



Universidad de Chile
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas
Departamento de Química Orgánica y Fisicoquímica.

SINTESIS DE CALIX[4]ARENOS CON PUENTES DE TIOUREA EN EL
LOWER RIM.
ESTUDIOS DE COMPLEJACION.

Memoria para optar al título de Químico.

Cinthia del Rosario Quiroga Campano

Director de Tesis :
Dr. Claudio Saitz Barria.

Profesor Patrocinante:
Dr. Claudio Saitz Barria.

Santiago, Chile.
2014

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quisiera agradecer a mis padres, Erick y María del Rosario, quienes a pesar de que la vida no se las jugó fácil, se esforzaron por sacar adelante la hermosa familia que hoy somos, quienes nunca se dieron por vencidos conmigo y que día a día demuestran su amor e incondicionalidad hacia nosotras, sus pequeños bebés. Ellos son los que me enseñaron que nunca debíamos bajar la cabeza y que se debe seguir adelante ante la adversidad, aunque no tengamos ganas o fuerzas, debemos seguir adelante, porque al final del camino siempre tendremos sus brazos para descansar.

También quisiera agradecer a Horacio, quien en estos 7 años ha sido un excelente compañero, me ha tenido la mayor de las paciencias posibles y se dio el tiempo de explicarme cada cosa que yo me reusaba a entender, buscando siempre una manera de ayudarme, quien también en los últimos 5 años se convirtió en más que un compañero, ayudándome cuando extrañaba mi casa y debía seguir estudiando, entregándome así el apoyo y amor necesario para seguir adelante.

Agradezco también a mi grupo de estudio, mis amigos de universidad, Patricio y (Luis) Felipe, con quienes pasamos, también con Horacio, largas tardes estudiando y compartiendo a lo largo de estos 7 años, apoyándonos para superar aquellas materias que intentaron hacernos repetir y las pasamos, justo pero pasamos.

A mis hermanas, a Ana por su ayuda con los ramos y su apoyo en nuestra estadía en Santiago y a Shirley, con quien es difícil no reír, que es un ejemplo de fuerza y me ha apoyado con todo, siempre dándose un tiempo para escucharme y compartir.

Quisiera también agradecer de manera especial a los profesores Claudio Saitz, Carolina Jullian y Julio de la Fuente, con quienes he compartido mi vida y ellos me han entregado conocimientos, quienes me han visto con todos los estados de humor posible y aun así me dan dado una sonrisa, siempre han tenido la disposición para enseñarnos y el tiempo para compartir.

A las personas que componen el laboratorio de Mecanismos de Reacción o pasaron por aquí mientras desarrollaba mi tesis, a Oney, Christopher, Nelson, Juanito, Christian (Gran Jefe), Paul, Claudia, Silvana, Rubén, Carlos y Miguel Ángel, agradezco por su buena disposición y por alegrar mi estadía en el laboratorio.

Por último, quiero agradecer al proyecto FONDECYT 1100906, lo cual fue el principal financiamiento para la compra de materiales y reactivos.

A todos quienes estuvieron conmigo y me apoyaron, muchísimas gracias.

INDICE DE CONTENIDOS

	Pagina
Resumen.....	01
Summary.....	02
1 Introducción.....	03
1.1 Calixarenos.....	04
1.2 Conformaciones De los Calixarenos.....	05
1.3 Reconocimiento de aniones y cationes.....	07
1.3.1 Calixarenos como receptores de aniones.....	07
1.3.2 Calixarenos como receptores de cationes.....	08
1.4 Fluorescencia.....	09
2.- Hipótesis.....	12
3.1. Objetivos Generales.....	14
3.2 Objetivos Específicos.....	14
4. Metodología.....	15
4.1. Materiales y Reactivos.....	16
4.1.1. Reactivos.....	16
4.1.2.-Materiales.....	18
4.1.3. Equipos.....	18
4.2. Síntesis de Calix[4]areno.....	19
4.2.1. Síntesis de para-tert-Butilcalix[4]arenos (1).....	19
4.2.1.1. Preparación del precursor.....	19
4.2.1.2. Pirolisis del Precursor.....	20

4.2.2. Síntesis de 5,11,17,23 - Tetra-tert-butil-25,27-di(cianometoxi)-26,28-dihidroxicalex[4]areno (2).....	21
4.2.3. Síntesis de 5,11,17,23-Tetra-tert-butil-25,27-di(aminoetoxi)-26,28-dihidroxicalex[4]areno (3).....	22
4.2.4. Síntesis de 5,11,17,23 - Tetra-tert-butil-25,27-di(isotiocianatoetoxi)-26,28-dihidroxicalex[4]areno (4).....	23
4.2.5. Síntesis de 5,11,17,23- Tetra-tert-butil-25,27-di[(2-benzotiazoliltioureido)-etoxi]-26,28-dihidroxicalex[4]areno (5).....	24
4.2.6. Síntesis de 5,11,17,23 - Tetra-tert-butil-25,27-di[(6-benzotiazoliltioureido)-etoxi]-26,28-dihidroxicalex[4]areno (6).....	25
4.2.7. Síntesis de 5,11,17,23 - Tetra-tert-butil-25,27-di[(5-Bromo-2-benzotiazolil-tioureido)-etoxi]-26,28-dihidroxicalex[4]areno (7).....	26
4.2.8. Síntesis de 5,11,17,23 - Tetra-tert-butil-25,27-di[(4-indoliltioureido)-etoxi]-26,28-dihidroxicalex[4]areno (8).....	27
4.2.9. Síntesis de 5,11,17,23 - Tetra-tert-butil-25,27-di[(5- indoliltioureido)-etoxi]-26,28-dihidroxicalex[4]areno (9).....	28
4.2.10. Síntesis de 5,11,17,23 - Tetra-tert-butil-25,27-di[(6-indoliltioureido)-etoxi]-26,28-dihidroxicalex[4]areno (10).....	29
4.3. Estudios de reconocimiento de iones de los complejos por espectroscopia de fluorescencia.	30
4.4. Determinación de la constante de asociación (Ka) por el método no lineal.....	30
4.5. Determinación de estequiometría del complejo de inclusión por el método Job-Plot.....	32
5. Resultados y Discusión	33
5.1. Síntesis de calix[4]areno.....	34
5.1.1. Dialquilación 1,3 del calix[4]areno por el borde inferior.....	34
5.1.2. Reducción del grupo ciano.....	35
5.1.3. Adición nucleofílica del grupo amino a tiofosgeno.....	35
5.1.4. Obtención de calix[4]areno con puentes de tiourea.....	35
5.2. Análisis de espectros de Resonancia Magnética Nuclear de Protones.....	36

5.3. Estudios de reconocimiento de iones de los calix[4]areno 5-7 por espectroscopia de fluorescencia.	40
5.4. Determinación de la constante de asociación del complejo (caltiourea+ion).....	43
5.4.1. Titulación por Espectroscopia de Fluorescencia de Tetra-tert-butil-25,27-di[(2-benzotiazoliltioureido)-etoxi]-26,28-dihidroxicalix[4]areno (5).	43
5.4.2. Titulación por Espectroscopia de Fluorescencia de Tetra-tert-butil-25,27-di[(6-benzotiazoliltioureido)-etoxi]-26,28-dihidroxicalix[4]areno (6).	45
5.4.3. Titulación por Espectroscopia de Fluorescencia de Tetra-tert-butil-25,27-di[(5-Bromo-2-benzotiazolil-tioureido)-etoxi]-26,28-dihidroxicalix[4]areno (7).	48
5.4.4. Valores de las constantes de asociación calculados por el método no lineal.	50
6. Conclusión	54
7. Referencias Bibliográficas.....	56
8. Anexo.....	58

INDICE DE FIGURAS

	Pagina
Figura 1. p-tert- Butilcalix[4]arenos.....	04
Figura 2. Conformación de calixarenos.....	05
Figura 3. Orientación de los hidrógenos de los grupos metilénicos en diferentes conformaciones.....	06
Figura 4. Calix[4]arenos modificados con grupos urea, tiourea y amida, utilizados para el reconocimiento de aniones.	08
Figura 5. Calix[4]arenos unidos a heterociclos por puentes azo y amida, utilizados para el reconocimiento de cationes.....	09
Figura 6. Diagrama de Jablonski.....	10
Figura 7. Mezcla de reacción p-tert- Butilcalix[4]arenos en el tiempo.....	19
Figura 8. Sistema de preparación de para-tert-Butilcalix[4]arenos.....	20
Figura 9. p-tert-Butilcalix[4]arenos.....	20
Figura 10. 5,11,17,23 - Tetra-tert-butil-25,27-di(cianometoxi)-26,28-dihidroxicalex[4]areno (2).....	21
Figura 11. 5,11,17,23-Tetra-tert-butil-25,27-di(aminoetoxi)-26,28-dihidroxicalex[4]areno (3).....	22
Figura 12. 5,11,17,23 - Tetra-tert-butil-25,27-di(isotiocianatoetoxi)-26,28-dihidroxicalex[4]areno (4)	23
Figura 13. 5,11,17,23- Tetra-tert-butil-25,27-di[(2-benzotiazoliltioureido)-etoxi]-26,28-dihidroxicalex[4]areno (5).....	24
Figura 14. 5,11,17,23- Tetra-tert-butil-25,27-di[(6-benzotiazoliltioureido)-etoxi]-26,28-dihidroxicalex[4]areno (6).....	25
Figura15. 5,11,17,23 - Tetra-tert-butil-25,27-di[(5-Bromo-2-benzotiazolil-tioureido)-etoxi]-26,28-dihidroxicalex[4]areno (7).....	26
Figura 16. 5,11,17,23 - Tetra-tert-butil-25,27-di[(4-indoliltioureido)-etoxi]-26,28-dihidroxicalex[4]areno (8).....	27

Figura 17. 5,11,17,23 - Tetra-tert-butil-25,27-di[(5-indoliltioureido)-etoxi]-26,28-dihidroxicalix[4]areno (9).....	28
Figura 18. 5,11,17,23 - Tetra-tert-butil-25,27-di[(6-indoliltioureido)-etoxi]-26,28-dihidroxicalix[4]areno (10).....	29
Figura 19. Esquema de síntesis de los derivados de p-tertbutilcalix[4]areno.....	34
Figura 20. Representación del calix[4]areno 6 y 8	36
Figura 21. Representación del anillo benzotiazolil. Asignación de protones.....	37
Figura 22. Representación del anillo indolil. Asignación de protones.....	38
Grafico 1: Relación de Intensidad de la Fluorescencia del calix[4]areno 5 tras la adición de 30 eq de diferentes aniones (sales de $n\text{-Bu}_4\text{N}^+$) en MeOH	40
Grafico 2: Relación de Intensidad de la Fluorescencia del calix[4]areno 5 tras la adición de 30 eq de diferentes cationes (sales de ClO_4^-) en MeOH.....	40
Grafico 3: Relación de Intensidad de la Fluorescencia del calix[4]areno 6 tras la adición de 30 eq de diferentes aniones (sales de $n\text{-Bu}_4\text{N}^+$) en MeOH.....	41
Grafico 4: Relación de Intensidad de la Fluorescencia del calix[4]areno 6 tras la adición de 30 eq de diferentes cationes (sales de ClO_4^-) en MeOH.....	41
Grafico 5: Relación de Intensidad de la Fluorescencia del calix[4]areno 7 tras la adición de 30 eq de diferentes aniones (sales de $n\text{-Bu}_4\text{N}^+$) en MeOH.....	42
Grafico 6: Relación de Intensidad de la Fluorescencia del calix[4]areno 7 tras la adición de 30 eq de diferentes cationes (sales de ClO_4^-) en MeOH.....	42
Grafico 7.- Espectro de emisión para la titulación de calix[4]areno 5 tras la adición continua de $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$. Ajuste no lineal de la intensidad de emisión en la titulación con $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$. Inserto: Job Plot de 5 con $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$	43
Grafico 8.- Espectro de emisión para la titulación de calix[4]areno 5 tras la adición continua de Γ^- . Ajuste no lineal de la intensidad de emisión en la titulación con Γ^-	44
Grafico 9.- Espectro de emisión para la titulación de calix[4]areno 5 tras la adición continua de Pb^{+2} . Ajuste no lineal de la intensidad de emisión en la titulación con Pb^{+2}	44
Grafico 10.- Espectro de emisión para la titulación de calix[4]areno 5 tras la adición continua de Fe^{+3} . Ajuste no lineal de la intensidad de emisión en la titulación con Fe^{+3}	45
Grafico 11.- Espectro de emisión para la titulación de calix[4]areno 6 tras la adición continua de $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$. Ajuste no lineal de la intensidad de emisión en la titulación con $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$	45

Grafico 12.- Espectro de emisión para la titulación de calix[4]areno 6 tras la adición continua de HSO_4^- . Ajuste no lineal de la intensidad de emisión en la titulación con HSO_4^-	46
Grafico 13.- Espectro de emisión para la titulación de calix[4]areno 6 tras la adición continua de Cu^{+2} . Ajuste no lineal de la intensidad de emisión en la titulación con Cu^{+2}	46
Grafico 14.-Espectro de emisión para la titulación de calix[4]areno 6 tras la adición continua de Fe^{+2} . Ajuste no lineal de la intensidad de emisión en la titulación con Fe^{+2}	47
Grafico 15.- Espectro de emisión para la titulación de calix[4]areno 6 tras la adición continua de Fe^{+3} . Ajuste no lineal de la intensidad de emisión en la titulación con Fe^{+3}	47
Grafico 16.- Espectro de emisión para la titulación de calix[4]areno 6 tras la adición continua de Pb^{+2} . Ajuste no lineal de la intensidad de emisión en la titulación con Pb^{+2}	48
Grafico 17.- Espectro de emisión para la titulación de calix[4]areno 7 tras la adición continua de $\text{Cr}_2\text{O}_7^{-2}$.Ajuste no lineal de la intensidad de emisión en la titulación con $\text{Cr}_2\text{O}_7^{-2}$	48
Grafico 18.- Espectro de emisión para la titulación de calix[4]areno 7 tras la adición continua de Cu^{+2} . Ajuste no lineal de la intensidad de emisión en la titulación con Cu^{+2}	49
Grafico 19.- Espectro de emisión para la titulación de calix[4]areno 7 tras la adición continua de Pb^{+2} . Ajuste no lineal de la intensidad de emisión en la titulación con Pb^{+2}	49
Grafico 20.- Espectro de emisión para la titulación de calix[4]areno 7 tras la adición continua de Fe^{+3} . Ajuste no lineal de la intensidad de emisión en la titulación con Fe^{+3}	50
Figura 23.- Posible modelo del complejo de inclusión formado por calix[4]areno 5, 6 y 7.....	51

INDICE DE TABLAS

Tabla 1.- Señales de los protones metilénicos para las distintas conformaciones de los calixarenos.....	06
Tabla 2.- Valores de las concentraciones y volúmenes de las soluciones empleadas en la obtención de Ka.....	31
Tabla 3.- Valores de los volúmenes utilizados en la obtención de la estequiometría del complejo.....	32
Tabla 4: Desplazamientos químicos de algunos protones en el espectro H-RMN para los compuestos obtenidos.....	36
Tabla 5: Desplazamientos químicos protones de grupo benzotiazolil y tiourea de los calix[4]areno 5,6 y 7.....	37
Tabla 6: Tipo de señal y constantes de acoplamiento de los protones correspondientes al grupo benzotiazolil.....	37
Tabla 7: Desplazamientos químicos protones de grupo indolil y tiourea de los calix[4]areno 8, 9 y 10.....	38
Tabla 8: Tipo de señal y constantes de acoplamiento de los protones correspondientes al grupo indolil.....	38
Tabla 9: Constante de asociación y estequiometría para el calix[4]areno 5 con aniones y cationes	50
Tabla 10: Constante de asociación y estequiometría para el calix[4]areno 6 con aniones y cationes.....	50
Tabla 11: Constante de asociación y estequiometría para el calix[4]areno 7 con aniones y cationes.....	51

RESUMEN

Los calixarenos son compuestos macrocíclicos preparados a partir de la condensación de fenoles sustituidos y aldehídos, los cuales pueden presentar diversas conformaciones y proporciona un gran número de cavidades únicas con diferentes tamaños y formas. Son moléculas muy útiles para el desarrollo de receptores fluorescentes capaces de reconocer moléculas por la incorporación de grupos sensores adecuados.

El desarrollo de moléculas capaces de reconocer moléculas selectivamente es un desafío importante en el campo de la química supramolecular. Así, diferentes grupos capaces de formar puentes de hidrogeno y donores de electrones se han incorporado en los calixarenos con el propósito de sintetizar molecular capaces de formar complejos de inclusión con aniones y cationes.

En el presente trabajo se informa la obtención de seis calix[4]arenos con puentes bis-tiourea unidos a heterociclos. Las síntesis fueron llevadas a cabo mediante la reacción del di-isotiocianatocalix[4]areno (**4**) con benzotiazoles e indoles sustituidos en diferentes posiciones con aminas primarias. Los calix[4]areno **5**, **6** y **10** se obtuvieron con porcentajes cercanos al 45%, los calix[4]areno derivados **7** y **8** se obtuvieron con porcentajes cercanos al 30% y el calix[4]areno **9** fue el que se obtuvo con el menor porcentaje (20%). Todos los derivados de calix[4]areno fueron caracterizados por espectroscopia $^1\text{H-RMN}$ y COSY. De estos estudios espectroscópicos se pudo determinar que los calix[4]areno **5** y **7** se encuentra en conformación *cono* y los calix[4]areno **6**, **8**, **9** y **10** se encuentran en conformación *cono aplanado*.

Los calixarenos derivados **5-7** fueron utilizados para el estudio de complejación de iones a través de mediciones de espectroscopia de fluorescencia. Los cationes estudiados son divalentes, utilizándose sales de perclorato: Ca^{2+} , Cd^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Pb^{2+} , Ni^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Co^{2+} , Fe^{2+} , Zn^{2+} . Los aniones estudiados tienen diferentes geometrías moleculares y se utilizaron como sales de tetrabutilamonio: HSO_4^- , I^- , N_3^- , NO_3^- , NO_2^- , SCN^- , ClO_4^- , Br^- , $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$, CN^- , Cl^- , CH_3COO^- , CF_3SO_3^- . De los valores obtenidos en los ensayos de complejación analizados por fluorescencia realizados en metanol, los calix[4]areno **5** y **6** muestran una alta selectividad para $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ y Pb^{2+} y el calix[4]areno **7** muestra una alta selectividad para $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ y Cu^{2+} . Para los calix[4]arenos **5** y **6** se determinó la estequiometría de los complejos de inclusión por el método Job Plot, presentando ambos una relación 2:1 calix/ion con todas las moléculas con las que se realizó el ensayo

SUMMARY

Synthesis thiourea bridged calixarene on the lower rim . Complexation studies.

Calixarenes are macrocyclic compounds prepared from the condensation of substituted phenols and aldehydes, which may present varying shapes and provides a large number of single cavities with varying sizes and shapes, so they are useful molecules for development of fluorescent receptors able of recognize molecules by incorporating appropriate sensors groups.

The development of molecules able of selectively recognizing molecules is important in the field of supramolecular chemistry, challenge to accomplish this different groups able of forming hydrogen bonds and electron -donor weak are incorporated in the calixarene in order to synthesize molecular able to form inclusion complexes with anions and cations .

In this thesis the preparation of six calix[4]arene bridged bis- thiourea is reported. The syntheses were carried out by the reaction of di - isothiocyanatecalix[4]arene (**4**) with different positions substituted heterocyclic primary amines . The calix[4]arene **5,6** and **10** were obtained with percentages close to 45 % , the calix[4]arene **7** and **8** were obtained with a percentage close to 30 % and the calix[4]arene **9** was obtained with the lowest percentage (20%). All derivatives of calix[4]arene were characterized by spectroscopy $^1\text{H-NMR}$ and COSY, which could also be determined that the calix[4]arene **5** and **7** is located in the *cone* conformation and the calix[4]arene **6, 8, 9** and **10** are in *flattened cone* conformation.

