

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
Departamento de Química Orgánica



TESIS DOCTORAL

Síntesis de sistemas multivalentes basados en C₆₀: estudio de sus propiedades biomédicas y electrónicas

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Antonio Muñoz Fernández

Directores

Nazario Martín León
Beatriz Illescas Martínez

Madrid, 2014



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

SÍNTESIS DE SISTEMAS MULTIVALENTES
BASADOS EN C₆₀: ESTUDIO DE SUS
PROPIEDADES BIOMÉDICAS Y
ELECTRÓNICAS

TESIS DOCTORAL

Antonio Muñoz Fernández

Madrid, 2014



SÍNTESIS DE SISTEMAS MULTIVALENTES
BASADOS EN C₆₀: ESTUDIO DE SUS
PROPIEDADES BIOMÉDICAS Y
ELECTRÓNICAS

Directores:

Prof. Dr. Nazario Martín León

Prof. Dra. Beatriz Illescas Martínez

Memoria para optar al grado de
DOCTOR EN CIENCIAS QUÍMICAS

presenta

Antonio Muñoz Fernández

MADRID, 2014

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Nanotecnología y energía	2
1.2. Nanotecnología y nuevos materiales	3
1.3. Nanotecnología y el cuidado de la salud	6
1.3.1. Nanotecnología y el diagnóstico en ciencias de la salud.....	7
1.3.2. Nanopartículas y su uso terapéutico	8
1.3.3. Nanotecnología, encapsulación, reparto y liberación controlada de fármacos	9
1.3.4. Nanotecnología y medicina regenerativa	11
1.3.5. Gliconotecnología, biomiméticos y vacunas artificiales	12

CAPITULO 1

2. ANTECEDENTES	19
2.1. Fullerenos solubles en medios polares y acuosos	21
2.1.1. Encapsulación supramolecular	21
2.1.2. Suspensiones estables usando codisolventes	22
2.1.3. Modificación química covalente de fullerenos.....	23
2.1.4. “Click-Chemistry” sobre fullerenos y otras nanoformas del carbono.....	31
2.1.4.1. Uso de la reacción de cicloadición 1,3-dipolar catalizada por cobre	32
2.1.4.2. Uso de las reacciones con tioles	37
2.1.5. Propiedades biológicas de los fullerenos y otras nanoformas del carbono	41
2.1.5.1. Fullerenos como agentes antivirales.....	41
2.1.5.2. Fullerenos como agentes antibacterianos	44
2.1.5.3. Fullerenos como agentes de contraste en MRI.....	47
2.1.5.4. Fullerenos endohédricos como agentes antitumorales	49
2.1.5.5. Fullerenos como agentes antioxidantes	51
2.1.5.6. Fullerenos como agentes para transfección genética.....	54
2.1.6. Fullerenos y sus propiedades fotofísicas: Sensibilizadores para Terapia Fotodinámica.....	56

2.1.6.1. Fullerenos, aplicaciones biomédicas para terapia fotodinámica.....	58
2.1.6.1.1. Foto-escisión controlada de ADN	58
2.1.6.1.2. Foto-inactivación de tumores con derivados de fullereno.....	59
2.1.7. Propiedades Biológicas de otras nanoformas del carbono: Nanotubos de Carbono y Grafeno.....	61
2.1.8. Toxicología de Fullerenos, Nanotubos de Carbono, Grafeno y sus derivados	63
2.2. Sistemas de presentación de carbohidratos para interacción supramolecular multivalente.....	66
2.2.1. Modelos artificiales de sistemas de presentación de carbohidratos	68
2.2.2. Vacunas sintéticas	71
3. OBJETIVOS.....	75
3.1. Síntesis de monoadductos de fullereno funcionalizados con carbohidratos.....	77
3.2. Síntesis de hexaadductos simétricos de fullereno.....	77
3.3. Síntesis de hexaadductos asimétricos de fullereno	78
3.4. Estudio de las propiedades biológicas de los productos anteriormente sintetizados.....	79
3.4.1. Estudio de la interacción con lectinas mediante ITC (Isothermal Titration Calorimetry). Estudio del efecto multivalente	79
3.4.2. Estudio de la inhibición de la infección viral en células humanas.....	79
3.4.3. Fotosensibilizadores: Generación de oxígeno singlete.....	79
3.5. Empleo de nanotubos de carbono como plataformas para la presentación multivalente de carbohidratos.....	80
4. EXPOSICIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	81
4.1. Síntesis de derivados de fullereno altamente funcionalizados solubles en medios acuosos	83
4.2 Síntesis de monoadductos con alquinos terminales en su periferia	84
4.3 Síntesis de monoadductos de C ₆₀ funcionalizados con carbohidratos	88

4.4. Estudio termodinámico de la interacción entre glicofullerenos y la lectina vegetal Concanavalina A, mediante calorimetría.....	94
4.4.1. Lectinas	96
4.4.2. Experimentos de ITC con glicomonoaductos de C ₆₀	97
4.5. Síntesis de hexakis-aductos de C ₆₀	100
4.6. Modificación química de hexaaductos vía “Click-Chemistry”: Obtención de las “Bolas de Azúcar” de fullereno.....	103
4.7. Experimentos de ITC con hexaaductos de C ₆₀	107
4.8. Estudios de transfección en células: “Bolas de Azúcar” de fullereno como agentes para la inhibición de la infección viral	111
4.9. Síntesis de hexaaductos asimétricos	115
4.10. Síntesis de nuevas arquitecturas glicomiméticas para la presentación de carbohidratos	122
4.11. Estudios de transfección en células: Estructuras superiores basadas en hexaaductos de C ₆₀ y Nanotubos de Carbono , como agentes para la inhibición de la infección viral	129
4.12. Propiedades fotoquímicas como sensibilizadores para la generación de oxígeno singlete	130
5. PARTE EXPERIMENTAL	135
5.1. Técnicas generales utilizadas.....	137
5.2. Síntesis de derivados de fullereno altamente funcionalizados.....	139
5.2.1. Adición directa de azidas sobre C ₆₀	141
5.2.2. Preparación de derivados del ácido malónico para modificación química de fullerenos	151
5.2.3. Síntesis de monoaductos de C ₆₀ mediante ciclopropanación de Bingel	159
5.2.4. Preparación de glicofullerenos	166
5.2.5. Preparación de hexaaductos de C ₆₀	172
5.2.6. Síntesis de “ Bolas de Azúcar” de fullereno y sus variantes no- simétricas	205
 CAPITULO 2	
 6. ANTECEDENTES	207
6.1. Química supramolecular de nanoformas del carbono.....	209

6.1.1. Receptores supramoleculares para fullerenos.....	209
6.1.2. Química supramolecular de CNTs y solubilización mediante receptores altamente solubles en medios biológicos.....	213
6.1.3. Química supramolecular de grafeno.....	219
6.2. Sistemas autoensamblados basados en fullereno.....	224
7. OBJETIVOS.....	233
7.1. Síntesis de hexaaductos funcionalizados con unidades electroactivas derivadas de exTTF y TCAQ y estudio de su interacción supramolecular con nanotubos de carbono y grafeno	235
7.2. Sistemas autoensamblados de fullerenos solubles en agua	236
8. EXPOSICIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	239
8.1. Síntesis de sistemas multivalentes derivados de exTTF y TCAQ	241
8.1.1. Síntesis de hexaaductos derivados de exTTF y TCAQ	243
8.2. Interacción multivalente de hexaaductos derivados de exTTF y TCAQ con grafeno.....	248
8.3. Sistemas autoensamblados anfífilicos basados en dendrofullerenos ...	253
9. PARTE EXPERIMENTAL.....	263
9.1. Técnicas generales utilizadas.....	265
9.2. Síntesis de hexaaductos funcionalizados con unidades electroactivas de exTTF y TCAQ.....	266
9.3. Síntesis de fullerenos anfífilicos solubles en agua.....	275
10. CONCLUSIONES.....	283
10.1. Conclusiones: Capítulo 1.....	285
10.2. Conclusiones: Capítulo 2.....	285
11. SUMMARY.....	287
12. BIBLIOGRAFÍA.....	310

ACRÓNIMOS Y ABREVIATURAS

Se han utilizado las abreviaturas y acrónimos comunes en química orgánica siguiendo las recomendaciones de: "Guidelines for the authors", *J. Org. Chem.* **2013**, que pueden consultarse en la siguiente página: http://pubs.acs.org/paragonplus/submission/jocean/jocean_authguide.pdf. Además, se han empleado las indicadas a continuación:

AFM: Microscopía de fuerza atómica.

ATG: Análisis termogravimétrico .

BuLi: Butilio.

CNTs: Nanotubos de carbono.

DBU: 1,8-Díazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno.

DCC: *N,N'*-diciclohexilcarbodiimida.

DLS: Dispersión dinámica de luz.

DMAP: *N,N'*-dimetilaminopiridina.

DMSO: Dimetilsulfóxido.

EDC: *N*-(3-dimetilaminopropil)-*N'*-etilcarbodiimida.

ES: Electrospray.

ESI: Ionización por electrospray.

exTTF: TTF π -extendido.

FAB: Bombardeo con átomos rápidos.

FLG: Grafeno de pocas láminas.

HOPG: Grafito pirolítico de alto ordenamiento.

HBC: Hexabenzocoroneno.

IR-TF: Espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier.

ITO: Óxido de indio y titanio.

MALDI-TOF: desorción/ionización láser asistida por matriz con detector de tiempo de vuelo.

MS: Espectrometría de masas.

MWCNT: Nanotubos de carbono de pared múltiple.

NMP: *N*-metil-2-pirrolidona.

ODCB: *o*-diclorobenceno.

PCBM: [6,6]-fenil-C₆₁-butirato de metilo.

PEDOT: poli(3,4-etilendioxitiofeno).

P3HT: Poli(3-hexiltiofeno).

PSS: Poli(estirenosulfonato)

PTFE: Politetrafluoroetileno.

SDBS: Dodecibencenosulfonato de sodio.

SEM- FEG: Microscopía de barrido electrónico con pistola de emisión de campo.

SWCNT: Nanotubos de carbono de pared sencilla.

TBAF: Fluoruro de tetrabutilamonio.

TCAQ: 11,11,12,12,-tetraciano-9,10-antraquinodimetano.

TEM: Microscopía de Transmisión Electrónica.

TTF: Tetratiafulvaleno.

XPS: espectroscopía de fotoemisión de rayos X.

Introducción

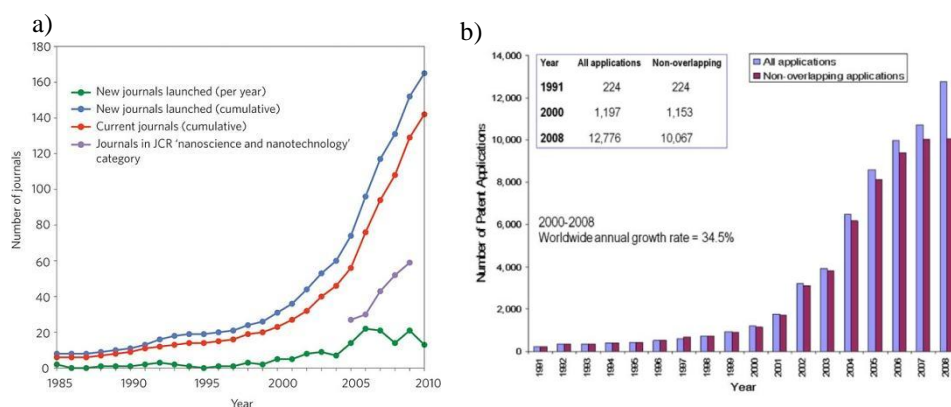
La nanociencia y la nanotecnología han permitido una nueva visión de la naturaleza y del desarrollo tecnológico a escala atómica. En ellas convergen las distintas ramas del conocimiento científico y técnico, desde la química, la biología, la física y la ciencia de los materiales, hasta la medicina y el cuidado de la salud. Los avances y conocimientos actuales han permitido imaginar y desarrollar aplicaciones para solucionar problemas de salud inabordables por métodos químicos, farmacológicos o físicos convencionales. Las ciencias básicas, como lo es la química, no son ajenas a la nanotecnología, pues son parte imprescindible para su desarrollo. La química como ciencia central tiene en la nanotecnología una oportunidad para aumentar su contribución a la sociedad del bienestar.

El desarrollo de estructuras funcionales a escala nanométrica es uno de los objetivos principales de la nanociencia y la nanotecnología. Tradicionalmente, la química ha estado trabajando fuera del ámbito de la construcción de nanoestructuras, pero en los últimos años, el avance espectacular de las técnicas de microscopía electrónica ha permitido a los químicos el estudio del autoensamblaje de moléculas sencillas bajo distintas condiciones, obteniéndose nanoestructuras modulables en su forma, tamaño y propiedades. El estudio del autoensamblaje de moléculas abre el campo para que moléculas pequeñas, sintetizadas por métodos químicos convencionales, más pequeñas de 1 nm, puedan ser utilizadas como los bloques de construcción supramolecular para el diseño de estructuras que sobrepasen la escala nanométrica, en un claro ejemplo de construcción tipo *bottom-up* (de abajo a arriba). Estos nuevos materiales blandos autoensamblados están siendo estudiados para la fabricación de nuevos materiales para la energía, la salud y nuevas superficies funcionales.

En la última década, el número de publicaciones científicas y trabajos científico-técnicos, así como el número de patentes relacionadas con la nanotecnología se ha incrementado de manera exponencial. Esta oleada de nuevos conocimientos ha sido calificada por la revista *The Economist* como “el advenimiento de la tercera revolución industrial”. La influencia de estas nuevas tecnologías emergentes generarán, en primer lugar, una transformación en el tejido industrial de las economías más desarrolladas y, posteriormente, es de esperar que estos nuevos procesos industriales repercutan en la sociedad, abaratando la energía y haciéndola más asequible, así como mejorando el diagnóstico, prevención y tratamiento de multitud de enfermedades. Este

Introducción

amplio espectro de aplicaciones nanotecnológicas augura un cambio social y un aumento de la calidad de vida de las personas, como lo han hecho antes otras tecnologías, hoy ya desarrolladas, como la informática, las telecomunicaciones o la electrónica. Se espera que en la próxima década los nuevos procesos industriales nanotecnológicos empiecen a consolidarse.



1.1. Nanotecnología y energía

Una de las aspiraciones de la nanotecnología es servir como herramienta para la producción y almacenamiento de energía de forma más barata que a través de los métodos actuales.¹ La nanociencia juega hoy día un papel fundamental en los nuevos procesos catalíticos, ya que los catalizadores muestran propiedades diferentes al reducir su tamaño, pero también modificando su ordenamiento pueden obtenerse resultados catalíticos inesperados.² Un ejemplo muy representativo es el oro, que se comporta como metal inerte, pero cuando se dispersa en forma de nanopartículas se comporta como un metal capaz de catalizar numerosas reacciones.³ La implementación de nuevos procesos catalíticos será uno de los retos más importantes de la nanociencia, por ejemplo, catalizando la electrolisis del agua, el coste de producción de

[1] A. C. Dillon, *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 6856.

[2] D. L. Wang, H. L. L. Xin, R. Hovden, H. S. Wang, Y. C. Yu, D. A. Muller, F. J. DiSalvo, H. D. Abruna, *Nat. Mater.* **2013**, *12*, 81.

[3] J. Oliver-Meseguer, J. R. Cabrero-Antonino, I. Domínguez, A. Leyva-Pérez, A. Corma, *Science* **2012**, *338*, 1452.

hidrógeno gaseoso puede reducirse muy considerablemente.⁴ Cuando se pueda contar con un catalizador competitivo en este campo, podrá dar comienzo la producción masiva de hidrógeno gaseoso, una fuente de energía renovable, inagotable, y no contaminante si se obtiene a partir de agua y la energía para la electrolisis se obtiene de fuentes de energía renovables.⁵

1.2. Nanotecnología y nuevos materiales

Tras el descubrimiento de las nuevas nanoformas del carbono, fullereno,⁶ nanotubos de carbono⁷ y grafeno,⁸ la ciencia de materiales ha enfocado su interés en estas nanoformas, ya que debido a sus propiedades eléctricas, mecánicas y ópticas, son candidatos ideales para el desarrollo de futuros materiales. Desde el punto de vista químico, estos materiales son accesibles a los protocolos clásicos de la modificación química en un laboratorio de química orgánica, lo que amplía su versatilidad. La modulación de las propiedades de estas nanoformas de carbono por modificación covalente o supramolecular será objetivo primordial en el presente trabajo.

Una de las aplicaciones de estos nuevos materiales son las células solares orgánicas. Algunos de los inconvenientes de las células solares convencionales son su elevado coste, rigidez y elevado peso. Los materiales orgánicos ofrecen nuevas posibilidades en la preparación de dispositivos fotovoltaicos debido a su fácil deposición sobre superficies plásticas flexibles. Estas nuevas estructuras químicas pueden modularse y combinarse, para conseguir una amplia variedad de propiedades físico-químicas, como ajustar la longitud de onda de absorción de luz, y modular mediante modificaciones químicas el *gap* HOMO-LUMO de las fases orgánicas dadoras y aceptoras. Las células basadas en C₆₀ están consolidándose y mejorando día a día sus rendimientos, que han alcanzado ya valores superiores al 9%.⁹ Actualmente, se intenta controlar la morfología de estos materiales y estudiar cómo ésta afecta a la eficacia de la celda solar. Esta nanoestructuración interna de los materiales orgánicos fotoactivos está estrechamente relacionada con el movimiento eficaz de cargas

[4] C. Y. Lin, Y. H. Lai, D. Mersch, E. Reisner, *Chem. Sci.* **2012**, 3, 3482.

[5] T. N. Veziroglu, *Energy Proced.* **2012**, 29, 654.

[6] H. W. Kroto, J. R. Heath, S. C. O'Brien, R. F. Curl, R. E. Smalley, *Nature* **1985**, 318, 162.

[7] S. Iijima, *Nature* **1991**, 354, 56.

[8] K. S. Novoselov, A. K. Geim, S. V. Morozov, D. Jiang, Y. Zhang, S. V. Dubonos, I. V. Grigorieva, A. A. Firsov, *Science* **2004**, 306, 666.

[9] Z. He, C. Zhong, S. Su, M. Xu, H. Wu, Y. Cao, *Nat. Photon.* **2012**, 6, 593.

dentro del dispositivo,¹⁰ que genera la corriente eléctrica. Es previsible que esta nanoestructura ordenada permita mayores tiempos de vida útil de los dispositivos.¹¹

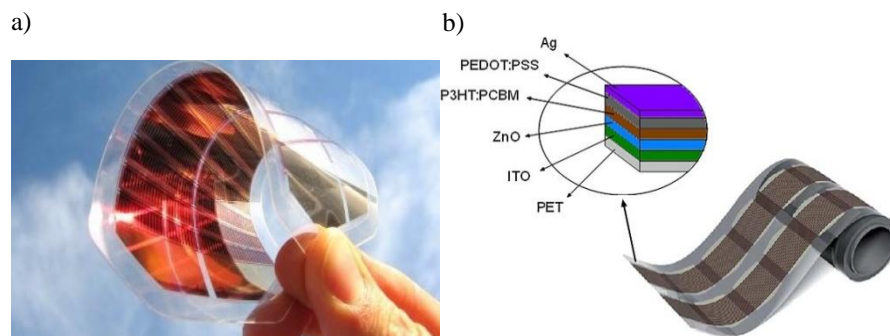


FIGURA 2. a) Celda solar orgánica con materiales orgánicos fotoactivos depositados sobre una capa de PET flexible. b) Esquema de la disposición en multicapas, PET como material de soporte flexible. ITO como ánodo conductor transparente. ZnO como semiconductor transparente de tipo-n, conductor de electrones generados en la capa activa. Capa activa, mezcla de un polímero dador, P3HT y una molécula aceptora, PCBM. Capa de PEDOT:PSS, mezcla de dos polímeros capaces de conducir cargas positivas hacia el cátodo de plata.

Las superficies nanoestructuradas y las nuevas estructuras químicas orgánicas hacen posible la conversión de energía eléctrica en energía lumínica de manera eficaz¹² mediante OLEDs (siglas en Inglés de Organic Light Emitting Diode, en español: diodo orgánico de emisión de luz) con un funcionamiento análogo, pero inverso al de las celdas solares orgánicas. Las moléculas orgánicas se disponen en una capa electroluminiscente formada por una película de componentes orgánicos que reaccionan ante un determinado estímulo eléctrico, generando y emitiendo luz por sí mismos. Estos dispositivos tienen, por una parte, las capas orgánicas de polímeros o moléculas de los OLEDs más

[10] N. Sakai, R. Bhosale, D. Emery, J. Mareda, S. Matile, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 6923.

[11] C. Winder, N. S. Sariciftci, *J. Mater. Chem.* **2004**, *14*, 1077.

[12] J. H. Burroughes, D. D. C. Bradley, A. R. Brown, R. N. Marks, K. Mackay, R. H. Friend, P. L. Burns, A. B. Holmes, *Nature* **1990**, *347*, 539.

delgadas, luminosas y mucho más flexibles que las capas cristalinas de un LED o LCD. Por otra parte, en algunas tecnologías el sustrato de impresión de los OLEDs puede ser el plástico, que ofrece flexibilidad frente a la rigidez del cristal que da soporte a los LCD o pantallas de plasma.

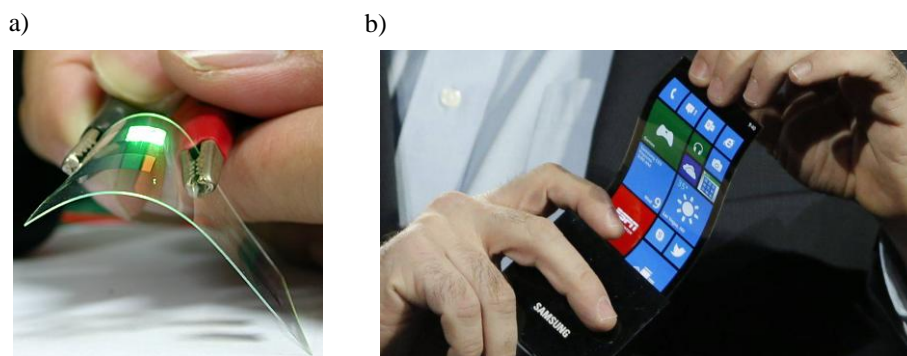


FIGURA 3. a) Diodo de emisión de luz verde respondiendo a un estímulo eléctrico. b) Prototipo de teléfono móvil con pantalla OLED flexible de alta resolución.

La nanoelectrónica es hoy día un campo de especial importancia en la miniaturización e implementación de sistemas computacionales rápidos y eficaces. En este campo, la aproximación *bottom-up* ofrece una estrategia prometedora para el desarrollo de la tecnología a escala nanométrica, empleando átomos, moléculas o clústeres moleculares para construir nanoestructuras. La química se encuentra en la disposición ideal para desarrollar esta aproximación *bottom-up* para la construcción de dispositivos. Uno de los mayores retos para la ciencia en este campo es el control sobre estos materiales para la fabricación de dispositivos en los que sus componentes a escala molecular se integren funcionalmente, es decir, de forma que estos dispositivos desarrollen una función específica, para la que fueron diseñados. En los últimos años se vienen desarrollando moléculas capaces de conducir electricidad del mismo modo que lo haría un cable de tamaño molecular. El concepto del desarrollo de moléculas individuales como partes funcionales dentro de circuitos electrónicos miniaturizados fue propuesto por primera vez por Aviram y Ratner en 1974 con el diseño del que sería el primer rectificador unimolecular.¹³ A pesar de esta temprana publicación, hay que esperar hasta la última década del s.XX para que comience el desarrollo y síntesis de las

[13] A. Aviram, M. A. Ratner, *Chem. Phys. Lett.* **1974**, 29, 277.

primeras moléculas funcionales en electrónica molecular.¹⁴ No solo han sido utilizadas moléculas sintéticas como componentes nanoelectrónicos, también moléculas de origen natural, como el ADN, para conducir electrones a distancias de varios nanómetros de manera eficaz y direccional.¹⁵ Pero las variaciones intrínsecas en el ADN, como cambios en la secuencia de nucleótidos, hacen que los resultados en sus mediciones de conductividad sean dispares, a la vez que muy modulables. Su variabilidad casi infinita hace difícil su estudio como unidad básica en la electrónica unimolecular.¹⁶ Sin embargo, las propiedades mecánicas y de autoensamblaje que presenta el ADN son muy interesantes para un cable molecular, por ello se están desarrollando sistemas moleculares artificiales, capaces de autoorganizarse y estructuralmente más sencillos que una molécula de ADN. En este sentido, las nanoestructuras de carbono, como los nanotubos de carbono y los fullerenos, están siendo utilizados como unidades de contacto eléctrico en transistores nanométricos, como el desarrollado en 2012 por investigadores de IBM.¹⁷

1.3. Nanotecnología y el cuidado de la salud

La medicina y el cuidado de la salud no han permanecido ajenas al desarrollo de la nanotecnología. Uno de los grandes retos a los que se enfrenta la medicina este siglo es el desarrollo de técnicas de diagnóstico para numerosas enfermedades, así como el desarrollo de técnicas de regeneración de órganos y tejidos dañados dentro de nuestro cuerpo. Encontrar una adecuada solución a estos retos podría tener una gran repercusión en la calidad de vida de nuestra sociedad en un futuro cercano. La emergencia de una nueva disciplina, denominada Nanomedicina, promete alcanzar estos ambiciosos objetivos. Ya existen productos comercializados como nanopartículas de plata depositadas sobre superficies, que mantienen estas superficies permanentemente libres de bacterias. Se han aplicado en ropa deportiva, neveras, recipientes para almacenar alimentos, filtros bactericidas de aguas y en materiales médicos que requieran especial esterilización. Estas nanopartículas de plata interrumpen el ciclo respiratorio de las bacterias, y éstas no son capaces de ofrecer resistencia bacteriana frente a estas partículas, como lo harían frente a un antibiótico

[14] S. K. Lee, R. Yamada, S. Tanaka, G. S. Chang, Y. Asai, H. Tada, *ACS Nano* **2012**, *6*, 5078.

[15] E. Braun, Y. Eichen, U. Sivan, G. Ben-Yoseph, *Nature* **1998**, *391*, 775.

[16] N. Robertson, C. A. McGowan, *Chem. Soc. Rev.* **2003**, *32*, 96.

[17] A. D. Franklin, M. Luisier, S.-J. Han, G. Tulevski, C. M. Breslin, L. Gignac, M. S. Lundstrom, W. Haensch, *Nano Lett.* **2012**, *12*, 758.

clásico. El progresivo aumento que se observa de graves dolencias como el cáncer, las enfermedades cardiovasculares, la diabetes, las enfermedades neurodegenerativas o incluso de origen genético para las que no existen tratamientos definitivos, está generando una necesidad de encontrar nuevos métodos diagnósticos y terapéuticos más rápidos, eficaces y específicos que, además, reduzcan al máximo los costes implicados para una universalización de los tratamientos.

1.3.1. Nanotecnología y el diagnóstico en ciencias de la salud

El objetivo general del nanodiagnóstico es la identificación de enfermedades en sus estadios iniciales mediante la utilización de nanodispositivos. Una identificación temprana permitiría una rápida capacidad de respuesta y la inmediata aplicación del tratamiento específico, ofreciendo así mayores posibilidades de recuperación al paciente. Estos métodos de diagnóstico se pueden utilizar *in vivo* o *in vitro*. El diagnóstico *in vivo* implica que los dispositivos puedan penetrar en el cuerpo humano para identificar y cuantificar la presencia de un determinado patógeno. Estas técnicas conllevan problemas de biocompatibilidad, además de requerir un diseño sofisticado para asegurar su funcionamiento y minimizar los posibles efectos secundarios. Por su parte, el diagnóstico *in vitro* ofrece una mayor flexibilidad, ya que se puede aplicar a pequeñas muestras de fluidos corporales o de tejidos, a partir de los cuales se obtiene una detección específica en tiempos muy cortos, con gran precisión y sensibilidad. Debido a estas diferencias fundamentales, se prevé que la detección *in vitro* usando dispositivos nanoestructurados llegue al mercado de una forma mucho más rápida y se pueda consolidar más fácilmente que los métodos *in vivo*.¹⁸ Uno de los sistemas de detección más desarrollados hasta la fecha se basa en el uso de nanopartículas, tales como puntos cuánticos (*Quantum Dots* en inglés), nanotubos de carbono o fullerenos, que se emplean como marcaje celular o para la identificación de tumores o zonas enfermas. Estas nanopartículas pueden decorarse en su superficie con unidades moleculares que interaccionen con una proteína o membrana celular, por lo que son extremadamente útiles como marcadores biológicos. Hoy en día es posible disponer de multitud de nanopartículas, con un excelente control de su tamaño y propiedades. Las nanopartículas normalmente no funcionan por sí mismas, es preciso una modificación química que les permita localizar la zona de

[18] D. Li, S. Song, C. Fan, *Acc. Chem. Res.* **2010**, *43*, 631.

actuación. Las nanopartículas deben portar especificidad frente a una diana terapéutica y propiedades ópticas o magnéticas, que generen una respuesta cuantificable para el diagnóstico.¹⁹

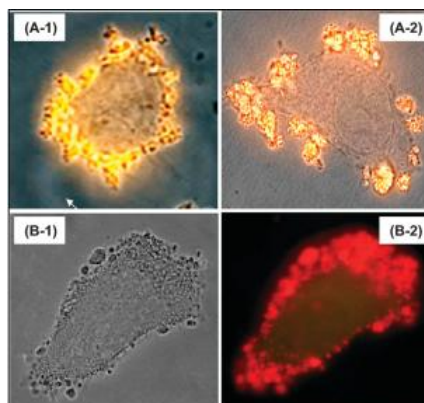


FIGURA 4. Quantum Dots (QD) de ZnS dopados con Mn y decorados en su superficie con ácido fólico, un receptor común para células cancerosas, con un tamaño medio de 4 nm. (A-1) y (A-2) muestran en amarillo los ZnS-QD unidos a los receptores de la membrana de la célula cancerosa de carcinoma de la línea celular KB. (B-1) Muestra ZnS-QD unidos a la membrana celular. (B-2) es la misma imagen mostrando la fluorescencia roja que presentan estas nanopartículas.

1.3.2. Nanopartículas y su uso terapéutico

Las nanopartículas, además de elementos de reconocimiento y diagnóstico, pueden usarse también como agentes terapéuticos. Una vez las nanopartículas reconocen el tejido enfermo, éstas pueden actuar de manera específica mediante la utilización de un estímulo externo. Un ejemplo sería utilizar nanopartículas magnéticas ancladas a los receptores que expresan las células cancerosas e inducir un calentamiento bajo un campo magnético de baja intensidad. Cuando la temperatura supera los 45°C, las proteínas se desnaturalizan irreversiblemente y las células cancerosas mueren por hipertermia, permaneciendo intactos los tejidos sanos circundantes. Con este tipo de tratamientos, más específicos, se evitarían los graves efectos secundarios de los tratamientos con radio y quimioterapia.²⁰ Otro tipo de mecanismo para provocar la destrucción de tejidos enfermos, virus o bacterias, es utilizar nanopartículas con unidades de reconocimiento molecular, que

[19] P. Wu, X.-P. Yan, *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 5489.

[20] S. Laurent, D. Forge, M. Port, A. Roch, C. Robic, L. V. Elst, R. N. Muller, *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 2064.

confieren la especificidad de unión, y que, además, incorporen un fotosensibilizador capaz de generar oxígeno singlete ($^1\text{O}_2$) en medios oxigenados. Esta especie de oxígeno especialmente reactivo, es capaz de destruir células, virus y bacterias por estrés oxidante. El oxígeno singlete generado reacciona rápidamente, oxidando las biomoléculas que encuentra en su camino, por lo que el daño oxidante se produce en lugares muy localizados, sin afectar a los tejidos sanos.²¹ En este tipo de tratamientos están tomando una importancia creciente los derivados de fullerenos, nanotubos de carbono, porfirinas y nanopartículas de oro funcionalizadas convenientemente.

1.3.3. Nanotecnología, encapsulación, reparto y liberación controlada de fármacos

En los últimos años, los materiales nanoestructurados²² y los materiales blandos como polímeros y geles,²³ así como moléculas individuales capaces de ensamblarse convenientemente en distintos medios,²⁴ según la polaridad o la afinidad con el medio circundante, están siendo ampliamente investigados. Estos sistemas son capaces de alojar dentro de su estructura fármacos convencionales, y transportarlos o liberarlos a lo largo del tiempo de forma controlada, o mejorar su biodisponibilidad dentro de un sistema vivo. De este modo, mejoran los resultados farmacológicos y farmacocinéticos, consiguiendo mejoras en sus propiedades, ADME (*Absorción, Distribución, Metabolismo y Excreción*).²⁵ Actualmente, existen productos farmacéuticos en el mercado basados en la nanotecnología, pero se debe avanzar en el ámbito de la nanotoxicología, una subdisciplina dentro de la nanociencia, que estudie y marque el camino para la regulación de los nuevos productos y materiales dentro de los sistemas biológicos. Los sistemas utilizados para el reparto de fármacos controlados son principalmente estudiados en tres niveles: 1) Nivel molecular, estudio de interacción con sistemas biológicos, 2) Diseño de partículas nanoestructuradas, 3) Estudio de la degradación, transporte y eficacia de los transportadores.

[21] R. Voggu, K. V. Rao, S. J. George, C. N. R. Rao, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 5560.

[22] Y. Tomonari, H. Murakami, N. Nakashima, *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 4027.

[23] R. Haag, F. Kratz, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 1198

[24] a) E. Soussan, S. Cassel, M. Blanzat, I. Rico-Lattes, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 274 ;

b) Y. Min, M. Akbulut, K. Kristiansen, Y. Golan, J. Israelachvili, *Nat. Mater.* **2008**, *7*, 527.

[25] I. V. Tetko, P. Bruneau, H. W. Mewes, D. C. Rohrer, G. I. Poda, *Drug. Discov. Today* **2006**, *11*, 700.

Los sistemas químicos utilizados para el transporte y liberación controlada de fármacos son:

- (a) Polímeros de alto peso molecular y agregados poliméricos en disoluciones, normalmente acuosas.
- (b) Adición de bloques de copolímeros o polímeros micelares, para promover el autoensamblaje y mejorar las propiedades del material.
- (c) Membranas artificiales, biológicas o biomiméticas, incluyendo el estudio de su estructura y la relación estructura-actividad.
- (g) Plata, oro y nanopartículas de metales, coloides y partículas con la superficie modificada químicamente. Materiales nanoporosos para la liberación controlada de fármacos.
- (h) Nanoestructuras de carbono, como fullerenos, nanotubos de carbono y grafeno. Estudio de su especial hidrofobicidad y tendencia a la agregación y capacidad para encapsular sustancias apolares.
- (i) Transportadores o moléculas biológicas funcionales modificadas químicamente, como ADN, con énfasis en cadenas de oligonucleótidos y proteínas. Aprovechamiento y modificación de las propiedades naturales que las biomoléculas presentan.

Investigación

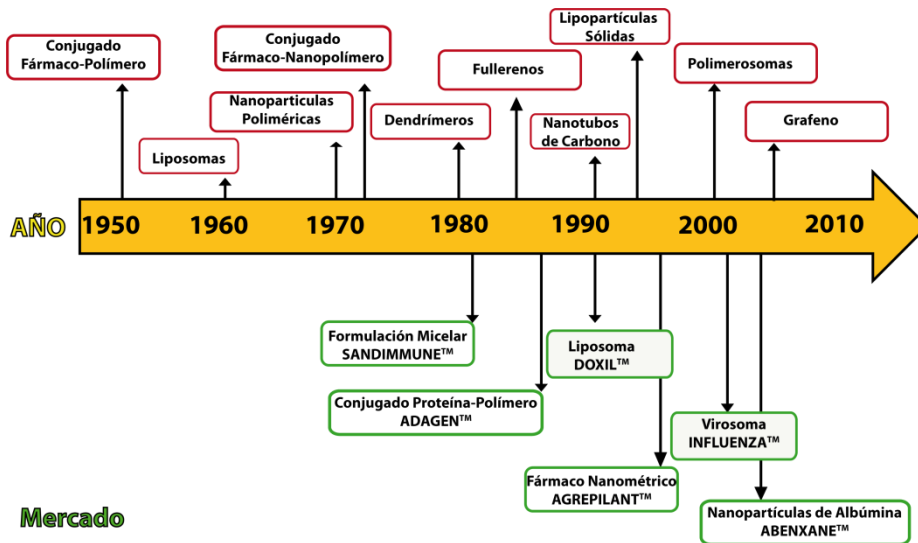


FIGURA 5. Línea temporal en investigación y salida al mercado de productos basados en nanotecnología para la liberación controlada de fármacos.

Las nanopartículas transportadoras de fármacos están muy influenciadas por su tamaño, forma y superficie. La cristalinidad y la superficie activa de los sistemas nanométricos puede hacer que la solubilidad en medios biológicos se

incremente o disminuya, así como que los parámetros fisicoquímicos cambien.²⁶ En el diseño de nanotransportadores de moléculas activas, hay que considerar los siguientes aspectos: deben ser biocompatibles, solubles o parcialmente solubles en medios acuosos e, idealmente, deben excretarse o metabolizarse sin metabolitos perjudiciales para el organismo. La nanociencia aplicada al transporte de fármacos no es una mera reducción de tamaño, es un cambio en cuanto a los conceptos clásicos de la química y la física.

1.3.4. Nanotecnología y medicina regenerativa

El estudio de las propiedades de autoensamblaje de numerosos sistemas ha dado lugar a múltiples formas de ensamblajes moleculares, vesiculares, micelares, planos, multilamelares y tubulares. En los últimos años, se están probando estos tipos de ensamblajes, especialmente los de tipo tubular, como soportes para maduración y crecimiento de células madres, junto con moléculas que inducen la diferenciación de éstas para reparar tejidos dañados y curar lesiones medulares o nerviosas.²⁷

[26] a) V. R. Devadasu, V. Bhardwaj, M. N. V. R. Kumar, *Chem. Rev.* **2013**, *113*, 1686; b) J. B. Matson, S. I. Stupp, *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 26.

[27] a) K. Sakurada, F. M. McDonald, F. Shimada, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 5718; b) M. J. Webber, J. Tongers, C. J. Newcomb, K.-T. Marquardt, J. Bauersachs, D. W. Losordo, S. I. Stupp, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2011**, *109*, 1.

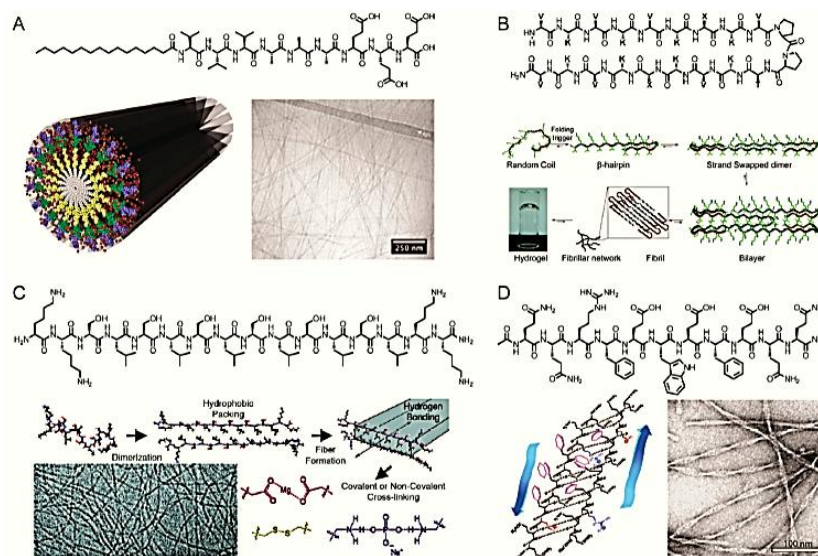


FIGURA 6. A) Representación de las nanofibras formadas por autoensamblaje de un pequeño péptido anfílico. Imagen de las nanofibras tomada por cryoTEM. B) Péptidos sintéticos con plegamiento intramolecular tipo β -hairpin (horquilla- β) y su modelo de plegamiento supramolecular para la formación de geles. C) Mecanismo de formación de estructuras fibrilares con capacidad para formar geles y su visualización por Cryo-TEM. D) Péptido sintético con capacidad de formar estructuras láminas- β y su imagen en TEM.

La síntesis química de geles artificiales para el crecimiento de células madres pluripotenciales, es un campo de aplicación de la química supramolecular, las nuevas técnicas de caracterización a escala nanométrica y las ciencias biológicas. En este campo multidisciplinar enfocado a la nanomedicina, se están dando resultados esperanzadores ante un conjunto de afecciones donde la medicina clásica no se ha demostrado eficaz. Se ha conseguido, mediante este tipo de procedimientos, la unión de axones nerviosos *in vitro* y la recuperación parcial de la movilidad en ratones con lesiones de médula.²⁸

1.3.5. Gliconotecnología, biomiméticos y vacunas artificiales

El desarrollo espectacular en los métodos de síntesis de carbohidratos en los últimos años, ha hecho que la glicoquímica se esté posicionando como una

[28] a) E. S. Fioretta, J. O. Fledderus, E. A. Burakowska-Meise, F. P. T. Baaijens, M. C. Verhaar, C. V. C. Bouten, *Macromol. Biosci.* **2012**, *12*, 577; b) G. Perale, F. Rossi, E. Sundstrom, S. Bacchiega, M. Masi, G. Forloni, P. Veglianese, *ACS Chem. Neurosci.* **2011**, *2*, 336; c) T. G. Kim, H. Shin, D. W. Lim, *Adv. Funct. Mater.* **2012**, *22*, 2446.

disciplina importante dentro de la química orgánica y biológica. Los carbohidratos son un grupo muy heterogéneo de moléculas, que poseen multitud de grupos funcionales y gran variabilidad estructural. Materiales naturales tan comunes como la madera, el exoesqueleto de los insectos y los cartílagos, están basados en carbohidratos. La variabilidad química de la que hacen gala los glicocompuestos es la que tradicionalmente ha retrasado el desarrollo de la glicoquímica hasta muy recientemente, pese a que este tipo de moléculas eran conocidas desde los albores de la química orgánica. Es hoy día cuando la comprensión de las funciones que los carbohidratos desempeñan en los sistemas biológicos, el control de la reactividad química, y la unión con la nanotecnología hacen de la glicotecnología una de las diez ramas científico-técnicas con más proyección de futuro según el MIT.

Los nuevos materiales basados en carbohidratos, tienen multitud de aplicaciones, que van desde la inhibición de enzimas, nuevos biomiméticos para la interacción con glicoproteínas por interacción multivalente y síntesis de vacunas artificiales. También estos nuevos materiales son ideales para agentes de contraste en imagen molecular en radiofarmacología,²⁹ y como biosensores de glicoproteínas y lectinas, con lo que se podrían detectar enfermedades antes de que se manifestasen los primeros síntomas.³⁰ La naturaleza ha elegido los carbohidratos como las moléculas responsables de interaccionar de una manera débil, pero altamente específica con multitud de proteínas y glicoproteínas. Esta forma débil de interacción es compensada por un equilibrio más o menos dinámico y lábil de muchas de estas interacciones débiles que tienen lugar simultáneamente. En la interacción multivalente, una primera interacción favorece las sucesivas, con lo que se consigue un aumento exponencial de la afinidad, y no lineal, con el número de unidades interaccionantes.³¹ Este tipo de interacción es conocida como multivalencia y es responsable de mediar las interacciones biomoleculares que tienen lugar en multitud de procesos biológicos de relevancia, como los procesos de reconocimiento molecular y

[29] a) A. Irure, M. Marradi, B. Arnaiz, N. Genicio, D. Padro, S. Penades, *Biomater. Sci.* **2013**; b) K. El-Boubbou, D. C. Zhu, C. Vasileiou, B. Borhan, D. Prosperi, W. Li, X. Huang, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 4490.

[30] R. Jelinek, S. Kolusheva, *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 5987.

[31] a) C. Fasting, C. A. Schalley, M. Weber, O. Seitz, S. Hecht, B. Kokschi, J. Dervedde, C. Graf, E.-W. Knapp, R. Haag, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 10472; b) M. Mammen, S.-K. Choi, G. M. Whitesides, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 2754.

celular implicados en procesos inmunológicos, de inflamación y de señalización celular.

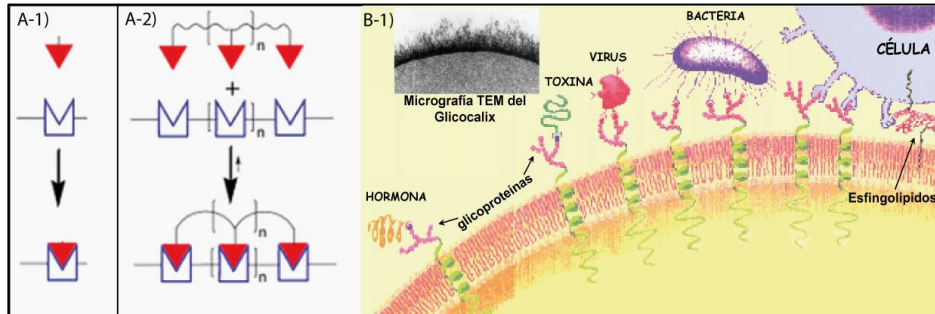


FIGURA 7. A-1) Representación de la interacción de un ligando y receptor monovalentes. A-2) Interacción de un ligando y un receptor multivalentes. B-1) Detalle de una micrografía del glicocalix tomada con TEM. Representación de interacciones de tipo multivalente en una célula.

Las nanopartículas basadas en carbohidratos idealmente deberían cumplir con ciertas características deseables:

- (a) Estructura química definida.
- (b) Modificación química sencilla y versátil del bloque de construcción molecular para agregar funcionalidades adicionales.
- (c) Bio-ortogonal, es decir, compatible con un entorno biológico.
- (d) Biodegradable, o bien que se metabolice sin subproductos tóxicos y sea fácil de excretar del organismo.
- (e) Diseño preorganizado para interacción óptima con el receptor.
- (f) En caso de no conocerse la estructura exacta del receptor, o si este tiene movilidad en la bicapa lipídica de la célula, la nanopartícula debería presentar los ligandos de forma isotrópica en el espacio, para aumentar la probabilidad de interacción.

Las nanopartículas de metales, magnéticas y las nanoformas de carbono están siendo utilizadas como plataformas para ser funcionalizadas con glicanos. Estas nuevas plataformas, por sí solas, en ausencia de funcionalización, suelen comportarse como agentes tóxicos y tienden a bioacumularse. Pero cuando su superficie es modificada químicamente añadiendo grupos biocompatibles, como los glicanos, su solubilidad en medios biológicos se incrementa, y su toxicidad se reduce o desaparece.

La importancia de la interacción de los biomiméticos y nanopartículas que presentan glicanos en su superficie con lectinas o glicoproteínas empezó a

vislumbrarse ya desde que se sintetizó el primer dendrón de carbohidratos, con núcleo formado de L-Lisina como plataforma, para inhibir la actividad del virus de la gripe, utilizando ensayos de hemaglutinación.³² Algunas de estas glicoproteínas no tienen una función inmunológica, pero otras están relacionadas con el reconocimiento de patógenos bacterianos y virales. El diseño racional de estas nanopartículas y de los carbohidratos que están presentes en su superficie es un parámetro crítico, puesto que unos pocos glicanos pueden desencadenar multitud de procesos biológicos, pero si éstos se disponen sobre una nanopartícula con tamaño y forma controlados, se podrá modular la interacción con el receptor celular que se tiene como diana terapéutica.

[32] a) R. Roy, D. Zanini, S. J. Meunier, A. Romanowska, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1993**, 1869 ; b) N. C. Reichardt, M. Martín-Lomas, S. Penadés, *Chem. Soc. Rev.* **2013**, 42, 4358

Capítulo 1

ANTECEDENTES

Desde su descubrimiento en 1985, el buckminsterfullereno C₆₀, conocido posteriormente simplemente como fullereno C₆₀, la tercera forma alotrópica del carbono, ha suscitado un enorme interés en diferentes áreas. Una vez se desarrollaron nuevos métodos de síntesis que permitieron obtener fullerenos en escala multigramo, el estudio más profundo de sus propiedades comenzó a llevarse a cabo. Una de las primeras propiedades en estudiarse fue su solubilidad, siendo la única forma alotrópica del carbono soluble en disolventes orgánicos. Sin embargo, su solubilidad en disolventes polares, especialmente en medios acuosos, es muy reducida o nula, lo que limita enormemente el estudio de sus propiedades biológicas.³³

2.1. Fullerenos solubles en medios polares y acuosos

Existen tres técnicas para conseguir solubilizar fullerenos en medios polares o acuosos.

- a) Solubilización por encapsulación o microencapsulación en transportadores adecuados.
- b) Suspensiones estables en mezclas de disolventes.
- c) Modificación química covalente del fullereno, añadiendo nuevos grupos funcionales.

2.1.1. Encapsulación supramolecular

Los fullerenos pueden ser solubilizados en medios polares, incluso en agua, mediante complejación supramolecular con calixarenos³⁴ y ciclodextrinas.³⁵ Estos complejos supramoleculares tienen como fuerza motriz un conjunto de interacciones solvofílicas y solvofóbicas, dentro de un sistema trifásico compuesto por un disolvente polar, un receptor con exterior hidrófilo y una cavidad apolar donde se alojará el huésped.

[33] T. D. Ros, M. Prato, *Chem. Commun.* **1999**, 663.

[34] a) J. L. Atwood, G. A. Koutsantonis, C. L. Raston, *Nature* **1994**, 368, 229; b) T. Suzuki, K. Nakashima, S. Shinkai, *Chem. Lett.* **1994**, 699.

[35] a) T. Anderson, K. Nilsson, M. Sundahl, G. Westman, O. Wennerstrom, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1992**, 604; b) N. Martin, *Chem. Commun.* **2013**, 49, 1039.

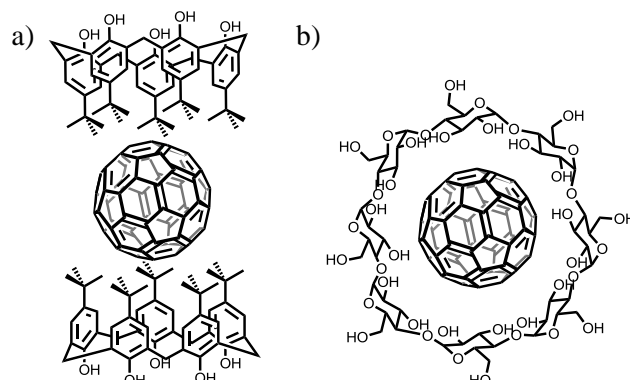


FIGURA 8. a) Complejo supramolecular con estequiometría 2:1 formado por una unidad de C₆₀ y dos moléculas de calixareno que presenta solubilidad en disolventes próticos y acuosos. b) Vista superior de un complejo supramolecular de estequiometría 1:1 γ -CD-C₆₀, donde se aprecia la ocupación por parte del huésped de la cavidad hidrofóbica interna de la γ -CD.

Estas técnicas de solubilización de fullerenos con receptores específicos de C₆₀ o C₇₀ pueden complementarse con otras técnicas más generales, como el uso de surfactantes, polímeros anfifílicos, polímerosomas o moléculas capaces de formar sistemas coloidales, solubilizar y organizar fullerenos incluso en disolución mediante interacciones solvofóbicas entre el fullereno y estos sistemas coloidales.³⁶

2.1.2. Suspensiones estables usando codisolventes

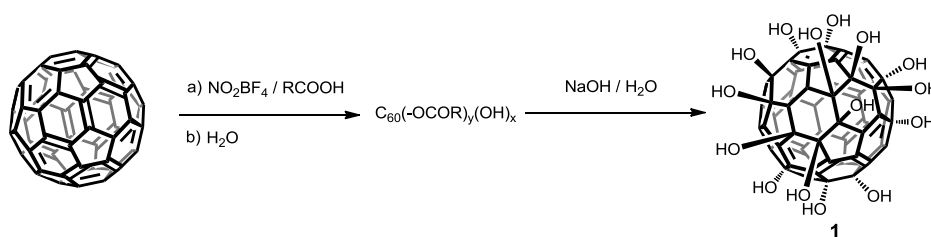
Posiblemente la forma más sencilla de disolver fullerenos en medios acuosos sea la técnica que utiliza un codisolvente orgánico miscible con el agua y, a su vez, también miscible con el disolvente orgánico primario que tiene disuelto el fullereno. Las suspensiones de fullereno pueden prepararse de manera sencilla, desde una disolución de tolueno o benceno saturada de C₆₀. Esta disolución se vierte gota a gota sobre un disolvente orgánico miscible con el agua, sobre la que posteriormente se añade lentamente acetona y una cantidad conocida de agua, obteniéndose una suspensión estable. Finalmente, pueden evaporarse los disolventes orgánicos y obtenerse una suspensión de fullereno en agua.³⁷

[36] M. Schulz, A. Olubummo, W. H. Binder, *Soft Matter* **2012**, 8, 4849.

[37] R. S. Ruoff, D. S. Tse, R. Malhotra, D. C. Lorents, *J. Phys. Chem.* **1993**, 97, 3379.

2.1.3. Modificación química covalente de fullerenos

Unos de los primeros derivados de fullereno solubles en agua que fueron descritos, fueron los llamados fullerenoles. Estos derivados tienen una estructura poco estudiada y no muy bien definida, ya que suelen presentarse como mezclas complejas de regioisómeros. Los fullerenoles tienen fórmulas empíricas del tipo $C_{60}(OH)_n$ donde n es un número variable de restos hidroxilados, que comúnmente se encuentra entre $n = 12 - 44$. Este tipo de compuestos son sintetizados a partir de fullereno en presencia de un electrófilo fuerte y posterior hidrólisis en medio básico (Esquema 1).³⁸



ESQUEMA 1. Síntesis de fullerenoles mediante el empleo de un electrófilo fuerte y posterior hidrólisis básica.

Otro método descrito por Zhu y col.³⁹ utilizado para la síntesis de fullerenoles es la reacción directa entre fullereno y potasio metálico fundido a reflujo de tolueno y posterior tratamiento con agua. Estos polihidroxifullerenos presentan una solubilidad muy alta en disolventes polares y en medios biológicos (Figura 9). Además de la elevada solubilidad, presentan muy baja toxicidad en sistemas celulares vivos y son fácilmente excretables.

[38] L. Chiang, R. Upasani, J. Seirczewski, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 10154.

[39] J.-M. Zhang, W. Yang, P. He, S.-S. Zhu, *Chin. J. Chem.* **2004**, *22*, 1008.

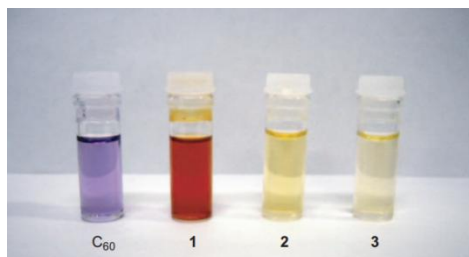


FIGURA 9. Diferentes colores de varios fullerenos 1-3, con distintos grados de hidroxilación y de hidratación. C_{60} en tolueno, (1) $C_{60}(OH)_{12}$ en 1,4-dioxano, (2) $C_{60}(OH)_{36} \cdot 8H_2O$ en agua, (3) $C_{60}(OH)_{40} \cdot 9H_2O$ en agua.

Otra aproximación válida para conseguir fullerenos solubles en agua es unir químicamente estructuras con un elevado número de grupos funcionales hidrófilos o polares en la periferia de los fullerenos. Normalmente, una pequeña modificación química de un fullereno suele incrementar notablemente la solubilidad en disolventes orgánicos en los que normalmente los fullerenos sin funcionalizar no son solubles, como DCM, éteres como el THF o disolventes como acetona o acetato de etilo. Sin embargo, cuando se quieren obtener solubilidades elevadas en agua, es necesario dotar al fullereno de un alto número de grupos polares hidrosolubles. Por este motivo, las unidades dendriméricas con grupos funcionales polares e hidrófilos tienen mucha importancia cuando se trata de solubilizar fullerenos en medios acuosos, ya que su estructura arborescente permite alojar multitud de grupos funcionales terminales en todas las direcciones del espacio, consiguiendo así maximizar la interacción con el disolvente y compensando las interacciones solvofóbicas que se producen entre el disolvente y las unidades de fullereno. Una de estas primeras estructuras híbridas, el dendrofullereno **2**, fue sintetizada ya en 1998 por Hirsch y col.⁴⁰

[40] M. Brettreich, A. Hirsch, *Tetrahedron Lett.* **1998**, 39, 2731.

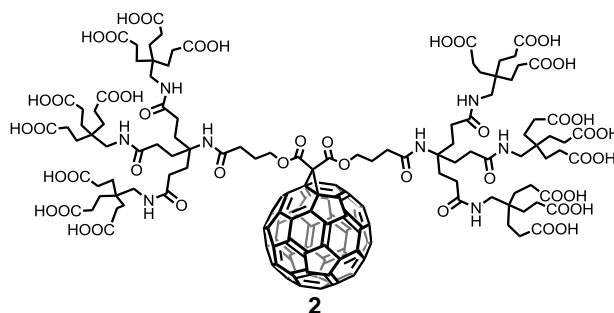


FIGURA 10. Estructura del dendrofullereno **2**.

El compuesto **2** es un fullereno que sólo posee un doble enlace funcionalizado, pero que contiene un total de 18 grupos carboxílicos, lo que hace que su solubilidad en agua pueda modularse con facilidad cambiando el pH. La solubilidad de **2** en medios acuosos es de 34 mg/mL a pH fisiológico de 7.4 y de 254 mg/mL cuando el pH se incrementa hasta 10.

En otro tipo de compuestos de fullereno solubles en agua, se opta por la funcionalización intensiva de la propia estructura del C₆₀, obteniéndose poliadiciones al fullereno y saturando más de un doble enlace. En esta categoría de productos se encuentra la sal de pirrolidinio **4** (Figura 11) que presenta buena solubilidad en agua y unas interesantes propiedades biológicas que se estudiarán con más detalle más adelante.³³

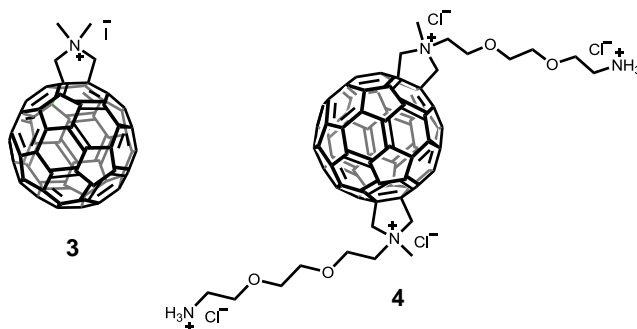


FIGURA 11. Estructuras de las sales de pirrolidinio **3** y **4**.

Las sales de pirrolidinio **3** y **4** presentan una solubilidad alta en medios biológicos, con independencia del valor de pH del medio. Este tipo de compuestos se sintetizan fácilmente en un solo paso de reacción, partiendo del C₆₀, mediante una reacción de cicloadición 1,3-dipolar y posterior tratamiento

con un electrófilo para obtener la sal de amonio cuaternaria correspondiente. Las sales de pirrolidinio se han utilizado con multitud de propósitos en química médica de fullerenos, desde inhibidores de la HIV-proteasa, hasta vectores para el transporte de genes, o moléculas biomiméticas de las histonas o virus.⁴¹

Otra aproximación para disolver fullerenos en medios acuosos y estudiar sus propiedades, es unirlos covalentemente a biomoléculas. Estas biomoléculas pueden ser ácidos nucleicos, proteínas, carbohidratos, esteroides, etc... Algunos ejemplos representativos de este tipo de moléculas son los derivados de fullereno que poseen una pequeña cadena de nucleótidos usada como unidad de reconocimiento para una cadena de ADN determinada (Figura 12). Es, además, conocido que las unidades de C₆₀ tienden a reconocer grupos de cuatro guaninas (G-Quadruplex) dentro de una cadena de ADN,⁴² por lo que uniendo covalentemente unidades de nucleótidos y otras subunidades de reconocimiento de bases, puede obtenerse un derivado soluble capaz de interaccionar selectivamente con el material genético.

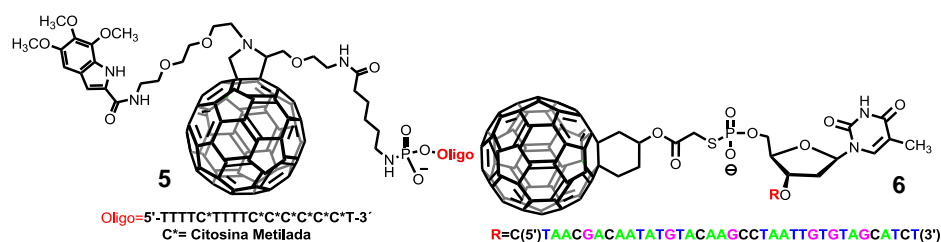


FIGURA 12. Estructuras de los compuestos 5 y 6.

La molécula **5**, sintetizada por Prato y *col.*⁴³ incorpora en la misma molécula cadenas de etilenglicol para facilitar la solubilidad del compuesto, además de 3 unidades de reconocimiento de bases para el ADN. El grupo trimetoxiindol es una unidad que reconoce eficazmente, en la secuencia de nucleótidos, zonas ricas en nucleótidos adenina y timina. Otra subunidad de reconocimiento es el propio fragmento de C₆₀, que reconoce zonas en la cadena de ADN ricas en

[41] E. Nakamura, H. Isobe, *Chem. Rec.* **2010**, *10*, 260.

[42] a) A. S. Boutorine, H. Tokuyama, M. Takasugi, H. Isobe, E. Nakamura, C. Helene, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1994**, *33*, 2462; b) Y. Z. An, C. H. B. Chen, J. L. Anderson, D. S. Sigman, C. S. Foote, Y. Rubin, *Tetrahedron* **1996**, *52*, 5179.

[43] a) M. Bergamin, T. D. Ros, G. Spalluto, A. Boutorine, M. Prato, *Chem. Commun.* **2001**, 17; b) T. D. Ros, M. Bergamin, E. Vazquez, G. Spalluto, B. Baiti, S. Moro, A. Boutorine, M. Prato, *Eur. J. Org. Chem.* **2002**, 405.

guanina (G-Quadruplex). Por otra parte, la molécula **5**, posee una secuencia de nucleótidos compuesta por timina y citosina metilada, que da especificidad en la interacción con una hebra complementaria, además de una solubilidad en medios acuosos, acorde con un derivado de tipo polinucleótido.

La interacción del compuesto **6** por tanto, con una secuencia complementaria se une a la región complementaria del ADN y lo fragmenta empleando luz en medios oxigenados. La fragmentación se produce en zonas ricas en guanina, ya que el propio sensibilizador para la producción de oxígeno singlete (la unidad de C_{60}), reconoce estas zonas ricas en guanina.

Otro tipo de biomoléculas unidas a fullerenos han sido péptidos y oligopéptidos, con el propósito, no sólo de conseguir fullerenos solubles en medios acuosos con potencial interés en química médica o nanomedicina, sino también como una forma de aprovechar el plegamiento natural inducido por la secuencia de aminoácidos para el ordenamiento de fullerenos y otras fases electroactivas en química de materiales.⁴⁴

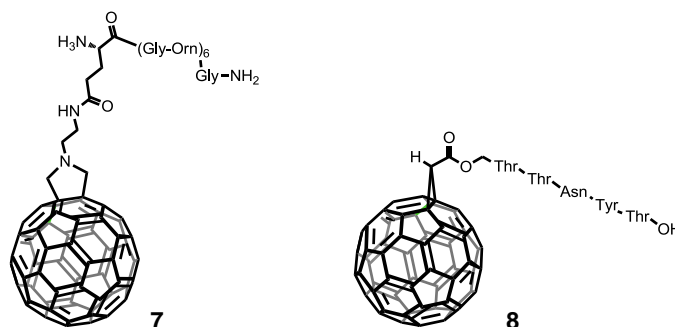


FIGURA 13. Estructura de los compuestos **7** y **8**.

Las moléculas **7** y **8**, son fullerenos funcionalizados con péptidos. Debido a esta modificación, estos derivados presentan una muy alta solubilidad en medios acuosos. El compuesto **7** tiene una especial actividad antibacteriana que el péptido por sí solo no presenta.⁴⁵ El derivado **8**, funcionalizado

[44] R. J. Brea, L. Castedo, J. R. Granja, M. Á. Herranz, L. Sánchez, N. Martín, W. Seitz, D. M. Guldi, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2007**, *104*, 5291.

[45] D. Pantarotto, A. Bianco, F. Pellarini, A. Tossi, A. Giangaspero, I. Zelezetsky, J. P. Briand, M. Prato, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 12543.

principalmente con aminoácidos hidrofóbicos, derivados del péptido T, se mostró como un inhibidor de la HIV-proteasa, y la actividad de inhibición de la entrada en los linfocitos T permaneció prácticamente intacta comparada con el péptido T sin funcionalizar con fullereno, obteniendo así un potencial fármaco de acción dual contra el virus del SIDA.

Otro tipo de estructuras pertenecientes a la química de la vida, que se han unido covalentemente al fullereno son los esteroides, incluso con control de la estereoquímica, como en el derivado **9**. Es importante el control de la quiralidad de los derivados de fullereno unidos covalentemente a biomoléculas, con el fin de entender la distinta actividad biológica que pudieran presentar estos estereoisómeros.⁴⁶ Los esteroides muestran actividades biológicas de muy distinta índole, desde fungicidas, hasta reguladores de la presión arterial, pasando por propiedades antiinflamatorias, debido a su capacidad de bloquear los canales de Ca^{2+} de tipo L. Por ello, el estudio de estas moléculas enantioméricamente puras unidas a un grupo voluminoso como el C_{60} , puede proporcionar interesantes propiedades biológicas, así como una mayor selectividad frente a este tipo de canales iónicos.

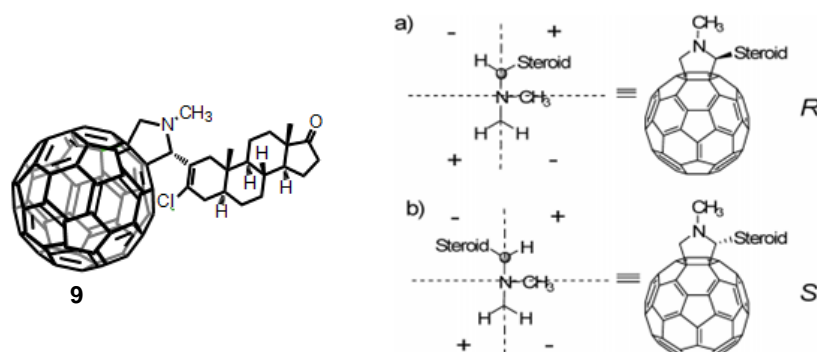
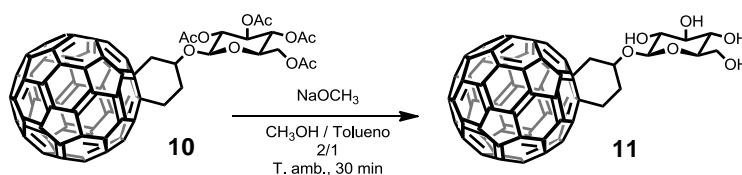


FIGURA 14. Estructura de la molécula **9** correspondiente al enantiómero S. En a) y b) se muestra la regla del sector para la asignación de la configuración absoluta del carbono quiral. Con la regla del sector se puede prever si la señal dicroica es positiva o negativa y distinguir de qué estereoisómero se trata.

[46] a) A. Ruiz, J. Coro, L. Almagro, J. A. Ruiz, D. Molero, E. E. Maroto, S. Filippone, M. Á. Herranz, R. Martínez-Álvarez, J. C. Sancho-García, F. D. Meo, M. Suárez, N. Martín, *J. Org. Chem.* **2013**, 78, 2819; b) D. MacFarland, J. Zhang, Z. Zhou, R. P. Lenk, S. R. Wilson, *U.S. Pat. Appl. US.* **2008**, 20080214514 A1 20080904.

Los fullerenos unidos covalentemente a carbohidratos están mostrándose en los últimos años como un tipo de compuestos muy atractivos con numerosas propiedades biológicas. La función de los carbohidratos en la biología es objeto de una investigación muy intensa en los últimos años. La comprensión de las implicaciones de las interacciones entre carbohidratos y los sistemas vivos abre numerosas posibilidades para la obtención de nuevos fármacos, vacunas y adyuvantes en inmunología. Los carbohidratos son una de las biomoléculas que más grupos funcionales polares e hidrófilos aporta por átomo de carbono, lo que es muy útil para conseguir glicofullerenos solubles en agua. En la mayoría de estos compuestos, el carbohidrato requiere ser conjugado con el fullereno con sus grupos hidroxilo protegidos.

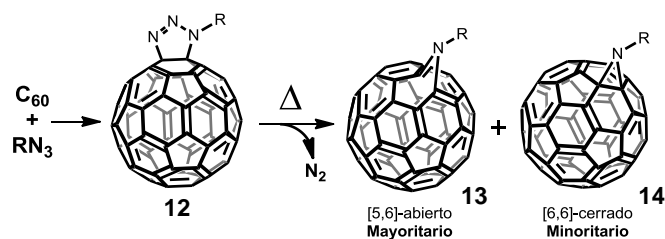
En química de fullerenos hay que tener en cuenta la muy distinta naturaleza de los disolventes compatibles con fullereno y con los carbohidratos con sus grupos hidroxilo libres. La funcionalización química con grupos protectores mejora la solubilidad de los azúcares en disolventes apolares, consiguiendo así una compatibilidad del derivado de fullereno y del carbohidrato protegido en el mismo disolvente. Un ejemplo de este tipo de aproximación para conseguir glicofullerenos es la síntesis del derivado **10** y posterior hidrólisis para desproteger y obtener la molécula **11** con los grupos hidroxilo libres.⁴⁷



ESQUEMA 2. Desprotección del glicofullereno acetilado **10**, para obtener el compuesto **11**.

Existen otros procedimientos en los que la biomolécula puede conjugarse directamente con el C₆₀, sin necesidad de modificación química de este. Como ejemplo tenemos la adición de azidas a temperaturas moderadas o altas, un ejemplo de cicloadición [3+2].

[47] S. Tanimoto, S. Sakai, S. Matsumura, D. Takahashi, K. Toshima, *Chem. Commun.* **2008**, 5767.



ESQUEMA 3. Esquema general para la cicloadición de azidas al [60]-fullereno.

La adición de azidas orgánicas al C_{60} a 60-80°C conduce a la formación de un aducto de tipo triazolina **12** sobre un enlace [6,6] del fullereno. Cuando la temperatura se incrementa, el anillo de triazolina se vuelve inestable y se produce una extrusión de N_2 , formándose un intermedio de tipo nitreno. Durante la extrusión de nitrógeno, el intermedio formado es muy voluminoso e impide la adición [6,6] favoreciendo la adición sobre el enlace [5,6], por lo que se obtiene el producto [6,6]-cerrado con rendimientos inferiores al 10%. En cambio, cuando se usa la reacción directa de un nitreno sobre el C_{60} , sin formación inicial del derivado de triazolina, la reacción solo tiene lugar sobre el enlace [6,6], en lo que se podría considerar una cicloadición [2+1] de inserción de nitreno. Las reacciones de cicloadición usando azidas son un buen método para la obtención de fullerenos altamente funcionalizados. Es incluso factible obtener la adición de dos moléculas de azida de manera regioselectiva si la temperatura de reflujo en la reacción es lo suficientemente alta.

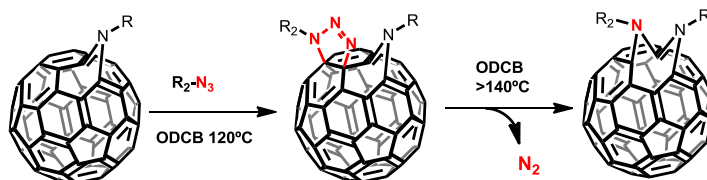


FIGURA 15. El mecanismo propuesto para la adición de la segunda azida al enlace [5,6] es análogo al de la primera adición. Se obtiene mayoritariamente un bisaducto, donde los anillos de aziridina se forman sobre dos enlaces [5,6] contiguos. El rendimiento de la segunda adición es modesto, alrededor de un 15-20% respecto al monoadducto obtenido.⁴⁸

[48] T. Grosser, M. Prato, V. Lucchini, A. Hirsch, F. Wudl, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1995**, *34*, 1343.

Un ejemplo representativo de este tipo de moléculas es el glicofullereno **15**, sintetizado por Hirsch y *col.* en 2007, mostrado en la Figura 16.⁴⁹

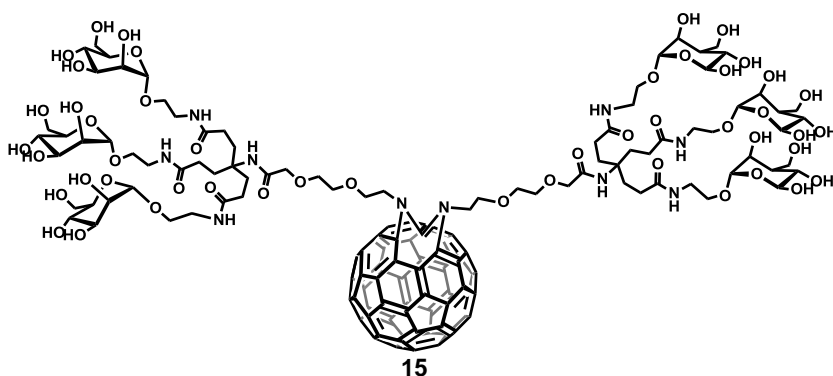


FIGURA 16. Estructura del derivado 15.

Este procedimiento de funcionalización mediante la formación de un puente de tipo aza con expansión de anillo sobre el fullereno, es muy atractivo desde el punto de vista de la simplicidad química, pues se pueden preparar azidas orgánicas a partir de casi cualquier buen grupo saliente con una reacción de sustitución nucleófila con azida sódica, y la reacción con el fullereno es directa. En cambio, este tipo de reacciones tienen lugar a muy altas temperaturas, por lo que no todos los sustratos son válidos y, en muchas ocasiones, es indispensable el uso de grupos protectores, como es el caso de los azido derivados de azúcares.

2.1.4. “Click Chemistry” sobre fullerenos y otras nanoformas del carbono

El término “Click Chemistry” fue acuñado por primera vez en 2001 por el Profesor y Premio Nobel de Química K. B. Sharpless para definir metodologías sintéticas eficaces y selectivas para la fabricación de estructuras complejas vía enlaces C-heteroátomo,⁵⁰ tras el descubrimiento de que la reacción de cicloadición entre azidas y alquinos descrita por Huisgen⁵¹ por vía térmica podía ser catalizada por Cu (I) a temperatura ambiente y con la obtención de un solo regioisómero, una reacción tremendamente versátil.

[49] H. Kato, C. Böttcher, A. Hirsch, *Eur. J. Org. Chem* **2007**, 2659.

[50] H. C. Kolb, M. G. Finn, K. B. Sharpless, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, 40, 2004.

[51] R. Huisgen, *1,3-Dipolar Cycloadditional Chemistry* **1984**, (Ed. A. Padwa), Wiley, New York.

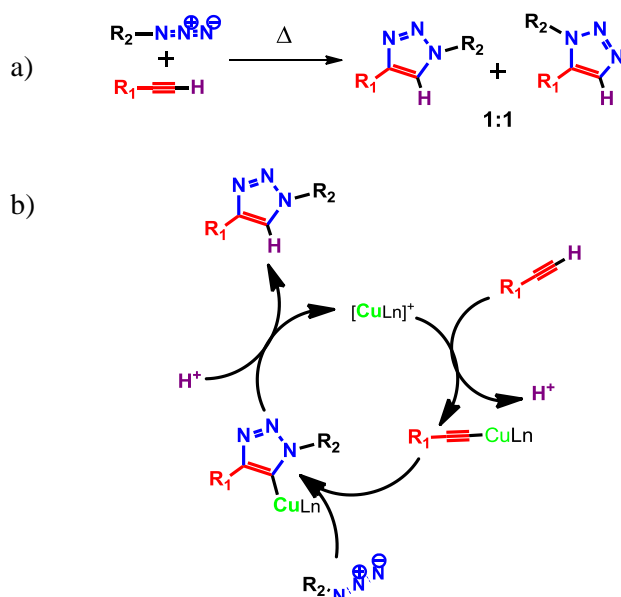
Las reacciones tipo “Click” deben presentar alguna de las siguientes características:

- a) Reacciones de cicloadición como las 1,3-dipolares, o las cicloadiciones [4+2] como las hetero Diels-Alder.
- b) Reacciones capaces de formar anillos, normalmente heterocíclicos, como epóxidos, aziridinas, etc...
- c) Deben ser fáciles de realizar, con pocos reactivos, o únicamente con luz y sencillas desde el punto de vista experimental.
- d) Deben ser tolerantes a una amplia variedad de grupos funcionales y condiciones de reacción.
- e) Altamente selectivas, sin posibles reacciones colaterales y regioespecíficas.
- f) Deben dar lugar a la formación del producto de reacción de forma cuantitativa.
- g) Presentar tolerancia, al menos moderada, al oxígeno y al agua.
- h) Aislamiento fácil del producto.

Ninguna reacción de las consideradas tipo “Click” cumple todas estas características, pero muchas de estas reacciones han conseguido influir, en los últimos años, y de manera muy notable, en campos como la biología, la bioquímica y la química de nuevos materiales, y han permitido la obtención de grandes librerías de compuestos para la industria farmacéutica.

2.1.4.1. Uso de la reacción de cicloadición 1,3-dipolar catalizada por cobre.

La reacción tipo “Click” más conocida y utilizada en la actualidad es la cicloadición 1,3-dipolar catalizada por cobre entre azidas y alquinos (CuAAC).



ESQUEMA 4. Esquema general de las cicloadiciones 1,3-dipolares entre azidas y alquinos. a) Se muestra la variante clásica, en la que por vía térmica se obtienen dos regioisómeros en una mezcla equimolar. b) Ciclo catalítico de la versión catalizada por Cu (I), (CuAAC) desarrollada por K. B. Sharpless. La reacción tiene lugar a temperatura ambiente, y se acelera un millón de veces con respecto a la versión clásica no catalítica, y con rendimientos mucho mayores. Esta reacción produce un solo regioisómero, el correspondiente al triazol 1,4-disustituido.

Esta metodología sintética es compatible con casi cualquier grupo funcional y con todos los disolventes de uso común en un laboratorio de síntesis. Además, permite mezclas de disolventes, incluso mezclas bifásicas con agua.⁵² La reacción es altamente selectiva, termodinámicamente muy favorable y la formación de un anillo aromático muy estable hace de esta reacción una herramienta inmejorable para la bioconjugación y la funcionalización específica, de manera rápida, sencilla y con rendimientos muy elevados. Siguiendo la metodología de este tipo de reacciones “Click” se ha conseguido la unión covalente entre sistemas de muy distinta naturaleza, como son las

[52] a) F. Himo, T. Lovell, R. Hilgraf, V. V. Rostovtsev, L. Noodleman, K. B. Sharpless, V. V. Fokin, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 210; b) V. V. Rostovtsev, L. G. Green, V. V. Fokin, K. B. Sharpless, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2596.

partículas virales o cápsides de virus y derivados de fullereno, como las descritas en 2009 por Finn y Manchester en la Figura 17.⁵³

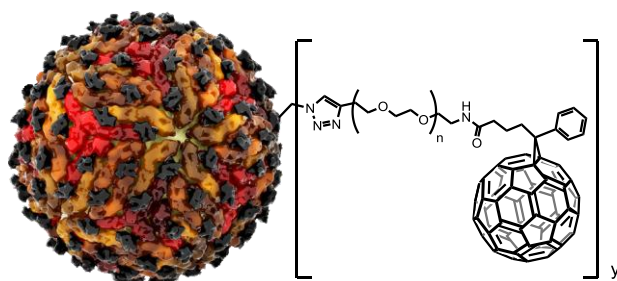


FIGURA 17. Muestra la unión covalente entre la cápside del virus bacteriófago Q β de simetría icosaédrica de 30 nm de diámetro. Se llevó a cabo utilizando una metodología clásica de “Click Chemistry”. Con este tipo de sistema se quiso verificar si la unión covalente del fullereno a una cápside viral mejora la internalización de las unidades de C₆₀ en las células cancerosas para su uso en terapia fotodinámica.

Las cicloadiciones catalizadas por cobre entre alquinos y azidas han sido utilizadas también en la modificación química de nanotubos de carbono (CNTs) y, más recientemente, se han usado sobre el grafeno (Figura 18 y Figura 20). Este tipo de metodología permite obtener nanotubos de carbono y grafeno funcionalizados con biomoléculas, que mejoran muy notablemente su biocompatibilidad y su solubilidad, pudiéndose obtener suspensiones estables en disoluciones acuosas.

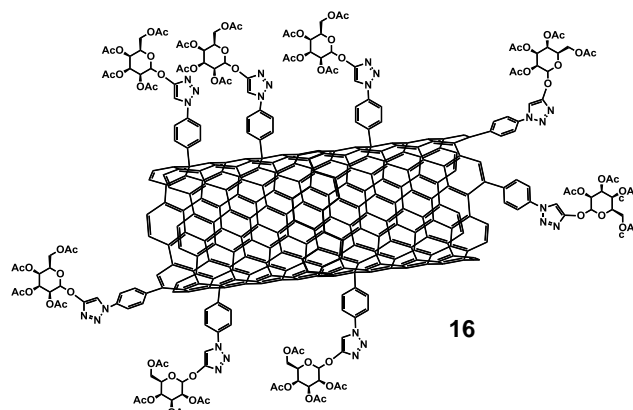


FIGURA 18. Nanotubo funcionalizado 16.

[53] N. F. Steinmetz, V. Hong, E. D. Spoeke, P. Lu, K. Breitenkamp, M. G. Finn, M. Manchester, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 17093.

El nanotubo funcionalizado con carbohidratos protegidos **16** puede ser obtenido en tan solo dos pasos sintéticos. Una vez se ha conseguido que los grupos azida queden unidos covalentemente a la superficie del nanotubo, mediante una reacción de Tour⁵⁴ en condiciones clásicas, se lleva a cabo la reacción de cicloadición con los azúcares funcionalizados con grupos alquino. Tras una hidrólisis en medio ácido, se obtiene el análogo desprotegido de **16**.⁵⁵

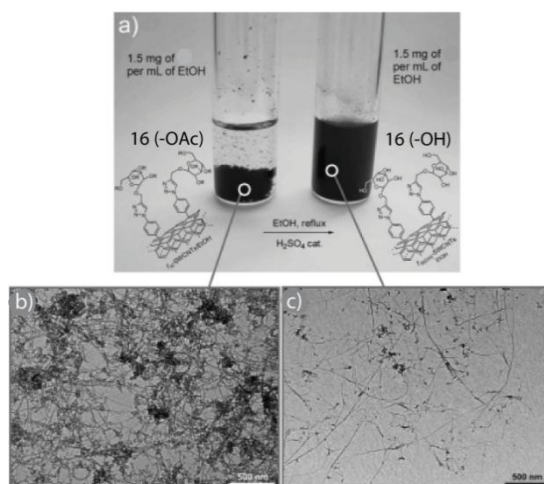


FIGURA 19. a) Se muestra el derivado **16** con los grupos hidroxilo de los carbohidratos acetilados, y el derivado **16** tras el tratamiento para la desprotección, con los grupos hidroxilo desprotegidos, se consigue una suspensión estable en EtOH. b) Micrografía TEM donde se aprecia la formación de manojos o *bundles* y agregados de nanotubos. c) La micrografía TEM muestra una mayor dispersión de los nanotubos con los carbohidratos con los hidroxilos libres.

De modo análogo, pueden obtenerse grafeno o derivados del grafeno, como el óxido de grafeno, funcionalizados con alquinos terminales o azidas en su superficie, que son susceptibles de funcionalización posterior usando protocolos clásicos de la reacción tipo “Click” (CuAAC). Las láminas de grafeno también tienen una enorme tendencia a la agregación debido a las interacciones π - π entre láminas, por lo que muchas de las propiedades que poseen las láminas individuales se ven modificadas. Por ello, la modificación con grupos funcionales que aporten solubilidad al grafeno es esencial, y las

[54] a) C. D. Doyle, J. M. Tour, *Carbon* **2009**, *47*, 3215 ; b) C. A. Dyke, J. M. Tour, *Nano Lett.* **2003**, *3*, 1215 ; c) C. A. Dyke, J. M. Tour, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 1156 ; d) J. L. Bahr, J. M. Tour, *Chem. Mater.* **2001**, *13*, 3823

[55] G. Tuci, C. Vinattieri, L. Luconi, M. Ceppatelli, S. Cicchi, A. Brandi, J. Filippi, M. Melucci, G. Giambastiani, *Chem. Eur. J.* **2012**, *18*, 8454.

técnicas de “Click Chemistry” se muestran como una herramienta tremendamente eficaz en este sentido. Siguiendo el procedimiento de adición de una sal de arenoDíazonio descrito por Tour y col.⁵⁴ y una posterior reacción de cicloadición 1,3-dipolar catalizada por cobre, se obtiene el derivado de grafeno (**17**).

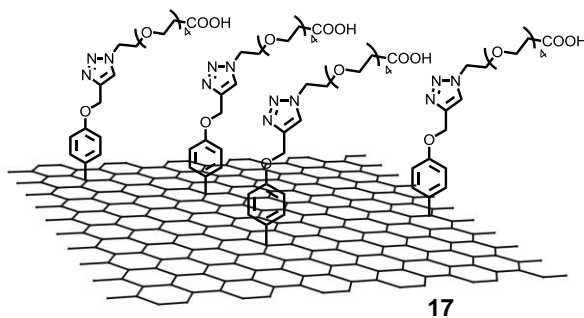


FIGURA 20. Lámina de grafeno funcionalizada mediante reacción de CuAAC.

Este tipo de modificación química permite obtener suspensiones estables de grafeno funcionalizado. Cuando esta suspensión, es depositada y se elimina el disolvente, por técnicas de microscopía óptica y electrónica pueden observarse multitud de láminas de grafeno individualizadas.⁵⁶

[56] Z. Jin, T. P. McNicholas, C.-J. Shih, Q. H. Wang, G. L. C. Paulus, A. J. Hilmer, S. Shimizu, M. S. Strano, *Chem. Mater.* **2011**, *23*, 3362.

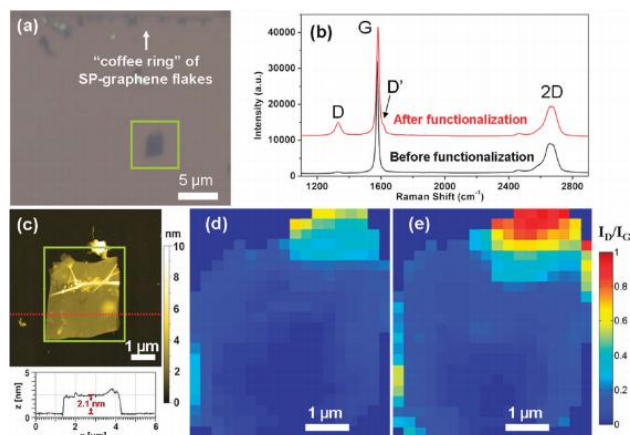
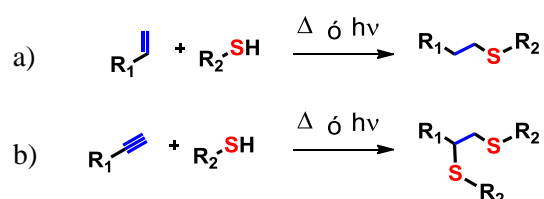


FIGURA 21. a) Micrografía en microscopio óptico sobre una superficie de Si oxidado, donde se observan varias láminas de grafeno y el “coffee ring” del contorno de la gota depositada; se observa también la alta concentración de grafeno en monocapas. b) Espectro Raman de grafeno antes y después de las dos funcionalizaciones; se observa el incremento de la de banda D y D’, que indican el incremento de las vibraciones sp^3 y, por tanto, el grado de funcionalización del grafeno. d) *Mapping* del copo de grafeno mostrado en c) antes de la funcionalización en el que se muestran las intensidades relativas entre la banda D y G (I_D/I_G). e) *Mapping* después de las dos funcionalizaciones.

2.1.4.2. Uso de reacciones con tioles

Existen otros tipos de reacciones tipo “Click” que no requieren la presencia de metales, transcurren con muy altos rendimientos y son usadas como potentes herramientas para conseguir la bioconjugación en multitud de sistemas de muy distinta naturaleza. Un ejemplo son las reacciones radicáticas que tienen lugar entre un alqueno o un alquino y un tiol por vía térmica, en presencia de un iniciador radicalico como el AIBN, o bien por vía fotoquímica, en presencia de fotoiniciador radicalico como los derivados de la acetofenona. Este tipo de reacciones transcurren cinéticamente y termodinámicamente de manera muy favorable, y han sido catalogadas como reacciones de tipo “Click Chemistry”.⁵⁷

[57] a) R. Hoogenboom, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 3415 ; b) G. Franc, A. K. Kakkar, *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39*, 1536; c) K. L. Killops, L. M. Campos, C. J. Hawker, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 5062; d) A. B. Lowe, *Polym. Chem.* **2010**, *1*, 17.

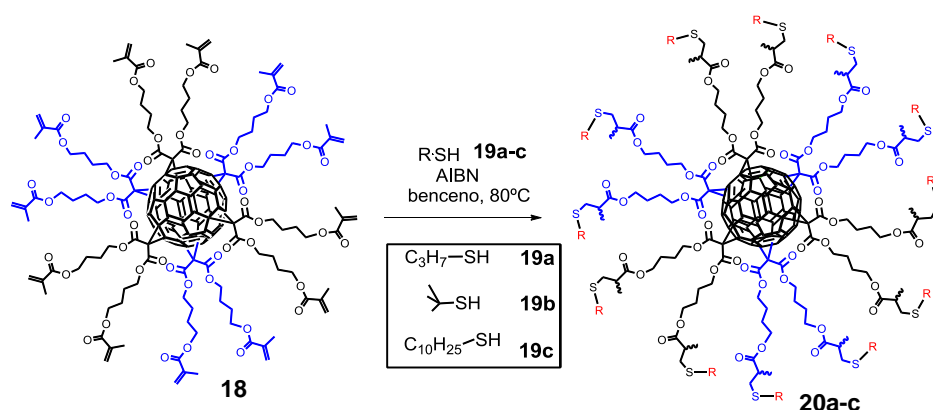


ESQUEMA 5. a) Reacción entre un tiol y un alqueno terminal, en el que se produce una monoadición sobre la insaturación del alqueno. b) Sobre un alquino se produce una doble adición. Comenzando por una primera adición anti-Markovnikov, seguida de una segunda adición del segundo equivalente del tiol. Cuando se realiza por vía térmica, se suele utilizar un iniciador radicalico como el AIBN, y cuando la reacción se inicia por vía fotoquímica, se utiliza un iniciador radicalico fotoquímico, como la 2,2-dimetoxi-2-fenilacetofenona.

Esta metodología sintética ha sido utilizada para la obtención de nuevos polímeros muy ramificados, para bioconjugación con proteínas haciendo reaccionar el grupo tiol del aminoácido cisteína de las proteínas, y en la síntesis de nuevos glicoconjugados, con muy altos rendimientos.⁵⁸ En química de fullerenos también se ha aprovechado esta estrategia para la modificación de derivados del C₆₀ altamente funcionalizados en su periferia, como los hexaaductos de C₆₀, que presentan simetría octaédrica y 12 grupos susceptibles de ser funcionalizados, como en la molécula **18**, sintetizada por Nierengarten y col.⁵⁹ A partir de **18** se puede obtener una serie de compuestos funcionalizados con tioles en su periferia, con rendimientos que oscilan entre 40 y 52% para la serie **20a-c**, muy buenos rendimientos si se tiene en cuenta que para obtener este tipo de compuestos se han debido producir 12 reacciones sobre la misma molécula.

[58] Z. J. Witczak, R. Bielski, *Click Chemistry in Glycoscience: New Developments and Strategies*. 2013, John Wiley & Sons Inc.

[59] J. Iehl, J.-F. Nierengarten, *Chem. Commun.* 2010, 46, 4160.



ESQUEMA 6. Adición de tioles usando reacciones tiol-ene a un hexaadducto de C_{60} .

Usando una batería de reacciones de tipo “Click” ortogonales entre sí, se ha conseguido la funcionalización asimétrica de hexaadductos de C_{60} .⁵⁹

Las reacciones que tienen lugar entre una maleimida y un grupo tiol, cumplen muchas de las características deseables para que la reacción pueda considerarse una reacción tipo “Click”. Este tipo de reacción es una típica adición 1,4-Michael, pero que tiene lugar con muy altos rendimientos y con una cinética de reacción muy favorable, así como una inmejorable economía atómica, y sin subproductos. En este sentido, se han funcionalizado nanoformas del carbono, como los nanotubos, con grupos tiol, para una posterior conjugación con otro sistema de distinta naturaleza química, como son las nanopartículas de oro (Figura 22).⁶⁰ El compuesto **21** se preparó por oxidación de los nanotubos comerciales con ácidos fuertes, que permiten la formación de grupos ácidos carboxílicos en la superficie del nanotubo susceptibles de ser funcionalizados con un grupo tiol. La posterior reacción de conjugación con las nanopartículas de oro tiene lugar en una hora y con solo mezclar los reactivos en un tampón de $\text{pH} = 6.6$.

