tras la adición de Ag(I) (Figura 121b). Este efecto solo se observó en los compuestos (*S,S*)-3-8, donde la señal de CD cambia tanto en forma como en signo, adoptando las estructuras una nueva conformación helicoidal *P* en presencia de iones Ag(I). En el caso del compuesto (*S,S*)-2 no se observa ningún cambio apreciable tras la adición, lo que indica que su respuesta quiroóptica no se ve afectada por la presencia de Ag(I).

En la Tabla 3 se recogen los valores de elipticidad molar $\Delta\epsilon$ a la λ máxima de la banda de CD, antes de la adición de Ag(I), y a $\lambda = 390$ nm, para después de la adición de la misma. Estos valores aumentan monótonamente desde (*S,S*)-3 hasta alcanzar un máximo para el compuesto (*S,S*)-7, lo que podría estar relacionado con el aumento en el momento de transición del dipolo magnético.

Tabla 3. Valores de $\Delta\epsilon$ con y sin Ag(I) para los disulfóxidos.

Compuesto	$\Delta\epsilon$ sin Ag(I) λ_{max}	$\Delta\epsilon$ con Ag(I) λ_{390}
(<i>S,S</i>)-2	-25	-3
(<i>S,S</i>)-3	-23	+26
(<i>S,S</i>)-4	-27	+120
(<i>S,S</i>)-5	-34	+64
(<i>S,S</i>)-6	-45	+115
(<i>S,S</i>)-7	-50	+144
(<i>S,S</i>)-8	-55	+64

Tras obtener los valores de CD en presencia de Ag(I), decidimos comparar las estructuras de los metalofoldámeros obtenidos mediante el factor de disimetría de absorción (g_{abs}), como puede verse en la siguiente figura.

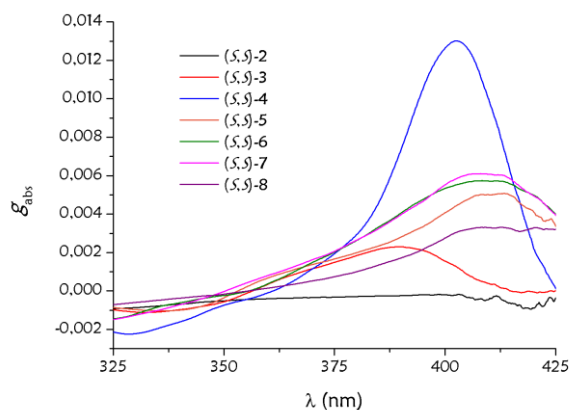


Figura 122. Valores de g_{abs} para los metalofoldámeros de Ag(I).

En la gráfica anterior, observamos un cambio de signo en los valores de g_{abs} para todos los compuestos, tal y como ocurre con el signo en CD, demostrando de nuevo la inversión de la helicidad. Además, la mayoría de estructuras presentaron el mismo comportamiento, exceptuando el (S,S)-2, cuyo valor era el mismo que presentaba en ausencia de Ag(I), y el compuesto (S,S)-4, con un valor de $1,3 \times 10^{-2}$, poniendo de manifiesto su potencial con posible emisor de luz polarizada circular.

Otro aspecto importante en este estudio es la fortaleza de la coordinación de los iones Ag(I) con nuestras estructuras. Para ello, decidimos realizar valoraciones con AgBF_4 monitorizadas mediante CD. Se preparó en cada caso una disolución $2,5 \times 10^{-5}$ M del compuesto a medir a la cual se le fueron añadiendo cantidades conocidas de una disolución $2,5 \times 10^{-4}$ M de AgBF_4 , generándose el metalofoldámero correspondiente.

Una vez realizadas las valoraciones evaluamos la capacidad de coordinación del ion Ag(I) a los alquinos presentes de los compuestos sintetizados. Para ello, calculamos la constante de coordinación para cada uno de los disulfóxidos (S,S)-2-8 mediante el programa DynaFit (v. 4.06019).¹⁵⁹

A continuación, se muestran los espectros de CD junto con los ajustes realizados con el programa DynaFit para las valoraciones con Ag(I) de los compuesto (S,S)-2-8.

¹⁵⁹ a) T. Gasa, J. Spruell, W. Dichtel, T. Srensen, D. Philp, J. Stoddart, P. Kuzmič, *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 106-116; b) P. Kuzmič, *Anal. Biochem.* **1996**, *237*, 260-273; c) F. Ulatowski, K. Dabrowa, T. Balakier, J. Jurczak, *J. Org. Chem.* **2016**, *81*, 1746-1756; d) D. Brynn Hibbert, P. Thordarson, *Chem. Commun.* **2016**, *52*, 12792-12805.

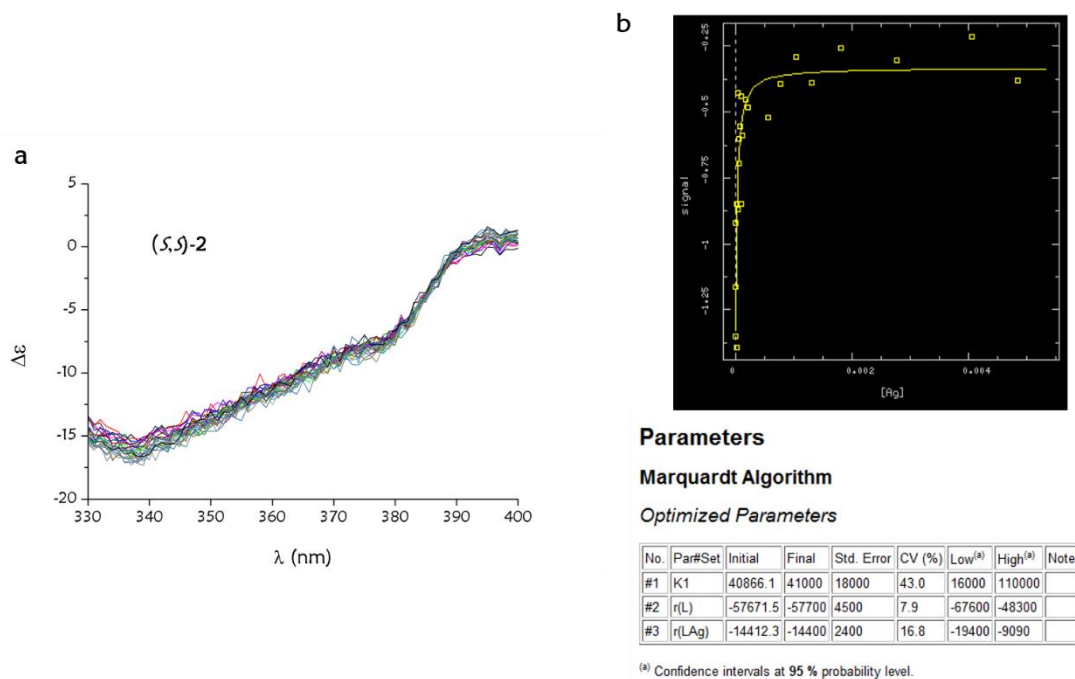


Figura 123. (a) Espectro de CD y (b) resultados del DynaFit de la valoración con Ag(I) de (S,S)-2.

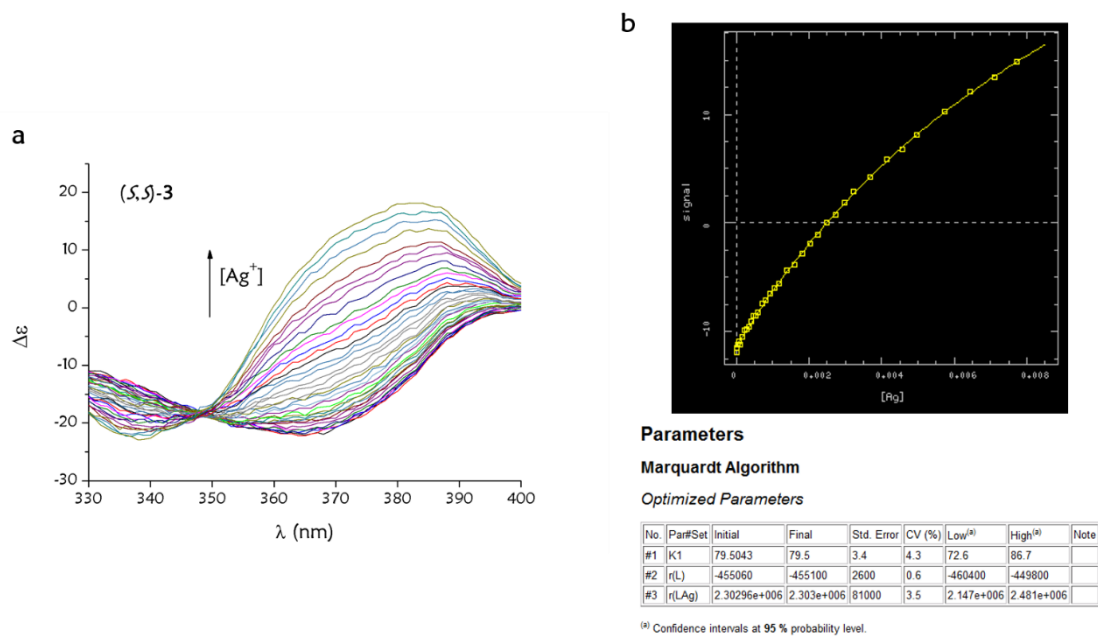


Figura 124. (a) Espectro de CD y (b) resultados del DynaFit de la valoración con Ag(I) de (S,S)-3.

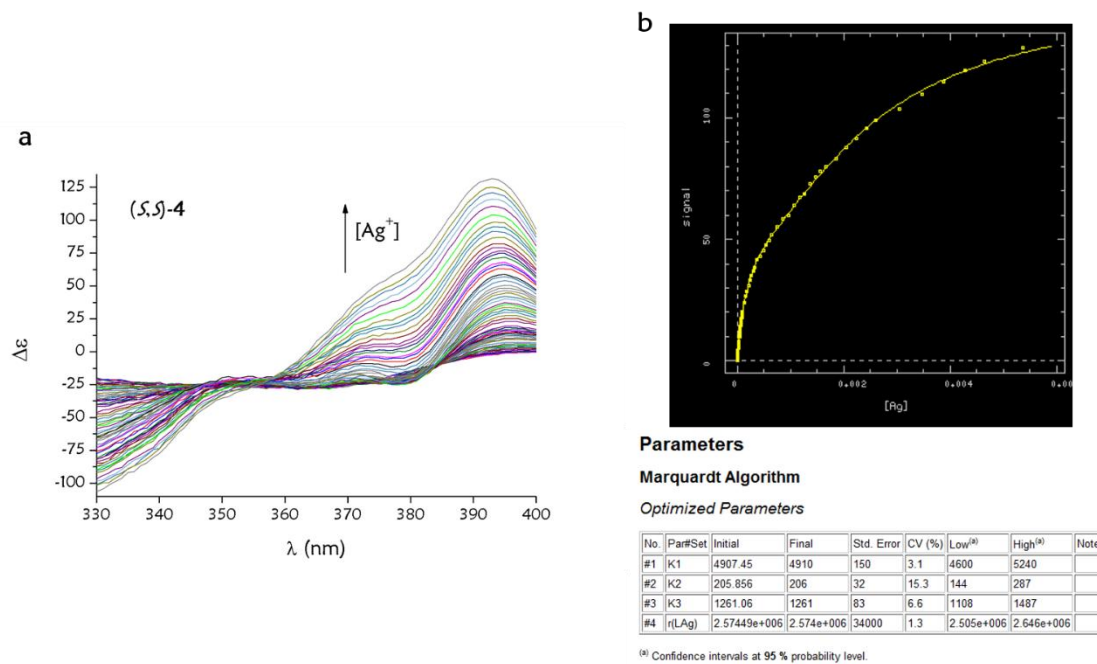


Figura 125. (a) Espectro de CD y (b) resultados del DynaFit de la valoración con Ag(I) de (S,S)-4.

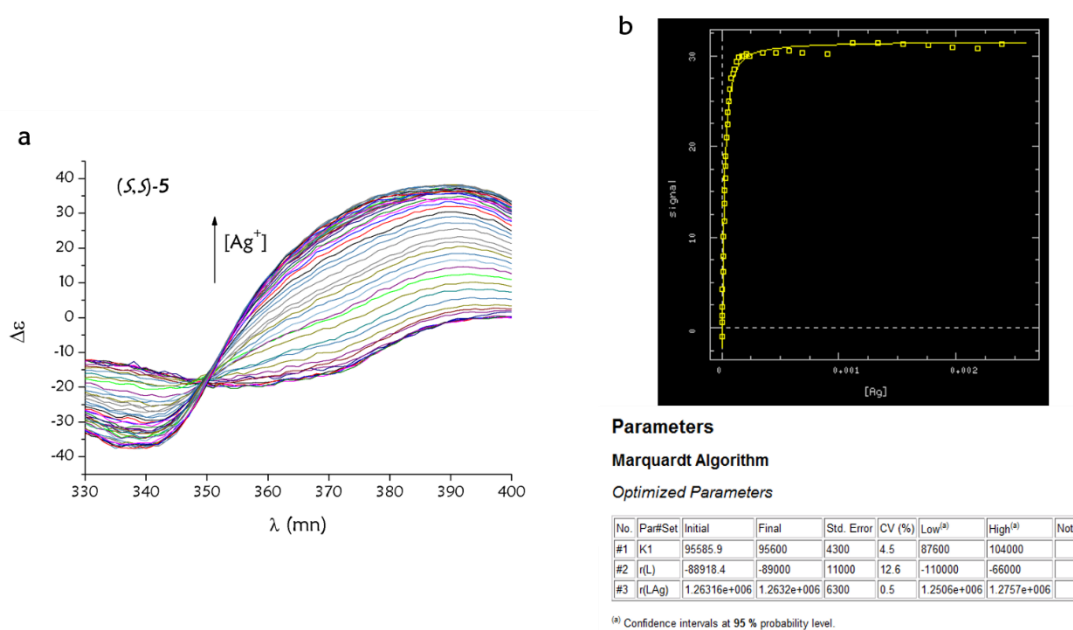


Figura 126. (a) Espectro de CD y (b) resultados del DynaFit de la valoración con Ag(I) de (S,S)-5.

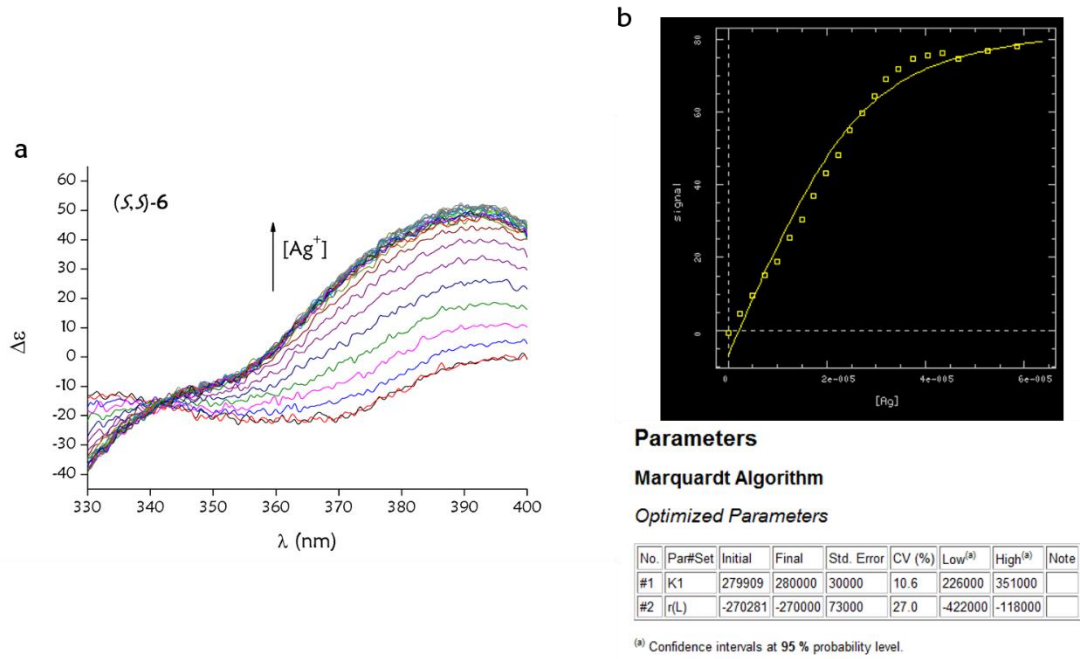


Figura 127. (a) Espectro de CD y (b) resultados del DynaFit de la valoración con Ag(I) de (S,S)-6.

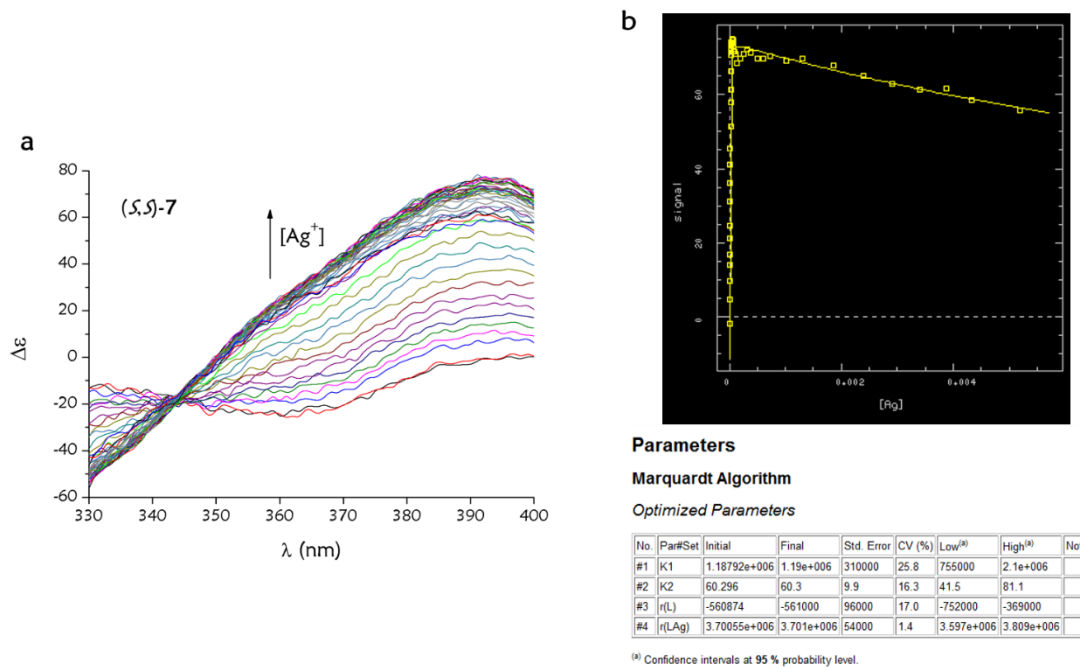


Figura 128. (a) Espectro de CD y (b) resultados del DynaFit de la valoración con Ag(I) de (S,S)-7.

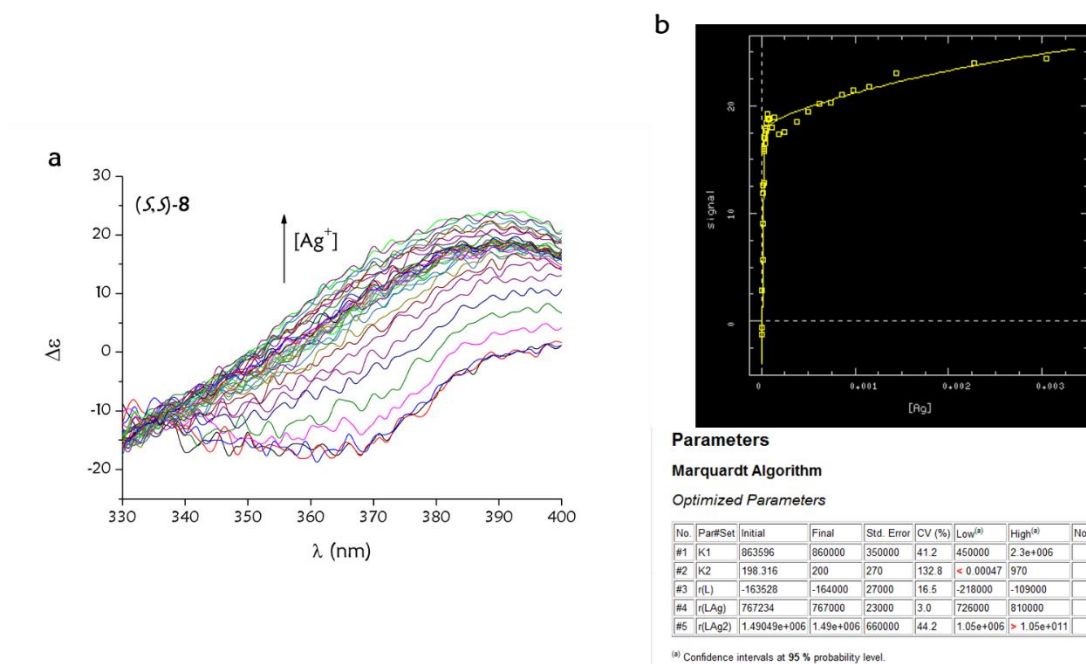


Figura 129. (a) Espectro de CD y (b) resultados del DynaFit de la valoración con Ag(I) de (S,S)-8.

Como podemos ver, una vez realizadas las valoraciones con AgBF_4 en todos los casos, excepto para el compuesto (S,S)-2, el valor de CD se hace cada vez más positivo con el aumento de la concentración de iones plata en disolución, lo que nos indica una disminución del desorden de los disulfóxidos por la coordinación con los cationes de Ag(I) que genera estructuras helicoidalmente plegadas en disolución. En el caso del compuesto (S,S)-2 no observamos dicho aumento de CD, puesto que su estructura es demasiado pequeña como para adoptar una conformación helicoidal, por lo que su interacción con los cationes de Ag(I) no pudo observarse por CD. En este caso, la señal observada solo dependía de la quiralidad del sulfóxido.

En la siguiente tabla se recogen los valores de las constantes de coordinación, así como las estequiometrías de los complejos de Ag(I) obtenidos tras los ajustes con el programa DynaFit.

Tabla 4. Constantes de asociación y estequiometría.

Compuesto	$K (M^{-1})$	Estequiometría
(S,S)-2	$4.09 \times 10^4 \pm 40\%$	1:1
(S,S)-3	$79.5 \pm 4\%$	1:1
(S,S)-4	$4.91 \times 10^3 \pm 3\%$	1:1
	$2.06 \times 10^2 \pm 15\%$	1:2
	$1.23 \times 10^3 \pm 6\%$	1:3
(S,S)-5	$9.56 \times 10^4 \pm 4\%$	1:1
(S,S)-6	$2.80 \times 10^5 \pm 10.6\%$	1:1
(S,S)-7	$1.19 \times 10^6 \pm 25\%$	1:1
	$60.3 \pm 16\%$	1:2
(S,S)-8	$8.6 \times 10^5 \pm 41\%$	1:1

Cuando representamos gráficamente el logaritmo neperiano de las constantes de coordinaciones ($\ln(K)$) indicadas en la Tabla 4 en función del número de alquinos (n) presentes en nuestros foldámeros, obtuvimos la gráfica mostrada en la Figura 130. Podemos observar como hay una tendencia casi lineal en la constante de coordinación, que aumenta al aumentar el número de alquinos (n) para los compuestos (S,S)-3-7.

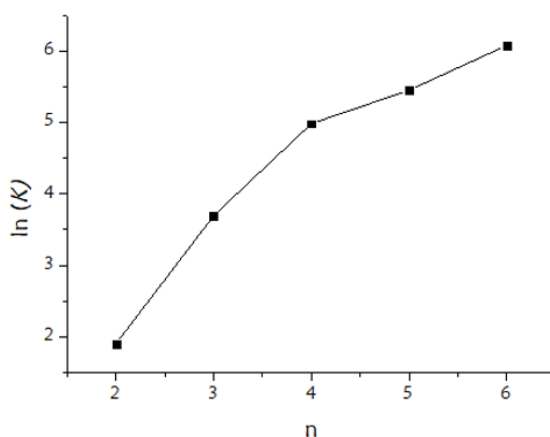


Figura 130. Representación del $\ln(K)$ vs el número de alquinos (n).

El compuesto (S,S)-2, a pesar de no mostrar un cambio apreciable en CD, si presentaba un valor de la constante de coordinación inusualmente alto comparado con los obtenidos

para compuestos similares, ya que como se verá más adelante, este compuesto se coordina a la Ag(I) a través del único alquino y de los grupos metoxilo de ambos sulfóxidos (ver Figura 145).

Por otra parte, para el compuesto (*S,S*)-**4** se obtuvieron dos constantes de coordinación más ($2.06 \times 10^2 \pm 15\%$ y $1.26 \times 10^3 \pm 6\% \text{ M}^{-1}$), lo cual se asignó al complejo bimetalico (*S,S*)-**4**:Ag₂ y trimetalico (*S,S*)-**4**:Ag₃, en los que se coordinaban hasta tres cationes de Ag(I) (ver Figura 147). Esto es posible ya que es el único compuesto de la familia de disulfóxidos sintetizados que presenta una longitud del esqueleto que permite adoptar una conformación en la cual los grupos sulfóxidos de los extremos caen próximos. En esta disposición, y puesto que los tres únicos grupos alquinos disponibles se encuentran coordinados a un catión de Ag(I), el segundo y tercer átomo de Ag(I) se ven obligados a coordinarse a los grupos metoxilo y al oxígeno del sulfóxido, dando una mayor rigidez a la estructura.

En compuestos con un mayor número de alquinos en su estructura, el número de vacantes de coordinación es por tanto mayor. Así, por ejemplo, los compuestos (*S,S*)-**6** y (*S,S*)-**7** presentan siete y ocho (cinco/seis alquinos y dos de los cuatro grupos metoxilo) disponibles para la coordinación, respectivamente. En este caso se podrían coordinarse hasta dos cationes Ag(I), ya que uno solo no satisfaría todas las vacantes de coordinación a la vez. Tras los estudios de asociación se pudo concluir que sólo en el caso del compuesto (*S,S*)-**7** se observa una segunda constante de coordinación. Aunque el valor es bajo sugiere la presencia de un segundo catión de plata en la estructura generando un complejo bimetalico. Es probable además que dicha coordinación sea desfavorable debido a las repulsiones electrostáticas, a pesar de tener vacantes de coordinación disponibles. Asimismo, la coordinación de un segundo átomo de Ag(I) se traduce en una disminución en la señal de CD. Este hecho tiene una explicación como se verá más adelante en el espectro de CD teórico para el compuesto (*S,S*)-**7**:Ag₂ (ver Figura 149).

Por último, el compuesto (*S,S*)-**8** presenta hasta diez vacantes de coordinación, lo cual es mucho más favorable para poder introducir dos cationes Ag(I) en la estructura. Sin embargo, el compuesto precipitó en presencia de un exceso de plata, lo que impidió medir una segunda constante de coordinación. Afortunadamente, conseguimos obtener un cristal adecuado para el análisis de difracción de rayos X para el compuesto (*S,S*)-**8**:Ag₂ (Figura 131). Gracias a este estudio pudimos ver que la estructura era realmente capaz de

albergar hasta dos cationes de Ag(I) en un entorno helicoidal y quiral, donde la distancia Ag(I)-Ag(I) era de 5.98 Å.

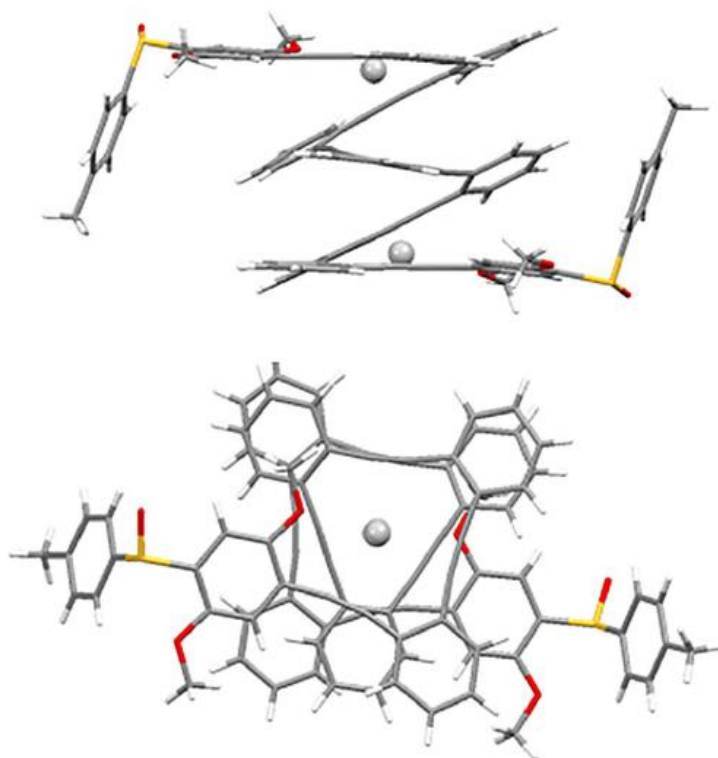


Figura 131. Vista lateral y superior de la estructura de rayos X de (S,S) -**8**:Ag₂.

En la imagen de rayos X podemos observar como los grupos *p*-tolilsulfinilo adoptan una conformación compacta. En esta posición, las repulsiones electrostáticas entre los grupos sulfóxido y los grupos metoxilo vecinales son mínimas. Un aspecto bastante sorprendente fue la configuración helicoidal *M* que adopta la estructura en estado sólido, lo cual es totalmente opuesto a los resultados obtenidos en disolución y determinados por los datos experimentales de CD, que sugerían una conformación *P* para metalofoldámeros con un único ion plata. Esto, junto con el descenso de la señal de CD del compuesto (S,S) -**7** tras la coordinación con un segundo catión Ag(I), sugiere que la helicidad de las estructuras monometálicas y bimetálicas no son las mismas.

1.3.2 Estudio de las medidas de VCD de los compuestos (*S,S*)-4-8 y sus correspondientes metalofoldámeros de Ag(I)

Continuando con nuestro estudio de las propiedades ópticas, pasamos a evaluar las moléculas objetivo haciendo uso de la técnica de dicroísmo circular vibracional (VCD).¹⁶⁰ Tal y como se mostró en la introducción de la presente tesis, el VCD ha emergido como una poderosa técnica de análisis conformacional, que durante los últimos años ha permitido resolver la configuración absoluta de un gran número de moléculas.¹⁶¹ Pero no fue hasta 2006, cuando Huc y colaboradores¹⁶² usaron por primera vez esta técnica para determinar la estructura de un foldámero abiótico helicoidal.

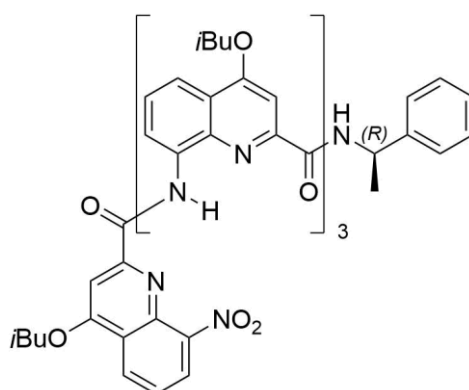


Figura 132. Estructura del foldámero abiótico helicoidal determinado por VCD.

El VCD es, por tanto, muy útil para el análisis conformacional ya que la respuesta quiroóptica puede reflejar vibraciones estructurales localizadas, que dependen en gran medida de las torsiones impedidas.¹⁶³ Además, presenta la ventaja de proporcionar información estructural relevante sobre la muestra en disolución que, en muchos casos, no puede determinarse mediante otras técnicas espectroscópicas.

¹⁶⁰ Estos estudios fueron realizados por los Profs. Sergio Abbate, Giovanna Longhi y Giuseppe Mazzeo del Dpto. de Medicina Molecular y Traslacional de la Universidad de Brescia (Italia).

¹⁶¹ a) L. G. Felipe, J. M. Batista Jr., D. C. Baldoqui, I. R. Nascimento, M. J. Kato, Y. He, L. A. Nafie, M. Furlan, *Org. Biomol. Chem.* **2012**, *10*, 4208-4214; b) D. Kourouski, *Anal. Chim. Acta* **2017**, *990*, 54-66; c) L. A. Nafie, *Vibrational Optical Activity, Principles and applications*, Wiley, NY, **2011**; d) P. L. Polavarapu, *Chiroptical Spectroscopy, Fundamentals and Applications*, CRC Press, Taylor and Francis Group, BocaRaton, FL, **2017**; e) M. Losada, H. Tran, Y. Xu, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2007**, *9*, 3127-3135; f) G. Longhi, S. Abbate, R. Gangemi, E. Giorgio, C. Rosini, *J. Phys. Chem. A* **2006**, *110*, 4958-4968; g) P. J. Stephens, F. J. Devlin, J. R. Cheeseman, "VCD Spectroscopy for Organic Chemists" CRC Press, Taylor and Francis Group, BocaRaton, FL, **2012**.

¹⁶² T. L. Buffeteau, L. Ducasse, L. Poniman, N. Delsuc, I. Huc, *Chem. Commun.* **2006**, 2714-2714.

¹⁶³ a) V. Setnička, M. Urbanova, P. Bour, V. Kral, K. Volka, *J. Phys. Chem. A* **2001**, *105*, 8931-8938; b) S. Abbate, L. F. Burgi, E. Castiglioni, F. Lebon, G. Longhi, F. Toscano, S. Caccamese, *Chirality* **2009**, *21*, 436-441; c) M. Passarello, S. Abbate, G. Longhi, S. Lepri, R. Ruzziconi, V. P. Nicu, *J. Phys. Chem. A* **2014**, *118*, 4339-4350.

Teniendo en cuenta esta información, decidimos estudiar nuestros compuestos mediante VCD. Realizamos nuestro estudio con los compuestos (*S,S*)-**4**, (*S,S*)-**6**, (*S,S*)-**7** y (*S,S*)-**8**, ya que habían mostrado cambios más notables en las técnicas anteriores. Desafortunadamente, el compuesto (*S,S*)-**8**, proporcionó señales muy débiles debido a su insolubilidad, por lo que tuvo que ser eliminado del estudio.

En primer lugar, se adquirieron los espectros de IR para cada uno de los compuestos. En todos los casos, se puede observar que tras la adición de iones Ag(I), se produce un desplazamiento y una intensificación de la banda a 1490 cm⁻¹, debida a las vibraciones de tensión del enlace C=C de los anillos aromáticos.

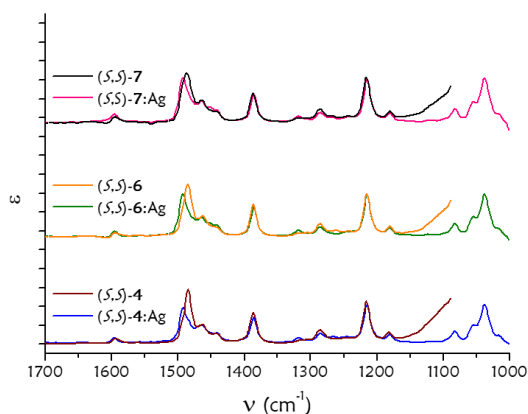


Figura 133. Espectros de IR de los compuestos (*S,S*)-**4**, (*S,S*)-**6** y (*S,S*)-**7** en presencia de Ag(I).

Por su parte, en los correspondientes espectros de VCD antes de la adición de plata, todos los compuestos presentaban un doblete de intensidad débil en torno a 1494-1487 cm⁻¹. Sin embargo, estos dobletes sufren una inversión tras la coordinación con Ag(I) (1489-1482 cm⁻¹), mostrando una pérdida de intensidad en la banda más intensa (1489 cm⁻¹) conforme aumenta el número de alquinos. Esta inversión observada en algunas señales en presencia de iones Ag(I) podría explicarse considerando cambios significativos en la disposición espacial de los grupos *p*-tolilo, antes y después de la adición de Ag(I).

