



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL

FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA



Tesis presentada como parte de los requisitos de la Universidad Nacional del Litoral para la obtención del Grado Académico de Doctora en Química

Título de la tesis:

*Caracterización de nuevos surfactantes iónicos sobre la base estructural del catión 1-alquilimidazolio. Análisis de su comportamiento sobre principios activos de interés farmacológico.*



**Autora:** Lic. María Celeste Onaindia

**Directora:** Dra. Claudia Adam

**Co-director:** Dr. José Fernandez

MIEMBROS DEL JURADO

Dra. Mariana FERNÁNDEZ

Dr. Claudio SALOMÓN

Dr. Adrián PEREZ

*“La vida no es fácil, para ninguno de nosotros. Pero... ¡Qué importa! Hay que perseverar y, sobre todo, **tener confianza en uno mismo**. Hay que sentirse dotado para realizar alguna cosa y que esa cosa hay que alcanzarla, cueste lo que cueste.” -Marie Curie*

# Agradecimientos

Quisiera agradecer a mi directora la Dra. Claudia Adam y mi Codirector el Dr. José Fernández. A la Universidad Nacional del Litoral y CONICET. Toda mi formación se la debo a la educación pública. A todo el grupo del laboratorio de Físicoquímica Orgánica. Al Dr. Guillermo Castro, quien me recibió en Laboratorio de Nanobiomateriales del CINDEFI (UNLP – CONOCET CCT La Plata) y con quien compartimos una publicación.

Quisiera agradecer a mi familia mi marido y mi hijita, la luz de mi vida, mis pilares. A mi madre, coautora de los logros de mi vida. A mi gran familia, mi hermana, cuñado y sobrinos, quienes apoyan y hacen un poco más livianito el camino con su amor incondicional. Mi super gran familia, tía, primo, tíos del corazón, primos del corazón, a mis amigos de la vida y a mi familia política.

# Índice

<b>Resumen</b>	5
<b>Objetivos</b>	9
Objetivo general	9
Objetivos específicos	9
<b>1. Introducción</b>	12
1.1.1 Síntesis de Líquidos Iónicos	14
1.1.2 Características estructurales de los LIs	15
1.1.2.1. Punto de fusión	15
1.1.2.2. Presión de vapor y estabilidad térmica	16
1.1.2.3. Densidad	17
1.1.2.4. Viscosidad	18
1.1.2.5. Fuerza de solvatación y solubilidad	19
1.1.2.6. Acidez y basicidad relativa	20
1.1.3. Manipulación y disponibilidad	22
1.1.4. Líquidos iónicos para tareas específicas	23
1.1.5. Líquidos iónicos como surfactantes	24
1.2. Introducción Parte I: SAILS	25
1.2.1. Estructura de los SAILS	25
1.2.2. Sistemas micelares y caracterización de los SAILS	26
1.2.3. Caracterización de materiales iónicos por voltametría cíclica	27
1.2.4. SAILS en sensores electroquímicos	28
1.2.5. Líquidos iónicos en sistemas de liberación de fármacos.	29
1.2.6. Aplicación de los SAILS en síntesis orgánica y catálisis	30
1.3. Introducción Parte II: CDs-SAILS	31
1.3.1. Ciclodextrinas	31
1.3.2. Aplicaciones de las ciclodextrinas	34
1.3.3. Ciclodextrinas estructuralmente modificadas	35
<b>2. Metodología</b>	39
2.1. Parte I: SAILS	39
2.1.1. Síntesis de los SAILS	39
2.1.1.1. Reactivos	39
2.1.1.2. Procedimiento	39
2.1.2. Caracterización del sistema micelar	41
2.1.2.1. Aplicación de la Sonda fluorescente Nile Red (NR)	41

2.1.2.1.1. Determinación de la CMC	43
2.1.2.1.2. Determinación de la constante de asociación	44
2.1.2.2. Influencia de los SAILs sobre la Velocidad de una Reacción Modelo: Hidrólisis del p-metoxibencensulfonilo	46
2.1.2.2.1. El Modelo de Pseudofases.	48
2.1.3. Aplicación de la técnica Voltametría Cíclica.	50
2.1.3.1 Voltametría cíclica de microelectrodos en SAILs fundidos	50
2.1.3.2. Voltametría cíclica en soluciones acuosas de SAILs	51
2.1.4. Aplicación de SAILs a sistemas de liberación de fármacos.	52
2.1.4.1. Determinación de la constante de asociación con un fármaco de interés	52
Análisis por espectroscopia UV	53
Análisis por espectroscopia de fluorescencia molecular	53
2.1.4.2. Aplicación de los SAILs en la encapsulación de la droga antitumoral Violasceina	53
2.1.4.2.1. Estudio de Citotoxicidad	54
2.1.4.2.2. Estabilidad de la solución micelar	54
2.1.4.2.3. Análisis FTIR	55
2.2. Parte II: Caracterización del complejo CD-SAIL	55
2.2.1. Análisis de RMN	55
2.2.2. Análisis masa orbitrap	55
2.2.3. Análisis FTIR	55
<b>3. Resultados parte I</b>	57
3.1. Caracterización de sistemas micelares	58
3.1.1. Determinación de la Concentración Micelar Crítica mediante métodos espectroscópicos	58
Análisis por Espectroscopia UV-Vis de Absorción.	59
Análisis por Espectroscopia de Fluorescencia Molecular	62
3.1.2. Determinación de la Constante de Asociación	67
Análisis por espectroscopia UV-Vis de Absorción.	68
Análisis por espectroscopia de Fluorescencia Molecular.	70
3.2. Aplicación como medios para el desarrollo de reacciones orgánicas.	72
3.2.1. Aplicación del Modelo de Pseudofases en los Sistemas Micelares.	75
3.3. Estudio de líquidos iónicos anfífilicos del tipo n-alquilimidazólicos por voltametría cíclica	78
3.3.1. VC de C <sub>10</sub> Him-F y C <sub>10</sub> Him-S	78
3.3.2. VC de C <sub>12</sub> Him-F y C <sub>12</sub> Him-S	79
3.3.3. VC de C <sub>14</sub> Him-F y C <sub>14</sub> Him-S	80

3.3.4. VC de C <sub>16</sub> Him-F y C <sub>16</sub> Him-S	81
3.4. Estudio de la reacción de oxidación de ferroceno metanol en presencia de líquidos iónicos anfífilos del tipo n-alkylimidazólicos	82
3.5. Análisis preliminares necesarios para la aplicación de los SAILs como sistemas de liberación de fármacos.	90
3.5.1. Interacción Diazepam- SAILs	90
Análisis por espectroscopia UV-Vis de Absorción.	91
Análisis por espectroscopia de Fluorescencia Molecular	93
3.5.2. Aplicación de los SAILs en la encapsulación de la droga antitumoral Violasceina. Análisis de su citotoxicidad.	97
<b>4. Resultados parte II: Síntesis y caracterización de <math>\beta</math>-CD modificadas</b>	103
A- Síntesis del compuesto intermedio 6-O-Toluenesulfonil- $\beta$ -ciclodextrina: ciclodextrina tosilada (CD-OTs)	104
B- Síntesis de Mono-6-iodo- $\beta$ -ciclodextrina (CD-I)	110
C- Síntesis de Mono-6-deoxi-6-(3-dodecilimidazol)- $\beta$ -ciclodextrina tosilato y ioduro	112
<b>5. Conclusiones</b>	120
<b>Anexo</b>	124

## Resumen

El interés actual y creciente en los Líquidos iónicos (LIs) está motivado por sus propiedades únicas tales como: presión de vapor despreciable, estabilidad térmica, baja inflamabilidad, combinado con una alta conductividad iónica y una amplia ventana de estabilidad electroquímica. Los mismos están compuestos por iones orgánicos y/o inorgánicos y son llamados ‘solventes de diseño’ debido a la posibilidad de diseñar propiedades físicas y químicas diferentes con solo realizar apropiadas combinaciones de sus componentes principales: los cationes y aniones. Como resultado de esta combinación presentan la capacidad de ser materiales extremadamente versátiles con propiedades modeladas. En esta dirección, puede pensarse al LI como una base o plataforma estructural a partir de la cual desarrollar “nuevos materiales iónicos” de interés para la química aplicada.

La denominación de SAILs por sus siglas en inglés (Surface-active ionic liquids) surge cuando uno de los constituyentes del LI posee en su estructura un dominio hidrofóbico y otro hidrofílico. Debido a las cargas inherentes y la similitud estructural con los tensioactivos iónicos pueden formar micelas en soluciones acuosas. Los SAILs que poseen cationes anfifílicos, como, por ejemplo, los LIs a base de imidazolio sustituidos con cadenas alquílicas mayores a 8 átomos de carbono.

En este trabajo de Tesis Doctoral se plantea completar la caracterización de una serie de SAILs formada por cationes con cationes del tipo  $C_nH_m$  ( $n = 10, 12, 14, 16$ ) y dos aniones  $CH_3SO_3^-$  (S) y  $CF_3CO_2^-$  (F). Se determinó la concentración micelar crítica (CMC) y la constante de asociación de la sonda Nile Red (NR) por dos técnicas diferentes: espectroscopia de absorción y fluorescencia. A partir de los datos correspondientes a ambas técnicas fue posible aplicar un modelo para la determinación de la constante de asociación ( $k_b$ ) para el sistema SAILs-NR en las dos zonas: premicelar y micelar. La interacción de la sonda fue más efectiva en los SAILs de

cadena carbonada más extensa (C-16), observándose una asociación más efectiva dado por el valor de la  $K_b$ .

Además, se estudió el comportamiento de estos SAILs en la reacción de hidrólisis del cloruro de p-metoxibencensulfonilo (CMBS). Se comprobó un efecto de inhibición de la reacción de hidrólisis cuando el sistema se organiza en micela siendo mayor para los SAILs con  $n=14, 16$ . Esto indica que el sustrato se ubica (asocia) preferentemente en la fase micelar donde la concentración de agua es baja.

Se realizó una evaluación electroquímica de estos SAILs mediante voltametría cíclica apuntando a profundizar por un lado la caracterización fisicoquímica de los mismos en cuanto a la posible presencia de precursores libres (difíciles de detectar por otras técnicas) y por otro lado su capacidad de formación de micelas y encapsulamiento en las mismas de especies electroquímicamente activas, como el ferroceno metanol (FcMeOH). Se comprobó que la interacción de un electrodo metálico como el Pt con estos SAILs, tanto en estado puro fundido como en solución acuosa, es muy compleja. En la misma se dan procesos de adsorción y/o electro-adsorción, más intensos en los SAILs de cadena alquílica más larga. Por un lado, esto dificulta el uso de la voltametría para detectar especies en estado fundido, ya que la interpretación de los voltagramas no es tan simple como en otros LIs, particularmente en los SAILs con cationes  $C_{14}H_{11}M$  y  $C_{16}H_{11}M$ . A pesar de ello, en los SAILs fundidos con cationes  $C_{10}H_{11}M$  y  $C_{12}H_{11}M$  se pudo asegurar la ausencia de precursores N-alquilimidazol y ácidos libres. Por otra parte, de los estudios voltamétricos de oxidación de FcMeOH en medio acuoso en presencia de estos SAILs, se ha verificado una fuerte sensibilidad de los parámetros medibles (corriente y potencial de pico) con la concentración de SAIL presente en la solución, lo que señala la gran potencialidad de la técnica para este tipo de estudios. Sin embargo, los procesos de adsorción del SAIL formando películas auto-organizadas sobre la superficie de los electrodos complican el empleo de la técnica voltamétrica para determinar parámetros micelares de interés, como la



CMC, siendo necesario profundizar en los detalles experimentales para garantizar la reproducibilidad de las mediciones.

Es de especial interés para nosotros analizar la aplicabilidad de estos SAILs sintetizados en sistemas biológicos. Una de estas aplicaciones es analizar la posibilidad de que estos SAILs mejoren la solubilidad de ciertos fármacos. Como prueba inicial se seleccionó el Diazepam con el que se obtuvieron sistemas acuosos estables y se determinó la constante de asociación por dos técnicas (absorción y fluorescencia). Se pudo observar que la  $K_b$  aumenta con la longitud de la cadena en el catión y hay una leve influencia del anión del SAILs dependiente de la longitud de cadena. Con cadenas alquílicas de 10 y 12 Carbonos, el fármaco se asocia en mayor grado cuando las sales contienen el anión  $\text{CH}_3\text{SO}_3^-$ . Contrariamente, para las micelas con SAILs con cadenas alquílicas de 14 y 16 carbonos, se observa una clara inversión en los resultados, los cuales indican una mayor asociación del fármaco con los sistemas de LI con el anión  $\text{CF}_3\text{CO}_2^-$ .

Específicamente para el análisis de la viabilidad de estos SAILs en el desarrollo de dispositivos de administración de fármacos se analizó la citotoxicidad de los SAILs la cual se llevó a cabo en células A549 de carcinoma de pulmón humano (tarea desarrollada en conjunto con el Dr. Guillermo Castro del instituto CINDEFI de La Plata). Posteriormente para el fármaco antitumoral Violaceina (Viol) se analizó la estabilidad de los sistemas formados por viol-[C<sub>16</sub>HIm]-F y viol-[C<sub>16</sub>HIm]-S. Los resultados indican que el mejor candidato para desarrollar un sistema de administración de fármacos Viol fue C<sub>16</sub>HIm-S, que combina una baja citotoxicidad con un 71,5 % de viabilidad celular al 1,5 ± 103 % (p/v) y una buena interacción con el 95,2 % de Viol retenido en solución micelar durante al menos 48 h.

Finalmente, esta tesis aborda la aplicación de estos SAILs a la modificación de materiales como ciclodextrinas (CD), transformándola mediante uniones covalentes en una CD iónica con el objeto de mejorar su solubilidad y por ende transformarla en un candidato óptimo para la encapsulación de principios activos de interés. Se puso a punto una síntesis que permitió obtener dos CD-iónicas una con contraión tosilato y otra con contraión ioduro confirmando esto

por RMN-1H y Masa. Se logró un aumento de la solubilidad en agua a 25 °C de 20% para las CDs-iónicas respecto a la nativa.

Por lo tanto, este trabajo permitió otorgar un nuevo enfoque a estos SAILs no solo completando la caracterización de los mismos sino también, profundizando en las posibles aplicaciones de estas series de SAILs. Con la intención de alcanzar el objetivo tan deseado por nosotros en el grupo como es correlacionar la estructura de estos SAILs con una óptima aplicación final ya sea como surfactantes o como moduladores de propiedades de otros materiales.

## Objetivos

### Objetivo general

Considerando las diversas funciones que los Líquidos Iónicos (LIs) puede cumplir en un proceso o sistema fisicoquímico, es vital abordar una evaluación sistemática del cambio en su estructura, para así obtener respuestas al interrogante fundamental que constituye la relación estructura-propiedad-comportamiento, en vistas a su aplicación científica y tecnológica. En esta dirección, puede pensarse al LI como una base o plataforma estructural a partir de la cual desarrollar “nuevos materiales iónicos” de interés para la química aplicada. Dicho desarrollo supone modelar o ajustar su estructura. Sus propiedades finales deben ser caracterizadas y chequeadas por medio de la evaluación de su comportamiento en un proceso particular, para de esta forma generar resultados que puedan conducirnos a contestar nuestro interrogante principal. Simultáneamente, nuestro interés radica en que dichos materiales puedan reemplazar a compuestos tradicionales, en virtud de sus propiedades resaltadas.

La síntesis de los líquidos iónicos anfífilicos o SAILs por sus siglas en inglés, propuestos para el desarrollo de esta Tesis, ha sido recientemente publicada, por lo que completar su caracterización y estudiar su comportamiento químico es de vital importancia para la comunidad científica. Este conocimiento constituye los cimientos para el desarrollo de la segunda parte de esta tesis.

El objetivo general de este proyecto es ampliar la performance de estas sales orgánicas, dejando de lado su clásica etiqueta de ‘solventes verdes’ expandiendo su aplicación a ‘moduladores’ de propiedades de ‘otros’ materiales desarrollando así nuevos materiales iónicos con propiedades específicas y mejoradas respecto a sus precursores. Esto implica abordar el diseño de “nuevos materiales iónicos” sobre la base estructural de LIs, la síntesis y la caracterización fisicoquímica de estos materiales para su aplicación en áreas de interés en Química y Tecnología Química.

### Objetivos específicos

- Determinar la concentración micelar crítica (CMC) y la constante de asociación utilizando la sonda Nile Red (NR)
- Analizar el comportamiento de los SAILs con cationes del tipo  $C_nH_{2n+1}M$  ( $n = 10, 12, 14, 16$ ) en reacciones de hidrólisis de p-metoxibencensulfonilo (CMBS)
- Efectuar, mediante estudios de voltametría sobre microelectrodos, la caracterización de los antes mencionados SAILs fundidos con dos contraiones, trifluoracetato  $CF_3COO^-$  (F) y metanosulfonato  $CH_3SO_3^-$  (S). Estos estudios apuntan a establecer las ventanas de

potencial donde los componentes de cada SAIL son estables, información relevante a la hora de usar los mismos como electrolitos o como modificadores de electrodos. También se buscará detectar especies diferentes al par iónico naturalmente presentes en los SAILS que puedan tener un efecto en la performance global de los mismos.

- Evaluar la posibilidad de emplear la técnica de voltametría cíclica para estudiar los fenómenos de auto-agregación de estos SAILS. Este análisis apuntará por una parte a determinar la CMC de soluciones acuosas de los mismos empleando una sustancia sonda que sufra una reacción de electrodo, cuyo encapsulamiento en las micelas podría verse favorecido. Por otra parte, se buscará obtener con esta técnica información sensible al fenómeno de encapsulamiento, relacionada con la transferencia de electrones a través de las cadenas alquílicas.
- Analizar el comportamiento de los SAILS en sistemas de liberación de fármacos a partir de la determinación de la constante de asociación con el Diazepam (DZM).
- Estudio de la aplicación de los SAILS en la encapsulación de la droga antitumoral Violasceina mediante el análisis de estabilidad micelar y citotoxicidad en células A549.
- Sintetizar beta-CD catiónicas (B-CD's catiónicas), modificadas estructuralmente con sustituyentes *N*-alquilimidazólicos (C<sub>12</sub>HIm), con ioduro y tosilato como contraiones.
- Caracterizar las B-CD's sintetizadas por RMN-H y Masa Orbitrap.

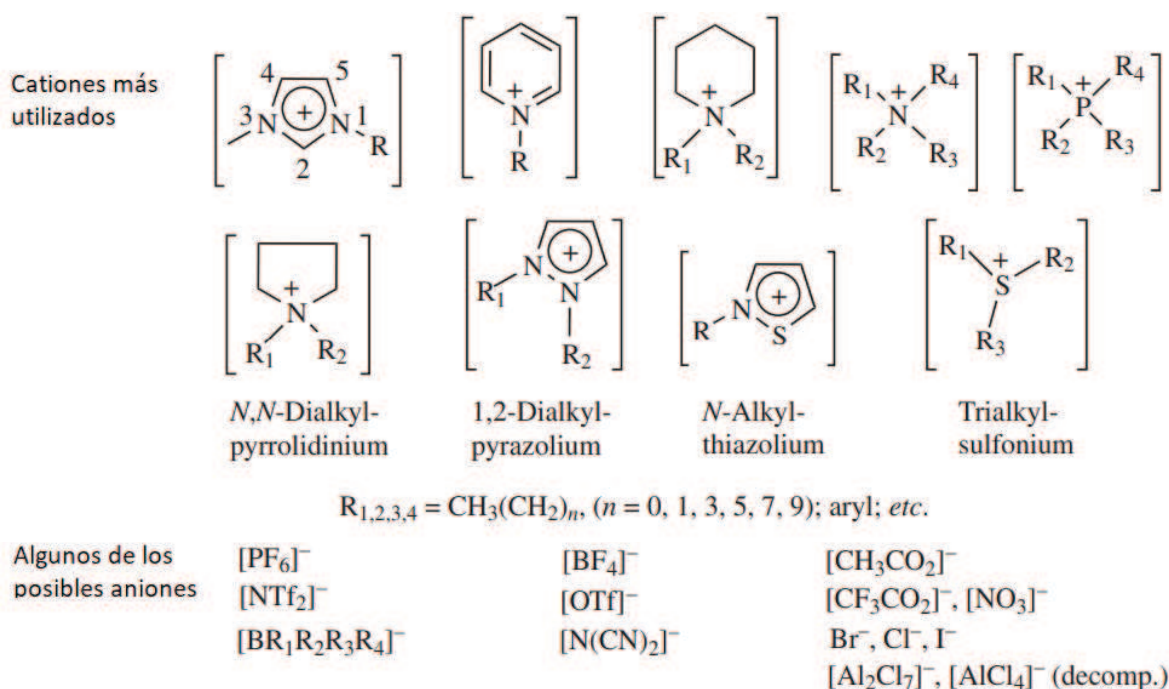
# Capítulo 1

Introducción

## 1. Introducción

Los Líquidos Iónicos (LIs) son sales orgánicas formadas por cationes orgánicos y aniones orgánicos o inorgánicos y resultan compuestos altamente promisorios en diversos campos de la química. Sus propiedades particulares, su variedad estructural y la amplitud de sus aplicaciones, atraen la atención de la comunidad científica internacional y son objeto de numerosas investigaciones. Generalmente esta denominación involucra a sales con puntos de fusión menores a 100 °C, incluyendo a aquellos compuestos que son líquidos a temperatura ambiente. Una característica clave de estos solventes radica en la posibilidad de modificar sus propiedades físicas y químicas variando la naturaleza de los cationes y de los aniones. La posibilidad de modificar la estructura de sus componentes permite ‘ajustar’ sus propiedades, por lo que, el desafío está en encontrar la combinación catión-anión adecuada según las necesidades del proceso de interés. En esta dirección, puede pensarse al LI como una base o plataforma estructural a partir de la cual desarrollar “nuevos materiales iónicos” de interés para la química aplicada. Dicho desarrollo supone modelar o ajustar su estructura, es decir, encarar su diseño. Sus propiedades finales deben ser caracterizadas y chequeadas por medio de la evaluación de su comportamiento en un proceso particular, para así generar resultados que puedan conducirnos a comprender la relación existente entre la estructura del LI, sus propiedades y su aplicación final. Por ejemplo, la estabilidad térmica y miscibilidad dependen principalmente del anión, mientras que propiedades como la viscosidad, tensión superficial y densidad, dependen de la longitud de la cadena alquílica en el catión y de su forma o simetría.

Se han sintetizado y estudiado muchos tipos de LIs, los más comunes son los basados en los cationes imidazolio, amonio y piridinio, debido a que sus grupos sustituyentes pueden ser modificados afectando directamente a sus propiedades finales. Los cationes y aniones más utilizados en los LIs están representados en la Figura 1.



**Figura 1.** Cationes y aniones más utilizados para la síntesis de LIs

La versatilidad estructural del LI abre una amplia gama de aplicaciones. Por ejemplo, podemos encontrarnos con modificaciones en la longitud de la cadena alquílica (-R), dando lugar a LIs que se denominan SAILs por sus siglas en inglés (Surface active ionic liquid), y son utilizados en catálisis micelar<sup>1</sup>, en química analítica<sup>2,3</sup> y en metodologías de separación<sup>4</sup>. Otro ejemplo, es modificar la estructura del LIs con un grupo funcional específico, surgiendo así los LIs para tareas específicas o TSILs por su sigla en inglés (task specific ionic liquid)<sup>5</sup>.

En principio podemos clasificar los LIs en dos categorías principales, cómo sales simples (un anión más un catión) y como LIs binarios, donde hay involucrado un equilibrio. Por ejemplo, el nitrato de etilamonio (EAN) es una simple sal, en cambio en la mezcla de cloruro de aluminio III y cloruro de 1,3- dialquilimidazolio, coexisten diferentes especies iónicas y su punto de fusión y propiedades dependen de la relación molar de las especies.

A su vez los LIs simples se pueden dividir además en dos categorías amplias: LIs próticos (LIP) y LIs apróticos (LIAP). Los LIP se producen mediante la transferencia de protones de un ácido de

<sup>1</sup> Cognigni, A., Gaertner, P., Zirbs, R., Peterlik, H., Prochazka, K., Schröder, C., & Bica, K. (2016). Surface-active ionic liquids in micellar catalysis: impact of anion selection on reaction rates in nucleophilic substitutions. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 18(19), 13375-13384.

<sup>2</sup> Liu, J. F., Jiang, G. B., & Jönsson, J. Å. (2005). Application of ionic liquids in analytical chemistry. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 24(1), 20-27.

<sup>3</sup> Sun, P., & Armstrong, D. W. (2010). Ionic liquids in analytical chemistry. *Analytica Chimica Acta*, 661(1), 1-16.

<sup>4</sup> Berthod, A., Ruiz-Angel, M. J., & Carda-Broch, S. (2008). Ionic liquids in separation techniques. *Journal of Chromatography A*, 1184(1-2), 6-18.

<sup>5</sup> H. Davis, Jr, J. (2004). Task-specific ionic liquids. *Chemistry letters*, 33(9), 1072-1077.

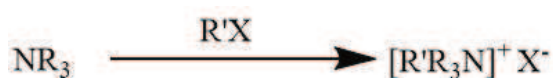
Brønsted a una base de Brønsted. En comparación con los LIAP, los LIP suelen tener una mayor conductividad y fluidez, así como puntos de fusión más bajos. El ejemplo más estudiado de la capacidad de un LIP para formar redes supramoleculares a través de enlaces de hidrógeno está relacionado con el EAN.<sup>6,7</sup>

### 1.1.1 Síntesis de Líquidos Iónicos

La primera síntesis de un LI fue publicada en 1914, y se trató de la síntesis de EAN, cuyo punto de fusión es 12°C.<sup>8</sup> Esta síntesis, que se emplea en la actualidad, es llevada a cabo mediante la adición del ácido concentrado correspondiente (ácido nítrico) a etilamina. Como etapa de separación, se remueve la capa acuosa en un evaporador rotatorio, obteniendo finalmente el líquido iónico a temperatura ambiente.

Actualmente la síntesis de los LIs puede describirse de manera general en 2 pasos:

(1) La formación del catión deseado: El catión puede sintetizarse ya sea por protonación de, por ejemplo, una amina por un ácido, o a través de reacciones de cuaternización mediante haloalcanos y calentando la mezcla.<sup>9,10</sup> En el esquema 1 se ejemplifica con sales de amonio:



**Esquema 1**

En el caso de que no se pueda formar el anión deseado en la reacción de cuaternización, el siguiente paso es el Intercambio aniónico (Esquema 2). Este paso puede llevarse a cabo de varias maneras:

(a) Tratamiento de sales de haluros con ácido de Lewis para formar LIs basados en ácidos

<sup>6</sup> Wang, X., Zhang, Z., Cao, Y., & Hao, J. (2017). Ionogels of pseudogemini supra-amphiphiles in ethylammonium nitrate: Structures and properties. *Journal of colloid and interface science*, 491, 64-71.

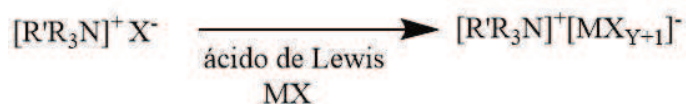
<sup>7</sup> Niga, P., Wakeham, D., Nelson, A., Warr, G. G., Rutland, M., & Atkin, R. (2010). Structure of the ethylammonium nitrate surface: An X-ray reflectivity and vibrational sum frequency spectroscopy study. *Langmuir*, 26(11), 8282-8288.

<sup>8</sup> P. Walden, Ueber die Molekulargröße und elektrische Leitfähigkeit einiger geschmolzenen Salze, *Bulletin de l'Académie Impériale des Sciences de St.-Petersbourg*. VI série 1914, pp. 405-422.

<sup>9</sup> Wilkes, J. S., Levisky, J. A., Wilson, R. A., & Hussey, C. L. (1982). Dialkylimidazolium chloroaluminate melts: a new class of room-temperature ionic liquids for electrochemistry, spectroscopy and synthesis. *Inorganic Chemistry*, 21(3), 1263-1264.

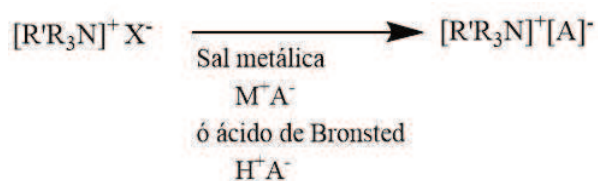
<sup>10</sup> Hussey, C. L. (1988). Room temperature haloaluminate ionic liquids. Novel solvents for transition metal solution chemistry. *Pure and applied Chemistry*, 60(12), 1763-1772.





Esquema 2a

(b) Mediante metátesis aniónica. Esta es la metodología de elección para obtener LIs basados en cationes alquilimidazólicos. El proceso de metátesis ocurre en presencia de sales de haluro con sodio, potasio o sales de plata de  $\text{CH}_3\text{COO}^-$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{BF}_4^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{PF}_6^-$  entre otros.



Esquema 2b

### 1.1.2 Características estructurales de los LIs

Las propiedades químicas y físicas de los LIs pueden modificarse en base a la elección del catión y el anión. Esto permite optimizar la estructura del LIs en función de la aplicación de interés. Por esta razón se los considera 'solventes de diseño' en diferentes publicaciones.<sup>11</sup>

A continuación, se resumen las principales características de estos materiales.

#### 1.1.2.1. Punto de fusión


Una de las propiedades que diferencia un LI de una sal es el punto de fusión y es un criterio que no debe perderse de vista. Por lo tanto, es esencial entender la relación entre la estructura de un LI y su punto de fusión.

Si comparamos los puntos de fusión de diferentes sales de cloruro podemos ver rápidamente la influencia del catión (Tabla 1). Los cloruros de metales alcalinos dan lugar a puntos de fusión más elevados, mientras que la presencia de cationes orgánicos permite obtener puntos de fusión por debajo de los 150°C.<sup>12,13</sup>

<sup>11</sup> Freemantle, M. (1998). Designer solvents-Ionic liquids may boost clean technology development. *Chemical & engineering news*, 76(13), 32-37.

<sup>12</sup> Wilkes, J. S., Levisky, J. A., Wilson, R. A., & Hussey, C. L. (1982). Dialkylimidazolium chloroaluminate melts: a new class of room-temperature ionic liquids for electrochemistry, spectroscopy and synthesis. *Inorganic Chemistry*, 21(3), 1263-1264.

<sup>13</sup> Haynes, W. M., Lide, D. R., & Bruno, T. J. (2016). *CRC handbook of chemistry and physics*. CRC press.

Sal inorgánica	LI	Punto de Fusión (°C)
NaCl	-	803
KCl	-	772
-		R=R'=metil (dmim) 125
-		R=metil R'=etil (emim) 87
-		R=metil R'=butil (bmim) 65

**Tabla 1.** Puntos de fusión para diferentes sales de cloradas.

En cuanto a la influencia del anión, en la mayoría de los casos, para una misma base catiónica un tamaño mayor del anión con la misma carga conlleva a un menor punto de fusión, como se puede ver en los ejemplos de la Tabla 2.

Sal	Punto de Fusión (°C)
emimCl	87
emimNO <sub>2</sub>	55
emimNO <sub>3</sub>	38
emimAlCl <sub>4</sub>	7
emimBF <sub>4</sub>	6
emimCF <sub>3</sub> SO <sub>3</sub>	-9
emimCF <sub>3</sub> CO <sub>2</sub>	-14

**Tabla 2.** Puntos de fusión para distintas sales alquilimidazólicas.<sup>14,15,16,17,18</sup>

<sup>14</sup> Wilkes, J. S., Levisky, J. A., Wilson, R. A., & Hussey, C. L. (1982). Dialkylimidazolium chloroaluminate melts: a new class of room-temperature ionic liquids for electrochemistry, spectroscopy and synthesis. *Inorganic Chemistry*, 21(3), 1263-1264.

<sup>15</sup> Wilkes, J. S., & Zaworotko, M. J. (1992). Air and water stable 1-ethyl-3-methylimidazolium based ionic liquids. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications*, (13), 965-967.

<sup>16</sup> Fannin Jr, A. A., Floreani, D. A., King, L. A., Landers, J. S., Piersma, B. J., Stech, D. J., ... & Williams, J. L. (1984). Properties of 1, 3-dialkylimidazolium chloride-aluminum chloride ionic liquids. 2. Phase transitions, densities, electrical conductivities, and viscosities. *The Journal of Physical Chemistry*, 88(12), 2614-2621.

<sup>17</sup> Holbrey, J. D., & Seddon, K. R. (1999). Ionic liquids. *Clean products and processes*, 1(4), 223-236.

<sup>18</sup> Bonhote, P., Dias, A. P., Papageorgiou, N., Kalyanasundaram, K., & Grätzel, M. (1996). Hydrophobic, highly conductive ambient-temperature molten salts. *Inorganic chemistry*, 35(5), 1168-1178.

### 1.1.2.2. Presión de vapor y estabilidad térmica

Los LIs presentan presión de vapor despreciable. Esto es una gran ventaja, ya que vuelve a la separación por destilación de una mezcla de reacción un método más efectivo. La formación de azeótropos entre el solvente y el producto, no es un problema cuando se utilizan LIs. Dado que los LIs están compuestos solo de iones, se necesita una cantidad considerable de energía para vaporizar el ion. Se estima fácilmente que la energía es mayor que las fuerzas electrostáticas para que los iones existan como pares de iones. Sin embargo, los iones se estabilizan considerablemente mediante una pseudo-red que minimiza la energía de red de las sales de forma similar a los cristales iónicos. En consecuencia, la fuerza de vaporización es mucho mayor que la fuerza electrostática entre un catión y un anión.<sup>19</sup>

La estabilidad térmica de los LIs está determinada por la fuerza de enlace heteroátomo-C y heteroátomo-H. Los LIs sintetizados a partir de la protonación directa de una amina o fosfano muestra, por ejemplo, una estabilidad térmica limitada. Por ejemplo, muchas sales de trialquilamonio descomponen por debajo de los 80°C en vacío (dependiendo del punto de ebullición de la amina o ácido relacionado). Para LIs obtenidos mediante la alquilación de una amina o fosfano, suelen tender a la transalquilación o desalquilación inducida por temperatura, dependiendo de la naturaleza del anión. Por otro lado, mientras 150°C es la temperatura máxima de trabajo para la mayoría de las sales cuaternarias de amonio, el emim tetrafluoroborato, por ejemplo, se ha reportado ser estable a alrededor de 300°C,<sup>20</sup> y el emim (CF<sub>3</sub>SO<sub>2</sub>)<sub>2</sub>N (pf= -3°C) es estable por encima de los 400°C.<sup>21</sup> En consecuencia, algunos LIs presentan, en contraste al agua y la mayoría de los solventes orgánicos, un rango líquido superior a los 400°C.

### 1.1.2.3. Densidad

Se ha estudiado la relación estructura-densidad para sales de cloroaluminato y bromoaluminato. Se demostró una relación lineal entre la densidad y la cadena alquílica del catión alquilimidazólico.<sup>22</sup>

---

<sup>19</sup> Ohno, H. (2006). Functional design of ionic liquids. *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, 79(11), 1665-1680.

<sup>20</sup> Mutch, M. L., & Wilkes, J. S. (1998). Thermal analysis of 1-ethyl-3-methylimidazolium tetrafluoroborate molten salt. *ECS Proceedings Volumes*, 1998(1), 254.

<sup>21</sup> Bonhote, P., Dias, A. P., Papageorgiou, N., Kalyanasundaram, K., & Grätzel, M. (1996). Hydrophobic, highly conductive ambient-temperature molten salts. *Inorganic chemistry*, 35(5), 1168-1178.

<sup>22</sup> Fannin Jr, A. A., Floreani, D. A., King, L. A., Landers, J. S., Piersma, B. J., Stech, D. J., ... & Williams, J. L. (1984). Properties of 1, 3-dialkylimidazolium chloride-aluminum chloride ionic liquids. 2. Phase transitions, densities, electrical conductivities, and viscosities. *The Journal of Physical Chemistry*, 88(12), 2614-2621.

De forma general, se puede concluir que la densidad de LIs similares estructuralmente, desciende a medida que el volumen del catión aumenta. Por lo tanto, pequeños cambios estructurales en el catión permitirían ajustar la densidad.

En cuanto a los aniones, con sales de bromo aluminato, por ejemplo, fue posible alcanzar densidades mayores que para solventes orgánicos comunes.

#### 1.1.2.4. Viscosidad

La viscosidad de los LIs está determinada principalmente por la tendencia a formar puentes de hidrógeno y por las fuerzas de Van der Waals.

El efecto de los puentes de hidrógeno se vuelve claro cuando, por ejemplo, se compara la viscosidad de los cloroaluminatos de diferente composición.<sup>20</sup> El incremento en la viscosidad por un factor de 10 en LIs con una fracción molar de  $\text{AlCl}_3 < 0,5$ , es resultado de la formación de puentes de hidrógeno entre átomos del catión alquilimidazólico y el anión cloruro. Esto está sostenido por espectroscopia IR<sup>23</sup> y rayos X<sup>24</sup>, ROESY-RMN y cálculos teóricos<sup>25</sup>. Sin embargo, en mezclas ácidas, están presentes los aniones  $\text{AlCl}_4^-$  y  $\text{Al}_2\text{Cl}_7^-$ , en los cuales está mejor distribuida la carga lo que conlleva a puentes de hidrógeno más lábiles y una menor viscosidad.

En la tabla 3, se comparan la viscosidad de diferentes LIs hidrofóbicos conteniendo el ion 1-*N*-butil-3-metilimidazólico (bmim). Se enfatiza el aporte de las interacciones de Van der Waals con los puentes de hidrógeno.<sup>26</sup> La transición del anión triflato al  $n\text{-C}_4\text{F}_9\text{SO}_3^-$ , y del trifluoroacetato al  $n\text{-C}_3\text{F}_7\text{COO}^-$ , revela un aumento marcado de la viscosidad. El aumento de interacciones de Van der Waals en los casos de  $n\text{-C}_4\text{F}_9\text{SO}_3^-$  y  $n\text{-C}_3\text{F}_7\text{COO}^-$ , resulta en un aumento de la viscosidad de los LIs correspondientes. Por su parte, la comparación del bmim  $\text{CF}_3\text{SO}_3$  con el Bmim  $(\text{CF}_3\text{SO}_2)_2\text{N}$ , revela una disminución en la viscosidad a pesar de las mayores interacciones de Van der Waals en este último. En este caso, la supresión casi por completo de interacciones de hidrógeno resulta en la disminución de la viscosidad.<sup>25</sup>

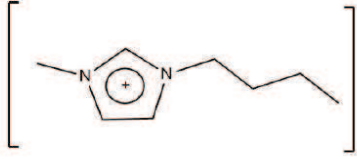
---

<sup>23</sup> Tait, S., & Osteryoung, R. A. (1984). Infrared study of ambient-temperature chloroaluminates as a function of melt acidity. *Inorganic Chemistry*, 23(25), 4352-4360.

<sup>24</sup> Dymek Jr, C. J., Grossie, D. A., Fratini, A. V., & Adams, W. W. (1989). Evidence for the presence of hydrogen-bonded ion-ion interactions in the molten salt precursor, 1-methyl-3-ethylimidazolium chloride. *Journal of Molecular Structure*, 213, 25-34.

<sup>25</sup> Mantz, R. A., Trulove, P. C., Carlin, R. T., & Osteryoung, R. A. (1995). ROESY NMR of basic ambient-temperature chloroaluminate ionic liquids. *Inorganic Chemistry*, 34(14), 3846-3847.

<sup>26</sup> Bonhote, P., Dias, A. P., Papageorgiou, N., Kalyanasundaram, K., & Grätzel, M. (1996). Hydrophobic, highly conductive ambient-temperature molten salts. *Inorganic chemistry*, 35(5), 1168-1178.

Catión	Anión	Viscosidad (Cp)
	$\text{CF}_3\text{SO}_3^-$	90
	$n\text{-C}_4\text{F}_9\text{SO}_3^-$	373
	$\text{CF}_3\text{COO}^-$	73
	$n\text{-C}_3\text{F}_7\text{COO}^-$	182
	$(\text{CF}_3\text{SO}_2)_2\text{N}^-$	52

**Tabla 3.** Viscosidad dinámica de diferentes sales de bmim, medidas a 20°C.

La viscosidad también se ve influenciada por la estructura del catión. Se obtienen menores viscosidades en LIs con catión 1-etil-3-metilimidazolico (emim), en el cual una cadena lateral con movilidad se combina con la menor masa molar. Cadenas laterales más largas o fluoradas resultan en mayores viscosidades debido al aumento de las interacciones de Van der Waals.<sup>25</sup>

La viscosidad se puede reducir drásticamente, en algunos casos, con sólo un pequeño aumento de la temperatura<sup>27,28</sup>, o mediante la adición de pequeñas cantidades de cosolventes.<sup>29</sup>

#### 1.1.2.5. Fuerza de solvatación y solubilidad

Para analizar estos factores, se estudió la solubilidad del 1-octeno en diferentes LIs de metiltrialquilamonio que tienen como anión al tosilato.<sup>30</sup> Se demuestra que, a mayor carácter no polar del catión, aumenta marcadamente la solubilidad del 1-octeno en los LIs. En tosilato de 1-metil-tri-*N*-octilamonio, se obtiene una mezcla de reacción de una sola fase. Este ejemplo muestra que la solubilidad se puede variar con la cadena alquílica del catión.

Por su parte la solubilidad en agua de diferentes LIs compuestos por bmim, nos permite ver la contribución del anión. Mientras bmimBr, bmimCF<sub>3</sub>COO y bmimCF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>, son altamente solubles en agua, LIs con el mismo catión, pero anión PF<sub>6</sub><sup>-</sup> o (CF<sub>3</sub>SO<sub>2</sub>)<sub>2</sub>N<sup>-</sup> forman mezclas bifásicas al mezclarse con agua.<sup>31</sup>

<sup>27</sup> Fannin Jr, A. A., Floreani, D. A., King, L. A., Landers, J. S., Piersma, B. J., Stech, D. J., ... & Williams, J. L. (1984). Properties of 1, 3-dialkylimidazolium chloride-aluminum chloride ionic liquids. 2. Phase transitions, densities, electrical conductivities, and viscosities. *The Journal of Physical Chemistry*, 88(12), 2614-2621.

<sup>28</sup> Fuller, J., Carlin, R. T., & Osteryoung, R. A. (1997). The room temperature ionic liquid 1-ethyl-3-methylimidazolium tetrafluoroborate: electrochemical couples and physical properties. *Journal of the Electrochemical Society*, 144(11), 3881.

<sup>29</sup> Perry, R. L., Jones, K. M., Scott, W. D., Liao, Q., & Hussey, C. L. (1995). Densities, viscosities, and conductivities of mixtures of selected organic cosolvents with the lewis basic aluminum chloride+ 1-methyl-3-ethylimidazolium chloride molten salt. *Journal of chemical and engineering data*, 40(3), 615-619.

<sup>30</sup> Waffenschmidt, H. (2000). *Zur Hydroformylierung in ionischen Flüssigkeiten* (Doctoral dissertation, Bibliothek der RWTH Aachen).

<sup>31</sup> Bonhote, P., Dias, A. P., Papageorgiou, N., Kalyanasundaram, K., & Grätzel, M. (1996). Hydrophobic, highly conductive ambient-temperature molten salts. *Inorganic chemistry*, 35(5), 1168-1178.

Rogers y colaboradores, investigaron la solubilidad de diferentes ácidos y bases en agua/bmimPF<sub>6</sub> a diferentes pH de la fase acuosa.<sup>32</sup> Es interesante ver que sus resultados revelan una mayor solubilidad de los sustratos neutros en el LI, mientras que las especies iónicas se disuelven preferentemente en la fase acuosa. Los autores concluyen que la solubilidad del bmimPF<sub>6</sub> vs el agua es muy similar a la de algunos solventes orgánicos. Por lo tanto, este tipo de LIs, podría resultar una opción interesante para reacciones de extracción.

Brennecke y colaboradores han estudiado la solubilidad del CO<sub>2</sub> supercrítico en bmimPF<sub>6</sub>.<sup>33</sup> En este sistema bifásico se logró disolver 60% de CO<sub>2</sub> en el LI a una presión de 80 bar del CO<sub>2</sub>. Como aplicación de este sistema, los autores estudiaron la extracción de naftaleno. Lograron recobrar el naftaleno cuantitativamente sin detectar contaminaciones del extracto por el LI.

Otro parámetro importante, al analizar la solubilidad es la polaridad de los LIs. La polaridad de los solventes es usualmente determinada de forma empírica. Un método bien conocido y fácil de medir, es la absorción utilizando ciertas sondas solvatocrómicas a partir de las cuales derivan parámetros empíricos que ofrecen una medida cuantitativa de la propiedad: polaridad, acidez, basicidad. Respecto a la polaridad de los solventes se deriva de la medición del máximo de absorción, que refleja la habilidad de solvatación de un solvente de manera mucho más clara que un constante física individual.<sup>34</sup> Entre las distintas escalas empíricas de polaridad, la  $E_T(30)$  introducida por Dimroth en 1963<sup>35</sup> y luego desarrollada por Reichardt en 1971, ha demostrado ser la más satisfactoria, y se basa en el solvatochromismo del colorante de Reichardt o Betaina 30.<sup>36</sup> Este método ha sido utilizado para determinar la polaridad de algunos LIs. Los resultados obtenidos muestran una variedad de polaridades como, por ejemplo, el benzoato de tetra-*N*-butilamonio con un  $E_T(30)$  de 0,41 cae dentro del rango de polaridad del DMF,<sup>37</sup> también fue determinado el valor de  $E_T(30)$  para el NEA de 0,95 correspondiendo a la polaridad del CF<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OH y el agua.<sup>38</sup>

---

<sup>32</sup> Huddleston, J. G., Willauer, H. D., Swatoski, R. P., Visser, A. E., & Rogers, R. D. (1998). Room temperature ionic liquids as novel media for 'clean' liquid-liquid extraction. *Chemical Communications*, (16), 1765-1766.

<sup>33</sup> Blanchard, L. A., Hancu, D., Beckman, E. J., & Brennecke, J. F. (1999). Green processing using ionic liquids and CO<sub>2</sub>. *Nature*, 399(6731), 28-29.

<sup>34</sup> Reichardt, C. (1997). Lösungsmittelpolarität-Was ist das?. *Nachrichten aus Chemie, Technik und Laboratorium*, 45(7-8), 759-763.

<sup>35</sup> Dimroth, K., Reichardt, C., Siepmann, T., & Bohlmann, F. (1963). Über Pyridinium-N-phenol-betaine und ihre Verwendung zur Charakterisierung der Polarität von Lösungsmitteln. *Justus Liebigs Annalen der Chemie*, 661(1), 1-37.

<sup>36</sup> Reichardt, C. (1994). Solvatochromic dyes as solvent polarity indicators. *Chemical reviews*, 94(8), 2319-2358.

<sup>37</sup> Reichardt, C., & HARBUSCH-GOERNERT, E. +. (1983). PYRIDINIUM N-PHENOXIDE BETAINES AND THEIR APPLICATION FOR THE CHARACTERIZATION OF SOLVENT POLARITIES. X. EXTENSION, CORRECTION, AND NEW DEFINITION OF THE  $E_T$  SOLVENT POLARITY SCALE BY APPLICATION OF A LIPOPHILIC PENTA-TERT-BUTYL-SUBSTITUTED PYRIDINIUM N-PHENOXIDE BETAIN DYE. *Chemischer Informationsdienst*, 14(34).

<sup>38</sup> Poole, S. K., Shetty, P. H., & Poole, C. F. (1989). Chromatographic and spectroscopic studies of the solvent properties of a new series of room-temperature liquid tetraalkylammonium sulfonates. *Analytica chimica acta*, 218, 241-264.

#### 1.1.2.6. Acidez y basicidad relativa

Los aniones en LIs típicos son aquellos que pueden describirse como neutros en el sentido ácido/base o muy débilmente básicos; estos exhiben solo interacciones electrostáticas débiles con el catión obteniendo así puntos de fusión y viscosidades ventajosamente bajas.<sup>39</sup>

En esta clase se incluyen aniones como hexafluorofosfato, bis(trifluorometanosulfonil)imida, tetrafluoroborato, metanosulfonato (mesilato), tiocianato, triclanometida y p-toluenosulfonato (tosilato) (Esquema 3). Los LIs formados a partir de estos aniones suelen presentar una buena estabilidad térmica y electroquímica y, por lo tanto, a menudo se utilizan como disolventes inertes en una amplia gama de aplicaciones.<sup>37</sup>

Algunos LIs basados en los iones próticos de amonio, pirrolidinio e imidazolio son ligeramente ácidos debido a su equilibrio de autoprotólisis (Esquema 3), otros como los LIs basados en  $AlCl_3$  son ácidos de Lewis que contienen un exceso de  $AlCl_3$ .<sup>37,40</sup>

Hay una serie de aniones formadores de LIs que pueden clasificarse como básicos. Estos incluyen el lactato, formiato, acetato (y carboxilatos en general) y el anión dicianamida (dca). Las dicianamidas, en particular, están fácilmente disponibles debido a su baja viscosidad, incluso como sales de fosfonio.<sup>37</sup>

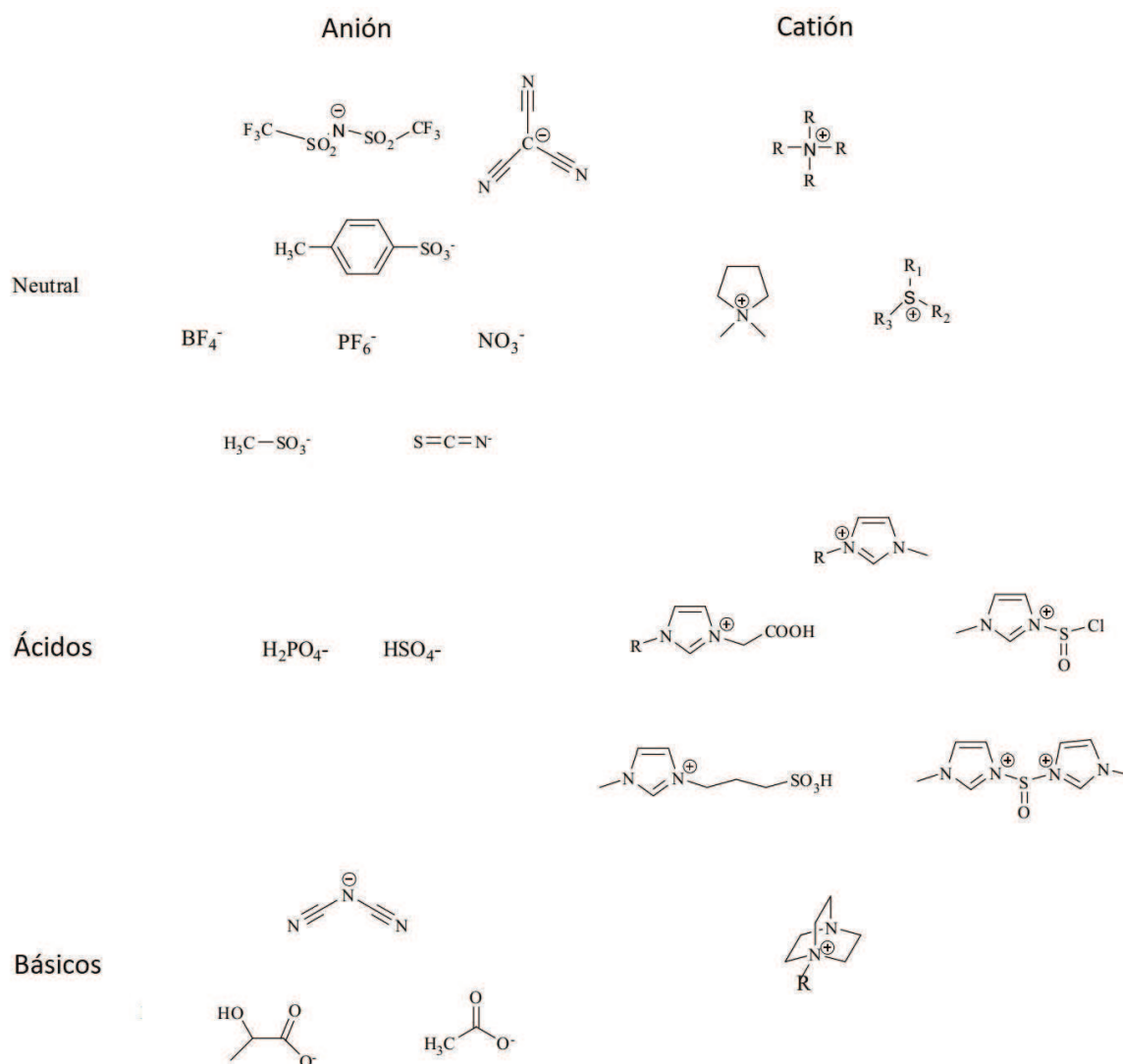
Dado que la basicidad de estos aniones imparte diferentes propiedades ventajosas a los LIs, como diferentes propiedades solubilizantes y catalíticas. Una alternativa al diseño de LIs que utilizan un anión básico es incorporar un sitio básico en el catión. Esto puede producir LIs más estables térmicamente que los que contienen aniones básicos, que con frecuencia exhiben temperaturas de descomposición relativamente bajas (Esquema 3).<sup>37</sup>

Hay una pequeña cantidad de aniones LIs que pertenecen a la interesante clase de aniones anfóteros, con el potencial de aceptar y donar protones dependiendo de las otras sustancias presentes. Los aniones sulfato de hidrógeno ( $HSO_4$ ) y fosfato de dihidrógeno ( $H_2PO_4$ ) son ejemplos simples de tales aniones.<sup>37</sup>

---

<sup>39</sup> Hajipour, A. R., & Rafiee, F. (2009). Basic ionic liquids. A short review. *Journal of the Iranian Chemical Society*, 6(4), 647-678.

<sup>40</sup> Bravo, M. V., Fernández, J. L., Adam, C. G., & Della Rosa, C. D. (2019). Understanding the Role of Protic Ionic Liquids (PILs) in Reactive Systems: Rational Selection of PILs for the Design of Green Synthesis Strategies for Allylic Amines and  $\beta$ -Amino Esters. *ChemPlusChem*, 84(7), 919-926.



**Esquema 3.** Ejemplos de aniones y cationes ácido, básicos y neutros.

### 1.1.3. Manipulación y disponibilidad

La manipulación de los LIs depende esencialmente de la estabilidad del anión frente a la hidrólisis. Mientras los LIs con nitrato y bencensulfonato entre otros, por ejemplo, son estables en el aire y pueden ser sintetizados en agua, sistemas con cloroaluminatos son extremadamente higroscópicos y propensos a sufrir hidrólisis.

La disponibilidad comercial de los LIs se ha incrementado con los años, pero sigue siendo limitada. En este contexto, cabe mencionar que, en muchas de sus aplicaciones los LIs pueden ser recuperados fácilmente y reutilizados. Por lo tanto, en casos ideales, la inversión en la adquisición/síntesis de LIs puede ser considerada para una única ocasión.



#### 1.1.4. Líquidos iónicos para tareas específicas

En 1999, Davis Jr. y Forrester demostraron el concepto de diseñar un LI para interactuar con un soluto de manera específica utilizando un LI, basado en el catión *N*-butil-4-metiltiazolio con anión  $\text{BF}_4^-$ , como solvente/catalizador para la condensación de benzoína. Introdujeron de esta forma el término 'Líquidos iónicos para tareas específicas' o TSILs (por sus siglas en inglés).<sup>41,42</sup> La unión covalente de algunos grupos funcionales al anión y/o catión de un LI aporta la capacidad de comportarse no solo como solvente sino también como reactivo y/o catalizador en reacciones químicas.<sup>43,44</sup> Por ejemplo, LIs que contienen grupos sulfónicos fueron utilizados como catalizadores para reacciones de esterificación y otras reacciones catalizadas por ácido.<sup>45</sup> LIs con grupos amino, han sido utilizados para separar  $\text{CO}_2$  de corrientes de gas.<sup>46</sup> Los LIs con grupos aromáticos demostraron una actividad incrementada para la extracción de compuestos aromáticos en sistemas bifásicos.<sup>47</sup>

Algunos autores dividen a los LIs en 3 tipos principales.<sup>48</sup> En un principio, los LIs fueron utilizados como reemplazo de algunos solventes orgánicos, debido a sus propiedades características en términos de volatilidad y estabilidad térmica. Luego surgen los LIs para tareas específicas (TSILs) y por último aquellos LIs con superficie activa aptos para la industria farmacéutica y sistemas biológicos. Estos tres tipos coexisten y la delimitación entre ellos a veces se vuelve difícil de distinguir. Por ejemplo, los LIs han sido estudiado como solventes más 'verdes' para su uso en la industria farmacéutica<sup>49</sup>, mientras que los SAILs han sido estudiados entre los TSILs por ser anfifílicos y con capacidad de autoagregación.

---

<sup>41</sup> Davis Jr, J. H., Forrester, K. J., & Merrigan, T. (1998). Novel organic ionic liquids (OILs) incorporating cations derived from the antifungal drug miconazole. *Tetrahedron Letters*, 39(49), 8955-8958.

<sup>42</sup> Davis Jr, J. H., & Forrester, K. J. (1999). Thiazolium-ion based organic ionic liquids (OILs). 1, 2 Novel OILs which promote the benzoin condensation. *Tetrahedron Letters*, 40(9), 1621-1622.

<sup>43</sup> H. Davis, Jr, J. (2004). Task-specific ionic liquids. *Chemistry letters*, 33(9), 1072-1077.

<sup>44</sup> Sawant, A. D., Raut, D. G., Darvatkar, N. B., & Salunkhe, M. M. (2011). Recent developments of task-specific ionic liquids in organic synthesis. *Green Chemistry Letters and Reviews*, 4(1), 41-54.

<sup>45</sup> Xing, H., Wang, T., Zhou, Z., & Dai, Y. (2005). Novel Brønsted-acidic ionic liquids for esterifications. *Industrial & engineering chemistry research*, 44(11), 4147-4150.

<sup>46</sup> Bates, E. D., Mayton, R. D., Ntai, I., & Davis, J. H. (2002).  $\text{CO}_2$  capture by a task-specific ionic liquid. *Journal of the American Chemical Society*, 124(6), 926-927.

<sup>47</sup> Visser, A. E., Holbrey, J. D., & Rogers, R. D. (2001). Hydrophobic ionic liquids incorporating *N*-alkylisoquinolinium cations and their utilization in liquid-liquid separations. *Chemical Communications*, (23), 2484-2485.

<sup>48</sup> Silva, A. T., Teixeira, C., Marques, E. F., Prudêncio, C., Gomes, P., & Ferraz, R. (2021). Surfing the Third Wave of Ionic Liquids: A Brief Review on the Role of Surface-Active Ionic Liquids in Drug Development and Delivery. *ChemMedChem*, 16(17), 2604-2611.

<sup>49</sup> Marrucho, I. M., Branco, L. C., & Rebelo, L. P. N. (2014). Ionic liquids in pharmaceutical applications. *Annu. Rev. Chem. Biomol. Eng.*, 5(1), 527-546.

### 1.1.5. Líquidos iónicos como surfactantes

Aquellos LIs que contienen un dominio hidrofóbico e hidrofílico debido a las cargas inherentes y la similitud estructural con los tensioactivos iónicos pueden formar micelas en soluciones acuosas surge así la denominación de SAILs por sus siglas en inglés (surface-active ionic liquids).<sup>50,51,52</sup> Los SAILs que poseen cationes anfifílicos pueden considerarse como una nueva clase de tensioactivos catiónicos, por ejemplo, LIs a base de imidazolio sustituidos con cadenas alquílicas mayores a 8 átomos de carbono.<sup>48,53,54</sup> El tipo de contraión no es despreciable en estos casos, ya que afecta la solubilidad de los LIs correspondientes. La presencia del contraión de solubilidad decreciente como bis(trifluorometanosulfonil)imida ( $\text{NTf}_2^-$ ) o hexafluorofosfato ( $\text{PF}_6^-$ ) previene la formación de micelas e induce la separación de fases antes de cualquier agregación.<sup>48</sup>

La formación de estructuras autoensambladas influye en las propiedades disolventes y puede tener consecuencias, entre otras, en los procesos de partición. El conocimiento de las condiciones de autoorganización de los LIs parece ser crucial para desarrollar sus futuras aplicaciones en técnicas de separación.

Las fuerzas impulsoras más importantes de la formación de micelas en el agua parecen ser los fenómenos de autoasociación de especies químicas que no son capaces de interactuar con las moléculas de agua.<sup>55</sup> Este proceso parece ser energéticamente favorable porque se demostró que el cambio de entropía observado es positivo. Esto podría explicarse por la contribución del agua a la entropía debido al desorden en los enlaces de hidrógeno netos que se produce por la formación de agregados ordenados de tensioactivos.<sup>56</sup> El parámetro común que describe el proceso de autoagregación es el Concentración Micelar Crítica (CMC). El valor de CMC indica la concentración mínima de surfactante necesaria para que el sistema se organice en micelas y como consecuencia de esta organización se observa un cambio en las propiedades físicas

---

<sup>50</sup> Łuczak, J., Hupka, J., Thöming, J., & Jungnickel, C. (2008). Self-organization of imidazolium ionic liquids in aqueous solution. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 329(3), 125-133.

<sup>51</sup> Blesic, M., Marques, M. H., Plechkova, N. V., Seddon, K. R., Rebelo, L. P. N., & Lopes, A. (2007). Self-aggregation of ionic liquids: micelle formation in aqueous solution. *Green Chemistry*, 9(5), 481-490.

<sup>52</sup> Jungnickel, C., Łuczak, J., Ranke, J., Fernández, J. F., Müller, A., & Thöming, J. (2008). Micelle formation of imidazolium ionic liquids in aqueous solution. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 316(1-3), 278-284.

<sup>53</sup> Bowers, J., Butts, C. P., Martin, P. J., Vergara-Gutierrez, M. C., & Heenan, R. K. (2004). Aggregation behavior of aqueous solutions of ionic liquids. *Langmuir*, 20(6), 2191-2198.

<sup>54</sup> Miskolczy, Z., Sebők-Nagy, K., Biczók, L., & Göktürk, S. (2004). Aggregation and micelle formation of ionic liquids in aqueous solution. *Chemical physics letters*, 400(4-6), 296-300.

<sup>55</sup> Huibers, P. D., Lobanov, V. S., Katritzky, A. R., Shah, D. O., & Karelson, M. (1997). Prediction of critical micelle concentration using a quantitative structure-property relationship approach. *Journal of Colloid and Interface Science*, 187(1), 113-120.

<sup>56</sup> Atkins, P. W. (1994). The van der Waals equation, The properties of simple mixtures. *Physical Chemistry* 5th ed., Oxford: Oxford University Press, 44-47.

(conductividad, turbidez, tensión superficial).<sup>57</sup> Por lo tanto, una gran variedad de técnicas de medición está disponible para determinar la CMC, incluso tan sofisticadas como las mediciones de dispersión de neutrones de ángulo pequeño, la extinción de la fluorescencia del pireno, las mediciones de <sup>1</sup>H-NMR, absorción UV-vis de una sonda u indicador, medidas cinéticas, etc. Esta variabilidad de técnicas y parámetros medidos provoca falta de consistencia entre los resultados obtenidos para tensioactivos similares mediante el uso de diferentes metodologías.<sup>48</sup>

De acuerdo con los datos encontrados en la literatura, se puede concluir que el valor de CMC de los LIs disminuye cuando aumenta la hidrofobicidad de algunos dominios y disminuye la hidratación del contraión, lo que permite su adsorción en la superficie de la micela, lo que facilita la agregación. A su vez, las mediciones de conductividad indicaron que la polaridad del solvente influye en la CMC y el tamaño de los agregados formados. Por lo tanto, la polaridad más baja del solvente utilizado provoca la disminución de la CMC de los LIs con base catiónica imidazólica y, además el aumento del tamaño de los agregados.<sup>58</sup>

## 1.2. Introducción Parte I: SAILS

La versatilidad estructural del LI abre una amplia gama de aplicaciones para un grupo de LIs denominados SAILS por sus siglas en inglés (surface active ionic liquid), como en catálisis micelar, en química analítica y en metodologías de separación (SAILS)<sup>59</sup>. Estos nuevos surfactantes iónicos, con fórmula genérica C<sub>n</sub>HIm-X (donde C<sub>n</sub>HIm indica un catión imidazólico sustituido con una cadena alquílica de n átomos de C, y X es el anión) se comportan similarmente a los surfactantes tradicionales, pero con ciertas propiedades mejoradas.

### 1.2.1. Estructura de los SAILS

En general los SAILS pueden ser clasificados como LIs con cadenas alquílicas, típicamente mayores a 8 átomos de carbono.<sup>60</sup> Por otro lado, muchos de los iones que conforman los LIs son polarizables, resultando en nubes electrónicas flexibles. Los dipolos inducidos producidos se

---

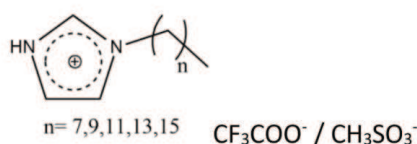
<sup>57</sup> Pérez-Rodríguez, M., Prieto, G., Rega, C., Varela, L. M., Sarmiento, F., & Mosquera, V. (1998). A comparative study of the determination of the critical micelle concentration by conductivity and dielectric constant measurements. *Langmuir*, 14(16), 4422-4426.

<sup>58</sup> Dorbritz, S., Ruth, W., & Kragl, U. (2005). Investigation on aggregate formation of ionic liquids. *Advanced Synthesis & Catalysis*, 347(9), 1273-1279.

<sup>59</sup> Adam, C. G., y Fortunato, G. G. (2019). Synthesis and Self-Assembly Properties of New Surface-Active 1-Alkylimidazolium Ionic Liquids in Aqueous Media. *Journal of Surfactants and Detergents* (22), 501-513.

<sup>60</sup> Łuczak, J., Hupka, J., Thöming, J., & Jungnickel, C. (2008). Self-organization of imidazolium ionic liquids in aqueous solution. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 329(3), 125-133.

contraponen a las interacciones coulómbicas entre los iones. En 2019 se publicó una revisión detallada sobre las interacciones coulómbicas reducidas entre los iones de los LIs.<sup>61</sup> Como resultado del grupo de cabeza hidrofílica cargado y la cola hidrofóbica, el LI tiene un carácter anfifílico y puede comportarse como un tensioactivo. En la Figura 2 se puede ver la estructura de los SAILs utilizados para el desarrollo de esta Tesis.



**Figura 2.** Estructura de los LIs (C<sub>n</sub>Him) utilizados para el desarrollo de la tesis doctoral

### 1.2.2. Sistemas micelares y caracterización de los SAILs

Las micelas tienen un tamaño pequeño, normalmente entre 5-100 nm por lo que las soluciones micelares conforman medios microheterogéneos o nanoestructurados llegando a considerarse incluso nanomateriales. Los surfactantes son un componente crítico de la mayoría de estos sistemas, son compuestos orgánicos anfifílicos que poseen tanto un grupo hidrofílico (“cabeza”) como un grupo hidrofóbico (“cola”). La auto-agregación de surfactantes en solución acuosa da lugar a la formación de sistemas microheterogéneos diversos, entre ellos, los sistemas micelares. Las micelas exhiben un comportamiento crítico, es decir, se forman cuando la concentración de surfactante excede un determinado valor, el de la concentración micelar crítica (CMC). Esta CMC es característica de cada sistema y puede variar en función de la temperatura y de la presencia de otros solutos.

A partir de la CMC, todo aumento en la concentración de surfactante implica un aumento en la concentración de micelas. Encima de la CMC, toda molécula adicional de surfactante se incorpora dentro de las micelas, y la concentración de surfactante en estado molecular "monomérico" o no asociado, queda prácticamente constante (muy cerca de la CMC); sin embargo se debe destacar que el equilibrio monómero-micela es de tipo dinámico, es decir, que existe un intercambio permanente de moléculas entre las micelas y la fase acuosa.<sup>62</sup> El proceso de micelización es el resultado de un balance entre fuerzas de atracción y de repulsión, cuyo inicio trae consigo cambios significativos en el valor de algunas propiedades macroscópicas del sistema. Por ejemplo: tensión superficial, conductividad, densidad, presión osmótica, dispersión de la luz o turbidez y descenso crioscópico (punto de congelación). Al analizar el

<sup>61</sup> Bedrov, D., Piquemal, J. P., Borodin, O., MacKerell Jr, A. D., Roux, B., & Schröder, C. (2019). Molecular dynamics simulations of ionic liquids and electrolytes using polarizable force fields. *Chemical reviews*, 119(13), 7940-7995.

<sup>62</sup> Aniansson, E. A. G., & Wall, S. N. (1974). Kinetics of step-wise micelle association. *The Journal of Physical Chemistry*, 78(10), 1024-1030.

comportamiento de estas propiedades con el aumento de la concentración de surfactante, se puede observar un claro quiebre a partir del cual es posible la determinación directa y relativamente sencilla de la CMC. Es importante observar que dicho cambio en la propiedad ocurre en un estrecho rango de concentraciones, es decir, no se produce en un punto preciso y la magnitud de este rango depende de la propiedad medida y de la naturaleza de la micela. Con respecto a esto último, la CMC está influenciada por varios factores tanto relacionados con las características del grupo hidrofílico (tipo, tamaño y contracción), como con las del segmento hidrofóbico (longitud y ramificación) del compuesto anfifílico.<sup>63</sup>

Cabe mencionar que la propiedad medida en la determinación de la CMC no necesariamente tiene que involucrar a una propiedad física, sino que puede ser una propiedad fisicoquímica e incluso involucrar a un cambio eminentemente químico. Puesto que, en general, las micelas de la mayoría de los surfactantes no presentan ni absorción ni fluorescencia, el seguimiento de la formación de la estructura micelar puede llevarse a cabo a través de moléculas prueba o sondas especiales a fin de examinar propiedades específicas del micro-entorno, como puede ser la polaridad. Dichas moléculas prueba pueden funcionar como indicadores solvatocrómicos y muchas de ellas son sondas fluorescentes, es decir, que pueden emitir luz al pasar de un estado excitado al estado basal. La fluorescencia molecular presenta características favorables para la caracterización de sistemas micelares. La primera de ellas es su alta sensibilidad, lo que permite utilizar concentraciones de cromóforo muy bajas. En segundo lugar, la emisión de fluorescencia es altamente sensible al micro-entorno de la sonda.

Para evaluar el proceso de agregación de moléculas anfifílicas en solución acuosa se analiza la evolución de los espectros de absorción y emisión de sondas específicas. Con este fin, la intensidad de fluorescencia o la absorbancia de la sonda, a una longitud de onda fija, se grafica en función de la concentración de surfactante en la solución.