The derivatives calixarene **5-7** were used for the study of ion complexation via fluorescence spectroscopy measurements. Divalent cations are studied, utilizing perchlorate salts: Ca^{2+} , Cd^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Pb^{2+} , Ni^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Co^{2+} , Fe^{2+} , Zn^{2+} . The anions have different molecular geometries studied and used as tetrabutylammonium salts: HSO_4^- , I^- , N_3^- , NO_3^- , NO_2^- , SCN^- , ClO_4^- , Br^- , $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$, CN^- , Cl^- , CH_3COO^- , CF_3SO_3^- . Values obtained in the tests analyzed by fluorescence complexation in methanol, the calix [4] arene **5** and **6** show a high selectivity for Pb^{+2} y $\text{Cr}_2\text{O}_7^{-2}$ and calix[4]arene **7** shows a high selectivity for $\text{Cr}_2\text{O}_7^{-2}$ and Cu^{+2} . For the calix[4]arene **5** and **6** the stoichiometry of complexes was determined by inclusion Job Plot method, showing both a relationship 2:1 calix / ion with all molecules with which the test was performed.

Introducción

La química supramolecular es definida como la rama de la química que estudia las interacciones supramoleculares no covalentes, abarcando el reconocimiento molecular y la formación de complejos multicomponentes. Es de especial interés poder manipular las propiedades receptoras de diversas moléculas, introduciendo modificaciones para obtener así compuestos que puedan reconocer iones o moléculas selectivamente. En este campo, es bien reconocido que los calixarenos y sus derivados pueden utilizarse como receptores siendo actualmente muy estudiados en los campos de la química, biología y tecnología.

1.1 Calixarenos.

Los calixarenos son compuestos macrocíclicos preparados a partir de la condensación de fenoles sustituidos y aldehídos, con una cavidad central de diámetro dependiente de la cantidad de unidades fenólicas que constituyan el macrociclo (fig 1a). En 1944 Zinke y Ziegler¹ propusieron una estructura parcial de este compuesto, al cual se referían como un tetrámero cíclico, ya que tenían datos parciales sobre su síntesis y purificación.

En 1950 Conrforth² indicó que el producto sintetizado por Zinke era una mezcla y a mediados de los años 70, Gutsche³ reunió los datos de Zinke y Conrforth para desarrollar un método de síntesis para los tres componentes principales de la mezcla: el tetrámero, hexámero y octámero cíclico y los denominó calixarenos, debido al parecido de la forma de uno de los confórmeros, a un tipo de jarrón griego conocido como caliz⁴.

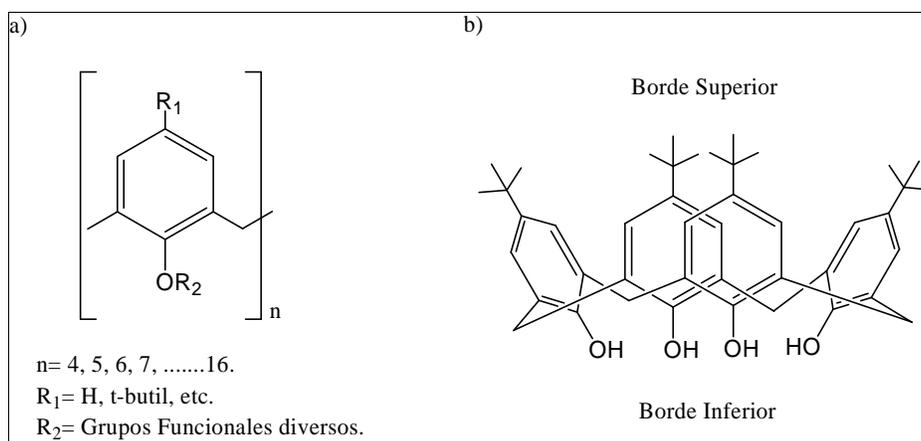


Figura 1

La cavidad que se forma en estos compuestos está constituida por dos regiones; la región del borde superior (upper rim), la cual tiene un carácter hidrofóbico por la presencia de los grupos *ter*butilo y la región del borde inferior (lower rim), con carácter hidrofílico por la presencia de los grupos hidroxilo (fig1b). Estas propiedades otorgan a los calixarenos la posibilidad de formar complejos de inclusión con una gran variedad de aniones, cationes y moléculas neutras, guiando el desarrollo de su investigación hacia la industria química, ensayos biológicos y ambientales. Actualmente, estos macrociclos pueden ser utilizados como

catalizadores⁵, en separaciones con columnas cromatograficas⁶ y sensores⁷, dependiendo de la conformación en que se encuentra el calixareno, el tipo y tamaño del sustituyente añadido.

1.2 Conformaciones De los Calixarenos

La movilidad conformacional de los calixarenos juega un rol importante en sus aplicaciones como sensor y transportador a través de membrana, por lo cual ha sido ampliamente estudiada tanto en estado sólido como en solución. Estos cambios conformacionales se deben a la posibilidad de rotación de las unidades fenólicas a través de los puentes metileno que las unen. La cantidad de conformaciones que pueden adoptar estos compuestos dependerá de la cantidad de unidades fenólicas que lo compongan, por ejemplo los calix[4]arenos tienen 4 conformaciones posibles, mientras que los calix[8]arenos, poseen 16. Las cuatro conformaciones posibles de los calix[4]arenos fueron denominadas por Gutsche como: *cono*, *cono parcial*, *1,3-alternado* y *1,2-alternado* (fig 2).

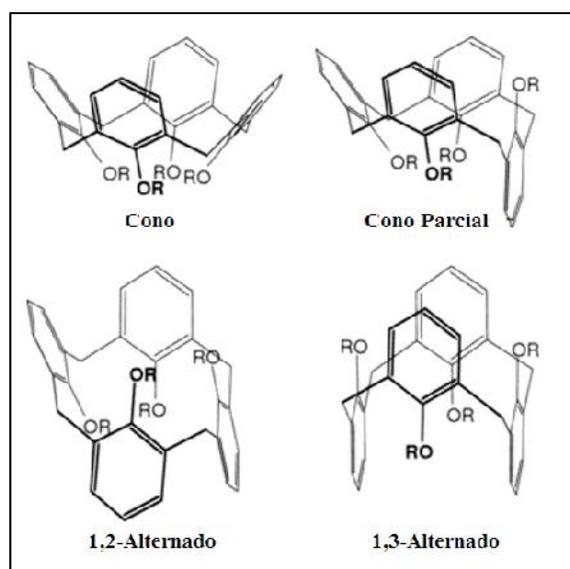


Figura 2. Conformación de calixarenos

Estas conformaciones pueden ser fácilmente identificables por sus espectros de $^1\text{H-RMN}$ y $^{13}\text{C-RMN}$ debido a las diferencias en los desplazamientos químicos de las señales en los grupos metileno en tres de las cuatro conformaciones (Tabla 1). La conformación *1,2-alternada* presenta similitudes en los desplazamientos químicos de la conformación de *cono parcial*, pero a pesar de esto, estas dos conformaciones pueden ser reconocidas por sus desplazamientos químicos en la parte aromática del espectro⁸.

Conformación	Espectro ^1H -RMN	Espectro ^{13}C -RMN
Cono	Par de dobletes	1 señal cercana a 30 ppm
Cono Parcial/1,2-Alternado	Un singulete y par de Dobletes	2 señales entre 30 y 40 ppm
1,3-Alternado	Singulete	1 señal sobre los 35 ppm

Tabla 1.- Señales de los protones metilénicos para las distintas conformaciones de los calixarenos.

La magnitud en la diferencia de los desplazamientos químicos de los protones geminales del puente metilénico es dependiente de la conformación. Como se muestra en la figura 3, la orientación de los hidrógenos del grupo metileno es afectada directamente por la conformación del calix[4]areno, siendo influenciados con diferente intensidad por la corriente electrónica producida entre los anillos⁹. De esta manera para la conformación *cono* (figura 3a) la diferencia entre los desplazamientos químicos es de $0,9 \pm 0,2$ ppm, y cero en sistemas *1,3 alternados*. Entre estas conformaciones se presenta otra denominada *cono "aplanado"*, que adopta valores intermedios para la diferencia de desplazamiento químico, $0,5 \pm 0,1$ ppm.

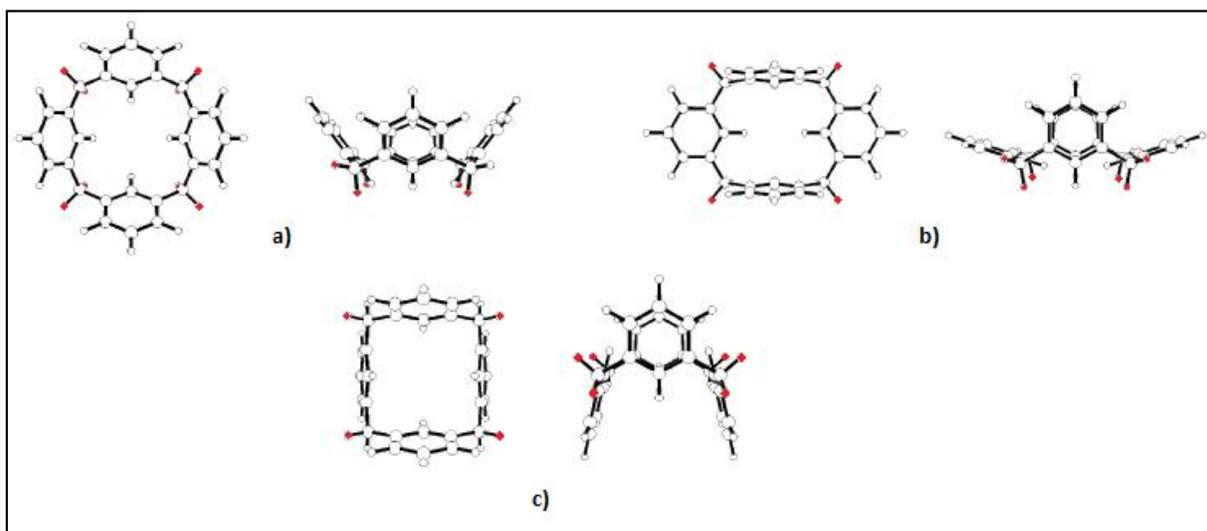


Figura 3.- Orientación de los hidrógenos de los grupos metilenos en las conformaciones: a) cono b) cono aplanado y c) 1,3 alternado.

1.3 Reconocimiento de aniones y cationes

La posibilidad de que los calixarenos puedan presentar diversas conformaciones, proporciona un gran número de cavidades únicas con diferentes tamaños y formas. Se han desarrollado diferentes rutas sintéticas para poder inmovilizar la conformación en que se encuentra el compuesto en solución¹⁰⁻¹¹, y así tener una mayor selectividad de las moléculas o iones con las que se espera formar complejos de inclusión. De esta manera, se han obtenido una gran gama de calixarenos capaces de reconocer selectivamente iones o moléculas, dependiendo del tamaño, la carga y la geometría de la especie huésped, lo que se logra cambiando los sustituyentes por el borde superior e inferior de la cavidad, introduciendo grupos capaces de formar enlaces de hidrogeno, interacciones electroestáticas o con átomos donores.

1.3.1 Calixarenos como receptores de aniones

Los aniones juegan un rol fundamental en ciertos procesos químicos y biológicos, por sus usos como nucleófilos, bases, agentes activos redox o catalizadores de transferencia de fase, lo que ha aumentado al desarrollo de moléculas receptoras que puedan separarlos o estabilizarlos a través de la coordinación. El crecimiento de la contaminación ambiental debido aniones como fosfatos o nitratos, utilizados como fertilizantes, que pueden provocar un crecimiento excesivo de algas en los ríos, es también un tema importante. Por otro lado, bioquímicamente los aniones son esenciales para la función metabólica normal, tanto ATP como DNA son aniónicos y numerosas enfermedades (cáncer, Alzheimer, fibrosis quística) involucran regulación de la función aniónica. Sin embargo, el desarrollo de receptores sintéticos para aniones ha sido lento en comparación a los cationes. Unos de los principales problemas para la complejación de aniones es que se necesita de grandes cavidades, debido al gran volumen de estos y a las diferentes topologías que pueden adoptar, por ejemplo esférica para los halógenos, lineal para dicarboxilatos, etc. La utilización de puentes de hidrogeno presentes en grupos amida, urea y tio-urea es una de las tácticas mas usadas para el reconocimiento de aniones. La ventaja de usar enlaces de hidrogeno es que se puede controlar la direccionalidad de los átomos para favorecer la interacción con la molécula huésped, tal como ha sido reportado en la obtención de calixarenos por K.S.Moon y colaboradores¹², donde a través del uso de grupos amida y benzoimidazol, se logró la complejación selectiva de fluoruro y acetato (F^- y CH_3COO^-). También se ha utilizado moléculas con grupos urea, tiourea, benzotiazol y benzoxazol, donde los grupos NH interactúan fuertemente con los aniones¹³. Debido a esto, se han incorporado estos grupos en los calixarenos, tanto por el borde inferior y/o por el borde superior con el propósito de coordinar aniones (Fig 4)¹⁴⁻¹⁵.

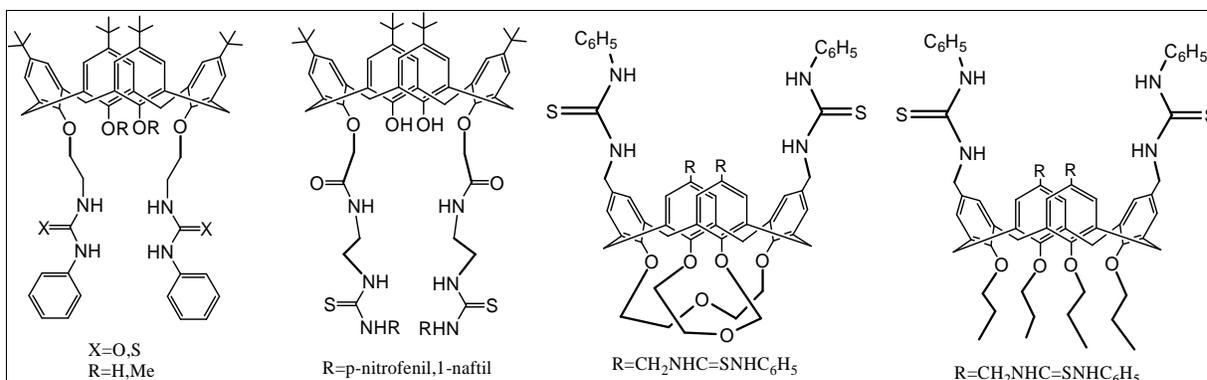


Figura 4.- Calix[4]arenos modificados con grupos urea, tiourea y amida, utilizados para el reconocimiento de aniones.

Reinhoudt y colaboradores¹⁶ han reportado la síntesis de calix[4]arenos modificados por el borde inferior con cadenas de 4 átomos de carbono unidos a grupos urea y tiourea, y han estudiado su capacidad como receptores de aniones a través de espectroscopia ¹H-RMN. Sus resultados indican que la formación de complejo respondía a una estequiometría 1:1 y que era selectivo para cloruro por sobre bromuro y yoduro.

1.3.2 Calixarenos como receptores de cationes

Todos los cationes pueden producir algún grado de toxicidad en algún nivel de concentración, presentándose una relación directa entre el peso molecular y la toxicidad, siendo los metales pesados los que provocan mayor toxicidad a menor concentración. El orden de toxicidad de los metales pesados es $Ni > Cu > Cr(IV) > Cr(III) > Pb > Zn$ ¹⁷. Debido a los daños que pueden producir estas moléculas contaminando aguas y tierras, es de especial preocupación la extracción o eliminación de compuestos que los puedan liberar al medio ambiente.

Estudios en la química de coordinación de los calixarenos, ilustra cómo estos ligandos pueden interactuar con los cationes, provocado posiblemente por la función fenólica para la interacción con la molécula huésped o las interacciones π -catión de la nube electrónica de los anillos que pueden actuar como fluoróforos. Por consiguiente, se ha desarrollado un gran número de calixarenos en los que se ha demostrado que la presencia de átomos donores de electrones¹⁸ (fig 5) en el ligando resulta en un aumento considerable en la estabilidad de sus complejos con cationes. Considerando todo esto, se han realizado diferentes estudios con los cuales se ha podido determinar cierta afinidad de cationes con determinados átomos, los cationes alcalino y alcalino térreo forman complejos con moléculas que presentan átomos de

oxígeno y flúor, mientras que cationes como Cu, Ag, Pb y Hg muestran afinidad por azufre, formado complejos estables, ya que los enlaces formados son covalentes mientras que para los complejos con oxígeno la interacción es de naturaleza electrostática

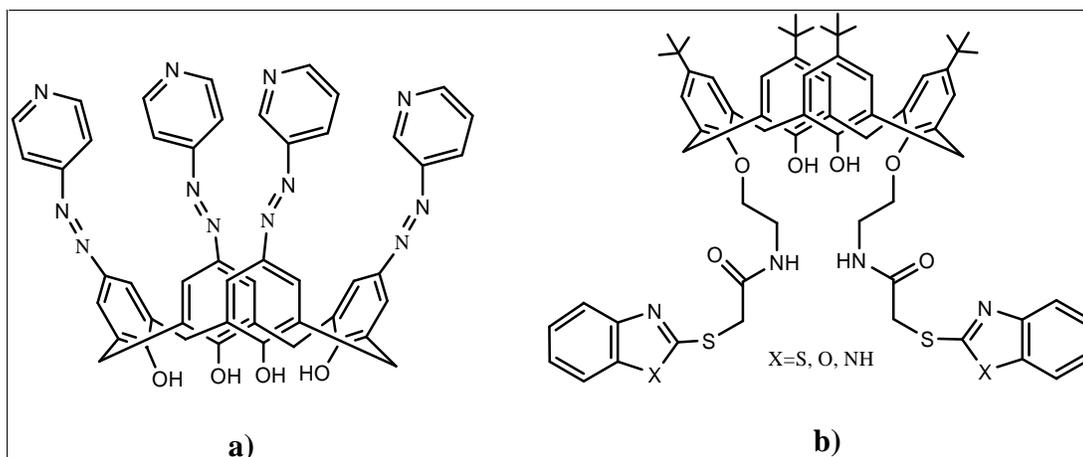


Figura 5.- Calix[4]arenos unidos a heterociclos por puentes azo y amida, utilizados para el reconocimiento de cationes.

Recientemente, nuestro grupo obtuvo tres nuevos derivados de calixarenos unidos a benzotiazol, benzoxazol y benzoimidazol¹⁹ por puentes amida y azufre los que presentan una alta selectividad sobre Pb^{+2} por sobre cationes como Cd^{+2} , Ca^{+2} , Fe^{+2} y Zn^{+} . De acuerdo a los estudios por 1H -RMN, la complejación ocurriría por la interacción de los heteroátomos con el catión, tal como lo sugiere Lee y colaboradores²⁰ en moléculas que presentan grupos benzoimidazol y tiourea.

1.4 Fluorescencia

Dentro de los receptores sintéticos que se han desarrollado en los últimos años, se encuentran los sensores químicos o quimiosensores, constituidos por una unidad receptora, en la cual se produce la coordinación con el iones y una unidad activa, que experimenta cambios en una o más de sus propiedades tras la coordinación. El desarrollo de quimiosensores fluorescentes ofrece muchas ventajas ya que la espectroscopia de fluorescencia, para la detección cualitativa y cuantitativa de iones es una técnica altamente sensible, selectiva y de bajo costo²¹.

La espectroscopia de fluorescencia es básicamente, el análisis de la intensidad y distribución de longitudes de onda del espectro de emisión del ligando después de la excitación de sus electrones por efecto de un haz de luz. Esta técnica puede ser aplicada en campos como la química, bioquímica y medicina, entre otros.

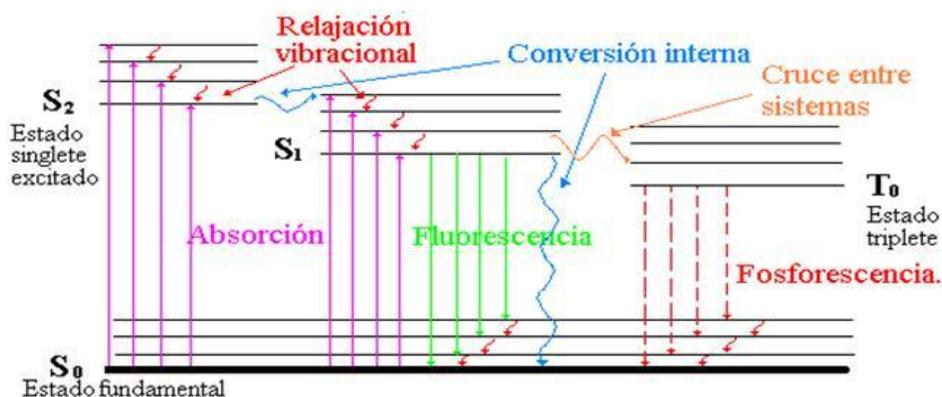


Figura 6.- Diagrama de Jablonski

El esquema de la irradiación para una molécula, se muestra en la figura 6, la molécula que se encuentra en estado fundamental es perturbada por un haz de luz, produciendo un salto de electrones a un estado excitado, lo cual produce como respuesta la emisión de energía, reconocida en nuestro caso como fluorescencia.