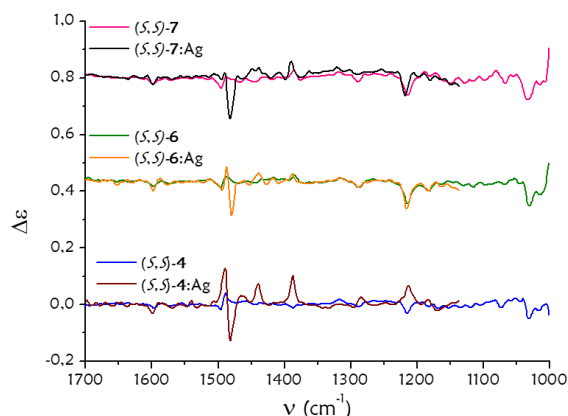


Figura 134. Espectros experimentales de VCD para los compuestos (S,S)-4, (S,S)-6 y (S,S)-7 con y sin Ag(I).

El caso del compuesto (S,S)-4 es bastante significativo, ya que en presencia de Ag(I) presenta unas bandas muy intensas y de signo opuesto (1386 cm^{-1} y 1212 cm^{-1}) a las observada sin Ag(I). Es de destacar que la inversión de la última banda no ocurre en los compuestos de mayor orden estudiados. Todo esto indica la diferente disposición de los grupos *p*-tolilo en el compuesto (S,S)-4 en comparación con (S,S)-6 y (S,S)-7. Una vez conocidos los resultados obtenidos tras nuestro estudio, estos nos confirmaron que el metalofoldámero de Ag(I) (S,S)-4 podía actuar como un interruptor molecular de VCD gracias a las grandes variaciones que tenían lugar en la señal de VCD antes y después de la adición de Ag(I). Por tanto, esto nos ha permitido obtener uno de los pocos ejemplos de interruptores de VCD publicados hasta la fecha.¹⁶⁴

1.4 Estudio de las propiedades fotofísicas¹⁶⁵

Previo al estudio mediante CPL, se llevó a cabo un amplio estudio de las propiedades fotofísicas de nuestros compuestos objetivo, entre ellas la fluorescencia, fotodegradación y un análisis mediante espectroscopía de tiempo resuelto (TRES). De esta forma pudimos comprobar tanto la estabilidad de nuestros compuestos frente a una irradiación constante como el número de especies que intervenían en el proceso de emisión fluorescente.

¹⁶⁴ C. H. Pollok, T. Riesebeck, C. Merten, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2017**, *56*, 1925-1928; *Angew. Chem.* **2017**, *129*, 1952-1955.

¹⁶⁵ Estos estudios fueron llevados a cabo por la Prof^a. Delia Miguel, del Dpto. de Físicoquímica de la Facultad de Farmacia de la UGR.

1.4.1 Estudio de las propiedades de fluorescencia y fotodegradación de los compuestos (S,S)-2-8

Comenzamos realizando la medida de las propiedades fluorescentes para cada uno de los compuestos de nuestra familia de foldámeros (S,S)-2-8 en ausencia de Ag(I). Para ello, preparamos una serie de disoluciones en distintos disolventes orgánicos con una concentración de $5-10 \times 10^{-5}$ M. De esta forma pudimos evaluar la capacidad fluorescente de nuestros compuestos en una gran variedad de disolventes. En la Figura 135, se muestran los espectros de emisión de todos los compuestos, resultando ser fluorescentes todos ellos en la gran variedad disolventes empleados.

Una vez obtenidos los espectros de fluorescencia, pasamos a calcular los rendimientos cuánticos (ϕ) en los mismos disolventes empleados anteriormente (ver Sección Experimental, apartado 7). Dichos rendimientos resultaron ser muy dependientes del disolvente, alcanzándose los mejores resultados para el compuesto (S,S)-5 en hexano y acetato de etilo. En la siguiente tabla se recogen los valores de los rendimientos cuánticos para cada uno de nuestros compuestos en los distintos disolventes empleados.

Tabla 5. Rendimientos cuánticos de los compuestos (S,S)-2-8 en diversos disolventes.

Compuesto/ Disolvente	(S,S)-2	(S,S)-3	(S,S)-4	(S,S)-5	(S,S)-6	(S,S)-7	(S,S)-8
CH ₂ Cl ₂	0.56	0.43	0.24	0.33	0.37	0.37	0.20
CH ₃ CN	0.50	0.38	0.28	0.23	0.28	0.28	0.19
Acetona	0.45	0.45	0.27	0.35	0.37	0.25	0.19
THF	0.44	0.18	0.28	0.26	0.68	0.26	0.20
Et ₂ O	0.41	0.21	0.32	0.22	0.37	0.25	0.16
AcOEt	0.49	0.32	0.31	0.69	0.40	0.25	0.22
MeOH	0.53	0.29	0.26	0.23	0.37	0.35	0.15
Hexano	0.38	0.33	0.20	0.87	0.32	0.23	0.19
Tolueno	0.46	0.37	0.24	0.56	0.69	0.32	0.27

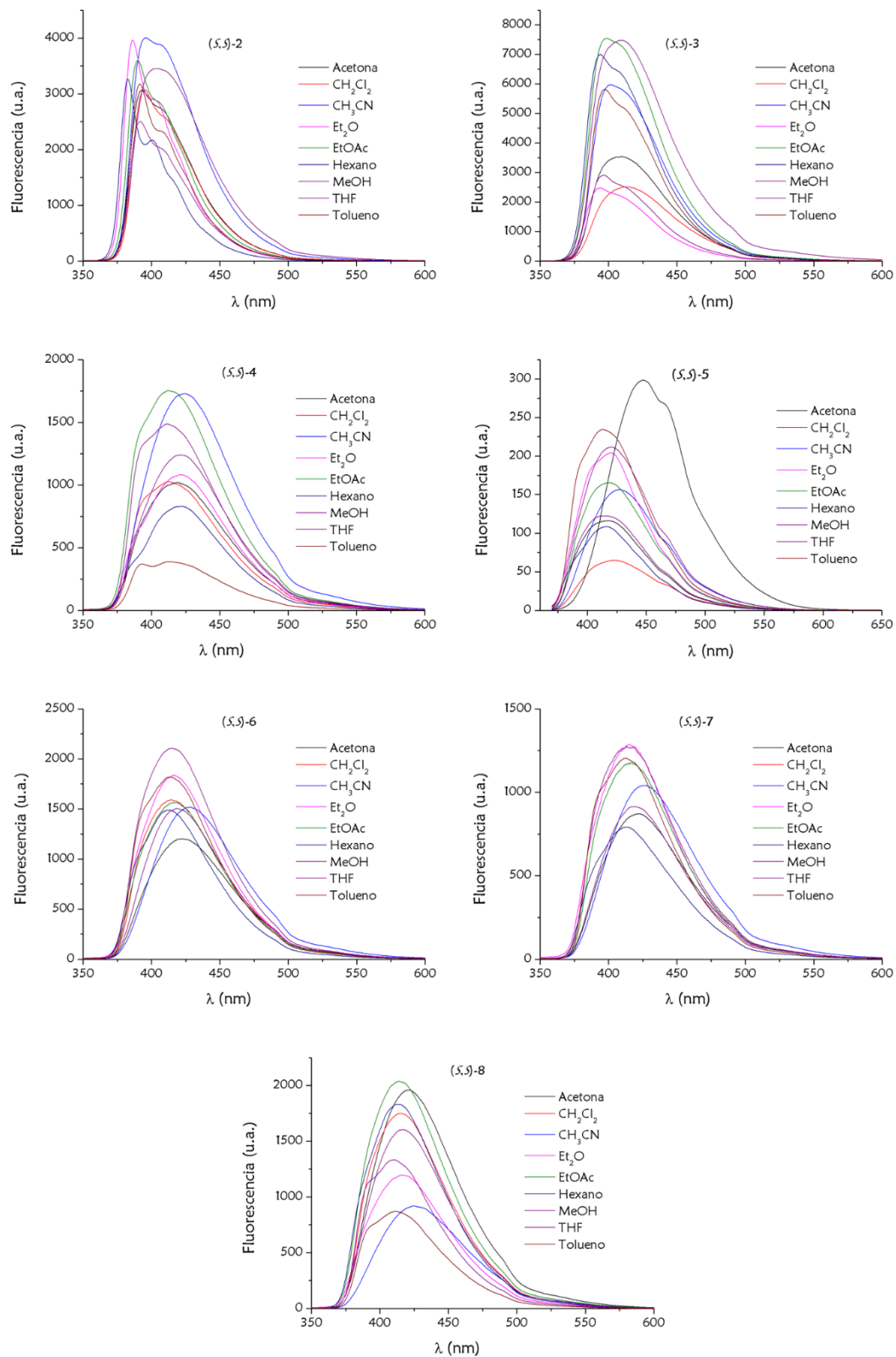


Figura 135. Espectros de fluorescencia de (S,S)-2-8 en distintos disolventes.

Adicionalmente, estudiamos la estabilidad fotoquímica de los compuestos (*S,S*)-4-7. Para ello, se irradió durante 5 horas una disolución de los compuestos (*S,S*)-4-7 en CH₂Cl₂ empleando radiación de $\lambda_{\text{exc}} = 340$ nm, registrándose cada 5 minutos los espectros generados. Como muestra la Figura 136, pudo observarse que la estabilidad fotoquímica es totalmente dependiente del número de alquinos presentes en la estructura de nuestro foldámero. Así, el compuesto de menos orden, (*S,S*)-4, resultó estable ante la radiación incidente. Sin embargo, cuanto mayor era el número de alquinos presentes en la cadena más inestable era el compuesto. Esto es así por la proximidad de los alquinos en las estructuras plegadas, que evolucionan originando ciclobutadienos mediante una reacción de cicloadición [2+2] inducida fotoquímicamente.¹⁶⁶ Desafortunadamente, estos ciclobutadienos no pudieron aislarse debido a su conocida inestabilidad.¹⁶⁷ Recientemente, el grupo del Prof. Itami publicó un comportamiento similar en ciclofenilenos etinilenos.¹⁶⁸

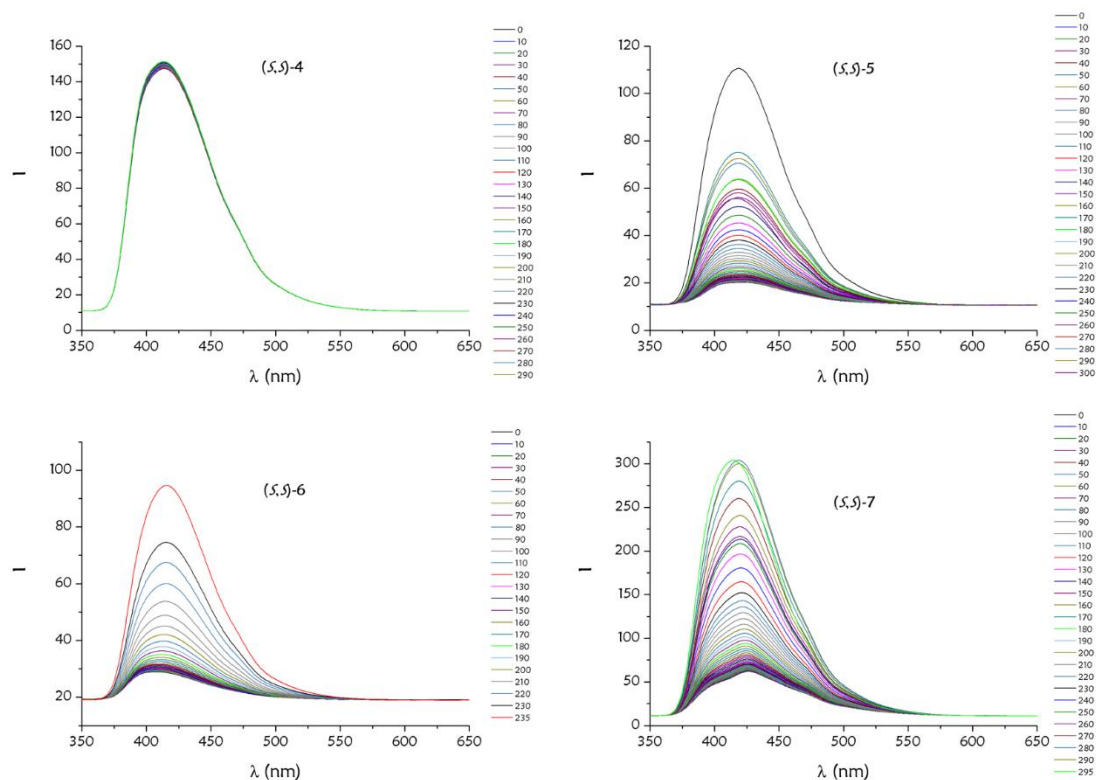


Figura 136. Fotodegradación de los compuestos (*S,S*)-4-7 en CH₂Cl₂.

¹⁶⁶ G. Maier, C. Lautz, *Eur. J. Org. Chem.* **1998**, 769-776.

¹⁶⁷ a) T. Bally, S. Masamune, *Tetrahedron* **1980**, *36*, 343-370; b) V. R. Sandel, H. H. Freedman, *J. Am. Chem. Soc.* **1968**, *90*, 2059-2069.

¹⁶⁸ K. Matsui, M. Fushimi, Y. Sagawa, K. Itami, *Org. Lett.* **2016**, *18*, 5352-5355.

1.4.2 Análisis de los compuestos (*S,S*)-3 y (*S,S*)-4 mediante espectroscopía de emisión en tiempo resuelto (TRES)

Con el fin de conocer cuáles son las especies fluorescentes involucradas en el proceso de emisión recurrimos a la espectroscopía de emisión en tiempo resuelto (TRES). Esta técnica puede emplearse siempre y cuando la interconversión de las especies ocurra en una escala de tiempo similar o superior a la del tiempo de vida de la emisión. Por ello, determinamos los valores de tiempo de vida para nuestros compuestos objetivo, obteniendo los resultados indicados en la Tabla 6.

Tabla 6. Tiempos de vida de los compuestos (*S,S*)-2-8.

Compuesto	Disolvente	τ_1 (ns)	τ_2 (ns)	τ_3 (ns)
<i>(S,S)</i> -2	CH ₂ Cl ₂	1.37		
	CH ₃ CN	1.47		
	Acetona	1.33		
	THF	1.24		
	Et ₂ O	0.99	-	-
	AcOEt	1.22		
	MeOH	1.79		
	Hexano	0.90		
	Tolueno	1.19		
<i>(S,S)</i> -3	CH ₂ Cl ₂	4.59	2.30	0.85
	CH ₃ CN	4.32	2.66	0.79
	Acetona	2.48	1.11	-
	THF	2.88	1.33	0.76
	Et ₂ O	3.58	1.72	0.72
	AcOEt	2.30	1.11	-
	MeOH	3.00	0.98	-
	Hexano	2.20	0.97	-
	Tolueno	2.15	1.06	-
<i>(S,S)</i> -4	CH ₂ Cl ₂	6.10	2.99	1.09
	CH ₃ CN	5.99	3.96	1.51
	Acetona	4.21	1.32	-
	THF	4.30	1.23	-
	Et ₂ O	6.48	3.28	0.63
	AcOEt	4.22	1.32	-
	MeOH	5.69	3.41	0.94
	Hexano	5.03	2.80	0.55
	Tolueno	5.63	3.09	1.01
<i>(S,S)</i> -5	CH ₂ Cl ₂	4.40	0.91	-
	CH ₃ CN	5.54	2.96	0.88
	Acetona	4.20	1.04	0.07
	THF	3.90	0.90	-
	Et ₂ O	5.46	2.39	0.84
	AcOEt	4.11	1.03	0.07
	MeOH	5.49	2.95	0.80
	Hexano	4.69	2.32	0.70
	Tolueno	6.33	3.03	0.84

(S,S)-6	CH ₂ Cl ₂	4.28	1.02	-
	CH ₃ CN	5.59	3.58	0.92
	Acetona	4.09	0.96	-
	THF	4.47	1.74	0.95
	Et ₂ O	4.60	1.76	0.58
	AcOEt	4.45	1.56	-
	MeOH	4.84	2.46	0.68
	Hexano	3.80	1.37	0.44
	Tolueno	4.05	1.38	-
(S,S)-7	CH ₂ Cl ₂	4.53	1.37	0.46
	CH ₃ CN	4.71	1.71	0.50
	Acetona	4.51	1.39	0.51
	THF	4.24	1.22	0.36
	Et ₂ O	4.83	1.51	0.40
	AcOEt	4.20	1.23	0.34
	MeOH	4.69	1.95	0.43
	Hexano	3.80	1.37	0.29
	Tolueno	3.93	1.23	0.37
(S,S)-8	CH ₂ Cl ₂	4.18	0.91	-
	CH ₃ CN	4.43	0.95	-
	Acetona	4.32	1.07	0.27
	THF	2.73	0.94	-
	Et ₂ O	4.34	0.81	-
	AcOEt	3.91	0.94	-
	MeOH	4.25	0.94	-
	Hexano	3.62	0.83	-
	Tolueno	3.65	0.92	-

En la tabla anterior puede verse como para el caso del compuesto (S,S)-2 solo observamos un único tiempo de vida para todos los disolventes orgánicos empleados, lo que sugiere que todas las conformaciones se encuentran en equilibrio a temperatura ambiente.

En cuanto al resto de compuestos de la familia, pudimos observar tres tiempos de vida diferentes (τ_1 , τ_2 y τ_3) en la mayoría de los disolventes empleados, lo que está de acuerdo con una continua interconversión entre las especies en disolución.^{!Error! Marcador no definido.} Estos resultados están en consonancia con los datos obtenidos teóricamente, donde se observó un comportamiento conformacional complejo, como se verá en la Sección 1.6.

A continuación, se muestran las gráficas obtenidas para los compuestos (S,S)-3 y (S,S)-4 después de realizar el análisis TRES. Como vimos anteriormente los compuestos de mayor orden se fotodegradaban ante una exposición continua de radiación por lo que su estudio mediante el análisis TRES no pudo realizarse, ya que este requiere de una exposición continua de radiación durante un tiempo determinado.

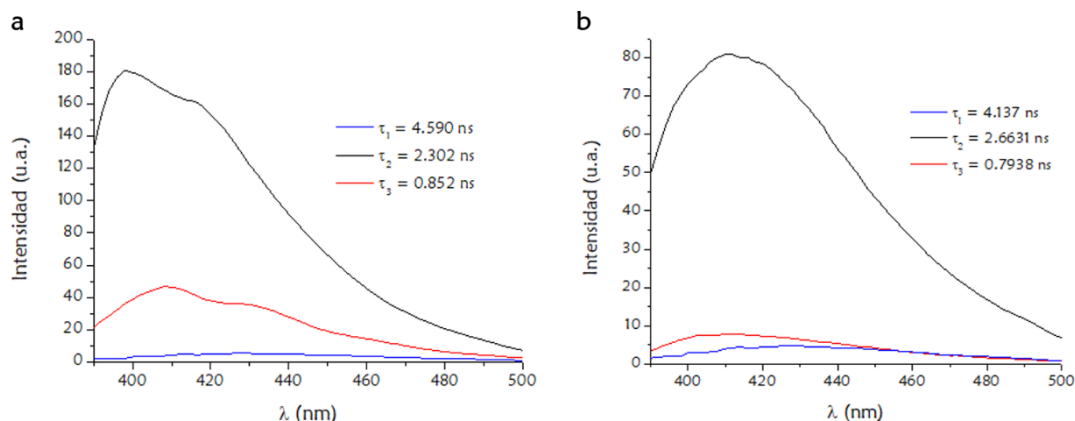


Figura 137. Análisis TRES de (*S,S*)-**3** en (a) CH₂Cl₂ y (b) CH₃CN.

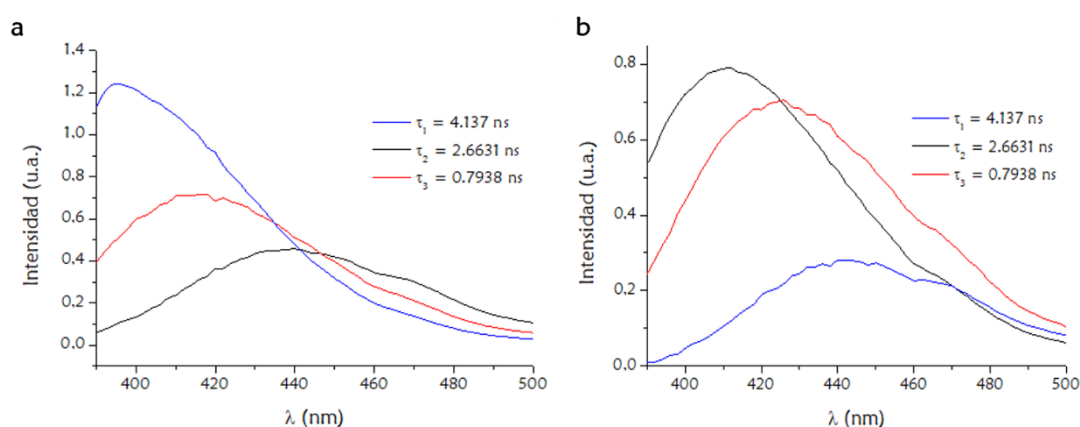


Figura 138. Análisis TRES de (*S,S*)-**4** en (a) CH₂Cl₂ y (b) CH₃CN.

1.5 Estudio de las propiedades quiroópticas mediante CPL

Como ya se vio en la introducción de este capítulo, la capacidad de producir una emisión circularmente polarizada (CPL) por parte de compuestos orgánicos ha sido una de las propiedades quiroópticas menos estudiadas, a pesar de las interesantes aplicaciones optoelectrónicas que presentan tales compuestos, como su uso como interruptores de CPL ante estímulos externos.

La familia de compuestos tipo *o*-OPEs que hemos preparado en el presente capítulo son moléculas prometedoras para estudios de CPL, ya que como se ha podido demostrar anteriormente, presentan una geometría helicoidal homoquiral en presencia de plata. Además, la adición de iones Ag(I) origina grandes cambios en su espectro de CD y altos valores de g_{abs} en la transición menos energética. Por tanto, estudiar las propiedades quiroópticas de estos compuestos mediante espectroscopía de CPL podría suponer un avance en nuestra investigación.

Desafortunadamente, como pudo verse en la Sección 1.4.1, los compuestos de mayor orden (*S,S*)-**5-8** presentaron problemas de estabilidad fotoquímica, por tanto el estudio de las propiedades quiroópticas mediante CPL se limitó a los compuestos más pequeños de nuestra familia de foldámeros (*S,S*)-**2-4**.

Los compuestos (*S,S*)-**2** y (*S,S*)-**3** resultaron ser unos modestos emisores de CPL antes de la adición de Ag(I). Tras la coordinación, los valores de g_{lum} se incrementaron, pasando de -3×10^{-4} a -6×10^{-4} . En las gráficas siguientes se muestran los espectros de fluorescencia y CPL tanto antes como después de la adición de Ag(I).

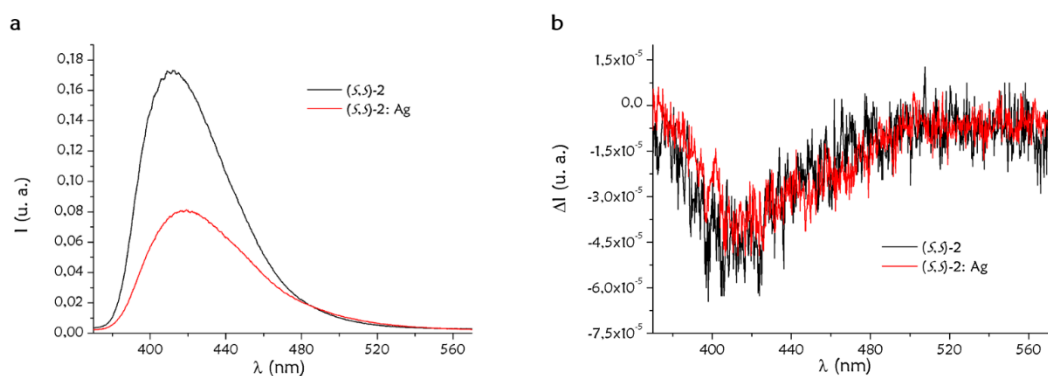


Figura 139. (a) Espectro de fluorescencia y (b) de CPL para el compuesto (*S,S*)-**2** en CH_2Cl_2 .

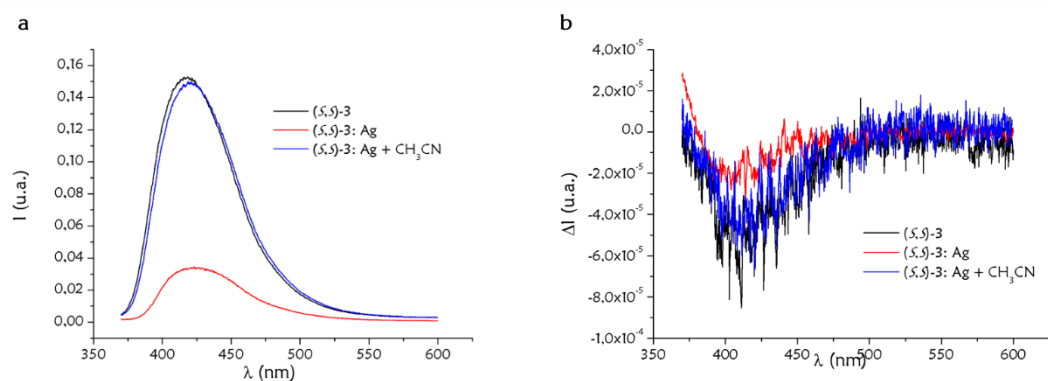


Figura 140. (a) Espectro de fluorescencia y (b) de CPL para el compuesto (*S,S*)-**3** en CH_2Cl_2 .

En cambio el compuesto (*S,S*)-**4** mostró unos mejores resultados tanto antes como después de la adición de iones Ag(I), con unos valores de g_{lum} de -1×10^{-3} y $+5 \times 10^{-3}$, respectivamente. El valor de g_{lum} obtenido antes de la coordinación con Ag(I) fue similar al valor de g_{abs} , lo que demuestra que la quiralidad se retiene en el estado excitado. Al igual que ocurrió con la señal de CD tras la adición de Ag(I), observamos una inversión de la señal de CPL. El valor de g_{lum} obtenido ($+5 \times 10^{-3}$) fue bastante significativo para un

emisor monomolecular orgánico pequeño, a pesar del quenching de la fluorescencia generado por la presencia de cationes de Ag(I).

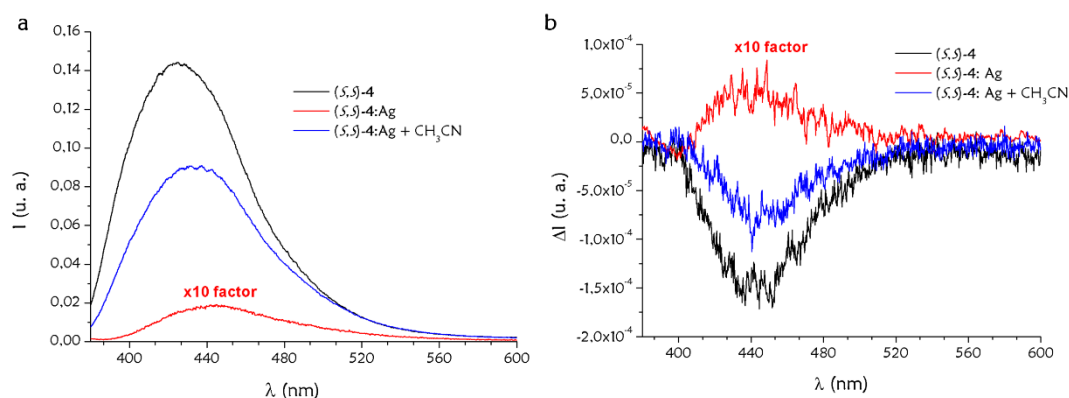


Figura 141. (a) Espectro de fluorescencia y (b) de CPL para el compuesto (*S,S*)-4 en CH₂Cl₂.

Como puede verse en la Figura 140 y 141, tras la adición de CH₃CN, pudimos recuperar la señal inicial de CPL, lo que implica que estos compuestos podrían actuar como interruptores de CPL gracias al plegamiento inducido por la plata, presentando los mejores resultados para el compuesto (*S,S*)-4.

1.6 Cálculos teóricos

Para obtener más información y corroborar los datos experimentales obtenidos hasta el momento, realizamos cálculos teóricos mediante la teoría del funcional de la densidad tiempo-dependiente (TD)-DFT.¹⁶⁹ A pesar del incremento en la complejidad de las estructuras, conseguimos obtener unos mínimos teóricos, que pudieran explicar los datos experimentales.

1.6.1 Cálculos teóricos de CD de los compuestos (*S,S*)-2-8

Para el compuesto modelo (*S,S*)-2, los cálculos indicaron la existencia de dos conformaciones de mínima energía posibles, correspondientes a la disposición *anti* y *syn* de los grupos *p*-tolilo. La conformación *syn* es ligeramente más favorable que la *anti* (-0.6 kcal mol⁻¹).

¹⁶⁹ Estos estudios fueron llevados a cabo por el Prof. Antonio Mota, del Dpto. de Química Inorgánica de la UGR.

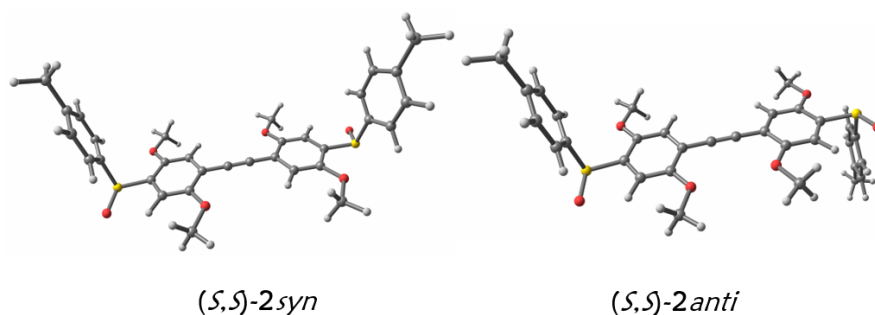


Figura 142. Conforméros más estables calculados para (*S,S*)-2.

Además, estas dos conformaciones presentan espectros teóricos de CD opuestos (Figura 143). Por comparación con los datos experimentales de CD, la conformación *syn* parece ser la más estable en disolución.

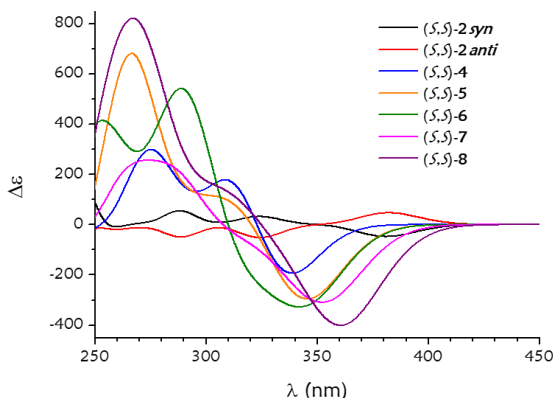


Figura 143. Espectro de CD teórico en CH_2Cl_2 (*S,S*)-2-8.

El caso del compuesto (*S,S*)-3 no fue tan sencillo, ya que los cálculos teóricos dieron una serie de conformaciones muy cercanas en energía y fácilmente interconvertibles. Por tanto, en este foldámero en disolución coexisten más de un conformero con energías muy similares y con barreras de interconversión despreciables a temperatura ambiente. Esto quedó también demostrado por los experimentos de TRES, que como se vio anteriormente, revelaron la existencia de varias especies similares en equilibrio dinámico (ver Figura 137). Además, el espectro de CD calculado para (*S,S*)-3 resultó ser muy dependiente de la conformación, sin relación aparente con la helicidad emergente. Por lo tanto, la estructura en disolución para este compuesto es incierta.

El estudio de los foldámeros de mayor orden implicaba una mayor complejidad, ya que había más conformaciones posibles: plegada (*P* o *M*), parcialmente plegada o

totalmente abierta. Además, los grupos *p*-tolilo podían adoptar diferentes conformaciones espaciales: abierta, con los grupos *p*-tolilo apuntando hacia fuera de la estructura helicoidal; o compacta, con los grupos *p*-tolilo colocados a lo largo del eje de la hélice. Los cálculos revelaron pequeñas diferencias de energía entre las distintas conformaciones, lo que sugería que conformeros *P* y *M* coexistían en disolución. Sin embargo, la configuración (S,S,M) con una conformación compacta de los grupos *o*-tolilo fue ligeramente más favorable para los compuestos de orden superior, excepto para el (S,S,M) -7 en el cual una conformación abierta de los *o*-tolilo era más favorable. El que (S,S,M) sea la configuración más favorable concuerda con un efecto Cotton negativo en el intervalo de $\lambda = 340$ -370 nm, según los datos publicados previamente.¹⁷⁰

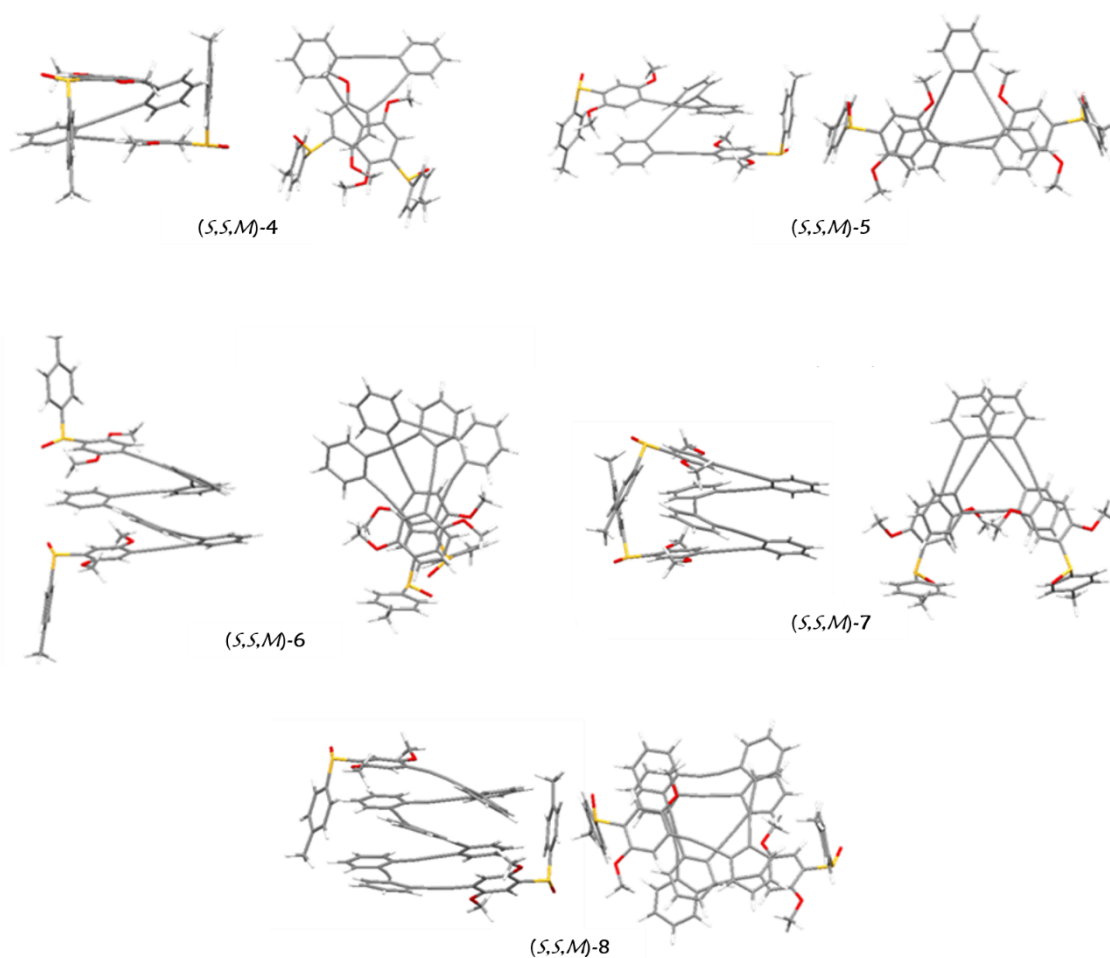


Figura 144. Conformeros más estables calculados para los foldámeros (S,S) -4-8.