[60] P. Gobbo, M. C. Biesinger, M. S. Workentin, *Chem. Commun.* **2013**, 49, 2831.

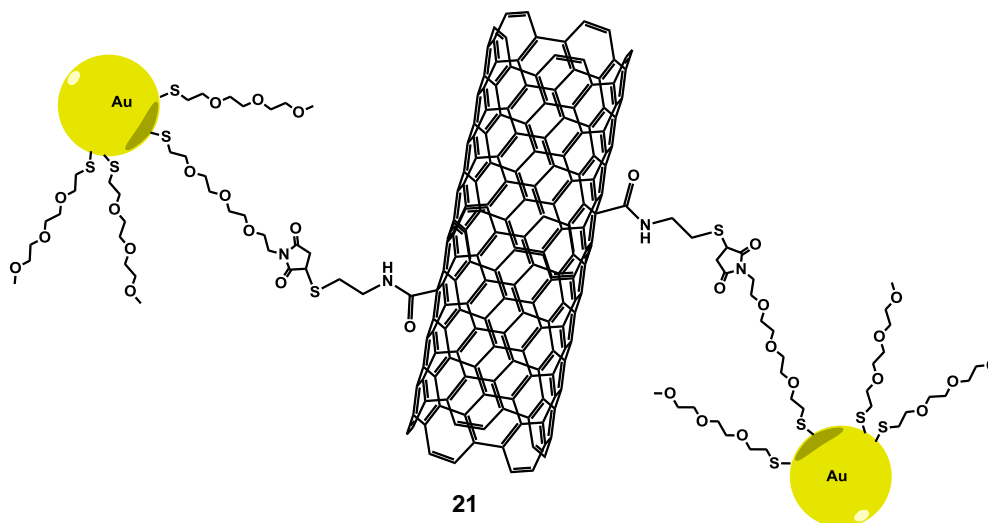


FIGURA 22. Nanotubo de carbono funcionalizado con nanopaticulas de oro 21.

La microscopía TEM permite obtener imágenes de alto contraste de las nanopartículas de oro en torno al nanotubo, observándose una distribución homogénea de la funcionalización a lo largo de toda la superficie (Figura 23).

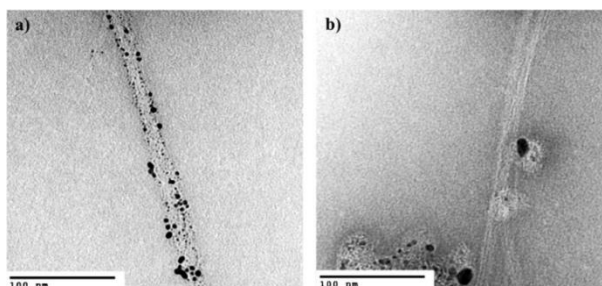


FIGURA 23. a) Micrografía TEM del derivado 21 en la que se aprecia la funcionalización del nanotubo con las nanopartículas de oro. b) Micrografía de control, con nanopartículas que poseen la unidad de maleimida protegida con dimetilfurano.⁶¹ Se aprecia cómo las nanopartículas sin funcionalización de maleimida libre no se unen a la superficie del nanotubo con los grupos tiol en su superficie y tienden a agregarse entre sí.

[61] A. Sánchez, E. Pedroso, A. Grandas, *Org. Lett.* **2011**, *13*, 4364.

2.1.5. Propiedades biológicas de fullerenos modificados y otras nanoformas del carbono

2.1.5.1. Fullerenos como agentes antivirales

El primer estudio de las propiedades biológicas de fullerenos consistió en investigar el docking del C₆₀ dentro de un bolsillo hidrofóbico de la estructura cristalina de la HIV proteasa mediante métodos computacionales y su posterior comprobación experimental de que el C₆₀ era capaz de inhibir la actividad de esta proteína esencial para el ciclo vital de la replicación del virus del SIDA.⁶² El tamaño y las características hidrofóbicas de la estructura del C₆₀ y C₇₀, hacen que encajen dentro del bolsillo hidrofóbico próximo al sitio activo de la HIV-proteasa. La actividad de las moléculas derivadas de fullereno puede mejorarse añadiendo grupos funcionales al derivado de fullereno que incrementen la solubilidad y la interacción por enlaces de hidrógeno con los aminoácidos del sitio activo de la HIV-proteasa.

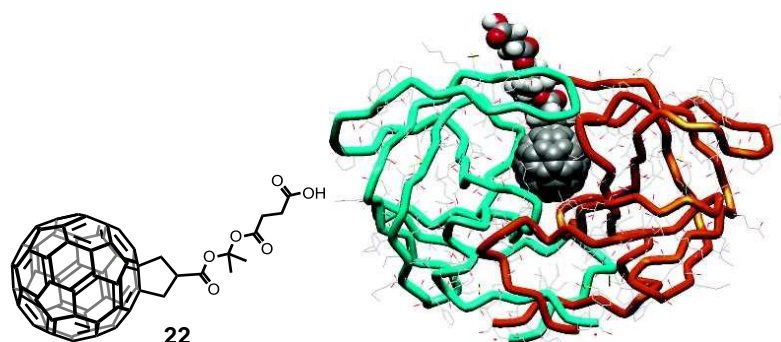


FIGURA 24. Modelo de docking del derivado 22 dentro del bolsillo hidrofóbico del sitio activo de la HIV proteasa del virus del SIDA. El compuesto 22 se comporta como un potente inhibidor de multitud de enzimas virales y bacterianas.⁶³

Con el fin de mejorar la selectividad en la unión a la HIV-proteasa, se han llevado a cabo estudios de diseño de fármacos por química computacional 3D-QSAR, Dinámica Molecular y cálculos de área de superficie Poisson-

[62] S. H. Friedman, D. L. DeCamp, R. P. Sijbesma, G. Srdanov, F. Wudl, G. L. Kenyon, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 6506.

[63] a) E. Nakamura, H. Tokuyama, S. Yamago, T. Shiraki, Y. Sugiura, *Bull. Soc. Chem. Jpn.* **1996**, *69*, 2143; b) M. Calvaresi, F. Zerbetto, *ACS Nano* **2010**, *4*, 2283.

Boltzmann (MM–PBSA) basándose en un *lead* conocido por su actividad de inhibidor de la proteasa, como el antiviral comercial Saquinavir.⁶⁴

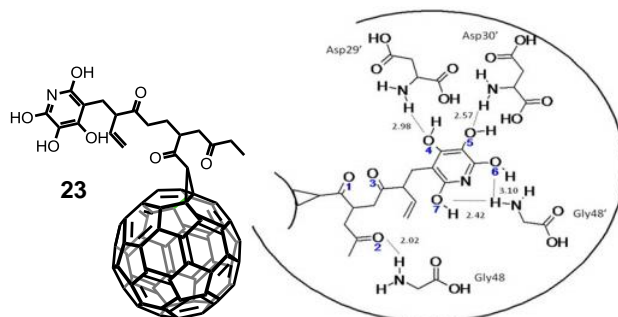


FIGURA 25. El compuesto 23 fue propuesto como un inhibidor muy potente de la HIV-proteasa, por interacción simultanea por enlace de hidrogeno con el Asp29', Asp30', Gly48' y Gly48 con los grupos hidroxilo, mientras que la parte hidrofóbica queda ocupada por el esqueleto del fullereno.

Otro ejemplo de potente inhibidor de la proteasa del virus del SIDA es el anteriormente descrito dendrofullereno 2, que es uno de los compuestos que presenta mayor actividad frente a la proteasa, y fue probado con éxito frente al virus del SIDA en cepas altamente resistentes a otros inhibidores de la HIV-1-proteasa.⁶⁵ También han sido utilizados como agentes antivirales otros tipos de sistemas basados en estructuras policationicas de fullereno de tipo fulleropirrolidina, en las que el fullereno se encuentra con cargas positivas próximas, localizadas en el nitrógeno de la pirrolidina (Figura 26)

[64] H. Tzoupis, G. Leonis, S. Durdagi, V. Mouchlis, T. Mavromoustakos, M. G. Papadopoulos, *J. Comput. Aided. Mol. Des.* **2011**, 25, 959.

[65] D. I. Schuster, S. R. Wilson, A. N. Kirschner, R. F. Schinazi, S. Schlueter-Wirtz, P. Tharnish, T. Barnett, J. Ermolieff, J. Tang, M. Brettreich, A. Hirsch, *Proc. Electrochem. Soc.* **2000**, 11, 267.

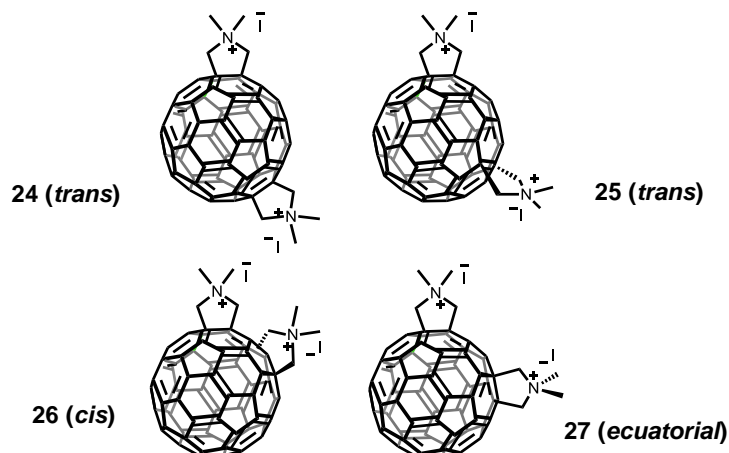
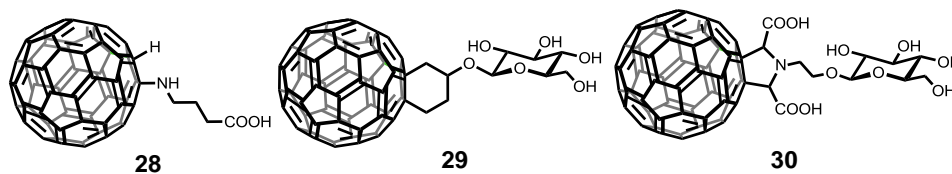


FIGURA 26. Diferentes bisaductos de pirrolidina.

Los bisaductos de pirrolidina **24** y **25** en posición relativa *trans* respecto a la posición ecuatorial del fullereno, presentan una actividad mucho mayor en la inhibición de la proteasa de las cepas de virus HIV-1 y HIV-2 que los compuestos tipo *cis*, como el derivado **26**. El compuesto **27**, donde la segunda pirrolidina se encuentra en posición *ecuatorial*, se muestra totalmente inactivo frente a la HIV-proteasa de ambas cepas virales.⁶⁶

La estructura geométrica y los sustituyentes químicos que acompañan a los derivados de fullereno, así como su disposición espacial para interactuar con el sitio activo de las enzimas virales son de tremenda importancia. El inconveniente para este tipo de moléculas está en su difícil separación. Existen derivados de fullereno que muestran actividad antiviral debido a otras propiedades del fullereno, como pueden ser sus propiedades fotoquímicas, y su capacidad para generar oxígeno singlete tras una adecuada fotoexcitación. Esta capacidad del fullereno para generar especies reactivas de oxígeno con un objetivo terapéutico es conocida como Terapia Fotodinámica, (PDT, de sus siglas en inglés) y se discutirá con más detalle más adelante. La PDT se basa en la capacidad de las especies reactivas de oxígeno de oxidar proteínas, desnaturalizarlas y neutralizar la actividad infecciosa de los virus.

[66] S. Marchesan, T. D. Ros, G. Spalluto, J. Balzarini, M. Prato, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15*, 3615.



Las moléculas **28**, **29** y **30** se investigaron en presencia de HIV-1 proteasa, a distintas concentraciones, en presencia y en ausencia de luz, y se estudió la degradación de las proteínas por SDS-PAGE (Figura 28).

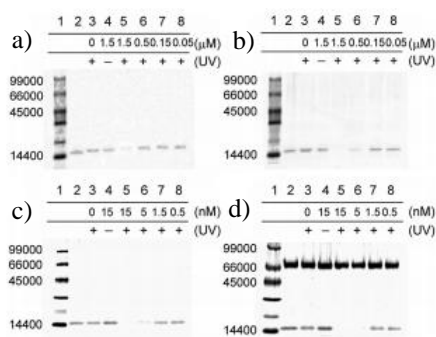


FIGURA 28. Fotodegradación de HIV-1 proteasa usando 28–30 bajo irradiación con luz de longitud de onda larga. Cada proteína fue incubada en un tampón a pH 7 a 25°C durante 2h. Las muestras fueron irradiadas con una lámpara UV de 365 nm de 100W a 10 cm de distancia. Las filas horizontales muestran los marcadores de tamaño de los fragmentos proteicos degradados fotoquímicamente. a) HIV-proteasa con 28. b) HIV-proteasa con 29. c) HIV-proteasa con 30. d) HIV-proteasa + BSA(Mw~6600) con 30. Los productos fueron analizados por permeación electroforética en Gel SDS-PAGE. Las líneas verticales de 1 a 8, corresponden a: línea 1: Proteína sola; línea 2: Proteína bajo irradiación; línea 3: Proteína + compuesto 28-30 a 1.5 μ M sin irradiación, (concentración de los compuestos : 15, 5, 1.5 y 0.5 nM) líneas 5-8.⁶⁷

2.1.5.2. Fullerenos como agentes antibacterianos

Las bacterias no han parado de evolucionar desde los albores de la vida. El descubrimiento de los antibióticos clásicos basados en estructuras químicas derivadas de las lactamas fueron una herramienta tremendamente útil para

[67] a) S. Tanimoto, D. Takahashi, K. Toshima, *Chem. Commun.* **2012**, 48, 7659; b) S. Tanimoto, S. Sakai, E. Kudo, S. Okada, S. Matsumura, D. Takahashi, K. Toshima, *Chem. Asian J.* **2012**, 7, 911

luchar contra las infecciones bacterianas. Sin embargo, la capacidad evolutiva de las bacterias para hacerse resistentes a diversas estructuras químicas, estimula a los químicos a diseñar nuevos antibióticos con estructuras químicas novedosas, así como sintetizar nuevos compuestos diseñados para interactuar con distintas dianas de vital importancia para el ciclo de vida bacteriano. De entre la multitud de nuevas estructuras químicas sintetizadas, los fullerenos y nuevas estructuras de carbono son ejemplos interesantes y prometedores.

Los derivados de fullereno solubles en medios biológicos **31-33** descritos por Chen *et al.* en 2007, se estudiaron frente a dos modelos bacterianos.⁶⁸

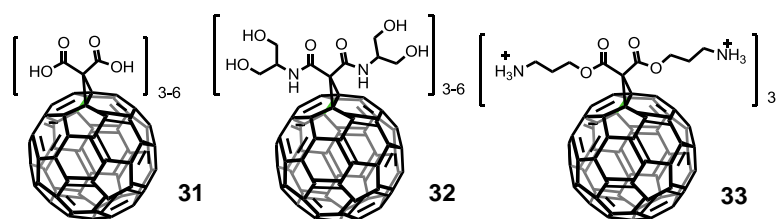


FIGURA 29. Diferentes poliaductos de C₆₀, con diferente actividad antibacteriana.

Los compuestos mostrados en la

Figura 29 fueron incubados con cepas de *E-coli* W3110 y *Shewanella oneidensis* MR-1, ambas bacterias Gram Negativas. Se observó que los derivados con carga negativa, como los grupos carboxilato en la molécula **31**, en la periferia de los fullerenos eran inofensivos para ambas cepas bacterianas. Los derivados neutros, como **32** con alcoholes, al igual que los derivados cargados negativamente, no inhiben el crecimiento y la proliferación bacteriana de *E-coli* W3110, pero afectan suavemente al crecimiento de *Shewanella oneidensis* MR-1. En cambio, con un derivado de C₆₀ que posea cargas positivas en sus proximidades, como **33**, se consigue una alta toxicidad frente a las dos cepas bacterianas (Figura 30). Los derivados aniónicos de fullereno afectan al ciclo de vida de bacterias Gram Positivas como *Streptococcus pyogenes*, pero no causan daños significativos en bacterias Gram Negativas. Moléculas como **33**, interactúan fuertemente con la pared bacteriana, que es rica en cargas negativas. El mecanismo de actuación de estos compuestos sobre

[68] Y. J. Tang, J. M. Ashcroft, D. Chen, G. Min, C.-H. Kim, B. Murkhejee, C. Larabell, J. D. Keasling, F. F. Chen, *Nano Lett.* **2007**, 7, 754.

las bacterias parece ser una desestabilización de los peptidoglicanos de la pared bacteriana, precipitándolas y causando un daño severo a las bacterias, que mueren por el estrés sufrido por la pared bacteriana.

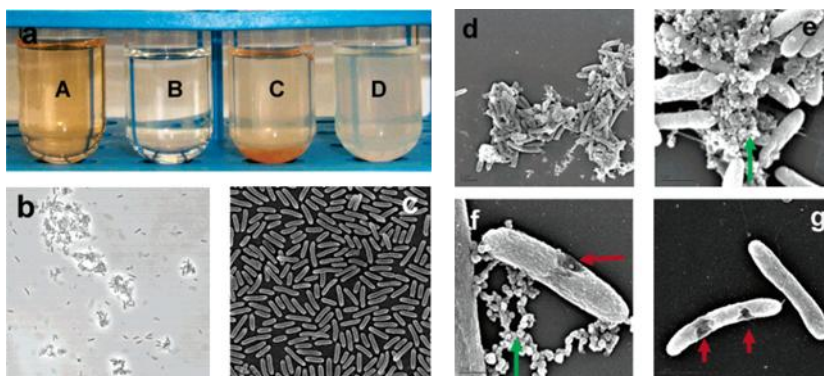


FIGURA 30. Se muestra un cultivo de bacterias *S. oneidensis MR-1*, expuestas al compuesto 33. a) en A se muestra 33 a concentración de 20 mg/L y sin bacterias. B muestra el tampón del experimento, sin 33 y sin bacterias. C muestra una disolución de 33 con *S. oneidensis MR-1* con $OD_{600}=0.26$. Se observa una precipitación de bacterias y 33 en el fondo del tubo de ensayo. D muestra *S. oneidensis MR-1* con $OD_{600}=0.26$, sin 33. b) Agregación bacteriana vista en microscopio óptico. c) SEM de *S. oneidensis MR-1* sin afectar por 33. d) Agregación de las bacterias en presencia de 33. e) Vista en detalle, con microscopía SEM de agregados de 33 junto a bacterias precipitadas junto a los agregados. f) Micrografía de una bacteria con la pared bacteriana dañada por desestabilización producida por 33. Las flechas rojas muestran los daños en la pared bacteriana, y las flechas verdes los agregados. g) Se muestra otro detalle de una bacteria dañada en varias zonas de su pared bacteriana.

Trabajos recientes han utilizado fullerenos como soporte molecular para alojar en su superficie carbohidratos, que son capaces de interactuar con diversas glicoproteínas de organismos eucariotas y procariotas. Esta interacción es de tipo multivalente, un tipo de interacción especial muy común en la naturaleza y que se discutirá con más detalle posteriormente. Estos nuevos derivados de fullereno son una excelente herramienta para la presentación de carbohidratos y pueden comportarse como glicomiméticos de sistemas biológicos más complejos, como glicoproteínas virales o bacterianas. Nierengarten y *col.* describieron sistemas basados en iminoazúcares que interactúan fuertemente con distintas glicoproteínas bacterianas, entre ellas adhesinas bacterianas, responsables del reconocimiento y adhesión de las bacterias a los tejidos susceptibles de ser infectados, como la adhesina FimH de *Escherichia coli*

uropatogénica.⁶⁹ Otra diana contra las bacterias es la inhibición de glicosidasas. Con los sistemas basados en hexaaductos de fullereno (Figura 31) se demostró que, utilizando como fragmento una molécula capaz de inhibir las glicosidasas y uniendo covalentemente 12 de estos fragmentos alrededor del fullereno, se conseguía un aumento en la inhibición de las glicosidasas debido, posiblemente, al reenlace estadístico con la glicosidasa y al aumento de la concentración local de ligando cuando éste se presenta de manera multivalente, como ocurre con el derivado **34**.

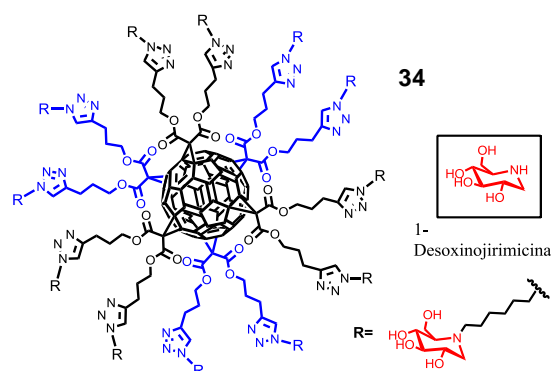


FIGURA 31. La 1-desoxinojirimicina, un iminoazúcar, es un potente inhibidor de las glicosidasas. El derivado **34** presenta de manera multivalente la 1-desoxinojirimicina.

Cuando las subunidades de 1-desoxinojirimicina son presentadas de manera multivalente se consigue una inhibición de algunas de las enzimas glicosidasas probadas, en especial con las α -glicosidasas. En otros casos, la actividad del ligando multivalente es menor que la del ligando individual. Estos resultados demuestran que el efecto multivalente es una aproximación muy válida para la optimización de las interacciones con enzimas.

2.1.5.3. Fullerenos como agentes de contraste en MRI

Un tipo especial de fullerenos, los fullerenos endohédricos, se han mostrado como unos excelentes agentes de contraste en MRI (Magnetic Resonance Imaging). Los fullerenos endohédricos son, literalmente, “jaulas de carbono” donde un átomo, molécula, clúster atómico o incluso otro fullereno, están

[69] a) M. Durka, K. Buffet, J. Iehl, M. Holler, J.-F. Nierengarten, J. Taganna, J. Bouckaert, S. P. Vincent, *Chem. Commun.* **2011**, 47, 1321; b) P. Compain, C. Decroocq, J. Iehl, M. Holler, Damien Hazelard, T. M. Barragan, C. O. Mellet, J.-F. Nierengarten, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, 49, 5753

confinados en el espacio libre interno de un fullereno. Normalmente estos fullerenos son fullerenos superiores, es decir, tienen un número de carbonos superior a 60. La especie química confinada dentro de estas jaulas de carbono, está aislada químicamente de su entorno. Y es necesario romper uno o varios enlaces carbono-carbono de la caja de fullereno para acceder a la especie química del interior.

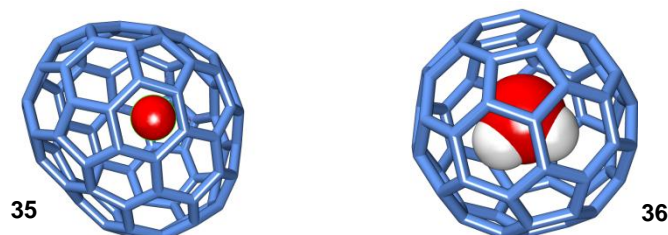


FIGURA 32. El fullereno endohédrico 35 con notación $Gd@C_{82}$, posee un átomo de gadolinio en el espacio hueco de la cavidad del fullereno superior C_{82} . En 36 la especie “enjaulada” dentro del C_{60} es una molécula de agua y tiene como notación $H_2O@C_{60}$, descrito por primera vez en 2011 por Murata y *col.*⁷⁰

Los agentes de contraste en MRI, deben tener propiedades paramagnéticas o superparamagnéticas, y que modifiquen el tiempo de relajación de los protones del agua de los tejidos vivos. La relajatividad es un parámetro dado por el agente de contraste, que potencia o rebaja los tiempos de relajación del spin nuclear de los protones de agua, según la ecuación:

$$\left(\frac{1}{T_x}\right)_{obsd} = \left(\frac{1}{T_x}\right)_d + r_x [agente]$$

Donde el término $(1/T_x)_{obsd}$ es la proporción de relajación del disolvente en presencia de agente; $(1/T_x)_d$ es el valor de la relajación diamagnética del protón del agua en ausencia de agente y r_x es la relajatividad característica del agente y se expresa en unidades de $(mM^{-1}s^{-1})$. T_x es linealmente dependiente de la concentración de agente de contraste, $[agente]$. Existen agentes de contraste positivos que aumentan el contraste de la imagen de MRI y agentes de contraste negativos, que reducen el contraste. En la práctica, las imágenes de MRI se obtienen por una diferencia de contraste a dos intensidades de campo magnético dadas. Hoy día se utilizan quelatos de Gd^{3+} , que presentan buenas propiedades de contraste, pero es frecuente que este quelato sufra pérdidas del

[70] K. Kurotobi, Y. Murata, *Science* **2011**, 333, 613.

metal y procesos de transmetalación, que puede afectar severamente a pacientes con disfunciones renales o hepáticas, y causar daños muy severos en órganos internos y en la piel.⁷¹ Para evitar estos problemas, el gadolinio se aloja dentro de la cavidad del fullereno, y el esqueleto de fullereno es funcionalizado con grupos hidroxilo, para obtener fullerenoles endohédricos, o bien con grupos carboxílicos, que aportan solubilidad y baja toxicidad.⁷²

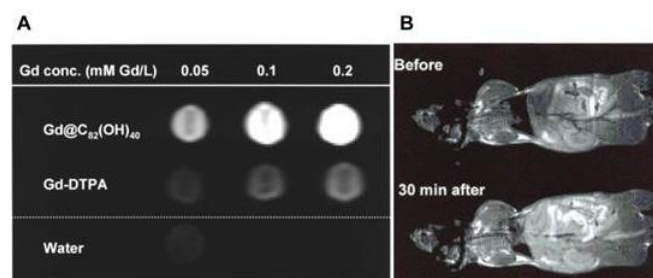


FIGURA 33. A) Promedio ponderado del T₁ de compuestos de gadolinio. Se muestra el contraste obtenido por el fullereno endohédrico Gd@C₈₂(OH)₄₀ y el quelato Gd-DTPA usado en ensayos clínicos, a concentraciones 0.05, 0.1 y 0.2 mM Gd/L. B) Muestra al mismo ratón, antes y 30 minutos después de la administración intravenosa de Gd@C₈₂(OH)₄₀, administrando una dosis de 5 μmol Gd/kg.⁷³

2.1.5.4 Fullerenos endohédricos como agentes antitumorales

En los últimos años se ha descubierto la especial actividad anticancerígena y como potente activador de los linfocitos T del sistema inmunitario, del fullereno endohédrico de gadolinio Gd@C₈₂(OH)₂₂, que inicialmente se probó como agente de contraste en MRI. Estudios realizados por Zhou y *col.* muestran que es capaz de actuar e inhibir las metaloproteinasas de la matriz (MMPs) (Figura 34). Estas proteínas están implicadas en la remodelación del tejido conjuntivo extracelular, pero su papel en el anclaje de células en tejidos hacen de estas proteínas una diana terapéutica contra el cáncer y la metástasis. La interacción de Gd@C₈₂(OH)₂₂ con las MMPs parece ser de naturaleza electrostática no específica y, posiblemente, de tipo multivalente o probabilístico, debido a la multitud de grupos hidroxilo en la superficie del fullereno. Cálculos *in silico* parecen indicar que la interacción más probable es

[71] T. Grobner, F. C. Prischl, *Kidney Int.* **2007**, 72, 260.

[72] F. Cataldo, T. D. Ros, *Medicinal Chemistry and Pharmacological Potential of Fullerenes and Carbon Nanotubes.* **2008**, Springer Science + Business Media.

[73] Z. Chen, L. Ma, Y. Liu, C. Chen, *Theranostics* **2012**, 2, 238.

la que tiene lugar con residuos cargados positivamente próximos entre sí, como la Lys433 y Arg440. La presencia del átomo de gadolinio refuerza el papel de la interacción electrostática, pues la interacción de $C_{82}(OH)_{22}$ con la mismas MMPs es 0.4 kcal/mol más débil.⁷⁴

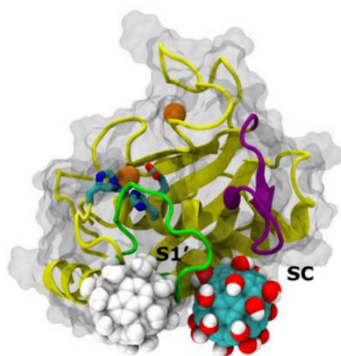


FIGURA 34. Modelo de *docking* del fullereno $Gd@C_{82}(OH)_{22}$ con MMP-9, donde se muestra la interacción con la cadena lateral SC y S1', bloqueando la entrada al sitio activo de la enzima. En blanco se muestra el sitio de unión alternativo en la cavidad de S1', entrada posterior al sitio activo de la proteína donde se aloja el ion de Zn^{2+} (en naranja).

Experimentalmente, se ha comprobado que $Gd@C_{82}(OH)_{22}$ inhibe eficazmente el crecimiento tumoral y, además, bloquea la angiogénesis o la producción de vasos sanguíneos que las células cancerosas utilizan para nutrirse y sobrevivir y estimula la diferenciación de los linfocitos T y de macrófagos a través de la inducción a la maduración de las células dendríticas. Esto induce a la producción de citoquinas solubles como IL-2, IL-4, IL-5, TNF- α y IFN- γ , que desencadenan una cascada de reacciones en el sistema inmune y promueven la apoptosis de las células tumorales y la migración de los linfocitos T a los tejidos cancerosos, mostrando toxicidades mucho menores que los fármacos antitumorales usados clínicamente, como las ciclofosfamidias, el *cis*-platino y Paclitaxel.⁷⁵

[74] S.-g. Kang, G. Zhou, P. Yang, Y. Liu, B. Sun, T. Huynh, H. Meng, L. Zhao, G. Xing, C. Chen, Y. Zhao, R. Zhou, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2012**, *109*, 15431.

[75] a) J. Meng, X. Liang, X. Chen, Y. Zhao, *Integr. Biol.* **2013**, *5*, 43; b) D. Yang, Y. Zhao, H. Guo, Y. Li, P. Tewary, G. Xing, W. Hou, J. J. Oppenheim, N. Zhang, *ACS Nano* **2010**, *4*, 1178; c) Y. Liu, F. Jiao, Y. Qiu, *Biomaterials*. **2009**, *30*, 3934; d) C. Chen, G. Xing, J. Wang, Y. Zhao, B. Li, J. Tang, G. Jia, T. Wang, J. Sun, L. Xing, H. Yuan, Y. Gao, H. Meng, Z. Chen, F. Zhao, Z. Chai, X. Fang, *Nano Lett.* **2005**, *5*, 2050; e) H. Meng, G. Xing, B. Sun, F. Zhao, H. Lei, W. Li,

2.1.5.5. Fullerenos como agentes antioxidantes

Los daños oxidantes a través de radicales libres se han asociado a la patogénesis de diversas enfermedades humanas. Estas lesiones pueden ocurrir, tanto en tejidos enfermos, como en condiciones crónicas de neurodegeneración. Las especies reactivas de oxígeno, como son los radicales superóxido ($O_2^{\cdot-}$) e hidroxilo ($\cdot OH$) y la molécula H_2O_2 , pueden causar daño oxidante a componentes celulares, tales como los lípidos de la membrana celular, ácidos nucleicos, proteínas de transporte y mitocondria, con el resultado de apoptosis o muerte celular. Los fullerenos pueden considerarse como antioxidantes intercelulares efectivos, debido a sus propiedades redox, ya que el LUMO de baja energía del C_{60} puede fácilmente aceptar un electrón del anión superóxido. Este proceso de desactivación de $O_2^{\cdot-}$ parece ser catalítico, es decir, el fullereno puede reaccionar con muchos superóxidos sin consumirse. Los fullerenos antioxidantes pueden localizarse dentro de la célula en la mitocondria y otros compartimentos celulares, donde la producción de radicales tiene lugar en estados de enfermedad. En este contexto, ya se han encontrado interesantes actividades biológicas de fullerenos solubles.⁷⁶ Existen fármacos experimentales que actúan contra enfermedades degenerativas, relacionadas con el daño oxidante en células nerviosas, como la enfermedad de Alzheimer, el Parkinson y la esclerosis lateral amiotrófica (ELA). Todas estas patologías están relacionadas con un daño severo debido al estrés oxidante, aunque se piensa que pueden existir otras causas asociadas a estas enfermedades, hoy día incurables y de difícil tratamiento.

Algunos estudios preliminares demostraron que el C_{60} sin funcionalizar y micronizado, administrado de manera intravenosa, protegía el hígado de ratas de laboratorio a las que se había inoculado CCl_4 , un potente iniciador radicalico *in vivo*. En la Figura 35, se aprecia visualmente el efecto protector del C_{60} en el hígado de las ratas que fueron tratadas con CCl_4 .⁷⁷

Y. Song, Z. Chen, H. Yuan, X. Wang, J. Long, C. Chen, X. Liang, N. Zhang, Z. Chai, Y. Zhao, *ACS Nano* **2010**, *4*, 2773.

[76] L. Y. Chiang, L.-Y. Wang, J. W. Swirczewski, S. Soled, S. Cameron, *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 3960.

[77] N. Gharbi, M. Pressac, M. Hadchouel, H. Szwarc, S. R. Wilson, F. Moussa, *Nano Lett.* **2005**, *5*, 2578.

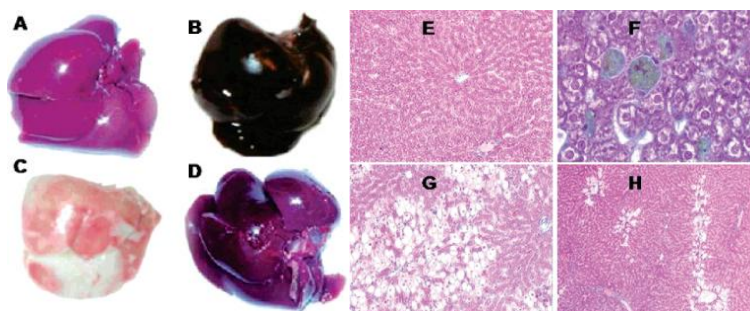
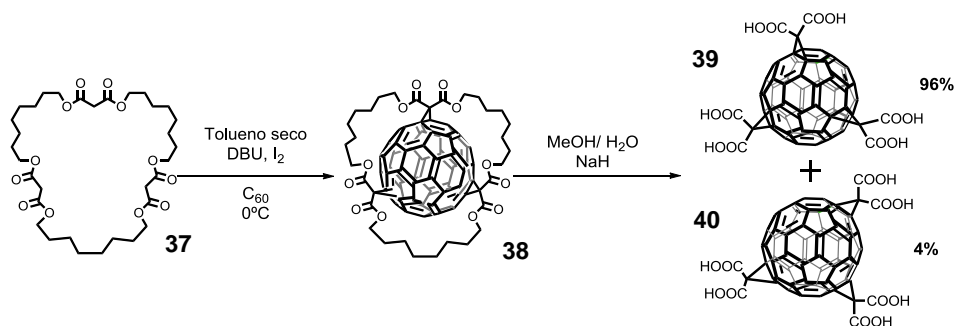


FIGURA 35. Efectos macro y microscópicos en hígados de ratas tratados con C_{60} y CCl_4 . **A)** Hígado de control. **B)** Hígado tras 7 días de pretratamiento con C_{60} micronizado (2g/Kg en masa corporal). Se observa solo una ligera esteatosis (Hígado graso). **C)** Hígado de rata intoxicado con CCl_4 (1mL/Kg en masa corporal). **D)** Hígado de rata tras pretratamiento con C_{60} durante 14 días, antes del tratamiento con CCl_4 . **E)** Micrografía de un hígado pretratado con C_{60} . **F)** Ampliación de E), se observa acumulación de fullereno en el tejido adiposo. **G)** Micrografía de un hígado intoxicado con CCl_4 , se observa en blanco zonas necrosadas. **H)** Se observa el hígado mostrado en D, y se aprecia la diferencia en que la cantidad de tejido necrosado es mucho menor que en G.

Pero el interés de este tipo de moléculas está en el uso de fullerenos solubles en agua, y que eviten la bioacumulación en los tejidos grasos del cuerpo, como los carboxifullerenos sintetizados por Hirsch y col.⁷⁸ Estos derivados han sido estudiados en multitud de trabajos, que demostraron que son derivados poco tóxicos y con buenas propiedades antioxidantes.



[78] F. Beuerle, N. Chronakis, A. Hirsch, *Chem. Commun.* **2005**, 3676.

El derivado **39** es un eficaz captador de anión superóxido ($O_2^{\cdot-}$), exhibe propiedades miméticas de la superóxido dismutasa (SOD) y es capaz de dismutar radicales superóxido en medios biológicos con una constante cinética

de $k_{(39)} = 2 \cdot 10^6 \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$.⁷⁹ La constante es menor que la observada para las SOD naturales, pero biológicamente posee propiedades interesantes, pues **39** tiende a acumularse en las proximidades de la mitocondria, donde la célula obtiene su energía y el daño oxidante puede ser más severo. Por ello, actúa junto con las SOD, como un efectivo agente antioxidante y neuroprotector.⁸⁰ Las propiedades antioxidantes del fullereno han dado lugar a su empleo en productos cosméticos, anti-acné (LipoFullereneTM) y anti-envejecimiento (RadicalSpongeTM), por el momento único uso comercial disponible para el gran público del C_{60} y sus derivados, comercializados por la empresa japonesa VitaminC60 BioResearch.

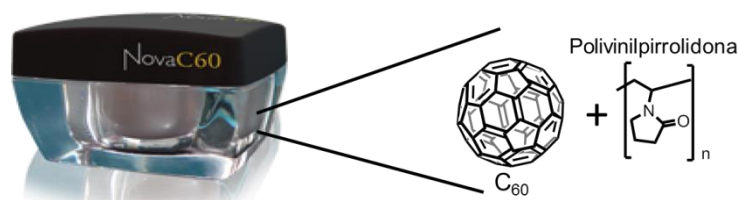


FIGURA 36. Los cosméticos basados en C_{60} aprovechan la solubilidad de este dentro de un sistema polimérico biocompatible como el PVP (Polivinilpirrolidona), para el preparado RadicalSpongeTM con una carga de C_{60} de 0.03% en peso, según la formulación comercial. La mezcla C_{60} /PVP se mostró como un agente antioxidante 125 veces más potente que el ácido L-ascórbico y sin toxicidad aparente.⁸¹ LipoFullereneTM, posee la misma proporción de fullereno (0.03%), pero disuelto en escualeno, previene el daño celular en la piel, la fragmentación del ADN y las lesiones mitocondriales, y está siendo usado actualmente como cosmético anti-arrugas, una vez evaluado clínicamente.⁸²

[79] S. S. Ali, J. Hardt, K. L. Quick, J. S. Kim-Han, B. F. Erlanger, T. T. Huang, C. J. Epstein, L. L. Dugan, *Free Radical Biol. Med.* **2004**, *37*.

[80] a) L. L. Dugan, D. M. Turetsky, C. Du, D. Lobner, M. Wheeler, C. R. Almlí, C. K.-F. Shen, T.-Y. Luh, D. W. Choi, T.-S. Lin, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1997**, *94*, 9434; b) M. D. Tzirakis, M. Orfanopoulos, *Chem. Rev.* **2013**, *113*, 5262; c) A. Kahnt, D. M. Guldi, M. Brettreich, U. Hartnagel, A. Hirsch, *J. Mater. Chem.* **2010**, *20*, 83.

[81] a) L. Xiao, H. Takada, X. H. Gan, N. Miwa, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 1590; b) H. Aoshima, S. Yamana, S. Nakamura, T. Mashino, *J. Toxicol. Sci.* **2010**, *35*, 401; c) L. Xiao, H. Takada, K. Maeda, M. Haramoto, N. Miwa, *Biomed. Pharmacother.* **2005**, *59*, 351.

[82] S. Kato, H. Aoshima, Y. Saitoh, N. Miwa, *J. Nanosci. Nanotechnol.* **2011**, *11*, 3814.

2.1.5.6. Fullerenos como agentes para transfección genética

Las nuevas aproximaciones en el tratamiento de enfermedades y padecimientos de tipo genético requieren el diseño de vectores sintéticos, capaces de transportar material genético foráneo al interior de las células. Las cadenas de nucleótidos pueden ser ARN, siARN (small interfering RNA, en inglés o ARN de silenciamiento), ADN o pADN (plásmido cíclico de ADN).⁸³ Estos sistemas químicos para transfección deben tener unas características para considerarse como un buen vector para el transporte de genes.

- 1) Proteger los nucleótidos de las nucleasas en el medio intercelular.
- 2) Conservar la secuencia original de ácidos nucleicos.
- 3) Permitir atravesar las diferentes barreras celulares y evitar efectos secundarios no deseados.

Tras la primera transfección usando liposomas (Figura 37)⁸⁴ se han utilizado numerosos vectores, tanto víricos, como no-víricos. Una de las aproximaciones no-víricas para la transfección es la que usa partículas con carga positiva para empaquetar a su alrededor ADN, que posee cargas negativas en forma de grupos fosfato. Se han usado dendrímeros, nanopartículas de sílice, nanoglicopartículas o nanotubos de carbono.⁸⁵

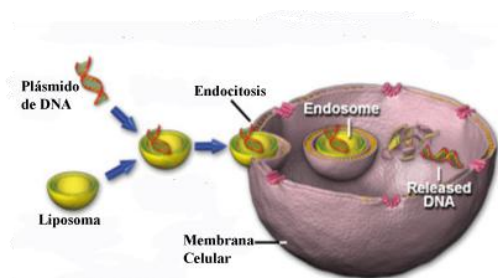


FIGURA 37. Esquema ilustrativo del proceso de transfección sin usar un vector viral, por medio de un plásmido encapsulado dentro de un liposoma autoensamblado (lipofección) y que es transportado al interior celular mediante transporte activo, por fagocitosis endosómica, consiguiendo introducir en la célula material genético foráneo.

[83] H. Lodish, A. Berk, S. L. Zipursky, P. Matsudaira, D. Baltimore, J. Darnell, *Molecular Cell Biology* **2000**, W.H. Freeman & Co., New York, 5th edn.

[84] P. L. Felgner, T. R. Gadek, M. Holm, R. Roman, H. W. Chan, M. Wenz, J. P. Northrop, G. M. Ringold, M. Danielsen, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **1987**, *84*, 7413.

[85] A. Montellano, T. D. Ros, A. Bianco, M. Prato, *Nanoscale* **2011**, *3*, 4035.

Los fullerenos y nanotubos de carbono presentan estructuras exóticas que, a priori pueden ser adecuadas para empaquetar secuencias de ácidos nucleicos y posteriormente facilitar la fagocitosis, por lo que han sido probados como vectores para el transporte de genes al interior celular. Las estructuras basadas en hexaaductos de C₆₀, sintetizadas por el grupo de Nierengarten, demostraron que estas estructuras eran eficaces para el transporte de genes, pero su eficacia estaba muy influenciada por el tamaño y la valencia presentada por las cargas positivas.⁸⁶

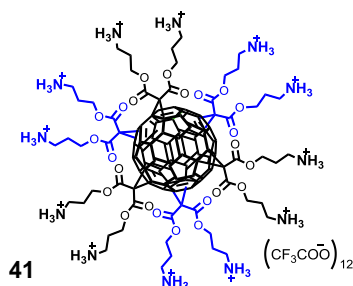


FIGURA 38. Estructura del hexaaducto 41.

El polication **41** se mostró como un sistema totalmente inactivo en el transporte de genes, posiblemente debido a la falta de balance a favor de la hidrofobicidad, lo que dificulta el paso a través de la membrana celular, como expone Nakamura y *col.* en trabajos similares utilizando fullerenos menos funcionalizados y, por tanto más apolares.⁸⁷ Sin embargo, se observó que sí existía empaquetamiento de ADN alrededor de los hexaaductos, muy eficaz cuando el tamaño y la cantidad de cargas positivas se hacen mayores, y que estas estructuras presentan muy baja toxicidad. En la Figura 39 se observa, en imágenes de TEM, cómo el ADN se enrolla en torno a los hexaaductos, formando poliplejos de alto empaquetamiento.

[86] D. Sigwalt, M. Holler, J. Iehl, J.-F. Nierengarten, M. Nothisen, E. Morin, J.-S. Remy, *Chem. Commun.* **2011**, 47, 4640.

[87] R. Maeda-Mamiya, E. Noiri, H. Isobe, W. Nakanishic, K. Okamoto, K. Doi, T. Sugaya, T. Izumi, T. Homma, E. Nakamura, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2010**, 107, 5339.

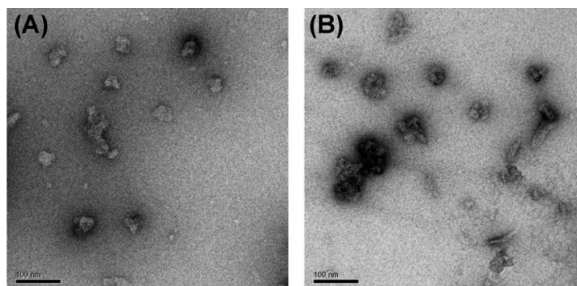


FIGURA 39. Imágenes de TEM. A) Se muestran los complejos entre 42b y ADN con la secuencia que codifica el gen de la luciferasa. El gen se expresó correctamente, por lo que la secuencia en los poliplexos formados se mantiene. En B) se muestran los poliplexos formados alrededor de 42c. La línea negra inferior representa una escala de 100 nm.

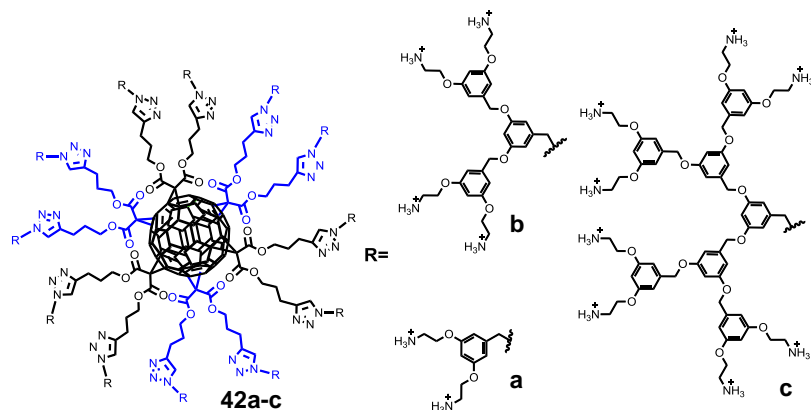


FIGURA 40. Estructura de los diferentes hexaaductos con cargas positivas en su periferia.

La capacidad de estos sistemas para compactar ADN alrededor de su estructura globular es superior a polímeros dendríticos de estructura similar, debido a su alta simetría y la distribución isoelectrónica de las cargas en su superficie. Aumentando la contribución apolar de estos compuestos, es de esperar que estos sistemas puedan convertirse en agentes para la transfección génica muy prometedores.

2.1.6. Fullerenos y sus propiedades fotofísicas: sensibilizadores para terapia fotodinámica

Los fullerenos poseen una extensa conjugación π que les permite absorber luz visible y luz ultravioleta. Al absorber luz, los fullerenos tienen un alto

rendimiento para pasar al estado triplete excitado. En este estado excitado triplete, puede producirse una desactivación por transferencia energética a una molécula de oxígeno en estado fundamental ($^3\text{O}_2$) triplete. Cuando la transferencia de energía se produce, el oxígeno se excita a un estado singlete ($^1\text{O}_2$), mientras que el fullereno se desactiva a estado singlete.

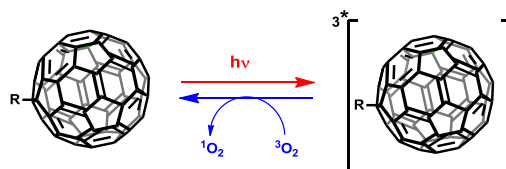


FIGURA 41. Se muestra la excitación fotoquímica de un derivado de C_{60} a un estado triplete y su posterior desactivación por transferencia a una molécula de oxígeno en estado fundamental ($^3\text{O}_2$), pasando este a $^1\text{O}_2$ (oxígeno singlete) que es la especie reactiva que destruye los tejidos cancerosos y enfermos por estrés oxidante.

El espectro de absorción del C_{60} en su estado fundamental se caracteriza por absorciones intensas en la región UV del espectro, con bandas débiles en la región visible hasta 700 nm. Tras irradiación, el C_{60} se excita a un estado singlete de vida muy corta (tiempo de vida ~ 1.3 ns, $E_s=46.1$ kcal/mol), que se convierte casi cuantitativamente en un estado triplete de mayor tiempo de vida (50-100 μs). En medios oxigenados este tiempo de vida del estado triplete del fullereno se reduce a ~ 330 ns, por transferencia energética hacia el oxígeno. Se genera oxígeno singlete con rendimiento casi unitario, cuando se excita a una longitud de onda de 532 nm.⁸⁸ Sin embargo, la mayoría de estos estudios se han llevado a cabo en medios apolares, donde el C_{60} es más soluble. La solubilidad es un parámetro crítico en la utilización del C_{60} y sus derivados como fotosensibilizadores para terapia fotodinámica. Esto es debido a que se produce una desactivación entre las unidades de C_{60} (aniquilación triplete-triplete), dada la conocida tendencia que presentan las subunidades de C_{60} a agregar entre sí por las interacciones π - π . El proceso de absorción y activación del derivado de fullereno y posterior transferencia energética a otra especie química, como puede ser otra molécula derivada del C_{60} , O_2 , desactivación radiativa por fluorescencia, fosforescencia o desactivación térmica, se muestran en la Figura 42.

[88] a) M. I. Belousova, N. G. Mironova, M. S. Yurev, *Optic. Spectrosc.* **2005**, 98, 349; b) D. M. Guldi, M. Prato, *Acc. Chem. Res.* **2000**, 33, 695.

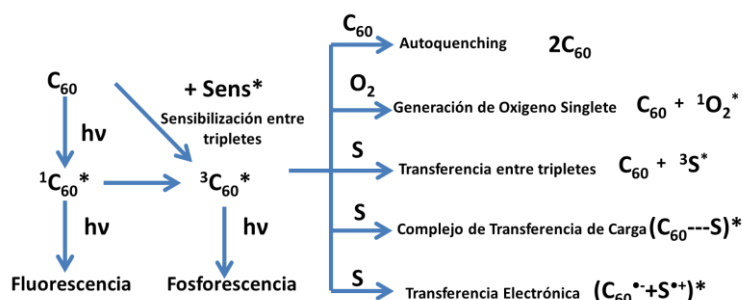


FIGURA 42. Se muestran las posibilidades que existen tras la absorción y excitación del derivado de C_{60} , donde S representa una molécula de un sustrato o disolvente del medio donde se encuentra el fotosensibilizador. En la figura no se muestra la posibilidad de desactivación por vía no radiativa o térmica.

En medios biológicos, en presencia de agentes reductores naturales como el NADH, pueden generarse otras especies reactivas, diferentes al oxígeno singlete, como el anión superóxido ($O_2^{\cdot-}$).⁸⁹

2.1.6.1. Fullerenos, aplicaciones biomédicas para terapia fotodinámica

2.1.6.1.1. Foto-escisión controlada de ADN

Una de las primeras aplicaciones de los fullerenos fotoactivados fue la inducción a la fragmentación de los hilos de ADN. Este hecho fue observado por primera vez en 1993 por Sugiura y *col.*,⁹⁰ cuando incubaron el plásmido pBR332 y el derivado **22**, en presencia y en ausencia de luz (Figura 43). Se observó que el plásmido pBR332 se fraccionaba preferentemente en partes de la secuencia ricas en guanidinas, debido a que son las bases más sensibles a la oxidación, y a que la subunidad de C_{60} , la productora de 1O_2 , reconoce selectivamente secuencias de cuatro guanidinas (G-Quadruplex). Además, la fragmentación era más intensa cuando la incubación se realizaba en D_2O , hecho indicativo de que el responsable de la oxidación es el oxígeno singlete, pues el oscilador oxígeno-protón desactiva el 1O_2 a 3O_2 .

[89] Y. Yamakoshi, N. Umezawa, A. Ryu, K. Arakane, N. Miyata, Y. Goda, T. Masumizu, T. Nagano, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 12803.

[90] H. Tokuyama, S. Yamago, E. Nakamura, T. Shiraki, Y. Sugiura, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 7918.

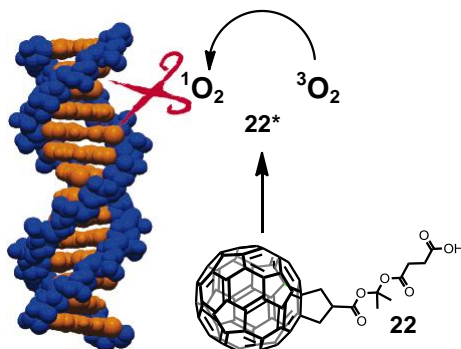


FIGURA 43. La molécula 22 y varios monoadductos análogos eran capaces de fragmentar el ADN en presencia únicamente de luz, mientras que el plásmido de ADN permanecía intacto cuando se cultivó en ausencia de luz. La fragmentación del ADN produce un daño prácticamente irreparable para la célula. El oxígeno singlete produce daños oxidantes en todo tipo de biomoléculas, y provoca apoptosis y muerte celular si los daños oxidantes son suficientemente significativos.

2.1.6.1.2. Foto-inactivación de tumores con derivados de fullereno

Se han utilizado derivados de fullereno para generar oxígeno singlete en el interior o en las proximidades de las células cancerosas. En ocasiones los derivados provocan el daño oxidante en el propio material genético de las células,⁹¹ dañando secuencias de genes imprescindibles para las funciones vitales básicas de las células y provocando su apoptosis. En otras ocasiones, el daño se localiza en la membrana de las células tumorales y cuando los daños oxidantes son elevados, y superan la capacidad de autoreparación de la célula, esta también muere por acumulación de daños oxidantes.⁹² Los sistemas basados en fullereno tienen dos características fundamentales para que su uso como fotosensibilizadores en terapia fotodinámica sea óptimo: 1) selectividad frente a células tumorales y 2) desplazamiento de la absorción hacia mayores longitudes de onda, donde los tejidos son más transparentes a la radiación electromagnética.

Estas optimizaciones pueden llevarse a cabo con una modificación química covalente adecuada, pero también se han conseguido sintetizar, muy recientemente, complejos supramoleculares basados en fullereno. Estos

[91] C. Yu, T. Canteenwala, L. Y. Chiang, B. Wilson, K. Pritzker, *Synth. Met.* **2005**, *153*, 37.

[92] a) F. Liao, Y. Saitoh, N. Miwa, *Oncol. Res.* **2011**, *19*, 203; b) K. Nobusawa, M. Akiyama, A. Ikeda, M. Naito, *J. Mater. Chem.* **2012**, *22*, 22610.

complejos supramoleculares se apoyan en las ciclodextrinas para obtener altas solubilidades en medios acuosos.⁹³

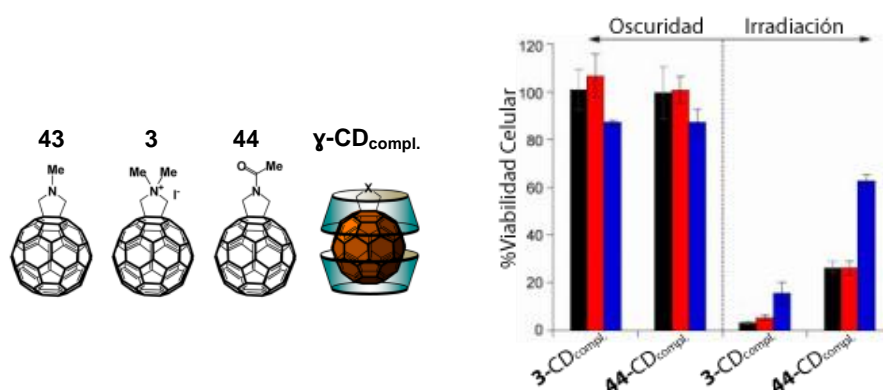


FIGURA 44. Se muestra la influencia sobre la viabilidad de una línea celular. El complejo (43)- γ -CD se mostró mucho menos activo que los complejos formados por (3) y (44), según la escala aproximada 3>44>43-C₆₀-C₇₀. La barra negra indica cultivo celular en presencia de los complejos supramoleculares 3- γ -CD y 44- γ -CD a 2 μ M. La barra azul indica que se usaron las mismas condiciones, pero en presencia de L-Histidina (captador de ¹O₂), y en rojo en presencia de D-Manitol (captador de radicales hidroxilo). En presencia de L-Histidina, los cultivos celulares son más viables, lo que indica que la acción oxidante viene dada principalmente por la generación de ¹O₂. La baja actividad del derivado 43 parece ser debido a que el par de electrones libres del nitrógeno “quenchea” la producción de oxígeno singlete.⁹⁴

Los complejos supramoleculares formados por las ciclodextrinas desplazan las absorciones de luz hacia los 610-720 nm. En esta región del espectro electromagnético, los tejidos vivos son más transparentes a la luz, por lo que es una región muy adecuada para la terapia fotodinámica (PDT).

[93] A. Ikeda, T. Iizuka, N. Maekubo, R. Aono, J.-i. Kikuchi, M. Akiyama, T. Konishi, T. Ogawa, N. Ishida-Kitagawa, H. Tatebe, K. Shiozaki, *ACS Med. Chem. Lett.* **2013**, *4*, 752.

[94] T. D. James, K. R. A. S. Sandanayake, R. Iguchi, S. Shinkai, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 8982.

2.1.7. Propiedades biológicas de otras formas nanoformas del carbono: nanotubos de carbono y grafeno

Existen otras formas del carbono descubiertas con posterioridad a los fullerenos, principalmente dos familias: Nanotubos de Carbono (CNT) y Grafeno. Al igual que los fullerenos, estas nuevas nanoformas están empezando a ser objeto de estudio para su utilización como plataformas para aplicaciones biológicas. Los mayores problemas que presentan estos sistemas para su aplicación tienen que ver, por un lado, con su falta de solubilidad y, por otro, con la descripción de métodos de funcionalización química y caracterización estructural lo más reproducibles posibles.

Por ejemplo, los nanotubos de carbono han sido propuestos como transportadores transmembranales, comunicando el interior y el exterior de una célula, a modo de un canal de transporte pasivo artificial.⁹⁵ Por esta razón, los nanotubos de carbono son estructuras químicas interesantes para el transporte de fármacos a distintos orgánulos celulares donde, de otro modo sería imposible que estos llegasen por transporte activo o pasivo a través de las membranas celulares. Es precisamente esta capacidad que presentan los nanotubos para ser internalizados por las células, la que les hace buenos candidatos para la síntesis de vacunas artificiales, ya que la internalización de patógenos y fragmentos químicos por las células especializadas del sistema inmune es el primer paso para desencadenar una respuesta inmunitaria.⁹⁶

[95] Q. Liu, B. Chen, Q. Wang, X. Shi, Z. Xiao, J. Lin, X. Fang, *Nano Lett.* **2009**, *9*, 1007.

[96] H. Dumortier, S. Lacotte, G. Pastorin, R. Marega, W. Wu, D. Bonifazi, J.-P. Briand, M. Prato, S. Muller, A. Bianco, *Nano Lett.* **2006**, *6*, 1522.

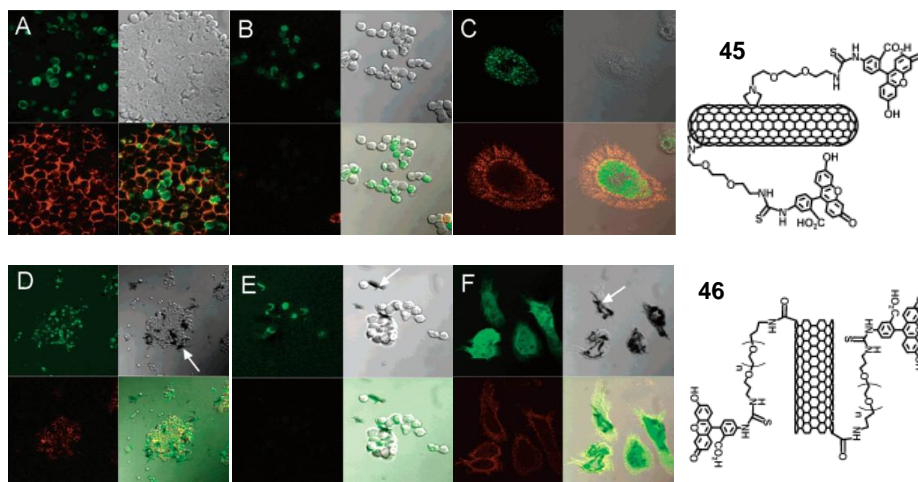


FIGURA 45. Microscopía confocal donde la fluorescencia verde viene dada por el resto fluorescente unido al nanotubo y la roja a un anticuerpo del MHC Clase II marcado, para linfocitos B o con el anticuerpo marcado *pan-marker F4-80* para los macrófagos. A) Linfocitos B, B) Linfocitos T, C) Macrófagos, D) Linfocitos B, E) Linfocitos T, F) Macrófagos.

En la Figura 45 se observan distintas líneas celulares para las que se utilizaron distintos anticuerpos para marcar proteínas específicas de membrana, y observar mediante microscopía confocal el lugar donde se aloja el compuesto **45** o **46** marcado fluorescentemente. Se observa que el compuesto **45** traspasa la membrana plasmática y es internalizado por las células, pero no traspasa la membrana del núcleo celular, quedando alojado en el citoplasma. Este hecho es debido a la naturaleza de los grupos funcionales de la periferia del nanotubo. En otros trabajos, se ha observado que cuando el nanotubo es funcionalizado con fragmentos de ADN o químicamente relacionados, estas estructuras pueden alojarse dentro del núcleo celular.⁹⁷ El derivado **46**, más insoluble que **45**, queda fuera de los linfocitos (Figura 45 D y E) agregado como manojos. Estos manojos o *bundles* son fagocitados por los macrófagos e internalizados. Los macrófagos son también células responsables de la presentación de antígenos a otras células del sistema inmune y desencadenan una respuesta inflamatoria ante patógenos reconocidos y fagocitados.

[97] a) D. Pantarotto, R. Singh, D. McCarthy, M. Erhardt, J. P. Briand, M. Prato, K. Kostarelos, A. Bianco, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 5242; b) Q. Lu, J. M. Moore, G. Huang, A. S. Mount, A. M. Rao, L. L. Larcom, P. C. Ke, *Nano Lett.* **2004**, *4*, 2473; c) Y. Liu, D. C. Wu, W. D. Zhang, X. Jiang, C. B. He, T. S. Chung, S. H. Goh, K. W. Leong, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 4782.

El cultivo de las diferentes líneas celulares de linfocitos en presencia de **45** y **46**, y posterior análisis de las interleucinas segregadas, reveló que no interferían en los procesos habituales celulares y no activaban la diferenciación de los linfocitos. En cambio sí estimulaban a los macrófagos.

Los nanotubos de carbono también se han utilizado con éxito en trabajos contra el cáncer, con la intención de provocar una ablación térmica de tumores sólidos,⁹⁸ o como plataforma para la ingeniería de tejidos y regeneración tisular.⁹⁹

Por otra parte, el grafeno y sus derivados parcialmente oxidados, los conocidos como Óxidos de Grafeno (GO, de sus siglas en inglés) tienen potenciales aplicaciones como matriz para la ionización en espectrometría de masas de grandes biomoléculas, sensores químicos de biomoléculas, distribución controlada de fármacos y genes, así como soporte para el cultivo y diferenciación de líneas celulares.¹⁰⁰

2.1.8. Toxicología de Fullerenos, Nanotubos de Carbono, Grafeno y sus derivados

Cuando se pretende usar una nueva plataforma para validar su uso como un nuevo fármaco, no se pueden obviar los aspectos toxicológicos. Las nanoformas del carbono, cuando se presentan en forma nativa, o sin funcionalizar químicamente, presentan una muy baja solubilidad en medios acuosos o biológicos. Esta insolubilidad es el primer impedimento que se debe tener en cuenta para un estudio toxicológico, pues la excesiva acumulación de estos sistemas químicos, y su muy elevada estabilidad frente a la oxidación enzimática, hace que su eliminación por parte de los organismos vivos sea muy complicada. Pero de modo general puede decirse que cuando la funcionalización química aumenta, y también lo hace la solubilidad, los fullerenos, nanotubos y grafeno, se hacen menos tóxicos.

[98] P. Chakravarty, R. Marches, N. S. Zimmerman, A. D.-E. Swafford, P. Bajaj, I. H. Musselman, P. Pantano, R. K. Draper, E. S. Vitetta, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2008**, *105*, 8697.

[99] N. Saito, Y. Usui, K. Aoki, N. Narita, M. Shimizu, K. Hara, N. Ogiwara, K. Nakamura, N. Ishigaki, H. Kato, S. Taruta, M. Endo, *Chem. Soc. Rev.* **2009**, *38*, 1897.

[100] C. Chung, Y.-K. Kim, D. Shin, S.-R. Ryoo, B. H. Hong, D.-H. Min, *Acc. Chem. Res.* **2013**, *46*, 2211.

Ya en 1994, se sintetizó el primer fullereno parcialmente soluble en agua marcado isotópicamente, con la intención de estudiar la farmacocinética y la biodistribución de estos derivados en animales de laboratorio y la cantidad admitida por células humanas.¹⁰¹

El derivado **47** marcado isotópicamente, se administró por vía intravenosa a ratones de laboratorio.

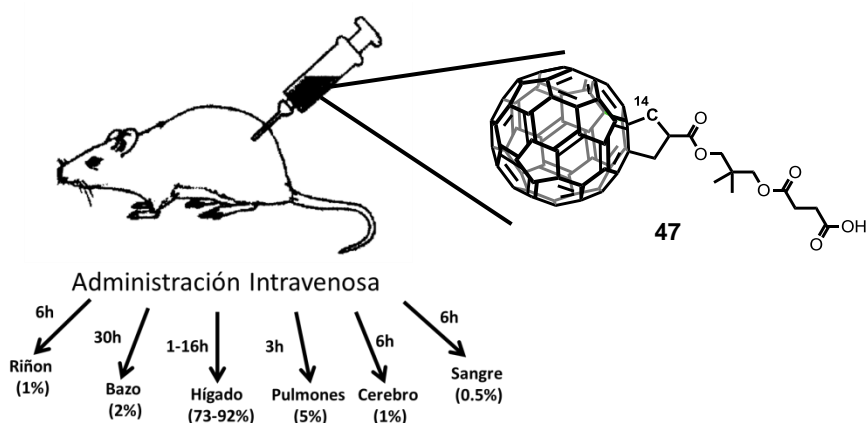


FIGURA 46. El compuesto **47** fue el primer compuesto derivado de fullereno descrito que confirmó que podía traspasar la barrera hematoencefálica. El estudio reveló que los derivados fullerénicos, tienden a acumularse tras 16 h preferiblemente en el hígado, y que su excreción, y tiempo de residencia en los distintos órganos depende principalmente de los grupos con los que el derivado esté funcionalizado.¹⁰²

Cuando se pretende estudiar la toxicología de otras nanoformas del carbono, como los nanotubos de carbono o el grafeno, se deben tener en cuenta otros factores que no son determinantes cuando se habla de moléculas monodispersas como los derivados de fullereno. Entre estos nuevos factores a tener en cuenta están la polidispersidad, el tamaño y la forma. En la Tabla 1, podemos observar similitudes y diferencias entre grafeno y nanotubos de carbono.

[101] a) W. A. Scrivens, J. M. Tour, K. E. Creek, L. Pirisi, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 4517; b) S. Yamago, H. Tokuyama, E. Nakamura, K. Kikuchi, S. Kananishi, K. Sueki, H. Nakahara, S. Enomoto, F. Ambe, *Chem. Biol.* **1995**, *2*, 385.

[102] a) E. Nakamura, H. Isobe, *Acc. Chem. Res.* **2003**, *36*, 807; b) P. Rajagopalan, F. Wudl, R. F. Schinazi, F. D. Boudinot, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1996**, *40*, 2262.


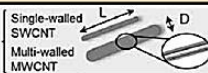








Physicochemical Characteristics	Graphene	Carbon Nanotubes	Difference
Shape	Planar – monolayer or multi-layer ; tunable structure/shape (sheet, ribbon, triangle, hexagon) 	Cylindrical 	Completely different
Dimensions (typical)	Thickness: 0.34 -100nm  Lateral size 0.3 -10µm 	SWCNT: L: 10nm to 1cm D: 0.4 - 3 nm MWCNT: L: 10nm to few microns D: 2-200 nm	Similar
Surface • Area • Charge • Coating	<ul style="list-style-type: none"> Up to 2675m²/g; decrease with layer number varies with functionalization or coating varies with chemical nature (polymer, lipid), type, density & conformation 	<ul style="list-style-type: none"> SWCNT (>1000 m²/g) ; MWCNT (100-500m²/g) varies with functionalization or coating varies with chemical nature (polymer, lipid), type, density & conformation 	<ul style="list-style-type: none"> Quite different Similar Similar
Elasticity/Stiffness	Young modulus of 1100 GPa; able of bending and ripping; stiffness increases with number of layers	SWCNT from 1 to 5 TPa; able of bending MWCNT from 0.2 to 0.95 TPa	Similar
Colloidal stability • Aqueous dispersibility • Aggregation	Dispersibility: Graphene oxide in water  Aggregation: stacking 	Dispersibility: Oxidized CNT in water  Aggregation: bundling and tangling 	Very different
Durability	 Enzymatic degradation by defects in plan	 Enzymatic degradation by unzipping and decrease of L & D	Different
Impurities	Varies with manufacturing process; mainly graphite and chemical residues from processing	Varies with manufacturing process; metal catalysis (Fe, Co, Ni, Cr, Cu, Zn) ; carbon nanoparticles ; amorphous carbon	Very different

TABLA 1. Algunas propiedades físico-químicas relacionadas con su toxicología de grafeno y nanotubos de carbono.¹⁰³

Los problemas toxicológicos más comunes son síntomas similares a la asbestosis, debido a la acumulación de carbono en los pulmones, las vías respiratorias, hígado y bazo. Esta acumulación disminuye con el nivel de funcionalización y el tamaño del grafeno o CNTs, y con los grupos funcionales que presenten estos en su superficie.¹⁰⁴ A nivel celular los nanotubos y grafeno actúan de manera similar y pueden internalizarse por fagocitosis e incluso por endocitosis mediada por receptores de membrana (Figura 37 y Figura 47).

[103] C. Bussy, H. Ali-Boucetta, K. Kostarelos, *Acc. Chem. Res.* **2012**, *46*, 692.

[104] L. Lacerda, H. Ali-Boucetta, M. A. Herrero, G. Pastorin, A. Bianco, M. Prato, K. Kostarelos, *Nanomedicine* **2008**, *3*, 149.

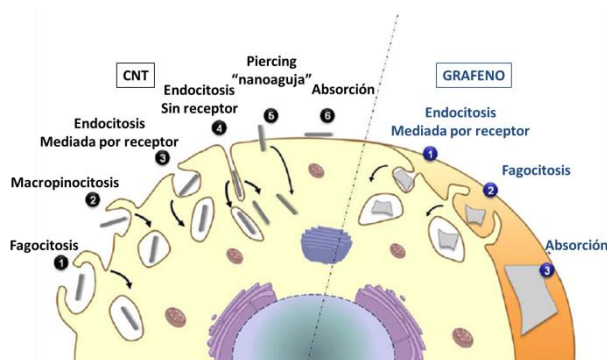


FIGURA 47. Diferentes vías de entrada de los CNTs y grafeno en las células. El modo de interacción con la membrana y los receptores celulares es un paso fundamental para entender de qué modo estos sistemas interactúan en el interior y exterior de las células.

2.2. Sistemas de presentación de carbohidratos para interacción supramolecular multivalente

En los últimos años, el interés despertado por el glicoma se ha incrementado de manera muy notable. El glicoma presenta una gran riqueza estructural, supuestamente cientos de veces más compleja y diversa que el genoma o el proteoma. El glicoma y sus interacciones desencadenan numerosos procesos biológicos básicos, desde el reconocimiento celular al reconocimiento de agentes patógenos o la apoptosis celular entre otros muchos procesos de gran interés en biología y medicina. En este contexto, las ciencias químicas tienen mucho que aportar en la comprensión de las interacciones de tipo supramolecular entre carbohidratos y el resto de estructuras glicosidadas del glicoma, que son el primer paso para desencadenar un proceso biológico. También la química sintética tiene un papel muy relevante en este sentido, ya que puede explorar interacciones artificiales con glicomiméticos sintetizados en laboratorio.

Las interacciones de los carbohidratos con sus receptores son altamente específicas, y en la mayoría de los casos esta interacción está mediada por cationes metálicos, principalmente calcio y magnesio. Sin embargo, estas interacciones son débiles, muy rara vez suelen ser mayores de 10^3M^{-1} . Para solventar este problema, la naturaleza ha dotado a los receptores y los carbohidratos de una presentación multivalente de los mismos, en la superficie de las células. La combinación de dos o más interacciones simultáneas de

carbohidratos en un receptor multimérico, se conoce como *efecto multivalente* o *efecto cluster*.¹⁰⁵

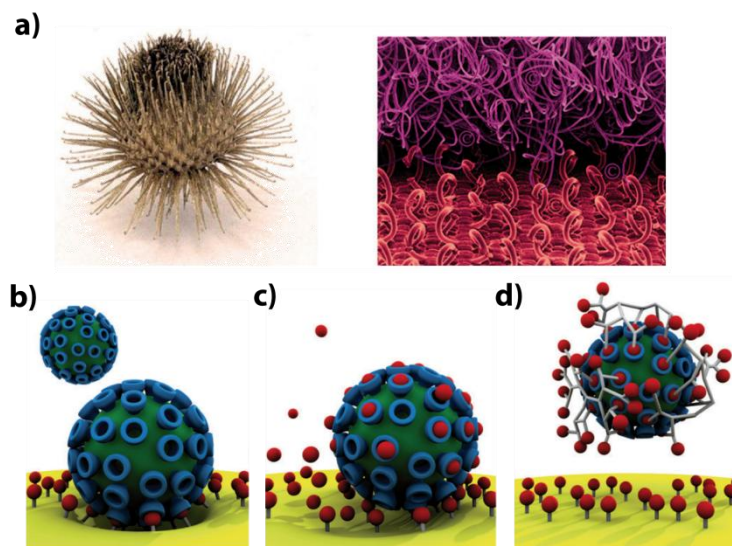


FIGURA 48. En a) se muestra un ejemplo macroscópico de adhesión multivalente, el fruto de la bardana o arrancamaños (*Arctium Lappa*) presenta en su superficie multitud de pequeños ganchos capaces de adherirse a fibras textiles o pelo animal para diseminar sus semillas. A su derecha se muestra una micrografía del Velcro™, inspirado en el fruto de la bardana. A nivel microscópico en b) se representa la adhesión multivalente de un virus a la superficie celular donde se expresan multitud de receptores celulares. En c) se muestra la unión de un virus a los receptores de la célula en presencia de un inhibidor monovalente (aproximación farmacológica clásica). En d) se muestra como un ligando multivalente es capaz de inhibir la adhesión viral evitando el primer estadio de la infección.

Este tipo de interacciones multivalentes presentan numerosas ventajas sobre las interacciones monovalentes, ya que las interacciones sucesivas y cercanas unas a otras, aumentan la afinidad y la especificidad de la interacción y, por tanto, el proceso de reconocimiento molecular. Es necesario puntualizar las diferencias entre multivalencia y cooperatividad.¹⁰⁶ La interacción cooperativa implica un cambio conformacional en la estructura del receptor, que hace que las sucesivas uniones de ligandos sean más favorables (cooperatividad positiva) o más desfavorables (cooperatividad negativa). Además, los ligandos que se unen a distintos sitios del receptor, no tienen por qué ser los mismos. El ejemplo más representativo de cooperatividad es el de la oxigenación de la

[105] J. Lundquist, E. Toone, *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 555.

[106] J. Badjić, A. Nelson, S. Cantrill, W. Turnbull, J. Stoddart, *Acc. Chem. Res.* **2005**, *38*, 723.

hemoglobina, una estructura tetramérica con cuatro sitios activos, con afinidad creciente por el oxígeno según los sitios activos se van ocupando.

Por otro lado, la multivalencia implica la unión simultánea de dos o más subunidades de ligando a un receptor múltiple, que se encuentra sobre un único soporte y sobre una misma entidad, siendo la interacción multivalente varios órdenes de magnitud superior a la interacción monovalente.

2.2.1. Modelos artificiales de sistemas de presentación de carbohidratos

Los sistemas multivalentes de carbohidratos de origen natural son difíciles de obtener, purificar y caracterizar química y estructuralmente. Los glicoconjugados naturales suelen presentarse como glicofomas, en las que varía la posición que ocupan las subunidades de carbohidrato y puede cambiar ligeramente la estructura del propio carbohidrato. Esta variabilidad química y estructural hace que técnicamente sea extremadamente complicado acceder a la purificación o a la síntesis total de estos derivados naturales. Por este motivo, la tendencia de la química sintética es diseñar sistemas simplificados, que presenten propiedades biomiméticas, capaces de aportar unas plataformas adecuadas para sistemas multivalentes. En este sentido, en la bibliografía se han descrito multitud de sistemas multivalentes para el estudio de procesos biológicos.¹⁰⁷ Entre estos sistemas artificiales cabe destacar los péptidos y proteínas,¹⁰⁸ liposomas,¹⁰⁹ dendrímeros,¹¹⁰ calixarenos,¹¹¹ ciclodextrinas,¹¹² polímeros¹¹³ y nanopartículas.¹¹⁴

El diseño de los primeros neoglicoconjugados sintéticos fue publicado en los años 70 por el grupo de Lee. Estaban basados en pequeños ligandos trivalentes

[107] A. Bernardi, J. Jimenez-Barbero, A. Casnati, C. De Castro, T. Darbre, F. Fieschi, J. Finne, H. Funken, K. E. Jaeger, M. Lahmann, T. K. Lindhorst, M. Marradi, P. Messner, A. Molinaro, P. V. Murphy, C. Nativi, S. Oscarson, S. Penades, F. Peri, R. J. Pieters, O. Renaudet, J. L. Reymond, B. Richichi, J. Rojo, F. Sansone, C. Schaffer, W. B. Turnbull, T. Velasco-Torrijos, S. Vidal, S. Vincent, T. Wennekes, H. Zuilhof, A. Imberty, *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 4709.

[108] B. G. Davis, *Science* **2004**, *303*, 480.

[109] G. J. Brewer, N. Matinyan, *Biochemistry* **1992**, *31*, 1816.

[110] M. L. Wolfenden, M. J. Cloninger, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 12168.

[111] F. Cardona, G. Isoldi, F. Sansone, A. Casnati, A. Goti, *J. Org. Chem.* **2012**, *77*, 6980.

[112] A. Martínez, M. C. Ortíz, F. J. M. García, *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 4746.

[113] J. Geng, F. Biedermann, J. M. Zayed, F. Tian, O. A. Scherman, *Macromolecules* **2011**, *44*, 4276.

[114] M. Marradi, F. Chiodo, I. Garcia, S. Penades, *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 4728.

derivados del trishidroximetilaminometano (TRIS),¹¹⁵ A los que posteriormente se han ido incorporando morfologías más alejadas de los sistemas naturales y más complejas (Figura 49).

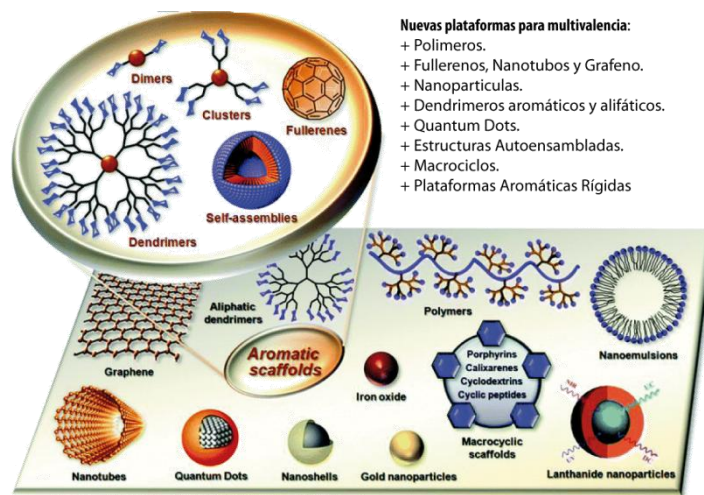


FIGURA 49. Nuevas plataformas para sistemas multivalentes.¹¹⁶

Los dendrímeros y dendrones son estructuras muy versátiles que pueden emplearse para la presentación multivalente de carbohidratos. La palabra dendrímero proviene del griego, de la palabra *Dendro-* que significa *árbol*, y del sufijo *-mer*, que significa *segmento* o *parte*. Por tanto una estructura química dendrítica es una molécula que se ramifica del mismo modo que lo hace un árbol, consiguiéndose mediante nodos y ramificaciones una muy alta densidad de grupos funcionales por superficie de molécula.

[115] Y. C. Lee, *Carbohydr. Res.* **1978**, 67, 519.

[116] Y. M. Chabre, R. Roy, *Chem. Soc. Rev.* **2013**, 42, 4657.

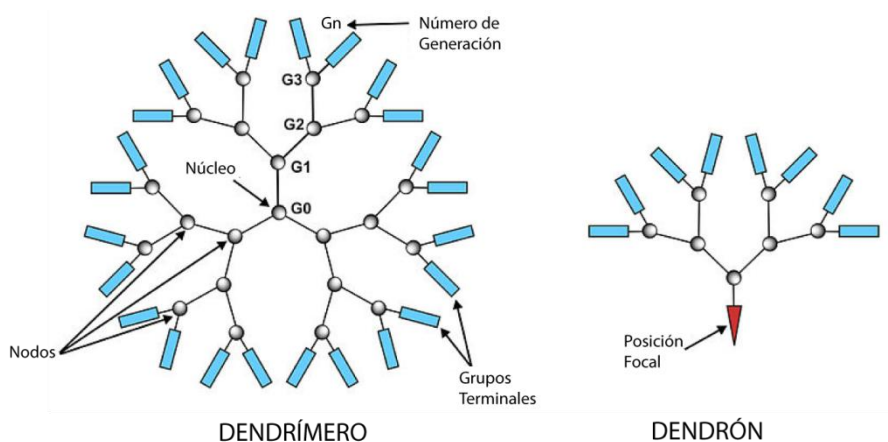


FIGURA 50. Diferencias morfológicas entre un dendrímero de tercera generación (G3) y que no posee una posición focal susceptible de seguir ramificándose, y un dendrón. Los nodos pueden ser cualquier grupo funcional susceptible de ser ramificado químicamente.

También se han usado sistemas artificiales, basados en sistemas naturales para conseguir neoglicanos de varios nanómetros de tamaño, que puedan ser comparables en tamaño a los agentes infecciosos. Un ejemplo de reciente publicación es el trabajo publicado por Rojo, Davis y *col.*¹¹⁷ en el que se utiliza un núcleo central proteico que posee características de naturaleza química y tamaño similares a una partícula viral, que aportará solubilidad y biocompatibilidad. Esta parte proteica tiene grupos funcionales distribuidos de manera muy uniforme en su superficie, unas 180 posiciones que son susceptibles de ser funcionalizadas con un dendrón que posee 3 ó 9 unidades de manosa en sus extremos usando protocolos de “Click-Chemistry” catalizada por Cu(I).

Este diseño racional, compuesto por un núcleo proteico decorado uniformemente con carbohidratos en su superficie y que mimetiza la cápside glicosidada de un virus, presenta una muy alta capacidad para bloquear la infección de virus como el Ébola ($IC_{50} \sim 0.65\text{nm}$), siguiendo un modelo de inhibición competitiva, como se muestra esquemáticamente en la Figura 51.

[117] R. Ribeiro-Viana, M. Sánchez-Navarro, J. Luczkowiak, J. R. Koeppe, R. Delgado, J. Rojo, B. G. Davis, *Nat. Commun.* **2012**, 3, 1303.

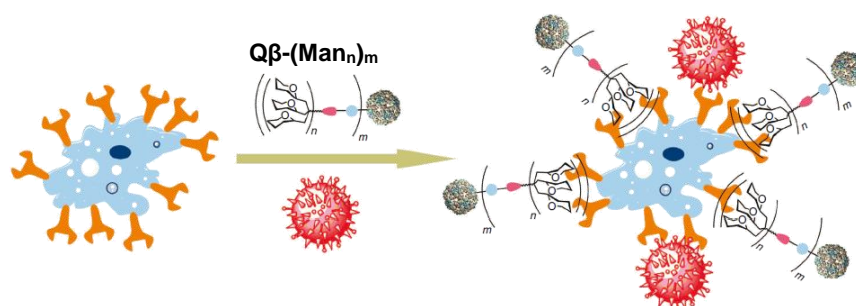


FIGURA 51. Se muestra cómo una célula de Jurkat (Linfocito T), expresa en su superficie la lectina DC-SIGN (en naranja). Esta lectina está implicada en el reconocimiento de numerosos agentes patógenos, pero algunos virus, como el HIV o el Ébola interaccionan fuertemente con DC-SIGN, siendo esta interacción la etapa inicial de la infección.¹¹⁸ Por ello, las partículas glicosidadas compiten por los receptores DC-SIGN con los virus (en rojo), bloqueando la entrada de estos en las células.

2.2.2. Vacunas sintéticas

Con el conocimiento paulatino que se va adquiriendo del glicoma y sus implicaciones dentro de la biología, y junto al desarrollo de la química de carbohidratos y péptidos, pueden diseñarse partículas que sean reconocidas por las células especializadas. En el diseño de estos sistemas se pretende utilizar una parte glicosidada, que sea la responsable de interaccionar de manera multivalente con el receptor de membrana. De este modo, la parte glicosidada de la partícula actuaría como un biomimético de las paredes de muchos agentes patógenos, las cuales están decoradas en su exterior con carbohidratos de diferente naturaleza. DC-SIGN participa de una forma crucial en uno de los mecanismos que utiliza nuestro organismo para el reconocimiento de patógenos y su posterior presentación a células del sistema inmunitario (células T) para generar una respuesta inmune adaptativa (en contraposición a la respuesta inmune innata).

Esta lectina está presente en la superficie de las células dendríticas (DCs) que forman parte de un grupo específico de células del sistema inmunitario denominadas células presentadoras de antígenos (APCs). Estas células son los centinelas que tiene el sistema inmune para detectar y defenderse de la invasión

[118] a) Y. van Kooyk, T. B. Geijtenbeek, *Nat. Rev. Immunol.* **2003**, *3*, 697; b) T. B. Geijtenbeek, R. Torensma, S. J. van Vliet, G. C. van Duijnhoven, G. J. Adema, Y. van Kooyk, C. G. Figdor, *Cell* **2000**, *100*, 575.

de patógenos, encargándose de capturar y procesar los fragmentos antigénicos. Los altos niveles de expresión de DC-SIGN en células dendríticas inmaduras y la alta afinidad que presenta por las glicoproteínas de la envoltura de algunos patógenos, indican que el receptor DC-SIGN está dotado de la capacidad de capturar de forma eficiente estos patógenos. Después de la interacción e internalización del patógeno, estas células dendríticas maduran, sufren una serie de complejas transformaciones y adquieren la capacidad de migrar al tejido linfático para presentar los antígenos procesados en forma de complejos MHC a las células T y desencadenar una respuesta inmune.¹¹⁹

En 2000 se diseñó la primera vacuna totalmente sintética utilizando técnicas de unión química ortogonal entre aminoácidos glicosidados, principalmente L-lisina, y mimetizando la parte glicosidada de los antígenos con carbohidratos simples, como la manosa y conjugados con hidracinas y enlaces tioéter, obteniéndose el compuesto **48**.¹²⁰

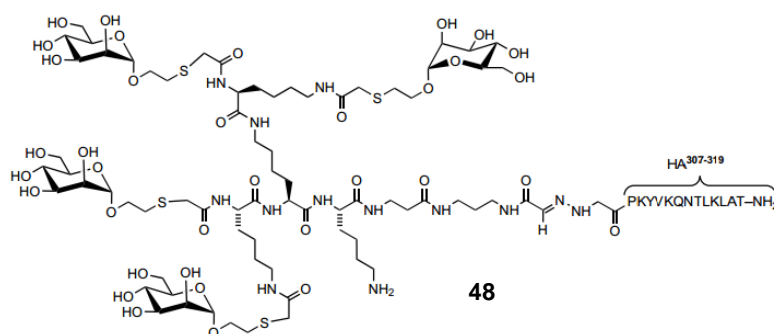


FIGURA 52. Vacuna sintética modular, que posee una parte peptídica glicosidada con manosa **48**.

El derivado **48** posee un diseño racional para una posible aplicación como vacuna totalmente sintética. Por una parte, posee un epítipo de naturaleza peptídica, perteneciente al virus de la gripe y muy conservado evolutivamente, el cual es reconocido por el MHC y posteriormente presentado a los Linfocitos

[119] a) A. J. Engering, M. Cella, D. Fluitsma, M. Brockhaus, E. C. Hoefsmit, A. Lanzavecchia, J. Pieters, *Eur. J. Immunol.* **1997**, 27, 2417; b) J. Banchereau, R. M. Steinman, *Nature* **1998**, 392, 245.

[120] C. Grandjean, C. Rommens, H. Gras-Masse, O. Melnyk, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, 39, 1068.

T. Con este tipo de aproximaciones, en los últimos años se están intentando diseñar moléculas totalmente sintéticas que sean útiles para tratar tumores. Las diferencias químicas entre un tejido sano y un tejido canceroso pueden ser muy sutiles, y estas diferencias químicas se expresan principalmente en el glicoma. Por ello, se pretende adiestrar al sistema inmunitario a reaccionar contra los tejidos cancerosos mediante moléculas exógenas. Los esfuerzos sintéticos se han dirigido a obtener un vacuna modular que incluya un epítipo activador de las células B, como puede ser el epítipo glicosidado T_n (O-[2-(acetilamino)-2-deoxi- α -D-galactopiranosil]-L-serina), o de forma simplificada (GalNAc-O-Ser), y que está relacionado con muchos tejidos cancerosos. Por otra parte, unido covalentemente al epítipo T_n, se conecta un pequeño péptido activador de los linfocitos y un adyuvante agonista del receptor TLR-2, como el lipopéptido Pam₃Cys. Esta estrategia fue implementada por Singhal y col.¹²¹ ya en 1994 (Figura 53), y este tipo de estrategia modular ha inspirado otros trabajos posteriores. Se han desarrollado estrategias de conjugación química que permiten anclar carbohidratos complejos a proteínas o secuencias peptídicas con una función biológica determinada. Esto abre la puerta a la síntesis total o síntesis de miméticos de glicoproteínas de la superficie de las células expresadas en diferentes patologías como el cáncer, lo que será de gran utilidad para la obtención de epítopos reconocibles por el sistema inmune.¹²²

[121] T. Toyokuni, S. Hakomori, A. K. Singhal, *Bioorg. Med. Chem.* **1994**, 2, 1119.

[122] a) R. J. Payne, C.-H. Wong, *Chem. Commun.* **2010**, 46, 21; b) D. Macmillan, C. R. Bertozzi, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, 43, 1355; c) M. R. Pratt, C. R. Bertozzi, *Chem. Soc. Rev.* **2005**, 34, 58; d) B. G. Davis, *Chem. Rev.* **2002**, 102, 579; e) N. Gaidzik, U. Westerlind, H. Kunz, *Chem. Soc. Rev.* **2013**, 42, 4421.

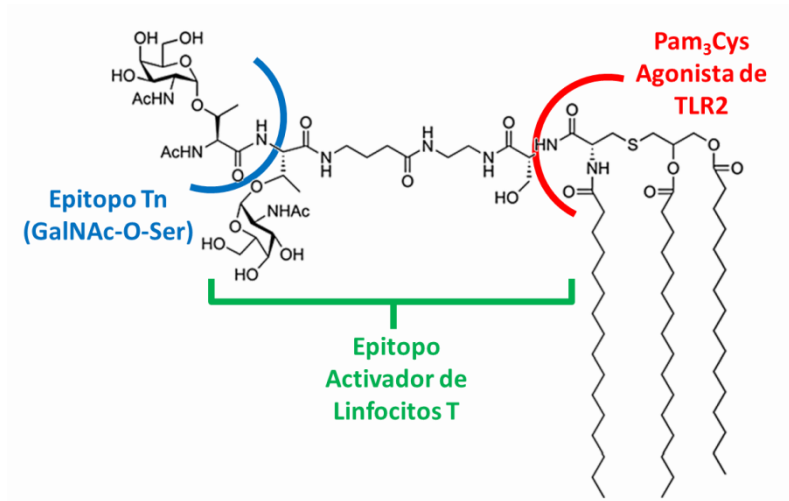


FIGURA 53. Partes de una vacuna sintética modular. En azul se tiene el epítipo Tn, expresado en multitud de cánceres agresivos, como el cáncer de páncreas. En verde se señala un pequeño péptido glicosidado que actúa como epítipo reconocible por los linfocitos T. En rojo se muestra la parte correspondiente del lipopéptido Pam₃Cys, que es reconocido por los receptores TLR2, uno de los receptores más importantes en el reconocimiento de patógenos.