Debido a las unidades que constituyen los calixarenos y su flexibilidad, son útiles para el desarrollo de receptores fluorescentes en el reconocimiento molecular por la incorporación de grupos sensores adecuados.

De acuerdo a los antecedentes presentados, se sintetizarán nuevos derivados de calix[4]arenos unidos a heterociclos por puentes de tiourea y se realizarán estudios como receptores de aniones y cationes por espectroscopia de fluorescencia. Podríamos esperar, que la presencia de los grupos tiourea en calixarenos potenciara la capacidad de estos macrociclos para formar complejos de inclusión con aniones y cationes. Además, la combinación de estos macrociclos con fluoróforos, los cuales respondan a los cambios en el ambiente electrónico por una variación en el espectro de fluorescencia nos permitiría obtener un sensor químico para aniones y cationes.

Hipótesis

2.- Hipótesis

Los calixarenos dada la variedad de tamaños en que se encuentran disponibles, la fácil y selectiva funcionalización para la introducción de ligandos adecuados, se presentan como una base atractiva para el desarrollo de receptores. Además,

- ♣ El grupo tiourea representa un interesante espaciador, ya que ofrece la ventaja de tener protones lo suficientemente ácidos para una buena interacción con aniones y la disposición de estos en el espacio coopera en la formación del complejo, estos grupos están formados por átomos donores de electrones capaces también de interactuar con cationes.
- ♣ La preparación de calix[4]areno funcionalizados con grupos urea y tiourea, han sido poco empleados como ligandos en reconocimiento de aniones.

Entonces, a partir de una estrategia común de síntesis, por la reacción de un grupo amino con un grupo isotiocianato, se espera elaborar una serie de calixarenos unidos por un puente de tiourea, en la parte angosta del calixareno, lo cual posiblemente potencie la capacidad de formar complejos de inclusión debido a la presencia de átomos donores de electrones y a la alta acidez de los protones del fragmento NH.

Objetivos

3.1. Objetivos Generales

- ♣ Sintetizar una nueva familia de calixarenos con puentes tiourea unidos a heterociclos. Caracterización de los compuestos por espectroscopia ^1H -RMN y 2D-H-H COSY.
- ♣ Determinar la capacidad de reconocimiento de aniones y cationes por espectroscopia de fluorescencia.

3.2 Objetivos Específicos

- ♣ Síntesis y caracterización de calix[4]arenos funcionalizados con puentes tiourea en el borde inferior del calixareno con 2-Aminobenzotiazol, 6-aminobenzotiazol, 2-Amino-5-Bromobenzotiazol, 4-AminoIndol, 5-AminoIndol y 6-AminoIndol.
- ♣ Determinación de la constante de asociación y estequiometría de los complejos de inclusión, utilizando espectroscopia UV y fluorescencia.

Metodología

4.1. Materiales y Reactivos

4.1.1.- Reactivos

Acetato de Etilo p.a. MERCK.

Acetonitrilo p.a. MERCK.

Agua destilada.

Bromoacetonitrilo p.a. MERCK.

Cloroformo p.a. MERCK.

Diclorometano p.a. MERCK.

DifenilEterpa. ALDRICH.

Hexano p.a. MERCK.

Metanol p.a. MERCK.

Tetrahidrofurano p.a. MERCK.

Tolueno p.a. MERCK.

Nitrógeno Gaseoso.

Ácido clorhídrico 37% p.a. WINKLER.

Carbonato de Bario ALDRICH. Para síntesis

Carbonato de Potasio SUDELAB. Para síntesis

Celita MERCK (tierra de diatomeas)

Formaldehido 97% p.a. ALDRICH.

Hidroxido de Sodio MERCK. Para síntesis

p-t-Butilfenol ALDRICH. Para síntesis

Sulfato de sodio Anhídrido p.a.

Tiofosgeno 97% p.a. ALDRICH.

Trietilamina p.a. MERCK.

Acetato de Tetrabutilamonio 97%.CAS: 10534-59-5. Sigma-Aldrich.

Azida de Tetrabutilamonio 97%.CAS: 993-22-6. Sigma-Aldrich.

Bisulfato de Tetrabutilamonio 97%.CAS: 32503-27-8. Sigma-Aldrich.

Bromuro de Tetrabutilamonio 98%.CAS: 1643-19-2. Sigma-Aldrich.

Cianuro de Tetrabutilamonio 95%.CAS: 10442-39-4. Sigma-Aldrich.

Cloruro de Tetrabutilamonio 97%.CAS: 1112-67-0. Sigma-Aldrich.

Dicromato de Bis-(Tetrabutilamonio) 99%.CAS: 56660-19-6. Sigma-Aldrich.

Fluoruro de Tetrabutilamonio Hidratado 98%.CAS: 22206-57-1. Sigma-Aldrich.

Nitrito de Tetrabutilamonio 97%.CAS: 26501-54-2. Sigma-Aldrich.

Nitrato de Tetrabutilamonio 97%.CAS: 1941-27-1. Sigma-Aldrich.

Perclorato de Tetrabutilamonio 98%.CAS: 1923-70-2. Sigma-Aldrich.

Tiocianato de Tetrabutilamonio 98%.CAS: 3674-54-2. Sigma-Aldrich.

TrifluoroMetanoSulfonato de Tetrabutilamonio 99%.CAS: 35895-70-6. Sigma-Aldrich.

Yoduro de Tetrabutilamonio 99%.CAS: 311-28-4. Sigma-Aldrich.

Perclorato de Cadmio Hidratado 99%. CAS: 79490-00-9. Sigma-Aldrich.

Perclorato de Calcio Tetrahidratado 99%. CAS: 15627-86-8. Sigma-Aldrich.

Perclorato de Cobre (II) Hexahidratado 98%. CAS: 10294-46-9. Sigma-Aldrich.

Perclorato de Cobalto (II) Hexahidratado 97%. CAS: 13478-33-6. Sigma-Aldrich.

Perclorato de Hierro (II) Hidratado 98%. CAS: 335159-18-7. Sigma-Aldrich.

Perclorato de Hierro (III) Hidratado Cristalino. CAS: 15201-61-3. Sigma-Aldrich.

Perclorato de Magnesio Hexahidratado 99%. CAS:13446-19-0. Sigma-Aldrich.

Perclorato de Manganeso (II) Hidratado 99%. CAS: 698999-57-4. Sigma-Aldrich.

Perclorato de Mercurio (II) Hidratado 97%. CAS: 304656-34-6. Sigma-Aldrich.

Perclorato de Nickel (II) Hexahidratado 97%. CAS: 13520-61-1. Sigma-Aldrich.

Perclorato de Plomo (II) Trihidratado 98%. CAS: 13453-62-8. Sigma-Aldrich.

Perclorato de Zinc Hexahidratado 97%. CAS: 10025-64-6. Sigma-Aldrich.

2-Amino-5-Bromobenzotiazol 97%.CAS: 20358-03-6. Sigma-Aldrich.

2-Aminobenzotiazol 97. CAS: 136-95-8. Sigma-Aldrich.

6-aminobenzotiazol 97%. CAS: 533-30-2. Sigma-Aldrich.

4-AminoIndol 97%. CAS: 5192-23-4 .Sigma-Aldrich.

Clorhidrato de 5-AminoIndol 98%. CAS:65795-92-8 .Sigma-Aldrich.

6-AminoIndol 97%. CAS: 5318-27-4 .Sigma-Aldrich.

4.1.2.-Materiales

Jeringa Hamilton 25 µL.

Jeringa Hamilton 100 µL.

Jeringa Hamilton 500 µL.

Jeringa Hamilton 1000 µL.

Termómetro (-30 - +250°C). BrokenThermometers.

Placa Cromatografica de aluminio de 20 x 20 cm de sílica gel 60 F₂₅₄ Merck.

Sílica gel Merck 60 de tamaño de partícula 0.0603 – 0.200 mm.

Cubetas de cuarzo, paso óptico de 10 mm.

Micropipetas de volúmenes diferentes: 2-20 µL, 20-200 µL y 100 – 1000 µL, LABOPETTE, HirschmannLaborgerate, Germany.

4.1.3.- Equipos

Balanza analítica Precisa 40SM-200A

Balanza Granataria Precisa 160 M

Rotavapor R-200 Büchi.

Agitador Magnético MR Heidolph.

Espectrómetro de Fluorescencia, Perkin Elmer, LS-55

Espectrofotómetro de Absorción Molecular, Agilent 8453.

Espectrómetro de Resonancia Magnética Nuclear. Marca: Bruker, Modelo: Avance DRX-300 MHz.

4.2.- Síntesis de Calixarenos

4.2.1.- Síntesis de *p*-tert-Butilcalix[4]arenos(1)²²

4.2.1.1.- Preparación del precursor.

En un matraz Erlenmeyer de 1L equipado con agitación magnética, se colocan 100 g (0,665 mol) de *p*-tert-butil-fenol, 61 ml (0,75 mol) de formaldehído al 37% y 1,2 g (0,03 mol) de NaOH disueltos de 3 ml de agua destilada. La mezcla se agita por 15 minutos a temperatura ambiente (Figura 7a). Posteriormente se la aumenta la temperatura de la mezcla en un rango de 100-120° C por 2 horas, lo que provoca un cambio de color en la solución (virando desde blanco a amarillo intenso) en los primeros 30 minutos (Figura 7b). A medida que el agua se evapora del sistema, se genera una mezcla más viscosa, dificultando la agitación y originando un cambio desde amarillo intenso a amarillo claro (Figura 7c).

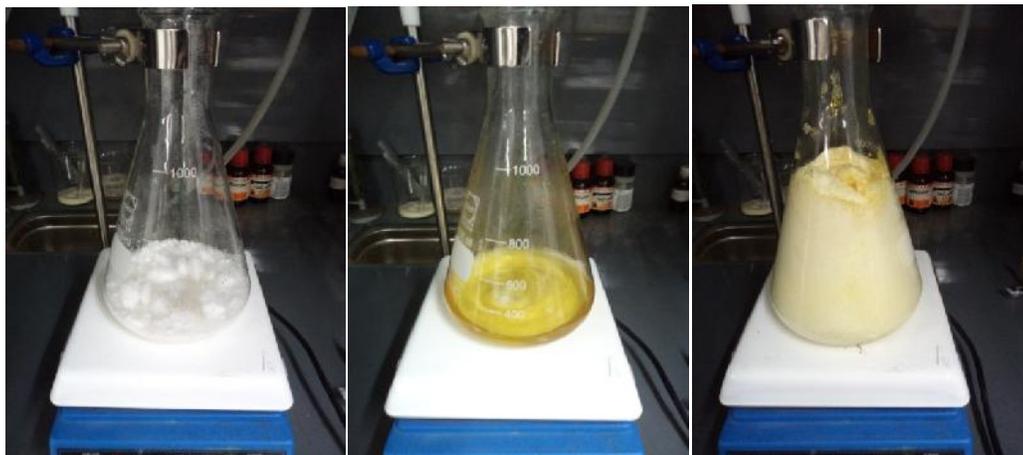


Figura 7.-Mezcla de reacción a los a)10 minutos, b) 20 minutos y c)30 minutos.

Tras completarse las dos horas de calentamiento y agitación, se enfría el sólido hasta temperatura ambiente. Se agrega 1 L de difenil-éter tibio (se mantiene a baño maría debido a su bajo punto de fusión). La solución obtenida se traspasa a un balón de 2 L de dos bocas, el cual está sujeto a un sistema que consiste en: un soporte universal, un manto calefactor, un refrigerante y una jeringa conectada a nitrógeno gaseoso. Una vez disuelto todo el sólido, se sella el sistema y se sumerge la jeringa en la mezcla, burbujeando nitrógeno a la solución, con el objetivo de mantener el ambiente libre de agua y oxígeno.

4.2.1.2.- Pirolysis del Precursor

Se aumenta la temperatura en un rango de 150-160° C por unos 15 a 20 minutos. Luego se aumenta nuevamente la temperatura cerca de los 200° C, manteniendo el reflujo por un rango de tiempo ente 3-4 horas. Durante el proceso la solución toma un color café oscuro (Figura 8). Tras completarse el tiempo de calentamiento, la reacción se enfría a temperatura ambiente, manteniendo la agitación constante y el producto precipita por la adición de 1500 ml de acetato de etilo.



Figura 8. Sistema para preparación de para-tert-Butilcalix[4]areno

Tras 15 minutos de agitación, se filtra la mezcla al vacío. Una vez filtrada la solución, el sólido se lava con 200 ml de ácido acético, 2x200 ml de agua y 2x100 ml de acetona.

El producto se seca en una estufa de vacío por 24 horas, a una presión menos a 100 mbar y 100° C. La pureza del sólido se determinó por placa cromatográfica comparando el sólido obtenido con un patrón de calix[4]arenos Aldrich, utilizando como fase móvil una mezcla 1:1 Hexano/Diclorometano, obteniendo un R_f de 0,66.

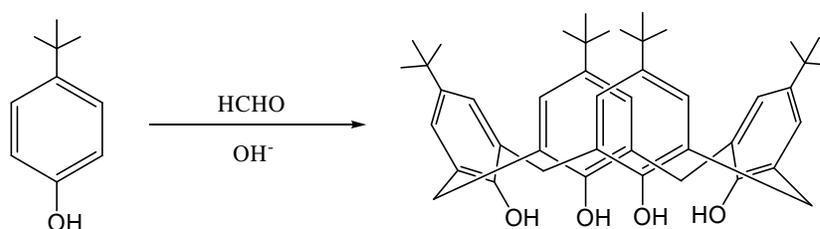


Figura 9.- p-tert-Butilcalix[4]areno

Rendimiento: 67%. Punto de fusión: 340-342° C. $^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, CDCl_3 , TMS, 25°C) 10.34 (s, 4H, ArOH), 7.05 (s, 8H, ArH), 4.26 (d, 4H, $J = 14.2$ Hz, ArCH_2Ar), 3.49 (d, 4H, $J = 14.2$ Hz, ArCH_2Ar), 1.21 (s, 36H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$)

4.2.2.- Síntesis de 5,11,17,23 - Tetra-tert-butil-25,27-di(cianometoxi)-26,28-dihidroxicalex[4]areno (2)²³

En un balón de 500 mL, equipado con agitador magnético, se colocan 15 g (0.023 mol) de calix[4]areno (1), 9 g (0.065 mol) de carbonato de potasio y 180 mL de acetonitrilo, destilado y seco utilizando una jeringa (se destila sobre hidruro de calcio en un sistema cerrado, en ambiente inerte). Finalmente al balón se adicionan 6,7 mL (0.096 mol) de bromoacetonitrilo utilizando una jeringa.

El balón de reacción se sumerge en un baño de silicona, se inserta un refrigerante con una trampa de cloruro de calcio. La mezcla se agita y calienta a reflujo por 8 horas, tiempo durante el cual la reacción cambia de color de blanco a café oscuro. Pasadas las 8 horas, se enfría la mezcla y se filtra al vacío sobre celita, se lava abundantemente con acetonitrilo, hasta que la solución obtenida sea incolora. Esta solución se trasvasija a un balón de 500 mL y se coloca en un evaporador rotatorio hasta sequedad.

El residuo obtenido se tritura con 200 mL de metanol caliente, hasta la obtención de un sólido blanco finamente dividido en el fondo del balón. Luego la solución se enfría hasta temperatura ambiente y se filtra al vacío, lavando el sólido obtenido con metanol frío.

El sólido se trasvasija a un balón de 100 ml, al cual se agregan 60 ml de cloroformo, y se somete a calentamiento hasta completa disolución. Luego la solución se filtra en caliente, recolectando en un balón de 250 mL, al cual se agrega metanol frío. La solución se deja reposar una noche, obteniendo un precipitado blanco, que es filtrado y secado con una bomba de vacío por 24 horas.

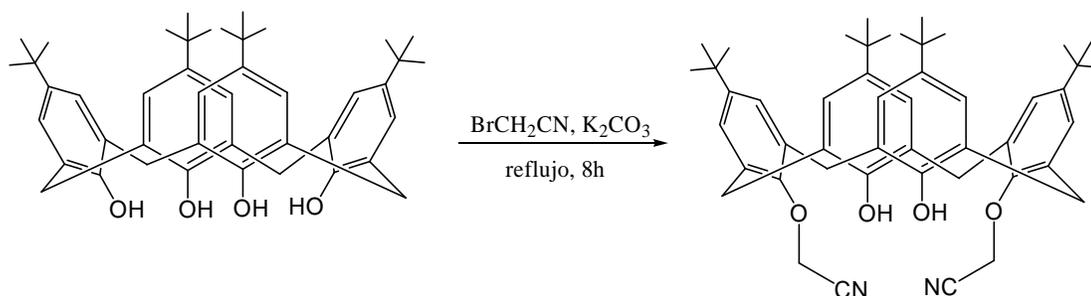


Figura 10- 5,11,17,23 -Tetra-tert-butil-25,27-di(cianometoxi)-26,28-dihidroxicalex[4]areno (2)

Rendimiento: 83%. Punto de fusión: 265-267° C. ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃, TMS, 25°C) 7.12 (s, 4H, ArH), 6.73 (s, 4H, ArH), 4.81 (s, 4H, OCH₂CN), 4.23 (d, 4H, J= 13.4 Hz, ArCH₂Ar), 3.45 (d, 4H, J= 13.4 Hz, ArCH₂Ar), 1.32 (s, 18H, C(CH₃)₃), 0.88 (s, 18H, C(CH₃)₃).

4.2.3.- Síntesis de 5,11,17,23-Tetra-*tert*-butil-25,27-di(aminoetoxi)-26,28-dihidroxicalex[4]areno(3)²³

En un balón de dos bocas de 500 mL, equipado con agitación magnética y un embudo de adición a presión constante, se agregan 1,5 g (0.04 mol) de Hidruro de litio y aluminio en 30 mL de Tetrahidrofurano anhidro, previamente destilado sobre sodio en ambiente inerte.

En un balón de 250 mL se disuelven 7,5 g (0.01 mol) de calix[4]areno-diciano(2), en 70 mL de THF anhidro. Esta solución se traspasa por medio de una jeringa de vidrio al embudo de adición a presión constante, el cual está sellado con un septum por la parte superior y unido al balón de dos bocas. Todo el sistema debe encontrarse en ambiente inerte. El balón de dos bocas debe tener una de las bocas sellada, la cual cuenta con una jeringa como salida de presión.

La adición de la solución de calixareno **2** sobre el hidruro de litio y aluminio se debe hacer gota a gota a baja temperatura (en baño de hielo), con agitación constante, por aproximadamente 4 horas. Una vez pasadas las 4 horas y consumida toda la solución de calixareno **2**, se detiene la reacción por adición por goteo de 2,6 ml de una solución de NaOH al 20% (nota 1), luego se agregan 7,5 mL de agua destilada gota a gota.

La mezcla obtenida se filtra al vacío sobre celita, y se lava con abundante THF. El filtrado se traspasa a un balón de 250 mL y se coloca en un evaporador rotatorio hasta sequedad. El residuo se disuelve en la mínima cantidad posible de cloroformo caliente y se agrega metanol hasta la aparición de un sólido blanco, la solución se deja enfriar y reposar por una noche a temperatura ambiente. El sólido blanco se filtra al vacío y seca con una bomba de vacío por 24 horas.

Nota 1: se debe tener cuidado ya que por la adición del NaOH se genera gas hidrógeno, causando una gran presión en el balón.