¹⁷⁰ a) Y. Nakai, T. Mori, Y. Inoue, *J. Phys. Chem. A* **2013**, *117*, 83-89; b) F. Furche, R. Ahlrichs, C. Wachsmann, E. Weber, A. Sobanski, F. Vcgtle, S. Grimme, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 1717-1724.

Al igual que en el caso del compuesto (*S,S*)-**3**, los datos teóricos del compuesto (*S,S*)-**4** están en consonancia con los datos obtenidos mediante el análisis TRES. Así, este compuesto puede existir en disolución con una conformación abierta y plegada *P/M*, lo que justificaría los tres tiempos de vida observados.

1.6.2 Cálculos teóricos de CD de los metalofoldámeros de Ag(I) (*S,S*)-**2-8**

En el presente estudio también se llevaron a cabo cálculos teóricos sobre los espectros de CD de las estructuras formadas por la coordinación de nuestros foldámeros con iones Ag(I). Estos cálculos mostraron que la configuración más estable para el compuesto (*S,S*)-**2:Ag** es aquella en la que la Ag(I) se encuentra coordinada entre el alquino y dos grupos metoxilo, generando una estructura altamente estabilizada.



Figura 145. Estructura representativa calculada para (*S,S*)-**2:Ag**.

Como muestra la Figura 145, el compuesto (*S,S*)-**2:Ag** muestra una conformación *anti*, a diferencia de la que presentaba sin complejar. A pesar de que el espectro de CD calculado para el compuesto *anti*-(*S,S*)-**2:Ag** es bastante similar al obtenido para *syn*-(*S,S*)-**2** (Figura 143), los cálculos teóricos apoyan los datos experimentales, ya que tras la adición de Ag(I), el signo y la forma del espectro de CD se mantiene, independientemente de la conformación adoptada por los grupos *o*-tolilo (*syn/anti*).

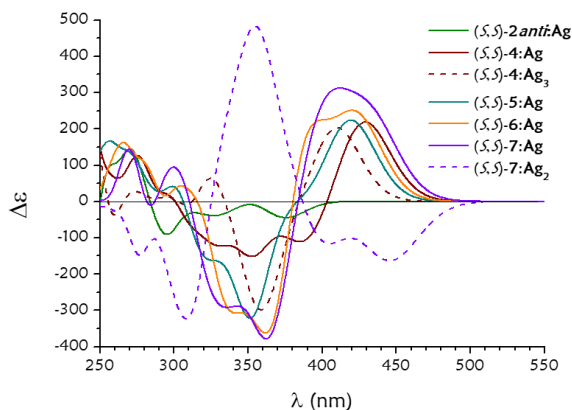


Figura 146. Espectros de CD teórico en CH_2Cl_2 para (S,S) -2:Ag- (S,S) -7:Ag.

Para el caso del compuesto (S,S) -3 con Ag(I) , no pudimos obtener espectros teóricos de CD y VCD que estuvieran de acuerdo con los datos experimentales obtenidos. Esto puede deberse a la gran flexibilidad que presenta este compuesto, lo que origina multitud de posibles conformaciones que están en equilibrio, tanto antes como después de la adición de Ag(I) .

Tal y como se había descrito en trabajos previos presentados por nuestro grupo de investigación,^{114,133,134} los cálculos teóricos para el compuesto (S,S) -4 mostraron una coordinación de los iones Ag(I) a los tres alquinos presentes en una estructura helicoidal, forzando la coordinación de un grupo metoxilo, además de mostrar una inversión en la configuración de la hélice tras la adición de Ag(I) . Esta inversión concuerda con los datos experimentales de CD (Figura 121b), donde se producía un cambio de signo en el efecto Cotton. La helicidad *P* está favorecida energéticamente en este caso por $10.4 \text{ kcal mol}^{-1}$. Bajo esta nueva configuración, los grupos sulfóxido adoptaban una disposición que permitía la coordinación de hasta dos cationes de plata más, generando estructuras mucho más rígidas y estables. Este hecho ya había sido sugerido por la estequiometría experimental para este complejo. Como comprobación final, se calculó el espectro de CD para dicho complejo trimetálico. Los resultados obtenidos para (S,S) -4:Ag₃ estaban de acuerdo con la respuesta quiroóptica experimental observada.

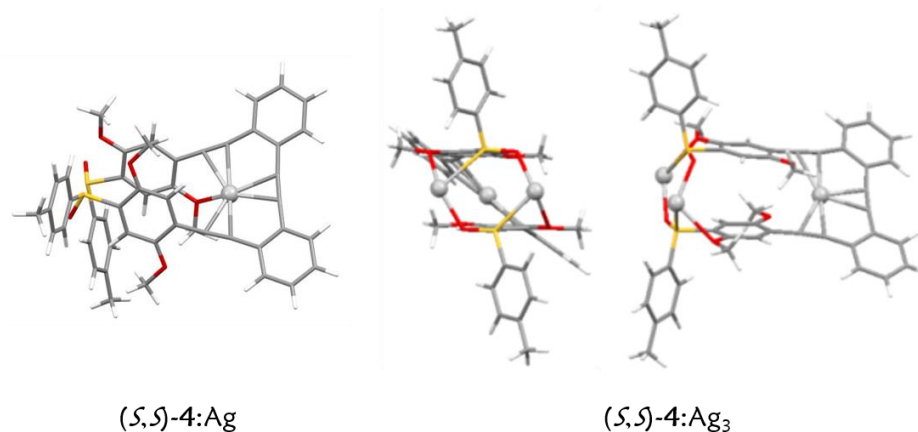


Figura 147. Estructuras representativas calculadas para (S,S)-4:Ag y (S,S)-4:Ag₃.

Los cálculos teóricos de los espectros de CD para los compuestos (S,S)-5 y (S,S)-6 coincidieron tanto en signo como en forma con los datos obtenidos experimentalmente. De esta manera se pudo confirmar en ambos casos la presencia de las especies monometálicas, en completo acuerdo con el análisis de las constantes de coordinación. En estos casos, la coordinación de los iones Ag(I) a los alquinos generó el plegamiento de la estructura, aunque la disposición de los grupos sulfóxido no fue la adecuada para generar nuevos sitios de coordinación.

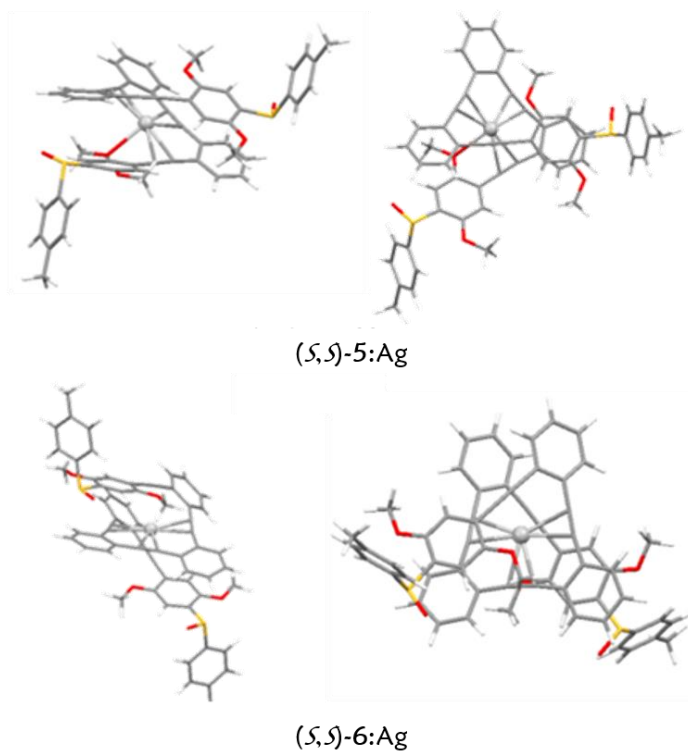


Figura 148. Estructuras representativas calculadas para (S,S)-5:Ag y (S,S)-6:Ag.

El compuesto (*S,S*)-**7** presentó un comportamiento mucho más complejo debido a su capacidad potencial de aceptar hasta dos cationes de plata. Los cálculos teóricos demuestran que para la especie bimetalica (*S,S*)-**7**:Ag₂ la conformación más favorable es una hélice *M*, similar a la estructura obtenida por difracción de rayos X de (*S,S*)-**8**:Ag₂ (Figura 131). Una consecuencia de la helicidad *M* es el signo negativo de CD para la banda $\lambda = 390$ nm, lo que está de acuerdo con una disminución observada en la señal de CD para el compuesto (*S,S*)-**7** en presencia de un exceso de Ag(I), ya que en dicha banda de CD estarían contribuyendo tanto la especie monometalica como la bimetalica con signos opuestos. Los cálculos teóricos para el compuesto monometalico fueron más inciertos, ya que se podían plantear diferentes posibilidades dado el alto número de potenciales ligandos. Finalmente, la estructura que mejor se ajustó presentaba un catión de Ag(I) situado en el centro de la estructura y con los grupos sulfóxido en direcciones opuestas.

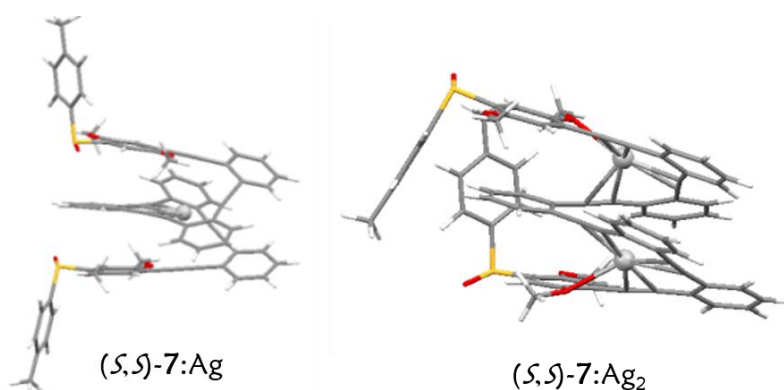


Figura 149. Estructura representativa calculada para (*S,S*)-**7**:Ag y (*S,S*)-**7**:Ag₂.

Por último, encontramos que el compuesto (*S,S*)-**8** era capaz de aceptar un primer catión Ag(I) en el centro de la estructura, adoptando una disposición helicoidal de mínima energía de tipo *P*, con una conformación abierta de los grupos sulfóxido. El complejo bimetalico fue obtenido experimentalmente tal y como se ha comentado en apartados anteriores no requiriendo su modelado teórico.

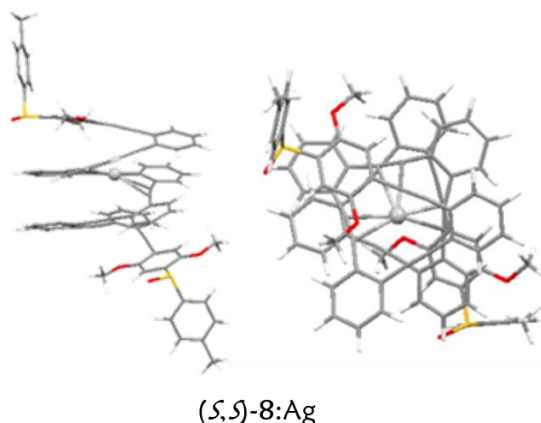


Figura 150. Estructura representativa calculada para (S,S)-8:Ag.

1.6.3 Cálculos teóricos de VCD de los compuestos (S,S)-4, (S,S)-6 y (S,S)-7

En este estudio también se llevó a cabo el cálculo de los espectros teóricos de VCD para los compuestos (S,S)-4, (S,S)-6 y (S,S)-7, mostrando bastante similitud con los VCD experimentales.

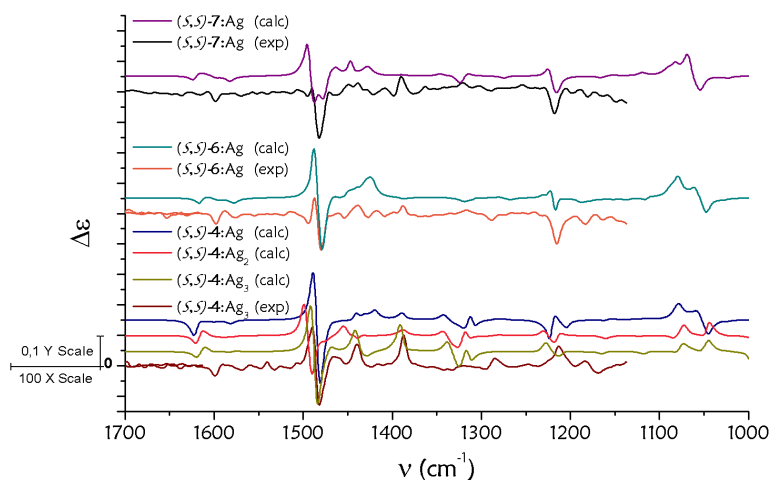


Figura 151. Comparación de los espectros de VCD teóricos y experimentales de los complejos de Ag(I).

Para el compuesto (S,S)-4 en presencia de plata, se calcularon los VCD para la especie mono y trimetálica. En los dos casos se observó la inversión del doblete a 1489-1482 cm^{-1} , confirmando lo observado en los estudios experimentales. En la especie trimetálica podemos observar como se ha producido también la inversión de la señal a 1211 cm^{-1} , cosa que no ocurre en el complejo monometálico. Esto demuestra la existencia de la especie (S,S)-4:Ag₃ en disolución (ver Figura 147). Como puede verse en la siguiente figura, el espectro de IR y VCD calculado para la especie (S,S)-4 sin plata, se aleja de los obtenidos

experimentalmente, probablemente debido a la libertad conformacional existente en este foldámero.

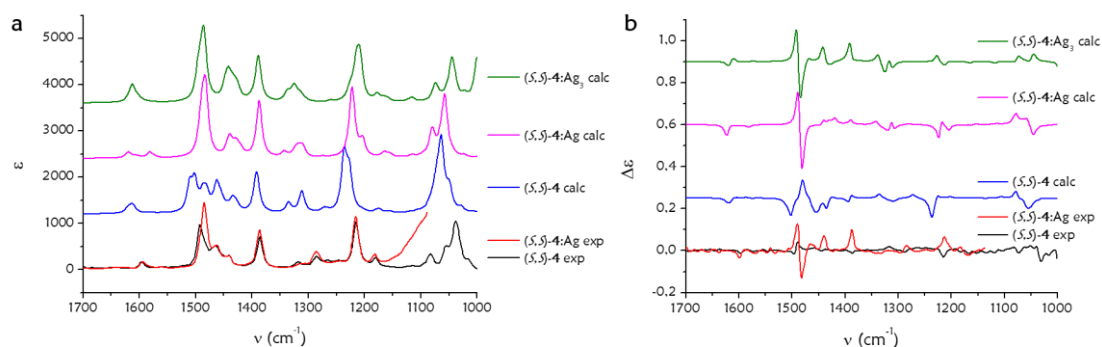


Figura 152. Espectro (a) IR y (b) VCD del compuesto (S,S) -4.

Los cálculos para el complejo (S,S) -6:Ag también corroboraron la existencia de la especie monometálica así como de la disposición de los grupos sulfóxido, ya que como puede verse en la Figura 152, los espectros de VCD, experimental y teórico, presentan la misma forma y signo.

Por otra parte, los espectros de VCD teóricos para la especie monometálica (S,S) -7:Ag están de acuerdo con los valores experimentales, lo que apoya la existencia de tal especie. Pueden observarse ligeras diferencias entre los espectros de VCD, lo que suponemos que es debido a la presencia de pequeñas cantidades del complejo bimetálico. Sin embargo, el espectro de VCD calculado para la especie bimetálica (S,S) -7:Ag₂ no coincide con los datos experimentales obtenidos, pero puede explicar las distorsiones encontradas para el compuesto (S,S) -7 con Ag(I). A continuación, se muestran una gráficas en las que se representan los posibles conformeros mono- (rosa) y bimetálico (naranja) para el compuesto (S,S) -7. Además, se muestra un espectro de VCD que corresponde con una estimación media de 70% de complejo monometálico y 30% de complejo dimetálico (verde). Gracias a esta estimación, podemos observar que es la especie monometálica la que más contribuye a los espectros de VCD, corroborando de nuevo su presencia en disolución.

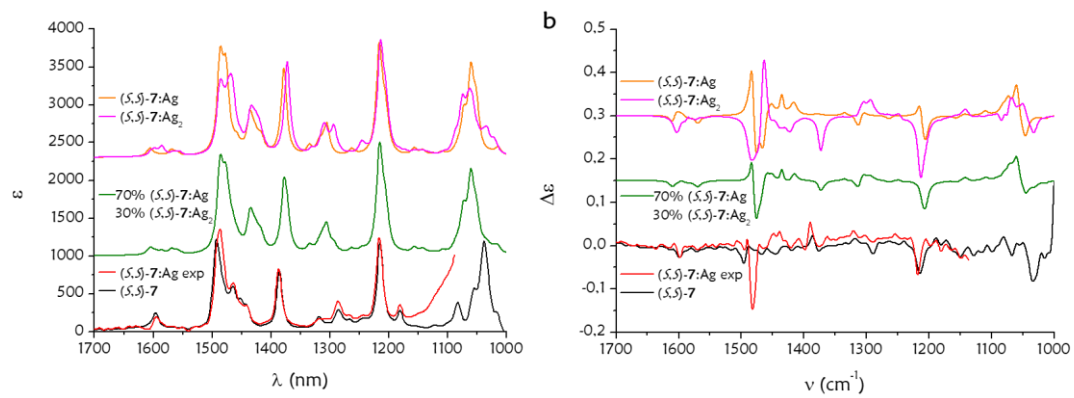


Figura 153. Espectro (a) IR y (b) VCD del compuesto (S,S)-7.

2. orto-FENILENETINILENOS (σ -OPES) CON UN SOLO GRUPO SULFÓXIDO

Una vez expuestos los resultados obtenidos en el desarrollo del primer objetivo, en este apartado comentaremos los resultados experimentales generados para el segundo objetivo del presente capítulo. Comenzaremos con la descripción de la síntesis de nuestros compuestos objetivo, para posteriormente pasar a estudiar sus propiedades quiroópticas y conocer si el plegamiento homoquiral podía producirse con un solo grupo (S)-1,4-dimetoxi(*p*-tolilsulfinil)benceno como inductor quiral (ver Figura 113) y en presencia de Ag(I).

2.1 Diseño y síntesis de σ -OPEs (S)-22-28 que presentan un único grupo sulfóxido enantiopuro

De igual forma que en el caso de los compuestos (S,S)-2-8, comenzamos con la síntesis de la nueva familia de compuestos homoquirales con un solo grupo sulfóxido quiral en el esqueleto (Figura 154).

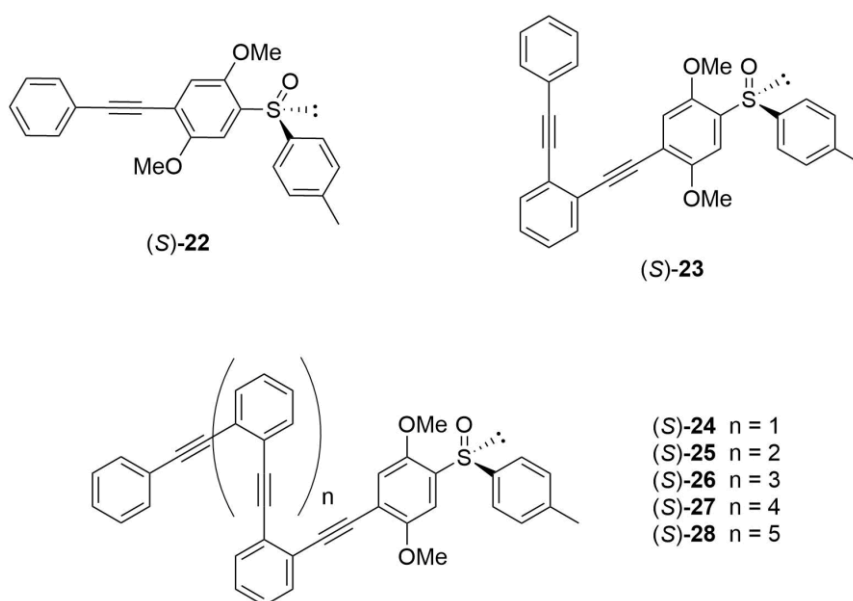
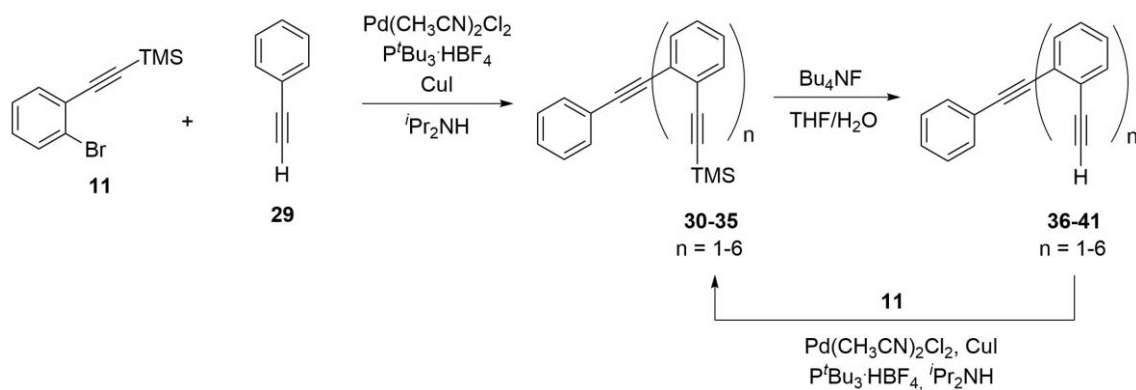


Figura 154. Estructuras de monosulfóxidos de σ -OPEs objetivo.

Los monosulfóxidos (S)-22 y (S)-23 se sintetizaron como compuestos modelos debido a su incapacidad para adoptar conformaciones helicoidales. Por otro lado, los compuestos con mayor número de alquinos (S)-24-28 se sintetizaron con el doble objetivo de comprobar si eran capaces de generar estructuras helicoidales enantioenriquecidas por interacción con cationes Ag(I) y si eran capaces de albergar varios cationes Ag(I) en su estructura. Los resultados del capítulo anterior sugerían esa posibilidad.

Para desarrollar la síntesis de los distintos derivados de tipo monosulfóxido, partimos del compuesto **11**, como bloque de construcción común a todos los derivados y cuya síntesis se comentó en el apartado anterior (ver Esquema 2).

El esqueleto de los derivados de *o*-OPEs se preparó mediante sucesivas reacciones de desprotección del grupo trimetilsililo y acoplamiento de Sonogashira con el compuesto **11**, como se indica en el Esquema 8.



Esquema 8. Síntesis del esqueleto de los derivados de *o*-OPEs.

En todos los casos, tanto en la etapa de desprotección como en el acoplamiento de Sonogashira se obtuvieron rendimientos de buenos a excelentes (71-91% y 60-99%, respectivamente), disminuyendo el mismo con el aumento de la longitud de la cadena. A continuación, se muestran las tablas en las que se recogen los resultados obtenidos tras los acoplamiento de Sonogashira con el sintón **11** (Tabla 7) y las reacciones de desprotección (Tabla 8).

Tabla 7. Acoplamiento de Sonogashira

Entrada	Sustrato de partida	Producto Final	Rendimiento
1	<p style="text-align: center;">29</p>	<p style="text-align: center;">30</p>	99%

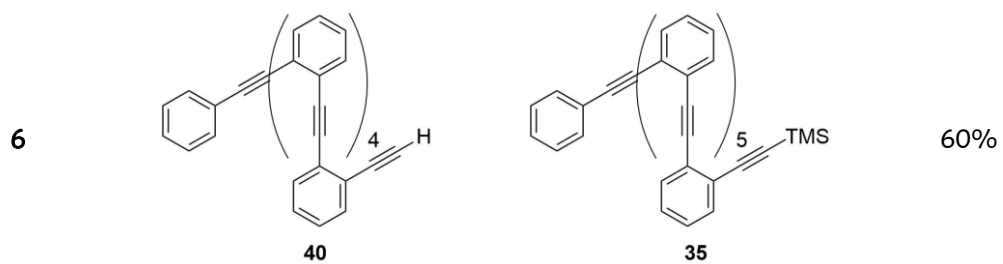
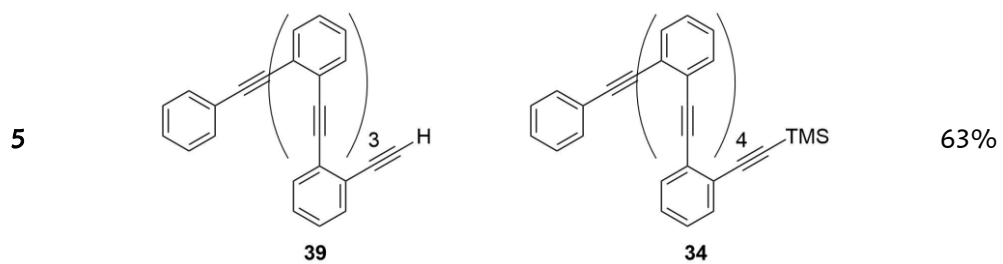
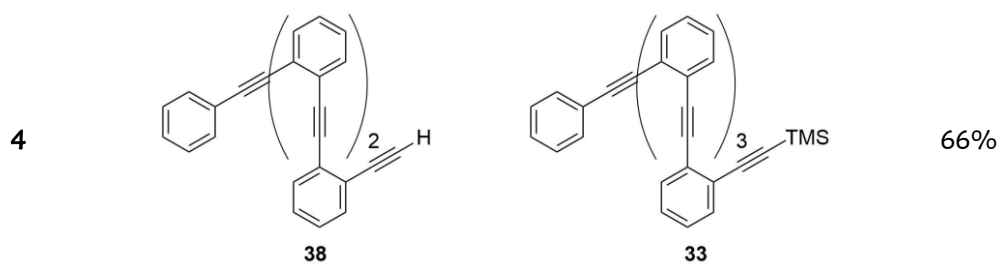
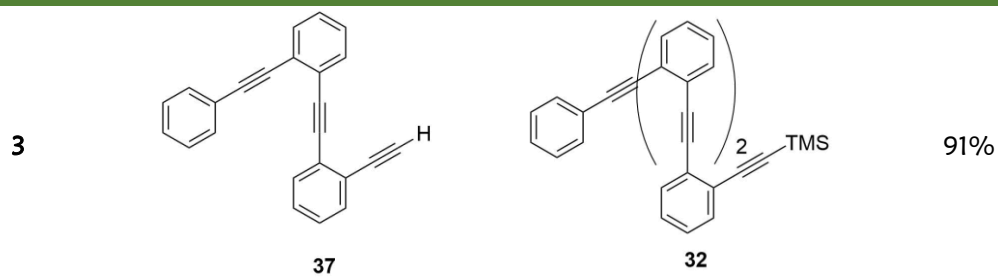
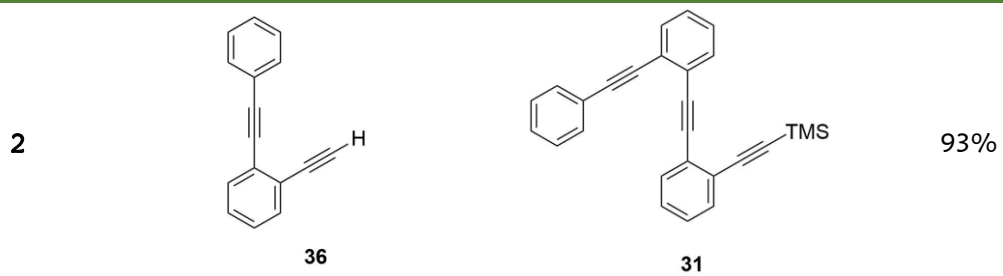
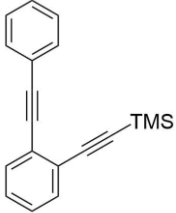
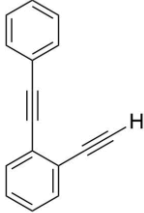
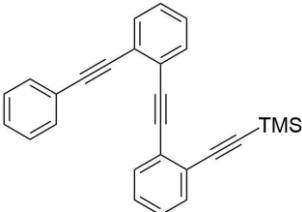
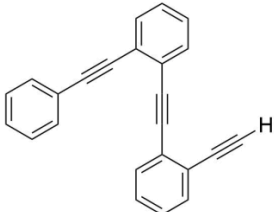
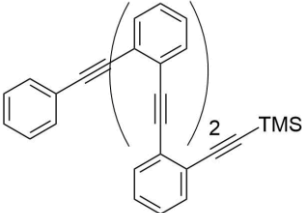
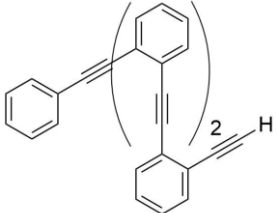
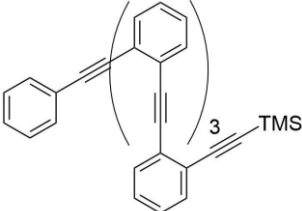
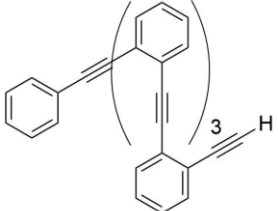
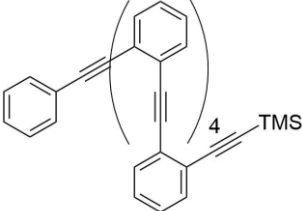
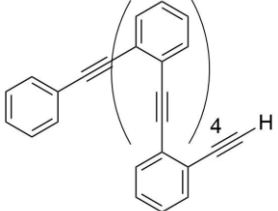
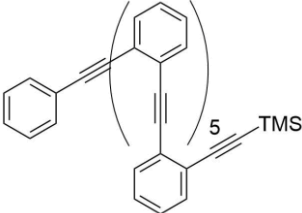
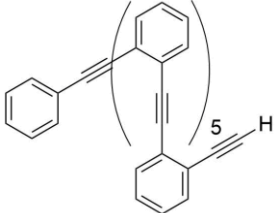
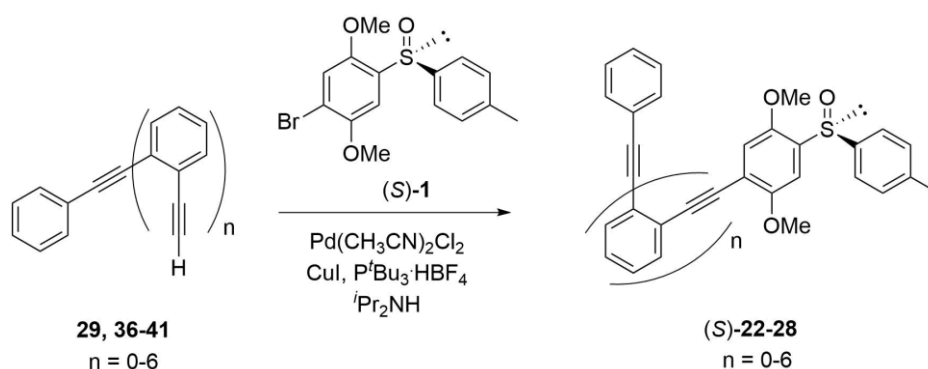


Tabla 8. Reacción de desprotección.

Entrada	Sustrato de partida	Producto Final	Rendimiento
1	 <p>30</p>	 <p>36</p>	89%
2	 <p>31</p>	 <p>37</p>	91%
3	 <p>32</p>	 <p>38</p>	89%
4	 <p>33</p>	 <p>39</p>	76%
5	 <p>34</p>	 <p>40</p>	72%
6	 <p>35</p>	 <p>41</p>	71%

El último paso de nuestra síntesis de los derivados monosulfóxidos de *o*-OPEs, consistió en el acoplamiento de Sonogashira entre los productos **29** y **36-41** con el sintón (*S*)-**1**, tal y como muestra el esquema siguiente.

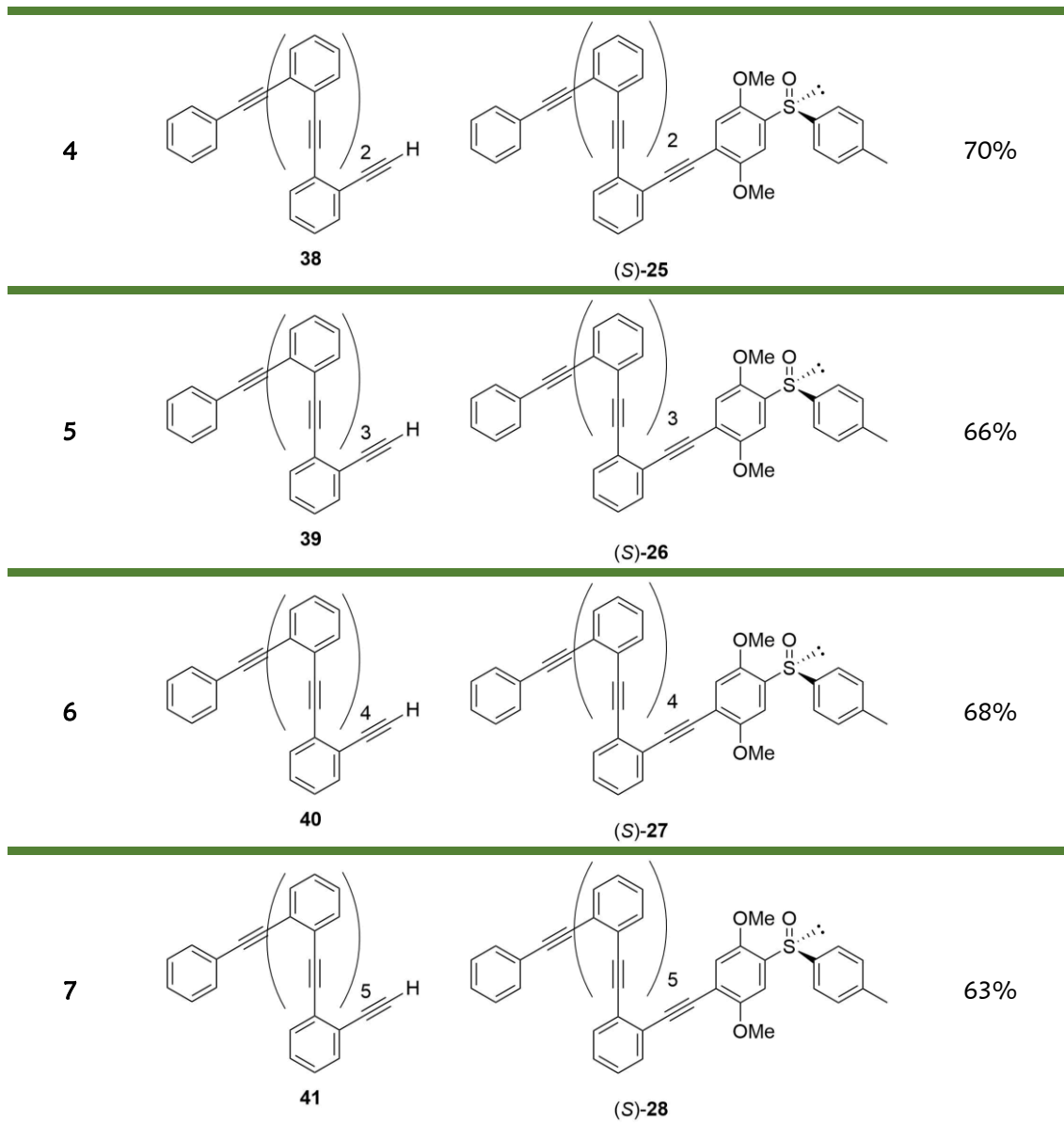


Esquema 9. Síntesis de los monosulfóxidos objetivo.