OBJETIVOS

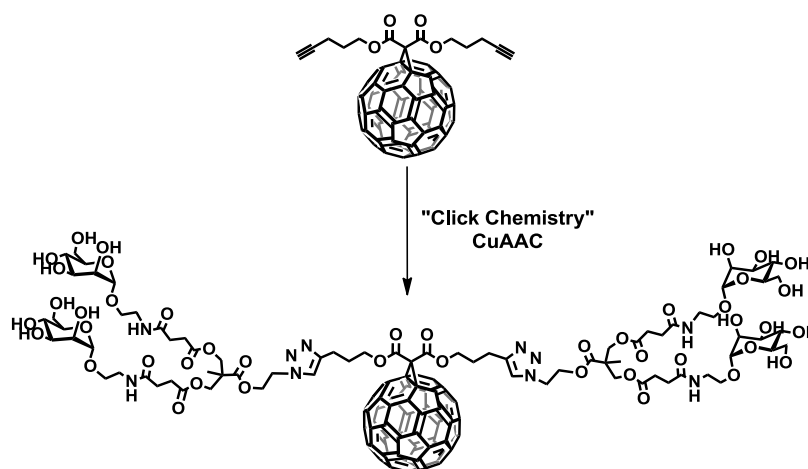
El principal objetivo de este capítulo consiste en obtener fullerenos y otras nanoformas de carbono solubles en medios polares, aumentando la biocompatibilidad y disminuyendo su toxicidad. De esta forma, se pretende obtener derivados útiles en química médica, haciendo posible su posterior evaluación biológica.

Con el fin de desarrollar un protocolo versátil, nos propusimos emplear reacciones de tipo “Click-Chemistry” para llevar a cabo la modificación química en la periferia del fullereno.

En consecuencia, se pretenden alcanzar los siguientes objetivos:

3.1. Síntesis de monoadductos de fullereno funcionalizados con carbohidratos

Se llevará a cabo a partir de monoadductos de C_{60} con alquinos terminales en su periferia, para poder realizar la posterior modificación mediante reacciones de cicloadición 1,3-dipolar catalizadas por Cu(I) entre alquinos y azidas (CuAAC).

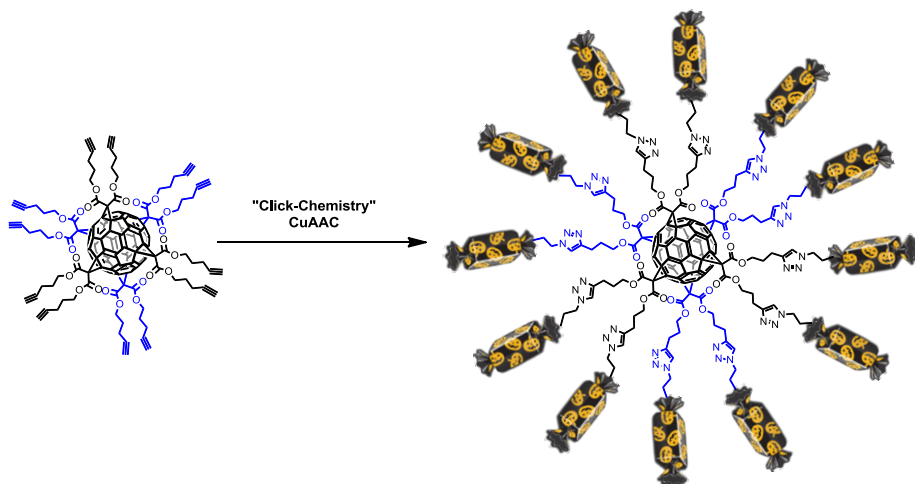


ESQUEMA 8. Metodología para la modificación química de los monoadductos de fullereno.

3.2. Síntesis de hexaadductos simétricos de fullereno

Un objetivo principal del presente trabajo es la validación del fullereno C_{60} como plataforma para la presentación de carbohidratos. En este sentido, los

hexaaductos de [60]-fullereno ofrecen una presentación globular de los azúcares, imitando la estructura de los virus. Químicamente, se puede abordar este reto mediante la unión covalente de multitud de grupos polares en un solo paso de síntesis empleando reacciones de CuAAC.



ESQUEMA 9. Metodología para la obtención de las "Bolas de azúcar de fullereno".

3.3. Síntesis de hexaaductos asimétricos de fullereno

La obtención de hexaaductos asimétricamente sustituidos nos permitirá acceder a fullerenos funcionalizados con carbohidratos en la periferia y que posean, además, una o dos posiciones reactivas para llevar a cabo modificaciones químicas posteriores (Figura 54).

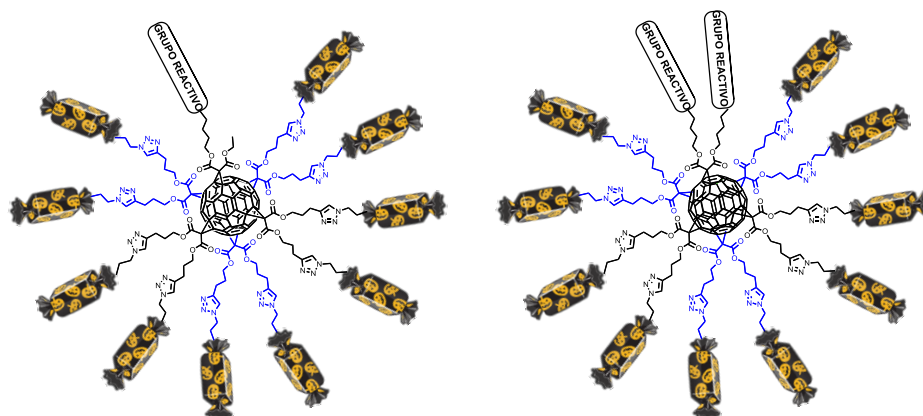


FIGURA 54. “Bolas de azúcar de fullereno” funcionalizadas asimétricamente.

3.4. Estudio de las propiedades biológicas de los productos anteriormente sintetizados

Llevándose a cabo en tres áreas diferenciadas:

3.4.1. Estudio de la interacción con lectinas mediante ITC (Isothermal Titration Calorimetry). Estudio del efecto multivalente

Valoraciones termodinámicas que proporcionen datos para la optimización de la morfología y parámetros de enlace entre el ligando multivalente y un modelo comercial de lectina, como la Concanavalina A.

3.4.2. Estudio de la inhibición de la infección viral en células humanas

Se emplearán células humanas modificadas genéticamente para que sean capaces de sobreexpresar la lectina DC-SIGN en su superficie. Cuando se cultivan estas células en presencia de un ligando multivalente y un virus pseudotipado, ambos competirán por el receptor DC-SIGN, obteniéndose una atenuación o una completa inhibición de la infección viral.

3.4.3. Fotosensibilizadores: Generación de oxígeno singlete

Estudiaremos la generación de oxígeno singlete en fullerenos con distinto nivel de funcionalización, explorando las posibilidades de estos sistemas en terapia fotodinámica.

3.5. Empleo de nanotubos de carbono como plataformas para la presentación multivalente de carbohidratos

Se pretende usar la reacción CuAAC para la funcionalización de CNTs, aumentando su biocompatibilidad, reduciendo la toxicidad a la vez que se aumenta la solubilidad en medios biológicos. Emplearemos como bloques de construcción molecular los hexaaductos asimétricos previamente sintetizados.

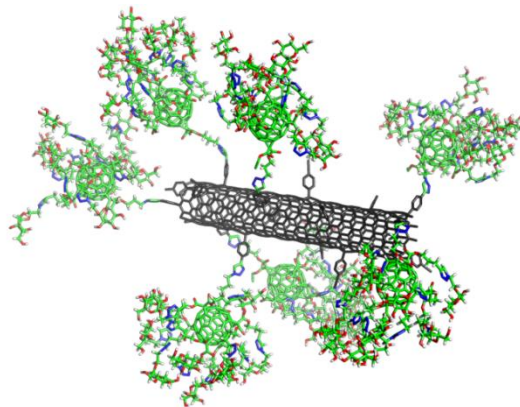


FIGURA 55. Nanotubos de carbono funcionalizados con “Bolas de azúcar de fullereno asimétricas”. Nueva morfología para la presentación multivalente de carbohidratos.

EXPOSICIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

4.1. Síntesis de derivados de fullereno altamente funcionalizados solubles en medios acuosos

Basándonos en los antecedentes expuestos anteriormente, en nuestro grupo de investigación nos propusimos desarrollar una nueva metodología basada en la funcionalización intensiva de fullerenos con grupos polares y biocompatibles. Conseguir disoluciones estables de fullerenos en agua o en disolventes polares será el primer objetivo de la presente tesis doctoral.

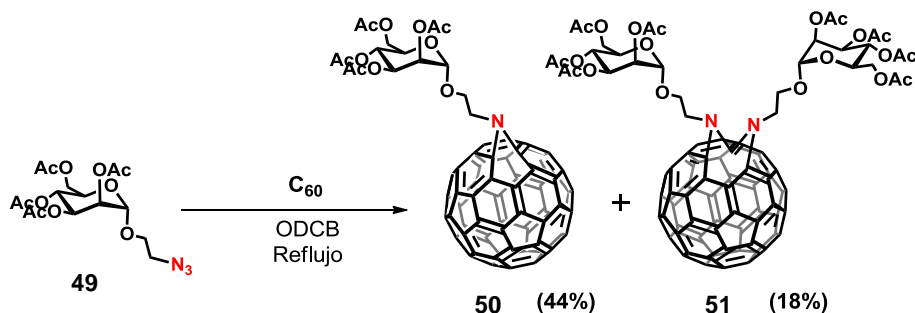
Para el diseño de nuevas moléculas con potencial actividad terapéutica, es necesario dotar a los fullerenos de multitud de grupos polares y biocompatibles. En este trabajo nos centraremos en unir covalentemente grupos sin carga, o aniónicos, pues en trabajos anteriores se demuestra que son compuestos menos tóxicos.¹²³

Existen ciertas dificultades operativas para hacer accesible el fullereno a una química polar en pocos pasos sintéticos, derivadas de las propias características del fullereno.

- Los fullerenos carecen de grupos funcionales, a excepción de sus dobles enlaces, que además no son coordinantes.
- Baja o nula solubilidad en disolventes polares como alcoholes, éteres o disolventes de naturaleza alifática, y en la mayoría de disolventes típicos de un laboratorio.
- Los fullerenos pueden sufrir poliadiciones a sus dobles enlaces si no se controlan bien las condiciones de reacción, lo que podría conducir a una compleja mezcla de regioisómeros difícilmente separable.

Nuestra primera aproximación para conseguir fullerenos solubles en agua fue mediante la adición directa de azidas sobre el esqueleto del C₆₀. De este modo directo se pueden obtener glicofullerenos y dendrofullerenos en muy pocos pasos sintéticos y con un método de síntesis convergente. Como se mostró en los antecedentes, es posible controlar la adición de una o dos moléculas de azida orgánica sobre el C₆₀, controlando la estequiometría y la temperatura de la reacción.⁴⁸

[123] a) R. Injac, M. Perse, N. Obermajer, V. Djordjevic-Milic, M. Prijatelj, A. Djordjevic, A. Cerar, B. Strukelj, *Biomaterials* **2008**, 29, 3451; b) D. A. Arndt, M. Moua, J. Chen, R. D. Klaper, *Environ. Sci. Technol.* **2013**, 47, 9444.



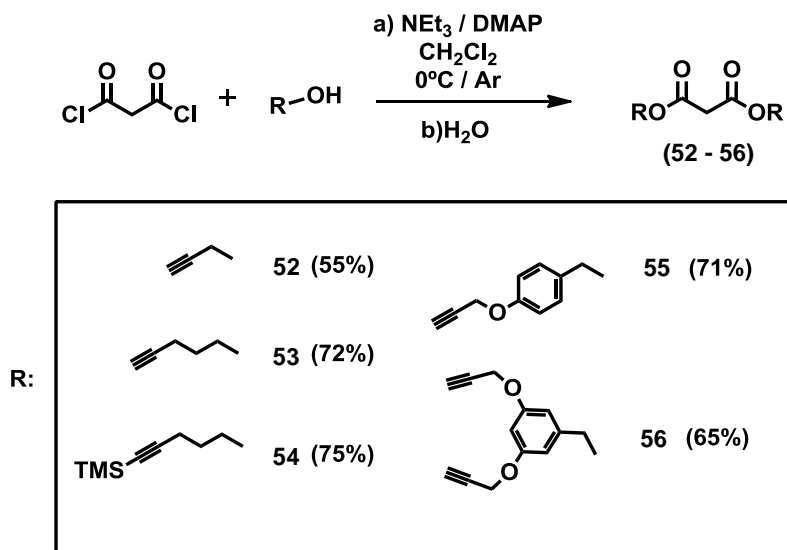
ESQUEMA 10. Obtención de los compuestos 50 y 51 mediante adición directa de azidas.

Esta metodología se mostró eficaz para el desarrollo de glicofullerenos y dendrofullerenos, con una o dos subunidades de fragmentos que contienen multitud de grupos polares, a través de un enlace tipo aziridina estable a altas temperaturas y a la presencia de luz, y en un solo paso de síntesis desde la azida. Sin embargo, este tipo de reacción tiene limitaciones desde el punto de vista sintético, que deben ser valoradas. Los rendimientos obtenidos en la reacción fueron discretos para los monoadductos y pobres si nos referimos a los bisadductos, por lo que se pensó en la utilización de condiciones de reacción menos enérgicas.

4.2 Síntesis de monoadductos con alquinos terminales en su periferia

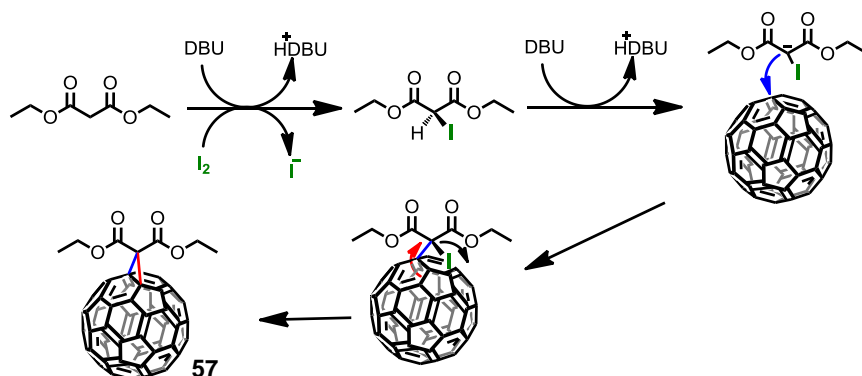
Con el fin de usar la reacción de CuAAC para derivatizar fullerenos, sintetizamos una serie de malonatos funcionalizados con alquinos terminales. Estos malonatos reaccionan en condiciones suaves con el fullereno, mediante una ciclopropanación de Bingel.¹²⁴ La síntesis de los malonatos (**52-56**) se llevó a cabo mediante una doble esterificación, usando como producto de partida el cloruro de malonilo y un alcohol que contiene un alquino terminal en presencia de cantidades catalíticas de DMAP, trietilamina como base y en DCM anhidro como disolvente (Esquema 11).

[124] C. Bingel, *Chem.Ber.* **1993**, 126, 1957.



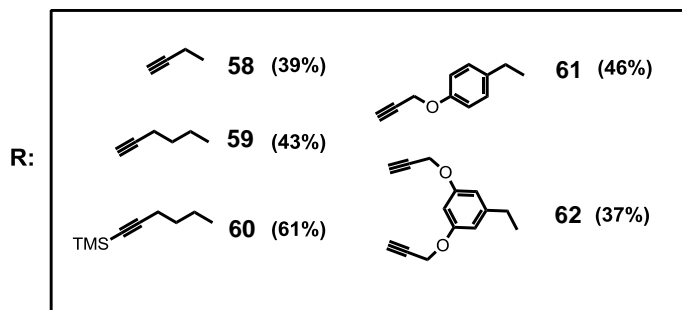
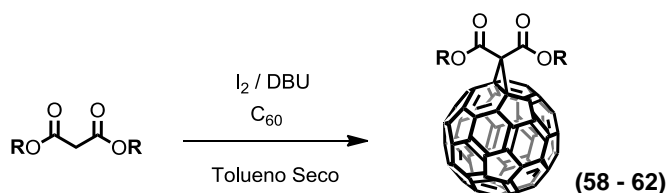
ESQUEMA 11. Síntesis de malonatos funcionalizados con alquinos.

La unión covalente de estos derivados sobre el [60]-fullereno se lleva a cabo utilizando la reacción de ciclopropanación de Bingel, mediante la desprotonación con una base orgánica no nucleófila, como la DBU, de un protón unido al carbono α con respecto a los dos carbonos carbonílicos, y posterior ataque electrófilo del yodo molecular. Esto produce una yodación sobre el carbono α . La presencia de la DBU conduce a otra desprotonación, generándose un α -halocarbanión. Esta especie es la que se adiciona a un doble enlace del fullereno, mientras que el posterior ataque del par de electrones proveniente del fullereno desplaza el halógeno y genera el ciclopropano (Esquema 12).



ESQUEMA 12. Mecanismo propuesto para la ciclopropanación de Bingel sobre el C_{60} , para conseguir el monoadducto 57.

Siguiendo esta metodología se han sintetizado una serie de monoadductos de C_{60} funcionalizados con alquinos Esquema 13.



ESQUEMA 13. Síntesis general para la obtención de monoadductos tipo Bingel.

Esta serie de derivados de fullereno poseen dos posiciones reactivas en su periferia para el anclaje de diferentes motivos moleculares. Los compuestos obtenidos se han caracterizado mediante las técnicas espectroscópicas y analíticas habituales. De manera análoga se sintetizaron otros malonatos con alquenos terminales para la síntesis de diferentes derivados de fullereno, su síntesis detallada se encuentra en la parte experimental de este capítulo.

A modo de ejemplo, en la Figura 56 se muestra el espectro de ^1H -RMN para el compuesto **61**, donde se han asignado las señales observadas. Es característica la desaparición de la señal a 3.33 ppm correspondiente a los dos protones ácidos en α a los grupos carbonilo. También se observa un acoplamiento de $J = 2.4$ Hz correspondiente a los protones **a** y **b**, además de un sistema *para* en la zona aromática, que justifica la estructura correspondiente al compuesto **61**.

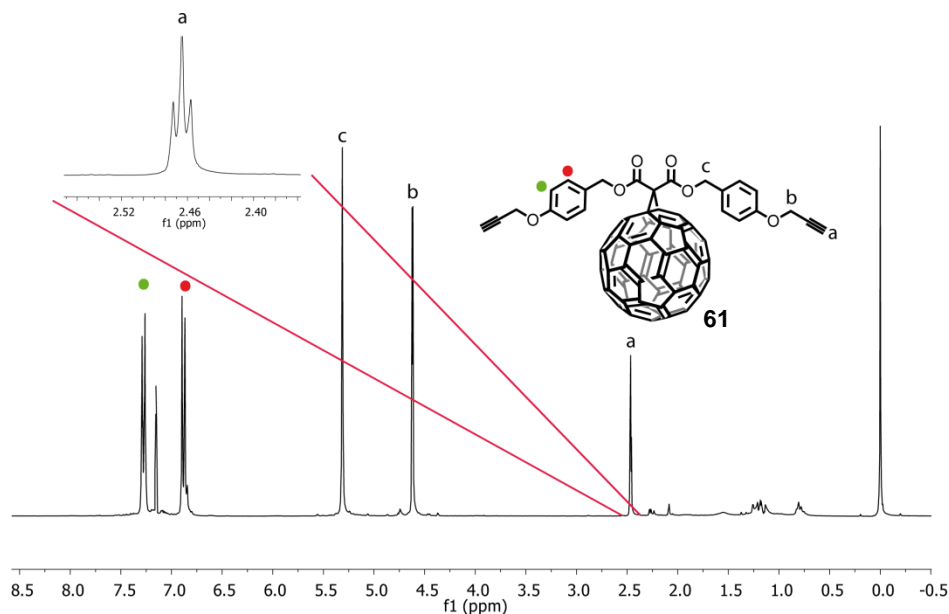


FIGURA 56. Espectro de ^1H -RMN (300MHz, CDCl_3 , 298 K) del compuesto **61**.

Este tipo de monoadductos Bingel sintetizados mediante la adición de un malonato simétrico, presentan una simetría C_{2v} , por lo que su espectro de ^{13}C -RMN presenta un máximo de 15 señales comprendidas entre 138.0 y 144.1 ppm, correspondientes a los carbonos sp^2 de la unidad de C_{60} . En la Figura 57 se recoge el espectro obtenido para el compuesto **61**. Además de las señales características del fullereno, se observa también el carbono cuaternario correspondiente al carbono puente (~ 57 ppm, en rojo) y los carbonos sp^3 del fullereno, que se observan como una única señal en torno a 69 ppm (en verde).

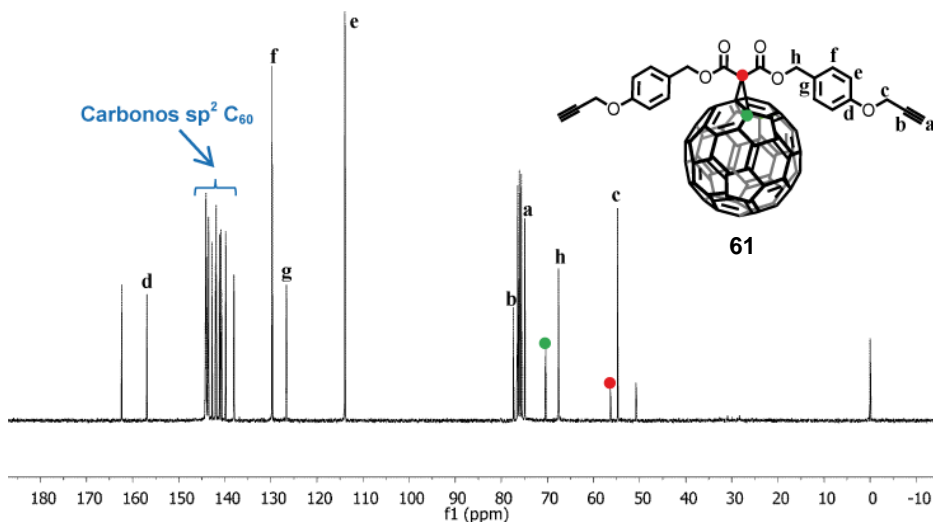


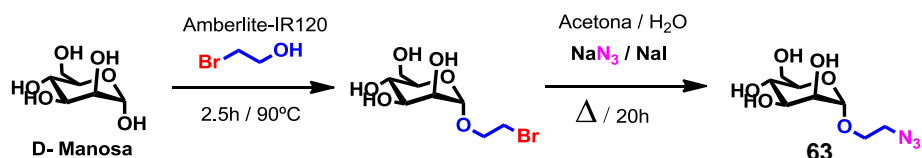
FIGURA 57. Espectro de ^{13}C -RMN (75 MHz, CDCl_3 , 298 K) del compuesto 61.

Los espectros de masas de los monoadductos **58-62** muestran, en todos los casos, una intensa señal correspondiente al pico molecular asociado a sodio $[\text{M-Na}]^+$. Los espectros de FT-IR muestran señales características propias de la banda de alquino terminal, en torno a 2100 cm^{-1} , y las señales correspondientes a los carbonos carbonílicos, en torno a $\sim 1740\text{ cm}^{-1}$. Estos derivados presentan buenas solubilidades en la mayoría de los disolventes comunes de laboratorio, y su solubilidad se incrementa notablemente con respecto al C_{60} sin funcionalizar.

4.3 Síntesis de monoadductos de C_{60} funcionalizados con carbohidratos

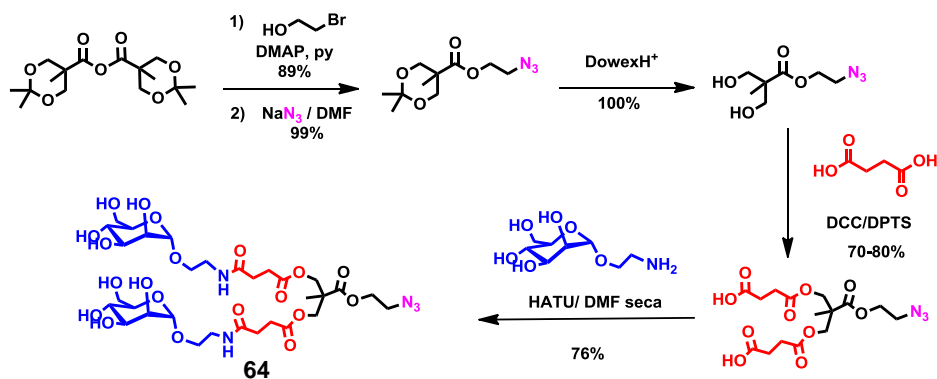
Utilizando como producto de partida los monoadductos Bingel funcionalizados periféricamente con alquinos terminales, se ha llevado a cabo una síntesis convergente conjugando químicamente el [60]-fullereno y el carbohidrato mediante “Click Chemistry”, en concreto utilizando la reacción CuAAC, en el último paso de la síntesis. Para ello, hemos empleado carbohidratos funcionalizados con el grupo azida o bien dendrones que poseen varias unidades de azúcar y con un grupo azida en posición focal. Este trabajo se desarrolló de manera conjunta con el Laboratorio de Glicosistemas del Instituto de Investigaciones Químicas de la Cartuja en Sevilla que dirige el Dr. Javier Rojo.

Para la funcionalización de los carbohidratos en el carbono anomérico se utilizó un procedimiento en un solo paso, utilizando una resina de intercambio de protones, como se muestra en el Esquema 14.¹²⁵



ESQUEMA 14. Funcionalización del carbono anomérico de la D-manosa, utilizando una resina de intercambio protónico en un solo paso, sin necesidad de grupos protectores. La posterior sustitución nucleófila con azida sódica conduce al compuesto 63 funcionalizado con el grupo azida.

Los glicodendrones se sintetizaron siguiendo una secuencia sintética en varios pasos con altos rendimientos (Esquema 15).



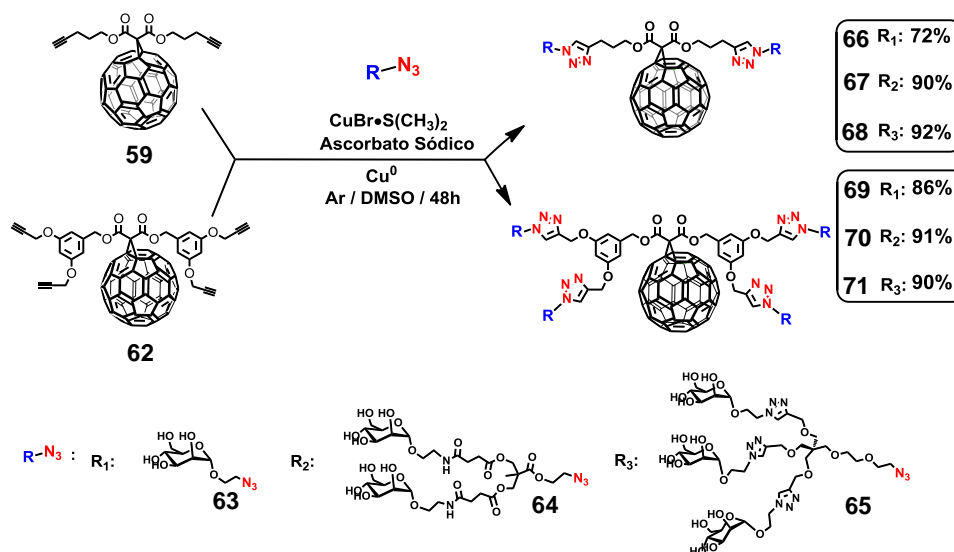
ESQUEMA 15. Secuencia sintética para la obtención del glicodendrón 64.¹²⁶

Este tipo de dendrones con un grupo azida en la posición focal y dos unidades glicosídicas en los extremos permite unir al fullereno dos carbohidratos por cada reacción de “Click-Chemistry”. Para ello, se puso a punto una metodología para la conjugación de estas especies tan distintas químicamente. El uso de un disolvente como el DMSO, para mantener todas las especies participantes en la reacción en disolución, es primordial para que la reacción se complete con buenos rendimientos. También se observó que es de capital

[125] a) J. Geng, G. Mantovani, L. Tao, J. Nicolas, G. Chen, R. Wallis, D. A. Mitchell, B. R. G. Johnson, S. D. Evans, D. M. Haddleton, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 15156; b) B. G. Davis, R. C. Lloyd, J. B. Jones, *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 9614.

[126] M. Sánchez-Navarro, *Tesis Doctoral* **2009**.

importancia la concentración en la que se encuentren los reactivos, siendo las reacciones llevadas a cabo a concentraciones elevadas las que condujeron a resultados más satisfactorios. Como procedimiento general para llevar a cabo estas reacciones se utilizó como catalizador el complejo $\text{CuBr}\cdot\text{S}(\text{CH}_3)_2$, en una proporción de 0.25 equivalentes por alquino, en presencia de cobre metálico, y un reductor suave como ascorbato sódico, en una proporción de 0.5 equivalentes por alquino. La azida se utiliza en la reacción en un ligero exceso estequiométrico, entre 1.2 y 1.5 equivalentes por alquino. Los tiempos de reacción oscilan entre 24 y 48 horas.



ESQUEMA 16. Síntesis de los monoadductos funcionalizados con carbohidratos (66-71).

El exceso de azida utilizado permite la total conversión hacia los productos deseados con rendimientos elevados.

La caracterización de estos compuestos se llevó a cabo por las técnicas espectroscópicas y analíticas habituales. Este tipo de compuestos presentan un espectro de ^1H -RMN muy complejo y poco definido, donde aparecen multitud de protones isócronos. Como señal más característica, se observa la aparición de un protón aromático correspondiente al anillo de triazol resultante de la reacción "Click". Otra técnica utilizada para caracterizar estos glicofullerenos es la ^{13}C -RMN, donde es posible asignar mediante técnicas bidimensionales,

como HMQC, las señales más características de esta familia de compuestos. A modo de ejemplo, se muestra el espectro ^{13}C -RMN de (**67**) en la Figura 58.

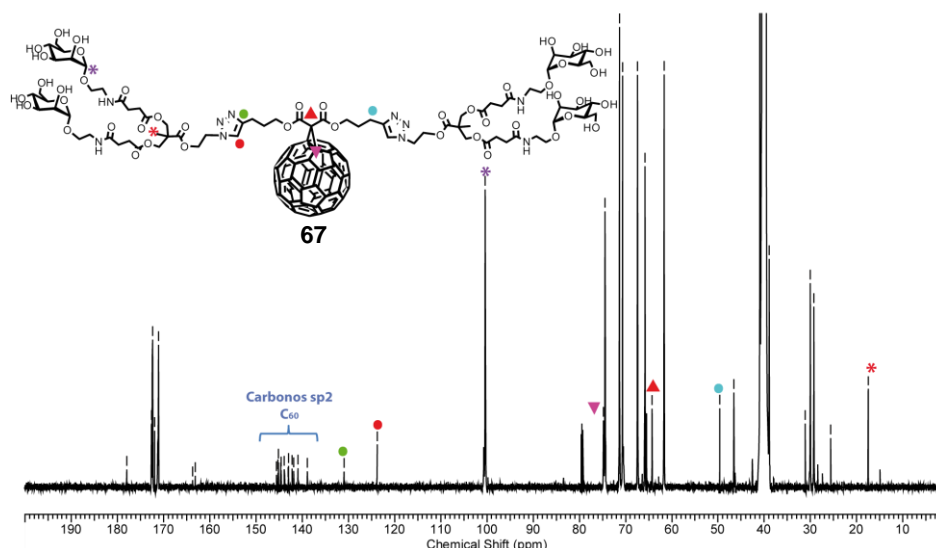


FIGURA 58. Espectro de ^{13}C -RMN (125 MHz, $\text{DMSO-}d^6$, 298 K) del compuesto **67**.

En la Figura 58 se asignan los carbonos más característicos de esta familia de moléculas. En torno a 100 ppm se muestra el carbono anomérico correspondiente a las manosas. Las señales de los dos carbonos del anillo de triazol aparecen en torno a 123 ppm para el carbono terciario (en rojo) y 131 ppm para el carbono cuaternario (en verde). Son características de estos compuestos las señales correspondientes al carbono puente del malonato en torno a 64 ppm (triángulo rojo), y los dos carbonos sp^3 del fullereno unidos al carbono puente a 74 ppm (triángulo morado).

En el espectro infrarrojo (FT-IR) de estos compuestos se puede apreciar cómo las señales características del grupo azida y del alquino terminal, cercanas a $\sim 2100\text{ cm}^{-1}$, han desaparecido, lo que indica la total conversión de los productos de partida. Los compuestos mostrados en el Esquema 16 presentan una es razonable solubilidad en tampones a pH fisiológico.

Los compuestos menos ramificados, o con menos azúcares presentan solubilidades bajas en medios acuosos en el caso del compuesto con dos

manosas (**66**) y discretas en el caso del glicofullereno con cuatro manosas (**69**). Normalmente requieren de la participación de un co-disolvente como el DMSO junto con el agua para formar una disolución homogénea, por ejemplo también $\text{CH}_3\text{COOH}/\text{CH}_3\text{COONa}:\text{DMSO}$ 12:1. Esta baja solubilidad dificultó la caracterización espectroscópica de estos productos. Sin embargo, la purificación de estos compuestos puede llevarse a cabo por precipitación en AcOEt.

Para incrementar la solubilidad de estos sistemas en medios acuosos nos propusimos incrementar el número de carbohidratos alrededor de la subunidad del fullereno, llegando hasta doce unidades de manosa por fullereno (**71**).

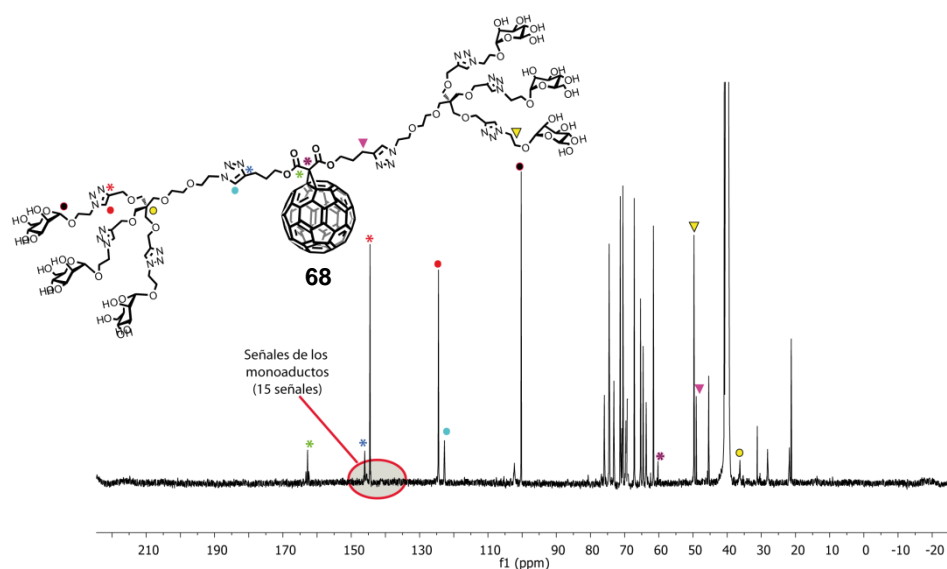


FIGURA 59. Espectro de ^{13}C -RMN (175 MHz, $\text{DMSO}-d_6$, 298 K) del compuesto **68**. La zona señalada corresponde a la zona donde deberían aparecer 15 señales correspondientes a los monoadductos de C_{60} .

El compuesto **68** es muy soluble en agua destilada y en tampones con pH fisiológicos. Su solubilidad se ve incrementada en todos los disolventes, por lo que su caracterización fue más sencilla que la de los derivados que contenían menos carbohidratos. El espectro de ^1H -RMN presenta señales muy anchas y solapadas; sin embargo, el espectro ^{13}C -RMN muestra señales definidas, excepto las correspondientes con los carbonos sp^2 del C_{60} , entre 139 y 146 ppm. Posiblemente, estas señales no se observan debido a la agregación entre las unidades de C_{60} en disolución, que impide que el disolvente deuterado polar esté en contacto con las unidades de fullereno de la molécula. Para confirmar

esto, llevamos a cabo estudios preliminares de agregación por microscopía electrónica de barrido (SEM-FEG) en agua deuterada (Figura 60).

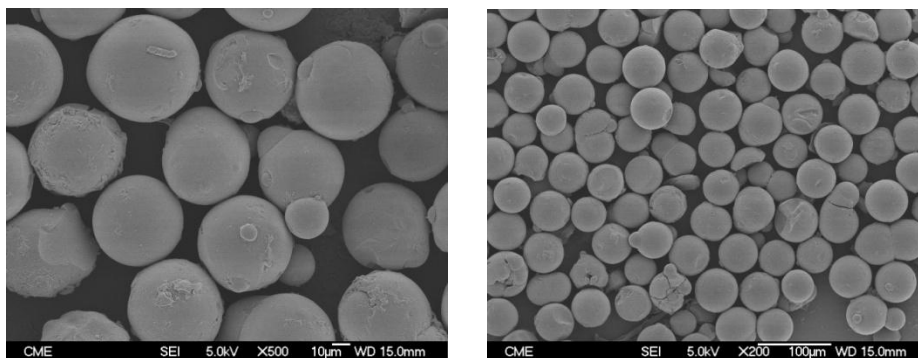


FIGURA 60. Imágenes de SEM-FEG del glicofullereno 68. Se observan agregados esféricos y compactos.

Se observan agregados esféricos de tamaño uniforme, donde la parte glicosidada de la molécula maximiza su contacto con el disolvente polar, mientras que el fragmento de C_{60} minimiza el contacto con el medio circundante.

Capítulo 1. Exposición y discusión de resultados

El espectro de masas de estos compuestos muestra un complejo pico molecular, comprendido en una distribución gaussiana de pesos moleculares, típica de glicodendrimeros. Por ejemplo, para el compuesto **68** se observa el pico molecular asociado con sodio ($C_{157}H_{154}N_{24}O_{50}Na$) de masa molecular 3199 Da y el pico asociado a cobre ($C_{157}H_{154}N_{24}O_{50}Cu$) que aparecen a 3249 Da en MALDI-TOF (Figura 61).

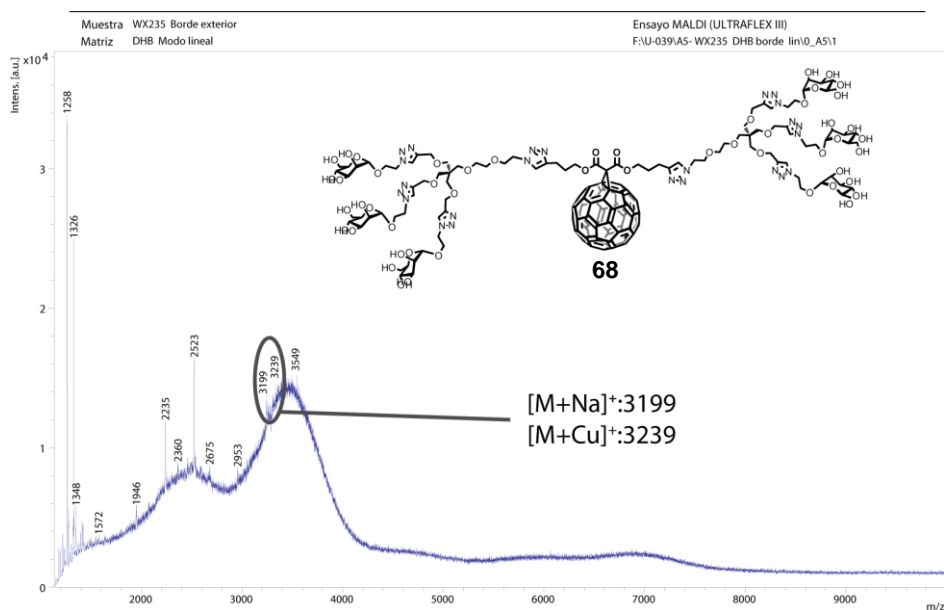


FIGURA 61. Espectro de masas MALDI-TOF del compuesto **68**.

4.4. Estudio termodinámico mediante calorimetría de la interacción entre glicofullerenos y la lectina vegetal Concanavalina A

Para el estudio de la interacción multivalente entre los glicofullerenos y una lectina, se utilizó una vegetal como la Concanavalina A, aislada de la alubia *Canavalia ensiformis*, y que está disponible comercialmente. Esta aproximación es muy adecuada para realizar estudios preliminares, antes de experimentar la interacción con lectinas no comerciales o glicoproteínas humanas o animales implicadas en funciones biológicas complejas, como el reconocimiento celular de patógenos o desencadenación de una respuesta inmune. Para validar la familia de glicofullerenos sintetizados y si su interacción es de tipo multivalente con las glicoproteínas, se llevó a cabo un

estudio calorimétrico, mediante la técnica de valoración isotérmica calorimétrica (ITC).

Esta es una técnica física que permite determinar los parámetros termodinámicos de las interacciones químicas, midiendo la cantidad de calor desprendido o absorbido. Es una técnica cuantitativa mediante la cual pueden medirse directamente constantes de afinidad o de interacción (K_A), variaciones de entalpía (ΔH) y la estequiometría entre receptor y ligando (n) de la interacción entre dos o más moléculas. De este modo, es posible obtener la energía libre de Gibbs (ΔG) y la variación entrópica (ΔS) del proceso de interacción mediante la ecuación:

$$\Delta G = -RT \ln K_A = \Delta H - T\Delta S$$

donde R es la constante universal de los gases ideales y T la temperatura expresada en grados Kelvin.

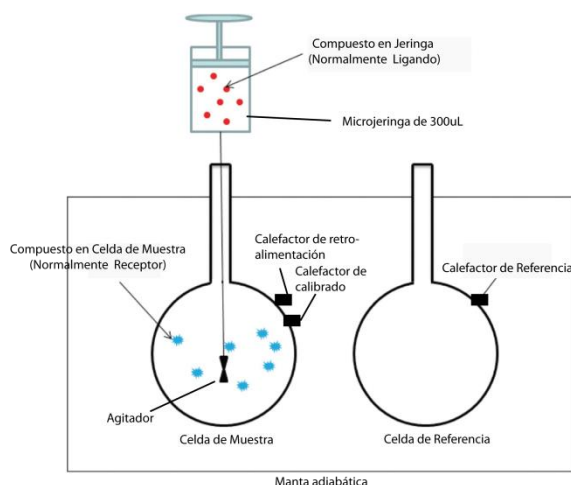


FIGURA 62. Representación esquemática de un equipo de ITC.¹²⁷

Un calorímetro está compuesto por dos celdas idénticas hechas de un material termoconductor de alta eficiencia recubierto por una manta adiabática, como se muestra en la Figura 62. Se emplean dos circuitos muy sensibles, uno de termopila y otro de termopar, para detectar diferencias en la temperatura entre

[127] VP-ITC, *Instruction Manual* 2001, *MicroCal Inc. Northampton, MA*, <http://www.microcalorimetry.com>.

la celda de referencia, que normalmente se llena con tampón o agua destilada, y la celda de muestra, donde se aloja la macromolécula. Durante el experimento, el ligando se añade a la celda de muestra en cantidades perfectamente conocidas, absorbiendo o desprendiendo calor. Las medidas que se recogen son la potencia en función del tiempo requerida para mantener una temperatura idéntica en la celda de muestra y la de referencia.¹²⁸ Los datos se recogen como las $\mu\text{cal/s}$ necesarias para mantener la temperatura en ambas celdas igual. Como resultado, se obtienen una serie de picos de flujo de calor-inyección que pueden integrarse con respecto al tiempo, dando lugar al calor producido en cada inyección. Estos calores intercambiados se representan en función de la concentración conocida del ligando y del receptor y, mediante un ajuste matemático, se obtienen los parámetros termodinámicos.

4.4.1. Lectinas

Las lectinas son proteínas que unen mono- u oligosacáridos reversiblemente y con alta especificidad, carecen de actividad catalítica y no intervienen en la respuesta inmune, pero sí pueden intervenir en el reconocimiento de patógenos. Cada lectina contiene normalmente dos o más lugares de unión con carbohidratos. Cuando las lectinas interaccionan con los azúcares de células o virus, se produce un entrecruzamiento (“cross-linking”) y se produce un fenómeno de precipitación conocido como aglutinación, que es común en sistemas que interaccionan de manera multivalente.¹²⁹

Las lectinas se encuentran en la mayoría de los organismos, desde virus a animales superiores. La Concanavalina A se usa entre otras aplicaciones, como sistema modelo para el estudio de las interacciones carbohidrato-proteína.

[128] a) R. O'Brien, J. E. Ladbury, B. Z. Chowdry, *Isothermal titration calorimetry of biomolecules* **2000**, Ed. Harding, S.E.; Chowdry B.Z, Oxford University Press; b) T. K. Dam, C. F. Brewer, *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 387.

[129] a) M. Ambrosi, N. R. Cameron, B. J. Davis, *J. Org. Biomol. Chem.* **2005**, *3*, 1593; b) A. Pusztai, S. Bardocz, *Lectins Biomedical Perspectives.* **2005**, Taylor & Francis.

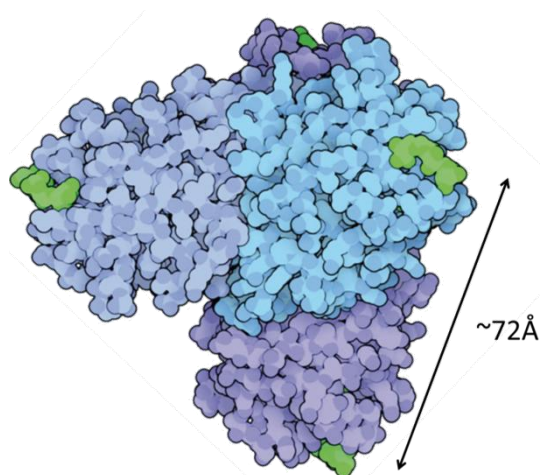


FIGURA 63. Estructura de la Con A con derivados de D-manosa (en verde) unidos en los lugares de reconocimiento, separados entre ellos 72 Å.

La Concanavalina A (Con A) tiene especificidad por α -D-piranosas como la D-glucosa y la D-manosa, que tienen grupos hidroxilo en la misma disposición espacial en C-3, C-4 y C-6.¹³⁰ Esta proteína se presenta como un tetrámero a un pH > 7, como un dímero a $5.6 < \text{pH} < 6$ y como un monómero a pH < 5.6. Cada unidad monomérica posee una masa de 25600 Da y posee un lugar de unión para carbohidratos y dos lugares de unión para cationes metálicos, típicamente Mn^{2+} y Ca^{2+} . Al menos uno de los dos cationes divalentes es imprescindible para que se produzca la unión con el carbohidrato.¹³¹

4.4.2. Experimentos de ITC con glicomonoadductos de C₆₀

Los derivados **66** y **69**, que poseen menos unidades de manosa, no presentaron una buena solubilidad en un medio acuoso compatible con la Concanavalina A y las valoraciones calorimétricas no arrojaron datos reproducibles. Sin embargo, sí se consiguieron datos reproducibles con los derivados **67** y **70**, que se muestran en la Figura 64 y en la Tabla 2.

[130] I. J. Goldstein, R. D. Poretz, *The Lectins* **1986**, (Liener, I.E.; Sharon, N.; Goldstein, I. J eds) Academic Press, Inc., New York.

[131] J. Bouckaert, R. Loris, F. Poortmans, L. Wyns, *Proteins Struct. Funct. Genet.* **1995**, 23, 510.

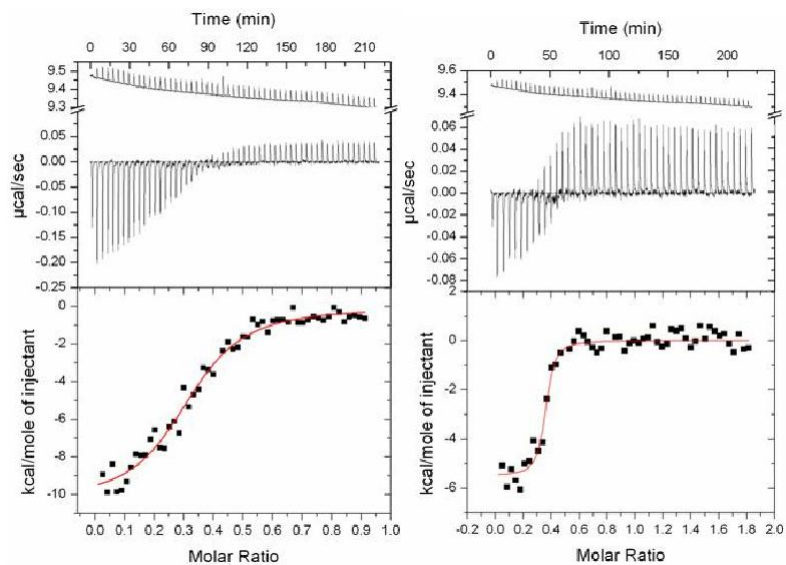


FIGURA 64. Valoración de Con A con 67 (4manosas) (a la izquierda) y 70 (8manosas) (derecha) en tampón de fosfato de sodio, con 500 mM de NaCl, 1 mM de CaCl₂ y MnCl₂ (pH 7,2) a 25°C. Los paneles superiores muestran los datos calorimétricos en bruto obtenidos para 55 inyecciones automáticas de 3 µL cada uno de 67 (0.030 mM) y 70 (0.292 mM). El área bajo los picos se integra y se representa frente a la relación molar del conjugado correspondiente y Con A. Las líneas continuas representan el mejor ajuste de los datos experimentales a un modelo de n sitios iguales e independientes.

TABLA 2. Datos termodinámicos del ajuste matemático de la valoración calorimétrica. Todos los datos que se muestran en la tabla son la media ponderada y la desviación estándar de tres valoraciones independientes.

	$K^{[a]}/M^{-1}$ $\times 10^4$	ΔG /Kcal·mol ⁻¹	ΔH /Kcal·mol ⁻¹	ΔS /cal·M ⁻¹ ·K	$n^{[c]}$	1/n
Me- α -D Man, ^[b]	7.6	-5.3	-6.8	-5.0	1.02	1
67 (4-Man)	91.3 ± 8.4	-9.8 ± 0.5	-9.8 ± 0.5	-5.7 ± 1.9	0.34 ± 0.01	2.94
70 (8-Man)	1060.0 ± 76.5	-5.5 ± 0.3	-5.5 ± 0.3	13.3 ± 2.8	0.34 ± 0.04	2.94

(media ± desviación estándar); [a] Constante de asociación K_a ; [b] Metil- α -D- manopiranosido;
[c] Estequiometría del complejo glicofullereno/Con A

Los resultados mostrados en la Tabla 2 se referenciaron con el ligando monovalente metil- α -D-manopiranosido.¹³² El compuesto con cuatro manosas **67** muestra un efecto multivalente en comparación con el ligando monovalente de referencia. Con una valencia cuatro veces superior (cuatro manosas frente a una), presenta una constante de asociación de $91.3 \pm 8.4 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}$, unas 12 veces superior en comparación al valor encontrado para el carbohidrato monovalente de referencia ($7.6 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}$). La estequiometría del proceso es de $n = 2.94$, lo que quiere decir que a cada glicofullereno **67** se le unen tres monómeros de Con A, es decir, los glicofullerenos se comportan como un ligando trivalente frente a la Con A.

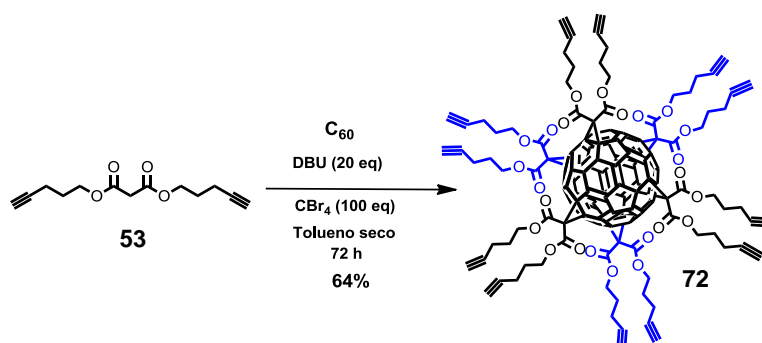
Cuando observamos los resultados de la interacción con el derivado de 8 manosas **70**, se detecta un incremento en la constante de asociación con la lectina de casi 12 veces con respecto a **67**, y aproximadamente 140 veces en relación al carbohidrato monovalente de referencia. La constante de asociación es de $1060.0 \pm 76.5 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}$. En todos los casos vemos que el proceso de unión es exotérmico, siendo algo menos exotérmico para el compuesto **70**, que sin embargo muestra una contribución entrópica muy favorable, lo que produce un aumento global de la constante de asociación. Este dato parece indicar que se producen multitud de procesos distintos de interacción con la Con A, debido a fenómenos de autoasociación entre las moléculas de **70**, que resulta en un aumento de la interacción multivalente, al ser el complejo supramolecular autoensamblado el que interacciona directamente con la lectina. Efectivamente, esta formación de agregados supramoleculares se ha observado en sistemas químicamente muy similares como los agregados formados por **68**, mostrados en la Figura 60.

Además, tras las medidas de ITC, se observaron, fenómenos de aglutinación-precipitación, que se observan cuando se vacía la celda de muestra, y que son indicativos de que se está produciendo una interacción multivalente.

[132] a) T. K. Dam, R. Roy, S. K. Das, S. Oscarson, C. F. Brewer, *J. Biol. Chem.* **2000**, 275; b) B. N. Murthy, S. Sinha, A. Surolia, S. S. Indi, N. Jayaraman, *Glycoconjugate J.* **2008**, 25, 313.

4.5. Síntesis de hexakis-adiuctos de C₆₀

En la búsqueda de nuevas estructuras solubles derivadas del C₆₀, los poliadiuctos de tipo Bingel, en concreto los hexakis-adiuctos de C₆₀, o simplemente hexaadiuctos de C₆₀, son especialmente interesantes. Este tipo de compuestos se preparan por adición de tipo Bingel, sobre seis dobles enlaces de la misma molécula de fullereno (Esquema 12). La adición de malonatos sobre el C₆₀ conduce a una molécula de simetría octaédrica (Esquema 17).



ESQUEMA 17. Síntesis modificada para la obtención hexaadiuctos simétricos.

En los primeros trabajos sobre síntesis de hexaadiuctos se utilizaba DMA (9,10-dimetilantraceno) que actúa como plantilla para labilizar los dobles enlaces del C₆₀.¹³³ En este trabajo hemos utilizado un método más reciente descrito en 2006 por Sun y col.¹³⁴ el cuál utiliza un gran exceso de agente bromante y base, como se muestra en el Esquema 17, con rendimientos mucho mayores, que se aproximan al 60% tras la purificación cromatográfica en gel de sílice. Este tipo de reacciones se desarrollan con gran rapidez. Así a los pocos segundos de adicionar los 20 equivalentes de DBU se observa el cambio de color a rojizo-anaranjado, colores típicos de los poliadiuctos de C₆₀. Sin embargo, para conseguir mayores rendimientos, la reacción se mantiene bajo agitación durante 72 h para favorecer la conversión hacia el hexaadiucto de simetría T_h, que es el producto de control termodinámico.

[133] a) X. Camps, E. Dietel, A. Hirsch, S. Pyo, L. Echegoyen, S. Hackbarth, B. Röder, *Chem. Eur. J.* **1999**, *5*, 2362; b) A. Hirsch, I. Lamparth, T. Groesser, H. R. Karfunkel, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 9385.

[134] H. Li, S. A. Haque, A. Kitaygorodskiy, M. J. Meziani, M. Torres-Castillo, Y.-P. Sun, *Org. Lett.* **2006**, *8*, 5641.

La purificación y la determinación estructural de estos compuestos es el paso limitante para la obtención de este tipo de estructuras y sus derivados en cantidades apreciables.

La caracterización del compuesto 72 se ha llevado a cabo usando las técnicas habituales. Así, en el espectro de ^1H -RMN podemos observar señales que aparecen agrupadas en tres grupos, donde no es posible distinguir bien la multiplicidad debido a que estas señales corresponden a multitud de protones isócronos, debido a la alta simetría de la molécula. Entre 4.55 y 4.11 ppm aparece un multiplete que integra por 24 protones, correspondiente a los protones del metileno unido al oxígeno del éster. Entre 2.41 y 2.12 ppm aparece un multiplete correspondiente a los 24 protones de los metilenos contiguos ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{R}$). Por último, el grupo de señales que aparecen entre 2.06 y 1.76 corresponde a los 12 protones de los alquinos terminales junto con los 24 protones de alifáticos contiguos a él, sumando un total de 36 protones, como puede verse en la Figura 65. Se observan así los 84 protones de la molécula.

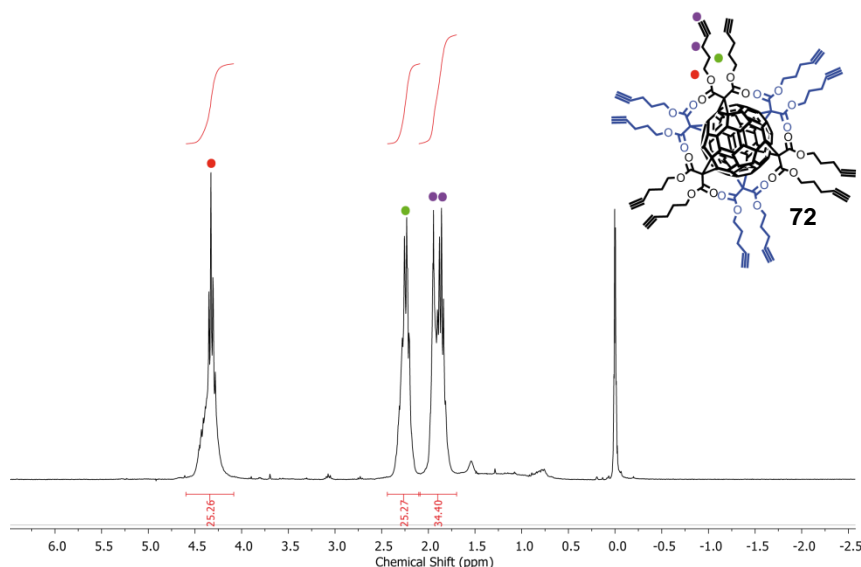


FIGURA 65. Espectro de ^1H -RMN (300 MHz, CDCl_3 , 298 K) del derivado 72.

Posiblemente, la prueba espectroscópica más determinante para confirmar la formación de la estructura octaédrica correspondiente al hexaaducto **72** sea su espectro de ^{13}C -RMN. En él se observa una disminución del número de señales correspondientes al esqueleto del C_{60} en comparación con los monoadductos que presentan una simetría C_{2v} , para los que se observan un máximo de 15 señales entre 139 y 147 ppm. Para los hexaaductos únicamente se encuentran dos señales correspondientes a los carbonos sp^2 que mantienen su hibridación original (Figura 65). La observación de únicamente dos señales puede considerarse el indicio más determinante de que tenemos un hexaaducto puro de geometría octaédrica y sin presencia de derivados con menor grado de sustitución.

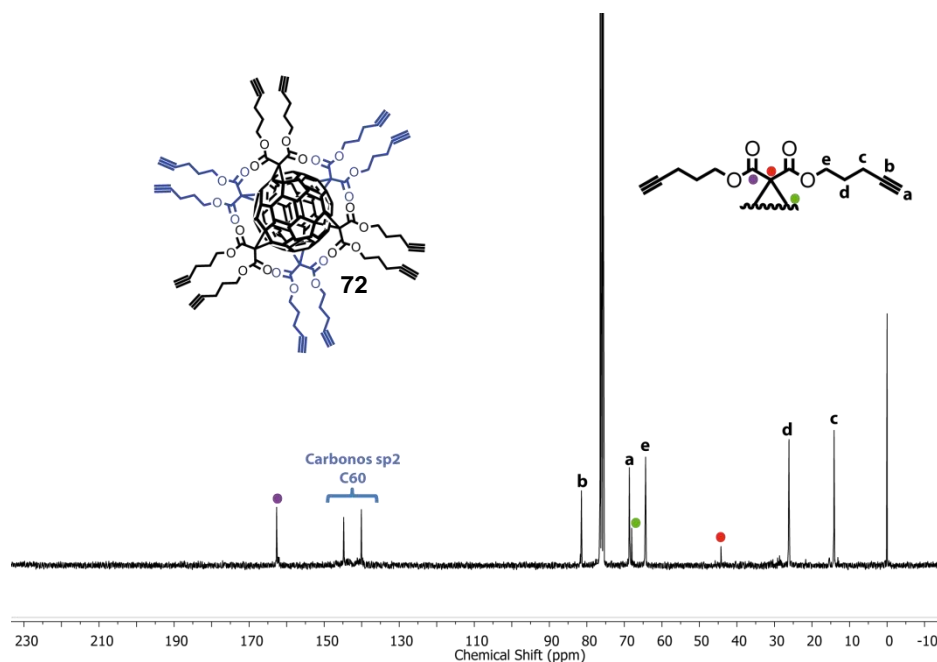


FIGURA 66. Espectro de ^{13}C -RMN (75 MHz, CDCl_3 , 298 K) del derivado **72**. El espectro fue obtenido con 2.000 acumulaciones, y con un tiempo de relajación $\text{D1} = 1$ segundo.

El espectro de FT-IR del compuesto **72** muestra una señal débil correspondiente a los alquinos terminales, en torno a 2100 cm^{-1} debido a la alta

simetría de la molécula.¹³⁵ Cuando se producen reacciones posteriores sobre los alquinos terminales, y se pierde la alta simetría, la intensidad de señal del alquino terminal se intensifica notablemente, por lo que la espectroscopía infrarroja se convierte en una potente herramienta para la monitorización de las reacciones sobre los alquinos terminales de estas moléculas.

En espectrometría de masas se observa el pico molecular ($m/z = 2124.8$) correspondiente a la estructura del hexaaducto **72** con doce alquinos terminales en su periferia. Este derivado es un bloque de construcción molecular muy versátil que emplearemos ampliamente durante el presente trabajo, ya que posee un gran interés tanto en nanomedicina como en ciencias de materiales.

4.6. Modificación química de hexaaductos vía “Click-Chemistry”: Obtención de “Bolas de Azúcar” de fullereno.

Para la modificación química del hexaaducto **72** mediante el uso de la reacción CuAAC, se tuvo que desarrollar un procedimiento eficaz para funcionalizar en un solo paso de reacción 12 posiciones reactivas con rendimientos cuantitativos. Las metodologías descritas para este tipo de reacciones varían mucho dependiendo de la naturaleza de los reactivos y de los productos. La versatilidad de esta reacción hace que sea posible en prácticamente todos los disolventes, también en mezcla de ellos e incluso en sistemas multifásicos con disolventes inmiscibles. También existen variedad de fuentes de cobre (I) y métodos para generarlo *in situ*, en los que es común utilizar una fuente de cobre (II) como el $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ y un reductor suave como el ácido ascórbico o una sal derivada.¹³⁶

Tras ensayar diferentes metodologías descritas en la bibliografía llegamos a la conclusión de la importancia de la concentración en estas reacciones, en las que es necesario mantener reactivos y productos en disolución durante toda la reacción. El disolvente ideal para ello fue el DMSO, disolvente capaz de disolver moléculas orgánicas apolares y también moléculas muy polares como los glicanos. Otra ventaja del DMSO es que es miscible con disolventes

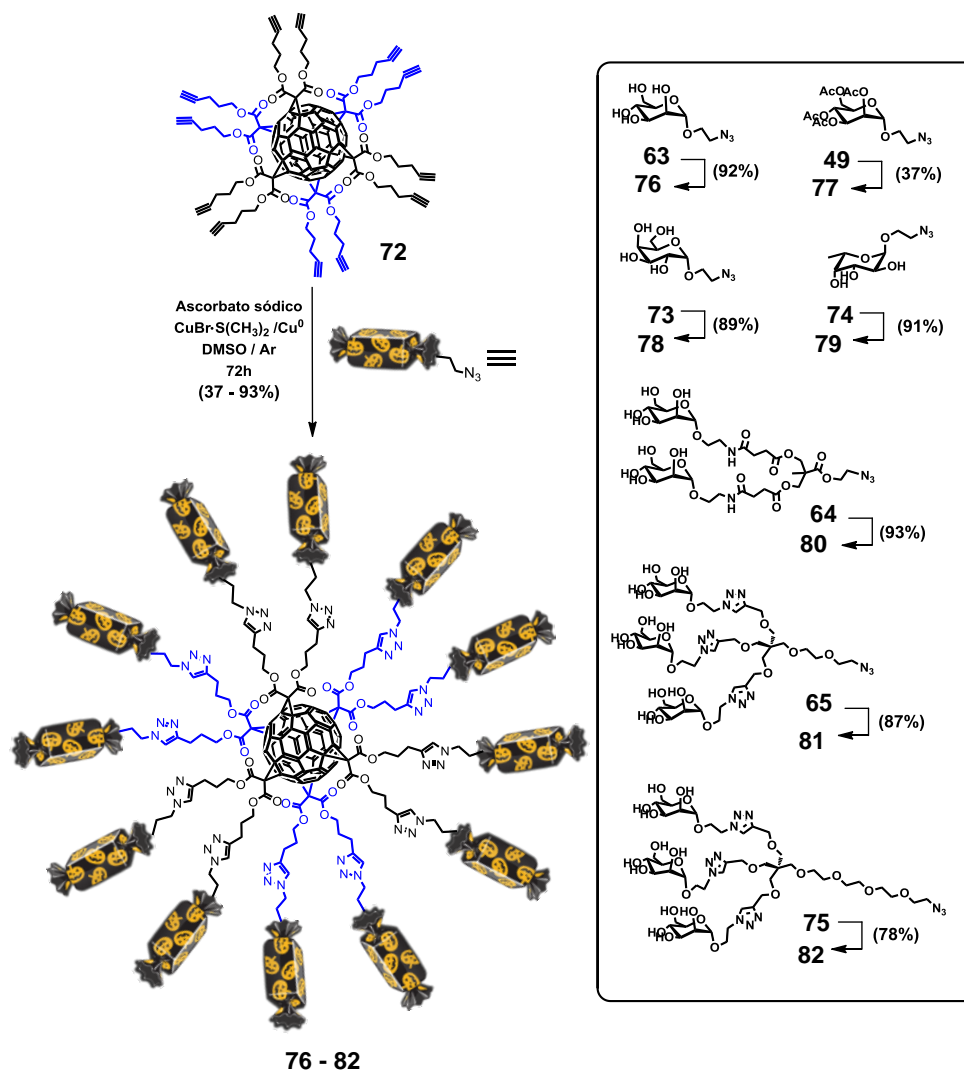
[135] E. Pretsch, P. Bühlmann, M. Badertscher, *Structure Determination of Organic Compounds - Tables of Spectral Data* **2009**, 4th Edition, Springer.

[136] a) R. K. Iha, K. L. Wooley, A. M. Nyström, D. J. Burke, M. J. Kade, C. J. Hawker, *Chem. Rev.* **2009**, *109*, 5620; b) P. Thirumurugan, D. Matosiuk, K. Jozwiak, *Chem. Rev.* **2013**, *113*, 4905.

orgánicos donde los productos no son solubles, y pueden ser purificados por simple precipitación-centrifugación.

Como fuente estable de cobre (I) usamos el complejo $\text{CuBr}\cdot\text{S}(\text{CH}_3)_2$ que presenta buenas solubilidades en disolventes orgánicos polares. También se añade como reductor el ascorbato sódico, y cobre metálico en forma de alambre para favorecer la presencia de cobre (I) en un medio de reacción reductor y sin oxígeno. Usando esta metodología se han conseguido sintetizar diferentes hexaaductos decorados con carbohidratos.

Partiendo del derivado **72** se han sintetizado diferentes estructuras globulares en tan solo unos pocos pasos sintéticos y sin la utilización de ningún grupo protector, lo que hace de estas moléculas de simetría octaédrica un excelente bloque de construcción molecular para la obtención de estructuras dendiméricas esféricas.



ESQUEMA 18. Síntesis genérica para los hexaadductos con 12, 24 y 36 carbohidratos.

Debido al ligero exceso de azida que se utiliza en la reacción, se obtienen rendimientos muy altos en prácticamente todos los casos. La purificación comienza por retirar el cobre de la reacción con sílice funcionalizada con grupos mercaptopropilos, disponible comercialmente, como el QuadraSil™ MP. El crudo de reacción se hace pasar por una pequeña columna de QuadraSil™ MP, y se obtiene una disolución en DMSO libre de cobre disuelto. Este procedimiento es de capital importancia si posteriormente se pretende usar

Capítulo 1. Exposición y discusión de resultados

estos derivados en pruebas biológicas, debido a la elevada toxicidad del cobre para las células vivas.

La disolución resultante se mezcla con acetato de etilo, y se observa la aparición de un precipitado que, tras centrifugación durante 10 min a 5000 rpm, permite obtener un sólido de color rojizo de apariencia aceitosa.

Para la determinación estructural de estos derivados son de gran importancia los experimentos de ^{13}C -RMN, en los que se pueden observar las señales más características de este tipo de estructuras (Figura 67).

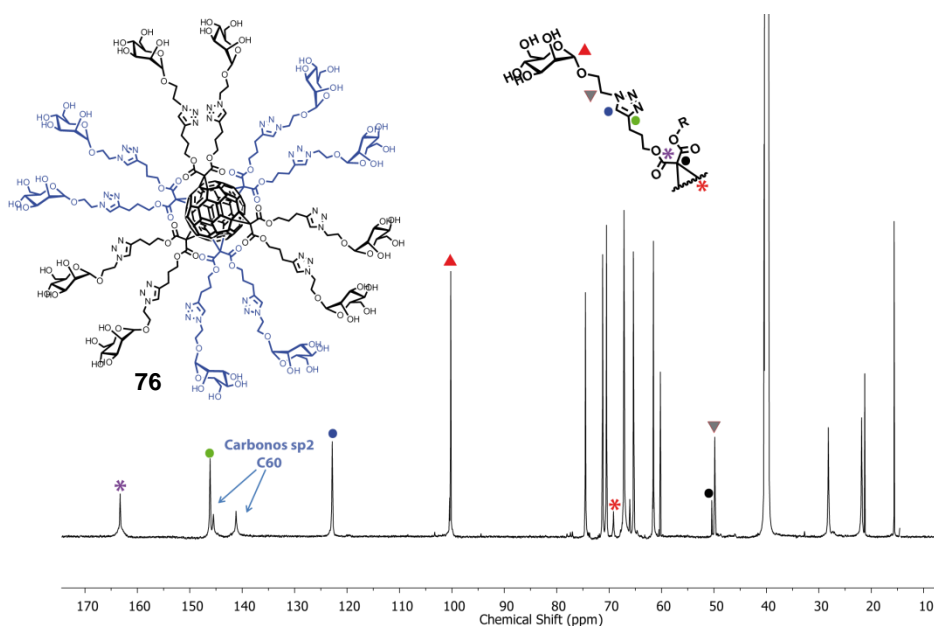


FIGURA 67. Espectro de ^{13}C -RMN (175 MHz, $\text{DMSO-}d_6$, 298 K) del derivado 76. El espectro fue obtenido con 45.000 acumulaciones y con un tiempo de relajación $D1=4$ segundos.

Entre las señales más características se encuentra la señal en torno a 50 ppm, correspondiente al carbono cuaternario del puente entre el malonato y el C_{60} . Otra señal típica de estos compuestos es la señal a 69 ppm correspondiente a los carbonos sp^3 del esqueleto del C_{60} unidos al carbono puente. Las señales a 122.8 y 146.2 ppm pertenecen a los carbonos del triazol, en concreto al carbono protonado y al no protonado, respectivamente. También puede

observarse claramente la sustitución octaédrica del C₆₀, pues se observan a 141.2 y 145.5 ppm los carbonos sp² del esqueleto del fullereno.¹³⁷

El espectro de IR confirma que no existe señal característica ni de azida ni de alquino terminal, lo que confirma, junto con el espectro de ¹³C-RMN y el espectro de masas, que la reacción se ha completado y que el producto se obtiene puro, utilizando el protocolo de precipitación, centrifugación y lavados descrito con anterioridad.

Con la intención de buscar un ligando multivalente adecuado para la interacción con lectinas, nos propusimos aprovechar el derivado **72**, que contiene doce alquinos terminales, y conjugarle mediante una reacción de CuAAC dendrones de 2 ó 3 unidades de monosacáridos. De este modo, obtendríamos en una sola etapa sintética un ligando multivalente con 24 ó 36 unidades de azúcar dirigidas en las 3 direcciones del espacio.

La síntesis de hexaaductos con una valencia en carbohidratos mayor de 12 nos proporcionarán datos sobre la importancia que tiene el número de carbohidratos del ligando multivalente en la interacción con lectinas. Tras los resultados que se obtengan, se optará bien por mejorar el ligando usando un carbohidrato con mayor afinidad, como por ejemplo un disacárido, o por el contrario se optará por aumentar el tamaño o bien la valencia del ligando multivalente para mejorar las propiedades biológicas.

4.7. Experimentos de ITC con hexaaductos de C₆₀

Inspirados en la naturaleza, los hexaaductos que presentan carbohidratos en su superficie actúan como biomiméticos razonables de las superficies esféricas y glicosidadas de las cápsides virales y de otros muchos patógenos, al menos en cuanto a su tamaño y forma de presentar los carbohidratos en las tres dimensiones espaciales. Esto hace de estos sistemas ligandos multivalentes capaces de interactuar con el receptor con la misma constante de asociación en cualquier dirección del espacio, aprovechando así la reorganización estadística entre la multitud de interacciones débiles que se producen en una interacción multivalente.

[137] J.-F. Nierengarten, J. Iehl, V. Oerthel, M. Holler, B. M. Illescas, A. Muñoz, N. Martin, J. Rojo, M. Sanchez-Navarro, S. Cecioni, S. Vidal, K. Buffet, M. Durka, S. P. Vincent, *Chem. Commun.* **2010**, 46, 3860.

El objetivo de este estudio es obtener parámetros termodinámicos de la interacción entre los hexaaductos y las glicoproteínas, con la intención de diseñar un ligando adecuado para bloquearlas, o para ser reconocido por ellas.

El estudio se llevó a cabo inyectando de manera automática y controlada por el microcalorímetro, una disolución del derivado de fullereno correspondiente (0.108-0.214 mM) sobre una solución de la lectina Con A (0.017-0.055 mM) en tampón de acetato de sodio (0.1 M, pH=5.2) en presencia de NaCl (100 mM), CaCl₂ (5 mM) y MnCl₂ (5mM). Los datos recogidos tras la valoración calorimétrica se encuentran en la Tabla 3 y en la Figura 68. También se valoró el hexaaducto **78** decorado con galactosas, un azúcar que no es reconocido por Con A, como control negativo de interacción y descartar la posible existencia de interacciones inespecíficas.

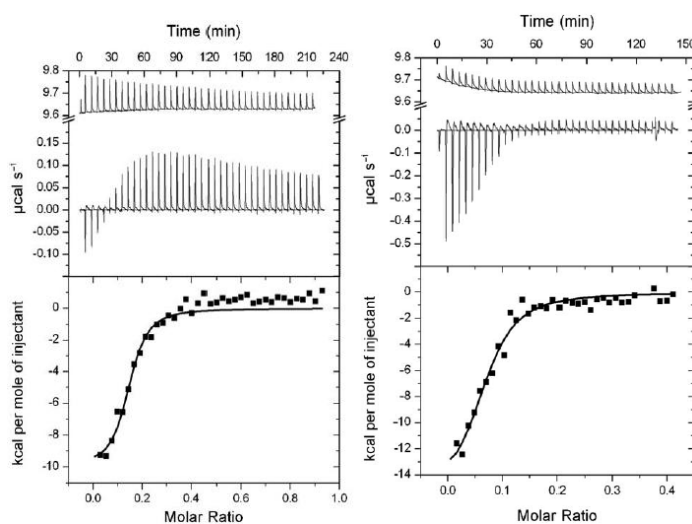


FIGURA 68. Valoración de Con A con los hexaaductos **76** (12-Man) (izquierda) y **80** (24-Man) (derecha) en una disolución tamponada 0,1 M en acetato sódico (pH 5,2) con 100 mM de NaCl, 5 mM de CaCl₂ y 5 mM de MnCl₂ a 25°C. Los gráficos muestran la curva de saturación del receptor por el ligando debido a la inyección de 40 inyecciones automáticas (6 µl) de **76** (izquierda) y **80** (derecha). El área bajo los picos se integró y se representó frente a la relación molar correspondiente a hexaaducto/Con A. Las líneas continuas representan el mejor ajuste matemático de los datos experimentales a un modelo de *n* sitios iguales e independientes.

TABLA 3. Datos termodinámicos del ajuste matemático de la valoración calorimétrica. Todos los datos que se muestran en la tabla son la media ponderada y la desviación estándar de tres valoraciones independientes.

	$K^{\text{[a]}} / \text{M}^{-1}$ $\times 10^4$	$-\Delta G$ $/\text{Kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$	$-\Delta H$ $/\text{Kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$	$-T\Delta S / \text{cal}\cdot\text{M}^{-1}\cdot\text{K}$	$n^{\text{[c]}}$	1/n
Me-α-D Man ^[b]	1.2	5.6	8.4	2.8	1.00	~1
76 (12-Man)	421 ± 21	9.04 ± 0.002	9.90 ± 0.03	0.91 ± 0.29	0.15 ± 0.014	~6
78 (12-Gal)	Sin interacción					
80 (24-Man)	137 ± 25	8.39 ± 0.09	15.2 ± 0.7	6.8 ± 0.8	0.066 ± 0.007	~16

(media ± desviación estándar); [a] Constante de asociación K_a ; [b] Metil- α -D- manopiranosido; [c] Estequiometría del complejo glicofullereno/Con A

Los datos de la Tabla 3, resultantes del ajuste entre las diferencias de calores desprendidos tras la valoración, se compararon con el ligando monovalente, metil- α -D- manopiranosido, usado como referencia. El aumento en la constante de asociación con los ligandos multivalentes que contenían 12 y 24 manosas, **76** y **80** respectivamente, fue exponencial, y no lineal. Esto es indicativo de que se está produciendo una interacción multivalente. Para validar los hexaaductos como sistemas para la presentación de carbohidratos se utilizó un control negativo, que consistió en un hexaaducto funcionalizado con galactosas, un carbohidrato que no interacciona con Con A, y así demostrar que no se producen interacciones de tipo inespecífico de los hexaaductos con lectinas. Como se observa en la Tabla 3, la molécula multivalente de galactosa **78** no interacciona con la Con A.

Durante la valoración de la Con A con los glicofullerenos multivalentes se observaron disoluciones turbias, que se forman probablemente debido a un proceso de agregación, similar al proceso de hemaglutinación, que se encuentra normalmente en este tipo de interacción multivalente entre carbohidratos y proteínas.¹³⁸

En nuestro caso, este efecto de agregación no afecta a las curvas obtenidas durante el experimento, un hecho previamente descrito en otros trabajos.¹³⁹ Sin

[138] M. Reynolds, M. Marradi, A. Imberty, S. Penadés, S. Pérez, *Chem. Eur. J.* **2012**, *18*, 4264.
[139] a) S. M. Dimick, S. C. Powell, S. A. McMahon, D. N. Moothoo, J. H. Naismith, E. J. Toone, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 10286; b) J. B. Corbell, J. J. Lundquist, E. J. Toone, *Tetrahedron: Asymm.* **2000**, *11*, 95.

embargo, esta agregación debería afectar a los parámetros termodinámicos. La agregación es un proceso endotérmico y contribuye a compensar la unión de carbohidratos y proteínas, que es exotérmica. Estos dos procesos (agregación e interacción) pueden tener lugar al mismo tiempo y no pueden ser analizados por separado desde un punto de vista termodinámico. En otras palabras, la afinidad de la unión podría ser, de manera intuitiva, más eficiente que la que cabe esperar a partir de los datos termodinámicos obtenidos en los experimentos.

La comparación de los valores de ΔG de los glicofullerenos con 12 (**76**) y 24 (**80**) manosas indica que, aparentemente, el proceso de unión es más favorable en el caso del compuesto **76**, con menor valencia. La razón de esto es la alta penalización entrópica encontrada en la valoración de Con A con **80**. Nuestra explicación para este término $T\Delta S$ desfavorable podría estar en la mayor flexibilidad de las cadenas dendríticas de esta molécula y el elevado número de monómeros de Con A (aproximadamente 16 moléculas de proteína en función del valor de n), que determinan la entropía del proceso de unión, como se observa en Tabla 3. Para **76**, sin embargo, un valor de $T\Delta S$ menor conduce a una interacción más favorable con Con A.¹⁴⁰

Comparando los resultados de las Tablas 2 y 3 se observa que el monoadducto con 8 manosas **70**, se asocia aproximadamente a 3 unidades de Con A, un número menor que el encontrado para los hexaadductos **76** y **80**, capaces de coordinarse a 6 y 16 unidades de Con A, respectivamente. Sin embargo, el monoadducto **70**, presenta una inesperadamente alta constante de asociación de $K_a = 1060 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}$, mientras que el hexaadducto **76** muestra una constante de $K_a = 421.6 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}$, unas 2.5 veces inferior pese a presentar una valencia en carbohidratos mayor. Este resultado, junto con la variación entrópica favorable, parece indicar que se está produciendo un fenómeno de asociación distinto al que pudiera ocurrir entre una molécula individual y la Con A, con la formación de agregados supramoleculares, en forma de vesículas o micelas, que sean las responsables de la interacción con la lectina. De hecho, ya se observó anteriormente que los monoadductos funcionalizados con glicodendrimeros, tienen gran tendencia a autoensamblarse en medio acuoso, formando los agregados de cientos de micras mostrados en la Figura 60.

[140] M. Sánchez-Navarro, A. Muñoz, B. M. Illescas, J. Rojo, N. Martín, *Chem. Eur. J.* **2011**, *17*, 766.

Los resultados obtenidos de los estudios calorimétricos permiten concluir que los fullerenos son una excelente plataforma para la presentación de ligandos, conduciendo a un notable aumento de la afinidad empleando un modelo multivalente sencillo.

4.8. Estudios de transfección en células: “Bolas de Azúcar” de fullereno como agentes para la inhibición de la infección viral

Los resultados obtenidos en las valoraciones calorimétricas de la interacción entre los hexaaductos y la Con A permiten concluir que los glicofullerenos son reconocidos por esta lectina de forma multivalente, validando el modelo de presentación esférica de los carbohidratos. A continuación, nos propusimos estudiar la eficiencia de los glicofullerenos en experimentos de infección viral en células humanas.

Para ello, se llevó a cabo un ensayo de inhibición viral usando un modelo artificial del virus Ébola (EboGP) como agente infeccioso. Este ensayo es una prueba muy robusta y clara de la capacidad de las moléculas para interferir en la infección viral mediada por lectina, ya que la entrada e infección por el pseudovirus Ébola empleado en este ensayo, es absolutamente dependiente de la interacción con DC-SIGN.¹¹⁷⁻¹¹⁹ DC-SIGN es una lectina de tipo C presente principalmente en la superficie de las células dendríticas inmaduras y juega un papel fundamental en la activación de la respuesta inmune frente a numerosos patógenos. DC-SIGN reconoce, de forma multivalente y calcio-dependiente, proteínas altamente glicosidadas presentes en la superficie de los patógenos. Pero la capacidad de reconocimiento de DC-SIGN ha sido aprovechada por distintos virus, como el Ébola o el HIV, para eludir al sistema inmune e iniciar el proceso de infección o ciclo viral.

Las partículas virales empleadas son sencillamente virus construidos de forma artificial que presentan en la superficie, en este caso particular, las moléculas del virus del Ébola necesarias para el reconocimiento y posterior entrada en las dianas celulares. El material genético basado en los virus presente en estas partículas se modificó para que contuvieran el gen de la luciferasa, que permitiría la cuantificación de la infección, y se eliminaron otros genes para que el virus no fuera capaz de volverse a autoensamblar y se pudiera utilizar en

laboratorios de seguridad P2, en lugar de los P4 necesarios para trabajar con el virus del Ébola.¹⁴¹

De forma resumida, estos experimentos de inhibición de la infección en *cis* (infección directa de la célula diana) consistieron en la incubación de las partículas virales pseudotipadas del Ébola con las células Jurkat que expresan DC-SIGN en presencia o en ausencia de inhibidores, en nuestro caso los hexaaductos azucarados (Figura 69).

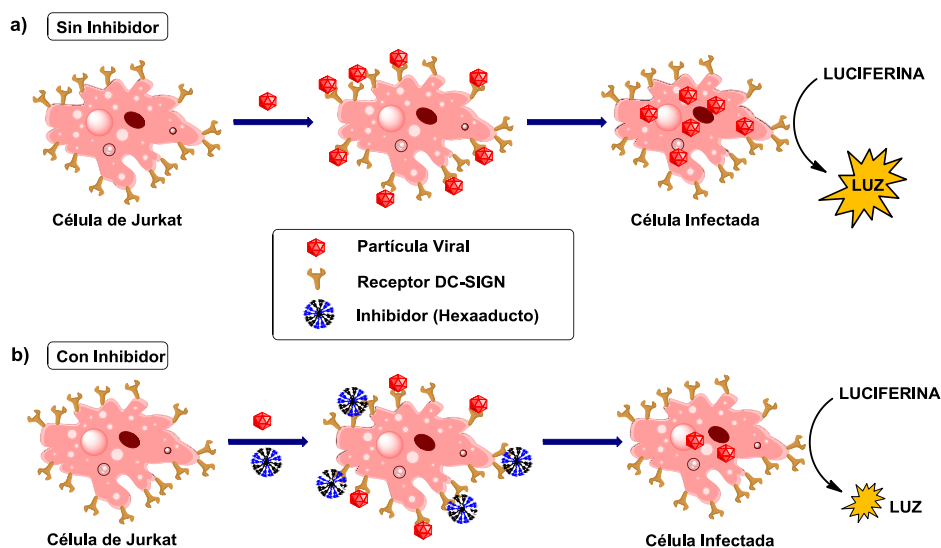


FIGURA 69. Estudio de infección en *cis*, a) en ausencia de inhibidor y b) en presencia de inhibidor. Las partículas virales transportan el plásmido pNL4-3Luc, que codifica la biosíntesis de la luciferasa. La degradación de la luciferina genera luz, cuantificable en un espectrofotómetro.¹⁴²

Tras 48 horas, se lavaron las muestras para eliminar del medio las partículas virales que no habían interactuado y, finalmente, se llevó a cabo un ensayo de actividad de luciferasa (enzima expresada por las células infectadas) añadiendo luciferina al medio, la cual se degrada produciendo luz, que se cuantifica en un espectrofotómetro. En presencia de inhibidores, DC-SIGN sería bloqueada por los glicoconjugados, y el nivel de infección se reduce. El

[141] Z. Yang, R. Delgado, L. Xu, R. F. Todd, E. G. Nabel, A. Sanchez, G. J. Nabel, *Science* **1998**, 279, 1034.

[142] J. He, S. Choe, R. Walker, P. Di Marzio, D. O. Morgan, N. R. Landau, *J. Virol.* **1995**, 69, 6705.

ensayo de luciferasa refleja, en este caso, un decrecimiento de la actividad enzimática comparada con el control positivo, en ausencia de inhibidores.

En este estudio se emplearon como inhibidores de la infección viral los compuestos **76**, **78**, **81** y **82**, estos dos últimos con 36 manosas pero con diferente espaciador, con el fin de evaluar tanto el efecto del número de carbohidratos, como la variación del tamaño del compuesto empleado (Figura 70).

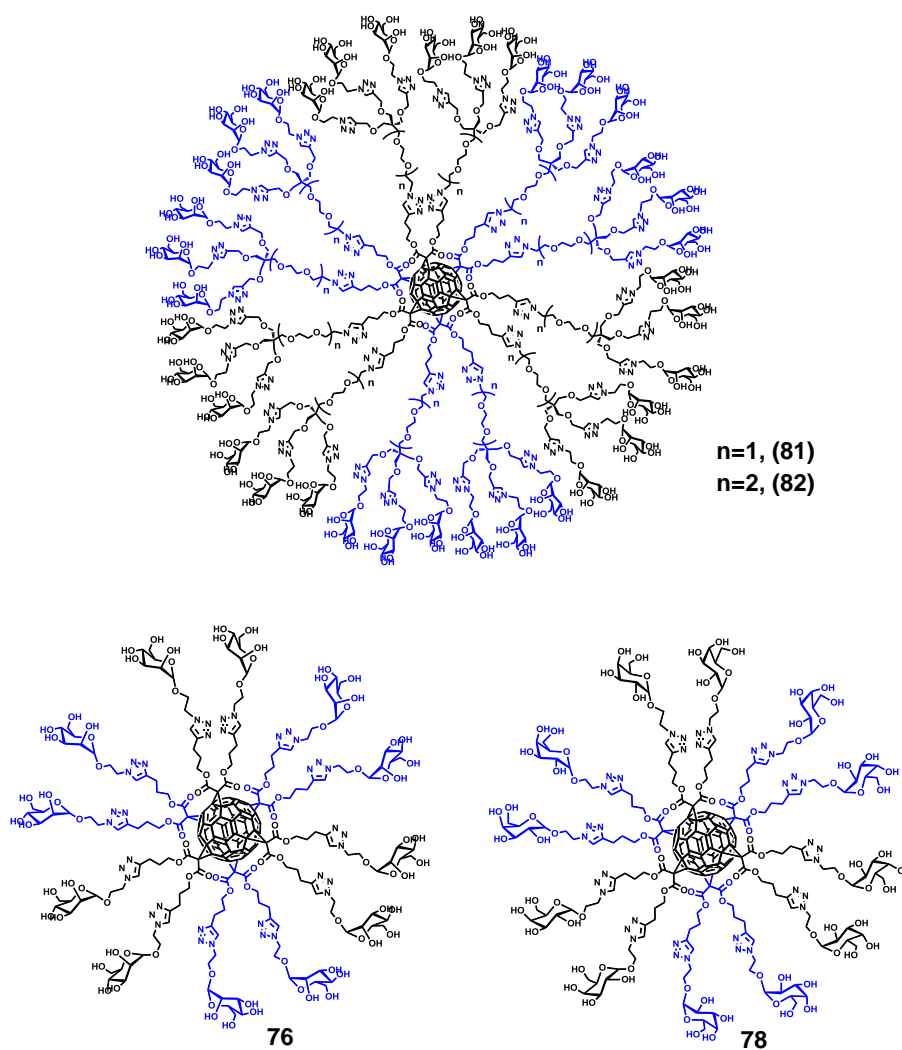


FIGURA 70. Ligandos empleados para el estudio de la inhibición de DC-SIGN en Células de Jurkat.

Cabe destacar aquí que, para los estudios biológicos, fue importante el tratamiento de los compuestos con QuadraSil MPTM como sílice captadora de metales de transición. La presencia de cobre mostró ser muy tóxica para las células del estudio biológico. Tras el tratamiento con dicha sílice funcionalizada se consiguió reducir el cobre a 0.03 ppm, cuantificado por ICP-MS, cantidad que no mostró efectos tóxicos en las líneas celulares en las que se probaron los compuestos. Como control negativo se utilizó de nuevo el hexaadocto decorado con 12 galactosas, que no interacciona con DC-SIGN y, por tanto, es incapaz de inhibir la infección vírica.¹⁴³

Las curvas de inhibición muestran que el derivado **76**, de 12 manosas, se manifiesta como un compuesto más eficaz para bloquear la lectina DC-SIGN que el derivado con 36 manosas con el espaciador corto **81**. Sin embargo, un compuesto con la misma valencia, de 36 manosas, que posee un espaciador más largo **82**, se comportó como una molécula capaz de inhibir DC-SIGN con un IC₅₀ en el rango de la nanomolaridad, con un número de carbohidratos relativamente pequeño.