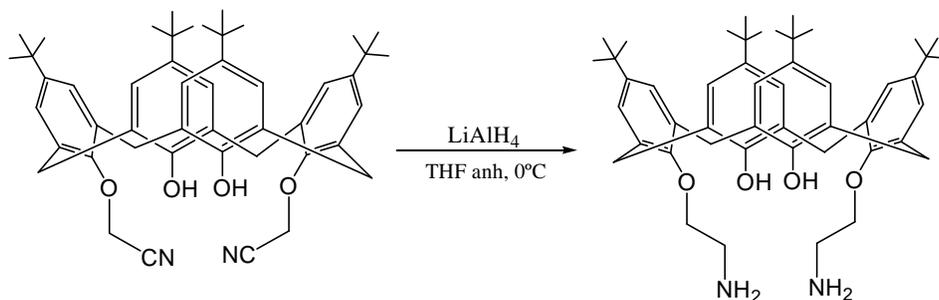


Figura 11.- 5,11,17,23-Tetra-*tert*-butil-25,27-di(aminoetoxi)-26,28-dihidroxicalex[4]areno (**3**)

Rendimiento: 52%. Punto de fusión: 127-130° C. ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃, TMS, 25°C) 7.04 (s, 4H, ArH), 6.98 (s, 4H, ArH), 4.32 (d, 4H, J= 12.9 Hz, ArCH₂Ar), 4.07 (t, 4H, J= 4.7 Hz, OCH₂CH₂N), 3.37 (d, 4H, J= 12.9 Hz, ArCH₂Ar), 3.30 (t, 4H, J= 4.7 Hz, OCH₂CH₂N) 1.24 (s, 18H, C(CH₃)₃), 1.10 (s, 18H, C(CH₃)₃).

4.2.4.- Síntesis de 5,11,17,23 - Tetra-*tert*-butil-25,27-di(isotiocianatoetoxi)-26,28-dihidroxicalex[4]areno (**4**)²⁴

Se coloca 1 g (0.0136 mol) de calix[4]areno**3** y 1,6 g de carbonato de bario en un balón de 100 mL equipado con agitación magnética. Se adicionan 20 mL de diclorometano, 6 ml de agua destilada y se tapa el balón con un septum.

Mientras la mezcla se agita vigorosa y constantemente, se agregan 0,3 mL(0.0039 mol) de tiofosgeno con una jeringa a través del septum. La solución se mantiene con agitación a temperatura ambiente por 24 horas (Nota 2).

Completado el tiempo, se agregan 60 mL de diclorometano al balón y la solución se filtra al vacío sobre celita. El filtrado se trasvasija a un embudo de decantación y se lava la solución con 2 x 20 mL de agua destilada. Se recolecta la fase orgánica en un matraz Erlenmeyer y se seca con sulfato de sodio anhidro. Se filtra el producto, la solución se recolecta en un balón, el cual debe ser colocado en un evaporador rotatorio hasta sequedad. Este producto se purifica por columna cromatográfica utilizando como fase móvil diclorometano.

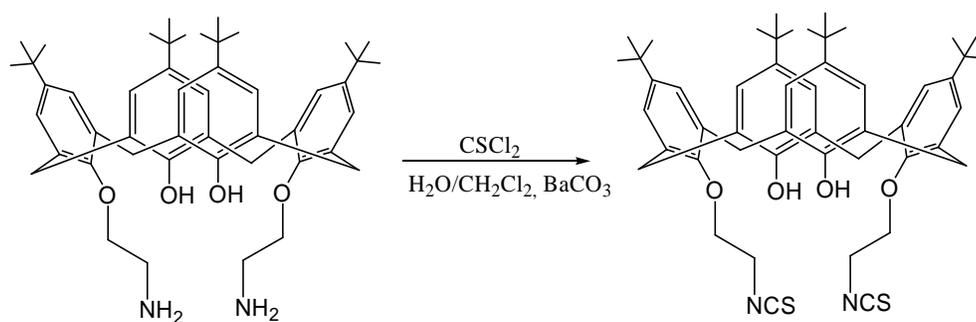


Figura 12.- 5,11,17,23 - Tetra-*tert*-butil-25,27-di(isotiocianatoetoxi)-26,28-dihidroxicalex[4]areno (**4**)

Rendimiento: 96%. Punto de fusión: 259-261° C. ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃, TMS, 25°C) 7.06 (s, 4H, ArH), 6.92 (s, 2H, ArOH), 6.82 (s, 4H, ArH), 4.27 (d, 4H, J= 12.9 Hz, ArCH₂Ar), 4.18 (m, 8H, OCH₂CH₂N), 3.38 (d, 4H, J=13 Hz, ArCH₂Ar), 1.29 (s, 18H, C(CH₃)₃), 0.97 (s, 18H, C(CH₃)₃).

Nota 2: todo el proceso debe llevarse a cabo bajo campana de extracción, ya que el tiofosgeno es muy tóxico.

4.2.5.- Síntesis de 5,11,17,23- Tetra-tert-butil-25,27-di[(2-benzotiazoliltioureido)-etoxi]-26,28-dihidroxicalex[4]areno (5)

En un balón de 50 mL equipado con agitación magnética se colocan 200 mg (0.244 mmol) de calix[4]areno-NCS (4), 80 mg (0.537mmol) de 2 amino-benzotiazol, 3 gotas de Trietilamina y 10 mL de tolueno. La mezcla de reacción se refluxa por 48 horas con agitación constante. Completado este tiempo, se observa la presencia de un sólido blanco, el cual se filtra en un embudo Büchner al vacío y el sólido se lava con tolueno frío.

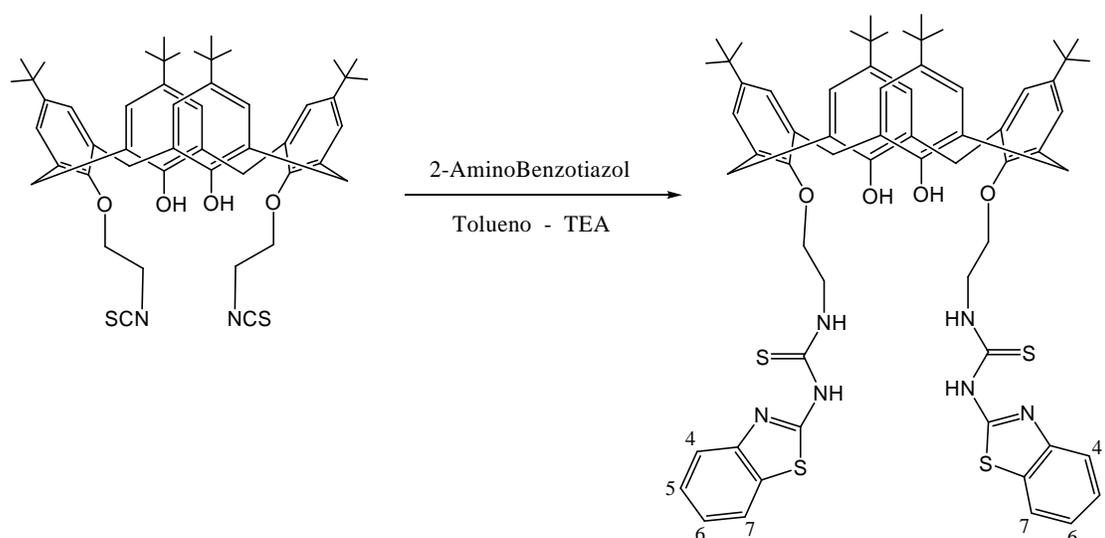


Figura 13.- 5,11,17,23- Tetra-tert-butil-25,27-di[(2-benzotiazoliltioureido)-etoxi]-26,28-dihidroxicalex[4]areno (5)

Rendimiento: 45,6%. Punto de fusión: 259-261° C. $^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, CDCl_3 , TMS, 25°C), 7.7 (d, 2H, $J = 8.0$ Hz H4-H5, ArH(4)), 7.61 (s, 2H, CSNHAr), 7.40 (t, 2H, $J = 7.6$ Hz H4-H5 H5-H6, ArH(5)), 7.26 (t, 2H, $J = 7.5$ Hz H5-H6 H6-H7, ArH(6)), 7.18 (d, 2H, $J = 7.4$ Hz H6-H7, ArH(7)), 6.74 (s, 4H, ArH), 6.63 (s, 2H, OH), 6.57 (s, 4H, ArH), 4.41 (t, 4H, OCH_2), 4.20 (t, 4H, CH_2N), 4.18 (d, 4H, $J = 13.3$ Hz, ArCH_2Ar), 3.14 (d, 4H, $J = 13.0$ Hz, ArCH_2Ar), 1.17 (s, 18H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 0.80 (s, 18H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$).

4.2.6.- Síntesis de 5,11,17,23 - Tetra-tert-butil-25,27-di[(6-benzotiazoliltioureido)-etoxi]-26,28-dihidroxicalex[4]areno (6)

En un balón de 50 mL equipado con agitación magnética se colocan 200 mg (0,244 mmol) de calix[4]areno-NCS (4), 80 mg (0,537mmol) de 6 amino-benzotiazol, 3 gotas de Trietilamina y 10 mL de CH₂Cl₂. La mezcla de reacción se mantiene a temperatura ambiente por 48 horas con agitación constante. Completado este tiempo se observa la presencia de un sólido blanco, el cual se filtra en un embudo con Büchner al vacío y el sólido se lava con CH₂Cl₂ frío.

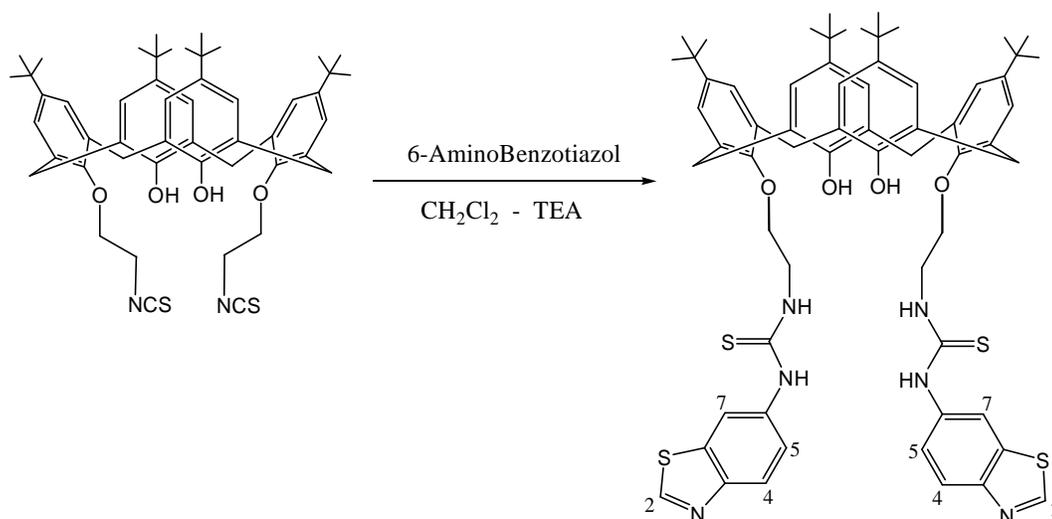


Figura 14.- 5,11,17,23 - Tetra-tert-butil-25,27-di[(6-benzotiazoliltioureido)-etoxi]-26,28-dihidroxicalex[4]areno (6)

Rendimiento: 43% ; Punto de fusión:128-130 °C; ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃, 25°C), 8.87 (s, 2H, NCH(2)S), 8.19 (t, 2H, CSNHCH₂), 8.16 (s, 2H, OH), 7.95 (s, 2H, CSNHA_r), 7.85 (d, 2H, J= 8.6 Hz H4-H5, ArH(4)), 7.83 (s ancho, 2H, ArH(7)), 7.33 (dd, 2H, J=8.7 Hz H4-H5, J=2.1 Hz H5-H7, ArH(5)), 6.86 (s, 4H, ArH), 6.79 (s, 4H, ArH), 4.21 (t, 4H, OCH₂), 4.03 (t, 4H, CH₂N), 3.47(d, 4H, J = 12,9 Hz, ArCH₂Ar), 3.09 (d, 4H, J = 13 Hz, ArCH₂Ar), 1.20 (s, 18H, C(CH₃)₃), 1.08 (s, 18H, C(CH₃)₃).

4.2.7.- Síntesis de 5,11,17,23 - Tetra-tert-butil-25,27-di[(5-Bromo-2-benzotiazolil-tioureido)-etoxi]-26,28-dihidroxicalex[4]areno (7)

En un balón de 50 mL equipado con agitación magnética se colocan 100 mg (0,122 mmol) de calix[4]areno-NCS (4), 61,8 mg (0,27 mmol) de 2-Amino-5-bromobenzotiazol, 3 gotas de trietilamina y 10 mL acetato de etilo. La mezcla de reacción se refluxa por 72 horas con agitación constante. Completado este tiempo el balón se conecta a un evaporador rotatorio hasta sequedad. El crudo seco de la reacción es purificado por placa cromatográfica utilizando como fase móvil una mezcla de Hexano:Acetato de etilo en razón 2:1

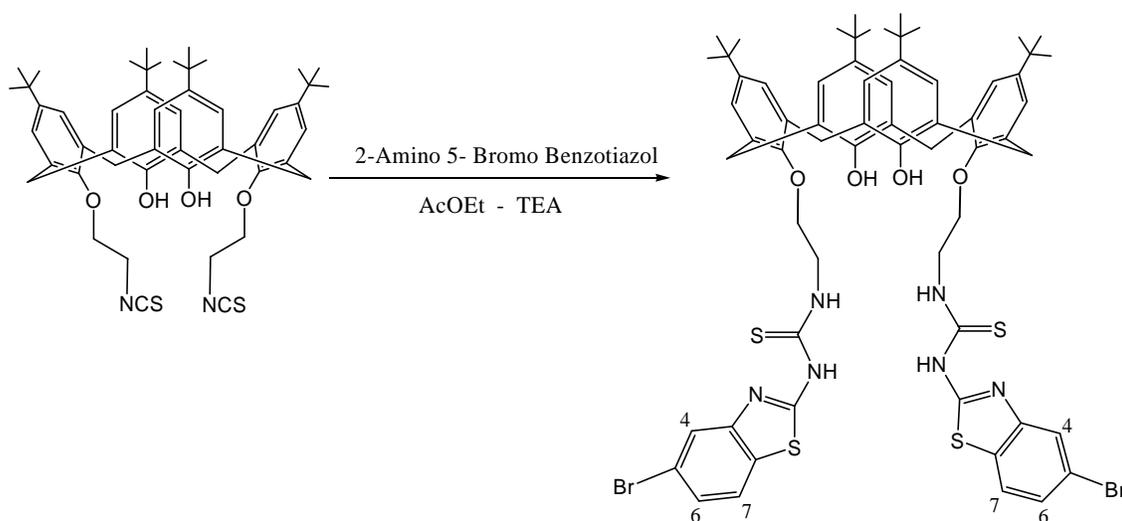


Figura15.- 5,11,17,23 - Tetra-tert-butil-25,27-di[(5-Bromo-2-benzotiazolil-tioureido)-etoxi]-26,28-dihidroxicalex[4]areno (7)

Rendimiento: 31,5%; $^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, CDCl_3 , 25°C), 8.85 (t, 2H, CSNHCH_2), 7.89 (d, 2H, $J=1.7$ Hz H4-H6, ArH(4)), 7.67 (d, 2H, $J=8.4$ Hz H6-H7, ArH(7)), 7.42 (s, 2H, $J=8.5$ Hz H6-H7, $J=1.6$ Hz H4-H6, ArH(6)), 7.37 (s, 2H, OH), 7.07 (s, 4H, ArH), 6.99 (s, 4H, ArH), 4.39 (s ancho, 4H, OCH_2), 4.27 (d, 4H, $J=12.9$ Hz, ArCH_2Ar), 4.13 (s ancho, 4H, CH_2N), 3.39 (d, 4H, $J=12.9$ Hz, ArCH_2Ar), 1.20 (s, 18H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 1.19 (s, 18H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$).

4.2.8.- Síntesis de 5,11,17,23 - Tetra-tert-butil-25,27-di[(4-indoliltioureido)-etoxi]-26,28-dihidroxicalex[4]areno (8)

En un balón de 50 mL equipado con agitación magnética se colocan 100 mg (0,122 mmol) de calix[4]areno-NCS (4), 35,5 mg (0.268 mmol) 4-aminoindol, 3 gotas de trietilamina y 5 mL de THF. La mezcla de reacción se mantiene a temperatura ambiente por 48 horas con agitación constante. Completado este tiempo se observa la presencia de un sólido, el cual se filtra en un embudo con Büchner al vacío y el sólido se lava con THF frío.

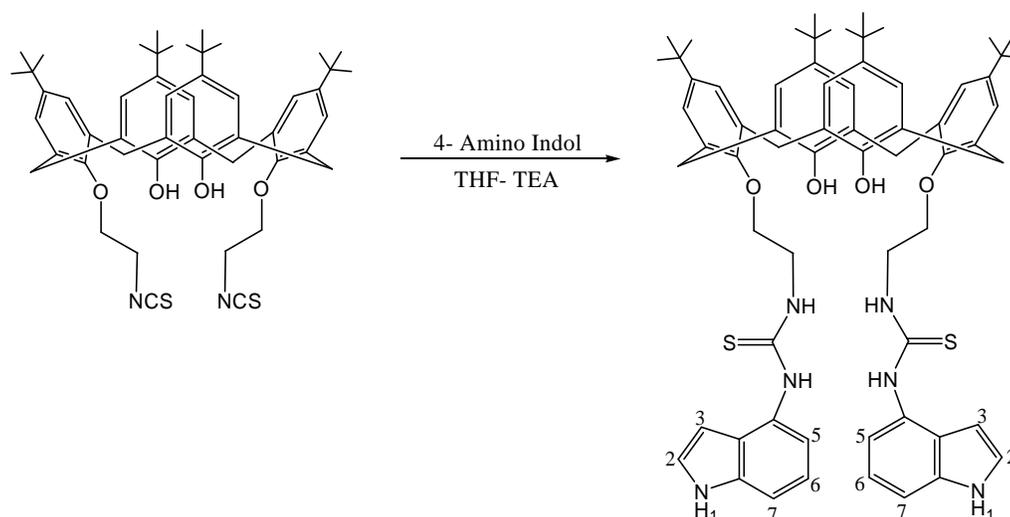


Figura 16.- 5,11,17,23 - Tetra-tert-butil-25,27-di[(4-indoliltioureido)-etoxi]-26,28-dihidroxicalex[4]areno (8)

Rendimiento: 35,4% ; $^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, CDCl_3 , 25°C), 7.99 (s, 2H, $\text{NH}(1)$), 7.83 (s, 2H, OH), 7.76 (t, 2H, CSNHCH_2), 7.50 (s, 2H, CSNHAr), 7.07 (s, 2H, $J = 2,7$ Hz $\text{H}_2\text{-H}_3$ $\text{ArH}(2)$), 6.98 (d, 2H, $J = 8.1$ Hz $\text{H}_6\text{-H}_7$, $\text{ArH}(7)$), 6.92 (d, 2H, $J = 7.4$ Hz $\text{H}_5\text{-H}_6$, $\text{ArH}(5)$), 6.82 (s, 4H, ArH), 6.78 (dd, 2H, $\text{ArH}(6)$), 6.77 (s, 4H, ArH), 6.53 (s ancho, 2H, $\text{ArH}(3)$), 4.02 (t, 4H, OCH_2), 3.91 (t, 4H, CH_2NH), 3.51 (d, 4H, $J = 12.8$ Hz, ArCH_2Ar), 3.06 (d, 4H, $J = 12.9$ Hz, ArCH_2Ar), 1.22 (s, 18H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 1.06 (s, 18H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$).

4.2.9.- Síntesis de 5,11,17,23 - Tetra-tert-butil-25,27-di[(5- indoliltioureido)-etoxi]-26,28-dihidroxicalex[4]areno (9)

En un balón de 50 mL equipado con agitación magnética se colocan 100 mg (0,122 mmol) de calix[4]areno-NCS (4), 35,5 mg (0.268 mmol) de 5-aminoindol , 3 gotas de trietilamina y 5 mL de THF. La mezcla de reacción se mantiene a temperatura ambiente por 60 horas con agitación constante. Completado este tiempo se observa la presencia de un sólido, el cual se filtra en un embudo con Büchner al vacío y el sólido se lava con THF frío.