En la siguiente tabla se recogen los rendimientos obtenidos tras el acoplamiento de Sonogashira con el grupo quiral (*S*)-**1**.

Tabla 9. Acoplamiento de Sonogashira con el grupo quiral (*S*)-**1**.

Entrada	Sustrato de partida	Producto Final	Rendimiento
1	 29	 (<i>S</i>)-22	82%
2	 36	 (<i>S</i>)-23	79%
3	 37	 (<i>S</i>)-24	75%



De nuevo, los rendimientos obtenidos fueron de buenos a moderados, variando en el rango de 63-82%, observándose una disminución del mismo con el aumento de la cadena de α -OPEs. La disminución observada en la eficiencia de esta reacción de Sonogashira a medida que aumenta el tamaño de la molécula objetivo puede deberse a problemas relacionados con el impedimento estérico en la etapa de transmetalación de la misma o con la solubilidad de los compuestos de mayor tamaño.

2.2 Estudio de los desplazamientos químicos por RMN.

Tras realizar la síntesis de la nueva familia de compuestos homoquirales (S)-22-28, comenzamos nuestro estudio comprobando la capacidad de plegamiento de los mismos en presencia de Ag(I) mediante espectroscopía de RMN. Al igual que sus análogos

anteriores, se registraron los espectros de ^1H y ^{13}C RMN antes y después de la adición de AgBF_4 para poder apreciar los cambios producidos tras la coordinación a la misma.

Antes de la adición de Ag(I) , en todos los casos pudimos observar dos grupos de señales perfectamente distinguibles correspondientes a los hidrógenos aromáticos que se encontraban en posiciones orto y meta con respecto a los grupos etinilo. Con el aumento de la longitud de la cadena dichas señales se iban ensanchando debido al solapamiento convirtiéndolas en dos grandes multipletes, algo característico de estructuras totalmente flexibles en disolución (Figura 155).

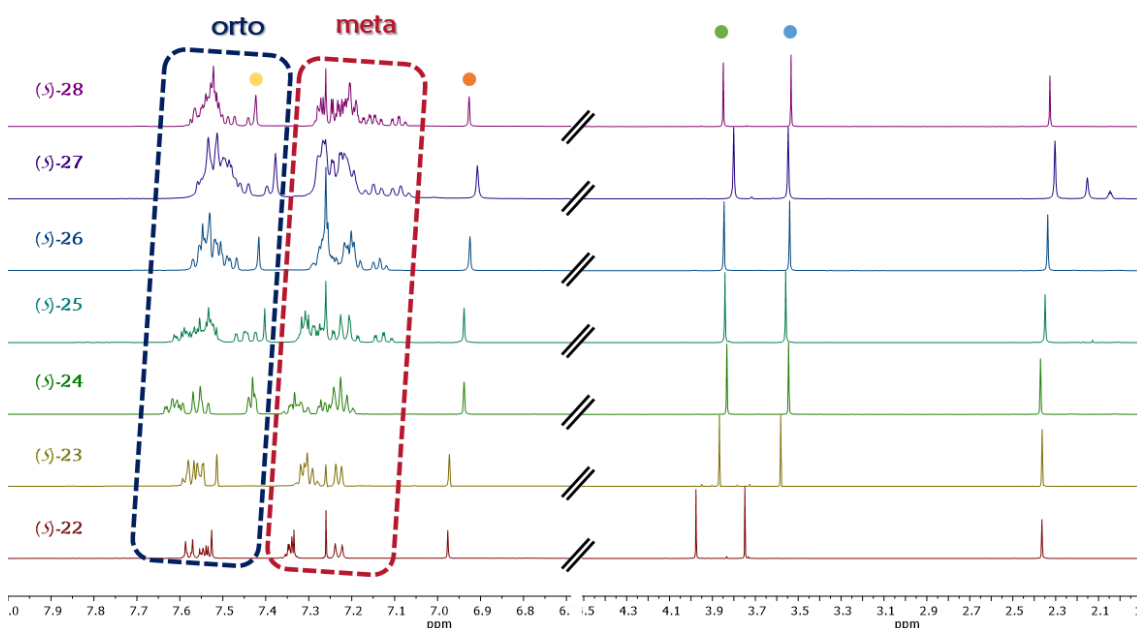


Figura 155. Espectros de RMN de los compuestos (S)-22-28 sin Ag(I) .

A pesar de esto, las señales del grupo sulfóxido se pudieron distinguir en todo momento poniendo de manifiesto la disposición *s-cis* alrededor del enlace C-S, en la cual el oxígeno del grupo sulfóxido se encontraba en paralelo con respecto al hidrógeno H-2 vecinal (Figura 156). Debido a esta disposición en los espectros de ^1H RMN pudimos observar el desapantallamiento del hidrógeno H-2, mientras que el hidrógeno H-5 sufría un desplazamiento a campo alto. Esto también pudo corroborarse con el desplazamiento químico del grupo metoxilo en C-6 que aparece de 0.5 a 0.3 ppm más apantallado que el metoxilo en C-3 (ver Figura 155).

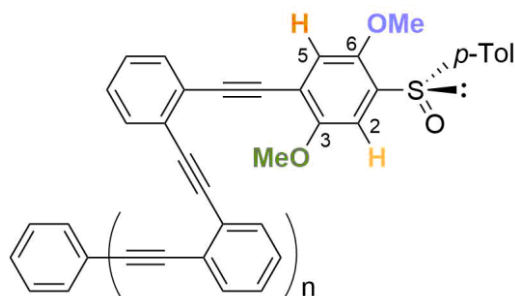


Figura 156. Estructura de (S)-22-28.

Tras la adición de Ag(I) los cambios en los desplazamientos químicos fueron bastantes notables tanto en los espectros de ^1H RMN como en los de ^{13}C RMN. De forma general, pudimos observar una mayor definición de las señales aromáticas que se hicieron mucho más finas y estrechas debido a la complejación con la Ag(I), originando estructuras mucho más rígidas y definidas en disolución.

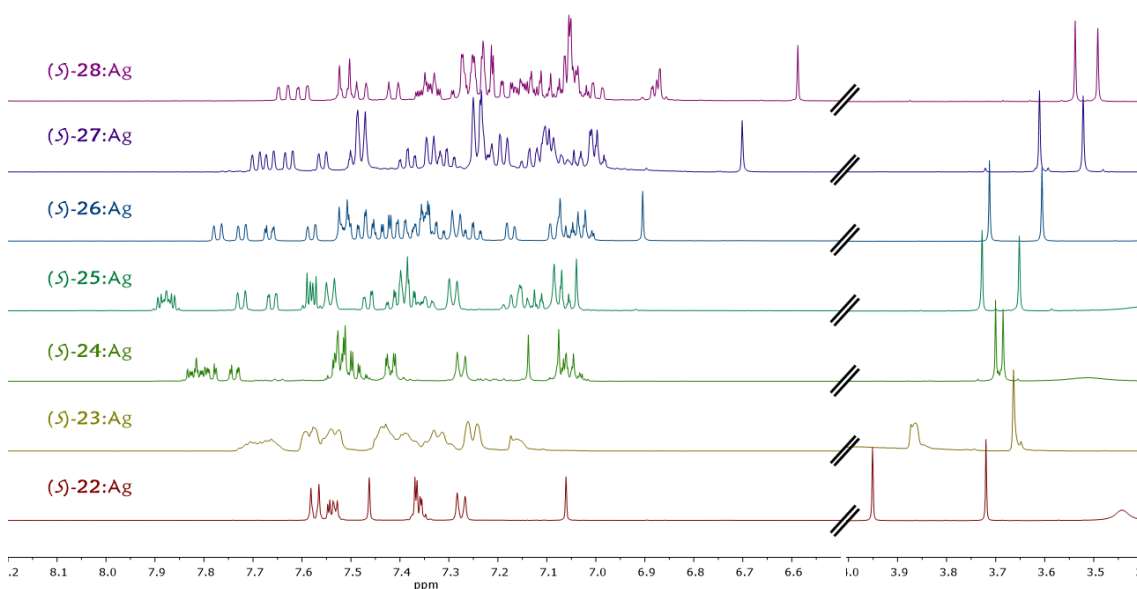


Figura 157. Espectros de ^1H RMN de metalofoldámeros de Ag(I).

Como puede verse en la figura anterior, se produjo el desapantallamiento de un grupo de señales aromáticas a causa de la pérdida de densidad electrónica por parte de los alquinos, los cuales estaban coordinados a los cationes de Ag(I).

Además, pudimos extraer mucha más información sobre los desplazamientos químicos de los protones de grupo sulfóxidos, ya que tanto las señales del H-2 como del grupo metoxilo en C-3 sufrieron un apantallamiento, mientras que el H-5 y el metoxilo en C-6 experimentaron un desplazamiento hacia campo bajo (desapantallamiento). Todo esto

nos hace pensar que las estructuras han adoptado una disposición helicoidal, en la que los desplazamientos químicos se ven ahora afectados por el solapamiento de los anillos aromáticos provocando interacciones de π -stacking entre los mismos. En la Figura 158, podemos observar con más claridad el espectro de ^1H RMN para el compuesto (*S*)-26.

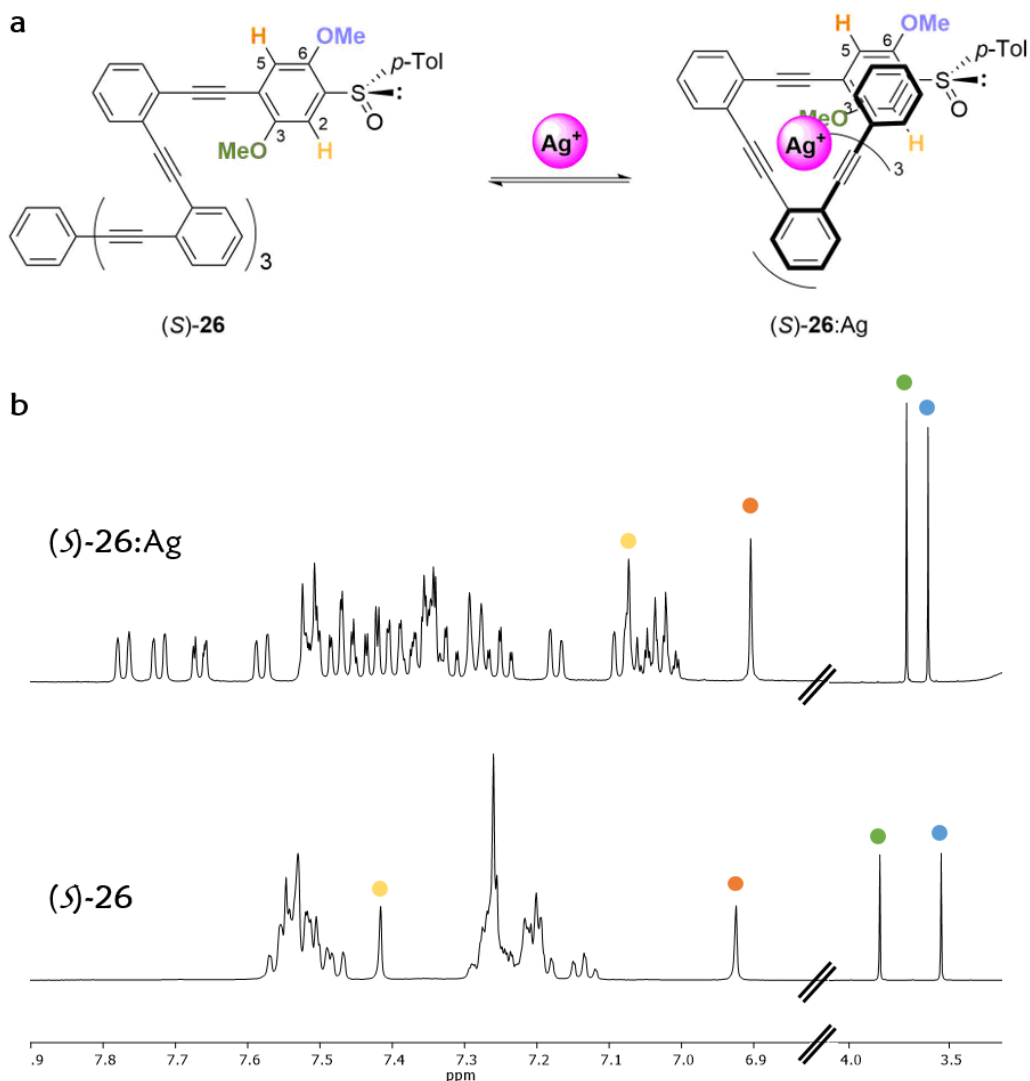


Figura 158. (a) Plegamiento del compuesto (*S*)-26; (b) comparación del espectro de ^1H RMN del compuesto (*S*)-26 con y sin $\text{Ag}(\text{I})$.

Estos cambios pueden apreciarse con más detalle y paso a paso, al realizar valoraciones mediante espectroscopía de ^1H RMN en mezclas de CD_2Cl_2 :acetona (9:1), en las que la concentración de $\text{Ag}(\text{I})$ se fue aumentando hasta alcanzar la saturación. En la figura siguiente se muestra la valoración realizada para el compuesto (*S*)-27, como ejemplo representativo de las estructuras de mayor orden de la familia (*S*)-24-28.

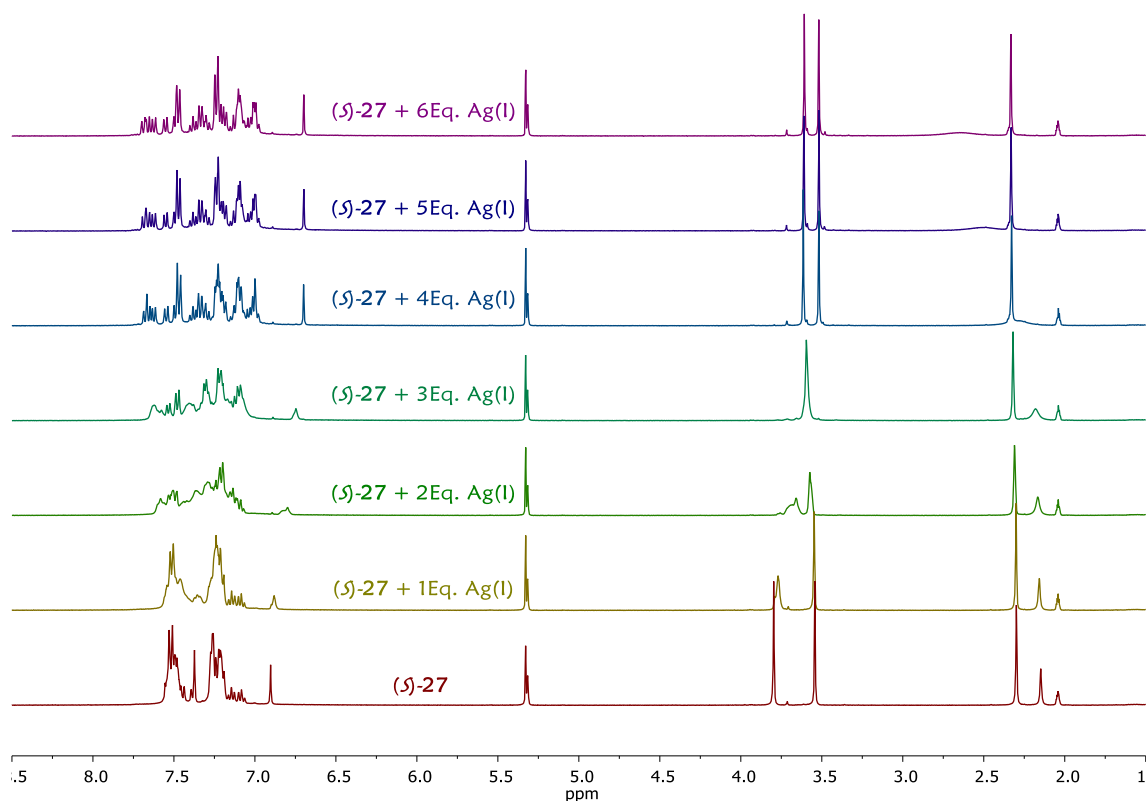


Figura 159. Valoración de ^1H RMN del compuesto (*S*)-**27** con AgBF_4 .

En cuanto al compuesto con menor número de alquinos (*S*)-**22**, a pesar de no observar cambios apreciables en el espectro de ^1H RMN tras la adición de Ag(I) , sí pudimos distinguir ligeros desplazamientos en el espectro de ^{13}C RMN en los carbonos acetilénicos a causa de la interacción con los cationes de Ag(I) , al igual que ocurrió con su análogo con dos grupos sulfóxido (*S,S*)-**2**.

Una situación más compleja presentó el compuesto (*S*)-**23**, que tras la adición de Ag(I) presentó un equilibrio dinámico con la acetona (ver Figura 157), debido al limitado número de puntos de coordinación, lo que imposibilitó su caracterización por ^{13}C RMN.

2.3 Estudio de las propiedades quiroópticas.

Tras confirmar que la nueva familia de foldámeros homoquirales actuaban de la misma manera que sus análogos con dos grupos quirales ante la presencia de Ag(I) , pasamos a estudiar su comportamiento mediante espectroscopía de CD y VCD, con el fin de poder comparar las propiedades quiroópticas de ambas familias. En este caso no fue posible su estudio mediante CPL, ya que estos compuestos se degradaban muy fácilmente ante una radiación constante, necesaria para realizar dichas medidas.

2.3.1 Estudio de las medidas de CD

En primer lugar, obtuvimos los espectros de CD de una disolución 2.5×10^{-5} M de cada uno de los monosulfóxidos (*S*)-22-28 en ausencia de Ag(I). Todos los miembros de la familia presentaron una banda negativa alrededor de los 360 nm, perteneciente a la transición $\pi-\pi^*$, propia de la estructura aromática de los feniletinilenos. Por su parte, en el rango de los 250-300 nm pudimos observar la banda perteneciente al grupo quiral.

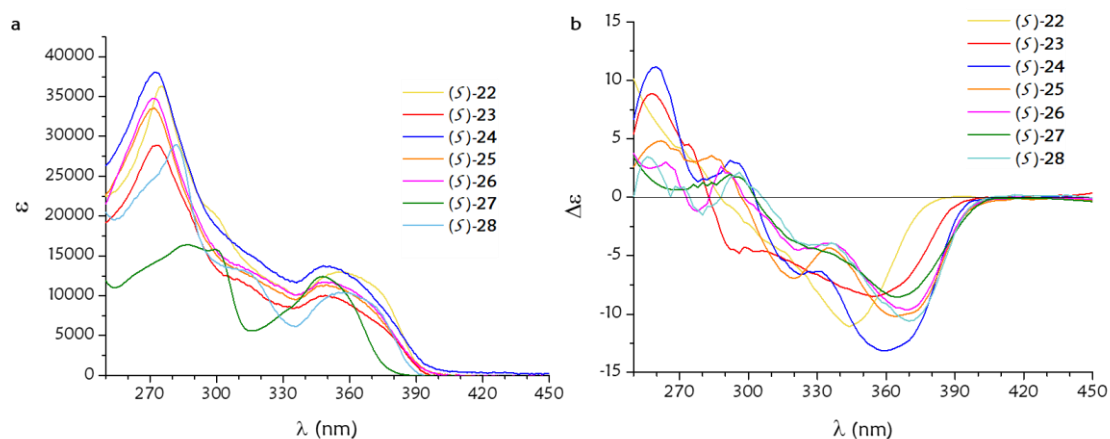


Figura 160. Espectros de (a) absorción y (b) de CD sin AgBF_4 de los compuestos (*S*)-22-28.

Cuando los espectros de CD se registraron en presencia de AgBF_4 pudimos observar un cambio en el signo del efecto Cotton, que pasó a ser positivo para los oligómeros de mayor tamaño de la familia (*S*)-24-28. Este cambio suponía una inversión de la helicidad de *M* a *P*, la cual no se apreció en los compuestos de menor tamaño (*S*)-22 y (*S*)-23 debido a su imposibilidad de adoptar una configuración helicoidal.

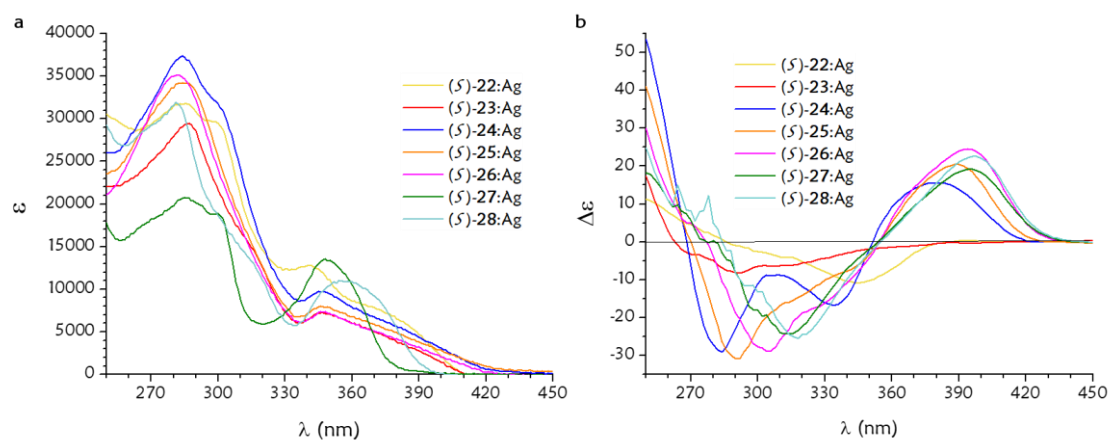


Figura 161. Espectros de (a) absorción y (b) de CD con AgBF_4 de los compuestos (*S*)-22-28.

Comparando los resultados anteriormente mostrados para los monosulfóxidos con los obtenidos para sus análogos disulfóxidos pudimos apreciar que ambas familias de compuestos presentaban el mismo efecto Cotton negativo antes de la adición de Ag(I), lo cual era indicativo de una helicidad *M*. Por el contrario, tras la adición de Ag(I) se produjo un cambio del signo del CD produciéndose por tanto una inversión de la configuración de *M* a *P*. La gran diferencia entre ambas familias fueron los valores de $\Delta\epsilon$, ya que para los compuestos con dos grupos sulfóxidos fueron mucho mayores que para aquellos que solo presentaban un único grupo quiral en su estructura, tanto antes como después de la adición de Ag(I). En la siguiente tabla se puede ver una comparativa de los valores de $\Delta\epsilon$ obtenidos para ambas familias de compuestos homoquirales antes y después de la adición de Ag(I) a la disolución.

Tabla 10. Comparación de los valores de $\Delta\epsilon$ antes y después de la adición de AgBF₄ para los compuestos (S,S)-3-8 y (S)-23-28.

Nº alquinos	Compuesto	$\Delta\epsilon$ sin Ag(I)	$\Delta\epsilon$ con Ag(I)
1	(S,S)-2	-25	-3
	(S)-22	-12	-10.7
2	(S,S)-3	-23	+26
	(S)-23	-8.5	-8.3
3	(S,S)-4	-27	+120
	(S)-24	-13.1	+15.5
4	(S,S)-5	-3	+64
	(S)-25	-10	+20.3
5	(S,S)-6	-45	+115
	(S)-26	-9.5	+24.5
6	(S,S)-7	-50	+144
	(S)-27	-8.5	+19.2
7	(S,S)-8	-55	+64
8	(S)-28	-10.5	+22.6

Con el fin de poder comparar entre ellos los oligómeros (S)-22 a (S)-28 calculamos el correspondiente valor de g_{abs} . En ausencia de Ag(I) comprobamos como el valor de g_{abs} presentaba signo negativo de acuerdo con el efecto Cotton observado en el espectro de CD. Además de esto, no pudimos apreciar ningún tipo de tendencia entre los valores de

g_{abs} , alcanzando el máximo para el compuesto (**5**)-**24** con un valor de -0.3×10^{-3} . Por el contrario, en presencia de Ag(I) los valores del factor de disimetría aumentaban con el número de alquinos, o lo que es lo mismo, con el número de vueltas en la estructura, hasta llegar al compuesto (**5**)-**27** en el cual se interrumpía dicho incremento apreciándose un descenso del valor de g_{abs} a partir del mismo. Esta discontinuidad podría estar relacionada con la saturación en vueltas de la hélice o relacionado con cambios estructurales cuando el número de alquinos es mayor a cinco, de forma similar a lo expuesto por Moore y otros autores,¹⁷¹ quienes observaron una discontinuidad en las respuestas quiroópticas al aumentar el número de unidades monoméricas, lo cual atribuyeron a cambios conformacionales. Por ello, supusimos que estaba teniendo lugar la coordinación a un segundo átomo de Ag(I) para los oligómeros de mayor tamaño (**5**)-**27** y (**5**)-**28**.

Tabla 11. Valores de g_{abs} para los compuestos (**5**)-**22-28** antes y después de la adición de AgBF₄.

Compuesto	g_{abs} sin Ag(I) $\times 10^{-3}$	g_{abs} con Ag(I) $\times 10^{-3}$
(5)- 22	-0.24	0.24
(5)- 23	-0.21	0.12
(5)- 24	-0.30	0.69
(5)- 25	-0.29	1.51
(5)- 26	-0.25	1.77
(5)- 27	-0.17	1.38
(5)- 28	-0.16	1.13

Para aportar más luz sobre el fenómeno de discontinuidad mencionado anteriormente en los valores de g_{abs} , realizamos valoraciones mediante espectroscopía de CD con el fin de obtener las constantes de coordinación. Para ello, se adicionaron cantidades conocidas de una disolución de AgBF₄ 2.5×10^{-4} a una disolución 2.5×10^{-5} de los oligómeros (**5**)-**24-28**, hasta alcanzar la saturación. Las valoraciones de los compuestos de menor orden no se realizaron, ya que no observamos cambios en sus espectros de CD tras la adición de Ag(I) y además teníamos la experiencia previa con los disulfóxidos más cortos (**5**)-**2** y

¹⁷¹ a) M. T. Stone, J. M. Heemstra, J. S. Moore, *Acc. Chem. Res.* **2006**, *39*, 11-20; b) E. T. Chmick, G. Börzsönsyi, C. Steiner, M. Ammon, D. Gessner, S. Frühbeißer, F. Grön, S. Maier, R. R. Tykwinski, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2014**, *53*, 310-314; c) P. Rivera-Fuentes, J. L. Alonso-Gomez, A. G. Petrovic, F. Santoro, N. Harada, N. Berova, F. Diederich, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2010**, *49*, 2247-2250.

(S,S)-3, con los cuales no apreciamos cambios aparentes tras sus valoraciones. A continuación, se muestran, las gráficas obtenidas tras la realización de las valoraciones con Ag(I).

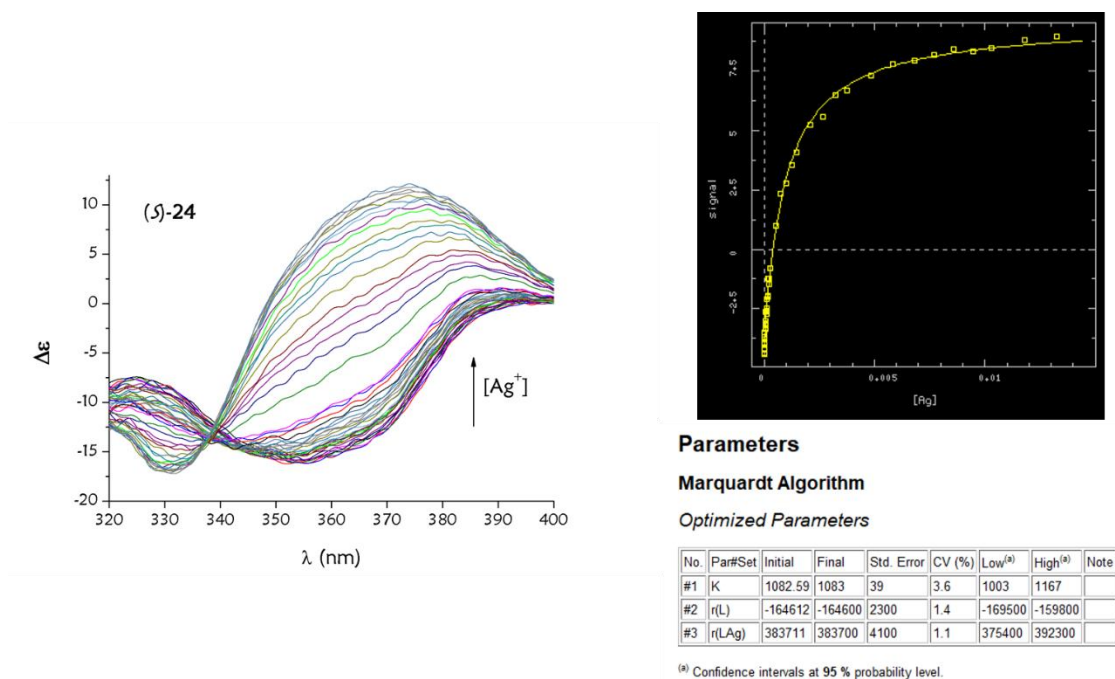


Figura 162. (a) Espectro de CD y (b) resultados del DynaFit de la valoración con Ag(I) de (S,S)-24.

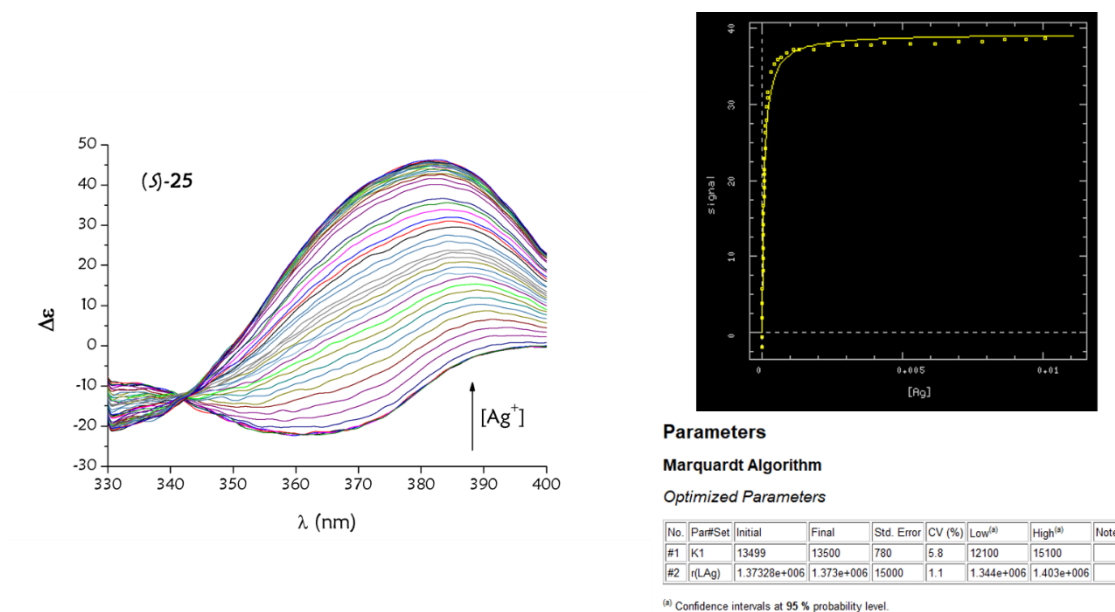
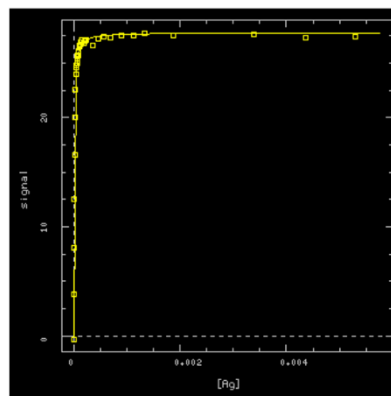
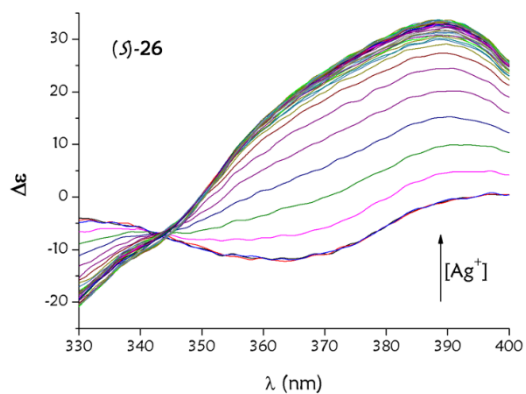


Figura 163. (a) Espectro de CD y (b) resultados del DynaFit de la valoración con Ag(I) de (S,S)-25.



Parameters

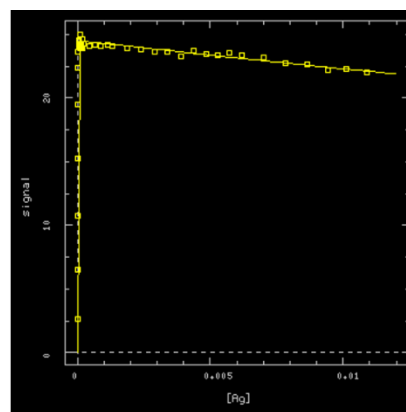
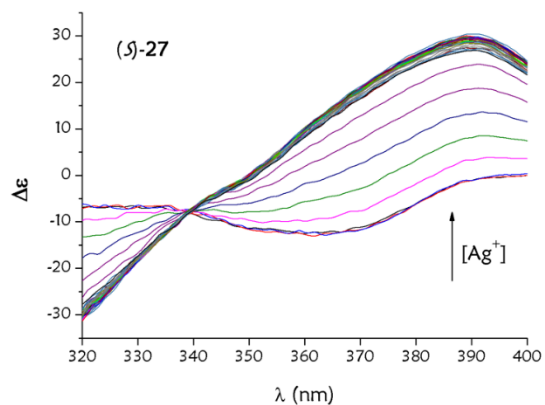
Marquardt Algorithm

Optimized Parameters

No.	Par#Set	Initial	Final	Std. Error	CV (%)	Low ^(a)	High ^(a)	Note
#1	K1	203504	204000	18000	8.7	173000	244000	
#2	r(LAg)	1.11154e+006	1.1115e+006	7400	0.7	1.0968e+006	1.1264e+006	

^(a) Confidence intervals at 95 % probability level.

Figura 164. (a) Espectro de CD y (b) resultados del DynaFit de la valoración con Ag(I) de (J)-26.