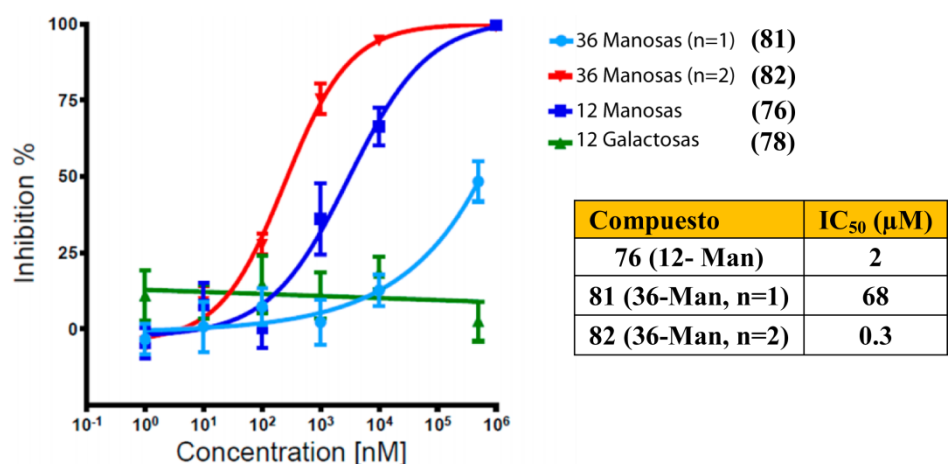


FIGURA 71. Curvas de inhibición de la infección vírica. Se obtienen los datos de inhibición recogidos en la tabla. En verde se muestra el control negativo de galactosa (78), que no interacciona con DC-SIGN.

[143] J. Luczkowiak, A. Muñoz, M. Sánchez-Navarro, R. Ribeiro-Viana, A. Ginieis, B. M. Illescas, N. Martín, R. Delgado, J. Rojo, *Biomacromolecules* **2013**, *14*, 431.

Como control negativo se utilizó de nuevo el hexaaducto decorado con 12 galactosas, que no interacciona con DC-SIGN y, por tanto, es incapaz de inhibir la infección vírica. También se empleó como control el pseudovirus VSV-G (*Vesicular Stomatitis Virus Glycoprotein*) que infecta todas las células, pues su entrada en las células no es dependiente de DC-SIGN. Este pseudovirus también porta el plásmido pNL4-3Luc que codifica la síntesis de la luciferasa para poder cuantificar el porcentaje de infección no dependiente de DC-SIGN. Finalmente, también se emplearon como control negativo de infección células de Jurkat que no expresan DC-SIGN.

El glicofullereno **82** presenta una interacción 200 veces superior con DC-SIGN que su análogo de igual valencia con espaciador más corto. Por lo tanto, se puede concluir que el tamaño de la glicopartículas es importante para diseñar ligandos efectivos, pues deben ser reconocidos por varias lectinas simultáneamente en la superficie celular, y el ligando debe ser capaz de alojar varias unidades de lectinas mientras la interacción tiene lugar.

Estos resultados ponen de relevancia la importancia de combinar una plataforma multivalente adecuada, el fullereno, con la accesibilidad y flexibilidad de los ligandos para interactuar con el receptor correspondiente.

4.9. Síntesis de hexaaductos asimétricos

En los apartados anteriores ha quedado validada la estructura globular de los hexaaductos como un sistema muy eficaz para la presentación de carbohidratos, que, además, presentan una estricta monodispersidad, al contrario de otros sistemas similares. En este apartado nos propusimos conseguir posiciones funcionalizables adicionales en la superficie del fullereno, que sean ortogonalmente compatibles, minimizando la utilización de grupos protectores, y maximizando la economía atómica de la ruta sintética. En el Esquema 19 puede observarse la ruta sintética, en cuatro pasos, para obtener un hexaaducto asimétrico con una posición libre, susceptible de reaccionar en una segunda reacción de “Click Chemistry”.

Cambiando el tipo de glicano, podemos modular la interacción con diferentes lectinas y dirigir las moléculas hacia células que sobreexpresen alguna glicoproteína en concreto. Esta aproximación abre la puerta para la síntesis de

nuevas vacunas contra el cáncer,¹⁴⁴ el SIDA¹⁴⁵ y el diseño de nuevos biomarcadores y biosondas.¹⁴⁶ El creciente interés de los dendrímeros como entidades moleculares con interés biológico, viene dado por recientes descubrimientos en el tratamiento de enfermedades priónicas¹⁴⁷ y causadas por el incorrecto plegamiento proteico en enfermedades como el mal de Alzheimer.¹⁴⁸

La obtención y puesta a punto de la síntesis de nuevos dendrones con una posición susceptible de ser funcionalizada, no sólo abre nuevas posibilidades en química biológica, sino en síntesis orgánica general, en relación con la obtención de nuevos bloques de construcción molecular dendriméricos.

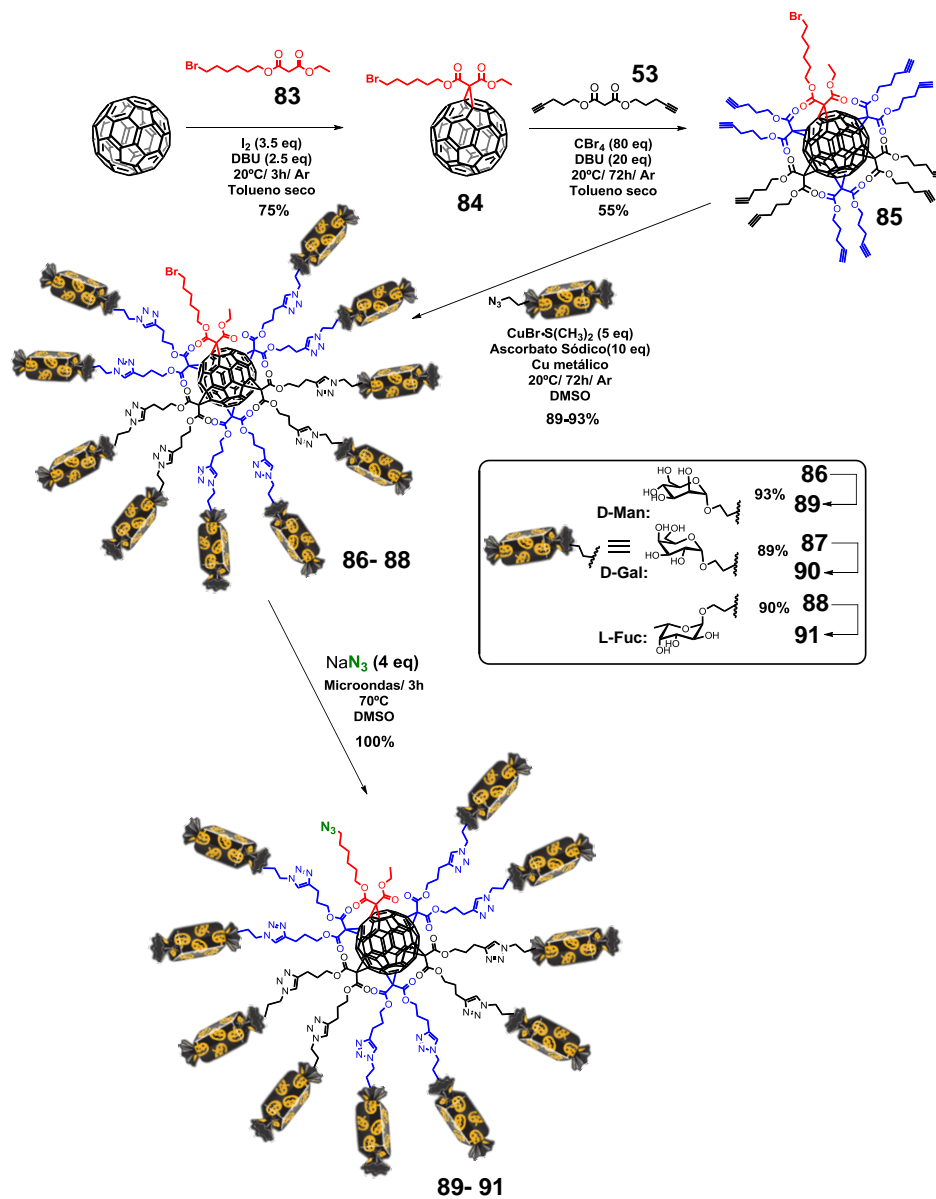
[144] D. H. Dube, C. R. Bertozzi, *Nat. Rev. Drug. Discov.* **2005**, *4*, 477.

[145] a) L. Kong, J. H. Lee, K. J. Doores, C. D. Murin, J. P. Julien, R. McBride, Y. Liu, A. Marozsan, A. Cupo, P. J. Klasse, S. Hoffenberg, M. Caulfield, C. R. King, Y. Hua, K. M. Le, R. Khayat, M. C. Deller, T. Clayton, H. Tien, T. Feizi, R. W. Sanders, J. C. Paulson, J. P. Moore, R. L. Stanfield, D. R. Burton, A. B. Ward, I. A. Wilson, *Nat. Struct. Mol. Biol.* **2013**, *20*, 796; b) M. N. Amin, J. S. McLellan, W. Huang, J. Orwenyo, D. R. Burton, W. C. Koff, P. D. Kwong, L. X. Wang, *Nat. Chem. Biol.* **2013**, *9*, 521.

[146] L. L. Kiessling, J. C. Grim, *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 4476.

[147] J. M. McCarthy, B. Rasines Moreno, D. Filippini, H. Komber, M. Maly, M. Cernescu, B. Brutschy, D. Appelhans, M. S. Rogers, *Biomacromolecules* **2012**, *14*, 27.

[148] a) L. Xu, H. Zhang, Y. Wu, *ACS Chem. Neurosci.* **2013**, *5*, 2; b) O. Klementieva, E. Aso, D. Filippini, N. Benseny-Cases, M. Carmona, S. Juvés, D. Appelhans, J. Cladera, I. Ferrer, *Biomacromolecules* **2013**, *14*, 3570.



ESQUEMA 19. Esquema sintético general para la obtención de los bloques de construcción molecular glicosidados. La ruta sintética consta de cuatro etapas con altos rendimientos, productos fácilmente purificables y sin uso de grupos protectores.

Los derivados obtenidos en la ruta sintética mostrada en el Esquema 19 aún mantienen una elevada simetría, debido a que todos los malonatos están unidos al C_{60} mediante una ciclopropanación de Bingel, y los entornos químicos no

varían demasiado a corta distancia, si lo comparamos con un hexaaducto totalmente simétrico. Por esta razón, la espectroscopía de ^{13}C -RMN es una buena herramienta para confirmar la estructura de estos derivados. Para el compuesto con manosas **89** se muestran en el espectro de ^{13}C -RMN (Figura 72), las señales más características.

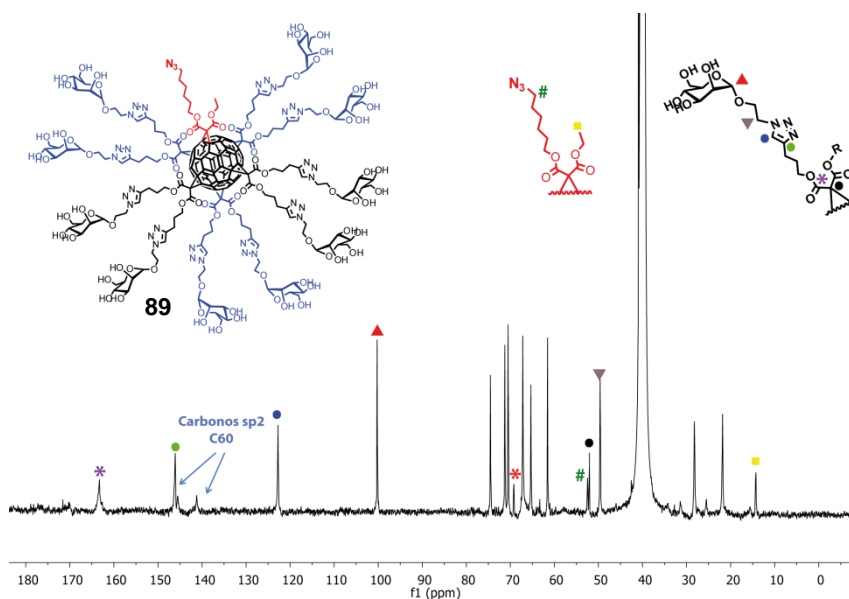


FIGURA 72. Espectro de ^{13}C -RMN (175 MHz, $\text{DMSO-}d_6$, 298 K) del derivado **89**. El espectro fue obtenido con 50.000 acumulaciones, y con un tiempo de relajación $D1=4$ segundos.

Entre las señales más características se encuentra la señal en torno a 50 ppm, correspondiente al carbono cuaternario del puente entre el malonato y el C_{60} . Y junto a ella, a 52 ppm aparece la señal del carbono unido al grupo azida (# verde). Otra señal típica de estos compuestos es la señal a 69 ppm correspondiente a los carbonos sp^3 del esqueleto del C_{60} unidos al carbono puente. Las señales a 123 y 147 ppm pertenecen a los carbonos del triazol, en concreto al carbono protonado y al no protonado, respectivamente. También puede confirmarse claramente la estructura, pues se observan a 141.2 y 145.5 ppm, únicamente dos carbonos sp^2 del esqueleto del C_{60} , pese al cambio de simetría general de la molécula. La presencia del grupo azida en la molécula puede confirmarse fácilmente por el espectro FT-IR, donde se observa una señal característica en torno a 2100 cm^{-1} , típica de azidas (Figura 73).

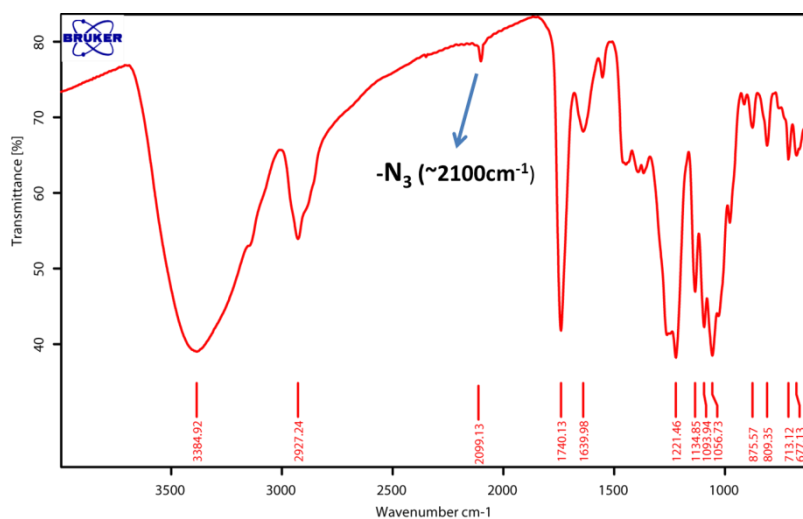


FIGURA 73. Espectro FT-IR del compuesto 89. La banda característica de azidas en torno a 2100 cm^{-1} , confirma la inserción del grupo azida en la molécula.

En espectrometría de masas, los derivados de naturaleza dendrímica altamente simétricos presentan muchas fragmentaciones en una distribución gaussiana de pesos moleculares en torno al ión molecular. Esta distribución se hace más ancha cuando la generación del dendrón aumenta y cuando su simetría es alta. También es conocida la dificultad intrínseca que poseen los derivados con carbohidratos con sus hidroxilos libres, debido a que estos compuestos presentan multitud de fragmentaciones y dificultades en el vuelo y por ello, es difícil que alcancen el detector sin antes fragmentarse.¹⁴⁹

[149] a) S.-K. Wang, P.-H. Liang, R. D. Astronomo, T.-L. Hsu, S.-L. Hsieh, D. R. Burton, C.-H. Wong, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2008**, *105*, 3690; b) X. Shi, S. H. Wang, I. Lee, M. Shen, J. R. Baker, *Biopolymers* **2009**, *91*, 936; c) S. Ki Choi, T. Thomas, M.-H. Li, A. Kotlyar, A. Desai, J. J. R. Baker, *Chem. Commun.* **2010**, *46*, 2632.

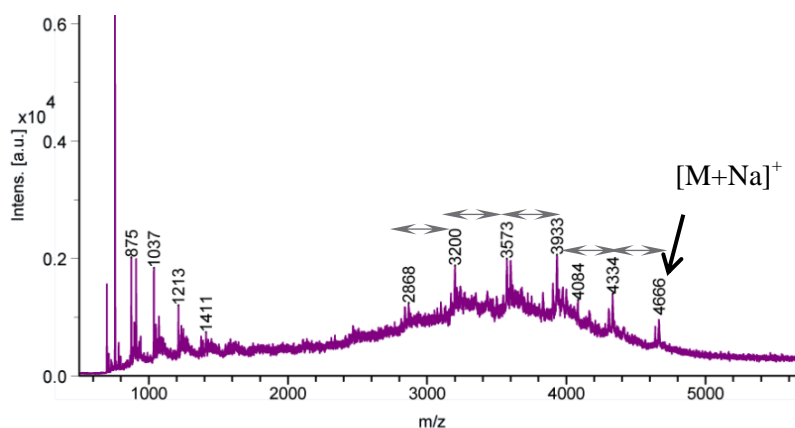


FIGURA 74. Se muestra el pico molecular del derivado 89, en el que aparece en modo lineal positivo en una matriz de DHB. Se detecta el pico correspondiente a la masa m/z $[M+Na]^+ = 4666$.

El nuevo hexaaducto asimétricamente sustituido posee una nueva posición funcionalizable, susceptible de ser modificada mediante una reacción de “Click Chemistry” constituyendo, por tanto, un bloque de construcción molecular muy versátil. Así, nos planteamos la funcionalización con otras entidades moleculares que proporcionen nuevas propiedades, como unidades de reconocimiento, como la biotina, fluoróforos, como los BODIPYs, sensibilizadores fotoquímicos para terapia fotodinámica, o unidades moleculares que puedan unirse específicamente a biomoléculas, como las maleimidas. Además es posible unir este tipo de hexaaductos asimétricos a otras nanoformas del carbono, como son los nanotubos de carbono, para probar nuevas plataformas de presentación de carbohidratos.

En el Esquema 20 se muestra el método para obtener los hexaaductos asimétricos con buenos rendimientos usando una reacción de CuAAC. En el mismo esquema se muestra el primer hexaaducto funcional que se sintetizó, el derivado **96**, que contiene un derivado de BODIPY unido por un triazol al hexaaducto. Este derivado de BODIPY presenta propiedades de fluorescencia y es un buen marcador para seguir la internalización celular de los hexaaductos mediante estudios de microscopía confocal.¹⁵⁰

[150] R. Ribeiro-Viana, J. J. García-Vallejo, D. Collado, E. Pérez-Inestrosa, K. Bloem, Y. van Kooyk, J. Rojo, *Biomacromolecules* **2012**, *13*, 3209.

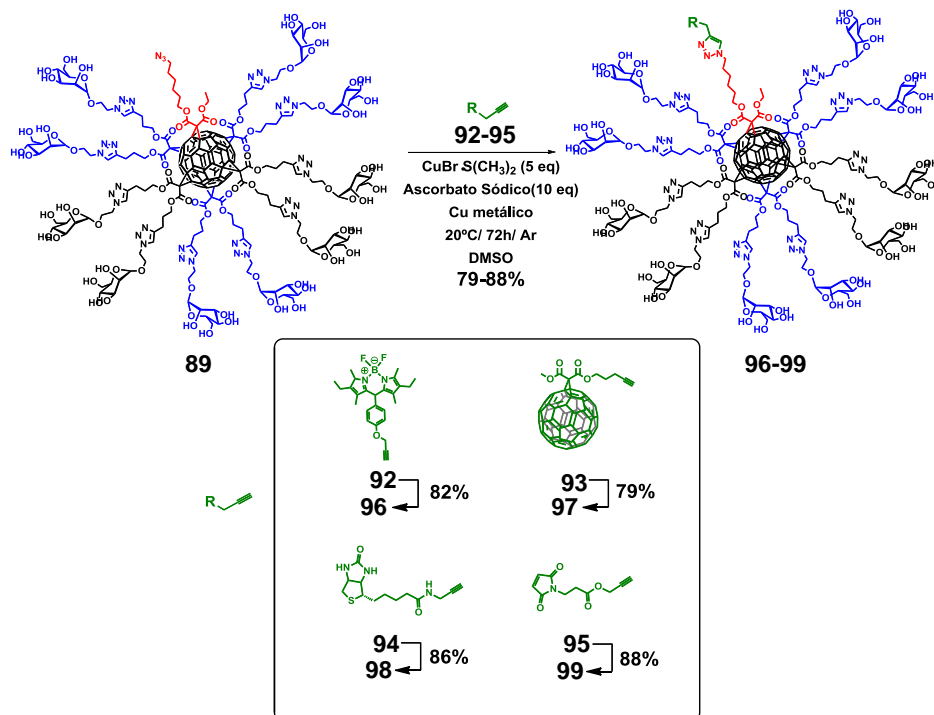
Entre estos hexaaductos funcionales está el derivado **97**, que contiene un monoadducto de C₆₀ como unidad fotosensibilizadora para la producción de oxígeno singlete (¹O₂) junto al fullereno glicosidado, que da selectividad frente a una glicoproteína o receptor. Este diseño racional de sensibilizadores para terapia fotodinámica puede permitir que la unidad generadora de oxígeno singlete se ancle en la superficie de la célula diana, o bien que sea internalizado, por lo que el daño oxidante sería más severo aún.

Por último, también se sintetizaron hexaaductos asimétricos con unidades de biotina, como el derivado **98**. La biotina forma con las proteínas avidina y estreptavidina uno de los enlaces no-covalentes más fuertes de la naturaleza y es altamente específico. Existen multitud de sustratos comercialmente disponibles que contienen avidina o estreptavidina funcionalizada, por lo que estos compuestos pueden usarse como marcadores biológicos con estreptavidina marcada fluorescentemente o para unirse a células tumorales, ya que expresan en su superficie numerosos receptores de biotina.¹⁵¹

Los hexaaductos funcionalizados con unidades de maleimida, como **99**, son un bloque de construcción molecular muy prometedor para conseguir conjugados peptídicos con una parte altamente glicosidada a través de una adición 1,4-Michael entre el grupo tiol de una cisteína y la maleimida, como se expuso en los antecedentes de este capítulo. Esta aproximación sintética es de gran interés para conseguir epítopos altamente glicosidados, que son los que las células presentadoras de antígenos reconocen y presentan a las células especializadas en desencadenar la respuesta inmune.

Tras la obtención de todos estos compuestos, el crudo de reacción se hace pasar a través de una pequeña columna de QuadraSil MPTM (QuadraSil MTUTM, para el derivado que contiene maleimida **99** para capturar el cobre. Una vez se obtiene la disolución de DMSO libre de cobre, estos derivados precipitan añadiendo una mezcla 1:1 de AcOEt:Et₂O y la mezcla se centrifuga durante 10 min a 5500 rpm.

[151] a) A. Llevot, D. Astruc, *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41*, 242; b) D. N. Heo, D. H. Yang, H. J. Moon, J. B. Lee, M. S. Bae, S. C. Lee, W. J. Lee, I. C. Sun, I. K. Kwon, *Biomaterials* **2012**, *33*, 856.



ESQUEMA 20. Conjugación vía CuAAC del hexaadducto asimétrico **89** y diferentes fragmentos funcionales. Utilizando este tipo de reacciones se consiguen rendimientos muy altos, entre el 79 % y 88%, con un procedimiento general para conjugar cualquier fragmento.

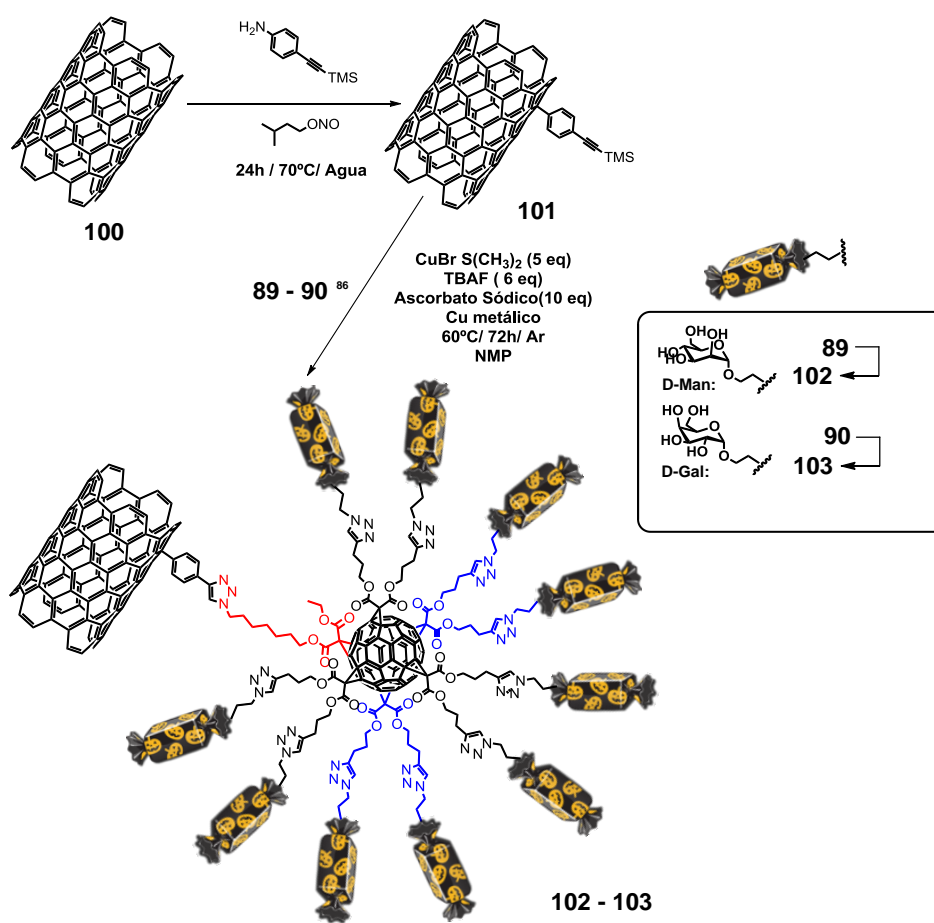
Los derivados **96-99** fueron caracterizados mediante las técnicas analíticas y espectroscópicas habituales, permitiendo confirmar la estructura propuesta en todos los casos.

4.10. Síntesis de nuevas arquitecturas glicomiméticas para la presentación de carbohidratos

Una vez se tiene acceso a un bloque de construcción molecular altamente glicosidado y que posee una azida en su posición focal, nos planteamos construir nuevos sistemas para la presentación de carbohidratos.

Como se ha observado en el estudio biológico descrito anteriormente (Figura 71) el tamaño en la presentación de carbohidratos es tremendamente importante para modular el nivel de interacción multivalente con las lectinas. Por ello, nos propusimos conjugar hexaadductos azucarados con nanotubos de carbono, con el fin de conseguir una plataforma para la presentación de

carbohidratos que mimetizase la forma de la cápside alargada del virus del Ébola. Los SWCNTs (*Single Wall Carbon Nanotubes*) comerciales, se modifican covalentemente con alquinos terminales protegidos con grupos TMS, mediante una reacción de Tour con sales de arenodiazonio generadas *in situ*, para llevar a cabo posteriormente la reacción de CuAAC con la azida **89**, como se muestra en el Esquema 21.



ESQUEMA 21. Esquema sintético para obtener el conjugado con manosas **102** o su análogo con galactosa **103**. Se utiliza el derivado de fullereno **89** y **90** respectivamente, como bloques de construcción.

Para la caracterización de estos derivados se usaron técnicas de microscopía TEM, como se muestra en la Figura 75, donde puede apreciarse la funcionalización en la superficie del nanotubo.

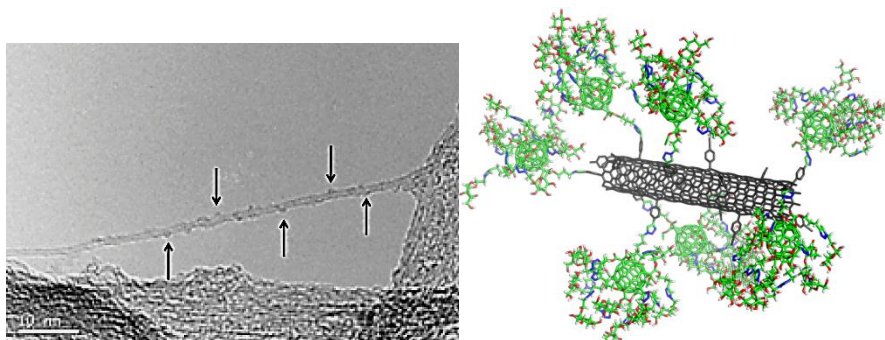


FIGURA 75. Representación gráfica de un nanotubo funcionalizado con las “Bolas de Azúcar de Fullerenos” junto con una imagen de TEM donde se aprecian fullerenos en la superficie del nanotubo de alrededor de 1 nm de diámetro.

Para cuantificar el grado de funcionalización, los glicoconjugados fueron analizados mediante análisis termogravimétrico (TGA). Este tipo de análisis mide la pérdida de masa cuando la muestra se calienta a altas temperaturas. La pérdida de masa da una idea de la naturaleza del grado de funcionalización sobre el nanotubo por comparación con el producto de partida sin funcionalizar.

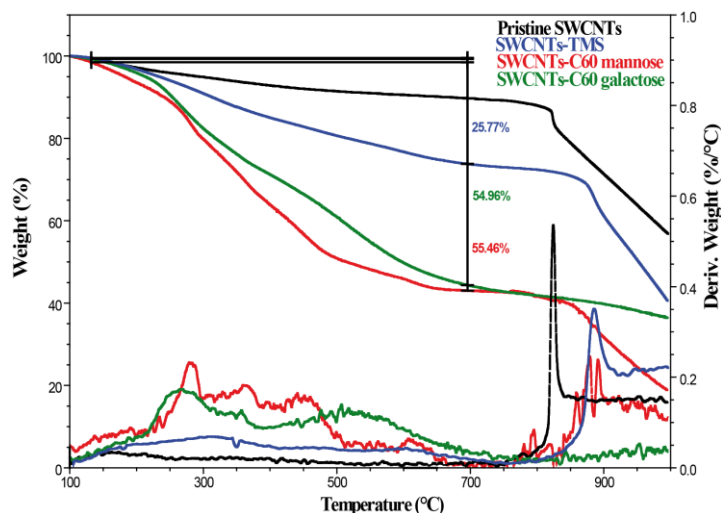


FIGURA 76. Perfil del análisis termogravimétrico (TGA) comparativo de los nanotubos sin funcionalizar (negro), nanotubos funcionalizados con alquinos terminales (azul), nanotubos funcionalizados con hexaaductos de manosa (rojo) y nanotubos funcionalizados con hexaaductos de galactosa (verde). Se toman los 700 grados como temperatura a la que los fragmentos orgánicos unidos al nanotubo se rompen por acción de la temperatura.

También se caracterizaron los conjugados **102** y **103** mediante espectroscopía de XPS, que permite determinar de manera semicuantitativa la naturaleza de los átomos presentes en la muestra. La aparición de una señal correspondiente al orbital 1s del nitrógeno, junto con el aumento en el porcentaje atómico de oxígeno en el análisis XPS indica que se ha producido la funcionalización en la superficie del SWCNT. La baja intensidad de la señal 2p del silicio (~100 eV), después de la desprotección y posterior reacción “Click”, indica la desprotección total del grupo alquino. El pico Cu 2p indica la presencia de cobre en la muestra, procedente del catalizador para la reacción CuAAC (Figura 77). Mediante sucesivos lavados y filtraciones se consiguió reducir el contenido en cobre hasta un 0.49% en peso, medido en un análisis de ICP-Masas.

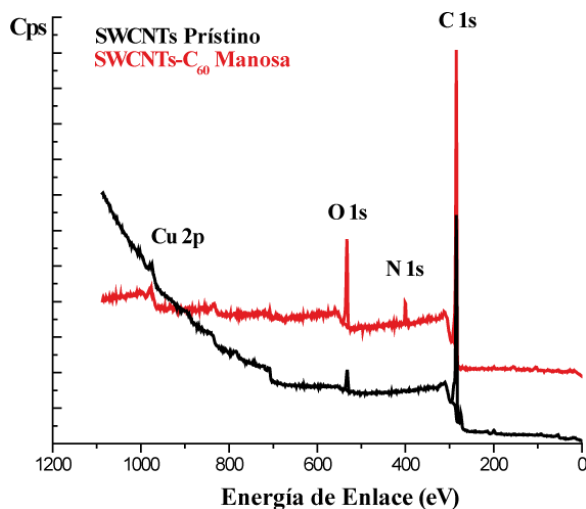


FIGURA 77. Espectroscopía XPS comparativa entre los SWCNT sin funcionalizar (en negro) y los SWCNT funcionalizados con hexaadductos decorados con manosas (en rojo).

La espectroscopía Raman de las muestras revela que se ha producido una funcionalización con respecto a los nanotubos de partida. En la Figura 78 se muestran los nanotubos de partida y los nanotubos ya funcionalizados, que prácticamente solapan unos con otros, lo que da idea de la reproducibilidad y homogeneidad de las muestras conseguidas con este método. La característica principal del espectro es el aumento de la intensidad de la banda D, con el consiguiente aumento del coeficiente I_D/I_G , al ir pasando de los nanotubos sin funcionalizar a los nanotubos con alquinos y, finalmente, a los nanotubos con glicofullereno en su superficie. Este aumento es indicativo de un mayor grado de funcionalización del nanotubo. Tanto la caracterización microscópica como la espectroscópica confirman, por tanto, la formación de los nanotubos funcionalizados con glicofullerenos para su posterior evaluación biológica.

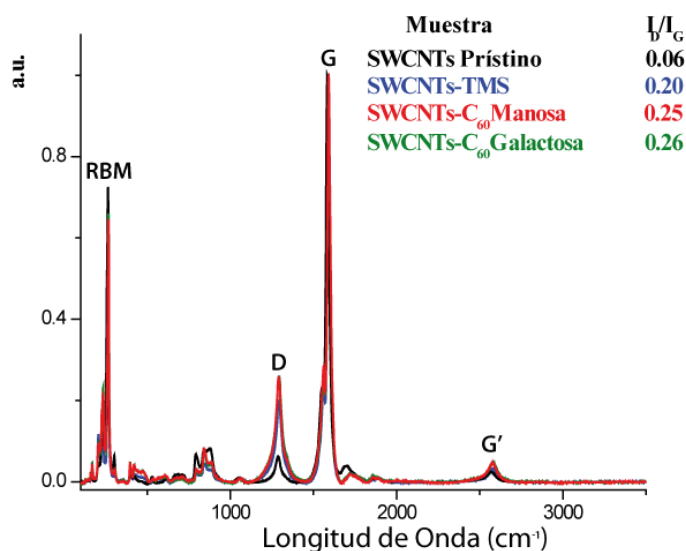


FIGURA 78. Espectro Raman, con una fuente de excitación láser de 532 nm, de los SWCNTs 101, 102 y 103. El incremento de la intensidad de la banda D es indicativo de las vibraciones de los carbonos sp^3 . Los espectros Raman para los nanotubos funcionalizados se superponen casi totalmente, como era de esperar.

Basándonos en los resultados previos sobre las “Bolas de Azúcar de Fullerenos” y en su simetría esférica, decidimos abordar la síntesis de una segunda generación de estos sistemas, a partir del compuesto con un grupo azida **89** y el hexaaducto con 12 alquinos terminales **72**. Mediante la reacción de “Click-Chemistry”, llevada a cabo en las condiciones habituales, se puede obtener una estructura con 120 carbohidratos, en concreto manosas **104** y su análogo con galactosas **105**.

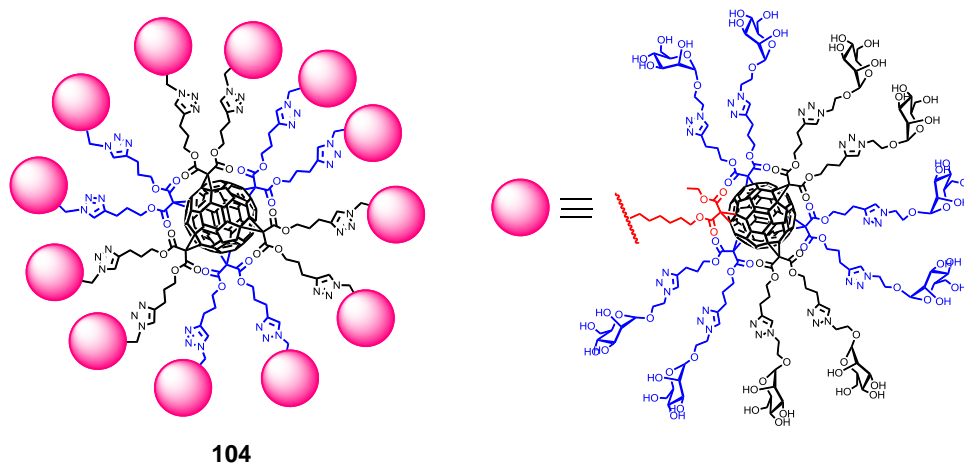


FIGURA 79. “Bola de Azúcar de Fullerenio” de segunda generación, con 120 manosas (104).

La caracterización de este tipo de compuestos con gran cantidad de unidades de carbohidrato se hace muy complicada usando las técnicas rutinarias en química orgánica. La cantidad de protones de la molécula y su alta simetría, hacen que sea difícil aislar las señales anchas de los numerosos protones isócronos. Sin embargo, pueden distinguirse bien los protones aromáticos, correspondientes al anillo de triazol, en un singlete ancho en torno a 7.82 ppm. Los análisis en espectrometría de masas no arrojan resultados concluyentes en forma de un pico molecular bien definido, se aprecian abultamientos en la zona de 50 KDa y 60 KDa. Son muestras que tienden a fragmentarse mucho, y estas fragmentaciones de baja masa parecen inhibir la ionización de los fragmentos de masa mayor. Los análisis de FT-IR demuestran que no existen grupos alquino terminal ni grupos azida en la zona próxima a 2100 cm^{-1} , lo que es una prueba de que la reacción se ha completado. Como análisis adicional que confirme la estructura propuesta, tenemos el espectro de ^{13}C -RMN, donde se asignaron las señales más características conforme a la estructura propuesta para la molécula **104** (Figura 80).

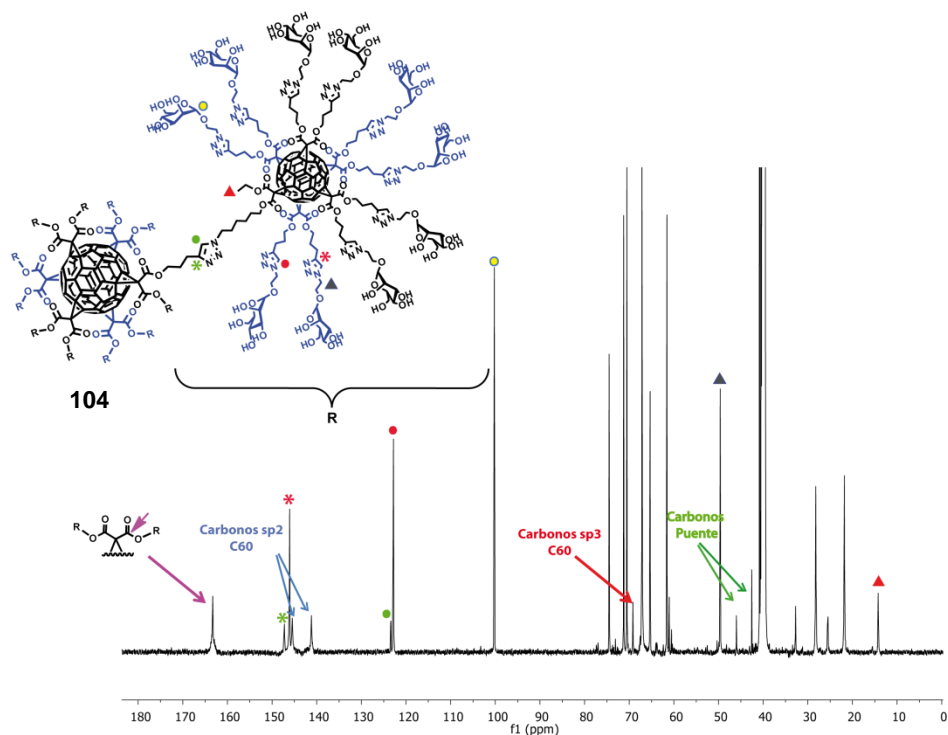


FIGURA 80. Espectro de ^{13}C -RMN (175 MHz, DMSO-d_6 , 298 K) del derivado 104. El espectro fue obtenido con 65.000 acumulaciones, y con un tiempo de relajación $D1=2$ segundos.

Como señales más características, pueden observarse las correspondientes a los dos tipos de triazol de la molécula (asteriscos y círculos, verdes y rojos). Los carbonos sp^2 de las unidades de C_{60} , los distintos carbonos tipo puente y los carbonos pertenecientes a los metilos (triángulo rojo).

4.11. Estudios de transfección en células: Estructuras superiores basadas en hexaaductos de C_{60} y Nanotubos de Carbono , como agentes para la inhibición de la infección viral

Cómo ya se mencionó anteriormente, y a la vista de los resultados obtenidos en los estudios de transfección, donde se puso de manifiesto la importancia del número de carbohidratos así como el tamaño de la plataforma sobre la cuál estos son presentados. Con esto en mente decidimos llevar a cabo estudios de transfección preliminares con los CNTs decorados con manosa y galactosa, **102** y **103** respectivamente. Utilizando los CNTs como plataforma para la

presentación de carbohidratos conseguimos disponer los carbohidratos a lo largo del eje principal del nanotubo.

Por otro lado también estudiamos las capacidad de inhibición de la infección viral cuando utilizamos la “Bolas de Azúcar de Fullerenos” de segunda generación, como el derivado de manosa **104** y su análogo de galactosa **105**. Estas estructuras presentan excelentes solubilidades en medios acuosos y 120 carbohidratos en su superficie y se mostraron muy activas bloqueando la lectina DC-SIGN en células de Jurkat, obteniendo valores de $IC_{50} = 16.77$ nM, como se muestra en la Figura 81.

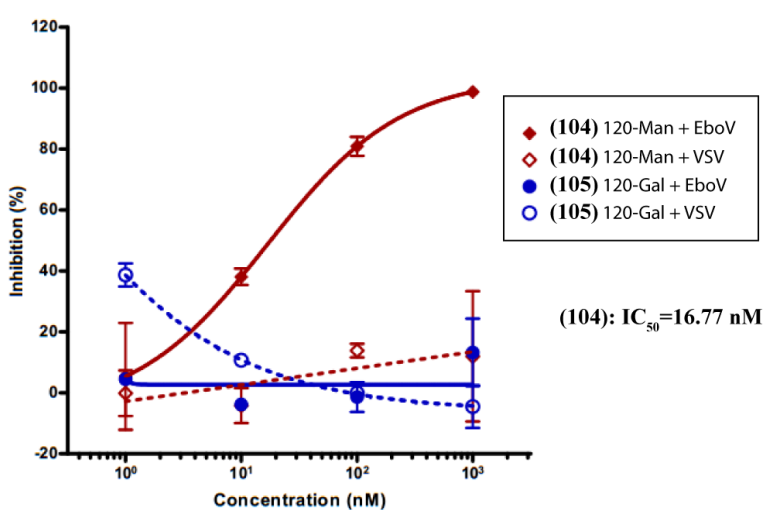


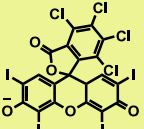
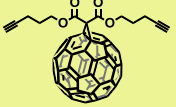
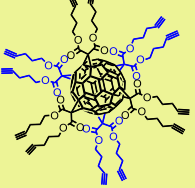
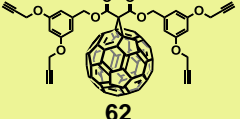
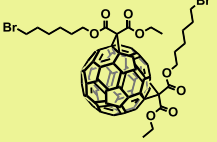
FIGURA 81. Curvas de inhibición de los compuestos **104** y **105**, frente a al pseudovirus EboGP, cuya internalización en Células Jurkat depende de DC-SIGN y el control negativo en forma pseudovirus VSV, no depende de DC-SIGN.

Los resultados de inhibición con los CNTs **102** y **103**, desgraciadamente, no arrojaron resultados concluyentes, debido posiblemente a su insolubilidad.

4.12. Propiedades fotoquímicas como sensibilizadores para la generación de oxígeno singlete

Con el fin de estudiar la relación entre el grado de sustitución del fullereno con el rendimiento cuántico de producción de oxígeno singlete (1O_2), se evaluaron monoadductos, bisadductos como mezcla de regioisómeros y hexaadductos. Los resultados se recogen en la Tabla 4.

TABLA 4. Resultados obtenidos para la generación de oxígeno singlete usando diferentes fotosensibilizadores derivados del C₆₀.

MUESTRA	Rendimiento Cuántico $\Phi_{\Delta} \pm \text{Error}$	Tiempo de vida media ¹ O ₂ $\tau_{\Delta} / \mu\text{s} \pm \text{Error}$	Constante de Desactivación $k_{q\Delta}^{\text{Sens}} / \text{M}^{-1} \text{s}^{-1} \pm$ (%Error)
ROSA DE BENGALA  (Usado como referencia)	0.80 ($\Phi_{\Delta} = 0.80$ en MeOH) ¹⁵²	10.00 ± 0.82 ($\tau_{\Delta} = 10.0 \mu\text{s}$) ¹⁵³	
C₆₀	1.06 ± 0.09 ($\Phi_{\Delta} = 0.96 \pm 0.04$ en benceno) ¹⁵⁴	31.40 ± 0.48	4.06 × 10⁶ (± 5.3%)
 59	0.68 ± 0.05	30.79 ± 0.25	1.06 × 10⁷ (± 16.8%)
 72	0.15 ± 0.05	28.86 ± 1.51	3.18 × 10⁷ (± 17.2%)
 62	0.69 ± 0.12	30.91 ± 0.29	8.79 × 10⁶ (± 6.1%)
 84bis	0.67 ± 0.05	30,48 ± 0,44	1.89 × 10⁷ (± 6.4%)

[152] F. Wilkinson, W. P. Helman, A. B. Ross, *J. Phys. Chem. Ref. Data* **1993**, 22, 113.

[153] O. Shimizu, J. Watanabe, K. Imakubo, S. Naito, *Chem. Lett.* **1999**, 1, 67.

[154] J. W. Arbogast, A. P. Darmanyan, C. S. Foote, F. N. Diederich, R. L. Whetten, Y. Rubin, M. M. Alvarez, S. J. Anz, *J. Phys. Chem.* **1991**, 95, 11.

Todos los compuestos de la Tabla 4 se probaron como sensibilizadores de oxígeno singlete disueltos en tolueno, y se compararon con las referencias bibliográficas del C₆₀ (en benceno) y del Rosa de Bengala (en MeOH). Las curvas de decaimiento de la luminiscencia del oxígeno singlete a 1270 nm tras la excitación con un pulso láser se obtuvieron a diferentes energías del láser, en el rango de 1-15 mW. Las intensidades de luminiscencia a 1270 nm se midieron en condiciones experimentales idénticas con pulsos láser idénticos, y en soluciones con la misma absorbancia a 532 nm (absorbancia = 0.100) y se extrapolaron a tiempo cero. La relación que permite la determinación del rendimiento cuántico de producción de oxígeno singlete (Φ_{Δ}) es:

$$\frac{\Phi_{\Delta}}{\Phi_{\Delta}^{\text{Ref}}} = \frac{L_{\Delta}}{L_{\Delta}^{\text{Ref}}} \times \frac{n^2}{n_{\text{Ref}}^2} \times \frac{k_r^{\text{Ref}}}{k_r} \times \frac{\tau_{\Delta}^{\text{Ref}}}{\tau_{\Delta}}$$

donde Φ_{Δ} es el rendimiento cuántico de producción de oxígeno singlete para el fotosensibilizador derivado de C₆₀, $\Phi_{\Delta}^{\text{Ref}}$ es el rendimiento cuántico de oxígeno singlete del fotosensibilizador de referencia, Rosa de Bengala en metanol; L_{Δ} es la intensidad de emisión del oxígeno extrapolada a tiempo cero, y L_{Δ}^{Ref} la del fotosensibilizador de referencia, respectivamente; n y n_{Ref} son los índices de refracción de los disolventes utilizados para el estudio de los fotosensibilizadores basados en C₆₀ y el fotosensibilizador de referencia respectivamente; k_r^{Ref} y k_r son las constantes de velocidad de desactivación por vía radiativa del (¹O₂), en el disolvente utilizado para el fotosensibilizador de referencia y los derivados de C₆₀, respectivamente; y $\tau_{\Delta}^{\text{Ref}}$ y τ_{Δ} son los tiempos de vida del (¹O₂) en los disolventes utilizados.

Con el fin de eliminar los posibles efectos no lineales, la relación de señales de luminiscencia del (¹O₂) se extrapoló a intensidad cero del láser.¹⁵² Por tanto, L_{Δ} (y también L_{Δ}^{Ref}) dependen linealmente de la potencia del láser ($L_{\Delta} = S \times P_{532}$), por lo que a potencia fija podemos dejar la ecuación para determinar Φ_{Δ} en función de la relación de pendientes:

$$\frac{\Phi_{\Delta}}{\Phi_{\Delta}^{\text{Ref}}} = \frac{S_{\Delta}}{S_{\Delta}^{\text{Ref}}} \times \frac{n^2}{n_{\text{Ref}}^2} \times \frac{k_r^{\text{Ref}}}{k_r} \times \frac{\tau_{\Delta}^{\text{Ref}}}{\tau_{\Delta}}$$

La constante de desactivación del oxígeno singlete por los fotosensibilizadores se evaluó mediante la medición de tiempos de vida de emisión de oxígeno

singlete a 1270 nm en soluciones de tolueno a una concentración dada de fotosensibilizador. El análisis de Stern-Volmer permitió la determinación de las constantes de velocidad bimolecular de la desactivación de oxígeno singlete por el fotosensibilizador ($k_{q\Delta}^{\text{Sens}}$) a partir de la ecuación:

$$\frac{\tau_{\Delta 0}}{\tau_{\Delta}} = 1 + k_{q\Delta}^{\text{Sens}} \times \tau_{\Delta 0} \times [\text{Sens}]$$

donde $\tau_{\Delta 0}$ es el tiempo de vida de emisión de oxígeno singlete fotogenerado por el sensibilizador de referencia en tolueno,¹⁵³ τ_{Δ} es el tiempo de vida de emisión de oxígeno singlete medido en tolueno a diferentes concentraciones de C_{60} o de cada sensibilizador derivado de C_{60} en $\text{mol} \times \text{L}^{-1}$. La constante de Stern-Volmer es igual a $k_{q\Delta}^{\text{Sens}} \times \tau_{\Delta 0}$ y $k_{q\Delta}^{\text{Sens}}$ se puede determinar a partir de la pendiente de la correspondiente representación lineal de Stern-Volmer ($\tau_{\Delta 0} / \tau_{\Delta}$ vs. [Sens]).

En conclusión, a partir de los resultados expuestos en la Tabla 4, podemos decir que existe una correlación entre la sustitución en el esqueleto del C_{60} y su rendimiento para la producción del oxígeno singlete. La funcionalización química del C_{60} aumenta la constante de desactivación bimolecular dinámica del oxígeno singlete por el propio fotosensibilizador ($k_{q\Delta}^{\text{Sens}}$).

Esta constante tiene un menor valor para el C_{60} , $4.06 \cdot 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, un valor intermedio para los mono y bisaductos, del orden de $1-2 \cdot 10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, aunque el valor del bisaducto **84bis**, próximo a $2 \cdot 10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, es claramente más alto que el del monoaducto **59** que es cercano a $1 \cdot 10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, y obteniéndose un valor mayor para el hexaaducto **72** de $3.18 \cdot 10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$. Por tanto, parece que al aumentar la sustitución del C_{60} , la desactivación del propio $^1\text{O}_2$ que generan también aumenta. Esta sería una de las posibles razones por la cual un hexaaducto siempre generaría menos $^1\text{O}_2$ en comparación con sus análogos menos sustituidos.

Como hecho relevante, cabe destacar que se ha obtenido un rendimiento cuántico de producción de oxígeno singlete para los hexaaductos de $\Phi_{\Delta (72)} = 0.15$, que al contrario de lo que se había observado en trabajos anteriores, en los que se consideraban los hexaaductos estructuras con una nula capacidad de

generar oxígeno singlete.¹⁵⁵ Este valor no excesivamente alto, es prometedor y hace que estas estructuras puedan usarse como sensibilizadores en medios biológicos cuando estén funcionalizados con grupos biocompatibles.

Otro dato importante que arroja este estudio es la capacidad comparable de producción de oxígeno singlete de los bisaductos con respecto a los monoadductos, $\Phi_{\Delta(84\text{bis})} = 0.67 \pm 0.05$, $\Phi_{\Delta(62)} = 0.69 \pm 0.12$, $\Phi_{\Delta(59)} = 0.68 \pm 0.05$ respectivamente. Los bisaductos presentan una mayor constante de desactivación bimolecular del oxígeno singlete, pero parece que son capaces de producir más eficientemente oxígeno singlete a través de la fotoexcitación.

[155] a) R. V. Bensasson, M. Brettreich, J. Frederiksen, H. Göttinger, A. Hirsch, E. J. Land, S. Leach, D. J. McGarvey, H. Schönberger, *Free Radical Biol. Med.* **2000**, 29, 26; b) F. Rancan, M. Helmreich, A. Mölich, N. Jux, A. Hirsch, B. Röder, F. Böhm, *Photochem. Photobiol.* **2007**, 83, 1330.

PARTE EXPERIMENTAL

5.1. Técnicas generales utilizadas

- *Cromatografía en capa fina*: la evolución de las reacciones se ha seguido mediante cromatografía en capa fina utilizando cromatofolios Merck (DC-Alufolien, kieselgel 60 F254) de 0.2 mm de espesor. Para el revelado se ha utilizado, según los casos, luz ultravioleta de 254 ó 366 nm.

- *Purificación de mezclas de reacción*: se ha llevado a cabo por cromatografía en columna sobre gel de sílice (Merck, kieselgel 60, 230-240 mesh o Scharlau 60, 230-240 mesh) utilizando la técnica de media presión.

- *Espectroscopía infrarroja*: los espectros de IR se han registrado en un espectrofotómetro Bruker Tensor 27 equipado con dispositivo de ATR.

- *Espectroscopía Raman*: Se empleó un equipo LabRAM HR-800, registrando los espectros a temperatura ambiente e irradiando con dos láseres distintos (785 y 532 nm).

- *Espectroscopía de resonancia magnética nuclear*: los espectros de resonancia magnética nuclear de ^1H y ^{13}C se han realizado en equipos Bruker Avance-300, Bruker AMX-500 o Bruker AMX-700 a 298 K utilizando disolventes parcialmente deuterados como referencia. Las constantes de acoplamiento (J) se indican en Herzios y se expresan según su multiplicidad de la siguiente forma: s = singlete, d = doblete, t = triplete, m = multiplete, dd = doble doblete, c = cuadruplete, q = quintuplete.

- *Espectrometría de masas*: los espectros de masas han sido realizados en el servicio de espectrometría de masas de la Universidad Complutense de Madrid y en el Servicio Interdepartamental de Investigación (SidI) de la Universidad Autónoma de Madrid. Las condiciones de Impacto Electrónico (EI+), utilizando un equipo HP 5989A, han sido: energía de 70 eV y temperatura de fuente de 200° C. Los espectros con la técnica MALDI-TOF (espectrómetro BRUKER-REFLEX III) se registraron utilizando como matriz ditranol y un láser de nitrógeno que opera a 337 nm. Los espectros de FAB se han realizado en el Centro de Espectroscopía Atómica en la Universidad Complutense de Madrid utilizando un equipo MAT 95 termo. Como matriz para realizar los espectros se utilizó NBA (alcohol nitrobenílico).

- *Espectroscopía fotoelectrónica de rayos X (XPS)*: los análisis por XPS se realizaron en un espectrofotómetro SPECS 55004361 con fotones de aluminio no monocromáticos (200 W – 12 kV) como fuente de excitación. Los análisis

semicuantitativos se calcularon en base a la señal C1s (284.3 eV). La muestra se introdujo en forma de lentes de 8 mm de diámetro.

- *UV-Vis*: las medidas de UV-VIS se han llevado a cabo con un espectrofotómetro Varian Cary 50 o con un equipo Shimadzu UV-Vis-NIR 3200.

- *Reacciones en atmósfera inerte*: para las reacciones en las que es necesaria atmósfera inerte se ha utilizado argón.

- *Disolventes*: los disolventes utilizados se han purificado y secado siguiendo los métodos habituales en cada caso.

- *Reactivos*: los reactivos utilizados, tanto orgánicos como inorgánicos, se han obtenido de diferentes casas comerciales.

- *Microscopía de Barrido SEM-FEG*: Se llevó a cabo utilizando un equipo JEOL JSM 6335F equipado con un cañón de electrones de cátodo frío de emisión de campo con resoluciones de imagen, a 15 kV: 1.5 nm (a 4 mm de distancia de trabajo), y a 1 kV: 5.0 nm (a 4 mm de distancia de trabajo) mediante detección de electrones secundarios, y con amplificación de imagen óptica hasta 500.000 X. Equipado con análisis EDS elemental cualitativo por dispersión de energía. Oxford Instruments, modelo: X-Max de 80 mm² con una resolución de 127 eV a 5.9 KeV. Las muestras fueron depositadas en disolución dejando evaporar a presión atmosférica el disolvente y posteriormente se metalizaron mediante pulverización catódica con oro.

- *Valoraciones Isotérmicas Microcalorimétricas (ITC)*: Las medidas de ITC fueron llevadas a cabo con un microcalorímetro VP-ITC de MicrocalTM. Las inyecciones de 6 µL del derivado de fullereno fueron añadidas desde una microjeringa de 250 µL controlada electromecánicamente por el aparato, en un intervalo de 5 min, en una solución de muestra de la Con A a 25°C (volumen de la celda = 1.453 mL). La solución en la célula de valoración se agitó a una velocidad de 307 rpm durante todo el experimento. Los experimentos de control se llevaron a cabo haciendo inyecciones idénticas del glicofullereno en una célula que contiene tampón sin proteína y fueron restados del experimento correspondiente. Las concentraciones de la lectina fueron de 0.017 a 0.055 mM y los derivados de fullereno están comprendidos entre 0.108 y 0.214 mM. Mediciones de valoración se realizaron en pH = 5.2 en 0.1 M de tampón de acetato de sodio con 100 mM de NaCl, 5 mM de CaCl₂ y 5 mM MnCl₂. Los datos primarios se obtuvieron como un gráfico de la velocidad de

calentamiento expresado en $\mu\text{cal}\cdot\text{s}^{-1}$ frente al tiempo (min). Los datos se integraron para obtener una gráfica del cambio de entalpía observado por mol inyectado del glicofullereno (ΔH , $\text{kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$) frente a la relación molar (glicofullereno/Con A). Las estequiometrías, entalpías, y las constantes de equilibrio de asociación se determinaron mediante el ajuste de los datos a un modelo de unión de un único sitio con MicroCal Origin 7TM, usando un ajuste lineal de mínimos cuadrados con un enfoque de Levenberg - Marquardt.

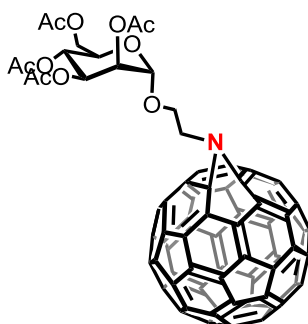
- Los SWCNTs fueron comprados a Carbon Nanotechnologies (lote P0343, pureza > 93%, longitud 100-1000 nm, diámetro 0,8-1,2 nm) de tipo HiPCo.

- Los compuestos **49**, **63**, **64**, **65**, **73**, **74** y **75**, fueron proporcionados por el grupo de investigación dirigido por el Dr. Javier Rojo del Instituto de Investigaciones Químicas de la Cartuja del CSIC en Sevilla.

5.2. Síntesis de derivados de fullereno altamente funcionalizados

5.2.1. Adición directa de azidas sobre C₆₀

Compuesto **50**



Una disolución de C₆₀ (134 mg, 0.19 mmol) y tetra-O-acetil-2-azidoetil- α -D-manopiranosido **49** (65 mg, 0.16 mmol) en 30 mL de ODCB, se mantiene a reflujo durante 24 h en atmósfera inerte. Pasado este tiempo, se elimina el disolvente a presión reducida en un rotavapor. El residuo se purifica mediante cromatografía flash en gel de sílice, utilizando como fase móvil una mezcla de tolueno/AcOEt 10:1 y posteriormente se aumenta paulatinamente la proporción de AcOEt, hasta tolueno/AcOEt 10:5. Se aisló (**50**) como un sólido marrón.

Rdto: 44%

UV/VIS (CHCl₃): 262, 328.

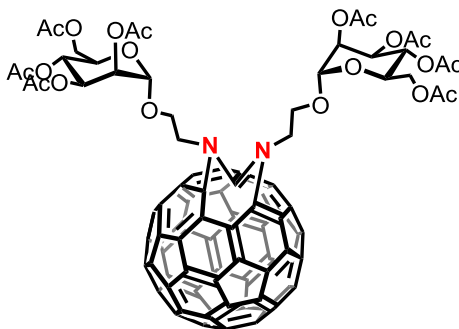
IR-TF (KBr): 2924, 1751, 1558, 1427, 1367, 1225, 1138, 1084, 1049, 526 cm⁻¹

¹H-RMN (500 MHz, CDCl₃), δ: 5.39 (dd, *J* = 9.8, 3.5, 1H), 5.36 (dd, *J* = 3.5, 1.8, 1H), 5.34 (t, *J* = 9.8, 1H), 5.06 (d, *J* = 1.8, 1 H), 4.38 – 4.30 (m, 1H), 4.23 – 4.16 (m, 2H), 4.07 – 3.99 (m, 4H), 2.19 (s, 3H), 2.17 (s, 3H), 2.03 (s, 3H), 2.00 (s, 3H)

¹³C-RMN (125 MHz, CDCl₃), δ: 170.6, 170, 169.7, 147.8, 147.7, 145.9, 145.8, 144.9, 144.9, 144.7, 144.6, 144.5, 144.4, 144.3, 144.2, 144.1, 144.0, 143.9, 143.8, 143.7, 143.6, 143.5, 143.4, 143.4, 143.2, 143.1, 142.9, 142.8, 141.5, 141.4, 140.9, 140.8, 140.4, 139.4, 139.3, 138.5, 138.4, 138.3, 138, 137.9, 137.8, 136.5, 136.4, 136.1, 135.9, 133.9, 129.0, 128.2, 125.2, 97.6, 69.5, 69.0, 68.8, 67.3, 66.1, 62.5, 51.5, 20.9, 20.8, 20.7.

MS (FAB) calculado para [M]⁺ = C₇₆H₂₃NO₁₀ = 1109.13, encontrado: 1109 [M]⁺.

Compuesto 51



A una disolución de C₆₀ (134 mg, 0.19 mmol) y tetra-O-acetil-2-azidoetil- α -D-manopiranosido **49** (65 mg, 0.16 mmol) en 30 mL de ODCB, se mantiene a reflujo durante 24 h en atmósfera inerte. Pasado este tiempo, se elimina el disolvente a presión reducida en un rotavapor. El residuo se purifica mediante cromatografía flash en gel de sílice, utilizando como fase móvil una mezcla de tolueno/AcOEt 10:1 y posteriormente aumentando paulatinamente la proporción de AcOEt, hasta tolueno/AcOEt 10:5. Se aisló **51** como un sólido marrón.

Rdto: 18%

UV/VIS (CHCl₃): 258, 325, 411, 423.

IR-TF (KBr): 2922, 1751, 1429, 1367, 1225, 1138, 1049, 526 cm^{-1}

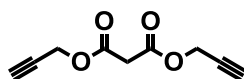
^1H -RMN (500 MHz, CDCl_3), δ : 5.49 (dd, $J = 10.0, 4.0, 2\text{H}$), 5.40 (dd, $J = 7.0, 2.0, 2\text{H}$), 5.34 (t, $J = 10.0, 2\text{H}$), 5.09 (d, $J = 1.5, 2\text{H}$), 4.57 – 4.52 (m, 2H), 4.45 – 4.40 (m, 2H), 4.34 (dd, $J = 5.0, 12.5, 2\text{H}$), 4.22 (dd, $J = 2.5, 12.5, 2\text{H}$), 4.23 – 4.19 (m, 2H), 4.03 – 3.98 (m, 2H), 3.96 – 3.90 (m, 2H), 2.18 (s, 6H), 2.15 (s, 6H), 1.97 (s, 6H), 1.92 (s, 6H).

^{13}C -RMN (125 MHz, CDCl_3), δ : 170.6, 170.0, 169.7, 169.5, 145.2, 145.1, 144.8, 144.7, 144.6, 144.6, 144.5, 143.8, 143.8, 143.1, 143.0, 142.8, 142.3, 142.1, 140.9, 129.0, 128.2, 125.3, 97.9, 88.8, 69.5, 69.0, 68.6, 67.4, 66.1, 62.4, 49.9, 21.9, 20.8, 20.7, 20.6.

MS (FAB) calculado para $[\text{M}]^+ = \text{C}_{92}\text{H}_{46}\text{N}_2\text{O}_{20} = 1498.26$, encontrado: 1498 $[\text{M}]^+$.

5.2.2. Preparación de derivados del ácido malónico para modificación química de fullerenos

Malonato de propargilo (**52**)¹⁵⁶



A una disolución de alcohol propargílico (1,63 g, 29 mmol), trietilamina (4 mL) y DMAP (70 mg) en 75 mL de DCM anhidro y bajo atmósfera inerte de argón, en un baño de hielo a 0°C , se adiciona gota a gota una disolución de cloruro de malonilo (2 g, 14.5 mmol, 1.41 mL) en 15 mL de DCM anhidro. Tras la adición completa del cloruro de malonilo se mantiene la mezcla con agitación vigorosa durante 30 minutos a 0°C . Transcurrido ese tiempo, se mantiene la agitación durante 3 horas a temperatura ambiente. A continuación, la mezcla de reacción se lavó con HCl 1M (2 x 20 mL), NaHCO_3 1M (2 x 20 mL) y, finalmente, con disolución saturada de NaCl (2 x 30 mL). Los extractos orgánicos se secaron con MgSO_4 y se eliminó el disolvente a presión reducida. El crudo resultante se purificó por cromatografía en columna, utilizando una mezcla de elución de DCM/MeOH 100:1, obteniéndose **52** como un aceite amarillento.

Rdto: 55%

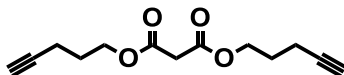
[156] S. Kotha, K. Mandal, *J. Organomet. Chem.* **2007**, 692, 4921.

^1H -RMN (300 MHz, CDCl_3), δ : 4.76 (d, $J = 3.0$, 4H). 3.50 (s, 2H), 2.53 (t, $J = 3.0$, 2H).

^{13}C -RMN (75 MHz, CDCl_3), δ : 166.9, 79.8, 78.1, 56.8, 41.1.

EM (ESI) m/z ; Calculado para $\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_4 = 180.04$, encontrado :180.1 (M^+).

Malonato de di(pent-4-inilo) (53)¹⁵⁷



A una disolución de pent-4-in-1-ol (2.43 g, 29 mmol), trietilamina (4 mL) y DMAP (78 mg, 0.58 mmol) en 75 mL de DCM anhidro y bajo atmósfera inerte de argón, en un baño de hielo a 0°C, se le adiciona gota a gota una disolución de cloruro de malonilo (2 g, 14.5 mmol, 1.41 mL) en 15 mL de DCM anhidro. Tras la adición completa del cloruro de malonilo, se mantiene la mezcla con agitación vigorosa durante 30 minutos a 0°C. Pasado este tiempo, se mantiene la agitación durante 4 horas a temperatura ambiente. A continuación, la mezcla de reacción se lavó con HCl 1M (2 x 20 mL), NaHCO_3 1M (2 x 20 mL) y, finalmente, con una disolución saturada de NaCl (2 x 30 mL). Los extractos orgánicos se secaron con sulfato magnésico y se eliminó el disolvente a presión reducida. El crudo obtenido se purificó por cromatografía en columna, utilizando hexano:DCM 1:3 como mezcla eluyente. Se obtuvo **53** como un aceite amarillo.

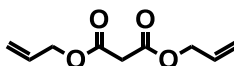
Rdto: 72%

^1H -RMN (300 MHz, CDCl_3), δ : 4.64 (t, $J = 2.0$, 2H) 3.51 (s, 2H) 2.43 (t, $J = 2.4$, 2H) 2.06 – 2.10 (m, 8H).

^{13}C -RMN (75 MHz, CDCl_3), δ : 167.8, 82.8, 69.8, 63.8, 40.7, 29.1, 19.2.

EM (ESI) m/z ; Calculado para $\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{O}_4 = 236.12$, encontrado : 236 (M^+).

Malonato de dialilo (106)¹⁵⁸



[157] J. Iehl, R. Pereira de Freitas, J.-F. Nierengarten, *Tetrahedron Lett.* **2008**, 49, 4063.

[158] T. Tsujimoto, H. Uyama, S. Kobayashi, *Biomacromolecules* **2001**, 2, 29.

A una disolución de alcohol alílico (3 g, 52 mmol), trietilamina (7.5 mL) y DMAP (80 mg, 0.6 mmol) en 75 mL de DCM anhidro y bajo atmósfera inerte de argón, en un baño de hielo a 0°C, se le adiciona gota a gota una disolución de cloruro de malonilo (3.3 g, 24 mmol, 2.3 mL) en 15 mL de DCM anhidro. Tras la adición completa del cloruro de malonilo, se mantiene la mezcla con agitación vigorosa durante 30 minutos a 0°C. Pasado este tiempo, se mantiene la agitación durante 4 horas a temperatura ambiente. A continuación, este tiempo la mezcla de reacción se lavó con HCl 1M (2 x 20 mL), NaHCO₃ 1M (2 x 20 mL) y, finalmente, con disolución saturada de NaCl (2 x 30 mL). Los extractos orgánicos se secaron con sulfato magnésico y se eliminó el disolvente a presión reducida. El crudo obtenido se purificó por cromatografía en columna, utilizando hexano/DCM 1:3 como mezcla eluyente. Se obtuvo **106** como un aceite amarillo.

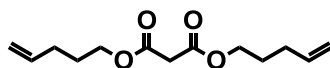
Rdto: 76%

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃), δ: 5.95 – 5.78 (m, 2H), 5.16 (d, *J* = 3.8, 2H), 5.16 – 5.10 (m, 2H), 4.72 (d, *J* = 4.9, 4H), 3.24 – 3.17 (m, 2H).

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃), δ: 168.1, 133.2, 116.3, 63.6, 41.1.

EM (ESI) *m/z*; Calculado para C₉H₁₂O₄ = 184.07, encontrado : 185 [M+H]⁺.

Malonato de di(pent-4-enilo) (**107**)



A una disolución de pent-4-en-1-ol (3.51 g, 41 mmol), trietilamina (6 mL) y DMAP (80 mg, 0.6 mmol) en 75 mL de DCM anhidro y bajo atmósfera inerte de argón, en un baño de hielo a 0°C, se le adiciona gota a gota una disolución de cloruro de malonilo (2.6 g, 19 mmol, 1.8 mL) en 15 mL de DCM anhidro. Tras la adición completa del cloruro de malonilo, se mantiene la mezcla con agitación vigorosa durante 30 minutos a 0°C. Pasado este tiempo, se mantiene la agitación durante 4 horas a temperatura ambiente. A continuación, la mezcla de reacción se lavó con HCl 1M (2 x 20 mL), NaHCO₃ 1M (2 x 20 mL) y, finalmente, con disolución saturada de NaCl (2 x 30 mL). Los extractos orgánicos se secaron con sulfato magnésico y se eliminó el disolvente a presión reducida. El crudo obtenido se purificó por cromatografía en columna, utilizando hexano/DCM 1:3 como mezcla eluyente. Se obtuvo **107** como un aceite amarillo.

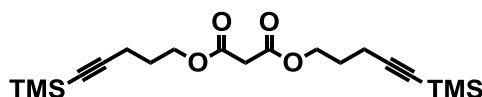
Rdto: 72%

$^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, CDCl_3), δ : 5.78 – 5.60 (m, 2H), 5.02 – 4.88 (m, 4H), 4.17 – 4.03 (m, 4H), 3.21 (s, 2H), 2.00 – 1.88 (m, 4H), 1.71 – 1.59 (m, 4H).

$^{13}\text{C-RMN}$ (75 MHz, CDCl_3), δ : 168.7, 139, 117.3, 63.4, 40.8, 28.3, 27.8.

EM (ESI) m/z ; Calculado para $\text{C}_{13}\text{H}_{20}\text{O}_4 = 240.14$, encontrado : 240 [M^+].

Malonato de bis(5-(trimetilsilil)pent-4-in-1-ilo) (54)¹⁵⁹



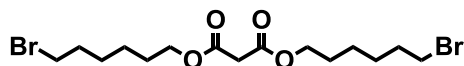
A una disolución de 5-(trimetilsilil)pent-4-in-1-ol (4.53 g, 29 mmol), trietilamina (6 mL) y DMAP (80 mg, 0.6 mmol) en 75 mL de DCM anhidro y bajo atmósfera inerte de argón, en un baño de hielo a 0°C, se le adiciona gota a gota una disolución de cloruro de malonilo (2.1 g, 15 mmol, 1.4 mL) en 15 mL de DCM anhidro. Tras la adición completa del cloruro de malonilo, se mantiene la mezcla con agitación vigorosa durante 30 minutos a 0°C. Pasado este tiempo, se mantiene la agitación durante 4 horas a temperatura ambiente. A continuación, la mezcla de reacción se lavó con HCl 1M (2 x 20 mL), y con disolución saturada de NaCl (2 x 30 mL). Los extractos orgánicos se secaron con sulfato magnésico y se eliminó el disolvente a presión reducida. El crudo obtenido se purificó por cromatografía en columna, utilizando hexano/DCM 1:3 como mezcla eluyente. Se obtuvo **54** como un aceite amarillo.

Rdto: 75%

$^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, CDCl_3), δ : 4.10 (t, $J = 6.3$, 4H), 3.23 (s, 2H), 2.18 (t, $J = 6.3$, 4H), 1.72 (q, $J = 6.3$, 4H), 0.03 (s, 18H).

$^{13}\text{C-RMN}$ (75 MHz, CDCl_3), δ : 166.4, 105.3, 85.4, 64, 41.5, 27.5, 16.4, -1.5.

Malonato de bis(5-bromohexilo) (108)



[159] a) X. Yu, W.-B. Zhang, K. Yue, X. Li, H. Liu, Y. Xin, C.-L. Wang, C. Wesdemiotis, S. Z. D. Cheng, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 7780; b) J. Iehl, J.-F. Nierengarten, *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 7306.

A una disolución de 6-bromohexan-1-ol (5 g, 28 mmol), trietilamina (4.8 mL) y DMAP (80 mg, 0.6 mmol) en 75 mL de DCM anhidro y bajo atmósfera inerte de argón, en un baño de hielo a 0°C, se le adiciona gota a gota una disolución de cloruro de malonilo (1.94 g, 14 mmol, 1.3 mL) en 15 mL de DCM anhidro. Tras la adición completa del cloruro de malonilo, se mantiene la mezcla con agitación vigorosa durante 30 minutos a 0°C. Pasado este tiempo, se mantiene la agitación durante 4 horas a temperatura ambiente. A continuación, la mezcla de reacción se lavó con HCl 1M (2 x 20 mL), y con disolución saturada de NaCl (2 x 30 mL). Los extractos orgánicos se secaron con sulfato magnésico y se eliminó el disolvente a presión reducida. El crudo obtenido se purificó por cromatografía en columna, utilizando hexano/DCM 3:7 como mezcla eluyente. Se obtuvo **108** como un aceite amarillo.

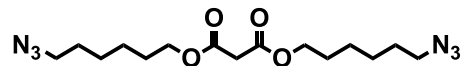
Rdto: 60%

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃), δ: 4.08 (t, *J* = 6.3, 4H), 3.35 (s, 2H) 3.33 – 3.37 (m, 4H), 1.90 – 1.71 (m, 8H), 1.44 – 1.17 (m, 8H).

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃), δ: 166.8, 65.2, 41.6, 33.6, 32.1, 29.4, 27.7, 25.1.

EM (ESI) *m/z* ; Calculado para C₁₅H₂₆O₄Br₂ = 428.02, encontrado : 429 [M+H]⁺.

Malonato de bis(6-azidohexilo) (109)



Se disuelve NaN₃ (2.30 g, 35 mmol) y malonato de bis(5-bromohexilo) (**108**) (3 g, 7 mmol), dentro de un matraz de dos bocas en DMF anhidra (20 mL) bajo atmósfera de argón a 60°C. La mezcla se mantiene a esta temperatura y con agitación vigorosa durante 16 horas. Transcurrido ese tiempo, se retira la calefacción y dejamos que la mezcla alcance temperatura ambiente, a continuación añadimos aproximadamente 40 mL de hielo picado. Posteriormente se vierte el contenido del matraz en un embudo de decantación con 40 mL de éter dietílico y 40 mL de hielo picado con agua. La fase etérea se lava con una mezcla de hielo-agua (3 x 40 mL) y, finalmente, con disolución saturada de NaCl (2 x 20 mL). Los extractos orgánicos se secaron con Na₂SO₄ anhidro, y tras evaporar el disolvente a presión reducida, el crudo fue purificado por cromatografía en columna de gel de sílice en DCM, obteniéndose **109** como un aceite amarillo.

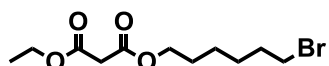
Rdto: 89%

$^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, CDCl_3), δ : 4.07 (t, $J = 6.6$, 4H), 3.29 (s, 2H), 3.20 (t, $J = 6.8$, 4H), 1.69 – 1.46 (m, 8H), 1.44 – 1.27 (m, 8H).

$^{13}\text{C-RMN}$ (75 MHz, CDCl_3), δ : 166.8, 65.1, 51.2, 41.5, 28.6, 28.3, 26.2, 25.3.

EM (ESI) m/z ; Calculado para $\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}_4\text{N}_6 = 354.20$, encontrado : 354 [M^+].

Malonato de 6-bromohexilo y etilo (83)¹⁶⁰



A una disolución de 6-bromohexan-1-ol (4 g, 22 mmol), trietilamina (5.5 mL) y DMAP (80 mg, 0.6 mmol) en 75 mL de DCM anhidro y bajo atmósfera inerte de argón, en un baño de hielo a 0°C, se le adiciona gota a gota una disolución de cloruro de malonilo (3.30 g, 22 mmol, 2.8 mL) en 15 mL de DCM anhidro. Tras la adición completa del cloruro de etilmalonilo, se mantiene la mezcla con agitación vigorosa durante 30 minutos a 0°C. Pasado este tiempo, se mantiene la agitación durante 4 horas a temperatura ambiente. A continuación, la mezcla de reacción se lavó con HCl 1M (2 x 20 mL), y con disolución saturada de NaCl (2 x 30 mL). Los extractos orgánicos se secaron con sulfato magnésico y se eliminó el disolvente a presión reducida. El crudo obtenido se purificó por cromatografía en columna, utilizando hexano/DCM 3:7 como mezcla eluyente. Se obtuvo **83** como un aceite amarillo.

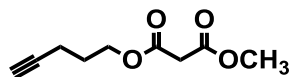
Rdto: 81%

$^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, CDCl_3), δ : 4.16 (c, $J = 6.2$, 2H), 4.07 (t, $J = 8.9$, 2H), 3.34 (t, $J = 8.9$, 2H), 3.21 (s, 2H), 1.84 – 1.80 (m, 2H), 1.69 – 1.53 (m, 2H), 1.40 – 1.24 (m, 7H).

$^{13}\text{C-RMN}$ (75 MHz, CDCl_3), δ : 168.9, 167.8, 65.4, 61.3, 40.6, 33.4, 31.5, 30.6, 29.2, 28.8, 26.5, 14.7.

[160] F. Wessendorf, J.-F. Gnichwitz, G. H. Sarova, K. Hager, U. Hartnagel, D. M. Guldi, A. Hirsch, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 16057.

Malonato de metilo y 4-pentinilo (122)¹⁶¹



A una disolución de pent-4-in-1-ol (2.43 g, 29 mmol), trietilamina (5.5 mL) y DMAP (80 mg, 0.6 mmol) en 75 mL de DCM anhidro y bajo atmósfera inerte de argón, en un baño de hielo a 0°C, se le adiciona gota a gota una disolución de cloruro de metilmalonilo (3.30 g, 24 mmol, 2.8 mL) en 15 mL de DCM anhidro. Tras la adición completa del cloruro de metilmalonilo, se mantiene la mezcla con agitación vigorosa durante 30 minutos a 0°C. Pasado este tiempo, se mantiene la agitación durante 4 horas a temperatura ambiente. A continuación, la mezcla de reacción se lavó con HCl 1M (2 x 20 mL), y con disolución saturada de NaCl (2 x 30 mL). Los extractos orgánicos se secaron con sulfato magnésico y se eliminó el disolvente a presión reducida. El crudo obtenido se purificó por cromatografía en columna, utilizando hexano/DCM 3:7 como mezcla eluyente. Se obtuvo **122** como un aceite amarillo.

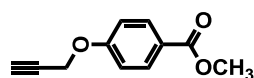
Rdto: 81%

IR-TF (KBr): 3285, 2951, 2866, 2099, 1725, 1628 cm⁻¹.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃), δ: 4.16 (t, *J* = 4.5, 2H), 3.79 (s, 3H), 3.36 – 3.19 (m, 2H), 2.29 – 2.22 (m, 2H), 1.89 (s, *J* = 2.9, 1H), 1.80 (dd, *J* = 4.5, 0.9, 2H).

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃), δ: 168.1, 167.8, 83.8, 69.8, 64.2, 51.8, 40.2, 29.2, 18.7.

4-(prop-2-in-1-iloxi)benzoato de metilo (110)¹⁶²



A una disolución de 4-hidroxibenzoato de metilo (6 g, 39 mmol) y bromuro de propargilo (6 g, 52 mmol) en acetona bajo atmósfera de argón, se añade éter 18-corona-6 (100 mg) junto con K₂CO₃ (8 g, 59 mmol). La mezcla de reacción se agita bajo atmósfera de argón a reflujo de acetona durante 16 h. Transcurrido ese tiempo el crudo de reacción se filtra con un filtro de pliegues

[161] A. J. Hilmer, K. Tvrđy, J. Zhang, M. S. Strano, *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 11901.

[162] T. Betzel, T. Hess, B. Waser, J.-C. Reubi, F. Roesch, *Bioconjugate Chem.* **2008**, *19*, 1796.

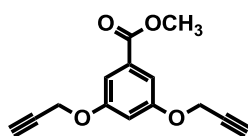
y se elimina el disolvente a presión reducida. El sólido blanco resultante se recristaliza en CH₃OH.

Rdto: 92%

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃), δ: 7.92 (d, *J* = 8.9, 2H), 6.91 (d, *J* = 8.9, 2H), 4.67 (s, 2H), 3.81 (s, 3H), 2.48 (s, 1H).

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃), δ: 167.3, 164.3, 130.8, 121.7, 115.8, 80, 78.8, 58.8, 52.1.

3,5-bis(prop-2-in-1-iloxi)benzoato de metilo (111)¹⁶³



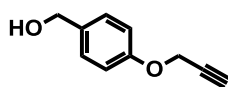
A una disolución de 3,5-dihidroxibenzoato de metilo (5.6 g, 34 mmol) y bromuro de propárgilo (9 g, 77 mmol) en acetona bajo atmósfera de argón, se añade éter 18-corona-6 (100 mg) junto con K₂CO₃ (5 g, 50 mmol). La mezcla de reacción se agita bajo atmósfera de argón a reflujo de acetona durante 16 h. Transcurrido ese tiempo el crudo de reacción se filtra con un filtro de pliegues y se elimina el disolvente a presión reducida. El sólido blanco resultante se recristaliza en CH₃OH.

Rdto: 75%

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃), δ: 7.31 (s, 2H), 6.69 (s, 1H), 4.96 (d, *J* = 3.1, 4H), 3.95 (s, 3H), 2.25 (t, *J* = 3.1, 2H).

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃), δ: 166.5, 159.9, 132.2, 109.8, 107.8, 81.1, 78.8, 58.8, 52.

Alcohol 4-(prop-2-in-1-iloxi)benílico (112)¹⁶⁴



A una disolución de 4-(prop-2-in-1-iloxi)benzoato de metilo (**110**) (6.4 g, 34 mmol) en THF anhidro (60 mL), en baño de hielo y agua a 0°C y bajo

[163] D. Kushwaha, V. K. Tiwari, *J. Org. Chem.* **2013**, 78, 8184.

[164] S. Kanamathareddy, C. D. Gutsche, *J. Org. Chem.* **1996**, 61, 2511.

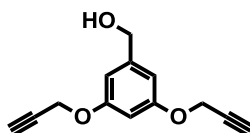
atmósfera de argón, se adiciona LiAlH_4 en polvo (1.4 g, 36 mmol) en pequeñas porciones durante 10 minutos. Transcurridas 5 horas, al crudo de reacción se le añade una mezcla de hielo-agua (40 mL) y NH_4Cl (2 g). La disolución resultante se filtra con un filtro de pliegues para eliminar los restos sólidos. El filtrado se extrae con DCM (5 x 30 mL), y finalmente las fases orgánicas se lavan con una disolución saturada de NaCl (2 x 30 mL). Los extractos orgánicos se secaron sobre Na_2SO_4 anhidro, y el disolvente se eliminó a presión reducida. Se obtiene **112** como un aceite que solidifica a temperatura ambiente como un sólido blanco.

Rdto: 89%

^1H -RMN (300 MHz, CDCl_3), δ : 7.09 (d, $J = 8.9$, 2H), 6.78 (d, $J = 8.9$, 2H), 4.51 (d, $J = 2.5$, 2H), 4.38 (s, 2H), 3.05 (s, 1H), 2.42 (t, $J = 2.5$, 1H).

^{13}C -RMN (75 MHz, CDCl_3), δ : 156.8, 134.3, 128.7, 115, 78.8, 75.8, 64.4, 55.9.

Alcohol [(3,5-bis(prop-2-in-1-iloxi)]bencílico (113)¹⁶⁵



A una disolución de 3,5-bis(prop-2-in-1-iloxi)benzoato de metilo (**111**) (6g, 25 mmol) en THF anhidro (60 mL), en baño de hielo y agua a 0°C y bajo atmósfera de argón, se adiciona LiAlH_4 en polvo (1.23 g, 31 mmol) en pequeñas porciones durante 10 minutos. Transcurridas 5 horas, al crudo de reacción se le añade una mezcla de hielo-agua (40 mL) y NH_4Cl (2 g). La disolución resultante se filtra con un filtro de pliegues para eliminar los restos sólidos. El filtrado se extrae con DCM (5 x 30 mL), y finalmente las fases orgánicas se lavan con una disolución saturada de NaCl (2 x 30 mL). Los extractos orgánicos se secaron sobre Na_2SO_4 anhidro, y el disolvente se eliminó a presión reducida. Se obtiene **113** como un sólido blanco.

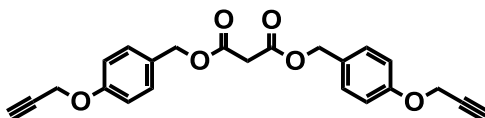
Rdto: 87%

^1H -RMN (300 MHz, CDCl_3), δ : 6.54 (s, 3H), 4.96 (d, $J = 2.9$, 4H), 4.74 (s, 2H), 2.22 (d, $J = 2.9$, 2H), 1.06 (s, 1H).

[165] O. Altan Bozdemir, S. Erbas-Cakmak, O. O. Ekiz, A. Dana, E. U. Akkaya, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2011**, *50*, 10907.

^{13}C -RMN (75 MHz, CDCl_3), δ : 160.7, 146.7, 105.8, 102.5, 80, 78.7, 63.8, 57.8.

Malonato de bis(4-(prop-2-in-1-iloxi)bencilo) (55)



A una disolución de (4-(prop-2-in-1-iloxi)fenil)metanol (**112**) (4.9 g, 30 mmol), trietilamina (4 mL) y DMAP (80 mg, 0.6 mmol) en 75 mL de DCM anhidro y bajo atmósfera inerte de argón, en un baño de hielo a 0°C, se le adiciona gota a gota una disolución de cloruro de malonilo (1.84 g, 14 mmol, 1.2 mL) en 15 mL de DCM anhidro. Tras la adición completa del cloruro de malonilo, se mantiene la mezcla con agitación vigorosa durante 30 minutos a 0°C. Pasado este tiempo, se mantiene la agitación durante 4 horas a temperatura ambiente. A continuación, la mezcla de reacción se lavó con una disolución saturada de NaHCO_3 (1 x 20 mL) y posteriormente con HCl 1M (2 x 20 mL), y, finalmente, con disolución saturada de NaCl (2 x 30 mL). Los extractos orgánicos se secaron con sulfato magnésico y se eliminó el disolvente a presión reducida. El crudo obtenido se purificó por cromatografía en columna, utilizando hexano/DCM, 2:8 como fase móvil inicial, hasta llegar a DCM como mezcla eluyente final. Se obtuvo **55** como un sólido blanco.

Rdto: 71%

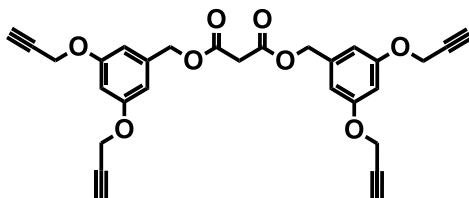
IR-TF (KBr): 2943, 2858, 2097, 1742, 1631, 1459, 1375, 1252, 1158, 1046, 755 cm^{-1} .

^1H -RMN (300 MHz, CDCl_3), δ : 7.19 (d, $J = 8.4$, 4H), 6.84 (d, $J = 8.4$, 4H), 4.95 (d, $J = 2.9$, 4H), 4.59 (d, $J = 2.2$, 4H), 3.33 (s, 2H), 2.44 (t, $J = 2.2$, 2H).

^{13}C -RMN (75 MHz, CDCl_3), δ : 165.3, 156.9, 129.1, 127.2, 113.9, 77.4, 74.7, 65.9, 54.4, 40.4.

EM (ESI) m/z ; Calculado para $\text{C}_{23}\text{H}_{20}\text{O}_6 = 392.13$, encontrado : 392 [M^+].

Malonato de bis(3,5-bis(prop-2-in-1-iloxi)bencilo) (56)



mg, 0.64 mmol), se añade bajo atmósfera de argón y con fuerte agitación, DBU (220 mg, 1.44 mmol). Se observa rápidamente el cambio de coloración de la disolución de violáceo a marrón-oscuro. La mezcla de reacción se mantiene durante 5 h con agitación en el baño de hielo-agua. Pasado ese tiempo, se deja que la mezcla alcance temperatura ambiente y se monitoriza por CCF la aparición de poliaductos, tras lo cual se pone fin a la reacción añadiendo una disolución saturada de tiosulfato sódico ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, 30 mL). La mezcla de reacción se lava con la disolución saturada de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (2 x 30 mL), HCl 0.5 M (2 x 20 mL) y, finalmente, con disolución saturada de NaCl (2 x 20 mL). Los extractos orgánicos se secan sobre MgSO_4 anhidro y se añaden 1.5 g de gel de sílice antes de evaporar el disolvente a presión reducida. El crudo de reacción se purifica mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice, usando como eluyente en primer lugar CS_2 , para eluir el C_{60} sin reaccionar, y posteriormente tolueno. Se obtuvo el compuesto **59** como un sólido marrón oscuro-parduzco de apariencia vidriosa.

Rdto: 43%

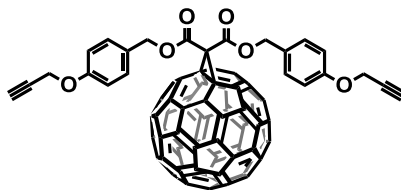
IR-TF (KBr): 2950, 2855, 2096, 1739, 1628, 1459, 1379, 1252, 1158, 1046, 901, 840, 757 cm^{-1} .

^1H -RMN (300 MHz, CDCl_3), δ : 4.61 (t, $J = 6.1$, 4H), 2.39 (t, $J = 2.4$, 2H), 2.06 – 2.14 (m, 8H).

^{13}C -RMN (75 MHz, CDCl_3), δ : 167.8, 145.3, 145.2, 145.1, 144.9, 144.7, 144.6, 143.9, 143.1, 143.0, 142.2, 141.9, 139.0, 82.8, 71.5, 69.7, 67.8, 65.8, 52.0, 27.1, 15.2.

MS (FAB) calculado para $[\text{M}]^+$: $\text{C}_{73}\text{H}_{14}\text{O}_4 = 954.91$; encontrado: 955.