### 1.2.3. Caracterización de materiales iónicos por voltametría cíclica

Los métodos electroquímicos tienen las ventajas de simplicidad, rapidez y alta sensibilidad para diferentes analitos, a menudo sin requerir un tratamiento previo de la muestra. La voltametría cíclica (VC) es un método electroquímico dinámico para medir eventos redox. Se puede utilizar para estudiar el comportamiento electroquímico de especies que difunden a la superficie de un electrodo, los fenómenos interfaciales en la superficie de un electrodo y las propiedades

---

<sup>63</sup> Salager, J. (1993). Surfactantes en solución acuosa, cuaderno FIRP S201-A. Universidad de los Andes, Mérida-Venezuela.

generales de los materiales que componen o que están soportados sobre los electrodos<sup>64</sup>. Nuestro grupo ha utilizado la técnica de VC inicialmente para determinar la composición 'real' de los LIs e indirectamente esta técnica sirvió como control de pureza en LIs de base imidazolica y alquilamonica. En estos casos se pudo determinar así, la composición real del LI, identificando las especies presentes debido a equilibrios naturales de autoprotólisis inherentes al LI<sup>65</sup>. Esta metodología ha sido posteriormente aplicada por otros grupos para la caracterización de films de sílica con SAILs.<sup>66</sup>

#### 1.2.4. SAILs en sensores electroquímicos

En el área de electroquímica, se han usado LIs como electrolitos y en el desarrollo de nuevos sensores electroquímicos para la detección de especies electroactivas. Dentro de estos materiales los electrodos de carbono (carbón vítreo, pasta de carbono y fibra de carbono) son usados ampliamente en electroanálisis, principalmente porque poseen una amplia ventana de potencial, baja corriente de fondo, bajo costo, son químicamente inertes y útiles para distintas aplicaciones. Los electrodos de carbono se pueden modificar con diversos materiales como polímeros y nanomateriales, entre otros.<sup>67,68,69</sup>

La amplia ventana electroquímica que algunos LIs poseen los hace de especial interés como electrolitos en esta área. Entre los materiales más usados como electrodos de trabajo está el carbono y distintos metales, como platino u oro. No obstante, los electrodos de carbono (carbón vítreo, pasta de carbono y fibra de carbono) son usados ampliamente en electroanálisis, dado que, además de ser poco costosos, son fácilmente modificables, por ejemplo, como se indicó previamente con materiales poliméricos y nanomateriales, entre otros, desarrollando así nuevos sensores con alta especificidad. Esto hace que el desarrollo de sensores electroquímicos

---

<sup>64</sup> Rusling, J. F., & Suib, S. L. (1994). Characterizing materials with cyclic voltammetry. *Advanced Materials*, 6(12), 922-930.

<sup>65</sup> Martini, M. B., Fernández, J. L., & Adam, C. G. (2021). Insights on the catalytic behaviour of sulfonic acid-functionalized ionic liquids (ILs) in transesterification reactions—voltammetric characterization of sulfonic task-specific ILs with bisulfate anions. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 23(4), 2731-2741.

<sup>66</sup> Vavra, S., & Martinelli, A. (2022). Surface active alkyl-imidazolium ionic liquids studied as templates to form vertically oriented pores in silica thin films. *Journal of Molecular Liquids*, 353, 118686.

<sup>67</sup> Wei, D., y Ivaska, A. (2008). Applications of ionic liquids in electrochemical sensors. *Analytica chimica acta*, 607(2), 126-135.

<sup>68</sup> Pérez-Mella, B., y Álvarez-Lueje, A. (2013). Development of a carbon nanotube modified ionic liquid electrode for the voltammetric determination of methyl dopa levels in urine. *Electroanalysis*, 25(9), 2193-2199.

<sup>69</sup> Pérez-Ortiz, M., Pizarro, P., y Álvarez-Lueje, A. (2019). CARBON NANOTUBES-IONIC LIQUID GEL. CHARACTERIZATION AND APPLICATION TO PSEUDOEPHEDRINE AND CHLORPHENIRAMINE DETERMINATION IN PHARMACEUTICALS. *Journal of the Chilean Chemical Society*, 64(1), 4324-4331.

basados en electrodos de carbono modificados con líquidos iónicos, por las ventajas que conllevan, constituye hoy por hoy un área de gran interés.

#### 1.2.5. Líquidos iónicos en sistemas de liberación de fármacos.

Durante la última década, se han considerado nuevos enfoques conceptuales y técnicos para aumentar la eficiencia de los métodos de síntesis y/o formulación de fármacos. Desafortunadamente, muchos fármacos nuevos son escasamente solubles en agua y en disolventes orgánicos convencionales farmacéuticamente aceptados, y nunca entran en la etapa de formulación debido a su escasa solubilidad y a las dificultades de administración. Los fármacos escasamente solubles conducen a una mala absorción y biodisponibilidad del mismo. La administración oral de muchos compuestos farmacológicos se ve obstaculizada porque son insolubles en agua como resultado de su lipofilia (ej., Tamoxifeno, Paclitaxel, Docetaxel).<sup>70,71</sup> Ha sido estimado que entre un 40 y un 60% de las drogas en desarrollo plausibles de emplearse como nuevos fármacos manifiestan baja solubilidad en agua.

Existe un gran número de metodologías tendientes a mejorar la solubilidad en agua, tales como el ajuste de pH, la formación de sales, el empleo de cosolventes, la formación de complejos con ciclodextrinas, el empleo de emulsiones y microemulsiones, de nanopartículas poliméricas, de auto-dispersiones, de dispersiones sólidas y la solubilización micelar (micelas, micelas mixtas y micelas poliméricas). Entre estas metodologías, la solubilización micelar constituye una poderosa herramienta para disolver compuestos hidrofóbicos en un medio acuoso. Debido a su naturaleza anfifílica, las micelas ocupan un rol fundamental tanto en la ciencia básica como aplicada.

Los sistemas micelares pueden aumentar la solubilidad de estas drogas incrementando simultáneamente su biodisponibilidad y pueden emplearse no sólo como sistemas modelos para biomembranas sino también como “carriers” en sistemas de distribución y direccionamiento de drogas. Adicionalmente las micelas son termodinámicamente estables y pueden proteger de la degradación a drogas inestables mediante su solubilización en el corazón micelar.

Un aspecto importante de la solubilización micelar de fármacos y que requiere un abordaje más profundo, es en referencia al mecanismo de solubilización micelar, el cual no está

---

<sup>70</sup> Adawiyah, N., Moniruzzaman, M., Hawatulaila, S., & Goto, M. (2016). Ionic liquids as a potential tool for drug delivery systems. *MedChemComm*, 7(10), 1881-1897.

<sup>71</sup> Chen, H. L., Kao, H. F., Wang, J. Y., & Wei, G. T. (2014). Cytotoxicity of imidazole ionic liquids in human lung carcinoma A549 cell line. *Journal of the Chinese Chemical Society*, 61(7), 763-769.

completamente dilucidado. Para comprender este mecanismo uno de los factores críticos es la ubicación de la droga en la micela. Las micelas poseen una distribución anisotrópica de agua dentro de su estructura. En otras palabras, la concentración de agua disminuye desde la superficie hacia el interior de la micela, hasta llegar a un corazón completamente hidrofóbico. Estos agregados poseen una región interfacial separando la masa acuosa polar del interior menos polar. De esta forma la solución micelar consiste en un medio especial en el cual pueden solubilizarse compuestos hidrofóbicos, anfifílicos o iónicos.

La localización del compuesto solubilizado dependerá en general de su polaridad, aunque no pueden efectuarse generalizaciones, por ejemplo, muchas moléculas hidrofóbicas poseen grupos funcionales polares que podrían afectar en distinto grado su localización en la micela. En estos casos no es válida una generalización y es preciso evaluar cada caso en especial.

#### 1.2.6. Aplicación de los SALLs en síntesis orgánica y catálisis

Los SALLs han sido probados de forma satisfactoria en síntesis orgánica, especialmente en transformaciones en medios acuosos. Pueden aumentar la solubilidad en agua de compuestos orgánicos o pueden participar activamente de la reacción como catalizadores. El medio micelar puede catalizar la reacción orgánica en agua a través del principio de catálisis micelar debido a que los sustratos estabilizados en las micelas presentan una concentración local mucho mayor que el sustrato en solución. En consecuencia, se puede observar un aumento en la tasa de reacción (Figura 3).<sup>72,73,74</sup> La aplicación satisfactoria de este principio ha sido previamente reportada por Bica et al. para la reacción Diels-Alder en solución micelar comparada con la reacción en medio acuoso. Se observó una mejora significativa cuando se utilizaban SALLs en lugar de surfactantes convencionales como bromuro de N, N, N-trimetilhexadecilamonio (CTAB), dodecilsulfato sódico (SDS), o cocamidopropil betaína (Empigen).<sup>75</sup>

---

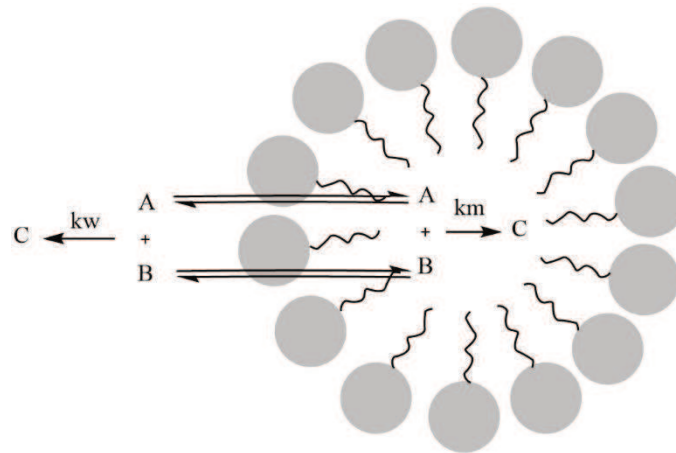
<sup>72</sup> Lipshutz, B. H., & Ghorai, S. (2014). Transitioning organic synthesis from organic solvents to water. What's your E Factor?. *Green Chemistry*, 16(8), 3660-3679.

<sup>73</sup> La Sorella, G., Strukul, G., & Scarso, A. (2015). Recent advances in catalysis in micellar media. *Green Chemistry*, 17(2), 644-683.

<sup>74</sup> Dwars, T., Paetzold, E., & Oehme, G. (2005). Reactions in micellar systems. *Angewandte Chemie International Edition*, 44(44), 7174-7199.

<sup>75</sup> Bica, K., Gaertner, P., Gritsch, P. J., Ressmann, A. K., Schröder, C., & Zirbs, R. (2012). Micellar catalysis in aqueous-ionic liquid systems. *Chemical Communications*, 48(41), 5013-5015.





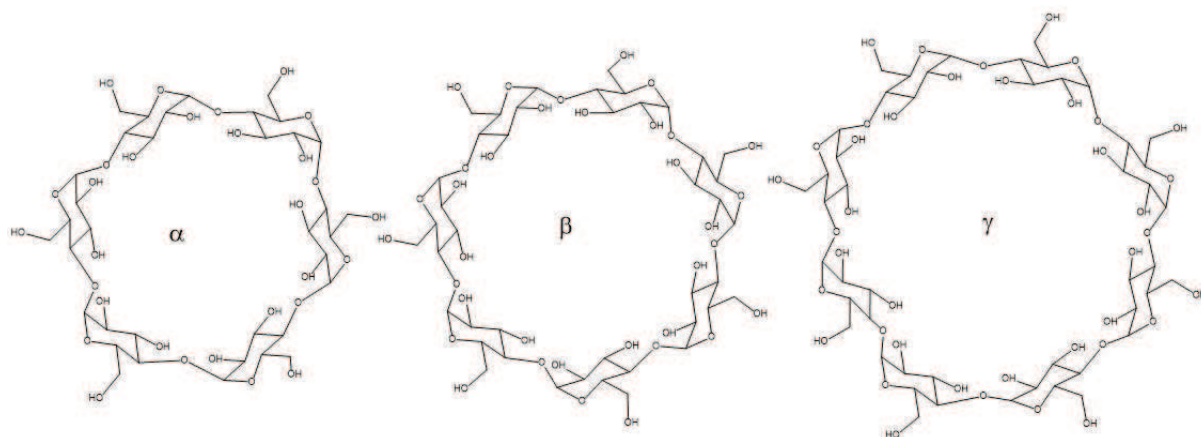
**Figura 3.** Se ejemplifica la catálisis micelar

### 1.3. Introducción Parte II: CDs-SAILs

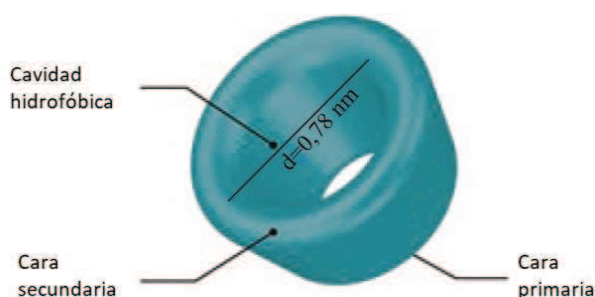
#### 1.3.1. Ciclodextrinas

Las ciclodextrinas (CDs) son oligómeros cíclicos obtenidos a partir de la degradación enzimática del almidón. Estas forman una familia de oligosacáridos cíclicos, compuestas por 6 o más unidades de D-glucopiranosidos unidos (1-4), como en la amilosa, un componente del almidón, también llamadas cicloamilosas. Las ciclodextrinas típicas contienen, 6, 7 u 8 unidades de glucosa y se denominan  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$ -CDs, respectivamente (Figura 4). Se obtienen con un alto nivel de pureza a nivel industrial.

Las ciclodextrinas son huecas, de forma cónica truncada (Figura 5), formadas por varias unidades de glucosa unidas covalentemente a través de uniones 1,4 entre sus átomos de oxígeno, y mantienen su forma debido a enlaces de puente de hidrógeno entre los grupos hidroxilos. Su forma no es cilíndrica debido a la falta de rotación libre a nivel de las uniones entre las unidades glucopiranosidas. Los grupos hidroxilos 'primarios' son aquellos ubicados en la parte más angosta del cono y los grupos hidroxilo 'secundarios' son aquellos ubicados en la parte más ancha del cono.



**Figura 4.** Estructura de la  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$  ciclodextrina



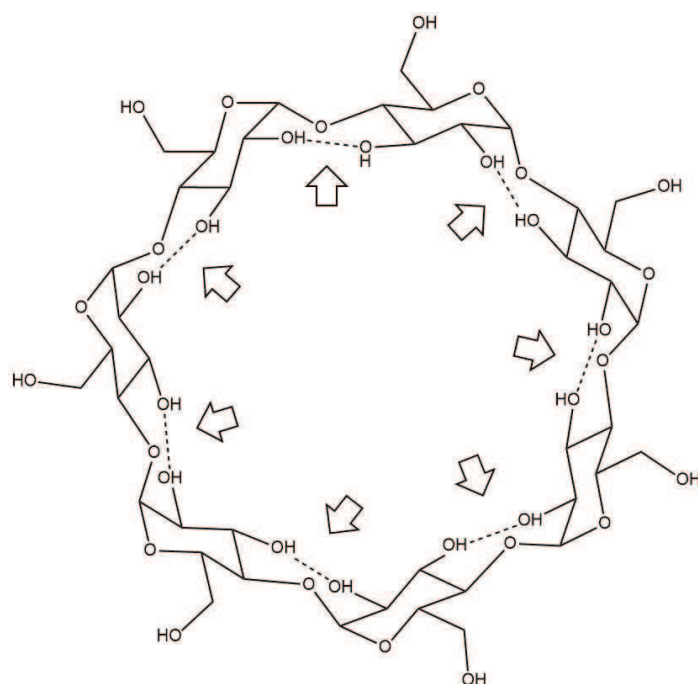
**Figura 5.** Forma cónica truncada de la  $\beta$ -ciclodextrina.

La  $\beta$ -ciclodextrinas ( $\beta$ -CD) son las más estudiadas y las más utilizadas, basadas en su bajo costo, disponibilidad, y su capacidad de formar complejos con un amplio rango de sustancias. La característica más importante de la molécula de  $\beta$ -CD es su habilidad de formar complejos de inclusión con varias sustancias a través de interacciones hospedador-huésped. Su cavidad central está compuesta por 7 unidades de glucosa, siendo el interior hidrofóbico y la parte externa es hidrofílica debido a la presencia de 21 grupos hidroxilo. Esta capacidad de encapsulación puede modificar y/o mejorar las características físicas, químicas y/o biológicas de la molécula huésped.<sup>76,77</sup>

La estructura de las CDs es estabilizada por la formación de puentes de hidrógeno entre los grupos hidroxilos de los C-2 y C-3' de unidades de glucosa adyacentes (Figura 6). Este fenómeno afecta no sólo las dimensiones sino también la solubilidad en el agua. La formación de un anillo completo de enlaces de hidrógeno intramoleculares en la  $\beta$ -CD contrarresta su hidratación y reduce su solubilidad en comparación con otras ciclodextrinas.

<sup>76</sup> Szejtli, J. (1988). Cyclodextrin inclusion complexes. In *Cyclodextrin technology* (pp. 79-185). Springer, Dordrecht.

<sup>77</sup> Crini, G., Fourmentin, S., Fenyvesi, É., Torri, G., Fourmentin, M., & Morin-Crini, N. (2018). Cyclodextrins, from molecules to applications. *Environmental chemistry letters*, 16(4), 1361-1375.



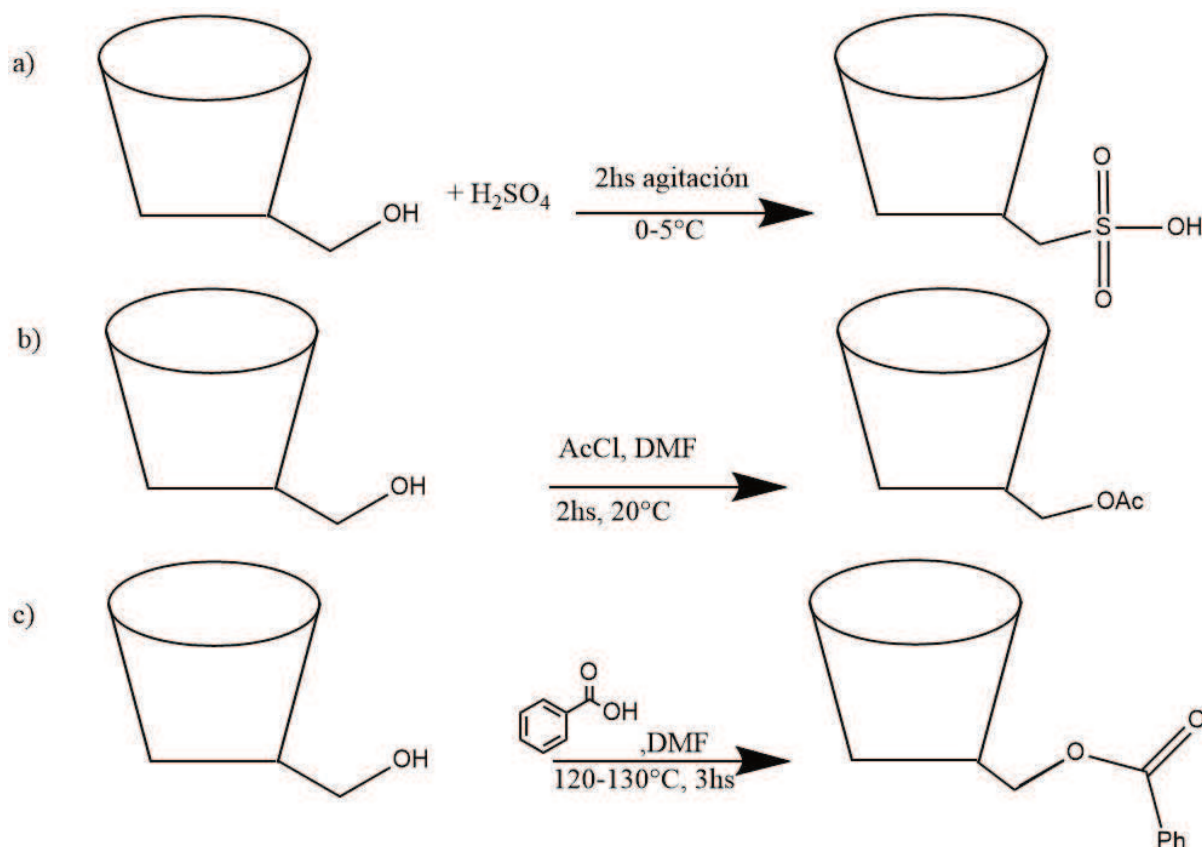
**Figura 6.** Puentes de hidrógeno entre los hidroxilos de los C2 y C3' de las unidades glucosídicas adyacentes.

La ruptura de los enlaces de hidrógeno intermoleculares (es decir, la sustitución de grupos hidroxilo altamente reactivos con restos polares o apolares) generalmente produce derivados de CDs con una solubilidad aumentada. La síntesis de derivados tiene como objetivo también construir polímeros de CD o, CD con capacidad de formación de complejos y selectividad mejoradas. Hasta el momento, se han obtenido más de 15.000 derivados de ciclodextrina mediante reacciones de alquilación, hidroxialquilación, sulfatación, fosfatación, acetilación, aminación, esterificación y eterificación.<sup>78,79,80</sup>

<sup>78</sup> Khan, A. R., Forgo, P., Stine, K. J., & D'Souza, V. T. (1998). Methods for selective modifications of cyclodextrins. *Chemical Reviews*, 98(5), 1977-1996.

<sup>79</sup> Szejtli, J. (2004). Past, present and future of cyclodextrin research. *Pure and Applied Chemistry*, 76(10), 1825-1845.

<sup>80</sup> Fernández, M. A., Silva, O. F., Vico, R. V., & de Rossi, R. H. (2019). Complex systems that incorporate cyclodextrins to get materials for some specific applications. *Carbohydrate research*, 480, 12-34.



**Esquema 4.** Ejemplos de reacciones de la) sulfatación<sup>81</sup>, b) acetilación<sup>82</sup> y c) esterificación<sup>83</sup> en  $\beta$ -ciclodextrinas.

### 1.3.2. Aplicaciones de las ciclodextrinas

Las primeras aplicaciones de las CDs tanto en cromatografía, como en las industrias farmacéutica y alimentaria surgen a partir de 1980. Las CDs han sido utilizadas como huéspedes para reconocimiento molecular, como agente solubilizante para drogas lipofílicas, como excipientes en el desarrollo de formulaciones, como sistemas de liberación y agentes complejantes en la industria farmacéutica y alimentaria. Actualmente, las aplicaciones se encuentran en prácticamente todas las áreas de la industria, pero especialmente en cosmética, higiene y cuidado personal, textil, medicina y biomedicina, agroquímica, biotecnología y catálisis. Las CDs y sus derivados tienen además otras aplicaciones prácticas en

<sup>81</sup> Selvam, S., Gandhi, R. R., Suresh, J., Gowri, S., Ravikumar, S., & Sundrarajan, M. (2012). Antibacterial effect of novel synthesized sulfated  $\beta$ -cyclodextrin crosslinked cotton fabric and its improved antibacterial activities with ZnO, TiO<sub>2</sub> and Ag nanoparticles coating. *International Journal of Pharmaceutics*, 434(1-2), 366-374.

<sup>82</sup> Sutyagin, A. A., Glazyrin, A. E., Kurochkina, G. I., Grachev, M. K., & Nifant'ev, E. E. (2002). Regioselective acetylation of  $\beta$ -cyclodextrin. *Russian Journal of General Chemistry*, 72(1), 147-150.

<sup>83</sup> Shipilov, D. A., Kurochkina, G. I., Rasadkina, E. N., Vasyanina, L. K., Soboleva, N. O., & Grachev, M. K. (2015). Direct esterification of the hydroxyl groups of  $\beta$ -cyclodextrin with some aromatic monocarboxylic acids. *Russian Journal of General Chemistry*, 85(11), 2605-2608.

microencapsulación. Es interesante notar que la mayoría de las aplicaciones se basan en la formación de complejos de inclusión.<sup>84,85,86,87</sup>

No obstante, las CDs y sus derivados han sido y continúan siendo intensamente estudiados como materiales idóneos para la solubilización de fármacos, entre otras aplicaciones. Se han modificado CDs naturales, para mejorar sus propiedades en el área de interés. Las CDs anfífilas pueden dar lugar a distintos tipos de agregados supramoleculares, los cuales muestran propiedades prometedoras para la encapsulación y liberación de fármacos.

### 1.3.3. Ciclodextrinas estructuralmente modificadas

Cuando las CD no son adecuadas para una determinada aplicación, entran en juego sus derivados. El tipo de reacción que se debe usar depende del propósito del producto. Por ejemplo, si se requiere un derivado de CD más soluble para la aplicación farmacéutica, entonces una conversión aleatoria de grupos hidroxilo, por ejemplo, al grupo sulfato (u otro hidrofílico) podría ser una buena opción. Sin embargo, tal producto es una mezcla de compuestos individuales, generalmente caracterizado por el grado de sustitución. Además, la mezcla difiere en la proporción de los isómeros individuales de un lote a otro, incluso cuando el grado de sustitución permanece constante.<sup>88</sup>

Cuando se desea un derivado de ciclodextrina de un solo isómero, la forma más sencilla es sintetizar un derivado persustituido. La síntesis directa de otros derivados de un solo isómero es más desafiante debido a la cantidad de isómeros teóricamente posibles.<sup>89</sup> El número de isómeros posibles es tres para los derivados monosustituidos, docenas para los disustituidos y más de cien para los derivados trisustituidos.

El número de derivados de CD conocidos es enorme. Una búsqueda en SciFinder® de cualquier estructura de CD sustituida reveló que hay más de 2000 derivados de la  $\alpha$ -CD, casi 8000 de la  $\beta$ -CD y más de 1000 de la  $\gamma$ -CD.

---

<sup>84</sup> Szejtli, J. (1982). Cyclodextrins and their inclusion complexes. *Akademiai Kiado*, 25.

<sup>85</sup> Duchêne, D., Bochot, A., Yu, S. C., Pépin, C., & Seiller, M. (2003). Cyclodextrins and emulsions. *International journal of pharmaceutics*, 266(1-2), 85-90.

<sup>86</sup> Loftsson, T., & Duchêne, D. (2007). Cyclodextrins and their pharmaceutical applications. *International journal of pharmaceutics*, 329(1-2), 1-11.

<sup>87</sup> Dodziuk, H. (Ed.). (2006). *Cyclodextrins and their complexes: chemistry, analytical methods, applications*. John Wiley & Sons.

<sup>88</sup> Estrada III, R., & Vigh, G. (2012). Comparison of charge state distribution in commercially available sulfated cyclodextrins used as chiral resolving agents in capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography A*, 1226, 24-30.

<sup>89</sup> Wenz, G. (1994). Cyclodextrins as building blocks for supramolecular structures and functional units. *Angewandte Chemie International Edition in English*, 33(8), 803-822.

Las CD anfílicas se pueden mezclar con monocapas de fosfolípidos y liposomas,<sup>90,91</sup> y se pueden dispersar en nanoesferas que muestran propiedades prometedoras para la encapsulación de fármacos.<sup>92,93,94</sup> Sin embargo, la mayoría de estas CD anfílicas son muy poco solubles en agua y los agregados mixtos en agua son sistemas fuera del equilibrio termodinámico.

Se han realizado esfuerzos para obtener CDs anfílicas con mayor solubilidad en agua. Como ejemplo, el injerto de colesterol en  $\beta$ -CD permetilada produce un compuesto anfílico altamente soluble que forma pequeñas micelas esféricas en agua.<sup>95</sup> Además, parece que la monosustitución de CD normalmente aumenta la solubilidad en comparación con la ciclodextrina nativa. Por ejemplo, la sustitución de un OH primario por  $-\text{NH}(\text{CH}_2)_{10}\text{NHCOOC}(\text{CH}_3)_3$  aumenta la solubilidad de  $\beta$ -CD de 15 a 35 mmol/dm<sup>3</sup>.<sup>96</sup> También se observó una solubilidad en agua mucho mayor al sustituir la  $\beta$ -CD con hidroxietilo y oligo(etilenglicol) por reacción con carbonato de etileno<sup>97</sup> u óxido de etileno.<sup>98</sup> En particular, se cree que los derivados  $\beta$ -CD anfílicos interactúan con las membranas biológicas debido a su carácter lipofílico, y se han sintetizado muchas CD modificadas para ese propósito.<sup>99,100,101</sup> Silva & col. (2008), sintetizaron el derivado de  $\beta$ -CD mediante la monoesterificación con 3-((E)-dec-2-enil)-dihidrofurano-2,5-

---

<sup>90</sup> Jullien, L., Lazrak, T., Canceill, J., Lacombe, L. y Lehn, JM (1993). Una aproximación a las estructuras moleculares de tipo canal. Parte 3. Estudios de incorporación de Bm y Bcd en forma de ramo en vesículas de fosfatidilcolina. *Revista de la Sociedad Química, Perkin Transactions 2*, (6), 1011-1020.

<sup>91</sup> Auzely-Velty, R., Perly, B., Taché, O., Zemb, T., Jéhan, P., Guenot, P., ... & Djedaini-Pilard, F. (1999). Cholesteryl-cyclodextrins: synthesis and insertion into phospholipid membranes. *Carbohydrate research*, 318(1-4), 82-90.

<sup>92</sup> Skiba, M., Morvan, C., Duchêne, D., Puisieux, F., & Wouessidjewe, D. (1995). Evaluation of gastrointestinal behaviour in the rat of amphiphilic  $\beta$ -cyclodextrin nanocapsules, loaded with indomethacin. *International journal of pharmaceuticals*, 126(1-2), 275-279.

<sup>93</sup> Skiba, M., Duchêne, D., Puisieux, F., & Wouessidjewe, D. (1996). Development of a new colloidal drug carrier from chemically-modified cyclodextrins: nanospheres and influence of physicochemical and technological factors on particle size. *International journal of pharmaceuticals*, 129(1-2), 113-121.

<sup>94</sup> Gulik, A., Delacroix, H., Wouessidjewe, D., & Skiba, M. (1998). Structural properties of several amphiphile cyclodextrins and some related nanospheres. An X-ray scattering and freeze-fracture electron microscopy study. *Langmuir*, 14(5), 1050-1057.

<sup>95</sup> Auzely-Velty, R., Djedaini-Pilard, F., Desert, S., Perly, B., & Zemb, T. (2000). Micellization of hydrophobically modified cyclodextrins. 1. Micellar structure. *Langmuir*, 16(8), 3727-3734.

<sup>96</sup> Lin, J., Creminon, C., Perly, B., & Djedaini-Pilard, F. (1998). New amphiphilic derivatives of cyclodextrins for the purpose of insertion in biological membranes: the "Cup and Ball" molecules. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2*, (12), 2639-2646.

<sup>97</sup> Lombardo, D., Longo, A., Darcy, R., & Mazzaglia, A. (2004). Structural properties of nonionic cyclodextrin colloids in water. *Langmuir*, 20(4), 1057-1064.

<sup>98</sup> Topchieva, I. N., Mischnick, P., Kühn, G., Polyakov, V. A., Elezkaya, S. V., Bystryzky, G. I., & Karezin, K. I. (1998). Novel derivatives of cyclodextrins, modified with poly (ethylene oxide) and their complexation properties. *Bioconjugate chemistry*, 9(6), 676-682.

<sup>99</sup> Sallas, F., Niikura, K., & Nishimura, S. I. (2004). A practical synthesis of amphiphilic cyclodextrins fully substituted with sugar residues on the primary face. *Chemical communications*, (5), 596-597.

<sup>100</sup> Moutard, S., Perly, B., Godé, P., Demailly, G., & Djedaini-Pilard, F. (2002). Novel glycolipids based on cyclodextrins. *Journal of inclusion phenomena and macrocyclic chemistry*, 44(1), 317-322.

<sup>101</sup> Javierre, I., Nedyalkov, M., Petkova, V., Benattar, J. J., Weisse, S., Auzély-Velty, R., ... & Perly, B. (2002). Direct investigation of the vectorization properties of amphiphilic cyclodextrins in phospholipid films. *Journal of colloid and interface science*, 254(1), 120-128.

diona. El compuesto es un tensioactivo interesante que puede formar grandes agregados no solo a través de la interacción de las colas hidrofóbicas como en los compuestos anfifílicos comunes, sino también a través de la inclusión de la cadena alquenilo en la cavidad de otra molécula CD modificada. Además, en los agregados de CDs modificadas, la cavidad está disponible para interactuar con invitados externos como fenolftaleína, 1-amino adamantano y Prodan. Este hecho puede ser importante para el uso de este surfactante amigable con el medio ambiente como nanovehículo para fármacos.<sup>102</sup>

---

<sup>102</sup> Silva, O. F., Fernández, M. A., Pennie, S. L., Gil, R. R., & de Rossi, R. H. (2008). Synthesis and characterization of an amphiphilic cyclodextrin, a micelle with two recognition sites. *Langmuir*, 24(8), 3718-3726.

# Capítulo 2

Metodología



## 2. Metodología

### 2.1. Parte I: SAILs

#### 2.1.1. Síntesis de los SAILs

##### 2.1.1.1. Reactivos

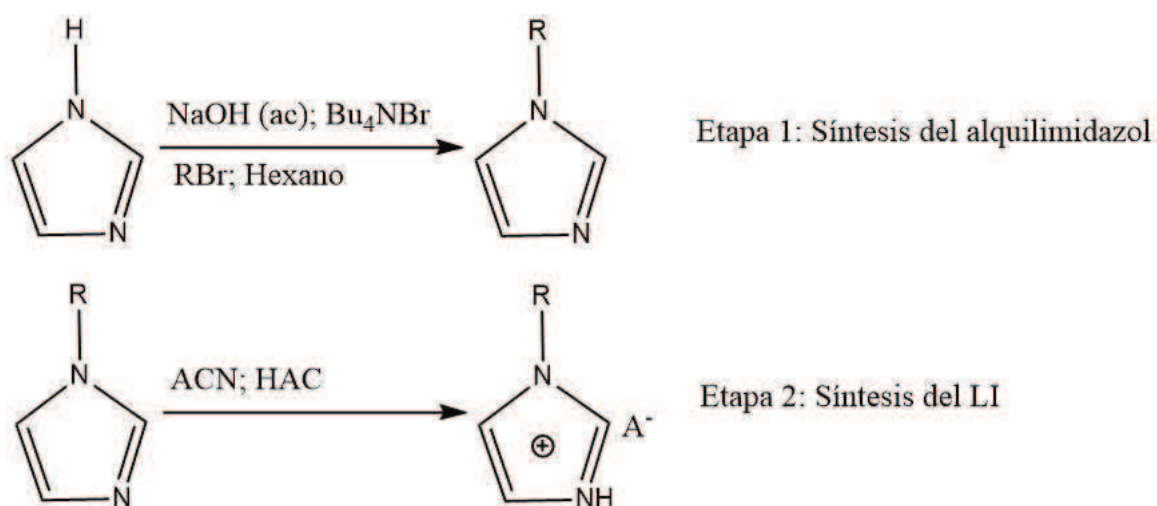
El imidazol y el tetrabutilamonio fueron obtenidos de Sigma-Aldrich (St. Louis, Missouri, USA). El ácido trifluoroacético y metanosulfonato (Sigma-Aldrich and Merck, Darmstadt, Germany) fueron destilados previo a su uso. Los 1-cloroalcanos (C8, C10, C12, C14, and C16) fueron obtenidos a partir de Sigma-Aldrich y en el caso de ser necesario se purificaron con una destilación a presión reducida. Todos los solventes fueron purificados previo a su uso. El agua utilizada para la formación de sistemas micelares acuosos fue agua filtrada por osmosis inversa y doblemente destilada (ROMI 400 Hidrolit).

##### 2.1.1.2. Procedimiento

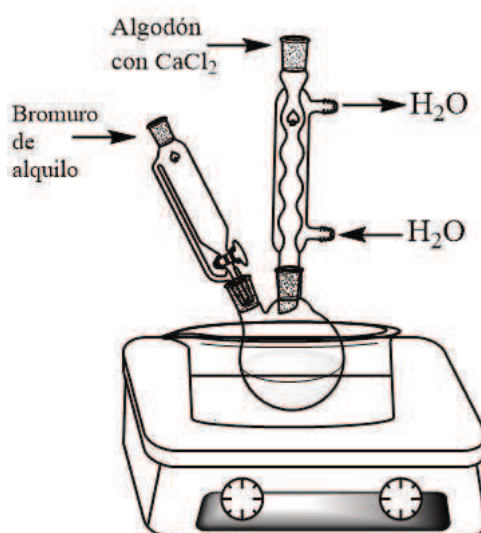
La síntesis de los líquidos iónico (LIs) utilizados en esta tesis, se realizó según bibliografía<sup>103</sup>. La misma consiste en dos etapas (Esquema 5). La primera involucra la deprotonación del imidazol, seguida del desplazamiento nucleofílico por el 1-bromoalcano correspondiente. Esta etapa se hace en presencia de bromuro de tetrabutilamonio como transferidor de fase. La segunda etapa (Esquema 6) consiste en la neutralización del 1-alquilimidazol utilizando un ácido de Brønsted. Los ácidos utilizados en este trabajo fueron el ácido sulfónico ( $\text{CH}_3\text{SO}_3\text{H}$ ) y el ácido trifluoroacético ( $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$ ). Los ácidos fueron añadidos gota a gota, disueltos en un volumen mínimo de solvente anhidro. La mezcla de reacción se mantuvo en agitación por un período de dos horas (Esquema 7). Finalmente, se procedió a evaporar el solvente, y el SAIL fue secado al vacío, protegido de la luz, durante 3 días.

---

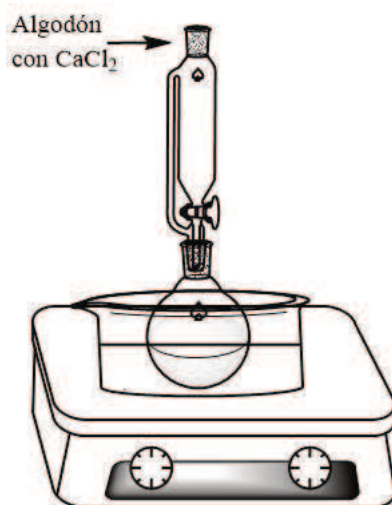
<sup>103</sup> Adam, C. G., y Fortunato, G. G. (2019). Synthesis and Self-Assembly Properties of New Surface-Active 1-Alkylimidazolium Ionic Liquids in Aqueous Media. *Journal of Surfactants and Detergents* (22), 501–513.



Esquema 5. Etapas de la síntesis de los SAILs



Esquema 6. Reactor utilizado en la primera etapa



Esquema 7. Reactor utilizado en la segunda etapa

## 2.1.2. Caracterización del sistema micelar

### 2.1.2.1. Aplicación de la Sonda fluorescente Nile Red (NR)

Las propiedades fotofísicas de una molécula dependen de la naturaleza y energía de los estados electrónicos excitados que, a su vez, están influenciados por el medio en el que se encuentran. Una transición electrónica (absorción o fluorescencia) conecta el estado fundamental de la molécula con su estado excitado y estos estados, en función de las propiedades del medio, pueden estabilizarse o desestabilizarse por la energía de solvatación. La diferencia entre las energías de solvatación de los estados inicial y final determina si se produce un desplazamiento solvatocrómico (batocrómico o hipsocrómico) y en qué proporción.

El solvatocromismo se fundamenta en los efectos del solvente (fundamentalmente de la polaridad del medio) sobre dichos estados energéticos, lo que puede generar distintas manifestaciones como corrimiento de máximos de absorción y/o emisión y también modificar la forma de las bandas espectrales.

Puesto que, en general, las micelas de la mayoría de los surfactantes no presentan ni absorción ni fluorescencia, el seguimiento de la formación de la estructura micelar puede llevarse a cabo a través de moléculas prueba o sondas especiales a fin de examinar propiedades específicas del micro-entorno, como puede ser la polaridad.

Dichas moléculas prueba pueden funcionar como indicadores solvatocrómicos y muchas de ellas son sondas fluorescentes, es decir, que pueden emitir luz al pasar de un estado excitado al estado basal. La fluorescencia molecular presenta características favorables para la caracterización de sistemas micelares. La primera de ellas es su alta sensibilidad, lo que permite utilizar concentraciones de cromóforo muy bajas. En segundo lugar, la emisión de fluorescencia es altamente sensible al micro-entorno de la sonda.

Para evaluar el proceso de agregación de moléculas anfifílicas en solución acuosa se analiza la evolución de los espectros de absorción y emisión de sondas específicas. Con este fin, la intensidad de fluorescencia o la absorbancia de la sonda, a una longitud de onda fija, se grafica en función de la concentración de surfactante en la solución.

En algunos casos, las curvas obtenidas exhiben un comportamiento sigmoideo, cuyo punto de inflexión corresponde a la CMC. Su valor se determina mediante un ajuste no lineal según la ecuación de Boltzmann.<sup>104</sup>

---

<sup>104</sup> Aguiar, J., Carpena, P., Molina-Bolívar, J. A., & Ruiz, C. C. (2003). On the determination of the critical micelle concentration by the pyrene 1: 3 ratio method. *Journal of colloid and interface science*, 258(1), 116-122.

El ajuste mediante la ecuación de Boltzmann (Ecuación 1) permite entonces determinar la CMC de los surfactantes en solución acuosa.<sup>105</sup>

$$f(x) = \frac{A_1 - A_2}{1 + e^{\frac{x - x_0}{\Delta x}}} + A_2 \quad \text{Ecuación 1}$$

Donde  $A_1$  y  $A_2$  representan el valor de las asíntotas a valores de concentración bajos y altos, respectivamente.  $X_0$  es el valor del punto central de la transición entre las dos asíntotas y  $\Delta x$  es el rango de la transición. Por lo que,  $A_1$  y  $A_2$  representan la pendiente en la zona de pre micelar y micelar, respectivamente y  $X_0$  es el valor de la CMC.

En otros casos puede obtenerse una tendencia lineal, donde se observa un cambio de pendientes próximo al valor de CMC. Dicho valor puede determinarse matemáticamente como el punto de intersección de ambas tendencias lineales.

Considerando los ajustes lineales de ambas rectas:

$$\text{Zona pre-micelar} \quad y_1 = b_1X + a_1 \quad \text{Ecuación 2}$$

$$\text{Zona micelar} \quad y_2 = b_2X + a_2 \quad \text{Ecuación 3}$$

De acuerdo con estas ecuaciones, el valor de CMC puede determinarse según:

$$CMC = X = \frac{a_1 - a_2}{b_2 - b_1} \quad \text{Ecuación 4}$$

En una primera instancia, con el objetivo de determinar los valores de CMC y evaluar el proceso de agregación de los sistemas acuosos de los LIs sintetizados, se utilizó la sonda Nile Red (NR).

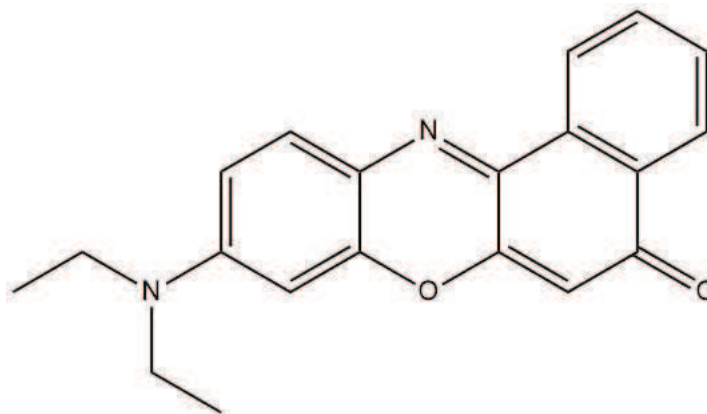
El 9-diethylamino-5-benzo[a]phenoxazinone conocido como Nile Red (NR), ha sido clasificada dentro del grupo de indicadores solvatocrómicos altamente fluorescentes, los cuales han sido utilizados ampliamente para caracterizar la polaridad del micro-entorno micelar.<sup>106</sup>

Esta sonda fue elegida debido a que tiene una emisión de luz lo suficientemente intensa como para emplear muy bajas concentraciones y además permite medir la variación de algunos parámetros característicos de su luminiscencia, como pueden ser: máximo de emisión y forma

<sup>105</sup> Huibers, P. D., Lobanov, V. S., Katritzky, A. R., Shah, D. O., & Karelson, M. (1997). Prediction of critical micelle concentration using a quantitative structure–property relationship approach. *Journal of Colloid and Interface Science*, 187(1), 113-120.

<sup>106</sup> Nizri, G., & Magdassi, S. (2005). Solubilization of hydrophobic molecules in nanoparticles formed by polymer–surfactant interactions. *Journal of colloid and interface science*, 291(1), 169-174.

del espectro de fluorescencia, rendimiento cuántico de fluorescencia, tiempo de vida, etc. También, se debe tener en cuenta que la sonda seleccionada sea estable, térmica y fotoquímicamente, además de presentar baja reactividad química, para que no existan variaciones “indeseables” de la fluorescencia, producidas por la degradación de estas, ya que los productos de degradación pueden, en muchos casos, desactivar bimolecularmente la fluorescencia (quenching).



**Esquema 8.** Estructura del NR.

#### 2.1.2.1.1. Determinación de la CMC

##### **Procedimiento**

Se prepararon soluciones madres de los SAILs (su concentración depende del LI analizado) en agua tridestilada. Se preparó una solución madre de la sonda NR (1,6 mM) en un matraz de 1 ml en Acetonitrilo (ACN) anhidro. Para evitar la auto-agregación del NR se trabajó a concentraciones bajas (6,1  $\mu$ M).

Los espectros fueron determinados utilizando un Espectrofotómetro UV-Vis SHIMADZU UV-1800 disponible en el grupo y un Espectrofotómetro de Fluorescencia Marca HITACHI F-7000 situado en las instalaciones del Laboratorio Modelo de la Facultad de Ingeniería Química (LaMoFIQ).

Las soluciones fueron preparadas en matraces de 2 y 5 ml, se varió la concentración de los SAILs y se mantuvo la concentración de la sonda fija. Se tomó aproximadamente entre 8 y 20 microlitros (dependiendo del volumen final) del indicador de la solución madre preparada en AcN, asegurando que la concentración final del solvente molecular fuera menor al 1 % del volumen total de la solución. En estas condiciones se garantiza que con menos del 1% de AcN no hay efecto co-solvente, es decir, la forma de los espectros y el comportamiento micelar de

las moléculas anfifílicas no están afectados. Además, se verificó que todos los LIs estudiados no presentan absorción significativa en el rango de trabajo seleccionado (400 a 700 nm).

En fluorescencia molecular, la longitud de onda de excitación coincide con la longitud de onda máxima de absorción a la cual la propiedad se estabiliza (micelas ya formadas) para cada uno de los SAILs analizados. En la técnica de fluorescencia se trabajó a longitudes de onda de excitación y a concentraciones de indicador tales que la absorbancia de este sea menor a 0,1-0,2. Esto se debe respetar con el fin de evitar el efecto de filtro interno referido a la absorción de luz por parte de la sonda a la longitud de onda de excitación en la que se trabaja produciéndose una disminución de la intensidad de fluorescencia observada.

Para ambas técnicas (absorción y fluorescencia) los espectros se adquirieron cumplida 1 hora desde la preparación de las soluciones. Esto es debido a que el indicador se estabiliza en dicho tiempo, según fue verificado experimentalmente.

#### 2.1.2.1.2. Determinación de la constante de asociación

A fin de profundizar en la caracterización de los sistemas micelares de los SAILs N-alquilimidazólicos sintetizados, se proyectó evaluar la interacción sonda - SAIL.

Una forma de evaluar dicha interacción es mediante la determinación de la constante de asociación entre la sonda NR y el SAILs. En la zona premicelar, la interacción tendría lugar entre la sonda y el SAILs como monómero y en la zona micelar, entre la sonda y el SAILs como micela. Cuando dos especies interactúan asociándose entre ellas, puede considerarse que una especie actúa como sustrato (S), cuyas propiedades físicas o químicas se observan experimentalmente y la otra especie actúa como ligando (L), cuya concentración es la variable independiente.

La asociación implica un equilibrio entre sustrato y el ligando, la formación de un complejo o un proceso de complejación se puede describir como una asociación molecular. En nuestro caso el soluto es la sonda, el ligando es el SAIL y, además, en la primera parte del análisis, el ligando se comporta como monómero (concentraciones menores a la CMC) y, en la segunda parte como micela (concentraciones mayores a la CMC). En primera instancia a fin de derivar una expresión matemática que involucre una propiedad medible para el sustrato y que dependa de la concentración del ligando se parte del siguiente equilibrio para concentraciones por debajo de la CMC:



Esquema 9

Por lo que la constante de asociación puede expresarse de la siguiente forma:

$$K_b = \frac{[SAIL-S]}{[SAIL][S]} \quad \text{Ecuación 5}$$

Si tenemos en cuenta que, la absorbancia de los SAILs es despreciable frente a la absorbancia de la sonda, la absorbancia para el complejo SAIL-S puede expresarse de la siguiente manera:

$$A = \varepsilon_0 l[S] + \varepsilon_m l[SAIL - S] \quad \text{Ecuación 6}$$

Del balance de masas:  $[S]=[S]_0-[SAIL-S]$

Reemplazando esta expresión en la ecuación 6, se obtiene la siguiente expresión

$$A = \varepsilon_0 l[S]_0 + (\varepsilon_m - \varepsilon_0)l[SAIL - S] \quad \text{Ecuación 7}$$

Si consideramos que:  $A_0 = \varepsilon_0 l[S]_0$

$$A - A_0 = (\varepsilon_m - \varepsilon_0)l[SAIL - S] \quad \text{Ecuación 8}$$

La Ecuación 8 vincula la diferencia de absorbancia en presencia de SAIL y en ausencia, con la concentración del complejo SAIL-sonda fluorescente.

Reemplazando en la Ecuación 5, la  $[S]$  a partir del balance de masas y luego la  $[SAIL-S]$  de la Ecuación 8, se arriba a la siguiente ecuación que muestra una dependencia lineal entre la inversa de la absorbancia medida y la inversa de la concentración de SAIL:

$$\frac{1}{A-A_0} = \frac{1}{[SAIL]K_b\Delta\epsilon l[S]_0} + \frac{1}{\Delta\epsilon l[S]_0} \quad \text{Ecuación 9}$$

Finalmente considerando la siguiente igualdad:  $\Delta A' = \Delta\epsilon l[S]_0$ , obtenemos la ecuación:

$$\frac{1}{A-A_0} = \frac{1}{[SAIL]K_b\Delta A'} + \frac{1}{\Delta A'} \quad \text{Ecuación 10}^{107}$$

---

<sup>107</sup> Banipal, T. S., Kaur, R., & Banipal, P. K. (2017). Interactions of diazepam with sodium dodecylsulfate and hexadecyl trimethyl ammonium bromide: Conductometric, UV-visible spectroscopy, fluorescence and NMR studies. *Journal of Molecular Liquids*, 236, 331-337.

A= Absorbancia de la sonda a distintas concentraciones de SAIL

A<sub>0</sub>= Absorbancia en ausencia de SAIL

K<sub>b</sub>= Constante de asociación

[SAIL]= Concentración de SAIL

ΔA'= Diferencia en las absorbancias de la sonda en ausencia de SAIL y la absorbancia a altas concentraciones de SAIL.

La constante de asociación (K<sub>b</sub>) se determina a concentraciones mayores a la CMC. D es la concentración de SAIL que se encuentra por encima de la CMC (forma micelar) pero ahora el equilibrio a considerar es similar al Esquema 10.



**Esquema 10**

Donde [D]=[SAIL]-CMC

Teniendo en cuenta las mismas consideraciones de la demostración anterior (bajas concentraciones de SAIL) y considerando la expresión recíproca de la ecuación 10, obtenemos la siguiente expresión para determinar la constante de asociación correspondiente:

$$\frac{[D][S]_0}{(A-A_0)} = \frac{1}{K_b \Delta \epsilon l} + \frac{[D]}{\Delta \epsilon l}$$

**Ecuación 11**<sup>108</sup>

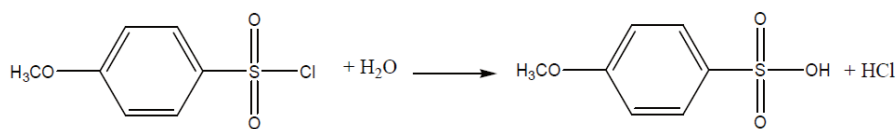
Para determinar la constante de asociación para la sonda NR, se utilizaron los datos obtenidos en las experiencias realizadas para la determinación de la CMC. Por lo tanto, la concentración de la sonda fue de 6,1 μM en acetonitrilo anhidro.

#### 2.1.2.2. Influencia de los SAILs sobre la Velocidad de una Reacción Modelo: Hidrólisis del p-metoxibencensulfonilo

Se seleccionó como reacción modelo la hidrólisis de cloruro de p-metoxibencensulfonilo (CMBS), la cual se presenta en el Esquema 11.

<sup>108</sup> Ackermann, T., & Connors, K. A. (1987). Binding constants-the measurement of molecular complex stability.





Esquema 11

Esta reacción presenta una cinética de segundo orden y ha sido ampliamente estudiada en sistemas micelares.<sup>109</sup>



Esquema 12

Donde A, es el sustrato CMBS, B el nucleófilo (H<sub>2</sub>O), P el producto (ácido p-metoxibencensulfónico) y k la constante de velocidad de segundo orden. Entonces:

$$-\frac{d[A]}{dt} = k[A][B]$$

Ecuación 12

Como uno de los reactivos (en este caso el agua) se encuentra en exceso con respecto al otro, puede considerarse constante su concentración, entonces la Ecuación 12 puede expresarse como una ecuación cinética de pseudoprimer orden por lo que las determinaciones cinéticas se realizaron espectrofotométricamente en condiciones de pseudoprimer orden.

$$[B] \gg [A]$$

$$[B] \approx [B]_0$$

$$k[B] = k_{obs}$$

$$-\frac{d[A]}{dt} = k_{obs}[A]$$

Ecuación 13

$$[A] = [A]_0 e^{-k_{obs}t}$$

Ecuación 14

$$[A] = [A]_0 - a$$

$$[P] = a$$

Donde a es el grado de avance de la reacción

Expresando la concentración del sustrato a distintos tiempos de reacción en función de la ley de Lambert-Beer se obtiene la relación entre dicha concentración y la absorbancia:

$$Abs_t = \varepsilon b[A]$$

Ecuación 15

<sup>109</sup> Adam, C. G., Bravo, M. V., & Granados, A. M. (2017). Anion influence on aggregation behavior of imidazolium-based ionic liquid in aqueous solutions: effect on diverse chemical processes. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 56(5), 1214-1222.

$$Abs_0 = \varepsilon b[A]_0 \quad \text{Ecuación 16}$$

Con el objetivo de considerar una conversión real y aumentar así la exactitud del cálculo, tanto la absorbancia a tiempo dado,  $t$  ( $Abs_t$ ) como la absorbancia a tiempo inicial ( $Abs_0$ ) deben ser afectadas o corregidas por la absorbancia a tiempo infinito ( $Abs_\infty$ ) ya que ésta no es nula, como teóricamente sería esperable. La misma se obtiene experimentalmente, a partir de los espectros correspondientes.

$$Abs_t - Abs_\infty = \varepsilon b[A] \quad \text{Ecuación 17}$$

$$Abs_0 - Abs_\infty = \varepsilon b[A]_0 \quad \text{Ecuación 18}$$

Despejando  $[A]$  y  $[A]_0$  de las ecuaciones anteriores y reemplazando en la Ecuación 14 se obtiene:

$$Abs_t - Abs_\infty = (Abs_0 - Abs_\infty)e^{-k_{obs}t} \quad \text{Ecuación 19}$$

Despejando  $Abs_t$

$$Abs_t = Abs_\infty + (Abs_0 - Abs_\infty)e^{-k_{obs}t} \quad \text{Ecuación 20}$$

Las constantes de velocidad observada [ $k_{obs}(s^{-1})$ ] fueron calculadas mediante el ajuste de esta última ecuación exponencial empleando los datos de absorbancia ( $Abs_t$ ) y tiempos obtenidos experimentalmente.

#### 2.1.2.2.1. El Modelo de Pseudofases.

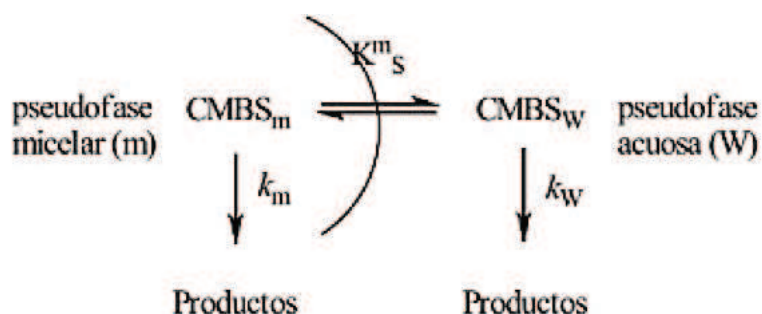
Los datos experimentales extraídos de la reacción modelo seleccionada fueron interpretados a partir del modelo de pseudofase el cual permite explicar el comportamiento observado, en función de las distintas constantes cinéticas y de equilibrio de las especies involucradas en el micro-entorno del sistema micelar.

El modelo de pseudofase ha sido aplicado exitosamente en los últimos 50 años en distintos sistemas micro-heterogéneos y permite evaluar cuantitativamente el comportamiento de los sustratos.<sup>110</sup> Este modelo considera la existencia de dos entornos diferenciados, la pseudofase acuosa y la pseudofase micelar. Esto permite definir y cuantificar la constante de distribución

---

<sup>110</sup> C. A. Bunton, G. Savelli. *Advances in Physical Organic Chemistry*. 22, 1986, 213-309

del sustrato entre ambas pseudofases (Esquema 13). Se puede observar la distribución del sustrato empleado entre la pseudofase acuosa (W) y la micelar (m) definida por la constante de distribución  $K_s^m$ , junto con las posibles vías de hidrólisis del mismo: en agua ( $k_w$ ) y asociada a la micela ( $k_m$ ). El modelo permite la evaluación de estos tres parámetros a partir de la dependencia de la  $k_{obs}$  con respecto a la concentración de surfactante, en este caso, el SALLs.



**Esquema 13**

El efecto de catálisis o inhibición observado dependerá de cuán eficaz sea la unión entre el sustrato y la micela (dada por la constante de distribución  $K_s^m$ ), así como de las constantes de velocidad de hidrólisis de primer orden en la pseudofase micelar ( $k_m$ ) y en la pseudofase acuosa ( $k_w$ ).<sup>111</sup>

La constante  $K_s^m$  describe la distribución del sustrato entre ambas pseudofases mediante la siguiente ecuación:

$$K_s^m = \frac{[CMBS_m]}{[CMBS_w][D_n]} \quad \text{Ecuación 21}$$

Donde  $[D_n]$  es la concentración del surfactante micelado, que se obtiene de la diferencia entre la concentración de surfactante total y la CMC.

Teniendo en cuenta que la reacción puede ocurrir en ambas pseudofases y considerando el balance de masa del sustrato y su constante de distribución entre las fases, se obtiene la siguiente expresión para la constante de velocidad observada:

$$k_{obs} = \frac{k_w + k_m K_s^m [D_n]}{1 + K_s^m [D_n]} \quad \text{Ecuación 22}$$

Considerando que  $k_w \gg k_m K_s^m [D_n]$ , entonces  $k_m$  es despreciable frente a  $k_w$

$$k_{obs} = \frac{k_w}{1 + K_s^m [D_n]} \quad \text{Ecuación 23}$$

<sup>111</sup> F. M. Menger, C. E. Portnoy, Journal of the American Chemical Society. 89, 1967, 4698-4703.

Reordenando obtenemos la siguiente ecuación

$$\frac{1}{k_{obs}} = \frac{1}{k_w} + \frac{K_S^m}{k_w} [D_n] \quad \text{Ecuación 24}$$

Para ajustar los datos experimentales fue necesario conocer los valores de CMC de los sistemas micelares. Para esto se consideraron valores de CMC determinados con anterioridad, empleando mediciones conductimétricas.<sup>112</sup>

#### Procedimiento

Se prepararon soluciones madres de los SAILs bajo estudio: Metanosulfonato y Trifluoracetato de decilimidazolio (C<sub>10</sub>HIm-S) y (C<sub>10</sub>HIm-F) Metanosulfonato y Trifluoracetato de tetradecilimidazolio (C<sub>12</sub>HIm-S) y (C<sub>12</sub>HIm-F) Metanosulfonato y Trifluoracetato de tetradecilimidazolio (C<sub>14</sub>HIm-S) y (C<sub>14</sub>HIm-F) Metanosulfonato y Trifluoracetato de hexadecilimidazolio (C<sub>16</sub>HIm-S) y (C<sub>16</sub>HIm-F).

La concentración de estas soluciones depende del SAILs analizado y para la preparación de las mismas se utilizó agua tridestilada. Además, se preparó también una solución madre del sustrato de CMBS 0,047M en AcN. Tanto los espectros de reacción como las medidas cinéticas se llevaron a cabo en un Espectrofotómetro UV-Vis SHIMADZU UV-1800.

En una cubeta de cuarzo de 2 ml se agregó un volumen fijo de sustrato sobre la solución preparada de SAILs de una concentración por debajo y por arriba de la CMC, la concentración final de CMBS en cubeta es 10<sup>-4</sup>M. Se tomaron espectro de absorción en función del tiempo entre 190-350 nm, el tiempo entre espectro y espectro depende del SAILs, pero generalmente fue cada 2 o 4 minutos.

La cinética de reacción se siguió a una longitud de onda fija 270 nm, coincidente con el máximo de absorción del CMBS. A partir de los valores de  $k_{obs}$  para cada concentración de LI obtenidos utilizando la Ecuación 23, se procedió a realizar el ajuste lineal empleando la Ecuación 24, con lo cual pudo determinarse la constante de distribución ( $K_S^m$ ) para cada SAIL en estudio.

### 2.1.3. Aplicación de la técnica Voltametría Cíclica.

#### 2.1.3.1 Voltametría cíclica de microelectrodos en SAILs fundidos

Se analizó la respuesta voltamétrica de microelectrodos en todos los SAILs puros sintetizados, a temperaturas donde los mismos se encuentran fundidos. Se utilizaron microelectrodos (MEs) discos de Pt de 25 μm de diámetro para analizar los distintos procesos con transferencia de electrones (en especial la electro-reducción de protones) de diferentes fuentes disponibles en

<sup>112</sup> C. G. Adam; G. G. Fortunato. Journal of Surfactant and Detergents. 22, 2019, 501-513

los LIs fundidos, es decir, detectar especies electroactivas presentes, o especies remanentes de la síntesis de los mismos. Los experimentos fueron llevados a cabo usando un potenciostato marca CH Instruments modelo 1140B. Cada LI fue colocado en un vial de 10 mL con rosca, de manera que al fundir el mismo llegó a ocupar aproximadamente un quinto de su volumen. Este vial estaba provisto de una tapa de Teflón® para hacer un sello hermético, con cuatro orificios para introducir el ME usado como electrodo de trabajo, el contraelectrodo (alambre de Pt), el electrodo de referencia (alambre de Pd/PdH) inserto dentro de un compartimento estanco lleno con el mismo LI, y un capilar para burbujeo de gas inerte (N<sub>2</sub> a 1 atm). Una vez cargado con el LI y cerrado herméticamente, el vial fue introducido en un recipiente con circulación de líquido (agua o glicerina) controlado mediante un baño termostatzado para mantener la temperatura deseada. Cuando se requirió agregar algún componente, esto se realizó a través de la abertura del ingreso de gas inerte.

Para la operación, la celda se cargó con el SAILS a temperatura ambiente y se cerró con la tapa de Teflón® que soportaba todos los electrodos. Luego, para volver fluidos aquellos SAILS que eran sólidos, la temperatura de la celda se elevó a un valor ligeramente superior al de la temperatura de fusión de cada SAIL. El electrolito fundido se purgó continuamente por burbujeo con gas inerte (N<sub>2</sub> seco).

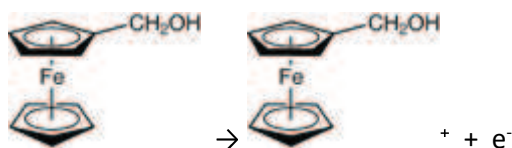
Los voltagramas cíclicos fueron medidos en un rango de potencial (E) a partir de un valor catódico (donde la reducción del catión del LI y/o la evolución de hidrógeno fue verificada) hasta un valor anódico donde la oxidación de un componente del LI fue detectada, a una velocidad de barrido (v) de 0,1 V s<sup>-1</sup>.

Con el objetivo de confirmar la asignación de las ondas voltamétricas a la oxidación o reducción de especies libres específicas, cuando fue posible, una cantidad definida de precursores puros (N-alquilimidazol) fue adicionada durante los experimentos a través de un orificio de la tapa de la celda. Por otra parte, cabe mencionar que la ausencia de picos voltamétricos que podrían ser asociados a la reducción del óxido de platino formado a partir de trazas de agua permitió confirmar la inexistencia de agua a niveles detectables.

#### *2.1.3.2. Voltametría cíclica en soluciones acuosas de SAILS*

Se exploró la potencialidad de la voltametría cíclica para brindar información sobre la conducta de estos SAILS en solución acuosa mediante la medición de parámetros electroquímicos potencialmente sensibles a los fenómenos de formación de micelas y de encapsulamiento en las mismas de una sonda electroquímica, en este caso el ferroceno metanol (FcMeOH). Esta sustancia tiene mucha afinidad hacia los medios orgánicos, con lo cual es de esperar un encapsulamiento eficiente en el interior orgánico de las micelas formadas. Además, su electro-

oxidación a catión ferrocenio metanol dada por la ec. (25) puede considerarse reversible en cualquier material de electrodo conductor.



Ecuación 25

La reacción se analizó sobre un macroelectrodo (alambre de Pt, 1 cm de largo, 1 mm de diámetro, área geométrica  $A_g = 0,008 \text{ cm}^2$ ) y sobre un ME (disco de 25  $\mu\text{m}$  de diámetro), en solución de FcMeOH 1 mM con KCl 0,1 M como electrolito soporte, con concentraciones variables de los LIs. Estos últimos fueron SAILs basados en cationes del tipo N-alquilimidazólicos ( $C_n\text{Him}$ ) con cadenas alquílicas de 12 carbonos, y con contraiones trifluoracetato (F) y metanosulfonato (S), es decir  $[C_{12}\text{Him}]S$  y  $[C_{12}\text{Him}]F$ .

Para estas experiencias se usó el mismo tipo de celda descrita previamente, es decir un recipiente de 10 mL con tapa de Teflón® por donde se introducen los tres electrodos y el burbujeador de gas inerte. En este caso, además del electrodo de trabajo (macro- o microelectrodo) se usaron un contraelectrodo alambre de Pt y un electrodo de referencia de Ag/AgCl en solución saturada de KCl. Para evaluar las respuestas en medios con concentraciones variables de los LIs se prepararon en viales individuales cada una de las soluciones analizadas conteniendo FcMeOH 1 mM, KCl 0,1 M y el SAIL con la concentración respectiva. Previo a cada análisis, los electrodos de trabajo y el contraelectrodo fueron enjuagados con etanol y secados con aire caliente.

#### 2.1.4. Aplicación de SAILs a sistemas de liberación de fármacos.

##### 2.1.4.1. Determinación de la constante de asociación con un fármaco de interés

Con el fin de estudiar a los SAILs en sistemas de liberación de fármacos se procedió a cuantificar la interacción fármaco- SAIL por medio de la determinación de las constantes de asociación entre dicho fármaco y cada SAIL, a concentraciones menores y mayores a la correspondiente CMC.

Las constantes de asociación se determinaron aplicando las Ecuaciones 10 y 11, empleando técnicas espectroscópicas UV-Vis de absorción y fluorescencia molecular. Esto permite cuantificar el grado de interacción del fármaco con el surfactante tanto como monómero, como formando micelas en solución acuosa.

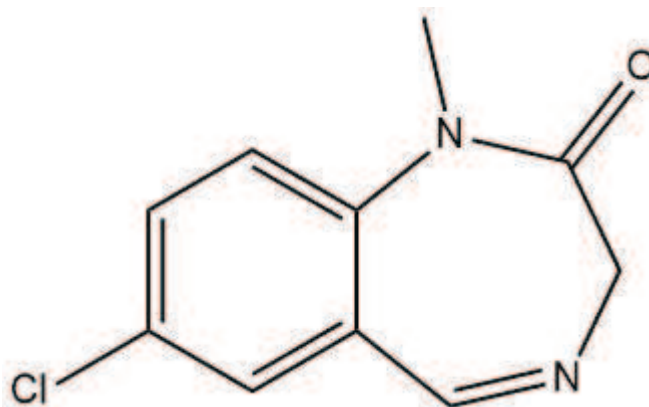


Figura 7. Estructura del diazepam

La molécula de Diazepam (Figura 7) genera bandas de absorción correspondientes a las transiciones  $n \rightarrow \pi^*$  (grupo carbonilo y grupo imina) y  $\pi \rightarrow \pi^*$  correspondientes a los sistemas conjugados y a la presencia de anillos aromáticos. El espectro muestra tres bandas de distinta intensidad a 230, 252 y 311 nm.

El Diazepam fue proporcionado por el Laboratorio Industrial Farmacéutico de la provincia de Santa Fe, LIF, con una pureza del 98,5%.

Análisis por espectroscopia UV

Las mediciones se llevaron a cabo en un Espectrofotómetro UV-Vis SHIMADZU UV-1800.

Se preparó una solución madre de 0,0054 M en etanol. Para la medición de los espectros de absorción de DZM se prepararon soluciones acuosas de distintas concentraciones de SAIL, con una concentración fija del fármaco ( $1.93 \times 10^{-5}$  M). Los espectros se adquirieron entre 190-350 nm.

Análisis por espectroscopia de fluorescencia molecular

Se preparó una solución madre de 0,0054 M en etanol. Las mediciones se llevaron a cabo en un Espectrofotómetro de Fluorescencia Marca HITACHI F-7000 situado en las instalaciones del Laboratorio Modelo de la Facultad de Ingeniería Química (LaMoFIQ).

Para la medición de los espectros de emisión se prepararon soluciones acuosas de distintas concentraciones de SAIL, con una concentración fija de fármaco ( $1.93 \times 10^{-5}$  M). Los espectros de emisión de DZM se registraron entre 350-500 nm, excitando a una longitud de onda de 311 nm.

#### 2.1.4.2. Aplicación de los SAILs en la encapsulación de la droga antitumoral Violasceina

Esta parte del trabajo de tesis se realizó en colaboración con el Dr. Guillermo Castro del instituto CINDEFI de La Plata, Buenos Aires, Argentina.