Parameters

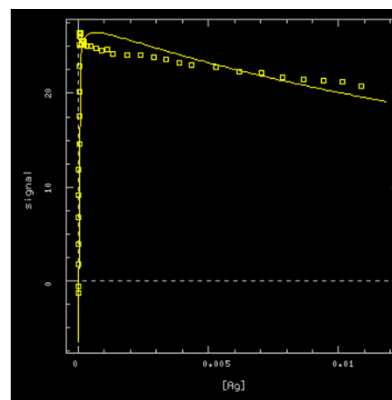
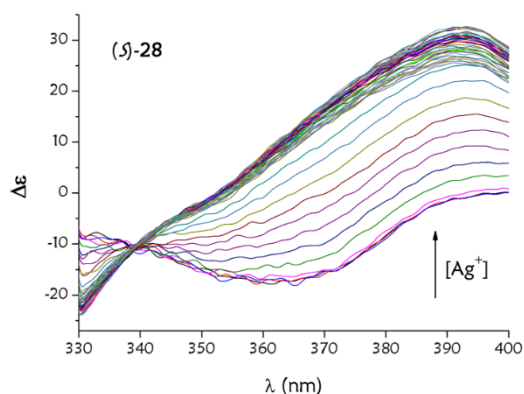
Marquardt Algorithm

Optimized Parameters

No.	Par#Set	Initial	Final	Std. Error	CV (%)	Low ^(a)	High ^(a)	Note
#1	K1	1.17878e+006	1.18e+006	250000	21.5	835000	1.86e+006	
#2	K2	10.1523	10.2	1.5	14.4	7.36	13	
#3	r(L)	-0.04	-0.04	17000	43327567.3	< -0.04	> -0.04	MAX
#4	r(LAg)	982711	982700	6100	0.6	971200	994400	

^(a) Confidence intervals at 95 % probability level.

Figura 165. (a) Espectro de CD y (b) resultados del DynaFit de la valoración con Ag(I) de (J)-27.



Parameters

Marquardt Algorithm

Optimized Parameters

No.	Par#Set	Initial	Final	Std. Error	CV (%)	Low ^(a)	High ^(a)	Note
#1	K1	89514	90000	21000	23.3	60000	140000	
#2	K2	36.8838	36.9	9.1	24.8	20	57.1	
#3	r(L)	-255254	-255000	71000	27.8	-393000	-120000	
#4	r(LAg)	1.1042e+006	1.104e+006	37000	3.4	1.035e+006	1.178e+006	

^(a) Confidence intervals at 95 % probability level.

Figura 166. (a) Espectro de CD y (b) resultados del DynaFit de la valoración con Ag(I) de (J)-28.

Una vez realizadas las valoraciones, se empleó el programa DynaFit¹⁵⁹¹ para conocer la constante de coordinación de los cationes Ag(I) a los alquinos para cada uno de los miembros de la familia de monosulfóxidos. En la siguiente tabla se muestran los valores de las constantes de coordinación obtenidas.

Tabla 12. Constantes de coordinación.

Compuesto	$K (M^{-1})$	Estequiometría
(J)-24	$1082 \pm 3.6\%$	1:1
(J)- 25	$13499 \pm 5.8\%$	1:1
(J)- 26	$203504 \pm 8.7\%$	1:1
(J)- 27	$1047210 \pm 19.3\%$ $9.97 \pm 15\%$	1:1 1:2
(J)- 28	$89514 \pm 23.4\%$ $36.88 \pm 24.8\%$	1:1 1:2

Después de realizar las valoraciones con Ag(I) y conocer los valores de constantes de coordinación Ag(I) con cada uno de nuestros compuestos, pudimos comprobar como los oligómeros (J)-24-26 presentaban solo una constante de coordinación, mientras que para los de mayor tamaño obtuvimos dos constantes de coordinación. Estos resultados apoyaron la hipótesis planteada anteriormente sobre la discontinuidad observada en los

valores de g_{abs} , la cual podría deberse a la coordinación con un segundo átomo de Ag(I), ya que los compuestos de mayor orden (**S**-27 y **S**-28) presentan suficientes puntos de unión para albergar hasta un máximo de dos cationes de Ag(I).

2.3.2 Estudio de las medidas de VCD

Al igual que con los análogos del capítulo anterior, empleamos la espectroscopía de VCD para comprobar la sensibilidad de dicha técnica ante la presencia de los cationes de Ag(I).¹⁷² Tal y como se comentó en la introducción del presente capítulo, el primer paso para la obtención de un espectro de VCD es conseguir un buen espectro de IR, para poder apreciar las pequeñas diferencias de absorción. Por tanto, en primer lugar, se registraron los espectros de IR de cada uno de los compuestos de esta familia de foldámeros, tanto antes como después de la adición de AgBF₄, lo que puede verse en la siguiente figura.

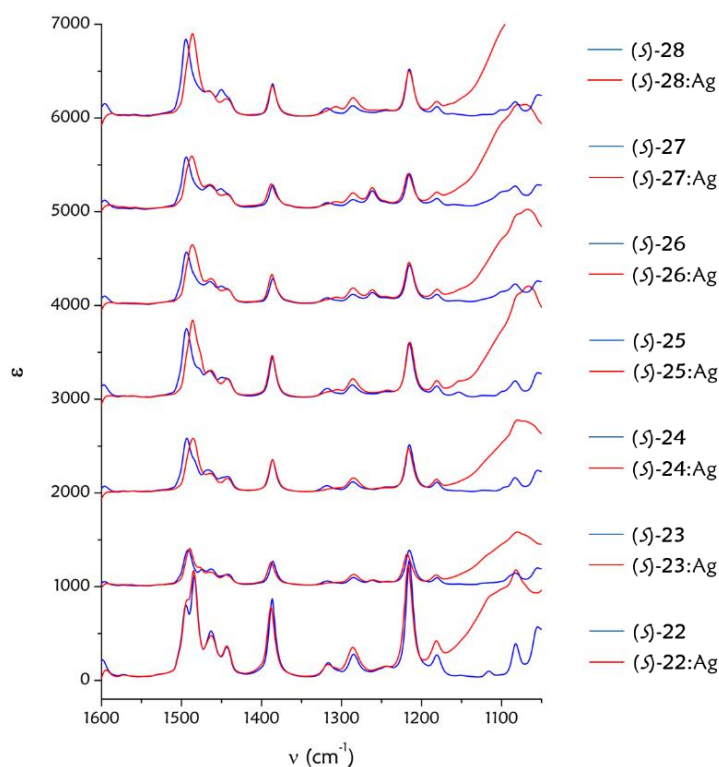


Figura 167. Espectros IR de los compuestos (**S**-22-28) antes y después de la adición de AgBF₄.

Como podemos observar, en los oligómeros de mayor longitud de la familia (**S**-24-28) se produce un desplazamiento de la banda alrededor de los 1490 cm⁻¹ en presencia de

¹⁷² Parte de estos estudios fueron realizados durante mi estancia predoctoral gracias a la ayuda de los Profs. Sergio Abbate, Giovanna Longhi y Giuseppe Mazzeo del Dpto. de Medicina Molecular y Traslacional de la Universidad de Brescia (Italia).

Ag(I), lo cual es indicativo de la interacción de la misma con nuestros compuestos. En cambio, para los compuestos de menor tamaño (*S,S*-**22** y *S,S*-**23**) el desplazamiento es prácticamente inapreciable.

Por su parte, en los espectros de VCD, tras la adición de Ag(I) observamos el mismo desplazamiento de la banda a 1490 cm⁻¹ que habíamos visto anteriormente en los espectros de IR. De nuevo, esto corroboraba una interacción de la Ag(I) con nuestros compuestos. En este caso y a diferencia de lo que ocurrió con los disulfóxidos, no se vio en ningún momento la inversión de la banda alrededor de los 1212 cm⁻¹ (ver Figura 134), lo que implicaba que todos los compuestos de la familia presentaban la misma disposición del grupo *p*-tolilo con respecto al azufre estereogénico. La franja sombreada en la Figura 168, corresponde a un artefacto causado por el disolvente.

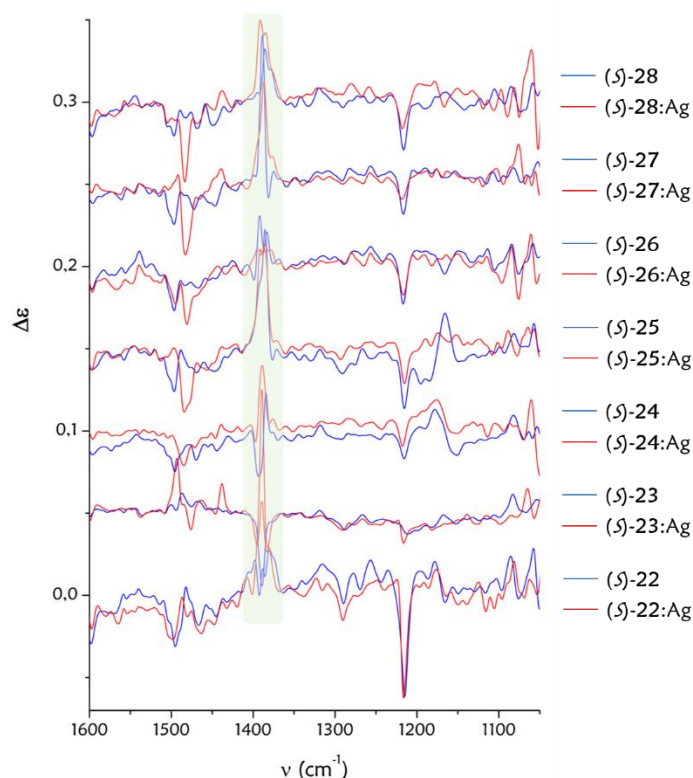


Figura 168. Espectros VCD de los compuestos (*S,S*-**22-28**) antes y después de la adición de AgBF₄.

Un caso más peculiar fue el que presentó el compuesto (*S,S*-**23**), ya que tras la adición de Ag(I) no se observó el desplazamiento de la banda a 1490 cm⁻¹, si no que se pudo apreciar la aparición de una señal de VCD que presentaba una forma muy similar a la registrada para el compuesto con dos grupos sulfóxidos (*S,S*-**4**) en presencia de Ag(I).

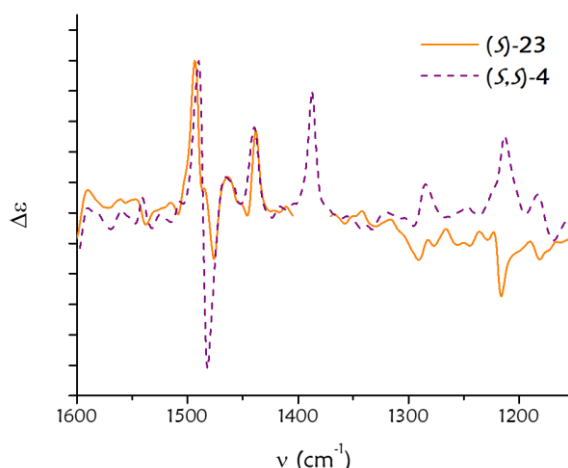


Figura 169. Comparación espectros de VCD del compuesto (S)-23 y (S,S)-4.

Esta apreciación nos sugiere que, a pesar del hecho de que el compuesto (S)-23 posee solo dos triples enlaces con los que coordinarse a los cationes de Ag(I) y que, por tanto, presenta una gran movilidad y flexibilidad, cierto porcentaje de moléculas son capaces de autoorganizarse de alguna forma ordenada y que además es quiroópticamente activa en las concentraciones que se han utilizado para realizar las medidas de VCD.

De esta forma el compuesto (S)-23 presenta diferentes respuestas antes las dos técnicas quiroópticas empleadas. Por un lado, en el espectro de CD, más sensible a la conformación estructural del *o*-OPE, no se aprecian cambios aparentes tras la adición de Ag(I), mientras que en el espectro de VCD los cambios son bastantes notables, lo que a menudo está relacionado con las respuestas de grupos individuales y puntuales pudiendo ser indicativo de alguna organización supramolecular. De este estudio de VCD se puede concluir que la interacción con la Ag(I) no solo estabilizaría los triples enlaces, sino también los grupos *p*-tolilo del sulfóxido.

2.4 Cálculos teóricos

Tras conocer los resultados experimentales obtenidos, llevamos a cabo una serie de estudios teóricos mediante DFT para corroborar tanto la helicidad *P* observada en los espectros de CD tras la adición de Ag(I) como la posibilidad de la incorporación de un segundo átomo de Ag(I).¹⁶⁹ Además, también se trató de apoyar en datos teóricos nuestra hipótesis sobre la organización supramolecular del compuesto (S)-23.

2.4.1 Cálculos teóricos de CD de los compuestos (S)-22-28.

En primer lugar, se buscaron las conformaciones de mínima energía para los compuestos (S)-24-28 en presencia de Ag(I). Como ya se esperaba por la experiencia previa de nuestro grupo de investigación, los oligómeros con hasta cinco alquinos en la estructura solamente fueron capaces de albergar un único átomo de Ag(I) en su estructura.

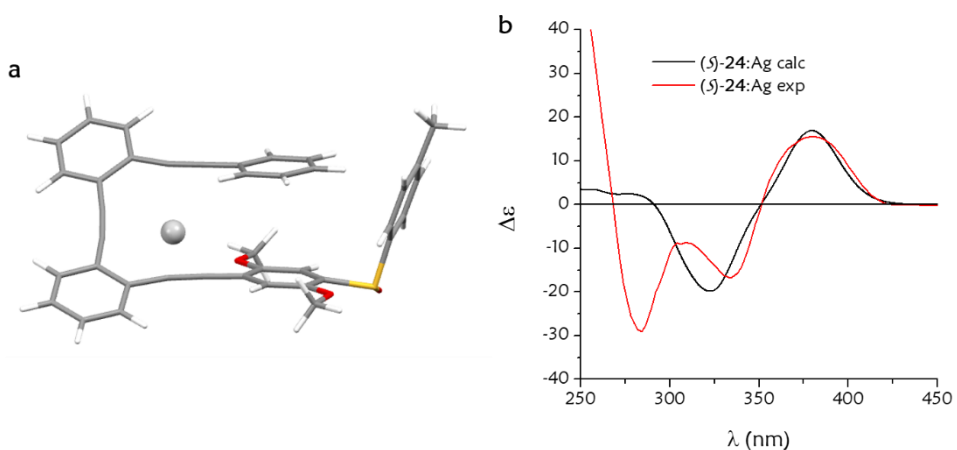


Figura 170. (a) Estructura de mínima energía y (b) espectro de CD teórico y experimental de (S)-24:Ag.

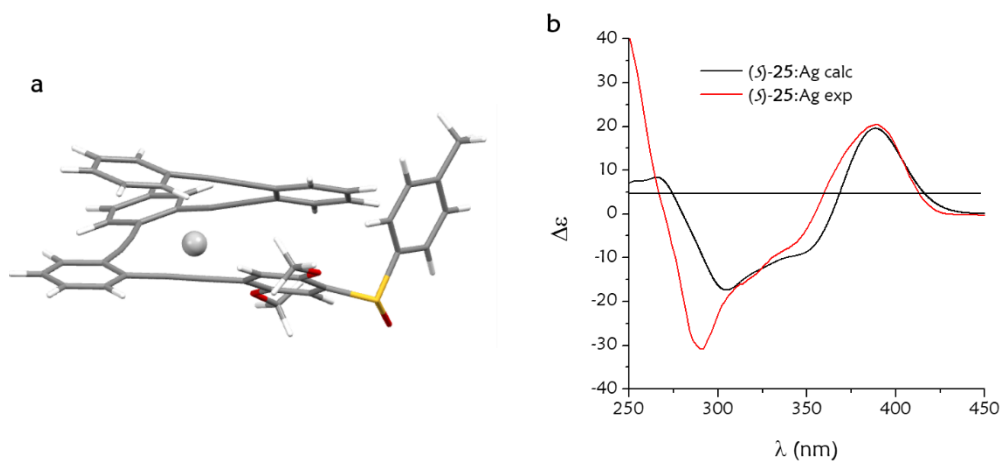


Figura 171. (a) Estructura de mínima energía y (b) espectro de CD teórico y experimental de (S)-25:Ag.

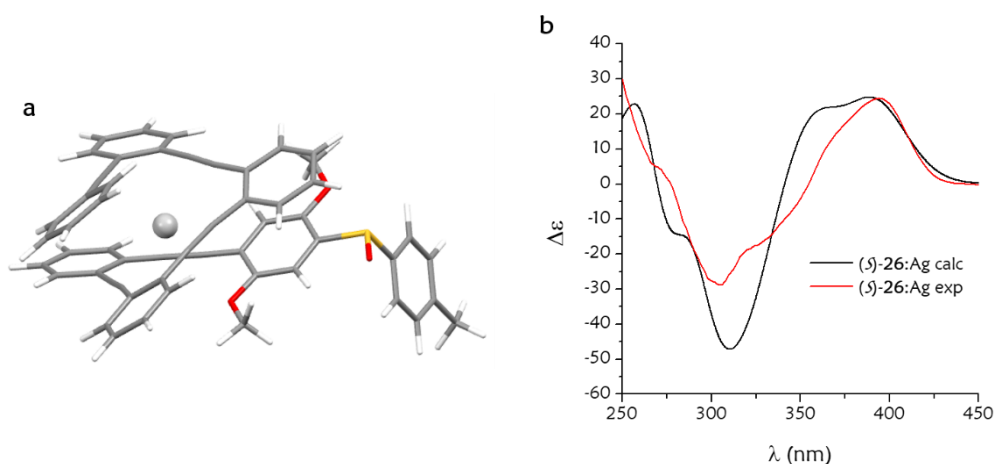


Figura 172. (a) Estructura de mínima energía y (b) espectro de CD teórico y experimental de (*S*)-26:Ag.

Como puede apreciarse en las figuras anteriores, mediante los correspondientes espectros de CD calculados para los compuestos (*S*)-24-26 pudimos corroborar que los oligómeros de menor tamaño y con hasta un máximo de cinco alquinos en la estructura fueron capaces de acomodar un solo átomo de Ag(I). Además, los espectros obtenidos se ajustaron razonablemente bien a los espectros de CD experimentales.

Por otra parte, los oligómeros de mayor tamaño presentaban más sitios de unión lo que abría la posibilidad a la entrada de un segundo catión Ag(I). Por lo tanto, se calcularon también las estructuras de mínima energía para los compuestos (*S*)-27 y (*S*)-28 que presentaban dos átomos de Ag(I) en la estructura. Sin embargo, la presencia de dos cationes de Ag(I) muy próximos en el espacio hacía que la coordinación al segundo átomo de Ag(I) estuviera desfavorecida debido a las repulsiones electrostáticas, lo que pudo verse reflejado en los bajos valores de las constantes de coordinación obtenidos para este segundo evento de coordinación (ver Tabla 12).

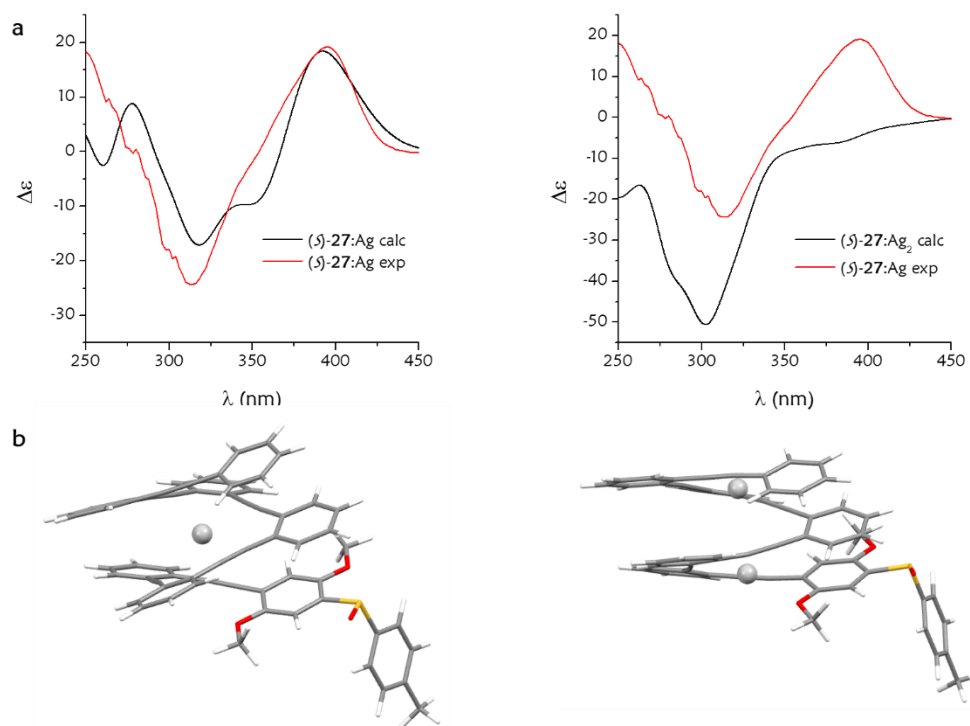


Figura 173. (a) Espectros de CD teórico y experimental y (b) estructuras de mínima energía para (S)-27:Ag y (S)-27:Ag₂.

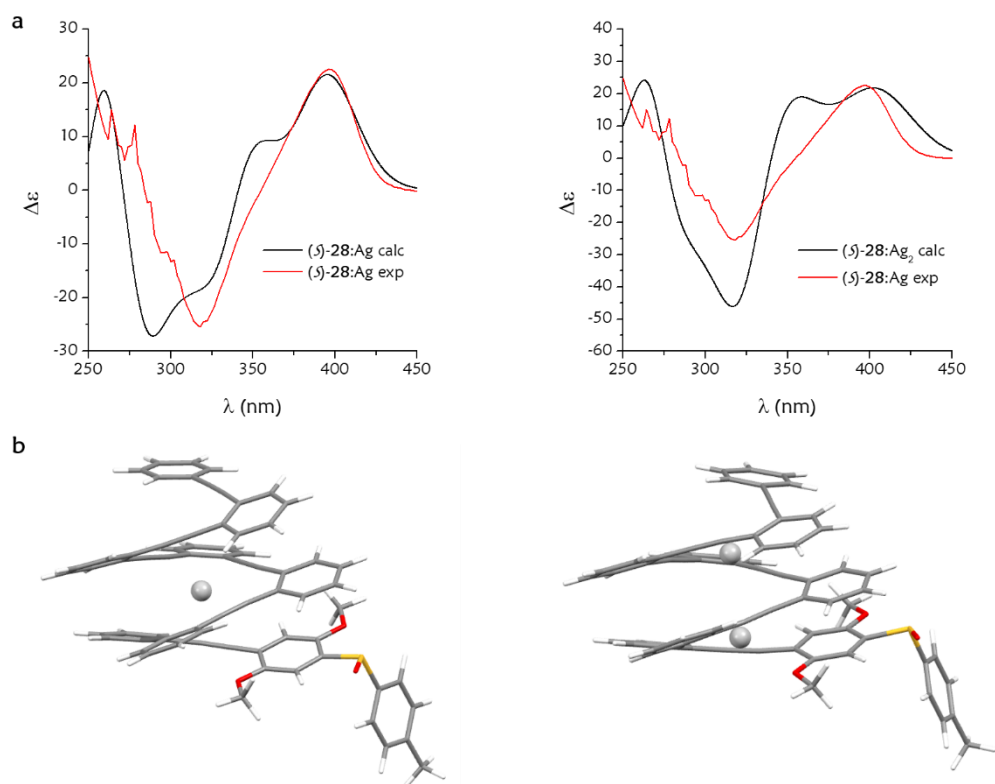


Figura 174. (a) Espectros de CD teórico y experimental y (b) estructuras de mínima energía para (S)-28:Ag y (S)-28:Ag₂.

En estos dos ejemplos, los espectros de CD calculados no fueron tan exactos como en el caso de los oligómeros de menor tamaño (*S*-**24-26**) ya que en el caso de los compuestos (*S*-**27** y (*S*-**28** se estaba produciendo una posible superposición en las señales de CD debido a la presencia de las especies mono y bimetalíca.

2.4.2 Cálculos teóricos de VCD de los compuestos (*S*-**22-28**)

Al igual que en el resto de técnicas experimentales empleadas, los cálculos teóricos para el compuesto (*S*-**23**) fueron algo más complicados, ya que se encontraron cuatro conformaciones diferentes para dicho compuesto. De las cuatro conformaciones presentadas en la Figura 175, los conformeros A y B se hallaban muy próximos en energía, mientras que los conformeros C y D tenían una mayor energía (más de 6 kcal/mol).

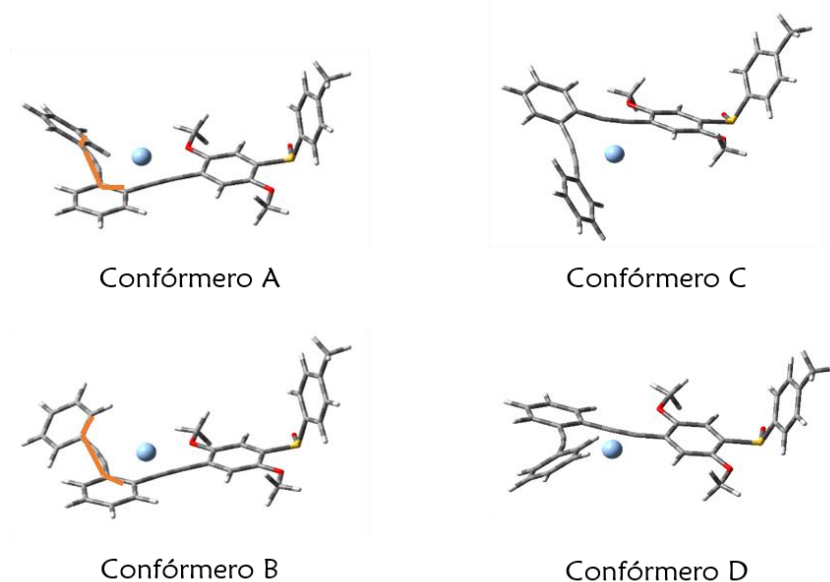


Figura 175. Confórmeros posibles para el compuesto (*S*-**23**).

Por otra parte, los conformeros A y B presentaron una alta movilidad del fragmento de difenilacetileno (línea naranja en la Figura 175) por lo que ambas estructuras se estaban interconvirtiendo continuamente. Este proceso de interconversión se calculó en función del ángulo de torsión de dicha fracción variando entre 0 kcal/mol cuando el ángulo diédrico (marcado en naranja en la Figura 175) era de 45° hasta las 0.13 kcal/mol cuando el ángulo era de 0° , lo que puede verse más claramente en la gráfica siguiente.

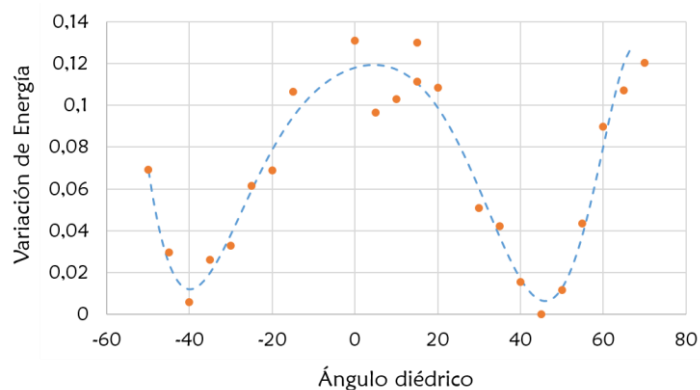


Figura 176. Curva de liberación de energía (kcal/mol) para la interconversión entre los conformeros A y B.

Tras conocer las cuatro conformaciones posibles para el compuesto (*S*)-**23** con Ag(I), se realizaron los cálculos para obtener los espectros de VCD de dichas conformaciones con el fin de poder buscar una explicación a las señales observadas en el espectro de VCD experimental con Ag(I). Además, puesto que nuestra hipótesis para esas señales de VCD era la formación de posibles organizaciones macromoleculares, también se optimizaron mediante cálculos de DFT las estructuras de dos agregados moleculares similares estructuralmente al compuesto (*S,S*)-**4**, ya que como se mostró en la Figura 169 ambos compuestos presentaron señales de VCD muy similares en forma. A continuación, se muestran las estructuras del compuesto (*S,S*)-**4** y de los agregados moleculares en los que dos moléculas de (*S*)-**23** se encuentran coordinadas a un único átomo de Ag(I).

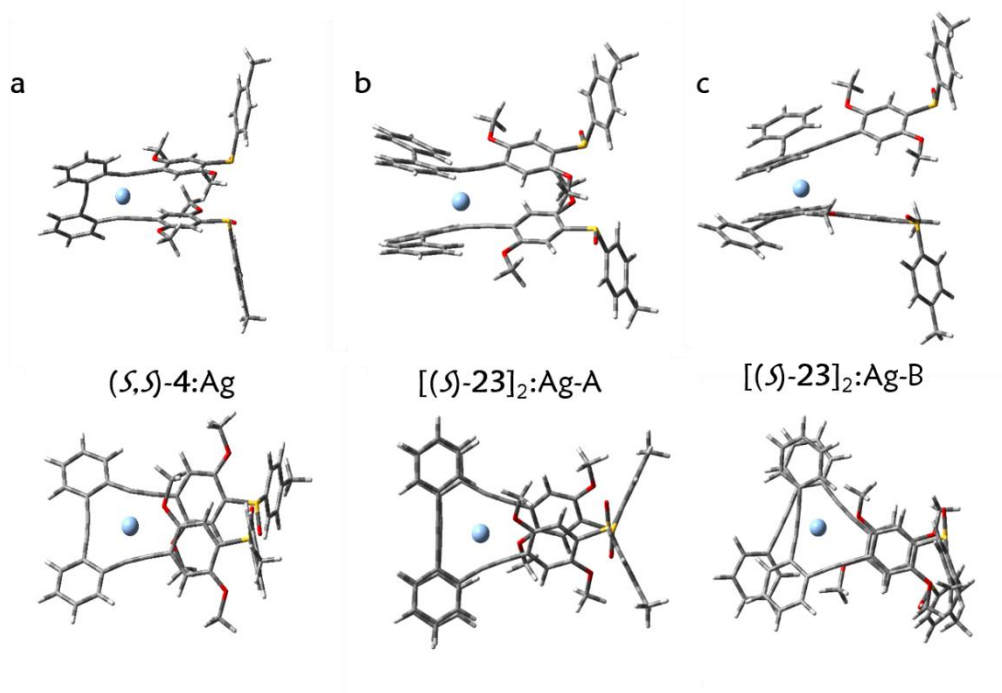


Figura 177. Vista lateral y superior de (a) (*S,S*)-**4**:Ag; (b) y (c) agregados moleculares del compuesto (*S*)-**23**.

Los espectros de IR y de VCD, donde puede verse la comparación de los resultados obtenidos con los datos registrados experimentalmente, se muestran en las siguientes figuras.

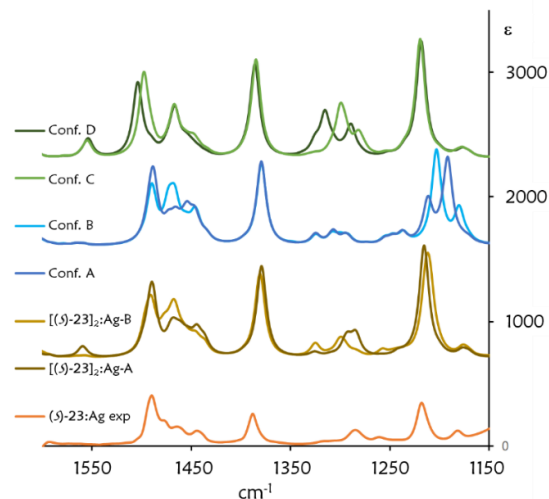


Figura 178. Espectro de IR de los conformeros y agregados de Ag(I) del compuesto (S)-23.

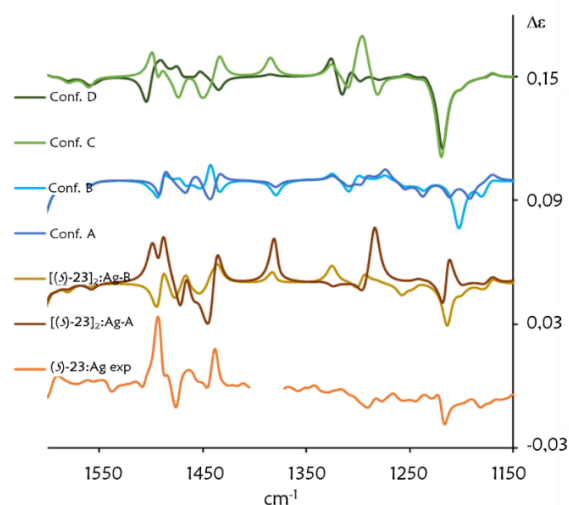


Figura 179. Espectro de VCD de los conformeros y agregados de Ag(I) del compuesto (S)-23.

Como puede observarse en las gráficas anteriores tan solo uno de los conformeros de mayor energía (conformero D) presentó una banda positiva alrededor de 1490cm^{-1} . Sin embargo, uno de los agregados moleculares presentó ciertas similitudes en forma con las bandas obtenidas experimentalmente para el compuesto (S)-23. Por lo que, aunque no se consiguió encontrar la estructura correcta ya que el análisis realizado no fue exhaustivo, parece que las señales observadas en el espectro de VCD podrían explicarse por la formación de agregados diméricos que albergan un catión de Ag(I) en su interior.

CHAPTER III

CONCLUSIONS

Conclusions

- We have synthesized two novel families of enantiopure acyclic α -OPES, which contain one or two enantiopure sulfinyl groups. These compounds could incorporate up to two silver atoms in their backbones through carbophilic interactions with the alkynes.
- In both cases, we observed an efficient transfer of chirality from the stereogenic sulphur to the aromatic helically folded system after complexation with silver cation.
- Chiroptical properties (CD, CPL and VCD) showed that helix inversion after complexation with silver cation takes place. In this way some of them can be considered as CD, CPL and even VCD chiroptical switches.
- In general, the chiral helical structures are better stabilized with the two capping sulfoxide groups instead only one group.

CHAPTER III

EXPERIMENTAL SECTION

GENERAL INFORMATION

The following palladium catalysts, *trans*-dichlorobis(triphenylphosphine) palladium(II) ($\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2$) and *trans*-dichlorobis(acetonitrile)palladium(II) ($\text{Pd}(\text{CH}_3\text{CN})_2\text{Cl}_2$), were prepared from palladium(II) chloride (PdCl_2) according to previously described procedures.¹⁷³ All reagents and solvents (CH_2Cl_2 , EtOAc, hexane, THF, $i\text{Pr}_2\text{NH}$, Et_3N) were purchased from standard chemical suppliers and used without further purification. Dry THF was freshly distilled over Na/benzophenone. Thin-layer chromatography analysis was performed on aluminium-backed plates coated with silica gel 60 (230-240 mesh) with F_{254} indicator. The spots were visualized with UV light (254 nm and 360 nm) and/or stained with phosphomolybdic acid (10% ethanol solution) and subsequent heating. Chromatography purifications were performed with silica gel 60 (40-63 μm).

^1H and ^{13}C NMR spectra were recorded on Varian 300, 400, 500 or 600 MHz spectrometers, at a constant temperature of 298 K. Chemical shifts are reported in ppm using residual solvent peak as reference (CDCl_3 : $\delta = 7.26$ ppm, CD_2Cl_2 : $\delta = 5.32$ ppm, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$: $\delta = 2.05$ ppm). Data are reported as follows: chemical shift, multiplicity (s: singlet, d: doublet, t: triplet, q: quartet, quint: quintuplet, hept: heptuplet, m: multiplet, dd: doublet of doublets, dt: doublet of triplets, td: triplet of doublets, bs: broad singlet), coupling constant (J in Hz) and integration; ^{13}C NMR spectra were recorded at 75, 101, 126 or 151 MHz using broadband proton decoupling and chemical shifts are reported in ppm using residual solvent peaks as reference (CDCl_3 : $\delta = 77.16$ ppm, CD_2Cl_2 : $\delta = 54.00$ ppm, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$: $\delta = 29.84$ ppm). Carbon multiplicities were accomplished by DEPT techniques. High-resolution mass spectra (HRMS) were recorded using EI at 70eV or FAB on a Micromass VG AutoSpec (Waters), by MALDI-TOF mass spectra carried out on a Bruker Ultraflex III mass spectrometer or by ESI mass spectrometry carried out on a Waters Xevo G2-XS QToF mass spectrometer.

¹⁷³ N. Miyaura, A. Suzuki, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1979**, 866-867.