Compuesto 61



A una disolución en tolueno anhidro (200 mL) a 0°C de malonato de bis(4-(prop-2-in-1-iloxi)bencilo) (**55**) (100 mg, 0.26 mmol), fullereno C_{60} (330 mg, 0.46 mmol) y I_2 (119 mg, 0.46 mmol), se añade bajo atmósfera de argón y con

fuerte agitación, DBU (132 mg, 0.87 mmol). Se observa rápidamente el cambio de coloración de la disolución de violáceo a marrón-oscuro. La mezcla de reacción se mantiene durante 3.5 horas con agitación en el baño de hielo-agua. Pasado ese tiempo, se deja que la mezcla alcance temperatura ambiente y se monitoriza por CCF la aparición de poliaductos, tras lo cual se pone fin a la reacción añadiendo una disolución saturada de tiosulfato sódico ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, 30 mL). La mezcla de reacción se lava con la disolución saturada de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (2 x 30 mL), HCl 0.5 M (2 x 20 mL) y, finalmente, con disolución saturada de NaCl (2 x 20 mL). Los extractos orgánicos se secan sobre Na_2SO_4 anhidro y se añaden 2 g de gel de sílice antes de evaporar el disolvente a presión reducida. El crudo de reacción se purifica mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice, usando como eluyente en primer lugar CS_2 , para eluir el C_{60} sin reaccionar, y posteriormente tolueno. Se obtuvo el compuesto **61** como un sólido marrón oscuro-parduzco de apariencia vidriosa.

Rdto: 46%

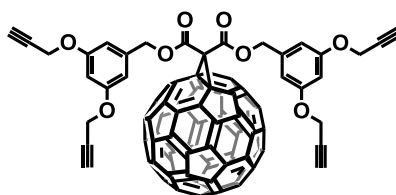
IR-TF (KBr): 3421, 2927, 2855, 2097, 1743, 1622, 1459, 1379, 1252, 1158, 1042, 903, 764 cm^{-1} .

^1H -RMN (300 MHz, CDCl_3), δ : 7.27 (d, $J = 8.7$, 4H), 6.85 (d, $J = 8.7$, 4H), 5.31 (s, 4H), 4.62 (d, $J = 2.4$, 4H), 2.46 (t, $J = 2.4$, 2H).

^{13}C -RMN (75 MHz, CDCl_3), δ : 162.3, 156.9, 144.3, 144.1, 144.0, 143.9, 143.6, 143.5, 142.8, 141.9, 141.8, 141.0, 140.8, 139.8, 138.0, 129.9, 126.5, 114.0, 77.4, 70.3, 67.4, 56.7, 54.9, 50.8.

MS (MALDI-TOF) calculada para $[\text{M}]^+$ $\text{C}_{89}\text{H}_{22}\text{O}_8 = 1110.11$, encontrado: 1110.

Compuesto 62



A una disolución en tolueno anhidro (200 mL) a 0°C de malonato de bis(3,5-bis(prop-2-in-1-iloxy)bencilo) (**56**) (200 mg, 0.40 mmol), fullereno C_{60} (520 mg, 0.72 mmol) y I_2 (180 mg, 0.70 mmol), se añade bajo atmósfera de argón y

con fuerte agitación, DBU (207 mg, 1.36 mmol). Se observa rápidamente el cambio de coloración de la disolución de violáceo a marrón-oscuro. La mezcla de reacción se mantiene durante 4 horas con agitación en el baño de hielo-agua. Pasado ese tiempo, se deja que la mezcla alcance temperatura ambiente y se monitoriza por CCF la aparición de poliaductos, tras lo cual se pone fin a la reacción añadiendo una disolución saturada de tiosulfato sódico ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, 30 mL). La mezcla de reacción se lava con la disolución saturada de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (2 x 30 mL), HCl 0.5 M (2 x 20 mL) y, finalmente, con disolución saturada de NaCl (2 x 20 mL). Los extractos orgánicos se secan sobre Na_2SO_4 anhidro y se añaden 2 g de gel de sílice antes de evaporar el disolvente a presión reducida. El crudo de reacción se purifica mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice, usando como eluyente en primer lugar CS_2 , para eluir el C_{60} sin reaccionar, y posteriormente tolueno. Se obtuvo el compuesto **62** como un sólido marrón oscuro-parduzco de apariencia vidriosa.

Rdto: 37%

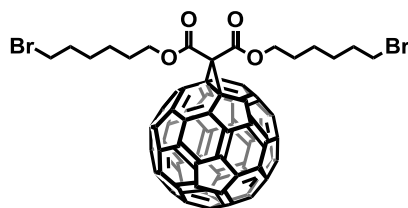
IR-TF (KBr): 3449, 2924, 2855, 2097, 1724, 1600, 1147, 1046, 901, 842, 749 cm^{-1}

^1H -RMN (300 MHz, CDCl_3), δ : 6.69 (d, $J = 2.1$, 4H), 6.60 (d, $J = 2.1$, 2H), 5.43 (s, 4H), 4.65 (d, $J = 2.40$, 8H), 2.53 (t, $J = 2.40$, 4H).

^{13}C -RMN (75 MHz, CDCl_3), δ : 163.4, 158.9, 145.4, 145.3, 145.2, 145.0, 144.9, 144.8, 144.7, 143.2, 143.1, 143.1, 142.3, 142.0, 141.0, 139.2, 137.0, 108.2, 102.6, 78.3, 76.1, 71.5, 68.6, 56.1.

MS (MALDI-TOF) calculada para $[\text{M}]^+$ $\text{C}_{89}\text{H}_{23}\text{O}_8 = 1219.14$; encontrado: 1218.1.

Compuesto 114



A una disolución en tolueno anhidro (200 mL) a 0°C de malonato de bis(5-bromohexilo) (**108**) (179 mg, 0.42 mmol), fullereno C_{60} (600 mg, 0.83 mmol) y I_2 (374 mg, 1.46 mmol), se añade bajo atmósfera de argón y con fuerte agitación, DBU (158 mg, 1.04 mmol). Se observa rápidamente el cambio de

coloración de la disolución de violáceo a marrón-oscuro. La mezcla de reacción se mantiene durante 4 horas con agitación en el baño de hielo-agua. Pasado ese tiempo, se deja que la mezcla alcance temperatura ambiente y se monitoriza por CCF la aparición de poliaductos, tras lo cual se pone fin a la reacción añadiendo una disolución saturada de tiosulfato sódico ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, 30 mL). La mezcla de reacción se lava con la disolución saturada de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (2 x 30 mL), HCl 0.5 M (2 x 20 mL) y, finalmente, con disolución saturada de NaCl (2 x 20 mL). Los extractos orgánicos se secan sobre Na_2SO_4 anhidro y se añaden 2 g de gel de sílice antes de evaporar el disolvente a presión reducida. El crudo de reacción se purifica mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice, usando como eluyente en primer lugar CS_2 , para eluir el C_{60} sin reaccionar, y posteriormente tolueno. Se obtuvo el compuesto **114** como un sólido marrón oscuro-parduzco de apariencia vidriosa.

Rdto: 55%

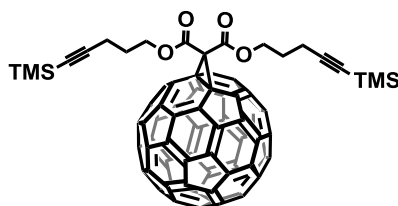
IR-TF (KBr): 2924, 2854, 1744, 1461, 1378, 1235, 1182, 1106, 1059, 943, 731 cm^{-1}

^1H -RMN (500 MHz, CDCl_3), δ : 4.53 (t, $J = 6.5$, 4H), 3.45 (t, $J = 6.7$, 4H), 1.95 – 1.86 (m, 8H), 1.60 – 1.51 (m, 8H).

^{13}C -RMN (125 MHz, CDCl_3), δ : 164.1, 145.7, 145.6, 145.1, 144.3, 143.4, 142.6, 142.3, 141.4, 139.4, 129.5, 128.6, 125.7, 71.9, 67.6, 52.7, 34.1, 33.1, 28.9, 28.2, 25.6.

MS (MALDI-TOF) calculada para $[\text{M}]^+ \text{C}_{75}\text{H}_{24}\text{Br}_2\text{O}_4 = 1149.01$; encontrado: 1171.9 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

Compuesto **60**¹⁶⁷



A una disolución en tolueno anhidro (200 mL) a 0°C de malonato de bis(5-(trimetilsilil)pent-4-in-1-ilo) (**54**) (132 mg, 0.35 mmol), fullereno C_{60} (500 mg,

[167] J. Iehl, J.-F. Nierengarten, *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 7306.

0.69 mmol) y I_2 (160 mg, 0.62 mmol), se añade bajo atmósfera de argón y con fuerte agitación, DBU (180 mg, 1.20 mmol). Se observa rápidamente el cambio de coloración de la disolución de violáceo a marrón-oscuro. La mezcla de reacción se mantiene durante 2 horas con agitación en el baño de hielo-agua. Pasado ese tiempo, se deja que la mezcla alcance temperatura ambiente y se monitoriza por CCF la aparición de poliaductos, tras lo cual se pone fin a la reacción añadiendo una disolución saturada de tiosulfato sódico ($Na_2S_2O_3$, 30 mL). La mezcla de reacción se lava con la disolución saturada de $Na_2S_2O_3$ (2 x 30 mL), HCl 0.5 M (2 x 20 mL) y, finalmente, con disolución saturada de NaCl (2 x 20 mL). Los extractos orgánicos se secan sobre Na_2SO_4 anhidro y se añaden 2 g de gel de sílice antes de evaporar el disolvente a presión reducida. El crudo de reacción se purifica mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice, usando como eluyente en primer lugar CS_2 , para eluir el C_{60} sin reaccionar, y posteriormente tolueno. Se obtuvo el compuesto **60** como un sólido marrón oscuro-parduzco de apariencia vidriosa.

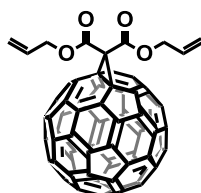
Rdto: 61%

1H -RMN (500 MHz, $CDCl_3$), δ : 4.62 (t, $J = 7.0$, 4H), 2.46 (t, $J = 7.0$, 4H), 2.08 (q, $J = 7.0$, 4H), 0.19 (s, 18H).

^{13}C -RMN (125 MHz, $CDCl_3$), δ : 163.7, 145.7, 145.6, 145.6, 145.5, 145.3, 145.1, 145.0, 144.3, 143.5, 143.4, 142.6, 142.3, 141.4, 139.5, 105.6, 86.7, 72.0, 66.3, 52.5, 28.2, 17.0, 0.6.

MS (MALDI-TOF) calculada para $[M]^+$ $C_{89}H_{30}Si_2O_4 = 1098.16$; encontrado: 1098.4.

Compuesto 115



A una disolución en tolueno anhidro (200 mL) a 0°C de malonato de dialilo (**106**) (93 mg, 0.5 mmol), fullereno C_{60} (720 mg, 1 mmol) y I_2 (260 mg, 1 mmol), se añade bajo atmósfera de argón y con fuerte agitación, DBU (260 mg, 1.7 mmol). Se observa rápidamente el cambio de coloración de la disolución de violáceo a marrón-oscuro. La mezcla de reacción se mantiene

durante 3 horas con agitación en el baño de hielo-agua. Pasado ese tiempo, se deja que la mezcla alcance temperatura ambiente y se monitoriza por CCF la aparición de poliaductos, tras lo cual se pone fin a la reacción añadiendo una disolución saturada de tiosulfato sódico ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, 30 mL). La mezcla de reacción se lava con la disolución saturada de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (2 x 30 mL), HCl 0.5 M (2 x 20 mL) y, finalmente, con disolución saturada de NaCl (2 x 20 mL). Los extractos orgánicos se secan sobre Na_2SO_4 anhidro y se añaden 2 g de gel de sílice antes de evaporar el disolvente a presión reducida. El crudo de reacción se purifica mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice, usando como eluyente en primer lugar CS_2 , para eluir el C_{60} sin reaccionar, y posteriormente tolueno. Se obtuvo el compuesto **115** como un sólido marrón oscuro-parduzco de apariencia vidriosa.

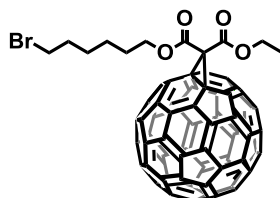
Rdto: 46%

^1H -RMN (500 MHz, CDCl_3), δ : 6.08 (ddt, $J = 16.3, 10.4, 5.9$, 2H), 5.53 (dd, $J = 16.3, 1.1$, 2H), 5.40 (dd, $J = 10.4, 1.1$, 2H), 4.99 (d, $J = 5.9$, 4H).

^{13}C -RMN (125 MHz, CDCl_3), δ : 163.6, 145.7, 145.6, 145.6, 145.5, 145.1, 145.0, 144.3, 143.5, 143.4, 142.6, 142.3, 141.4, 139.5, 131.3, 120.5, 68.2, 47.0.

MS (MALDI-TOF) calculada para $[\text{M}]^+ \text{C}_{69}\text{H}_{10}\text{O}_4 = 904.18$; encontrado: 904.2.

Compuesto 84



A una disolución en tolueno anhidro (200 mL) a 0°C de 6-bromohexiletilmalonato (**83**) (123 mg, 0.42 mmol), fullereno C_{60} (600 mg, 0.83 mmol) y I_2 (158 mg, 1.41 mmol), se añade bajo atmósfera de argón y con fuerte agitación, DBU (370 mg, 1.05 mmol). Se observa rápidamente el cambio de coloración de la disolución de violáceo a marrón-oscuro. La mezcla de reacción se mantiene durante 4 horas con agitación en el baño de hielo-agua. Pasado ese tiempo, se deja que la mezcla alcance temperatura ambiente y se monitoriza por CCF la aparición de poliaductos, tras lo cual se pone fin a la reacción añadiendo una disolución saturada de tiosulfato sódico ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, 30

mL). La mezcla de reacción se lava con la disolución saturada de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (2 x 30 mL), HCl 0.5 M (2 x 20 mL) y, finalmente, con disolución saturada de NaCl (2 x 20 mL). Los extractos orgánicos se secan sobre Na_2SO_4 anhidro y se añaden 2 g de gel de sílice antes de evaporar el disolvente a presión reducida. El crudo de reacción se purifica mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice, usando como eluyente en primer lugar CS_2 , para eluir el C_{60} sin reaccionar, y posteriormente tolueno. Se obtuvo el compuesto **84** como un sólido marrón oscuro-parduzco de apariencia vidriosa.

Rdto: 68%

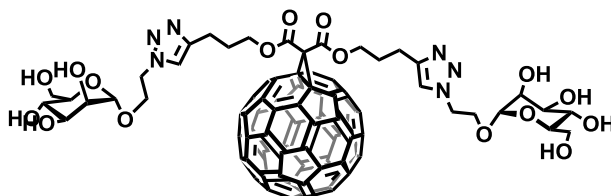
^1H -RMN (500 MHz, CDCl_3), δ : 4.19 – 4.12 (m, 4H), 3.40 (t, $J = 5.2$, 4H), 1.86 (q, 2H), 1.67 – 1.56 (m, 4H), 1.35 (d, $J = 5.8$, 3H)

^{13}C -RMN (125 MHz, CDCl_3), δ : 168.4, 167.8, 145.7, 145.6, 145.6, 145.5, 145.1, 145.0, 144.3, 143.5, 143.4, 142.6, 142.3, 141.4, 139.5, 69.1, 65.4, 61.2, 40.6, 33.0, 31.5, 30.6, 29.2, 26.6, 14.7.

MS (MALDI-TOF) calculada para $[\text{M}]^+ \text{C}_{71}\text{H}_{17}\text{BrO}_4 = 1012.03$; encontrado: 1012.9.

5.2.4. Preparación de glicofullerenos

Compuesto 65



Un vial de fondo redondo con agitador magnético, que contiene el compuesto (**59**) (30 mg, 0.032 mmol), 2-azidoetil α -D-manopiranosido (**63**) (24 mg, 0.095 mmol), $\text{CuBr}\cdot\text{S}(\text{CH}_3)_2$ (5 mg, 0.02 mmol) y ascorbato sódico (12 mg, 0.06 mmol) en presencia de hilo de cobre metálico, se desoxigena utilizando una corriente de argón, y a continuación se añaden 2 mL de DMSO y se continúa desoxigenando durante 3 minutos con agitación vigorosa. Posteriormente, se mantiene la mezcla de reacción durante 48 h con agitación y bajo atmósfera de argón. Pasado este tiempo, el crudo disuelto en DMSO se hace pasar a través de una columna de gel de sílice funcionalizada (QuadraSil MercaptopropilTM).

Capítulo 1. Parte Experimental

La disolución resultante, de color marrón oscura, se precipita con acetonitrilo y se centrifuga durante 10 min a 4500 rpm. El precipitado se lava y se resuspende utilizando AcOEt usando un baño de ultrasonidos durante 2 min, para posteriormente centrifugar durante 10 min a 6000 rpm. Se obtiene el compuesto **65** como un sólido marrón oscuro.

Rdto: 72%

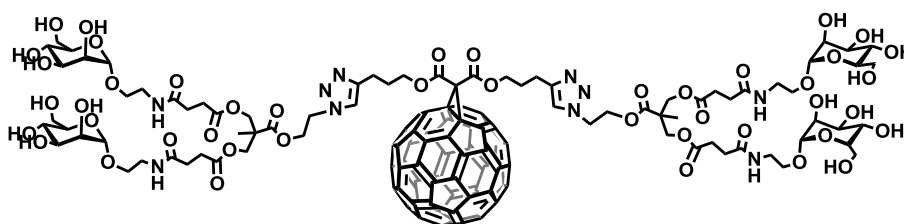
IR-TF (KBr): 3683, 1739, 1538, 1234, 1020, 954, 700, 525 cm^{-1} .

^1H -RMN (700 MHz, DMSO-d^6), δ : 7.89 (s, 2H), 4.36 – 4.67 (m, 6H), 3.94–3.66 (m, 12H), 3.31 – 3.51 (m, 4H), 3.11 – 3.29 (m, 4H), 2.72 – 2.88 (m, 4H), 2.09 – 2.22 (m, 4H).

^{13}C -RMN (175 MHz, DMSO-d^6), δ : 164.8, 147.6, 145.3, 145.2, 145.1, 144.9, 144.7, 144.5, 143.7, 143.2, 143.0, 142.2, 141.9, 139.0, 124.2, 100.2, 76.6, 75.0, 73.4, 70.4, 65.5, 63.6, 62.2, 47.1, 26.4, 23.4.

MS (FAB) calculado para $[\text{M}]^+$ $\text{C}_{89}\text{H}_{44}\text{N}_6\text{O}_{16}$ = 1453.2; encontrado: 1453.6.

Compuesto 66



Un vial de fondo redondo con agitador magnético, que contiene el compuesto **59** (19 mg, 0.02 mmol), glicodendrón **64** (49 mg, 0.05 mmol), $\text{CuBr}\cdot\text{S}(\text{CH}_3)_2$ (13 mg, 0.063 mmol) y ascorbato sódico (20 mg, 0.101 mmol) en presencia de hilo de cobre metálico, se desoxigena utilizando una corriente de argón, y a continuación se añaden 2 mL de DMSO y se continúa desoxigenando durante 3 minutos con agitación vigorosa. Posteriormente, se mantiene la mezcla de reacción durante 48 h con agitación y bajo atmósfera de argón. Pasado este tiempo, el crudo disuelto en DMSO se hace pasar a través de una columna de gel de sílice funcionalizada (QuadraSil Mercaptopropil TM). La disolución resultante, de color marrón oscura, se precipita con acetonitrilo y se centrifuga durante 10 min a 4500 rpm. El precipitado se lava y se resuspende utilizando

AcOEt usando un baño de ultrasonidos durante 2 min, para posteriormente centrifugar durante 10 min a 6000 rpm. Se obtiene el compuesto **66** como un sólido marrón oscuro brillante.

Rdto: 90%

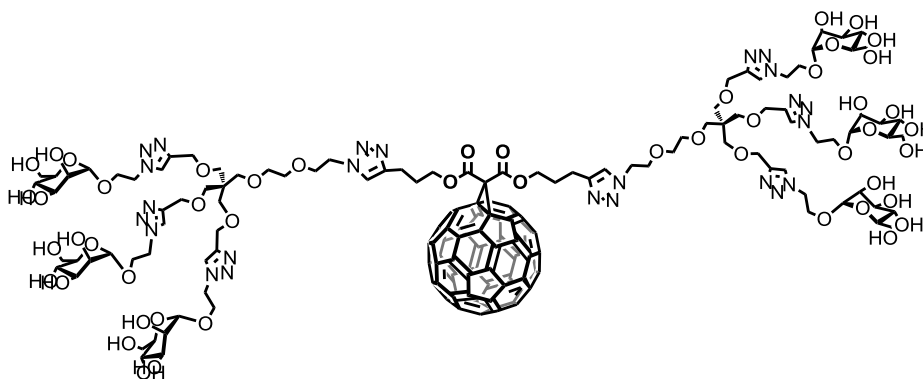
IR-TF (KBr): 3736, 3293, 2922, 1736, 1654, 1547, 1236, 1138, 1022, 957, 676, 522 cm^{-1} .

^1H -RMN (700 MHz, DMSO- d_6), δ : 7.93 (s, 2H), 4.85 – 4.80 (m, 4H), 4.71 – 4.62 (m, 8H), 4.50 – 4.63 (m, 16H), 4.45 – 4.34 (m, 16H), 4.23 – 4.18 (m, 4H), 4.14 (s, 8H), 3.70 – 3.60 (m, 4H), 3.55 – 3.50 (m, 4H), 3.48 – 3.40 (m, 4H), 3.40 – 3.30 (m, 8H), 3.24 – 3.10 (m, 4 H), 2.60 – 2.49 (m, 8H), 2.22 – 2.40 (m, 8H), 1.18 (s, 6H).

^{13}C -RMN (175 MHz, DMSO- d_6), δ : 178.0, 172.6, 172.4, 171.9, 171.2, 171.1, 163.7, 163.2, 145.5, 145.2, 145.1, 144.7, 144.6, 144.5, 143.8, 143.1, 143.0, 142.2, 141.8, 140.9, 138.9, 131.8, 122.1, 100.4, 74.8, 74.4, 71.3, 70.7, 67.4, 65.8, 65.5, 64.3, 61.7, 49.6, 46.6, 40.9, 38.9, 31.1, 30.1, 29.3, 25.6, 17.5.

MS (FAB) calculado para $[\text{M}]^+ = \text{C}_{135}\text{H}_{116}\text{N}_{10}\text{O}_{44} = 2580.71$, encontrado: 2584.2.

Compuesto 67



Un vial de fondo redondo con agitador magnético, que contiene el compuesto **59** (7.2 mg, $7.5 \cdot 10^{-3}$ mmol), glicodendrón **65** (21.8 mg, 0.02 mmol), $\text{CuBr} \cdot \text{S}(\text{CH}_3)_2$ (6 mg, 0.03 mmol) y ascorbato sódico (13 mg, 0.07 mmol) en presencia de hilo de cobre metálico, se desoxigena utilizando una corriente de argón, y a continuación se añaden 2 mL de DMSO y se continúa desoxigenando durante 3 minutos con agitación vigorosa. Posteriormente, se

mantiene la mezcla de reacción durante 48 h con agitación y bajo atmósfera de argón. Pasado este tiempo, el crudo disuelto en DMSO se hace pasar a través de una columna de gel de sílice funcionalizada (QuadraSil MercaptopropilTM). La disolución resultante, de color marrón oscura, se precipita con acetonitrilo y se centrifuga durante 10 min a 4500 rpm. El precipitado se lava y se resuspende utilizando AcOEt usando un baño de ultrasonidos durante 2 min, para posteriormente centrifugar durante 10 min a 6000 rpm. Se obtiene el compuesto **67** como un sólido marrón oscuro brillante.

Rdto: 92%

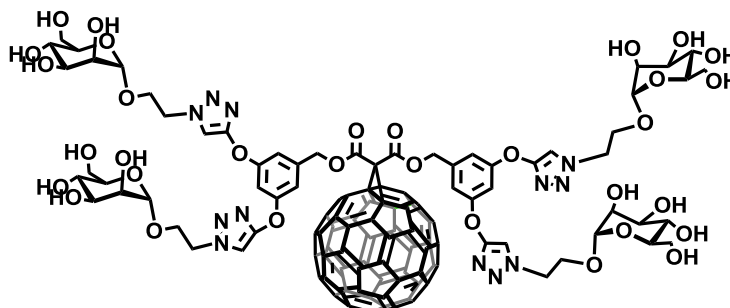
IR-TF (KBr): 3311, 2879, 1739, 1627, 1418, 1354, 1223, 1131, 1094, 1061, 878, 775, 520, 485 cm^{-1}

¹H-RMN (700 MHz, DMSO-d⁶), δ : 8.02 (s, 6H), 7.82 (s, 2H), 5.12 (d, $J = 4.1$, 4H), 5.01 (s, 4H), 4.75 (d, $J = 4.1$, 10H), 4.63 (s, 6H), 4.61 – 4.55 (m, 12H), 4.52 (m, 6H), 4.50 – 4.40 (m, 22H), 3.94 (t, $J = 4.8$, 12H), 3.91 – 3.86 (m, 9H), 3.82 – 3.75 (m, 18H), 3.65 – 3.59 (m, 6H), 3.54 (s, 6H), 3.51 (m, 6H), 3.25 (s, 6H), 3.19 – 3.14 (m, 12H), 2.53 (m, 9H).

¹³C-RMN (175 MHz, DMSO-d⁶), δ : 163.0, 162.7, 146.2, 144.3, 124.5, 123.1, 102.1, 100.3, 80.9, 76.0, 74.5, 73.1, 71.3, 70.5, 69.5, 69.0, 67.2, 65.3, 64.6, 63.7, 61.4, 60.3, 55.5, 49.7, 45.6, 36.1, 31.2, 28.0, 21.8, 21.0, 14.8.

MS (MALDI-TOF) calculada para $[\text{M}]^+$ C₁₅₇H₁₅₄N₂₄O₅₀ = 3175.02; encontradas: 3199.6 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ y 3239.9 $[\text{M}+\text{Cu}]^+$.

Compuesto 68



Un vial de fondo redondo con agitador magnético, que contiene el compuesto **62** (23.6 mg, 0.019 mmol), 2-azidoetil α -D-manopiranosido (**63**) (29 mg, 0.12 mmol), CuBr·S(CH₃)₂ (5 mg, 0.02 mmol) y ascorbato sódico (12 mg, 0.06

mmol) en presencia de hilo de cobre metálico, se desoxigena utilizando una corriente de argón, y a continuación se añaden 2 mL de DMSO y se continúa desoxigenando durante 3 minutos con agitación vigorosa. Posteriormente, se mantiene la mezcla de reacción durante 48 h con agitación y bajo atmósfera de argón. Pasado este tiempo, el crudo disuelto en DMSO se hace pasar a través de una columna de gel de sílice funcionalizada (QuadraSil Mercaptopropil™). La disolución resultante, de color marrón oscura, se precipita con acetonitrilo y se centrifuga durante 10 min a 4500 rpm. El precipitado se lava y se resuspende utilizando AcOEt usando un baño de ultrasonidos durante 2 min, para posteriormente centrifugar durante 10 min a 6000 rpm. Se obtiene el compuesto **68** como un sólido marrón oscuro.

Rdto: 86%

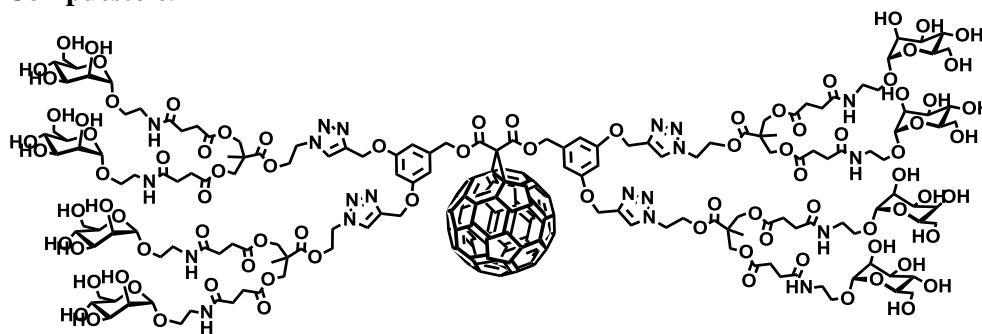
IR-TF (KBr): 3734, 3308, 2927, 1738, 1655, 1544, 1229, 1140, 1057, 965, 682, 524 cm^{-1} .

^1H -RMN (700 MHz, DMSO- d_6), δ : 7.78 (s, 4H), 6.58 – 6.41 (m, 6H), 5.44 – 5.33 (m, 8H), 4.43 (m, 4H), 4.32 – 4.21 (m, 4H), 3.93 (m, ~12H), 3.82 – 3.54 (m, ~16H), 3.53 – 3.38 (m, 20H).

^{13}C -RMN (175 MHz, DMSO- d_6), δ : 165.9, 154.8, 154.6, 145.8, 145.4, 145.3, 145.2, 145.0, 144.9, 144.8, 144.7, 143.2, 143.1, 143.0, 142.3, 142.0, 141.0, 139.2, 133.2, 122.1, 118.0, 113.7, 109.9, 103.8, 76.7, 75.1, 73.3, 70.5, 67.0, 65.5, 62.3, 47.1.

MS (FAB) calculado para $[\text{M}]^+ = \text{C}_{117}\text{H}_{74}\text{N}_{12}\text{O}_{32} = 2158.45$, encontrado: 2159.7 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Compuesto 69



Un vial de fondo redondo con agitador magnético, que contiene el compuesto **62** (13 mg, 0.01 mmol), glicodendrón **64** (53 mg, 0.06 mmol), $\text{CuBr}\cdot\text{S}(\text{CH}_3)_2$

(12 mg, 0.06 mmol) y ascorbato sódico (22 mg, 0.1 mmol) en presencia de hilo de cobre metálico, se desoxigena utilizando una corriente de argón, y a continuación se añaden 2 mL de DMSO y se continúa desoxigenando durante 3 minutos con agitación vigorosa. Posteriormente, se mantiene la mezcla de reacción durante 48 h con agitación y bajo atmósfera de argón. Pasado este tiempo, el crudo disuelto en DMSO se hace pasar a través de una columna de gel de sílice funcionalizada (QuadraSil MercaptopropilTM). La disolución resultante, de color marrón oscura, se precipita con acetonitrilo y se centrifuga durante 10 min a 4500 rpm. El precipitado se lava y se resuspende utilizando AcOEt usando un baño de ultrasonidos durante 2 min, para posteriormente centrifugar durante 10 min a 6000 rpm. Se obtiene el compuesto **69** como un sólido marrón oscuro.

Rdto: 91%

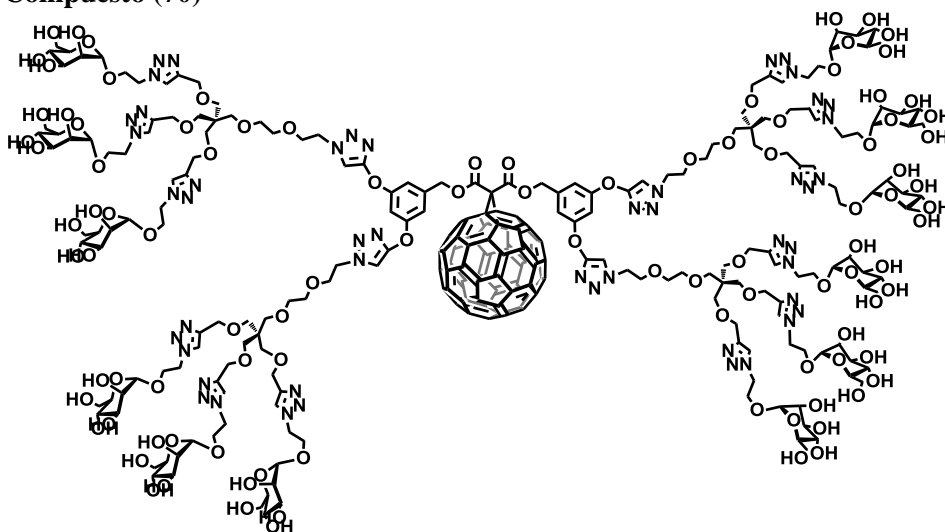
IR-TF (KBr): 3722, 3308, 2914, 1719, 1665, 1221, 1057, 965, 517 cm⁻¹.

¹H-RMN (700 MHz, D₂O), δ: 7.94 (s, 4H), 6.81 (d, *J* = 2.2, 4H), 6.63 (d, *J* = 2.2, 2H), 5.43 (s, 4H), 4.85 – 4.80 (m, 8H), 4.73 – 4.65 (m, 16H), 4.54 – 4.43 (m, 24H), 4.45 – 4.34 (m, 16H), 4.23 – 4.18 (m, 8H), 4.14 (s, 16H), 3.70 – 3.59 (m, 8H), 3.55 – 3.50 (m, 8H), 3.48 – 3.40 (m, 8H), 3.40 – 3.30 (m, 16H), 3.24 – 3.09 (m, 8H).

¹³C-RMN (175 MHz, D₂O), δ: 181.5, 173.7, 173.7, 173.6, 145.5, 145.4, 145.3, 145.2, 145.0, 144.9, 144.8, 144.7, 143.2, 143.1, 143.0, 142.3, 142.0, 141.0, 139.2, 133.2, 122.1, 118, 113.7, 99.9, 99.6, 99.1, 73.0, 72.8, 70.5, 70.4, 70.3, 70.0, 69.9, 69.8, 69.7, 67.8, 66.6, 66.5, 65.8, 63.5, 60.9, 60.8, 38.9, 38.6, 38.0, 29.9, 29.1, 27.9, 25.0, 16.9.

MS (MALDI-TOF) calculada para [M]⁺ C₂₁₃H₂₂₆N₂₀O₈₈ = 4471.38; encontrado: 4471.4 [M]⁺.

Compuesto (70)



Un vial de fondo redondo con agitador magnético, que contiene el compuesto **62** (12.8 mg, 0.01 mmol), glicodendrón **65** (53.1 mg, 0.06 mmol), $\text{CuBr}\cdot\text{S}(\text{CH}_3)_2$ (12 mg, 0.06 mmol) y ascorbato sódico (22 mg, 0.1 mmol) en presencia de hilo de cobre metálico, se desoxigena utilizando una corriente de argón, y a continuación se añaden 2 mL de DMSO y se continúa desoxigenando durante 3 minutos con agitación vigorosa. Posteriormente, se mantiene la mezcla de reacción durante 48 h con agitación y bajo atmósfera de argón. Pasado este tiempo, el crudo disuelto en DMSO se hace pasar a través de una columna de gel de sílice funcionalizada (QuadraSil MercaptopropilTM). La disolución resultante, de color marrón oscura, se precipita con acetonitrilo y se centrifuga durante 10 min a 4500 rpm. El precipitado se lava y se resuspende utilizando AcOEt usando un baño de ultrasonidos durante 2 min, para posteriormente centrifugar durante 10 min a 6000 rpm. Se obtiene el compuesto **70** como un sólido marrón oscuro.

Rdto: 90%

IR-TF (KBr): 3321, 2869.0, 1728, 1624, 1422, 1223, 1131, 1091, 881, 520 cm^{-1} .

^1H -RMN (700 MHz, DMSO-d_6), δ : 8.03 (s, 2H), 7.87 (s, 6H), 6.58 – 6.51 (m, 4H), 6.47 – 6.41 (m, 2H), 5.00 (s, 4H), 4.74 (d, $J = 3.1$, ~18H), 4.58 (s, ~16H), 4.24 – 4.13 (m, ~24H), 4.05 (t, $J = 7.9$, ~18H), 3.99 – 3.93 (m, 12H), 3.91 (m,

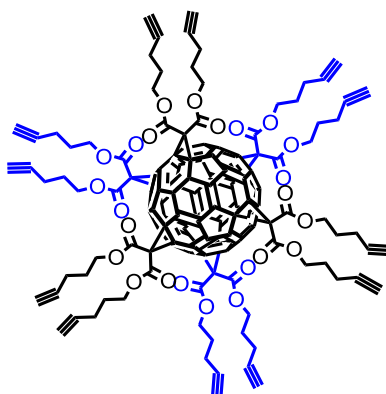
~12H), 3.79 – 3.66 (m, ~8H), 3.63 – 3.56 (m, ~38H), 3.21– 3.06 (m, ~24H), 2.99 (m, ~22H).

^{13}C -RMN (175 MHz, DMSO- d^6), δ : 176.2, 165.9, 164.9, 163.4, 159.4, 144.32, 142.8, 126.3, 125.6, 124.9, 118.3, 114.6, 99.6, 73.1, 72.7, 71.3, 70.6, 69.5, 68.7, 66.5, 65.2, 63.9, 63.6, 62.9, 60.6, 52.2, 49.6, 44.9.

MS (MALDI-TOF) calculada para $[\text{M}]^+$ $\text{C}_{253}\text{H}_{294}\text{N}_{48}\text{O}_{100}$ = 5603.94; encontrado: 5604 $[\text{M}]^+$.

5.2.5. Preparación de hexaaductos de C_{60}

Compuesto 72



A una disolución en tolueno anhidro (250 mL) que contiene CBr_4 (4.56 g, 13.90 mmol), malonato de di(pent-4-inilo) (**53**) (326 mg, 1.38 mmol) y C_{60} (100 mg, 0.14 mmol) se le adiciona DBU (420 mg, 2.76 mmol) bajo atmósfera de argón. La disolución violácea se torna rápidamente roja-anaranjada. La mezcla se mantiene bajo fuerte agitación, y bajo atmósfera de argón durante 72 h, tras lo cual se pone fin a la reacción añadiendo una disolución saturada de tiosulfato sódico ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, 100 mL). La fase orgánica de color rojo-anaranjado se lava sucesivamente con HCl 1M (2 x 150 mL), agua (2 x 150 mL) y, finalmente, con disolución saturada de NaCl (100 mL). Los extractos orgánicos se secaron sobre Na_2SO_4 y se eliminó el disolvente a presión reducida en el rotavapor. El aceite resultante se cargó en una columna de gel de sílice premezclada con DCM, y se comenzó la columna usando como eluyente DCM y, tras eluir los aductos menores de la columna cromatográfica, se aumentó gradualmente la polaridad con AcOEt, hasta llegar a DCM/AcOEt 95:5. Se obtuvo el hexaaducto **72** como un semisólido rojo.

Rdto: 64%

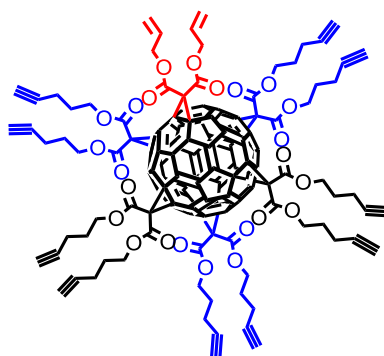
IR-TF (KBr): 3286, 2931, 2096, 1731, 1459, 1439, 1396, 1218, 1119, 1072, 1021, 822, 768 cm^{-1}

^1H -RMN (300 MHz, CDCl_3), δ : 4.55 – 4.11 (m, 24H), 2.41 – 2.12 (m, 24H), 2.06 – 1.76 (m, 36H).

^{13}C -RMN (75 MHz, CDCl_3), δ : 162.4, 144.7, 139.8, 81.3, 68.7, 64.4, 26.1, 15.6, 14.1.

MS (MALDI-TOF) calculada para $[\text{M}]^+$ $\text{C}_{138}\text{H}_{84}\text{O}_{24} = 2124.16$; encontrado: 2124.8.

Compuesto 116



En una disolución en clorobenceno anhidro (160 mL) que contiene CBr_4 (6.4 g, 19.8 mmol), malonato de di(pent-4-inilo) (**53**) (646 mg, 2.74 mmol) y compuesto **115** (247 mg, 0.27 mmol) se le adiciona DBU (840 mg, 5.48 mmol) bajo atmósfera de argón. La disolución violácea se torna rápidamente roja-anaranjada. La mezcla se mantiene bajo fuerte agitación, y bajo atmósfera de argón durante 72 h, tras lo cual se pone fin a la reacción añadiendo una disolución saturada de tiosulfato sódico ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, 100 mL). La fase orgánica de color rojo-anaranjado se lava sucesivamente con HCl 1M (2 x 150 mL), agua (2 x 150 mL) y, finalmente, con disolución saturada de NaCl (100 mL). Los extractos orgánicos se secaron sobre Na_2SO_4 y se eliminó el disolvente a presión reducida en el rotavapor. El aceite resultante se cargó en una columna de gel de sílice premezclada con DCM, y se comenzó la columna usando como eluyente DCM y, tras eluir los aductos menores de la columna cromatográfica, se aumentó gradualmente la polaridad con AcOEt, hasta llegar a DCM/AcOEt

95:5. Se obtuvo el compuesto **116** como un semisólido rojo de consistencia viscosa.

Rdto: 52%

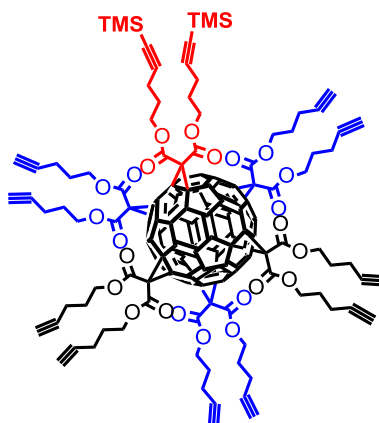
IR-TF (KBr): 3276, 2924, 2854, 2104, 1745, 1463, 1246 cm^{-1}

^1H -RMN (300 MHz, CDCl_3), δ : 6.04 (ddt, $J = 15.9, 10.2, 5.6, 2\text{H}$), 5.27 (dd, $J = 15.9, 10.2, 5.6, 4\text{H}$), 4.69 (d, $J = 5.6, 4\text{H}$), 4.52 – 4.10 (m, 20H), 2.22 (m, 20H), 2.05 – 1.74 (m, 30H).

^{13}C -RMN (75 MHz, CDCl_3), δ : 164.1, 162.7, 146.4, 141.5, 131.5, 119.8, 82.7, 69.7, 66.1, 27.6, 16.8, 15.5.

MS (MALDI-TOF) calculada para $[\text{M}]^+$ $\text{C}_{134}\text{H}_{80}\text{O}_{24} = 2074.05$; encontrado: 2074.8.

Compuesto 117



A una disolución en tolueno anhidro (250 mL) que contiene CBr_4 (7.8 g, 23.8 mmol), malonato de di(pent-4-inilo) (**53**) (675 mg, 2.86 mmol) y compuesto **60** (262 mg, 0.24 mmol) se le adiciona DBU (725 mg, 4.76 mmol) bajo atmósfera de argón. La disolución violácea se torna rápidamente roja-anaranjada. La mezcla se mantiene bajo fuerte agitación, y bajo atmósfera de argón durante 72 h, tras lo cual se pone fin a la reacción añadiendo una disolución saturada de tiosulfato sódico ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, 100 mL). La fase orgánica de color rojo-anaranjado se lava sucesivamente con HCl 1M (2 x 150 mL), agua (2 x 150 mL) y, finalmente, con disolución saturada de NaCl (100 mL). Los extractos orgánicos se secaron sobre Na_2SO_4 y se eliminó el disolvente a presión reducida en el rotavapor. El aceite resultante se cargó en una columna de gel de sílice

premezclada con DCM, y se comenzó la columna usando como eluyente DCM y, tras eluir los aductos menores de la columna cromatográfica, se cambió la polaridad poco a poco con AcOEt hasta llegar a una mezcla DCM/AcOEt 100:5. Se obtuvo el compuesto **117**. Como un sólido rojo de consistencia viscosa.

Rdto: 55%

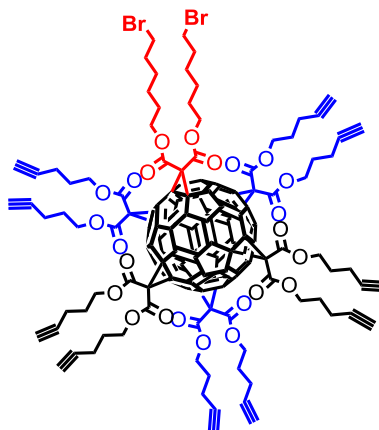
IR-TF (KBr): 3289, 2924, 2854, 2102, 1745, 1460, 1247, 1219, 1024, 846, 712, 663 cm^{-1}

^1H -RMN (500 MHz, CDCl_3), δ : 4.42 (m, 24H), 2.33 (m, 26H), 2.09 – 2.00 (m, 12H), 1.96 (m, 20H), 0.17 (s, 18H).

^{13}C -RMN (125 MHz, CDCl_3), δ : 164.1, 146.1, 141.5, 105.4, 85.9, 82.7, 70.1, 66.1, 45.7, 27.6, 17.2, 15.3, 0.8.

MS (MALDI-TOF) calculada para $[\text{M}]^+$ $\text{C}_{144}\text{H}_{100}\text{O}_{24}\text{Si}_2 = 2270.49$; encontrado: 2271.2.

Compuesto 118



A una disolución en tolueno anhidro (250 mL) que contiene CBr_4 (6.7 g, 20.5 mmol), malonato de di(pent-4-ino) (**53**) (580 mg, 2.46 mmol) y compuesto **114** (235 mg, 0.2 mmol) se le adiciona DBU (624 mg, 4.1 mmol) bajo atmósfera de argón. La disolución violácea se torna rápidamente roja-anaranjada. La mezcla se mantiene bajo fuerte agitación, y bajo atmósfera de argón durante 72 h, tras lo cual se pone fin a la reacción añadiendo una disolución saturada de tiosulfato sódico ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, 100 mL). La fase orgánica de color rojo-anaranjado se lava sucesivamente con HCl 1M (2 x 150 mL),

agua (2 x 150 mL) y, finalmente, con disolución saturada de NaCl (100 mL). Los extractos orgánicos se secaron sobre Na₂SO₄ y se eliminó el disolvente a presión reducida en el rotavapor. El aceite resultante se cargó en una columna de gel de sílice premezclada con DCM, y se comenzó la columna usando como eluyente DCM y, tras eluir los aductos menores de la columna cromatográfica, se cambió la polaridad poco a poco con AcOEt hasta llegar a una mezcla DCM : AcOEt 100:5. Se obtuvo el compuesto **118**. Como un sólido rojo de consistencia viscosa.

Rdto: 43%

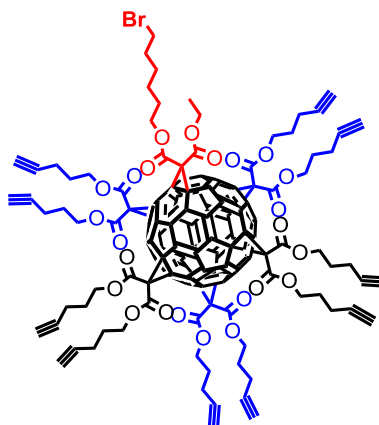
IR-TF (KBr): 3292, 2934, 2857, 2117, 1743, 1459, 1439, 1392, 1362, 1218, 1119, 1072, 1021, 891, 822, 759, 714, 648 cm⁻¹

¹H-RMN (500 MHz, CDCl₃), δ: 4.74 – 4.18 (m, 24H), 3.42 (t, *J* = 6.6, 4H), 2.31 (s, 10H), 2.11 – 1.67 (m, 28H), 1.56 – 1.26 (m, 28H).

¹³C-RMN (125 MHz, CDCl₃), δ: 164.1, 146.2, 141.6, 82.7, 70.3, 67.2, 65.6, 63.3, 45.8, 34.3, 33.1, 31.5, 28.4, 28.1, 25.3, 15.5, 14.5.

MS (MALDI-TOF) calculada para [M]⁺ C₁₃₅H₉₄O₂₄Br₂= 2259.98; encontrado: 2259.6.

Compuesto 85



A una disolución en tolueno anhidro (400 mL) que contiene CBr₄ (7 g, 21.3 mmol), malonato de di(pent-4-inilo) (**53**) (944 mg, 4 mmol) y compuesto **84** (400 mg, 0.4 mmol) se le adiciona DBU (1024 mg, 8 mmol). La disolución violácea se torna rápidamente roja-anaranjada. La mezcla se mantiene bajo fuerte agitación, y bajo atmósfera de argón durante 72 h, tras lo cual se pone

fin a la reacción añadiendo una disolución saturada de tiosulfato sódico ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, 150 mL), la fase orgánica de color rojo-anaranjado se lava sucesivamente con HCl 1M (2 x 150 mL), agua (2 x 150 mL) y, finalmente, con disolución saturada de NaCl (150 mL). Los extractos orgánicos se secaron sobre Na_2SO_4 y se eliminó el disolvente a presión reducida en el rotavapor. El aceite resultante se cargó en una columna de gel de sílice premezclada con DCM, y se comenzó la columna usando como eluyente DCM y, tras eluir los aductos menores de la columna cromatográfica, se cambió la polaridad poco a poco con AcOEt hasta llegar a una mezcla DCM : AcOEt 100:5. Se obtuvo el compuesto **85**. Como un sólido rojo de consistencia viscosa.

Rdto: 49%

IR-TF (KBr): 3292, 2955, 2855, 2117, 1742, 1442, 1393, 1356, 1222, 1116, 1068, 1023, 892, 825, 754, 714, 648 cm^{-1}

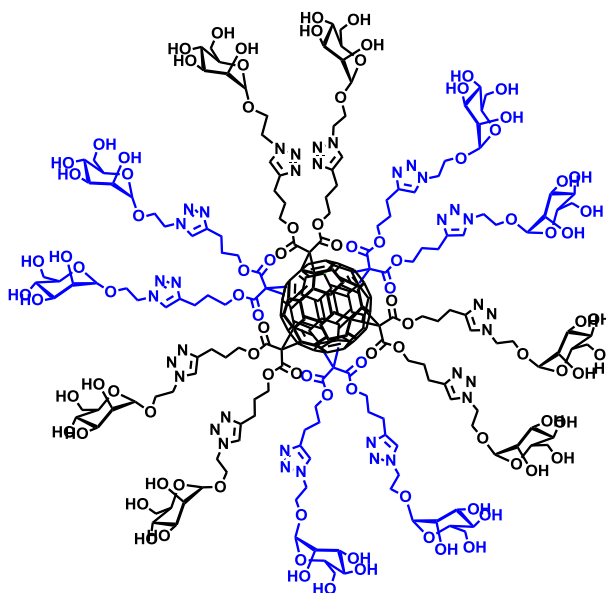
^1H -RMN (500 MHz, CDCl_3), δ : 4.24 – 4.12 (m, 24H), 3.40 – 3.31 (m, 2H), 2.28 – 2.20 (m, 20H), 1.96 – 1.91 (m, $J = 2.9$, 10H), 1.90 – 1.84 (m, 20H), 1.84– 1.58 (m, 8H), 1.32 – 1.29 (m, 3H).

^{13}C -RMN (125 MHz, CDCl_3), δ : 164.4, 164.2, 145.9, 141.1, 83.8, 69.8, 66.8, 65.4, 61.5, 40.8, 33.1, 31.5, 30.6, 29.2, 26.5, 18.9, 14.7.

MS (MALDI-TOF) calculada para $[\text{M}]^+ \text{C}_{136}\text{H}_{87}\text{O}_{24}\text{Br} = 2185.04$; encontrado: 2184.5.

5.2.6. Síntesis de “Bolas de Azúcar” de fullereno y sus variantes no-simétricas

Compuesto 76



Un vial de fondo redondo con agitador magnético, que contiene el hexaaducto **72** (33 mg, 0.016 mmol), 2-azidoetil α -D-manopiranosido (**63**) (80 mg, 0.32 mmol), $\text{CuBr}\cdot\text{S}(\text{CH}_3)_2$ (17 mg, 0.083 mmol) y ascorbato sódico (31 mg, 0.16 mmol) en presencia de hilo de cobre metálico, se desoxigena utilizando una corriente de argón, y a continuación se añaden 2 mL de DMSO y se continúa desoxigenando durante 3 minutos con agitación vigorosa. Posteriormente, se mantiene la mezcla de reacción durante 48 h con agitación y bajo atmósfera de argón. Pasado este tiempo, el crudo de reacción se hace pasar, disuelto en DMSO, a través de una columna que contiene gel de sílice funcionalizada (QuadraSil MercaptopropilTM). La disolución resultante se precipita con acetonitrilo y se centrifuga durante 10 min a 4500 rpm. El precipitado se lava y se resuspende utilizando AcOEt usando un baño de ultrasonidos durante 2 min, para posteriormente centrifugar durante 10 min a 6000 rpm. Se obtiene así el hexaaducto decorado con manosas **76** como un sólido rojo oscuro de textura viscosa.

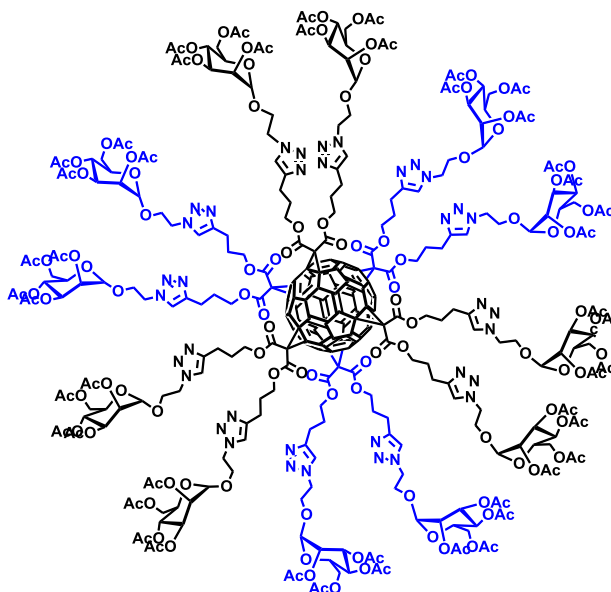
Rdto: 93%

IR-TF (KBr): 3428, 2926, 1741, 1632 cm^{-1} .

^1H -RMN (700 MHz, DMSO-d^6), δ : 7.83 (s, 12H), 4.74 (m, 24H), 4.60 (m, ~36H), 4.52-4.35 (m, ~48H), 3.92 (m, 12H), 3.77(m, 12H), 3.61(s, 12H), 3.54 (m, 24H), 3.12 (m, 24H), 2.65 (m, 24H), 1.97 (s, ~ 24H)

^{13}C -RMN (175 MHz, DMSO-d^6), δ : 163.4, 146.4, 145.5, 141.2, 122.8, 100.2, 74.7, 71.5, 70.6, 67.1, 65.2, 61.5, 49.9, 46.0, 28.3, 22.0.

Compuesto 77



Un vial de fondo redondo con agitador magnético, que contiene el hexaaducto **72** (17 mg, 0.008 mmol), 2-azidoetil α -D-manopiranosido tetraacetilado (**49**) (100 mg, 0.24 mmol), $\text{CuBr}\cdot\text{S}(\text{CH}_3)_2$ (8 mg, 0.039 mmol) y ascorbato sódico (16 mg, 0.08 mmol) en presencia de hilo de cobre metálico, se desoxigena utilizando una corriente de argón, y a continuación se añade 1 mL de DMSO y se continúa desoxigenando durante 3 minutos con agitación vigorosa. Posteriormente, se mantiene la mezcla de reacción durante 48 h con agitación y bajo atmósfera de argón. La disolución resultante se precipita en Et_2O , se centrifuga durante 10 min a 4500 rpm. El precipitado se lava y se resuspende utilizando $\text{Et}_2\text{O}:\text{AcOEt}$ 2:1 en un baño de ultrasonidos durante 2 min, para posteriormente centrifugar durante 10 min a 6000 rpm. Se obtiene el compuesto **77** como un sólido rojo oscuro de textura viscosa.

Rdto: 37%

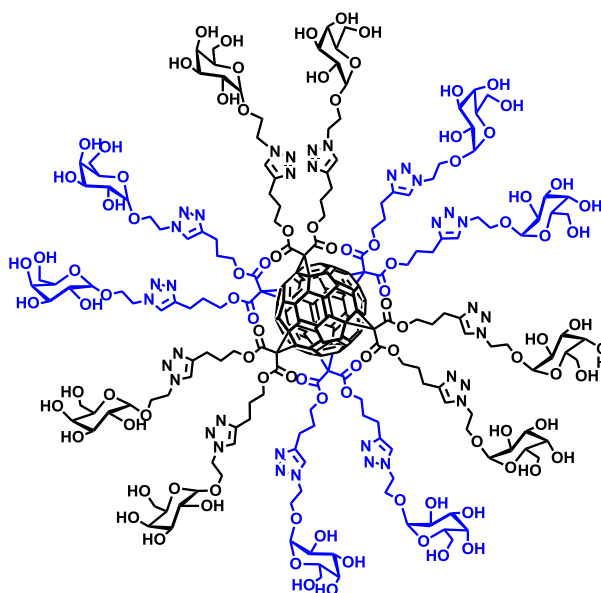
IR-TF (KBr): 2926, 1746, 1622, 1548 cm^{-1} .

^1H -RMN (700 MHz, DMSO-d^6), δ : 7.97 (m, 12H), 4.90-3.65 (m, 120H), 3.33 (m, 24H), 1.95 (s, 144H).

^{13}C -RMN (175 MHz, DMSO-d^6), δ : 170.4, 169.9, 169.8, 163.2, 145.5, 141.1, 96.7, 68.9, 68.3, 67.0, 66.0, 65.5, 62.0, 49.5, 45.9, 29.4, 28.0, 26.8, 21.9, 20.9, 20.8.

MS (MALDI-TOF) calculada para $[\text{M}]^+$ $\text{C}_{330}\text{H}_{360}\text{N}_{36}\text{O}_{144} = 7130.19$; encontrado: 7130 y 7195 $[\text{M}+\text{Cu}]^+$.

Compuesto 78



Un vial de fondo redondo con agitador magnético, que contiene el hexaadducto **72** (42 mg, 0.020 mmol), 2-azidoetil α -D-galactopiranosido (**73**) (147 mg, 0.591 mmol), $\text{CuBr}\cdot\text{S}(\text{CH}_3)_2$ (22.0 mg, 0.107 mmol) y ascorbato sódico (42 mg, 0.212 mmol) en presencia de hilo de cobre metálico, se desoxigena utilizando una corriente de argón, y a continuación se añaden 2 mL de DMSO y se continúa desoxigenando durante 3 minutos con agitación vigorosa. Posteriormente, se mantiene la mezcla de reacción durante 48 h con agitación y bajo atmósfera de argón. Pasado este tiempo, el crudo de color verde oscuro se columna en DMSO en sílice funcionalida (QuadraSil MercaptopropilTM). La disolución resultante, de color rojo, se precipita con acetonitrilo y se centrifuga

durante 10 min a 4500 rpm. El precipitado se lava y se resuspende utilizando AcOEt usando un baño de ultrasonidos durante 2 min, para posteriormente centrifugar durante 10 min a 6000 rpm. Se obtiene el compuesto **78** como un sólido rojo oscuro de textura viscosa.

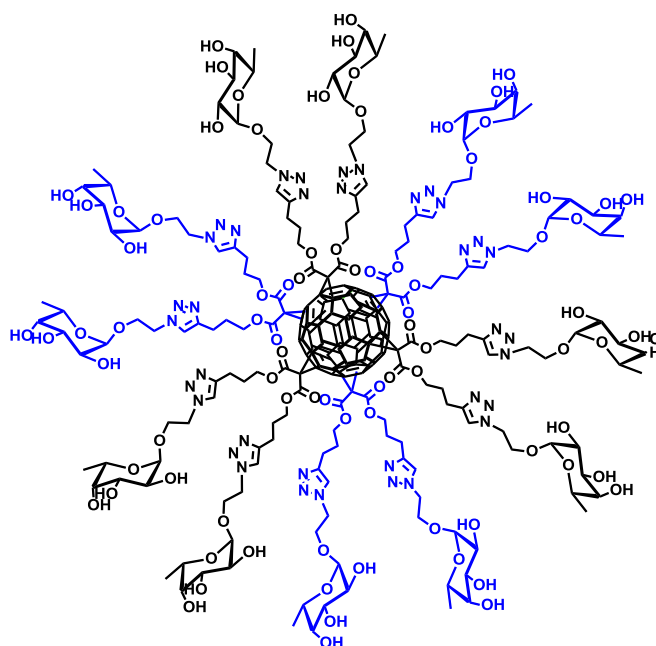
Rdto: 89%

IR-TF (KBr): 3418, 2926 1740, 1632 cm^{-1} .

^1H -RMN (700 MHz, DMSO-d^6), δ : 8.01 (12H), 4.95 (m, 12H), 4.75 (m, 24H), 4.59 (m, 36H), 4.49 (m, 12H), 4.40 (m, 12H), 4.15 (m, 12H), 4.06 (m, 12H), 3.85 (m, 12H), 3.63 (m, 24H), 3.49 (m, 24H), 2.67 (m, 24H), 1.97 (m, 24H)

^{13}C -RMN (175 MHz, DMSO-d^6), δ : 163.3, 145.5, 141.2, 123.7, 103.9, 99.5, 79.6, 79.5, 75.8, 69.9, 69.3, 69.2, 68.6, 67.6, 67.2, 66.8, 66.2, 65.4, 50.0, 46.0 28.1.

Compuesto 79



Un vial de fondo redondo con agitador magnético, que contiene el hexaaducto (**72**) (30 mg, 0.014 mmol), 2-azidoetil- α -L-fucopiranosido (**74**) (60 mg, 0.25 mmol), $\text{CuBr}\cdot\text{S}(\text{CH}_3)_2$ (14.3 mg, 0.069 mmol) y ascorbato sódico (28 mg, 0.144 mmol) en presencia de hilo de cobre metálico, se desoxigena utilizando una corriente de argón, y a continuación se añaden 2 mL de DMSO y se

continúa desoxigenando durante 3 minutos con agitación vigorosa. Posteriormente, se mantiene la mezcla de reacción durante 48 h con agitación y bajo atmósfera de argón. Pasado este tiempo, el crudo de reacción se hace pasar, disuelto en DMSO, a través de una columna que contiene gel de sílice funcionalizada (QuadraSil Mercaptopropil TM). La disolución resultante se precipita con acetonitrilo y se centrifuga durante 10 min a 4500 rpm. El precipitado se lava y se resuspende utilizando AcOEt usando un baño de ultrasonidos durante 2 min, para posteriormente centrifugar durante 10 min a 6000 rpm. Se obtiene el compuesto **79** como un sólido rojo oscuro de textura viscosa.

Rdto:89%

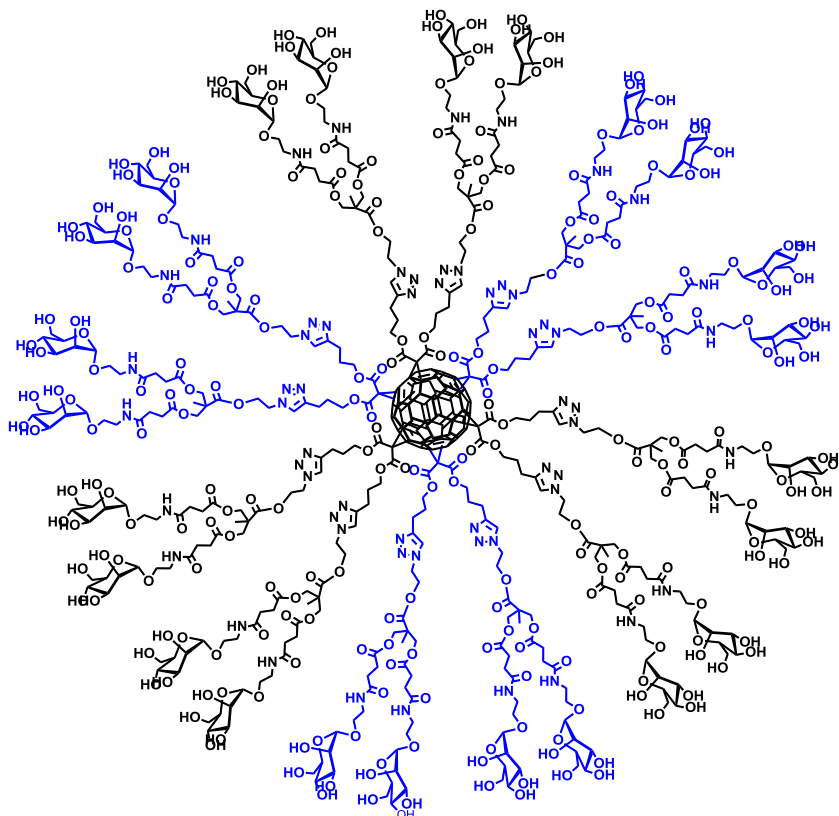
IR-TF (KBr): 3245, 3145, 2986, 1741, 1253, 1223, 1080, 1028, 528 cm⁻¹.

¹H-RMN (700 MHz, DMSO-d⁶), δ: 7.94 (s, 12H), 4.69 – 4.58 (m, 12H), 4.58 – 4.41 (m, 24H), 4.36 – 4.28 (m, 12H), 4.14 – 3.61 (m, 144H), 2.07 – 1.81 (m, 24H), 1.08 (s, 36H).

¹³C-RMN (175 MHz, DMSO-d⁶), δ: 163.9, 146.3, 145.2, 141.4, 123.3, 99.7, 74.1, 72.4, 70.4, 69.0, 66.8, 60.5, 49.9, 28.4, 22.1, 17.1.

MS (MALDI-TOF) calculada para [M]⁺ C₂₃₄H₂₆₄N₃₆O₈₄= 4921,75; encontrado: 4945.1 [M+Na]⁺.

Compuesto 80



Un vial de fondo redondo con agitador magnético, que contiene el hexaadducto **72** (5 mg, 0.002 mmol), glicodendrón **64** (54 mg, 0.066 mmol), $\text{CuBr}\cdot\text{S}(\text{CH}_3)_2$ (2.5 mg, 0.012 mmol) y ascorbato sódico (5.2 mg, 0.026 mmol) en presencia de hilo de cobre metálico, se desoxigena utilizando una corriente de argón, y a continuación se añaden 2 mL de DMSO y se continúa desoxigenando durante 3 minutos con agitación vigorosa. Posteriormente, se mantiene la mezcla de reacción durante 48 h con agitación y bajo atmósfera de argón. Pasado este tiempo, el crudo de reacción se hace pasar, disuelto en DMSO, a través de una columna que contiene gel de sílice funcionalizada (QuadraSil MercaptopropilTM). La disolución resultante se precipita con acetonitrilo y se centrifuga durante 10 min a 3500 rpm. El precipitado se lava y se resuspende utilizando AcOEt usando un baño de ultrasonidos durante 2 min, para posteriormente centrifugar durante 10 min a 3500 rpm. Se obtiene el compuesto **80** como un sólido rojo oscuro de textura viscosa.

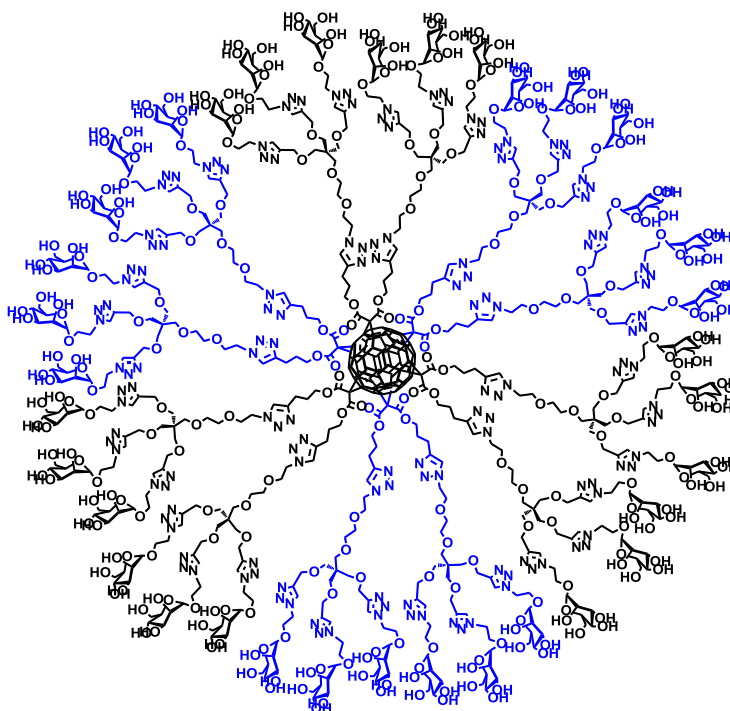
Rdto: 93%

IR-TF (KBr): 3228, 2924, 1741, 1021, 519 cm^{-1}

^1H -RMN (700 MHz, D_2O), δ : 7.74 (s, 12H), 4.80 (s, 24H), 4.75-4.62 (m, 12H), 4.30-4.14 (m, 72H), 4.05-3.94 (m, 48H), 3.86-3.60 (m, 192H), 3.58-3.40 (m, 24H), 2.51-2.34 (m, 120H), 1.18 (s, 36H).

^{13}C -RMN (175 MHz, D_2O), δ : 181.5, 174.8, 174.6, 174.4, 174.2, 173.8, 173.6, 173.0, 163.8, 162.7, 162.5, 146.8, 145.2, 141.0, 123.6, 99.9, 99.6, 99.1, 73.0, 72.9, 72.8, 70.5, 70.4, 70.0, 70.0, 69.8, 69.7, 69.1, 66.6, 66.0, 65.8, 65.6, 64.5, 64.2, 64.1, 63.9, 63.5, 63.4, 63.1, 62.3, 61.6, 60.9, 52.1, 49.4, 49.0, 48.2, 46.5, 46.4, 46.2, 46.0, 38.7, 31.0, 29.9, 29.1, 29.1, 28.8, 28.6, 27.9, 27.5, 21.4, 16.9, 16.7.

Compuesto 81



Un vial de fondo redondo con agitador magnético, que contiene el hexaadducto **72** (7.4 mg, 3.5×10^{-3} mmol), glicodendrón **65** (70 mg, 0.063 mmol), $\text{CuBr}\cdot\text{S}(\text{CH}_3)_2$ (4 mg, 0.018 mmol) y ascorbato sódico (8.1 mg, 0.041 mmol) en presencia de hilo de cobre metálico, se desoxigena utilizando una corriente

de argón, y a continuación se añaden 2 mL de DMSO y se continúa desoxigenando durante 3 minutos con agitación vigorosa. Posteriormente, se mantiene la mezcla de reacción durante 48 h con agitación y bajo atmósfera de argón. Pasado este tiempo, el crudo de reacción se hace pasar, disuelto en DMSO, a través de una columna que contiene gel de sílice funcionalizada (QuadraSil MercaptopropilTM). La disolución resultante se precipita con acetonitrilo y se centrifuga durante 10 min a 4000 rpm. El precipitado se lava y se resuspende utilizando AcOEt usando un baño de ultrasonidos durante 2 min, para posteriormente centrifugar durante 10 min a 6000 rpm. Se obtiene el compuesto **81** como un sólido rojo oscuro de textura viscosa.

Rdto: 87%

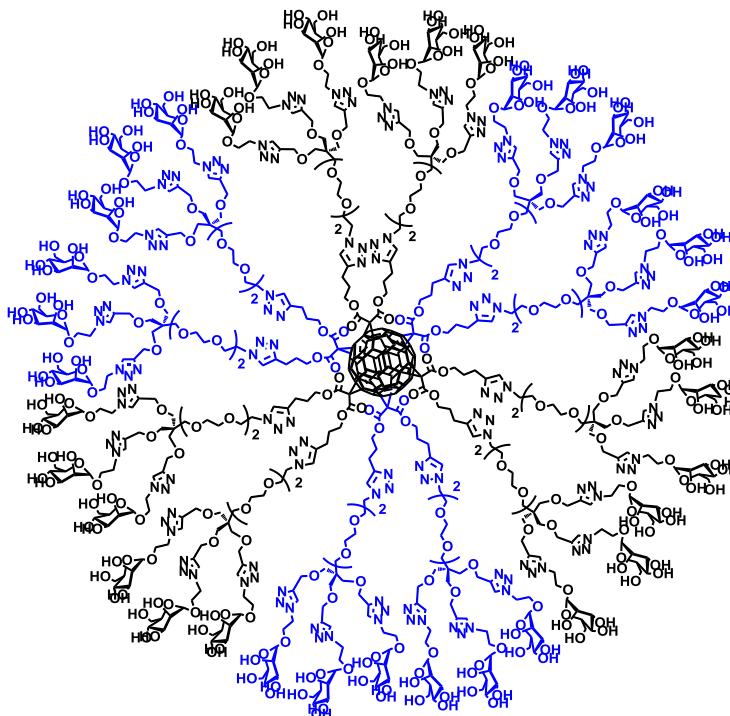
IR-TF (KBr): 3308, 3137, 2881, 2821, 1742, 1607, 1427, 1354, 1223, 1136, 1093, 1059, 878, 814, 777, 674, 520, 477 cm^{-1} .

¹H-RMN (700 MHz, DMSO-d⁶), δ : 8.02 (s, ~36H), 7.82 (s, ~12H), 5.12 (m, H), 5.01 (m, ~36H), 4.76 – 4.59 (m), 4.27 – 4.15 (m), 3.95 – 3.89 (m), 3.78 – 3.65 (m), 3.62 – 3.55 (m), 3.18 – 3.04 (m), 2.06 – 1.92 (m)

¹³C-RMN (175 MHz, DMSO-d⁶), δ : 162.8, 147.7, 145.6, 145.4, 141.1, 124.5, 122.7, 102.2, 100.3, 75.9, 74.5, 73.1, 71.3, 70.5, 69.2, 69.1, 67.2, 65.3, 64.6, 61.6, 60.2, 55.4, 49.7, 49.1, 45.4, 28.1, 21.2.

MS (MALDI-TOF) calculada para $[\text{M}]^+$ C₆₀₆H₉₃₆N₁₄₄O₃₀₀ = 15450.14; encontrado: 15450

Compuesto 82



Un vial de fondo redondo con agitador magnético, que contiene hexaaducto **72** (11.8 mg, 5.5×10^{-3} mmol), glicodendrón **75** (120 mg, 0.1 mmol), $\text{CuBr} \cdot \text{S}(\text{CH}_3)_2$ (5 mg, 0.020 mmol) y ascorbato sódico (12 mg, 0.06 mmol) en presencia de hilo de cobre metálico, se desoxigena utilizando una corriente de argón, y a continuación se añaden 2 mL de DMSO y se continúa desoxigenando durante 3 minutos con agitación vigorosa. Posteriormente, se mantiene la mezcla de reacción durante 48 h con agitación y bajo atmósfera de argón. Pasado este tiempo, el crudo de reacción se hace pasar, disuelto en DMSO, a través de una columna que contiene gel de sílice funcionalizada (QuadraSil MercaptopropilTM). La disolución resultante se precipita con acetonitrilo y se centrifuga durante 10 min a 4000 rpm. El precipitado se lava y se resuspende utilizando AcOEt usando un baño de ultrasonidos durante 2 min, para posteriormente centrifugar durante 10 min a 6000 rpm. Se obtiene el compuesto **82** como un sólido rojo oscuro de textura viscosa.

Rdto: 78%

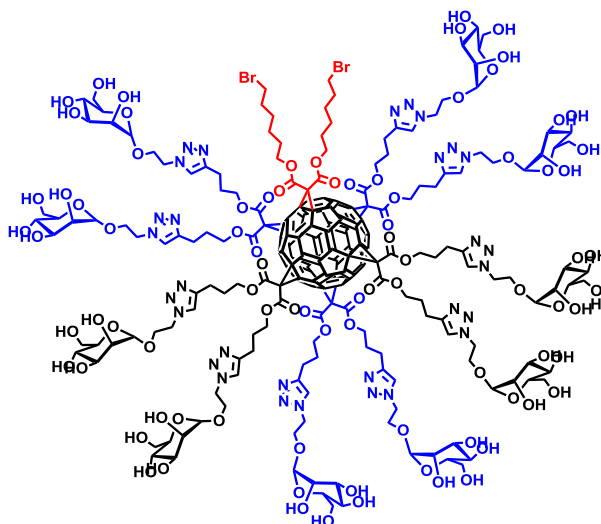
IR-TF (KBr): 3311, 3177, 3099, 2881, 2864, 1731, 1620, 1503, 1431, 1378, 1223, 1207, 1136, 1081, 1059, 878, 817, 757, 672, 526, 504, 458 cm^{-1}

^1H -RMN (700 MHz, DMSO-d^6), δ : 8.16 (s, ~36H), 7.75 (s, ~12H), 5.19 – 4.97 (m, ~48H), 4.76 – 4.59 (m), 4.31 – 4.21 (m), 3.90 – 3.70 (m), 3.65 – 3.54 (m), 3.18 – 3.04 (m), 2.07 – 1.98 (m).

^{13}C -RMN (175 MHz, DMSO-d^6), δ : 169.8, 161.0, 147.7, 146.2, 144.9, 141.3, 131.4, 131.1, 128.5, 125.6, 122.7, 102.0, 101.6, 100.2, 75.9, 75.3, 74.5, 73.1, 71.1, 70.5, 69.2, 69.0, 67.2, 66.6, 65.3, 65.0, 64.6, 64.2, 63.4, 61.5, 60.3, 54.6, 49.7, 49.1, 46.7, 36.1, 31.2, 28.2, 21.2, 20.9.

MS (MALDI-TOF) calculada para $[\text{M}]^+$ $\text{C}_{690}\text{H}_{1032}\text{N}_{144}\text{O}_{324} = 16506.78$; encontrado: 16506.

Compuesto 119



Un vial de fondo redondo con agitador magnético, que contiene el hexaadducto **118** (64.1 mg, 0.028 mmol), 2-azidoetil α -D-manopiranosido (**63**) (105 mg, 0.42 mmol), $\text{CuBr}\cdot\text{S}(\text{CH}_3)_2$ (29 mg, 0.14 mmol) y ascorbato sódico (50 mg, 0.25 mmol) en presencia de hilo de cobre metálico, se desoxigena utilizando una corriente de argón, y a continuación se añaden 2 mL de DMSO y se continúa desoxigenando durante 3 minutos con agitación vigorosa. Posteriormente, se mantiene la mezcla de reacción durante 48 h con agitación y bajo atmósfera de argón. Pasado este tiempo, el crudo de reacción se hace pasar, disuelto en DMSO, a través de una columna que contiene gel de sílice

funcionalizada (QuadraSil Mercaptopropil TM). La disolución resultante se precipita en Et₂O, se centrifuga durante 10 min a 4500 rpm. El precipitado se lava y se resuspende utilizando AcOEt en un baño de ultrasonidos durante 2 min, para posteriormente centrifugar durante 10 min a 6000 rpm. Se obtiene el compuesto **119** como un sólido rojo oscuro de textura viscosa.

Rdto: 81%

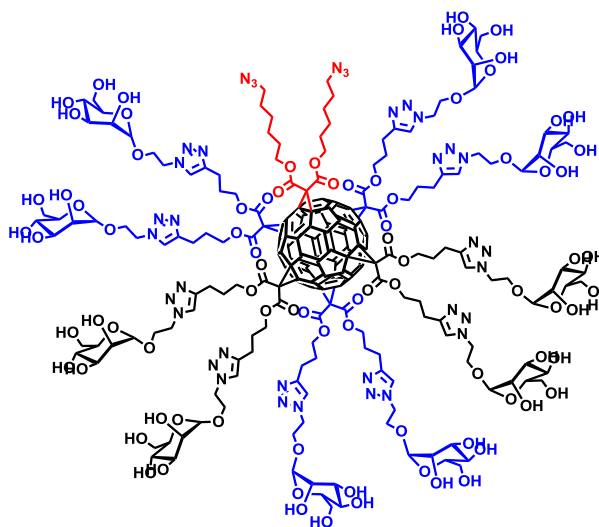
IR-TF (KBr): 3420, 3376, 2949, 2886, 1736, 1624, 1221, 1134, 819, 773, 462 cm⁻¹.

¹H-RMN (700 MHz, DMSO-d⁶), δ: 7.85 (s, 10H), 4.71 (m, 12H), , 4.56 – 4.15 (m, 44H), 3.93 (s, 8H), 3.77 (s, 8H), 3.58 (m, 8H), 3.53 (s, 8H), 3.48 – 3.27 (m, 96H), 2.04 (s, 24H), 1.45 – 0.97 (m, 32H).

¹³C-RMN (175 MHz, DMSO-d⁶), δ: 163.2, 146.4, 145.3, 141.3, 122.5, 100.6, 74.7, 71.4, 69.3, 67.4, 65.5, 63.9, 61.5, 60.4, 49.7, 46.0, 42.5, 31.0, 28.4, 22.2, 21.1, 15.8, 14.4.

MS (MALDI-TOF) calculada para [M]⁺ C₂₂₀H₂₄₄N₃₀O₈₄Br₂= 4807.41; encontrado: 4808

Compuesto 120



En un reactor de microondas, se añaden el hexaadducto **119** (154 mg, 0.032 mmol) y NaN₃ (48 mg, 0.74 mmol) disueltos en 2 mL de DMSO. Se burbujea argón durante 5 min, tras los cuales se sella el reactor. La reacción se mantiene

con agitación y bajo radiación de microondas durante 3 h a una temperatura de 70°C. A continuación, se precipita con AcOEt y se centrifuga 10 min a 4000 rpm. El sólido naranja resultante se lava con MeOH y se resuspende en una mezcla MeOH :AcOEt 3:1, con sonicación durante 5 min. A continuación, se centrifuga durante 5 min a 6000 rpm, obteniéndose el compuesto **120** como un sólido rojo.

Rdto: 89%

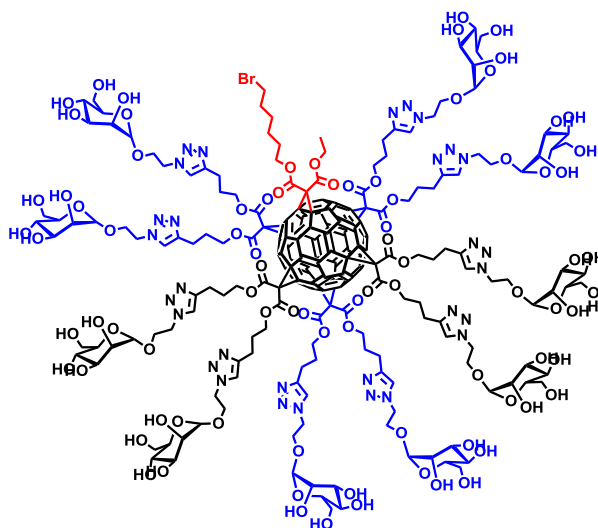
IR-TF (KBr): 3444, 3386, 2957, 2886, 2098, 1736, 1624, 1221, 1132, 821, 772 cm^{-1} .

^1H -RMN (700 MHz, DMSO- d_6), δ : 7.81 (s, 10H), 4.71 (m, 18H), 4.61 (m, 16H), 4.49 (m, 22H), 4.32 (s, 12H), 4.12 (m, 8H), 4.04 (s, 8H), 3.93 (s, 8H), 3.77 (s, 8H), 3.63 (s, 8H), 3.54 (s, 8H), 3.46 – 3.27 (m, 74H), 2.63 (m, 12H), 2.10 – 1.87 (m, 22H), 1.25 – 1.11 (m, 12H).

^{13}C -RMN (175 MHz, DMSO- d_6), δ : 163.3, 146.4, 145.3, 141.3, 122.8, 100.3, 74.7, 71.4, 67.4, 65.6, 61.8, 60.2, 51.1, 49.7, 21.4, 15.8.

MS (MALDI-TOF) calculada para $[\text{M}]^+$ $\text{C}_{220}\text{H}_{244}\text{N}_{36}\text{O}_{84} = 4733.59$; encontrado: 4734

Compuesto 86



Un vial de fondo redondo con agitador magnético, que contiene el hexaaducto **85** (35 mg, 0.016 mmol), 2-azidoetil α -D-manopiranosido (**63**) (73 mg, 0.29

mmol)), CuBr·S(CH₃)₂ (16 mg, 0.08 mmol) y ascorbato sódico (24 mg, 0.12 mmol) en presencia de hilo de cobre metálico, se desoxigena utilizando una corriente de argón, y a continuación se añaden 2 mL de DMSO y se continúa desoxigenando durante 3 minutos con agitación vigorosa. Posteriormente, se mantiene la mezcla de reacción durante 48 h con agitación y bajo atmósfera de argón. Pasado este tiempo, el crudo de reacción se hace pasar, disuelto en DMSO, a través de una columna que contiene gel de sílice funcionalizada (QuadraSil MercaptopropilTM). La disolución resultante se precipita en Et₂O, se centrifuga durante 10 min a 4500 rpm. El precipitado se lava y se resuspende utilizando AcOEt en un baño de ultrasonidos durante 2 min, para posteriormente centrifugar durante 10 min a 6000 rpm. Se obtiene el compuesto **86** como un sólido rojo oscuro de textura viscosa.

Rdto: 86%

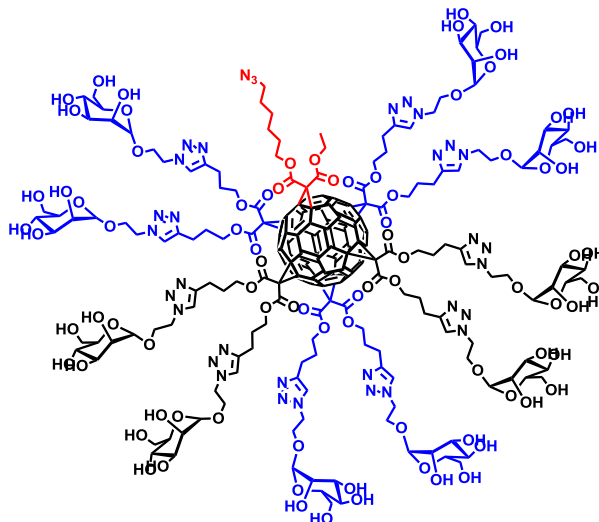
IR-TF (KBr): 3422, 2949, 2896, 1730, 1615, 1221, 1134, 753, 481 cm⁻¹.

¹H-RMN (700 MHz, DMSO-d⁶), δ: 7.84 (s, 10H), 4.61 (m, 12H), , 4.52 – 4.26 (m, 44H), 3.93 (s, 8H), 3.77 (s, 8H), 3.58 (m, 8H), 3.53 – 3.12 (m, 12H), 3.03 – 2.98 (m, 96H), 2.06 (s, 24H), 1.41 – 1.05 (m, 32H).

¹³C-RMN (175 MHz, DMSO-d⁶), δ: 163.3, 146.1, 145.5, 141.2, 122.8, 100.2, 74.5, 71.3, 70.4, 69.2, 67.2, 65.3, 61.6, 55.1, 49.6, 28.2, 21.8, 14.3.

MS (MALDI-TOF) calculada para [M]⁺ C₂₁₆H₂₃₇BrN₃₀O₈₄= 4673,44; encontrado: 4697 [M+Na]⁺

Compuesto 89



En un reactor de microondas, se añade compuesto **86** (140 mg, 0.03 mmol) y NaN₃ (8 mg, 0.120 mmol) disueltos en 2 mL de DMSO. Se burbujea argón durante 5 min, tras los cuales se sella el reactor. La reacción se mantiene con agitación y bajo radiación de microondas durante 3 h a una temperatura de 70°C. A continuación, se precipita con AcOEt y se centrifuga 10 min a 4000 rpm. El sólido naranja resultante se lava con MeOH y se resuspende en una mezcla MeOH/AcOEt 3:1, con sonicación durante 5 min. A continuación, se centrifuga durante 5 min a 6000 rpm, obteniéndose el compuesto **89** como un sólido rojo.

Rdto: 84%

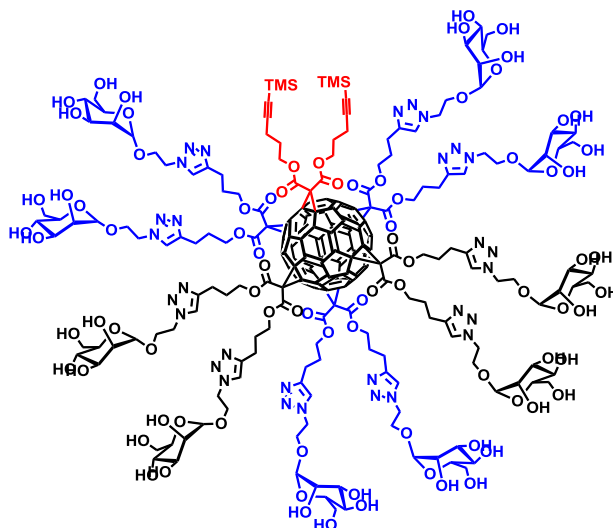
IR-TF (KBr): 3385, 2927, 2099, 1740, 1639, 1221, 1134, 1093, 1056, 875, 809, 713, 677 cm⁻¹.

¹H-RMN (700 MHz, DMSO-d⁶), δ: 7.85 (s, 10H), 4.68 (m, 12H), , 4.59 – 4.09 (m, 44H), 3.91 (s, 8H), 3.76 (s, 8H), 3.61 (m, 8H), 3.53 (s, 8H), 3.12 (m, 4H), 3.46 – 3.25 (m, 96H), 2.04 (s, 24H), 1.36 – 0.98 (m, 32H).

¹³C-RMN (175 MHz, DMSO-d⁶), δ: 163.6, 146.6, 145.4, 141.5, 122.9, 100.5, 78.7, 74.7, 70.2, 67.6, 65.6, 61.9, 52.8, 49.9, 28.4, 22.1.

MS (MALDI-TOF) calculada para [M]⁺ C₂₁₇H₂₄₁N₃₃O₈₄= 4652.56; encontrado: 4674 [M+Na]⁺.

Compuesto 121



Un vial de fondo redondo con agitador magnético, que contiene el compuesto **117** (25.3 mg, 0.011 mmol), 2-azidoetil α -D-manopiranosido (**63**) (41 mg, 0.165 mmol), CuBr·S(CH₃)₂ (12 mg, 0.055 mmol) y ascorbato sódico (24 mg, 0.25 mmol) en presencia de hilo de cobre metálico, se desoxigena utilizando una corriente de argón, y a continuación se añaden 2 mL de DMSO y se continúa desoxigenando durante 3 minutos con agitación vigorosa. Posteriormente, se mantiene la mezcla de reacción durante 48 h con agitación y bajo atmósfera de argón. Pasado este tiempo, el crudo de reacción se hace pasar, disuelto en DMSO, a través de una columna que contiene gel de sílice funcionalizada (QuadraSil Mercaptopropil™). La disolución resultante se precipita en Et₂O, se centrifuga durante 10 min a 4500 rpm. El precipitado se lava y se resuspende utilizando AcOEt en un baño de ultrasonidos durante 2 min, para posteriormente centrifugar durante 10 min a 6000 rpm. Se obtiene el compuesto **121** como un sólido rojo oscuro de textura viscosa.

Rdto: 76%

IR-TF (KBr): 3398, 3134, 2949, 2886, 2339, 2254, 2126, 1741, 1622, 1221, 1134, 1093, 1055, 819, 763, 465 cm⁻¹.

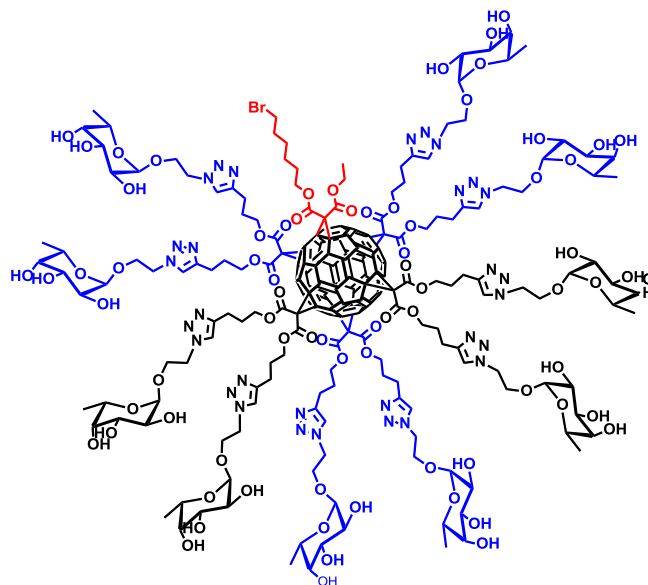
¹H-RMN (700 MHz, DMSO-d⁶), δ : 7.87 (s, 10H), 4.74 (s, 20H), 4.66 – 4.53 (m, 20H), 4.42 – 4.36 (m, 20H), 3.93 (s, 8H), 3.77 (s, 8H), 3.61 (s, 8H), 3.54 (s,

8H), 3.48 – 3.22 (m, 96H), 3.15 (m, 12H), 2.04 – 1.72 (m, 18H), 1.18 (t, $J = 7.0$, 2H), 1.10 (d, $J = 7.0$, 2H), 0.06 (s, 18H).

^{13}C -RMN (175 MHz, DMSO- d^6), δ : 163.5, 146.6, 145.6, 141.3, 123.1, 100.6, 74.1, 71.4, 70.6, 69.3, 67.2, 65.2, 61.5, 60.2, 55.7, 49.8, 28.6, 24.9, 21.1, 15.8.