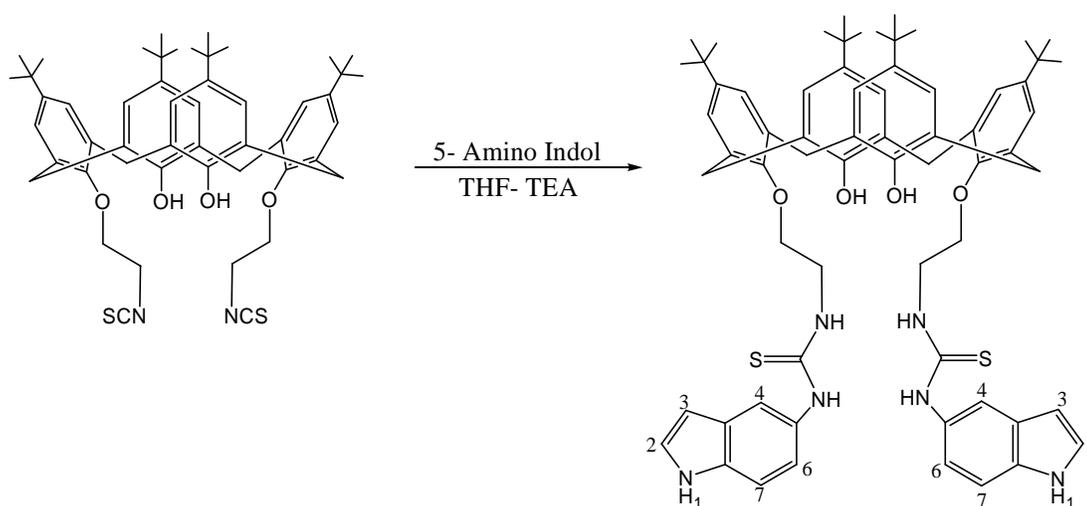


Figura 17.- 5,11,17,23 - Tetra-tert-butil-25,27-di[(5-indoliltioureido)-etoxi]-26,28-dihidroxicalex[4]areno (9)

Rendimiento: 18,5% ; $^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, CDCl_3 , 25°C), 7.99 (s, 2H, NH(1)), 7.73 (s, 2H,OH), 7.63 (t, 2H, CSNHCH₂), 7.55 (s, 2H, CSNHAr), 7.46 (s, 2H, ArH(4)) 7.18 (t, 2H, J= 2,4 Hz H2-H3 ArH(2)), 6.86(dd, 2H, J= 8.7 Hz H6-H7 J= 1.8 Hz H4-H6 ArH(5)), 6.82(s, 4H, ArH), 6.81 (s, 4H, ArH), 6.77 (d, 2H, J=8.5 Hz H6-H7, ArH(7)), 6.41(s ancho, 2H, ArH(3)), 4.09(t, 4H, OCH₂), 3.83(t, 4H, CH₂NH), 3.32(d, 4H, J = 12.9 Hz, ArCH₂Ar), 3.01 (d, 4H, J = 12.9 Hz, ArCH₂Ar) 1.23(s, 18H, C(CH₃)₃), 1.06(s, 18H, C(CH₃)₃).

4.2.10.- Síntesis de 5,11,17,23 - Tetra-tert-butil-25,27-di[(6-indoliltioureido)-etoxi]-26,28-dihidroxicalex[4]areno (**10**)

En un balón de 50 mL equipado con agitación magnética se colocan 100 mg (0,122 mmol) de calix[4]areno-NCS (**4**), 35,5 mg (0.268 mmol) de 6-aminoindol, 3 gotas de Trietilamina y 5 mL de THF. La mezcla de reacción se mantiene a temperatura ambiente por 48 horas con agitación constante. Completado este tiempo se observa la presencia de un sólido, el cual se filtra en un embudo con Büchner al vacío y el sólido se lava con THF frío.

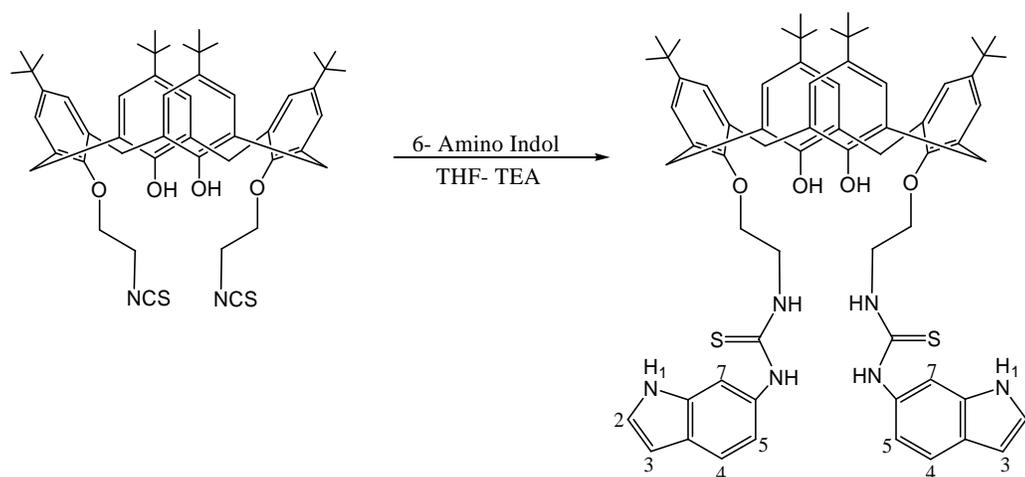


Figura 18.- 5,11,17,23 - Tetra-tert-butil-25,27-di[(6-indoliltioureido)-etoxi]-26,28-dihidroxicalex[4]areno (**10**)

Rendimiento: 46%; $^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, CDCl_3 , 25°C), 8.14(s, 2H, NH(1)), 8.01 (s, 2H,OH), 7.66 (s, 2H, CSNHAr), 7.61 (t, 2H, CSNHCH₂), 7.26 (d, 2H, J= 8.1 Hz H4-H5 ArH(4)) 7.14 (s, 2H, ArH(7)), 7.09 (t, 2H, J= 2,6 Hz H2-H3 ArH(2)), 6.88 (s, 4H, ArH), 6.83 (s, 4H, ArH), 6.81 (dd, 2H, J= 8.0 Hz H4-H5 J= 1.5 Hz H5-H7 ArH(5)), 6.4 (s ancho, 2H, ArH(3)), 3.99(t, 4H, OCH₂), 3.85(t, 4H, CH₂NH), 3.48 (d, 4H, J = 12.9 Hz, ArCH₂Ar), 3.08 (d, 4H, J = 12.9 Hz, ArCH₂Ar), 1.25 (s, 18H, C(CH₃)₃), 1.06 (s, 18H, C(CH₃)₃).

4.3.- Estudios de reconocimiento de iones de los complejos por espectroscopia de fluorescencia.

Se prepararon soluciones stock de los compuestos **5-10** de una concentración 1,5 mM en cloroformo, soluciones stock de aniones preparadas a partir de sales de tetrabutilamonio de F^- , HSO_4^- , I^- , N_3^- , NO_3^- , NO_2^- , SCN^- , ClO_4^- , Br^- , $Cr_2O_7^-$, CN^- , Cl^- , CH_3COO^- y $CF_3SO_3^-$ de concentración 15 mM en metanol y soluciones stock de cationes preparadas a partir de percloratos Ca^{2+} , Cd^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Pb^{2+} , Ni^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Co^{2+} , Fe^{2+} y Zn^{2+} de concentración 15 mM en metanol.

Las soluciones de **5-10** para los estudios de detección, fueron preparadas agregando 15 μL de calix en una cubeta, diluyendo hasta un volumen final de 2600 μL con metanol (8.6 μM) y sobre esta solución se agregaron 50 μL (30 eq) de la solución stock del ion .

4.4.- Determinación de la constante de asociación (K_a) por el método no lineal.

Las soluciones de **5-10** para titulación con los iones que se presento un cambio significativo en la intensidad de fluorescencia, fueron preparadas agregado 15 μL de la solución stock de calix, diluyendo hasta 2600 μL y sobre esta solución se agrega la alícuota apropiada, desde 0 a 60 equivalentes aproximadamente del ion, como se muestra en la tabla 2. Los espectros de fluorescencia fueron llevados a cabo excitando a 225 nm, 292 nm y 225nm, con un máximo de la longitud de onda de emisión a: 350 nm, 380 nm y 315 nm y un máximo de la intensidad de fluorescencia de 170, 400 y 750nm, respectivamente.

Concentración de Calix en la cubeta(M)	Volumen de metal agregado a la cubeta	Volumen total de metal en la cubeta	Concentración de Metal en la cubeta(M)	Volumen final en la cubeta
8,653 10^{-6}	0	0	0	2600
8,647 10^{-6}	2	2	1,153 10^{-5}	2602
8,640 10^{-6}	2	4	2,304 10^{-5}	2604
8,633 10^{-6}	2	6	3,453 10^{-5}	2606
8,627 10^{-6}	2	8	4,601 10^{-5}	2608
8,620 10^{-6}	2	10	5,747 10^{-5}	2610
8,604 10^{-6}	5	15	8,604 10^{-5}	2615
8,587 10^{-6}	5	20	1,145 10^{-4}	2620
8,571 10^{-6}	5	25	1,429 10^{-4}	2625
8,555 10^{-6}	5	30	1,711 10^{-4}	2630
8,506 10^{-6}	15	45	2,552 10^{-4}	2645

$8,458 \cdot 10^{-6}$	15	60	$3,383 \cdot 10^{-4}$	2660
$8,395 \cdot 10^{-6}$	20	80	$4,478 \cdot 10^{-4}$	2680
$8,333 \cdot 10^{-6}$	20	100	$5,556 \cdot 10^{-4}$	2700

Tabla 2.- Valores de las concentraciones y volúmenes de las soluciones empleadas en la obtención de Ka.

Para la determinación de la constante de asociación se realiza la grafica de Intensidad de Fluorescencia versus [ion], desde la cual tras un ajuste no lineal de los puntos se obtiene Ka^{25} , a partir de la ecuación 1.

$$F = F_0 + \frac{(F_{\infty} - F_0) K [Ion]}{1 + K [Ion]}$$

Ecuacion 1.-

F = Intensidad de Fluorescencia

F_0 = Máximo de la Intensidad de fluorescencia de la muestra a diferentes concentraciones de ion.

F_{∞} = Mínimo de la Intensidad de fluorescencia de la muestra a diferentes concentraciones de ion.

K = Constante de Asociación.

[ion] = Concentración del ion en solución.

4.5.- Determinación de estequiometría del complejo de inclusión por el método Job-Plot.

La reacción en la cual se produce la formación del complejo de inclusión, se representa mediante la siguiente ecuación general, la cual muestra las especies involucradas en la reacción y sus proporciones estequiométricas.



A través del método Job-Plot se podrá determinar la relación estequiométrica en la que se produce el complejo de inclusión. El método consiste en la realización de una cantidad determinada de reacciones empleando diferentes cantidades de cada reactivo, pero manteniendo el volumen total.

En este trabajo, se prepararon soluciones stock de calixareno y el catión/anión correspondiente, cada una con una concentración de 5×10^{-5} M en metanol. A continuación, se midió la intensidad de fluorescencia de las soluciones preparadas a partir con las soluciones stock como se muestra en la tabla 2.

Medición	Volumen Solución Calix-Tiourea (μL)	Volumen Solución ion (μL)	Volumen Total
1	3000	0	3000
2	2700	300	3000
3	2400	600	3000
4	2100	900	3000
5	1800	1200	3000
6	1500	1500	3000
7	1200	1800	3000
8	900	2100	3000
9	600	2400	3000
10	300	2700	3000

Tabla 3.- Valores de los volúmenes utilizados en la obtención de la estequiometría del complejo.

La estequiometría de la formación del complejo de inclusión (n) fue determinada a través de la gráfica ($I-I_0$) versus Fracción Molar de calixareno en solución, a partir de la ecuación 2, donde r representa el valor de la fracción molar en que la curva alcanza el máximo.

$$n = \frac{1-r}{r}$$

Ecuación 2.

Resultados y Discusión

5.1.- Síntesis de calix[4]arenos

La estrategia de síntesis para la obtención de los calixarenos modificados en el lower rim se presenta en el siguiente esquema, obteniéndose los derivados de calix[4]areno **5-10** (fig19). Se utiliza como material de partida el *p*-tertbutilcalix[4]areno (**1**), funcionalizado en las posiciones 1 y 3 empleando bromoacetnitrilo y una base débil (K_2CO_3), posteriormente se reduce el grupo ciano con hidruro de litio y aluminio ($LiAlH_4$), obteniéndose el calixareno di-amino (**3**), el cual fue transformado en derivado calixarenodi-isotiocianato (**4**) por reacción con tiofosgeno.

Una vez obtenido el calix[4]areno-NCS, se lleva a cabo la reacción de este calixareno con las siguientes aminas: 2-amino-5-bromobenzotiazol, 2-aminobenzotiazol, 6-aminobenzotiazol, 4-aminoindol, 5-aminoindol y 6-aminoindol .

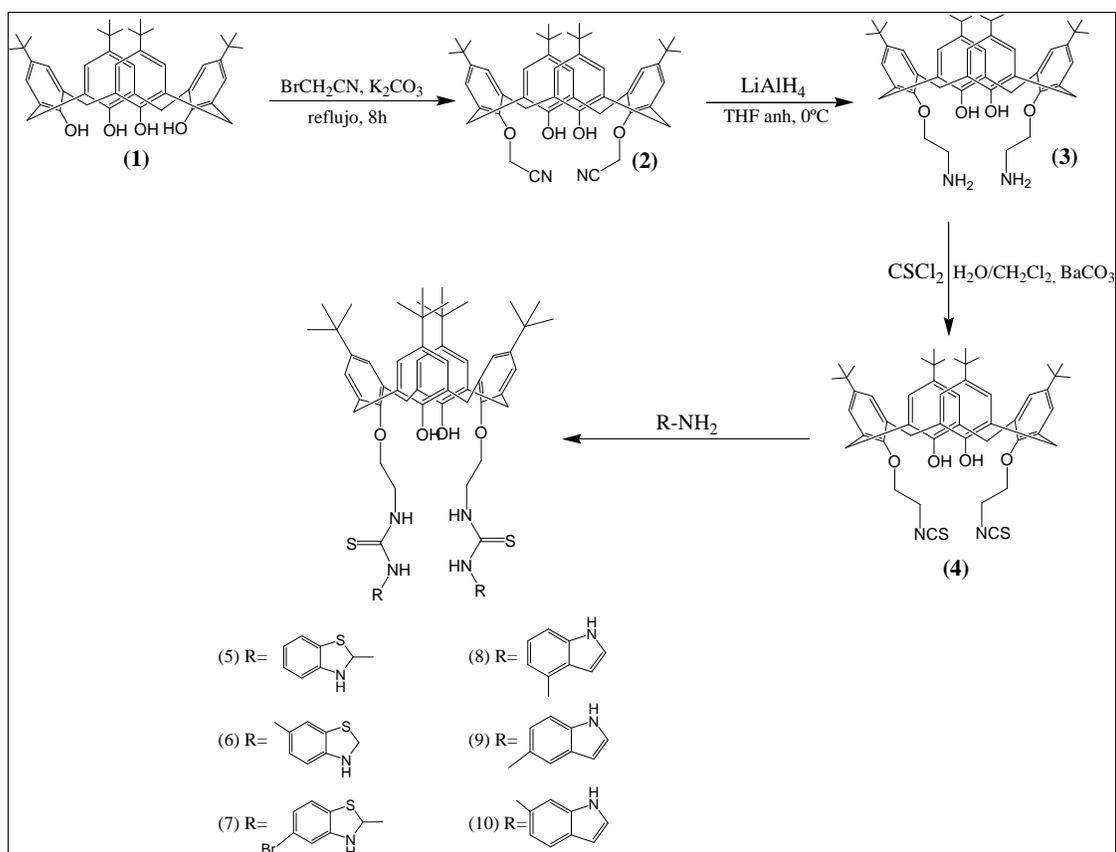


Figura 19.- Esquema de síntesis de los derivados de *p*-tertbutilcalix[4]areno.

5.1.1.- Dialquilación 1,3 *distal* del calix[4]areno por el borde inferior

Los calixarenos pueden ser alquilados selectivamente debido a la diferencia de los pKa de los protones fenólicos y el control estequiométrico del agente alquilante, obteniéndose compuestos alquilados de manera total o parcial. Para obtener la alquilación en las posiciones 1 y 3 *distal*, se utiliza una base débil (K_2CO_3) para desprotonar solo dos oxígenos fenólicos.

La regioselectividad de la reacción puede explicarse por la estabilidad del monoanión, originado a partir del monocianometocalix[4]areno. El protón perteneciente al grupo OH en posición *distal* al grupo alquilado, es más ácido que los protones en posición *proximal*, ya que el anión formado es estabilizado por los protones presentes en las posiciones vecinales.

Así la obtención de dicianocalix[4]areno **2**, se obtiene eficientemente por la reacción con bromoacetoniitrilo en presencia de K_2CO_3 .

5.1.2.- Reducción del Grupo Diciano

La reducción del calix[4]areno(**2**) se lleva a cabo con $LiAlH_4$ bajo rigurosas condiciones. Se debe mantener durante las cuatro horas de reacción un ambiente inerte, por lo que el sistema se purga con N_2 antes de utilizarse y el solvente, tetrahidrofurano, debe ser destilado previamente sobre sodio en ambiente inerte.

5.1.3 Adición nucleofílica del grupo amino a Tiofosgeno

La transformación del grupo amino en un grupo isotiocianato se lleva a cabo con tiofosgeno con un excelente rendimiento. La reacción se genera por el ataque nucleofílico de la amino sobre el carbono electrofílico del tiofosgeno obteniéndose un grupo $N=C=S$.

Esta reacción debe ser realizada bajo campana debido a la toxicidad el tiofosgeno y utilizando cantidades bajas del calix[4]areno **3**, ya que si se utiliza mas de 1 gr disminuye el rendimiento de la reacción.

5.1.4.- Obtención de Calix[4]areno con puentes de tiourea.

Los grupos isotiocianatos pueden ser transformados en grupos tiourea por tratamiento con aminas en un solvente adecuado, el cual dependerá de la solubilidad de los reactivos y de la energía necesaria para que se lleve a cabo la reacción.

La obtención de los calix[4]areno **5** y **7**, se realiza en un solvente que puede soportar alta temperatura, debido a que las aminas utilizadas son poco nucleofílicas. Estas reacciones necesitan de agitación y temperatura para disminuir su energía de activación. En cambio, los calix[4]areno **6**, **8**, **9** y **10**, no necesitaron de altas temperaturas y las reacciones se llevaron a cabo a temperatura ambiente en solventes donde son solubles los reactivos (calix[4]areno **4** y aminas unidas a heterociclos). Para todas las reacciones se agrego trietilamina como catalizador.

Los rendimientos de las reacciones para obtener los calix[4]areno **5**, **6** y **10** fue cercano al 40%, para los calix[4]areno **7** y **8** fue del 30 % y el calix[4]areno **9** fue del 18 %, los que parece estar directamente relacionado con la nucleofilia de las aminas y la posición respecto al heterociclo en que se encuentra la amina.

5.2.- Análisis de espectros de Resonancia Magnética Nuclear de Protones de los Calixarenos 5-10

Los espectros de protones obtenidos para los nuevos calixarenos sintetizados se muestran en la tabla siguiente, donde se destacan las señales más características que ayudan a la determinación de la conformación del calixareno en una solución de cloroformo.

calixareno	Ar CH ₂ Ar ppm		OCH ₂ ppm	CH ₂ N ppm
5	4.18 – 3.14	1.04	4.41	4.20
6	3.49 – 3.09	0.40	4.21	4.03
7	4.27 – 3.39	0.88	4.39	4.13
8	3.51 - 3.06	0.45	4.02	3.91
9	3.34 - 3.00	0.34	4.09	3.83
10	3.48 – 3.08	0.40	3.99	3.85

Tabla 4: Desplazamientos químicos de algunos protones en el espectro ¹H-RMN para los compuestos 5-10.

De acuerdo con lo señalado en la introducción de este trabajo, se puede observar, por las diferencias de los desplazamientos químicos de los protones de los grupos metilénicos que unen los anillos aromáticos de los calixarenos, que existe una clara diferencia en la conformación, que dependería de la posición del grupo amino en el heterociclo. Los productos obtenidos por la reacción del calixareno di-isotiocianato con heterociclos sustituidos con aminas en las posiciones 4,5 y 6 presentarían conformación de *cono aplanado*, con una diferencia de 0,5 ppm o menos (figura 20 a), mientras que cuando el heterociclo está sustituido en la posición 2, el calixareno presenta una conformación de *cono normal* (figura b) con un delta mayor a 0,5 ppm. Los cambios en la conformación de los calixarenos **6**, **8**, **9** y **10** pueden deberse al impedimento estérico que implicaría permanecer en conformación *cono* tras la unión a los heterociclos.