1. General details

The following known compounds were isolated as pure samples and showed NMR spectra identical to reported data: (*S*)-**1**,^{156a} **1**,¹⁷⁴ **12**,¹⁷⁵ **13**,¹⁷⁵ **15**,¹⁷⁵ **16**,¹⁷⁵ **18**,¹⁷⁶ **19**.¹⁷⁶

2. General Procedures (GP)

Representative Sonogashira coupling reaction of **11** (GP1)

A solution of the terminal alkyne (1.2 to 1.5 mmol per halogen atom) dissolved in the minimum volume of THF and with 2 mL of *i*Pr₂NH was added dropwise to a carefully degassed solution of Pd(CH₃CN)₂Cl₂ (3 mol%), P*t*Bu₃·HBF₄ (6 mol%), CuI (3 mol%) and the aryl bromide (1 mmol) in 10 mL of *i*Pr₂NH. The reaction was stirred between 3-16 h at room temperature under argon atmosphere. The mixture was then diluted with EtOAc, washed with saturated aq. NH₄Cl solution, dried over anhydrous Na₂SO₄ and the solvent was removed under reduced pressure. The residue was purified by flash chromatography (EtOAc/Hexane mixtures or CH₂Cl₂/Hexane mixtures) to give the corresponding coupling product.

Representative protocol for the removal of protecting silyl groups (GP2)

To a solution of the starting silyl derivative (1 mmol) in THF (10 ml) with a 5-6 drops of water, P*t*Bu₃·HBF₄ (1.5 mmol) was added, and the mixture was stirred at room temperature until complete consumption of the starting material (TLC, 1 h). The solution was diluted with water (10 ml) and extracted with EtOAc. The combined organic layers were washed with brine and dried over anhydrous Na₂SO₄. The solvent was removed under reduced pressure and the residue was purified by flash chromatography (EtOAc/Hexane mixtures or CH₂Cl₂/Hexane mixtures) to give the pure product.

Representative Sonogashira coupling reaction of aryl bromide/(*S*)-**1** (GP3)

A solution of the terminal alkyne (1.2 to 1.5 mmol per halogen atom) dissolved in the minimum volume of THF and with 2 mL of *i*Pr₂NH was added dropwise at 60 °C during

¹⁷⁴ T. R. Schulte, J. J. Holstein, L. Krause, R. Michel, D. Stalke, E. Sakuda, K. Umakoshi, G. Longhi, S. Abbate, G. H. Clever, *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, *139*, 6863-6866.

¹⁷⁵ I. V. Alabugin, K. Gilmore, S. Patil, M. Manoharan, S. V. Kovalenko, R. J. Clark, I. Ghiviriga, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 11535-11545.

¹⁷⁶ J. Bucher, T. Stößler, M. Rudolph, F. Rominger, A. S. K. Hashmi, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 1666-1670.

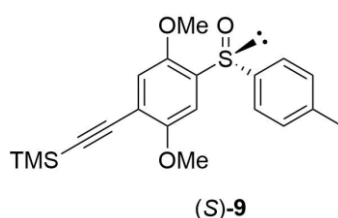
2 h to a carefully degassed solution of $\text{Pd}(\text{CH}_3\text{CN})_2\text{Cl}_2$ (3 mol%), $\text{P}t\text{Bu}_3\cdot\text{HBF}_4$ (6 mol%), CuI (3 mol%) and aryl bromide/(*S*)-**1** (1 mmol) in 10 mL of Pr_2NH . Afterwards, the reaction was stirred at room temperature under argon atmosphere during 16 h. The mixture was then diluted with EtOAc, washed with saturated aq. NH_4Cl solution, dried over anhydrous Na_2SO_4 and the solvent was removed under reduced pressure. The residue was purified by flash chromatography (EtOAc/Hexane mixtures or CH_2Cl_2 /Hexane mixtures) to give the corresponding coupling product.

Representative Sonogashira coupling of aryl iodides (GP4)

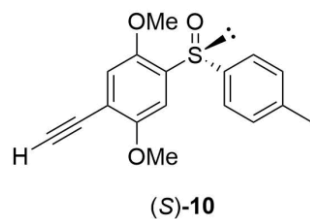
A solution of the terminal alkyne (1.2 mmol to 1.5 mmol per halogen atom) dissolved in the minimum volume of THF and with 2 mL of Et_3N was added dropwise to a carefully degassed solution of $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2$ (5 mol%), CuI (10 mol%) and the aryl iodide (1 mmol) in 10 mL of Et_3N . The reaction was stirred between 3-16 h at room temperature under argon atmosphere. The mixture was then diluted with EtOAc or CH_2Cl_2 , washed with saturated aq. NH_4Cl solution, dried over anhydrous Na_2SO_4 and the solvent was removed under reduced pressure. The residue was purified by flash chromatography (EtOAc/Hexane mixtures) to give the corresponding coupling product.

3. Synthesis and analytical characterization of the disulfoxides

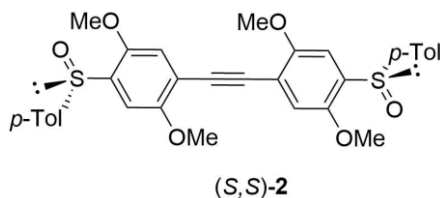
Characterization of compounds (*S,S*)-**2-8** and intermediates



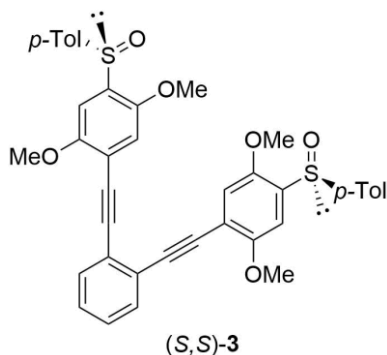
Compound (*S*)-9**** was prepared from (*S*)-**1** (300 mg, 0.84 mmol) and TMSA (124 mg, 1.27 mmol) according to previously described *GP3* to give (*S*)-**9** in 92 % yield (289 mg) as a white solid. **¹H NMR** (300 MHz, CDCl_3) δ 7.53 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 7.48 (s, 1H), 7.20 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 6.89 (s, 1H), 3.93 (s, 3H), 3.70 (s, 3H), 2.34 (s, 3H), 0.25 (s, 9H). **¹³C NMR** (75 MHz, CDCl_3) δ 155.8 (C), 148.8 (C), 142.1 (C), 141.7 (C), 134.9 (C), 129.8 (CH), 125.6 (CH), 116.7 (CH), 115.1 (C), 106.7 (CH), 100.8 (C), 100.4 (C), 56.8 (CH_3), 56.3 (CH_3), 21.6 (CH_3), 0.1 (CH_3). **HRMS** (ESI): m/z $[\text{M}-\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{25}\text{O}_3\text{SSi}$: 373.1288; found: 373.1292.



Compound (S)-10 was prepared from (S)-9 (289 mg, 0.78 mmol) according to previously described *GP2* to give (S)-10 in 96% yield (224 mg) as a pale solid. $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 7.57 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 7.53 (s, 1H), 7.22 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 6.93 (s, 1H), 3.96 (s, 3H), 3.71 (s, 3H), 3.39 (s, 1H), 2.34 (s, 3H). $^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ 155.9 (C), 148.7 (C), 141.8 (C), 141.7 (C), 135.3 (C), 129.7 (CH), 125.4 (CH), 116.6 (CH), 113.8 (C), 106.5 (CH), 82.9 (CH), 79.3 (C), 56.7 (CH_3), 56.2 (CH_3), 21.4 (CH_3). **HRMS (ESI):** m/z $[\text{M}-\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{O}_3\text{S}$: 301.0892; found: 301.0882.

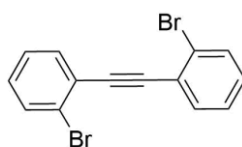


Compound (S,S)-2 was prepared from (S)-1 (100 mg, 0.28 mmol) and (S)-10 (127 mg, 0.42 mmol) according to previously described *GP3* to give (S,S)-2 in 89% yield (144 mg) as a pale solid. $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CD_2Cl_2) δ 7.57 (d, $J = 8.2$ Hz, 4H), 7.50 (s, 2H), 7.25 (d, $J = 8.0, 0.7$ Hz, 4H), 6.99 (s, 2H), 3.97 (s, 6H), 3.74 (s, 6H), 2.36 (s, 6H). $^{13}\text{C NMR}$ (126 MHz, CD_2Cl_2) δ 155.9 (C), 149.5 (C), 142.9 (C), 142.3 (C), 136.1 (C), 130.3 (CH), 125.8 (CH), 116.6 (CH), 115.4 (C), 107.2 (CH), 91.2 (C), 57.3 (CH_3), 56.9 (CH_3), 21.7 (CH_3). **HRMS (ESI):** m/z $[\text{M}-\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{32}\text{H}_{31}\text{O}_6\text{S}_2$: 575.1556; found: 575.1556.



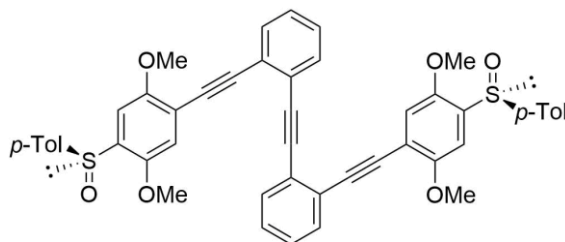
Compound (S,S)-3 was prepared from 1,2-diiodoethene (100 mg, 0.30 mmol) and (S)-10 (273 mg, 0.91 mmol) according to previously described *GP4* to give (S,S)-3 in 81 %

yield (166 mg) as a white solid. $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CD_2Cl_2) δ 7.56 – 7.52 (m, 6H), 7.43 (s, 2H), 7.33 (dd, $J = 5.8, 3.3$ Hz, 2H), 7.25 (d, $J = 7.9$ Hz, 4H), 6.94 (s, 2H), 3.74 (s, 6H), 3.47 (s, 6H), 2.36 (s, 6H). $^{13}\text{C NMR}$ (126 MHz, CD_2Cl_2) δ 155.9 (C), 149.4 (C), 143.0 (C), 142.3 (C), 136.2 (C), 132.3 (CH), 130.2 (CH), 129.0 (CH), 126.2 (C), 125.7 (CH), 116.8 (CH), 115.5 (C), 107.1 (CH), 94.0 (C), 90.0 (C), 57.0 (CH_3), 56.5 (CH_3), 21.6 (CH_3). **HRMS** (MALDI): m/z $[\text{M}-\text{Na}]^+$ calcd for $\text{C}_{40}\text{H}_{34}\text{NaO}_6\text{S}_2$: 697.1689; found: 697.1662.



13

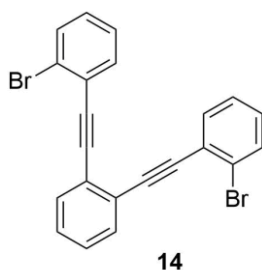
Compound 13 was prepared from 1-bromo-2-iodobenzene (200 mg, 0.71 mmol) and **12** (154 mg, 0.85 mmol) according to previously described *GP4* to give **13** in 93 % yield (221 mg) as a white solid. $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 7.65 – 7.59 (m, 4H), 7.31 (td, $J = 7.6, 1.3$ Hz, 2H), 7.20 (td, $J = 7.7, 1.7$ Hz, 2H). $^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ 133.8 (CH), 132.7 (CH), 129.9 (CH), 127.2 (CH), 125.7 (C), 125.3 (C), 92.4 (C). **HRMS** (EI): m/z $[\text{M}]^+$ calcd for $\text{C}_{14}\text{H}_8\text{Br}_2$: 333.8993; found: 333.8988.



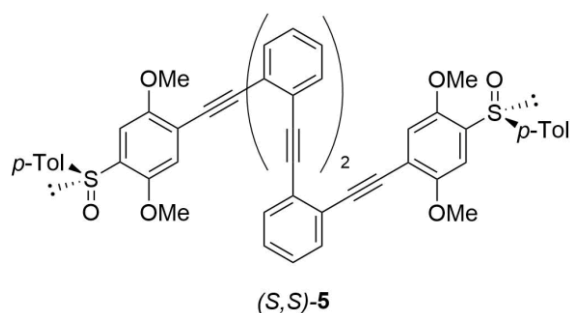
(S,S)-4

Compound (S,S)-4 was prepared from **13** (100 mg, 0.30 mmol) and (*S*)-**10** (268 mg, 0.89 mmol) according to previously described *GP3* to give (*S,S*)-**4** in 73 % yield (168 mg) as a white solid. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CD_2Cl_2) δ 7.60 (d, $J = 7.3$ Hz, 2H), 7.57-7.50 (m, 6H), 7.38 (s, 2H), 7.33 (t, $J = 7.1$ Hz, 4H), 7.23 (d, $J = 7.9$ Hz, 4H), 6.92 (s, 2H), 3.76 (s, 6H), 3.53 (s, 6H), 2.35 (s, 6H). $^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, CD_2Cl_2) δ 155.7 (C), 149.3 (C), 142.9 (C), 142.3 (C), 135.6 (C), 132.6 (CH), 132.2 (CH), 130.2 (CH), 129.0 (CH), 128.9 (CH), 126.3 (C), 126.2 (C), 125.9 (CH), 116.9 (CH), 115.4 (C), 106.8 (CH), 94.0 (C), 92.6 (C), 90.5 (C), 57.0 (CH_3), 56.5 (CH_3), 21.7 (CH_3). **HRMS** (ESI): m/z $[\text{M}-\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{48}\text{H}_{39}\text{O}_6\text{S}_2$: 775.2182; found: 775.2150.

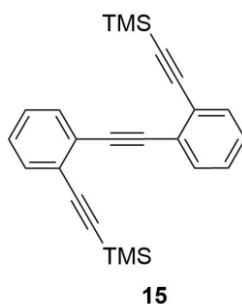
Error! Marcador no definido.



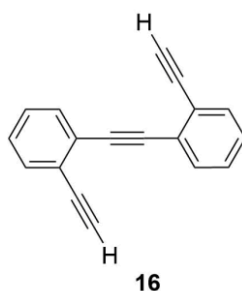
Compound 14 was prepared from 1,2-diiodobenzene (200 mg, 0.61 mmol) and **12** (329 mg, 1.82 mmol) according to previously described *GP4* to give **14** in 90 % yield (238 mg) as a pale solid. $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 7.57 – 7.54 (m, 2H), 7.51 (dd, J = 8.2, 1.3 Hz, 4H), 7.26 (dd, J = 5.8, 3.3 Hz, 2H), 7.18 (td, J = 7.6, 1.3 Hz, 2H), 7.08 (td, J = 7.7, 1.7 Hz, 2H). $^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ 133.8 (CH), 132.6 (CH), 132.5 (CH), 129.7 (CH), 128.5 (CH), 127.1 (CH), 125.7 (C), 125.6 (C), 125.4 (C), 92.7 (C), 92.1 (C). **HRMS** (FAB): m/z $[\text{M}]^+$ calcd for $\text{C}_{22}\text{H}_{12}\text{Br}_2$: 433.9306; found: 433.9306.



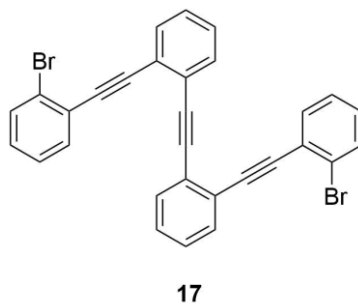
Compound (S,S)-5 was prepared from **14** (100 mg, 0.23mmol) and **(S)-10** (207 mg, 0.69 mmol) according to previously described *GP3* to give **(S,S)-5** in 70 % yield (140 mg) as a white solid. $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CD_2Cl_2) δ 7.58 (dd, J = 5.8, 3.2 Hz, 2H), 7.56 (d, J = 8.2 Hz, 4H), 7.44 (dd, J = 7.8, 1.3 Hz, 2H), 7.36 (s, 2H), 7.31 (dd, J = 7.8, 1.3 Hz, 2H), 7.28 (dd, J = 5.8, 3.2 Hz, 2H), 7.23 (d, J = 8.2 Hz, 4H), 7.20 (td, J = 7.7, 1.3 Hz, 2H), 7.06 (td, J = 7.7, 1.3 Hz, 2H), 6.91 (s, 2H), 3.79 (s, 6H), 3.59 (s, 6H), 2.33 (s, 6H). $^{13}\text{C NMR}$ (126 MHz, CD_2Cl_2) δ 155.7 (C), 149.3 (C), 143.0 (C), 142.2 (C), 135.5 (C), 132.7 (CH), 132.5 (CH), 132.2 (CH), 130.2 (CH), 128.8 (CH), 128.63 (CH), 128.57 (CH), 126.2 (C), 126.0 (C), 125.9 (C), 125.7 (CH), 116.9 (CH), 115.6 (C), 106.7 (CH), 94.0 (C), 92.9 (C), 92.6 (C), 90.1 (C), 56.9 (CH₃), 56.5 (CH₃), 21.6 (CH₃). **HRMS** (MALDI): m/z $[\text{M}-\text{Na}]^+$ calcd for $\text{C}_{56}\text{H}_{42}\text{NaO}_6\text{S}_2$: 897.2315; found: 897.2304.



Compound 15 was prepared from **13** (200 mg, 0.60 mmol) and TMSA (175 mg, 1.79 mmol) according to previously described *GP3* to give **15** in 94 % yield (207 mg) as a brown solid. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.55 – 7.51 (m, 2H), 7.50 – 7.46 (m, 2H), 7.30 – 7.22 (m, 4H), 0.24 (s, 18H). $^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ 132.4 (CH), 132.1 (CH), 128.2 (CH), 128.1 (CH), 126.3 (C), 125.8 (C), 103.6 (C), 98.9 (C), 92.3 (C), 0.2 (CH_3). **HRMS** (EI): m/z $[\text{M}]^+$ calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{26}\text{Si}_2$: 370.1573; found: 370.1566.

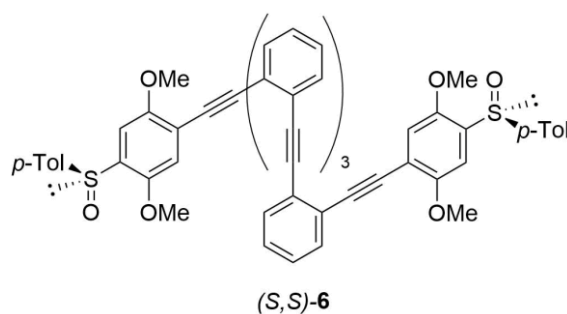


Compound 16 was prepared from **15** (207 mg, 0.56 mmol) according to previously described *GP2* to give **16** in 96 % yield (121 mg) as a white solid. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.59 (d, $J = 7.5$ Hz, 2H), 7.54 (d, $J = 7.3$ Hz, 2H), 7.37 – 7.27 (m, 4H), 3.35 (s, 2H). $^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ 132.8 (CH), 132.4 (CH), 128.6 (CH), 128.3 (CH), 126.4 (C), 124.7 (C), 91.9 (C), 82.3 (C), 81.5 (CH). **HRMS** (EI): m/z $[\text{M}]^+$ calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{10}$: 226.0783; found: 226.0775.

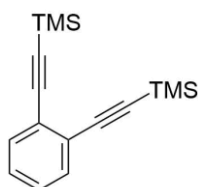


Compound 17 was prepared from **16** (121 mg, 0.54 mmol) and 1-bromo-2-iodobenzene (454 mg, 1.60 mmol) according to previously described *GP4* to give **17** in

72 % yield (206 mg) as a pale solid. $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 7.67 – 7.60 (m, 4H), 7.57 – 7.50 (m, 4H), 7.37 – 7.30 (m, 4H), 7.21 (td, $J = 7.6, 1.3$ Hz, 2H), 7.12 (td, $J = 7.7, 1.7$ Hz, 2H). $^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ 133.8 (CH), 132.5 (CH), 132.4 (CH), 132.4 (CH), 129.5 (CH), 128.4 (CH), 128.3 (CH), 127.0 (CH), 125.9 (C), 125.59 (C), 125.58 (C), 125.5 (C), 92.8 (C), 92.4 (C), 92.2 (C). **HRMS** (MALDI): m/z $[\text{M-Na}]^+$ calcd for $\text{C}_{30}\text{H}_{16}\text{Br}_2\text{Na}$: 556.9511; found: 556.9495.



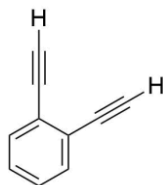
Compound (S,S)-6 was prepared from **17** (100 mg, 0.19 mmol) and (*S*)-**10** (168 mg, 0.56 mmol) according to previously described *GP3* to give (*S,S*)-**6** in 63 % yield (115 mg) as a white solid. $^1\text{H NMR}$ (600 MHz, CD_2Cl_2) δ 7.56 (dd, $J = 7.6, 1.3$ Hz, 2H), 7.54 (d, $J = 8.3$ Hz, 4H), 7.52 (dd, $J = 7.6, 1.1$ Hz, 2H), 7.49 (dd, $J = 7.6, 1.3$ Hz, 2H), 7.42 (dd, $J = 7.7, 1.3$ Hz, 2H), 7.38 (s, 2H), 7.32 (td, $J = 7.6, 1.5$ Hz, 2H), 7.28 (td, $J = 7.5, 1.5$ Hz, 2H), 7.23 (d, $J = 8.0$ Hz, 4H), 7.19 (td, $J = 7.6, 1.4$ Hz, 2H), 7.14 (td, $J = 7.6, 1.4$ Hz, 2H), 6.92 (s, 2H), 3.82 (s, 6H), 3.55 (s, 6H), 2.34 (s, 6H). $^{13}\text{C NMR}$ (151 MHz, CD_2Cl_2) δ 155.8 (C), 149.3 (C), 143.0 (C), 142.2 (C), 135.5 (C), 132.7 (CH), 132.6 (CH), 132.6 (CH), 132.3 (CH), 130.2 (CH), 128.81 (CH), 128.80 (CH), 128.7 (CH), 128.6 (CH), 126.2 (C), 126.12 (C), 126.05 (C), 126.0 (C), 125.8 (CH), 116.8 (CH), 115.6 (C), 106.8 (CH), 94.2 (C), 93.0 (C), 92.69 (C), 92.67 (C), 90.2 (C), 57.1 (CH_3), 56.5 (CH_3), 21.7 (CH_3). **HRMS** (ESI): m/z $[\text{M-H}]^+$ calcd for $\text{C}_{64}\text{H}_{47}\text{O}_6\text{S}_2$: 975.2808; found: 975.2815.



18

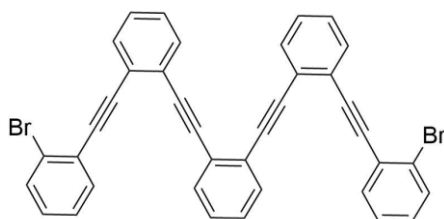
Compound 18 was prepared from 1,2-diiodobenzene (200 mg, 0.61 mmol) and TMSA (179 mg, 1.82 mmol) according to previously described *GP4* to give **18** in 96 % yield (157 mg) as a yellow oil. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.46 – 7.42 (m, 2H), 7.24 – 7.20 (m,

2H), 0.26 (s, 18H). ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ 132.4 (CH), 128.2 (CH), 125.9 (C), 103.4 (C), 98.6 (C), 0.2 (CH_3). HRMS (EI): m/z $[\text{M}]^+$ calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{Si}_2$: 270.1260; found: 270.1256.



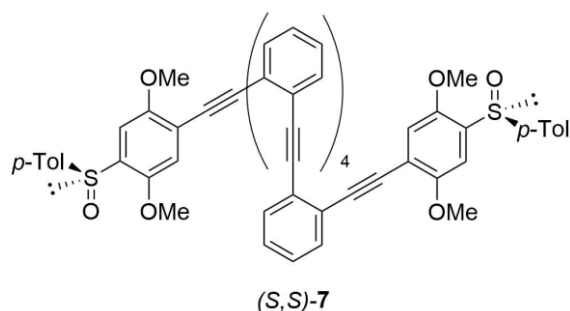
19

Compound 19 was prepared from **18** (157 mg, 0.58 mmol) according to previously described *GP2* to give **19** in 88 % yield (64 mg) as a pale oil. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.62 – 7.43 (m, 2H), 7.40 – 7.23 (m, 2H), 3.40 (s, 2H). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 132.7 (CH), 128.6 (CH), 125.1 (C), 81.9 (C), 81.4 (CH).

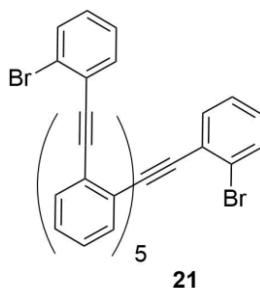


20

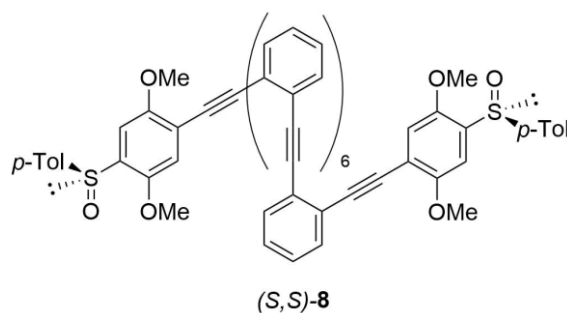
Compound 20 was prepared from **13** (514 mg, 1.53 mmol, 3 eq) and **19** (64 mg, 0.51 mmol, 1 eq) according to previously described *GP3* to give **20** in 65 % yield (210 mg) as a pale oil. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.54 (dd, $J = 5.8, 3.4$ Hz, 2H), 7.50 – 7.42 (m, 8H), 7.22 (dd, $J = 5.9, 3.3$ Hz, 2H), 7.19 – 7.08 (m, 6H), 7.02 (t, $J = 7.7$ Hz, 2H). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 133.7 (CH), 132.5 (CH), 132.4 (CH), 132.2 (CH), 129.5 (CH), 128.3 (CH), 128.20 (CH), 128.16 (CH), 127.1 (CH), 126.0 (C), 125.8 (C), 125.5 (C), 125.3 (C), 92.8 (C), 92.54 (C), 92.49 (C), 92.1 (C). Two carbons are not observed, probably due to overlapping with other carbons. HRMS (MALDI): m/z $[\text{M}-\text{Na}]^+$ calcd for $\text{C}_{38}\text{H}_{20}\text{Br}_2\text{Na}$: 656.9824; found: 656.9817.



Compound (S,S)-7 was prepared from **20** (100 mg, 0.16 mmol) and (*S*)-**10** (142 mg, 0.47 mmol) according to previously described *GP2* to give (*S,S*)-**7** in 62 % yield (105 mg) as a pale solid. $^1\text{H NMR}$ (600 MHz, CD_2Cl_2) δ 7.57 – 7.50 (m, 12H), 7.40 (s, 2H), 7.37 (dd, $J = 5.8, 3.3$ Hz, 2H), 7.30 – 7.22 (m, 12H), 7.07 (dd, $J = 5.8, 3.3$ Hz, 2H), 6.93 (s, 2H), 3.83 (s, 6H), 3.57 (s, 6H), 2.34 (s, 6H). $^{13}\text{C NMR}$ (151 MHz, CD_2Cl_2) δ 155.8 (C), 149.3 (C), 143.0 (C), 142.2 (C), 135.6 (C), 132.70 (CH), 132.68 (CH), 132.62 (CH), 132.59 (CH), 132.3 (CH), 130.2 (CH), 128.81 (CH), 128.80 (CH), 128.6 (CH), 128.5 (CH), 126.2 (C), 126.14 (C), 126.12 (C), 126.06 (C), 125.9 (C), 125.8 (CH), 116.8 (CH), 115.6 (C), 106.9 (CH), 94.2 (C), 93.0 (C), 92.80 (C), 92.75 (C), 92.7 (C), 90.1 (C), 57.1 (CH_3), 56.6 (CH_3), 21.7 (CH_3). One carbon is not observed, probably due to overlapping with other carbons. **HRMS** (MALDI): m/z $[\text{M}-\text{Na}]^+$ calcd for $\text{C}_{72}\text{H}_{50}\text{NaO}_6\text{S}_2$: 1097.2941; found: 1097.2925.



Compound 21 was prepared from **14** (519 mg, 1.19 mmol, 3 eq) and **19** (50 mg, 0.40 mmol, 1 eq) according to previously described *GP3* to give **21** in 58 % yield (192 mg) as a white solid. $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.62 – 7.53 (m, 12H), 7.51 (dd, $J = 5.8, 3.3$ Hz, 2H), 7.29 – 7.25 (m, 8H), 7.22 (td, $J = 7.5, 1.3$ Hz, 2H), 7.19 (dd, $J = 5.8, 3.3$ Hz, 2H), 7.11 (td, $J = 7.8, 1.7$ Hz, 2H). $^{13}\text{C NMR}$ (126 MHz, CDCl_3) δ 133.8 (CH), 132.5 (CH), 132.4 (CH), 132.4 (CH), 132.28 (CH), 132.27 (CH), 132.2 (CH), 129.5 (CH), 128.4 (CH), 128.20 (CH), 128.15 (CH), 128.1 (CH), 128.0 (CH), 127.1 (CH), 126.00 (C), 125.84 (C), 125.75 (C), 125.73 (C), 125.56 (C), 125.54 (C), 125.31 (C), 92.89 (C), 92.7 (C), 92.6 (C), 92.5 (C), 92.4 (C), 92.0 (C). **HRMS** (MALDI): m/z $[\text{M}-\text{Na}]^+$ calcd for $\text{C}_{54}\text{H}_{28}\text{Br}_2\text{Na}$: 857.0450; found: 857.0411.



Compound (S,S)-8 was prepared from **21** (100 mg, 0.12 mmol) and (*S,S*)-**10** (108 mg, 0.36 mmol) according to previously described *GP3* to give (*S,S*)-**8** in 54 % yield (165 mg) as a pale solid. **¹H NMR** (500 MHz, CD₂Cl₂) δ 7.57 – 7.51 (m, 14H), 7.48 (d, *J* = 7.7 Hz, 2H), 7.41 (d, *J* = 7.7 Hz, 2H), 7.41 (s, 2H), 7.29 (td, *J* = 7.6, 1.3 Hz, 2H), 7.28 – 7.21 (m, 12H), 7.17 (td, *J* = 7.5, 1.2 Hz, 2H), 7.10 (td, *J* = 7.5, 1.3 Hz, 2H), 6.94 (s, 2H), 3.84 (s, 6H), 3.57 (s, 6H), 2.33 (s, 6H). **¹³C NMR** (126 MHz, CD₂Cl₂) δ 155.8 (C), 149.3 (C), 142.9 (C), 142.3 (C), 135.5 (C), 132.71 (CH), 132.69 (CH), 132.65 (CH), 132.6 (CH), 132.3 (CH), 130.3 (CH), 128.8 (CH), 128.68 (CH), 128.67 (CH), 128.64 (CH), 128.57 (CH), 126.18 (C), 126.15 (C), 126.08 (C), 126.07 (C), 126.0 (C), 125.87 (C), 125.79 (CH), 116.8 (CH), 115.6 (C), 106.9 (CH), 94.2 (C), 93.1 (C), 92.9 (C), 92.84 (C), 92.80 (C), 92.75 (C), 92.74 (C), 90.1 (C), 57.1 (CH₃), 56.6 (CH₃), 21.7 (CH₃). Several carbons are not observed, probably due to overlapping with other carbons. **HRMS** (MALDI): *m/z* [M-Na]⁺ calcd for C₈₈H₅₈NaO₆S₂: 1297.3567; found: 1297.3557.

Characterization of complexes of Ag(I)

To perform the titrations 0.024 mmol (1 eq) of the corresponding compound (*S,S*)-**2** to (*S,S*)-**8** were dissolved in 0.5 mL of a 9:1 mixture of CD₂Cl₂: Acetone-*d*₆. On the other hand, a solution of 14 mg (0.072 mmol, 3 eq) of AgBF₄ in 0.3 mL of 9:1 CD₂Cl₂: Acetone-*d*₆ was prepared. Upon stepwise addition of 1 eq. (0.1 mL) of Ag(I) ¹H-NMR spectra were performed.

Complex (S,S)-2:Ag(I):

¹H NMR (400 MHz, 9:1 CD₂Cl₂:Acetone-*d*₆) δ 7.52 (d, *J* = 8.2 Hz, 4H), 7.43 (s, 2H), 7.21 (d, *J* = 8.0 Hz, 4H), 7.01 (s, 2H), 3.90 (s, 6H), 3.69 (s, 6H), 2.29 (s, 6H). **¹³C NMR** (101 MHz, 9:1 CD₂Cl₂:Acetone-*d*₆) δ 155.5 (C), 149.6 (C), 142.7 (C), 142.2 (C), 135.2 (C), 130.4 (CH), 125.9 (CH), 116.7 (CH), 115.2 (C), 107.2 (CH), 90.8 (C), 57.3 (CH₃), 56.8 (CH₃), 21.5 (CH₃).

Complex (*S,S*)-3·Ag(I):

¹H NMR (300 MHz, 9:1 CD₂Cl₂:Acetone-*d*₆) δ 7.70 (dd, *J* = 5.8, 3.4 Hz, 2H), 7.53 (d, *J* = 8.2 Hz, 4H), 7.48 – 7.42 (m, 4H), 7.24 (d, *J* = 8.0 Hz, 4H), 7.13 (s, 2H), 3.93 (s, 6H), 3.64 (s, 6H), 2.33 (s, 6H). A good quality ¹³C NMR spectrum could not be obtained even using long acquisition period owing to the concentration used. Higher concentrations resulted in precipitation of the sample.

Complex (*S,S*)-4·Ag(I):

¹H NMR (500 MHz, 9:1 CD₂Cl₂:Acetone-*d*₆) δ 7.87 – 7.84 (m, 2H), 7.84 – 7.81 (m, 2H), 7.54 (d, *J* = 8.8 Hz, 4H), 7.57 – 7.51 (m, 4H), 7.26 (d, *J* = 8.3 Hz, 4H), 7.24 (s, 2H), 7.08 (s, 2H), 3.81 (s, 6H), 3.61 (s, 6H), 2.33 (s, 6H). ¹³C NMR (126 MHz, 9:1 CD₂Cl₂:Acetone-*d*₆) δ 153.8 (C), 150.0 (C), 143.7 (C), 140.2 (C), 135.6 (C), 134.4 (CH), 133.9 (CH), 130.9 (CH), 130.8 (CH), 130.7 (CH), 126.1 (CH), 124.4 (C), 123.4 (C), 117.2 (CH), 112.9 (C), 106.6 (CH), 93.4 (C), 93.2 (C), 90.2 (C), 57.8 (CH₃), 57.2 (CH₃), 21.7 (CH₃).

Complex (*S,S*)-5·Ag(I):

¹H NMR (500 MHz, 9:1 CD₂Cl₂:Acetone-*d*₆) δ 7.91 (dd, *J* = 5.8, 3.4 Hz, 2H), 7.72 (d, *J* = 7.8 Hz, 2H), 7.61 (dd, *J* = 5.8, 3.3 Hz, 2H), 7.53 (d, *J* = 8.2 Hz, 4H), 7.40 (td, *J* = 7.4, 1.8 Hz, 2H), 7.32 – 7.25 (m, 8H), 7.10 (s, 2H), 6.86 (s, 2H), 3.64 (s, 6H), 3.61 (s, 6H), 2.35 (s, 6H). ¹³C NMR (126 MHz, 9:1 CD₂Cl₂:Acetone-*d*₆) δ 154.5 (C), 149.7 (C), 143.1 (C), 141.8 (C), 137.3 (C), 134.6 (CH), 133.5 (CH), 133.2 (CH), 131.4 (CH), 131.2 (CH), 130.6 (CH), 130.5 (CH), 126.0 (CH), 124.4 (C), 123.6 (C), 122.2 (C), 116.4 (CH), 112.3 (C), 107.0 (CH), 93.40 (C), 93.37 (C), 92.0 (C), 57.6 (CH₃), 56.8 (CH₃), 21.6 (CH₃). One carbon is not observed, probably due to overlapping with another carbon.