MS (MALDI-TOF) calculada para $[\text{M}]^+$ $\text{C}_{219}\text{H}_{250}\text{N}_{30}\text{O}_{84}\text{Si}_2 = 4699.57$; encontrado: 4723 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

Compuesto 88



Un vial de fondo redondo con agitador magnético, que contiene el hexaadducto **85** (39 mg, 0.018 mmol), 2-azidoetil- α -L-fucopiranosido (**74**) (69 mg, 0.29 mmol), $\text{CuBr}\cdot\text{S}(\text{CH}_3)_2$ (19 mg, 0.09 mmol) y ascorbato sódico (24 mg, 0.25 mmol) en presencia de hilo de cobre metálico, se desoxigena utilizando una corriente de argón, y a continuación se añaden 2 mL de DMSO y se continúa desoxigenando durante 3 minutos con agitación vigorosa. Posteriormente, se mantiene la mezcla de reacción durante 48 h con agitación y bajo atmósfera de argón. Pasado este tiempo, el crudo de reacción se hace pasar, disuelto en DMSO, a través de una columna que contiene gel de sílice funcionalizada (QuadraSil MercaptopropilTM). La disolución resultante se precipita en Et_2O , se centrifuga durante 10 min a 4500 rpm. El precipitado se lava y se resuspende utilizando AcOEt en un baño de ultrasonidos durante 2 min, para

posteriormente centrifugar durante 10 min a 6000 rpm. Se obtiene el compuesto **88** como un sólido rojo oscuro de textura viscosa.

Rdto: 79%

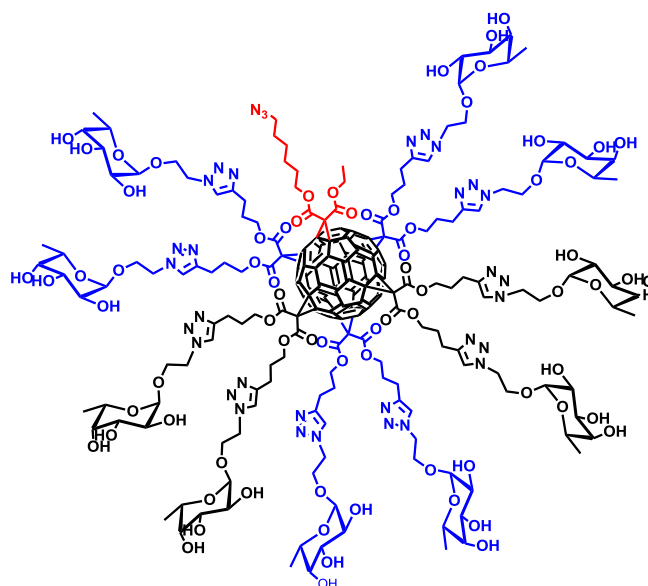
IR-TF (KBr): 3120, 2991, 2881, 1740, 1220, 823 cm^{-1} .

^1H -RMN (700 MHz, DMSO-d^6), δ : 7.95 (s, 10H), 4.60 (m, 12H), 4.46 (m, 24H), 4.26 (m, 24H), 3.96 – 3.72 (m, 78H), 3.60 – 3.46 (m, 20H), 2.08 – 1.80 (m, 28H), 1.25 – 1.13 (m, 10H), 1.10 (d, $J = 4.5$, 30H).

^{13}C -RMN (175 MHz, DMSO-d^6), δ : 163.3, 146.3, 145.1, 141.2, 123.3, 99.4, 74.4, 72.4, 70.0, 69.8, 68.4, 67.0, 60.0, 55.7, 49.9, 28.4, 22.4, 21.1, 17.0.

MS (MALDI-TOF) calculada para $[\text{M}]^+$ $\text{C}_{216}\text{H}_{237}\text{O}_{74}\text{BrN}_{30} = 4513.48$; encontrado: 4515.

Compuesto 91



En un reactor de microondas, se añade compuesto **88** (30 mg, 0.007 mmol) y NaN_3 (5 mg, 0.077 mmol) disueltos en 1.5 mL de DMSO. Se burbujea argón durante 5 min, tras los cuales se sella el reactor. La reacción se mantiene con agitación y bajo radiación de microondas durante 3 h a una temperatura de 70°C . A continuación, se precipita con AcOEt y se centrifuga 10 min a 4000 rpm. El sólido naranja resultante se lava con MeOH y se resuspende en una mezcla MeOH/AcOEt 3:1, con sonicación durante 5 min. A continuación, se

centrifuga durante 5 min a 6000 rpm, obteniéndose el compuesto **91** como un sólido rojo.

Rdto: 73%

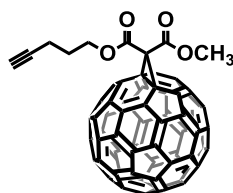
IR-TF (KBr): 3122, 2991, 2881, 2099, 1738, 1218, 823, 743 cm^{-1} .

^1H -RMN (700 MHz, DMSO- d_6), δ : 7.94 (s, 10H), 4.60 (m, 12H), 4.46 – 4.39 (m, 24H), 4.31 (m, 24H), 3.96-3.72 (m, 78H), 3.60 – 3.46 (m, 20H), 3.11 (t, $J = 4.0$, 2H) 2.10 – 1.83 (m, 24H), 1.25 – 1.13 (m, 13H), 1.10 (d, $J = 4.5$, 30H).

^{13}C -RMN (175 MHz, DMSO- d_6), δ : 163.3, 146.2, 145.3, 141.2, 123.2, 100.2, 74.4, 72.4, 70.0, 69.8, 68.4, 67.0, 60.0, 55.7, 52.8, 49.9, 28.4, 22.4, 21.1, 17.6.

MS (MALDI-TOF) calculada para $[\text{M}]^+ \text{C}_{216}\text{H}_{237}\text{N}_{33}\text{O}_{74} = 4476.58$; encontrado: 4478.1.

Compuesto **93**¹⁶¹



A una disolución en tolueno anhidro (200 mL) a 0°C de malonato de metilo y 4-pentino (**122**) (123 mg, 0.42 mmol), fullereno C₆₀ (600 mg, 0.83 mmol) y I₂ (158 mg, 1.41 mmol), se añade bajo atmósfera de argón y con fuerte agitación, DBU (370 mg, 1.05 mmol). Se observa rápidamente el cambio de coloración de la disolución de violáceo a marrón-oscuro. La mezcla de reacción se mantiene durante 4 horas con agitación a 0°C. Pasado ese tiempo, se deja que la mezcla alcance temperatura ambiente y se monitoriza por CCF la aparición de poliaductos, tras lo cual se pone fin a la reacción añadiendo una disolución saturada de tiosulfato sódico (Na₂S₂O₃, 30 mL). La mezcla de reacción se lava con la disolución saturada de Na₂S₂O₃ (2 x 30 mL), HCl 0.5 M (2 x 20 mL) y, finalmente, con disolución saturada de NaCl (2 x 20 mL). Los extractos orgánicos se secan sobre Na₂SO₄ anhidro y se añaden 2 g de gel de sílice antes de evaporar el disolvente a presión reducida. El crudo de reacción se purifica mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice, usando como eluyente en primer lugar CS₂, para eluir el C₆₀ sin reaccionar, y posteriormente

tolueno. Se obtuvo el compuesto **93** como un sólido marrón oscuro-parduzco de apariencia vidriosa.

Rdto: 53%

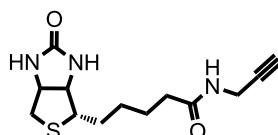
IR-TF (KBr): 3289, 2947, 2876, 2098, 1733, 1631, 853, 754 cm^{-1} .

^1H -RMN (300 MHz, CDCl_3), δ : 4.56 (t, 2H), 4.04 (s, 3H), 2.35 (q, $J = 7.0, 2.8, 2\text{H}$), 2.07 – 2.00 (m, 2H), 1.98 (t, $J = 2.8, 1\text{H}$).

^{13}C -RMN (75 MHz, CDCl_3), δ : 164.5, 163.9, 145.7, 145.6, 145.5, 145.4, 145.3, 145.2, 145.1, 144.3, 143.5, 143.4, 142.6, 142.3, 141.4, 139.7, 139.3, 82.9, 71.8, 70.2, 66.1, 54.5, 27.7, 15.6.

MS (MALDI-TOF) calculada para $[\text{M}]^+ \text{C}_{69}\text{H}_{10}\text{O}_4 = 902.06$; encontrado: 925.08 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

Propargilamida de la Biotina (**94**)¹⁶⁸



A un matraz que contiene biotina (100 mg, 0.41 mmol), HOBT·H₂O (90 mg, 0.61 mmol) y EDC·HCl (130 mg, 0.64 mmol) disueltos en 30 mL de DMF, se le adiciona propargilamina (27 mg, 0.49 mmol) desde un embudo de adición compensada disuelta en 5 mL de DMF. La mezcla se mantuvo agitando a temperatura ambiente durante 24 h. Transcurrido ese tiempo se evaporó el disolvente y se purificó por columna cromatográfica en gel de sílice DCM/MeOH 10:1 aumentando la proporción de metanol poco a poco hasta 8:2. Se obtuvo el producto **94** como un sólido blanco.

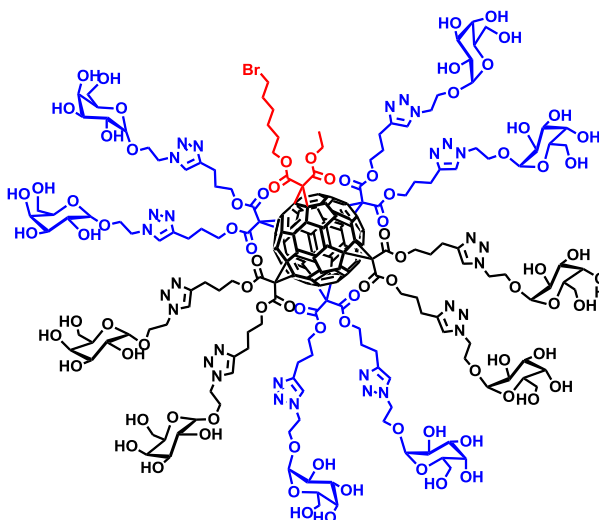
Rdto: 61%

^1H -RMN (300 MHz, DMSO-d_6), δ : 8.26 (t, $J = 4.3, 1\text{H}$), 6.47 (s, 1H), 6.41 (s, 1H), 4.36 (t, $J = 4.3, 1\text{H}$), 4.19 (m, 1H), 3.89 (dd, $J = 7.5, 2.3, 2\text{H}$), 3.1 (m, 2H), 2.8 (dd, $J = 12.7, 5.0, 1\text{H}$), 2.6 (d, $J = 2.6, 1\text{H}$), 2.14 (t, $J = 7.4, 2\text{H}$), 1.6 (m, 2H), 1.5 (m, 2H), 1.3 (m, 2H).

[168] a) X. Wang, L. Liu, Y. Luo, H. Zhao, *Langmuir* **2008**, 25, 744; b) Y. Cao, E. Galoppini, P. I. Reyes, Y. Lu, *Langmuir* **2013**, 29, 7768.

^{13}C -RMN (75 MHz, DMSO- d_6), δ : 172.5, 163.6, 76.3, 71.8, 71, 63.1, 59.8, 37.6, 34.4, 31.7, 30.7, 26.5, 25.2.

Compuesto 87



Un vial de fondo redondo con agitador magnético, que contiene el compuesto **85** (35 mg, 0.016 mmol), 2-azidoetil α -D-galactopiranosido (**73**) (72 mg, 0.29 mmol), CuBr·S(CH₃)₂ (20 mg, 0.09 mmol) y ascorbato sódico (25 mg, 0.25 mmol) en presencia de hilo de cobre metálico, se desoxigena utilizando una corriente de argón, y a continuación se añaden 2 mL de DMSO y se continúa desoxigenando durante 3 minutos con agitación vigorosa. Posteriormente, se mantiene la mezcla de reacción durante 48 h con agitación y bajo atmósfera de argón. Pasado este tiempo, el crudo de reacción se hace pasar, disuelto en DMSO, a través de una columna que contiene gel de sílice funcionalizada (QuadraSil MercaptopropilTM). La disolución resultante se precipita en Et₂O, se centrifuga durante 10 min a 4500 rpm. El precipitado se lava y se resuspende utilizando AcOEt en un baño de ultrasonidos durante 2 min, para posteriormente centrifugar durante 10 min a 6000 rpm. Se obtiene el compuesto **87** como un sólido rojo de textura viscosa.

Rdto: 86%

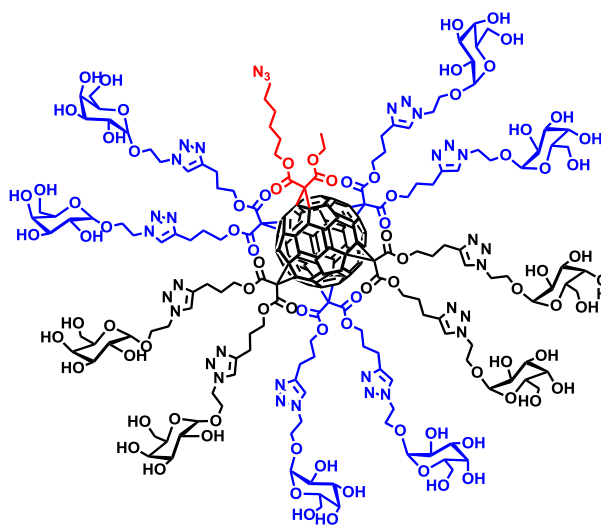
IR-TF (KBr): 3120, 2991, 2881, 1740, 1220, 823 cm⁻¹.

^1H -RMN (700 MHz, DMSO- d^6), δ : 7.83 (s, 10H), 4.72 (m, 12H), , 4.64 – 4.16 (m, 44H), 3.86 (s, 8H), 3.78 (s, 8H), 3.61 – 3.53 (m, 16H), 3.41 – 3.18 (m, 96H), 3.09 (m, 4H), 2.10 (s, 24H), 1.40 – 0.95 (m, 32H).

^{13}C -RMN (175 MHz, DMSO- d^6), δ : 177.1, 167.8, 163.1, 147, 146.1, 145, 140.8, 124.7, 123.2, 103.9, 97.8, 82.7, 75.7, 73.9, 70.8, 69.1, 68.8, 68.5, 67.3, 63.5, 61, 60.2, 49.9, 28.1, 21.9, 15.5.

MS (MALDI-TOF) calculada para $[\text{M}]^+$ $\text{C}_{216}\text{H}_{237}\text{BrN}_{30}\text{O}_{84} = 4673.44$; encontrado: 4674.

Compuesto 90



En un reactor de microondas, se añade compuesto **87** (30 mg, 0.007 mmol) y NaN_3 (5 mg, 0.077 mmol) disueltos en 1.5 mL de DMSO. Se burbujea argón durante 5 min, tras los cuales se sella el reactor. La reacción se mantiene con agitación y bajo radiación de microondas durante 3 h a una temperatura de 70°C . A continuación, se precipita con AcOEt y se centrifuga 10 min a 4000 rpm. El sólido naranja resultante se lava con MeOH y se resuspende en una mezcla MeOH/AcOEt 3:1, con sonicación durante 5 min. A continuación, se centrifuga durante 5 min a 6000 rpm, obteniéndose el compuesto (**90**) como un sólido rojo.

Rdto: 81%

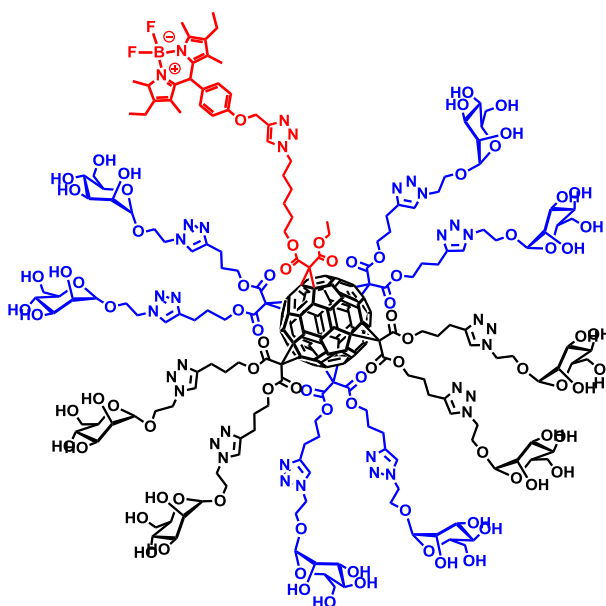
IR-TF (KBr): 3123, 2990, 2881, 2097, 1740, 1220, 819 cm^{-1} .

^1H -RMN (700 MHz, DMSO- d^6), δ : 7.83 (s, 10H), 4.72 (m, 12H), , 4.64 – 4.16 (m, 44H), 3.86 (s, 8H), 3.78 (s, 8H), 3.63 – 3.52 (m, 16H), 3.09 (m, 4H), 3.41 – 3.18 (m, 96H), 2.10 (s, 24H), 1.40 – 0.95 (m, 32H).

^{13}C -RMN (175 MHz, DMSO- d^6), δ : 163.4, 146.1, 145.5, 141.2, 123.1, 100.2, 78.2, 77.9, 74.5, 71.3, 70.5, 67.2, 65.1, 61.4, 52.4, 49.4, 28.3, 25.4, 21.9, 14.2.

MS (MALDI-TOF) calculada para $[\text{M}]^+$ $\text{C}_{216}\text{H}_{237}\text{N}_{33}\text{O}_{84}$ = 4636,53; encontrado: 4638.

Compuesto 96



Un vial de fondo redondo con agitador magnético, que contiene el compuesto **89** (25 mg, 0.006 mmol), BODYPY (**92**)¹⁶⁹ (3 mg, 0.008 mmol), $\text{CuBr}\cdot\text{S}(\text{CH}_3)_2$ (2 mg, 0.009 mmol) y ascorbato sódico (8 mg, 0.04 mmol) en presencia de hilo de cobre metálico, se desoxigena utilizando una corriente de argón, y a continuación se añaden 2 mL de DMSO y se continúa desoxigenando durante 3 minutos con agitación vigorosa. Posteriormente, se mantiene la mezcla de reacción durante 48 h con agitación y bajo atmósfera de

[169] S. Kolemen, O. A. Bozdemir, Y. Cakmak, G. Barin, S. Erten-Ela, M. Marszalek, J.-H. Yum, S. M. Zakeeruddin, M. K. Nazeeruddin, M. Graetzel, E. U. Akkaya, *Chem. Sci.* **2011**, 2, 949.

argón. Pasado este tiempo, el crudo de reacción se hace pasar, disuelto en DMSO, a través de una columna que contiene gel de sílice funcionalizada (QuadraSil MercaptopropilTM). La disolución resultante se precipita en Et₂O, se centrifuga durante 10 min a 4500 rpm. El precipitado se lava y se resuspende utilizando AcOEt en un baño de ultrasonidos durante 2 min, para posteriormente centrifugar durante 10 min a 6000 rpm. Se obtiene el compuesto **96** como un sólido violáceo oscuro de textura viscosa, que en disolución emite luz verdosa bajo luz UV de 365 nm.

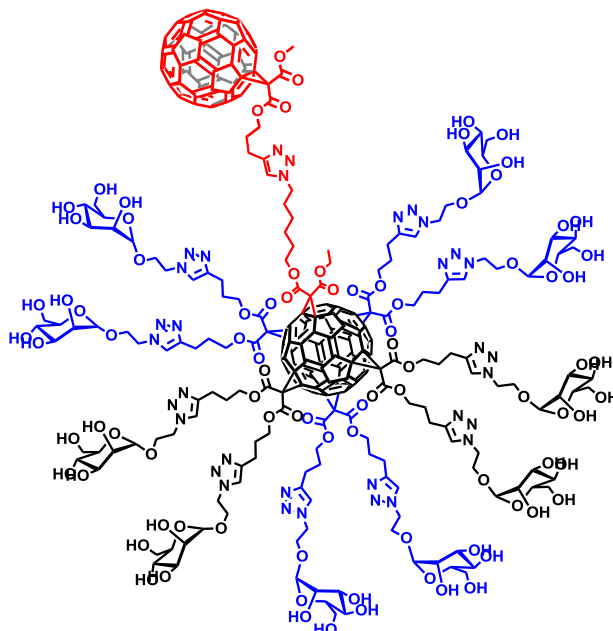
Rdto: 82%

¹H-RMN (700 MHz, DMSO) δ: 7.83 (s, 11H), 7.28 (d, *J* = 7.7, 2H), 6.88 (d, *J* = 7.7, 2H), 5.77 (s, ~24H), 4.88 – 4.17 (m, ~48H), 4.04 (s, ~34H), 3.97 – 3.86 (m, ~26H), 3.77 (s, ~18H), 3.60 (s, ~18H), 3.54 (s, ~18H), 2.61 (q, 9H), 2.00 (s, ~36H), 1.18 (t, *J* = 7.1, ~21H).

¹³C-RMN (175 MHz, DMSO-d⁶), δ: 176.2, 175.5, 173.6, 172.6, 170.6, 168.7, 167.1, 163.5, 161.6, 147.7, 146.4, 145.4, 141.2, 132.5, 124.7, 122.8, 118.3, 116.4, 113.8, 112.5, 99.5, 95.0, 94.1, 80.1, 77.6, 74.0, 72.7, 72.4, 71.7, 70.2, 68.2, 66.5, 63.9, 62.1, 59.7, 59.5, 55.6, 52.7, 49.4, 46.5, 34.9, 32.6, 28.7, 22.3, 21.6, 20.7, 17.1, 16.1, 14.1.

MS (MALDI-TOF) calculada para [M]⁺ C₂₄₂H₂₆₈BF₂N₃₅O₈₅ = 5072.78; encontradas: 5078.7.

Compuesto 97



Un vial de fondo redondo con agitador magnético, que contiene el compuesto **89** (14 mg, $3 \cdot 10^{-3}$ mmol), derivado **93** (6 mg, $6.2 \cdot 10^{-3}$ mmol), $\text{CuBr} \cdot \text{S}(\text{CH}_3)_2$ (3 mg, 0.01 mmol) y ascorbato sódico (8 mg, 0.04 mmol) en presencia de hilo de cobre metálico, se desoxigena utilizando una corriente de argón, y a continuación se añaden 2 mL de DMSO y se continúa desoxigenando durante 3 minutos con agitación vigorosa. Posteriormente, se mantiene la mezcla de reacción durante 48 h con agitación y bajo atmósfera de argón. Pasado este tiempo, el crudo de reacción se hace pasar, disuelto en DMSO, a través de una columna que contiene gel de sílice funcionalizada (QuadraSil Mercaptopropil™). La disolución resultante se precipita en Et_2O , se centrifuga durante 10 min a 4500 rpm. El precipitado se lava y se resuspende utilizando AcOEt en un baño de ultrasonidos durante 2 min, para posteriormente centrifugar durante 10 min a 6000 rpm. Se obtiene el compuesto **97** como un sólido naranja oscuro de apariencia terrosa.

Rdto: 86%

IR-TF (KBr): 3548, 3289, 2876, 1733, 1634, 1445, 1386, 1043, 1117, 878, 853, 754 cm^{-1}

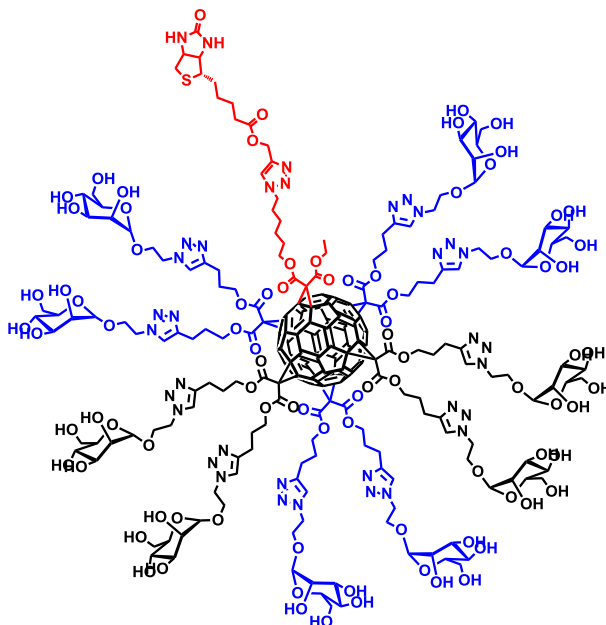
Capítulo 1. Parte Experimental

^1H -RMN (700 MHz, DMSO- d^6), δ : 7.93 (s, 11H), 4.63 (s, ~16H), 4.41 (m, ~72H), 3.95 (m, ~48H), 3.64 (m, ~28H), 2.65 (s, 12H), 2.03 (m, 22H), 1.25 (s, 9H), 0.98 (s, 26H).

^{13}C -RMN (175 MHz, DMSO- d^6), δ : 174.5, 173.2, 172.1, 167.4, 162.7, 147.3, 146.8, 146.4, 146, 145.2, 145.2, 144.8, 143.6, 143.0, 142.2, 141.5, 141.3, 140.9, 140.8, 140.7, 140.5, 140.4, 139.9, 139.3, 138.8, 129.5, 129.0, 122.9, 99.4, 92.0, 88.3, 73.5, 71.9, 71, 70.2, 68.6, 66.6, 66.4, 66.2, 63.9, 55.5, 49.9, 28.5, 22.2, 15.6, 13.9.

MS (MALDI-TOF) calculada para $[\text{M}]^+$ $\text{C}_{285}\text{H}_{247}\text{N}_{33}\text{O}_{88} = 5538,59$;
encontrado: 5542.

Compuesto 98



Un vial de fondo redondo con agitador magnético, que contiene compuesto **89** (25 mg, 0.006 mmol), el derivado de biotina **94** (3 mg, 0.008 mmol), $\text{CuBr}\cdot\text{S}(\text{CH}_3)_2$ (2 mg, 0.009 mmol) y ascorbato sódico (8 mg, 0.04 mmol) en presencia de hilo de cobre metálico, se desoxigena utilizando una corriente de argón, y a continuación se añaden 2 mL de DMSO y se continúa desoxigenando durante 3 minutos con agitación vigorosa. Posteriormente, se mantiene la mezcla de reacción durante 48 h con agitación y bajo atmósfera de

argón. Pasado este tiempo, el crudo de reacción se hace pasar, disuelto en DMSO, a través de una columna que contiene gel de sílice funcionalizada (QuadraSil MercaptopropilTM). La disolución resultante se precipita en Et₂O, se centrifuga durante 10 min a 4500 rpm. El precipitado se lava y se resuspende utilizando AcOEt en un baño de ultrasonidos durante 2 min, para posteriormente centrifugar durante 10 min a 6000 rpm. Se obtiene el compuesto **98** como un sólido naranja oscuro de textura terrosa.

Rdto: 86%

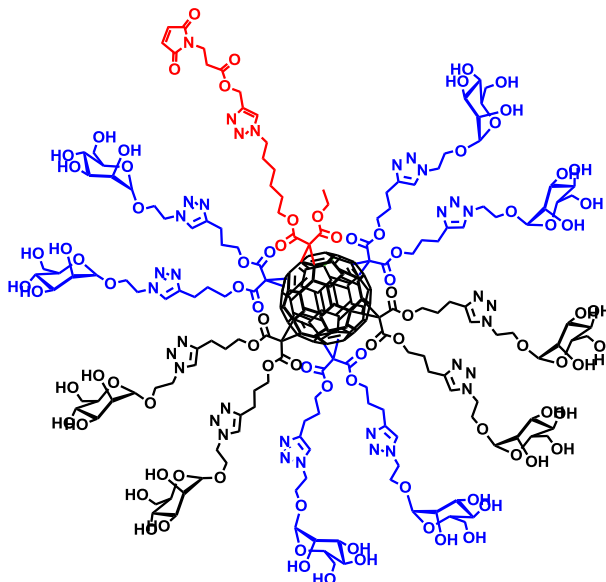
IR-TF (KBr): 3548, 2924, 1731, 1634, 1445, 1386, 1143, 1117, 1041, 878, 602 cm⁻¹.

¹H-RMN (700 MHz, DMSO-d⁶), δ: 7.83 (s, 11H), 5.77 (s, 2H), 4.61 (m, ~36H), 4.58 – 4.21 (m, ~48H), 4.19 – 3.99 (m, ~24H), 3.87 (m, ~24H), 3.82 – 3.29 (m, ~48H), 3.00 (s, 8H), 2.65 (m, 12H), 2.09 (s, 12H), 1.98 (s, ~18H), 1.39 – 1.11 (m, ~12H).

¹³C-RMN (175 MHz, DMSO-d⁶), δ: 176.1, 175.5, 163.3, 162.9, 146.6, 146.0, 145.3, 141.2, 123.2, 122.7, 100.2, 74.5, 73.6, 73.2, 72.8, 72.4, 71.4, 70.6, 70.2, 69.20, 67.2, 65.3, 64.1, 62.3, 61.6, 49.6, 42.6, 32.8, 31.2, 28.2, 25.6, 21.8, 14.3.

MS (MALDI-TOF) calculada para [M]⁺ C₂₂₉H₂₅₅N₃₅O₈₇S= 4918.63 encontrado: 4958.7 [M+K]⁺.

Compuesto 99



Un vial de fondo redondo con agitador magnético, que contiene el compuesto **89** (35 mg, 0.016 mmol), el derivado de maleimida **95** (72 mg, 0.29 mmol), $\text{CuBr}\cdot\text{S}(\text{CH}_3)_2$ (20 mg, 0.09 mmol) y ascorbato sódico (25 mg, 0.25 mmol) en presencia de hilo de cobre metálico, se desoxigena utilizando una corriente de argón, y a continuación se añaden 2 mL de DMSO y se continúa desoxigenando durante 3 minutos con agitación vigorosa. Posteriormente, se mantiene la mezcla de reacción durante 48 h con agitación y bajo atmósfera de argón. Pasado este tiempo, el crudo de reacción se hace pasar, disuelto en DMSO, a través de una columna que contiene gel de sílice funcionalizada (QuadraSil MTUTM). La disolución resultante se precipita en Et_2O , se centrifuga durante 10 min a 4500 rpm. El precipitado se lava y se resuspende utilizando AcOEt en un baño de ultrasonidos durante 2 min, para posteriormente centrifugar durante 10 min a 6000 rpm. Se obtiene el compuesto **99** como un sólido naranja oscuro de textura viscosa.

Rdto: 88%

IR-TF (KBr): 3548, 3405, 2924, 1741, 1728, 1620, 1440, 1384, 1142, 1113, 878, 670, 602 cm^{-1} .

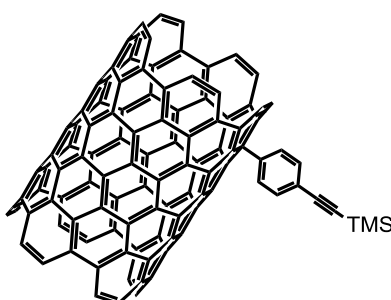
^1H -RMN (700 MHz, DMSO-d^6), δ : 7.83 (s, 11H), 6.18 (s, 2H), 5.17 (s, 2H), 4.75 (m, 24H), 4.68 – 4.55 (m, 40H), 4.49 (s, 36H), 4.38 – 4.17 (m, 20H), 4.09

– 3.71 (m, 33H), 3.58 – 3.29 (m, 36H), 3.10 (s, 10H), 2.31 (s, 3H), 1.99 (s, 20H), 1.19 (s, 8H).

^{13}C -RMN (175 MHz, DMSO- d_6), δ : 176.9, 176.5, 163.3, 146.4, 145.6, 145.40, 141.2, 124.7, 122.7, 107.9, 100.2, 77.1, 74.5, 74.2, 73.5, 72.7, 71.3, 70.5, 70.2, 67.1, 65.3, 61.6, 49.6, 37.9, 28.2, 21.8, 14.3.

MS (MALDI-TOF) calculada para $[\text{M}]^+$ $\text{C}_{226}\text{H}_{246}\text{N}_{34}\text{O}_{88} = 4846.54$;
encontradas: 4818 $[\text{M}-\text{N}_2]^+$ y 4869 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

Nanoconjugado 101



Una suspensión de 25 mg de SWCNT, con 4-[(trimetilsilil)etnil]anilina (80 mg, 0.42 mmol) y nitrito de isoamilo (98 mg, 0.42 mmol) en 25 mL de agua destilada desoxigenada se calienta durante 24 h a 70°C bajo atmósfera inerte. Tras esto, el producto de reacción se filtró utilizando un filtro de PTFE (MilliporeTM) de 0.2 μm de tamaño de poro. El sólido obtenido en la membrana se recuperó y se resuspendió en un baño de ultrasonidos durante 30 min, para después filtrar por dos veces en cada uno de los siguientes disolventes; NMP, DCM y MeOH, hasta comprobar que no quedan restos orgánicos en las aguas madres, lo que se comprueba mediante CCF. Se obtuvo **101** como un sólido negro.

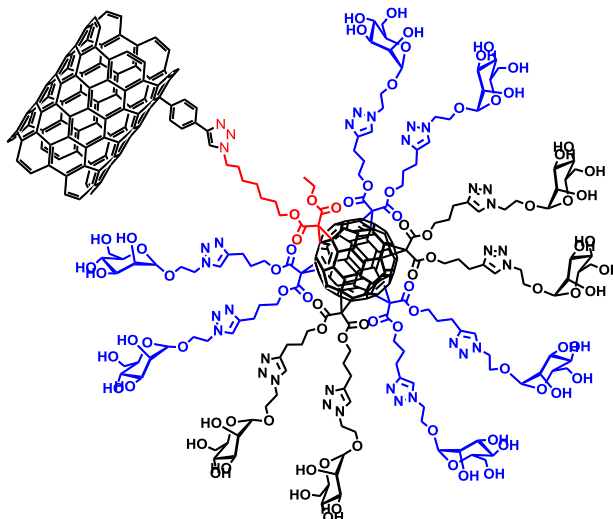
IR-TF (KBr): 2903, 2159, 1599 cm^{-1} .

TGA: Pérdida del 25.8% a 700°C (pérdida de los restos orgánicos) (1 funcionalización por cada ~36 carbonos).

Espectroscopía Raman: $I_D/I_G = 0.20$.

XPS: porcentaje atómico: C (284.7 eV) = 87.82; O (532.3 eV) = 4.74; N (399.5 eV) = 1.4; Si (100.6 eV) = 3.6.

Nanoglicoconjugado 102

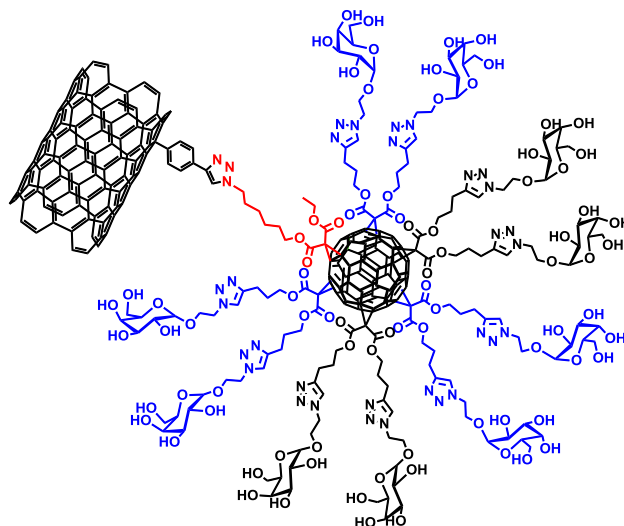


Un vial de fondo redondo con agitador magnético, que contiene una suspensión en NMP (3 mL) de 15 mg del nanoconjugado **101**, compuesto **89** (14 mg, $3 \cdot 10^{-3}$ mmol), CuBr·S(CH₃)₂ (8 mg, 0.04 mmol) y ascorbato sódico (25 mg, 0.12 mmol) en presencia de hilo de cobre metálico, se desoxigena utilizando una corriente de argón, y a continuación se añaden 0.1 mL de TBAF 1 M en THF y se continúa desoxigenando durante 3 minutos. Posteriormente se mantiene el vial con agitación vigorosa durante 2 h bajo atmósfera inerte, tras lo cual la mezcla de reacción se calienta a 60°C y se mantiene durante 4 días. Transcurrido este tiempo, se filtra en una membrana de PTFE (Millipore™) de 0.2 μm de tamaño de poro. El sólido obtenido en la membrana se recuperó y se resuspendió en un baño de ultrasonidos durante 30 min, para después filtrar, dos veces en cada uno de los siguientes disolventes; NMP, DCM, MeOH y MeCN. Se obtuvo **102** como un sólido negro.

IR-TF (KBr): 3311, 2879, 1730, 1663, 1591, 1206 cm⁻¹.

TGA: Pérdida del 55.5% a 700°C (pérdida de los restos orgánicos) (1 funcionalización por cada 304 carbonos).

Espectroscopía Raman: I_D/I_G = 0.25.

Nanoglicoconjugado **103**

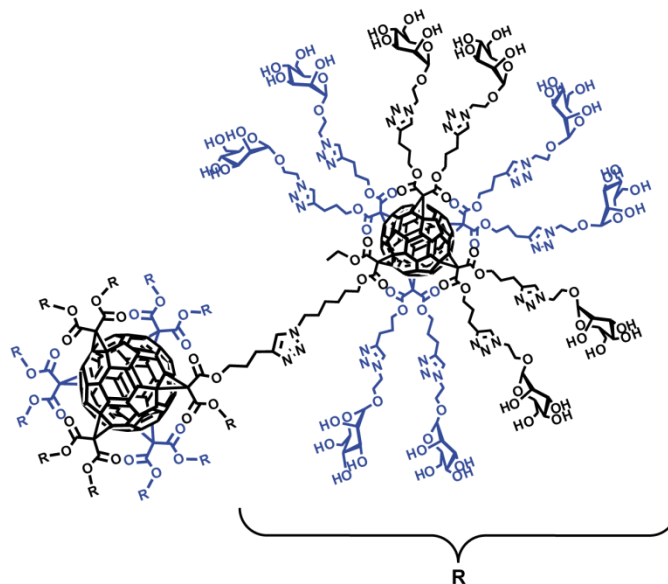
Un vial de fondo redondo con agitador magnético, que contiene una suspensión en NMP (3 mL) de 15 mg del nanoconjugado **101**, compuesto **90** (15 mg, $3 \cdot 10^{-3}$ mmol), $\text{CuBr} \cdot \text{S}(\text{CH}_3)_2$ (8 mg, 0.04 mmol) y ascorbato sódico (25 mg, 0.12 mmol) en presencia de hilo de cobre metálico, se desoxigena utilizando una corriente de argón, y a continuación se añaden 0.1 mL de TBAF 1 M en THF y se continúa desoxigenando durante 3 minutos. Posteriormente se mantiene el vial con agitación vigorosa durante 2 h bajo atmósfera inerte, tras lo cual la mezcla de reacción se calienta a 60°C y se mantiene durante 4 días. Transcurrido este tiempo, se filtra en una membrana de PTFE (MilliporeTM) de 0.2 μm de tamaño de poro. El sólido obtenido en la membrana se recuperó y se resuspendió en un baño de ultrasonidos durante 30 min, para después filtrar, dos veces en cada uno de los siguientes disolventes; NMP, DCM, MeOH y MeCN. Se obtuvo **103** como un sólido negro.

IR-TF (KBr): 3319, 2869.0, 1731, 1658, 1588, 1219 cm^{-1} .

TGA: Pérdida del 54.9% a 700°C (pérdida de los restos orgánicos) (1 funcionalización por cada 318 carbonos).

Espectroscopía Raman: $I_D/I_G = 0.26$.

Compuesto 104



Un vial de fondo redondo con agitador magnético, que contiene el hexaadducto **72** (1.5 mg, $6 \cdot 10^{-4}$ mmol), derivado **89** (68 mg, 0.014 mmol), CuBr·S(CH₃)₂ (20 mg, 0.09 mmol) y ascorbato sódico (25 mg, 0.25 mmol) en presencia de hilo de cobre metálico, se desoxigena utilizando una corriente de argón, y a continuación se añaden 2 mL de DMSO y se continúa desoxigenando durante 3 minutos con agitación vigorosa. Posteriormente, se mantiene la mezcla de reacción durante 48 h con agitación y bajo atmósfera de argón. Pasado este tiempo, el crudo de reacción se hace pasar, disuelto en DMSO, a través de una columna que contiene gel de sílice funcionalizada (QuadraSil Mercaptopropil™). La disolución resultante se precipita en Et₂O y se centrifuga durante 10 min a 4500 rpm. El precipitado se lava y se resuspende utilizando AcOEt en un baño de ultrasonidos durante 2 min, para posteriormente centrifugar durante 10 min a 6000 rpm. Se obtiene el compuesto **104** como un sólido rojo de apariencia aceitosa.

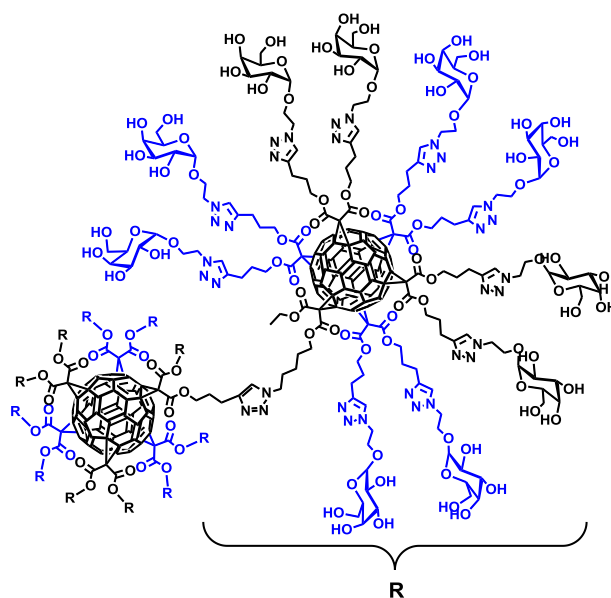
Rdto: 73%

IR-TF (KBr): 3128, 2987, 1740, 1628, 1216, 847 cm⁻¹.

¹H-RMN (700 MHz, DMSO-d⁶), δ: 7.82 (s), 4.76 (m), 4.61 (m), 4.50 (m), 4.35 (m), 3.93 (s), 3.73 (m), 3.60 (m), 3.57 – 3.50 (m), 3.12 (m), 2.80 – 2.59 (m), 2.03 (m), 1.30 (m).

^{13}C -RMN (175 MHz, DMSO- d_6), δ : 163.8, 146.9, 146.4, 145.4, 141.6, 123.3, 122.9, 100.2, 78.7, 74.7, 73.4, 73, 70.2, 69.3, 68.6, 67.6, 65.6, 62.3, 61.9, 60.5, 49.8, 45.2, 42.2, 34.2, 28.2, 26.1, 22.1, 14.2.

Compuesto 105



Un vial de fondo redondo con agitador magnético, que contiene el hexaaducto (**71**) (1.25 mg, $5.8 \cdot 10^{-4}$ mmol), derivado **90** (70 mg, 0.015 mmol), $\text{CuBr} \cdot \text{S}(\text{CH}_3)_2$ (18 mg, 0.075 mmol) y ascorbato sódico (25 mg, 0.13 mmol) en presencia de hilo de cobre metálico, se desoxigena utilizando una corriente de argón, y a continuación se añaden 2 mL de DMSO y se continúa desoxigenando durante 3 minutos con agitación vigorosa. Posteriormente, se mantiene la mezcla de reacción durante 48 h con agitación y bajo atmósfera de argón. Pasado este tiempo, el crudo de reacción se hace pasar, disuelto en DMSO, a través de una columna que contiene gel de sílice funcionalizada (QuadraSil MercaptopropilTM). La disolución resultante se precipita en Et_2O y se centrifuga durante 10 min a 4500 rpm. El precipitado se lava y se resuspende utilizando AcOEt en un baño de ultrasonidos durante 2 min, para posteriormente centrifugar durante 10 min a 6000 rpm. Se obtiene el compuesto **105** como un sólido rojo de apariencia aceitosa.

Rdto: 79%

Capítulo 1. Parte Experimental

IR-TF (KBr): 3120, 2994, 2883, 1736, 1625, 1219, 855, 723 cm^{-1} .

^1H -RMN (700 MHz, DMSO-d^6), δ : 7.84 (s), 4.79 (m), 4.65 (m), 4.50 (m), 4.35 (m), 3.93 (s), 3.73 (m), 3.61 (m), 3.63 – 3.54 (m), 3.12 – 2.94 (m), 2.79 – 2.63 (m), 2.11 (m), 1.45 (m).

^{13}C -RMN (175 MHz, DMSO-d^6), δ : 163.8, 146.9, 146.2, 145.3, 141.6, 123.0, 122.8, 99.8, 78.7, 74.7, 73.4, 73.0, 70.2, 69.3, 68.6, 67.6, 66.3, 65.6, 62.3, 61.8, 61.5, 60.5, 49.9, 45.3, 42.8, 34.5, 28.2, 26.1, 22.4, 14.3.

Capítulo 2

ANTECEDENTES

6.1. Química supramolecular de nanoformas del carbono

Desde el descubrimiento de los fullerenos, uno de los campos de investigación más activos ha sido el desarrollo de su química supramolecular. Podemos considerar dos grandes líneas de investigación en lo que se refiere a la química supramolecular del fullereno: por un lado, la obtención de receptores moleculares capaces de reconocer C_{60} y otros fullerenos y, por otro lado, la organización supramolecular de los derivados de fullereno.

El desarrollo de nuevos receptores para los fullerenos nos permite reconocer selectivamente estas especies químicas, lo que abre las puertas al estudio de la extracción selectiva de fullerenos de la fullerita, o a la resolución quiral de fullerenos superiores.¹⁷⁰

Más recientemente, se están diseñando receptores para las nanoformas del carbono no-moleculares, como los CNTs y el grafeno, con el objetivo de conseguir una interacción supramolecular con estas entidades químicas, evitando la modificación de sus especiales propiedades electrónicas que se produce mediante la funcionalización covalente.

Por último, el estudio del autoensamblaje de moléculas derivadas de fullereno es de especial interés en este capítulo. Conseguir modular la morfología del autoensamblaje molecular puede conducir a nanoestructuras funcionales para el diseño de dispositivos opto-electrónicos con dimensionalidad y propiedades controladas.

6.1.1. Receptores supramoleculares para fullerenos

En los últimos años se han descrito multitud de sistemas capaces de complejar fullereno con altas constantes de asociación. La ausencia de grupos funcionales en el fullereno, así como su forma esférica, hacen que las interacciones de dispersión (principalmente van der Waals y π - π) sean las responsables de la mayoría de los complejos supramoleculares. Debido a esto, y aunque se han descrito receptores tanto curvados como planos, la complementariedad en forma y tamaño entre el huésped y el anfitrión es crítica en estos complejos. Entre los receptores completamente orgánicos sintetizados en los últimos años,

[170] N. Martin, J.-F. Nierengarten, *Supramolecular chemistry of fullerenes and carbon nanotubes*, Wiley-VCH, Weinheim, 2012.

tienen especial importancia los derivados de calixareno, como los polímeros supramoleculares desarrollados por Fukuzawa y *col.*¹⁷¹ a partir de los compuestos **123** y **124** que se muestran en la Figura 82.

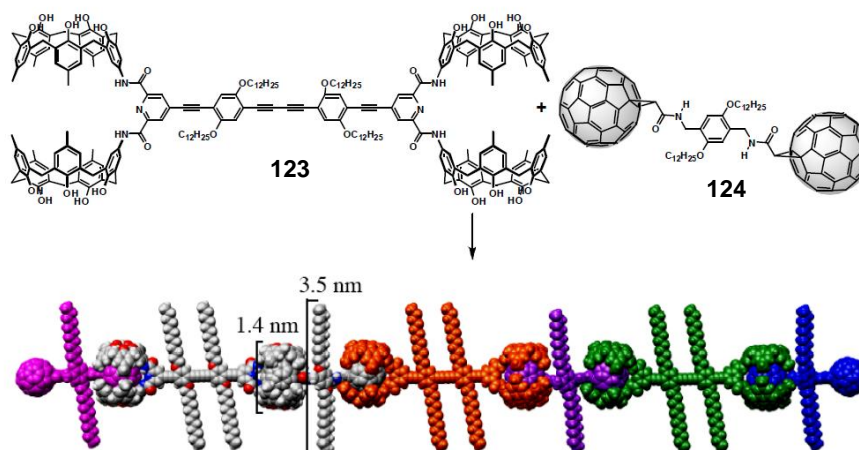


FIGURA 82. Agregados supramoleculares tipo *dumbbell* que utilizan los calixarenos como unidades de reconocimiento de las unidades de C₆₀.

Las interacciones π - π son tanto más fuertes cuanto mayor sea el número de anillos aromáticos involucrados. Con esto en mente, y entendiendo que la complementariedad geométrica entre el C₆₀ y el receptor juega un papel fundamental, en nuestro grupo de investigación y en otros grupos se han desarrollado sistemas π -extendidos, con el fin de maximizar la interacción con el fullereno.

Una de estas unidades de reconocimiento, usadas inicialmente a modo de pinza molecular, se basa en el coranuleno **125**, que puede considerarse como un fragmento de fullereno y que se complementa geométricamente con él, maximizando las interacciones de tipo π - π ($K_a = 8.6 \cdot 10^3 \text{ M}^{-1}$, tolueno-d⁸, 25°C), Figura 83.^{172a}

[171] a) T. Haino, Y. Matsumoto, Y. Fukazawa, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 8936; b) T. Haino, H. Araki, Y. Fujiwara, Y. Tanimoto, Y. Fukazawa, *Chem. Commun.* **2002**, 2148.

[172] a) A. Sygula, F. R. Fronczek, R. Sygula, P. W. Rabideau, M. M. Olmstead, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 3842; b) S. S. Gayathri, M. Wielopolski, E. M. Perez, G. Fernandez, L. Sanchez, R. Viruela, E. Orti, D. M. Guldi, N. Martin, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 815.

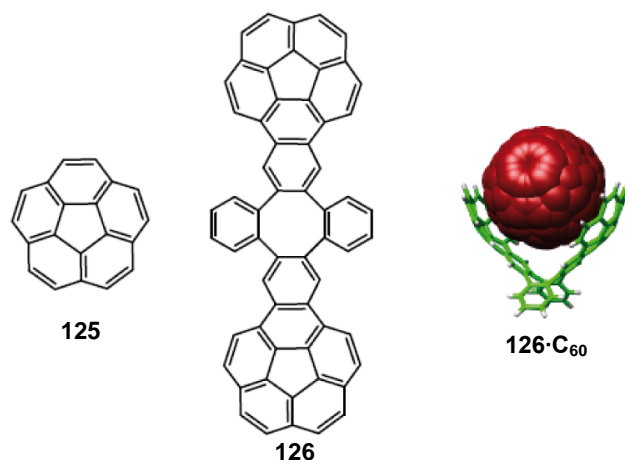


FIGURA 83. Pinza molecular con dos subunidades de coranuleno 125 unidas por un espaciador no-planar que también posee anillos aromáticos capaces de contribuir a la suma de las interacciones π - π . La pinza molecular 126 se conoce con el nombre de “BuckyCatcher”. El complejo supramolecular 126-C₆₀ fue observado por difracción de Rayos-X.

Otros sistemas que también se basan en esta complementariedad geométrica cóncavo-convexo y, además, presentan la capacidad de transferir carga, generando complejos de transferencia de carga, son los derivados de tetratíafulvaleno π -extendido (exTTF).^{172b} A pesar de que la aparición de bandas de transferencia de carga en valoraciones de fullerenos con receptores aromáticos es común en la bibliografía, estudios teóricos sugieren que este tipo de interacción contribuye muy levemente a la estabilidad global de los complejos creados en estado fundamental. Por ello, en nuestro grupo de investigación se han venido utilizando derivados de exTTF para conseguir este objetivo. Cuando estas unidades de exTTF se preorganizan en una pinza molecular se consigue un motivo capaz de reconocer C₆₀, a diferencia de las subunidades de exTTF por separado.¹⁷³ Cuando tanto el huésped como el anfitrión se unen covalentemente, como se muestra en la Figura 84, se pueden conseguir polímeros supramoleculares electroactivos y observar su asociación en estado sólido por medio de técnicas de microscopía, como AFM, (Figura 85).¹⁷⁴

[173] E. M. Pérez, L. Sánchez, G. Fernández, N. Martín, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 7172.

[174] G. Fernández, E. M. Pérez, L. Sánchez, N. Martín, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, 47, 1094.

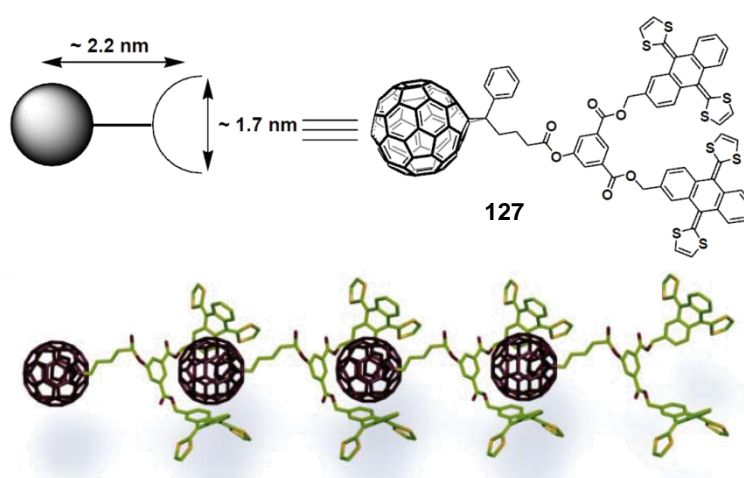


FIGURA 84. Estructura molecular de 127 y representación del polímero supramolecular formado.

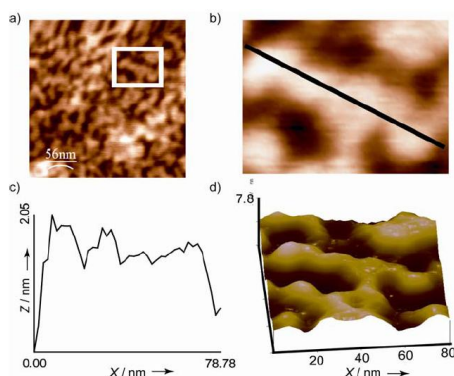


Figura 85. Imágenes de AFM (tapping, aire, 298 K, DCM) de 127 sobre un sustrato de mica. a) 277 x 277 nm. b) 80 x 65 nm. c) Perfil de la línea marcada en b). d) Imagen 3D de b).

Siguiendo con la importancia de las interacciones π - π y basándonos en el mismo principio de interacciones cóncavo-convexo, se expandió el sistema aromático utilizando derivados de truxeno.¹⁷⁵ Para acomodar los anillos de 1,3-ditio, el truxeno rompe su estructura plana y adopta una geometría curva, con los anillos de 1,3-ditio hacia afuera (Figura 85), capaz de interactuar favorablemente con C_{60} y C_{70} . Más recientemente, se ha comprobado que una

[175] a) E. M. Perez, M. Sierra, L. Sanchez, M. R. Torres, R. Viruela, P. M. Viruela, E. Orti, N. Martín, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 1847; b) M. Gallego, J. Calbo, J. Aragón, R. M. Krick Calderon, F. H. Liquido, T. Iwamoto, A. K. Greene, E. A. Jackson, E. M. Pérez, E. Ortí, D. M. Guldi, L. T. Scott, N. Martín, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 2170.

única unidad de exTTF puede dar lugar a complejos estables con C_{60} cuando se funcionaliza con éteres corona, mediante interacciones tipo $n-\pi$ y $CH-\pi$.¹⁷⁶

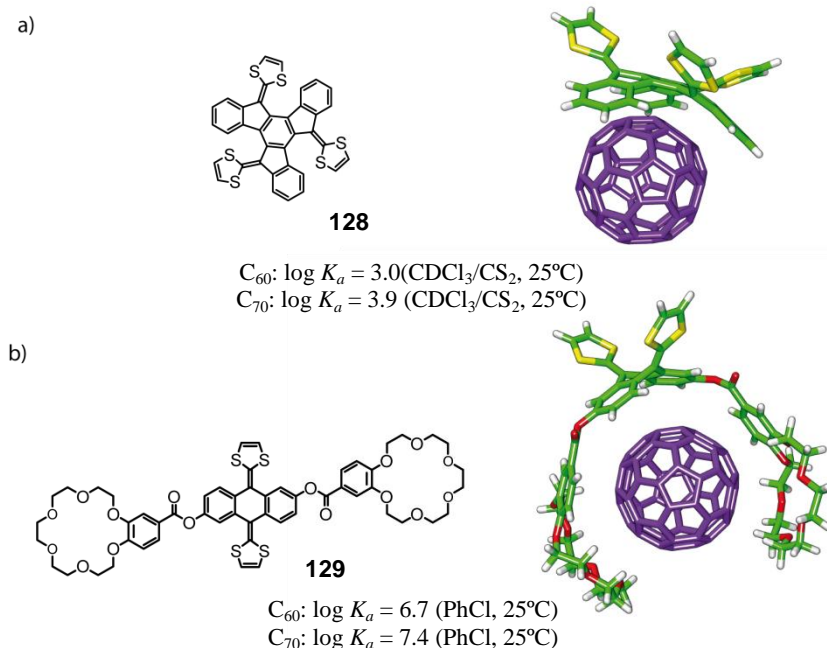


FIGURA 86. a) El derivado truxTTF 128, que presenta asociación por sí solo con C_{60} y C_{70} . b) Derivado de exTTF funcionalizado con dos éteres corona 129, con una de las constantes de asociación más altas descritas en la bibliografía para un receptor de fullerenos totalmente orgánico.

6.1.2. Química supramolecular de CNTs y solubilización mediante receptores altamente solubles en medios biológicos

La dispersión y solubilización de CNTs mediante interacciones de empaquetamiento $\pi-\pi$ se ha afrontado haciendo uso de muy diferentes receptores moleculares, aunque lógicamente todos ellos deben cumplir el requisito de poseer una superficie π -conjugada con la que interaccionen los CNTs. Se han empleado sistemas poliaromáticos como pireno¹⁷⁷, fenantreno²²

[176] B. Grimm, J. Santos, B. M. Illescas, A. Muñoz, D. M. Guldi, N. Martin, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 17387.

[177] M. A. Herranz, C. Ehli, S. Campidelli, M. Gutierrez, G. L. Hug, K. Ohkubo, S. Fukuzumi, M. Prato, N. Martin, D. M. Guldi, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 66.

o coroneno,²¹ pero también sistemas electroactivos como ftalocianinas,¹⁷⁸ perilenbisimidias¹⁷⁹ o porfirinas.¹⁸⁰ En el receptor derivado de exTTF representado en la Figura 87, el pireno, gracias a su estructura plana y aromática, asegura la unión del dador exTTF a los SWCNTs, que de otra manera interactuarían más débilmente, al ser el exTTF proaromático y con una geometría distorsionada de la planaridad.

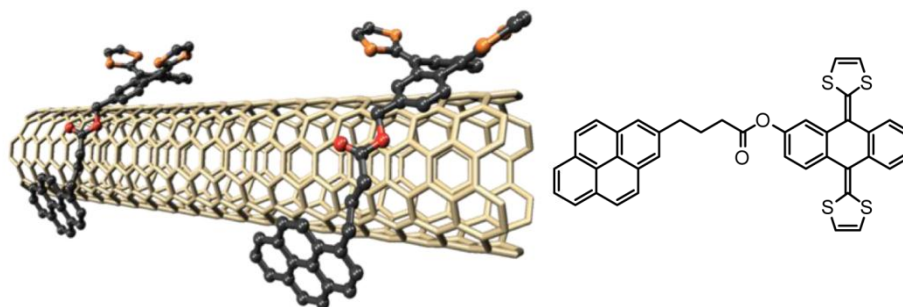


FIGURA 87. Receptor tipo pinza derivado de pireno y exTTF para la solubilización de SWCNTs, y representación de su unión a estos.

Además de las fuerzas de atracción con el pireno, la interacción entre el esqueleto central cóncavo del exTTF y las paredes convexas de los SWCNTs introduce una estabilización extra en la formación del complejo supramolecular. La fuerte interacción existente entre las unidades de exTTF y los SWCNTs fue establecida mediante electroquímica y distintas técnicas fotofísicas, detectando así la presencia de pares ión-radical con tiempos de vida media en la escala del nanosegundo, cuando se irradia con luz.

Sin embargo, las metodologías existentes para la formación de nanoestructuras de tipo dador-aceptor con CNTs solubles en agua son mucho menos numerosas. La solubilización de los CNTs en agua es especialmente interesante para desarrollar algunas de sus potenciales aplicaciones en las condiciones más respetuosas posibles con el medio ambiente, además de ser necesaria para

[178] J. Bartelmeß, A. R. Soares, M. V. Martínez-Díaz, M. G. Neves, A. C. Tome, J. A. Cavaleiro, T. Torres, D. M. Guldi, *Chem. Commun.* **2011**, 47, 3490.

[179] a) C. Oelsner, C. Schmidt, F. Hauke, M. Prato, A. Hirsch, D. M. Guldi, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, 133, 4580; b) C. Ehli, C. Oelsner, D. M. Guldi, A. Mateo-Alonso, M. Prato, C. Schmidt, C. Backes, F. Hauke, A. Hirsch, *Nat. Chem.* **2009**, 1, 243.

[180] F. Wang, K. Matsuda, A. F. Rahman, X. Peng, T. Kimura, N. Komatsu, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, 132, 10876.

avanzar en su uso para aplicaciones de carácter biológico o médico. Del mismo modo, el diseño de un sistema de dopaje de *tipo n* o de *tipo p* de los CNTs, usando una pinza molecular soluble en medios acuosos, permitiría un procesamiento más barato y menos contaminante. En este sentido, se han sintetizado pinzas moleculares de características electrónicas distintas, dadoras yceptoras de electrones, que poseen un dendrón de tipo Newkome que aporta solubilidad en medios acuosos neutros y básicos, a los nanotubos que complejan.¹⁸¹

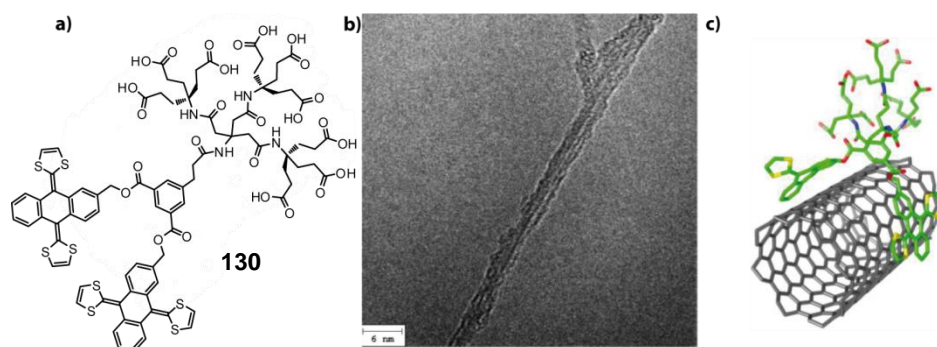


FIGURA 88. a) Dendrón de tipo Newkome de tercera generación, que en su posición focal contiene una pinza molecular basada en exTTF **130**. b) Imagen de HRTEM de los SWCNTs tipo CoMoCAT recubiertos por **130**. La barra de escala es de 6 nm. c) Representación del complejo supramolecular entre el CNT y la pinza soluble en medios acuosos.

La formación de estos nanohíbridos supramoleculares es reversible, teniendo en cuenta que la pinza molecular puede desplazarse de la superficie del nanotubo añadiendo un surfactante como SDBS. La relación de intensidades de las bandas de absorción de los SWCNTs no varía al formarse el complejo supramolecular (Figura 89), lo que indica que la pinza **130**, en principio, no presenta selectividad por un tipo de CNTs, semiconductores o metálicos.

[181] a) C. Romero-Nieto, R. García, M. A. Herranz, C. Ehli, M. Ruppert, A. Hirsch, D. M. Guldi, N. Martín, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 9183; b) C. Romero-Nieto, R. García, M. A. Herranz, L. Rodríguez-Perez, M. Sánchez-Navarro, J. Rojo, N. Martín, D. M. Guldi, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 10216.

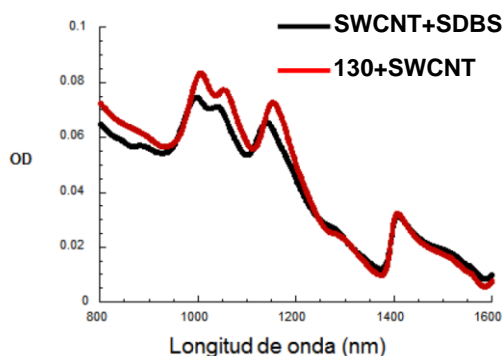


Figura 89. Espectro de absorción de los SWCNTs tipo CoMoCAT dispersados con SDBS (negro), tras complejarlos con **130** (rojo). Esta parte del espectro representa la zona correspondiente a los SWCNTs semiconductores; se observa un ligero desplazamiento batocrómico (desplazamiento hacia el rojo).

Resulta interesante comparar el comportamiento que tiene el nanotubo frente al receptor **130** con un receptor análogo basado en unidades aceptoras de TCAQ **131**. Estas pinzas forman agregados excepcionalmente estables con SWCNTs en medio acuoso, lo que se pone de manifiesto tras adicionar SDBS a una disolución del complejo supramolecular (Figura 90 y Figura 91).^{18b} La espectroscopía de fluorescencia tridimensional parece confirmar el carácter dador de los SWCNTs al enfrentarlos al TCAQ, generándose un proceso de transferencia de carga desde los nanotubos hacia las unidades aceptoras, al contrario de lo observado con las pinzas de exTTF.

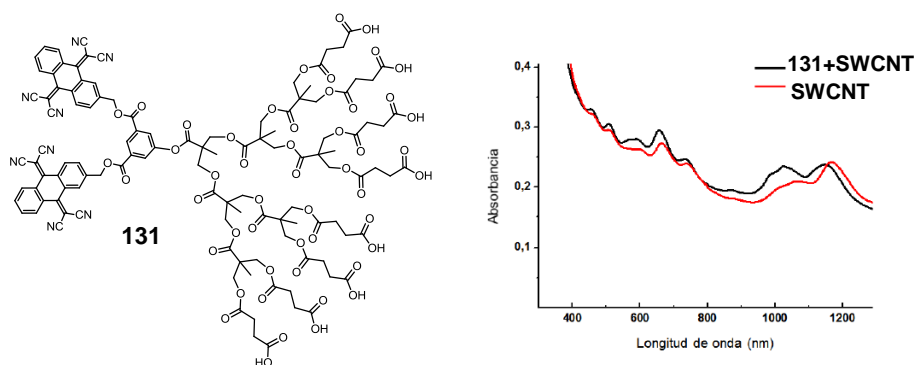


FIGURA 90. Estructura de la pinza basada en TCAQ; a la derecha el espectro UV-Vis-NIR de la muestra de nanotubos (rojo) y del complejo 131-SWCNTs (negro), en el que se aprecia el desplazamiento hipsocrómico (desplazamiento hacia el azul), al contrario que lo ocurrido en los derivados de exTTF .

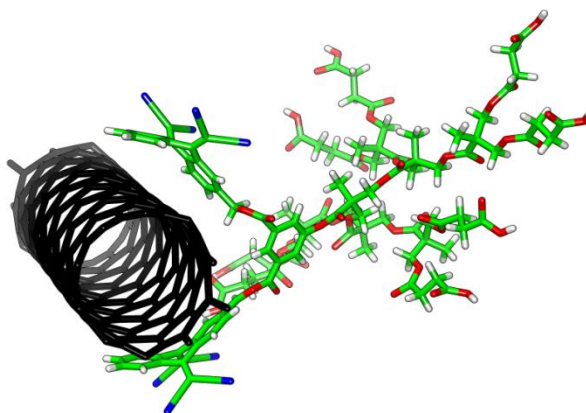


FIGURA 91. Representación tridimensional del complejo supramolecular 131-SWCNT.

La comparación de los complejos de **130** y **131** con SWCNTs en estos dos trabajos, revela que los CNTs pueden comportarse como aceptores o dadores de electrones, dependiendo de las propiedades electrónicas del receptor supramolecular. Por lo tanto, estos dos sistemas son una buena aproximación para conseguir nanotubos semiconductores dopados electrónicamente, de *tipo n* o de *tipo p*.

El sistema π -conjugado de los CNTs permite la interacción supramolecular con moléculas con un esqueleto de estructura aromática. Esto fue aprovechado, ya en 2007, por el grupo de Hongjie Dai, para utilizar los nanotubos como transportadores y liberadores de fármacos contra el cáncer, como la Doxorubicina, que tiene en su estructura un grupo de naturaleza antraquinóide. La Doxorubicina se adhiere a la superficie aromática de un nanotubo funcionalizado covalente o supramolecularmente con cadenas de polietilenglicol para aumentar su solubilidad en medios acuosos.¹⁸²

[182] Z. Liu, X. Sun, N. Nakayama-Ratchford, H. Dai, *ACS Nano* **2007**, *1*, 50.

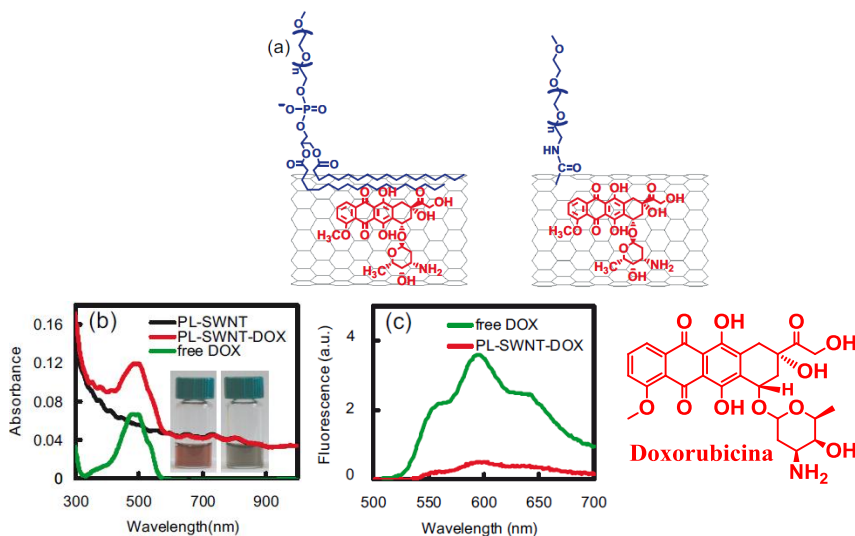


FIGURA 92. a) Doxorubicina adsorbida sobre la superficie del CNT, a la izquierda sobre un CNT funcionalizado supramolecularmente con cadenas de un Fosfolípido-PEG (PL-PEG), mostrado en azul. A la derecha sobre un CNT oxidado y posteriormente funcionalizado covalentemente con las mismas cadenas de PEG mediante una amidación sobre un grupo (-COOH) de la pared del nanotubo. b) Espectro UV-Vis-NIR de la Doxorubicina libre (verde), los nanotubos con PL-PEG (negro), y PL PEG-SWNT complejados con Doxorubicina (rojo) después de una incubación simple con una solución de Doxorubicina a pH 9. La Doxorubicina libre se eliminó por filtración. El pico de absorción a 490 nm se debe a la Doxorubicina apilada sobre los CNTs. Esta absorbancia se utilizó para el análisis de la cantidad de moléculas cargadas en los nanotubos. Foto de soluciones de SWCNTs con (izquierda) y sin Doxorubicina unida (derecha). c) Espectros de fluorescencia de las disoluciones de Doxorubicina libre (verde) y Doxorubicina unida a PL-PEG-SWNT (excitación a 488 nm) con la misma concentración de Doxorubicina. Significativa desactivación de la fluorescencia, que pone de manifiesto la unión de la Doxorubicina al CNT.

El diámetro de los tubos determina la cantidad de fármaco que puede adsorberse sobre la pared del CNT. Cuanto más grande es el diámetro del nanotubo, más fármaco puede soportar sobre su superficie, debido al incremento de las interacciones π - π , al aumentar el tamaño. Los autores defienden que esta metodología de complejación es sencilla, y los complejos PL-PEG-SWCNT/Doxorubicina contienen un 50 - 60 % en peso del fármaco,

un 10% más que otros transportadores basados en liposomas¹⁸³ o transportadores dendriméricos.¹⁸⁴

6.1.3. Química supramolecular de grafeno

El grafeno es la forma alotrópica del carbono de descubrimiento más reciente. Al igual que ocurre con fullerenos y nanotubos de carbono, el interés por el desarrollo de una química supramolecular sobre el grafeno viene dado por la posibilidad de modificar y modular sus propiedades electrónicas y conductoras únicas mediante interacciones no-covalentes. La gran superficie específica del grafeno, en el caso de la monocapa de grafeno (SLG, de sus siglas en inglés), es cercana a 2600 m²/g.¹⁸⁵ Esta gran superficie permite que numerosas moléculas puedan apilarse en su superficie mediante interacciones π - π . La obtención de láminas de grafeno individualizadas mediante métodos químicos no es un proceso trivial. En estos procesos de obtención, pueden exfoliarse láminas de grafeno a partir de grafito mediante ultrasonificación en presencia o en ausencia de surfactantes o moléculas capaces de formar interacciones π - π entre láminas de grafeno (Figura 93). Como disolvente para estos procesos suele utilizarse *N*-metil-2-pirrolidona (NMP), DMF, diclorobenceno o hexafluorobenceno.¹⁸⁶

[183] a) T. M. Allen, W. W. Cheng, J. I. Hare, K. M. Laginha, *Anticancer Agents Med. Chem.* **2006**, *6*, 513; b) G. Storm, M. T. ten Kate, P. K. Working, I. A. Bakker-Woudenberg, *Clin. Cancer Res.* **1998**, *4*, 111.

[184] C. C. Lee, E. R. Gillies, M. E. Fox, S. J. Guillaudeu, J. M. Frechet, E. E. Dy, F. C. Szoka, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2006**, *103*, 16649.

[185] a) A. Chuvilin, U. Kaiser, E. Bichoutskaia, N. A. Besley, A. N. Khlobystov, *Nat. Chem.* **2010**, *2*, 450; b) D. V. Kosynkin, A. L. Higginbotham, A. Sinitskii, J. R. Lomeda, A. Dimiev, B. K. Price, J. M. Tour, *Nature* **2009**, *458*, 872; c) A. K. Geim, K. S. Novoselov, *Nat. Mater.* **2007**, *6*, 183.

[186] A. Ciesielski, P. Samori, *Chem. Soc. Rev.* **2014**, *43*, 381.

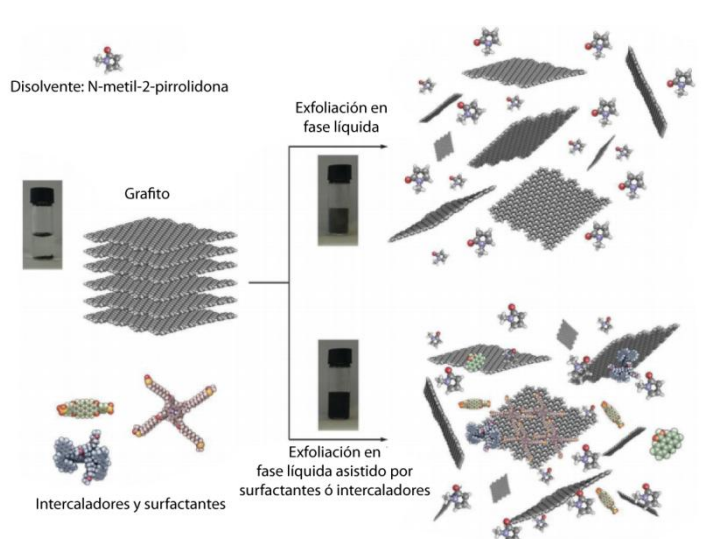


FIGURA 93. Representación de los métodos de exfoliación, con disolvente y sonicación o con disolvente y con un agente intercalador que interaccione con las láminas de grafeno.

Para aplicaciones en electrónica, el grafeno ofrece menos problemas que los lotes comerciales de CNTs, que presentan mezclas de tubos con distintas quiralidades, que afectan a la naturaleza electrónica de los CNTs. Al igual que los CNTs, el grafeno ha sido combinado con otros materiales para mejorar sus propiedades electrónicas. Actualmente, se está utilizando el grafeno como parte aceptora en mezclas con polímeros, como el poli-3-octiltiofeno (P3OT) y el poli-3-hexiltiofeno (P3HT) en dispositivos fotovoltaicos con muy buenos resultados cuando se utilizan cantidades moderadas de grafeno.¹⁸⁷ El dopaje supramolecular del grafeno es de capital importancia para una total aplicabilidad del grafeno en dispositivos electrónicos.¹⁸⁸

En este sentido, en los últimos años se han diseñado sistemas capaces de interactuar con las láminas de grafeno. Para maximizar la interacción con el grafeno, diferentes grupos de investigación pensaron en sintetizar receptores planos, que interaccionasen a través de interacciones π - π con el grafeno. Un

[187] a) L. Rodríguez-Pérez, M. A. Herranz, N. Martín, *Chem. Commun.* **2013**, 49, 3721; b) Z. Liu, Q. Liu, Y. Huang, Y. Ma, S. Yin, X. Zhang, W. Sun, Y. Chen, *Adv. Mater.* **2008**, 20, 3924; c) Q. Liu, Z. Liu, X. Zhang, L. Yang, N. Zhang, G. Pan, S. Yin, Y. Chen, J. Wei, *Adv. Funct. Mater.* **2009**, 19, 894.

[188] H. Lim, J. S. Lee, H. J. Shin, H. S. Shin, H. C. Choi, *Langmuir* **2010**, 26, 12278.

ejemplo son los sistemas oligoméricos basados en ftalocianinas publicados por Guldi, Torres y *col.*¹⁸⁹

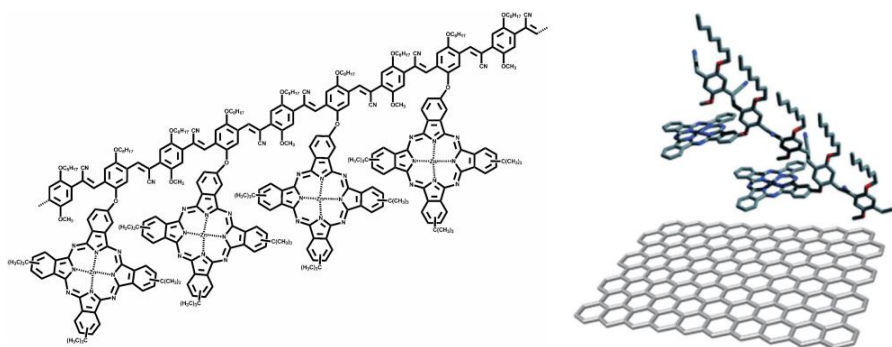


FIGURA 94. Oligómeros con unidades de ftalocianinas que interactúan eficazmente con láminas de grafeno por π - π *stacking*.

Otros sistemas capaces de interactuar con grafeno, también planos, se basan en unidades de pireno y perileno bisimidazoles. Como el caso anterior, también incluyen dentro de la misma molécula varias unidades aromáticas planas que actúan como unidades activas para la interacción con grafeno. Esta estrategia puede considerarse una aproximación a la interacción multivalente sobre el grafeno, donde las interacciones de cada subunidad se unen a la interacción global de la molécula con el grafeno. En un trabajo publicado en 2011 por Abruña, Dichtel y *col.*,¹⁹⁰ se unen tres unidades de pireno a través de un grupo tritilo, a modo de molécula, tripodal como se muestra en la Figura 95. Al receptor tripodal se le une covalentemente un centro redox, en forma de un quelato de cobalto, capaz de reducirse y oxidarse reversiblemente según el par redox $\text{Co}^{+2}/\text{Co}^{+3}$. Usando voltamperometría cíclica puede calcularse la superficie de grafeno (Γ) recubierta por el receptor tripodal **132**, según la fórmula $Q = nFA\Gamma$, donde Q es la carga transferida, n el número de electrones intercambiados en el proceso, F es la constante de Faraday y A la intensidad de corriente. La superficie (Γ) puede ajustarse a una isoterma de Langmuir, según la expresión:

$$(\Gamma) = \Gamma_s Kc / (Kc + 1)^{-1}$$

[189] J. Malig, N. Jux, D. Kiessling, J.-J. Cid, P. Vázquez, T. Torres, D. M. Guldi, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 3561.

[190] J. A. Mann, J. Rodríguez-Lopez, H. D. Abruña, W. R. Dichtel, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 17614.

donde (Γ_s) es la superficie de saturación para la monocapa, K es la constante de equilibrio y c es la concentración. Se obtiene, mediante electroquímica, que la molécula tripodal ocupa sobre el grafeno una superficie de 2.3 nm^2 y la densidad molar en la superficie cuando ésta se satura es $\Gamma_s = 73.9 \pm 0.2 \text{ pmol} \cdot \text{cm}^{-2}$

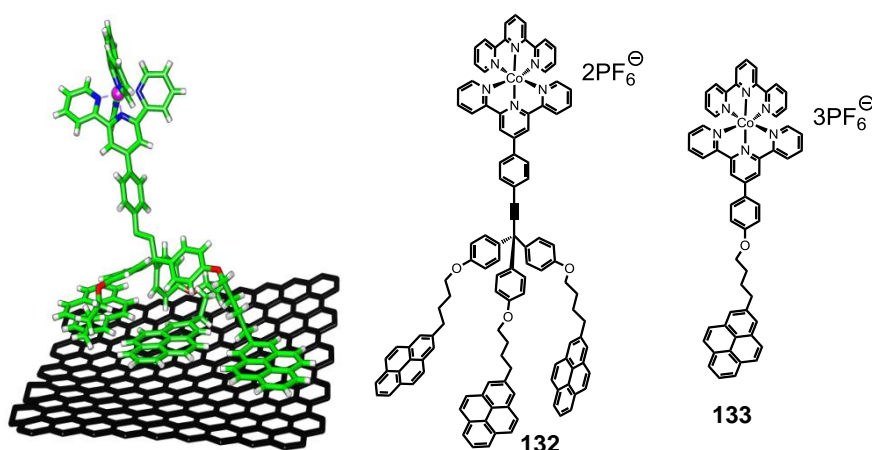


FIGURA 95. Representación de la interacción del receptor tripodal **132** con una lámina de grafeno. El quelato de cobalto se utiliza como centro redox para cuantificar la interacción entre el grafeno y el receptor por métodos electroquímicos. También se muestra el ligando monovalente **133**.

El derivado monovalente **133** tienen una isoterma de desorción 1000 veces más rápida que el derivado **132**, lo que demuestra la interacción multivalente de este tipo de sistemas.¹⁹¹

En nuestro grupo de investigación también se ha explorado la multivalencia para la interacción con sistemas π -extendidos como el grafeno, pero utilizando sistemas π -aromáticos no-planares y que, además, presenten propiedades electroactivas. Para ello, se utilizaron unidades de exTTF ancladas a nanopartículas de oro, que hace las veces de soporte para las unidades de reconocimiento monovalentes (Figura 96). Estas nanopartículas decoradas con unidades de exTTF (**134**), descritas recientemente en nuestro grupo de investigación,¹⁹² mostraron ser capaces de reconocer grafeno y anclarse en las zonas con más defectos del grafeno, como son los bordes de las láminas y las

[191] J. A. Mann, W. R. Dichtel, *ACS Nano* **2013**, 7, 7193.

terrazas entre láminas, así como entre láminas, formando un composite tipo sandwich, como muestran las micrografías de TEM y SEM.¹⁹²

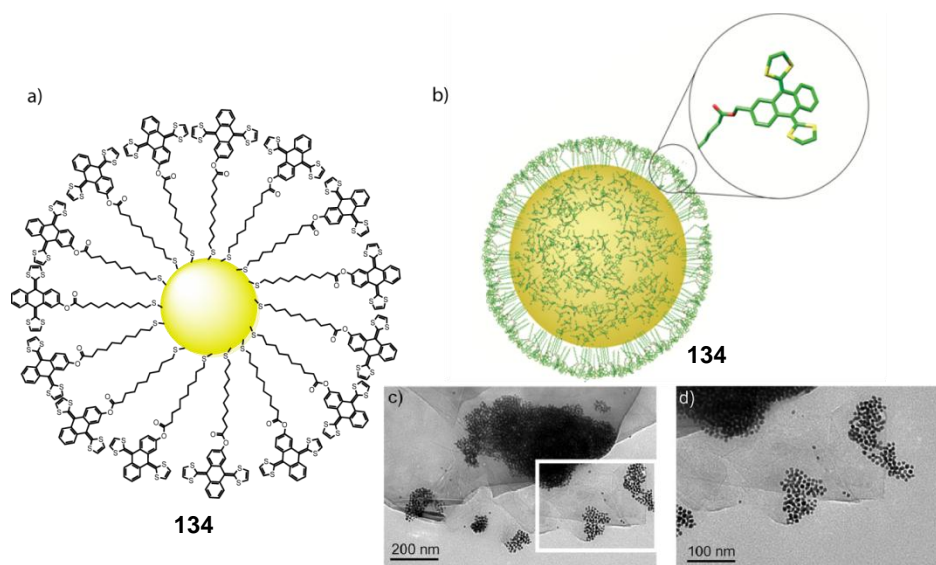


FIGURA 96. a) Representación de la nanopartícula exTTF/AuNP 134. b) Representación tridimensional de 134, en detalle se observa la estructura tridimensional de una subunidad de exTTF, responsable del reconocimiento supramolecular del grafeno, donde se puede observar la no-planaridad de la unidad de exTTF. c) Micrografía de TEM, en la que se observa acumulación de nanopartículas sobre las láminas de grafeno (FLG, *Few Layer Graphene*). Se observa cierta preferencia de las nanopartículas por acumularse en bordes y terrazas que forman las láminas de grafeno. d) Ampliación de la zona marcada en c), donde se observan las nanopartículas individualizadas.

Para una mayor comprensión de la interacción entre exTTF y grafeno, se llevaron a cabo una serie de estudios computacionales de las diferentes orientaciones que puede adoptar un ligando de exTTF sobre una pequeña lámina de grafeno. Se determinaron 5 posiciones de interacción más favorables, que pueden verse en la Figura 97. Las estructuras **I** y **II** están determinadas principalmente por interacciones π - π , mientras que la estructura **III** implica interacciones CH- π entre los átomos de hidrógeno terminales de los anillos de ditiol y la lámina de grafeno. La molécula de exTTF también puede interactuar con la hoja de grafeno a través de los anillos de benceno y los átomos de azufre (estructura **IV**), o a través de un anillo de ditiol (estructura

[192] a) F. G. Brunetti, H. Isla, J. Arago, E. Orti, E. M. Pérez, N. Martín, *Chem. Eur. J.* **2013**, *19*, 9843; b) R. Cao, H. Isla, E. M. Pérez, N. Martín, *Chem. Sci.* **2011**, *2*, 1384.

V). Las estructuras IV y V implican una mezcla de interacciones π - π y CH- π . Sorprendentemente, y a pesar del carácter donador de electrones del exTTF, los cálculos llevados a cabo en este trabajo predicen aportes insignificantes de interacciones de transferencia de carga.

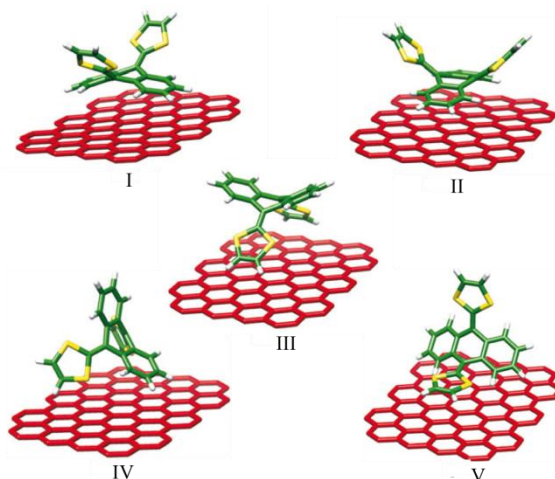


FIGURA 97. Cálculos a nivel revPBE0-D3/cc-pVTZ. Las estructuras IV y V resultaron ser las más estables, con energías de enlace de -22.2 y -25.2 kcal/mol, respectivamente. Las estructuras I, II, y III también exhiben energías de enlace significativas de -19.0, -20.7, y -16.8 kcal/mol, respectivamente.

La ausencia de transferencia electrónica entre el grafeno y la nanopartícula decorada con exTTFs se confirmó experimentalmente, observándose un muy pequeño desplazamiento de la banda G hacia mayores frecuencias ($\sim 4 \text{ cm}^{-1}$) en el espectro de Raman. Por tanto, esta forma multivalente de interacción con grafeno con un motivo de reconocimiento curvo es muy eficaz, mostrando que la planaridad no es un prerequisite para el diseño de sistemas de reconocimiento para grafeno.

6.2. Sistemas autoensamblados basados en fullereno

Las especiales características del fullereno hacen de él un fragmento molecular muy interesante para el estudio de su autoensamblaje para formar estructuras supramoleculares y sus aplicaciones. El esqueleto de C_{60} es altamente hidrofóbico, pero su naturaleza no-hidrocarbonada da lugar a un fragmento muy poco liposoluble. Esto, junto con la tendencia a la agregación de las subunidades de C_{60} y sus interesantes propiedades electrónicas y ópticas, hacen de los fullerenos un bloque de construcción molecular muy útil y versátil para

obtener sistemas con capacidad de autoensamblaje. Afortunadamente, mediante la funcionalización química adecuada puede modularse el equilibrio entre el carácter hidrofóbico e hidrofílico. El interés por poder controlar cómo se comporta un sistema a nivel nano y microscópico tiene grandes implicaciones en ciencias de materiales, en química de superficies y en nanomedicina, como en el transporte y encapsulación de fármacos. Como en todos los ensamblajes supramoleculares, las propiedades y el resultado final de la agregación, no sólo dependen de las propiedades intrínsecas de las moléculas, sino que también están influenciadas por el medio circundante donde se produzcan estas asociaciones moleculares. Esto hace de la química supramolecular una parte de la química muy rica y diversa, pudiendo obtenerse diversas morfologías con una misma entidad molecular, cambiando la polaridad del medio, la temperatura o la fuerza iónica.

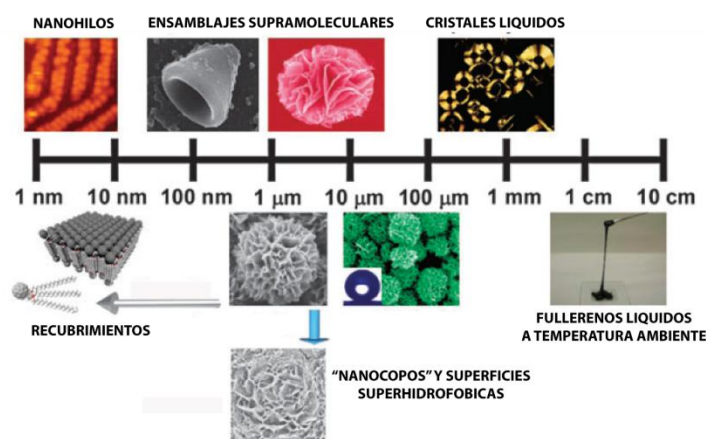


FIGURA 98. Diversas morfologías adoptadas por derivados de fullereno. Desde la escala nanoscópica hasta el tamaño macroscópico de los cristales líquidos y fullerenos líquidos a temperatura ambiente.

En el ámbito de la química supramolecular de fullerenos, en los últimos años se ha desarrollado un creciente interés por la organización de estructuras bien definidas sobre superficies metálicas, grafito pirolítico altamente orientado (HOPG en sus siglas en inglés), o materiales semiconductores como el silicio.¹⁹³

[193] T. Nakanishi, *Chem. Commun.* **2010**, 46, 3425.

Uno de los grupos más activos en la síntesis de sistemas basados en fullereno capaces de autoensamblarse es el del Prof. Nakanishi. Recientemente, ha estudiado sistemas con hidrofobicidad dual, con cadenas lipófilas y una parte lipofóbica, en forma de fullereno.