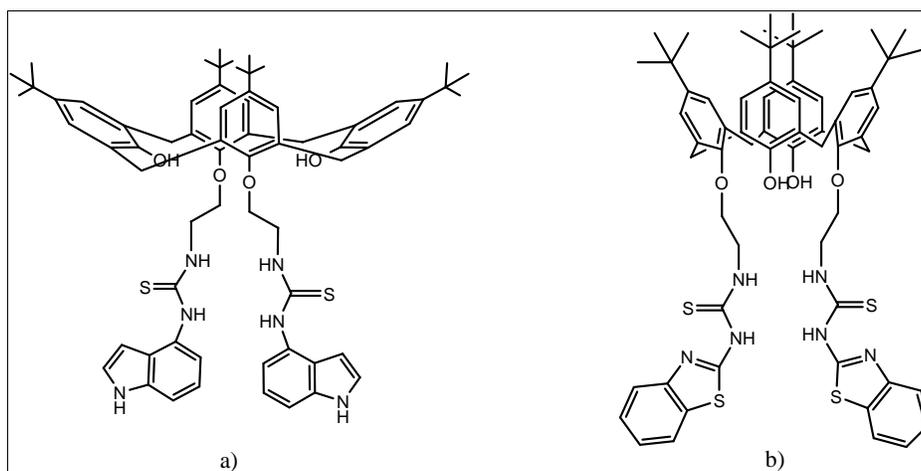


Figura 20.- Representación del calix[4]areno a) **8** en su conformación de *cono aplanado* y b) **6** en su conformación de *cono*.

En las siguientes tablas se presentan los desplazamientos químicos de los protones de los heterociclos y grupo tiourea de los calix[4]arenos **5-7**, cada uno de las señales obtenidas por ^1H -RMN fue asignada en base en el espectro bidimensional COSY H-H, realizados en CDCl_3 .

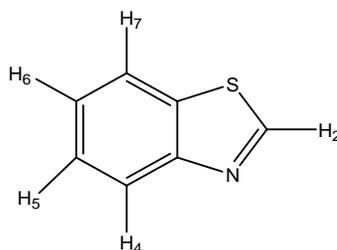


Figura 21.- Representación del anillo benzotiazolil. Asignación de protones

Calixareno	H ₂	H ₄	H ₅	H ₆	H ₇	CSNHAr	CH ₂ NHCS
5	-	7.7	7.40	7.26	7.18	7.61	
6	8.87	7.85	7.33	-	7.83	7.95	8.19
7	-	7.89	-	7.42	7.67		8.85

Tabla 5: Desplazamientos químicos protones de grupo benzotiazolil y tiourea de los calix[4]areno **5,6 y 7**.

Calixareno 5	H ₄	H ₅	H ₆	H ₇
H ₄	-	t J=7.6	-	-
H ₅	d J=8	-	t J=7.7	-
H ₆	-	t J=7.6	-	d J=7.4
H ₇	-	-	t J=7.7	-
Calixareno 6				
H ₄	-	dd J=8.7	-	s
H ₅	d J=8.6	-	-	-
H ₇	-	dd J=2.1	-	-
Calixareno 7				
H ₄	-	-	ddJ=1.6	
H ₆	d J = 1.7	-	-	d J=8.4
H ₇	-	-	ddJ=8.5	-

Tabla 6: Tipo de señal y constantes de acoplamiento de los protones correspondientes al grupo benzotiazolil.

Los calix[4]areno **5, 6 y 7** presentan las señales características en la zona aromática del grupo benzotiazolil. Se puede observar que las señales presentan constantes de acoplamiento con valores entre 7.5 y 8.5 Hz, correspondientes a protones vecinos de un anillo aromático y de 1.6

Hz correspondiente acoplamiento a largo alcance. Para el calix[4]areno **6** que debería presentar para H₇ un doblete con una constante de acoplamiento cercana a 2 Hz, se observa un singlete, lo cual puede deberse a la sobre posición de esta señal con el doblete que representa a H₄.

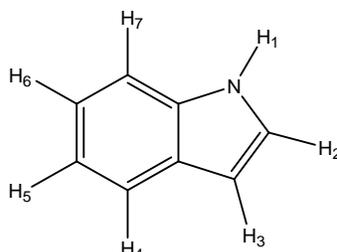


Figura 22.- Representación del anillo indolil. Asignación de protones.

Calixareno	H ₁	H ₂	H ₃	H ₄	H ₅	H ₆	H ₇	CSNHAr	CH ₂ NHCS
8	7.99	7.07	6.53	-	6.92	6.78	6.98	7.50	7.76
9	7.99	7.18	6.41	7.46	-	6.85	6.77	7.55	7.63
10	8.14	7.09	6.4	7.26	6,81	-	7.14	7.66	7.61

Tabla 7: Desplazamientos químicos protones de grupo indolil y tiourea de los calix[4]areno **8,9 y 10**.

Calixareno 8	H2	H3	H4	H5	H6	H7
H2	-	s ancho	-	-	-	-
H3	t J=2.7	-	-	-	-	-
H5	-	-	-	-	d	-
H6	-	-	-	d J=7.4	-	d
H7	-	-	-	d J= 8.1	d	-
Calixareno 9						
H2	-	s ancho	-	-	-	-
H3	t J=2.4	-	-	-	-	-
H4	-	-	-	-	dd J=1.8	-
H6	-	-	s	-	-	dd J=8.5
H7	-	-	-	-	dd J=8.7	-
Calixareno 10						
H2	-	s ancho	-	-	-	-
H3	t J=2.6	-	-	-	-	-
H4	-	-	-	dd	-	-
H5	-	-	d J=8.1	-	-	s
H7	-	-	-	dd J= 1.5	-	-

Tabla 8: Tipo de señal y constantes de acoplamiento de los protones correspondientes al grupo indolil.

Los calix[4]areno **8**, **9** y **10** presentan las señales características en la zona aromática del grupo indolil. Se puede observar, que las señales presentan constantes de acoplamiento con valores entre 7.5 y 8.5 Hz, correspondientes a protones vecinos de un anillo aromático y entre 1.5 y 2.5 Hz correspondiente a los acoplamientos de largo alcance. Para el calix[4]areno **8**, las señales de H₆ y los protones correspondientes a los anillos aromáticos que conforman la cavidad principal, se sobreponen haciendo imposible determinar que tipo de señal presenta H₆, pero se estima que debería presentar un doble doblete (dd) con constantes de acoplamiento cercanas a 8 Hz. Para el calix[4]areno **9**, H₄ debería observarse como un doble doblete con constante de acoplamiento entre 1.5 y 2 Hz debido a su interacción con H₆, pero se presenta como un singulete posiblemente por una baja resolución. Para el calix[4]areno **10**, las señales de los protones H₄ y H₅ se sobreponen con las señales del cloroformo deuterado y de los protones correspondientes a los anillos aromáticos que conforman la cavidad principal.

5.3.- Estudios de reconocimiento de iones de los calix[4]areno 5-7 por espectroscopia de fluorescencia.

La determinación de los iones con los cuales existe una interacción calixareno-ion, a través de un complejo de inclusión se lleva a cabo por la adición de 50 μL de la solución stock del ion, a la cubeta que contiene 2600 μL de una solución de calixareno 8.7 μM . Las siguientes graficas representan la razón entre la intensidad de fluorescencia de calixareno en presencia del ion (I) en una razón de 1:30 - calix:ion y la intensidad fluorescencia de calixareno (I_0). Los espectros de emisión fueron obtenidos por la excitación de la solución a 225 nm, 292 nm y 225nm, con un máximo de la longitud de onda de emisión a: 350 nm, 380 nm y 315 nm, respectivamente.

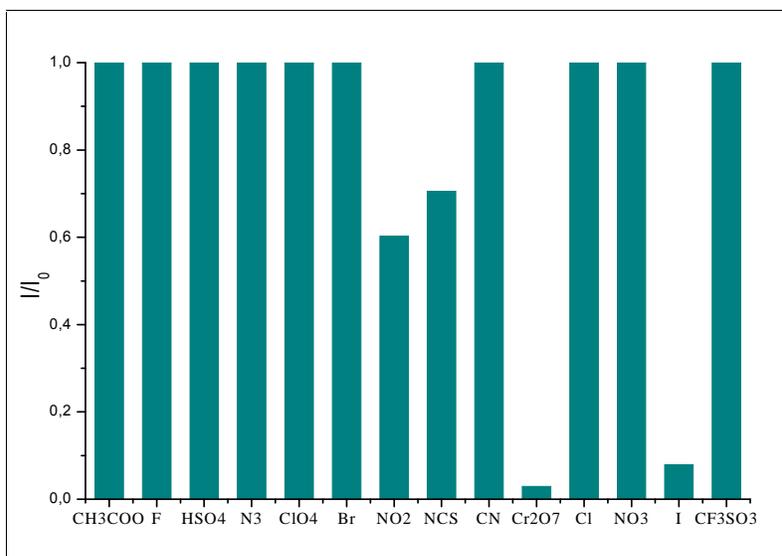
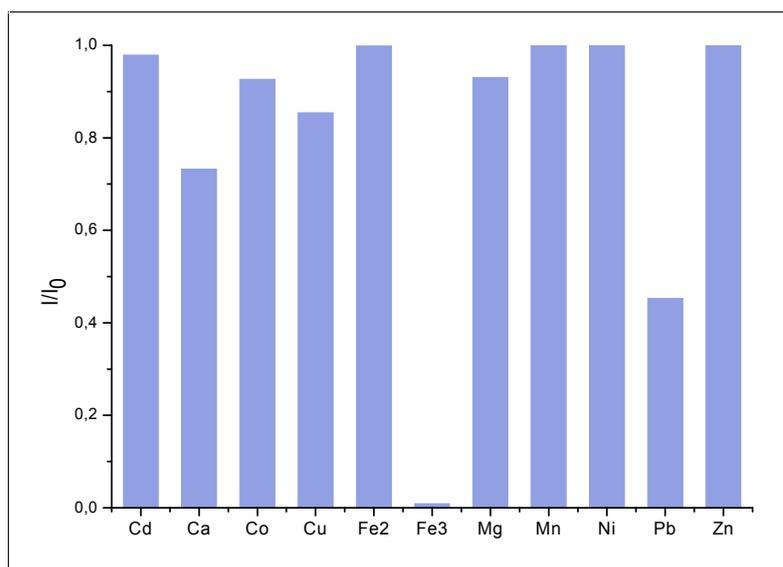


Grafico 1: Relación de Intensidad de la Fluorescencia del calix[4]areno 5 tras la adición del anion (sales de $n\text{-Bu}_4\text{N}^+$) en MeOH.

Grafico 2: Relación de Intensidad de la Fluorescencia del calix[4]areno 5 tras la adición del cation (sales de ClO_4^-) en MeOH.



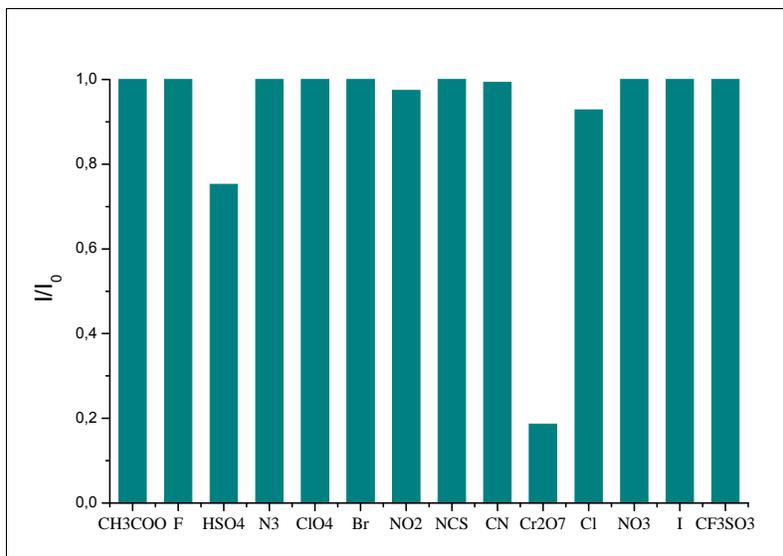
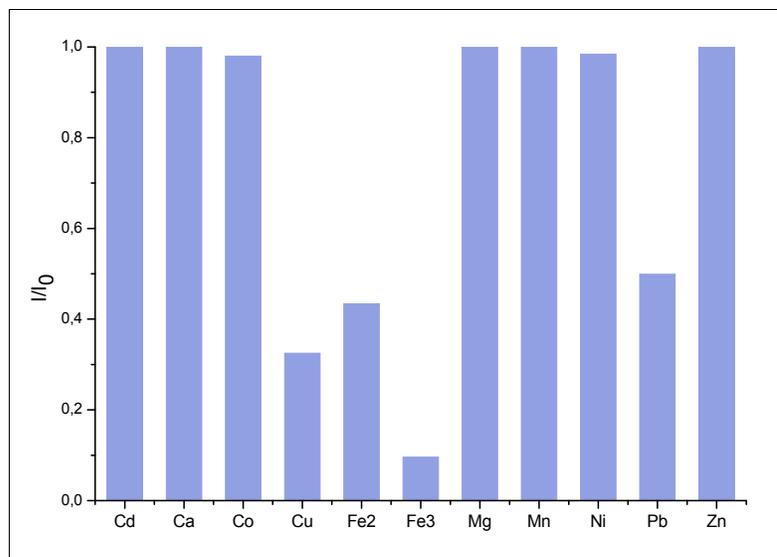


Grafico 3: Relación de Intensidad de la Fluorescencia del calix[4]areno 6 tras la adición del anion (sales de $n\text{-Bu}_4\text{N}^+$) en MeOH.

Grafico 4: Relación de Intensidad de la Fluorescencia del calix[4]areno 6 tras la adición de cation (sales de ClO_4^-) en MeOH.



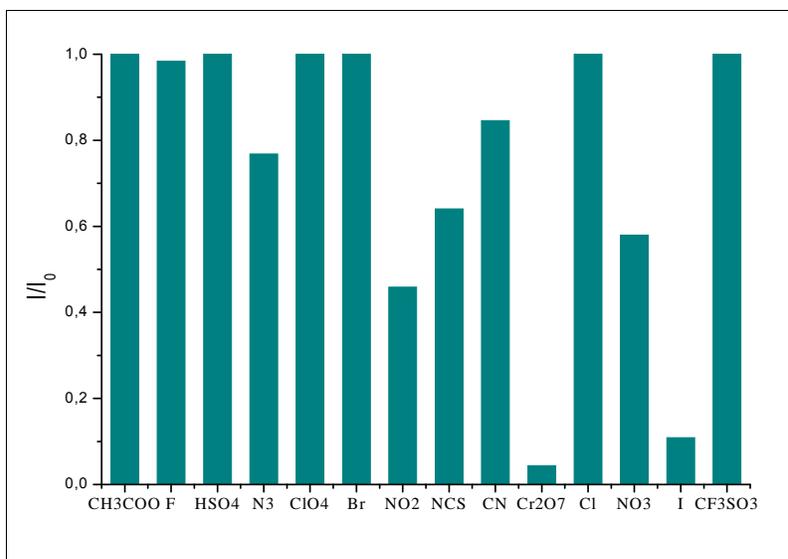
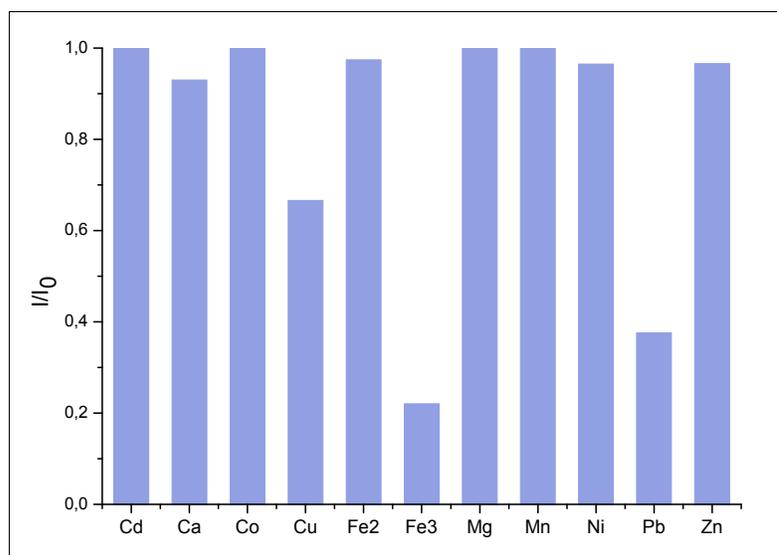


Grafico 5: Relación de Intensidad de la Fluorescencia del calix[4]areno 7 tras la adición del anión (sales de n-Bu₄N⁺) en MeOH.

Grafico 6: Relación de Intensidad de la Fluorescencia del calix[4]areno 7 tras la adición del catión (sales de ClO₄⁻) en MeOH.



El calix[4]areno **5** muestra una buena selectividad para Cr₂O₇²⁻ por sobre los otros aniones y para Fe⁺³ y Pb⁺² por sobre los otros cationes, el calix[4]areno **6** muestra una buena selectividad para aniones como Cr₂O₇²⁻ y HSO₄⁻ y por cationes como Cu⁺², Fe⁺², Pb⁺² y Fe⁺³, finalmente el calix[4]areno **7** muestra una buena selectividad para Cr₂O₇²⁻ y I⁻ y por Cu⁺², Pb⁺² y Fe⁺³ entre los cationes.

Para los tres derivados de calix[4]areno el decaimiento de la curva de fluorescencia con Cr₂O₇²⁻ y Fe⁺³ es sobre un 80 % y para Pb⁺² es sobre un 50%, lo que implica suponer que las constantes de asociación serán mayores con dichos iones.

5.4.- Determinación de la constante de asociación del complejo

La obtención de las constantes de asociación se llevo a cabo por la titulación de los calix[4]areno **5**, **6** y **7**, con los iones que presentaban un apagamiento significativo de la fluorescencia en los ensayos de reconocimiento con aniones y cationes. Para todos los compuestos la intensidad de fluorescencia decrece continuamente con un incremento en la cantidad del ion. En los espectros de fluorescencia fueron llevados a cabo excitando a 225 nm, 292 nm y 225nm, con un máximo de la longitud de onda de emisión a: 350 nm, 380 nm y 315 nm y un máximo de la intensidad de fluorescencia de 170, 400 y 750nm, respectivamente. Para la determinación de la constante de asociación fueron graficados los máximos de intensidad de fluorescencia versus la concentración del ion en solución, desde las cuales tras un ajuste no lineal de los puntos (representada por una línea roja en cada grafica) se obtuvo el valor de la constante de asociación.

5.4.1.- Titulación por Espectroscopia de Fluorescencia de Tetra-tert-butil-25,27-di[(2-benzotiazoliltioureido)-etoxi]-26,28-dihidroxicalex[4]areno (**5**).

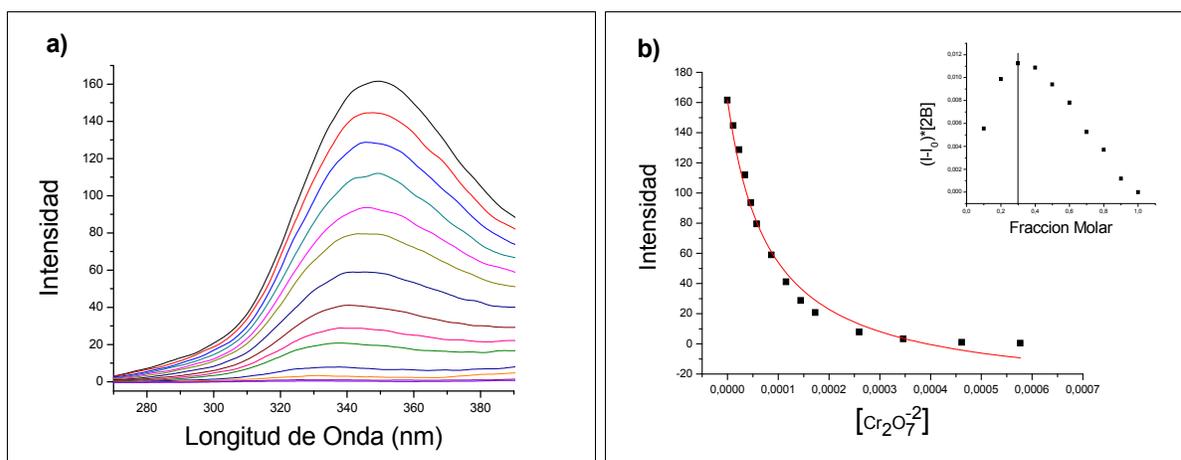


Grafico 7.- a): Espectro de emisión para la titulación de **5** ($8.6 \mu\text{M}$) tras la adición continua de $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ (0-60 eq). b) Ajuste no lineal de la intensidad de emisión en la titulación de **5** con $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$. Inserto: Job Plot de **5** con $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$.