Complex (*S,S*)-6·Ag(I):

¹H NMR (500 MHz, 9:1 CD₂Cl₂:Acetone-*d*₆) δ 7.69 (dd, *J* = 5.8, 3.3 Hz, 2H), 7.62 (d, *J* = 7.8 Hz, 2H), 7.55 (d, *J* = 8.1 Hz, 4H), 7.46 (dd, *J* = 5.9, 3.3 Hz, 2H), 7.42 – 7.36 (m, 6H), 7.30 (d, *J* = 8.5 Hz, 4H), 7.27 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H), 7.18 (d, *J* = 7.8 Hz, 2H), 7.12 (s, 2H), 6.83 (s, 2H), 3.68 (s, 6H), 3.60 (s, 6H), 2.37 (s, 6H). ¹³C NMR (126 MHz, 9:1 CD₂Cl₂:Acetone-*d*₆) δ 155.0 (C), 149.4 (C), 143.4 (C), 141.4 (C), 135.7 (C), 134.3 (CH), 133.6 (CH), 133.1 (CH), 132.7 (CH), 131.1 (CH), 131.04 (CH), 131.00 (CH), 130.7 (CH), 130.2 (CH), 126.1 (CH), 124.9 (C), 123.5 (C), 122.7 (C), 122.5 (C), 116.3 (CH), 113.1

(C), 106.9 (CH), 94.4 (C), 94.0 (C), 92.5 (C), 92.2 (C) 57.3 (CH₃), 56.9 (CH₃), 21.7 (CH₃). One carbon is not observed, probably due to overlapping with another carbon.

Complex (*S,S*)-7·Ag(I):

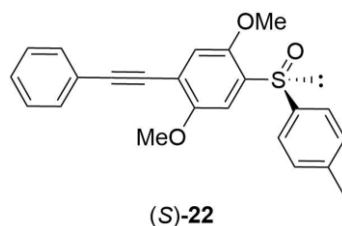
¹H NMR (500 MHz, 9:1 CD₂Cl₂:Acetone-*d*₆) δ 7.64 (d, *J* = 7.3 Hz, 2H), 7.62 (d, *J* = 7.3 Hz, 2H), 7.49 (d, *J* = 8.3 Hz, 4H), 7.49 – 7.43 (m, 2H), 7.35 (td, *J* = 7.6, 1.2 Hz, 2H), 7.30 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 7.27 (dd, *J* = 7.7, 1.4 Hz, 2H), 7.24 (d, *J* = 8.1 Hz, 4H), 7.15 (td, *J* = 7.7, 1.2 Hz, 2H), 7.12 – 7.08 (m, 6H), 7.05 (s, 2H), 6.64 (s, 2H), 3.59 (s, 6H), 3.53 (s, 6H), 2.34 (s, 6H). ¹³C NMR (101 MHz, 9:1 CD₂Cl₂:Acetone-*d*₆) δ 155.0 (C), 149.3 (C), 143.5 (C), 141.2 (C), 134.6 (C), 134.0 (CH), 133.3 (CH), 133.2 (CH), 133.1 (CH), 132.6 (CH), 130.9 (CH), 130.74 (CH), 130.66 (CH), 130.4 (CH), 129.9 (CH), 126.1 (CH), 125.1 (C), 123.7 (C), 123.0 (C), 122.6 (C), 116.3 (CH), 113.4 (C), 106.7 (CH), 94.6 (C), 93.8 (C), 93.0 (C), 92.6 (C), 92.4 (C), 92.1 (C), 57.1 (CH₃), 56.7 (CH₃), 21.6 (CH₃). Two carbons are not observed, probably due to overlapping with another carbon.

Complex (*S,S*)-8·Ag(I):

A good quality ¹H and ¹³C NMR spectra could not be obtained even using long acquisition period owing to the precipitation of the sample.

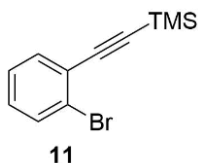
4. Synthesis and analytical characterization of the monosulfoxides

Characterization of compounds (*S*)-22-28 and intermediates

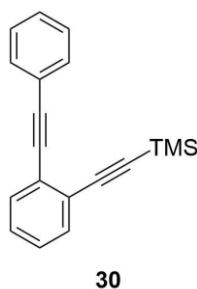


Compound (*S*)-22 was prepared from phenylacetylene (46 μl, 0.42 mmol) and (*S*)-1 (100 mg, 0.28 mmol) according to previously described *GP3*. The residue was purified by flash column chromatography (SiO₂, Hexane/AcOEt 7:3) to give (*S*)-22 (87 mg, 82%) as a white solid. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.58 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 7.56 – 7.53 (m, 2H), 7.53 (s, 1H), 7.36 – 7.33 (m, 3H), 7.23 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 6.98 (s, 1H), 3.98 (s, 3H), 3.75 (s, 3H), 2.36 (s, 3H). ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 155.5 (C), 149.0 (C), 142.2 (C), 141.8 (C), 134.6 (C), 131.9 (CH), 129.9 (CH), 128.7 (CH), 128.5 (CH), 125.6 (CH),

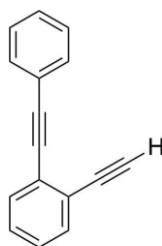
123.1 (C), 116.3 (CH), 115.5 (C), 106.8 (CH), 95.3 (C), 85.1 (C), 56.9 (CH₃), 56.4 (CH₃), 21.6 (CH₃). **HRMS (EI):** m/z [M]⁺ calcd for C₂₃H₂₀O₃Si: 376.1133; found: 376.1129.



Compound 11: Trimethylsilylacetylene (4.39 mL, 31.80 mmol) was added dropwise to a carefully degassed solution of Pd(PPh₃)₂Cl₂ (294 mg, 0.42 mmol), CuI (200 mg, 1.06 mmol) and 2-bromoiodobenzene (2.66 mL, 21.20 mmol) in Et₃N (30 mL). The reaction was stirred during 1 h at room temperature under argon atmosphere. The mixture was then diluted with EtOAc, washed with saturated aq NH₄Cl solution, dried over anhydrous Na₂SO₄ and the solvent was removed under reduced pressure. The residue was purified by flash chromatography (SiO₂, Hexane) to give the compound **11** (5.31 g, 99%) as a yellow oil. ¹H and ¹³C NMR spectra matched to the reported ones.¹⁷⁴

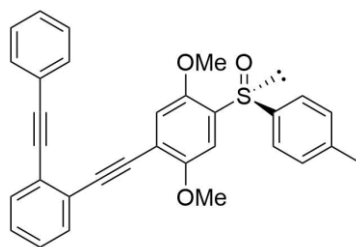


Compound 30 was prepared from phenylacetylene (4.94 mL, 45.00 mmol) and **11** (7.59 g, 30.00 mmol) according to previously described *GPI*. The residue was purified by flash column chromatography (SiO₂, Hexane) to give **30** (8.23 mg, 99%) as a yellow oil. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.59 – 7.55 (m, 2H), 7.52 (ddd, *J* = 7.0, 5.0, 1.9 Hz, 2H), 7.38 – 7.33 (m, 3H), 7.32 – 7.23 (m, 2H), 0.28 (s, 9H). ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 132.4 (CH), 131.9 (CH), 128.5 (CH), 128.4 (CH), 128.3 (CH), 128.0 (CH), 126.3 (C), 125.8 (C), 123.5 (C), 103.6 (C), 98.8 (C), 93.6 (C), 88.4 (C), 0.2 (CH₃). One CH is not observed, probably due to overlapping with other CH. **HRMS (EI):** m/z [M]⁺ calcd for C₁₉H₁₈Si: 274.1178; found: 274.1166.



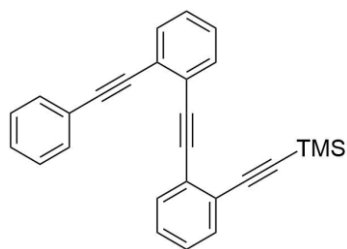
36

Compound 36 was prepared from **30** (8.23 g, 30.00 mmol) according to previously described *GP2*. The residue was purified by flash column chromatography (SiO₂, Hexane) to give **36** (5.39 g, 89%) as a yellow oil. **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ 7.60 – 7.56 (m, 2H), 7.56 – 7.53 (m, 2H), 7.38 – 7.34 (m, 3H), 7.34 – 7.26 (m, 2H), 3.37 (s, 1H). **¹³C NMR** (101 MHz, CDCl₃) δ 132.7 (CH), 131.9 (CH), 128.7 (CH), 128.6 (CH), 128.5 (CH), 128.1 (CH), 126.5 (C), 124.8 (C), 123.3 (C), 93.7 (C), 88.0 (C), 82.4 (C), 81.3 (CH). One CH is not observed, probably due to overlapping with other CH. **HRMS** (EI): *m/z* [M]⁺ calcd for C₁₆H₁₀: 202.0783; found: 202.0789.



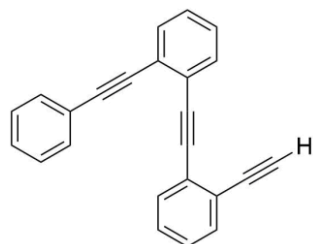
(S)-23

Compound (S)-23 was prepared from **36** (85 mg, 0.42 mmol) and (*S*)-**1** (100 mg, 0.28 mmol) according to previously described *GP3*. The residue was purified by flash column chromatography (SiO₂, Hexane/AcOEt 7:3) to give (*S*)-**23** (106 mg, 79%) as a white solid. **¹H NMR** (600 MHz, CDCl₃) δ 7.60 – 7.54 (m, 6H), 7.51 (s, 1H), 7.34 – 7.27 (m, 5H), 7.23 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 6.97 (s, 1H), 3.87 (s, 3H), 3.58 (s, 3H), 2.36 (s, 3H). **¹³C NMR** (151 MHz, CDCl₃) δ 155.5 (C), 149.0 (C), 142.3 (C), 141.7 (C), 134.8 (C), 132.1 (CH), 131.9 (CH), 129.9 (CH), 128.6 (CH), 128.43 (CH), 128.40 (CH), 128.1 (CH), 126.1 (C), 125.9 (C), 125.6 (CH), 123.5 (C), 116.5 (CH), 115.5 (C), 106.9 (CH), 94.1 (C), 93.7 (C), 89.5 (C), 88.4 (C), 56.8 (CH₃), 56.2 (CH₃), 21.6 (CH₃). One CH is not observed, probably due to overlapping with other CH. **HRMS** (EI): *m/z* [M]⁺ calcd for C₃₁H₂₄O₃S: 476.1446; found: 476.1445.



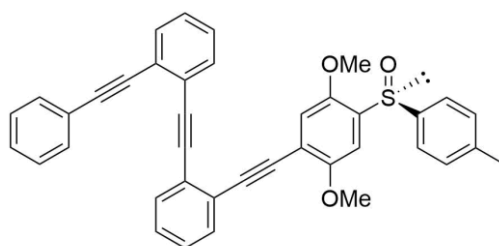
31

Compound 31 was prepared from **36** (5.39 g, 26.65 mmol) and **11** (7.42 g, 29.32 mmol) according to previously described *GP1*. The residue was purified by flash column chromatography (SiO_2 , Hexane) to give **31** (9.28 g, 93%) as a yellow oil. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.62 – 7.49 (m, 6H), 7.35 – 7.29 (m, 5H), 7.29 – 7.25 (m, 2H), 0.22 (s, 9H). $^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ 132.44 (CH), 132.21 (CH), 132.11 (CH), 131.95 (CH), 131.89 (CH), 128.52 (CH), 128.47 (CH), 128.31 (CH), 128.27 (CH), 128.15 (CH), 128.02 (CH), 126.34 (C), 126.08 (C), 126.03 (C), 125.80 (C), 123.52 (C), 103.55 (C), 98.98 (C), 93.89 (C), 92.35 (C), 88.53 (C), 0.07 (CH_3). **HRMS** (ESI+): m/z $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calcd for $\text{C}_{27}\text{H}_{22}\text{SiNa}$: 397.1388; found: 397.1374.



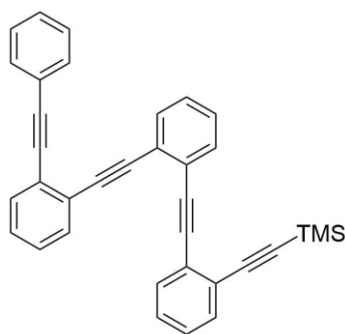
37

Compound 37 was prepared from **31** (9.28 g, 24.78 mmol) according to previously described *GP2*. The residue was purified by flash column chromatography (SiO_2 , Hexane/ CH_2Cl_2 9:1) to give **37** (6.82 g, 91%) as a yellow oil. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.64 – 7.51 (m, 6H), 7.37 – 7.27 (m, 7H), 3.20 (s, 1H). $^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ 132.8 (CH), 132.5 (CH), 132.3 (CH), 132.1 (CH), 132.0 (CH), 128.6 (CH), 128.5 (CH), 128.44 (CH), 128.38 (CH), 128.2 (CH), 128.1 (CH), 126.5 (C), 125.9 (C), 125.8 (C), 124.7 (C), 123.5 (C), 93.7 (C), 92.4 (C), 91.9 (C), 88.4 (C), 82.2 (C), 81.60 (CH). **HRMS** (ESI+): m/z $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{14}\text{Na}$: 325.0993; found: 325.0984.



(S)-24

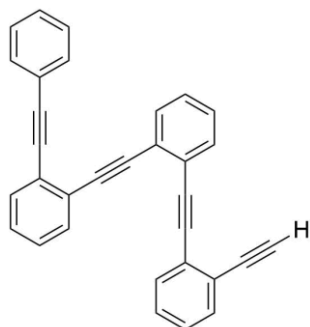
Compound (S)-24 was prepared from **37** (128 mg, 0.42 mmol) and (*S*)-**1** (100 mg, 0.28 mmol) according to previously described *GP3*. The residue was purified by flash column chromatography (SiO₂, Hexane/AcOEt 6:4) to give (*S*)-**24** (122 mg, 75%) as a white solid. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.64 – 7.59 (m, 3H), 7.56 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.53 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.45 – 7.42 (m, 3H), 7.36 – 7.29 (m, 3H), 7.28 – 7.19 (m, 6H), 6.94 (s, 1H), 3.83 (s, 3H), 3.55 (s, 3H), 2.37 (s, 3H). ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 155.3 (C), 148.8 (C), 142.2 (C), 141.7 (C), 134.4 (C), 132.4 (CH), 132.1 (CH), 132.0 (CH), 131.9 (CH), 131.8 (CH), 129.8 (CH), 128.4 (CH), 128.34 (CH), 128.31 (CH), 128.29 (CH), 128.0 (CH), 126.1 (C), 125.99 (C), 125.96 (C), 125.8 (C), 125.6 (CH), 123.2 (C), 116.6 (CH), 115.5 (C), 106.5 (CH), 94.1 (C), 94.0 (C), 92.4 (C), 92.3 (C), 89.8 (C), 88.3 (C), 56.7 (CH₃), 56.1 (CH₃), 21.6 (CH₃). One CH is not observed, probably due to overlapping with other CH. HRMS (EI): *m/z* [M]⁺ calcd for C₃₉H₂₈O₃S: 576.1759; found: 576.1755.



32

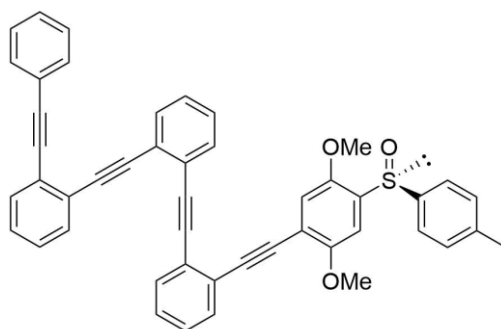
Compound 32 was prepared from **37** (6.82 g, 22.55 mmol) and **11** (6.28 g, 24.81 mmol) according to previously described *GP1*. The residue was purified by flash column chromatography (SiO₂, Hexane/CH₂Cl₂ 9:1) to give **32** (9.73 g, 91%) as a brownish oil. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.63 – 7.59 (m, 3H), 7.59 – 7.56 (m, 1H), 7.56 – 7.51 (m, 3H), 7.49 – 7.45 (m, 1H), 7.35 – 7.27 (m, 7H), 7.25 – 7.18 (m, 2H), 0.24 (s, 9H). ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 132.5 (CH), 132.28 (CH), 132.27 (CH), 132.25 (CH), 132.2 (CH), 132.0 (CH), 131.9 (CH), 128.5 (CH), 128.4 (CH), 128.3 (CH), 128.24 (CH), 128.20 (CH), 128.09 (CH), 128.05 (CH), 126.2 (C), 126.0 (C), 125.9 (C), 125.7 (C), 123.4 (C),

103.6 (C), 98.8 (C), 93.9 (C), 92.6 (C), 92.52 (C), 92.48 (C), 92.3 (C), 88.4 (C), 0.1 (CH₃). One CH and two C are not observed, probably due to overlapping with other CH and C, respectively. **HRMS** (ESI+): m/z [M+Na]⁺ calcd for C₃₅H₂₆SiNa: 497.1701; found: 497.1700.



38

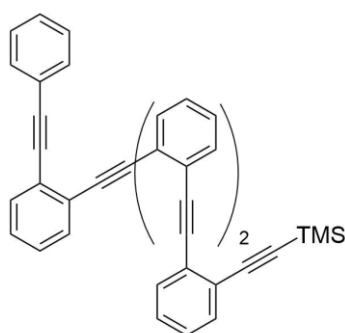
Compound 38 was prepared from **32** (9.73 g, 20.50 mmol) according to previously described *GP2*. The residue was purified by flash column chromatography (SiO₂, Hexane/CH₂Cl₂ 9:1) to give **38** (7.34 g, 89%) as a yellow oil. **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ 7.65 – 7.56 (m, 4H), 7.56 – 7.47 (m, 4H), 7.36 – 7.22 (m, 9H), 3.22 (s, 1H). **¹³C NMR** (101 MHz, CDCl₃) δ 132.60 (CH), 132.56 (CH), 132.5 (CH), 132.39 (CH), 132.35 (CH), 132.0 (CH), 131.9 (CH), 128.53 (CH), 128.46 (CH), 128.4 (CH), 128.34 (CH), 128.29 (CH), 128.26 (CH), 128.1 (CH), 128.0 (CH), 126.5 (C), 126.02 (C), 126.00 (C), 125.9 (C), 125.8 (C), 124.7 (C), 123.4 (C), 93.9 (C), 92.5 (C), 92.42 (C), 92.36 (C), 92.1 (C), 88.4 (C), 82.2 (C), 81.5 (CH). **HRMS** (ESI+): m/z [M+Na]⁺ calcd for C₃₂H₁₈Na: 425.1906; found: 425.1307.



(S)-25

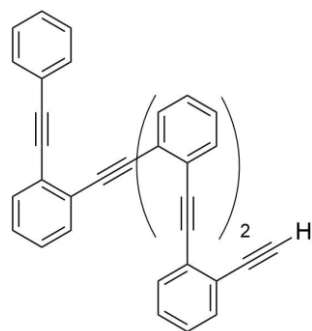
Compound (S)-25 was prepared from **38** (136 mg, 0.34 mmol) and **(S)-1** (100 mg, 0.28 mmol) according to previously described *GP3*. The residue was purified by flash column chromatography (SiO₂, Hexane/AcOEt 1:1) to give **(S)-25** (133 mg, 70%) as a

white solid. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.62 – 7.50 (m, 8H), 7.48 – 7.42 (m, 2H), 7.40 (s, 1H), 7.33 – 7.26 (m, 6H), 7.25 – 7.18 (m, 4H), 7.13 (td, $J = 7.6, 1.4$ Hz, 1H), 6.94 (s, 1H), 3.84 (s, 3H), 3.56 (s, 3H), 2.35 (s, 3H). $^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ 155.3 (C), 148.9 (C), 142.2 (C), 141.7 (C), 134.3 (C), 132.43 (CH), 132.41 (CH), 132.2 (CH), 132.1 (CH), 132.0 (CH), 131.80 (CH), 131.78 (CH), 129.9 (CH), 128.5 (CH), 128.4 (CH), 128.3 (CH), 128.24 (CH), 128.21 (CH), 128.15 (CH), 128.1 (CH), 127.9 (CH), 125.97 (C), 125.96 (C), 125.9 (C), 125.8 (C), 125.70 (C), 125.65 (C), 125.6 (CH), 123.4 (C), 116.5 (CH), 115.5 (C), 106.5 (CH), 94.1 (C), 93.7 (C), 92.9 (C), 92.6 (C), 92.29 (C), 92.28 (C), 89.6 (C), 88.4 (C), 56.7 (CH_3), 56.1 (CH_3), 21.6 (CH_3). **HRMS** (MALDI): m/z $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calcd for $\text{C}_{47}\text{H}_{32}\text{O}_3\text{SNa}$: 669.1964; found: 669.1980.



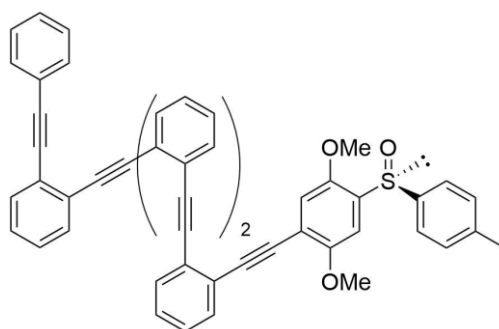
33

Compound 33 was prepared from **38** (7.34 g, 18.25 mmol) and **1** (5.08 g, 20.07 mmol) according to previously described *GPI*. The residue was purified by flash column chromatography (SiO_2 , Hexane/ CH_2Cl_2 85:15) to give **33** (6.92 g, 66%) as a brownish oil. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.66 – 7.60 (m, 2H), 7.59 – 7.51 (m, 7H), 7.48 – 7.44 (m, 1H), 7.33 – 7.26 (m, 7H), 7.26 – 7.24 (m, 2H), 7.23 – 7.19 (m, 2H), 0.25 (s, 9H). $^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ 132.5 (CH), 132.4 (CH), 132.34 (CH), 132.27 (CH), 132.25 (CH), 132.1 (CH), 131.8 (CH), 128.44 (CH), 128.38 (CH), 128.27 (CH), 128.25 (CH), 128.24 (CH), 128.20 (CH), 128.14 (CH), 128.09 (CH), 128.04 (CH), 128.02 (CH), 126.2 (C), 126.0 (C), 125.94 (C), 125.91 (C), 125.8 (C), 125.6 (C), 123.4 (C), 103.7 (C), 98.7 (C), 93.8 (C), 92.7 (C), 92.6 (C), 92.5 (C), 92.44 (C), 92.41 (C), 92.35 (C), 88.5 (C), 0.1 (CH_3). One CH and two C are not observed, probably due to overlapping with other CH and C, respectively. **HRMS** (ESI+): m/z $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calcd for $\text{C}_{43}\text{H}_{30}\text{SiNa}$: 597.2014; found: 597.2016.



39

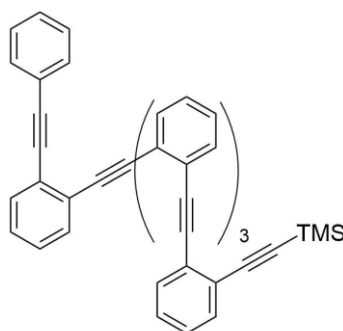
Compound 39 was prepared from **33** (6.92 g, 12.05 mmol) according to previously described *GP2*. The residue was purified by flash column chromatography (SiO_2 , Hexane/ CH_2Cl_2 85:15) to give **39** (4.60 g, 76%) as a yellow oil. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.66 – 7.60 (m, 2H), 7.59 – 7.51 (m, 6H), 7.51 – 7.46 (m, 2H), 7.33 – 7.20 (m, 11H), 3.23 (s, 1H). $^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ 132.6 (CH), 132.5 (CH), 132.39 (CH), 132.37 (CH), 132.3 (CH), 131.84 (CH), 131.83 (CH), 128.6 (CH), 128.43 (CH), 128.39 (CH), 128.24 (CH), 128.21 (CH), 128.19 (CH), 128.14 (CH), 128.08 (CH), 128.0 (CH), 126.5 (C), 126.06 (C), 125.98 (C), 125.92 (C), 125.86 (C), 125.7 (C), 124.6 (C), 123.4 (C), 93.8 (C), 92.7 (C), 92.6 (C), 92.5 (C), 92.4 (C), 92.1 (C), 88.5 (C), 82.3 (C), 81.4 (CH). Three CH and two C are not observed, probably due to overlapping with other CH and C, respectively. **HRMS** (ESI+): m/z $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calcd for $\text{C}_{40}\text{H}_{22}\text{Na}$: 525.1619; found: 5251620.



(S)-26

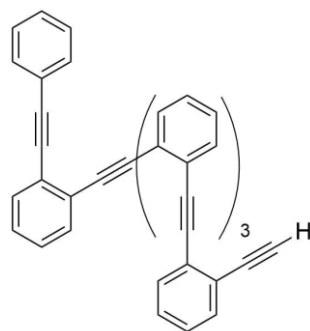
Compound (S)-26 was prepared from **39** (170 mg, 0.34 mmol) and **(S)-1** (100 mg, 0.28 mmol) according to previously described *GP3*. The residue was purified by flash column chromatography (SiO_2 , Hexane/ AcOEt 1:1) to give **(S)-26** (148 mg, 68%) as a white solid. $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.58 – 7.46 (m, 12H), 7.42 (s, 1H), 7.30 – 7.17 (m, 12H), 7.13 (td, $J = 7.6, 1.4$ Hz, 1H), 6.93 (s, 1H), 3.85 (s, 3H), 3.54 (s, 3H), 2.34 (s, 3H). $^{13}\text{C NMR}$ (126 MHz, CDCl_3) δ 155.3 (C), 148.9 (C), 142.2 (C), 141.7 (C), 134.3 (C),

132.4 (CH), 132.32 (CH), 132.28 (CH), 132.25 (CH), 132.2 (CH), 132.1 (CH), 132.0 (CH), 131.9 (CH), 131.8 (CH), 129.9 (CH), 128.44 (CH), 128.38 (CH), 128.3 (CH), 128.2 (CH), 128.1 (CH), 128.0 (CH), 126.0 (C), 125.91 (C), 125.89 (C), 125.86 (C), 125.8 (C), 125.71 (C), 125.65 (C), 125.6 (CH), 123.4 (C), 116.5 (CH), 115.5 (C), 106.6 (CH), 94.2 (C), 93.8 (C), 92.8 (C), 92.51 (C), 92.49 (C), 92.47 (C), 92.39 (C), 92.36 (C), 89.6 (C), 88.5 (C), 56.7 (CH₃), 56.1 (CH₃), 21.6 (CH₃). Six CH and one C are not observed, probably due to overlapping with other CH and C, respectively. **HRMS** (MALDI): m/z [M+Na]⁺ calcd for C₅₅H₃₆O₃SiNa: 799.2277; found: 799.2299.



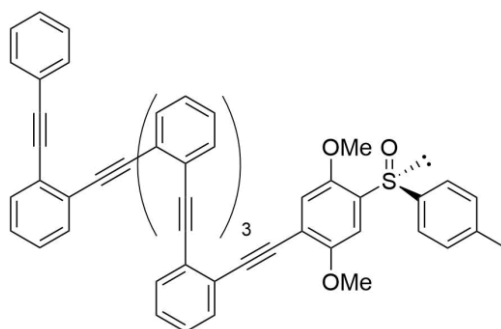
34

Compound 34 was prepared from **39** (4.60 g, 9.15 mmol) and **11** (2.55 g, 10.07 mmol) according to previously described *GPI*. The residue was purified by flash column chromatography (SiO₂, Hexane/CH₂Cl₂ 8:2) to give **34** (3.89 g, 63%) as a brownish oil. **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃) δ 7.63 – 7.55 (m, 7H), 7.55 – 7.51 (m, 4H), 7.48 – 7.44 (m, 1H), 7.32 – 7.23 (m, 11H), 7.23 – 7.19 (m, 2H), 0.26 (s, 9H). **¹³C NMR** (126 MHz, CDCl₃) δ 132.5 (CH), 132.41 (CH), 132.37 (CH), 132.35 (CH), 132.3 (CH), 132.14 (CH), 132.13 (CH), 131.9 (CH), 131.8 (CH), 128.43 (CH), 128.38 (CH), 128.3 (CH), 128.21 (CH), 128.18 (CH), 128.17 (CH), 128.14 (CH), 128.06 (CH), 128.03 (CH), 128.02 (CH), 126.2 (C), 125.94 (C), 125.93 (C), 125.91 (C), 125.88 (C), 125.87 (C), 125.85 (C), 125.8 (C), 125.6 (C), 123.4 (C), 103.7 (C), 98.7 (C), 93.8 (C), 92.62 (C), 92.57 (C), 92.56 (C), 92.54 (C), 92.48 (C), 92.42 (C), 92.41 (C), 88.5 (C), 0.1 (CH₃). Four CH and two C are not observed, probably due to overlapping with other CH and C, respectively. **HRMS** (MALDI): m/z [M+Na]⁺ calcd for C₅₁H₃₄SiNa: 697.2322; found: 697.2321.



40

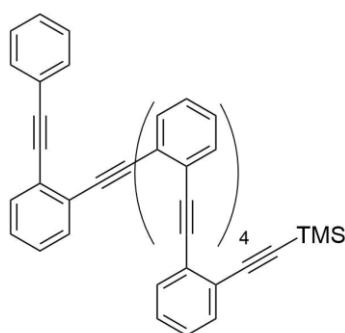
Compound 40 was prepared from **34** (3.89 g, 5.76 mmol) according to previously described *GP2*. The residue was purified by flash column chromatography (SiO_2 , Hexane/ CH_2Cl_2 8:2) to give **40** (2.50 g, 72%) as a yellow oil. $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.62 – 7.51 (m, 11H), 7.50 – 7.47 (m, 1H), 7.33 – 7.20 (m, 13H), 3.24 (s, 1H). $^{13}\text{C NMR}$ (126 MHz, CDCl_3) δ 132.6 (CH), 132.5 (CH), 132.44 (CH), 132.42 (CH), 132.39 (CH), 132.38 (CH), 132.36 (CH), 132.35 (CH), 132.1 (CH), 131.84 (CH), 131.82 (CH), 128.6 (CH), 128.43 (CH), 128.38 (CH), 128.24 (CH), 128.16 (CH), 128.14 (CH), 128.13 (CH), 128.11 (CH), 128.09 (CH), 128.06 (CH), 128.05 (CH), 126.5 (C), 126.0 (C), 125.94 (C), 125.90 (C), 125.87 (C), 125.86 (C), 125.85 (C), 125.8 (C), 125.6 (C), 124.6 (C), 123.4 (C), 93.8 (C), 92.62 (C), 92.60 (C), 92.55 (C), 92.51 (C), 92.50 (C), 92.47 (C), 92.0 (C), 88.6 (C), 82.3 (C), 81.4 (CH). One CH and one C are not observed, probably due to overlapping with other CH and C, respectively. **HRMS** (MALDI): m/z $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calcd for $\text{C}_{48}\text{H}_{26}\text{Na}$: 625.1927; found: 625.1925.



(S)-27

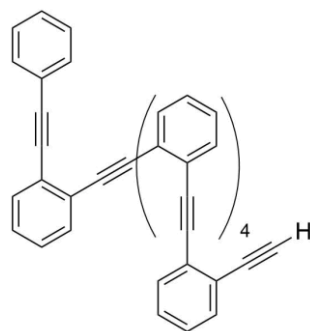
Compound (S)-27 was prepared from **40** (204 mg, 0.34 mmol) and **(S)-1** (100 mg, 0.28 mmol) according to previously described *GP3*. The residue was purified by flash column chromatography (SiO_2 , Hexane/ AcOEt 4:6) to give **(S)-27** (161 mg, 65%) as a white solid. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 9:1 CD_2Cl_2 : $\text{Acetone-}d_6$) δ 7.57 – 7.46 (m, 12H), 7.45 (dd, $J = 7.6, 1.4$ Hz, 1H), 7.40 (dd, $J = 7.6, 1.4$ Hz, 1H), 7.38 (s, 1H), 7.30 – 7.18 (m,

13H), 7.15 (td, $J = 7.6, 1.4$ Hz, 1H), 7.09 (td, $J = 7.6, 1.4$ Hz, 1H), 6.91 (s, 1H), 3.80 (s, 3H), 3.55 (s, 3H), 2.30 (s, 3H). ^{13}C NMR (126 MHz, 9:1 CD_2Cl_2 :Acetone- d_6) δ 155.8 (C), 149.3 (C), 143.0 (C), 142.2 (C), 135.6 (C), 132.8 (CH), 132.71 (CH), 132.65 (CH), 132.60 (CH), 132.58 (CH), 132.56 (CH), 132.29 (CH), 132.26 (CH), 132.1 (CH), 130.2 (CH), 129.0 (CH), 128.9 (CH), 128.80 (CH), 128.78 (CH), 128.7 (CH), 128.6 (CH), 126.2 (C), 126.10 (C), 126.06 (C), 126.0 (C), 125.9 (C), 125.7 (CH), 123.7 (C), 116.8 (CH), 115.6 (C), 106.8 (CH), 94.8 (C), 94.1 (C), 93.0 (C), 92.9 (C), 92.76 (C), 92.75 (C), 92.73 (C), 92.72 (C), 92.70 (C), 90.1 (C), 88.7 (C), 57.0 (CH_3), 56.5 (CH_3), 21.6 (CH_3). Several CH and C are not observed, probably due to overlapping with other CH and C, respectively. **HRMS** (MALDI): m/z $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calcd for $\text{C}_{63}\text{H}_{40}\text{O}_3\text{SNa}$: 899.2590; found: 899.2598.



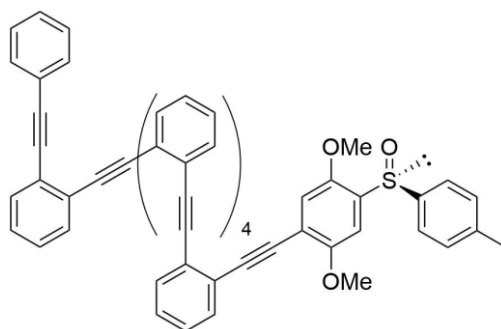
35

Compound 35 was prepared from **40** (2.50 g, 4.15 mmol) and **11** (1.16 g, 4.56 mmol) according to previously described *GPI*. The residue was purified by flash column chromatography (SiO_2 , Hexane/ CH_2Cl_2 8:2) to give **35** (1.93 g, 60%) as a brownish oil. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.62 – 7.49 (m, 13H), 7.48 – 7.44 (m, 1H), 7.31 – 7.17 (m, 15H), 0.25 (s, 9H). ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3) δ 132.5 (CH), 132.42 (CH), 132.38 (CH), 132.37 (CH), 132.36 (CH), 132.30 (CH), 132.25 (CH), 132.1 (CH), 131.8 (CH), 128.44 (CH), 128.39 (CH), 128.3 (CH), 128.21 (CH), 128.19 (CH), 128.17 (CH), 128.16 (CH), 128.15 (CH), 128.12 (CH), 128.08 (CH), 128.06 (CH), 128.05 (CH), 128.0 (CH), 126.2 (C), 126.0 (C), 125.94 (C), 125.91 (C), 125.87 (C), 125.85 (C), 125.8 (C), 125.6 (C), 123.4 (C), 103.7 (C), 98.7 (C), 93.8 (C), 92.7 (C), 92.63 (C), 92.62 (C), 92.55 (C), 92.54 (C), 92.51 (C), 92.50 (C), 92.43 (C), 92.39 (C), 88.5 (C), 0.1 (CH_3). Several CH and C are not observed, probably due to overlapping with other CH and C, respectively. **HRMS** (MALDI): m/z $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calcd for $\text{C}_{59}\text{H}_{38}\text{SiNa}$: 797.2635; found: 797.2604.