Se seleccionó para el análisis de liberación la droga [3-(1,2-dihidro-5-(5-hidroxi-1H-indol-3-il)-2-oxo-3Hpirrol-3-iliden)-1,3-dihidro-2H-indol-2-ona] (Violaceina). Esta fue producida y procesada por el grupo del instituto P.I. Nanobiomaterials Lab. - CINDEFI Universidad Nacional de La Plata - CONICET (CCT La Plata) aplicando protocolos publicados anteriormente utilizando *Chromobacterium violaceum*.<sup>113</sup> El pigmento fue purificado mediante extracción continua sólido-líquido (soxhlet) hasta lograr un 98% de pureza. La caracterización fue realizada mediante RMN 1H y 13C, espectroscopia UV-Vis, espectroscopia de masa y espectroscopia IR.<sup>114</sup> El miristato de miristilo (MM, Crodamol® MM, pf = 36–40 °C) fue donado por CRODA® (Argentina). El Poloxamer P188 (Kolliphor® P188), y el perclorato de 3,30-dioctadeciloxacarbocianina (DiOC18) se obtuvo de Sigma-Aldrich.

##### 2.1.4.2.1. Estudio de Citotoxicidad

En primer lugar, se analizó la citotoxicidad de todos los SAILs sintetizados en el grupo sobre un cultivo de células A549 epiteliales basales alveolares humanas de adenocarcinoma en medio de Eagle modificado por Dulbecco (DMEM; Gibco Invitrogen Corporation, USA) suplementado con 10% de suero fetal bovino (Natocor, Córdoba, Argentina) y antibióticos (100 U /mL de penicilina and 0,1 mg /mL de estreptomina de Gibco Invitrogen Corporation, USA) en 5% CO<sub>2</sub> a 37 °C. La viabilidad celular fue determinada por el ensayo MTT [3-(4,5- dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide] (Mossman, 1983). Las células A549 (4,0x10<sup>3</sup> células por ml) fueron sembradas en una placa de 96 pocillos e incubadas toda la noche en condiciones estandar. Además, fueron tratadas con diferentes SAILs por 48 hs. Se añadió un volumen mínimo de DMSO alcanzando una concentración final de 0,05% (v/v).

Luego de los tratamientos, se añadieron 100ml de solución MTT (500mg/ml de MTT en PBS) a cada pocillo y se incubó por 3 hs a 37°C. Los cristales de formazan se disolvieron en 100 ml de DMSO, y se analizó la absorbancia a 560 nm en un lector de placas (Beckman Coulter DTX 880 Multimode Detector, CA, USA).

---

<sup>113</sup> Mendes, A. S., de Carvalho, J. E., Duarte, M. C., Durán, N., & Bruns, R. E. (2001). Factorial design and response surface optimization of crude violacein for *Chromobacterium violaceum* production. *Biotechnology Letters*, 23(23), 1963-1969.

<sup>114</sup> Rettori, D., & Durán, N. (1998). Production, extraction and purification of violacein: an antibiotic pigment produced by *Chromobacterium violaceum*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 14(5), 685-688.



#### 2.1.4.2.2. Estabilidad de la solución micelar

Fue estudiada la habilidad de los SAILs para mantener a la Viol en solución. Se prepararon soluciones conteniendo 1mM de Viol y 1mM de SAILs, en un volumen final de 5,0 ml. El control fue realizado con Viol disuelta en agua. La solución fue filtrada a través de un filtro de celulosa de 0,22  $\mu\text{m}$  y la concentración fue determinada a 580 nm a  $t=0\text{hs}$ ,  $t=24\text{hs}$ ,  $t=48\text{hs}$ . Los datos fueron normalizados a un máximo de 580 nm que corresponde a  $([\text{C}_{16}\text{Him}]\text{-S})$  a 0 h (la Viol no retenida en el filtro). Por otro lado, la soluciones de 10  $\mu\text{m}$  de Viol con todos los SAILs fueron preparadas por triplicado y con el control correspondiente y la intensidad máxima de absorción a 580 nm, para evitar que los cambios de absorbancia se deban a la polaridad de la micela en vez de a la concentración de la violasceina.

#### 2.1.4.2.3. Análisis FTIR

Se utilizó FTIR de reflectancia total atenuada para obtener los espectros en un espectrómetro Spotlight 400-Perkin-Elmer (Waltham, MA, EE. UU.). Cada espectro se escaneó 32 veces y se registró entre 550 y 4000  $\text{cm}^{-1}$  con una resolución de 2  $\text{cm}^{-1}$  por triplicado.

### 2.2. Parte II: Caracterización del complejo CD-SAIL

#### 2.2.1. Análisis de RMN

Las mediciones se realizaron en el IQUIR de la Universidad Nacional de Rosario, con un Espectrómetro digital de Resonancia Magnética Nuclear multinuclear Bruker Avance de 300 MHz

#### 2.2.2. Análisis masa orbitrap

Las mediciones se realizaron en la Unidad de Espectroscopia de Masa (UEM) del Instituto de biología molecular y celular de Rosario (IBR) con espectrómetro de masa Q-Exactive HF en modo infusión directa. Las muestras se disolvieron en agua calidad masa a razón de concentración 1 mg/mL. Se realizó una dilución 1/50 en agua.

# Capítulo 3

Resultados parte I

### 3. Resultados parte I

En el trabajo previo, publicado por Adam & Fortunato (2019) se sintetizaron nuevos SAILs usando cationes alquilimidazólicos  $C_nH_{11}m$  ( $n = 8, 10, 12, 14,$  and  $16$ ) con los aniones  $CF_3CO_2^-$  y  $CH_3SO_3^-$  como contraiones y se investigó la capacidad de autoagregación de los SAILs utilizando medidas de conductividad y fluorescencia. Los resultados obtenidos, el valor de la CMC, el grado de disociación del contraión, la energía libre de Gibbs de la formación de la micela y el número medio de agregación indican que estos nuevos SAILs exhiben propiedades mejoradas en relación a surfactantes catiónicos tradicionales. En este sentido, los SAILs con  $CF_3CO_2^-$  como contraión poseen menores valores de CMC en comparación a surfactantes del tipo bromuro de alquiltrimetilamonio (CnTAB) y sus correspondientes dialquilimidazolios con igual longitud de cadena. Se demostró que, la sonda hidrófoba pireno reside más profundamente dentro de la micela ya que los valores de polaridad de ET(30) estimados a partir de la correlación, los valores de la constante de Stern-Volmer y la constante dieléctrica aparente del medio corroboran que la micropolaridad de la región cibotáctica micelar que experimenta el pireno es menor que la correspondiente a CnTAB y algunos tensioactivos basados en SAILs dialquilimidazolios, lo que sugiere que el pireno se localiza en un entorno aún más apolar. Los resultados mencionados anteriormente demuestran que el catión 1-alquilimidazolios es adecuado para promover la agregación cuando va acompañado de los contraiones apropiados, en nuestro caso  $CF_3CO_2^-$  y  $CH_3SO_3^-$  (F y S respectivamente).

Estos nuevos SAILs abren el abanico de posibles aplicaciones no solo como una nueva clase de tensioactivos sino también como un nuevo medio para la solubilización en su fase interna de solutos valiosos como los fármacos hidrofóbicos.

En este capítulo se pretende explorar estas nuevas aplicaciones profundizando el estudio de los sistemas micelares acuosos formados utilizando otra sonda como el Nile Red (NR) determinando la concentración micelar crítica (CMC) y la constante de asociación mediante espectroscopia UV-Vis y de fluorescencia. Asimismo, se estudia su aplicación como medios para el desarrollo de reacciones orgánicas. Se pretende, además, analizar su comportamiento como electrolitos o como modificadores de electrodos aplicando la técnica de voltametría cíclica estudiando la posibilidad que dicha técnica permita profundizar y avanzar acerca del entendimiento del fenómeno de agregación.

### 3.1. Caracterización de sistemas micelares

#### 3.1.1. Determinación de la Concentración Micelar Crítica mediante métodos espectroscópicos

La sonda 9-diethylamino-5-benzo[a]phenoxazinone conocido como Nile Red (NR), cuya estructura se muestra en la Figura 8, es un colorante solvatocrómico positivo y muestra uno de los mayores cambios en los máximos de excitación y emisión al pasar de solventes no polares ( $\lambda_{ex} \sim 484$  nm,  $\lambda_{em} \sim 529$  nm) a solventes polares (en agua,  $\lambda_{ex} \sim 591$  nm,  $\lambda_{em} \sim 657$  nm). Los tres máximos de absorción, excitación y emisión se corren a menores energías cuando aumenta la polaridad del medio que rodea a NR. Esta sonda se utiliza en diversas aplicaciones donde es necesario explorar la polaridad del medio. Además, ha sido clasificada dentro del grupo de indicadores solvatocrómicos altamente fluorescentes, los cuales han sido utilizados ampliamente para caracterizar la polaridad del micro-entorno micelar.<sup>115,116</sup>

Esta sonda fue elegida debido a que tiene una emisión de luz lo suficientemente intensa como para emplear muy bajas concentraciones y además permite medir la variación de algunos parámetros característicos de su luminiscencia, como pueden ser: máximo de emisión y forma del espectro de fluorescencia, rendimiento cuántico de fluorescencia, tiempo de vida, etc. Su baja basicidad ( $pK_a = 1,00 \pm 0,05$ ) permite observar su pico solvatocrómico en medio ácido. Es estable en medios ácidos como el ácido fórmico o el ácido trifluoracético y no es susceptible a la pérdida de absortividad molar en presencia de estos, como sucede con los indicadores de Reichardt.

El NR posee baja solubilidad en agua (0,001 mg/ml) y a medida que se forma la micela por adición del surfactante, aumenta significativamente la solubilidad de la sonda y también, la intensidad de respuesta de la propiedad estudiada (absorbancia o emisión). Esto las convierte en una sonda idónea para el seguimiento del proceso de micelización.

---

<sup>115</sup> Nizri, G., & Magdassi, S. (2005). Solubilization of hydrophobic molecules in nanoparticles formed by polymer-surfactant interactions. *Journal of colloid and interface science*, 291(1), 169-174.

<sup>116</sup> Fletcher, K. A., Storey, I. A., Hendricks, A. E., Pandey, S., & Pandey, S. (2001). Behavior of the solvatochromic probes Reichardt's dye, pyrene, dansylamide, Nile Red and 1-pyrenecarbaldehyde within the room-temperature ionic liquid bmimPF<sub>6</sub>. *Green Chemistry*, 3(5), 210-215.

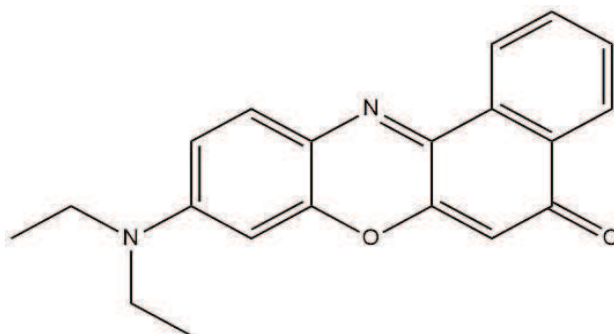


Figura 8. Estructura del NR.

Para simplificar la lectura de este capítulo se tomó como modelo el SAILs con 16 carbonos de cadena alquílica con ambos contraiones ( $C_{16}H_{11}M-F$  y  $C_{16}H_{11}M-S$ ). Los resultados de estas experiencias con el resto de los SAILs se presentan en el anexo.

*Análisis por Espectroscopia UV-Vis de Absorción.*

Las figuras 9 a 12 presentan los resultados obtenidos para los sistemas acuosos de  $C_{16}H_{11}M-S$  y  $C_{16}H_{11}M-F$  del análisis por espectroscopia de absorción UV-Vis en presencia del NR.

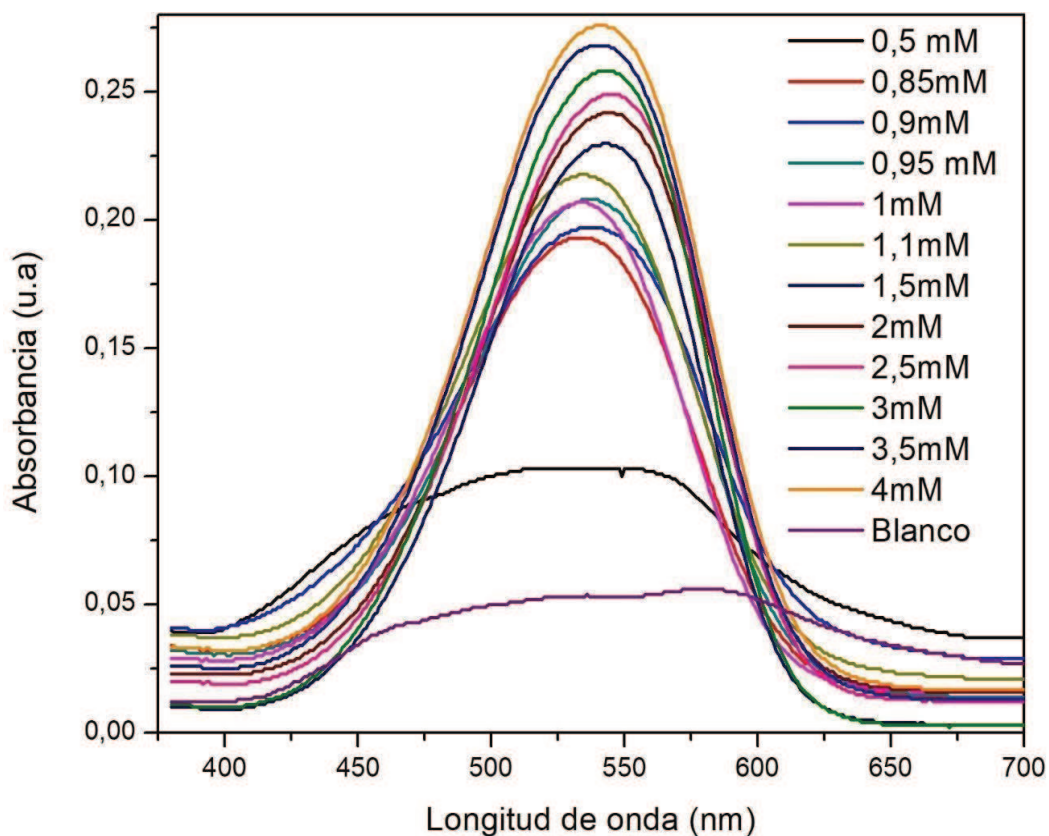
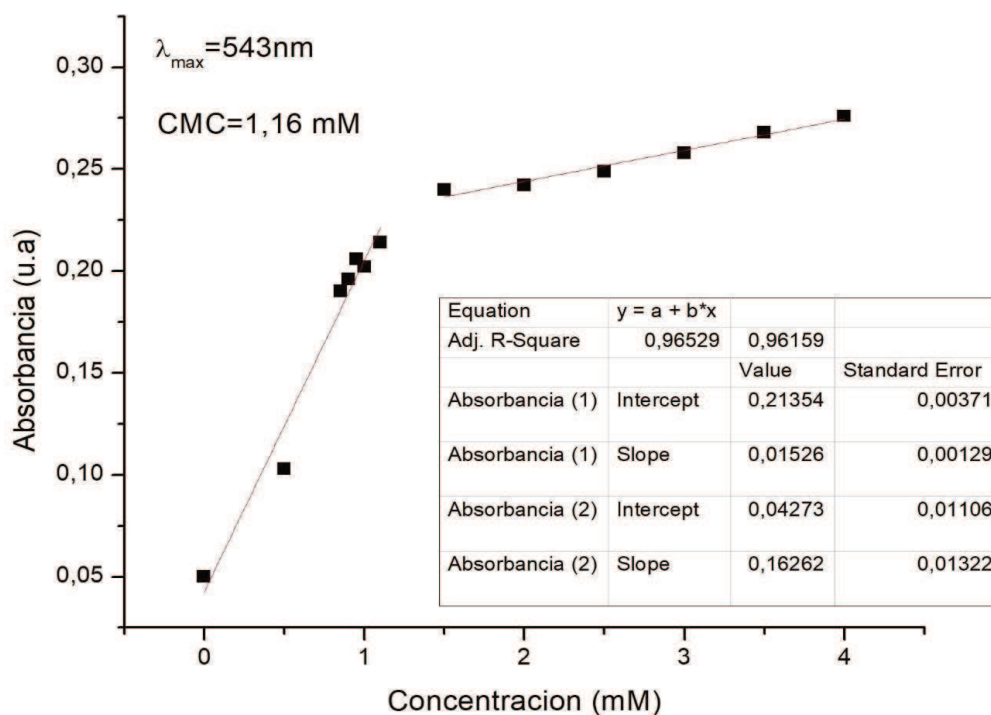


Figura 9. Espectros de absorción de soluciones conteniendo  $6,1\mu M$  de la sonda NR y concentraciones crecientes del SAILs  $C_{16}H_{11}M-S$

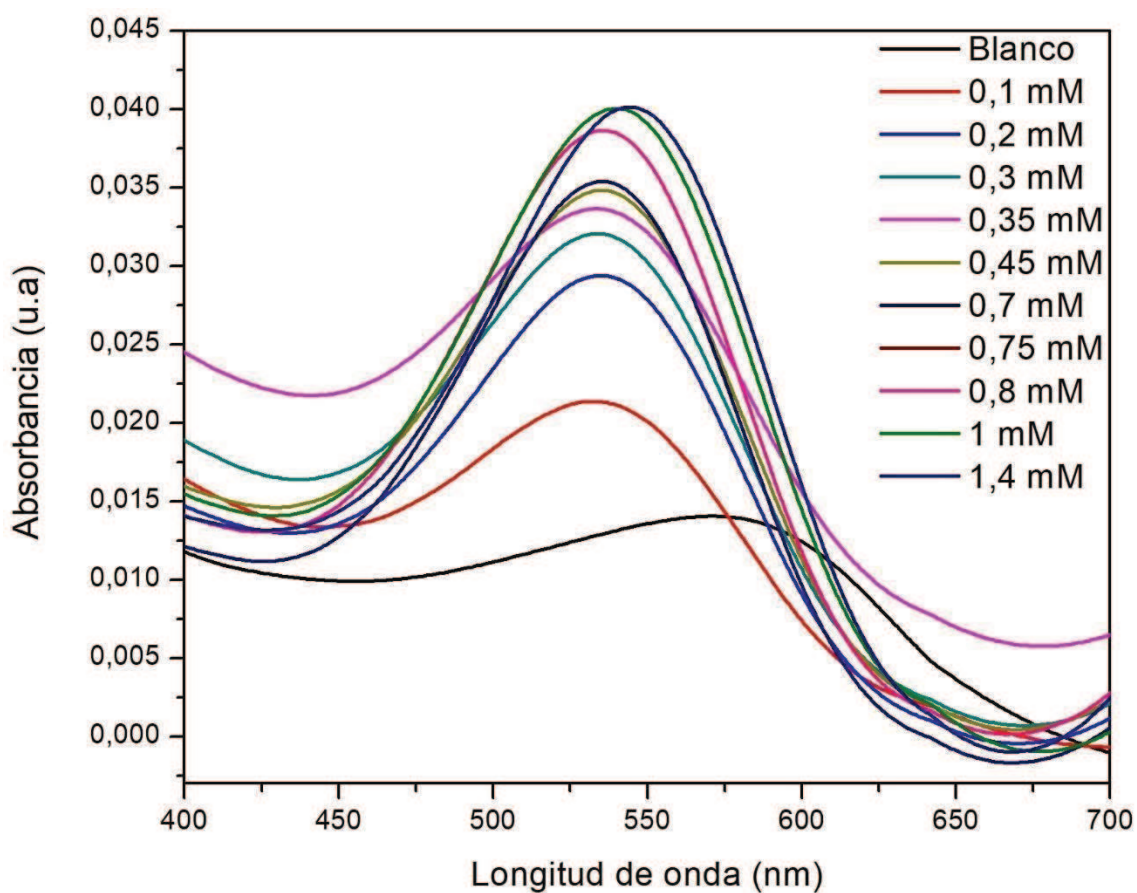
En la Figura 9, se puede observar la evolución de los espectros de absorción del NR ante concentraciones crecientes de SAILs. La banda de menor absorbancia a 590 nm coincide con el máximo del NR en agua (blanco). A partir del espectro de absorción del blanco se evidencia un aumento gradual de la intensidad, esto se condice con la solubilización del indicador en los agregados iniciales. Como puede observarse hasta la concentración 1,1 mM el sistema muestra un importante desplazamiento hipsocrómico hacia una longitud de onda máxima ( $\lambda_{\max}$ ) de 530 nm, indicando una disminución de la polaridad del micro-entorno que rodea a la sonda. Para el rango entre 1,5 y 2,5 mM se observa un claro desplazamiento batocrómico hacia un valor de  $\lambda_{\max} = 543$  nm, sin embargo, las longitudes de onda finales son siempre menores a la correspondiente al espectro de la sonda en agua.

Por su parte en la Figura 10 se presentan los valores de absorbancia de las distintas soluciones a 543 nm. El valor de  $\lambda_{\max} = 543$  nm elegido corresponde a la longitud de onda máxima obtenida en el espectro de la solución más concentrada (micela completamente formada). El valor de CMC fue determinado en los distintos casos por intersección de las rectas o por ajuste con una función tipo Boltzmann. Para el  $C_{16}Him-S$  el valor de CMC obtenido fue de 1,16 mM. Las concentraciones por debajo de la CMC, corresponden a la zona pre-micelar, y las concentraciones por encima de la CMC, corresponden a la zona micelar.



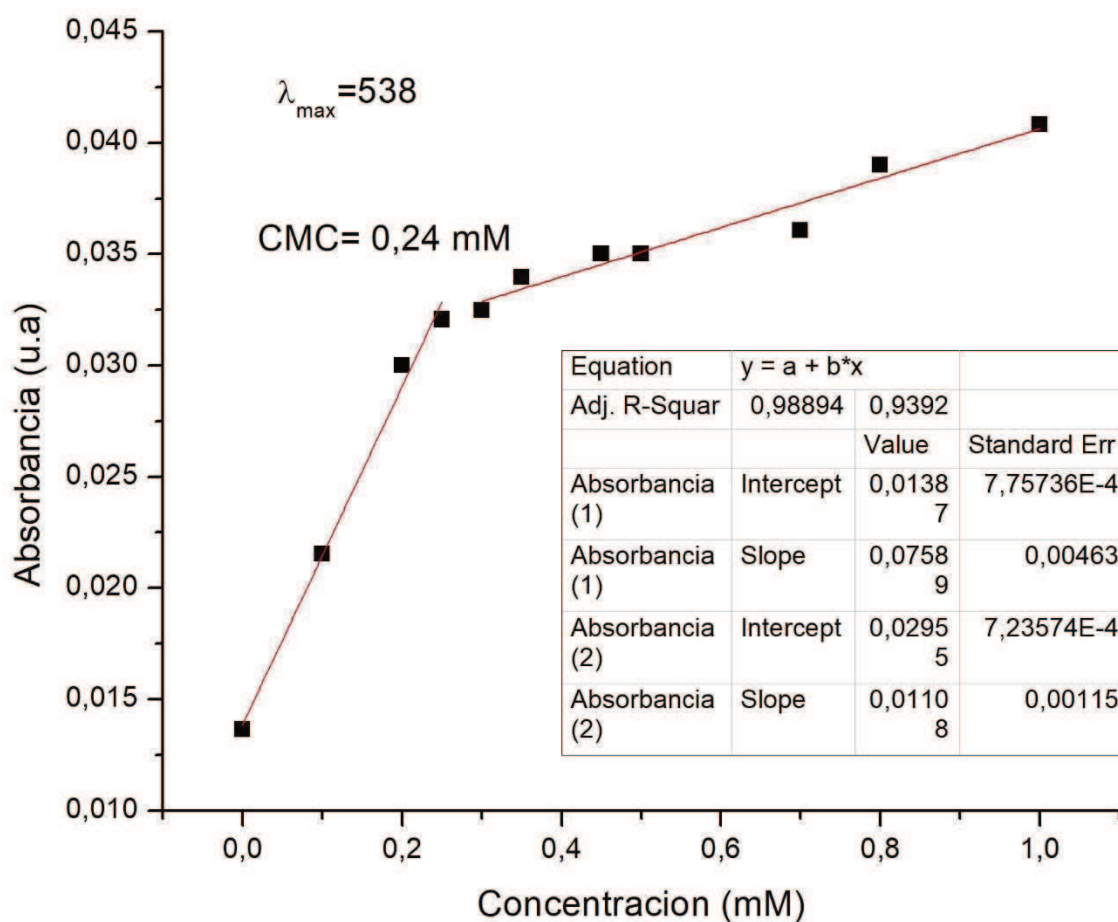
**Figura 10.** Variación de la absorción de la sonda NR ( $6,1 \mu\text{M}$ ) a los 543 nm en función de la concentración del SAILs  $C_{16}Him-S$

Análogamente en la Figura 11 se presentan los espectros de absorción de NR en solución acuosa variando la concentración de SAIL C<sub>16</sub>Him-F. Del análisis de los mismos, se evidencia, al igual que para el anión metanosulfonato, un importante corrimiento hipsocrómico inicial respecto al agua pura para las soluciones más diluidas de SAIL (de 0 a 0,45 mM). Además, se observa en general un aumento progresivo en la intensidad de absorción junto con un corrimiento hipsocrómico de la  $\lambda_{\max}$ , desde agua hasta las mayores concentraciones de LI.



**Figura 11.** Espectros de absorción de soluciones conteniendo 6,1 μM de la sonda NR y concentraciones crecientes del SAIL C<sub>16</sub>Him-F.

En la Figura 12, se puede apreciar la variación de la absorbancia en función de la concentración de C<sub>16</sub>Him-F, para una  $\lambda_{\max}$  fija de 538 nm a la cual la micela ya está formada. Para la obtención del valor de la CMC se procedió, como en los casos anteriores, determinando la intersección de las rectas correspondientes a ambas regiones de la curva, antes y después del quiebre de la propiedad estudiada. Se obtuvo un valor de CMC de 0,24 mM.



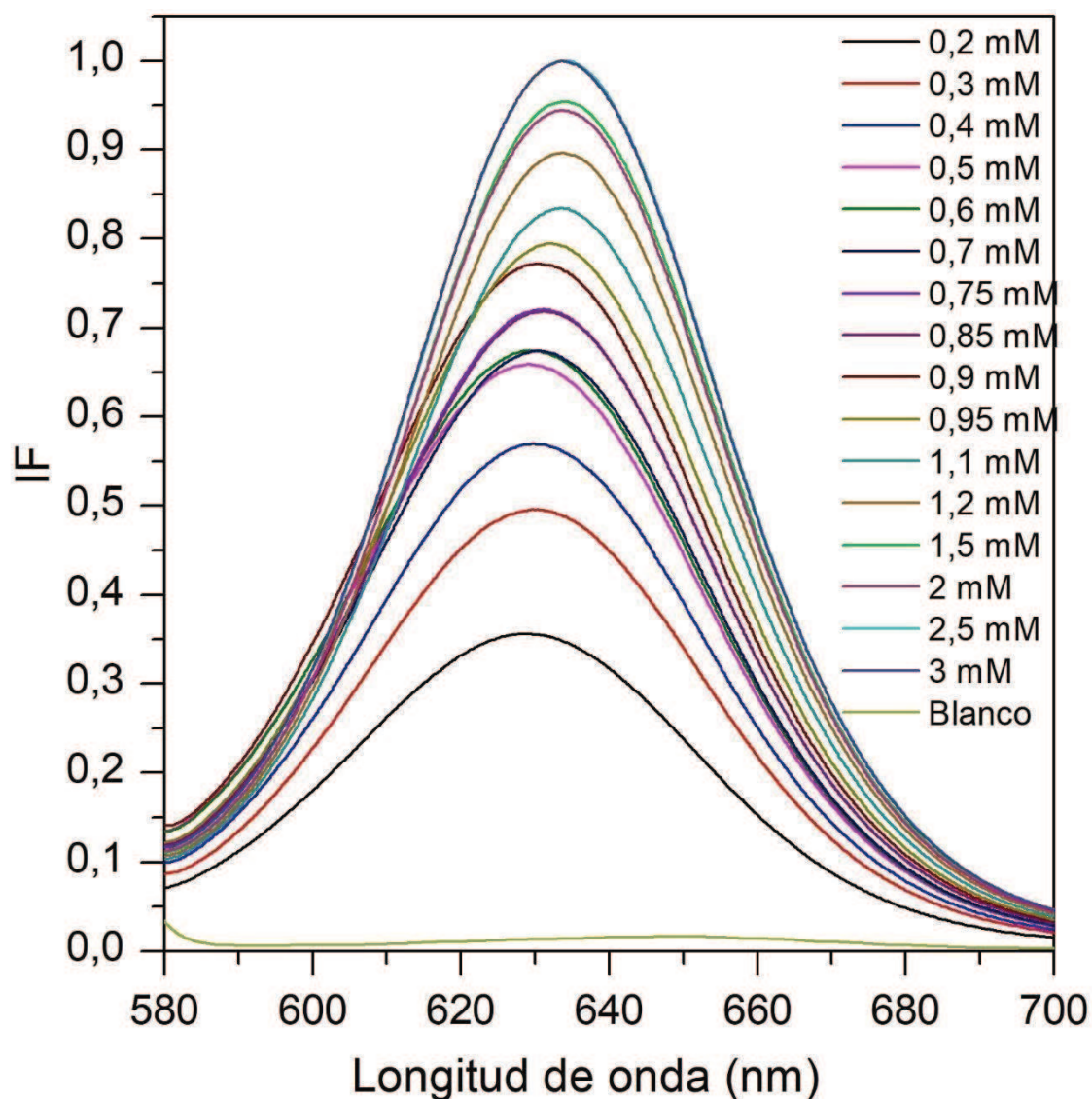
**Figura 12.** Variación de la absorción de la sonda NR (6,1 μM) a los 538 nm en función de la concentración del SAIL C<sub>16</sub>Him-F.

#### *Análisis por Espectroscopia de Fluorescencia Molecular*

El estudio de la formación de agregados micelares se completó con un análisis análogo al anterior, pero por espectroscopia de fluorescencia.

La Figura 13 exhibe los cambios espectrales de emisión de NR con una longitud de onda de excitación de 542 nm, a medida que aumenta la concentración de C<sub>16</sub>Him-S. Como se mencionó anteriormente, en el capítulo de metodología, se trabajó a longitudes de onda de excitación y a concentraciones de indicador tales que la absorbancia de este sea menor a 0,1-0,2 u.a. Esto se debe respetar con el fin de evitar el efecto de filtro interno referido a la absorción de luz por parte de la sonda a la longitud de onda de excitación en la que se trabaja produciéndose una disminución de la intensidad de fluorescencia observada.

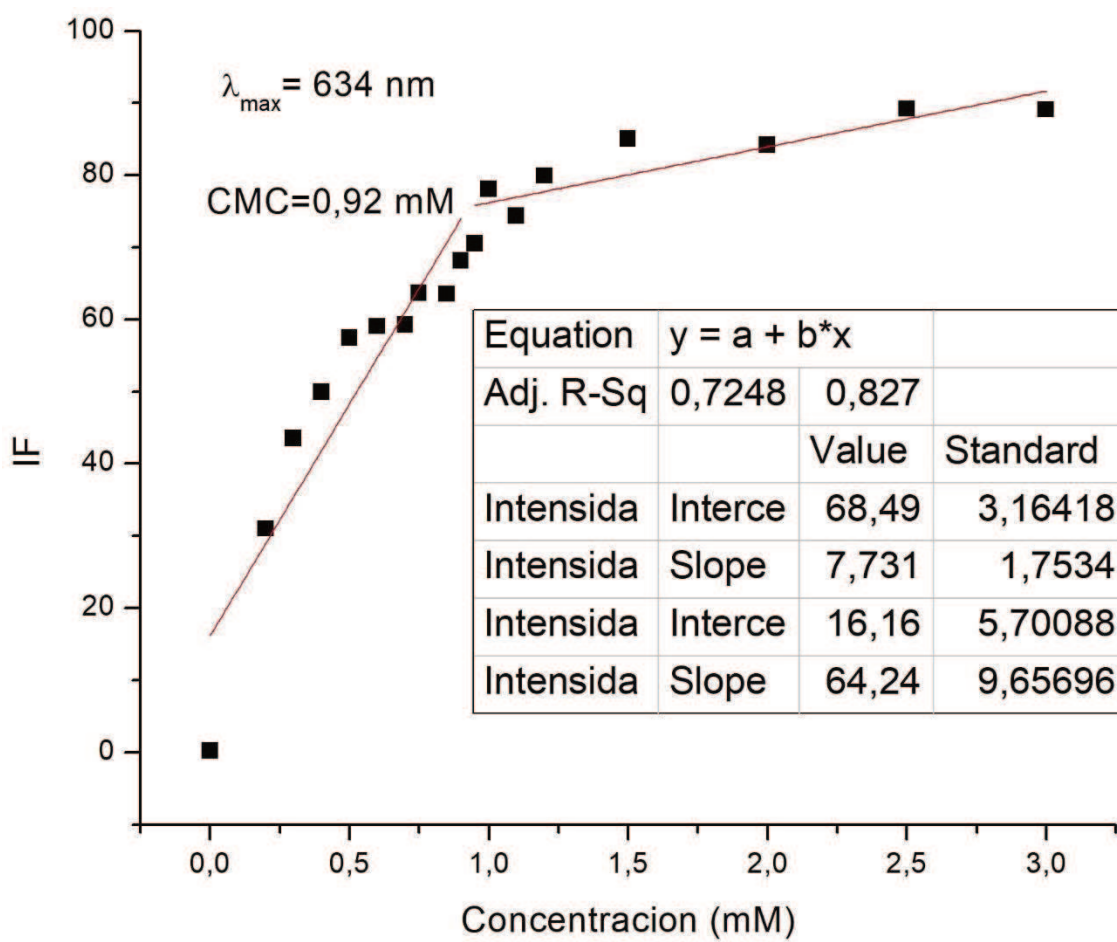




**Figura 13.** Espectros de emisión (IF) del NR en función de la concentración del C<sub>16</sub>Him-S.

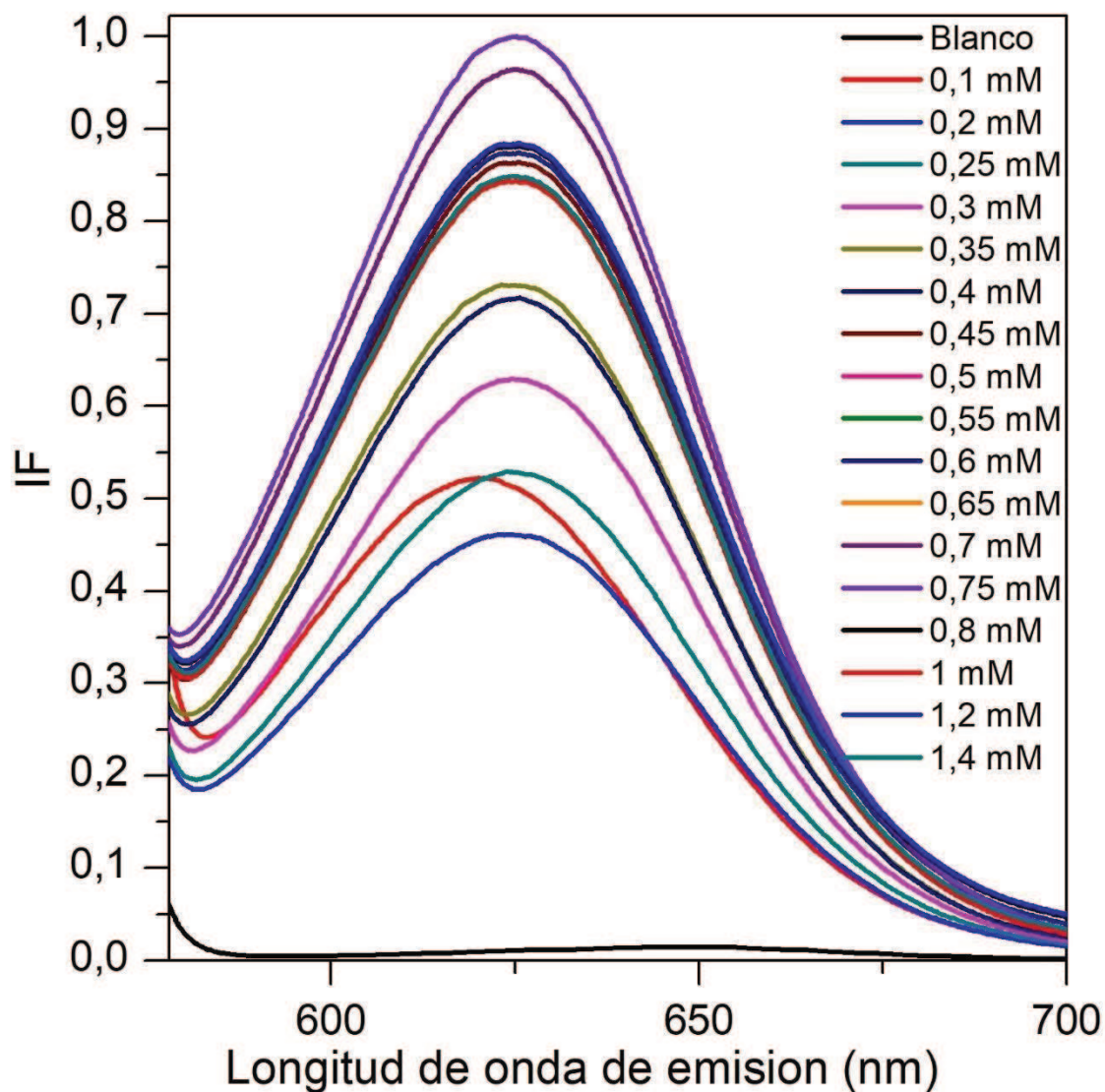
El espectro de emisión de NR en agua tiene un máximo de emisión a 658 nm. Con el primer agregado de SAIL se evidencia una disminución de la longitud de onda máxima de emisión hasta los 0,9 mM. Luego a medida que aumenta la concentración de SAIL se observa un corrimiento batocrómico hasta que a concentraciones altas la longitud de onda máxima de emisión ( $\lambda_{\max}$  634 nm), comienza a estabilizarse.

En la Figura 14, se muestra la tendencia observada de las intensidades de emisión a 634 nm, donde se observa un claro quiebre en los valores de la propiedad en la zona de concentraciones de LI coincidente con la CMC, cuyo valor es 0,92 mM.



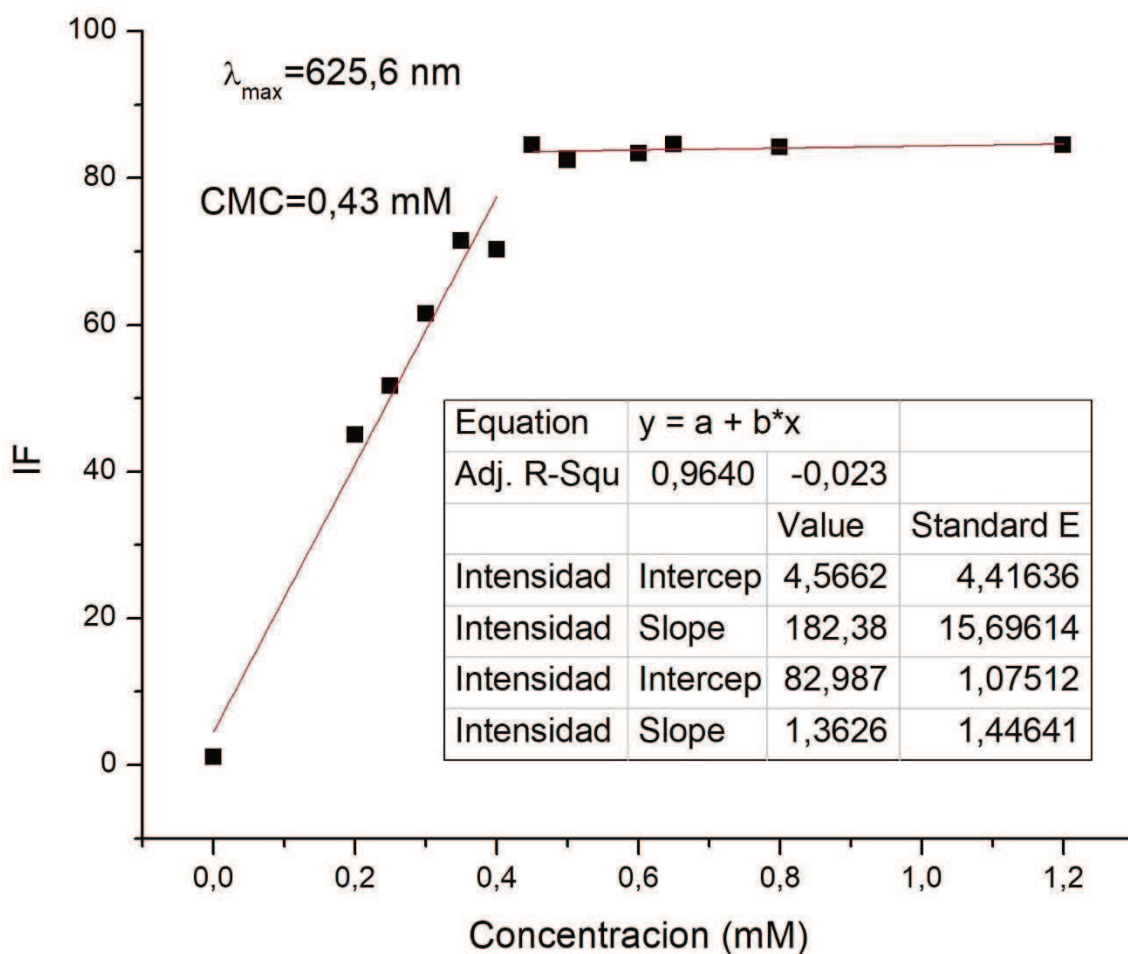
**Figura 14.** Intensidad de emisión en función de la concentración del C<sub>16</sub>Him-S.

La Figura 15 muestra los espectros de emisión de NR en solución acuosa con distintas concentraciones de SAILs para una longitud de onda de excitación de 538 nm. Puede observarse nuevamente un corrimiento hipsocrómico del máximo de emisión de NR en presencia del SAILs en la solución hasta los 0,25 mM, con respecto al correspondiente en ausencia del mismo. Este cambio está acompañado de un aumento progresivo de la intensidad de emisión.



**Figura 15.** Espectros de emisión (IF) del NR en soluciones con concentraciones crecientes del SAIL  $C_{16}Him-F$ .

La Figura 16 muestra el perfil obtenido en las intensidades de emisión con el aumento de la concentración de SAIL en la solución, para una longitud de onda de emisión de 625,6 nm. El ajuste de los datos según la intersección de rectas antes y después del cambio de la propiedad, rindió un valor de CMC de 0,43 mM. En este sistema también se produce un corrimiento hipsocrómico de la longitud máxima de emisión, estando esto de acuerdo con la disminución de la polaridad del micro-entorno que rodea a la prueba, coincidente con el proceso de micelización.



**Figura 16.** Intensidad de emisión en función de la concentración del C<sub>16</sub>Him-F

Debido al carácter altamente hidrofóbico del NR, el agregado del SAILs anfifílico provoca un marcado aumento de la intensidad de emisión en concordancia con un ambiente más afín a dicha molécula. Concomitante a esto, tiene lugar un corrimiento hipsocrómico de la longitud de onda de emisión en referencia al valor en agua pura, es decir, indicando un microentorno de menor polaridad.

Se presenta a continuación la Tabla 4, la cual resume los resultados de CMC para los SAILs estudiados. Se muestran adicionalmente los valores de CMC obtenidos en trabajos previos mediante medidas de conductividad, metodología que se toma como referencia.

Sistemas micelares	CMC (mM)			
	Conductividad <sup>a</sup>	Py <sup>a</sup>	NR	
		Fluorescencia	Fluorescencia	Absorción
C <sub>10</sub> HIm-F	19,9	23	12,9	15,7
C <sub>12</sub> HIm-F	4,5	5,2	5	5
C <sub>14</sub> HIm-F	1,7	1,8	1,8	1,4
C <sub>16</sub> HIm-F	0,5	0,5	0,43	0,24
C <sub>10</sub> HIm-S	36,4	35,5	35,5	34
C <sub>12</sub> HIm-S	11,5	13,1	8,3	11,8
C <sub>14</sub> HIm-S	4,1	3,3	3,3	3,4
C <sub>16</sub> HIm-S	1,1	1,1	0,92	1,16

**Tabla 4.** Valores de CMC (mM) para los SAILs. **a.** Adam; Fortunato (2019)

Los resultados obtenidos exhiben una concordancia aceptable considerando que la CMC es un rango más que un valor puntual y es altamente dependiente del método empleado para su determinación. Se verifica claramente una disminución de la CMC con la mayor longitud de la cadena alquílica. Además, los valores de CMC para los SAILs-F son menores que para los SAILs-S. La relación entre sus CMCs es de 1.8 y 2.8 veces menor para los SAILs-F lo que indica que se necesita muy baja concentración de SAILs-F para la formación de la micela indicando que este proceso de auto-agregación está más favorecido en este tipo de SAILs. Si comparamos con un surfactante tradicional, como lo es el SDS, para la misma longitud de cadena alquílica, el CF<sub>3</sub>COO<sup>-</sup> exhibe un valor de CMC menor a la del SDS (CMC = 8,2 mM).<sup>117</sup> Por su parte, los valores publicados de CMC de los surfactantes catiónicos C<sub>16</sub>TAB, C<sub>12</sub>TAB y C<sub>10</sub>TAB son 1,1 mM, 14 mM y 60 mM respectivamente.<sup>118</sup>

### 3.1.2. Determinación de la Constante de Asociación

Los datos obtenidos por la aplicación de las técnicas de espectroscopia de absorción UV-Vis y espectroscopia de fluorescencia en la determinación de la CMC fueron utilizados para la determinación de la constante de asociación (K<sub>b</sub>) para el sistema SAILs-NR. Como se explicó en el capítulo 'Metodología' el cálculo de K<sub>b</sub> se llevó a cabo con las siguientes ecuaciones.

Para concentraciones por debajo de la CMC

<sup>117</sup> Das, D., & Ismail, K. (2008). Aggregation and adsorption properties of sodium dodecyl sulfate in water-acetamide mixtures. *Journal of colloid and interface science*, 327(1), 198-203.

<sup>118</sup> Tedeschi, A. M., Franco, L., Ruzzi, M., Paduano, L., Corvaja, C., & D'Errico, G. (2003). Micellar aggregation of alkyltrimethylammonium bromide surfactants studied by electron paramagnetic resonance of an anionic nitroxide. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 5(19), 4204-4209.

$$\frac{1}{A-A_0} = \frac{1}{[SAIL]K_b\Delta A'} + \frac{1}{\Delta A'} \quad \text{Ecuación 10}^{119}$$

A= Absorbancia de la sonda a distintas concentraciones de SAIL

A0= Absorbancia en ausencia de SAIL

Kb= Constante de asociación

[SAIL]= Concentración de SAIL

$\Delta A'$  = Diferencia en las absorbancias de la sonda en ausencia de SAIL y la absorbancia a altas concentraciones de SAIL.

Para concentraciones por debajo de la CMC

$$\frac{[D][S]_0}{(A-A_0)} = \frac{1}{K_b\Delta\epsilon l} + \frac{[D]}{\Delta\epsilon l} \quad \text{Ecuación 11}^{120}$$

Donde [D]=[SAIL]-CMC

*Análisis por espectroscopia UV-Vis de Absorción.*

A partir del estudio de los sistemas micelares con NR, se procedió al cálculo de las correspondientes constantes de asociación a fin de analizar las interacciones SAILs (o micela) con la sonda mencionada. Se calculó el valor de Kb en la zona pre-micelar y micelar de este modo es posible verificar que la interacción entre la sonda y el SAILs como monómero es diferente a la interacción en la zona micelar: sonda y SAILs micelado.

En las Figuras 17 y 18 se muestran las rectas obtenidas en la determinación de Kb empleando NR como indicador para el SAILs C<sub>16</sub>Him-S, en la zona pre-micelar y la zona micelar respectivamente.

<sup>119</sup> Banipal, T. S., Kaur, R., & Banipal, P. K. (2017). Interactions of diazepam with sodium dodecylsulfate and hexadecyl trimethyl ammonium bromide: Conductometric, UV-visible spectroscopy, fluorescence and NMR studies. *Journal of Molecular Liquids*, 236, 331-337.

<sup>120</sup> Ackermann, T., & Connors, K. A. (1987). Binding constants-the measurement of molecular complex stability.

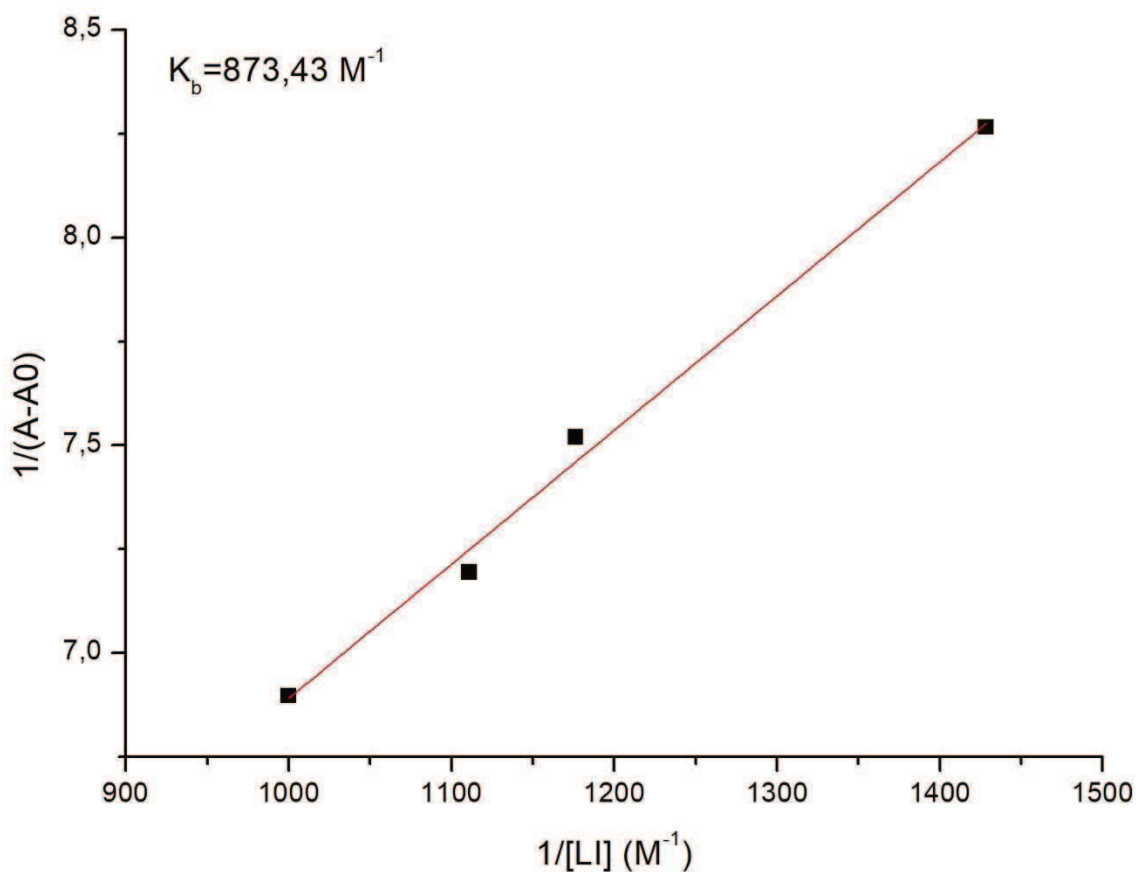


Figura 17. Regresión lineal para el complejo C<sub>16</sub>Him-S-NR en la zona *pre-micelar*

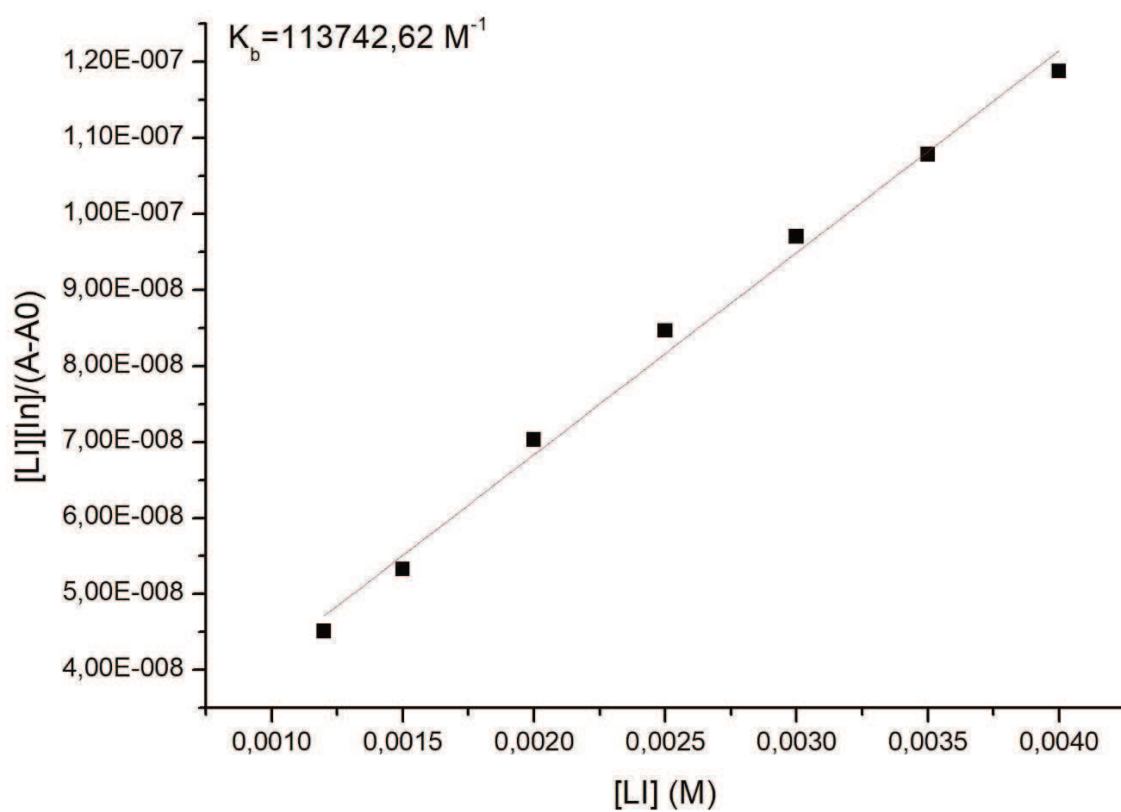
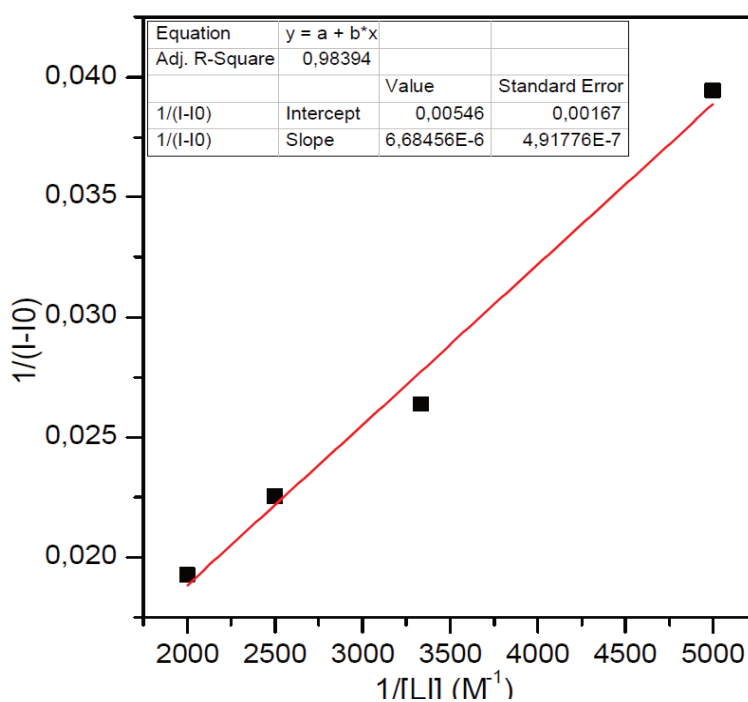


Figura 18. Regresión lineal para el complejo C<sub>16</sub>Him-S-NR en la zona *micelar*

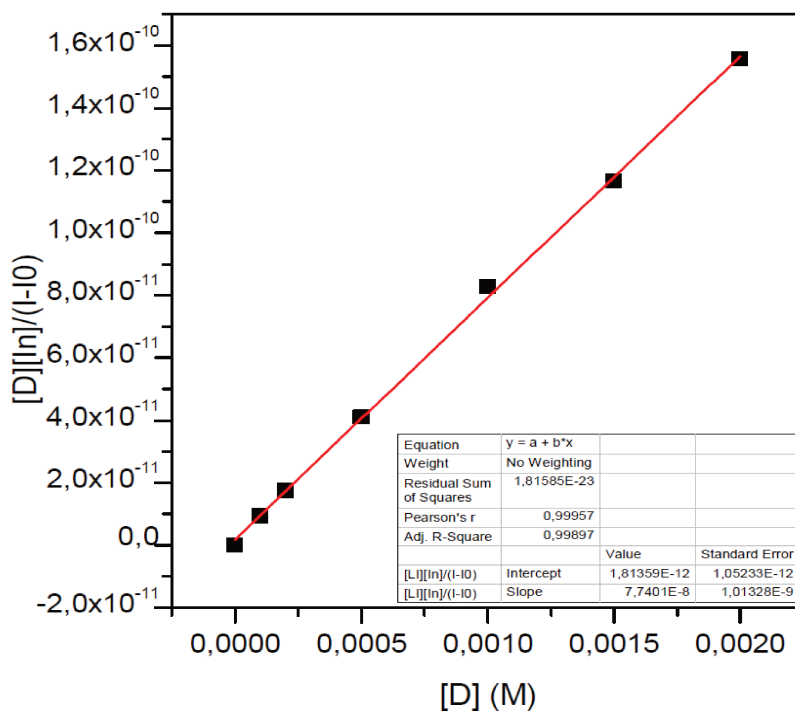
*Análisis por espectroscopia de Fluorescencia Molecular.*

Las Figuras 19 y 20 muestran las curvas obtenidas y el análisis lineal correspondiente a partir del cual se calcularon las constantes de asociación sonda-SAILs en las zonas pre- y micelar respectivamente. Como se explicó anteriormente, en el capítulo de metodología, el soluto es la sonda, el ligando es el SAIL y, además, en la primera parte del análisis, el ligando se comporta como monómero (concentraciones menores a la CMC, zona pre-micelar) y, en la segunda parte como micela (concentraciones mayores a la CMC, zona micelar), por esto la necesidad de evaluar la constante de asociación en cada zona.



**Figura 19.** Regresión lineal para el complejo C<sub>16</sub>Him-S-NR en la zona pre micelar





**Figura 20.** Regresión lineal para el complejo C<sub>16</sub>HIm-S-NR en la zona micelar

En la primera zona, para el C<sub>16</sub>HIm-S-NR el valor de la constante es 816,1 M<sup>-1</sup> y para la zona micelar es 86825,2 M<sup>-1</sup>. Estos resultados ponen en evidencia nuevamente una clara diferencia entre los valores de las constantes de asociación entre ambas zonas, indicando una mayor afinidad del indicador por el SAILs cuando está formando la micela. La Tabla 5 muestra los resultados obtenidos de las interacciones de todos los SAILs tanto en la zona pre-micelar como la micelar.

Sistemas micelares	K <sub>b</sub> (M <sup>-1</sup> )			
	UV-Vis		Fluorescencia molecular	
	Zona pre-micelar (x10 <sup>2</sup> )	Zona micelar (x10 <sup>4</sup> )	Zona pre-micelar (x10 <sup>2</sup> )	Zona micelar (x10 <sup>4</sup> )
C <sub>10</sub> HIm-F	0,3	0,6	0,3	0,7
C <sub>12</sub> HIm-F	6,3	5	4,2	4,7
C <sub>14</sub> HIm-F	7,6	6,1	6,9	5,6
C <sub>16</sub> HIm-F	7,8	8,7	7,7	9,8
C <sub>10</sub> HIm-S	0,04	0,9	0,06	0,9
C <sub>12</sub> HIm-S	3	4,6	2,9	2,8
C <sub>14</sub> HIm-S	3,3	6,6	2,9	6,2
C <sub>16</sub> HIm-S	8,7	11,3	8,2	8,7

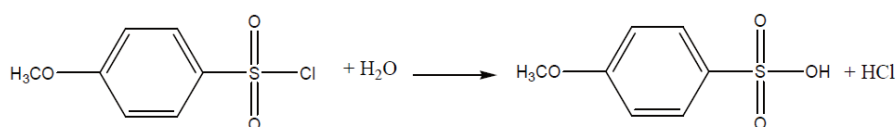
**Tabla 5.** Constantes de asociación para todos los SAILs estudiados a partir de datos de espectroscopia UV-vis y fluorescencia del NR.

Los valores de  $K_b$  calculados por fluorescencia o absorción son del mismo orden observando y en forma general se puede observar que los SAILs estudiados con cadenas hidrocarbonadas más extensas presentan mayores constantes de asociación en ambas zonas. En la zona pre-micelar no se observa un efecto del contraíón importante.

La interacción de la sonda cuando el SAILs está organizado en micela (zona micelar) es más efectiva que cuando el SAILs se encuentra como monómero (zona pre-micelar). Todo indica que el sistema micelar posibilita un medio más hidrofóbico lo que se traduce a una mayor solubilización de las sondas. En cuanto el efecto del cambio de anión no es muy claro dado que los valores calculados por absorbancia indicarían una interacción más efectiva de los SAILs-F excepto para  $C_{16}$ Him-S donde el valor de  $K_b$  es 1.5 veces mayor, pero para los  $K_b$  calculados por fluorescencia esta tendencia ya no es tan marcada.

### 3.2. Aplicación como medios para el desarrollo de reacciones orgánicas.

Como reacción modelo se estudió la hidrólisis de cloruro de p-metoxibencensulfonilo (CMBS) en los sistemas micelares.



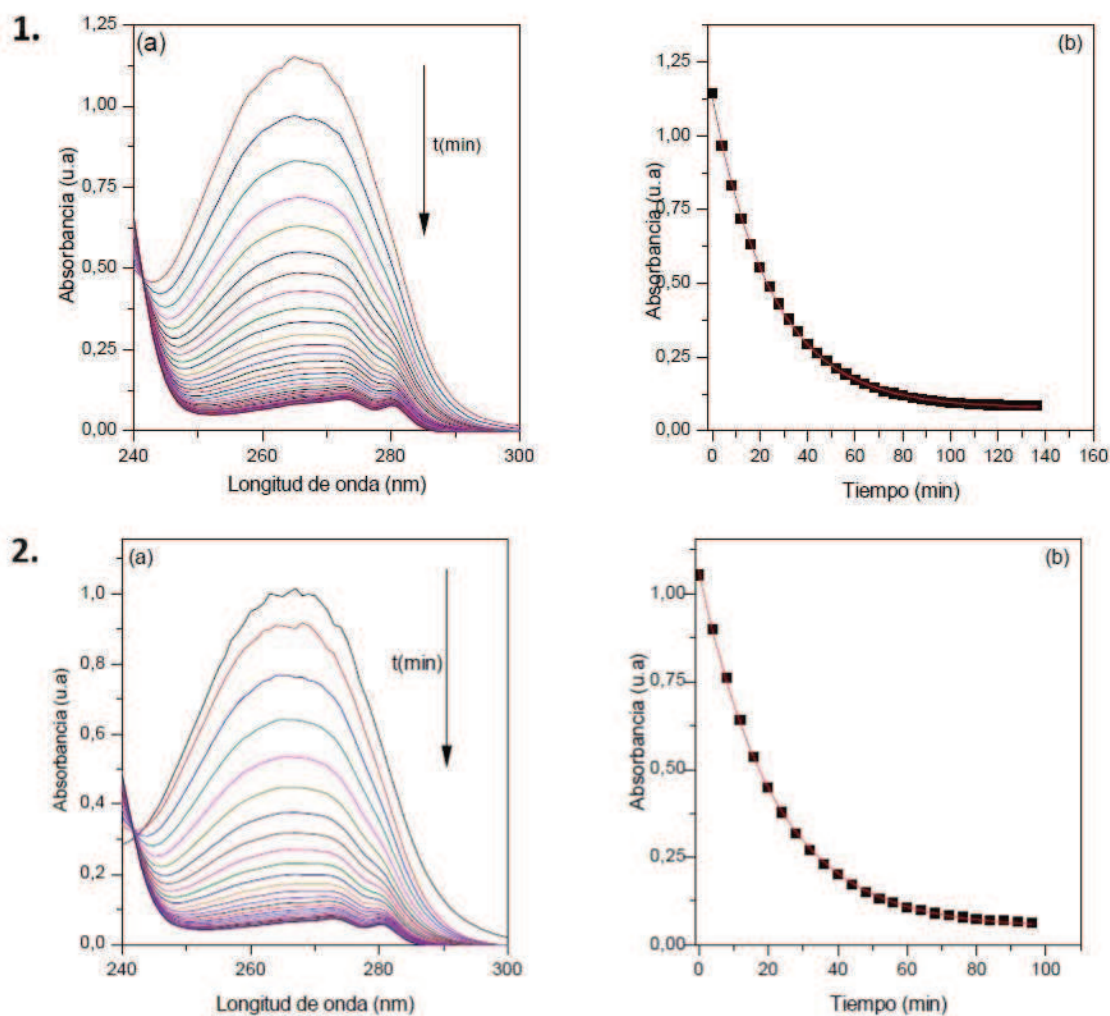
**Esquema 13**

En el capítulo 'Metodología' se explica el modo en que se realiza tanto la parte experimental, es decir, la técnica aplicada y el modelo de cálculo de las constantes cinéticas.

Los estudios cinéticos se realizaron con todos los SAILs estudiados  $C_n$ Him-F y  $C_n$ Him-S ( $n=10,12,14$  y  $16$ ) a  $25^\circ\text{C}$ . Se prepararon soluciones acuosas de SAILs variando la concentración del mismo de menores a mayores valores que los correspondientes valores de CMC.

Los resultados obtenidos para cada una de las condiciones de reacción empleadas y análisis de la conducta del SAILs en relación al sistema reactivo en estudio se presentan a continuación.

En la Figura 21 se muestra, a modo de ejemplo, los resultados obtenidos para el sistema ( $\text{H}_2\text{O} + C_{16}$ Him-S) para una concentración de SAILs igual a 3 mM.



**Figura 21.** 1. a) Espectros correspondientes a la hidrólisis del CMBS en el sistema ( $\text{H}_2\text{O} + \text{C}_{16}\text{HIm-S}$  para una concentración de SAILs de 3mM, b) Gráfico de Abs vs tiempo para una concentración de SAILs de 3mM y el ajuste con la ecuación 20 (cinética de pseudoprimer orden) correspondiente. 2. a) Espectros correspondientes a la hidrólisis del CMBS en el sistema ( $\text{H}_2\text{O} + \text{C}_{16}\text{HIm-F}$  para una concentración de SAILs igual a 1,2 mM. b) Ajuste de la ecuación 20, con Cinética de pseudoprimer orden.

En la Figura 21 se muestran los resultados obtenidos para para el sistema ( $\text{H}_2\text{O} + \text{C}_{16}\text{HIm-F}$ ) para una concentración de SAILs igual a 1,2 mM. El tratamiento matemático de la curva obtenida en el apartado (b) de la Figuras 21 permitió obtener los valores de  $k_{obs}$ , según la Ecuación 20:

$$Abs_t = Abs_{\infty} + (Abs_0 - Abs_{\infty})e^{-k_{obs}t} \quad \text{Ecuación 20}$$

Las Figuras 22 y 23 muestran los gráficos correspondientes a los valores de  $k_{obs}$  vs concentración SAILs para el contraión S y F respectivamente.

Los resultados indican la inhibición de la velocidad de reacción con respecto a la reacción en agua. El valor de la constante cinética observada en agua fue ( $k_{obs}^W$ ) =  $6,1 \times 10^{-3} s^{-1}$  coincidente con el valor bibliográfico.<sup>121</sup>

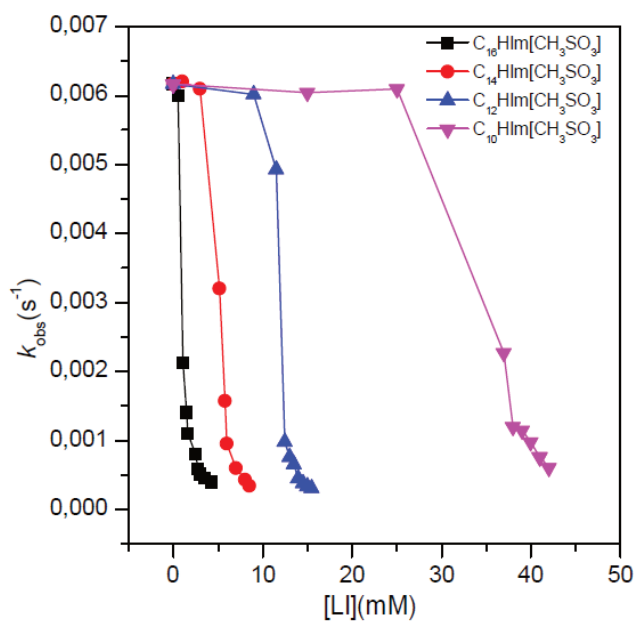
Se observa una dependencia de la velocidad de reacción con los diferentes rangos de concentración de SAILs exploradas. Cuando el surfactante se encuentra en forma monomérica (concentración de SAIL < CMC), en la zona pre micelar, el sustrato se hidroliza a la misma velocidad que en ausencia de surfactante ( $k_{obs}$  similar al agua) esto indicaría que no hay una asociación importante entre el SAILs y el sustrato.

A concentraciones de SAILs mayores a la CMC, (Concentración de SAIL > CMC), en la zona micelar, se observa valores de  $k_{obs}$  bajos hasta la inhibición de la hidrólisis. Esto se interpreta debido a que el SAILs forma agregados micelares en cuyo interior hidrofóbico tienden a situarse las moléculas del sustrato debido a su carácter no polar. En este ambiente la velocidad de hidrólisis es menor debido a la baja disponibilidad de moléculas de agua en el interior micelar, hecho que se traduce en valores de  $k_{obs}$  más bajos. Por ejemplo, para  $C_{16}Him-S$  la  $k_{obs}$  disminuye 10 veces a concentraciones por encima de la CMC. Este efecto se vio reflejado, en mayor o menor medida, con los otros SAILs analizados. Los valores experimentales de  $k_{obs}$  obtenidos a las concentraciones analizados para todos los SAILs aquí estudiados se presentan en una tabla en el anexo (tabla 13).