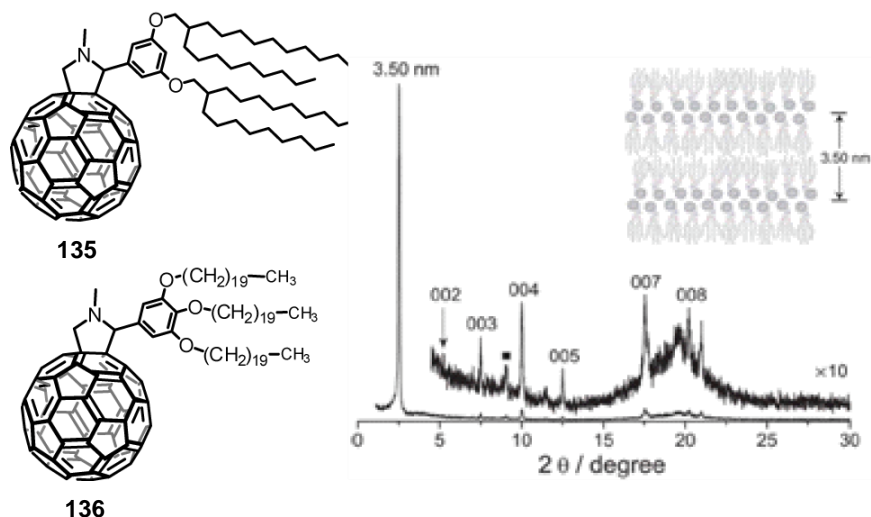


FIGURA 99. Difractograma de Rayos-X (XRD) del derivado ramificado 135. Se observa un patrón de difracción altamente simétrico donde existen al menos ocho difracciones con respecto a la difracción 001, perteneciente al patrón de repetición más corto, compuesto por dos moléculas alineadas en el eje intermolecular z, que corresponde a una distancia de 3.5 nm. Marcado con un cuadrado negro, se observa la difracción $2\theta=8^\circ$, correspondiente a una distancia de 1 nm, típica del empaquetamiento entre unidades de C₆₀. La estructura autoensamblada de fullereno, según el patrón de difracción, parece corresponder a una estructura lamelar, con una membrana de 8 capas y 16 moléculas de 135.¹⁹⁴

Cuando se sintetizan derivados análogos a 136, pero con más ramificación en la cadena alquílica, los compuestos adquieren características de cristal líquido y no se observa en la difracción de Rayos-X un patrón tan cristalino como el observado en la Figura 99. La variación del factor de ordenamiento influye decisivamente en la eficiencia de las células solares todo-orgánicas que se construyeron con este tipo de sistemas. Comparando la conversión energética (PCE) de las células solares de 135 y 136, se observa que para 135/P3HT, PCE: $1.6 \pm 0.1\%$ y para 136/P3HT, PCE: $0.5 \pm 0.1\%$. Sistemas químicos muy parecidos, que muestran diferente comportamiento frente al autoensamblado y

[194] H. Li, S. S. Babu, S. T. Turner, D. Neher, M. J. Hollamby, T. Seki, S. Yagai, Y. Deguchi, H. Mohwald, T. Nakanishi, *J. Mater. Chem. C* **2013**, *1*, 1943.

cristalinidad, también se muestran diferentes en su comportamiento como fase fotoactiva en células solares orgánicas.

Aprovechando la tendencia a la agregación y el empaquetamiento π - π que presentan las subunidades de C_{60} , se han sintetizado materiales capaces de autoensamblarse ordenadamente en la mesofase y controlar el polimorfismo de muchas de estas estructuras, cambiando las condiciones del medio. Distintos grupos de investigación han conseguido formar agregados análogos usando fullerenos funcionalizados de distinta manera, tanto de forma catiónica¹⁹⁵ como de forma aniónica.¹⁹⁶

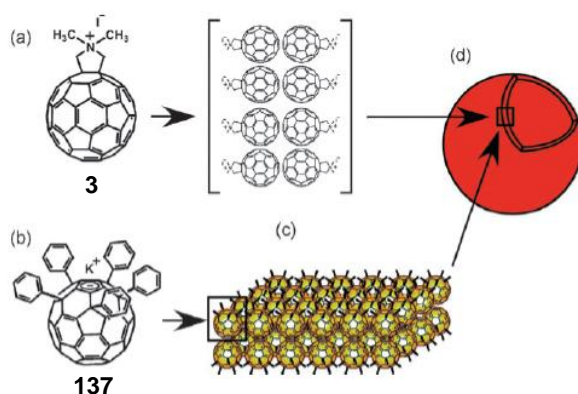


FIGURA 100. Formación vesicular de d), con derivados catiónicos en a) y aniónicos en forma de $Ph_5C_{60}K$ (137) en b). En c) se puede observar la formación de la membrana con los derivados aniónicos sintetizados por Nakamura y col.

Estas estructuras autoensambladas con carga neta son muy solubles en medios acuosos. Los agregados supramoleculares mostrados en la Figura 100b, fueron objeto de una intensa caracterización tanto en disolución como en estado sólido (Figura 101).

[195] A. M. Cassell, C. L. Asplund, J. M. Tour, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, 38, 2403.

[196] S. Zhou, C. Burger, B. Chu, M. Sawamura, N. Nagahama, M. Toganoh, U. E. Hackler, H. Isobe, E. Nakamura, *Science* **2001**, 291, 1944.

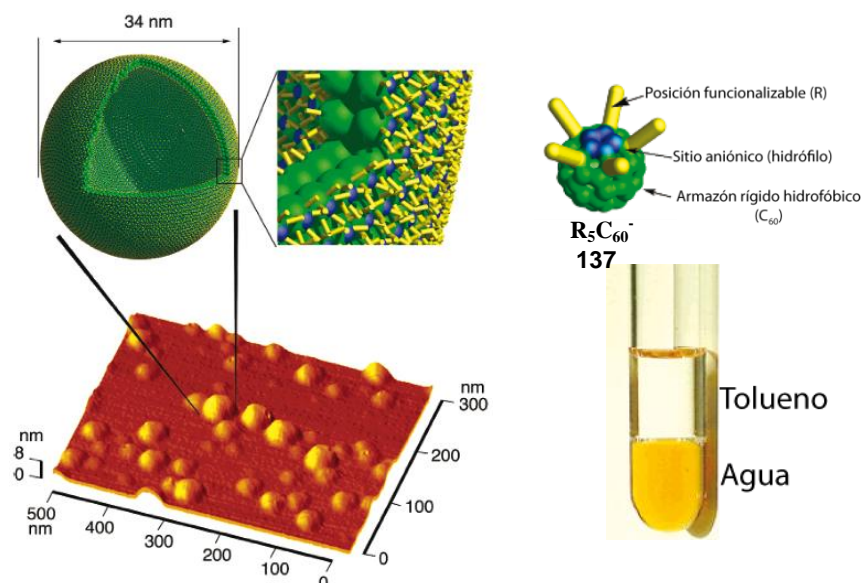


FIGURA 101. Imagen de AFM de las vesículas depositadas por *spin-coating* de $\text{Ph}_5\text{C}_{60}\text{K}$. En la fotografía se muestra que el compuesto $\text{Ph}_5\text{C}_{60}\text{K}$ (**137**) es soluble en agua y poco soluble en disolventes orgánicos apróticos como el tolueno.

Los estudios de dispersión estática de luz láser (SLS) de **137** indican una distribución uniforme de los tamaños de las vesículas. Estas estructuras supramoleculares tienen un diámetro de 34 nm y están compuestas por alrededor de 13.000 moléculas del derivado $\text{Ph}_5\text{C}_{60}\text{K}$ (**137**), generando una bicapa estructuralmente muy rígida, que no es soluble en disolventes lipófilos como el hexano y que puede ser utilizada para encapsular moléculas más pequeñas, ya que este tipo de bicapas combinan rigidez y permeabilidad.¹⁹⁷ Con esta estructura de pentaaducto de C_{60} ($\text{R}_5\text{C}_{60}^-$) se obtienen vesículas bien formadas y uniformes, prácticamente en cualquier medio solvente. En este sentido, se han conseguido microvesículas altamente hidrofóbicas y de altas capacidades lubricantes y antifricción, de modo similar a las micropartículas de TeflónTM.¹⁹⁸

El polimorfismo de los agregados se observa frecuentemente, ya que según cómo tratemos la muestra se puede variar la morfología de los ensamblajes. Un ejemplo son los pentaaductos de C_{60} descritos por Nakamura y *col.* cuando son tratados como compuestos neutros no aniónicos y conservan el protón unido

[197] H. Isobe, T. Homma, E. Nakamura, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2007**, *104*, 14895.

[198] T. Homma, K. Harano, H. Isobe, E. Nakamura, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 1665.

directamente al fullereno en medio ácido. En estos compuestos las interacciones π - π entre el esqueleto de C_{60} y los restos arílicos favorecen la formación de nanohilos (Figura 102).

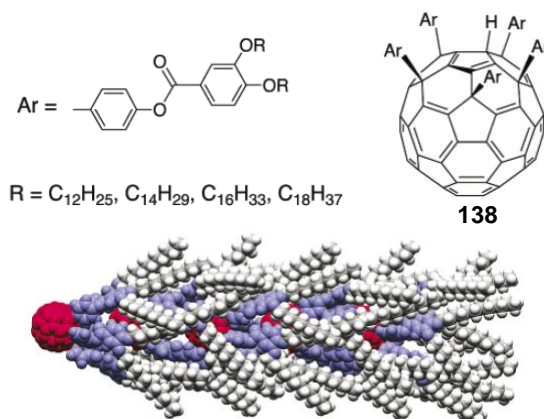


FIGURA 102. Ensamblajes moleculares en forma de nanohilos observados en pentaaductos neutros. Modelo 3D del ensamblaje de cinco moléculas.

La flexibilidad de las cadenas laterales unidas a la subunidad de fullereno parece ser una de las causas del polimorfismo de estos compuestos. Se han descrito moléculas basadas en fulleropirrolidinas con varias cadenas alifáticas flexibles. La molécula **139** presenta dimensionalidad controlada dependiendo de la superficie sobre la que se deposita o el tratamiento que se le de a la muestra. A modo de ejemplo, en la Figura 103 puede observarse cómo se organizan las estructuras sobre una superficie determinada usando un método de deposición como *drop-casting* o *spin-coating* cuando se utiliza cloroformo como disolvente.¹⁹⁹

[199] T. Nakanishi, N. Miyashita, T. Michinobu, Y. Wakayama, T. Tsuruoka, K. Ariga, D. G. Kurth, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 6328.

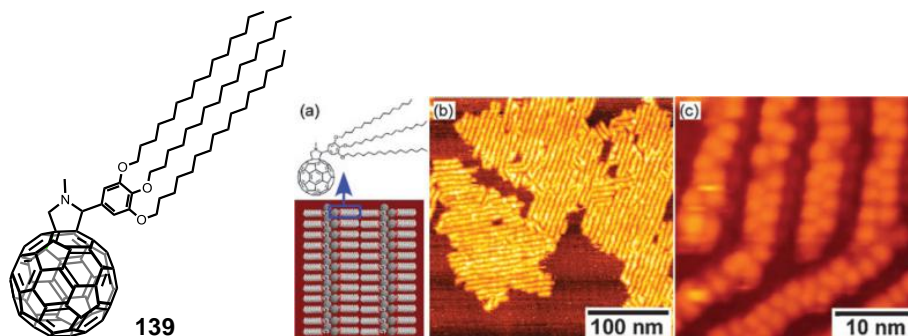


FIGURA 103. Compuesto 139. a) Representación esquemática de una ordenación lamelar, obtenida cuando se deposita la muestra utilizando la técnica de *drop-casting* sobre HOPG. b) Imagen de AFM donde, a baja concentración, las moléculas de 139 comienzan a asociarse en forma de nanohilos hasta ir ocupando la superficie del grafito y saturar la monocapa. En c) se muestra una imagen de STM donde se observan los fullerenos empaquetados formando los nanohilos.

Cuando la misma molécula **139** se trata y deposita con otros disolventes, puede modularse su dimensionalidad a unas escala de cientos o miles de nanómetros, como se muestra en la Figura 104.

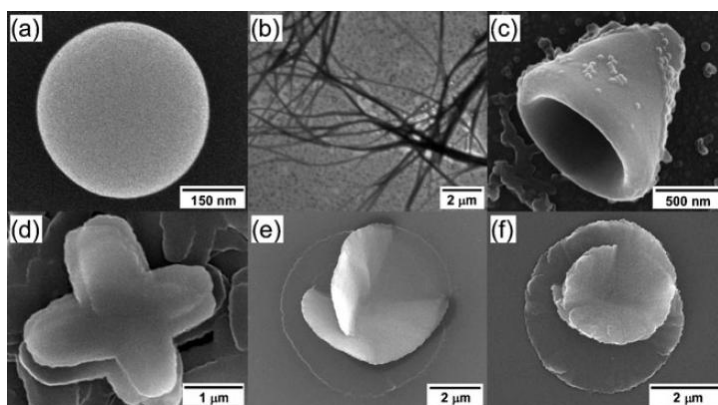


FIGURA 104. Diferentes morfologías adoptadas por la molécula 139 en micrografías de barrido SEM-FEG. a) Esferas. b) Fibras. c) Conos huecos. d) “Aspas de Molino”. e) Hojas dobladas hacia la izquierda. f) Hojas dobladas hacia la derecha. Para variar la morfología es necesario depositar la muestra en distintos disolventes.²⁰⁰

[200] T. Nakanishi, K. Ariga, T. Michinobu, K. Yoshida, H. Takahashi, T. Teranishi, H. Mohwald, G. K. D., *Small* **2007**, 3, 2019.

Otros grupos de investigación de reconocido prestigio internacional en el campo, como el del Prof. Takuzo Aida, han sintetizado sistemas supramoleculares autoensamblados funcionales, que contienen C_{60} , pero éste no parece tener un papel determinante en la morfología final del autoensamblado. En estas estructuras el C_{60} cumple la función de ser un transportador de electrones en una capa autoensamblada gracias a las interacciones π - π entre subunidades de HBC (hexabenzocoroneno), que a su vez hace las veces de transportador de huecos. Las cadenas alifáticas se intercalan entre sí y las cadenas de etilenglicol interaccionan lateralmente unas con otras (Figura 105 y Figura 106).

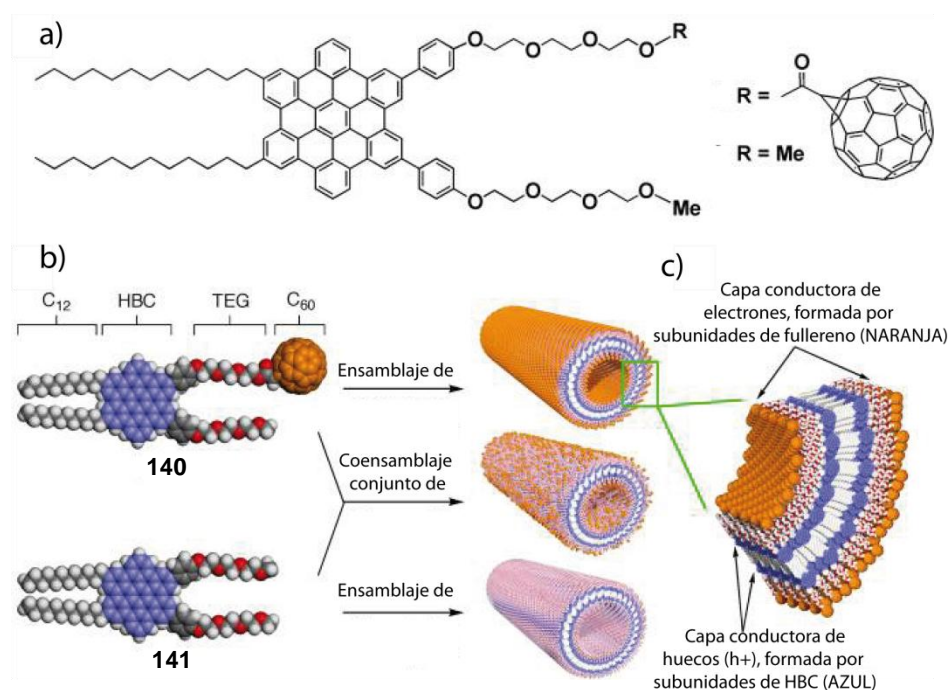


FIGURA 105. a) Las dos estructuras moleculares con C_{60} (140) y sin C_{60} (141). b) Ensamblaje de los dos sistemas por separado y ambos juntos. Se vio que los nanotubos autoensamblados sin C_{60} se unían con idéntica morfología, por lo que el fullereno no induce una organización determinada en estos sistemas. Usando el coensamblaje de las moléculas con y sin transportador de electrones, se pueden conseguir tubos con distinta densidad de transportadores y distintas propiedades conductoras. c) Detalle del nanotubo autoensamblado.

A pesar del gran volumen estérico del C_{60} , el nanografeno molecular en forma de hexabenzocoroneno (HBC)- C_{60} (140) se autoensambla en un nanotubo coaxial cuya pared interior se compone de un pseudografito π -apilado formado

por los HBC, mientras que la superficie de los nanotubos está totalmente cubierta por una capa molecular debida a la agrupación de C_{60} . Debido a esta configuración coaxial, el nanotubo presenta un carácter ambipolar. Esta arquitectura permite el movimiento de las cargas en direcciones opuestas, de manera antiparalela, evitando así los fenómenos de recombinación de cargas, consiguiendo un conductor ambipolar.²⁰¹

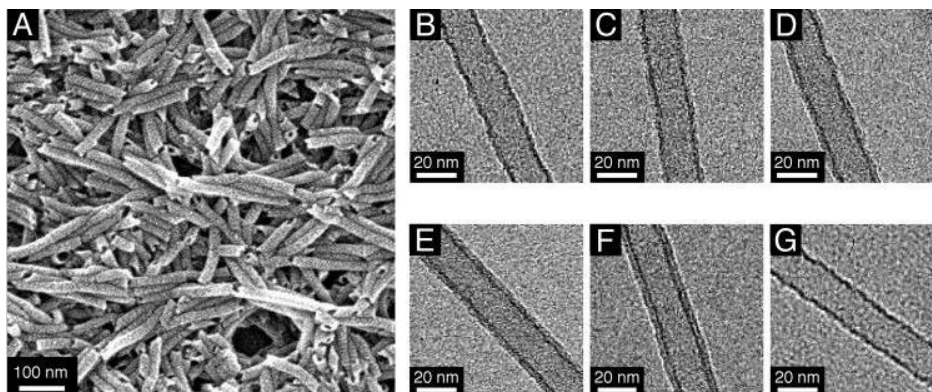


FIGURA 106. Micrografías electrónicas de los nanotubos homotrópico y coensamblado de HBC- C_{60} (140) y HBC- CH_3 (141). (A) Micrografía SEM de una suspensión en tolueno secada al aire del nanotubo homotrópico de HBC- C_{60} (140). (B-F) micrografías TEM de suspensiones de tolueno secadas al aire de HBC- C_{60} (F) y HBC- CH_3 en (B), y los nanotubos coensamblados con fracciones molares de: $f_{HBC-C_{60}} = 25\%$ (C), 50% (D), y 75% (E). (G) micrografía TEM de una suspensión en MeOH secada al aire del nanotubo de HBC- C_{60} (140) después de la hidrólisis de los grupos éster que hacen de unión con el C_{60} .

El nanotubo formado por **140** muestra una movilidad de huecos de $v_d(h^+) = 9,7 \times 10^{-7} \text{ cm}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$, y una movilidad de electrones de $v_d(e^-) = 1,1 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$. El ensamblaje conjunto de **140** y el derivado de HBC sin C_{60} (**141**), permite la modulación de la heterounión p/n en el nanotubo, de manera que su carácter ambipolar pueda ser optimizado variando la proporción de los componentes moleculares. Se evaluó el transporte de carga de un nanotubo coensamblado con un 10% de **140**, obteniendo una movilidad de huecos en la zona intratubular de $2,0 \text{ cm}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$, próxima a la movilidad interlamina en el grafito.

[201] a) T. Aida, E. W. Meijer, S. I. Stupp, *Science* **2012**, 335, 813; b) Y. Yamamoto, G. Zhang, W. Jin, T. Fukushima, N. Ishii, A. Saeki, S. Seki, S. Tagawa, T. Minari, K. Tsukagoshi, T. Aida, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2009**, 106, 21051.

OBJETIVOS

En este segundo capítulo de la memoria de tesis nos planteamos, por un lado, obtener sistemas multivalentes químicamente bien caracterizados y monodispersos, capaces de interactuar con nanotubos de carbono o láminas de grafeno y, por otro lado, estudiar el autoensamblaje de derivados anfífilos de fullereno solubles en agua. Ambos objetivos se enmarcan dentro de la química supramolecular de fullereno, CNTs y grafeno.

7.1. Síntesis de hexaaductos funcionalizados con unidades electroactivas derivadas de exTTF y TCAQ y estudio de su interacción supramolecular con nanotubos de carbono y grafeno

Los hexaaductos de fullereno permiten obtener sistemas en forma globular, imitando así a algunos sistemas naturales, decorados con un elevado número de diferentes funcionalidades en su periferia. Por tanto, este tipo de fullerenos altamente funcionalizados pueden actuar como sistemas multivalentes, los cuales han sido muy poco estudiados hasta hoy.

En nuestro caso, se pretende la preparación de los hexaaductos decorados con moléculas electroactivas tanto dadoras de electrones (exTTF) como aceptoras (TCAQ).

Ambas unidades electroactivas de reconocimiento son no planares y presentan un comportamiento electrónico diferenciado, actuando el exTTF como unidad electrodadora y el TCAQ como aceptor de electrones (Figura 107).

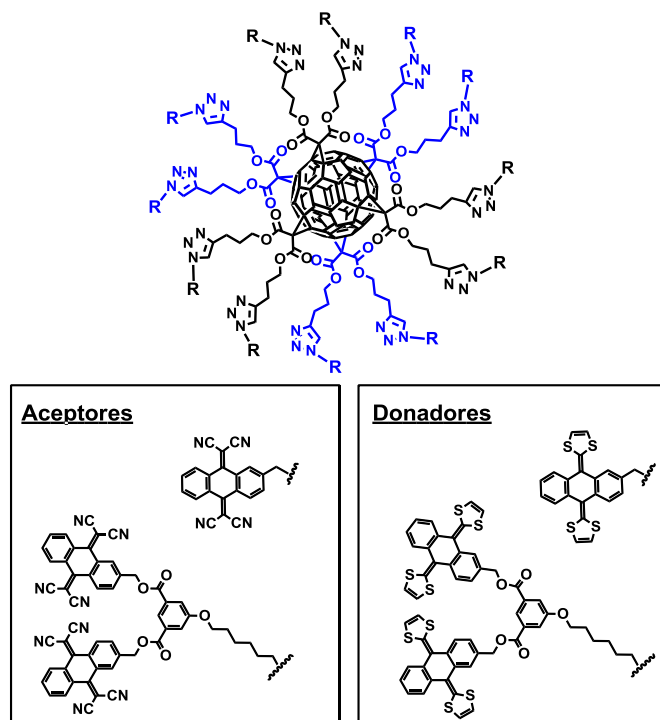


FIGURA 107. Estructuras multivalentes basadas en unidades de TCAQ (izquierda) y de exTTF (derecha).

7.2. Sistemas autoensamblados de fullerenos solubles en agua

Nos propusimos sintetizar monoadductos de fullereno funcionalizados con dendrones de diferentes tamaños con el fin de obtener sistemas anfifílicos en los que el fullereno constituya la parte hidrófoba de la molécula (Figura 108). Los dendrones empleados deben proporcionar solubilidad en medio acuoso y ser eléctricamente neutros o cargados negativamente, ya que estos derivados presentan una menor toxicidad.⁶⁸

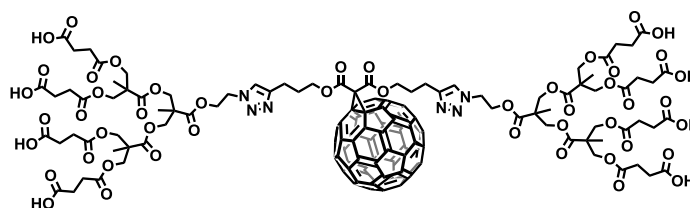


FIGURA 108. Dendrofullereno anfifílico.

Estudiaremos el autoensamblaje de estos derivados variando diferentes parámetros tales como la concentración, superficie de deposición o la polaridad del medio para conseguir diferentes ensamblajes.

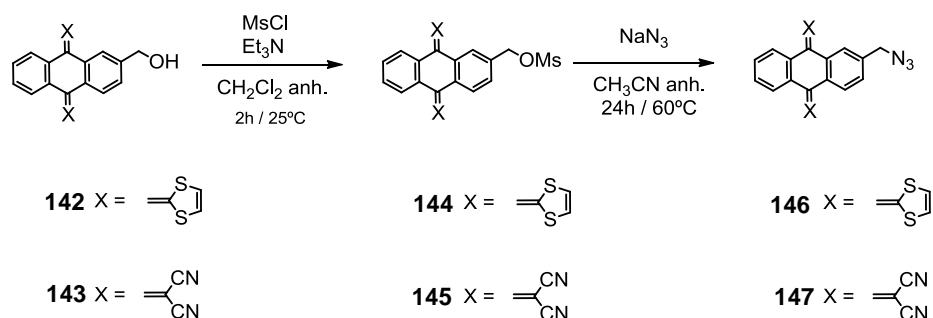
EXPOSICIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

8.1. Síntesis de sistemas multivalentes derivados de exTTF y TCAQ

La importancia que desde hace unos años están tomando las interacciones multivalentes en los sistemas biológicos, también ha llegado a la química de los nuevos materiales basados en carbono. En este sentido, los sistemas basados en hexaaductos, que con su monodispersidad y geometría esférica se han comportado de manera muy prometedora en la presentación multivalente de carbohidratos, tanto en disolución como en la superficie de células vivas, pueden ser unos bloques de construcción molecular excelentes para la presentación multivalente de sistemas electroactivos para la interacción con diferentes nanoformas del carbono, como CNTs y grafeno.

Basándonos en la experiencia de nuestro grupo de investigación, nos propusimos sintetizar sistemas multivalentes derivados de exTTF y TCAQ como unidades electroactivas. Para favorecer el reconocimiento de superficies curvas, nos planteamos también la obtención de hexaaductos de fullereno funcionalizados con pinzas derivadas de exTTF y TCAQ. Estas pinzas contienen dos unidades de exTTF o TCAQ unidas a un anillo aromático en posición meta, y constituyen un elemento muy efectivo para el reconocimiento de fullerenos y CNTs.^{174,181}

En primer lugar, se procedió a la síntesis y caracterización de sistemas menos complejos que presentasen en la periferia del hexaaducto unidades de TCAQ y de exTTF, pero sin estar preorganizados en una pinza molecular, para comprobar la validez de estos sistemas en la complejación e interacción supramolecular con las estructuras planas aromáticas que presentan las láminas de grafeno. Para ello, se partió del hidroximetil-exTTF (**142**) y del hidroximetil-TCAQ (**143**), activando el grupo hidroxilo mediante una mesilación con cloruro de mesilo para, posteriormente, sustituirlo por un grupo azida. Así se obtuvieron las correspondientes azidas orgánicas que, finalmente, se unirán covalentemente al hexaaducto **72** mediante una reacción de CuAAC (Esquema 24).



ESQUEMA 22. Obtención de las azidas derivadas de exTTF y TCAQ.

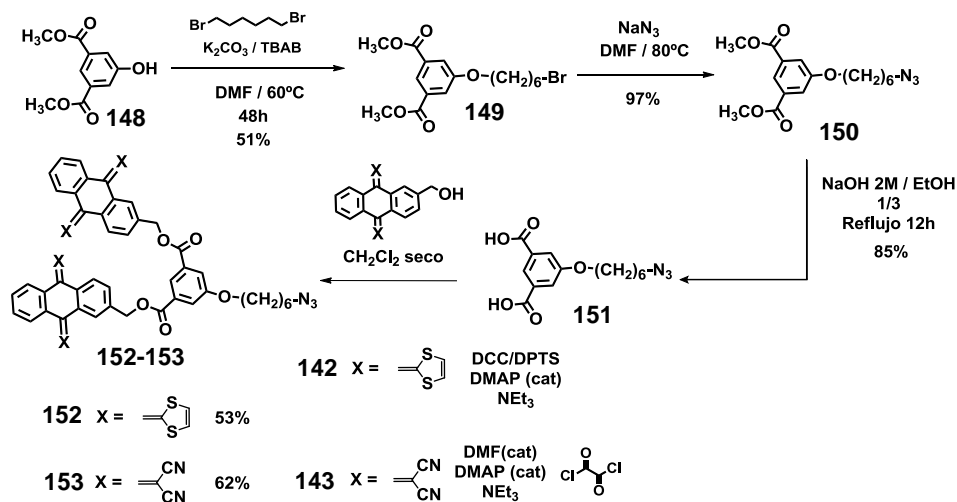
Los grupos hidroxilos de los hidroximetil derivados de exTTF (**142**)²⁰² y TCAQ (**143**)²⁰³ fueron activados utilizando cloruro de mesilo en presencia de trietilamina a temperatura ambiente para conducir a sus correspondientes derivados mesilados **144** y **145** que no se aislaron y fueron utilizados en el siguiente paso de reacción. Mediante sustitución nucleófila con azida sódica conducen a las correspondientes azidas de exTTF (**146**) y TCAQ (**147**).²⁰⁴

La síntesis de las pinzas moleculares **152** y **153** se llevó a cabo según se indica en el Esquema 23. La eterificación de Williamson del fenol comercial **148** con 1,6-dibromohexano en presencia de carbonato potásico, conduce al compuesto **149**. A continuación la reacción de sustitución nucleófila del átomo de bromo con azida sódica en exceso, seguida de una hidrólisis en medio básico con NaOH 2M, permite obtener el diácido **151**.²⁰⁴ La esterificación de este ácido con el hidroximetil derivado de exTTF (**142**) o de TCAQ (**143**), en presencia de un agente activante de ácidos, como DCC o cloruro de oxalilo, dió lugar a las pinzas moleculares correspondientes **152** y **153**. Estas pinzas moleculares fueron caracterizadas mediante las técnicas analíticas y espectroscópicas habituales.

[202] L. Sanchez, R. Otero, J. M. Gallego, R. Miranda, N. Martín, *Chem. Rev.* **2009**, *109*, 2081.

[203] A. D. Thomsen, E. Malmström, S. Hvilsted, *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* **2006**, *44*, 6360.

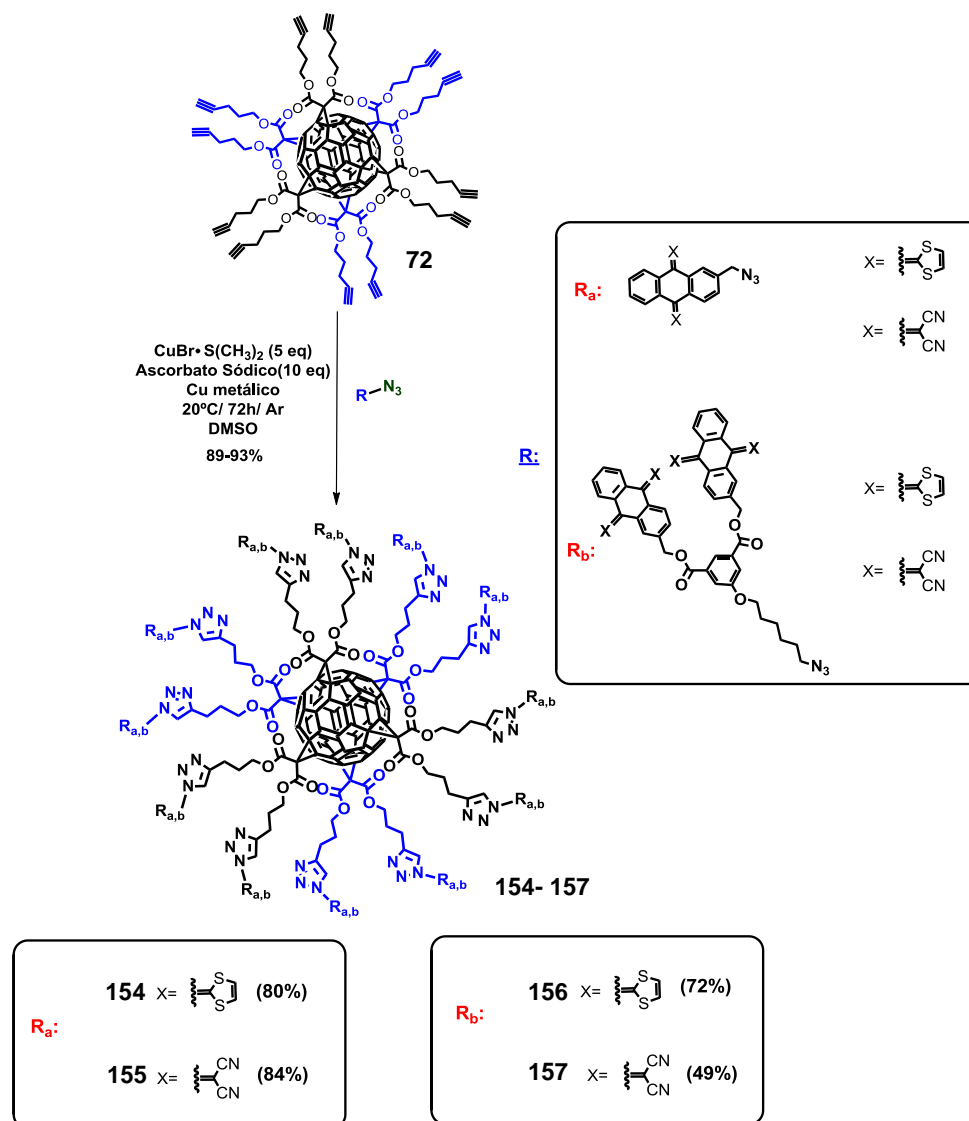
[25] I. V. Tetko, P. Bruneau, H. W. Mewes, D. C. Rohrer, G. I. Poda, *Drug. Discov. Today* **2006**, *11*, 700.



ESQUEMA 23. Síntesis de la pinza molecular dadora 152 y aceptora 153.

8.1.1. Síntesis de hexaaductos derivados de exTTF y TCAQ

La obtención de los hexaaductos funcionalizados con 12 y 24 unidades electroactivas de exTTF y TCAQ se realizó mediante la reacción de tipo “Click” de CuAAC entre el hexaaducto con 12 alquinos terminales (**72**) y las azidas correspondientes, como queda reflejado en el Esquema 24.



ESQUEMA 24. Síntesis de hexaadductos electroactivos.

La reacción se lleva a cabo en DMSO, usando un complejo de Cu (I) como el $\text{CuBr} \cdot \text{S}(\text{CH}_3)_2$ y ascorbato sódico como reductor, en presencia de cobre metálico. Los diferentes hexaadductos se obtienen tras 72 h de reacción bajo atmósfera inerte. Los restos de cobre se eliminan mediante un percolado con

gel de sílice funcionalizada con grupos mercaptopropilo QuadraSil MP™, como ya se señaló anteriormente.

Estas moléculas tienen un peso molecular muy elevado, lo que dificulta, a pesar de su alta simetría, su caracterización. En el espectro de ^1H -RMN el gran número de señales complica la integración de los protones correspondientes a cada señal. Sin embargo, es posible asignar los grupos de señales más características de estos compuestos, como puede verse en la Figura 109.

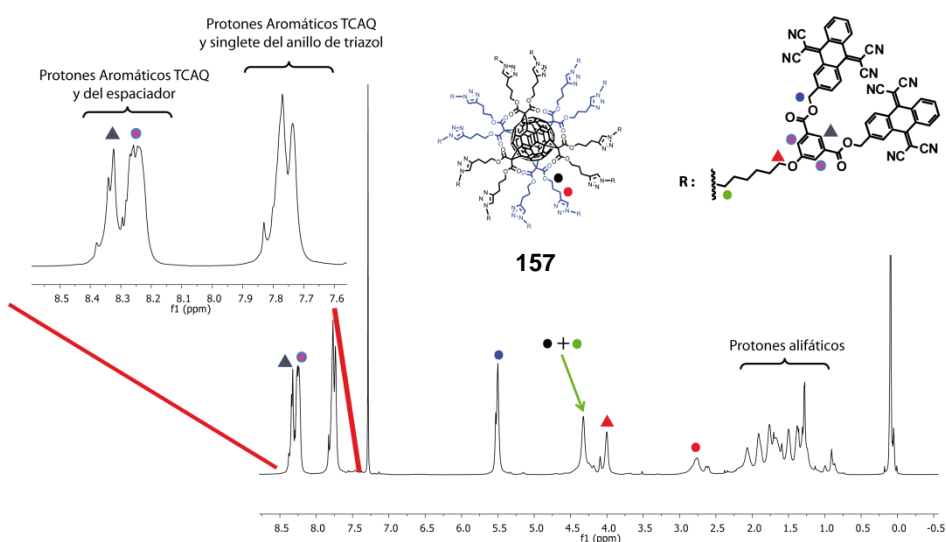


FIGURA 109. Espectro de ^1H -RMN (700MHz, CDCl_3 , 298 K) del compuesto 157.

Por tanto, para la caracterización de estos compuestos son determinantes los espectros de FT-IR (Figura 112), que muestra la ausencia de las bandas características de alquino y azida presentes en los productos de partida, y el espectro de ^{13}C -RMN. La elevada simetría de estos hexaaductos simplifica los espectros de ^{13}C -RMN, como puede verse en la Figura 110.

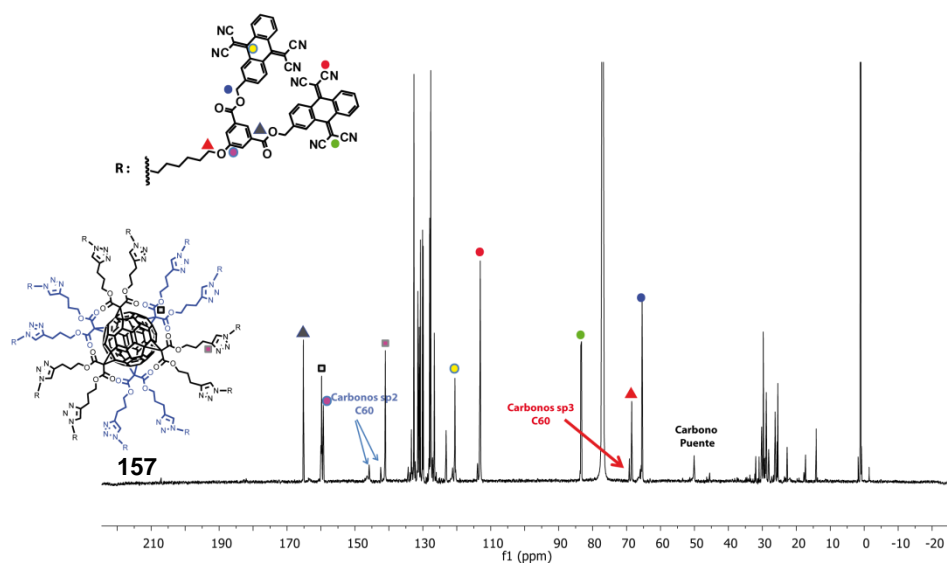


FIGURA 110. Espectro de ¹³C-RMN (175MHz, CDCl₃, 298 K) del compuesto 157.

Los hexaaductos funcionalizados con TCAQs son considerablemente más solubles que los que están funcionalizados con unidades de exTTF, que tienden a agregar y a ensanchar las señales en ¹H-RMN.

En espectrometría de masas, usando la técnica de MALDI-TOF, la molécula **154** presenta un pico bien definido correspondiente a $[M-H]^+$ con un peso molecular de 7351.2 uma. En este tipo de compuestos, altamente simétricos, de altos pesos moleculares y de naturaleza dendrímica, los picos moleculares suelen estar contenidos en la zona central de una distribución gaussiana amplia de iones moleculares.¹⁴⁹ No es habitual que aparezcan de manera bien definida, como los que se muestran en la Figura 111, pertenecientes a la molécula multivalente dadora **154**.

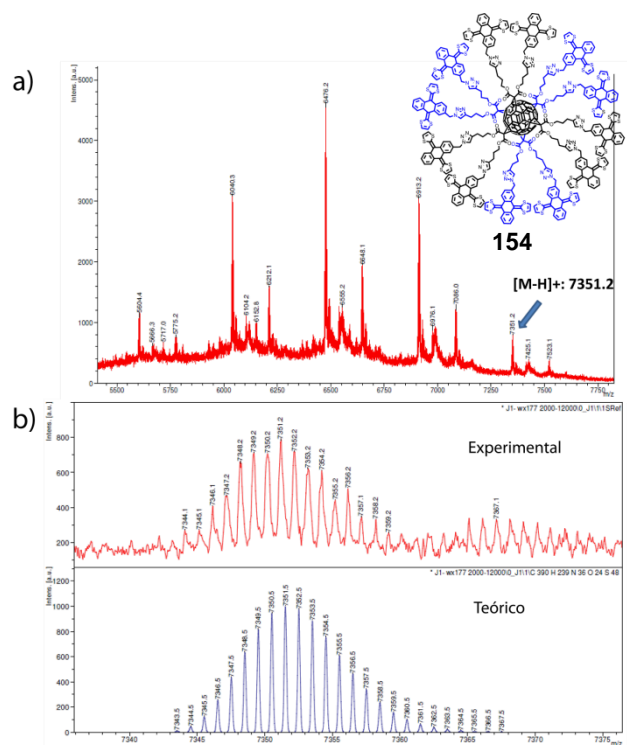


FIGURA 111. a) Espectrometría de masas MALDI-TOF de la molécula 154. b) Ampliación de la señal correspondiente a la masa $[M-H]^+$ de 7351.2 uma y comparación con la distribución isotópica teórica.

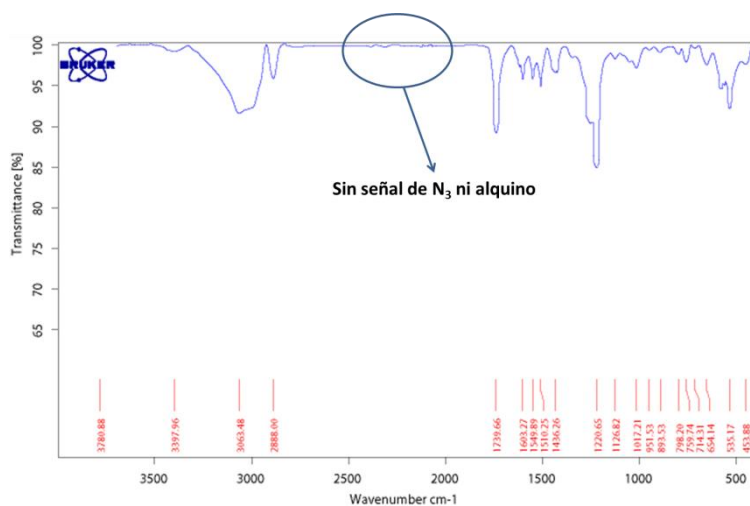


FIGURA 112. Espectro de FT-IR de la molécula 154.

8.2. Interacción multivalente de hexaaductos derivados de exTTF y TCAQ con grafeno

En primer lugar, estudiamos la interacción supramolecular de una única unidad de exTTF con grafeno mediante una valoración UV-Vis (Figura 113). Este experimento permite demostrar la ausencia de interacciones detectables del exTTF, como ligando monovalente, con grafeno.

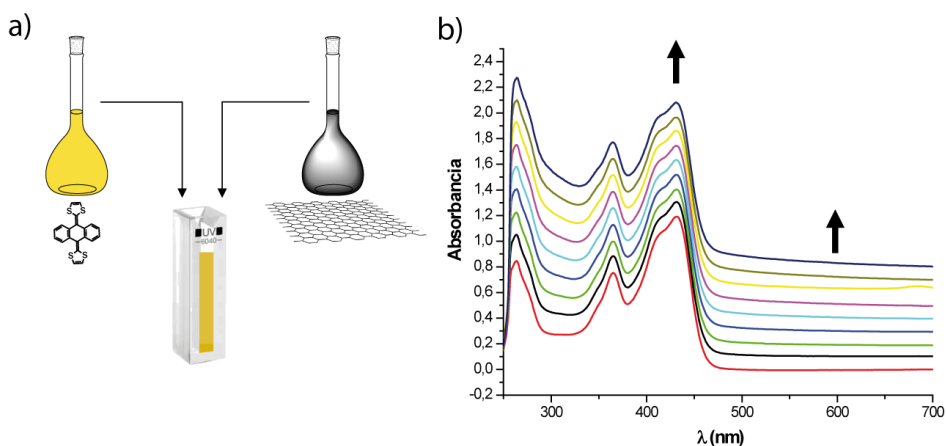


FIGURA 113. Valoración UV-Vis en 1 mL de *N*-metil-2-pirrolidona (NMP) a temperatura ambiente. a) Esquema del procedimiento de la valoración, en amarillo la disolución de ligando (exTTF) a concentración constante, sobre la que se va adicionando una suspensión de grafeno (disolución gris) en concentraciones crecientes. b) Durante la valoración UV-Vis, no se observan nuevas bandas ni puntos isobésticos atribuibles a la formación de un complejo supramolecular. La absorbancia entre 500 y 1000 nm se incrementa debido a la formación de FLG (Few Layer Graphene) por apilamiento de láminas de grafeno, debido al aumento de la concentración de grafeno.

Los hexaaductos modificados con unidades electroadoras de exTTF o electroceptoras de TCAQ permiten una presentación multivalente de ligandos para la interacción supramolecular con grafeno. Esta interacción con unidades electroactivas de diferente naturaleza podría permitir modular las propiedades electrónicas del grafeno, en función de la naturaleza del sustrato empleado.

La interacción del hexaaducto de exTTF **154** con grafeno se estudió también mediante espectroscopía UV-Vis, adicionando alícuotas de una suspensión de grafeno en NMP sobre la disolución del hexaaducto, de concentración constante (Figura 114). En este caso, se observan cambios significativos en el espectro UV-Vis a medida que aumenta la concentración de grafeno, así como la aparición de un punto isobéstico. Estos cambios evidencian la interacción

supramolecular entre ambos sustratos y, por tanto, la existencia de un efecto multivalente.

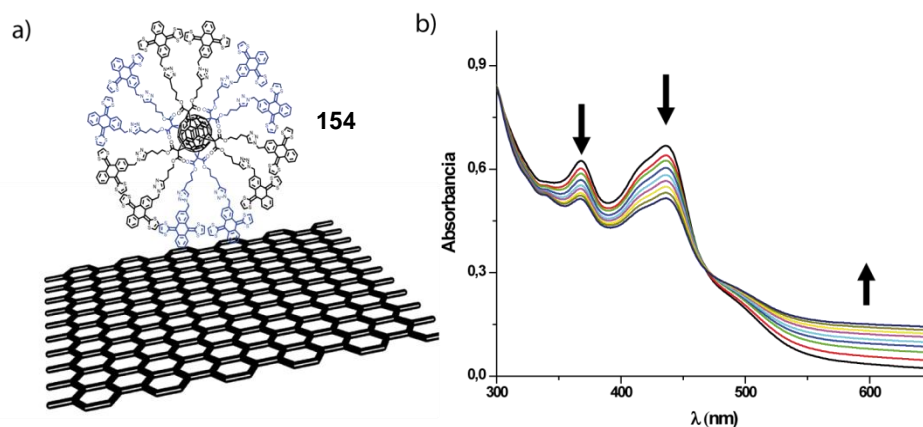


FIGURA 114. Valoración UV-Vis. en 1mL de *N*-metil-2-pirrolidona (NMP) a temperatura ambiente. a) Esquema de la interacción supramolecular entre 154 y una lámina de grafeno. b) Valoración UV-Vis, donde aparece un punto isobéptico a 468 nm. A medida que se forma el complejo supramolecular disminuye la absorbancia en las bandas que aparecen a 360 nm y a 440 nm, debido a que el grafeno adicionado desplaza el equilibrio hacia la formación de un complejo supramolecular y con cada adición de grafeno, la cantidad de hexaaducto libre es menor. Así mismo, el incremento de la absorción entre 700 y 1000 nm es debido a la absorción producida por el apilamiento de láminas de grafeno, que forman grafeno-FLG.

Se evaluó la posibilidad de que el hexaaducto **154** pueda usarse como un agente auxiliar para la exfoliación de grafeno usando ultrasonidos y *N*-metil-2-pirrolidona (NMP) como disolvente. La interacción supramolecular entre las láminas de grafeno y el hexaaducto permite obtener suspensiones estables de grafeno. Estas suspensiones se analizaron por microscopía electrónica. Como resultado, se obtuvo un nanocomposite de **154**-grafeno cuyas micrografías TEM se muestran en la Figura 115. El grafeno obtenido por este método es considerado Grafeno-FLG, grafeno de pocas láminas (*Few Layer Graphene*, de sus siglas en inglés).

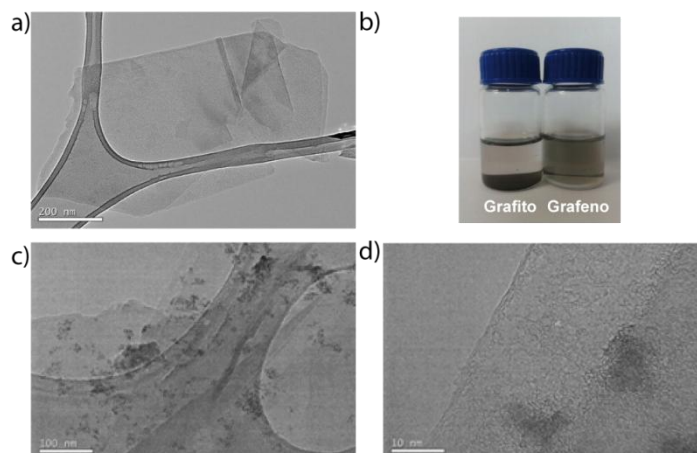


FIGURA 115. Micrografías TEM obtenidas en una rejilla de carbono depositando una gota de las distintas suspensiones de grafeno y del nanocomposite 154-grafeno. a) Grafeno obtenido por el método de Coleman.²⁰⁵ b) Imagen comparativa de grafito y de grafeno en suspensión de NMP. c) nanocomposite 154-grafeno. Se obtuvo mezclando el hexaaducto 154 con grafito en un baño de ultrasonidos durante 150 minutos y centrifugando durante 45 minutos a 500 rpm. d) Ampliación del nanocomposite 154-grafeno.

La molécula **154** aparece sobre la superficie del grafeno cuando se exfolia junto a él, y normalmente se aprecian conglomerados de **154** de unos pocos nanómetros de diámetro. Las imágenes de barrido SEM-FEG revelan que las moléculas se distribuyen uniformemente sobre la superficie del grafeno-FLG, como se muestra en la Figura 116.

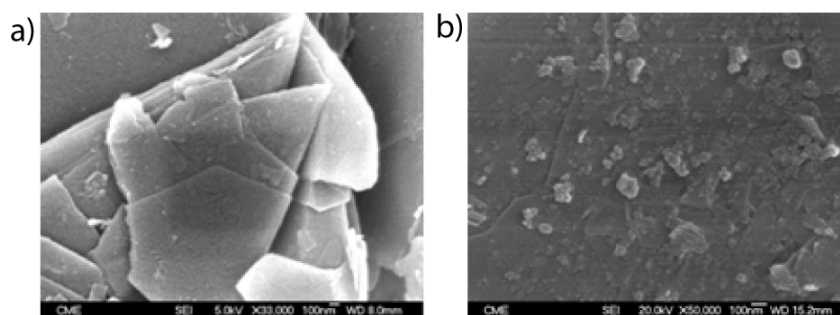


FIGURA 116. Imágenes de microscopía SEM-FEG de 154 sobre grafeno-FLG. a) Detalle general de las láminas de grafeno, en forma de FLG. En b) Agregados formados por 154 depositados sobre la superficie del grafeno.

[204] J. N. Coleman, *Acc. Chem. Res.* **2013**, *46*, 14.

El FLG obtenido por este procedimiento de exfoliación es muy uniforme y suele estar formado por seis u ocho láminas de grafeno. Considerando que el interlineado en el grafito es $\text{Ø}_{002} = 0.335$ nm, las medidas del perfil de alturas en AFM (Figura 117), demuestran que el grafeno obtenido se organiza en agregados de entre cuatro y ocho láminas, y la molécula **154**, de diámetro cercano a 2 nm, se observa sobre la superficie del FLG, desde moléculas individualizadas hasta agregados de unas 3 moléculas de **154**.

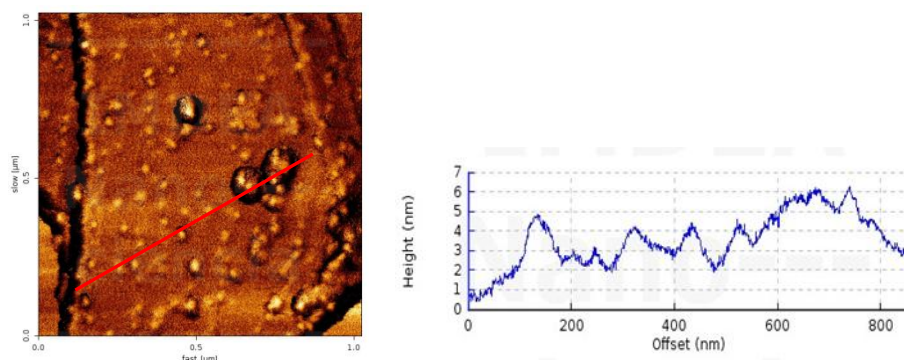


FIGURA 117. Imagen de AFM generada en modo *tapping*. Los perfiles de altura muestran mesetas de entre 1 y 2 nm (entre 3 y 6 láminas de grafeno). Se observan moléculas individuales de **154** de una altura de 2 nm sobre la superficie del grafeno, junto con aglomerados mayores de altura de hasta 6 nm.

Utilizando TGA, podemos hacer una estimación de la estabilidad del nanohíbrido formado, comparado con el FLG (Figura 118). Se observa que el nanohíbrido **154**-grafeno posee una estabilidad térmica extra cuando se compara con **154** en forma libre. La pérdida de peso en el primer tramo del análisis termogravimétrico es similar para el nanohíbrido **154**-FLG y para **154** libre, debido a la descomposición de **154** sobre la superficie del FLG. En el perfil termogravimétrico de **154**-FLG se observan dos derivadas, en torno a 360°C y 600°C. Estas pérdidas de masa parecen indicar que **154** se aloja entre las láminas de grafeno, y no sólo sobre la superficie.

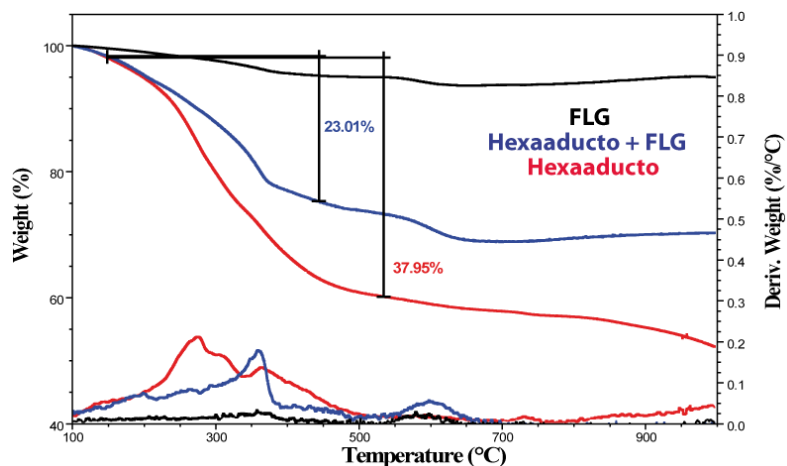


FIGURA 118. Análisis termogravimétrico, donde se muestra la pérdida de masa en función de la temperatura. En la parte inferior del diagrama, se muestra la derivada de la pérdida de peso respecto a la temperatura.

La interacción entre **154** y las láminas de grafeno no sólo depende de fuerzas de dispersión e interacciones de tipo π - π , sino que también se produce una inyección de densidad electrónica desde las unidades de exTTF del derivado **154** hacia las láminas de grafeno. Por lo tanto, el grafeno se comporta frente al sistema multivalente dador como un aceptor de electrones. Esta afirmación puede confirmarse experimentalmente observando el desplazamiento en el espectro Raman de la banda G hacia menores frecuencias ($\sim 10 \text{ cm}^{-1}$). Este comportamiento queda reflejado en la Figura 119.

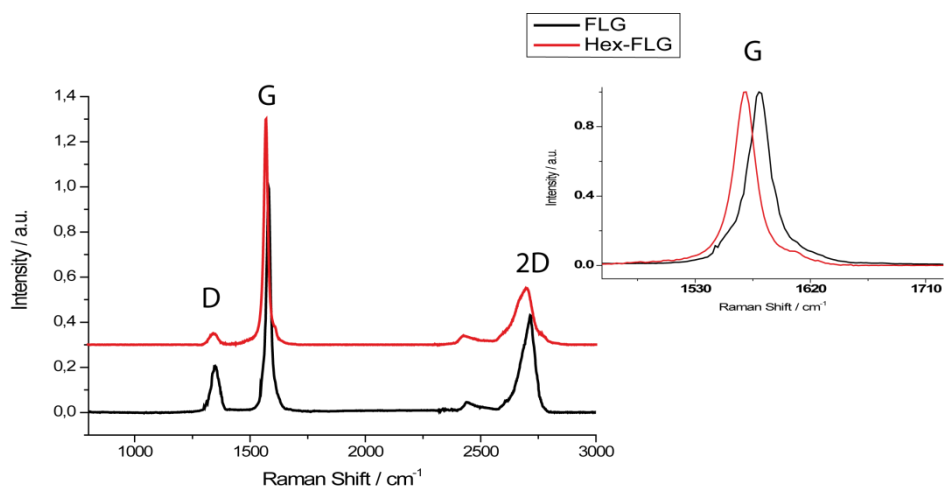


FIGURA 119. Espectro Raman, con una fuente de excitación láser de 532 nm. En negro, grafeno-FLG y en rojo el nanohíbrido 154-FLG. Se observa un pronunciado desplazamiento de la banda G, de unos 10 cm^{-1} . Esto indica una fuerte comunicación electrónica supramolecular entre las unidades de exTTF y las láminas de grafeno.

Parece, pues, posible modular las características electrónicas de las láminas de grafeno utilizando sistemas multivalentes electroactivos presentados por medio de una molécula altamente simétrica, como son los hexaaductos de C_{60} .

8.3. Sistemas autoensamblados anfífilos basados en dendrofullerenos

Las moléculas que contienen fragmentos de fullereno y otras moléculas electroactivas, capaces de autoensamblarse, tienen especial interés en química de materiales, para controlar la microestructura de las fases electroactivas en células solares orgánicas y transistores de efecto campo (OFETs).²⁰⁶ También en el campo de la nanobiotecnología es importante estudiar la autoorganización de compuestos que pueden dar lugar a arquitecturas supramoleculares funcionales. Así, por ejemplo, el estudio del autoensamblaje de fullerenos anfífilos ha dado lugar a diferentes arquitecturas, como vesículas o micelas.²⁰⁷ Para controlar la morfología de las estructuras ensambladas mediante estímulos

[205] a) J. L. Segura, N. Martín, D. M. Guldi, *Chem. Soc. Rev.* **2005**, *34*, 31; b) A. B. Mallik, J. Locklin, S. C. B. Mannsfeld, C. Reese, M. S. Roberts, M. L. Senatore, H. Zi, Z. Bao, *Organic Field-Effect Transistors* **2007**, CRC Press: Boca Raton; c) M. Mass-Torrent, C. Rovira, *Chem. Soc. Rev.* **2008**, *37*, 827.

[206] W. Li, Y. Yamamoto, T. Fukushima, A. Saeki, S. Seki, S. Tawaga, H. Masunaga, S. Sasaki, M. Takata, T. Aida, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 8886.

externos, es importante conocer las fuerzas motrices que dirigen el ensamblaje, y que no sólo dependen de la estructura química del compuesto, sino también del medio en el que los sistemas ensamblados están envueltos.

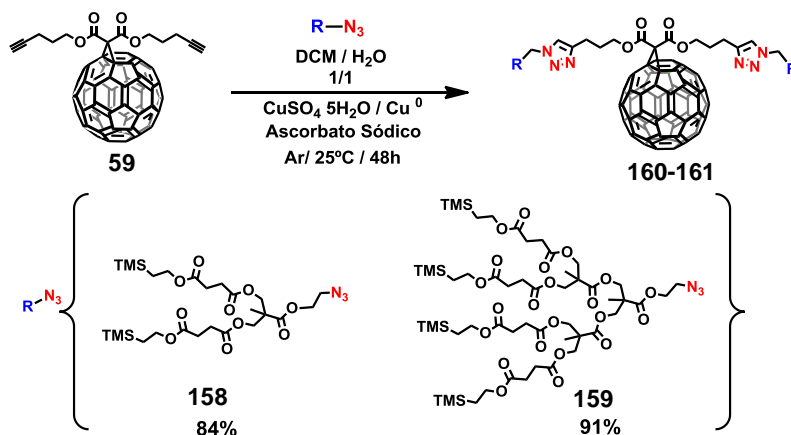
Aunque son numerosas las estructuras autoensambladas de fullerenos descritas en la bibliografía, tanto en disolución, como en estado sólido o sobre superficies,²⁰⁸ el estudio de los derivados de fullereno solubles en agua y biocompatibles que sean capaces de formar estructuras autoensambladas, está mucho menos desarrollado. Por ello, nos propusimos sintetizar monoadductos de C₆₀ que, debido a que sólo poseen un doble enlace saturado de la estructura primitiva del C₆₀, conservan muchas de sus propiedades electroactivas y de capacidad de empaquetarse mediante interacciones π - π . Para dotarles de una solubilidad adecuada en medios acuosos se optó por recurrir a dendrones con grupos carboxílicos. Los dendrones empleados poseen los grupos ácidos carboxílicos protegidos con grupos sililados, que permiten una desprotección ortogonal con el fullereno y demás grupos funcionales de la molécula. La desprotección se llevará a cabo en la última etapa sintética, generando únicamente subproductos volátiles, obteniendo las moléculas finales por evaporación de los disolventes.

La síntesis de los derivados obtenidos está recogida en los Esquemas 25 y 26. Los dendrones con 2 (**158**) y 4 (**159**) grupos ácido protegidos, funcionalizados con un grupo azida en su posición focal, han sido previamente descritos en la bibliografía.²⁰⁹ Partiendo de los monoadductos de C₆₀ con 2 (**59**) y 4 (**62**) grupos alquino, previamente obtenidos, se obtienen los correspondientes dendrofullerenos mediante reacción de CuAAC. En este caso, se emplea CuSO₄·5H₂O como fuente de cobre (2 equivalentes por alquino) en presencia de ascorbato sódico como reductor (1 equivalente por alquino) y cobre metálico. La reacción se lleva a cabo en un sistema bifásico DCM/H₂O durante 48 h en atmósfera inerte. La purificación se realizó mediante una columna de exclusión de tamaño (BioBeads™ SX-8).

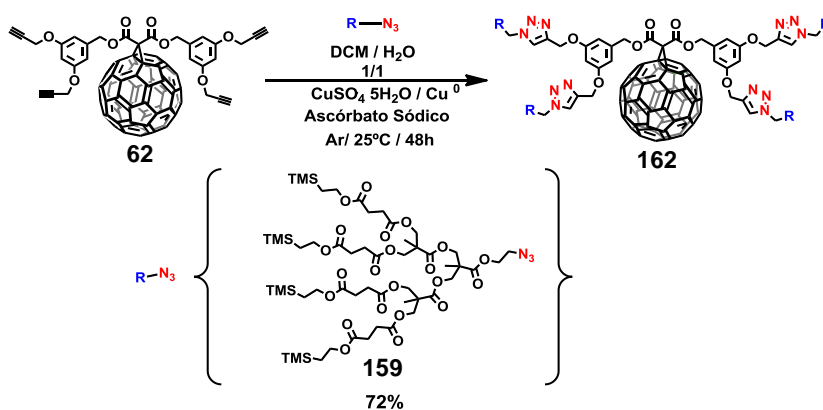
[202] L. Sanchez, R. Otero, J. M. Gallego, R. Miranda, N. Martin, *Chem. Rev.* **2009**, *109*, 2081;

[207] a) S. Yoshimoto, E. Tsutsumi, Y. Honda, Y. Murata, M. Murata, K. Komatsu, O. Ito, K. Itaya, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 3044; b) A. M. López, A. Mateo-Alonso, M. Prato, *J. Mater. Chem.* **2011**, *21*, 1305.

[208] a) S. Sattin, A. Daggetti, M. Thepaut, A. Berzi, M. Sánchez-Navarro, G. Tabarani, J. Rojo, F. Fieschi, M. Clerici, A. Bernardi, *ACS Chem. Biol.* **2010**, *5*, 301; b) J. Luczkowiak, S. Sattin, I. Sutkeviciute, J. J. Reina, M. Sanchez-Navarro, M. Thepaut, L. Martinez-Prats, A. Daggetti, F. Fieschi, R. Delgado, A. Bernardi, J. Rojo, *Bioconjug Chem* **2011**, *22*, 1354.



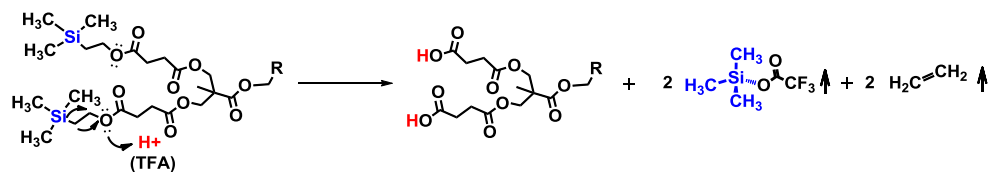
ESQUEMA 25. Síntesis de los dendrofullerenos con 4 y 8 grupos carboxílicos protegidos.



ESQUEMA 26. Síntesis del derivado que posee 16 grupos carboxílicos protegidos.

Con esta metodología se han conseguido aislar los productos protegidos con rendimientos que oscilan desde el 72 al 91%.

La escisión del grupo protector sililado se lleva a cabo empleando TFA, de forma que se obtienen únicamente subproductos volátiles como se indica en el Esquema 27.



ESQUEMA 27. Mecanismo de desprotección de los ésteres trimetilsililéticos con ácido trifluoroacético (TFA). Los subproductos volátiles desplazan el equilibrio de la reacción y facilitan la obtención de los productos finales desprotegidos.

Finalmente, se obtiene una serie de dendrofullerenos con 4, 8 y 16 grupos carboxílicos desprotegidos, solubles en medios acuosos y en disolventes polares como el THF (Figura 120).

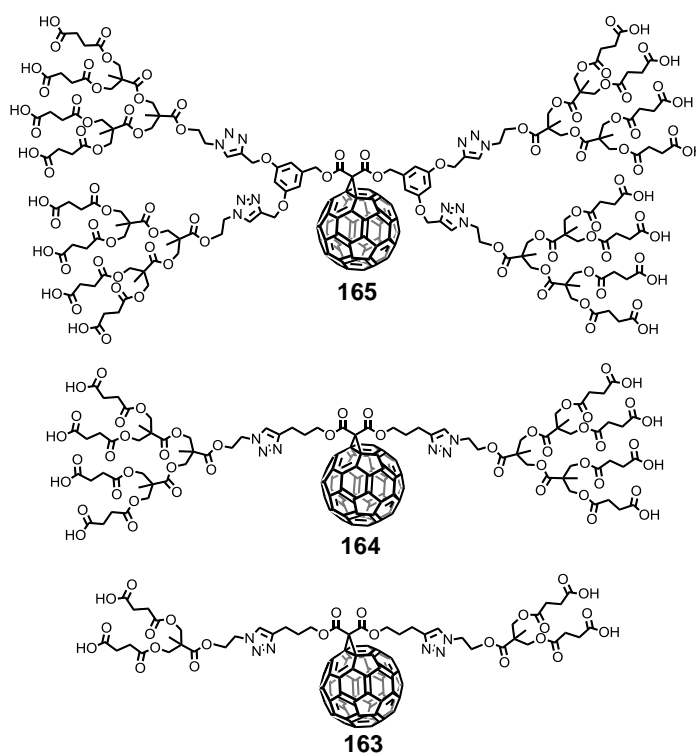


FIGURA 120. Dendrofullerenos anfífilicos con 4, 8 y 16 grupos carboxílicos desprotegidos.

Los dendrofullerenos desprotegidos se caracterizaron por las técnicas espectroscópicas y analíticas habituales. La agregación de estas moléculas se ha estudiado mediante AFM, SEM, TEM, XRD y SAXS. En primer lugar, llevamos a cabo el estudio del ensamblaje en superficies utilizando

microscopía de AFM. Las superficies estudiadas fueron mica (hidrofílica) y HOPG (hidrofóbica). Las muestras de las tres moléculas estudiadas se prepararon disolviendo en una mezcla de THF/H₂O en una proporción de 2:1, una concentración de entre 1 y $1.2 \cdot 10^{-5}$ M. Se depositaron 3 gotas de estas disoluciones sobre mica y HOPG, y se dejó evaporar durante 12 h. Se analizaron en primer lugar mediante AFM en modo *tapping*. Los resultados obtenidos se muestran en las Figuras 121- 123.

Sobre mica y a una concentración $1.2 \cdot 10^{-5}$ M en THF/H₂O 2:1, todos los compuestos se asocian dando lugar a micelas formadas por unas pocas moléculas, como se puede observar en la Figura 121.

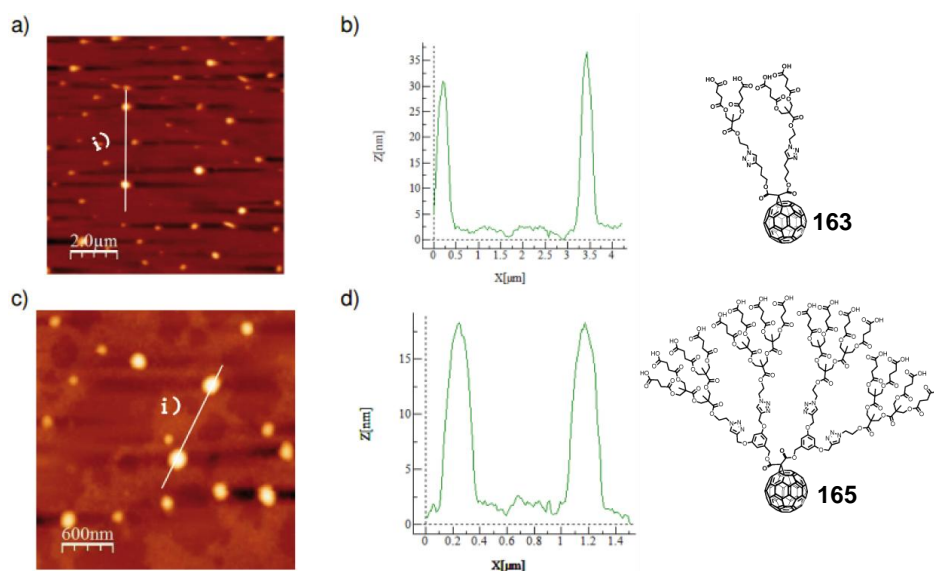


FIGURA 121. a) Imagen de AFM del dendrofullereno 163. Se observan agregados esféricos de unos 30 nm formados por unas 10 moléculas de 163. b) Perfil de alturas de la imagen mostrada en a) a lo largo del segmento i). c) Imagen de AFM del dendrofullereno 165 junto con el perfil de alturas a lo largo del segmento i) mostrado en d), se observan agregados de tipo micelar de unos 20 nm compuestos por unas cuatro moléculas de 165. El derivado con 8 ácidos carboxílicos 164 muestra un comportamiento similar.

En cambio, usando como superficie de deposición HOPG y THF como disolvente, no se forman estas pequeñas micelas, sino que se forman pequeñas agregaciones de moléculas individuales, sobre la superficie del HOPG y alrededor de los defectos superficiales y escalones del HOPG (Figura 122).

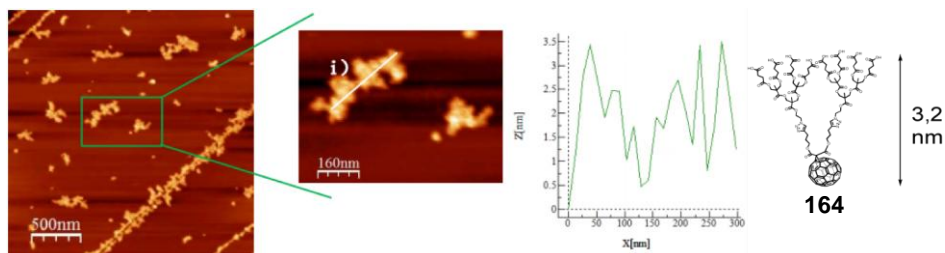


FIGURA 122. Imagen de AFM de la molécula **164** sobre una superficie de HOPG depositada en THF.

Cuando depositamos las disoluciones de THF/H₂O 2:1 sobre HOPG, observamos las mismas agregaciones que en mica para las moléculas con menor y mayor funcionalización **163** y **165**. Sin embargo, la molécula que posee 8 grupos carboxílicos **164**, se asocia formando hilos sobre el HOPG cuando utilizamos una mezcla de disolventes THF/H₂O 2:1. Estos hilos presentan diámetros que coinciden con las dimensiones de una o dos moléculas, dependiendo de la concentración local de **164**, y poseen longitudes de varios miles de nanómetros, formándose en toda la superficie del HOPG, como puede observarse en la Figura 123.

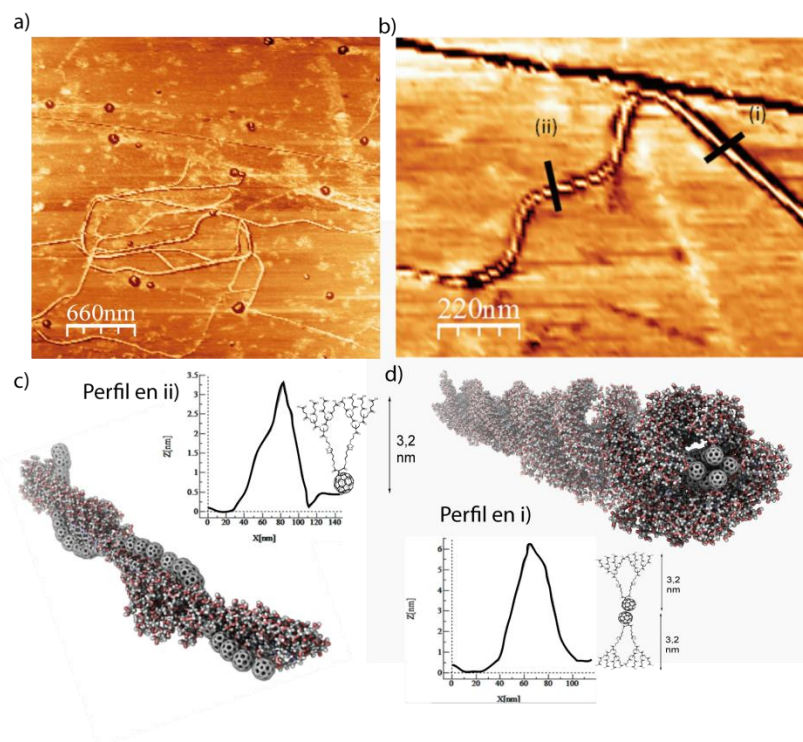


FIGURA 123. a) Imagen de AFM donde se observa un hilo molecular de varios miles de nanómetros. b) Vista en modo fase de la imagen de AFM ampliada de un nanohilo, donde se analiza el perfil de alturas a través de los segmentos i) e ii). En c) se observa cómo la altura corresponde a un hilo de altura monomolecular de ~ 3.2 nm. En d) se observa el perfil de un hilo de altura bimolecular de ~ 6.4 nm, y de mayor rigidez, formado por la asociación de varios hilos de altura monomolecular.

La hidrofobicidad de la superficie del HOPG parece dirigir la alineación de las moléculas por interacciones π - π , con la subunidad de C_{60} sobre la superficie del HOPG. Cuando la concentración de las moléculas aumenta, las interacciones por medio de enlaces de hidrógeno entre los grupos carboxílicos de los dendrímeros se hacen más importantes y provocan que las moléculas se asocien formando hilos de altura bimolecular. Si la concentración aumenta 10 veces más, hasta concentraciones del rango mM, se observa que las estructuras de hilos comienzan a formar estructuras esféricas de una altura de unas 10 moléculas.

Para estudiar el cambio de agregación observado en el rango mM, llevamos a cabo experimentos de microscopía SEM-FEG. A concentraciones $\sim 10^{-4}$ M, los compuestos con 4 y 8 grupos ácido dan lugar a nuevos agregados que poseen

una distribución de diámetros muy uniformes (Figura 124c). Estos agregados tienen forma esférica y, aparentemente, parecen ser vesículas huecas, pues todas las estructuras parecen haber perdido el disolvente que contenían en su interior tras el alto vacío empleado para metalizar la muestra de SEM.

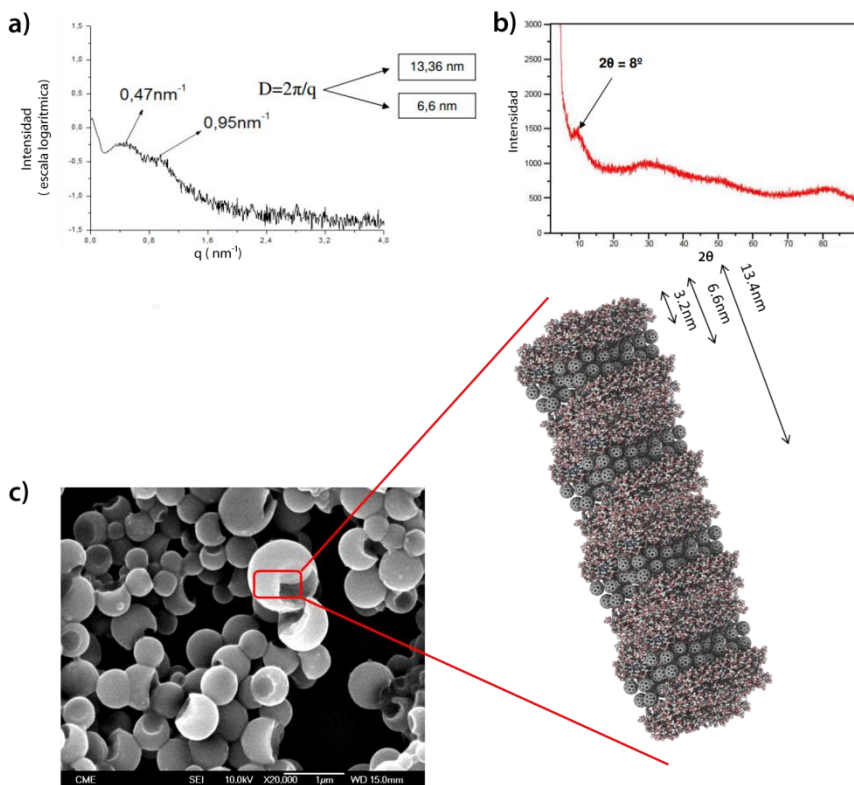


FIGURA 124. a) Difracción SAXS de 164 en disolución de THF/H₂O 2:1 10⁻⁴M. b) Difracción XRD en polvo de 164. c) Imagen de SEM-FEG de las vesículas de estructura lamelar.

Para obtener información sobre la estructura de la pared de estas vesículas, se realizaron experimentos de difracción de Rayos X de bajo ángulo de difracción (SAXS) usando las mismas disoluciones empleadas anteriormente (THF/H₂O, 2/1, 10⁻⁴M). Se observaron dos patrones de difracción correspondientes a las distancias de 6.6 y 13.4 nm (Figura 124a). Así mismo, los estudios de difracción en polvo (XRD) mostraron una máximo de difracción a $2\theta=8^\circ$, que en un sistema de empaquetamiento cúbico compacto corresponde a una distancia de 1 nm (Figura 124b). Esta distancia corresponde al empaquetamiento de las unidades de C₆₀ dentro de la estructura multilamelar.

Aplicando la Ley de Bragg se llega a la conclusión, según los datos obtenidos en el difractograma SAXS, de que la distancia de 13.4 nm es la distancia de la celdilla unidad mínima de repetición, por lo que la vesícula multilamelar posee un espesor de 26.8 nm. Esto corresponde a un ordenamiento de 8 moléculas de **164** formando un apilamiento de 4 bicapas, maximizando las interacciones de enlace de hidrógeno entre los ácidos carboxílicos y con el disolvente polar, por un lado, y, por el otro, maximizando las interacciones π - π entre las subunidades de C_{60} , que a su vez minimizan el contacto con el disolvente polar (Figura 124c).²¹⁰

Para confirmar que las estructuras autoensambladas son realmente huecas, realizamos estudios de microscopía electrónica de transmisión (TEM), donde el haz transmitido atravesará las estructuras vesiculares con más facilidad por la zona central hueca. Las micrografías obtenidas muestran la formación de vesículas con diámetros que varían entre los 200 – 300 nm y varias micras. El tamaño de las vesículas formadas es incluso mayor para el compuesto de 4 grupos ácido (**163**), respecto al de 8 ácidos (**164**).

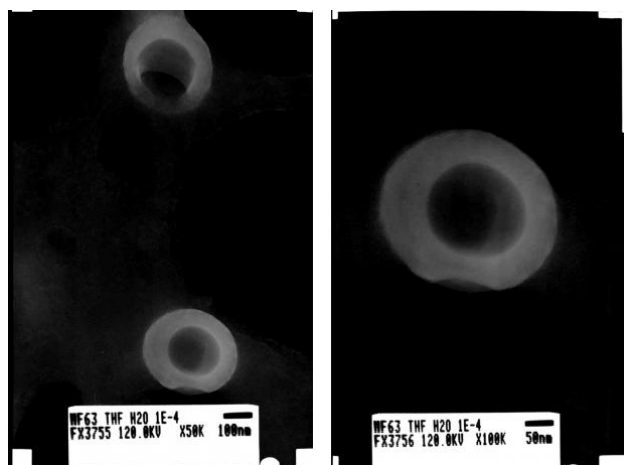


FIGURA 125. Micrografías TEM realizadas a 120 KV de potencia, de una muestra de **164** (THF/H₂O, 2/1, 10⁻⁴M). Se observa claramente la estructura hueca de estas agregaciones vesiculares autoensambladas.

[209] A. Muñoz, B. M. Illescas, M. Sánchez-Navarro, J. Rojo, N. Martín, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 16758.

Capítulo 2. Exposición y discusión de resultados

Las medidas de Dispersión Dinámica de Luz (DLS) en disolución mostraron tamaños de los agregados semejantes a los observados mediante las técnicas de microscopía.

En conclusión, la morfología de los agregados formados por estos monoadductos anfílicos depende tanto de la superficie como de la concentración empleadas, variando desde hilos a micelas o vesículas huecas de varias micras de diámetro.

PARTE EXPERIMENTAL

9.1. Técnicas generales utilizadas

- *Difracción de Rayos X en polvo (XRD)*: Se llevaron a cabo en el CAI de Difracción de Rayos X de la Universidad Complutense de Madrid. Se depositó una disolución de la muestra sobre un portamuestras de vidrio y se dejó evaporar el disolvente a presión atmosférica. Para la adquisición del difractograma se utilizó un equipo PANalytical modelo X'Pert MPD, equipado con tubo de rayos X de cobre, dos goniómetros y con óptica Bragg-Brentano.

- *Dispersión de Rayos X de bajo ángulo (SAXS) en disolución*: Se llevaron a cabo en el CAI de Difracción de Rayos X de la Universidad Complutense de Madrid. Se llenó un portamuestras con la disolución deseada y posteriormente se selló para proceder al análisis. El equipo que se utilizó fue un Hecus-Braun con cámara SAXS basada en la cámara Kratky modificada, este dispositivo está instalado sobre un generador de rayos X PANalytical PW3830 y es capaz de registrar medidas en ángulos 2θ entre 0 y 8 grados.

- *Espectroscopía Raman*: Se empleó un equipo LabRAM HR-800, registrando los espectros a temperatura ambiente e irradiando con dos láseres distintos (785 y 532 nm).

- *Microscopía de Fuerza Atómica (AFM)*: Los experimentos de AFM se han llevado a cabo en un microscopio SPN Nanoscope IIIa, operando en modo "tapping" y con una punta RTESPA de carburo de silicio (Veeco) a una frecuencia de 235 KHz.

- *Análisis termogravimétrico (TGA)*: Para estudiar la descomposición térmica de los productos se empleó un equipo TA TGA Q500 con O₂ como atmósfera oxidante y N₂ como atmósfera inerte. La muestra (aproximadamente 0.5 mg) se introdujo en un portamuestras de platino, y, tras estabilizar la temperatura a 90° C, se aumentó ésta con un gradiente de 10° C/min hasta los 1000° C.

- *Espectroscopía fotoelectrónica de rayos X (XPS)*: los análisis por XPS se realizaron en un espectrofotómetro SPECS 55004361 con fotones de aluminio no monocromáticos (200 W – 12 kV) como fuente de excitación. Los análisis semicuantitativos se calcularon en base a la señal C1s (284.3 eV). La muestra se introdujo en forma de lentes de 8 mm de diámetro.

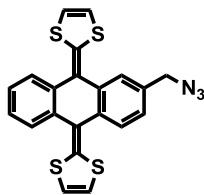
- *Microscopía de transmisión electrónica (TEM)*: Para llevar a cabo estos experimentos, los equipos empleados han sido un TEOL 2000-FX, con voltaje

de aceleración de 200 kV y un Philips CM 300 UT High Resolution TEM (300 kV). Para registrar las imágenes, se depositó una gota de la muestra en disolución sobre una película Formvar situada sobre una rejilla de cobre o de carbono amorfo, que se observa tras el secado del disolvente.

-Dispersión Dinámica de Luz (DLS): Los experimentos de DLS se han llevado a cabo en el CAI de Espectroscopía de la UCM usando un dispositivo ALV GSC08 que opera en un modo de correlación cruzada y con un láser de Ar⁺ a una longitud de onda de 514.5 nm. Las señales externas se obtuvieron con una detección a diferentes ángulos (30-120°) y se procesaron con un correlacionador digital. Las medidas se llevaron a cabo en una célula de cuarzo de 1 cm de paso óptico a 298 K. Las muestras en disolución fueron filtradas mediante filtros de nylon Acrodisc (Pall Life Sciences) de tamaño de poro de 0.2 μm.

9.2. Síntesis de hexaaductos funcionalizados con unidades electroactivas de exTTF y TCAQ

2-azidometil-exTTF (146)



A una suspensión de 2-hidroximetil-exTTF (**142**)²⁰² (100 mg, 0.23 mmol) y trietilamina (6 mL, 0.02 mol) en diclorometano anhidro (100 mL) se le adiciona gota a gota, desde un embudo de adición, una disolución de cloruro de mesilo (57 mg, 0.5 mmol) en 10 mL de DCM, manteniéndose la mezcla resultante en un baño de hielo durante 1h. Transcurrido este tiempo, se deja a la reacción alcanzar temperatura ambiente y se mantiene durante 12 h con agitación. A continuación, se evapora el disolvente y sin purificar el correspondiente mesilato, se lleva a cabo la siguiente reacción. Se añade al matraz azida sódica (46 mg, 0.7 mmol) y 45 mL de MeCN anhidro. La mezcla de reacción se calentó a 60°C durante 12 h. Transcurrido ese tiempo se filtra la disolución y se elimina el disolvente a presión reducida; el crudo se purifica por cromatografía en columna sobre sílica gel, utilizando una mezcla hexano/DCM 1:3 como eluyente para obtener **146** como un sólido amarillo.

Rdto: 63%

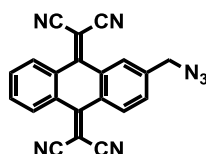
IR-TF (KBr): 3067, 2959, 2924, 2856, 2105 cm^{-1} .

^1H -RMN (300 MHz, CDCl_3), δ : 7.86 (d, $J = 1.4$, 2H), 7.71 (m, 2H), 7.41 (s, 1H), 7.05 (d, $J = 1.6$, 1H), 7.02 (d, $J = 1.4$, 1H), 6.11 (s, 4H), 4.48 (s, 2H).

^{13}C -RMN (75 MHz, CDCl_3), δ : 149.8, 139.7, 138.0, 137.9, 135.9, 135.6, 130.8, 128.5, 128.4, 125.3, 118.9, 117.3, 53.7.

MS (ESI) calculada para $[\text{M}]^+$ $\text{C}_{21}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{S}_4 = 435.01$; encontrado: 435.12.

2-azidometil-TCAQ (**147**)



A una suspensión de 2-hidroximetil-TCAQ (**143**)²⁰³ (100 mg, 0.3 mmol) y trietilamina (6 mL, 0.02 mol) en diclorometano anhidro (100 mL) se le adiciona gota a gota, desde un embudo de adición, una disolución de cloruro de mesilo (46 mg, 0.4 mmol) en 10 mL de DCM, manteniéndose la mezcla resultante en un baño de hielo durante 1 h. Transcurrido este tiempo, se deja a la reacción alcanzar temperatura ambiente y se mantiene durante 12 h con agitación. A continuación, se evapora el disolvente y sin purificar el correspondiente mesilato, se lleva a cabo la siguiente reacción. Se añade al matraz azida sódica (59 mg, 0.9 mmol) y 45 mL de MeCN anhidro. La mezcla de reacción se calentó a 60°C durante 12 h. Transcurrido ese tiempo se filtra la disolución y se elimina el disolvente a presión reducida; el crudo se purifica por cromatografía en columna sobre sílica gel, utilizando una mezcla hexano/DCM 1:4 como eluyente para obtener **147** como un sólido amarillo.

Rdto: 63%

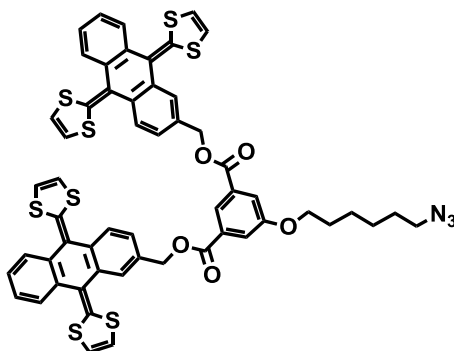
IR-TF (KBr): 2956, 2738, 2225, 2111 cm^{-1} .

^1H -RMN (300 MHz, CDCl_3), δ : 8.19 (ddd, $J = 5.2, 3.7, 2.1$, 2H), 8.14 (d, $J = 1.6$, 1H), 7.72 – 7.65 (m, 2H), 7.63 (d, $J = 1.6$, 1H), 7.60 (d, $J = 1.6$, 1H), 4.52 (s, 2H).

^{13}C -RMN (75 MHz, CDCl_3), δ : 141.4, 133.4, 132.6, 131.7, 130.4, 127.9, 127.1, 126.9, 113.4, 84.1, 53.9.

MS (ESI) calculada para $[\text{M}]^+$ $\text{C}_{21}\text{H}_9\text{N}_7 = 359.09$; encontrado: 359.11.

Compuesto 152



A un matraz a 0°C que contiene ácido 5-(6-azidohexiloxi)isoftálico (**151**)²⁰⁴ (80 mg, 0.26 mmol), 2-hidroximetil-exTTF²⁰² (**142**) (300 mg, 0.73 mmol) y DPTS (77 mg, 0.26 mmol) en DCM anhidro se le añade poco a poco DCC (160 mg, 0.78 mmol). Transcurridos 20 minutos, se observa la disolución de los reactivos de partida, tras lo cual dejamos que la reacción alcance temperatura ambiente. Transcurridas 3 h de reacción, se observa por CCF la desaparición del alcohol de partida. El crudo de reacción se lavó con agua (2 x 20 mL) y disoluciones de NaHCO_3 1M (2 x 20 mL), y con disolución saturada de NaCl (2 x 30 mL). Los extractos orgánicos se secaron con sulfato magnésico y se eliminó el disolvente a presión reducida y el crudo obtenido se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice, utilizando hexano/DCM 1:3 como mezcla eluyente. Se obtuvo **152** como un sólido amarillo.

Rdto: 53%

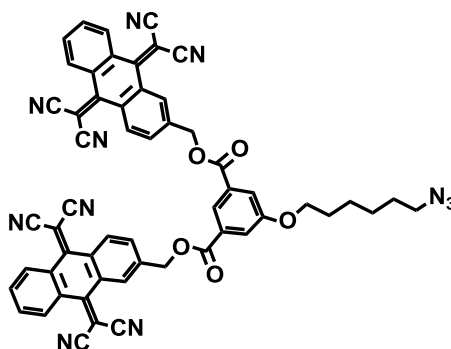
IR-TF (KBr): 3077, 2924, 2099, 1725, 1675, 1595, 1554, 1298, 1226, 1159, 802 cm^{-1} .

^1H -RMN (300 MHz, CDCl_3), δ : 8.28 (s, 1H), 8.23 (t, $J = 1.2$, 2H), 8.19 (d, $J = 2.3$, 1H), 8.18 – 8.11 (m, 5H), 7.71 (dd, $J = 4.7$, 1.4, 2H), 7.68 (d, $J = 0.9$, 1H), 7.65 (dd, $J = 5.9$, 3.2, 3H), 7.17 (s, 1H), 6.95 (d, $J = 8.5$, 8H), 5.43 (s, 4H), 4.78 (s, 1H), 3.96 (t, $J = 6.2$, 2H), 3.19 (d, $J = 6.8$, 2H), 1.72 (d, $J = 6.4$, 2H), 1.61 – 1.49 (m, 2H), 1.49 – 1.29 (m, 4H).

^{13}C -RMN (75 MHz, CDCl_3), δ : 165.2, 159.9, 159.8, 159.4, 141.1, 132.6, 131.5, 131.1, 130.8, 130.2, 129.9, 128.0, 127.7, 126.7, 125.3, 123.2, 120.6, 83.5, 83.3, 68.6, 65.4, 51.3, 28.9, 28.8, 26.4, 25.6.

MS (MALDI-TOF) calculada para $[\text{M}]^+ \text{C}_{56}\text{H}_{41}\text{N}_3\text{O}_5\text{S}_8 = 1091.08$; encontrado: 1091.1.