41

Compound 41 was prepared from **35** (1.93 g, 2.49 mmol) according to previously described *GP2*. The residue was purified by flash column chromatography (SiO_2 , Hexane/ CH_2Cl_2 8:2) to give **41** (1.24 g, 71%) as a yellow oil. $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.62 – 7.51 (m, 13H), 7.50 – 7.46 (m, 1H), 7.31 – 7.22 (m, 13H), 7.22 – 7.17 (m, 2H), 3.24 (s, 1H). $^{13}\text{C NMR}$ (126 MHz, CDCl_3) δ 132.6 (CH), 132.5 (CH), 132.43 (CH), 132.40 (CH), 132.37 (CH), 132.34 (CH), 132.28 (CH), 132.1 (CH), 131.9 (CH), 131.8 (CH), 128.6 (CH), 128.44 (CH), 128.39 (CH), 128.3 (CH), 128.22 (CH), 128.17 (CH), 128.16 (CH), 128.13 (CH), 128.12 (CH), 128.07 (CH), 128.0 (CH), 126.5 (C), 125.97 (C), 125.95 (C), 125.90 (C), 125.85 (C), 125.83 (C), 125.81 (C), 125.79 (C), 125.6 (C), 124.6 (C), 123.4 (C), 93.8 (C), 92.66 (C), 92.65 (C), 92.6 (C), 92.54 (C), 92.52 (C), 92.51 (C), 92.0 (C), 88.5 (C), 82.3 (C), 81.5 (CH). Several CH and C are not observed, probably due to overlapping with other CH and C, respectively. **HRMS** (MALDI): m/z $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calcd for $\text{C}_{56}\text{H}_{30}\text{Na}$: 725.2240; found: 725.2224.



(S)-28

Compound (S)-28 was prepared from **41** (238 mg, 0.34 mmol) and **(S)-1** (100 mg, 0.28 mmol) according to previously described *GP3*. The residue was purified by flash column chromatography (SiO_2 , Hexane/ AcOEt 4:6) to give **(S)-28** (165 mg, 60%) as a white solid. $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.59 – 7.49 (m, 14H), 7.48 (dd, $J = 7.8, 1.3$ Hz, 1H), 7.44 (dd, $J = 7.8, 1.4$ Hz, 1H), 7.42 (s, 1H), 7.29 – 7.18 (m, 14H), 7.16 (td, $J =$

7.6, 1.6 Hz, 1H), 7.14 (td, $J = 7.6, 1.5$ Hz, 1H), 7.09 (td, $J = 7.6, 1.4$ Hz, 1H), 6.93 (s, 1H), 3.85 (s, 3H), 3.53 (s, 3H), 2.33 (s, 3H). ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3) δ 155.3 (C), 148.9 (C), 142.2 (C), 141.7 (C), 134.4 (C), 132.43 (CH), 132.36 (CH), 132.32 (CH), 132.30 (CH), 132.21 (CH), 132.19 (CH), 132.1 (CH), 132.0 (CH), 131.9 (CH), 131.8 (CH), 129.9 (CH), 128.5 (CH), 128.4 (CH), 128.3 (CH), 128.21 (CH), 128.19 (CH), 128.14 (CH), 128.09 (CH), 128.07 (CH), 128.05 (CH), 128.0 (CH), 126.0 (C), 125.92 (C), 125.88 (C), 125.85 (C), 125.81 (C), 125.80 (C), 125.73 (C), 125.68 (C), 125.57 (CH), 125.56 (C), 123.4 (C), 116.5 (CH), 115.5 (C), 106.6 (CH), 94.2 (C), 93.8 (C), 92.9 (C), 92.8 (C), 92.6 (C), 92.51 (C), 92.50 (C), 92.49 (C), 92.48 (C), 92.44 (C), 92.42 (C), 92.41 (C), 89.6 (C), 88.5 (C), 56.7 (CH_3), 56.1 (CH_3), 21.6 (CH_3). Several CH and C are not observed, probably due to overlapping with other CH and C, respectively. HRMS (MALDI): m/z $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calcd for $\text{C}_{71}\text{H}_{44}\text{O}_3\text{Na}$: 999.2903; found: 999.2865.

Characterization of complexes of Ag(I)

To perform the titrations 0.024 mmol (1 eq) of the corresponding compound (**5**)-**22** to (**5**)-**28** were dissolved in 0.5 mL of a 9:1 mixture of CD_2Cl_2 : Acetone- d_6 . On the other hand, a solution of 14 mg (0.072 mmol, 3 eq) of AgBF_4 in 0.3 mL of 9:1 CD_2Cl_2 : Acetone- d_6 was prepared. Upon stepwise addition of 1 eq. (0.1 mL) of Ag(I) ^1H -NMR spectra were performed.

Complex (5)-22·Ag(I):

^1H NMR (500 MHz, 9:1 CD_2Cl_2 :Acetone- d_6) δ 7.57 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 7.55 – 7.52 (m, 2H), 7.46 (s, 1H), 7.38 – 7.34 (m, 3H), 7.27 (d, $J = 7.9$ Hz, 2H), 7.06 (s, 1H), 3.95 (s, 3H), 3.72 (s, 3H), 2.35 (s, 3H). ^{13}C NMR (126 MHz, 9:1 CD_2Cl_2 :Acetone- d_6) δ 155.6 (C), 149.8 (C), 143.4 (C), 141.5 (C), 133.3 (C), 132.2 (CH), 130.7 (CH), 129.5 (CH), 129.0 (CH), 126.1 (CH), 122.8 (C), 116.9 (CH), 115.9 (C), 107.26 (CH), 95.5 (C), 84.6 (C), 57.3 (CH_3), 56.9 (CH_3), 21.6 (CH_3).

Complex (5)-23·Ag(I):

^1H NMR (400 MHz, 9:1 CD_2Cl_2 :Acetone- d_6) δ 7.74 – 7.63 (m, 2H), 7.61 – 7.51 (m, 4H), 7.46 – 7.36 (m, 4H), 7.36 – 7.29 (m, 2H), 7.25 (d, $J = 7.9$ Hz, 2H), 7.18 – 7.13 (m, 1H), 3.88 – 3.85 (m, 3H), 3.66 (s, 3H), 2.32 (s, 3H). A dynamic equilibrium with the acetone is observed in carbon NMR spectrum.

Complex (5)-24·Ag(I):

¹H NMR (500 MHz, 9:1 CD₂Cl₂:Acetone-*d*₆) δ 7.84 – 7.77 (m, 3H), 7.75 – 7.72 (m, 1H), 7.55 – 7.46 (m, 6H), 7.44 – 7.40 (m, 2H), 7.27 (d, *J* = 7.8 Hz, 2H), 7.14 (s, 1H), 7.09 – 7.02 (m, 4H), 3.70 (s, 3H), 3.68 (s, 3H), 2.35 (s, 3H). **¹³C NMR** (126 MHz, 9:1 CD₂Cl₂:Acetone-*d*₆) δ 154.0 (C), 149.8 (C), 143.4 (C), 141.0 (C), 136.1 (C), 134.3 (CH), 133.7 (CH), 133.5 (CH), 132.6 (CH), 130.90 (CH), 130.8 (CH), 130.7 (CH), 130.6 (CH), 130.3 (CH), 129.1 (CH), 125.9 (CH), 125.4 (C), 124.5 (C), 123.5 (C), 123.4 (C), 120.2 (C), 117.0 (CH), 112.0 (C), 106.9 (CH), 96.0 (C), 93.1 (C), 92.7 (C), 92.4 (C), 90.0 (C), 86.2 (C), 57.7 (CH₃), 57.0 (CH₃), 21.6 (CH₃). Two CH are not observed, probably due to overlapping with other CH.

Complex (J)-25·Ag(I):

¹H NMR (500 MHz, 9:1 CD₂Cl₂:Acetone-*d*₆) δ 7.91 – 7.84 (m, 2H), 7.72 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.66 (dd, *J* = 7.8, 1.3 Hz, 1H), 7.58 (dd, *J* = 5.9, 3.3 Hz, 2H), 7.54 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 7.47 (dd, *J* = 7.6, 1.6 Hz, 1H), 7.43 – 7.32 (m, 5H), 7.29 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 7.20 – 7.05 (m, 6H), 7.04 (s, 1H), 3.73 (s, 3H), 3.65 (s, 3H), 2.35 (s, 3H). **¹³C NMR** (126 MHz, 9:1 CD₂Cl₂:Acetone-*d*₆) δ 153.9 (C), 149.9 (C), 143.2 (C), 141.8 (C, weak), 137.3 (C, weak), 134.4 (CH), 134.3 (CH), 133.9 (CH), 133.7 (CH), 133.2 (CH), 132.6 (CH), 132.5 (CH), 131.2 (CH), 131.1 (CH), 131.0 (CH), 130.9 (CH), 130.54 (CH), 130.51 (CH), 130.0 (CH), 129.0 (CH), 125.9 (CH), 125.2 (C), 124.2 (C), 124.0 (C), 123.4 (C), 122.4 (C), 122.3 (C), 120.7 (C), 116.6 (CH), 112.2 (C), 106.9 (CH), 97.5 (C), 93.6 (C), 93.1 (C), 92.3 (C), 91.3 (C), 91.1 (C), 87.3 (C), 57.7 (CH₃), 57.0 (CH₃), 21.6 (CH₃). One CH is not observed, probably due to overlapping with other CH.

Complex (J)-26·Ag(I):

¹H NMR (500 MHz, 9:1 CD₂Cl₂:Acetone-*d*₆) δ 7.77 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.72 (dd, *J* = 7.9, 1.2 Hz, 1H), 7.68 – 7.65 (m, 1H), 7.58 (dd, *J* = 7.8, 1.2 Hz, 1H), 7.53 – 7.31 (m, 13H), 7.29 (d, *J* = 7.8 Hz, 2H), 7.25 (td, *J* = 7.7, 1.3 Hz, 1H), 7.17 (dd, *J* = 7.8, 1.2 Hz, 1H), 7.10 – 7.00 (m, 5H), 6.90 (s, 1H), 3.71 (s, 3H), 3.61 (s, 3H), 2.36 (s, 3H). **¹³C NMR** (126 MHz, 9:1 CD₂Cl₂:Acetone-*d*₆) δ 154.7 (C), 149.7 (C), 143.2 (C), 141.6 (C), 136.9 (C), 134.5 (CH), 134.20 (CH), 134.16 (CH), 133.5 (CH), 133.2 (CH), 133.0 (CH), 132.9 (CH), 132.4 (CH), 132.3 (CH), 131.2 (CH), 131.03 (CH), 131.02 (CH), 130.95 (CH), 130.9 (CH), 130.54 (CH), 130.50 (CH), 130.3 (CH), 129.7 (CH), 128.8 (CH), 126.0 (CH), 125.5 (C), 124.4 (C), 123.7 (C), 123.4 (C), 122.9 (C), 122.71 (C), 122.66 (C), 122.2 (C), 121.1 (C), 116.3 (CH), 112.6 (C), 106.3 (CH), 97.6 (C), 95.0 (C), 93.9 (C), 93.8 (C), 92.7 (C), 92.3

(C), 92.2 (C), 92.1 (C), 91.9 (C), 88.1 (C), 57.5 (CH₃), 56.9 (CH₃), 21.6 (CH₃). One CH is not observed, probably due to overlapping with other CH.

Complex (J)-27·Ag(I):

¹H NMR (500 MHz, 9:1 CD₂Cl₂:Acetone-*d*₆) δ 7.69 (dd, *J* = 7.8, 1.2 Hz, 1H), 7.67 (dd, *J* = 7.8, 1.2 Hz, 2H), 7.63 (dd, *J* = 7.9, 1.2 Hz, 1H), 7.56 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.51 – 7.46 (m, 4H), 7.38 (td, *J* = 7.6, 1.3 Hz, 1H), 7.35 – 7.28 (m, 3H), 7.26 – 7.20 (m, 6H), 7.19 (dd, *J* = 7.7, 1.2 Hz, 2H), 7.15 – 6.98 (m, 9H), 6.70 (s, 1H), 3.61 (s, 3H), 3.52 (s, 3H), 2.34 (s, 3H). ¹³C NMR (126 MHz, 9:1 CD₂Cl₂:Acetone-*d*₆) δ 155.3 (C), 149.1 (C), 142.7 (C), 142.0 (C, weak), 136.8 (C, weak), 133.8 (CH), 133.6 (CH), 133.5 (CH), 133.2 (CH), 133.1 (CH), 133.0 (CH), 132.3 (CH), 132.19 (CH), 132.17 (CH), 131.0 (CH), 130.92 (CH), 130.88 (CH), 130.8 (CH), 130.6 (CH), 130.40 (CH), 130.35 (CH), 129.84 (CH), 129.78 (CH), 129.1 (CH), 128.7 (CH), 125.9 (C), 125.8 (CH), 125.3 (C), 124.4 (C), 123.7 (C), 123.2 (C), 123.0 (C), 122.88 (C), 122.86 (C), 122.7 (C), 122.5 (C), 121.8 (C), 116.1 (CH), 113.1 (C), 106.5 (CH), 97.0 (C), 95.7 (C), 94.8 (C), 93.8 (C), 93.4 (C), 93.0 (C), 92.7 (C), 92.5 (C), 92.4 (C), 92.3 (C), 92.1 (C), 88.2 (C), 56.9 (CH₃), 56.6 (CH₃), 21.6 (CH₃). Four CH are not observed, probably due to overlapping with other CH.

Complex (J)-28·Ag(I):

¹H NMR (400 MHz, 9:1 CD₂Cl₂:Acetone-*d*₆) δ 7.64 (dd, *J* = 7.9, 1.6 Hz, 1H), 7.60 (dd, *J* = 7.8, 1.6 Hz, 1H), 7.54 – 7.49 (m, 2H), 7.48 (dt, *J* = 7.8, 1.0 Hz, 1H), 7.41 (dt, *J* = 7.7, 0.9 Hz, 1H), 7.38 – 7.31 (m, 3H), 7.30 – 7.18 (m, 10H), 7.18 – 6.98 (m, 13H), 6.91 – 6.84 (m, 2H), 6.59 (s, 1H), 3.54 (s, 3H), 3.49 (s, 3H), 2.35 (s, 3H). ¹³C NMR (101 MHz, 9:1 CD₂Cl₂:Acetone-*d*₆) δ 155.3 (C), 149.0 (C), 142.9 (C), 141.9 (C), 135.4 (C), 133.6 (CH), 133.51 (CH), 133.46 (CH), 133.4 (CH), 133.3 (CH), 133.2 (CH), 133.0 (CH), 132.90 (CH), 132.87 (CH), 132.8 (CH), 132.2 (CH), 132.12 (CH), 130.80 (CH), 130.79 (CH), 130.5 (CH), 130.42 (CH), 130.37 (CH), 130.3 (CH), 130.24 (CH), 130.21 (CH), 130.15 (CH), 130.0 (CH), 129.6 (CH), 129.4 (CH), 128.9 (CH), 128.7 (CH), 125.9 (CH), 125.8 (C), 125.6 (C), 124.8 (C), 124.3 (C), 123.6 (C), 123.4 (C), 123.3 (C), 123.0 (C), 122.94 (C), 122.87 (C), 122.83 (C), 122.79 (C), 122.1 (C), 116.1 (CH), 113.8 (C), 106.3 (CH), 96.1 (C), 95.6 (C), 95.4 (C), 94.1 (C), 93.8 (C), 93.5 (C), 93.3 (C), 92.7 (C), 92.6 (C), 92.5 (C), 92.3 (C), 92.1 (C), 92.0 (C), 88.2 (C), 56.8 (CH₃), 56.5 (CH₃), 21.6 (CH₃). Two CH are not observed, probably due to overlapping with other CH.

5. CD and CPL measurements

For the disulfoxides absorption and electronic circular dichroism (ECD) measurements were conducted on $5\text{--}10 \times 10^{-5}$ M CH_2Cl_2 solutions, using a Jasco 8155E apparatus in a 2.0 mm path-length quartz cell.

For the monosulfoxides absorption and electronic circular dichroism (ECD) spectroscopy were recorded with an Olis DSM172 spectrophotometer equipped with a xenon 150 W lamp and using a 1.0 cm path-length quartz cell. Temperature was set at 10°C using a cooling chamber to avoid evaporation of the solvent. For absorption and EDC measurements a fixed slitwidth of 2 mm, 0.05 s and 0.1 s integration time were selected, in each case. A 2.5×10^{-5} M solutions in dry CH_2Cl_2 of the corresponding compound (*S,S*-**22** to (*S,S*-**28** were prepared. Before and after adding an excess of a 0.025 M solution of AgBF_4 (33 eq) in 9:1 CH_2Cl_2 : Acetone (dry solvents) absorption and ECD spectra were recorded. ECD spectra are an average spectra calculated after 10 scans (each one).

Fluorescence and circularly polarized luminescence spectra of the same solutions used for CD spectra were recorded simultaneously using a homemade equipment [9]. The excitation radiation was brought to the cell from a Jasco FP8200 fluorimeter through an optical fiber containing water, a 90° scattering geometry was chosen, the incident radiation has been polarized parallel to the collection direction. Spectral response has been corrected using a reference lamp.

IR and VCD spectra were taken with a Jasco FVS6000 FTIR spectrometer equipped with a VCD module, comprised of a wire-grid linear polarizer, a ZnSe Photo Elastic Modulator (PEM) to produce 50 kHz modulated circularly polarized radiation and a liquid N_2 -cooled MCT detector. The spectra were taken for 0.015–0.035 M CD_2Cl_2 solutions, in 200 (disulfoxide) or 500 (monosulfoxide) μm BaF_2 cells. 5000 scans were taken for each spectra and subtraction of VA and VCD spectra of the solvent were performed.

6. CD titrations of compounds (*S,S*-**2-8** and (*S*)-**2-8** with Ag(I))

Experimental

CD titrations were performed in a JASCO J-15 Spectropolarimeter with a 1.0 cm path-length quartz cell. Temperature was set at 10°C using a Peltier JASCO PTC-348 WI to avoid evaporation of the solvent.

General procedures for the CD titration of compounds (S,S)-2-8 and (S)-22-28

Titration of compounds (S,S)-2-8 and (S)-22-28 were carried out by addition of progressive quantities of a 2.5×10^{-4} M solution of AgBF_4 salt, which was commercially available, to a 2.5×10^{-5} M solution of the corresponding compound. First, 5×10^{-4} M stock solutions were prepared by solving 1 mmol of compound in 2 mL of a 9:1 mixture of CH_2Cl_2 :acetone. To carry out titrations stock solutions were diluted 20 times to get a 2.5×10^{-5} M final concentration. To make the fitting of the kinetic constant easier, concentration of ligands (S,S)-2-8 and (S)-22-28 were kept constant during the titration. To ensure this, the 2.5×10^{-5} M solution of compounds (S,S)-2-8 and (S)-22-28 was used as solvent to prepare the AgBF_4 solution.

The fitting was carried out with DynaFit program (v. 4.06019), which has been previously used to study guest-host complexation equilibria. Input script files contained Ag(I) concentration and CD signal obtained at 390 nm, corresponding to the maxima of absorption of complexes.

7. Photophysical characterization

Lifetimes and quantum yields of compounds (S,S)-2 to (S,S)-8

The relative determination of the fluorescence quantum yield Φ in a series of solvents, the following formula was used:¹⁷⁷

$$\Phi_x = \Phi_r \times \frac{F_x}{F_r} \times \frac{1 - 10^{-A_r(\lambda_{\text{ex}})}}{1 - 10^{-A_x(\lambda_{\text{ex}})}} \times \frac{n_x^2}{n_r^2}$$

Equation 1

The subscripts x and r refer respectively to sample x and reference (standard) fluorophore r with known quantum yield Φ_r in a specific solvent; F stands for the *spectrally corrected*, integrated fluorescence spectra; $A(\lambda_{\text{ex}})$ denotes the absorbance at the used excitation wavelength λ_{ex} ; n represents the refractive index of the solvent (in principle at the average emission wavelength). To minimize inner filter effects, the absorbance at the excitation wavelength λ_{ex} was kept under 0.1. The measurements were

¹⁷⁷ J. Lakowicz, *Principles of Fluorescence Spectroscopy*, 3rd ed., Springer-Verlag: New York, 2006.

performed using 10×10 mm cuvettes. Quinine in 0.1 M H₂SO₄ was used as fluorescence quantum yield reference ($\Phi_r = 0.54$).¹⁷⁸ All measurements were done on non-degassed samples at room temperature.

Time resolved measurements

Time-resolved fluorescence measurements were done in FluoTime 200 instrument (PicoQuant GmbH) based on Time-correlated single photon counting (TCSPC) and provided with an excitation laser. The excitation source was a 370-nm pulsed diode laser (LDH-P-C-375BPicoQuant, GmbH) using a 20 MHz excitation frequency. The full width at half maximum (fwhm) of the laser pulses was around 40 ps. The fluorescence emission was collected at a 90° geometry, focused at the detector after crossing through a polarizer (set at the magic angle), 2-mm slits, and a 2-nm bandwidth monochromator. SPT was achieved by a TimeHarp200 board, set at 36 ps/channel. Fluorescence decay traces were collected for the necessary time to reach 20,000 counts at the peak channel. Time-resolved emission spectroscopy (TRES) of compounds (*S,S*)-**3-4** dissolved in CH₂Cl₂ was performed by collecting 56 fluorescence decay traces in the 390-500 nm emission range ($\Delta\lambda_{em} = 2$ nm) during a fixed amount of time, to maintain the overall intensity information.

The fluorescence decay traces were fitted to one, two or three-exponential function, by using a Levenberg-Marquard algorithm-based nonlinear least-squares error minimization deconvolution method iterative reconvolution methods (FluoFit 4.4 package, Picoquant GmbH). For each sample, the decay traces collected at different emission wavelengths were fitted globally with the decay times linked as shared parameters, whereas the pre-exponential factors were local adjustable parameters. The quality of fittings was assessed by the value of the reduced chi-squared, χ^2 , parameter and random distributions of the weighted residuals and the autocorrelation functions.

For the TRES (Time Resolved Emission Spectroscopy) analysis and the estimation of the species-associated emission spectra (SAEMS), the fitting procedure described above was performed, by fitting globally the 56 decay traces. The SAEMS of each species *i* at any given emission wavelength (SAEMS_{*i*}(λ_{em})) is given by the fluorescence intensity emitted by

¹⁷⁸ J. Olmsted, *J. Phys. Chem.* 1961, **65**, 229-235.

the species i ($A_{i,\lambda em} \times \tau_i$), normalized by the total intensity and corrected for the different detection sensitivity using the total intensity of the steady-state spectrum ($I_{ss,\lambda em}$):

$$SAEMS_i(I_{em}) = \frac{A_{i,\lambda em} \tau_i}{\sum_i A_{i,\lambda em} \tau_i} \times I_{ss,\lambda em}$$

Equation 2

The approximate contribution of each species can be assessed as the area under the SAEMS. This estimation assumes equal excitation rate for all the species, as the initial amount of each form in the excited state (after the pulse excitation) is unknown.

8. Single crystal X-Ray Analysis

Measured crystal of compound (S,S)-**8**:Ag₂ was prepared under inert conditions immersed in perfluoropolyether as protecting oil for manipulation then it was mounted on a MiTeGenMicromounts™ and this sample was used for data collection. Data were collected with a Bruker D8 Venture diffractometer. Data were processed with APEX3¹⁷⁹ and corrected for absorption using SADABS.¹⁸⁰ The structure was solved by direct methods,¹⁸¹ which revealed the position of all non-hydrogen atoms. These atoms were refined on F² by a full-matrix least-squares procedure using anisotropic displacement parameters.¹⁸¹ All hydrogen atoms were located in difference Fourier maps and included as fixed contributions riding on attached atoms with isotropic thermal displacement parameters 1.2 times those of the respective atom. During the structure refinement, regions of electron density were identified as highly disordered butanone molecules. Attempts to model these electron densities as butanone were not successful due to the extent of the disorder. In the final structure model, the contribution of the electron density from 4 Butanone molecules has been removed from the intensity data using the solvent mask tool in Olex2.¹⁸² Crystallographic data for the structural analysis has been deposited with the Cambridge Crystallographic Data Centre, CCDC No. CCDC 1550258. Copies of this information may be obtained free of charge on application to CCDC, 12 Union Road,

¹⁷⁹ Bruker, APEX3 Software, V2014.2; Bruker AXS Inc.: Madison, Wisconsin, USA, 2014.

¹⁸⁰ G. M. Sheldrick, SADABS - BrukerNonius area detector scaling and absorption correction-V2016/2.

¹⁸¹ G. M. Sheldrick, *Acta Crystallogr. A* **2008**, *64*, 112-122.

¹⁸² O. V. Dolomanov, L. J. Bourhis, R. J. Gildea, J. A. K. Howard, H. Puschmann, *J. Appl. Cryst.* **2009**, *42*, 339-341.

Cambridge CB2 1EZ, UK (fax: 44 1223 336 033; e-mail: deposit@ccdc.cam.ac.uk or www:
http://www.ccdc.cam.ac.uk).

Table 13. Crystal data and structure refinement for (S,S)-8:Ag₂.

Identification code	(S,S)-8:Ag ₂
Empirical formula	C ₁₀₄ H ₉₀ Ag ₂ B ₂ F ₈ O ₁₀ S ₂
Formula weight	1953.23
Temperature	100.0 K
Wavelength	1.54178 Å
Crystal system	Monoclinic
Space group	P2 ₁
Unit cell dimensions	a = 15.5040(6) Å α = 90° b = 21.0252(7) Å β = 119.109(2) ° c = 15.8045(5) Å γ = 90°
Volume	4501.2(3) Å ³
Z	2
Density (calculated)	1.441 Mg/m ³
Absorption coefficient	4.570 mm ⁻¹
F(000)	2004
Crystal size	0.12 x 0.12 x 0.06 mm ³
Index ranges	-18 <= h <= 18, -24 <= k <= 22, - 18 <= l <= 18
Reflections collected	86149
Independent reflections	15525 [R(int) = 0.0524]
Completeness to theta = 66.733°	99.6 %
Absorption correction	Semi-empirical from equivalents
Max. and min. transmission	0.7528 and 0.4258
Refinement method	Full-matrix least-squares on F ²
Data / restraints / parameters	15525 / 11 / 963
Goodness-of-fit on F ²	1.057
Final R indices [I > 2σ(I)]	R1 = 0.0555, wR2 = 0.1462
R indices (all data)	R1 = 0.0586, wR2 = 0.1488
Absolute structure parameter	0.053(9)
Largest diff. peak and hole	0.534 and -0.940 e.Å ⁻³

9. Theoretical calculations

Technical details

All calculations have been performed with Gaussian09 package.¹⁸³

All structures have been optimized at the M06/6-31g* level using the polarizable continuum model approximation (PCM) in dichloromethane. For compounds (*S,S*)-**4-7**, optimization was additionally carried out including explicit solvent molecules of CH₂Cl₂, thus giving a better fitting of the theoretical results to the experimental ones related to the P/M stereochemical stability. Cationic structures incorporating Ag(I) were calculated using the SSDAll pseudopotential for Ag(I).

The time-dependent DFT (TD-DFT) method has been used to calculate absorption and CD spectra at the same level of theory (also with the PCM in the same solvent) for Ag(I) non-containing and Ag(I) containing structures.

The nature of the optimized structures was assessed through a frequency calculation, and enthalpies (H) and Gibbs free energies (G) were obtained by taking into account zero-point energies, thermal motion, and entropy contribution at standard conditions (temperature of 298.15 K, pressure of 1 atm).

To calculate IR and VCD spectra for the compounds (*S,S*)-**2-8** have been simulated superpositions of Lorentzian functions centered at the computed normal mode wavenumbers and with areas proportional to the intensities determined by the response theory,¹⁸⁴ allowing to define dipole and rotational strengths. Lorentzian linewidth was assumed equal to 12 cm⁻¹ for all transitions. To further facilitate comparison of observed and calculated spectra, a scaling factor equal to 0.97 was applied to the calculated wavenumbers.

¹⁸³ M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, B. Mennucci, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Caricato, X. Li, H. P. Hratchian, A. F. Izmaylov, J. Bloino, G. Zheng, J. L. Sonnenberg, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, T. Vreven, J. A. Montgomery, Jr., J. E. Peralta, F. Ogliaro, M. Bearpark, J. J. Heyd, E. Brothers, K. N. Kudin, V. N. Staroverov, R. Kobayashi, J. Normand, K. Raghavachari, A. Rendell, J. C. Burant, S. S. Iyengar, J. Tomasi, M. Cossi, N. Rega, J. M. Millam, M. Klene, J. E. Knox, J. B. Cross, V. Bakken, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R. E. Stratmann, O. Yazyev, A. J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J. W. Ochterski, R. L. Martin, K. Morokuma, V. G. Zakrzewski, G. A. Voth, P. Salvador, J. J. Dannenberg, S. Dapprich, A. D. Daniels, J. B. Foresman, J. V. Ortiz, J. Cioslowski, D. J. Fox, Gaussian 09 Revision D.01, Gaussian Inc. Wallingford CT **2009**.

¹⁸⁴ P. J. Stephens, *J Phys Chem* **1985**, *89*, 748-752

In order to calculate VCD spectra for the compounds (*S*)-**22-28**, DFT calculation, iefpcm solvent model, at B3LYP/6-31G** level have been performed. To describe Ag, we adopted the Stuttgart/Cologne energy-consistent pseudopotentials ECP28MDF and the associated basis sets ECP28MDF_VDZ. The Gaussian code has been used.¹⁸⁵ Spectra have been simulated with Lorentzian functions centered at the computed normal mode wavenumbers. Linewidth was assumed equal to 12 cm⁻¹. To further facilitate comparison of observed and calculated spectra, 0.973 scaling factor was applied to the calculated wavenumbers.

¹⁸⁵ M. J. Frisch, G. W. Trucks, H.B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, B. Mennucci, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Caricato, X. Li, H. P. Hratchian, A. F. Izmaylov, J. Bloino, G. Zheng, J.L. Sonnenberg, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, T. Vreven, J. A. Montgomery, J. E. Peralta Jr, F. Ogliaro, M. Bearpark, J. J. Heyd, E. Brothers, K. N. Kudin, V. N. Staroverov, R. Kobayashi, J. Normand, K. Raghavachari, A. Rendell, J. C. Burant, S. S. Iyengar, J. Tomasi, M. Cossi, N. Rega, J. M. Millam, M. Klene, J. E. Knox, J. B. Cross, V. Bakken, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R. E. Stratmann, O. Yazyev, A. J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J. W. Ochterski, R. L. Martin, K. Morokuma, V. G. Zakrzewski, G. A. Voth, P. Salvador, J. J. Dannenberg, S. Dapprich, A. D. Daniels, Ö. Farkas, J. B. Foresman, J. V. Ortiz, J. Cioslowski, D. J. Fox, Gaussian 16 Revision B.01, Gaussian Inc. Wallingford CT, **2016**.

ANEXOS

Lista de Publicaciones

Los resultados obtenidos de colaboraciones científicas durante el periodo predoctoral han dado lugar a las siguientes publicaciones científicas:

- **Optically active Ag(I): o-OPE helicates using a single homochiral sulfoxide as chiral inducer.** S. Resa, P. Reiné, L. Álvarez de Cienfuegos, S. Guisán-Ceinos, M. Ribagorda, G. Longhi, G. Mazzeo, S. Abbate, A. J. Mota, D. Miguel, Juan M. Cuerva, *Org. Biomol. Chem.* **2019**, *17*, 8425-8434.
- **Coupled Excited-State Dynamics in N-Substituted 2-Methoxy-9-Acridones.** M. C. González-García, P. Herrero-Foncubierta, S. Castro, S. Resa, J. M. Álvarez-Pez, D. Miguel, J. M. Cuerva, E. García-Fernández, A. Orte, *Front. Chem.* **2019**, *7*:129.
- **New Thiol-Sensitive Dye Application for Measuring Oxidative Stress in Cell Cultures.** V. Puente-Muñoz, J. M. Paredes, S. Resa, J. D. Vílchez, M. Zitnan, D. Miguel, M. D. Girón, J. M. Cuerva, R. Salto, L. Crovetto, *Sci. Rep.-UK* **2019**, *9*:1659.
- **O-H and (CO)N-H bond weakening by coordination to Fe(II).** S. Resa, A. Millán, N. Fuentes, L. Crovetto, M. L. Marcos, L. Lezama, D. Choquesillo-Lazarte, V. Blanco, A. G. Campaña, D. J. Cárdenas, J. M. Cuerva, *Dalton Trans.* **2019**, *48*, 2179-2189.
- **Design, synthesis and photophysical studies of improved xanthene dye to detect acetate.** J. M. Paredes, D. Miguel, S. Resa, M. C. González-García, Y. Díaz-Torres, J. M. Cuerva, L. Crovetto, *J. Photoch. Photobio. A* **2019**, *371*, 300-305.
- **OFF/ON switching of circularly polarized luminescence by oxophilic interaction of homochiral sulfoxide-containing o-OPEs with metal cations.** P. Reiné, A. M. Ortuño, S. Resa, L. Álvarez de Cienfuegos, V. Blanco, M. José Ruedas-Rama, G. Mazzeo, S. Abbate, A. Lucotti, M. Tommasini, S. Guisán-Ceinos, M. Ribagorda, A. G. Campaña, A. Mota, G. Longhi, D. Miguel, J. M. Cuerva, *Chem. Commun.* **2018**, *54*, 13985-13988.
- **Sulfoxide-Induced Homochiral Folding of ortho-Phenylene Ethynylenes (o-OPEs) by Silver(I) Templating: Structure and Chiroptical Properties.** S. Resa, D. Miguel, S. Guisán-Ceinos, G. Mazzeo, D. Choquesillo-Lazarte, S. Abbate, L. Crovetto, D. J. Cárdenas, M. C. Carreño, M. Ribagorda, G. Longhi, A. J. Mota, L. Álvarez de Cienfuegos, J. M. Cuerva, *Chem. Eur. J.* **2018**, *24*, 2653-2662.

- **Efficient acetate sensor in biological media based on a selective Excited State Proton Transfer (ESPT) reaction.** V. Puente-Muñoz, J. M. Paredes, S. Resa, A. M. Ortuño, E. M. Talavera, D. Miguel, J. M. Cuerva, L. Crovetto, *Sens. Actuators B Chem.* **2017**, *250*, 623-628.
- **Photophysics of a Live-Cell-Marker, Red Silicon-Substituted Xanthene Dye.** L. Crovetto, A. Orte, J. M. Paredes, S. Resa, J. Valverde, F. Castello, D. Miguel, J. M. Cuerva, E. M. Talavera, J. M. Álvarez-Pez, *J. Phys. Chem. A* **2015**, *119*, 10854-10862.
- **New Dual Fluorescent Probe for Simultaneous Biothiol and Phosphate Bioimaging.** S. Resa, A. Orte, D. Miguel, J. M. Paredes, V. Puente-Muñoz, R. Salto, M. D. Girón, M. J. Ruedas-Rama, J. M. Cuerva, J. M. Álvarez-Pez, L. Crovetto, *Chem. Eur. J.* **2015**, *21*, 14772-14779.
- **Ti(III)-Catalyzed Cyclizations of Ketoepoxypolyprenes: Control over the Number of Rings and Unexpected Stereoselectivities.** S. P. Morcillo, D. Miguel, S. Resa, A. Martín-Lasanta, A. Millán, D. Choquesillo-Lazarte, J. M. García-Ruiz, A. J. Mota, J. Justicia, J. M. Cuerva, *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 6943-6951.
- **Ti/Ni-Based Multimetallic System for the Efficient Allylation of Carbonyl Compounds.** A. Martínez-Peragón, A. Millán, A. G. Campaña, I. Rodríguez-Márquez, S. Resa, D. Miguel, L. Álvarez de Cienfuegos, J. M. Cuerva, *Eur. J. Org. Chem.* **2012**, 1499-1503.