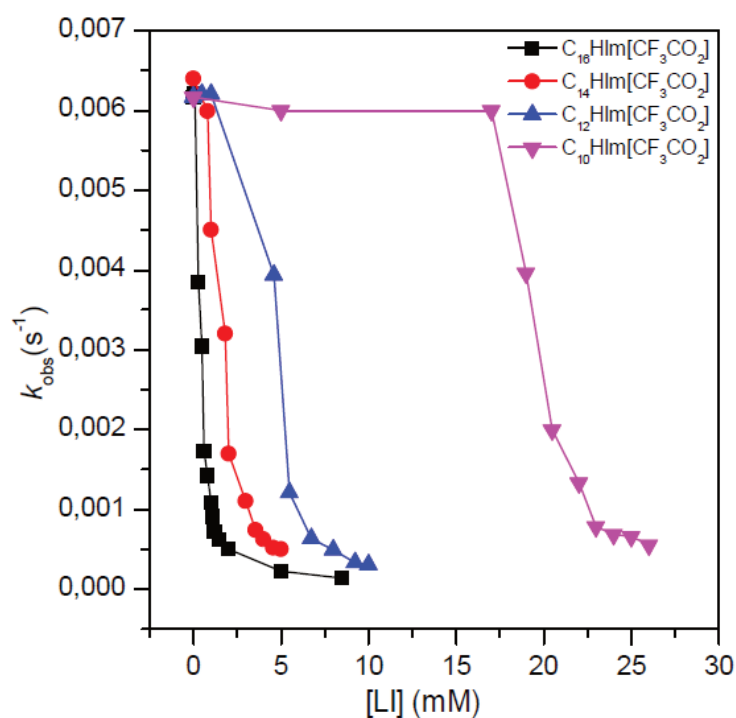
Para ambos sets de SAILs se observan tendencias similares, una disminución de  $k_{obs}$  con el aumento de la concentración de SAILs. En general, a medida que aumenta la longitud de la cadena alquílica en el SAILs, se produce mayor inhibición de la reacción de hidrólisis. Siendo los sistemas micelares  $C_{16}Him-F$  y  $C_{16}Him-S$  los que exhiben una mayor inhibición en la velocidad de reacción.

---

<sup>121</sup> L. García Río, M. Mendez, M. Paleo and F. Sardina. The Journal of Physical Chemistry. 111, 2007, 12756-12764.



**Figura 22.** Valores de  $k_{obs}$  en función de la concentración de SAILs para la hidrólisis del CMBS en los sistemas micelares del tipo  $HC_nim-S$



**Figura 23.** Valores de  $k_{obs}$  en función de la concentración de SAILs para la hidrólisis del CMBS en los sistemas micelares del tipo  $C_nHim-F$

### 3.2.1. Aplicación del Modelo de Pseudofases en los Sistemas Micelares.

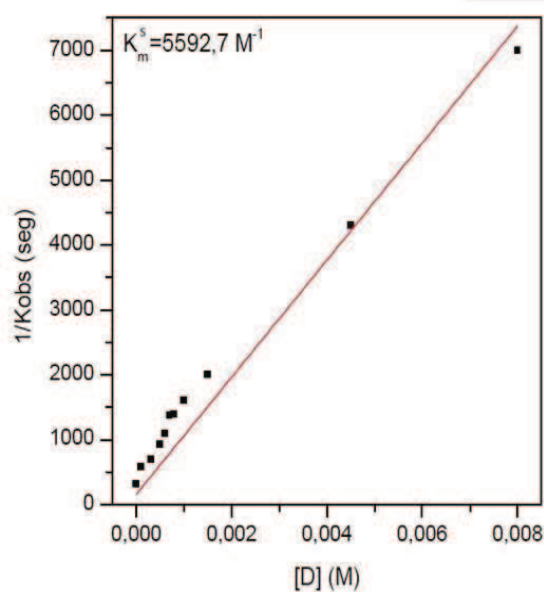
En los sistemas micro-heterogéneos empleados como medios de reacción, es necesario considerar los equilibrios de distribución que experimentan los reactivos y/o sustratos y los procesos cinéticos que ocurren en las diferentes pseudofases que componen el sistema.

En este sentido, se aplicó el modelo de pseudofases para estudiar la reacción de hidrólisis del sustrato CMBS en la fase micelar de los sistemas acuosos de los SAILs en estudio. En el capítulo correspondiente a 'Metodología' se analiza este modelo.

Todos los SAILs aquí explorados presentaron un comportamiento similar. Debido a esto seleccionamos como modelo para el desarrollo y análisis al SAILs C<sub>16</sub>Him-F, y el comportamiento del resto de los SAILs, así como el resto de las gráficas utilizadas para la determinación de las constantes de micelación ( $K_m^s$ ), se presentan en el anexo. La Figura 24 presenta la tendencia obtenida al graficar  $1/k_{obs}$  vs  $[D_n]$  (concentración de surfactante micelado) para el sistema micelar seleccionado, que responde a la Ecuación 24:

$$\frac{1}{k_{obs}} = \frac{1}{k_w} + \frac{K_m^s}{k_w} [D_n] \quad \text{Ecuación 24}$$

En el gráfico puede observarse el aumento lineal de  $1/k_{obs}$  a medida que se incrementa la concentración de surfactante en el sistema.



**Figura 24.** Variación de  $1/k_{obs}$  en función de la concentración de surfactante micelado  $[D_n]$  en el sistema micelar con C<sub>16</sub>Him-F.

En la Tabla 6 se presentan los valores de  $k_w/k_{obs}$  y las constantes  $K_m^s$  obtenidas a través del ajuste lineal de la Ecuación 24, adicionalmente y a modo comparativos se presentan los valores correspondientes a otros SAILs del tipo dialquilimidazólicos (1-alkil-3-metilimidazolium) con contraion bromuro (C<sub>n</sub>mim[Br]).

Sistema micelar	$K_s^m (\times 10^{-2})$	$k_w/k_{obs} (max)$	R
C <sub>10</sub> HIm-F	14,7	10	0,992
C <sub>12</sub> HIm-F	36,1	10,3	0,998
C <sub>14</sub> HIm-F	37,4	12,2	0,991
C <sub>16</sub> HIm-F	58	43,6	0,983
C <sub>10</sub> HIm-S	16,1	5,5	0,988
C <sub>12</sub> HIm-S	49,4	10	0,997
C <sub>14</sub> HIm-S	51,4	18	0,994
C <sub>16</sub> HIm-S	52,1	15,6	0,986
C <sub>8</sub> mim-Br	0,3a		
C <sub>10</sub> mim-Br	1,1a		
C <sub>12</sub> mim-Br	13,7a		

**Tabla 6.** Parámetros obtenidos del ajuste de datos experimentales a la ecuación 24 para la reacción de hidrólisis del CMBS en los sistemas micelares estudiados. a) Ref. <sup>122</sup>

Se puede observar que los valores de  $k_w/k_{obs}(max)$  indican una disminución de velocidad de la hidrólisis de CMBS en presencia de los SAILs, lo que estaría indicando que el sustrato se ubica preferentemente en la fase micelar donde la concentración de agua es baja.

Del análisis de los valores obtenidos de  $K_m^s$ , si se compara los SAILs-F respecto a los SAILs-S, se observa una mayor tendencia de asociación del sustrato en los SAILs-S excepto para catión HC<sub>16</sub>Im, donde claramente esto se invierte a una mayor presencia del sustrato en la fase micelar para el sistema formado por HC<sub>16</sub>im-F con respecto a sus homólogos SAILs-S. Esto estaría en concordancia con la disminución de la polaridad de la micela observada previamente lo que favorece la solubilización del sustrato (incluso en lo observado con el cálculo de  $K_b$ ). Todo lo cual lleva finalmente a una inhibición de la reacción modelo en la fase micelar con respecto a la fase acuosa confirmando que el sustrato se encuentra en un ambiente no polar con un contenido de agua casi nulo, la cual es necesaria para que la reacción de hidrólisis se lleve a cabo.

Comparando los valores de  $K_m^s$  con otros SAILs también trabajados en el grupo y donde también se observó inhibición en esta reacción modelo, se puede concluir que, en todos los casos, los SAILs estudiados en este trabajo exhiben mayores constantes de distribución, indicando mayor preferencia por la pseudofase micelar en comparación a los surfactantes mencionados previamente.

<sup>122</sup> Adam, C. G., Bravo, M. V., & Granados, A. M. (2017). Anion influence on aggregation behavior of imidazolium-based ionic liquid in aqueous solutions: effect on diverse chemical processes. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 56(5), 1214-1222.

### 3.3. Estudio de líquidos iónicos anfífilos del tipo n-alquilimidazólicos por voltametría cíclica

En trabajos previos del grupo <sup>123,124,125</sup> se ha demostrado la presencia de ácidos y bases libres en equilibrio con pares iónicos (muchas veces considerados reactivos remanentes de la síntesis de estos líquidos) aplicando la técnica de voltametría cíclica (VC). Particularmente, en líquidos iónicos próticos (PILs) derivados de alquilamonio con contraiones nitrato o acetato <sup>7</sup>, y en SAILs imidazólicos funcionalizados con grupos SO<sub>3</sub>H y con contraiones bisulfato <sup>8</sup> y cloruro <sup>9</sup>, quedó en evidencia que estas ‘posibles impurezas’ no son tales, sino que, por el contrario, son especies presentes por el equilibrio de autoprotólisis que se plantea entre el par iónico y sus precursores. Más aun, el comportamiento reactivo de estos PILs está fuertemente afectada por la presencia de estas especies libres <sup>7,8,9</sup>.

Así, teniendo en cuenta que la síntesis de los SAILs estudiados en esta Tesis involucra una última etapa de neutralización del 1-alquilimidazol, ya sea con ácido metano-sulfónico (CH<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>H) o con ácido trifluoroacético (CF<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>H), se consideró importante evaluar por VC la posible presencia de ácido libre presente en el SAILs fundido tanto por el equilibrio espontáneo de autoprotólisis o porque haya quedado remanente de la síntesis.

#### 3.3.1. VC de C<sub>10</sub>Him-F y C<sub>10</sub>Him-S

La Figura 25 muestra los voltagramas de C<sub>10</sub>Him-F (Fig. 26-a) y de C<sub>10</sub>Him-S (Fig. 26-b). En ambos SAILs se observan dos descargas catódicas que a priori podrían tratarse de la descarga de hidrógeno desde el ácido libre o desde los átomos de hidrógeno del grupo imidazólico.<sup>8</sup> Sin embargo, el agregado del precursor C<sub>10</sub>im puro sólo causó ligeros aumentos en una de las descargas, la más catódica. De ahí que es muy probable que la primera descarga (menos catódica, potenciales menores a -0,8 V en C<sub>10</sub>Him-F y a -0,5 V en C<sub>10</sub>Him-S) corresponda a la reducción del catión imidazolio del par iónico, más precisamente el átomo de H del grupo N-3 imidazólico. Por otra parte, la segunda descarga (más catódica, potenciales menores a -1,9 V en C<sub>10</sub>Him -F y a -2,0 V en C<sub>10</sub>Him -S) se debería a la reducción del átomo de H del C-2 imidazólico

---

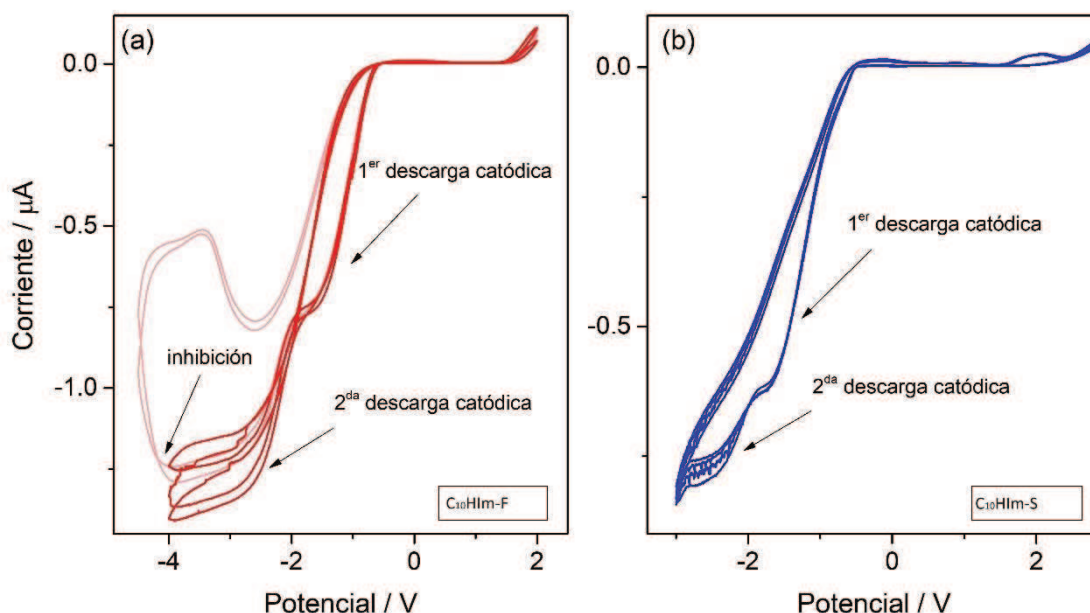
<sup>123</sup> “Understanding the role of protic ionic liquids (PILs) in reactive systems: Rational selection of PILs for the design of green synthesis strategies for allylic amines and β-amino esters”, M.V. Bravo, J.L. Fernández, C.G. Adam, C.D. Della Rosa, *ChemPlusChem* 84 (2019) 919-926.

<sup>124</sup> “Insights on the catalytic behaviour of sulfonic acid-functionalized ionic liquids (ILs) in transesterification reactions – Voltammetric characterization of sulfonic task-specific ILs with bisulfate anions”, M.B. Martini, J.L. Fernández, C.G. Adam, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 23 (2021) 2731-2741.

<sup>125</sup> “Significant effects of the anion on the catalytic behaviour of sulfonic acid-functionalized ionic liquids in transesterification reactions – A combined electrochemical/catalytic study”, M.B. Martini, C.G. Adam, J.L. Fernández, *Mol. Catal.* 513 (2021) 111821.



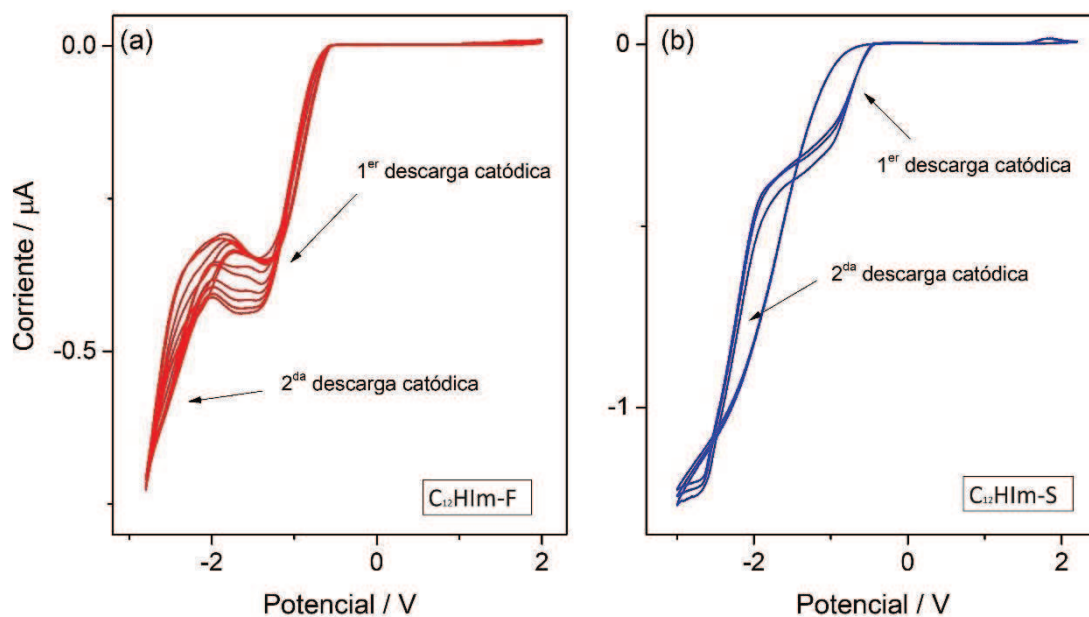
(tanto del catión imidazolio del par iónico como del imidazol agregado). A potenciales menores a -4,0 V se verifica la inhibición del electrodo por ensuciamiento con algún producto de la electro-reducción del SAILs. Estos resultados indican que al fundir estos SAILs con catión [C<sub>10</sub>HIm], independientemente del anión, la especie mayoritaria es el par iónico.



**Figura 25.** Voltagramas cíclicos de un microelectrodo disco de Pt (25  $\mu\text{m}$  de diámetro) en C<sub>10</sub>HIm-F (a) y en C<sub>10</sub>HIm-S (b). Velocidad de barrido: 0,1 V s<sup>-1</sup>.

### 3.3.2. VC de C<sub>12</sub>Him-F y C<sub>12</sub>Him-S

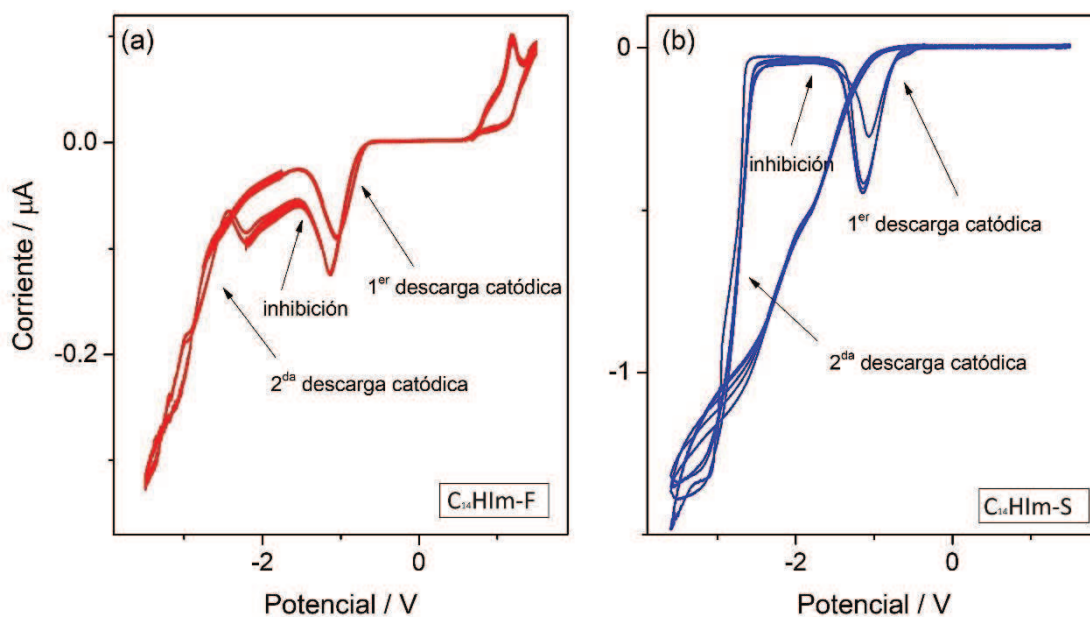
La Figura 26 muestra los voltagramas de C<sub>12</sub>Him-F (Fig. 27-a) y de C<sub>12</sub>Him-S (Fig. 27-b)). Similarmente a lo observado en los SAILs con cationes [C<sub>10</sub>Him] aquí también en ambos SAILs se observan dos descargas catódicas que se ven poco afectadas por el agregado del precursor C<sub>12</sub>im puro. Así, la primera descarga (a potenciales menores a -0,6 V en C<sub>12</sub>Him-F y a -0,5 V en C<sub>12</sub>Him-S corresponde a la reducción del catión imidazolio del par iónico, más precisamente el átomo de H del grupo N-3 imidazólico, mientras que la segunda descarga (a potenciales menores a -2 V en ambos) se debería a la reducción del H del C-2 imidazólico. A diferencia de los casos anteriores, aquí se verifica inhibición parcial de la primera descarga ya a potenciales menores a -1,5 V (evidenciada por una leve caída de la corriente, particularmente en C<sub>12</sub>Him-F). La insensibilidad de los voltagramas al agregado de C<sub>12</sub>im es un indicativo que el SAILs fundido está conformado mayormente por el par iónico.



**Figura 26.** Voltagramas cíclicos de un microelectrodo disco de Pt ( $25\ \mu\text{m}$  de diámetro) en  $\text{C}_{12}\text{Him-F}$  (a) y en  $\text{C}_{12}\text{Him-S}$  (b). Velocidad de barrido:  $0,1\ \text{V s}^{-1}$ .

### 3.3.3. VC de $\text{C}_{14}\text{Him-F}$ y $\text{C}_{14}\text{Him-S}$

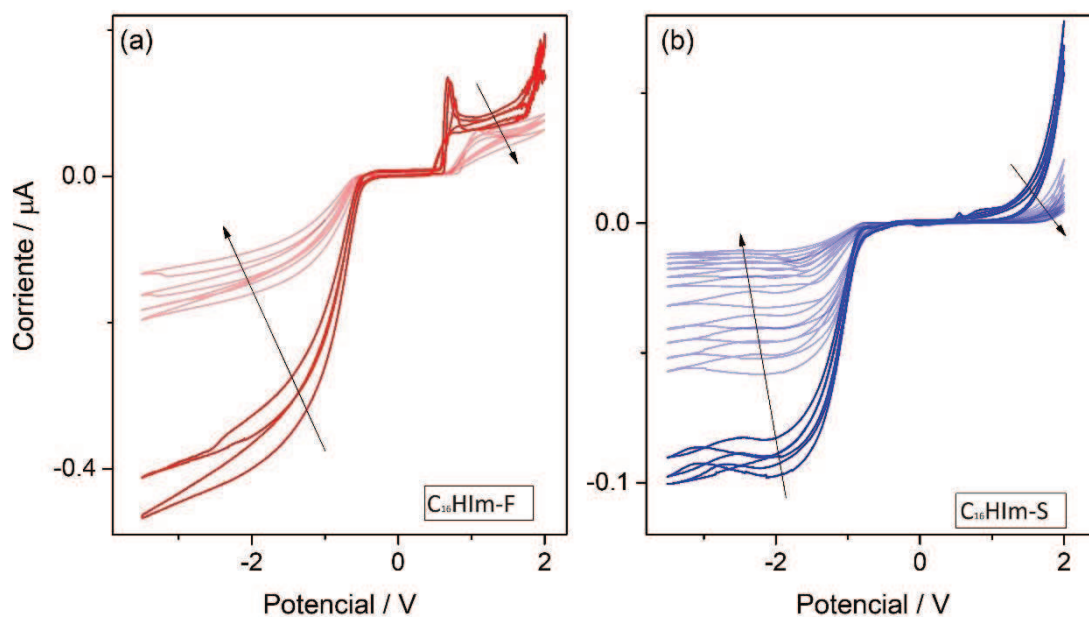
La Figura 27 muestra los voltagramas de  $\text{C}_{14}\text{Him-F}$  (Fig. 28-a) y de  $\text{C}_{14}\text{Him-S}$  (Fig. 28-b), registrados a  $T = 105^\circ\text{C}$ . En estos casos se detecta una primera descarga catódica a  $-0,6\ \text{V}$  en  $\text{C}_{12}\text{Him-F}$  y a  $-0,5\ \text{V}$  en  $\text{C}_{12}\text{Him-S}$ , por la reducción del H del grupo N-3 imidazólico, que rápidamente se ve fuertemente inhibida ya a potenciales por debajo de  $-1,2\ \text{V}$ . A potenciales menores a  $-2,4\ \text{V}$  en ambos medios se detecta la segunda descarga por la reducción del átomo de H del C-2 imidazólico. En concordancia con los SAILs anteriores, la insensibilidad de los voltagramas al agregado de  $\text{C}_{14}\text{im}$  es un indicativo que este SAILs fundido también está conformado mayormente por el par iónico. A diferencia de los casos anteriores, aquí claramente la inhibición es mucho más fuerte y afecta la respuesta del electrodo ya a potenciales no tan catódicos. También se detecta un proceso de oxidación, probablemente del catión imidazólico, a potenciales mayores a  $0,6\ \text{V}$ . Estos procesos de inhibición catódica y de reducción están más exacerbados que en los SAILs analizados previamente, lo cual puede deberse a la mayor temperatura de análisis necesaria para fundir este SAILs.



**Figura 27.** Voltagramas cíclicos de un microelectrodo disco de Pt (25  $\mu\text{m}$  de diámetro) en  $\text{C}_{14}\text{Him-F}$  (a) y en  $\text{C}_{14}\text{Him-S}$  (b). Velocidad de barrido:  $0,1 \text{ V s}^{-1}$ .

#### 3.3.4. VC de $\text{C}_{16}\text{Him-F}$ y $\text{C}_{16}\text{Him-S}$

La Figura 28 muestra los voltagramas de  $\text{C}_{16}\text{Him-F}$  (Fig. 29-a) y de  $\text{C}_{16}\text{Him-S}$  (Fig. 29-b). En ambos casos a potenciales menores  $-0,6 \text{ V}$  se detectó un incremento de corriente, que a priori sería la reducción del átomo de H del N-3 imidazólico, pero la corriente de este proceso disminuyó en los sucesivos ciclos. Esto indica que el electrodo fue paulatinamente inhibido, lo cual fue confirmado mediante observación por microscopía óptica, donde pudo verificarse la formación de un depósito. Del mismo modo que en el SAIL  $\text{C}_{14}\text{Him-F}$  previamente analizado, también se detecta un proceso de oxidación a potenciales mayores a  $0,6 \text{ V}$ . Claramente en estos dos casos la inhibición del electrodo impide mediante los resultados de VC tener una visión más o menos fidedigna de las especies presentes en el SAIL.



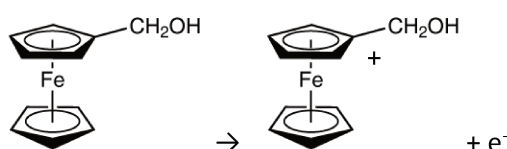
**Figura 28.** Voltagramas cíclicos de un microelectrodo disco de Pt (25  $\mu\text{m}$  de diámetro) en C<sub>16</sub>Him-F (a) y en C<sub>16</sub>Him-S (b). Velocidad de barrido: 0,1 V s<sup>-1</sup>.

Los resultados de estos estudios permiten arribar a ciertas conclusiones preliminares sobre la potencialidad de la técnica de voltametría cíclica para caracterizar las especies presentes en este tipo de SAILs. Al respecto, resulta evidente que la interacción del electrodo con estos SAILs (independientemente del anión) es muy compleja e involucra etapas de adsorción y/o electroadsorción, más intensas en los SAILs de cadena alquílica más larga, lo cual dificulta la interpretación de los voltagramas. A pesar de ello, en los SAILs fundidos con cationes C<sub>10</sub>Him y C<sub>12</sub>Him se pudo determinar la ausencia de precursores libres, es decir comprobar que los mismos están conformados mayormente por el par iónico.

#### 3.4. Estudio de la reacción de oxidación de ferroceno metanol en presencia de líquidos iónicos anfífilicos del tipo *n*-alquilimidazólicos

Como se vio en la sección anterior, la técnica de voltametría cíclica resultó ser muy útil para caracterizar los SAILs puros fundidos, particularmente en lo que respecta al grado de disociación ácido-base (o a su equilibrio de autoprotólisis). En consonancia con ello, se pensó que esta técnica también podría ser útil para brindar información sobre la conducta de estos SAILs en solución acuosa mediante la medición de parámetros electroquímicos potencialmente sensibles a los fenómenos de formación de micelas y de encapsulamiento de sustancias por las mismas. Surgió así la idea de evaluar la posibilidad de usar voltametría cíclica para estudiar la conducta

micelar de estos SAILs en medios acuosos, apuntando a determinar parámetros característicos de este fenómeno, como concentración micelar crítica (CMC), coeficiente de difusión micelar, radio hidrodinámico, número de agregación, entre otros. Varias técnicas electroquímicas, incluyendo la voltametría de barrido,<sup>126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133</sup> han sido empleadas para determinar este tipo de parámetros en surfactantes convencionales, mediante el uso de una sustancia sonda que sufre una reacción de electrodo, cuyo encapsulamiento en las micelas está favorecido. La hipótesis que se cumple en estos estudios es que, si la sustancia interacciona con las micelas, por ejemplo, porque estas encapsulan a la sustancia sonda, su respuesta voltamétrica se ve afectada ya sea en cuanto a los valores de potencial de media onda y/o de corriente de pico o de corriente límite, según cual sea la configuración de electrodo. En este contexto, se eligió al ferroceno metanol (FcMeOH) como molécula sonda, debido a su afinidad hacia los medios orgánicos y a que su electro-oxidación a catión ferrocenio metanol dada por la Ecuación 25 puede considerarse reversible en cualquier material de electrodo conductor, sea macro- o micro-electrodo.



Ecuación 25

Como se indicó en el capítulo Metodología, la reacción se analizó tanto sobre un macroelectrodo de Pt (0,008 cm<sup>2</sup>) como sobre un microelectrodo disco de 25 μm de diámetro, en soluciones de FcMeOH 1 mM - KCl 0,1 M con concentraciones variables de los SAILs C<sub>12</sub>Him-F y C<sub>12</sub>Him-S. Los resultados se resumen a continuación.

<sup>126</sup> "Determination of the critical micelle concentration of surfactants and the partition coefficient of an electrochemical probe by using cyclic voltammetry", A.B. Mandal, B.U. Nair, D. Ramaswamy, *Langmuir* 4 (1988) 736-739.

<sup>127</sup> "Cyclic voltammetric technique for the determination of the critical micelle concentration of surfactants, self-diffusion coefficient of micelles, and partition coefficient of an electrochemical probe", A.B. Mandal, B.U. Nair, *J. Phys. Chem.* 95 (1991) 9008-9013.

<sup>128</sup> "Voltammetric measurement of intermicellar interaction parameters; correlation with predicted interaction energies", I.D. Charlton, A.P. Doherty, *Langmuir* 15 (1999) 5251-5256.

<sup>129</sup> "Voltammetry as a tool for monitoring micellar structural evolution?", I.D. Charlton, A.P. Doherty, *Anal. Chem.* 72 (2000) 687-695.

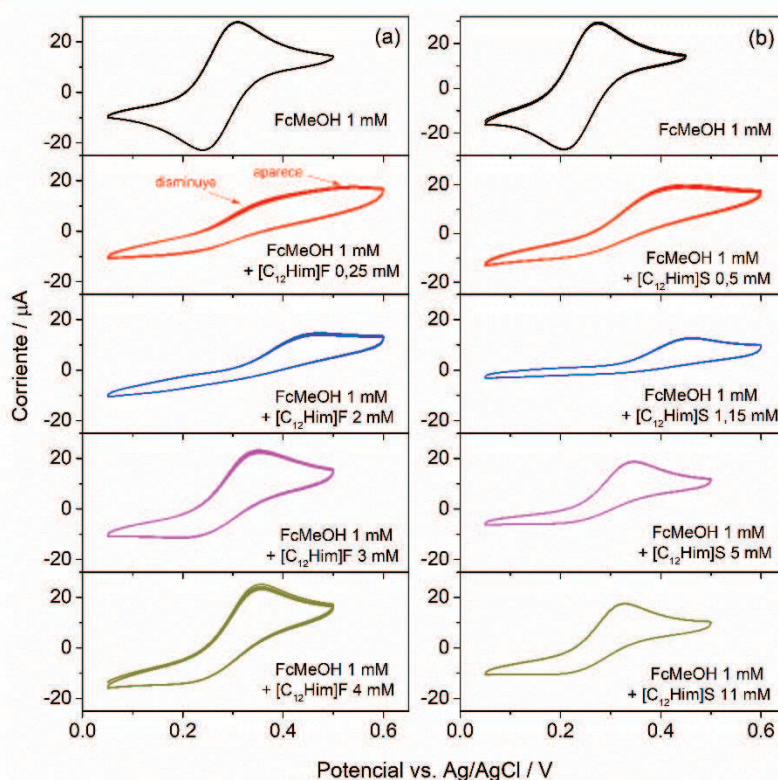
<sup>130</sup> "Simultaneous observation of attractive interaction, depletion forces, and sticky encounters between AOT reverse micelles in isooctane using microelectrode voltammetry", I.D. Charlton, A.P. Doherty, *J. Phys. Chem. B* 104 (2000) 8061-8067.

<sup>131</sup> "Ultramicroelectrode voltammetric investigation of intermicellar interaction and micellar growth of sodium dodecyl sulfate in aqueous NaCl solutions", Z. Yang, Y. Lu, J. Zhao, Q. Gong, X. Yin, Z. Yang, *J. Phys. Chem. B* 108 (2004) 7523-7527.

<sup>132</sup> "Electrochemistry in AOT reverse micelles. A powerful technique to characterize organized media", P.G. Molina, J.J. Silber, N.M. Correa, L. Sereno, *J. Phys. Chem. C* 111 (2007) 4269-4276.

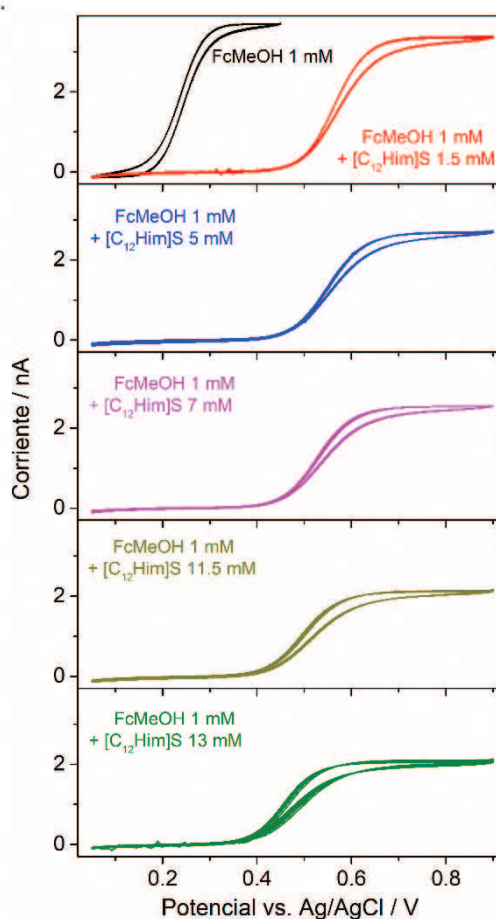
<sup>133</sup> "Application of microelectrode voltammetry to study the properties of surfactant solutions: alkyltrimethylammonium bromides", T.L. Ferreira, B.M. Sato, O.A. El Seoud, M. Bertotti, *J. Phys. Chem. B* 114 (2010) 857-862.

Por una parte, la Figura 29 muestra voltagramas cíclicos (CVs) de un macroelectrodo de Pt en las soluciones conteniendo cantidades variables de los SAILs  $C_{12}$ Him-F (a) y  $C_{12}$ Him-S (b). Los CVs en solución sin SAIL muestran la respuesta típica de una reacción reversible con potencial de pico de oxidación de  $0,29 \pm 0,01$  V vs. Ag/AgCl. Sin embargo, cuando la solución ya contiene pequeñas cantidades de SAIL se insinúa la aparición de un pico de oxidación corrido aproximadamente 0,25 V hacia valores más anódicos, en detrimento del pico de oxidación reversible. A mayor contenido de SAIL (hasta aproximadamente 2 mM) el pico reversible desaparece totalmente evidenciándose sólo el proceso más lento que se produce a potenciales más anódicos. Es decir, el agregado de SAIL ya en muy pequeñas cantidades (muy por debajo de la CMC) causó que la reacción se haga prácticamente irreversible con un potencial de pico significativamente mayor y con menores corrientes de pico. No obstante, también se observa que al aumentar la concentración de SAIL por arriba de 2 mM, nuevamente se verifica un cambio en los CVs con un nuevo corrimiento del pico de oxidación, pero esta vez de aproximadamente 0,2 V hacia valores catódicos (manteniendo la irreversibilidad de la reacción). Esta respuesta se mantuvo con cambios muy leves aun al aumentar casi un orden de magnitud la concentración del SAIL.

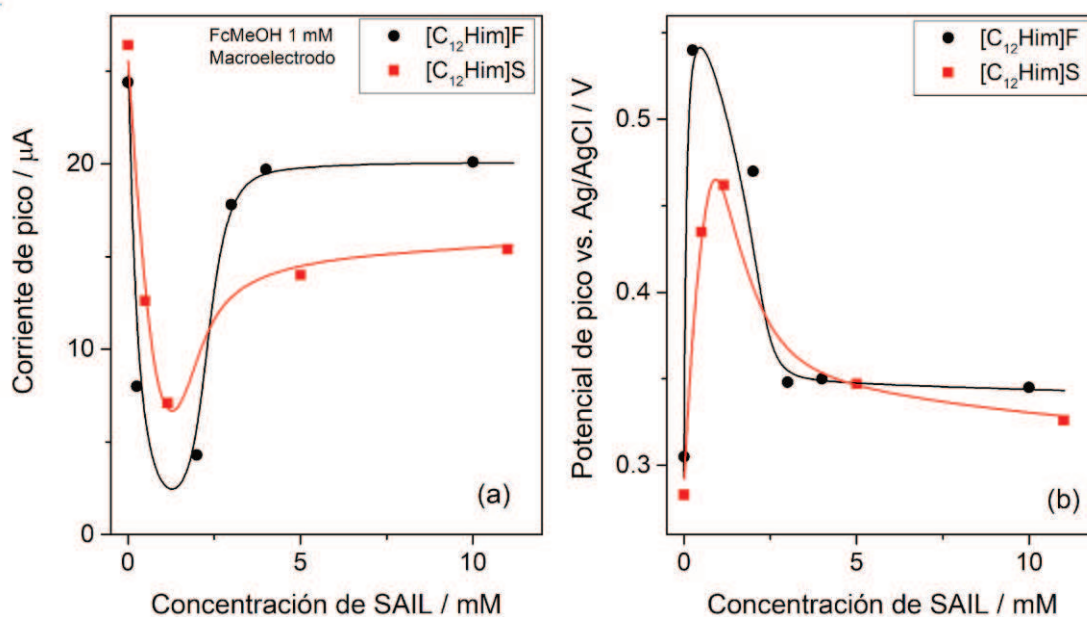


**Figura 29.** CVs de un macroelectrodo de Pt ( $A_g = 0,008$  cm<sup>2</sup>) en FcMeOH 1 mM con KCl 0,1 M y diferentes concentraciones de  $C_{12}$ Him-F (a) y de  $C_{12}$ Him-S (b). Velocidad de barrido: 0,1 V s<sup>-1</sup>.

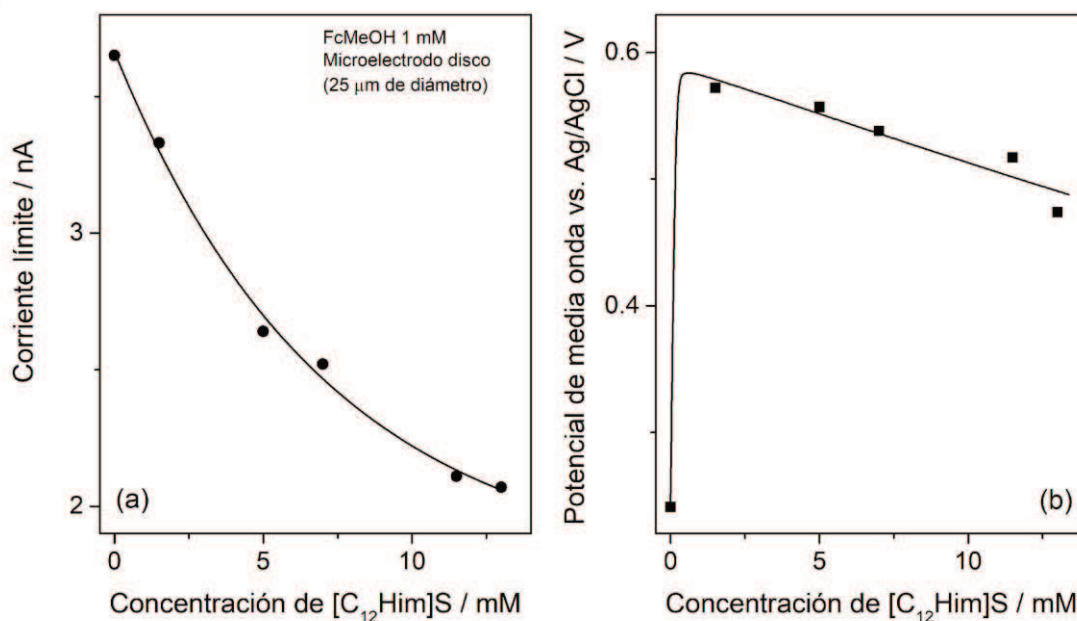
Por otra parte, en la Figura 30 se muestran los resultados de hacer mediciones similares a las descritas, pero utilizando un microelectrodo de Pt. Puede verse que en estos casos se midieron respuestas y corrientes límites estacionarias en lugar de corrientes de pico, lo cual se debe a la difusión radial establecida sobre los microelectrodos. En general se verificó la misma tendencia en la respuesta, es decir un CV típico de una reacción reversible en solución sin SAIL, y un abrupto corrimiento del proceso hacia potenciales más anódicos ante mínimos agregados de SAIL, concomitante con una disminución del valor de corriente límite. Los corrimientos observados en ambos tipos de electrodos se perciben mejor en las Figuras 31 (macroelectrodo) y 32 (microelectrodo). Estas figuras muestran por una parte la corriente y el potencial de pico en función de la concentración de SAIL para ambos casos analizados sobre el macroelectrodo (Figura 31), y el corriente límite y el potencial de media onda en función de la concentración del SAIL analizado sobre el microelectrodo (Figura 32).



**Figura 30.** CVs de un microelectrodo de Pt (25  $\mu\text{m}$  de diámetro) en FcMeOH 1 mM con KCl 0,1 M y diferentes concentraciones de C<sub>12</sub>Him-S. Velocidad de barrido: 0,1 V s<sup>-1</sup>.



**Figura 31.** Corrientes (a) y potenciales (b) del pico voltamétrico de oxidación de FcMeOH medidos de los CVs mostrados en la Figura 30 obtenidos sobre un macroelectrodo de Pt ( $A_g = 0,008 \text{ cm}^2$ ) en solución de FcMeOH 1 mM – KCl 0,1 M con diferentes concentraciones de SAIL agregado (C<sub>12</sub>Him-F y C<sub>12</sub>Him-S).



**Figura 32.** Corrientes límites (a) y potenciales de media onda (b) del proceso de electro-oxidación de FcMeOH medidos a partir de los CVs mostrados en la Figura 30 obtenidos sobre un microelectrodo disco de Pt (25  $\mu\text{m}$  de diámetro) en solución de FcMeOH 1 mM – KCl 0,1 M con diferentes concentraciones de C<sub>12</sub>Him-S agregado.

Llamativamente, los resultados obtenidos usando microelectrodos tienen concordancias, pero también diferencias con los observados sobre el macroelectrodo. Por una parte, un incremento



de la concentración de SAIL conlleva un abrupto primer corrimiento anódico del potencial de media onda retornando luego hacia valores más catódicos, similarmente al potencial de pico medido en macroelectrodos. Sin embargo, por otra parte, la corriente límite no siguió una tendencia similar a la corriente de pico.

Estos resultados sugieren que hay una interacción de FcMeOH con los SAILS que modifica no sólo su capacidad de intercambiar electrones haciendo que se requieran mayores sobrepotenciales para su electro-oxidación, sino también su transporte de masa hacia la superficie del electrodo. Esta interacción ya se verifica cuando las concentraciones de SAIL son muy bajas, y parece haber al menos dos dominios de concentraciones donde se perciben tendencias muy diferentes en las respuestas voltamétricas. Cabe aclarar que los valores de CMC de estos SAILS en medio acuoso se ven fuertemente afectados por la fuerza iónica del medio. En tal sentido, los valores de CMC en KCl 0,1 M son significativamente menores (por ejemplo, para C<sub>12</sub>Him-S la CMC en medio acuoso es 4,8 mM, mientras que en KCl 0,1 M baja a 2,6 mM). Justamente la tendencia de variación de los parámetros medidos de las respuestas voltamétricas, particularmente en los macroelectrodos (corriente y potencial de pico), cambian significativamente a partir de un valor de concentración crítico, de entre 2 y 2,5 mM.

Sobre la base de las evidencias obtenidas exclusivamente sobre macroelectrodos, se podría pensar que estos cambios podrían estar causados por la formación de micelas al superar la CMC, pero lo observado sobre los microelectrodos sugiere que es probable que existan otros fenómenos que también aporten a esta conducta, como ser la posible formación de películas auto-organizadas de estos SAILS sobre la superficie del Pt. La formación de este tipo de películas de compuestos anfifílicos sobre interfaces es un hecho conocido en la literatura<sup>134,135,136,137,138</sup>, aunque no se encontraron reportes al respecto relativos específicamente a los SAILS estudiados en esta Tesis. Si se diera este fenómeno en este caso, queda claro que la interpretación de las respuestas voltamétricas sería mucho más compleja, y proveería información no sólo sobre las condiciones de formación de micelas (CMC) y encapsulamiento del reactivo electroquímico, sino también de la transferencia de electrones a través de películas auto-organizadas de estos materiales. Resumidamente y con una visión simplista del fenómeno, se podría prever que el

---

<sup>134</sup> S. Manne, H.E. Gaub, Molecular organization of surfactants at solid-liquid interfaces, *Science* 270 (1995) 1480-1482.

<sup>135</sup> B.G. Sharma, S. Basu, M.M. Sharma, Characterization of adsorbed ionic surfactants on a mica substrate, *Langmuir* 12 (1996) 6506-6512.

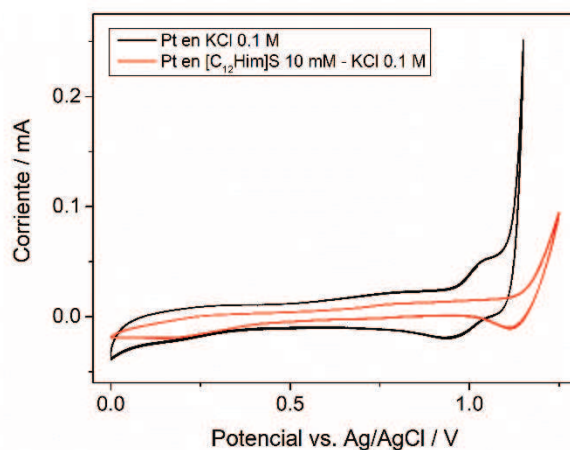
<sup>136</sup> M. Jaschke, H.-J. Butt, H.E. Gaub, S. Manne, Surfactant aggregates at a metal surface, *Langmuir* 13 (1997) 1381-1384.

<sup>137</sup> M.R. Khan, H. Singh, S. Sharma, K.L.A. Cimat, Direct observation of adsorption morphologies of cationic surfactants at the gold metal-liquid interface, *J. Phys. Chem. Lett.* 11 (2020) 9901-9906.

<sup>138</sup> D. Lombardo, M.A. Kiselev, S. Magazù, P. Calandra, Amphiphiles self-assembly: Basic concepts and future perspectives of supramolecular approaches, *Adv. Cond. Matt. Phys.*, 2015 (2015) 151683.

potencial de pico (o de media onda) y la corriente de pico deberían verse afectados por la formación de esta película (ya que agrega una etapa de transferencia de electrones, a priori poco eficiente), aunque la corriente límite medidas en los microelectrodos, al ser una magnitud relativa puramente al transporte de masa, estaría exclusivamente gobernada por la interacción de la micela con la sonda electroquímica en solución.

Así, con el fin de corroborar la formación irreversible de películas auto-organizadas de estos SAILs, electrodos de Pt fueron sumergidos en soluciones de electrolito soporte (KCl 0,1 M) conteniendo C<sub>12</sub>Him-S (10 mM) para analizar su respuesta voltamétrica y compararla con la del electrodo de Pt limpio en el mismo electrolito soporte. Los CVs respectivos se muestran en la Figura 33, donde puede verificarse que la respuesta voltamétrica típica del Pt en este medio se ve modificada en presencia de C<sub>12</sub>Him-S, particularmente en lo relativo al valor de la capacidad de la doble capa electroquímica, y a la aparición de una componente resistiva.

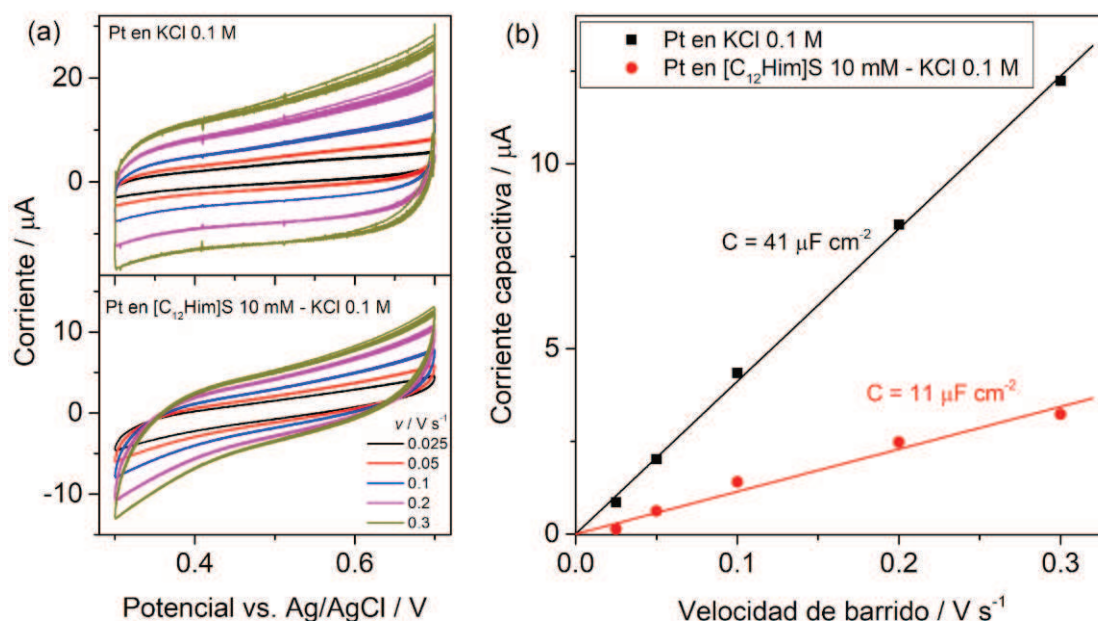


**Figura 33.** CVs del macroelectrodo de Pt ( $A_g = 0,008 \text{ cm}^2$ ) en KCl 0,1 M en ausencia y en presencia de C<sub>12</sub>Him-S (10 mM). Velocidad de barrido:  $0,1 \text{ V s}^{-1}$ .

Más precisamente, por una parte, se verifica una inclinación/elongación del CV medido en presencia de SAIL, causada por la aparición de una resistencia no compensada entre el electrodo de Pt y el electrodo de referencia. La misma refleja un proceso en el que la transferencia de electrones desde el metal a las especies en solución debe pasar por una etapa altamente resistiva, lo cual es típico de monocapas autoensambladas de cadenas alquílicas muy largas, donde el transporte de electrones a través de estas cadenas se da por efecto túnel<sup>139</sup>. Por otra parte, hay un descenso del valor de capacidad de la doble capa electroquímica, evidenciada como una disminución de la corriente capacitiva. Esto es razonable si se piensa que la interfaz establecida entre la superficie modificada con la película de SAIL y el electrolito debería tener

<sup>139</sup> B. Liu, A.J. Bard, M.V. Mirkin, S.E. Creager, Electron transfer at self-assembled monolayers measured by scanning electrochemical microscopy, *J. Am. Chem. Soc.* 126 (2004) 1485–149.

propiedades eléctricas (punto isoeléctrico, potencial de carga cero, entre otras) muy diferentes a las de una interfaz metal/solución. Es posible cuantificar el cambio del valor de capacidad, midiendo voltamétricamente la corriente capacitiva en función de la velocidad de barrido<sup>140</sup>, como se muestra en la Figura 34. De aquí se verifica que dicho valor disminuye cerca de 4 veces en presencia del SAIL. Estos resultados constituyen evidencias muy fuertes que indican una modificación de la superficie del electrodo por adsorción espontánea de una película de SAIL.



**Figura 34.** (a) CVs del macroelectrodo de Pt ( $A_g = 0,008 \text{ cm}^2$ ) en KCl 0,1 M en ausencia (arriba) y en presencia de C<sub>12</sub>Him-S 10 mM (abajo) medidos a distintas velocidades de barrido en la región de potenciales donde la respuesta es puramente capacitiva. (b) Determinación de la capacidad de la doble capa electroquímica mediante las dependencias de las corrientes capacitivas a 0,5 V vs. Ag/AgCl con la velocidad de barrido.

En conclusión, se ha demostrado que la técnica de voltametría cíclica es potencialmente aplicable para caracterizar la formación de micelas en estos sistemas anfífilicos y el encapsulamiento de sondas electroquímicamente activas en las mismas, ya que se ha verificado una fuerte sensibilidad de los parámetros medibles (corriente y potencial de pico) con la concentración de SAIL presente en la solución. No obstante, también se ha demostrado que los SAILS forman espontáneamente películas auto-organizadas sobre la superficie de los electrodos, con lo cual las respuestas de los mismos en realidad resultan de una convolución de la reacción de electrodo con procesos de transferencia de electrones que ocurren en esta película. Se

<sup>140</sup> M. Schalenbach, Y.E. Durmus, H. Tempel, H. Kungl, R.-A. Eichel, Double layer capacitances analysed with impedance spectroscopy and cyclic voltammetry: validity and limits of the constant phase element parameterization, Phys. Chem. Chem. Phys. 23 (2021) 21097-21105.

requiere así un estudio más profundo que apunte a desarrollar un protocolo que permita aplicar el método voltamétrico de una manera reproducible y confiable.

### 3.5. Análisis preliminares necesarios para la aplicación de los SAILs como sistemas de liberación de fármacos.

#### 3.5.1. Interacción Diazepam- SAILs

El estudio de las interacciones entre fármacos y tensioactivos es un área de investigación importante debido a las aplicaciones generalizadas de los tensioactivos en la industria farmacéutica. Este tipo de micelas tienen la capacidad de solubilizar fármacos hidrofóbicos. La solubilización de la molécula target depende de la hidrofobicidad y de las interacciones electrostáticas con los tensioactivos formadores del sistema micelar. Por lo tanto, estos sistemas son medios micro-heterogéneos que pueden utilizarse como sistemas administradores de fármacos. Estos pueden encapsularse en el corazón no polar de la micela (región hidrofóbica) por lo que el sistema micelar actúa como un vehículo que mejora su solubilidad y su biodisponibilidad, aumentando su eficacia y permitiendo el delivery en un lugar preciso. Por lo tanto, estos sistemas permitirían el transporte del fármaco a un sitio de acción específico minimizando su degradación<sup>141</sup>.

El Diazepam (DZM) (7-cloro-1-metil-5-fenil-3H-1, 4-benzodiazepin-2-ona) se usa típicamente para producir un efecto calmante y se usa para el tratamiento de afecciones que incluyen ansiedad, síndrome de abstinencia de alcohol, dolor muscular, espasmos, convulsiones, etc. Numerosos trabajos estudian la interacción de este fármaco con surfactantes tradicionales debido a su importancia comercial y su baja solubilidad en agua ( $\approx 1,5 \times 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ).<sup>142,143,144</sup> Adicionalmente, su baja solubilidad resulta un inconveniente en la industria farmacéutica dado que la limpieza de maquinarias después del uso de DZM se ve dificultada, empleando mucha agua y tiempo, teniendo que recurrir a solventes moleculares muchos de los cuales son nocivos para el área medicinal. En esta sección se presenta la determinación de las constantes de

---

<sup>141</sup> Banipal, T. S., Kaur, R., & Banipal, P. K. (2017). Interactions of diazepam with sodium dodecylsulfate and hexadecyl trimethyl ammonium bromide: Conductometric, UV-visible spectroscopy, fluorescence and NMR studies. *Journal of Molecular Liquids*, 236, 331-337.

<sup>142</sup> Jouyban, A., Shokri, J., Barzegar-Jalali, M., Hassanzadeh, D., Acree Jr, W. E., Ghafourian, T., & Nokhodchi, A. (2009). Solubility of chlordiazepoxide, diazepam, and lorazepam in ethanol+ water mixtures at 303.2 K. *Journal of Chemical & Engineering Data*, 54(7), 2142-2145.

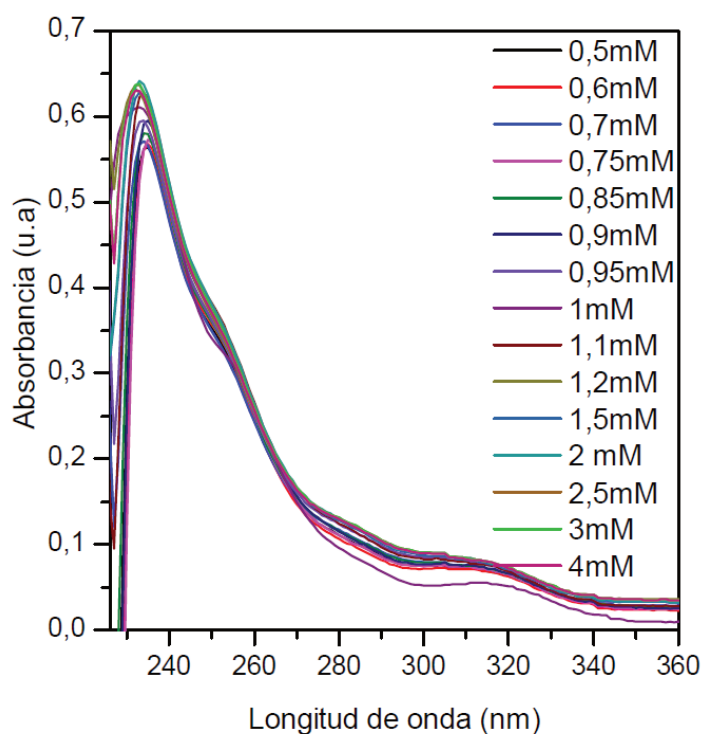
<sup>143</sup> Howlader, M. S. I., Chakrabarty, J. K., Faisal, K. S., Kumar, U., Sarkar, M. R., & Khan, M. F. (2012). Enhancing dissolution profile of diazepam using hydrophilic polymers by solid dispersion technique. *International current pharmaceutical journal*, 1(12), 423-430.

<sup>144</sup> De La Guardia, M., & Rodilla, F. (1986). Interaction of diazepam with surfactants. Spectrophotometric and spectrofluorometric study. *Journal of Molecular Structure*, 143, 493-496.

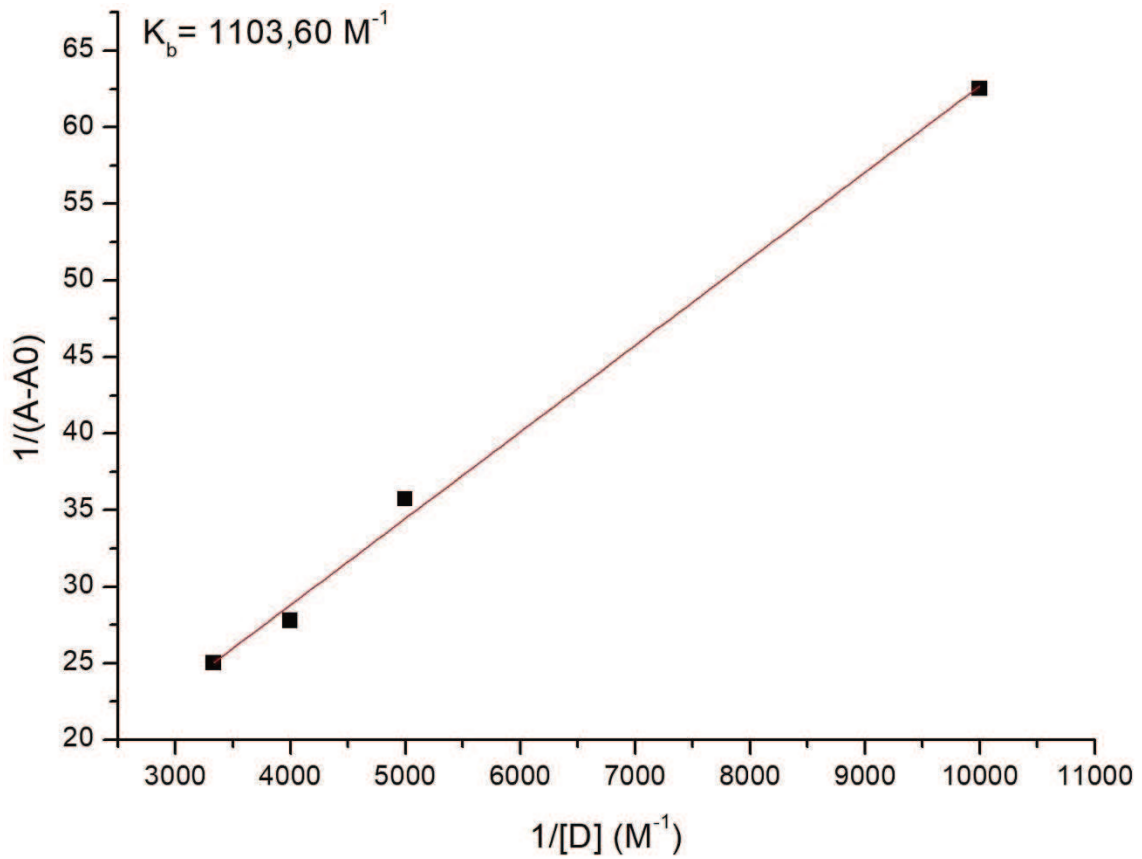
asociación de DZM con los SAILs sintetizados, con el fin de estudiar una posible aplicación directa como soluciones limpiadoras. Se aplicó metodología idéntica a la ya descrita para la sonda NR determinando la constante de asociación tanto para la zona pre-micelar como para la micelar.

*Análisis por espectroscopia UV-Vis de Absorción.*

En la Figura 35, se presenta la evolución de los espectros de absorción de DZM con el aumento de la concentración de C<sub>16</sub>Him-F. Se observa, en primer lugar, un corrimiento del pico máximo de absorbancia hacia mayores longitudes de onda (240 nm). Y luego, a medida que aumenta la concentración de surfactante, se produce un leve corrimiento a 236 nm. Además, en la Figura 36 se muestra la regresión lineal que permite obtener el valor de la constante de asociación en la zona pre-micelar que para C<sub>16</sub>Him -F fue 1103,6 M<sup>-1</sup>.

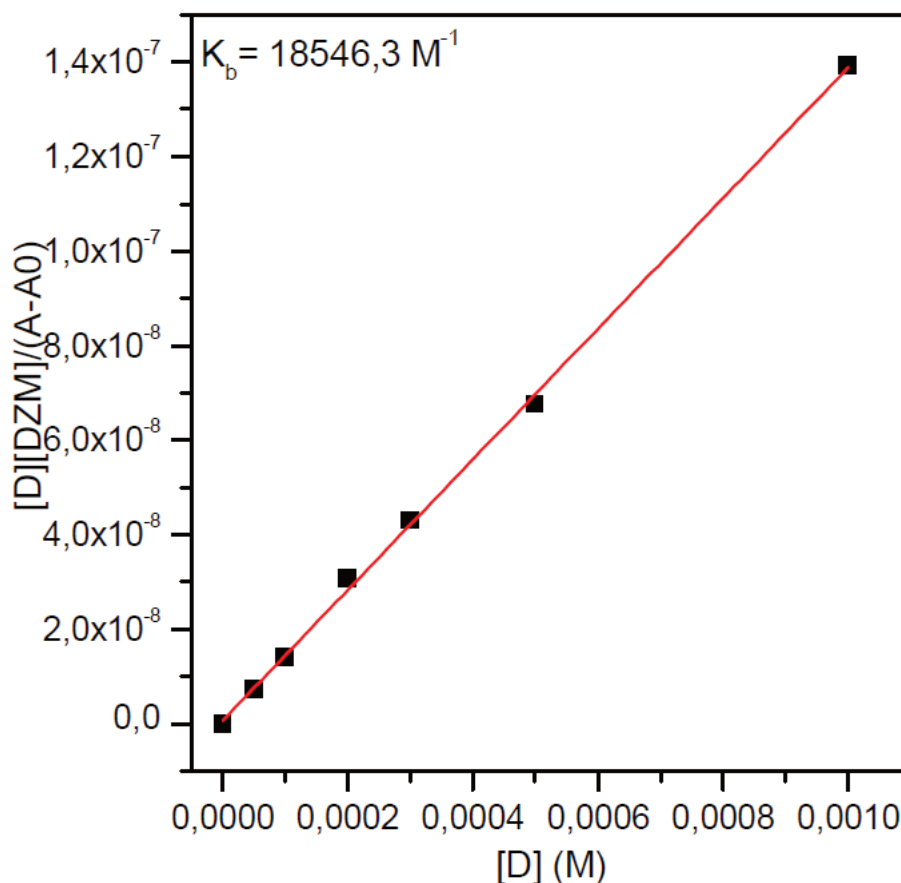


**Figura 35.** Espectros de absorción del DZM en soluciones acuosas con concentraciones crecientes de C<sub>16</sub>Him-F.



**Figura 36.** Regresión lineal para DZM-C<sub>16</sub>Him -F en zona pre-micelar.

De la aplicación de la misma metodología a los datos correspondientes a la zona micelar surge la Figura 37 la cual presenta la curva obtenida y la regresión lineal correspondiente, obteniéndose un valor de la constante de asociación de  $18546,3 \text{ M}^{-1}$ .



**Figura 37.** Regresión lineal para DZM-C<sub>16</sub>Him-F en zona micelar

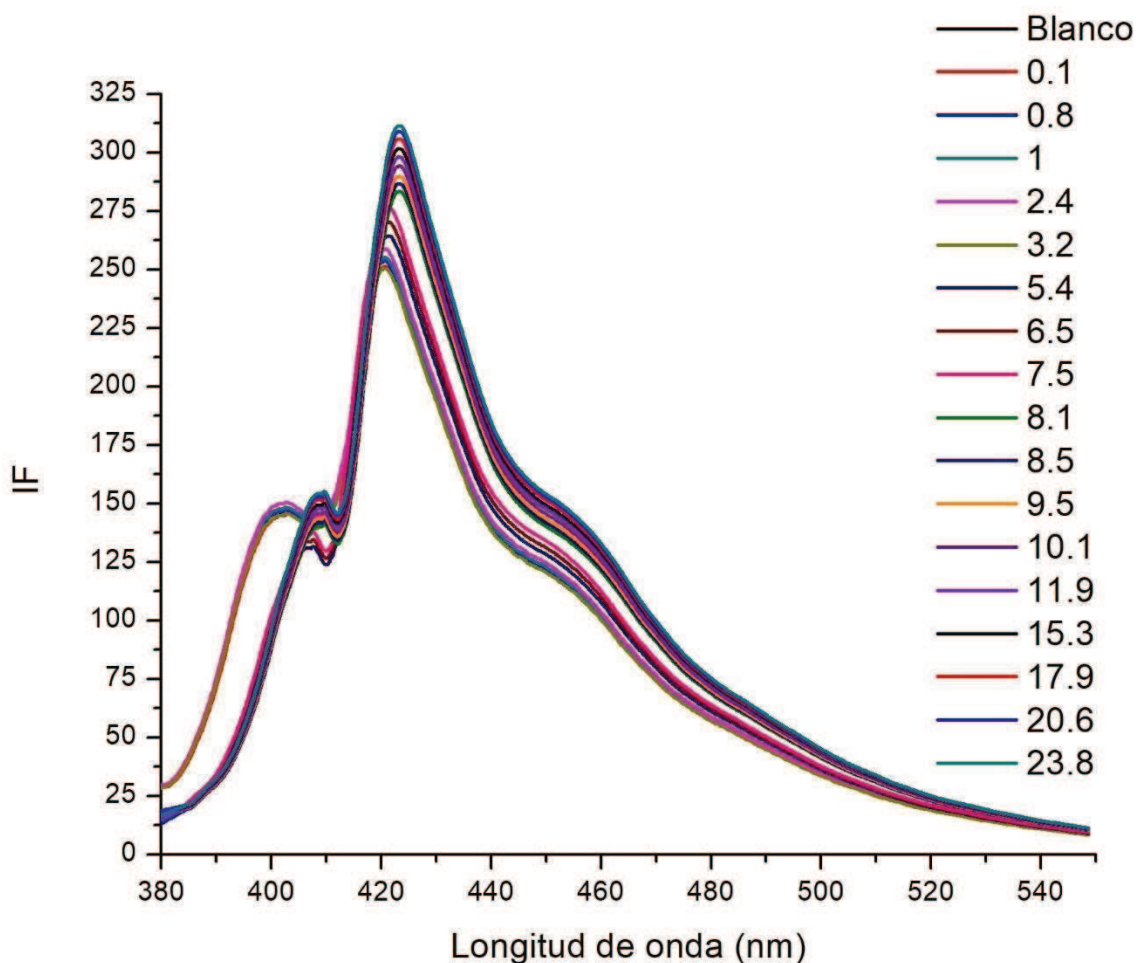
Los resultados indican que el fármaco se asocia en mayor medida al SAILs cuando está agregado como micela que al SAILs como monómero, indicando una mayor preferencia de DZM por la fase micelar. Además, se pudo corroborar que esta asociación es mayor con las micelas de SAILs que con las micelas de SDS (surfactante tradicional de cadena lateral de 12 carbonos), para la zona premicelar se obtuvo un valor de 38,03 M<sup>-1</sup>, y para la zona donde la micela se encuentra formada se determinó un valor de 42,12 M<sup>-1</sup>, según lo publicado por Banipal y col. (2017).<sup>145</sup>

#### *Análisis por espectroscopia de Fluorescencia Molecular*

Debido a la mayor sensibilidad que presentan los ensayos por fluorescencia se procedió a efectuar un análisis similar por esta técnica, con el fin de corroborar la interacción DZM-SAILs. En la Figura 38 se visualiza la evolución de los espectros de emisión de DZM a medida que se incrementa la concentración de C<sub>16</sub>Him -F. Se observa un aumento gradual de la intensidad de emisión hasta mantenerse aproximadamente constante a concentraciones mayores a la CMC.

<sup>145</sup> Banipal, T. S., Kaur, R., & Banipal, P. K. (2017). Interactions of diazepam with sodium dodecylsulfate and hexadecyl trimethyl ammonium bromide: Conductometric, UV-visible spectroscopy, fluorescence and NMR studies. *Journal of Molecular Liquids*, 236, 331-337.

Considerando que la longitud de onda máxima de emisión del fármaco en agua es de 420 nm, con el agregado de surfactante, se produce un corrimiento batocrómico ya que en las soluciones más concentradas de SAILs la emisión máxima tiene lugar a 425 nm.