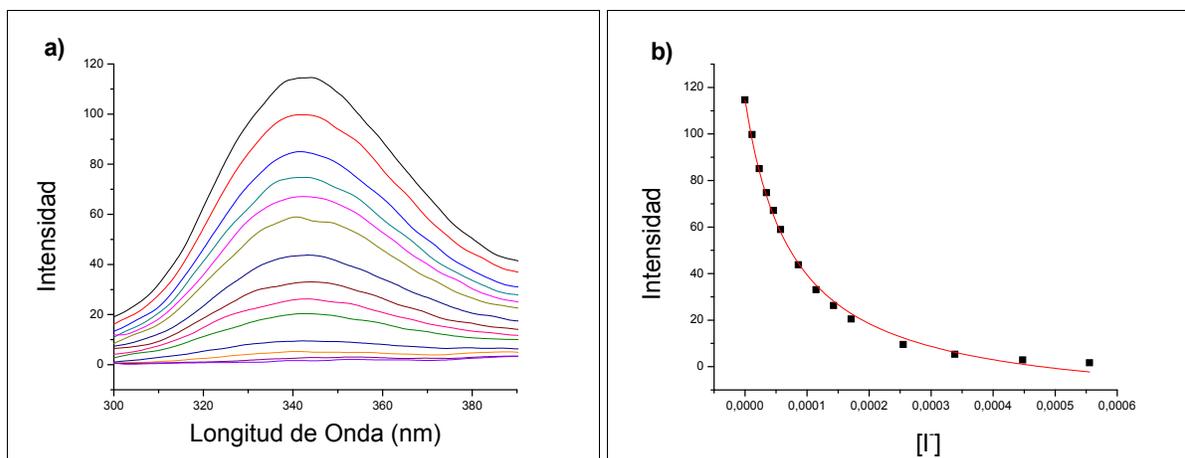


Gráfico 8.- a) Espectro de emisión para la titulación de 5 (8.6 μM) tras la adición continua de I⁻ (0-60 eq). b) Ajuste no lineal de la intensidad de emisión en la titulación de 5 con I⁻.

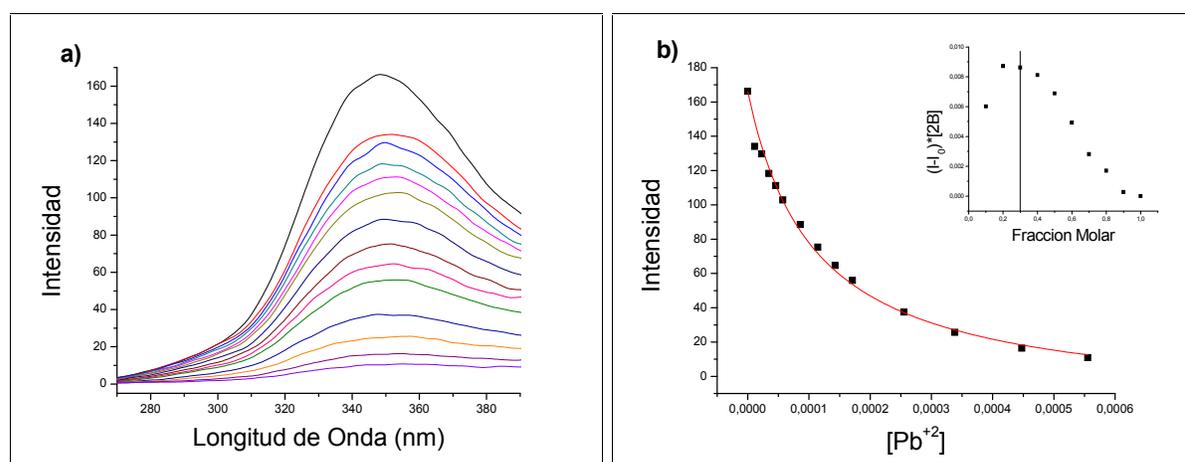


Gráfico 9.- a) Espectro de emisión para la titulación de 5 (8.6 μM) tras la adición continua de Pb²⁺ (0-60 eq). b) Ajuste no lineal de la intensidad de emisión en la titulación de 5 con Pb²⁺.
Inserto: Job Plot de 5 con Pb²⁺.

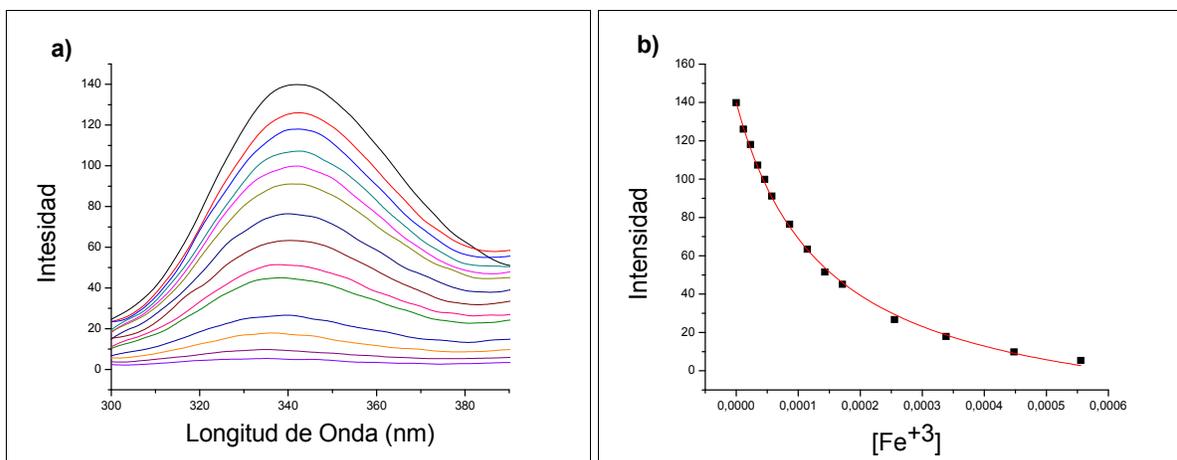


Gráfico 10.- a) Espectro de emisión para la titulación de 5 (8.6 μM) tras la adición continua de Fe⁺³ (0-60 eq). b) Ajuste no lineal de la intensidad de emisión en la titulación de 5 con Fe⁺³.

5.4.2.- Titulación por Espectroscopia de Fluorescencia de Tetra-tert-butil-25,27-di[(6-benzotiazoliltioureido)-etoxi]-26,28-dihidroxicalix[4]areno (6).

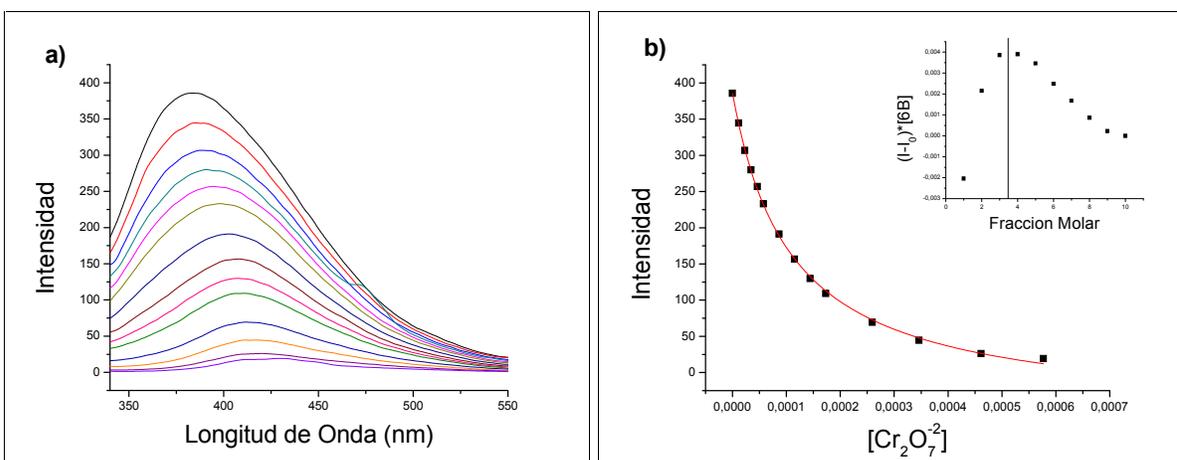


Gráfico 11.- a) Espectro de emisión para la titulación de 6 (8.6 μM) tras la adición continua de Cr₂O₇⁻² (0-60 eq). b) Ajuste no lineal de la intensidad de emisión en la titulación de 6 con Cr₂O₇⁻². Inserto: Job Plot de 6 con Cr₂O₇⁻².

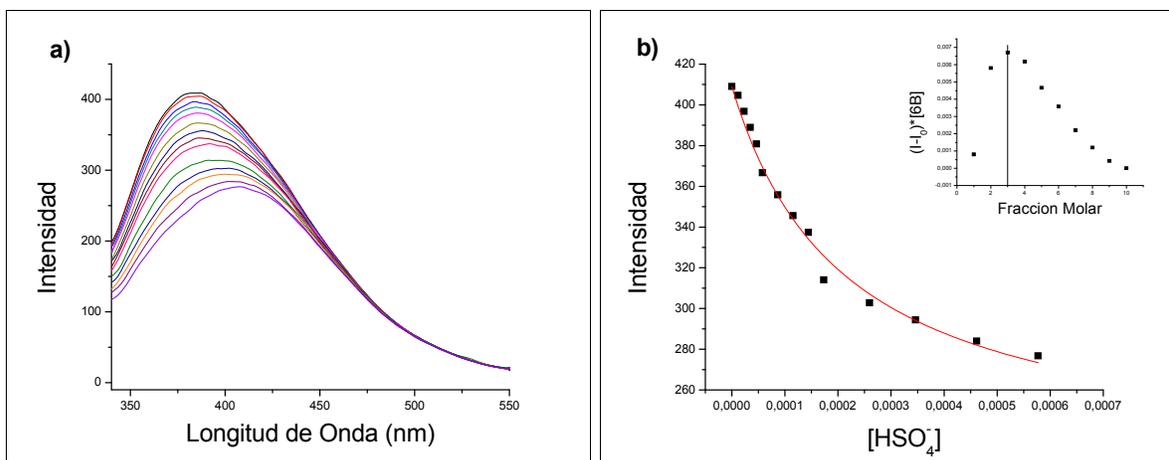


Grafico 12.- a) Espectro de emisión para la titulación de 6 ($8.6 \mu\text{M}$) tras la adición continua de HSO_4^- (0-60 eq). b) Ajuste no lineal de la intensidad de emisión en la titulación de 6 con HSO_4^- . Inserto: Job Plot de 6 con HSO_4^- .

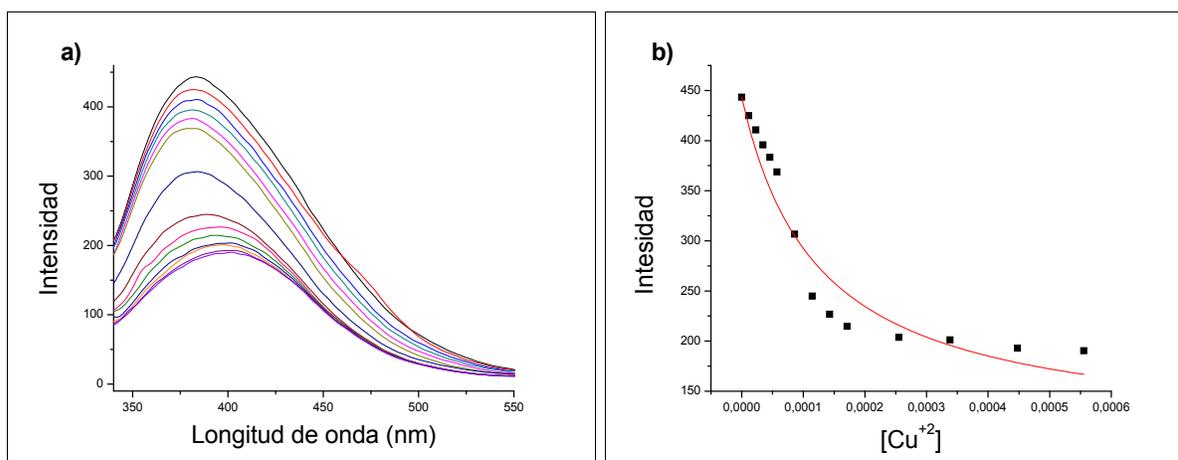


Grafico 13.- a) Espectro de emisión para la titulación de 6 ($8.6 \mu\text{M}$) tras la adición continua de Cu^{+2} (0-60 eq). b) Ajuste no lineal de la intensidad de emisión en la titulación de 6 con Cu^{+2} . Inserto: Job Plot de 6 con Cu^{+2} .

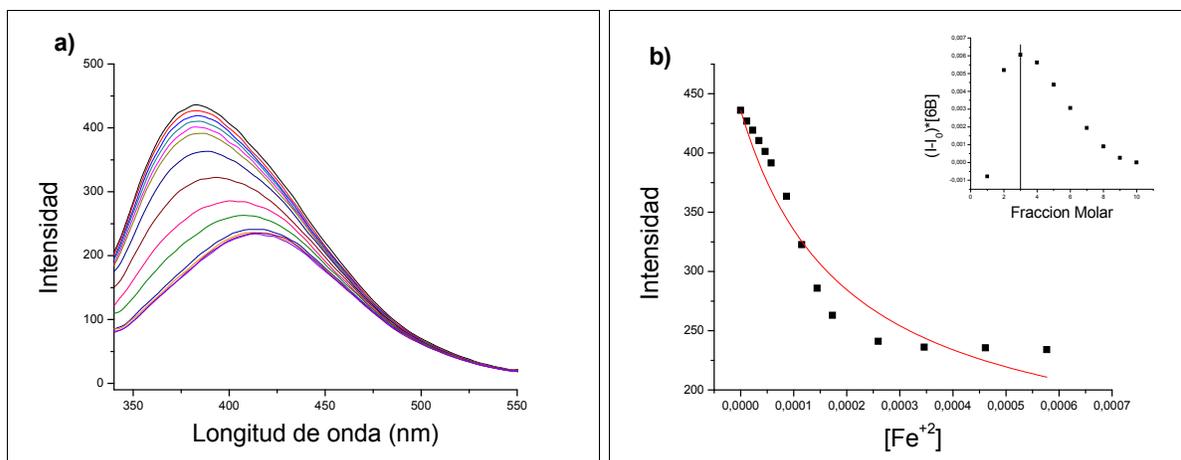


Grafico 14.- a) Espectro de emisión para la titulación de 6 ($8.6 \mu\text{M}$) tras la adición continua de Fe^{+2} (0-60 eq). b) Ajuste no lineal de la intensidad de emisión en la titulación de 6 con Fe^{+2} .
 Inserto: Job Plot de 6 con Fe^{+2} .

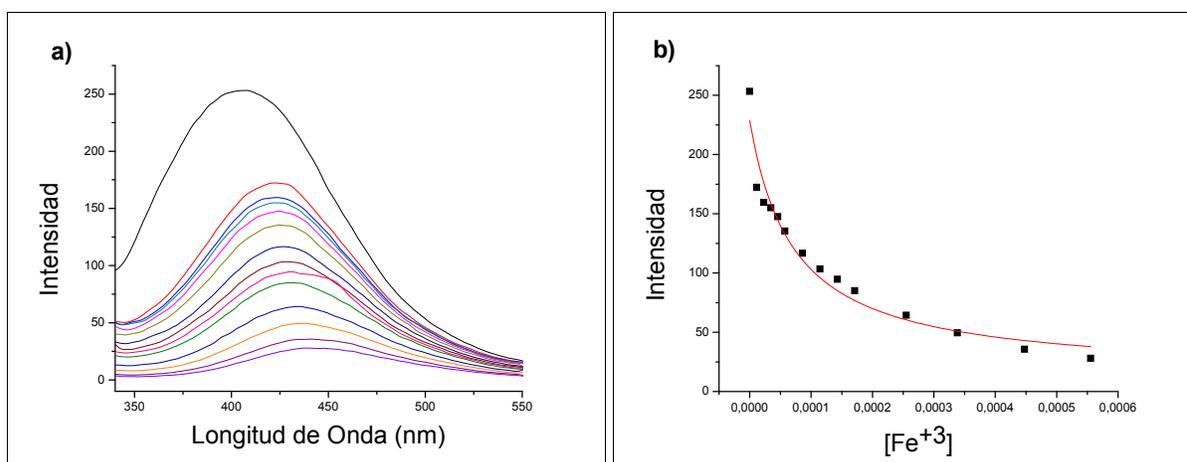


Grafico 15.- a) Espectro de emisión para la titulación de 6 ($8.6 \mu\text{M}$) tras la adición continua de Fe^{+3} (0-60 eq). b) Ajuste no lineal de la intensidad de emisión en la titulación de 6 con Fe^{+3} .

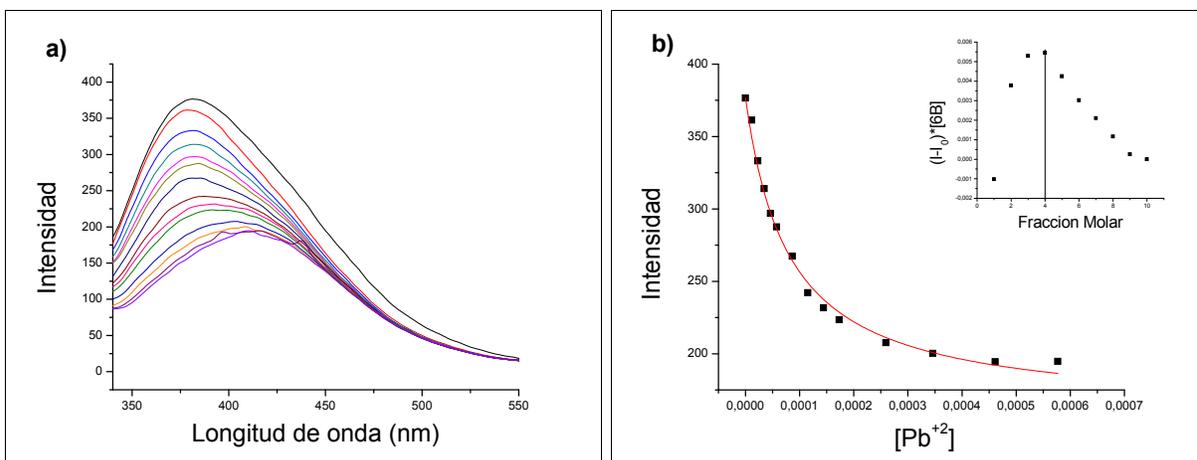


Grafico 16.- a) Espectro de emisión para la titulación de 6 ($8.6 \mu\text{M}$) tras la adición continua de Pb^{+2} (0-60 eq). b) Ajuste no lineal de la intensidad de emisión en la titulación de 6 con Pb^{+2} . Inserto: Job Plot de 6 con Pb^{+2} .

5.4.3.- Titulación por Espectroscopia de Fluorescencia de Tetra-tert-butil-25,27-di[(5-Bromo-2-benzotiazolil-tioureido)-etoxi]-26,28-dihidroxicalix[4]areno (7).

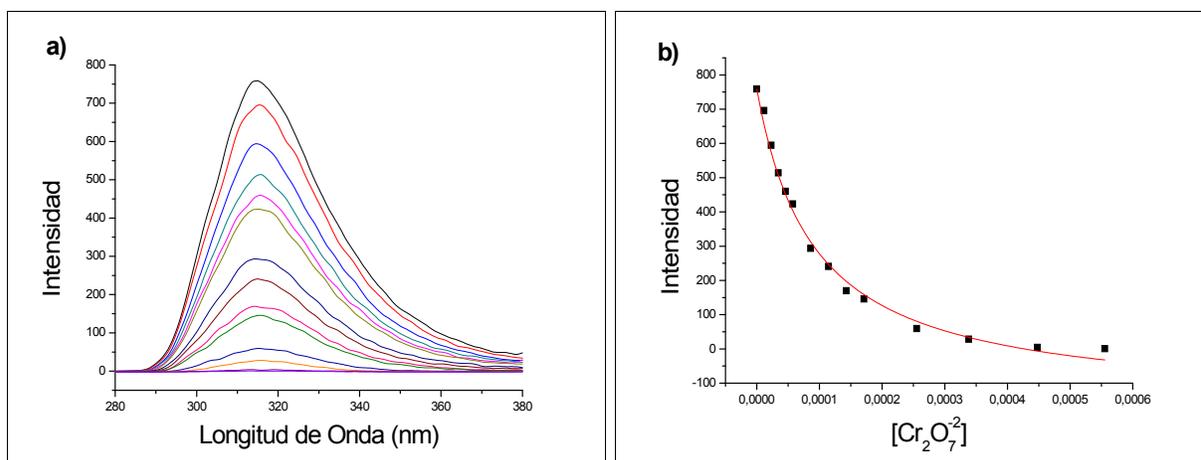


Grafico 17.- a) Espectro de emisión para la titulación de 7 ($8.6 \mu\text{M}$) tras la adición continua de $\text{Cr}_2\text{O}_7^{-2}$ (0-60 eq). b) Ajuste no lineal de la intensidad de emisión en la titulación de 7 con $\text{Cr}_2\text{O}_7^{-2}$.