**Figura 38.** Espectros de emisión de fluorescencia de soluciones conteniendo DZM y concentraciones crecientes de HC<sub>16</sub>im-F.

En las Figuras 39 y 40 se presentan los modelos lineales obtenidos para la determinación de la constante de asociación en la zona pre-micelar y micelar, siendo los valores resultantes 1233,3 M<sup>-1</sup> y 20366,5 M<sup>-1</sup> respectivamente.

Estos resultados son similares a los obtenidos por absorción. Los mismos son prometedores ya que confirman una efectiva interacción del fármaco seleccionado con las micelas de los surfactantes sintetizados en este trabajo.



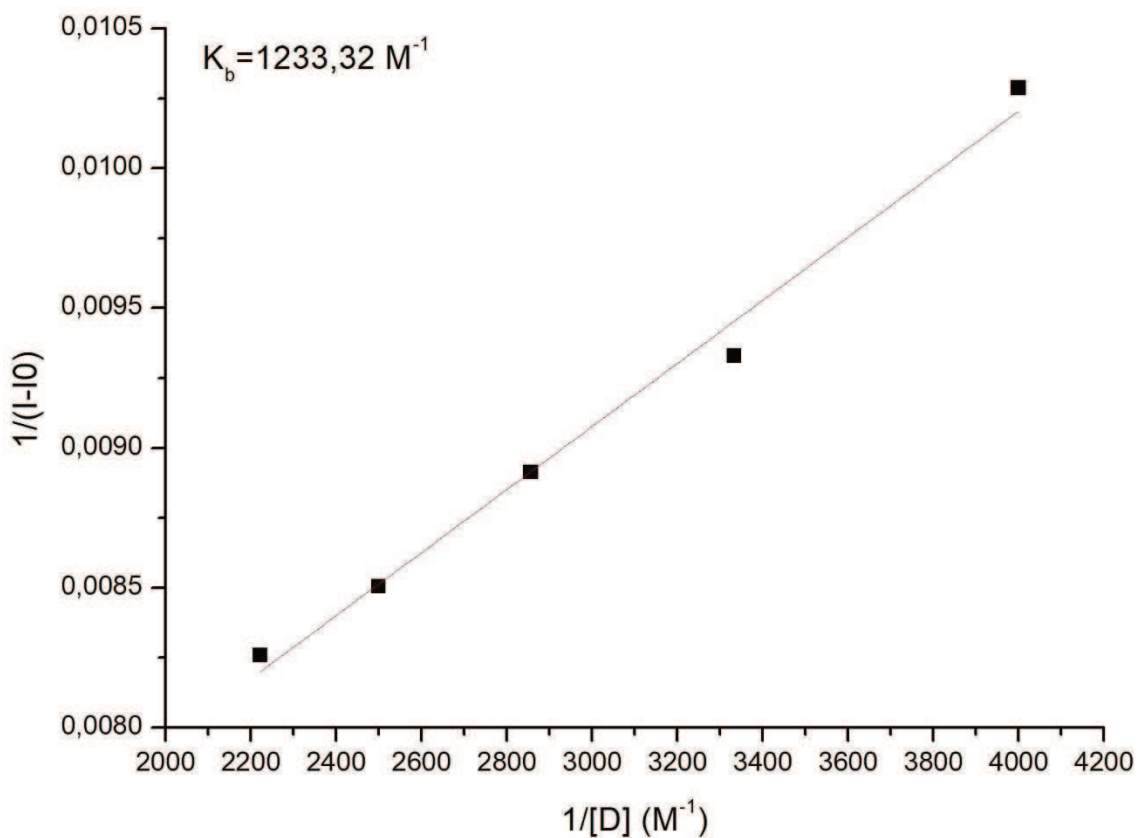


Figura 39. Regressão linear para DZM-C<sub>16</sub>Hm-F em zona pre-micelar.

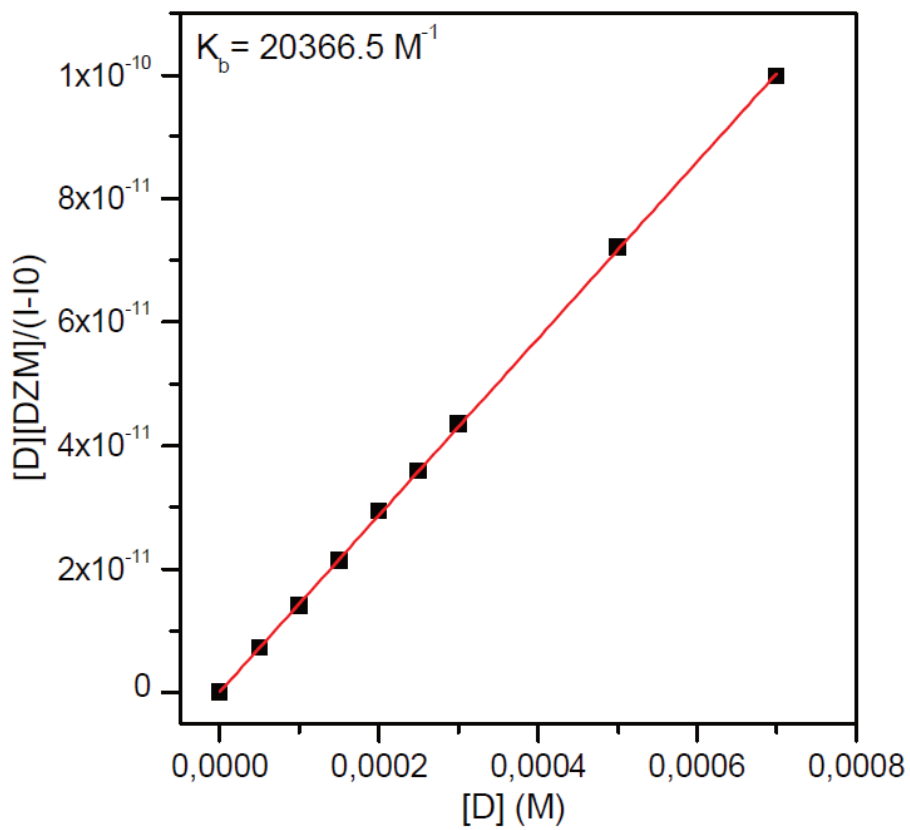


Figura 40. Regressão linear para DZM-C<sub>16</sub>Hm-F em zona micelar.

En la Tabla 7 se presenta las constantes de asociación obtenidas por ambos métodos espectroscópicos y para ambas zonas de concentración de SAILs-DZM. En el anexo en la tabla 13 se pueden comparar los valores de  $K_b$  para los sistemas SAILs-DZM y SAILs-NR.

Sistemas micelares	$K_b$ ( $M^{-1}$ )			
	UV-Vis		Fluorescencia molecular	
	Zona pre-micelar ( $\times 10^3$ )	Zona micelar ( $\times 10^3$ )	Zona pre-micelar ( $\times 10^3$ )	Zona micelar ( $\times 10^3$ )
C <sub>10</sub> HIm-F	0,0065	1,8	0,011	1,8
C <sub>12</sub> HIm-F	0,51	5,9	0,72	6,04
C <sub>14</sub> HIm-F	0,35	16,9	0,3	16,5
C <sub>16</sub> HIm-F	1,104	18,5	1,23	20,4
C <sub>10</sub> HIm-S	0,0071	2,7	0,0063	2,5
C <sub>12</sub> HIm-S	0,14	6,3	0,19	7,3
C <sub>14</sub> HIm-S	0,49	10,5	0,6	9,9
C <sub>16</sub> HIm-S	0,33	16,9	0,26	15,9

**Tabla 7.** Constantes de asociación para los sistemas SAILs-DZM

El análisis de la Tabla 7 en forma general indica un aumento importante de la constante de asociación de la zona micelar con respecto a la zona pre-micelar, este aumento se hace menos importante cuando aumenta la longitud de la cadena alquílica. Por otro lado, las diferencias son algo mayores para los SAILs-S que para los SAILs-F. Esta observación está en concordancia con el carácter hidrofóbico del fármaco y su interacción más favorable en un ambiente de menor polaridad como el de la zona micelar.

Específicamente al analizar la influencia de los aniones, se puede observar una mayor asociación para los SAILs con anión "S" con cadenas alquílicas de 10 y 12 carbonos, que para los mismos con anión "F". Contrariamente, para las micelas con SAILs-F con cadenas alquílicas de 14 y 16 carbonos, se observa una inversión en el comportamiento, los cuales indican una mejor asociación del fármaco con los sistemas de SAILs-F. Esto podría estar relacionado con algún tipo de interacción particular entre DZM y el anión metanosulfonato.

Para las cadenas alquílicas mayores, la interacción del fármaco con la zona hidrofóbica de la micela adquiere mayor relevancia. El fármaco exhibe mayor asociación con los sistemas micelares de C<sub>16</sub>Him-F, C<sub>14</sub>Him-F y C<sub>16</sub>Him-S; siendo el primer sistema donde tiene lugar el mayor valor de constante, esto está relacionado con un micro-entorno de menor polaridad.

La asociación de DZM con un surfactante tradicional catiónico como CTAB, tiene un valor de constante para la región pre-micelar de  $842 \text{ M}^{-1}$  según bibliografía<sup>5</sup>. Si la comparamos con los SAILs estudiados de igual cadena alquílica, se observa que para  $\text{C}_{16}\text{Him-F}$  la interacción entre DZM-SAILs es mayor.

### 3.5.2. Aplicación de los SAILs en la encapsulación de la droga antitumoral Violasceina. Análisis de su citotoxicidad.

El primer criterio para determinar la viabilidad de los SAILs que se considerarán para el posible desarrollo de dispositivos de administración de fármacos es la citotoxicidad. El análisis de la citotoxicidad de los SAILs se realizó en células A549 de carcinoma de pulmón humano, de manera similar a estudios previos con otros SAILs.<sup>146,147</sup> Como se mencionó anteriormente, estos estudios se realizaron en conjunto con el grupo del Dr. Guillermo Castro del instituto CINDEFI de La Plata, Buenos Aires, Argentina.

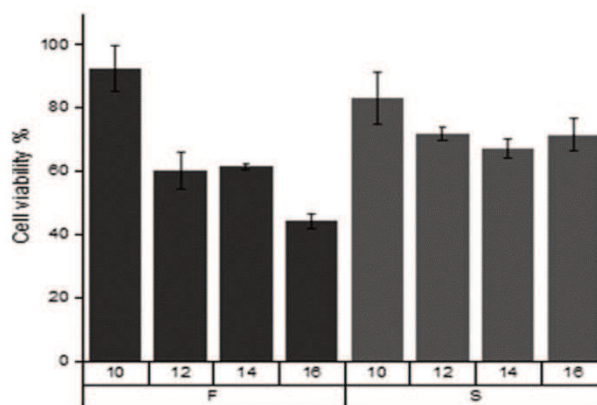
Los SAILs que contienen diferentes longitudes de cadena lateral con  $n = 10$  a  $16$  sintetizados en el presente trabajo permiten una mejor comprensión del papel de la relación estructura-toxicidad y la selección de los mejores candidatos para la síntesis de formulaciones de administración de fármacos para Violasceina (Viol). Los ensayos de citotoxicidad de  $1,5 \times 10^{-3} \%$  (p/v) ( $36,9 \mu\text{M}$  a  $49,3 \mu\text{M}$ ) de SAILs en células A549 se analizaron estadísticamente con ANOVA de dos vías. Para el análisis de los resultados se consideraron dos factores: la variación sistemática de la longitud de la cadena alquílica en el anillo imidazólico ( $n$ ) y el efecto de los contraiones (S y F). Ambos factores y la interacción entre ellos tienen un efecto significativo sobre la encapsulación de Viol ( $p < 0,0001$ ).

Los resultados indican que el aumento de la citotoxicidad de SAIL en las células A549 se puede correlacionar con el aumento de la longitud de la cadena lateral alifática, como se informó anteriormente.<sup>20</sup> Además, diferentes aniones también pueden cambiar la citotoxicidad en las células A549. Sin embargo, este efecto no es independiente de  $n$ . En este caso, el efecto  $n$  es más fuerte en el anión F que en el anión S (Figura 41).

---

<sup>146</sup> Chen, H. L., Kao, H. F., Wang, J. Y., & Wei, G. T. (2014). Cytotoxicity of imidazole ionic liquids in human lung carcinoma A549 cell line. *Journal of the Chinese Chemical Society*, 61(7), 763-769.

<sup>147</sup> Madria, N., Arunkumar, T. A., Nair, N. G., Vadapalli, A., Huang, Y. W., Jones, S. C., & Reddy, V. P. (2013). Ionic liquid electrolytes for lithium batteries: Synthesis, electrochemical, and cytotoxicity studies. *Journal of power sources*, 234, 277-284.



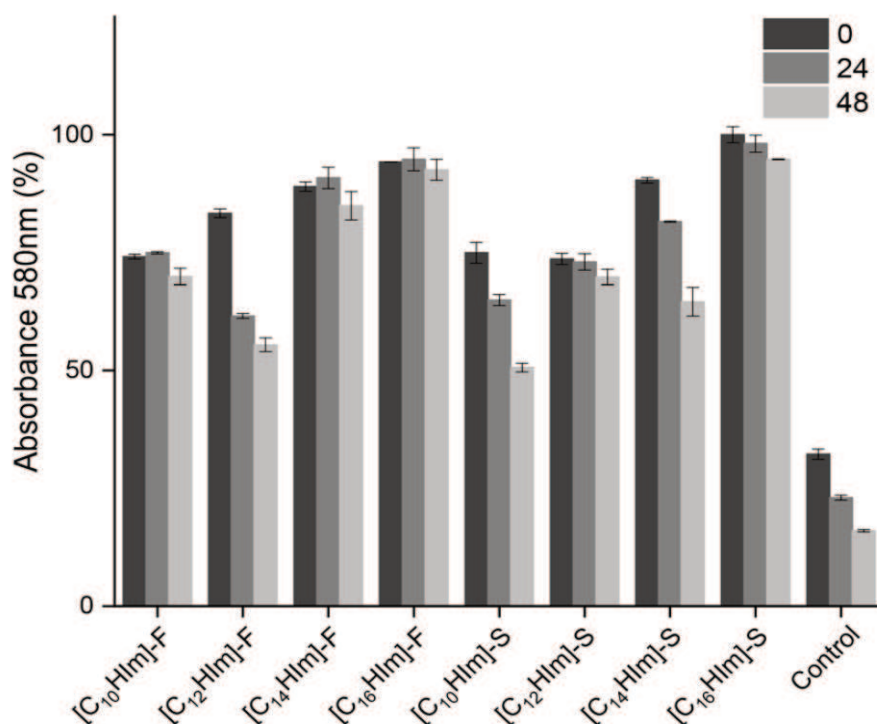
**Figura 41.** Viabilidad celular de la línea A549 en presencia de los SAILs

Resulta vital para el logro de nuestro objetivo llevar a cabo adicionalmente al análisis citotoxicidad de los SAIL, un estudio de la estabilidad de los sistemas micelares formados es decir viol-C<sub>16</sub>Him-F y viol-C<sub>16</sub>Him-S (La metodología fue descrita en el capítulo correspondiente).

Se observó que, los aniones F y S no tienen un impacto significativo sobre la estabilidad micelar y la solubilización de Viol ( $p > 0,05$ ). Además, C<sub>16</sub>Him-F y C<sub>16</sub>Him-S no muestran diferencias significativas entre ellos a las 24 y 48 h ( $p > 0,05$ ), aunque sí en el tiempo cero ( $p < 0,01$ ) (Figura 42).

Además, las interacciones de SAIL con concentraciones de Viol estandarizadas parecen depender en gran medida de la longitud de la cadena alquílica (Fig. 41). Sin embargo, todos los SAILs probados son significativamente diferentes del control (blanco). Los SAILs que contienen cadenas laterales más largas pueden incorporar más Viol a la solución y las micelas resultantes pueden sostener a Viol durante períodos de tiempo más prolongados ( $p < 0,0001$ ). Este efecto podría estar asociado con la naturaleza hidrofóbica de la longitud de la cadena lateral del alcano y mejora la interacción SAILs-Viol, interfiriendo con el contacto Viol-Viol mediado por los anillos de hidroxindol.

Según los resultados actuales, el mejor candidato para desarrollar un sistema de administración de fármacos Viol fue C<sub>16</sub>Him-S, que combina una baja citotoxicidad con un 71,5 % de viabilidad celular (Figura 41) al  $1,5 \times 10^{-3}$  % (p/v) y una buena interacción con el 95,2 % de Viol retenido en solución micelar durante al menos 48 h (Figura 42). Debido a esto se profundizó en la caracterización de estos sistemas Viol-SAILs seleccionando para tal fin la técnica de FT-IR.



**Figura 42.** Efecto de la longitud de cadena en la estabilidad de la solución micelar.

Los espectros FTIR correspondientes a C<sub>16</sub>Him-S, Viol y el sistema formado por cantidad equimolecular de ambos componentes (SAIL-Viol) se muestran en la Figura 43.

El espectro de C<sub>16</sub>Him-S, las bandas correspondientes a 633,6 cm<sup>-1</sup>, 766,4 cm<sup>-1</sup> y 901,7 cm<sup>-1</sup> se atribuyeron a la deformación fuera del plano, C – H fuera del plano y la deformación del anillo en el plano del anillo imidazólico, respectivamente (Fig. 42A). Los picos de 1091,2 cm<sup>-1</sup>, 1549,1 cm<sup>-1</sup>, 1582,3 cm<sup>-1</sup> se atribuyeron a vibraciones de estiramiento C – N y C=N. El grupo alquilo de C<sub>16</sub>Him mostrado en un pico de 1465,0 cm<sup>-1</sup> corresponde a la flexión C – H, un estiramiento simétrico de 2849,8 cm<sup>-1</sup> a –CH<sub>2</sub> y un estiramiento asimétrico de 2919,8 cm<sup>-1</sup> a –CH<sub>2</sub>. En el otro lado, las bandas en 1034,5 cm<sup>-1</sup> y 1230,6 cm<sup>-1</sup> se atribuyeron a las vibraciones de estiramiento S=O y S-O en el contraíón del SAILs. Finalmente, se asignó una banda ancha de 3432,3 cm<sup>-1</sup> a la vibración de estiramiento N-H de manera similar a lo informado anteriormente.<sup>148,149,150,151,152</sup>

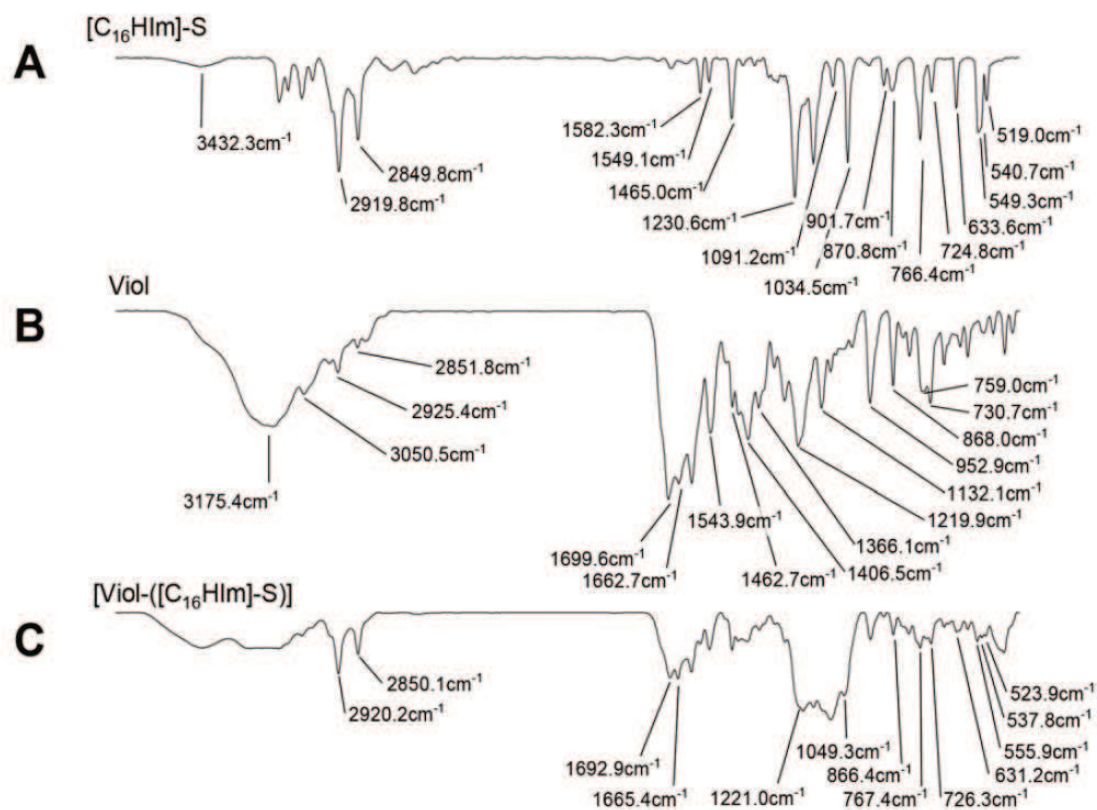
<sup>148</sup> Feng, W. Q., Lu, Y. H., Chen, Y., Lu, Y. W., & Yang, T. (2016). Thermal stability of imidazolium-based ionic liquids investigated by TG and FTIR techniques. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 125, 143-154.

<sup>149</sup> Lin-Vien, D., Colthup, N. B., Fateley, W. G., & Grasselli, J. G. (1991). *The handbook of infrared and Raman characteristic frequencies of organic molecules*. Elsevier.

<sup>150</sup> Ramasamy, R. (2015). Vibrational spectroscopic studies of imidazole. *Armenian Journal of Physics*, 8(1).

<sup>151</sup> Zanchet, L., da Trindade, L. G., Lima, D. W., Bariviera, W., Trombetta, F., de Souza, M. O., & Martini, E. M. A. (2019). Cation influence of new imidazolium-based ionic liquids on hydrogen production from water electrolysis. *Ionics*, 25, 1167-1176.

<sup>152</sup> Fakhr, F. A., Khanafari, A., Baserisalehi, M., Yaghoobi, R., & Shahghasempour, S. (2012). An investigation of antileukemia activity of violacein-loaded dendrimer in Jurkat cell lines. *Afr J Microbiol Res*, 6(33), 6235-6242.



**Figura 43.** Espectros IR del SAILs (A), Viol (B) y del complejo SAILs-Viol (C).

El espectro de Viol mostró un pico amplio y grande de 3175,4  $\text{cm}^{-1}$  atribuido a que quedó algo de humedad en la muestra superpuesta a la débil banda de estiramiento de OH en la misma región (Fig. 42B). Las bandas parcialmente superpuestas en 730,7  $\text{cm}^{-1}$  y 759  $\text{cm}^{-1}$  se atribuyeron al estiramiento y flexión C-H en benceno monosustituido. Las bandas en 868,0  $\text{cm}^{-1}$ , 952,9  $\text{cm}^{-1}$ , 1132,1  $\text{cm}^{-1}$  y 1219,9  $\text{cm}^{-1}$  se asignaron a diferentes vibraciones de estiramiento simétricas y asimétricas C – N y la banda en 1366,1  $\text{cm}^{-1}$  N – H se superpuso con estiramiento C – O, la banda en 1406,5  $\text{cm}^{-1}$  C – H se flexión alqueno, 1462,7  $\text{cm}^{-1}$ , 1543,9  $\text{cm}^{-1}$  y 1662,7  $\text{cm}^{-1}$  bandas C=C que se estiran en benceno aromático y una banda fuerte a 1699,6  $\text{cm}^{-1}$  con vibraciones de estiramiento del carbonilo. El pico complejo y amplio en frecuencias más altas comprende frecuencias de estiramiento N–H y O–H diferentes y altamente superpuestas (2851,8  $\text{cm}^{-1}$ , 2925,4  $\text{cm}^{-1}$ , 3050,5  $\text{cm}^{-1}$  y 3175,4  $\text{cm}^{-1}$ ).<sup>153,154,11</sup>

<sup>153</sup> Aruldass, C. A., Masalamany, S. R. L., Venil, C. K., & Ahmad, W. A. (2018). Antibacterial mode of action of violacein from *Chromobacterium violaceum* UTM5 against *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Environmental Science and Pollution Research*, 25, 5164-5180.

<sup>154</sup> Narayanan, S., Prasad, T., Nair, I. C., & Jayachandran, K. (2012). A novel exploitable feature of *Chromobacterium violaceum*: experimental evidence for phenol degradation. *Novus Int J Biotechnol Biosci*, 1, 1-11.

Se observaron varios cambios en la mezcla equimolar [Viol- (C<sub>16</sub>Him-S)] (Fig. 42C). En el rango de frecuencias bajas (500–670 cm<sup>-1</sup>), las intensidades son bajas y muestran muchos picos como se ha reportado anteriormente.<sup>155</sup> Esta región mostró modos de vibración intramoleculares del anillo de imidazolio; dos picos en esta región mostraron una oscilación hipsocrómica de 549,3 cm<sup>-1</sup> a 555,9 cm<sup>-1</sup>, y 519 cm<sup>-1</sup> a 523,9 cm<sup>-1</sup>, y dos corrimientos batocrómicos de 540,7 cm<sup>-1</sup> a 537,8 cm<sup>-1</sup> y 633,6 cm<sup>-1</sup> en SAILs puro a 631,2 cm<sup>-1</sup> en el complejo. En la región de 700–900 cm<sup>-1</sup> se observan picos correspondientes a la flexión C-H en los anillos descritos anteriormente tanto en C<sub>16</sub>Him como en Viol, el pico de 724,8 cm<sup>-1</sup> en C<sub>16</sub>Him y el pico de 730,7 cm<sup>-1</sup> en Viol aparecen como un pico a 726,3 cm<sup>-1</sup>, de manera similar, 766,4 cm<sup>-1</sup> de pico en C<sub>16</sub>Him] y 759,0 cm<sup>-1</sup> de Viol aparecen como un pico en 767,4 cm<sup>-1</sup> en la mezcla, y 870,8 cm<sup>-1</sup> y 868,0 cm<sup>-1</sup> aparecen como un pico en 866,4 cm<sup>-1</sup>. Entre otras cosas, las bandas de carbonilo en 1662,7 cm<sup>-1</sup> y 1699,6 cm<sup>-1</sup> en Viol puro se cambiaron a 1665,4 cm<sup>-1</sup> y 1692,9 cm<sup>-1</sup>, respectivamente.

Finalmente, los picos correspondientes al contraíón del grupo sulfonato del SAIL (1034,5 cm<sup>-1</sup> y 1230,6 cm<sup>-1</sup>) no aparecen con fuerza en la mezcla y los picos más cercanos a los que se pueden asignar en la mezcla son 1049,3 cm<sup>-1</sup> y un hombro a 1221,0 cm<sup>-1</sup> respectivamente. No se observan desplazamientos relevantes en las bandas relacionadas con cadenas alquílicas (2850,1 cm<sup>-1</sup> y 2920,2 cm<sup>-1</sup>). Todos estos datos tomados en conjunto sugieren una fuerte interacción de apilamiento  $\pi - \pi$  entre Viol y C<sub>16</sub>Him-S centrada en y entre anillos aromáticos, y el desplazamiento del contraíón (CH<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>).

El presente trabajo demostró que los contraíones SAIL desempeñan un papel importante en la estabilidad micelar y en la citotoxicidad. La síntesis de SAIL con un delicado equilibrio de componentes hidrófilos-hidrófobos permitirá la disolución de moléculas poco solubles en agua, como la violaceína, sin comprometer la citotoxicidad celular. La conjunción de la cadena lateral de imidazol alquilo y el contraíón en todos los SAILs probados dio como resultado la selección de [C<sub>16</sub>Him]-S para desarrollar una solución micelar de Viol. A futuro se podría desarrollar una nueva formulación, en base a estos componentes con el fin de mejorar la estabilidad micelar.

---

<sup>155</sup> Yamada, T., Tominari, Y., Tanaka, S., & Mizuno, M. (2017). Infrared spectroscopy of ionic liquids consisting of imidazolium cations with different alkyl chain lengths and various halogen or molecular anions with and without a small amount of water. *The Journal of Physical Chemistry B*, 121(14), 3121-3129.

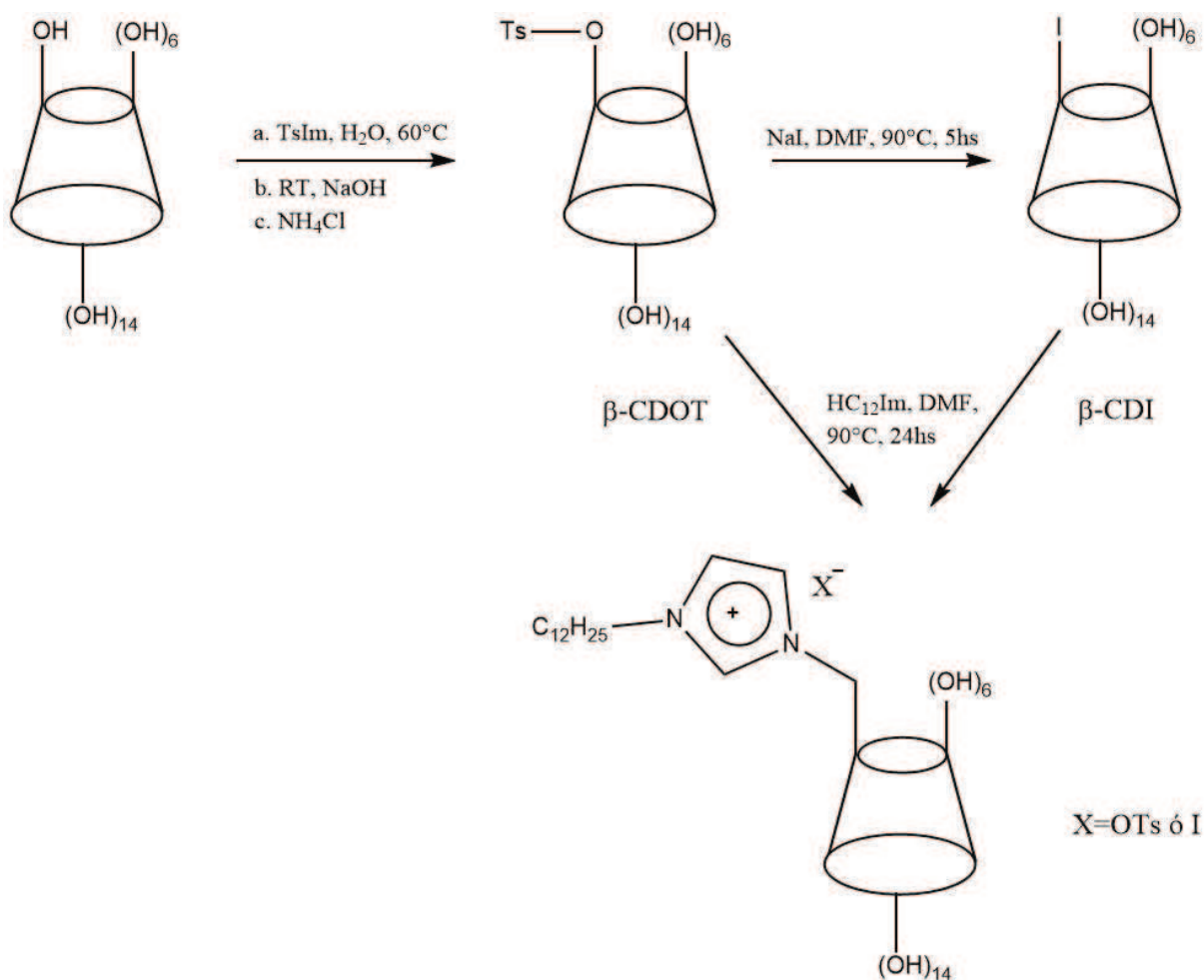
# Capítulo 4

Resultados parte II



## 4. Resultados parte II: Síntesis y caracterización de $\beta$ -CD modificadas

La funcionalización de las ciclodextrinas (CDs) ocurre principalmente en los grupos hidroxilo ubicados en las posiciones C-2, C-3 y C-6. En este estudio, las CDs se funcionalizaron la cara primaria con un grupo tosilo o un halógeno<sup>2</sup>. Tanto los derivados de las CDs tosiladas (CD-OTs) como las halogenadas (CD-I) proporcionaron acceso a una serie de complejos CD-IL para lo cual se puso a punto una ruta sintética (Esquema 14) en base a trabajos previamente publicados. En base a la metodología publicada hasta el momento se decidió adaptar la metodología utilizada por varios autores a las condiciones y reactivos existentes en el laboratorio.



**Esquema 14.** Esquema general de reacción para la obtención de  $C_{12}imCD-OTs$  y  $C_{12}imCD-I$

A- Síntesis del compuesto intermedio 6-O-Toluenesulfonil- $\beta$ -ciclodextrina: ciclodextrina tosilada (CD-OTs)

Debido a la facilidad de formación del derivado de CD monotosilato y la facilidad con la que se lo puede reemplazar por otros grupos como amino, alquilamino, hidroxiamino, tio, tioalquil, halo y formil<sup>156</sup>, se procede a la síntesis del mismo como un buen precursor para la síntesis final diseñada (CDs modificadas con SAILs).

Es muy difícil obtener la monotosilación selectiva de la  $\beta$ -CD sin la formación de una cantidad considerable de una mezcla conteniendo subproductos multitosilados. Se ha publicado la monotosilación en el lado primario con un 61% de rendimiento mediante el tratamiento de  $\beta$ -CD en agua con anhídrido *p*-toluenosulfónico, seguido por la adición de una solución de hidróxido de sodio.<sup>157</sup> Sin embargo, la dificultad para preparar anhídrido *p*-toluenosulfónico libre a partir del ácido *p*-toluenosulfónico da como resultado frecuentemente un rendimiento menor. Para obtener la CD-OTs el precursor de elección fue el N-(*p*-Toluenesulfonil) imidazol (Tslm) ya que se ha probado que no solo es barato, no tóxico, estable, sino que también ha sido aplicado eficientemente en la preparación de múltiples compuestos<sup>158,159</sup>. Teranishi et al. (1998)<sup>160</sup> sugieren que posiblemente se forman puentes de hidrógeno entre los átomos de nitrógeno del Tslm y el protón del grupo hidroxilo del C-2 de la CD, activándolos para la sulfonación selectiva. Además, el uso del Tslm como reactivo de sulfonación en lugar de cloruro de *p*-toluenesulfonilo (TsCl) o el anhídrido *p*-toluenosulfónico (Ts2O) tiene las siguientes ventajas: (1) la solubilidad acuosa del Tslm es mayor que la del Ts2O o el TsCl; (2) el Ts im es más resistente a la hidrólisis a temperatura ambiente<sup>161</sup> que el Ts2O o el TsCl, por lo que se formaría menos ácido *p*-toluenosulfónico libre durante la reacción de sulfonación; y (3) no se observó una multitosilación significativa de CD, aunque se utilizan 4 equivalentes de Tslm.

En este sentido, analizando la metodología publicada se decidió adaptar el procedimiento propuesto por Byun (2000)<sup>162</sup> (Esquema 15), para lo cual el Ts im se obtuvo colocando 65 ml de

<sup>156</sup> Khan, A. R., Forgo, P., Stine, K. J., & D'Souza, V. T. (1998). Methods for selective modifications of cyclodextrins. *Chemical Reviews*, 98(5), 1977-1996.

<sup>157</sup> Zhong, N., Byun, H. S., & Bittman, R. (1998). An improved synthesis of 6-O-monotosyl-6-deoxy- $\beta$ -cyclodextrin. *Tetrahedron Letters*, 39(19), 2919-2920.

<sup>158</sup> Behrouz, S., Rad, M. N. S., & Forouhari, E. (2016). Highly efficient preparation of amides from aminium carboxylates using N-(*p*-toluenesulfonyl) imidazole. *Journal of Chemical Research*, 40(2), 101-106.

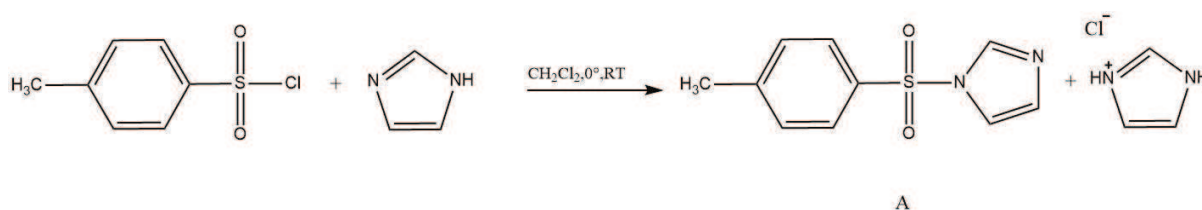
<sup>159</sup> Rad, M. N. S., Khalafi-Nezhad, A., Behrouz, S., Amini, Z., & Behrouz, M. (2010). Simple and highly efficient procedure for conversion of aldoximes to nitriles using N-(*p*-toluenesulfonyl) imidazole. *Synthetic Communications*<sup>®</sup>, 40(16), 2429-2440.

<sup>160</sup> Teranishi, K., Watanabe, K., Hisamatsu, M., & Yamada, T. (1998). Efficient regioselective synthesis of mono-2-O-sulfonyl-cyclodextrins by the combination of sulfonyl imidazole and molecular sieves. *Journal of carbohydrate chemistry*, 17(3), 489-494.

<sup>161</sup> Staab, V. H. (1962). New methods of preparative organic chemistry IV. Syntheses using heterocyclic amides (azolides). *Angewandte Chemie International Edition in English*, 1(7), 351-367.

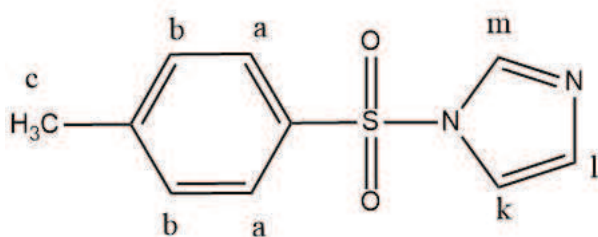
<sup>162</sup> 6A-O-*p*-TOLUENESULFONYL-*b*-CYCLODEXTRIN. (2000). *Organic Syntheses*, 77, 225. <https://doi.org/10.15227/orgsyn.077.0225>

una solución de Imidazol 3,69 mol/l en diclorometano seco en un balón con agitador magnético y se enfría hasta 0°C en baño de hielo y sal. Se añade gota a gota, 65 ml de una solución de cloruro de p-toluensulfonilo 1,69 mol/l en diclorometano seco. A la mezcla resultante se le permite alcanzar la temperatura ambiente, y se la deja agitando vigorosamente por 2 horas. La mezcla de reacción se filtra a través de un filtro de vidrio y se lava con 130 ml de una mezcla 1:1 de acetato de etilo-hexano. El filtrado se concentra al vacío quedando un residuo al se le añaden 13 ml de acetato de etilo (EtOAc) y luego 130 ml de hexano. El tiempo necesario para la formación del precipitado en algunos casos es mayor a 12 hs. Este proceso debe realizarse 2 o 3 veces hasta que quede un sólido blanco, es decir sin presencia de coloración. El seguimiento se realizó mediante TLC según bibliografía. TLC (silica gel 60 F254 aluminum-backed plates) (Rf = 0.48, hexane/EtOAc 1:1). PF 76–78 °C.



**Esquema 15.** Esquema de reacción para la obtención del Ts im (A).

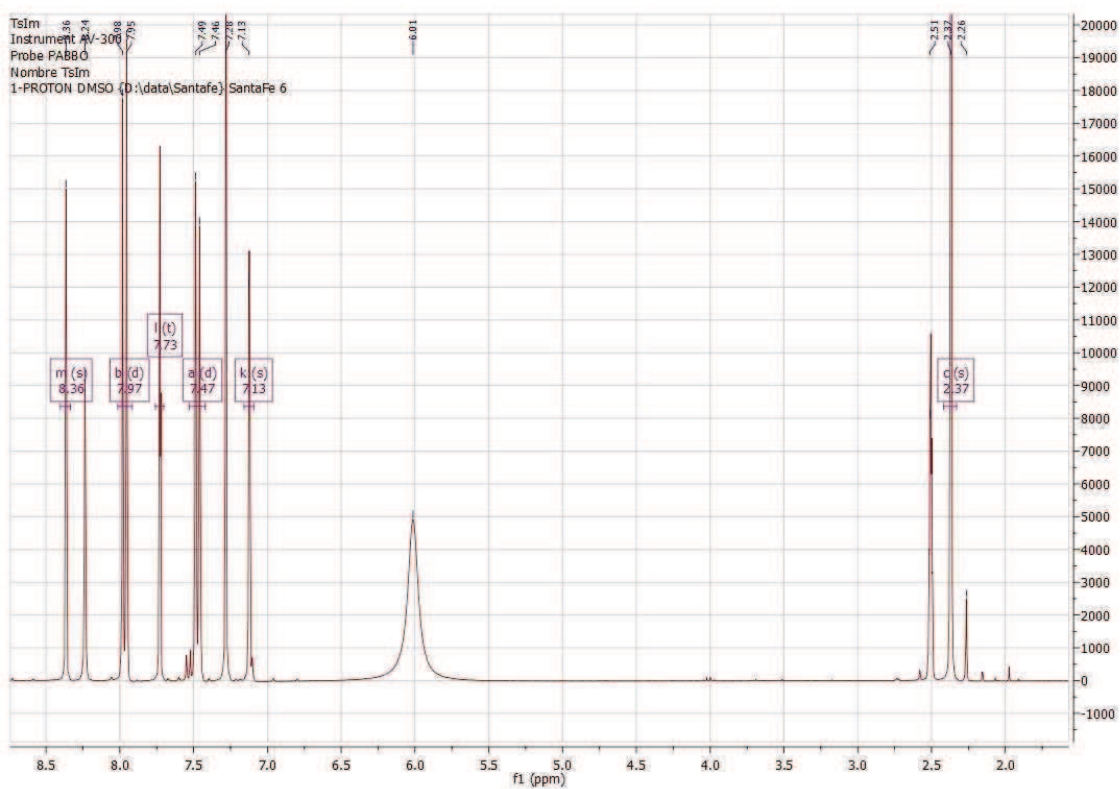
Además, se caracterizó el producto de esta primera etapa mediante RMN-<sup>1</sup>H, cuyo espectro se puede ver en la Figura 44. Del análisis del espectro 1 podemos destacar las siguientes señales de RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ: 2.37 (s, 3H), 7.13 (s, 1H), 7.47 (d, 2 H, J= 9 Hz), 7.73 (s, 1 H), 7.97 (d, 2H, J= 9 Hz), 8.36 (s, 1 H).



**Esquema 16.** Molécula modelo para la caracterización del Ts im mediante RMN <sup>1</sup>H

	Nombre	Desplazamiento	H's	Clas e
1	b	7.97	2	d
2	k	7.13	1	s
3	l	7.73	1	t
4	c	2.37	3	s
5	a	7.47	2	d
6	m	8.36	1	s

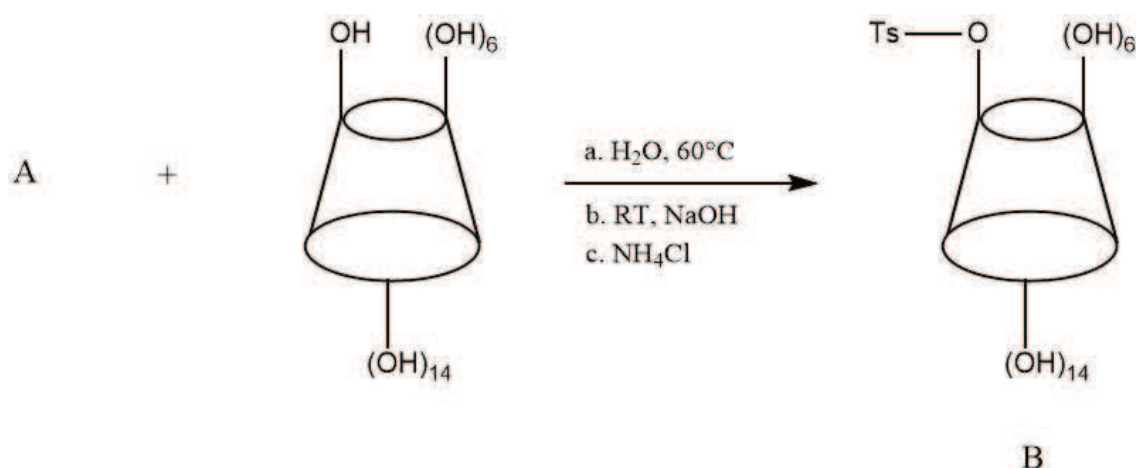
**Tabla 8.** Señales correspondientes al análisis de RMN-<sup>1</sup>H para Ts im



**Figura 44.** Espectro N° 1: RMN-<sup>1</sup>H correspondiente a Ts im

En base a estos resultados se procedió a profundizar la etapa de lavados para poder obtener un intermediario más puro.

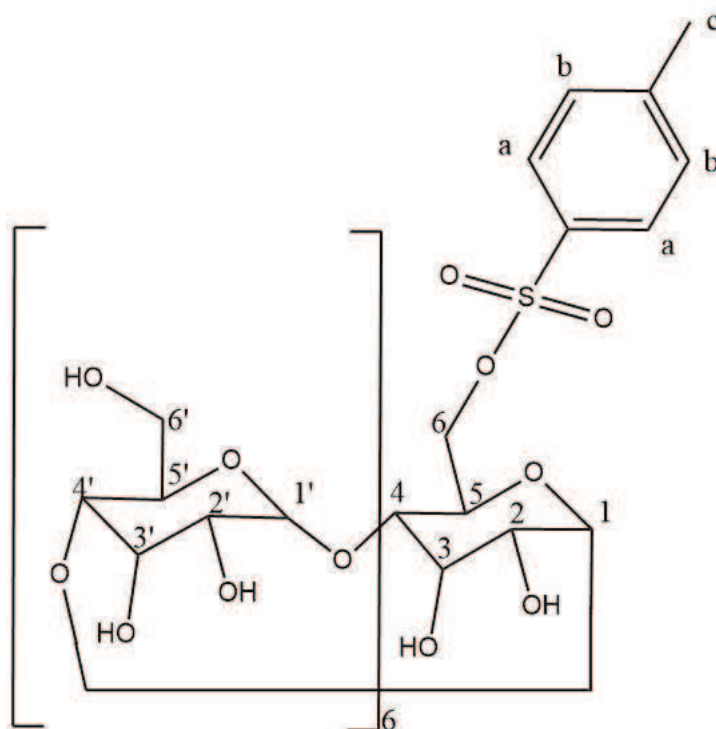
El Esquema 17 presenta la síntesis del CD-OTs (B) a partir del Ts im (A)



**Esquema 17.** Se representa la síntesis del CD-OTs (B) a partir del Tsim (A)

Para lograr la obtención de la CD-OTs, se colocan 3,97 mmol de CD en un balón con agitador magnético y se disuelve en 100 ml de agua bidestilada calentando a 60°C con agitación vigorosa. La CD se disuelve completamente sólo al alcanzar los 60°C. Se corta el calentamiento y la agitación se continúa hasta alcanzar temperatura ambiente. Queda una suspensión blancuzca a la cual se le añaden 26,5 mmol de Ts im (A) finamente pulverizado. Después de 2 hs, se agrega gota a gota durante 20 min, 7 ml de una solución de hidróxido de sodio 8,04 mol/l. Luego de 10 min, el Ts im sin reaccionar se separa por filtración a través de un filtro de vidrio. No se debe dejar agitando más de 20 min porque el Ts im sin reaccionar puede hidrolizarse y pasar al filtrado. La reacción se corta agregando 112 mmol de cloruro de amonio ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ) con agitación para disolver todos los sólidos. La mezcla resultante se concentra aproximadamente a la mitad del volumen original, el producto comienza a precipitar casi inmediatamente a medida que la mezcla se concentra en el evaporador rotatorio con la precaución de no formar burbujas. La suspensión resultante se filtra y el sólido colectado se lava con 2 porciones de 10 ml cada una de agua helada y 20 ml de acetona y se seca hasta peso constante. El seguimiento se realiza mediante TLC ( $R_f$  0,40, 2-PrOH/H<sub>2</sub>O/EtOAc/NH<sub>4</sub>OH 5:3:1:1), se revela sumergiendo en una solución 5% de ácido sulfúrico en etanol luego calentando hasta la aparición de las manchas. PF 171–174 °C.

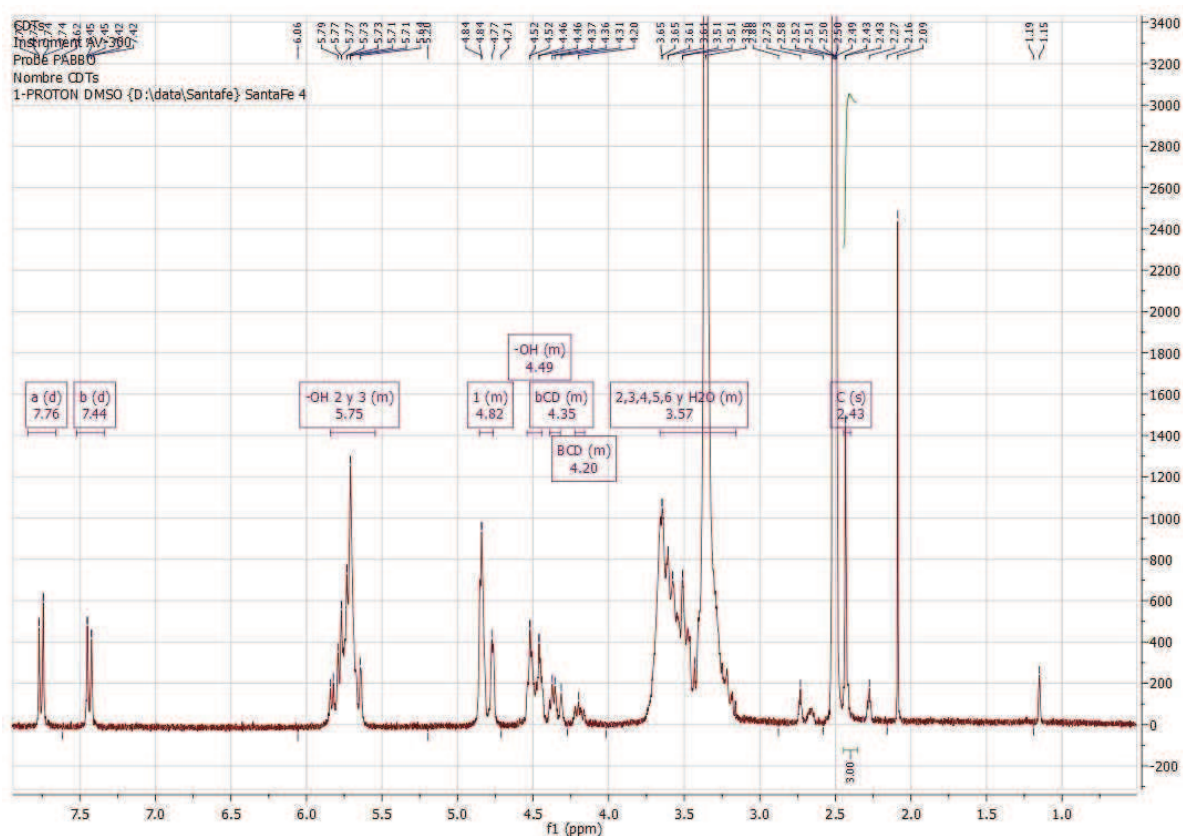
El intermediario obtenido se caracterizó por RMN <sup>1</sup>H (Figura 45) obteniendo las siguientes señales RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 2.43 (s, 3H), 3.16-3.66 (m, 38H), 4.16-4.22 (m, 1H), 4.32-4.39 (m, 2H), 4.44-4.54 (m, 6 H), 4.76-4.85 (m, 8 H), 5.54-5.84 (m, 14 H), 7.44 (d, 2 H,  $J = 9$  Hz), 7.76 (d, 2 H,  $J = 9$  Hz).



**Esquema 18.** Molécula modelo para la caracterización del CD-OTs mediante RMN  $^1\text{H}$

	Nombre	Desplazamiento	H'	Clase
1	b	7.44	2	d
2	1	4.82	8	m
3	2,3,4,5,6 y H <sub>2</sub> O	3.57	38	m
4	BCD	4.20	1	m
5	BCD	4.35	2	m
6	-OH	4.49	6	m
7	a	7.76	2	d
8	-OH 2 y 3	5.75	14	m
9	C	2.43	3	s

**Tabla 9.** Señales de RMN  $^1\text{H}$  obtenidas para el CD-OTs.



**Figura 45.** Espectro RMN 1H del intermediario CD-OTs

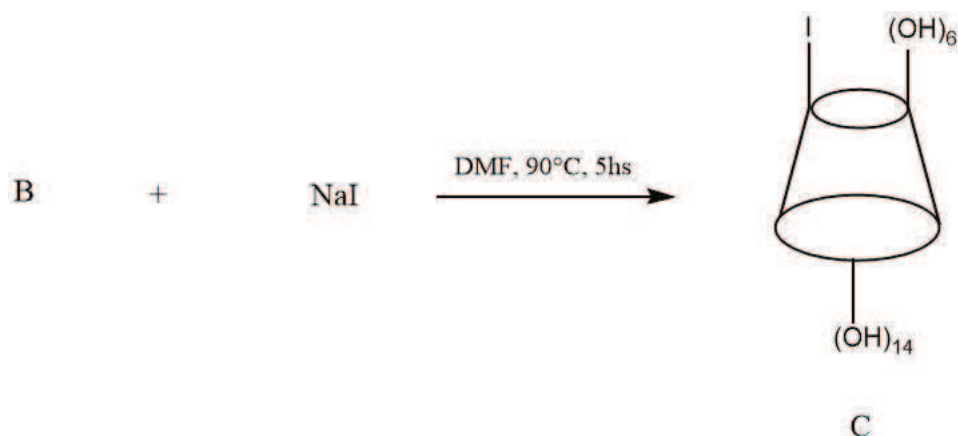
El espectro de RMN de protones mostró los picos característicos del tosilato (sistema A2B2) en la región aromática del espectro, los cuales se identificaron como un conjunto de dos dobletes (debido al efecto anisotrópico) en desplazamientos químicos de 7,44 (H-9) y 7,76 ppm (H-8), respectivamente.

#### B- Síntesis de Mono-6-iodo- $\beta$ -ciclodextrina (CD-I)

Para la siguiente etapa de síntesis se decidió adaptar el procedimiento propuesto por Mahlambi (2010)<sup>163</sup> (Esquema 19), para lo cual se disuelve 0,69 mmol de CD-OTs en 40 ml de DMF anhidro. A esta solución se le añade en agitación vigorosa 7,76 mmol de yoduro de sodio. La reacción se mantiene a 90° C por 5 hs en agitación vigorosa y atmósfera inerte. Se corta la reacción dejando que alcance temperatura ambiente. Con el agregado de 50 ml de acetona aparece un precipitado blanco. La mezcla se filtra y el sólido se lava con 3 porciones de 100 ml de acetona,

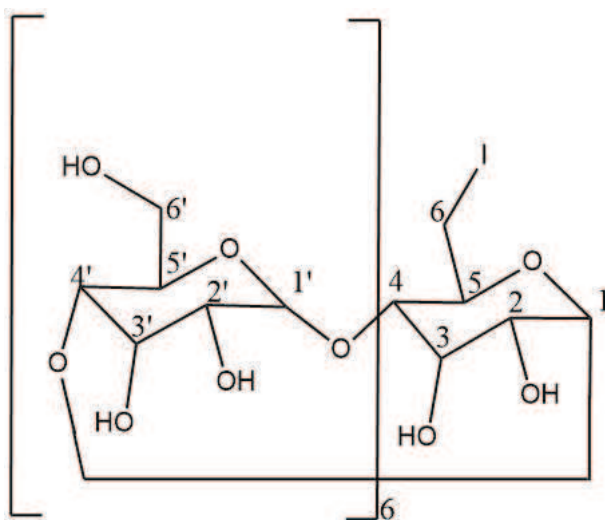
<sup>163</sup> Mahlambi, M. M., Malefetse, T. J., Mamba, B. B., & Krause, R. W. (2010).  $\beta$ -Cyclodextrin-ionic liquid polyurethanes for the removal of organic pollutants and heavy metals from water: synthesis and characterization. *Journal of Polymer Research*, 17, 589-600.

es decir se lava y se evapora 3 veces. El sólido obtenido se disuelve en 50 ml de agua y se precipita con 200 ml de acetona y se filtra. El seguimiento se realiza mediante TLC ( $R_f=0,43$ , 2-PrOH/H<sub>2</sub>O/EtOAc/NH<sub>4</sub>OH 5:3:1:1), se revela sumergiendo en una solución 5% de ácido sulfúrico en etanol luego calentando hasta la aparición de las manchas. PF 206–209 °C.



**Esquema 19.** Esquema de reacción para la obtención de la CD-I (C).

Con el fin de caracterizar el intermediario CD-I se procedió a registrar el espectro RMN <sup>1</sup>H (Figura 46), obteniendo las siguientes señales RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 3.19-3.63 (m, 42 H), 4.41-4.55 (m, 6 H), 4.83-4.88 (m, 7 H), 5.63-5.80 (m, 14 H).

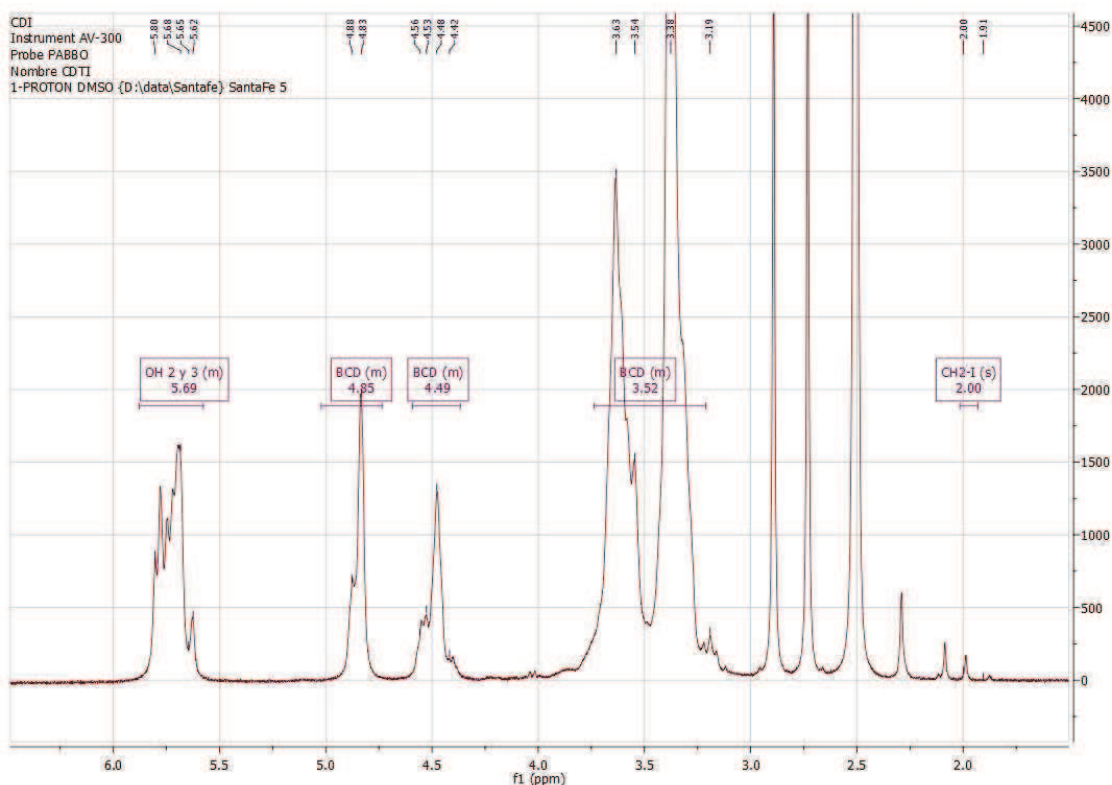


**Esquema 20.** Molécula modelo para el análisis por RMN-1H del CD-I



	Nombre	Desplazamiento	H's	Clase
1	CH2-I (s)	2.00	1	s
2	BCD (m)	4.85	7	m
3	BCD (m)	4.49	6	m
4	OH 2 y 3 (m)	5.69	14	m
5	BCD (m)	3.52	42	m

**Tabla 10.** Señales de RMN  $^1\text{H}$  obtenidas para el CD-OTs.



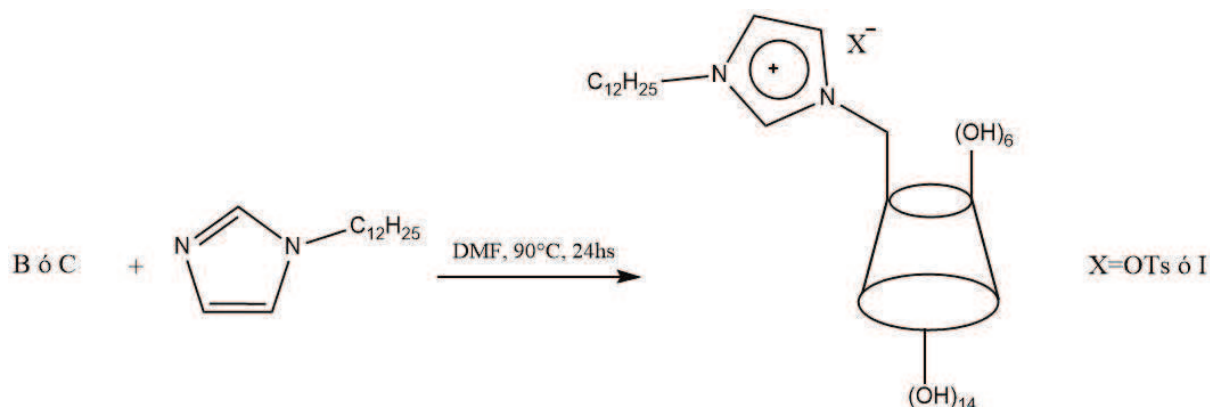
**Figura 46.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  del intermediario CD-I

Además del nuevo pico (a valores de desplazamiento químico de 1,90 ppm en el espectro de RMN de  $^1\text{H}$ ) asociados con el grupo CH2-I.

### C- Síntesis de Mono-6-deoxi-6-(3-dodecilimidazol)- $\beta$ -ciclodextrina tosilato y ioduro

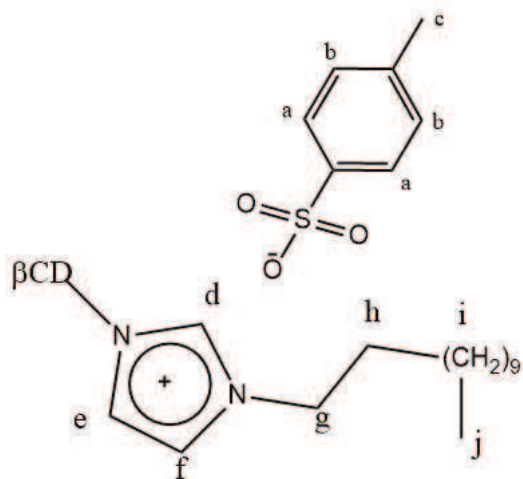
El paso final es lograr introducir el grupo  $\text{C}_{12}\text{Him}$  en la posición que se encuentra el tosilato o el ioduro según se indicó en la ruta sintética propuesta (Esquema 21). Se agrega a gota 8,3 mmol de alquilimidazol a 40 ml de una solución de CDI o  $\beta$ -CDOTs (0,83 mmol) en DMF anhidro. Se agita a  $90^\circ\text{C}$  u  $80^\circ\text{C}$  para CD-I o CD-OTs, respectivamente en atmósfera de nitrógeno por 24 h.

Se probó 48 hs sin cambios en el rendimiento. La mezcla de reacción se agitó por 30 min y después se filtró lavando con 100 ml de acetona. El sólido se disolvió en agua bidestilada 50 ml y precipitado con 300 ml de acetona. Se filtra el precipitado y se pone a secar. El seguimiento se realiza mediante TLC (2-PrOH/H<sub>2</sub>O/EtOAc/NH<sub>4</sub>OH 5:3:1:1), se revela sumergiendo en una solución 5% de ácido sulfúrico en etanol luego calentando hasta la aparición de las manchas.



**Esquema 21.** Reacción de síntesis del CD-C12im-X (X, OTs o I)

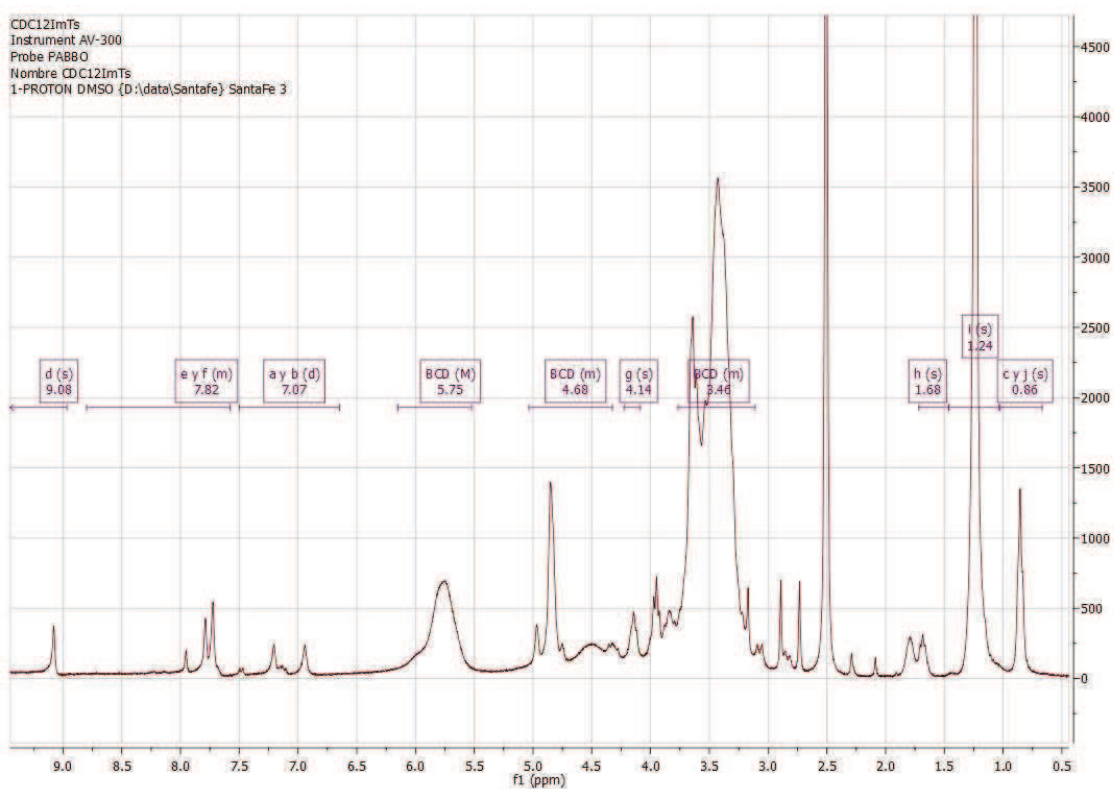
Los productos obtenidos fueron caracterizados en primera instancia por RMN <sup>1</sup>H (Figuras 47 y 48) donde la principal diferencia entre los derivados tosilados y yodados es la presencia de picos de tosilo. Para el dodecilimidazol (C<sub>12</sub>H<sub>25</sub>im), se observaron protones aromáticos del anillo de imidazolium a 9,08 ppm, 7,79 ppm y 7,72 ppm. Los protones aromáticos del anión tosilo se observaron a 7,19 ppm y 6,93 ppm.



**Esquema 22.** Molécula modelo CD-C12im OTs

	Nombre	Desplazamiento	H's	Clase
1	h	1.68	2	s
2	c y j	0.86	6	s
3	BCD	4.68	13	m
4	BCD	5.75	14	M
5	g	4.14	2	s
6	d	9.08	1	s
7	e y f	7.82	2	m
8	a y b	7.07	4	d
9	i	1.24	18	s
10	BCD	3.46	42	m

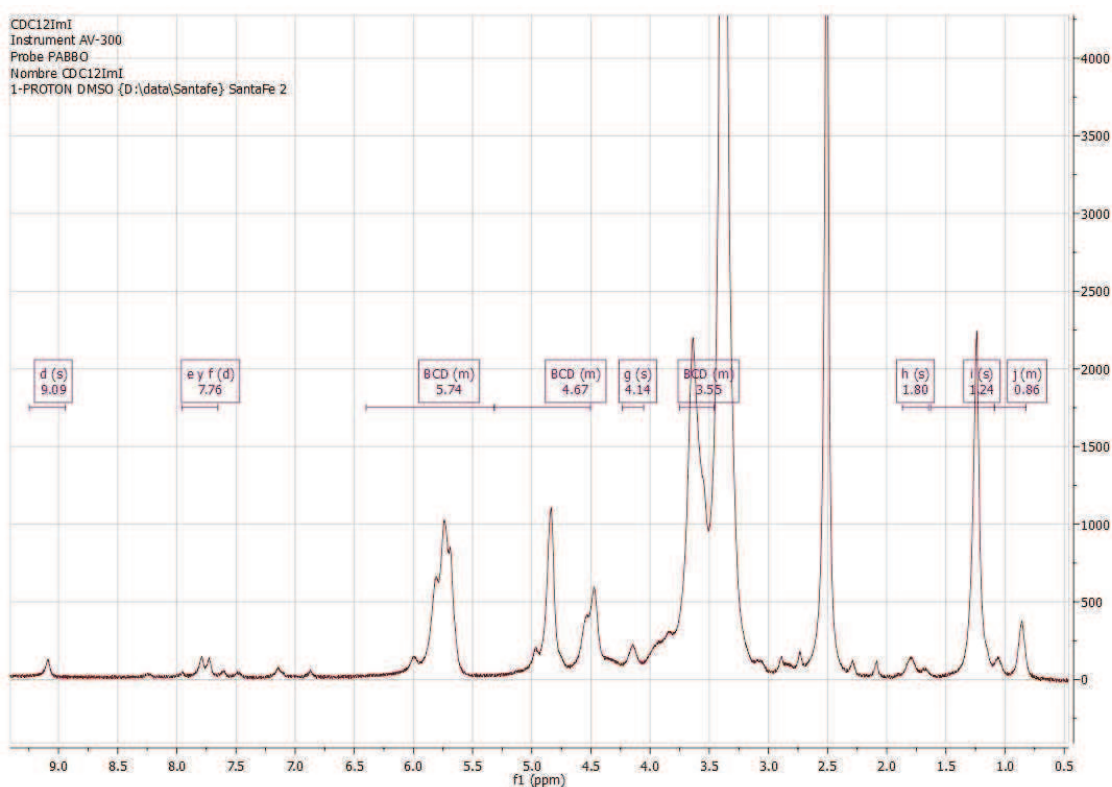
**Tabla 11.** Señales de RMN-1H obtenidas para el C<sub>12</sub>imCD Ts



**Figura 47.** Espectro RMN 1H del CD-C<sub>12</sub>im Ts

	Nombre	Desplazamiento	H's	Clase
1	BCD	4.67	13	m
2	j	0.86	7	m
3	e y f	7.76	2	d
4	h	1.80	2	s
5	BCD	3.55	42	m
6	d	9.09	1	s
7	BCD	5.74	12	m
8	i	1.24	18	s
9	g	4.14	2	s

**Tabla 12.** Señales de RMN-1H obtenidas para el CD-C<sub>12</sub>im I



**Figura 48.** Espectro de RMN 1H de CD-C<sub>12</sub>im I

Por otro lado, se lograron caracterizar por masa orbitrap ambos productos. El Orbitrap es un analizador de masas con trampa de iones que consta de dos electrodos externos y un electrodo central, que permite actuar como analizador y detector. Los iones que ingresan al Orbitrap se

capturan mediante «compresión electrodinámica», después oscilan alrededor del electrodo central y entre los dos electrodos externos. Los iones diferentes oscilan a diferentes frecuencias, lo que resulta en su separación. Al medir las frecuencias de oscilación inducidas por los iones en los electrodos externos, los espectros de masa de los iones se adquieren utilizando la detección de corriente de la imagen. Por otro lado, la ionización se puede realizar en modo positivo o negativo seleccionando la polaridad de los iones que se desea analizar mediante el voltaje capilar. Entonces el análisis por masa orbitrap logró obtener los siguientes resultados para el CD-C<sub>12</sub>Im Ts

Modo positivo

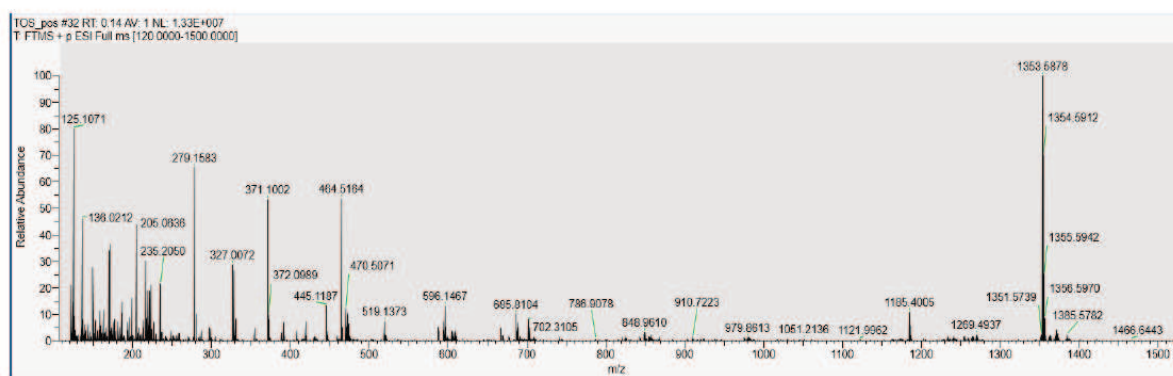


Figura 49. Espectro de masas para CD-C<sub>12</sub>im Ts en modo positivo.

Ampliando el pico de base

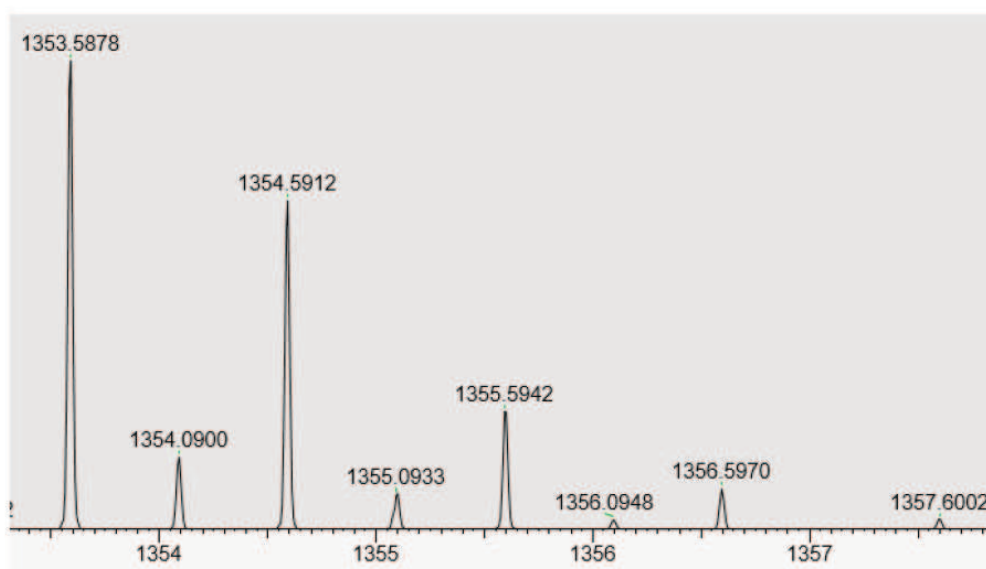
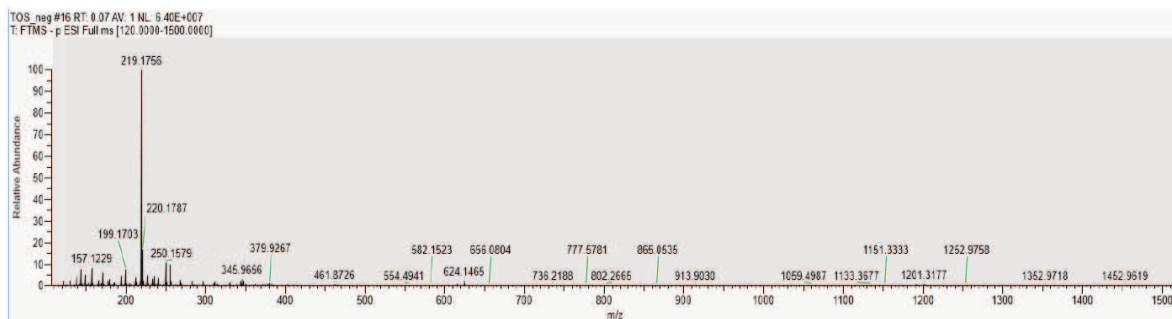


Figura 50. Espectro de masas para CD-C<sub>12</sub>im Ts con ampliación del pico base en modo positivo.

En este último espectro se observa un pico mayoritario de carga +1 y su distribución isotópica, a una relación  $m/z$  de 1353,5878 Th. Coincidente con el peso molecular teórico del catión.

Si ahora analizamos el modo negativo

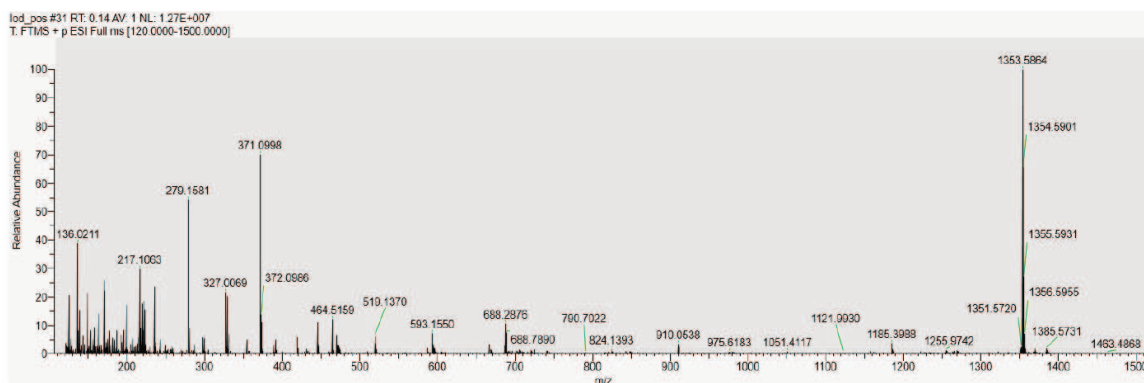


**Figura 51.** Espectro de masas para CD-C<sub>12</sub>im Ts en modo negativo.

Debido a la predominancia del pico base del solvente (219,1756 Th) no fue posible identificar el pico correspondiente al anión tosilato. Además, se puede ver que las especies di (786.7) y trisustituidas (597.6) se encuentran en una proporción menor al 5%.

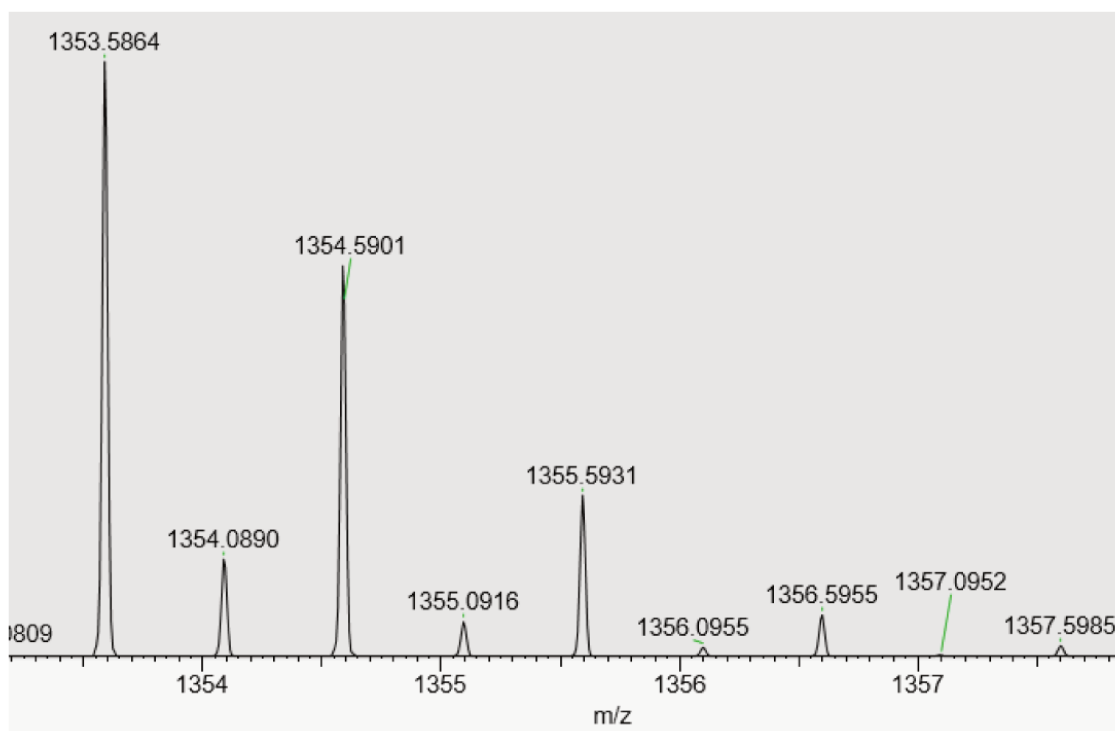
En cuanto al CD-C<sub>12</sub>im I se obtuvieron los siguientes resultados

Modo positivo



**Figura 52.** Espectro de masas para CD-C<sub>12</sub>im I en modo positivo.

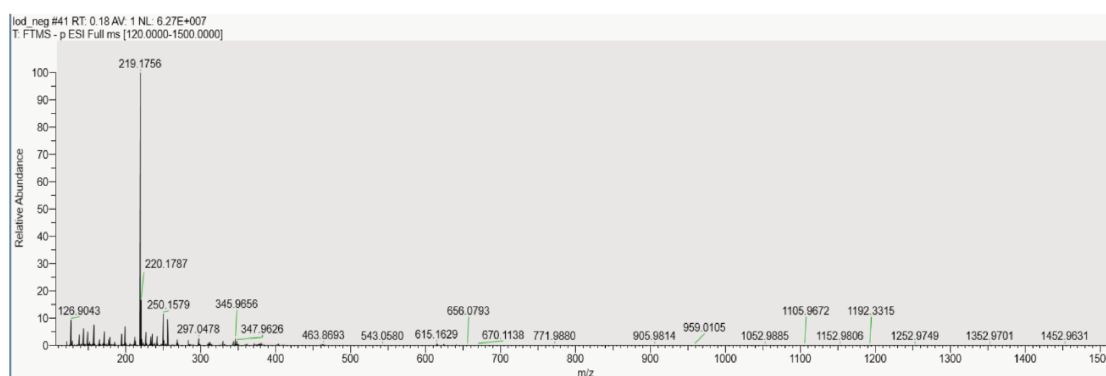
Ampliando el pico de base



**Figura 53.** Espectro de masas para CD-C<sub>12</sub>im I con ampliación del pico base en modo positivo.

Similar a lo encontrado para el producto tosildado, en este último se observa un pico mayoritario de carga +1 y su distribución isotópica, a una relación m/z de 1353,5864 Th, coincidente con el peso molecular teórico del catión y una predominancia del producto monosustituido mayor al 95%.

Por su parte, si analizamos el modo negativo



**Figura 54.** Espectro de masas para CD- C<sub>12</sub>im I en modo negativo.

En este caso, si bien el pico base del disolvente es predominante, se puede observar claramente la presencia del anión Ioduro en el pico de 126,9043 Th.

Uno de los objetivos además de analizar a los SALLs como modificadores de la estructura de materiales supramoleculares como las CDs es también lograr propiedades mejoradas en el nuevo material sintetizado, en este caso la CD-iónica. Si bien la caracterización fisicoquímica de este material excede a los objetivos específicos fijados inicialmente, se llevó a cabo la determinación de la solubilidad en agua de estos nuevos materiales iónicos. Para este análisis, se procedió a pesar 10 mg de la CD-ionica tosilada y el agregado de a porciones de 100ul de agua a 25°C, con agitación entre medio de los agregados. La total disolución se logró con 500ul de agua, es decir en estas condiciones la solubilidad resultó en 2g/100ml. Se observa una mejora respecto a la solubilidad publicada de la CD-nativa (1,85 g/ 100ml)<sup>164</sup> de un 20%. Con el derivado yodado se observaron similar comportamiento siendo levemente inferior la solubilidad que la tosilada (una mejora del 17%). Este valor dependerá del grado de pureza que se logre en el material final.

---

<sup>164</sup> Sigma-Aldrich product information sheet



# Capítulo 5

Conclusiones

## 5. Conclusiones

- Mediante el uso de la sonda NR tanto por espectroscopia de absorción UV-Vis y espectroscopia de fluorescencia, no solo se logró determinar las cmc de los SAILs estudiados corroborando los valores obtenidos en publicaciones anteriores, sino que además se pudo estudiar el proceso de micelización para cada SAIL mediante el cálculo de la constante de asociación. Las mayores constantes de asociación se obtuvieron para los LIs estudiados con cadenas hidrocarbonadas más extensas. Cabe destacar que la interacción de la sonda con la micela (zona micelar) fue más efectiva que con el monómero (zona pre-micelar) como era previsible, teniendo en cuenta que el sistema micelar constituye un medio más hidrofóbico, lo que posibilitaría una mayor solubilización de las sondas.
- Los resultados indican la inhibición de la velocidad de reacción con respecto a la reacción en agua, la cual presenta un valor bibliográfico de  $k_{wobs} = 6,17 \times 10^{-3} \text{ (s}^{-1}\text{)}$ [1]. La constante cinética observada en agua fue coincidente con los valores reportados a 25°C ( $k_{wobs} = 6,1 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ ). El efecto del surfactante sobre la velocidad de reacción resultó dependiente de los rangos de concentraciones de LI explorados. Cuando el surfactante se encuentra en forma monomérica ( $[LI] < CMC$ ) no existe asociación con el sustrato y este último se hidroliza a la misma velocidad que en ausencia de surfactante. A concentraciones de LI mayores a la CMC, ( $[LI] > CMC$ ), el surfactante forma agregados micelares en cuyo interior hidrofóbico tienden a situarse las moléculas del sustrato debido a su carácter no polar. En este ambiente la velocidad de hidrólisis es menor que en agua, hecho que se traduce en valores de  $k_{obs}$  más bajos. Por ejemplo, la  $k_{obs}$  disminuye 10 veces con la adición de  $C_{16}Him-S$ . Este efecto se vio reflejado, en mayor o menor medida, con los otros LIs. Puede observarse que, en general, a medida que aumenta la longitud de la cadena alquílica en el LI, se produce mayor inhibición en la velocidad de reacción. Así, los sistemas reactivos que exhiben mayor inhibición en la velocidad de reacción contienen a los LIs  $C_{16}Him-F$  y  $C_{16}Him-S$ .
- Los valores de  $k_w/k_{obs(max)}$  indican una disminución de velocidad de la hidrólisis de CMBS en presencia de los LIs, ya que el sustrato se ubica preferentemente en la fase micelar donde la concentración de agua es baja. El análisis de los valores obtenidos de  $K_{ms}$  indicó una mayor presencia del sustrato en la fase micelar para el sistema formado por  $C_{16}Him-F$  con respecto a los sistemas restantes, en concordancia con la disminución de la polaridad de las micelas, que favorece su solubilización. La inhibición de la reacción en la fase micelar con respecto a la fase acuosa se explica teniendo en cuenta que la

velocidad de reacción disminuye en un medio menos polar, es decir, con un menor contenido de agua, necesaria para la hidrólisis del sustrato. Con respecto a los valores de  $K_{ms}$ , se puede concluir que, en todos los casos, los LIs estudiados en este trabajo exhiben mayores constantes de distribución, indicando mayor preferencia por la pseudofase micelar.

- Los resultados de la caracterización voltamétrica de los SAILs fundidos permiten arribar a ciertas conclusiones sobre la potencialidad de la técnica de voltametría cíclica para caracterizar las especies presentes en este tipo de LIs. Al respecto, resulta evidente que la interacción del electrodo con estos LIs (independientemente del anión) es muy compleja e involucra etapas de adsorción y/o electro-adsorción, más intensas en los LIs de cadena alquílica más larga, lo cual dificulta la interpretación de los voltagramas (como ocurrió en los SAILs con cationes  $[C_{14}Him]$  y  $[C_{16}Him]$ ). A pesar de ello, en los LIs fundidos con cationes  $[C_{10}Him]$  y  $[C_{12}Him]$  se pudo determinar la ausencia de precursores libres, es decir comprobar que los mismos están conformados mayormente por el par iónico.
- Se ha demostrado que la técnica de voltametría cíclica (particularmente sobre macroelectrodos) es potencialmente aplicable para caracterizar la formación de micelas en estos sistemas anfífilos y el encapsulamiento de sondas electroquímicamente activas en las mismas, ya que se ha verificado una fuerte sensibilidad de los parámetros medibles (corriente y potencial de pico) con la concentración de SAIL presente en la solución. No obstante, también se ha demostrado que los SAILs analizados en esta Tesis forman espontáneamente películas auto-organizadas sobre la superficie de los electrodos en medio acuoso, con lo cual las respuestas de los mismos en realidad resultan de una convolución de la reacción de electrodo con procesos de transferencia de electrones que ocurren en esta película. Se requiere así un estudio más profundo que apunte a desarrollar un protocolo que permita aplicar el método voltamétrico de una manera reproducible y confiable.
- Se estudió la interacción con el DZM por espectroscopia UV-Vis y por fluorescencia, determinando las constantes de asociación correspondientes. Se observa un aumento aproximadamente 10 veces mayor de la constante de asociación de la zona micelar con respecto a la zona pre-micelar, estando esto relacionado con el carácter hidrofóbico del fármaco y su interacción más favorable en un ambiente de menor polaridad como el de la zona micelar. Al analizar la influencia de los aniones, se puede observar que las micelas con LIs con cadenas alquílicas de 10 y 12 Carbonos, el fármaco se asocia en

mayor grado cuando las sales contienen el anión metanosulfonato. Contrariamente, para las micelas con LIs con cadenas alquílicas de 14 y 16 carbonos, se observa una clara inversión en los resultados, los cuales indican una mayor asociación del fármaco con los sistemas de LIs con el anión trifluoroacetato. Esto podría estar relacionado con algún tipo de interacción particular entre DZM y el anión metanosulfonato. Para las cadenas alquílicas mayores, la interacción del fármaco con el resto alquílico hidrofóbico adquiere mayor relevancia. El fármaco exhibe mayor asociación con los sistemas micelares de C<sub>16</sub>Him-F, C<sub>14</sub>Him-F y C<sub>16</sub>Him-S; siendo el primer sistema donde tiene lugar el mayor valor de constante, esto está relacionado con un micro-entorno de menor polaridad. La asociación de DZM con un surfactante tradicional catiónico como CTAB, tiene un valor de constante para la región pre-micelar de 842 M<sup>-1</sup> <sup>33</sup>. Si la comparamos con los LIs estudiados de igual cadena alquílica, se observa que para el anión F la interacción entre DZM-LI es mayor.

- Los resultados indican que el aumento de la citotoxicidad de SAIL en las células A549 puede correlacionarse con el aumento de la longitud de la cadena lateral alifática, como se informó anteriormente.<sup>1</sup> Además, diferentes aniones también pueden cambiar la citotoxicidad en las células A549. Sin embargo, este efecto no es independiente de n. En este caso, el efecto n es más fuerte en el anión CF<sub>3</sub>CO<sub>2</sub><sup>-</sup> (F) que en el anión CH<sub>3</sub>SO<sub>3</sub><sup>-</sup> (S), probablemente debido a alguna interacción entre las cadenas laterales alquilo dentro del anión S.
- Por otro lado, los aniones F y S no tienen un impacto significativo sobre la estabilidad micelar y la solubilización de Viol ( $p > 0,05$ ). Además, ([C<sub>16</sub>HIm]-F) y [C<sub>16</sub>HIm]-S no muestran diferencias significativas entre ellos a las 24 y 48 h ( $p > 0,05$ ), aunque sí en el tiempo cero ( $p < 0,01$ ).
- Además, las interacciones de SAIL con concentraciones de Viol estandarizadas parecen depender en gran medida de la longitud de la cadena alquílica. Sin embargo, todos los SAIL probados son significativamente diferentes del control. Los SAILS que contienen cadenas laterales más largas pueden incorporar más Viol a la solución y las micelas resultantes pueden sostener a Viol durante períodos de tiempo más prolongados ( $p < 0,0001$ ). Este efecto podría estar asociado con la naturaleza hidrofóbica de la longitud de la cadena lateral del alcano y mejora la interacción SAIL-Viol, interfiriendo con el contacto Viol-Viol mediado por los anillos de hidroxindol.
- Se logró poner a punto una ruta sintética y caracterizar, la formación del complejo CD-SAIL con diferentes aniones, logrando la monosustitución de la beta ciclodextrina.

**Anexo**

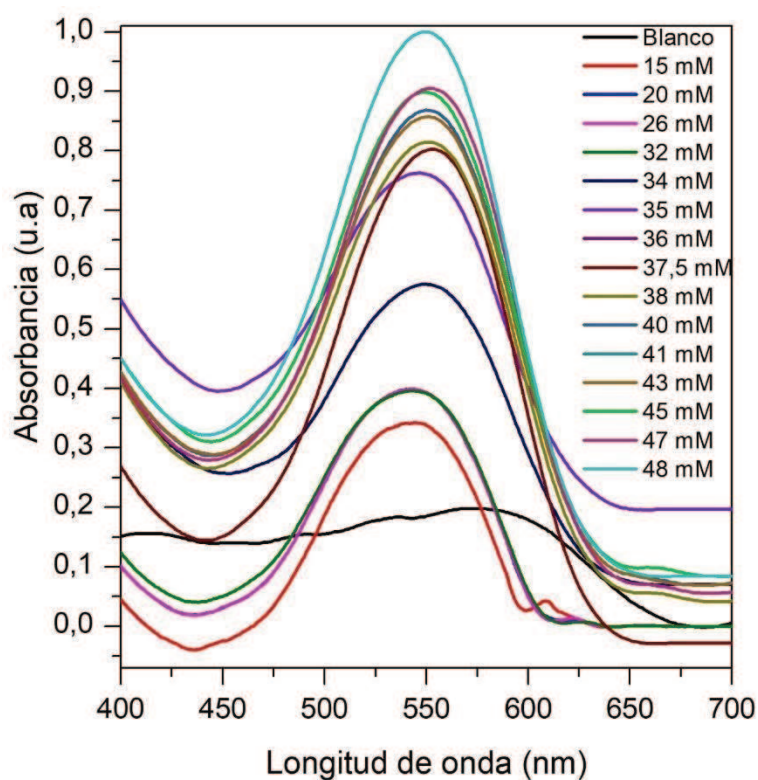
## Anexo

### Caracterización de sistemas micelares

Determinación de la Concentración Micelar Crítica mediante métodos espectroscópicos UV-Vis de absorción y emisión molecular

*Análisis por Espectroscopia UV-Vis de Absorción.*

#### C<sub>10</sub>Him-S



**Figura 55.** Espectros de absorción de soluciones conteniendo 6,1 μM de la sonda NR y concentraciones crecientes del SAILs C<sub>10</sub>Him-S

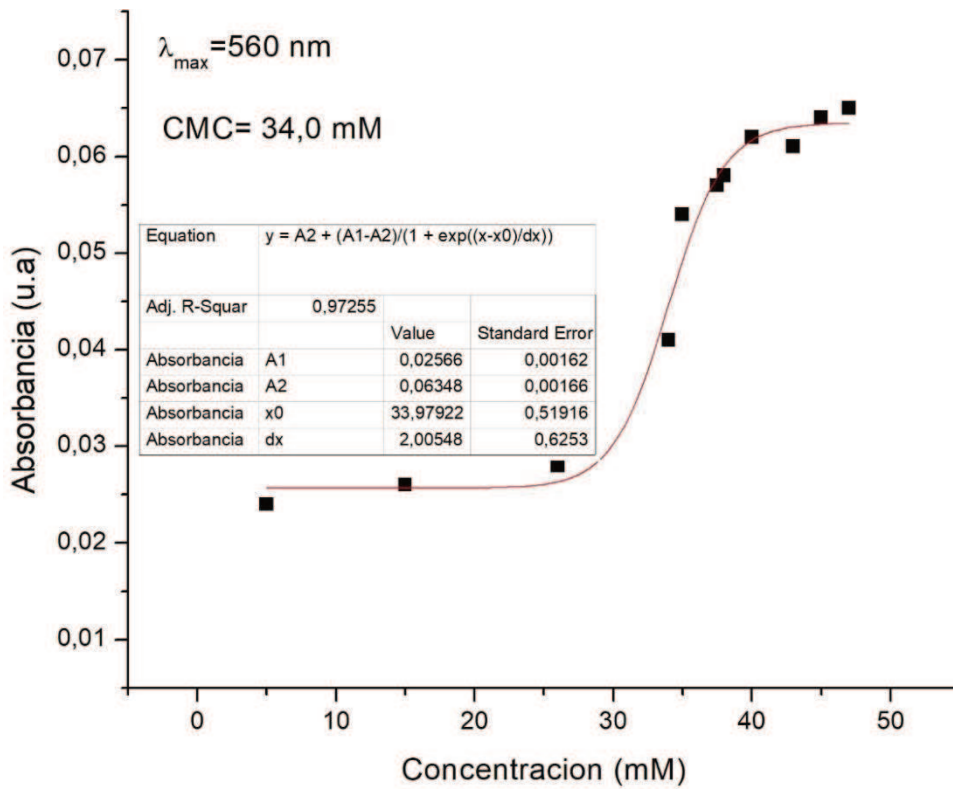


Figura 56. Variación de la absorción de la sonda NR (6,1  $\mu\text{M}$ ) a los 543 nm en función de la concentración del SAILs C<sub>10</sub>Him-S

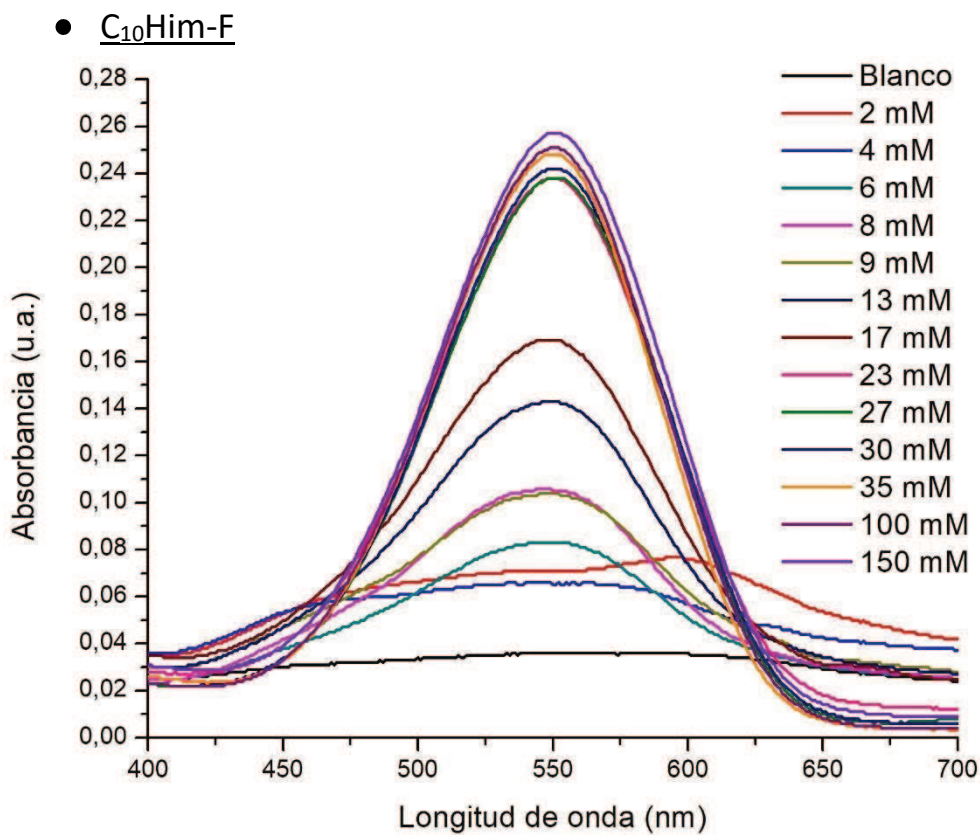
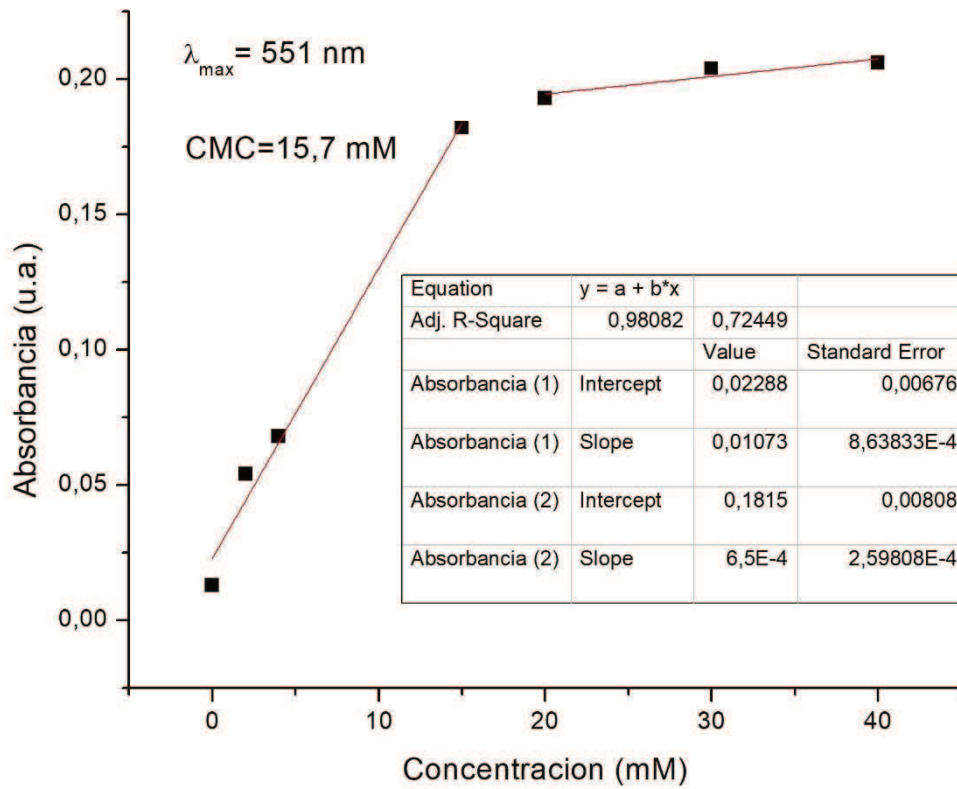
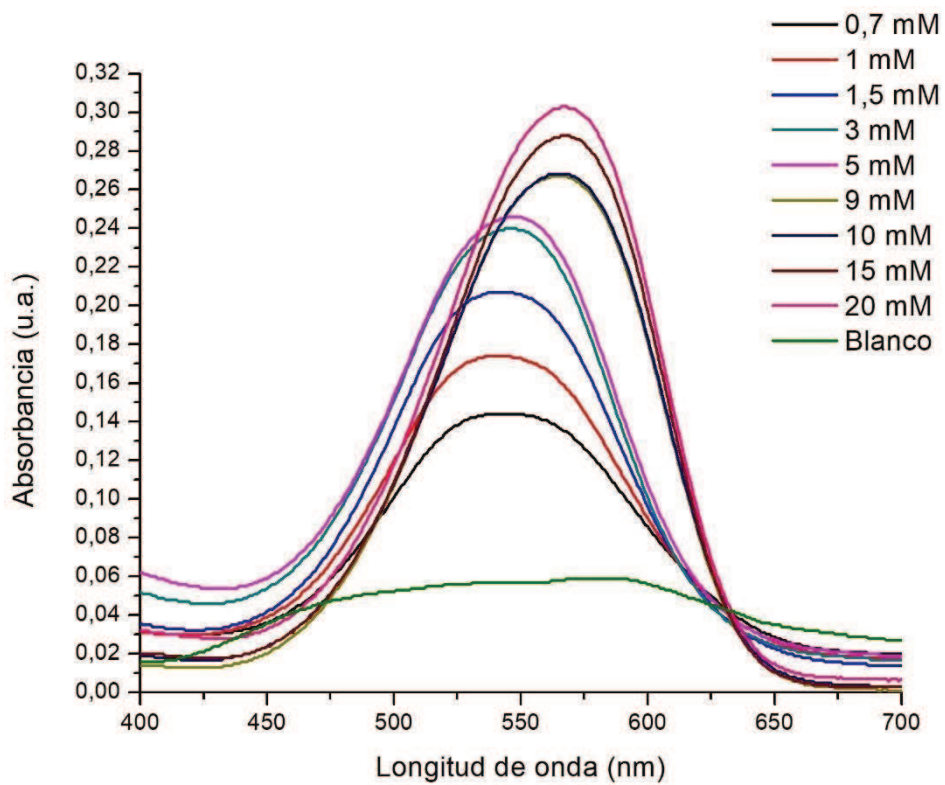


Figura 57. Espectros de absorción de soluciones conteniendo 6,1  $\mu\text{M}$  de la sonda NR y concentraciones crecientes del SAILs C<sub>10</sub>Him-F



**Figura 58.** Variación de la absorción de la sonda NR (6,1  $\mu\text{M}$ ) a los 543 nm en función de la concentración del SAILs  $\text{C}_{10}\text{Him-F}$ .

- $\text{C}_{12}\text{Him-S}$



**Figura 59.** Espectros de absorción de soluciones conteniendo 6,1  $\mu\text{M}$  de la sonda NR y concentraciones crecientes del SAILs  $\text{C}_{12}\text{Him-S}$ .



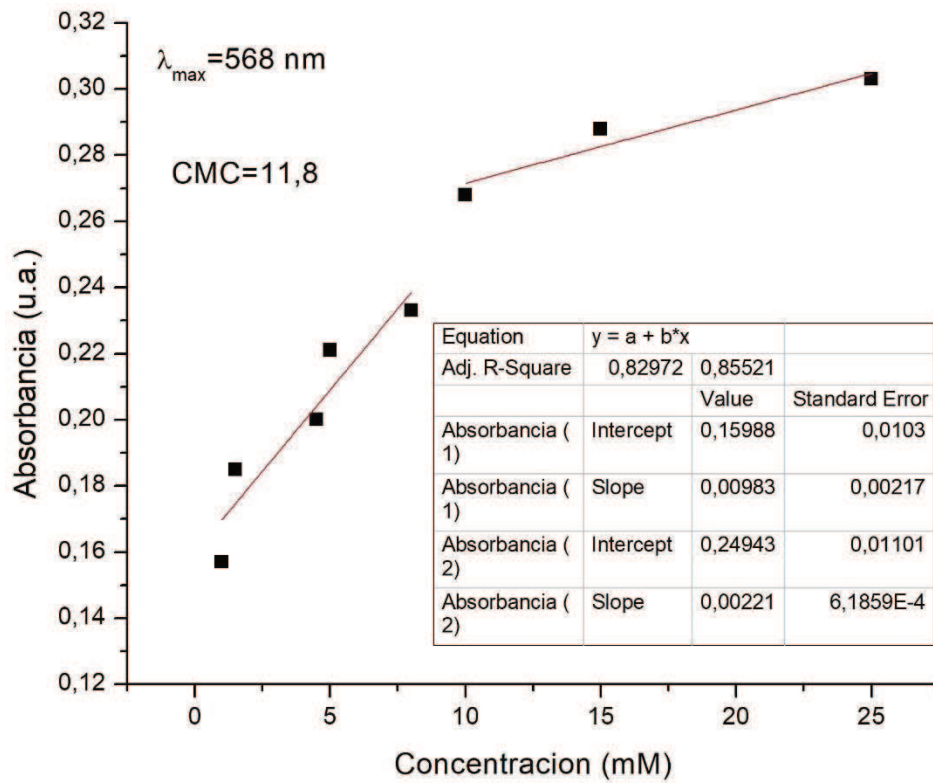


Figura 60. Variación de la absorción de la sonda NR (6,1  $\mu\text{M}$ ) a los 543 nm en función de la concentración del SAILs  $\text{C}_{12}\text{Him-S}$ .

●  $\text{C}_{12}\text{Him-F}$

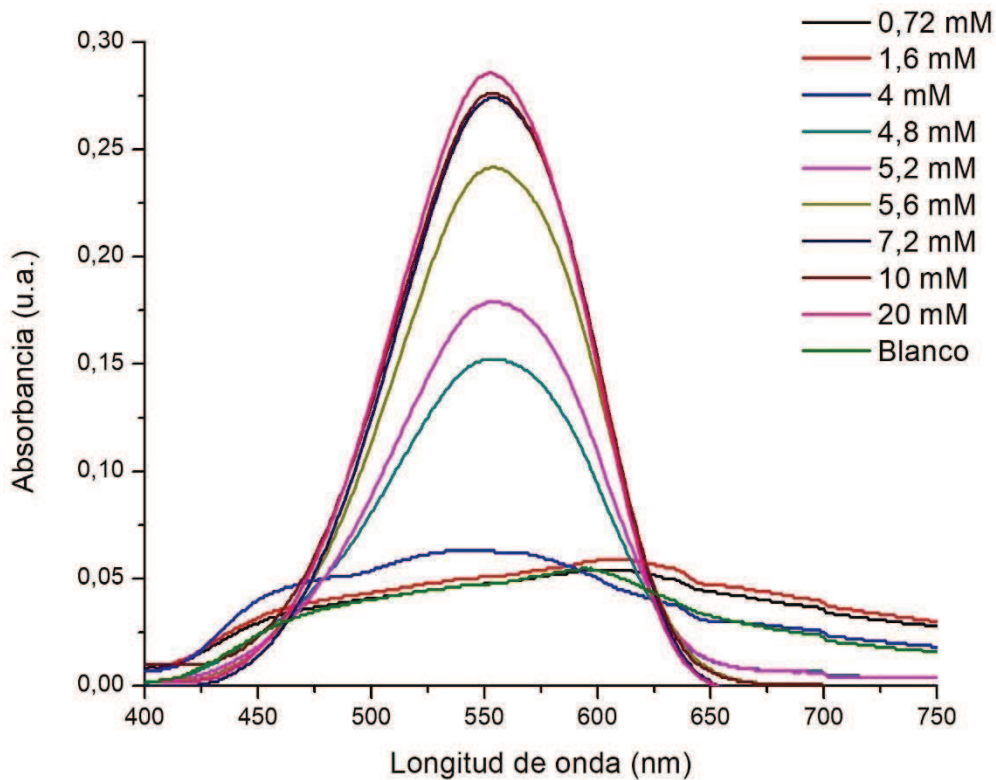


Figura 61. Espectros de absorción de soluciones conteniendo 6,1  $\mu\text{M}$  de la sonda NR y concentraciones crecientes del SAILs  $\text{C}_{12}\text{Him-F}$ .

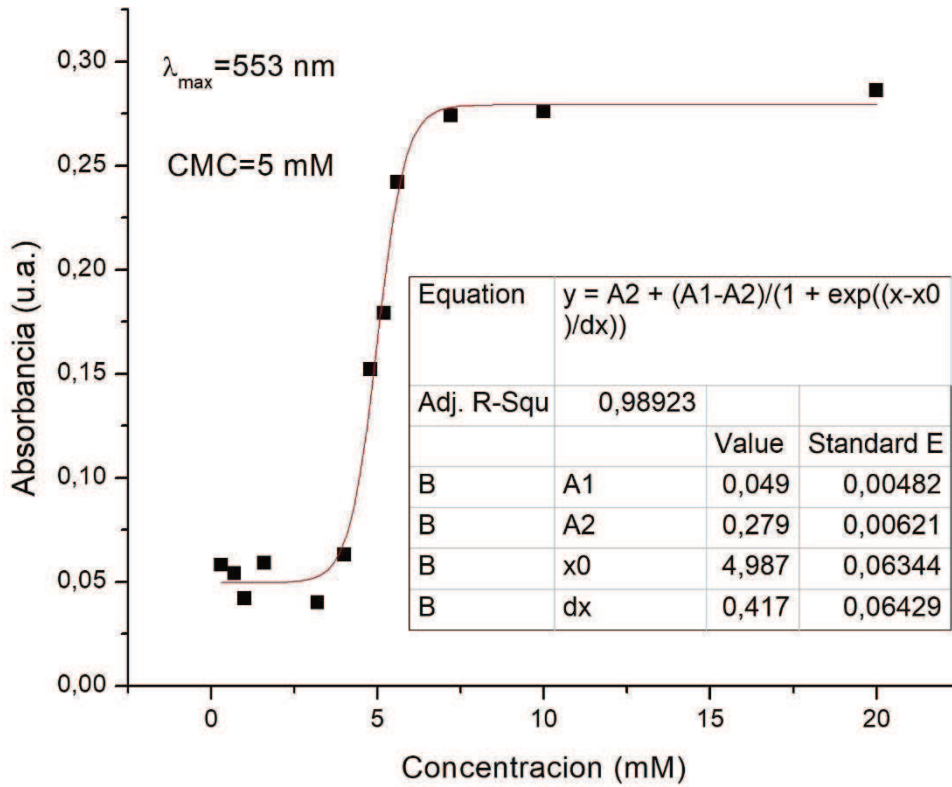


Figura 62. Variación de la absorción de la sonda NR (6,1  $\mu\text{M}$ ) a los 543 nm en función de la concentración del SAILs  $\text{C}_{12}\text{Him-F}$ .

●  $\text{C}_{14}\text{Him-S}$

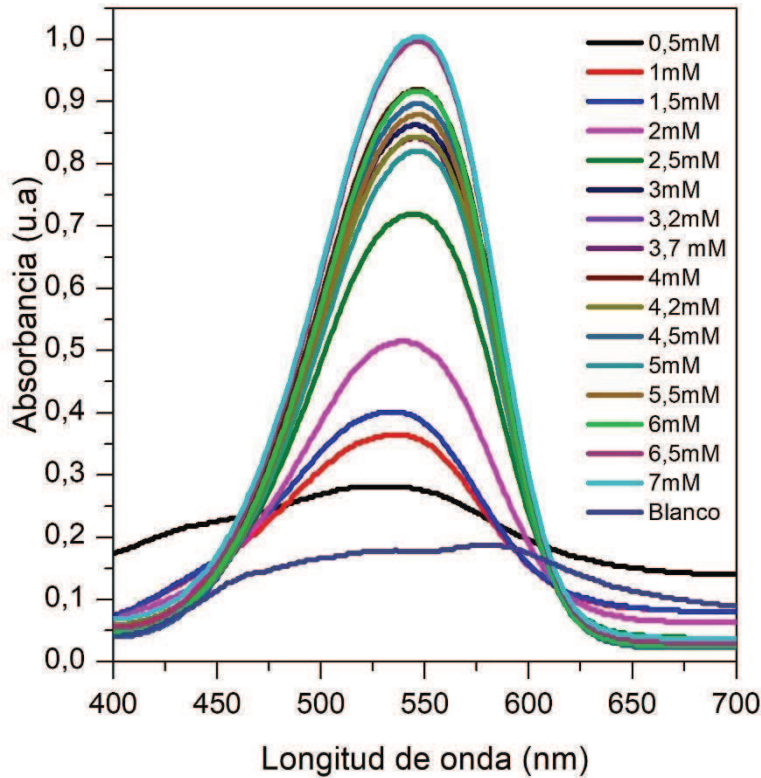
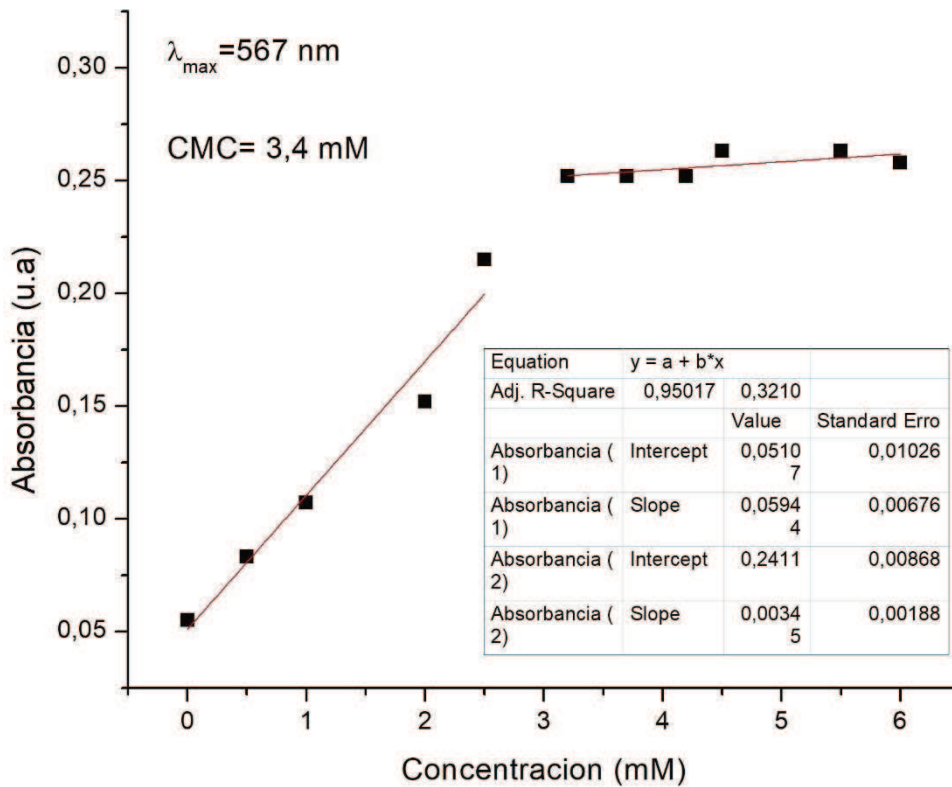
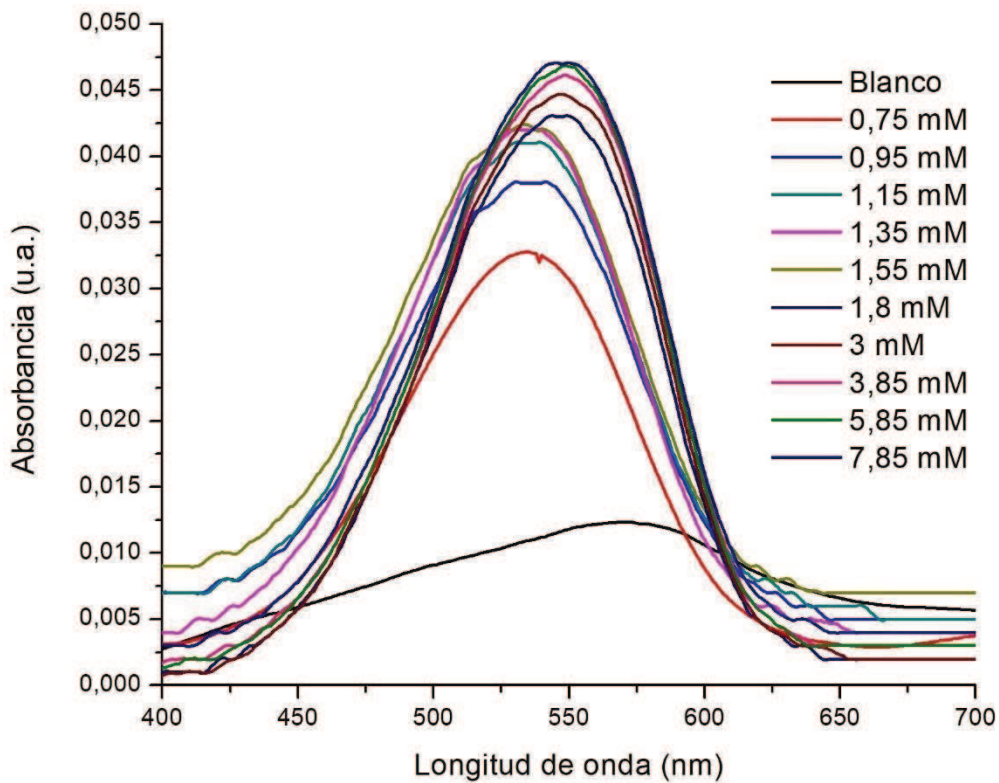


Figura 63. Espectros de absorción de soluciones conteniendo 6,1 $\mu\text{M}$  de la sonda NR y concentraciones crecientes del SAILs  $\text{C}_{14}\text{Him-S}$ .

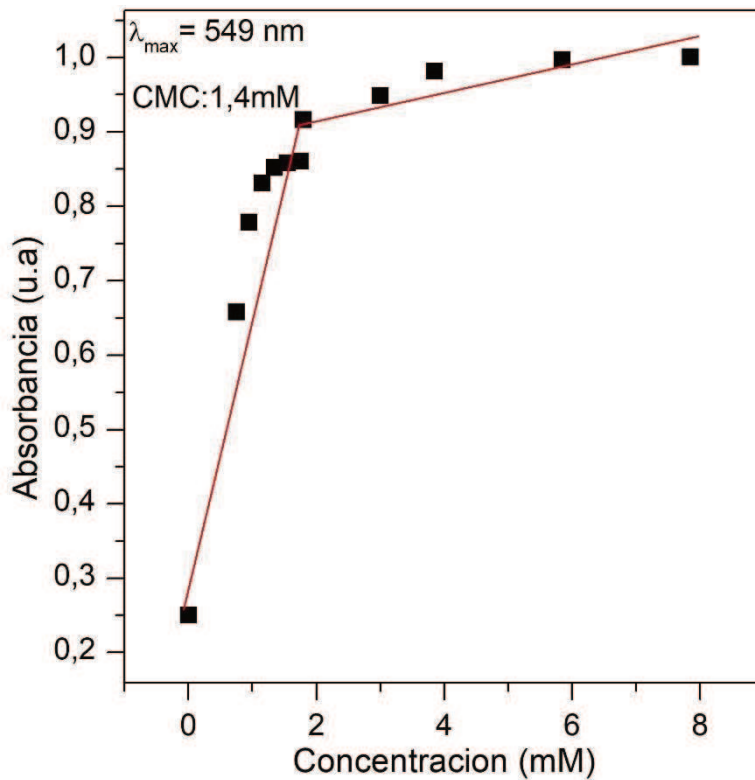


**Figura 64.** Variación de la absorción de la sonda NR (6,1  $\mu\text{M}$ ) a los 543 nm en función de la concentración del SAILs  $\text{C}_{14}\text{Him-S}$ .

●  $\text{C}_{14}\text{Him-F}$



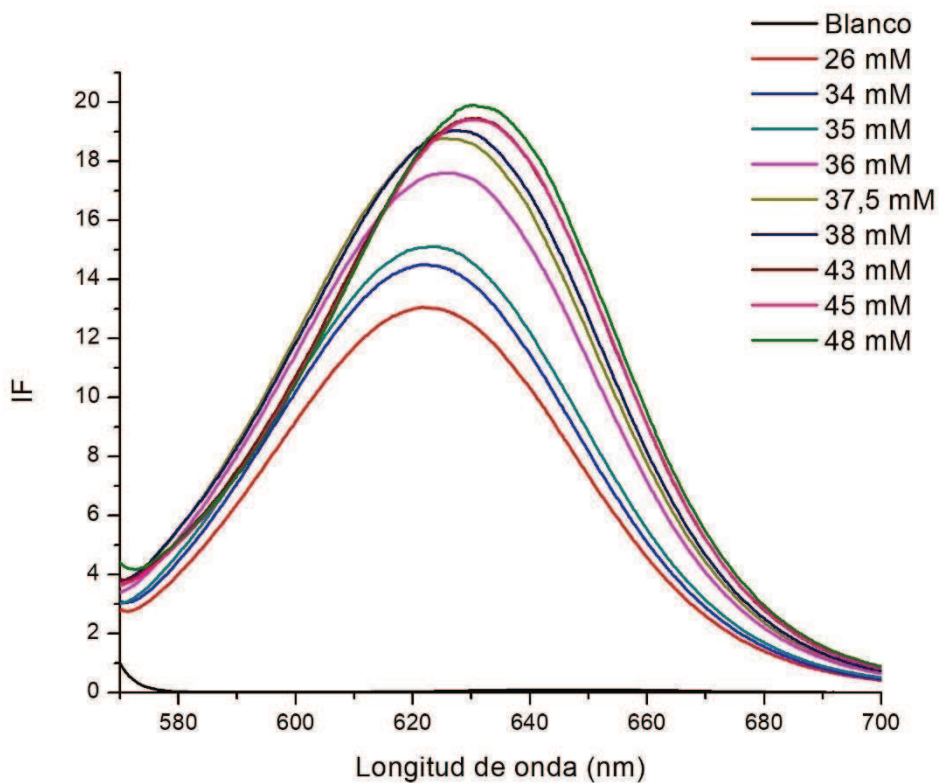
**Figura 65.** Espectros de absorción de soluciones conteniendo 6,1  $\mu\text{M}$  de la sonda NR y concentraciones crecientes del SAILs  $\text{C}_{14}\text{Him-F}$ .



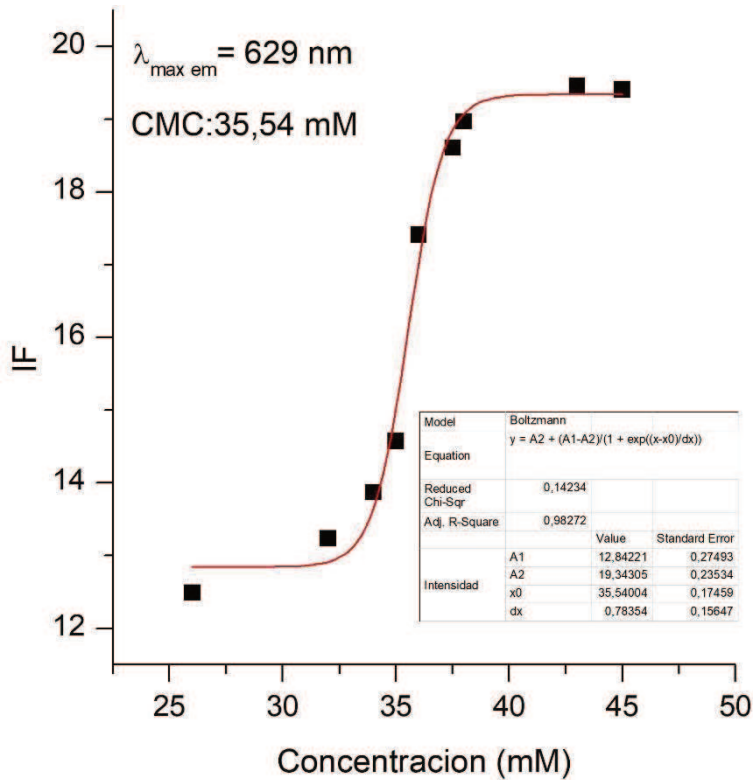
**Figura 66.** Variación de la absorción de la sonda NR (6,1  $\mu\text{M}$ ) a los 543 nm en función de la concentración del SAILs  $\text{C}_{14}\text{Him-F}$ .

Análisis por Espectroscopia de Fluorescencia Molecular

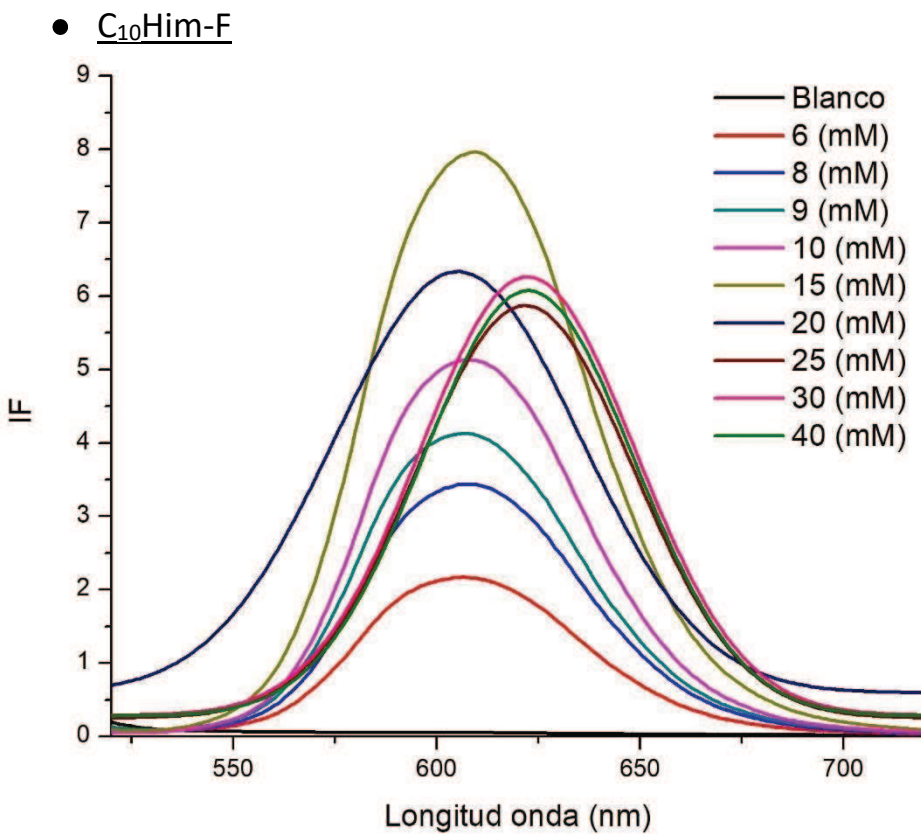
### $\text{C}_{10}\text{Him-S}$



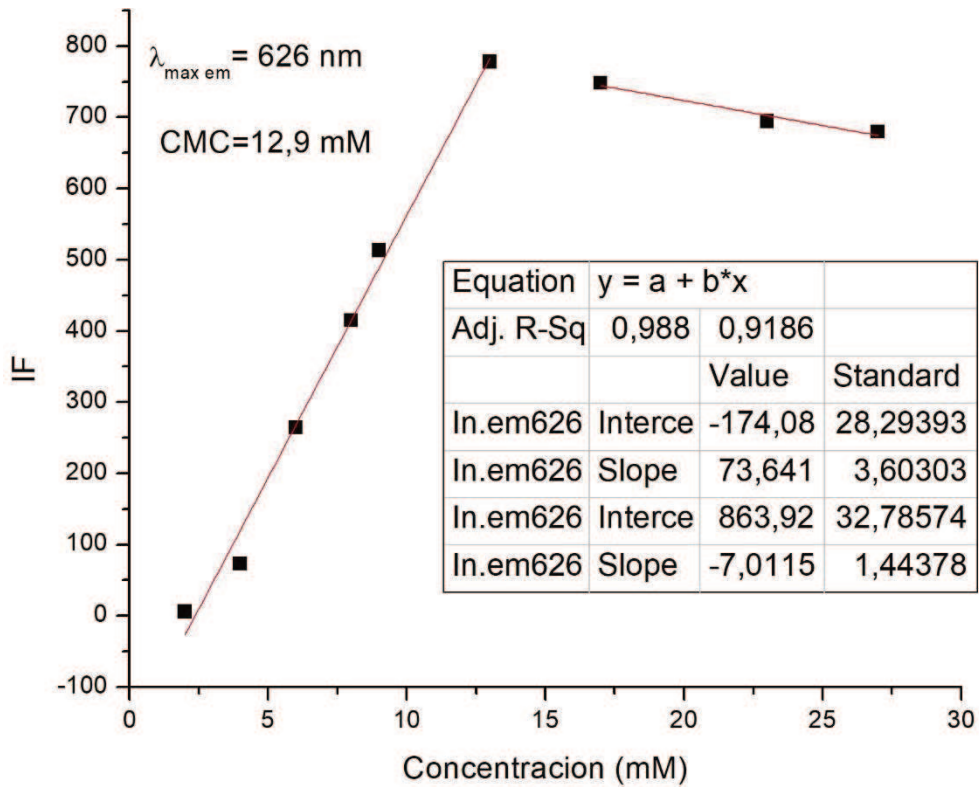
**Figura 67.** Espectros de emisión (IF) del NR en función de la concentración del C<sub>10</sub>Him-S.



**Figura 68.** Variación de la emisión (IF) de la sonda NR (6,1  $\mu\text{M}$ ) a los 543 nm en función de la concentración del SAILs C<sub>10</sub>Him-S.

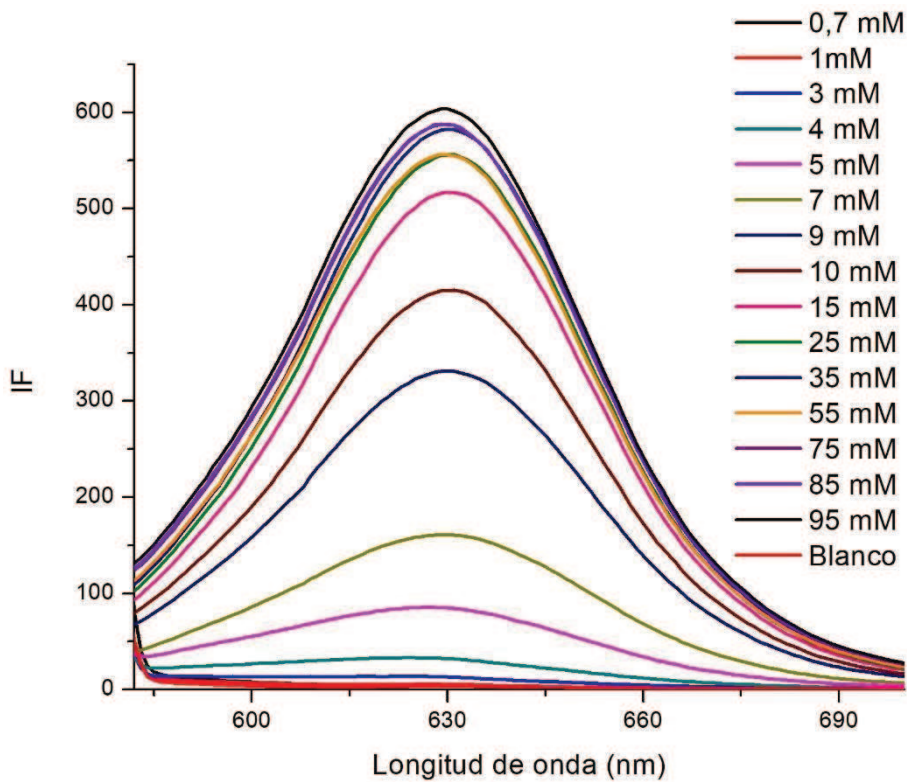


**Figura 69.** Espectros de emisión (IF) del NR en función de la concentración del C<sub>10</sub>Him-F.



**Figura 70.** Variación de la emisión (IF) de la sonda NR (6,1 μM) a los 543 nm en función de la concentración del SAILs C<sub>10</sub>Him-F.

● C<sub>12</sub>Him-S



**Figura 71.** Espectros de emisión (IF) del NR en función de la concentración del C<sub>12</sub>Him-S.

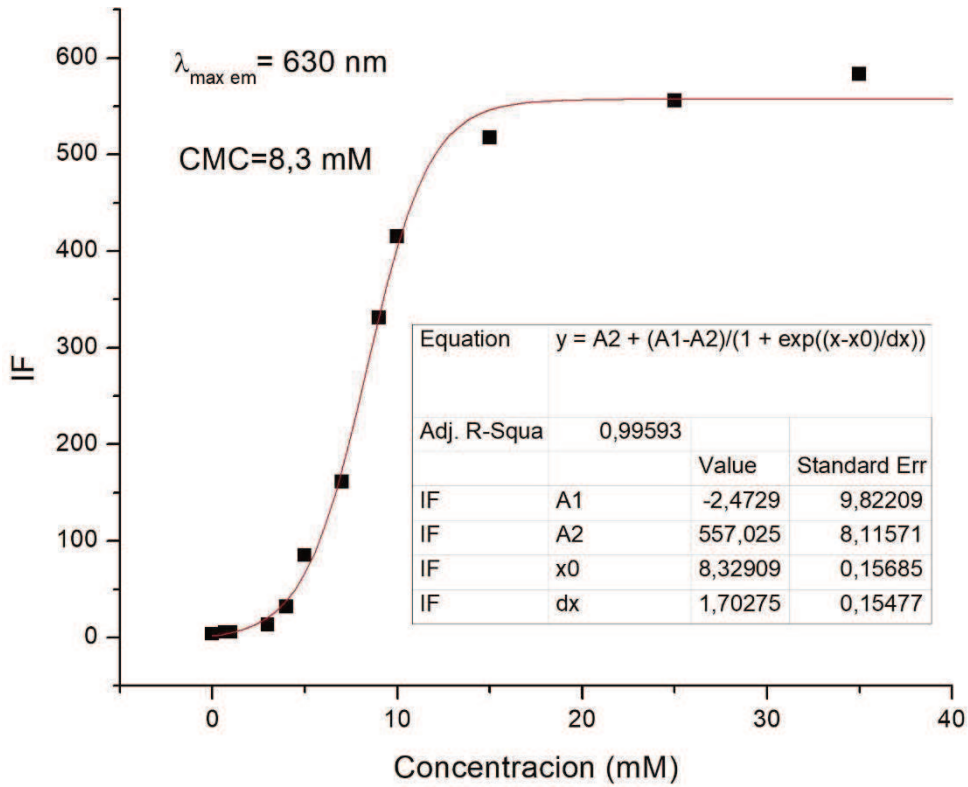


Figura 72. Variación de la emisión (IF) de la sonda NR (6,1  $\mu\text{M}$ ) a los 543 nm en función de la concentración del SALLs  $\text{C}_{12}\text{Him-S}$ .

●  $\text{C}_{12}\text{Him-F}$

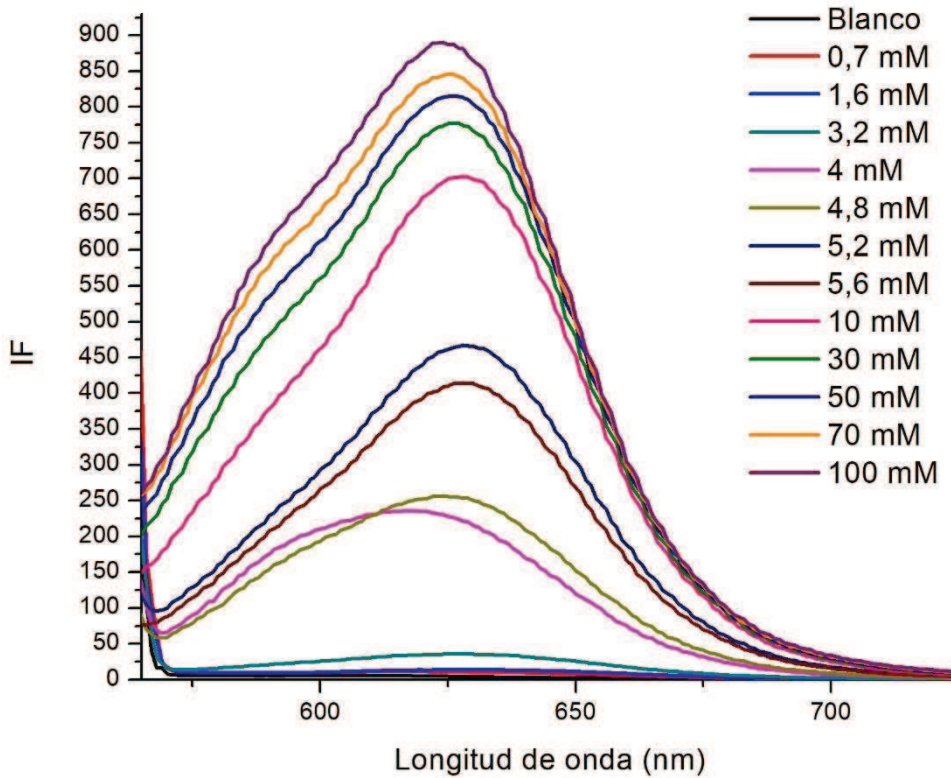


Figura 73. Espectros de emisión (IF) del NR en función de la concentración del  $\text{C}_{12}\text{Him-F}$ .