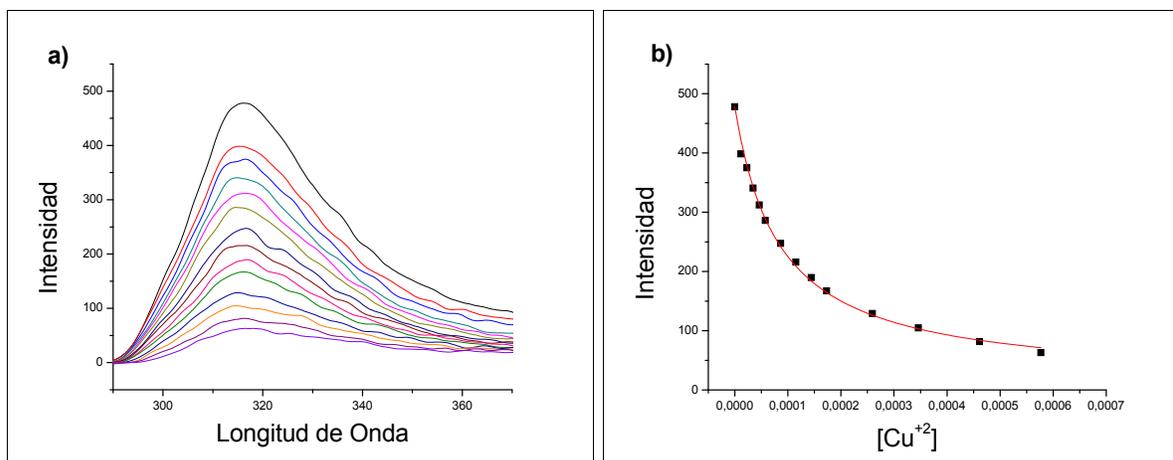


Grafico 18.- a) Espectro de emisión para la titulación de 7 ($8.6 \mu\text{M}$) tras la adición continua de Cu^{+2} (0-60 eq). b) Ajuste no lineal de la intensidad de emisión en la titulación de 7 con Cu^{+2} .

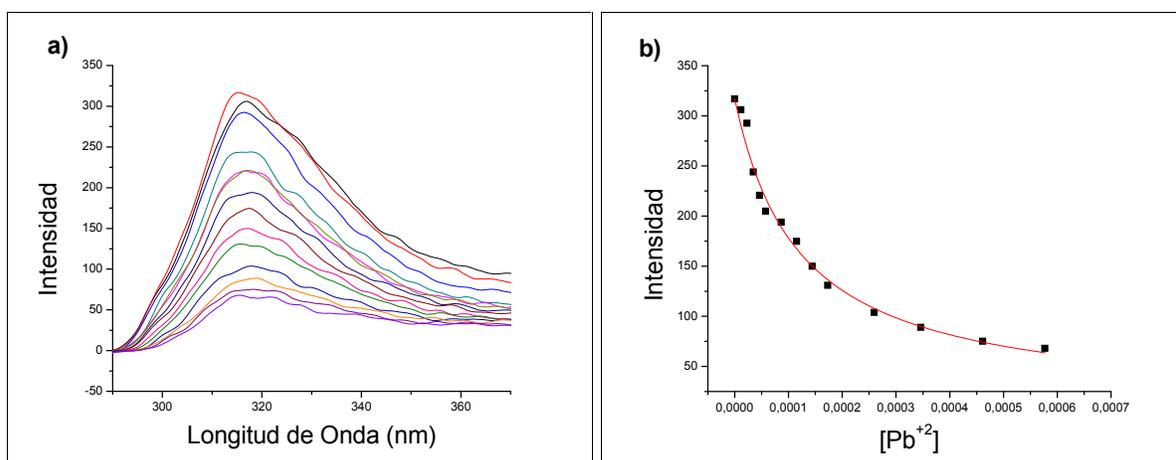


Grafico 19.- a) Espectro de emisión para la titulación de 7 ($8.6 \mu\text{M}$) tras la adición continua de Pb^{+2} (0-60 eq). b) Ajuste no lineal de la intensidad de emisión en la titulación de 7 con Pb^{+2} .

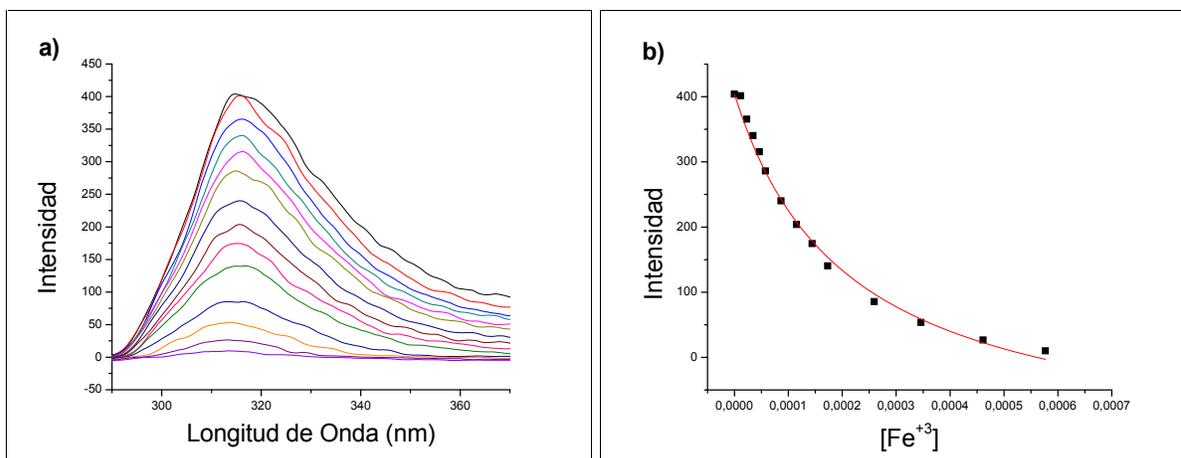


Gráfico 20.- a) Espectro de emisión para la titulación de 7 (8.6 μM) tras la adición continua de Fe⁺³ (0-60 eq). b) Ajuste no lineal de la intensidad de emisión en la titulación de 7 con Fe⁺³.

5.4.4.- Valores de las constantes de asociación calculados por el método no lineal.

En las siguientes tablas se indican los valores obtenidos para las constantes de asociación de los complejos formados por los calix[4]areno **5-7**.

calix[4]areno 5	Constante de Asociación M ⁻¹	Error	R	Estequiometria Ion:Calix
Cr ₂ O ₇ ⁻²	1,2 · 10 ⁴	1,2 · 10 ³	0,98555	1:2
I ⁻	1,3 · 10 ⁴	6,0 · 10 ²	0,99666	-
Pb ⁺²	9,3 · 10 ³	7,7 · 10 ²	0,98973	1:2
Fe ⁺³	6,98 · 10 ³	2,3 · 10 ²	0,99865	-

Tabla 9: Constante de asociación y estequiometria para el calix[4]areno 5 con Cr₂O₇⁻², I⁻, Fe⁺³ y Pb⁺².

Compuesto 6	Constante de Asociación M ⁻¹	Error	R	Estequiometria Ion:Calix
Cr ₂ O ₇ ⁻²	9,2 · 10 ³	2,1 · 10 ²	0,99932	1:2
HSO ₄ ⁻	4,7 · 10 ³	5,4 · 10 ²	0,98781	1:2
Cu ⁺²	8,1 · 10 ³	1,9 · 10 ³	0,93356	-
Fe ⁺²	4,9 · 10 ³	1,3 · 10 ³	0,93854	1:2
Fe ⁺³	1,4 · 10 ⁴	3,5 · 10 ³	0,9519	-
Pb ⁺²	1,2 · 10 ⁴	9,2 · 10 ²	0,99192	1:2

Tabla 10: Constante de asociación y estequiometria para el calix[4]areno 6 con Cr₂O₇⁻², HSO₄⁻, Cu⁺², Fe⁺², Fe⁺³ y Pb⁺².

Compuesto 7	Constante de Asociación M^{-1}	Error	R
$Cr_2O_7^{-2}$	1,1E+04	7,3E+02	0,99326
Cu^{+2}	1,2E+04	5,9 E+02	0,99601
Fe^{+3}	4,7E+03	4,4 E+02	0,99203
Pb^{+2}	8,3E+03	9,1 E+02	0,98462

Tabla 11: Constante de asociación y estequiometría para el calix[4]areno 7 con $Cr_2O_7^{-2}$, Cu^{+2} , Fe^{+3} y Pb^{+2} .

De acuerdo a los resultados obtenidos en los estudios de complejación, podemos informar que los calix[4]areno **5** y **6** presentan una mejor constante de asociación (K_a) con $Cr_2O_7^{-2}$ y Pb^{+2} , mientras que el calix[4]areno **7**, con $Cr_2O_7^{-2}$ y Cu^{+2} , esto por los altos valores de la constante de asociación y coeficientes de correlación para las curvas de titulación, presentando el calix[4]areno **7** los valores más altos de K_a .

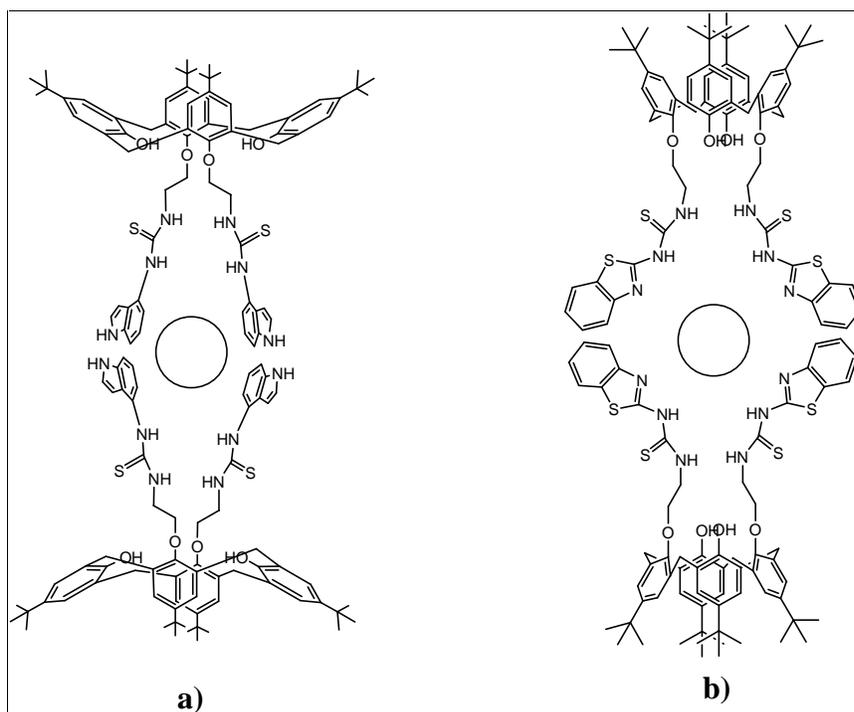


Figura 23.- Posible modelo del complejo de inclusión formado por a) calix[4]areno **6**, b) calix[4]areno **5** y **7**.

Los altos valores obtenidos en las constantes de asociación puede deberse a la acidez de los protones del grupo tioureido y la dirección de estos en el ligando, lo cual puede actuar conjuntamente en la formación de los complejos de inclusión con aniones. También podemos deducir que estos compuestos complejan aniones de gran volumen ($Cr_2O_7^{-2}$ y HSO_4^-), debido a la gran cavidad que se forma en el complejo, que presentan una estequiometría 2:1 ligando/anión (figura 23).

La conformación de los ligandos en solución también puede ser una de las variables que determina la eficiencia del compuesto para el reconocimiento de iones. Como queda demostrado por los datos, el calix[4]areno 5 presenta una mayor especificidad en el reconocimiento de iones, presentando interacciones con un solo anión y un catión, mientras que los calix[4]areno 6 y 7 presentan interacciones con un anión, y cuatro y tres cationes respectivamente. Esto podría explicarse por la conformación del calix[4]areno 6 y en el calix[4]areno 7 a la presencia del halógeno del anillo benzotiazolil, ya que contribuirá a generar una cavidad mas grande entre los dos ligandos, debido al volumen y gran carga del grupo. También estaría implicada una mayor densidad electrónica para las interacciones con cationes y una menor densidad de carga sobre los protones del grupo tioureideo, que serían los que interactúan con los aniones en la formación del complejo de inclusión.

Conclusión

6.- Conclusiones

- ♣ Se obtuvieron seis nuevos derivados de calix[4]arenos modificados por el borde inferior (lower rim) de la cavidad principal, con puentes de tiourea unidos a heterociclos.
- ♣ Los calixarenos **5**, **6** y **10** se obtuvieron con los mayores rendimientos, con porcentajes entre 40% y 45 %, los compuestos **7** y **8** se obtuvieron con rendimientos del 30 % y el compuesto **9** se obtuvo con un rendimiento menor al 20 %. Todos los calixarenos fueron caracterizados por espectroscopia $^1\text{H-RMN}$ y COSY.
- ♣ De acuerdo a los datos espectroscópicos, podemos concluir que los calixarenos **5** y **7** se encuentran en conformación *cono*, mientras que los compuestos **6**, **8**, **9** y **10** se encuentran en conformación *cono aplanado*, lo que indicaría que la posición de la amina en el heterociclo, influye en la conformación que adopta el compuesto en una solución de cloroformo.
- ♣ De acuerdo a los valores obtenidos de los ensayos de complejación analizados por espectroscopia de fluorescencia, los calixarenos con puentes de tiourea son capaces de formar complejos de inclusión con el anión $\text{Cr}_2\text{O}_7^{-2}$ y con los cationes Pb^{+2} y Fe^{+3} , con constantes de asociación de alrededor de 10.000 M^{-1} . Dada la selectividad y los altos valores de K_a , estos compuestos pueden ser utilizados como sensores y posiblemente en la extracción de estos iones desde matrices mas complejas, con la posible cuantificación del ion.
- ♣ Para todos los compuestos con los que fue posible realizar los estudios para determinar la estequiometría del complejo, se determinó que se formaron complejos de inclusión que estaban constituidos por dos moléculas de calixareno por una de ion.

Referencias Bibliográficas

7.- Bibliografia

- 1.-Thomas Kappe. The Early History of Calixarene Chemistry. Journal of inclusion phenomena and molecular recognition in chemistry .Vol 19. 3-15. 1994
- 2.- Cornforth, J. W.; D'Arcy-Hart, P.; Nicholls, G. A.; Rees, R J. W.; Stock, J. A. Brit. I. Pharmacol. 1955, 10, 73
- 3.-C.David Gutsche, MuzafferIqbal, Donald Stewart. Synthesis procedures for p-tertbutylcalix[4]arene. J.Org.Chem. Vol 51. N°5.743-745. 1986.
- 4.- C.David Gutsche. Calixarene Revisited. Cambridge. The Royal Society of Chemistry. 1998, 3.
- 5.- The Use of Calixarenes in Metal-Based Catalysis Damien M. Homden and Carl Redshaw Chem. Rev. 2008, 108, 5086–5130
- 6.- Selectivity of calixarene-bonded silica phases in HPLC: Description of special characteristics with a multiple term linear equation at different methanol concentrations. Christian Schneider. Thomas Jira J. Sep. Sci. 2010, 33, 2943–2955
- 7.- Calixarenes: Versatile molecules as molecular sensors for ion recognition study J. Chem. Sci. Vol. 124, No. 6, November 2012, pp. 1287–1299
- 8.-C.David Gutsche, Balram Dhawan, Jeffrey Levine, KwangHyun , Lorenz Bauer. Conformational isomers of the ethers and esters of calix[4]arenes. Tetrahedron. Vol 39. N°3.409-426. 1983.
- 9.- David Gutsche. Calixarenes. In: J.F. Stoddart. 1998. 111. A. Macias, J. Norton, J. Evanseck. Impact of Multiple Cation- Interactions upon Calix[4]arene Substrate Binding and Specificity. J. Am. Chem. Soc. Vol 125. 2351-2360. 2003
- 10.- David Gutsche. Lorenz Bauer. The conformational properties of Calix[4]arenes, Calix[6]arenes, Calix[8]arenes and oxacalixarenes. J. Am. Chem. Soc. 107. 6052-6059. 1985.
- 11.- Atsushi Ikeda. Seiji Shinkai. Novel cavity design using calix[n]arene skeletons: toward molecular recognition and metal binding. Chem Rev. 97. 1713-1734. 1997.
- 12.- Kyung Soo Moon, Narinder Singh, Gang Woo Lee and Doo Ok Jang “Colorimetric anion chemosensor based on 2-aminobenzimidazole: naked-eye detection of biologically important anions” Tetrahedron 2007, 63 (37), 9106-9111
- 13.-Kye Chun Nam, Sung Ok Kang SeungWhanKo. Urea derivatives of p-tert-Butylcalix[4]arenes: Anion selective Neutral Receptors. Bull. Korean Chem Soc. Vol 20 N°8. 953-956. 1999

- 14.-Gunnlaugsson.T, Glynn M, Kruger.P.E. Pfeffer,F.M.Anion recognition and sensing in organic and aqueous media using luminescent and colorimetric sensors. *Coord. Chem. Rev.*Vol 250. 3094-3117.2006.
- 15.-Jongmin Kang, Hyung Suk Kim and Doo Ok Jang “Fluorescent anion chemosensors using 2-aminobenzimidazole receptors” *Tetrahedron Lett.* 2005, 46 (36), 6079-6082.
- 16.-J.Scheerder, J.F.L Engbersen, D.N.Reinhoudt, *J.Org.Chem*, 1994,59,7815-7820
- 17.-T.Hayes, T.Theis.The distribution of heavy metals in anaerobic digestion.*Journal Water Pollution Control Federation.*Vol 50 N°1.61-72.1978.
- 18.-Arora.V., Chawla.H.M, Singh. S.P. Calixarene as sensor materials for recognition and separation of metal ions.*Arkivoc.* 172-200. 2007
- 19.-C.Quiroga-Campano, H. Gomez-Machuca, C.Jullian, J.De la Fuente, H. Pessoa-Mahana, C.Saitz. Study of calix[4] arenes bearing heterocycles with divalent metals: highly selective detection of Pb^{+2} . *J.Incl.Phenom.Macrocycl.Chem.* DOI 10.1007/s10847-013-0340-z. 2013}
- 20.-G.Woo Lee, N.Singh, D,Ok Jang. Benzimidazole and thiourea conjugated fluorescent hybrid receptor for selective recognition of PO_4^{3-} . *Tetraedron Letters.* Vol 49.1952-1956. 2008.
- 21.- Jun-Min Liu, Jian-Hua Bu, Qi-Yu Zheng, Chuan-Feng Chen, Zhi-Tang Huang. Highly selective fluorescent sensing of Pb^{2+} by a new calix[4]arene derivative. *Tetrahedron Letters.*Vol 47 .1905-1908. 2006.
- 22.-Gutsche.C.D.; Iqbal,M.; *Org. Synth.*, Vol 8. 75-81. 1993.
- 23.-W.C.Zhang, Z.T.Huang. *Synthesis.* 1073. 1997
- 24.- J.M. Fernandez, C.O.Mellet, J.Fuentes, *J.Org.Chem*vol 58. 5192. 1993
- 25.- Benesi H, Hildebrand J. A Spectrophotometric Investigation of the Interaction of Iodine with Aromatic Hydrocarbons. *J. Am. Chem. Soc.* 71: 2703–07. 1949.

Anexo