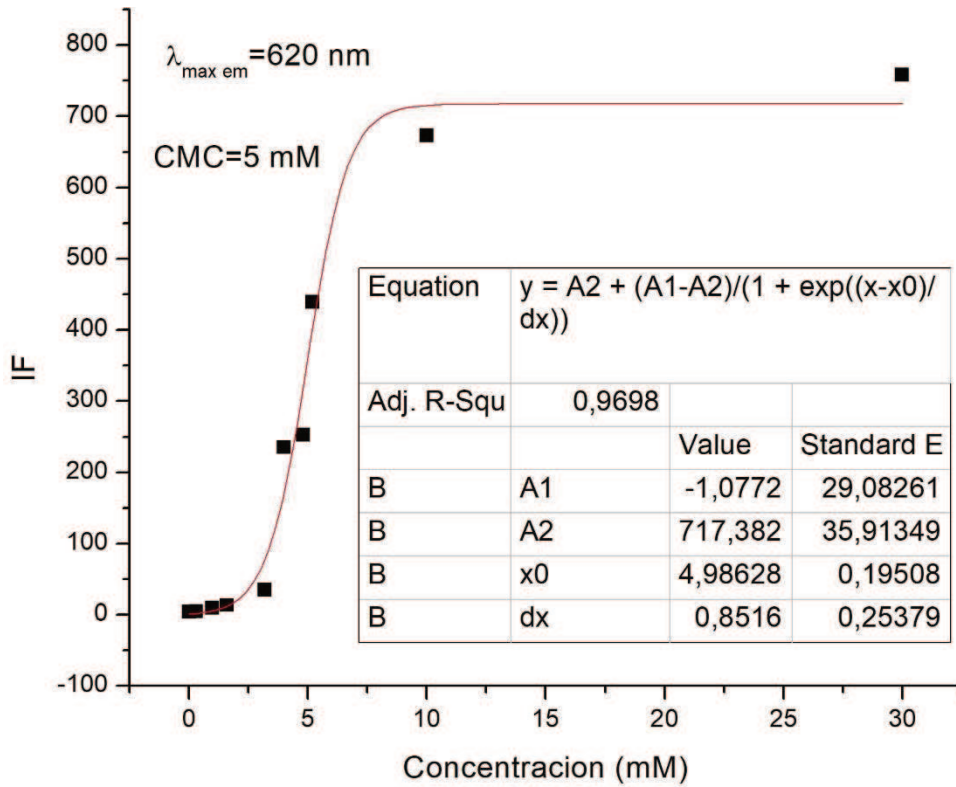


Figura 74. Variación de la emisión (IF) de la sonda NR (6,1  $\mu\text{M}$ ) a los 543 nm en función de la concentración del SAILs  $\text{C}_{12}\text{Him-F}$ .

●  $\text{C}_{14}\text{Him-S}$

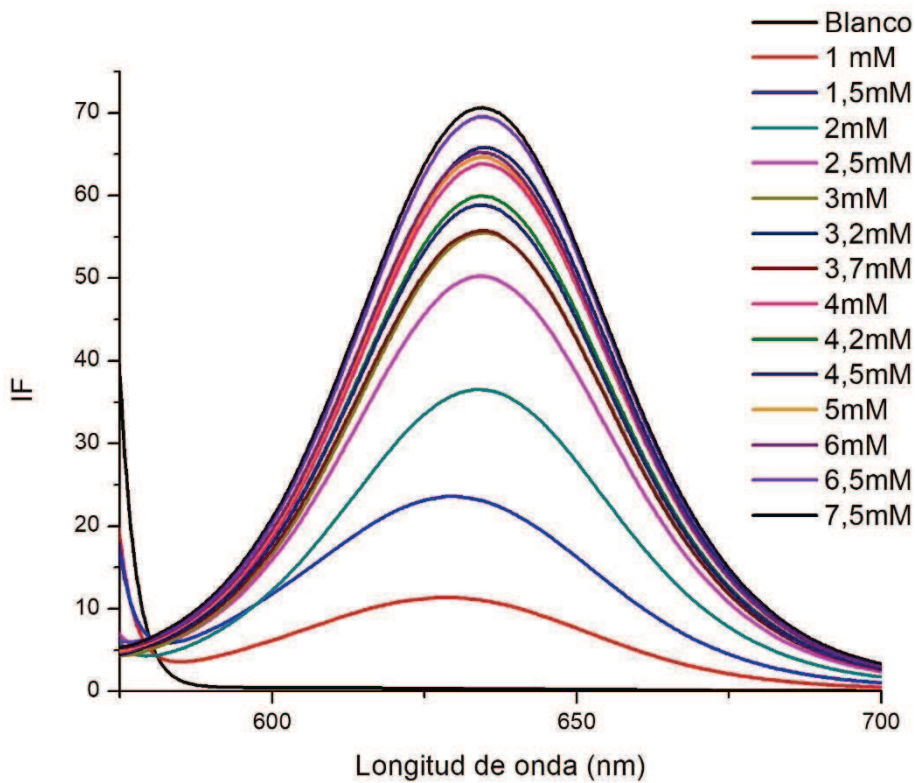


Figura 75. Espectros de emisión (IF) del NR en función de la concentración del  $\text{C}_{14}\text{Him-S}$ .



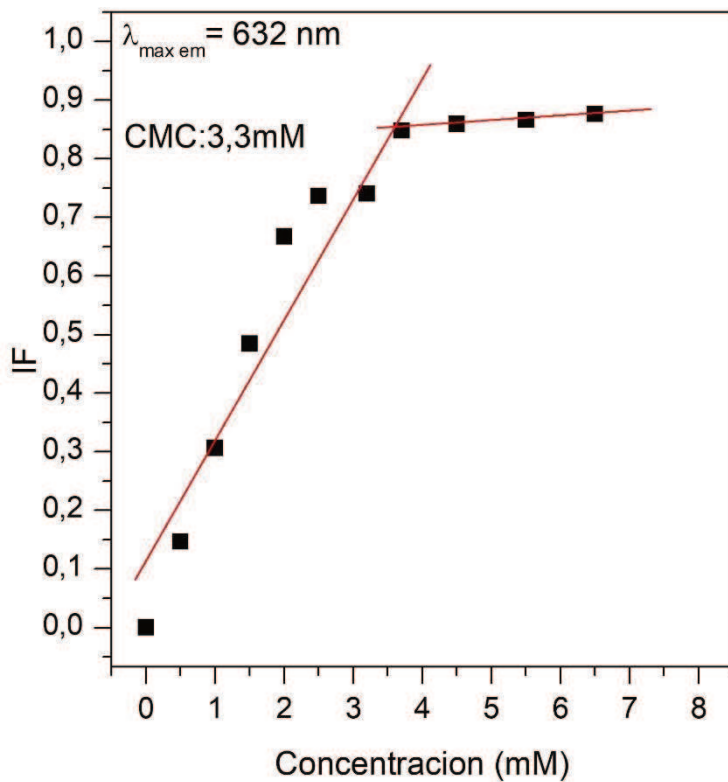


Figura 76. Variación de la emisión (IF) de la sonda NR (6,1 μM) a los 543 nm en función de la concentración del SAILs C<sub>14</sub>Him-S.

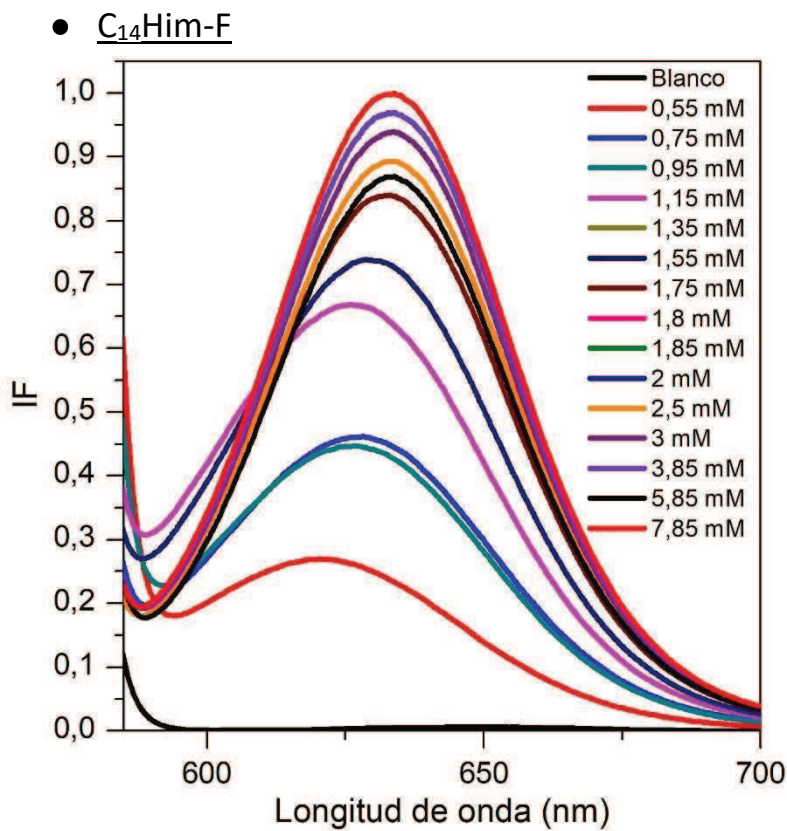
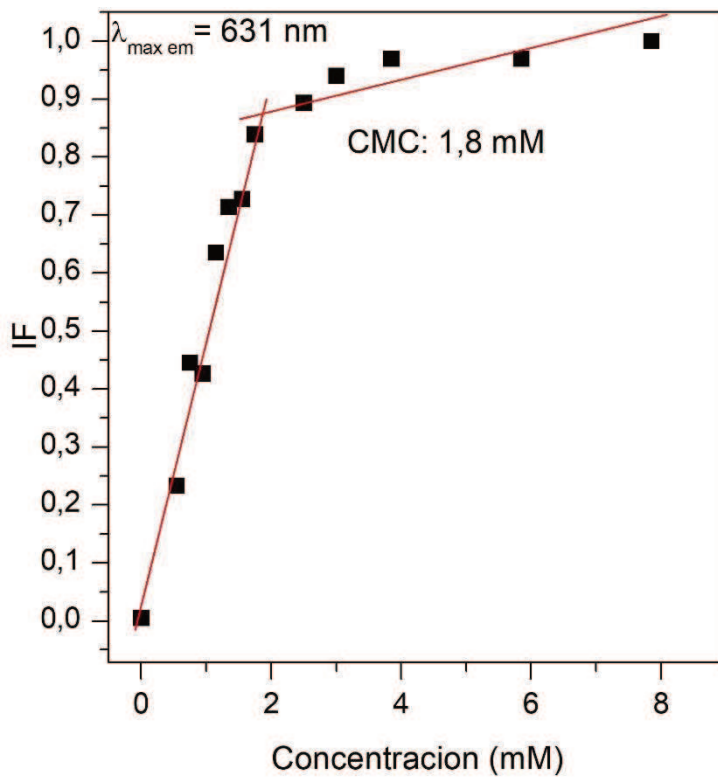


Figura 77. Espectros de emisión (IF) del NR en función de la concentración del C<sub>14</sub>Him-F.



**Figura 78.** Variación de la emisión (IF) de la sonda NR (6,1 μM) a los 543 nm en función de la concentración del SAILs C<sub>14</sub>HIm-F.

Determinación de la constante de asociación

Espectroscopia UV-Vis de Absorción.

C10HIm-S

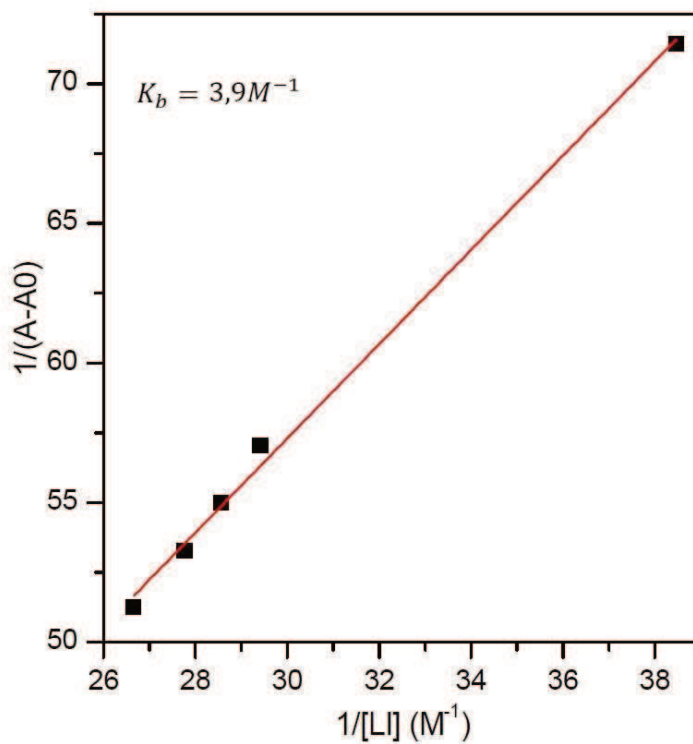


Figura 79. Regresión lineal para el complejo C<sub>10</sub>HIm-S-NR en la zona pre-micelar.

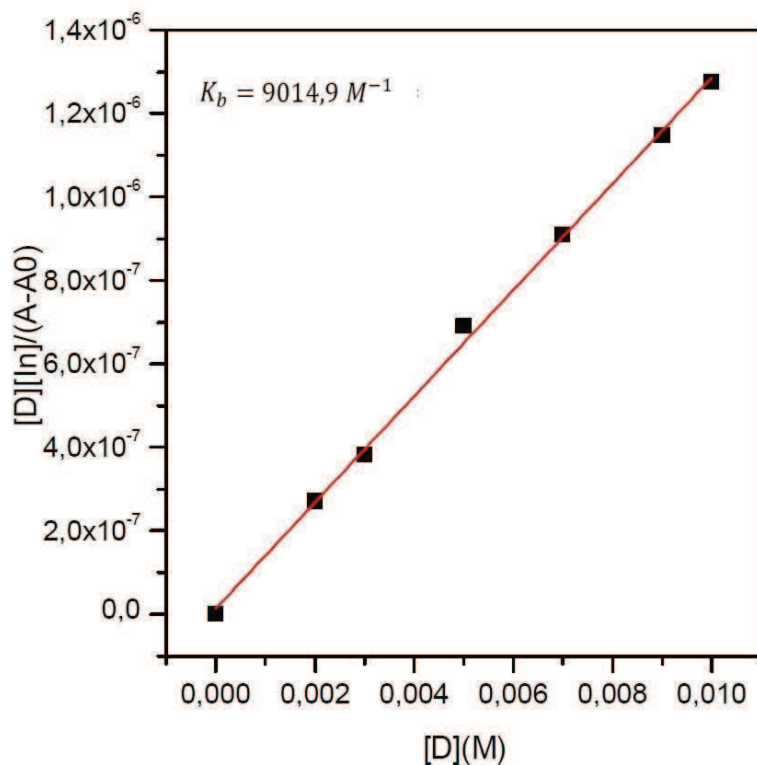


Figura 80. Regresión lineal para el complejo C<sub>10</sub>HIm-S-NR en la zona micelar.

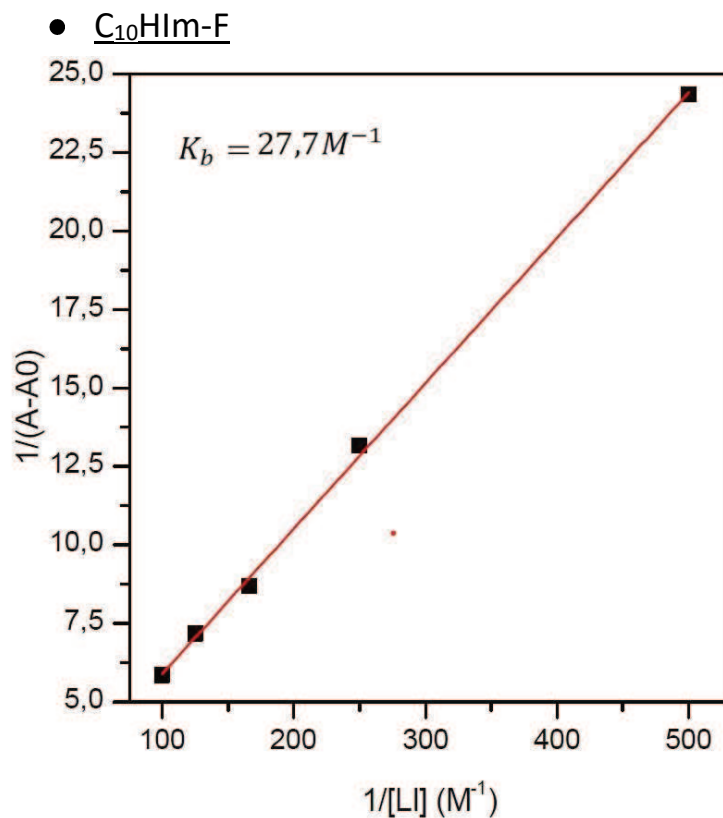


Figura 1. Regresión lineal para el complejo C<sub>10</sub>HIm-F-NR en la zona pre-micelar.

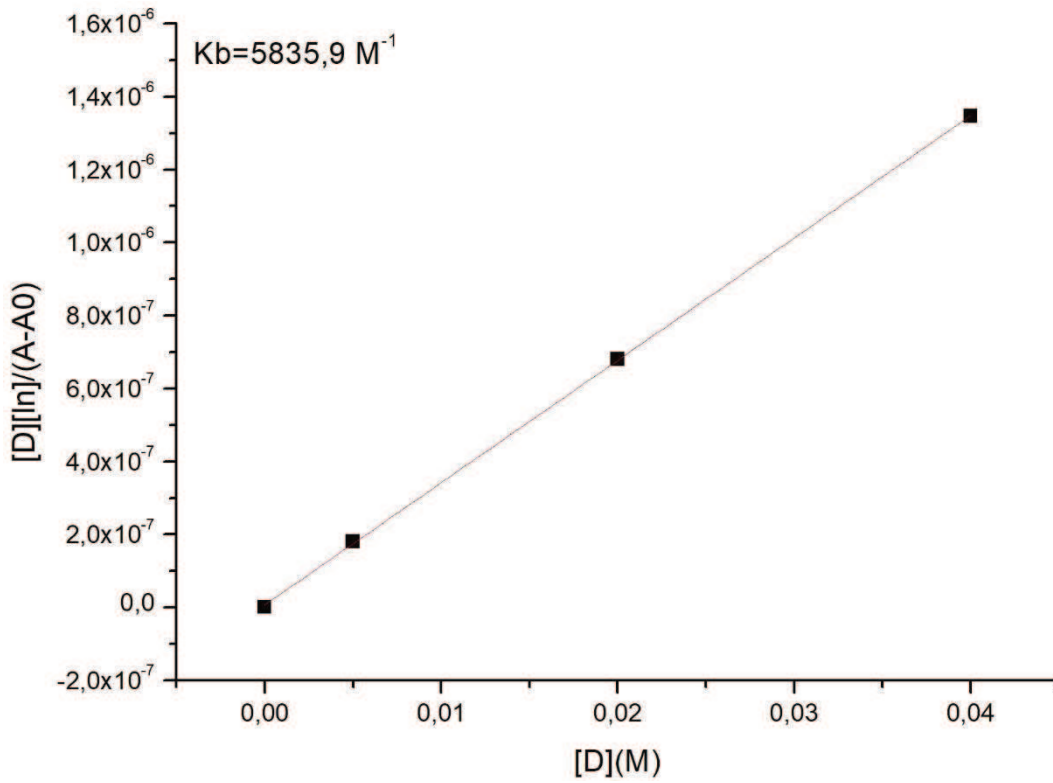


Figura 82. Regresión lineal para el complejo  $C_{10}HIm-F-NR$  en la zona micelar.

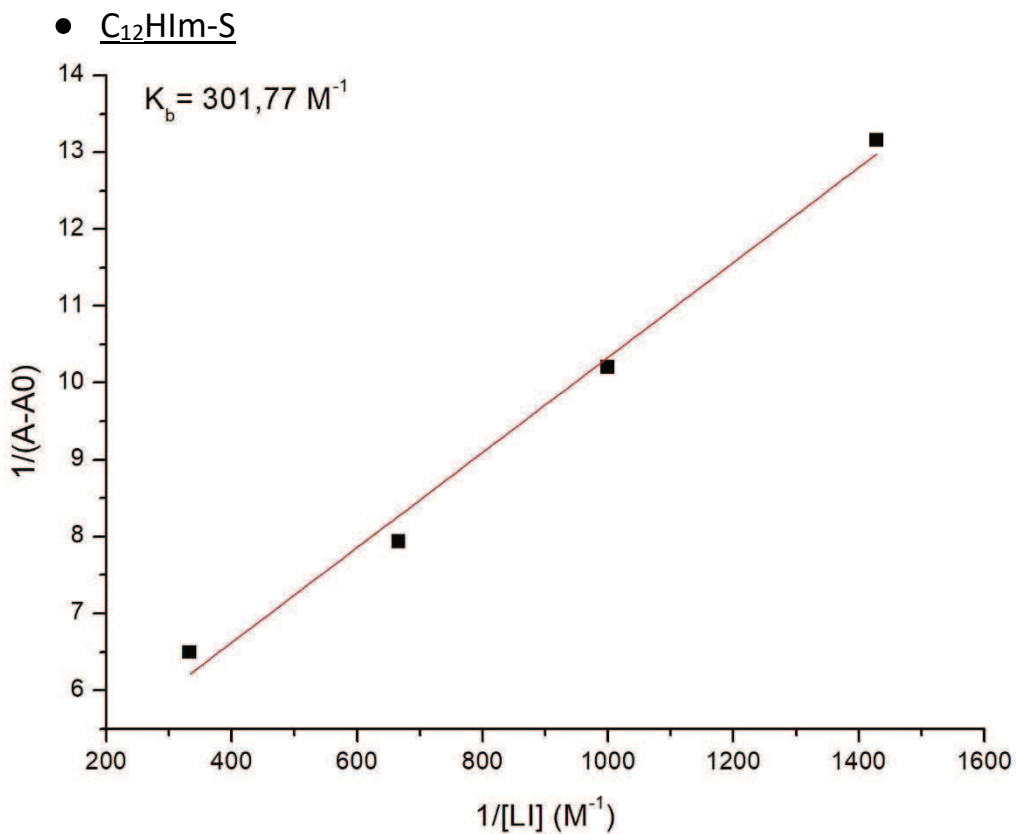


Figura 83. Regresión lineal para el complejo  $C_{12}HIm-S-NR$  en la zona pre-micelar.

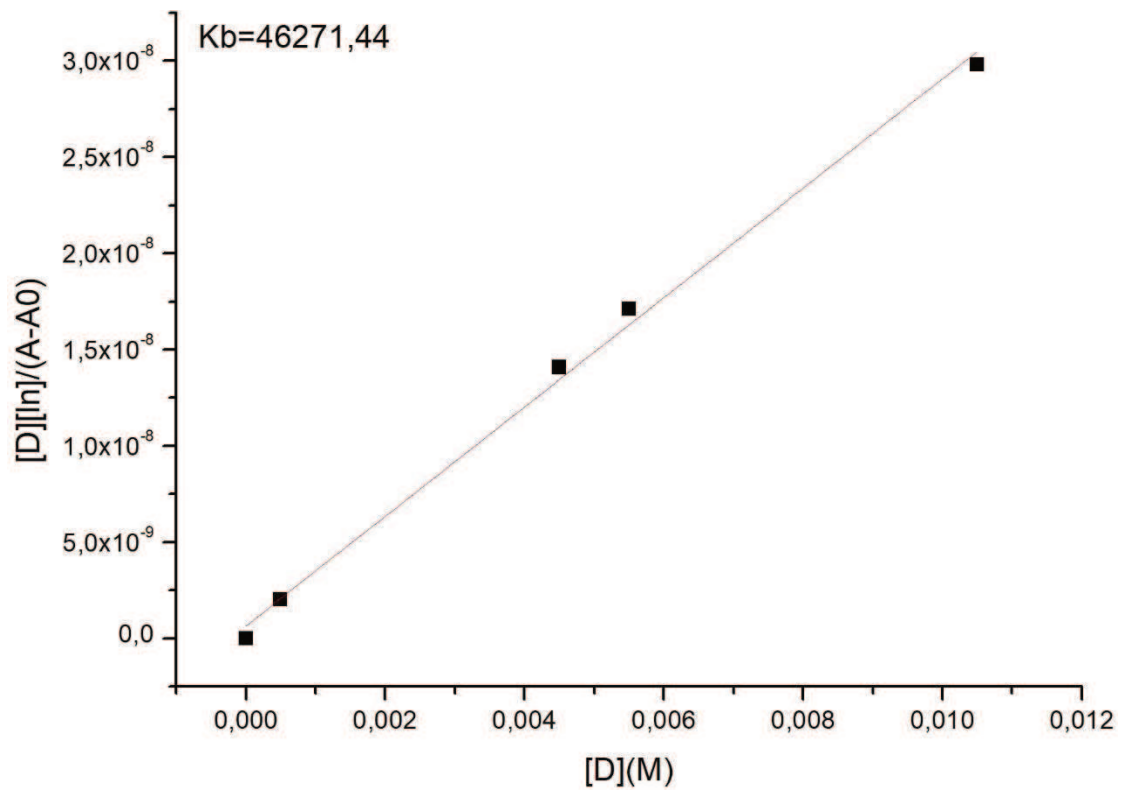


Figura 84. Regresión lineal para el complejo  $C_{12}HIm-S-NR$  en la zona micelar.

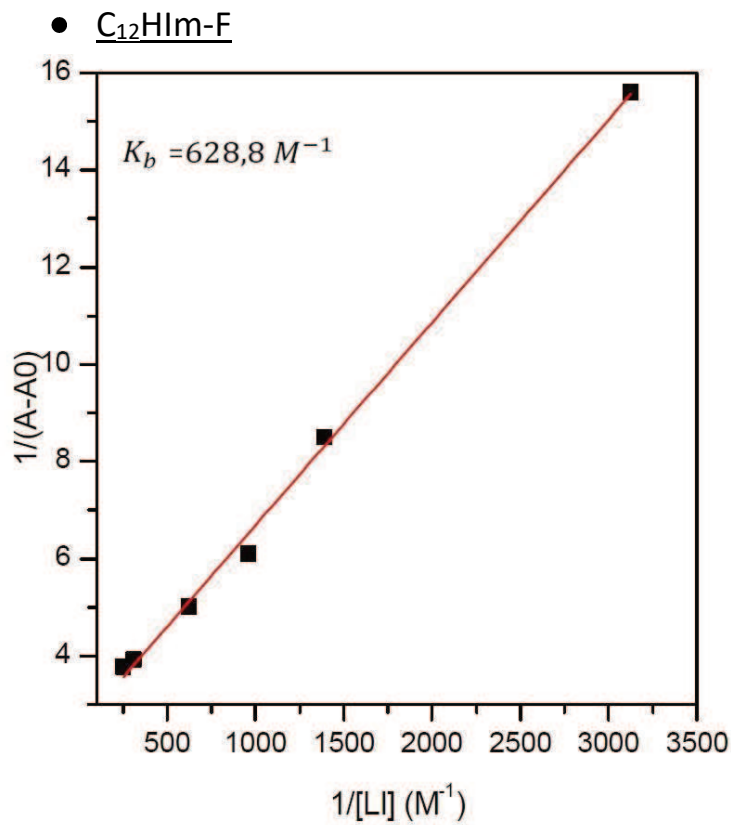


Figura 85. Regresión lineal para el complejo  $C_{12}HIm-F-NR$  en la zona pre-micelar.

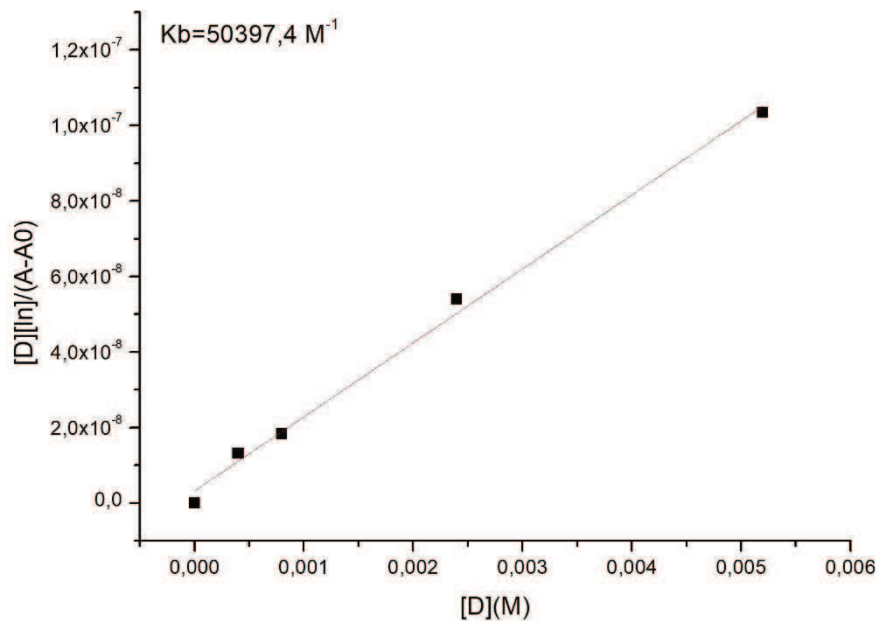


Figura 86. Regresión lineal para el complejo  $C_{12}HIm-F-NR$  en la zona micelar.

●  $C_{14}HIm-S$

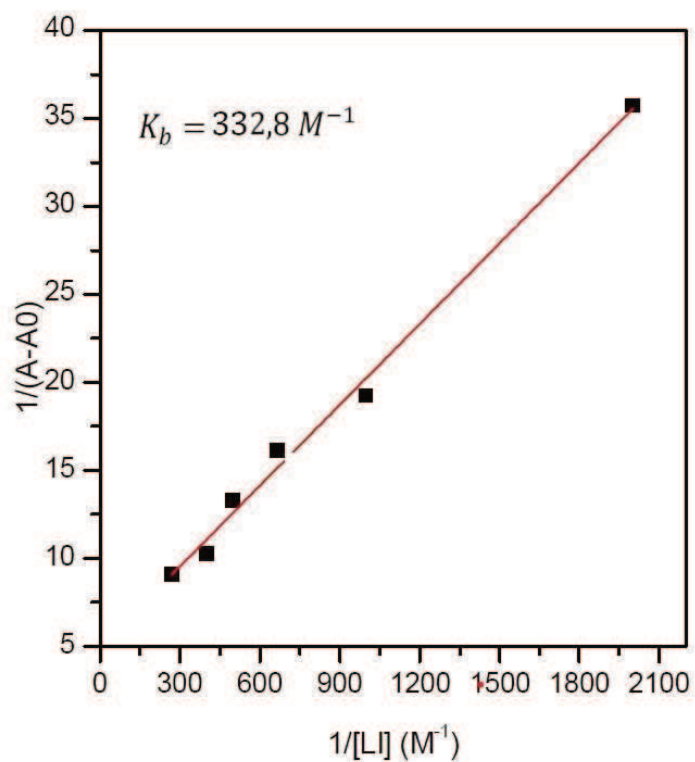


Figura 87. Regresión lineal para el complejo C<sub>14</sub>HIm-S-NR en la zona pre-micelar.

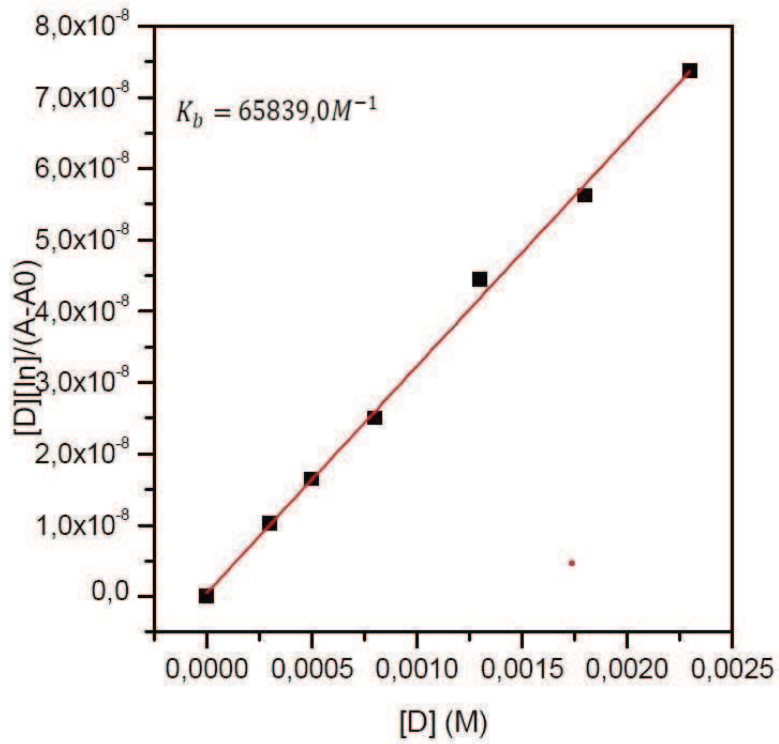


Figura 88. Regresión lineal para el complejo C<sub>14</sub>HIm-S-NR en la zona micelar.

- C<sub>14</sub>HIm-F

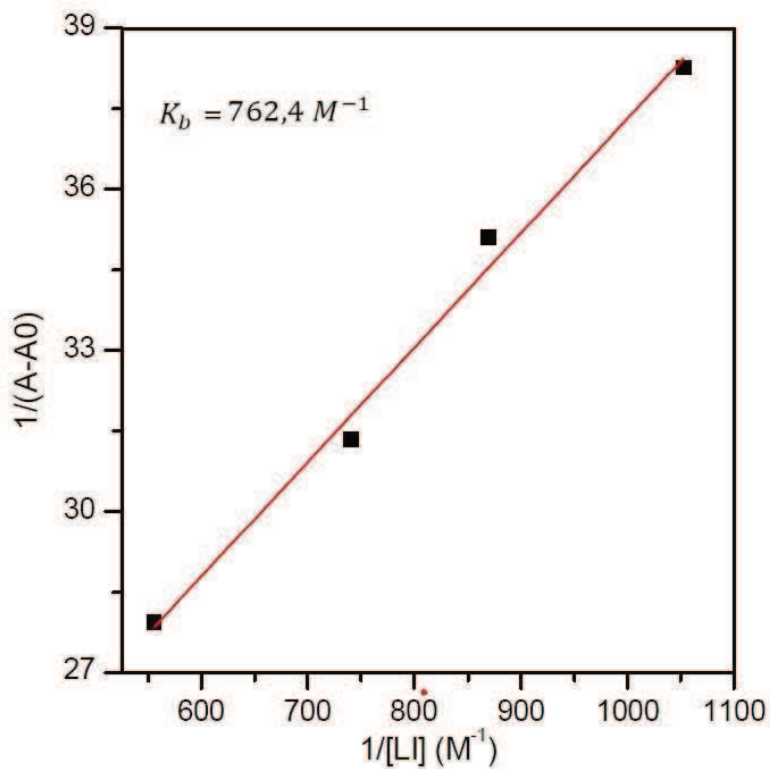


Figura 89. Regresión lineal para el complejo C<sub>14</sub>HIm-F-NR en la zona pre-micelar.

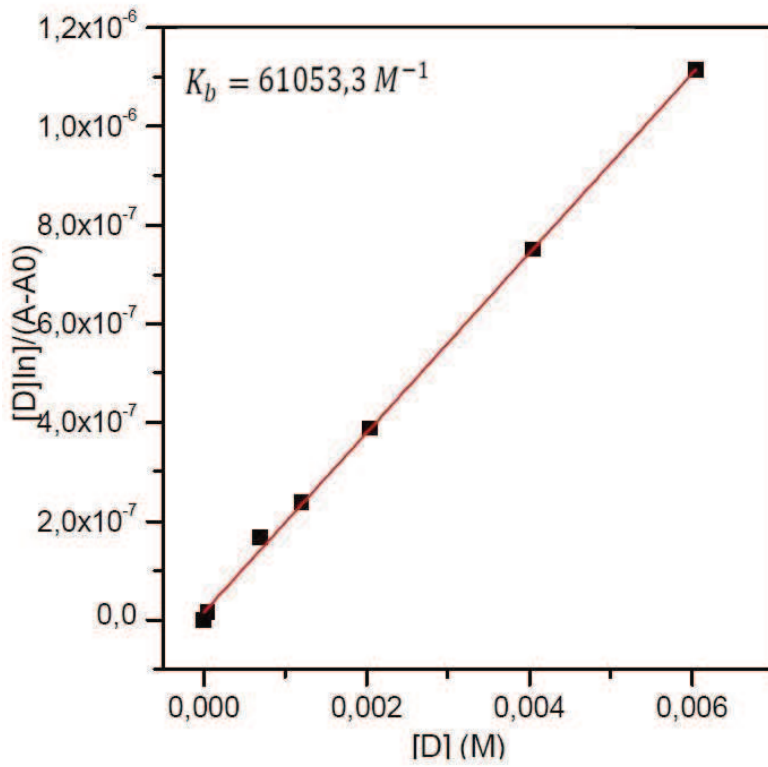


Figura 90. Regresión lineal para el complejo C<sub>14</sub>HIm-F-NR en la zona micelar.

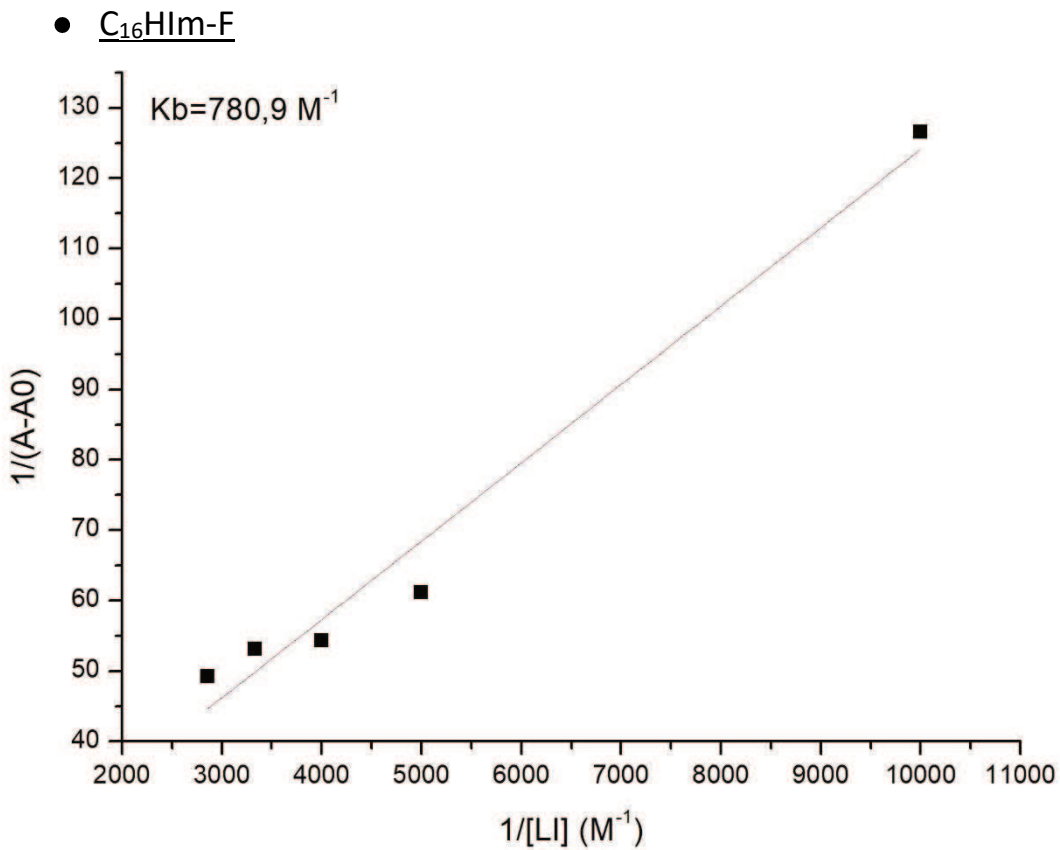




Figura 91. Regresión lineal para el complejo C<sub>16</sub>HIm-F-NR en la zona pre-micelar.

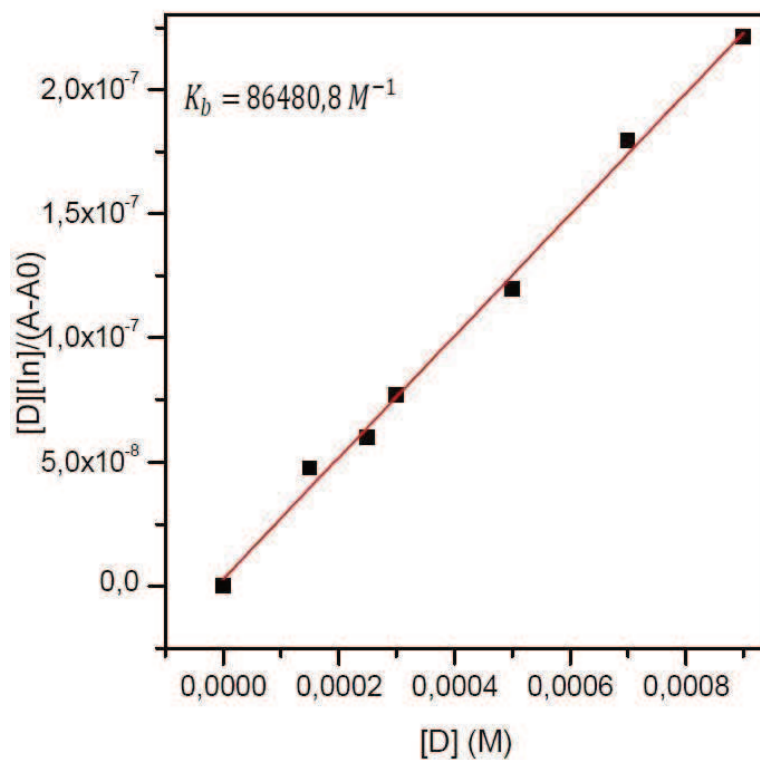


Figura 92. Regresión lineal para el complejo C<sub>16</sub>HIm-F-NR en la zona micelar

Espectroscopia de Fluorescencia Molecular.

- C<sub>10</sub>HIm-S

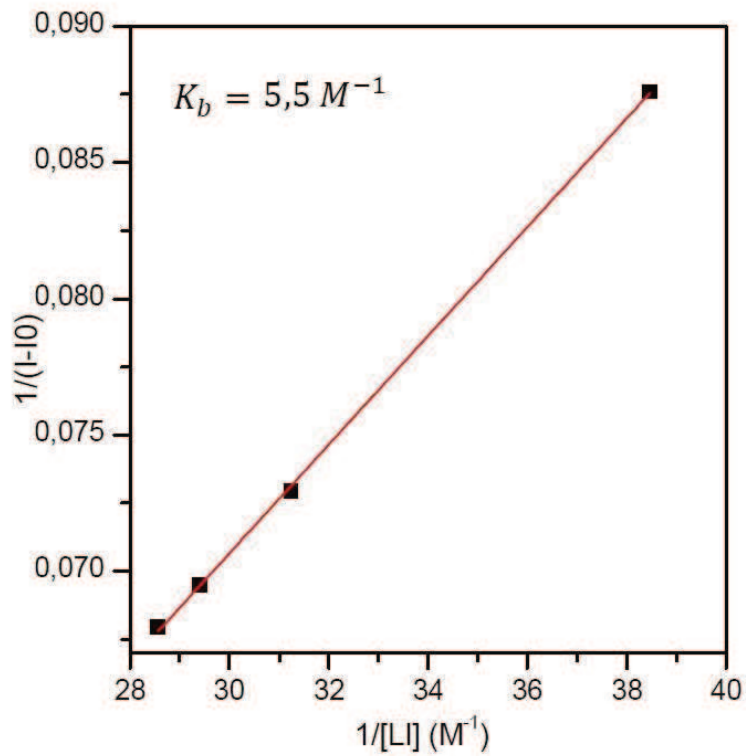


Figura 93. Regresión lineal para el complejo  $C_{10}HIm-S-NR$  en la zona pre-micelar.

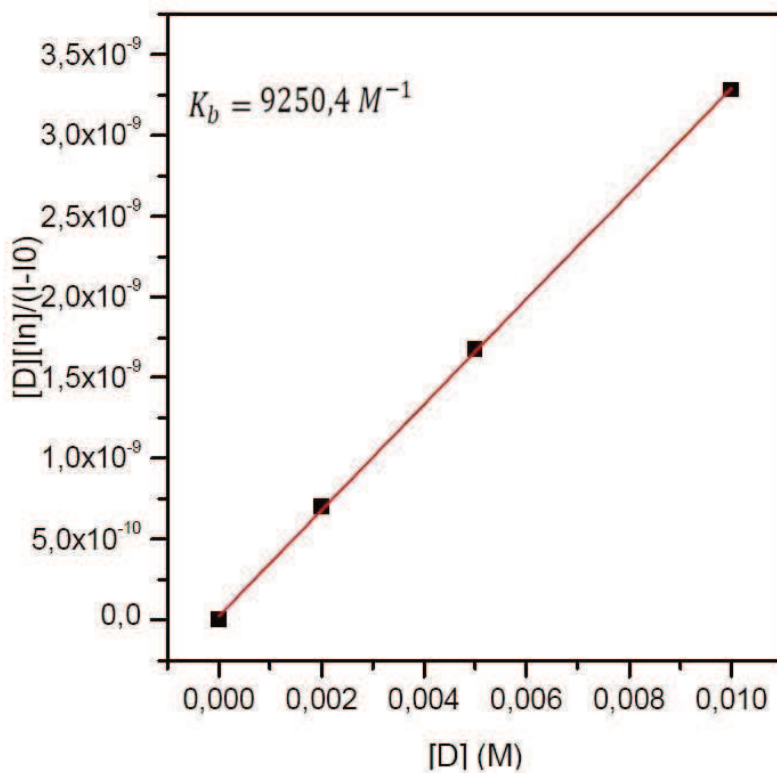


Figura 94. Regresión lineal para el complejo  $C_{10}HIm-S-NR$  en la zona micelar.

- $C_{10}HIm-F$

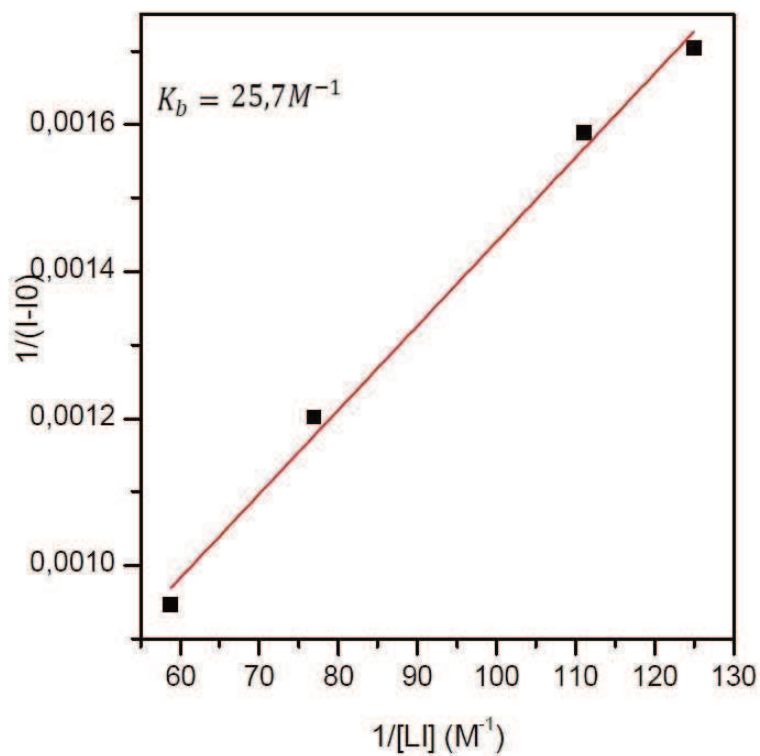


Figura 95. Regresión lineal para el complejo  $C_{10}HIm-F-NR$  en la zona pre-micelar.

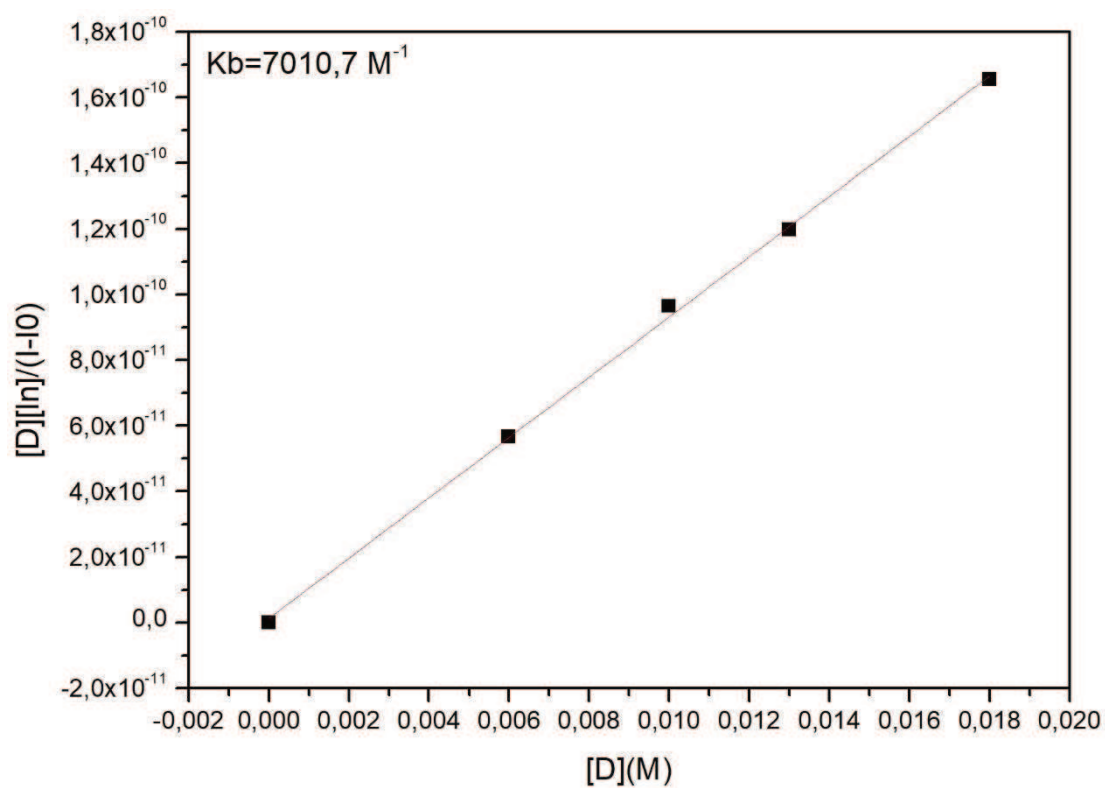


Figura 96. Regresión lineal para el complejo  $C_{10}HIm-F-NR$  en la zona micelar.

- $C_{12}HIm-S$

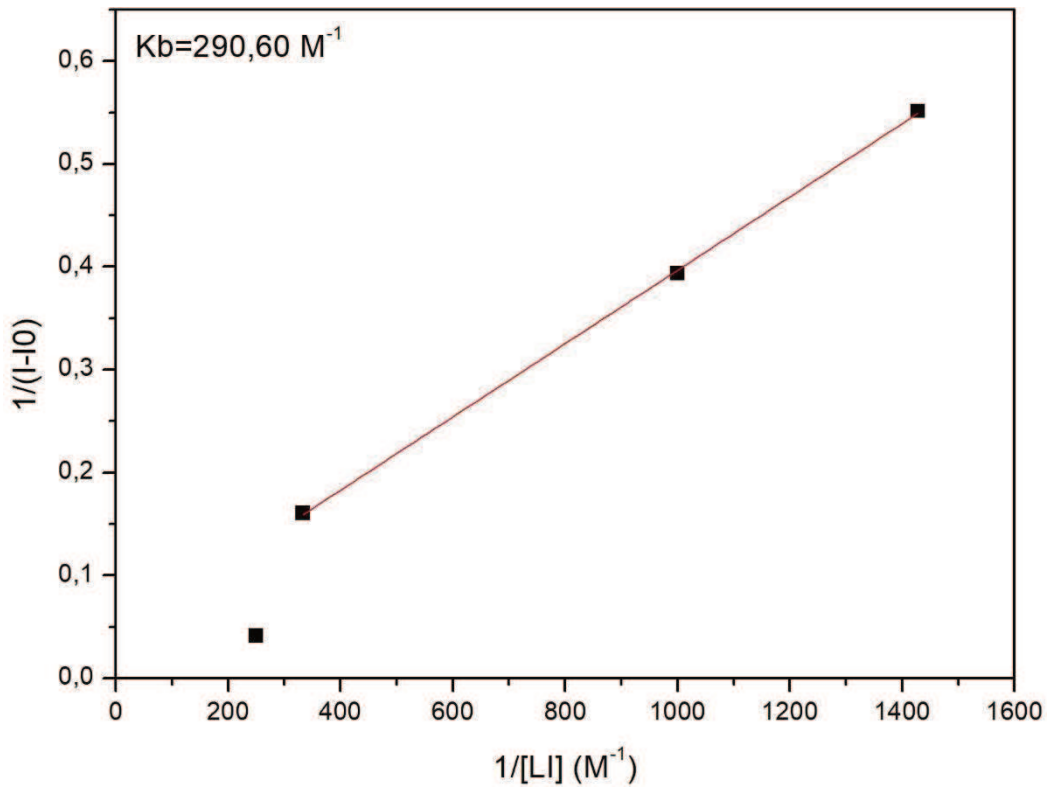


Figura 97. Regresión lineal para el complejo  $C_{12}HIm-S-NR$  en la zona pre-micelar.

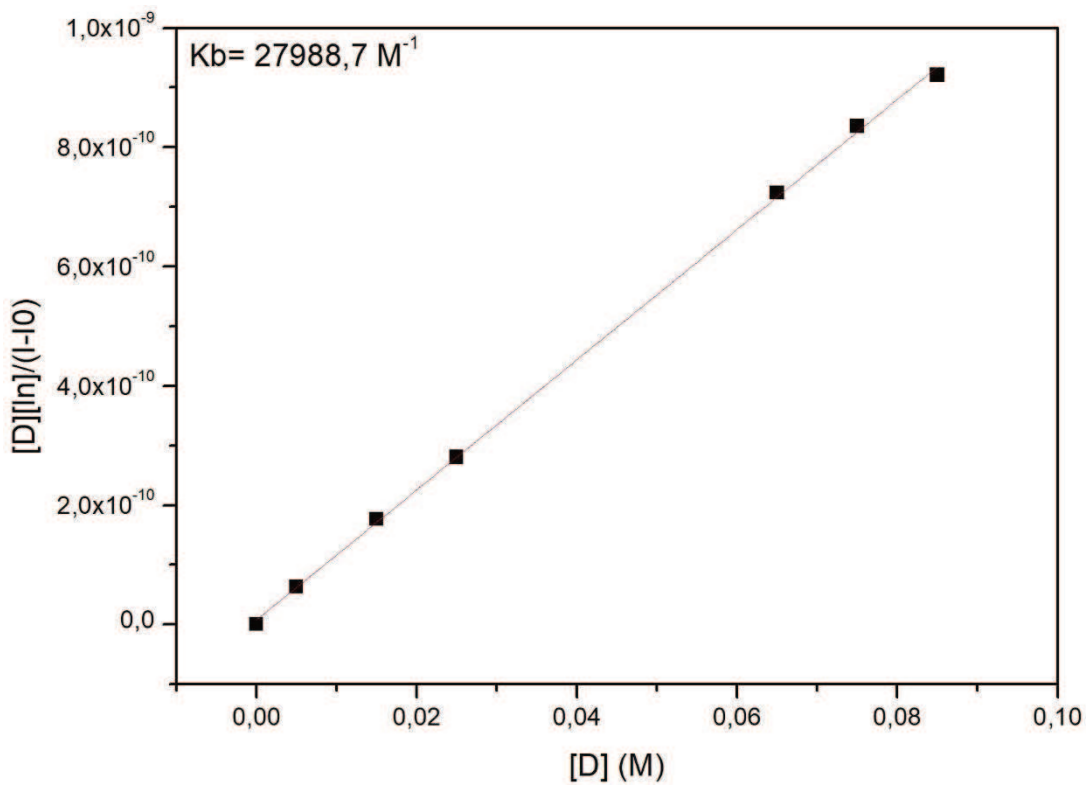


Figura 98. Regresión lineal para el complejo  $C_{12}HIm-S-NR$  en la zona micelar.

- $C_{12}HIm-F$

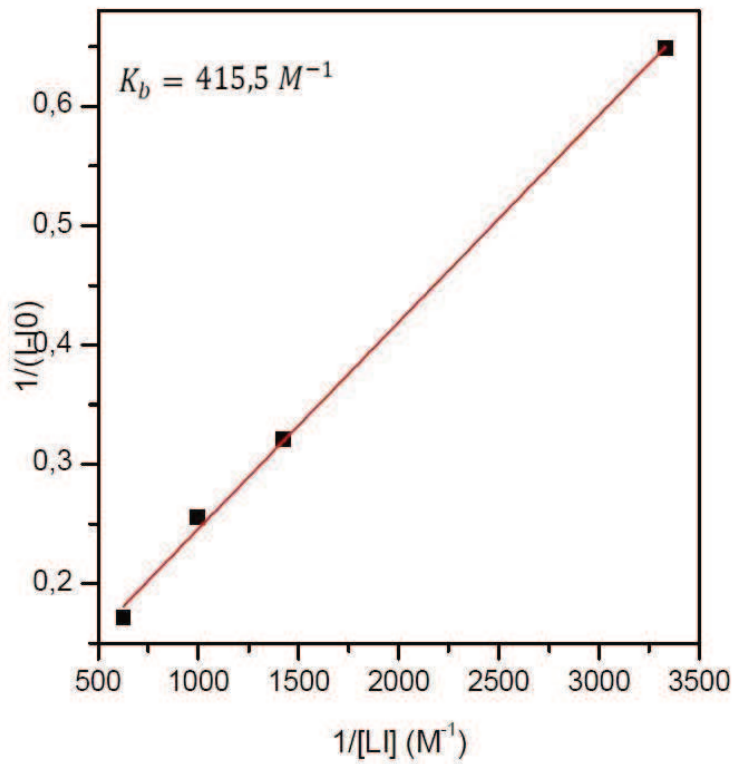


Figura 99. Regresión lineal para el complejo  $C_{12}HIm-F-NR$  en la zona pre-micelar.

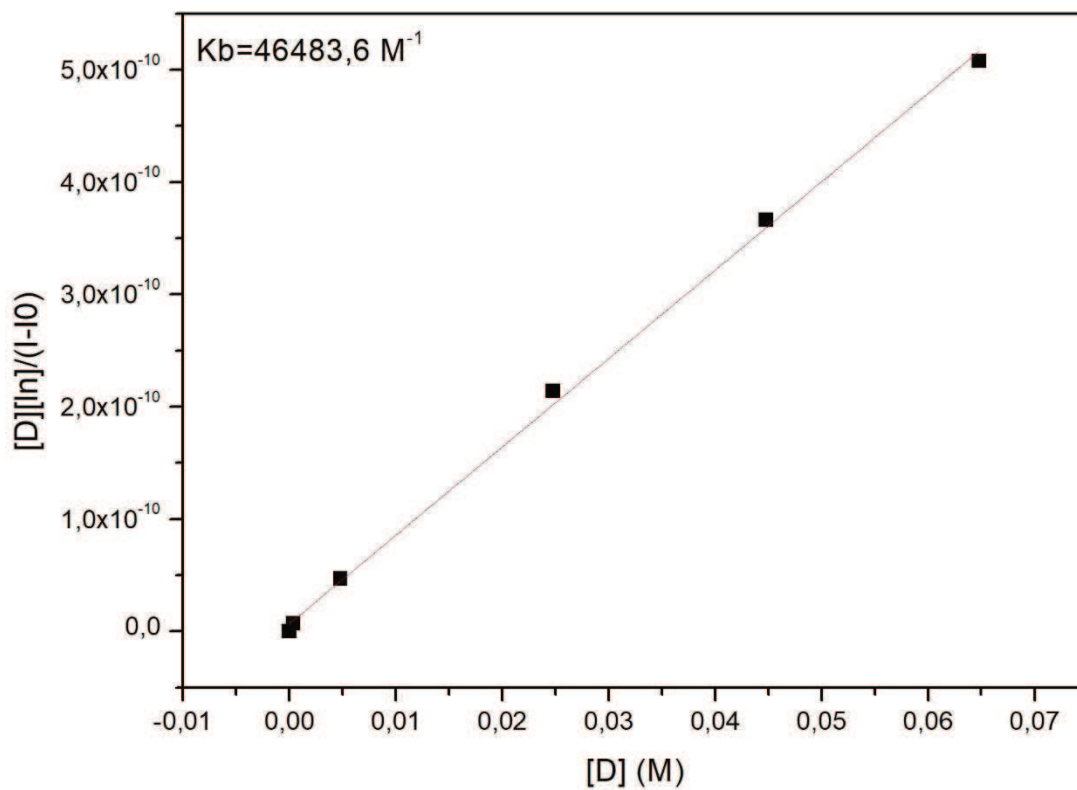


Figura 100. Regresión lineal para el complejo  $C_{12}HIm-F-NR$  en la zona micelar.

- $C_{14}HIm-S$

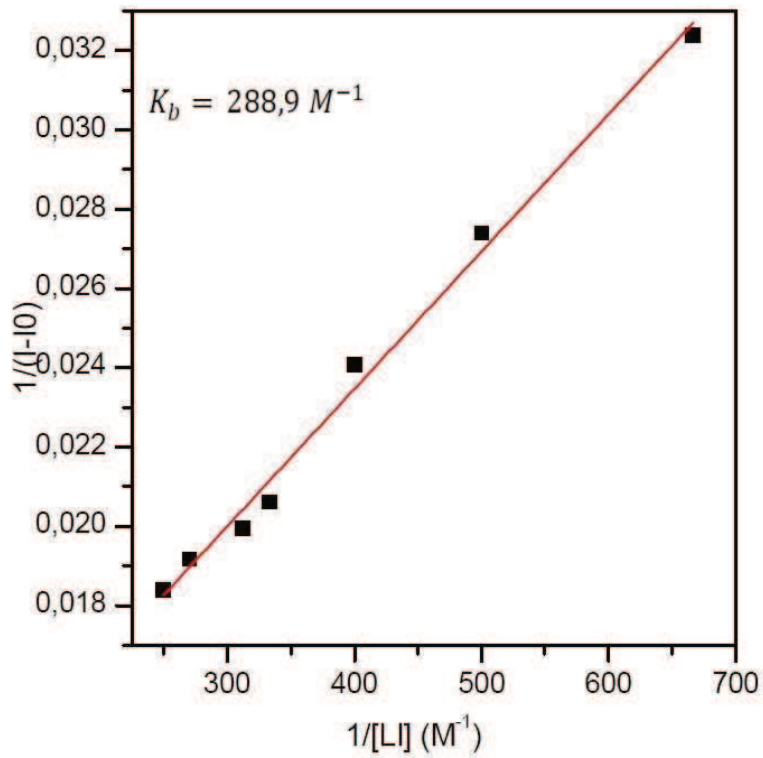


Figura 101. Regresión lineal para el complejo  $C_{14}HIm-S-NR$  en la zona pre-micelar.

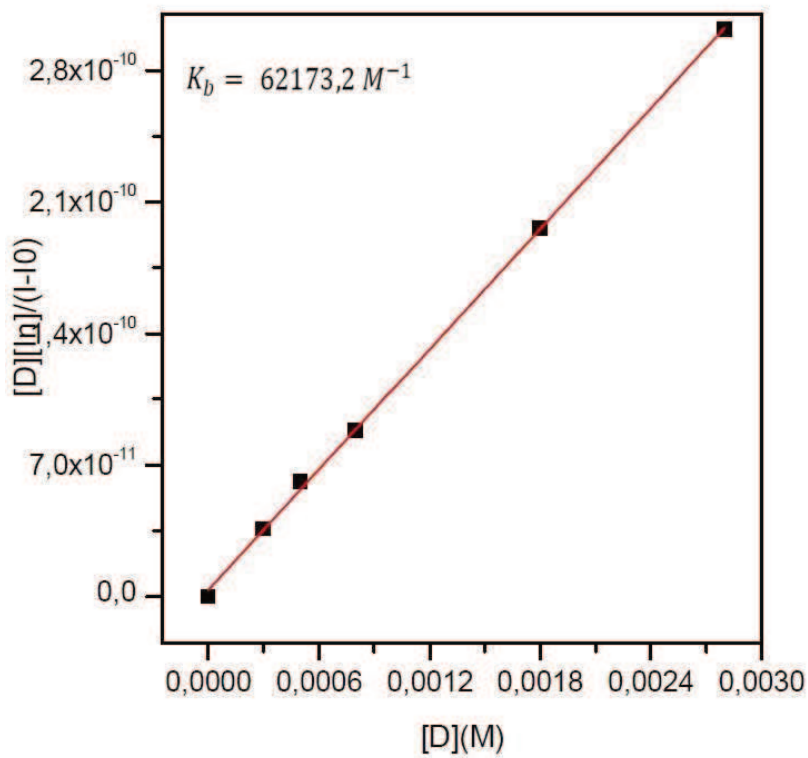


Figura 102. Regresión lineal para el complejo  $C_{14}HIm-S-NR$  en la zona micelar.

- $C_{14}HIm-F$

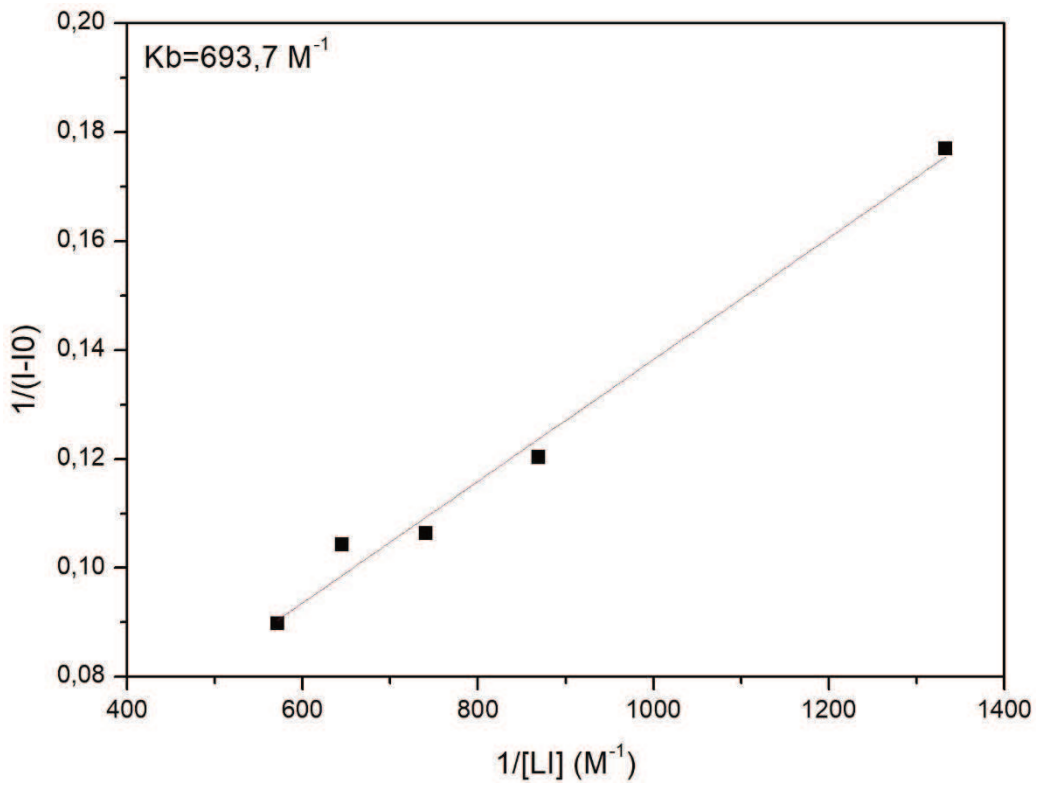


Figura 103. Regresión lineal para el complejo  $C_{14}HIm-F-NR$  en la zona pre-micelar.

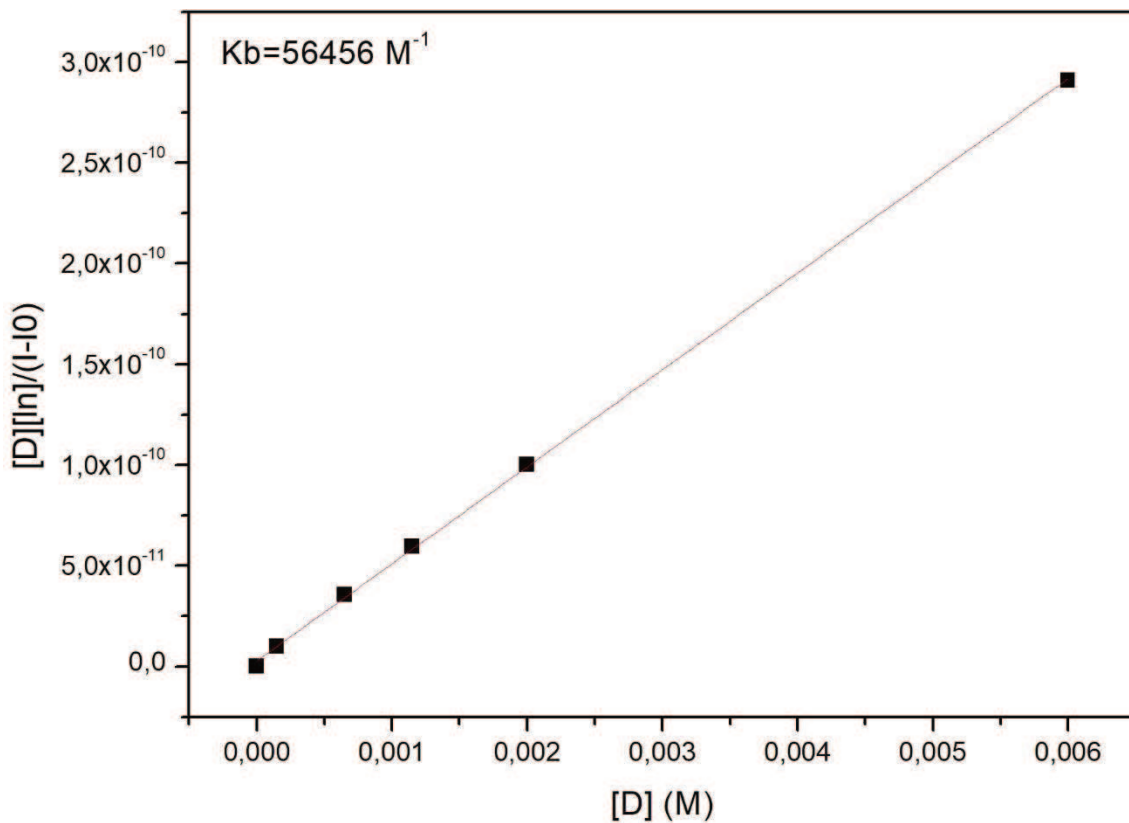


Figura 104. Regresión lineal para el complejo  $C_{14}HIm-F-NR$  en la zona micelar.

- $C_{16}HIm-F$

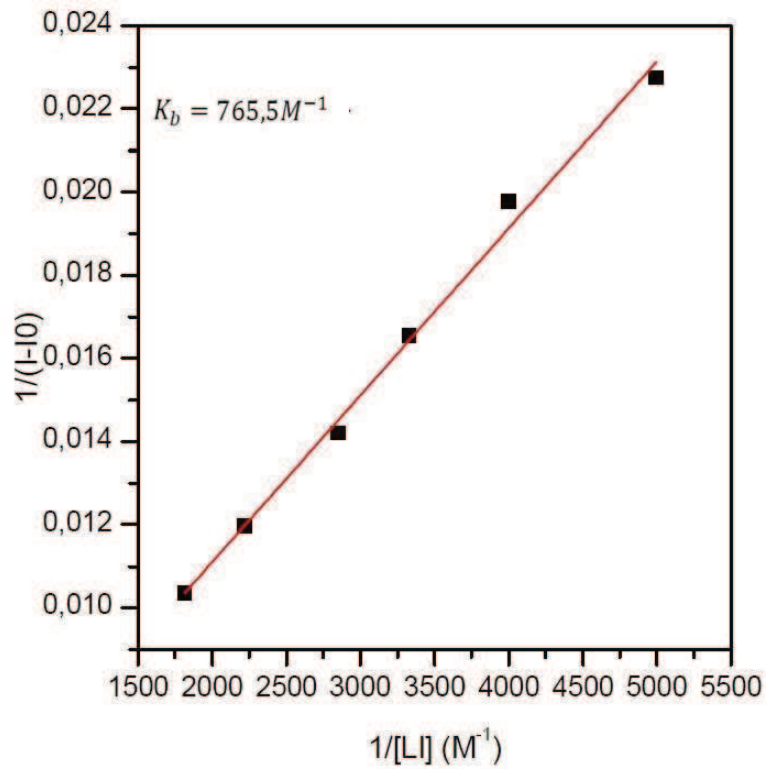


Figura 105. Regresión lineal para el complejo  $C_{16}H_{1m}-F-NR$  en la zona pre-micelar.

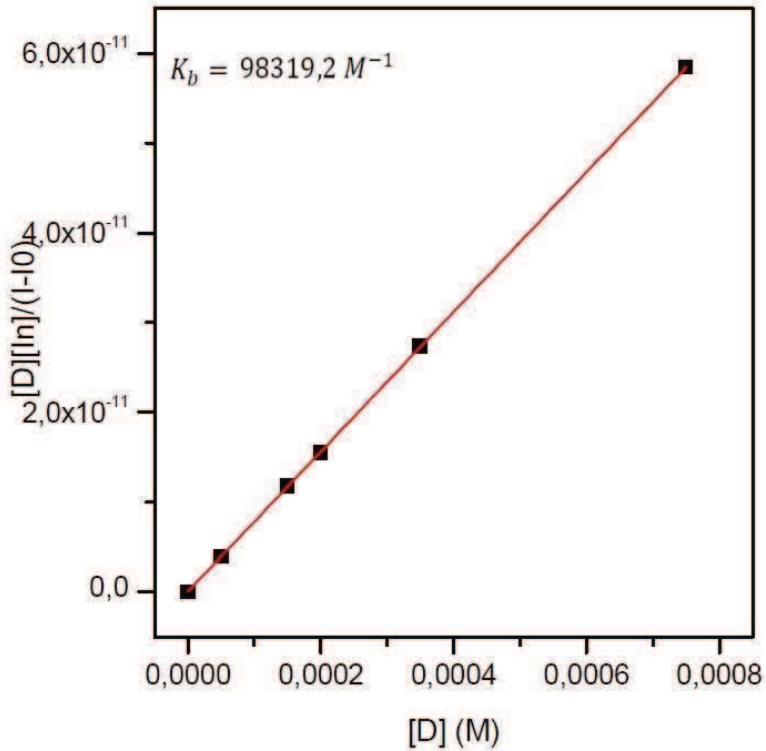
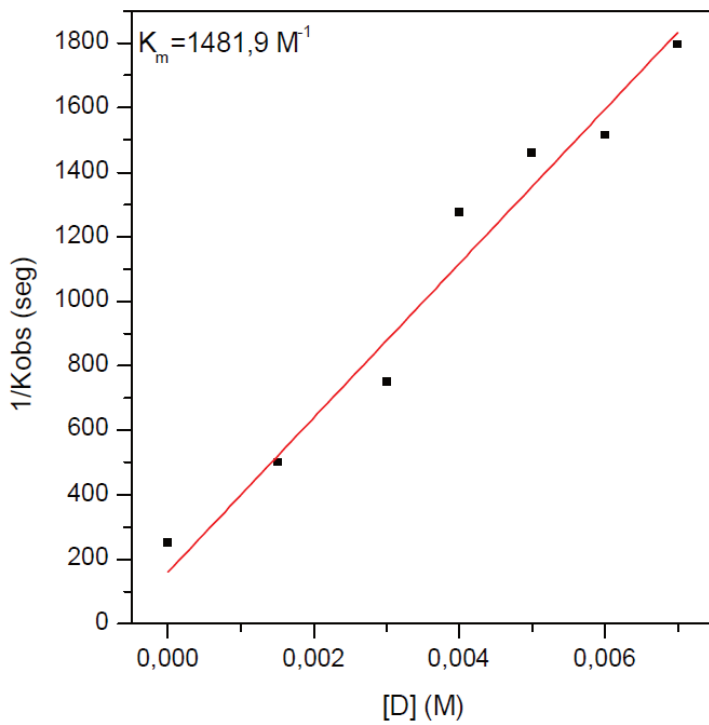


Figura 106. Regresión lineal para el complejo  $C_{16}H_{1m}-F-NR$  en la zona micelar.

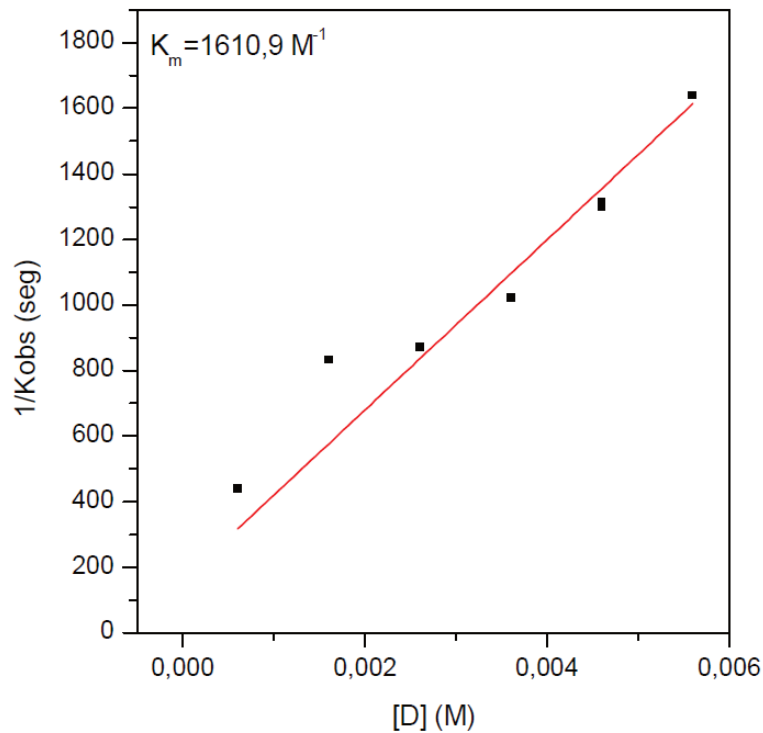
Aplicación como medios para el desarrollo de reacciones orgánicas.



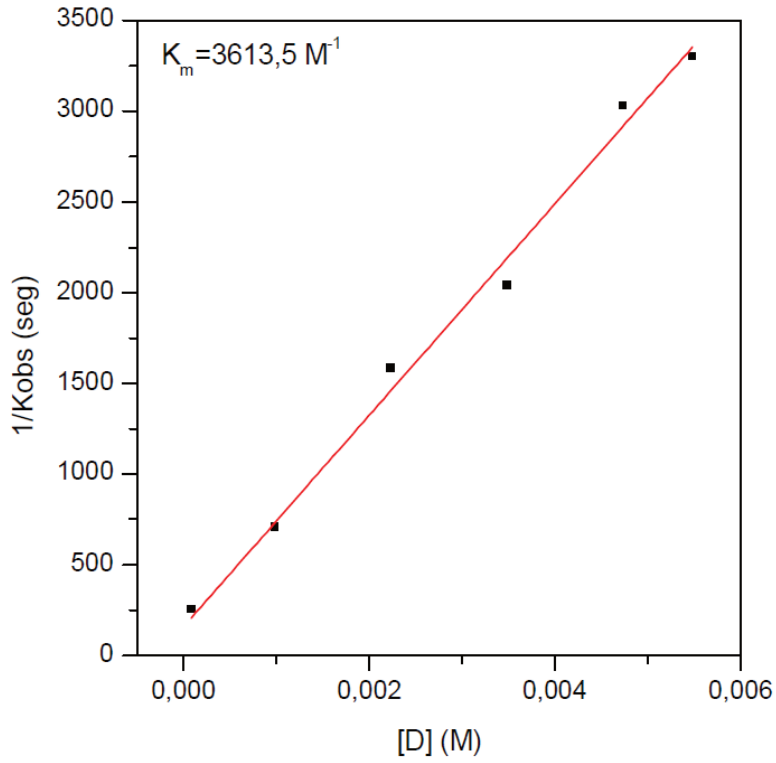
Aplicación del Modelo de Pseudofases en los Sistemas Micelares.



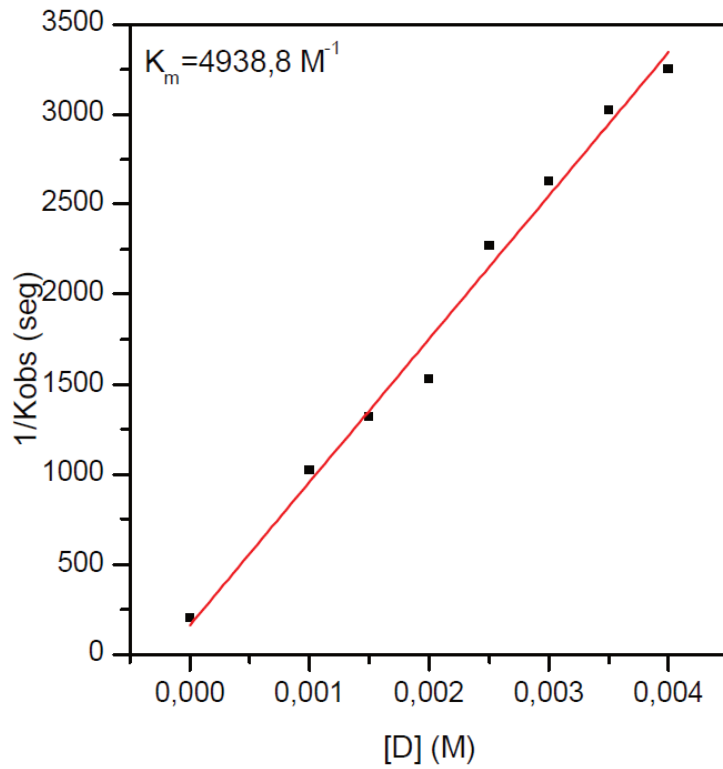
**Figura 107.** Variación de  $1/k_{obs}$  para la reacción de hidrólisis de CMBS en función de  $[D]$  en el sistema micelar con  $C_{10}HIm-F$ .



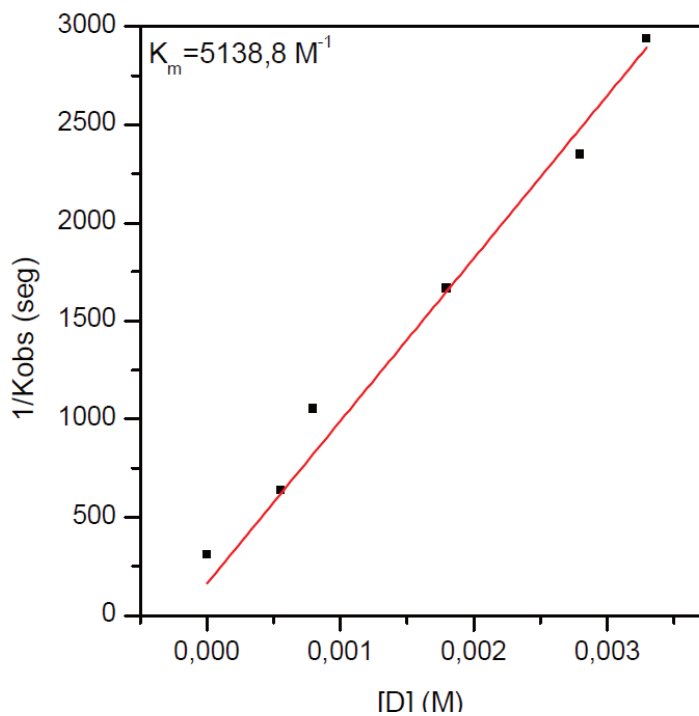
**Figura 108.** Variación de  $1/k_{obs}$  para la reacción de hidrólisis de CMBS en función de  $[D]$  en el sistema micelar con  $C_{10}HIm-S$ .



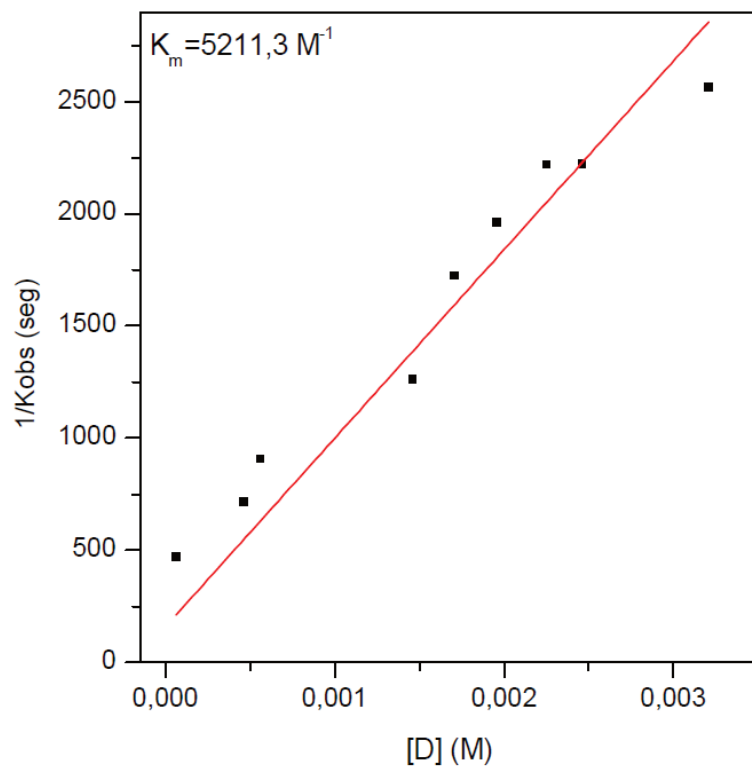
**Figura 109.** Variación de  $1/k_{obs}$  para la reacción de hidrólisis de CMBS en función de  $[D_n]$  en el sistema micelar con  $C_{12}HIm-F$ .



**Figura 110.** Variación de  $1/k_{obs}$  para la reacción de hidrólisis de CMBS en función de  $[D_n]$  en el sistema micelar con  $C_{12}HIm-S$ .



**Figura 111.** Variación de  $1/k_{obs}$  para la reacción de hidrólisis de CMBS en función de  $[Dn]$  en el sistema micelar con  $C_{14}HIm-S$ .



**Figura 112.** Variación de  $1/k_{obs}$  para la reacción de hidrólisis de CMBS en función de  $[Dn]$  en el sistema micelar con  $C_{16}HIm-S$ .

Concentración de SAIL (mM)	$k_{obs} (s^{-1})$							
	$C_{10}HIm-F$ ( $\times 10^{-4}$ )	$C_{12}HIm-F$ ( $\times 10^{-4}$ )	$C_{14}HIm-F$ ( $\times 10^{-4}$ )	$C_{16}HIm-F$ ( $\times 10^{-4}$ )	$C_{10}HIm-S$ ( $\times 10^{-4}$ )	$C_{12}HIm-S$ ( $\times 10^{-4}$ )	$C_{14}HIm-S$ ( $\times 10^{-4}$ )	$C_{16}HIm-S$ ( $\times 10^{-4}$ )
0,05				62				
0,1				62				
0,3				39				
0,5		62		30				61
0,6				17				
0,8			60	14				
1		62	45	11			62	
1,1				9,1				21
1,2				7,2				
1,5				6,2				14
1,6								11
1,8			32					
2			17	4,9				
2,5								7,9
2,75								5,8
3			11				61	5,1
3,5								4,5
3,55			7,4					
4			6,2					
4,25								3,9
4,55			5,2					
4,6		39						
5	60		5	2,3				
5,2							32	
5,5		12						
5,75							16	
6							9,5	
6,75		6,3						
7							6	
8		4,9					4,3	
8,5				1,4			3,4	
9						60		
9,25		3,3						
10		3						
11,5						49		
12,5						9,8		
13						9,3		
13,5						6,5		
14						4,5		
14,5						3,8		
15					60	3,3		
15,5						3,1		
17	60							
19	39							
20,5	20							
22	13							
23	7,9							
24	6,9							
25	6,6				61			
26	5,6							
37					23			
38					12			
39					12			
40					9,8			
41					7,6			
42					6,1			

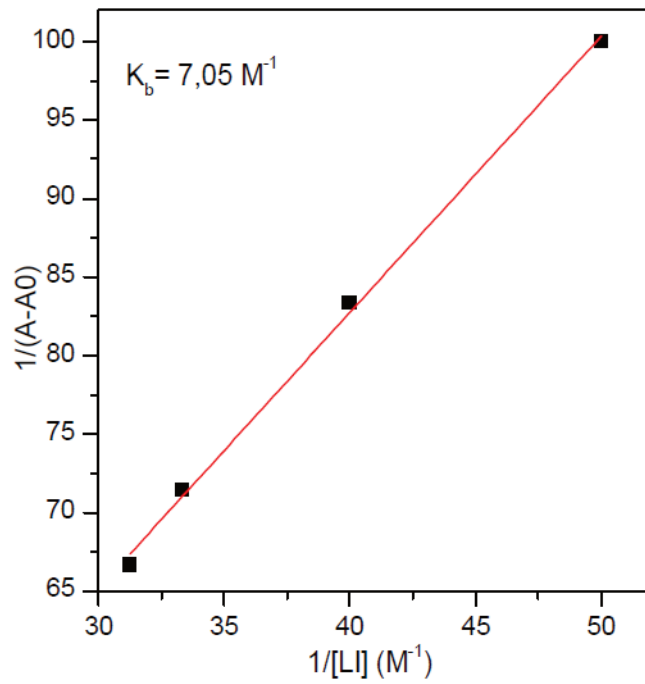
**Tabla 13.** Datos de  $k_{obs}$  vs Concentración de LI. El rango de concentraciones de dependiente del valor de CMC de cada SAILs.

Análisis preliminares necesarios para la aplicación de los SAILs como sistemas de liberación de fármacos.

Interacción Diazepam- SAILs

*Espectroscopia UV-Vis de Absorción.*

- C<sub>10</sub>HIm-S



**Figura 113.** Regresión lineal en zona pre micelar para C<sub>10</sub>HIm-S-DZM.

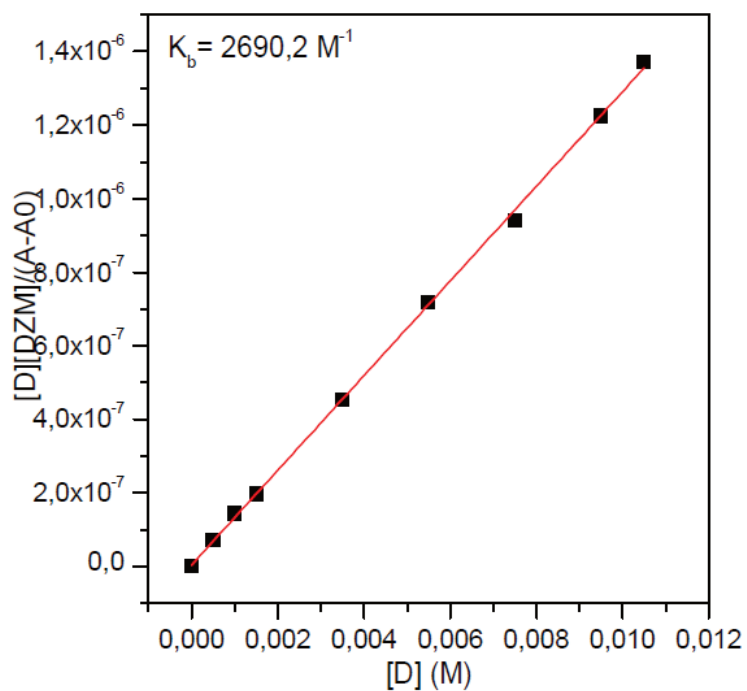


Figura 114. Regressão linear em zona micelar para  $C_{10}HIm-S-DZM$ .

●  $C_{10}HIm-F$

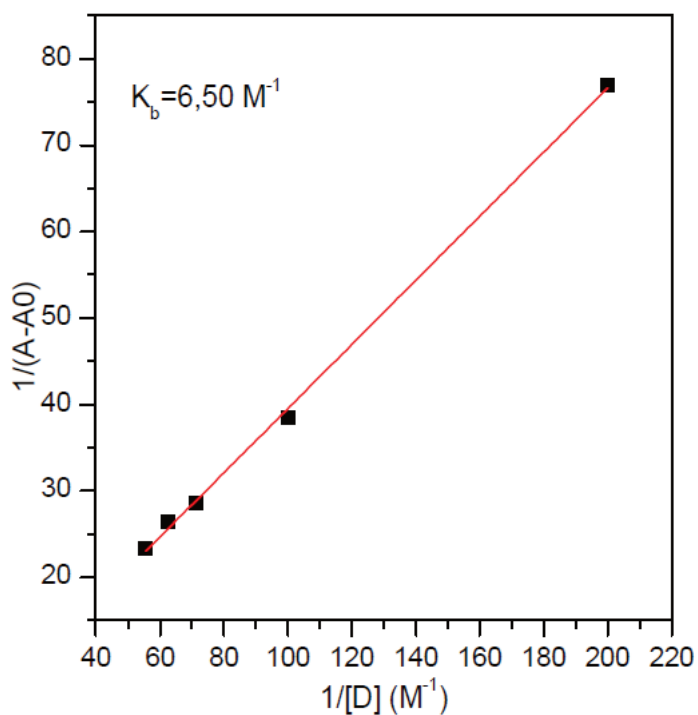


Figura 115. Regressão linear em zona pre micelar para  $C_{10}HIm-F-DZM$ .

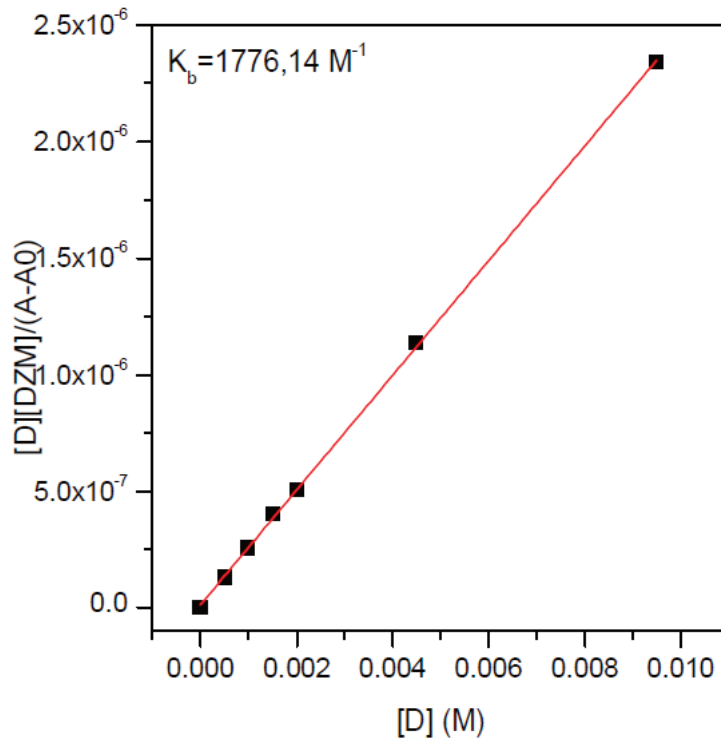


Figura 116. Regresión lineal en zona micelar para  $C_{10}HIm-F-DZM$ .

●  $C_{12}HIm-F$

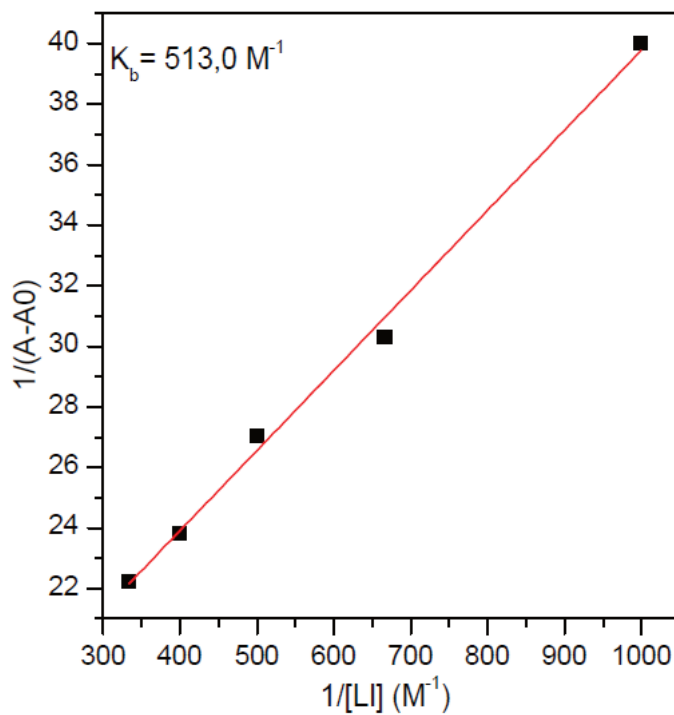


Figura 117. Regresión lineal en zona pre micelar para  $C_{12}HIm-F-DZM$ .

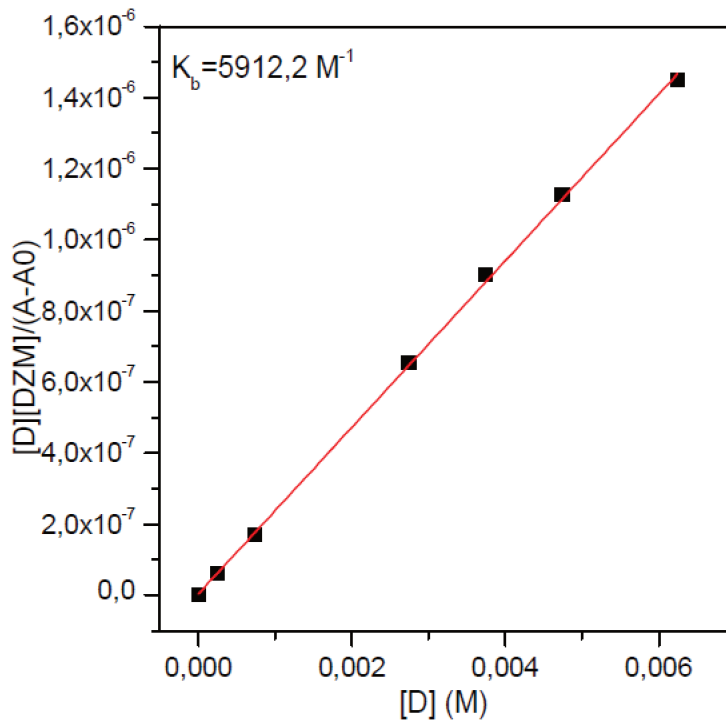


Figura 118. Regressão linear em zona micelar para  $C_{12}HIm-F-DZM$ .

●  $C_{12}HIm-S$

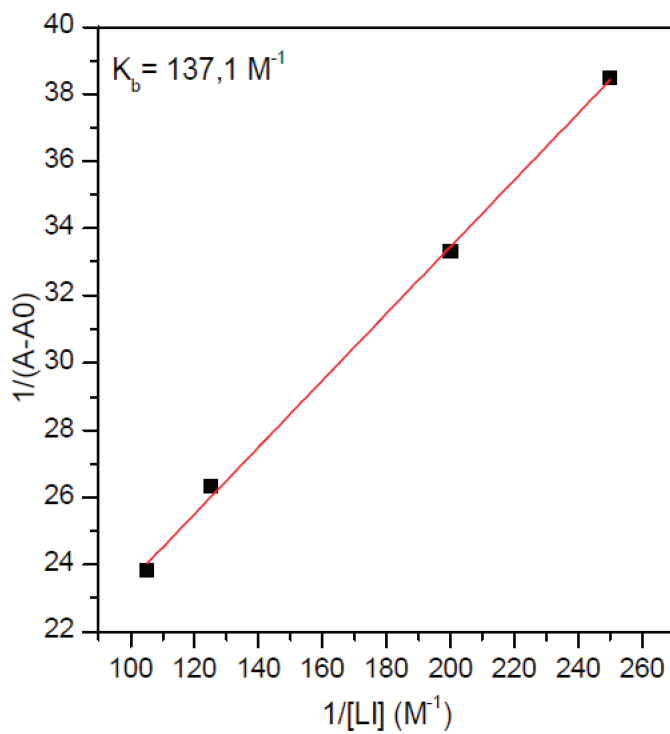


Figura 119. Regressão linear em zona pre micelar para  $C_{12}HIm-S-DZM$ .



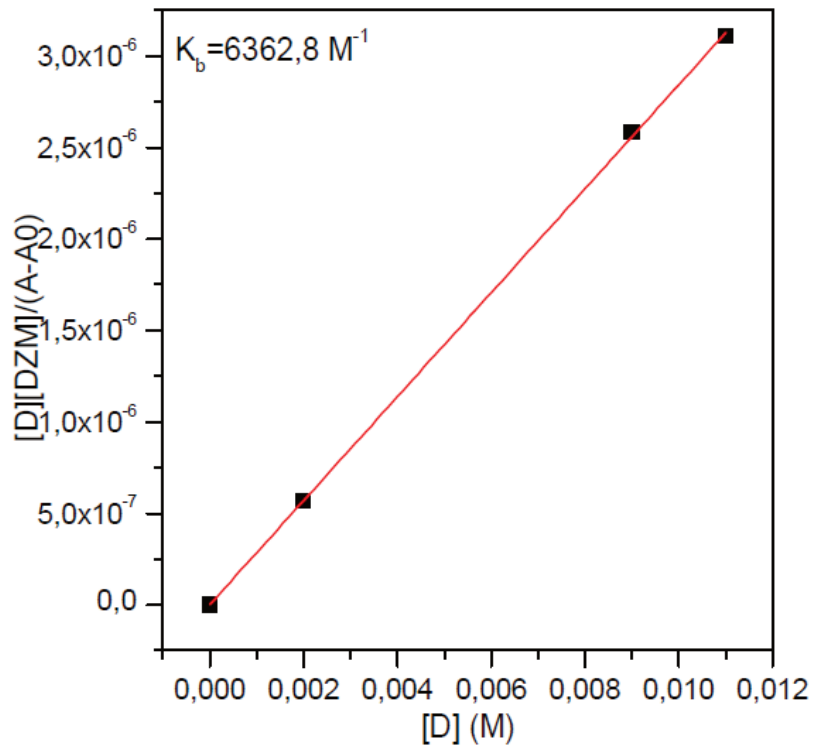
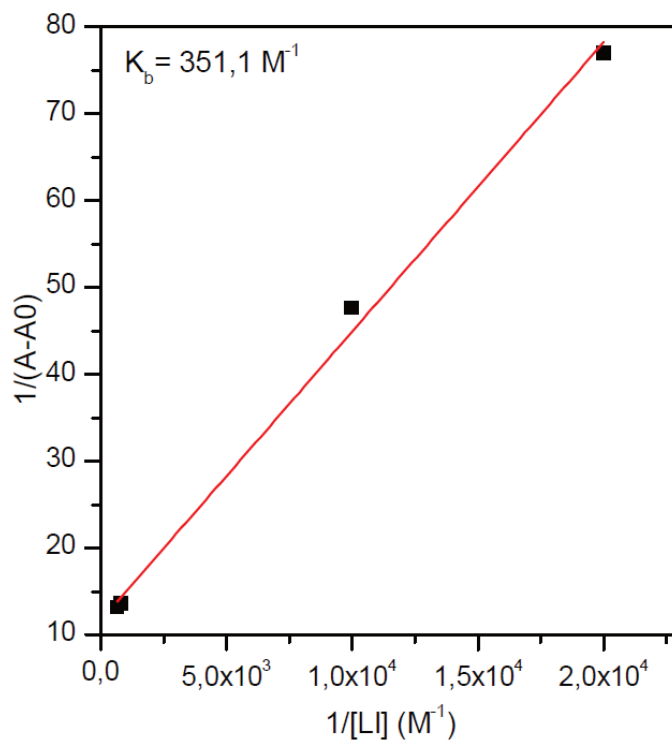
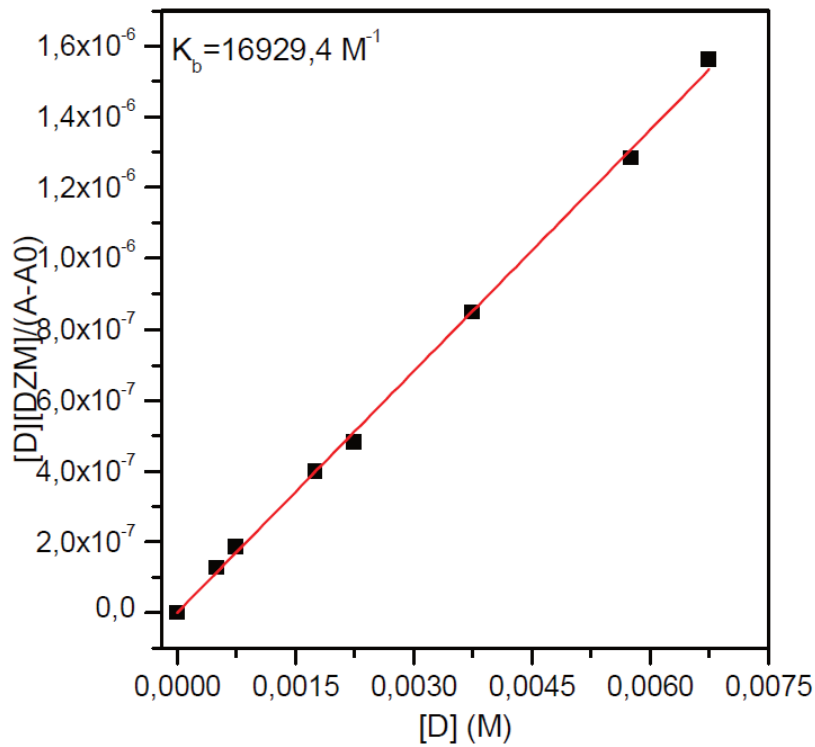


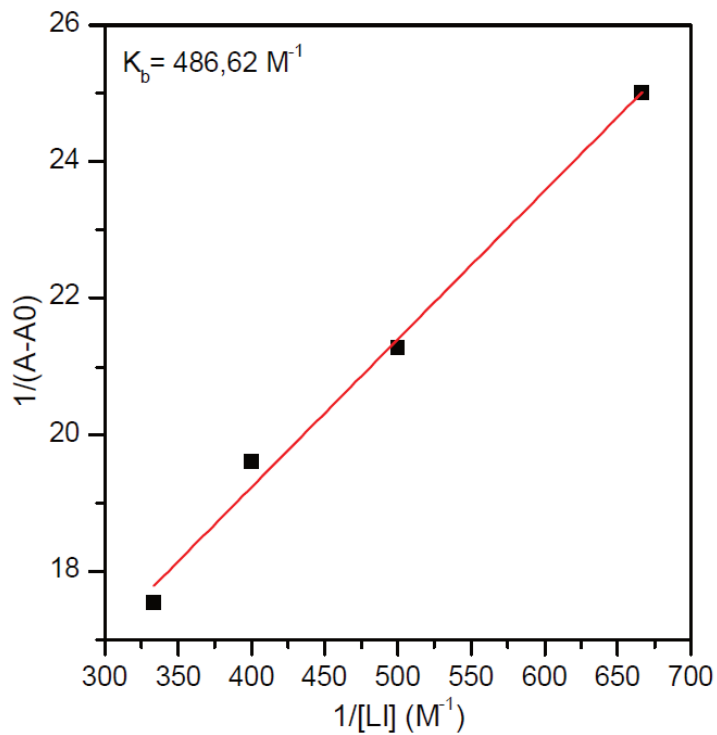
Figura 120. Regressão linear em zona micelar para  $C_{12}HIm-S-DZM$ .

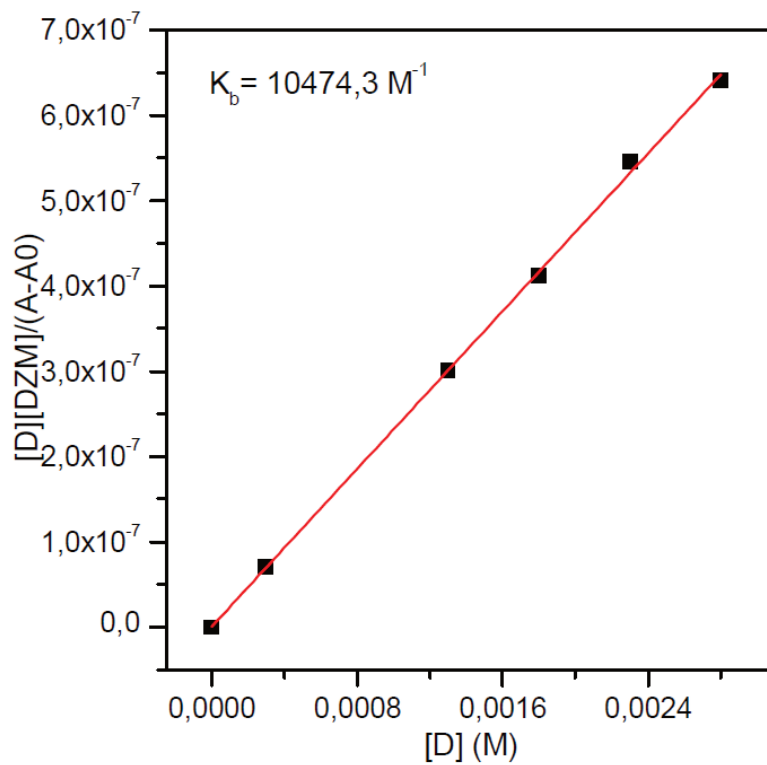
●  $C_{14}HIm-F$



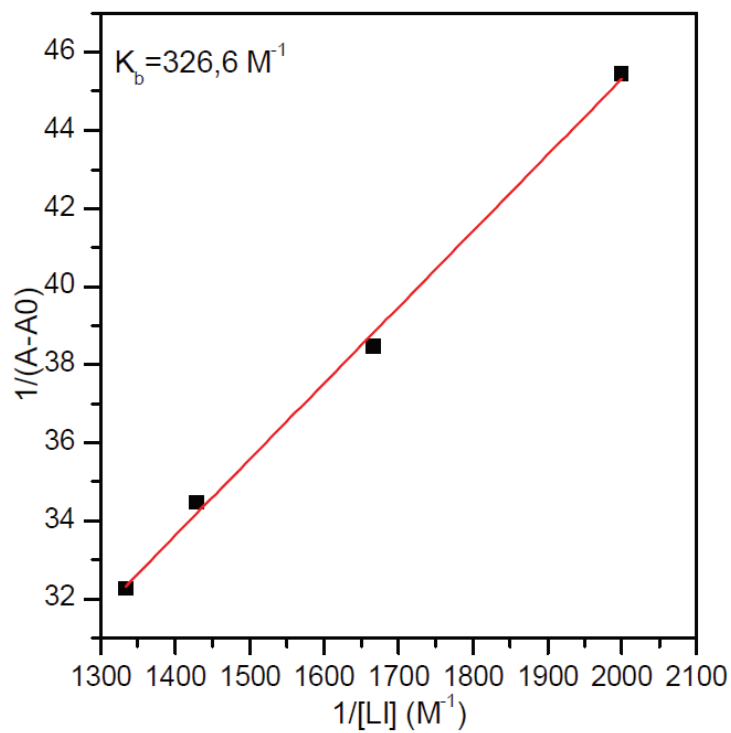
**Figura 121.** Regresión lineal en zona pre micelar para C<sub>14</sub>HIm-F-DZM.**Figura 122.** Regresión lineal en zona micelar para C<sub>14</sub>HIm-F-DZM.

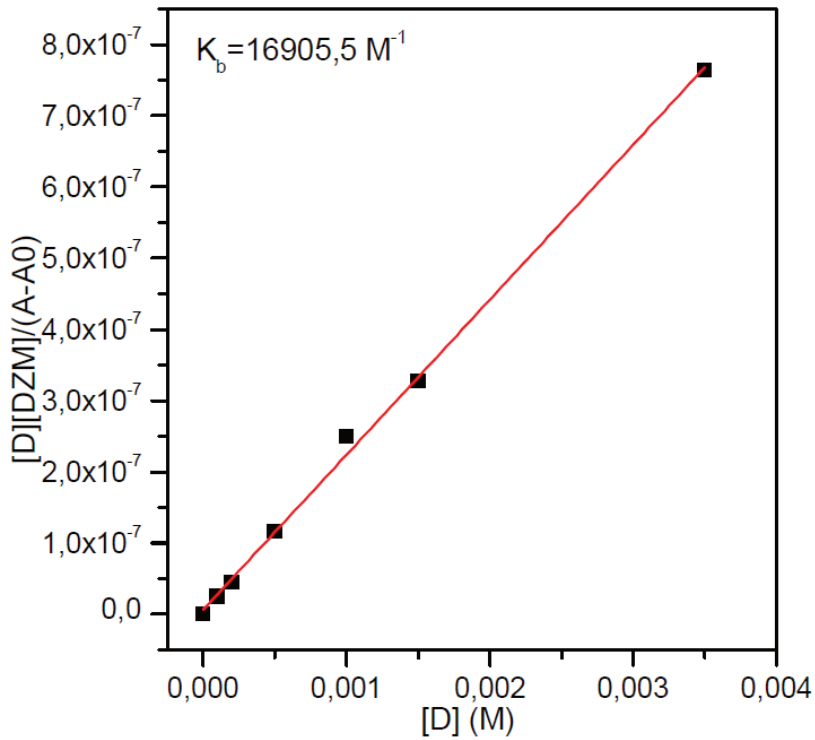
- C<sub>14</sub>HIm-S



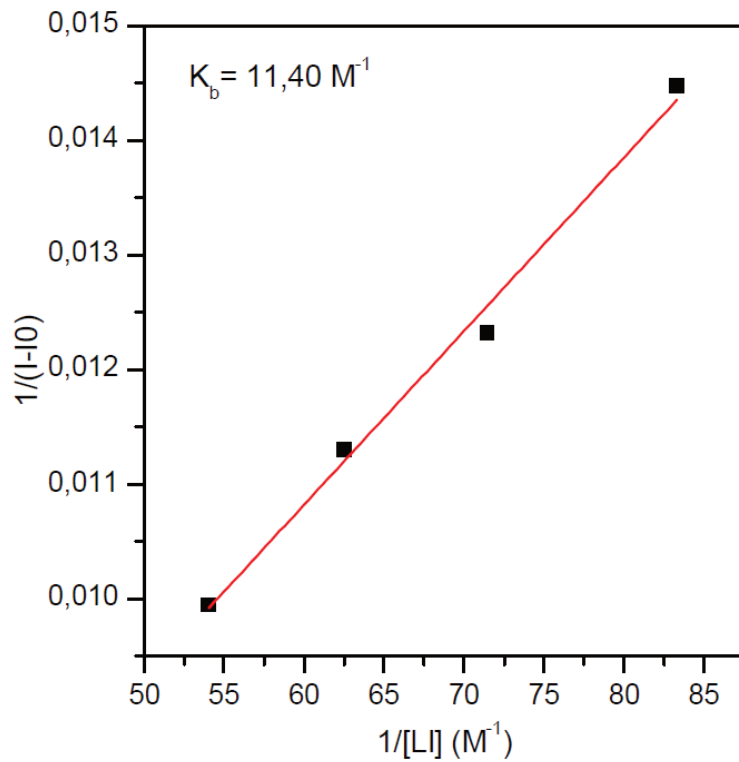
**Figura 123.** Regresión lineal en zona pre micelar para C<sub>14</sub>HIm-S-DZM.**Figura 124.** Regresão linear em zona micelar para C<sub>14</sub>HIm-S-DZM.

● C<sub>16</sub>HIm-S

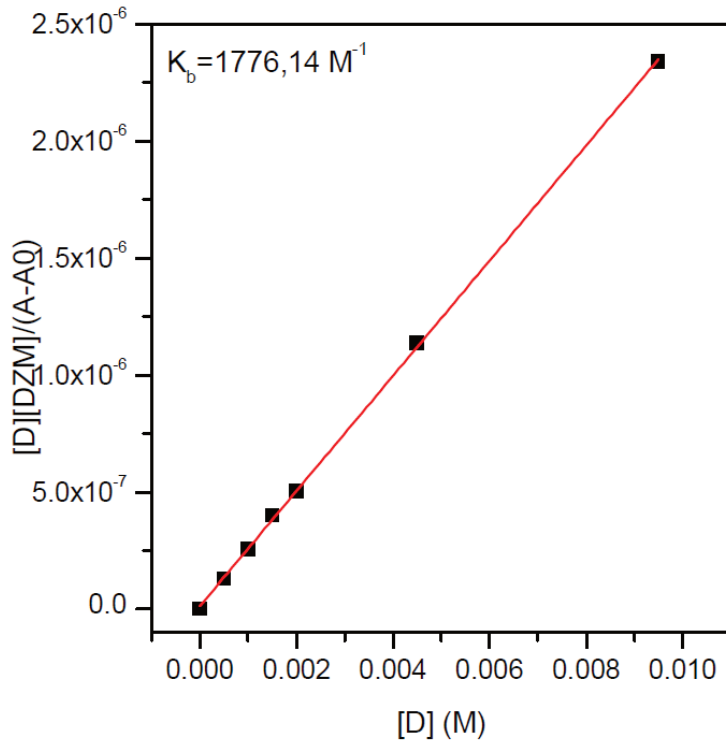


**Figura 125.** Regresión lineal en zona pre micelar para C16HIm-S-DZM.**Figura 126.** Regresão linear em zona micelar para C16HIm-S-DZM.

Espectroscopia de Fluorescência Molecular

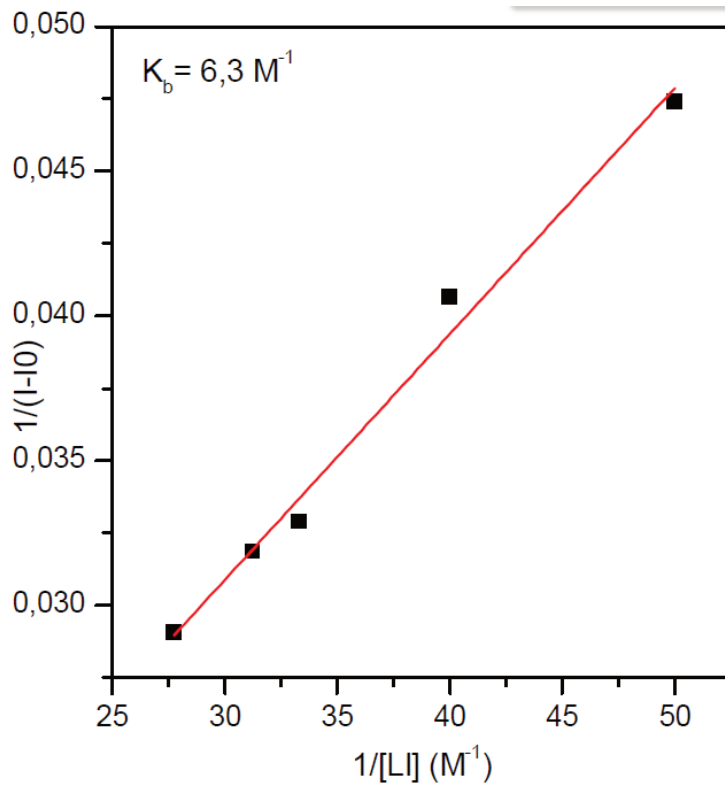
● C<sub>10</sub>HIm-F

**Figura 127.** Regresión lineal en zona pre micelar para C<sub>10</sub>HIm-F-DZM.



**Figura 128.** Regresão linear em zona micelar para C<sub>10</sub>HIm-F-DZM.

● C<sub>10</sub>HIm-S



**Figura 129.** Regresão linear em zona pre micelar para C<sub>10</sub>HIm-S-DZM.

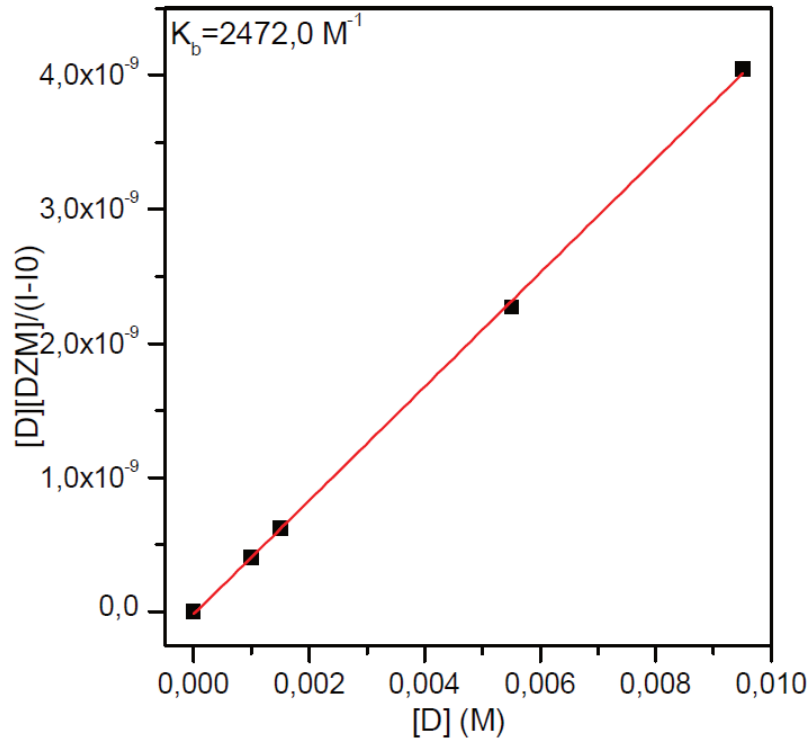


Figura 130. Regresión lineal en zona micelar para  $C_{10}\text{HIm-S-DZM}$ .

●  $C_{12}\text{HIm-F}$

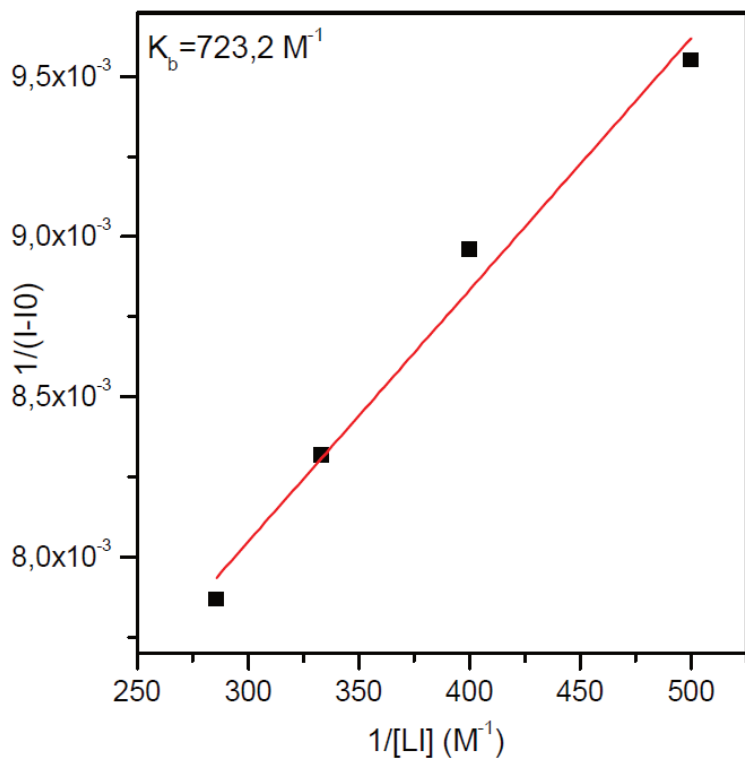


Figura 131. Regresión lineal en zona pre micelar para  $C_{12}\text{HIm-F-DZM}$ .

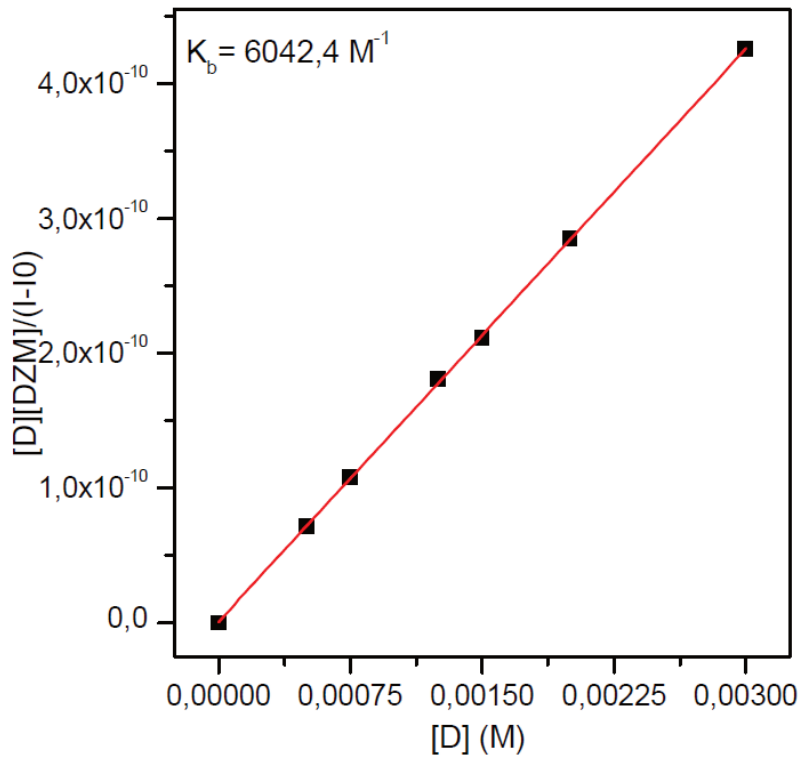


Figura 132. Regresión lineal en zona micelar para C<sub>12</sub>HIm-F-DZM.

● C<sub>12</sub>HIm-S

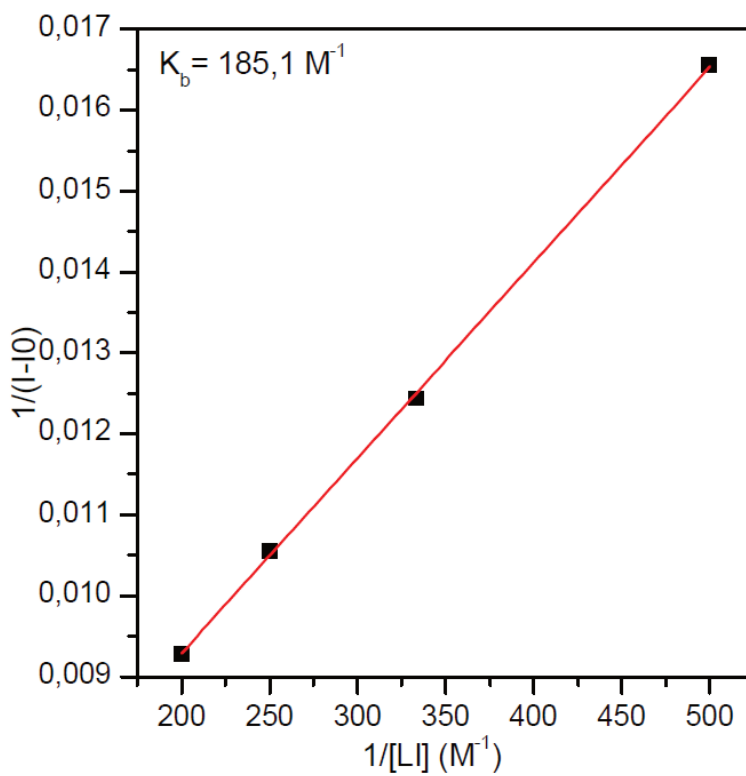


Figura 133. Regresión lineal en zona pre micelar para C<sub>12</sub>HIm-S-DZM.

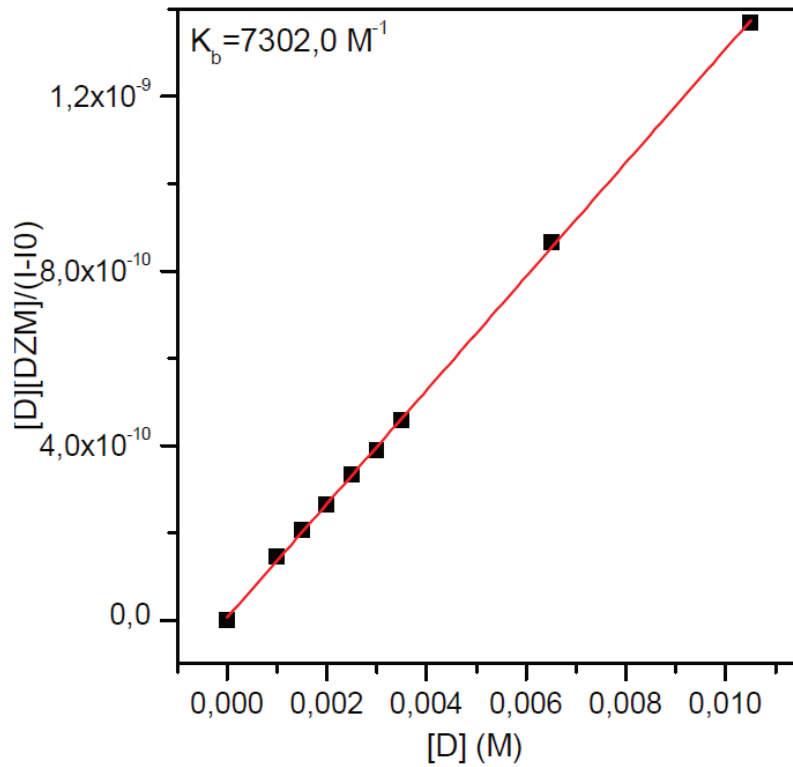


Figura 134. Regresión lineal en zona micelar para  $C_{12}HIm-S-DZM$ .

●  $C_{14}HIm-F$

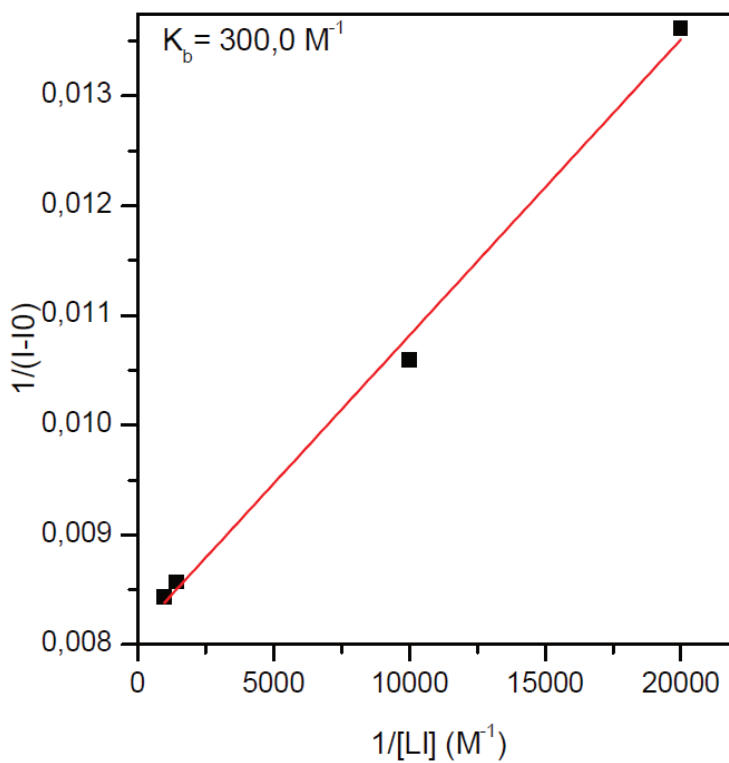


Figura 135. Regresión lineal en zona pre micelar para  $C_{14}HIm-F-DZM$ .



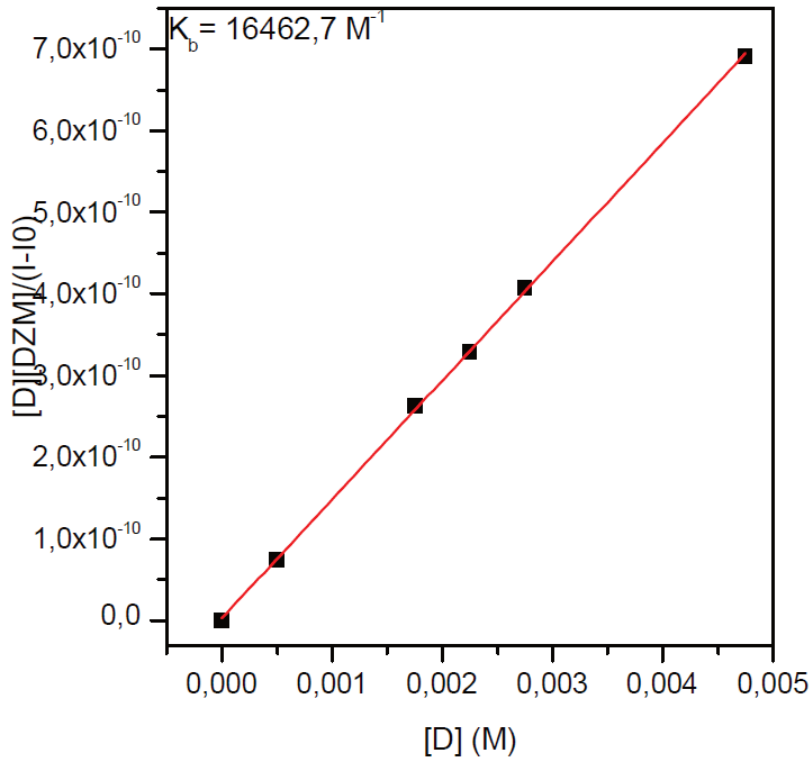


Figura 136. Regresión lineal en zona micelar para  $C_{14}HIm-F-DZM$ .

- $C_{14}HIm-S$

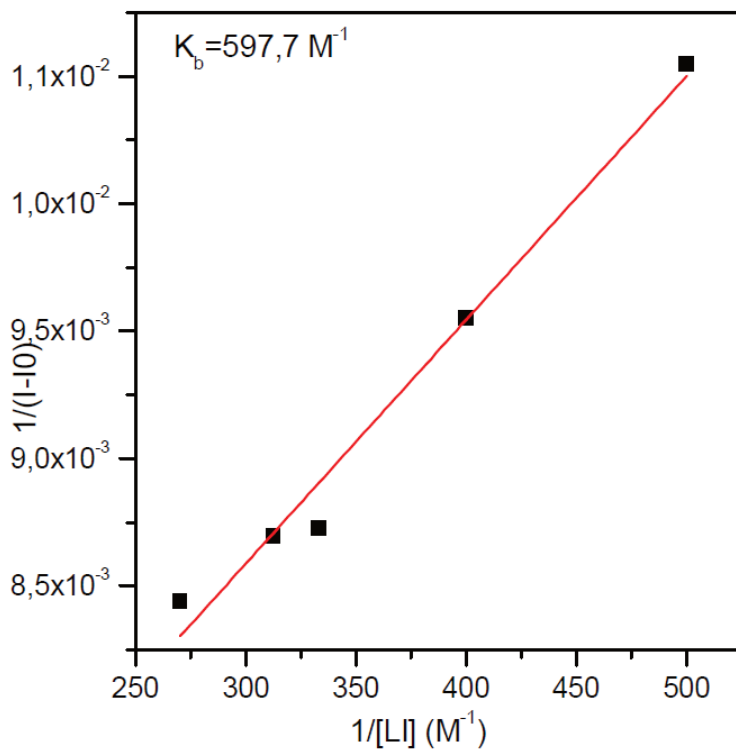


Figura 137 Regresión lineal en zona pre micelar para  $C_{14}HIm-S-DZM$ .

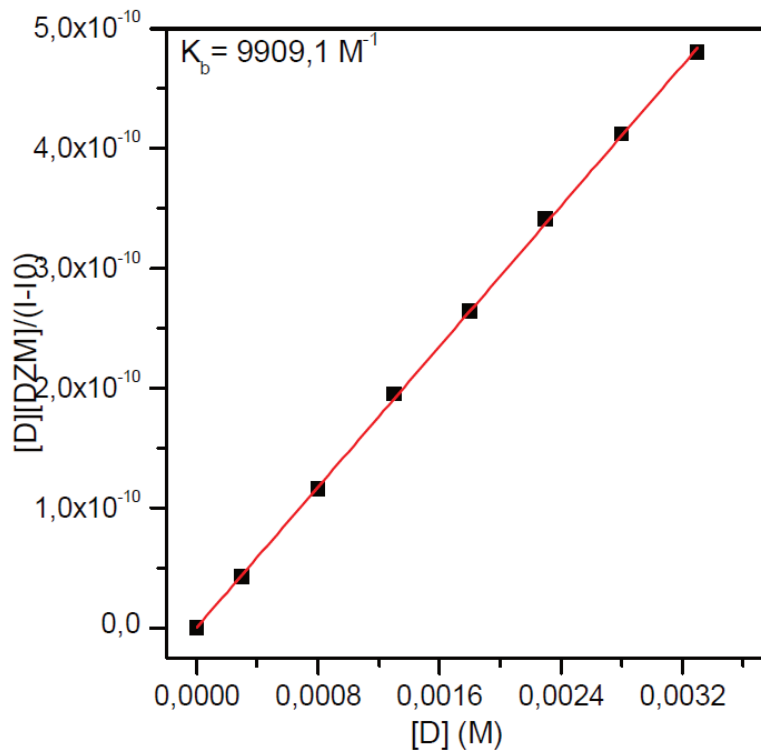


Figura 138. Regressão linear em zona micelar para  $C_{14}HIm-S-DZM$ .

●  $C_{16}HIm-S$

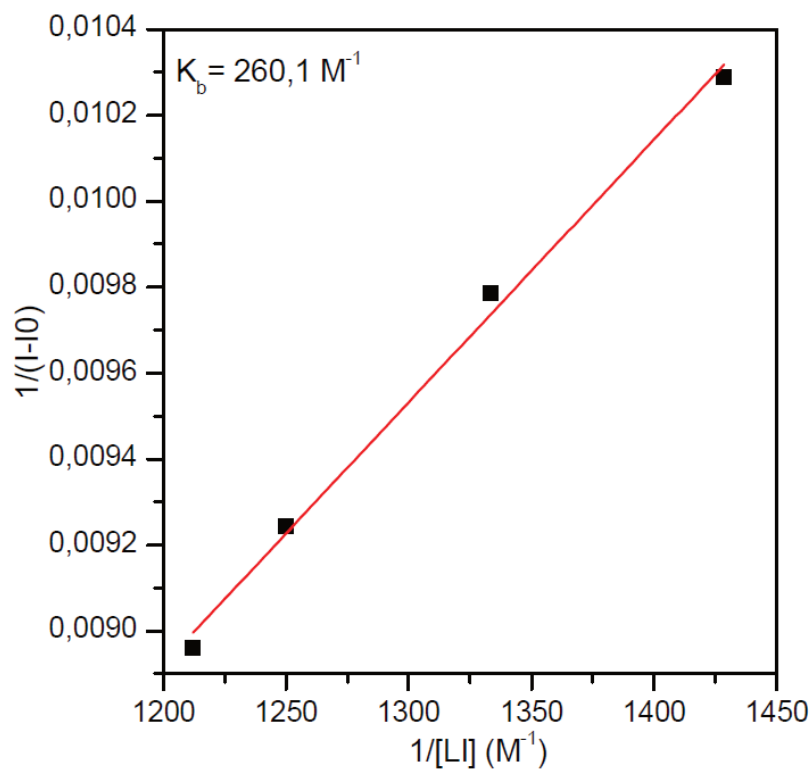


Figura 139. Regressão linear em zona pre micelar para  $C_{16}HIm-S-DZM$ .

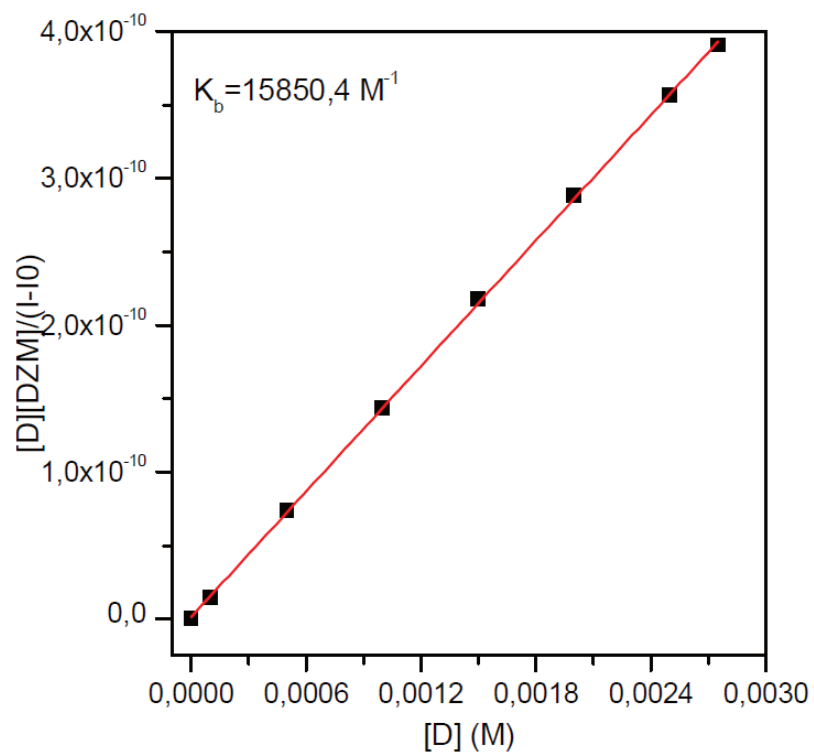


Figura 140. Regressão linear em zona micelar para  $C_{16}HIm-S-DZM$ .