Compuesto 153



A un matraz a 0°C que contiene ácido 5-(6-azidohexiloxi)isoftálico (**151**)²⁰⁴ (175 mg, 0.57 mmol), hidroximetil-TCAQ²⁰⁵ (**143**) (400 mg, 1.20 mmol), DMAP (15 mg, 0.12 mmol) y dos gotas de DMF a modo de catalizador, en DCM anhidro, gota a gota cloruro de oxalilo (290 mg, 2.28 mmol, 0.4 mL) en 15 mL de DCM anhidro. Transcurridos 20 minutos, se observa la disolución de los reactivos de partida, tras lo cual dejamos a la reacción alcanzar temperatura ambiente. Transcurridas 3 h de reacción, se observa por CCF la desaparición del alcohol de partida. El crudo de reacción se lavó con agua (2 x 20 mL) y disoluciones de HCl 1M (2 x 20 mL), y disolución saturada de NaCl (2 x 30 mL). Los extractos orgánicos se secaron con sulfato magnésico y se eliminó el disolvente a presión reducida, y el crudo obtenido se purificó por cromatografía de exclusión de tamaño usando BioBeadsTM SX-12, empleando como eluyente DCM. Se obtuvo **153** como un sólido amarillo.

Rdto: 62%

IR-TF (KBr): 3131, 2248, 2100, 1723, 1023, 1045 cm^{-1} .

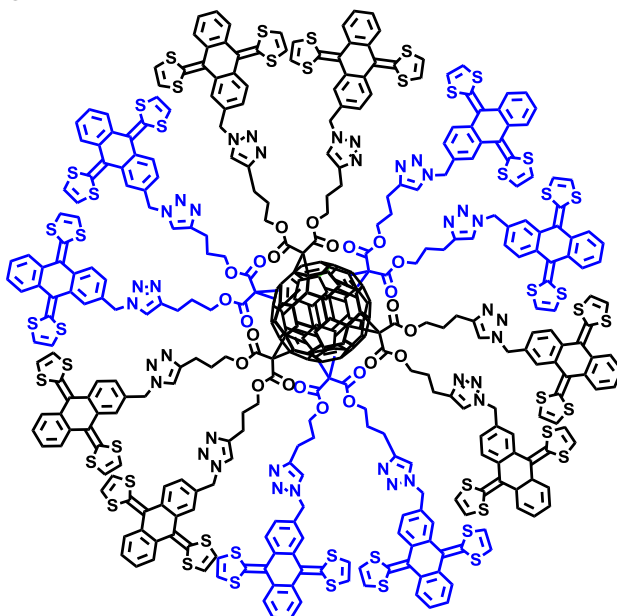
^1H -RMN (300 MHz, CDCl_3), δ : 8.28 (s, 1H), 8.21 (t, $J = 1.3$, 2H), 8.19 (d, $J = 2.4$, 1H), 8.16 – 8.09 (m, 5H), 7.71 (dd, $J = 5.9, 1.3$, 2H), 7.68 (d, $J = 0.9$, 1H), 7.65 (dd, $J = 5.9, 2.4$, 3H), 7.17 (s, 1H), 5.43 (s, 4H), 4.78 (s, 1H), 3.96 (t,

$J = 6.2$, 2H), 3.20 (d, $J = 6.4$, 2H), 1.72 (d, $J = 6.4$, 2H), 1.63 – 1.47 (m, 2H), 1.46 – 1.31 (m, 4H).

^{13}C -RMN (75 MHz, CDCl_3), δ : 165.1, 160, 159.8, 159.4, 141.2, 132.6, 131.48, 131.1, 130.9, 130.2, 129.9, 128.0, 127.8, 126.7, 123.2, 120.6, 113.2, 113.1, 113, 112.9, 83.5, 83.3, 68.6, 65.4, 51.3, 29.0, 28.8, 26.4, 25.5.

MS (MALDI-TOF) calculada para $[\text{M}]^+$ $\text{C}_{56}\text{H}_{33}\text{N}_{11}\text{O}_5 = 939.27$; encontrado: 940.2.

Compuesto 154



Un vial de fondo redondo, que contiene el hexaadducto **72** (35 mg, 0.017 mmol), azidometil-exTTF (**146**) (130 mg, 0.3 mmol), $\text{CuBr}\cdot\text{S}(\text{CH}_3)_2$ (19 mg, 0.1 mmol) y ascorbato sódico (21 mg, 0.1 mmol) en presencia de hilo de cobre metálico, se desoxigena utilizando una corriente de argón, y a continuación se añaden 2 mL de DMSO y se continúa desoxigenando durante 3 minutos con agitación vigorosa. Posteriormente, se mantiene la mezcla de reacción durante 48 h con agitación y bajo atmósfera de argón. Pasado este tiempo, el crudo de reacción se hace pasar, disuelto en DMSO, a través de una columna que contiene gel de sílice funcionalizada (QuadraSil MercaptopropilTM). La disolución resultante se precipita en $\text{Et}_2\text{O}/\text{MeOH}$ 2:1, y se centrifuga durante 10 min a 4500 rpm. El precipitado se lava y se resuspende utilizando AcOEt

en un baño de ultrasonidos durante 2 min, para posteriormente centrifugar durante 10 min a 6000 rpm. Se obtiene el compuesto **154** como un sólido amarillo.

Rdto: 80%

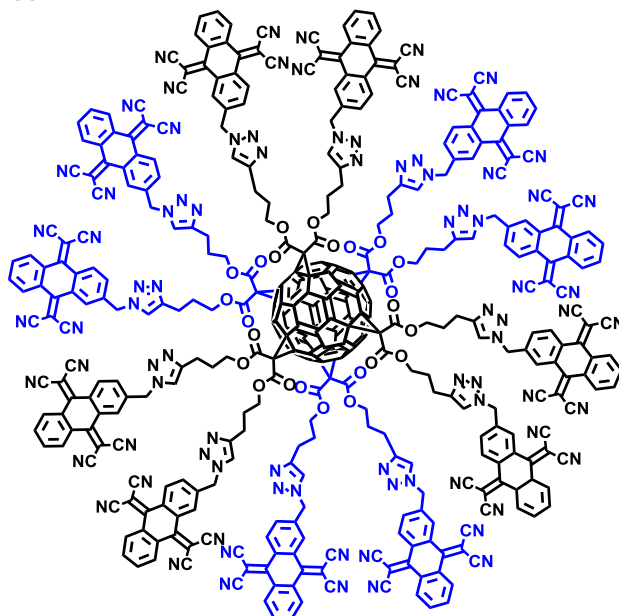
IR-TF (KBr): 3063, 1739, 1603, 1549, 1220, 532 cm^{-1} .

^1H -RMN (700 MHz, DMSO-d^6), δ : 7.90 – 7.68 (m, 19H), 7.65 – 7.49 (m, 41H), 7.49 – 7.32 (m, 29H), 7.32 – 7.02 (m, 44H), 6.79 – 6.48 (m, 48H), 5.58 – 5.40 (m, 10H), 4.40 – 3.93 (m, 42H), 1.96 – 1.78 (m, 28H), 1.30 – 1.20 (m, 44H).

^{13}C -RMN (175 MHz, DMSO-d^6), δ : 168.9, 147.1, 146, 141.3, 134.9, 126.6, 125.1, 124.2, 120.6, 118.6, 70.2, 62.7, 59.1, 29, 22.8, 22.

MS (MALDI-TOF) calculada para $[\text{M}]^+$ $\text{C}_{390}\text{H}_{242}\text{N}_{36}\text{O}_{24}\text{S}_{48} = 7350.02$; encontrado: 7351.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Compuesto 155



Un vial de fondo redondo, que contiene hexaadducto **72** (17 mg, 0.009 mmol), azidometil-TCAQ (**147**) (58 mg, 0.16 mmol), $\text{CuBr}\cdot\text{S}(\text{CH}_3)_2$ (13 mg, 0.06 mmol) y ascorbato sódico (21 mg, 0.1 mmol) en presencia de hilo de cobre

metálico, se desoxigena utilizando una corriente de argón, y a continuación se añaden 2 mL de DMSO y se continúa desoxigenando durante 3 minutos con agitación vigorosa. Posteriormente, se mantiene la mezcla de reacción durante 48 h con agitación y bajo atmósfera de argón. Pasado este tiempo, el crudo de reacción se hace pasar, disuelto en DMSO, a través de una columna que contiene gel de sílice funcionalizada (QuadraSil MercaptopropilTM). La disolución resultante se precipita en Et₂O/MeOH 2:1, se centrifuga durante 10 min a 4500 rpm. El precipitado se lava y se resuspende utilizando AcOEt usando un baño de ultrasonidos durante 2 min, para posteriormente centrifugar durante 10 min a 6000 rpm. Se obtiene el compuesto **155** como un sólido amarillo.

Rdto: 84%

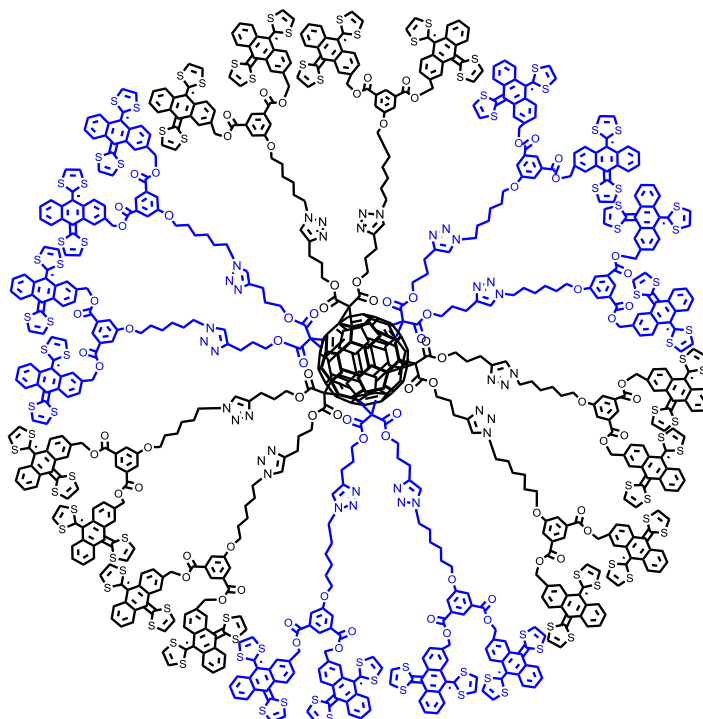
IR-TF (KBr): 3315, 2943, 2831, 2251, 1713, 1448, 1020, 606 cm⁻¹.

¹H-RMN (300 MHz, MeOD), δ: 7.87 – 7.62 (m, ~ 36H), 7.60 (s, 12H), 7.59 – 7.40 (m, ~38H), 7.33 – 7.12 (m, ~25H), 5.29 – 5.22 (m, ~12H), 4.92 – 4.86 (m, ~12H), 4.24 – 4.18 (m, ~24H), 2.81 – 2.75 (m, ~24H), 2.03 – 1.96 (m, ~23H).

¹³C-RMN (75 MHz, MeOD), δ: 162.2, 148.6, 147.4, 143.3, 129, 121.9, 117.9, 116.6, 112.3, 81.8, 80.4, 69.4, 63.2, 62.1, 40.7, 22.9, 21.

MS (MALDI-TOF) calculada para [M]⁺ C₃₉₀H₁₉₄N₈₄O₂₄= 6435.65; encontrado: 6459.1 [M+Na]⁺.

Compuesto 156



Un vial de fondo redondo, que contiene el hexaaducto **72** (20 mg, 0.01 mmol), **152** (200 mg, 0.19 mmol), $\text{CuBr}\cdot\text{S}(\text{CH}_3)_2$ (13 mg, 0.08 mmol) y ascorbato sódico (19 mg, 0.1 mmol) en presencia de hilo de cobre metálico, se desoxigena utilizando una corriente de argón, y a continuación se añaden 2 mL de DMSO y se continúa desoxigenando durante 3 minutos con agitación vigorosa. Posteriormente, se mantiene la mezcla de reacción durante 48 h con agitación y bajo atmósfera de argón. Pasado este tiempo, el crudo de reacción se hace pasar, disuelto en DMSO, a través de una columna que contiene gel de sílice funcionalizada (QuadraSil MercaptopropilTM). La disolución resultante se precipita en $\text{Et}_2\text{O}/\text{MeOH}$ 2:1, se centrifuga durante 10 min a 4500 rpm. El precipitado se lava y se resuspende utilizando AcOEt en un baño de ultrasonidos durante 2 min, para posteriormente centrifugar durante 10 min a 6000 rpm. Se obtiene el compuesto **156** como un sólido amarillo.

Rdto: 72%

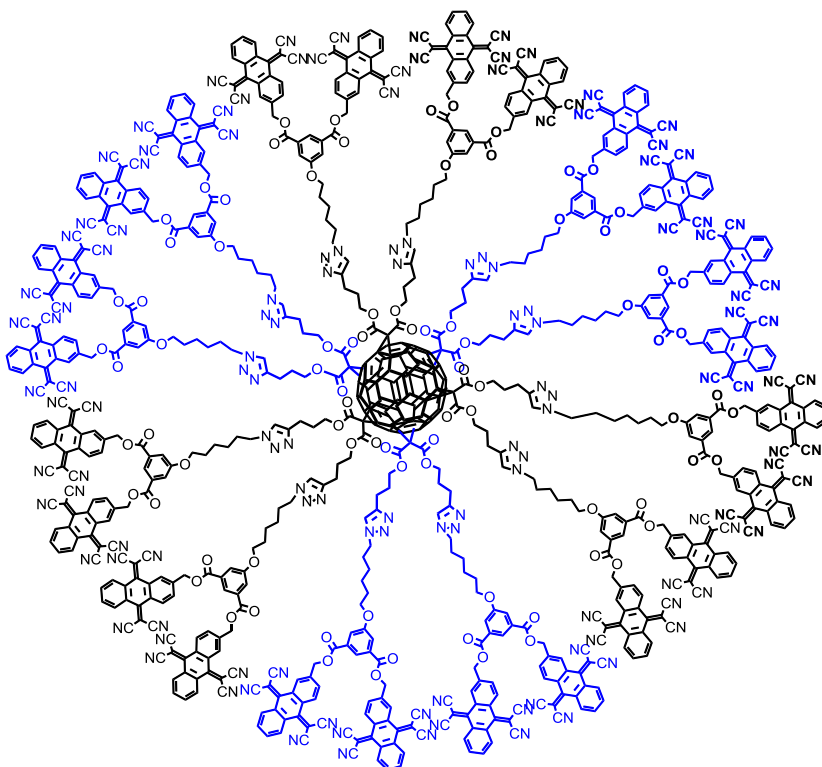
IR-TF (KBr): 3427, 3066, 2947, 1723, 1598, 1223, 1043, 721, 648 cm^{-1} .

Capítulo 2. Parte Experimental

^1H -RMN (700 MHz, DMSO-d^6), δ : 8.19 – 8.08 (m, ~12H), 7.73 – 7.59 (m, ~32H), 7.59 – 7.36 (m, ~120H), 7.31 – 7.08 (m, ~120H), 6.71 – 6.37 (m, ~96H), 5.40 – 5.18 (m, ~32H), 4.19 – 3.98 (m, ~22H), 3.88 – 3.67 (m, ~12H), 3.03 – 2.99 (m, ~28H), 1.70 – 1.52 (m, ~15H), 1.52 – 1.33 (m, ~24H), 1.25 – 1.07 (m, ~64H).

MS (MALDI-TOF) calculada para $[\text{M}]^+$ $\text{C}_{810}\text{H}_{576}\text{N}_{36}\text{O}_{84}\text{S}_{96} = 15217,51$;
encontradas: $15240[\text{M}+\text{Na}]^+$ y $15281[\text{M}+\text{Cu}]^+$.

Compuesto 157



Un vial de fondo redondo, que contiene el hexaadducto **72** (21 mg, 0.01 mmol), **153** (284 mg, 0.30 mmol), $\text{CuBr}\cdot\text{S}(\text{CH}_3)_2$ (13.5 mg, 0.09 mmol) y ascorbato sódico (20 mg, 0.1 mmol) en presencia de hilo de cobre metálico, se desoxygena utilizando una corriente de argón, y a continuación se añaden 2 mL de DMSO y se continúa desoxygenando durante 3 minutos con agitación vigorosa. Posteriormente, se mantiene la mezcla de reacción durante 48 h con agitación y bajo atmósfera de argón. Pasado este tiempo, el crudo de reacción

se hace pasar, disuelto en DMSO, a través de una columna que contiene gel de sílice funcionalizada (QuadraSil MercaptopropilTM). La disolución resultante se precipita en Et₂O/MeOH 2:1, se centrifuga durante 10 min a 4500 rpm. El precipitado se lava y se resuspende utilizando AcOEt en un baño de ultrasonidos durante 2 min, para posteriormente centrifugar durante 10 min a 6000 rpm. Se obtiene el compuesto **156** como un sólido amarillo pálido.

Rdto: 49%

IR-TF (KBr): 3128, 2238, 1723, 1245, 860 cm⁻¹.

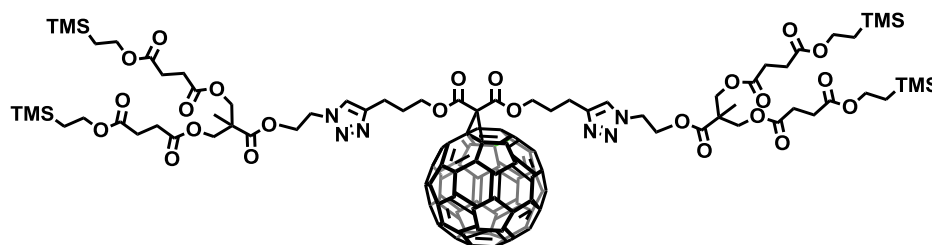
¹H-RMN (700 MHz, CDCl₃), δ: 8.39 – 8.28 (m), 8.26 (m), 7.82 (m), 7.75 (m), 5.52 (m), 4.32 (m), 4.00 (m), 2.76 – 2.70 (m), 2.62 (m), 2.06 (m), 1.91 (m), 1.68 (m), 1.47 (m), 1.43 – 1.31 (m).

¹³C-RMN (175 MHz, CDCl₃), δ: 165.2, 165.1, 163.7, 159.9, 159.9, 159.8, 159.4, 159.3, 146.3, 145.8, 141.7, 141.6, 134.3, 133.4, 132.6, 132.2, 131.4, 131.0, 130.7, 130.1, 130.0, 129.9, 128.0, 127.6, 126.6, 123.1, 120.5, 113.1, 113.0, 112.9, 83.4, 83.2, 69.2, 68.4, 66.3, 65.4, 50.0, 31.9, 31.0, 30.2, 29.7, 28.9, 28.8, 28.1, 26.2, 25.6, 25.3, 22.7, 22.0.

MS (MALDI-TOF) calculada para [M]⁺ C₈₁₁H₄₈₂N₁₃₂O₈₄= 13409.75; encontradas: 13410 [M]⁺ y 13473 [M+Cu]⁺.

9.3. Síntesis de fullerenos anfifílicos solubles en agua

Compuesto (160)



Un vial de fondo redondo, que contiene monoadducto **59** (10 mg, 0.01 mmol), dendron **158** (19 mg, 0.03 mmol), CuSO₄·5H₂O (4 mg, 0.015 mmol) y ascorbato sódico (8 mg, 0.04 mmol) en presencia de hilo de cobre metálico, se desoxigena utilizando una corriente de argón, y a continuación se añaden 2 mL de DCM y se continúa desoxigenando durante 3 minutos con agitación

Capítulo 2. Parte Experimental

vigorosa. Pasado este tiempo, se añaden 2 mL de agua para obtener una mezcla bifásica DCM:H₂O 1:1. Posteriormente se mantiene la mezcla de reacción durante 24 h con agitación y bajo atmósfera de argón. A continuación, el crudo de reacción se diluye con 50 mL de DCM y se lava con agua (3 x 20 mL). Los extractos orgánicos se secan con Na₂SO₄ y se concentraron en un rotavapor a presión reducida, para posteriormente purificar mediante una columna cromatográfica de exclusión de tamaño, usando como fase estacionaria BioBeads™ SX-8 y tolueno como fase móvil. Se obtiene el compuesto **160** como un sólido marrón brillante.

Rdto: 84%

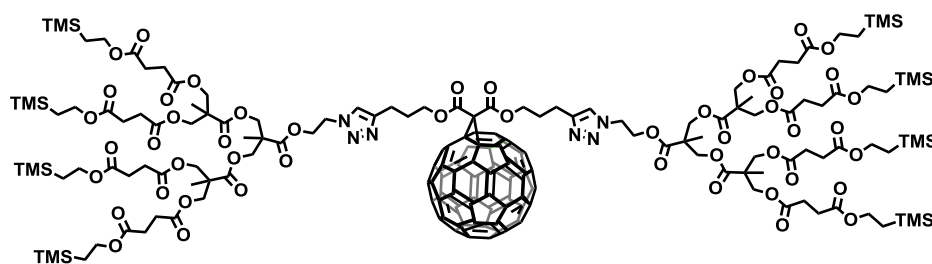
IR-TF (KBr): 2970, 2953, 2845, 1728, 1630, 1461, 1387, 1248, 1158, 1013, 913, 840, 759, 559 cm⁻¹.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃), δ: 7.56 (s, 2H), 4.71 – 4.42 (m, 8H), 4.34 – 3.97 (m, 20H), 2.94 (t, *J* = 7.4, 4H), 2.60 (s, 16H), 2.37 – 2.20 (m, 4H), 1.26 (s, 6H), 1.07 – 0.99 (m, 8H), 0.04 (s, 36H).

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃), δ: 172.4, 171.9, 163.7, 163.2, 147.1, 146.8, 145.4, 145.4, 145.3, 145.3, 145.0, 144.8, 144.7, 144.7, 144.0, 143.1, 142.3, 141.1, 139.1, 138.5, 130.8, 66.4, 65.3, 48.8, 46.5, 29.8, 29.2, 29.0, 27.9, 22.2, 17.8, 17.4, -1.4.

MS (MALDI-TOF) calculada para [M]⁺ C₁₂₄H₁₀₄N₆O₂₄Si₄ = 2160.6; encontrado: 2161.2. [M+H]⁺.

Compuesto 161



Un vial de fondo redondo, que contiene monoadducto **59** (30.3 mg, 0.03 mmol), dendron **159** (114 mg, 0.09 mmol), CuSO₄·5H₂O (5 mg, 0.015 mmol) y ascorbato sódico (10 mg, 0.05 mmol) en presencia de hilo de cobre metálico,

se desoxigena utilizando una corriente de argón, y a continuación se añaden 2 mL de DCM y se continúa desoxigenando durante 3 minutos con agitación vigorosa. Pasado este tiempo, se añaden 2 mL de agua para obtener una mezcla bifásica DCM:H₂O 1:1. Posteriormente se mantiene la mezcla de reacción durante 24 h con agitación y bajo atmósfera de argón. A continuación, el crudo de reacción se diluye con 50 mL de DCM y se lava con agua (3 x 20 mL). Los extractos orgánicos se secan con Na₂SO₄ y se concentraron en un rotavapor a presión reducida, para posteriormente purificar mediante una columna cromatográfica de exclusión de tamaño, usando como fase estacionaria BioBeadsTM SX-8 y tolueno como fase móvil. Se obtiene el compuesto **161** como un sólido marrón brillante.

Rdto: 91%

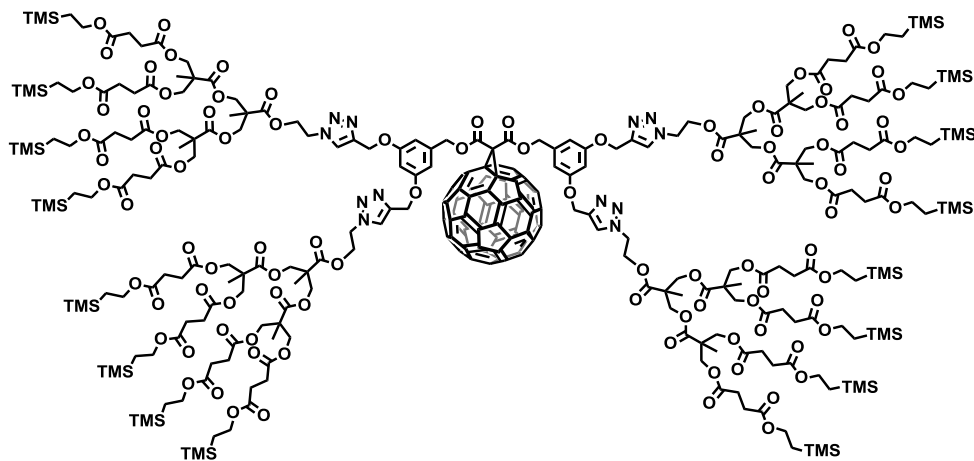
IR-TF (KBr): 2955, 2925, 2855, 1739, 1630, 1463, 1384, 1354, 1252, 1152, 1034, 936, 840, 757, 757, 557 cm⁻¹.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃), δ: 7.56 (s, 2H), 4.60 – 4.52 (m, 6H), 4.18 – 4.01 (m, 46H), 2.63 – 2.42 (m, 40H), 1.24 (s, 18H), 0.98 (t, 16H), 0.09 (s, 72H).

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃), δ: 172.2, 171.8, 163.6, 146.7, 145.3, 145.2, 145.2, 145.1, 144.9, 144.7, 144.6, 144.6, 143.9, 143.1, 143.1, 143.1, 142.2, 141.8, 141.0, 139.0, 124.8, 121.7, 71.5, 67.9, 66.6, 65.3, 62.9, 53.5, 48.5, 46.4, 37.2, 34.1, 31.9, 29.8, 28.1, 25.9, 22.2, 17.5, 14.1, 1.05, -1.5

MS (MALDI-TOF) calculada para [M]⁺ C₁₈₉H₂₀₀N₆O₄₈Si₈= 3425.1, encontrado: 3448.3 [M+Na]⁺.

Compuesto 162



Un vial de fondo redondo, que contiene monoadducto **62** (5.8 mg, 0.005 mmol), dendrón **159** (47 mg, 0.04 mmol), CuSO₄·5H₂O (4.7 mg, 0.015 mmol) y ascorbato sódico (11 mg, 0.05 mmol) en presencia de hilo de cobre metálico, se desoxigena utilizando una corriente de argón, y a continuación se añaden 2 mL de DCM y se continúa desoxigenando durante 3 minutos con agitación vigorosa. Pasado este tiempo, se añaden 2 mL de agua para obtener una mezcla bifásica DCM:H₂O 1:1. Posteriormente se mantiene la mezcla de reacción durante 24 h con agitación y bajo atmósfera de argón. A continuación, el crudo de reacción se diluye con 50 mL de DCM y se lava con agua (3 x 20 mL). Los extractos orgánicos se secan con Na₂SO₄ y se concentraron en un rotavapor a presión reducida, para posteriormente purificar mediante una columna cromatográfica de exclusión de tamaño, usando como fase estacionaria BioBeadsTM SX-8 y tolueno como fase móvil. Se obtiene el compuesto **162** como un sólido marrón brillante.

Rdto: 72%

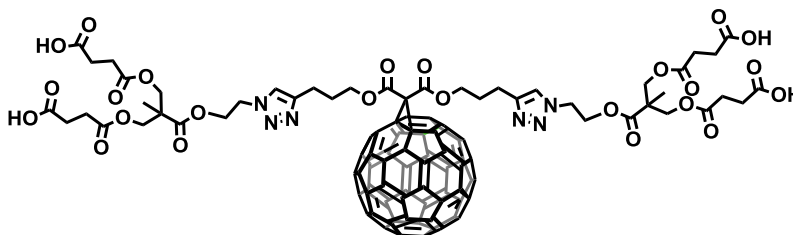
IR-TF (KBr): 3079, 2937, 2930, 2913, 2840, 2815, 1739, 1651, 1453, 1403, 1354, 1344, 1252, 1238, 11482, 1015, 896, 840, 723, 740, 680, 557 cm⁻¹.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃), δ: 7.85 – 7.81 (m, 4H), 6.74 (s, 4H), 6.64 – 6.51 (m, 2H), 5.47 (s, 4H), 5.14 (s, 8H), 4.67 – 4.58 (m, 8H), 4.56 – 4.48 (m, 8H), 4.17 – 4.02 (m, 80H), 2.60 (s, 64H), 1.24 (s, 36H), 0.97 (t, *J* = 6.7, 32H), 0.03 (s, 144H).

^{13}C -RMN (175 MHz, CDCl_3), δ : 172.3, 171.9, 163.8, 159.8, 145.9, 145.3, 145.3, 145.2, 145.0, 144.9, 144.8, 144.6, 144.0, 143.9, 143.8, 143.1, 143.0, 142.6, 142.2, 141.9, 141.2, 141.1, 141.0, 139.0, 123.5, 122.0, 82.6, 69.8, 65.4, 63.1, 48.8, 46.8, 46.5, 29.2, 29, 27.2, 17.9, 17.5, 17.4, 15.2, 1.1, -1, -1.4, -1.7.

MS (MALDI-TOF) calculada para $[\text{M}]^+$ $\text{C}_{301}\text{H}_{394}\text{N}_{12}\text{O}_{96}\text{Si}_{16}$ = 6148.3; encontrado: 6148.4.

Compuesto 163



A una disolución del dendrofullereno **160** (24 mg, 0.011 mmol) en 4 mL de DCM anhidro bajo atmósfera de argón se adicionan 2 mL de ácido trifluoroacético (TFA). La mezcla se mantiene bajo atmósfera inerte y con agitación durante 2 h. Transcurrido ese tiempo, el disolvente se evapora a presión reducida, obteniéndose el compuesto **163** como un sólido marrón.

Rdto: 95%

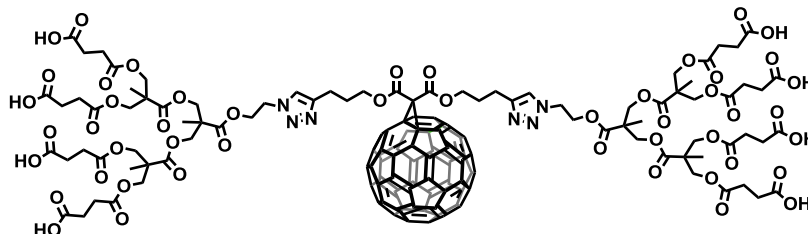
IR-TF (KBr): 3448, 2915, 2828, 2799, 1787, 1630, 1636, 1602, 1413, 1392, 1278, 1205, 1119, 857, 802, 743, 554, 526 cm^{-1} .

^1H -RMN (500 MHz, THF-d^8), δ : 7.89 (s, 2H), 4.72 – 4.55 (m, 8H), 4.51 – 4.40 (m, 4H), 4.19 (s, 16H), 2.53 (s, 16H), 1.29 (s, 6H).

^{13}C -RMN (125 MHz, THF-d^8), δ : 173.9, 173.0, 172.4, 170.6, 149.0, 147.7, 147.0, 146.2, 145.7, 144.9, 144.0, 143.2, 143.0, 141.9, 140.3, 133.7, 69.3, 66.3, 64.3, 60.6, 57.7, 49.5, 47.5, 35.6, 33.0, 32.7, 31.9, 29.8, 29.4, 23.7, 21.5, 20.8, 18.1.

MS (MALDI-TOF) calculada para $[\text{M}]^+$ $\text{C}_{113}\text{H}_{56}\text{N}_6\text{O}_{24}$ = 1760.3; encontrado: 1783.4 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

Compuesto 164



A una disolución del dendrofullereno **161** (24 mg, 0.007 mmol) en 4 mL de DCM anhidro bajo atmósfera de argón se adicionan 2 mL de ácido trifluoroacético (TFA). La mezcla se mantiene bajo atmósfera inerte y con agitación durante 2 h. Transcurrido ese tiempo, el disolvente se evapora a presión reducida, obteniéndose el compuesto **164** como un sólido marrón.

Rdto: 95%

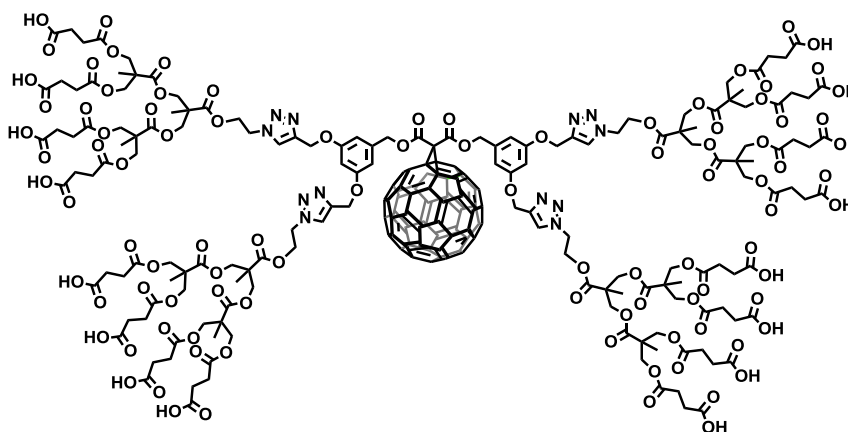
IR-TF (KBr): 3447, 2925, 2856, 1736, 1672, 1636, 1637, 1458, 1410, 1379, 1259, 1203, 1136, 1025, 837, 802, 723, 586, 554, 525 cm^{-1} .

^1H -RMN (300 MHz, THF- d^8), δ : 7.70 (s, 2H), 4.57 – 4.45 (m, 4H), 4.42 – 4.35 (m, 2H), 4.11 – 4.05 (m, 24H), 2.44 (s, 20H), 2.37 (s, 16H), 1.19 – 1.12 (m, 22H).

^{13}C -RMN (125 MHz, THF- d^8), δ : 173.1, 172.1, 171.7, 123.7, 152.1, 151.6, 151.1, 150.8, 150.6, 149.5, 148.8, 147, 145.9, 144.9, 144.4, 143.8, 143.3, 141.0, 130.9, 123.7, 67.1, 66.9, 66.8, 66.6, 65.8, 65.5, 64.7, 63.6, 48.8, 46.9, 46.8, 40.7, 30.1, 29.1, 28.6, 17.5.

MS (MALDI-TOF) calculada para $[\text{M}]^+$ $\text{C}_{149}\text{H}_{104}\text{N}_6\text{O}_{48}$ = 2624.6; encontrado: 2624.8.

Compuesto 165



A una disolución del dendrofullereno **162** (31.0 mg, 0.005 mmol) en 4 mL de DCM anhidro bajo atmósfera de argón se adicionan 2 mL de ácido trifluoroacético (TFA). La mezcla se mantiene bajo atmósfera inerte y con agitación durante 2 h. Transcurrido ese tiempo, el disolvente se evapora a presión reducida, obteniéndose el compuesto **165** como un sólido marrón.

Rdto: 94%

IR-TF (KBr): 3444, 3064, 2956, 2930, 2908, 2842, 2825, 1739, 1650, 1509, 1453, 1393, 1374, 1304, 1252, 1230, 1148, 1205, 1015, 899, 840, 754, 724, 691, 557, 525 cm^{-1} .

^1H -RMN (500 MHz, DMSO-d^6), δ : 8.24 (m, 4H), 6.87 (s, 4H), 6.65 (s, 2H), 5.1 (s, 4H), 4.67 – 4.57 (m, 4H), 4.45 – 4.37 (m, 4H), 4.11 – 4.03 (m, 56H), 2.19 (s, 64H), 1.36 (s, 36H).

^{13}C -RMN (125 MHz, DMSO-d^6), δ : 174.4, 173.2, 167.7, 158.5, 152.1, 145.5, 144.2, 141.1, 140.0, 138.0, 136.2, 133.8, 131.8, 130.7, 129.8, 128.7, 125.7, 64.0, 64.3, 62.3, 53.9, 52.4, 49.1, 46.9, 35.2, 29.5, 27.5, 24.9, 22.9, 22.0, 17.8, 14.7.

MS (MALDI-TOF) calculada para $[\text{M}]^+$ $\text{C}_{221}\text{H}_{202}\text{N}_{12}\text{O}_{96} = 4459.1$; encontrado: 4482.2 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

Conclusiones

10. Conclusiones

10.1. Conclusiones: Capítulo 1

- Se ha conseguido optimizar un método eficaz para obtener conjugados de fullereno-carbohidrato utilizando un protocolo de “Click-Chemistry”. Este procedimiento permite obtener derivados de fullereno solubles en medios acuosos con buenos rendimientos, en pocos pasos sintéticos y evitando, o minimizando, el uso de grupos protectores.
- Se ha sintetizado hexaaductos de fullereno decorados en la periferia con alquinos terminales. Estas estructuras globulares, son un versátil bloque de construcción molecular para construir estructuras dendrímicas globulares, como las “bolas de azúcar de fullereno” que contienen hasta 36 unidades de carbohidratos.
- El estudio de la interacción de los diferentes conjugados fullereno-carbohidrato con una lectina vegetal como la Concanavalina A, mediante la valoración calorimétrica isotérmica (ITC). Ha puesto de manifiesto que el fullereno es una excelente plataforma para la presentación de ligandos de manera multivalente.
- La obtención de hexaaductos asimétricamente sustituidos permite obtener derivados con una doble función química. La funcionalización con un grupo azida de estos glicofullerenos constituyen una familia de nuevos bloques de construcción molecular de gran versatilidad. Usando dichas estructuras se ha conseguido decorar las superficie de nanotubos de carbono y construir las “bolas gigantes de azúcar de fullereno” con hasta 120 unidades de carbohidrato.
- La actividad de inhibición de la infección viral mediante el bloqueo del receptor DC-SIGN utilizando diferentes glicofullerenos, ha sido estudiada utilizando un modelo de infección con partículas virales pseudotipadas del virus del Ébola. La actividad de inhibición de estos derivados es muy prometedora, alcanzando valores de IC_{50} que van desde 0.3 μ M para los derivados con 36 manosas, hasta los 16.7 nM para la “bola gigante de azúcar de fullereno” con 120 manosas.
- Se investigó la capacidad como fotosensibilizadores de algunos derivados de fullereno para la producción de oxígeno singlete (1O_2). Se ha podido concluir que los bisaductos de C_{60} son tan efectivos como los monoaductos, en cuanto a capacidad de generación de oxígeno singlete y que los hexaaductos también son capaces de producir 1O_2 , en

menor medida que monoadductos y bisadductos, pero en extensión suficiente como para conseguir una aplicación biológica prometedora.

10.2. Conclusiones: Capítulo 2

- Se han sintetizado hexaadductos de C_{60} modificados con fragmentos electroactivos, aceptores de electrones (TCAQ) y dadores (exTTF), utilizando reacciones de CuAAC.
- Se ha estudiado la interacción supramolecular de estos hexaadductos con grafeno. El efecto multivalente de los ligandos electroactivos ha permitido caracterizar los agregados supramoleculares formados. Los experimentos Raman demostraron que existe una interacción de transferencia de carga desde el hexaadducto **154** al grafeno.
- La síntesis de nuevos monoadductos de fullereno anfífilos, mediante reacciones de CuAAC, permitieron obtener derivados de fullereno solubles en medios acuosos.
- El comportamiento de autoensamblaje de los monoadductos anfífilos sintetizados con 4, 8 y 16 grupos carboxílicos se han estudiado en diferentes condiciones de concentración, superficie de deposición y polaridad del medio. Se han obtenido ensamblajes de morfologías que varían desde nanohilos hasta vesículas huecas.

Summary

Introduction

Nanotechnology is a new area that involves several natural sciences. The main objectives of this thesis are the modulation of properties of different carbon nanoforms, such as fullerenes, carbon nanotubes and graphene, through their chemical modification, and the search for new applications in new fields, such as nanobiomedicine and new nanostructured materials. In the first chapter we have focussed in attaching biocompatible functional groups to fullerenes and carbon nanotubes through chemical reactions under mild conditions, and exploring the new possibilities of these modified carbon nanoforms in biomedical sciences.

These chemically modified carbon nanoforms, with biocompatible groups on their surface, such as carbohydrates, could have a biological interaction with proteins or glycoproteins like lectins in living cells. This kind of interaction occurs through a multivalent process. Multivalency is a key principle in nature for achieving strong but reversible interactions. On the molecular level, multivalency describes the binding of two (or more) entities that involves the simultaneous interaction between multiple, complementary functionalities on these entities. The interaction between a host and a guest leads to the formation of a complex. The valency of an entity is the number of separate connections of the same kind that it can form through host–guest interactions with entities bearing the complementary functionality. Biologically speaking, such multivalent interactions between cells or with other organisms, such as bacteria and viruses, are medically very important, wherein the extensive interaction occurs between a large number of individuals. The current therapeutic approach in medicine employs monovalent drugs. For example, many viruses have a high affinity for the multivalent binding sites of the cell surface, and monovalent drugs only are effective in very high doses. For this reason, the development of multivalent scaffolds is a very promising strategy to inhibit the infections of viruses and bacterias in the first stage of the infection process.

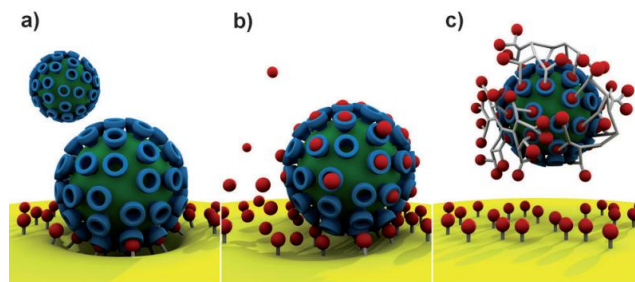


FIGURE 1. a) A multivalent binding of a virus or pathogen to a cell surface is compared to b) a noncompetitive binding with monovalent ligands (classical drug approach) c) Multivalent drugs are considerably more effective in binding and covering a virus surface than monovalent ligands, thus preventing viral adhesion.

Fullerene C_{60} , with its spherical shape and immense scope for derivatization is an appealing scaffold for the formation of a multivalent glycocluster, which could interact strongly with glycoproteins or act like a potential inhibitor of viral infection processes. In particular, well-defined glycoclusters and glycodendrimers constructed around symmetric cores have been reported, emphasizing their respective applications as anti-adhesins, drug delivery systems, imaging agents, biosensors and synthetic vaccines, together with their perspectives in nanobiomedicine.

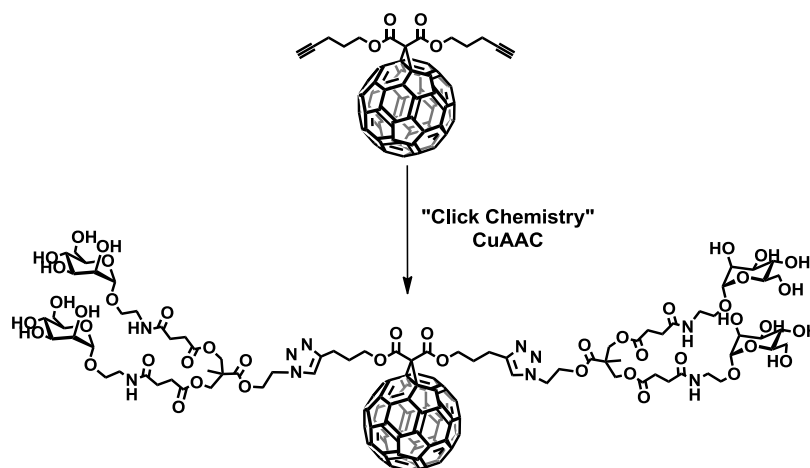
We have employed the Bingel cyclopropanation reaction to functionalize the fullerene. Controlling the malonates addition pattern over C_{60} scaffold, we can obtain monoadducts of C_{60} (kinetic control product) or hexakis-adducts of C_{60} (thermodynamic control product), with an octahedral addition pattern. These two kinds of structures will be used in the first chapter of this thesis, as a platform for the attachment of biomolecules, or photosensitizers for photodynamic therapy. In the second chapter, these fullerene structures will be used as support for electroactive molecules, or as the hydrophobic counterpart in new amphiphilic molecules which can be used in self-assembled systems in biological media.

In this chemical modification the CuAAC (Copper (I)-catalyzed Azide-Alkyne Cycloaddition) plays a key role, sorted as “Click-Chemistry” reaction type. This reaction has been used for the attachment of many biomolecules like carbohydrates, polar groups or electroactive molecular moieties with different electronic properties, in only one synthetic step, with very high yields and avoiding the use of protective groups.

Chapter 1: Objectives

1. Synthesis of fullerene monoadducts functionalized with carbohydrates.

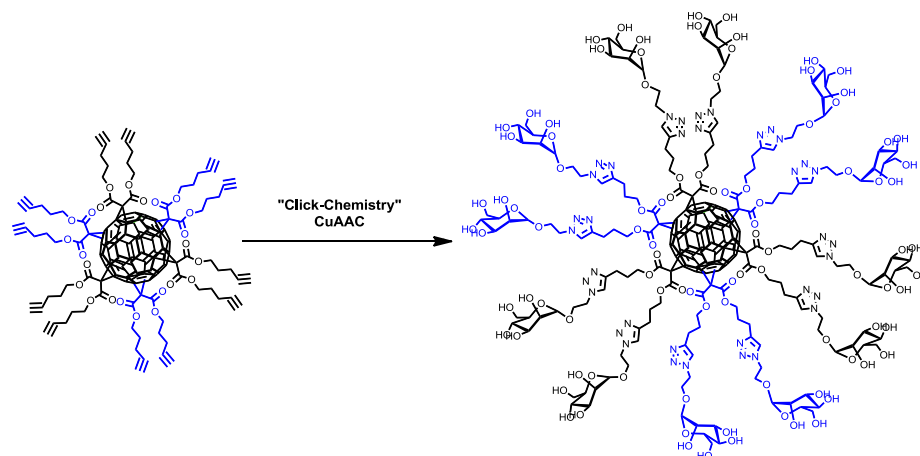
We will synthesize monoadducts of C_{60} , with terminal alkynes on its periphery, to make the subsequent modification by using Cu (I) catalyzed dipolar 1,3-cycloaddition reactions between alkynes and azides (CuAAC).



SCHEME 1. Strategy for functionalizing fullerene C_{60} monoadducts using CuAAC reactions.

2. Synthesis of symmetrical fullerene hexakis-adducts.

A main objective of the thesis is the validation of fullerene C_{60} as a platform for the multivalent presentation of carbohydrates. Thus, fullerene hexakis-adducts show a globular presentation of the sugar moieties, mimicking the structure of a viruses or any other pathogenic agent. Chemically, this challenge can be carried out by the covalent attachment of many polar groups in only one synthetic step through CuAAC reactions.



SCHEME 2. Strategy for functionalizing fullerene C_{60} hexakis-adducts using CuAAC reactions.

3. Synthesis of asymmetric fullerene hexakis-adducts.

Obtaining asymmetrically substituted hexakis-adducts will allow us to gain access to functionalized fullerenes with carbohydrates in the periphery and at the same time, keeping one or two reactive positions to perform subsequent chemical modifications to attach additional molecular fragments.

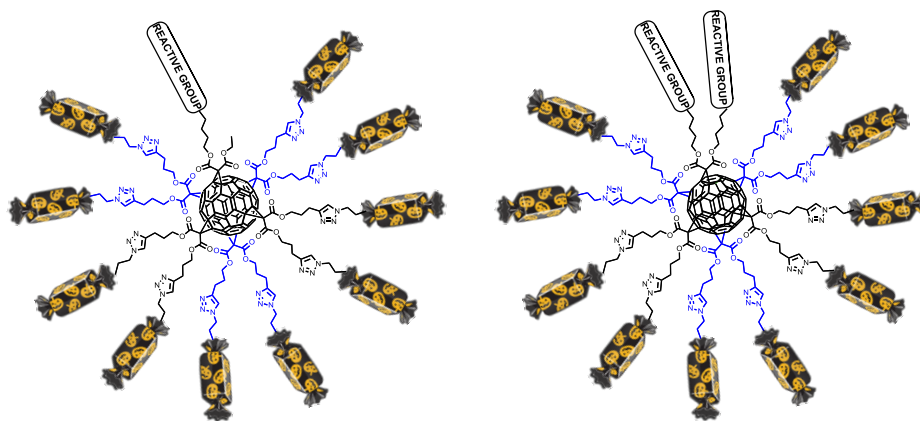


FIGURE 2. Hexakis-adducts asymmetrically functionalized.

4 . Biological evaluation of the previously synthesized compounds:

4.1. Study of the interaction with lectins by ITC (Isothermal titration Calorimetry). Study of the multivalent effect.

Thermodynamic assessments that provide data to optimize the morphology and binding parameters between the ligand and a model multivalent lectin like Concanavalin A.

4.2. Study of the inhibition of viral infection in human cells.

Genetically modified human cells able to overexpress lectin DC-SIGN on the cell surface will be used. When these cells are cultured in the presence of a multivalent ligand and pseudotyped viruses, both compete for the DC-SIGN receptor, resulting in an attenuation or complete inhibition of the viral infection.

4.3. Photosensitizers: singlet oxygen generation.

Study of the generation of singlet oxygen in fullerene derivatives with different levels of functionalization, exploring the possibilities of these systems in photodynamic therapy.

5. Carbon nanotubes as platforms for the multivalent presentation of carbohydrates.

CuAAC reaction was intended for the functionalization of CNTs, increasing their bioavailability and reducing toxicity while increasing their solubility in biological media. This derivatization of CNTs will be carried out employing the previously synthesized asymmetric hexakis-adducts .

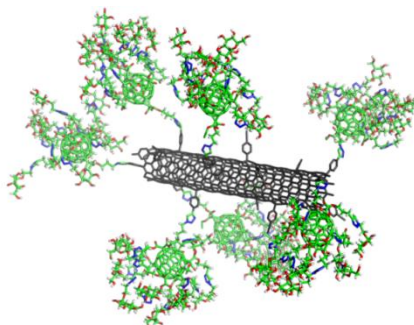
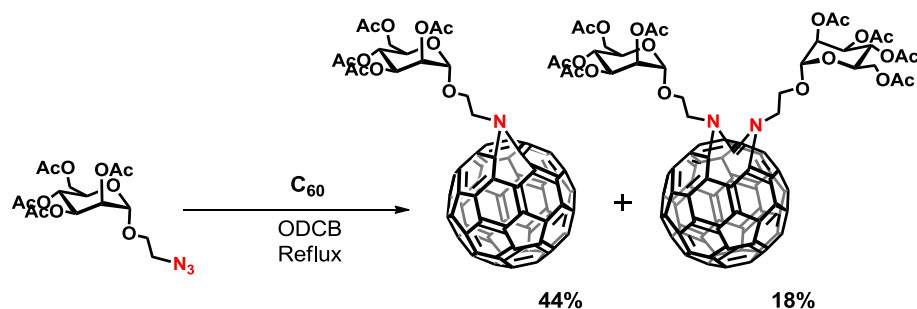


FIGURE 3. CNT-Hexakis-adducts hybrid, obtained through CuAAC reaction.

Chapter 1: Results

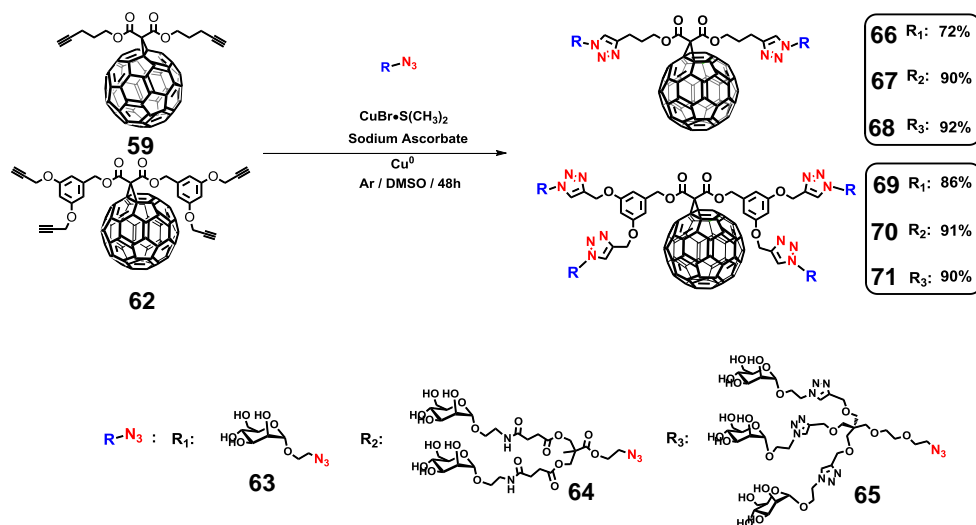
1.1. Synthesis of water- soluble highly functionalized fullerene derivatives.

Our first approach to obtain water-soluble fullerenes was through the direct addition of azides to the scaffold of the C₆₀. This procedure allows the formation of monoadducts and bisadducts in the same synthetic step.



SCHEME 3. Direct addition of azides to C₆₀.

From the synthetic point of view this reaction has some drawbacks, that should be evaluated, such as the low yields obtained and the scarce solubility of the products after deprotection of acylated sugar moieties. With this in mind, we have decided to turn to the “Click-Chemistry” protocols, with the aim to attach carbohydrates to fullerenes previously functionalized with alkynes in their periphery.



SCHEME 4. Synthetic scheme for preparing fullerene C_{60} monoadducts functionalized with carbohydrates.

To improve the solubility of these systems in aqueous media we increased the number of carbohydrates around the fullerene subunit, reaching up to twelve mannose units per fullerene.

Some of these molecules exhibit a characteristic self-assembly behaviour, as can be seen for compound **68**, in Figure 4. This molecule forms spherical aggregates with homogeneous size when an aqueous solution is deposited on a glass support and let to evaporate.

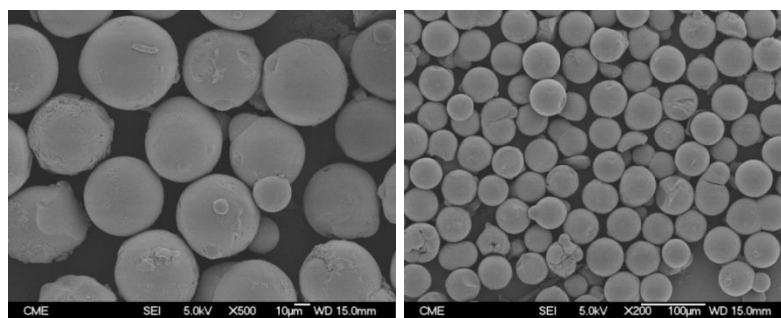


FIGURE 4. Self-assembled structures formed from **68**.

Summary

Spherical and compact aggregates were observed, where the glycosylated part of the molecule maximizes its contact with the polar solvent, while the C₆₀ moiety minimizes its contact with the surrounding environment.

1.2. Thermodynamic studies of the interaction between glycofullerenes and Concanavalin A by calorimetry

Figure 5 and Table 1 summarize the results of the ITC studies carried out on the interaction of monoadducts **67** and **70** with the vegetal lectin Con A

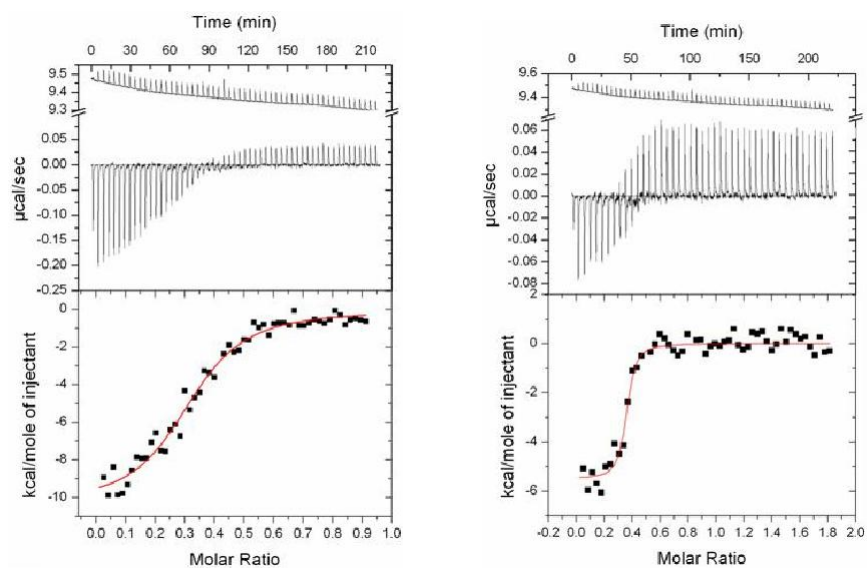


FIGURE 5. Titration profile for Con A versus **67** (4 mannoses) (left) and **70** (8 mannoses) (right).

TABLE 1. Thermodynamic binding parameters.

	$K^{[a]}/M^{-1}$ $\times 10^4$	ΔG /Kcal·mol ⁻¹	ΔH /Kcal·mol ⁻¹	ΔS /cal· M ⁻¹ · K	$n^{[c]}$	1/n
MeO- α -D Man ^[b]	7.6	-5.3	-6.8	-5.0	1.02	1
67 (4-Man)	91.3 \pm 8.4	-9.8 \pm 0.5	-9.8 \pm 0.5	-5.7 \pm 1.9	0.34 \pm 0.01	2.94
70 (8-Man)	1060.0 \pm 76.5	-5.5 \pm 0.3	-5.5 \pm 0.3	13.3 \pm 2.8	0.34 \pm 0.04	2.94

(average \pm standard deviation); [a] Association constant, Ka; [b] Methyl- α -D-mannopyranoside; [c] Stoichiometry of complex glycofullerene/Con A

These results show multivalent effects in compounds **67** and **79** compared with the monovalent ligand of reference, MeO- α -Man. With a valency four times higher (four mannoses *vs* one) has an association constant of $91.3 \pm 8.4 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}$, about 12-fold higher than the value obtained for the monovalent control carbohydrate MeO- α -Man of reference ($7.6 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}$). The stoichiometry of the process is 2.94, which means that each glycofullerene, **67** and **70**, are attached to three monomers of Con A.

When we observed the results of the interaction with the derivative bearing 8 mannoses (**70**), an increase in the association constant with the lectin of approximately 12-fold higher with respect to **67** was observed, and about 140-fold higher in relation to reference monovalent carbohydrate.

1.3. Synthesis of hexakis- C_{60} adducts.

When malonates are added to C_{60} through a Bingel reaction, they follow an addition pattern. If the added malonates are symmetrical, hexakis-adducts of fullerenes with three-dimensional T_h symmetry are obtained in an octahedral addition pattern.

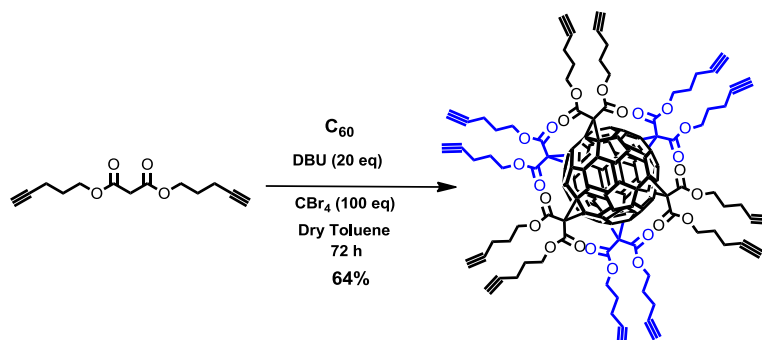


FIGURE 6. Bingel polyaddition and hexakis-adducts synthesis.

In only one synthetic step, we have been able to prepare a multivalent building block to be used in subsequent “Click-Chemistry” reactions. With the aim to attach biomolecules to [60]fullerene, we have carried out a synthetic method based in CuAAC reactions to build “Fullerene Sugar Balls” with 12, 24 or 36 sugar moieties surrounding the [60]fullerene core (Figure 7).

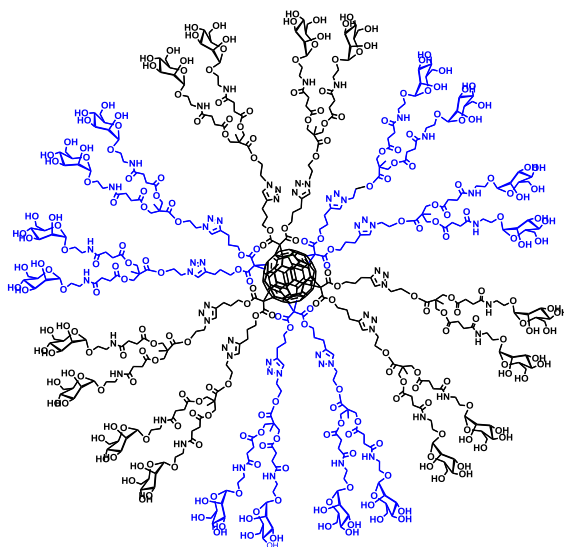


FIGURE 7. “Fullerene Sugar Ball” surrounded with 24 mannoses.

We have synthesized for the first time fullerene-glycoconjugates in which the C₆₀ core is completely surrounded by sugar residues. The methodology based on the Huisgen-type click chemistry allows for the easy preparation of a large variety of sugar balls. The spherical distribution of the sugar residues gives rise to unprecedented globular polytopic ligands with defined chemical compositions.

1.4. Thermodynamic studies of the interaction between “Fullerene Sugar Balls” and Concanavalin A by calorimetry

We have investigated the recognition of carbohydrates in hexakis-adducts of fullerene by Concanavalin A (Con A) by isothermal titration calorimetry (ITC). The ITC profiles are shown in Figure 8, and the thermodynamic parameters are collected in Table 2.

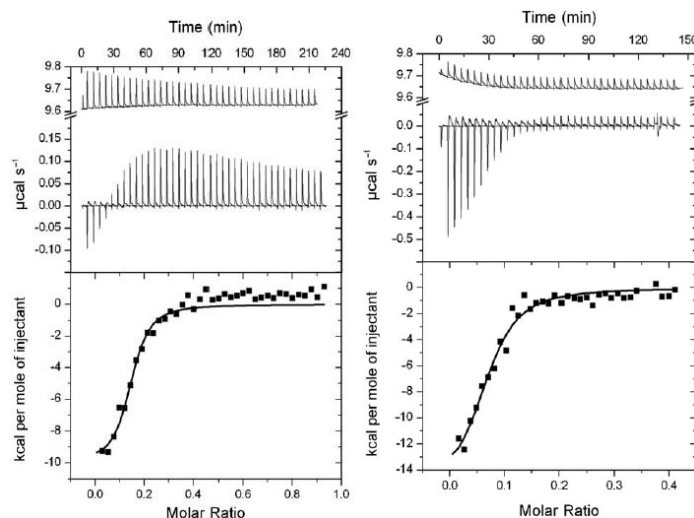


FIGURE 8. Titration profile for Con A versus **76** (12-Man) (left) and **80** (24-Man) (right).

TABLE 2. Thermodynamic binding parameters.

	$K^{\text{[a]}} / \text{M}^{-1}$ $\times 10^4$	$-\Delta G$ $/\text{Kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$	$-\Delta H$ $/\text{Kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$	$-T\Delta S / \text{cal}\cdot$ $\text{M}^{-1}\cdot\text{K}$	$n^{\text{[c]}}$	$1/n$
MeO- α -D Man [b]	1.2	5.6	8.4	2.8	1.00	~ 1
76 (12-Man)	421.6 ± 21.2	9.04 ± 0.002	9.90 ± 0.03	0.91 ± 0.29	0.15 ± 0.014	~ 6
78 (12-Gal)	No Interaction					
80 (24-Man)	137.5 ± 25.4	8.39 ± 0.094	15.21 ± 0.75	6.85 ± 0.86	0.066 ± 0.007	~ 16

(average \pm standar deviation); [a] Association constant, K_a ; [b] Methyl- α -D-mannopiranoside;
[c] Stoichiometry of the complex glycofullerene/Con A

As can be clearly observed, both mannose derivatives **76** and **80** posses higher affinity than the reference monomer, whereas no interaction is observed for the galactose derivative **78**. The affinity constants for **76** and **80** are 350- and 115-fold higher, respectively, for Con A than MeO- α Man. A positive effect of the spherical distribution of the ligands, covering all spatial directions, could be the reason for the high values found for the K_a . Importantly, the n values for these derivatives binding to Con A are very low. These two observations, that is, the increase of the affinity constant and the low n values are usually related to the involvement of multivalency in a binding process.

Summary

Comparing the results shown in (Tables 2 and 3), the monoadduct with 8 mannoses (**70**), interacts approximately with 3 units of Con A, a smaller number than that found for hexakis-adducts **76** and **80**, capable of coordinating to 6 and 16 units of Con A, respectively. However, the monoadduct **70** has an unexpectedly high association constant of $K_a = 1060 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}$, while the hexa-adduct **76** shows a constant of $K_a = 421.6 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}$, about 2.5 times lower, while showing a higher valency. This result, with positive changes in entropy, suggests that a different association phenomenon could be taking place in the monoadduct interaction with Con A, as formation of supramolecular aggregates, in the form of vesicles or micelles, which should be responsible for the interaction with the lectin. This tendency to aggregate was observed in Figure 4 with compound **68**.

1.5. Transfection studies in cells, "Fullerene sugar balls" as agents for the inhibition of viral infection.

DC-SIGN is a C-type lectin able to interact with glycoconjugates present on the surface of several pathogens, including viruses like HIV or Ebola. Due to the important role of this lectin in infection processes, the discovery of new compounds with an adequate affinity for this receptor is of great interest. We have envisaged that the globular presentation of carbohydrates provided by the fullerene as scaffold could afford interesting glycomimetics to achieve this goal. This rigid spherical scaffold permitted reaching a distance between two ligands on this multivalent presentation (at least 1 nm of diameter for the fullerene plus the distance provided by the dendritic moiety), increasing the chances to get an efficient multivalent interaction. Additionally, the 3D presentation of these ligands on 360° could better mimic the surface of pathogens such as HIV having more possibilities for encountering a receptor due to the symmetry of the multivalent system.

The biological activity of these compounds in a cellular infection model has been investigated, providing important information about the potential use of these new glycomimetics as antiviral agents. We studied hexakis-adducts with 12 and 36 mannoses, with different spacers between the fullerene and the sugar moieties.

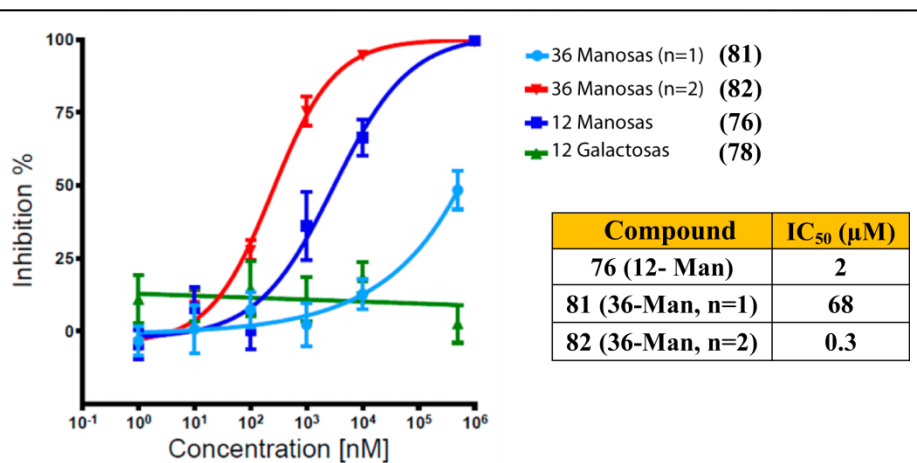


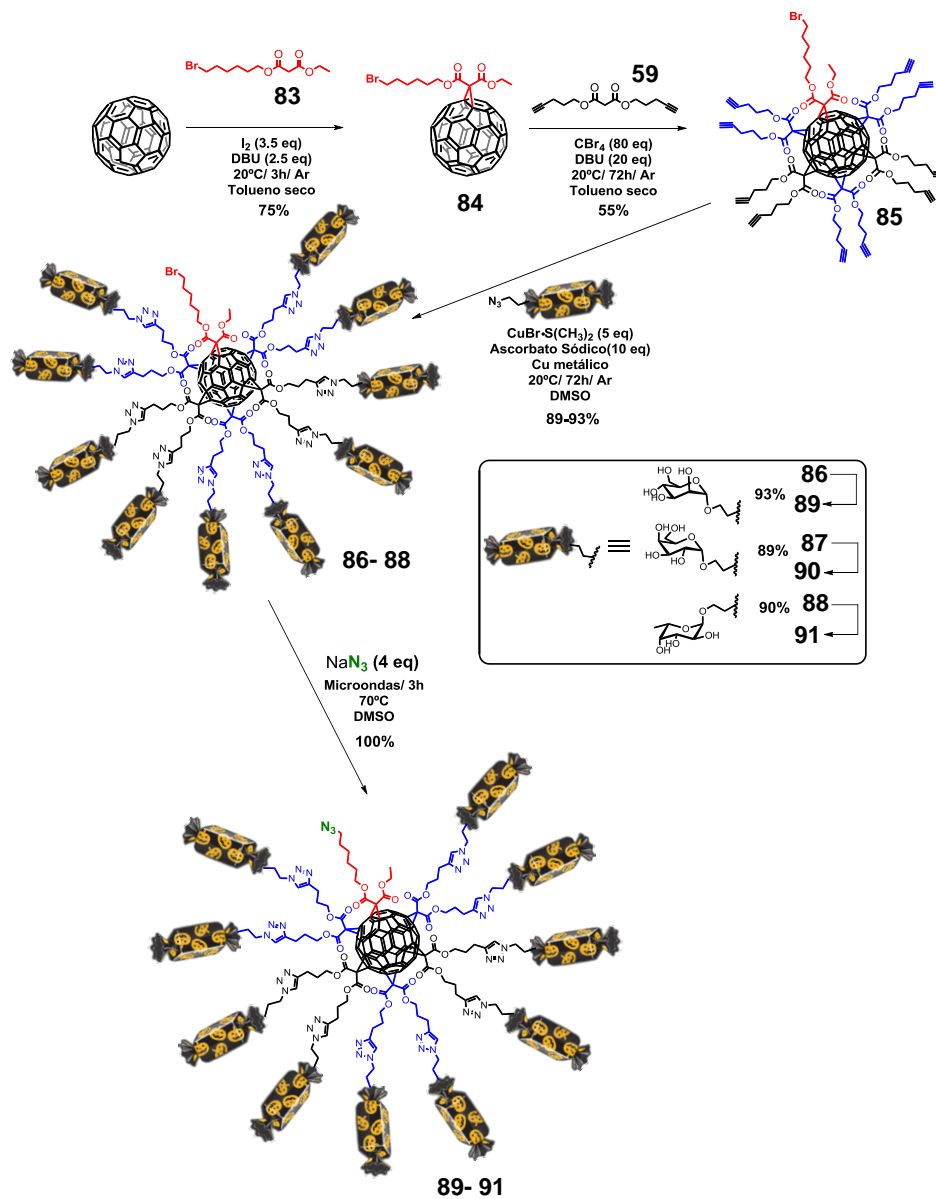
FIGURE 9. Viral inhibition profiles of several hexakis-adducts.

Mannosylated compounds **76** and **81** with different valency (12 and 36) showed an important decrease of activity with the increase of valency. Glycofullerene **76** with 12 mannoses showed an IC₅₀ of 2 μM, which is very promising; however, an unexpected result was obtained for the activity of the glycodendrofullerene **81** with 36 mannoses. The IC₅₀ found for this compound was 68 μM, that is, 34-fold less activity than the fullerene with 12 mannoses. In this case, the increase of the valency produced a decrease in the activity. The introduction of a longer spacer in glycodendrofullerene **82** has a very important effect, recovering the activity of this compound with an IC₅₀ around 0.3 μM, (more than 200-fold increase in comparison with glycodendrofullerene **81**, which is present in the same valency).

1.6. Synthesis of asymmetric hexakis-C₆₀ adducts

The synthesis of asymmetrically substituted hexakis-adducts, provides us with new building blocks for the preparation of hexakis-adducts with designed biological properties through the use of “Click-Chemistry”.

Scheme 5 shows the procedure for the synthesis of these “asymmetric fullerene sugar balls” in good yields. These derivatives have a new functionalizable position in “focal position” of the fullerene scaffold.



SCHEME 5. Hexakis-adducts asymmetrical synthesis.

Starting from this new building blocks (**89-91**) we have attached to the fullerene core singlet oxygen sensitizers, fluorophores, maleimides and biotin units for their bioconjugation to avidin and streptavidin.

1.7. Synthesis of new glycomimetics architectures for carbohydrate presentation

Starting from new hexaadducts with a new reactive position (**89-91**) we have synthesized derivatives of carbon nanotubes decorated with hexakis-adducts of fullerene and "giant fullerene sugar balls".

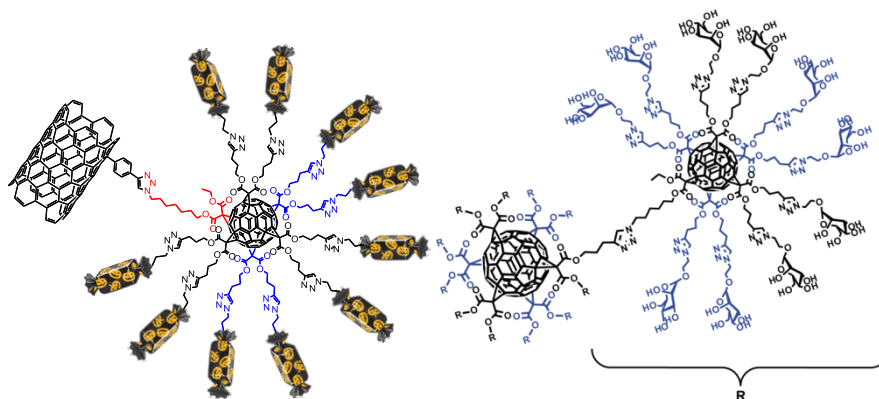


FIGURE 10. New architectures based on hexakis-adducts.

We have studied the potential application of these "superballs" as antiviral agents. The antiviral activity of these compounds in an Ebola pseudotyped infection model were in the low nanomolar range for derivatives with 120 mannoses ($IC_{50}=16.7$ nM), a very promising data.

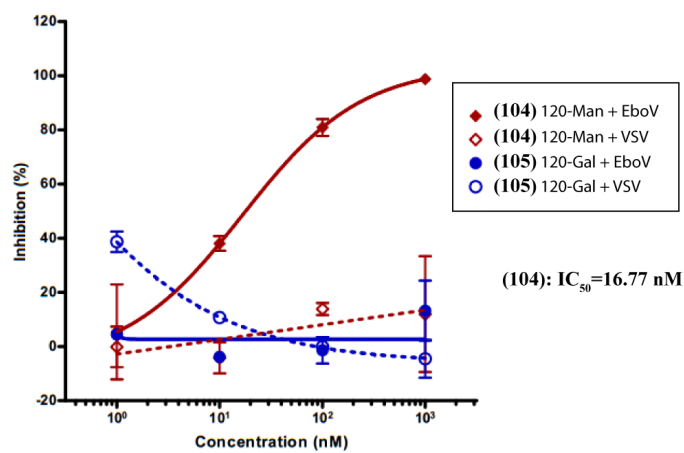
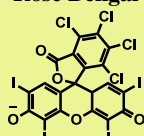
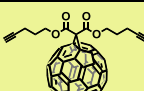
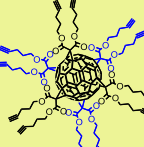
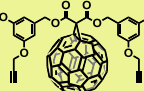
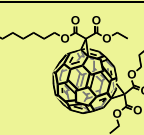


FIGURE 11. Viral inhibition profiles of 104 and the galactosilated negative control compound 105.

1.8. Photochemical properties of fullerenes as photosensitizers for singlet oxygen production

Different C₆₀ adducts have been studied to evaluate the quantum yield of singlet oxygen production. The results are shown in the table below.

TABLE 3. Results obtained for the generation of singlet oxygen photosensitizers using C₆₀ derivatives.

Sample	Quantum Yield $\Phi_{\Delta} \pm \text{Error}$	¹ O ₂ Lifetime $\tau_{\Delta} / \mu\text{s} \pm \text{Error}$	Deactivation Constant $k_{q\Delta}^{\text{Sens}} / \text{M}^{-1} \text{s}^{-1} \pm (\% \text{Error})$
Rose Bengal  (Reference)	0.80 ($\Phi_{\Delta} = 0.80$ en MeOH)	10.00 ± 0.82 ($\tau_{\Delta} = 10.0 \mu\text{s}$)	
C₆₀	1.06 ± 0.09 ($\Phi_{\Delta} = 0.96 \pm 0.04$ in benzene)	31.40 ± 0.48	4.06 × 10⁶ (± 5.3%)
 59	0.68 ± 0.05	30.79 ± 0.25	1.06 × 10⁷ (± 16.8%)
 72	0.15 ± 0.05	28.86 ± 1.51	3.18 × 10⁷ (± 17.2%)
 62	0.69 ± 0.12	30.91 ± 0.29	8.79 × 10⁶ (± 6.1%)
 84bis	0.67 ± 0.05	30,48 ± 0,44	1.89 × 10⁷ (± 6.4%)

Interestingly, we can conclude that the bis-adduct produces singlet oxygen as effectively than monoadducts. Furthermore hexakis-adduct can produce singlet oxygen with a quantum yield of 0.15, which could be interesting for biological uses.

Chapter 2: Objectives

2.1. Synthesis of functionalized hexaadducts with electroactive units derived from exTTF and TCAQ and study of their supramolecular interaction with carbon nanotubes and graphene.

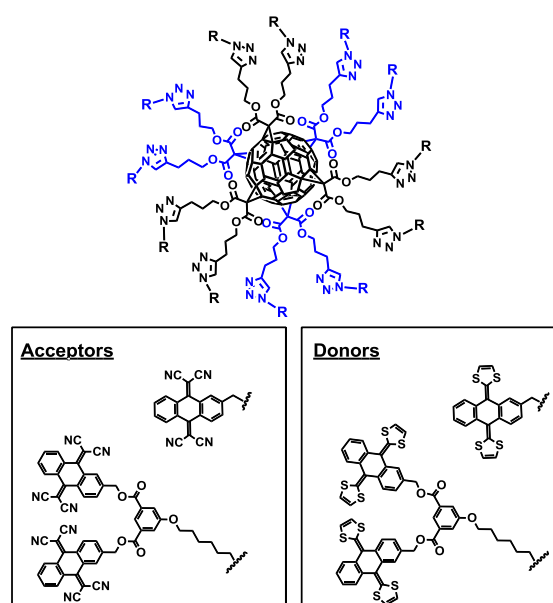


FIGURE 12. Electroactive hexakis-adducts

2. Self-assembled systems based on water soluble fullerenes.

We will synthesize fullerene monoadducts functionalized with dendrons of different sizes in order to obtain amphiphilic systems in which the fullerene constitutes the hydrophobic part of the molecule.

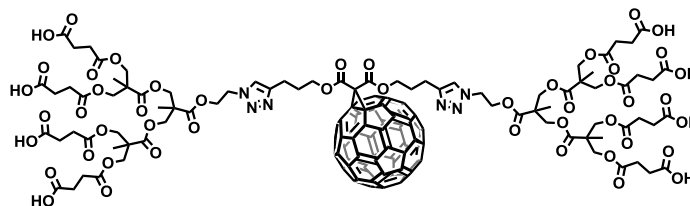


FIGURE 13. Amphiphilic dendrofullerene.

We will study the self-assembly characteristics or processes of these derivatives changing different parameters such as concentration, deposition surface or the polarity of solvents.

Chapter 2: Results

2.1. Synthesis of functionalized hexakis-adducts with electroactive units derived from exTTF and TCAQ and study of their supramolecular interaction with carbon nanotubes and graphene.

We have obtained functionalized hexakis-adducts with 12 and 24 electroactive moieties of TCAQ and exTTF. The TCAQ and exTTF units were attached to fullerene hexakis-adduct by “Click Chemistry” (CuAAC). The interaction between the obtained electroactive fullerenes and graphene was measured by UV-Vis titration and TGA.

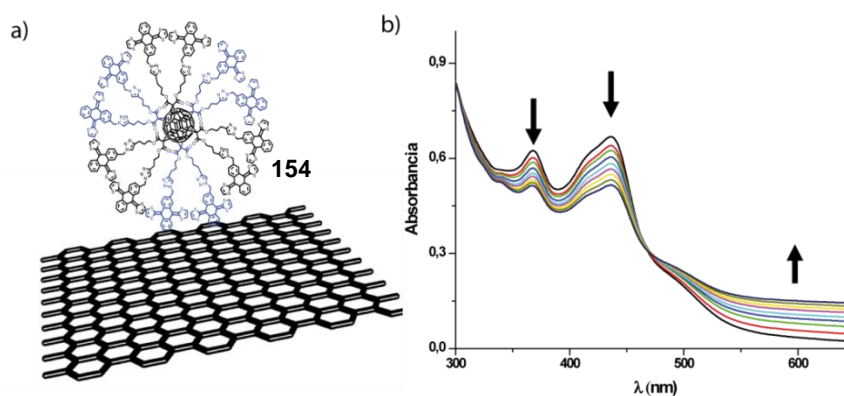


FIGURE 14. UV-Vis titration of electroactive hexakis-adduct 154 and graphene.

Electron microscopy studies such as TEM and SEM-FEG were performed, and we were able to observe the nanostructure of these supramolecular nanohybrids, as can be observed in Figure 15.

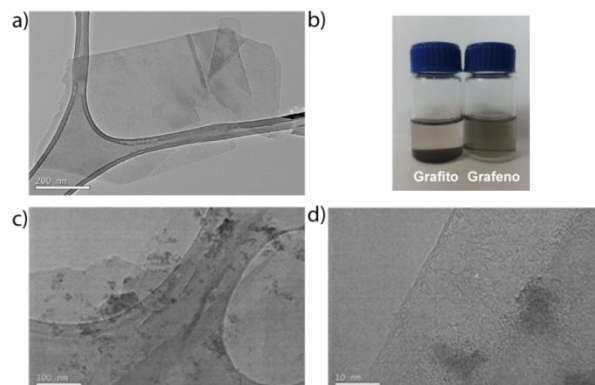


FIGURE 15. Nanocomposite 154-graphene observed in TEM.

Raman experiments allowed us to measure a shift in the G band around ~ 10 cm^{-1} , when comparing the functionalized nanostructure with unfunctionalized FLG flakes, which indicates that there is electron injection from the donor multivalent ligand to graphene sheets.

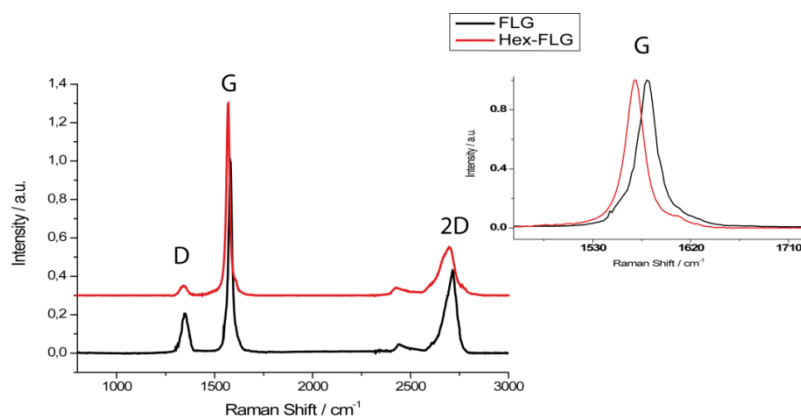


FIGURE 16. Raman Spectra for nano hybrid 154-graphene.

2.2. Self-assembly of amphiphilic dendrofullerenes

We have carried out the synthesis of new amphiphilic dendrofullerenes using the CuAAC click-chemistry methodology with azide substituted dendrons endowed with a variable number of carboxylic groups. The study of the aggregation behavior of such fullerene-based amphiphiles has shown the formation of nanorods, micelles, or vesicles depending on the nature of the

solid substrate employed for the deposition of the dendrimeric fullerene solutions or on the concentration of this solution.

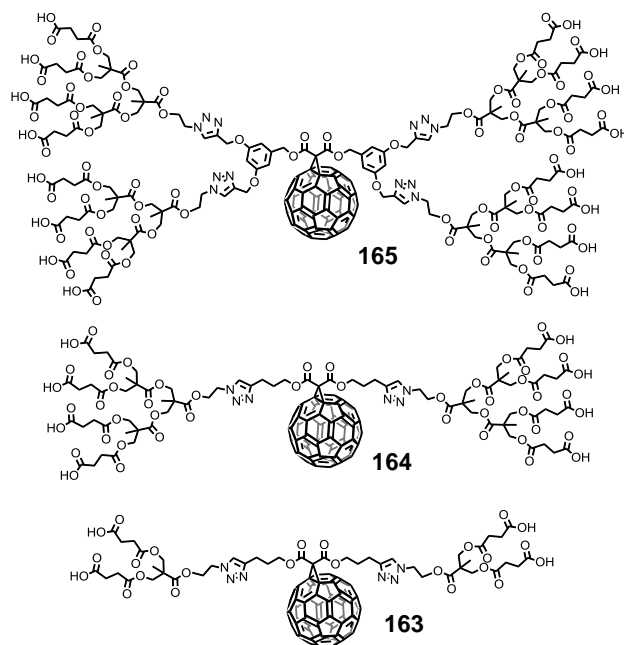


FIGURE 17. Different amphiphilic dendrofullerenes.

The aggregation behavior of new amphiphilic derivatives **163**, **164**, and **165** was investigated by AFM, SEM, TEM, SAXS, and XRD. To study the aggregation structures by AFM, water was added to a solution of **164** in THF (1.2×10^{-5} M) up to a ratio of THF/H₂O (v/v) 2/1. AFM for compound **164** was carried out on mica and on highly oriented pyrolytic graphite (HOPG). When **164** was deposited on mica, an extensive distribution of spherical aggregates was observed, with heights around 13–16 nm. Taking into account that the estimated size of one molecule is ~ 3.2 nm, it seems that a small number of molecules are aggregated to form micelles. Interestingly, when we deposited the above-mentioned solution on HOPG, the formation of some nanorods with average diameters around 3.3 and 6.6 nm and several micrometers in length was observed (Figure 18). These aggregates clearly present a rope-like structure and the found diameters are in agreement with the dimensions calculated for one or two of these dendrofullerenes. In fact, it can be observed that nanowires formed by only one molecule merge to form the two-molecule height rods.

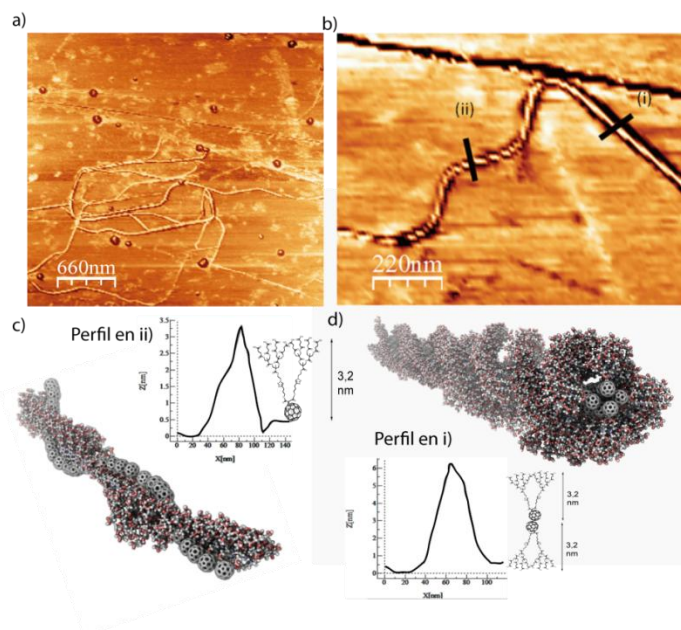


FIGURE 18. AFM profiles of compound **164** in THF/H₂O 2/1.

The formation of these rods is probably made feasible by the better interaction of the hydrophobic part of the molecule, that is, the fullerene moiety, with HOPG.

Scanning electron microscopy (SEM) analysis of a solution of dendrofullerenes (10^{-4} M) in THF/H₂O 2/1 on glass substrate showed the formation of vesicles in the case of **163** and **164**. It is interesting to note that the formation of these vesicles is more extensive for **164** than for **163**, while for **165** vesicles are not observed at all at this concentration. It could be explained by the bigger size of the hydrophilic part compared to the hydrophobic fullerene moiety in **165**, which probably prevents the formation of the spherical aggregates observed in the less concentrated solutions to find a more favorable interaction between the molecules.

To get a deeper understanding of the structure of these spherical particles, we characterized them by X-ray diffraction (XRD) and small-angle X-ray scattering (SAXS) (Figure 19). A sample prepared using the same method as in AFM and TEM analyses was employed for XRD characterization. The XRD pattern of **164** showed a broad peak at $2\theta = 8^\circ$, corresponding to a d spacing of ~ 1 nm. This distance fits well with the size of a molecule of fullerene, and

Summary

therefore, it could be accounted for by the disposition of fullerene molecules packed in contact with each other. In the scattering vector (q) obtained from SAXS we can see two scattering peaks at $q_1 = 0.47 \text{ nm}^{-1}$ and $q_2 = 0.95 \text{ nm}^{-1}$ which suggest a structure with a period of $d = 2\pi/q_{\text{max}} = 13.4 \text{ nm}$. This value is consistent with the size estimated for four molecules of **164**. The q_2 value observed corresponds to a distance of 6.6 nm, which indicates the presence of two molecules of dendrofullerene. These data suggest that the shell of the vesicles is probably formed by a multilamellar packing of the molecules where the bilayers interact through H-bonding between polar carboxylic acid groups.

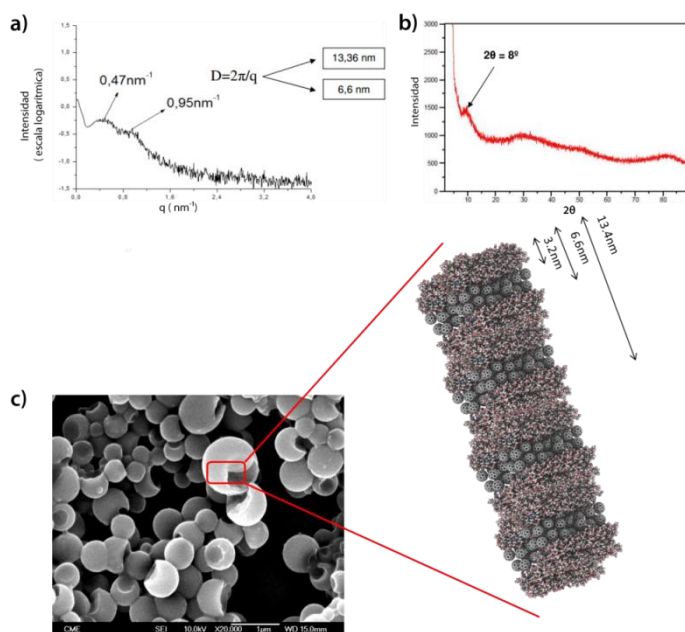


FIGURE 19. a) SAXS diffraction of **164** in solution THF/H₂O 10-4M. b) Powder Diffraction XRD of **164**. c) FEG-SEM image of the vesicles with a lamellar structure.

CONCLUSIONS

Chapter 1:

- We have optimized the procedure to obtain carbohydrates-fullerene conjugates by a “Click-Chemistry” protocol. This procedure has allowed us to obtain soluble derivatives in good yields, in few synthetic steps and avoiding the use of protecting groups.
- We have synthesized an alkyne functionalized hexakis-adducts of fullerene C₆₀ as a versatile building block for the construction of glycofullerenes with up to 36 sugar moieties.
- The interaction of these glycofullerenes with Concanavalin A (Con A) has been investigated through isothermal titration calorimetry (ITC). These studies have shown the potential of fullerenes as a platform for the multivalent presentation of ligands.
- The synthesis of asymmetric hexakis-adducts of fullerene has led to new derivatives with double functionalization. The azide functionalized glycofullerenes have been employed to decorate the surface of carbon nanotubes and form “giant fullerene sugar balls” with up to 120 sugar moieties.
- The antiviral activity of glycofullerenes has been investigated in an Ebola pseudotyped infection model. The inhibitory activity of these derivatives is very promising, with IC₅₀ values ranging from 0.3 μM for derivatives with 36 mannoses to 16.7 nM for the “giant fullerene sugar balls” with up to 120 mannoses.
- The generation of ¹O₂ by using some fullerene derivatives as photosensitizers has been investigated. We have concluded that bisadducts of C₆₀ are as efficient as monoadducts in the generation of ¹O₂. Hexakis-adducts of C₆₀ are also able to generate ¹O₂. This finding could be important for the biological application of hexakis-adducts of fullerene.

Chapter 2:

- We have synthesized hexakis-adducts of fullerene modified with electroactive moieties of electron acceptor TCAQ and electron donor exTTF by using the CuAAC “Click-Chemistry” approach.

Summary

- The supramolecular interaction of these hexakis-adducts with graphene has been investigated. The multivalent effect has allowed the formation of aggregates which have been characterized by different techniques. Raman experiments have demonstrated charge-transfer interaction between the exTTF hexakis-adduct **154** and graphene.
- The synthesis of new amphiphilic fullerene monoadducts has been efficiently carried out by “Click-Chemistry” methodology, obtaining soluble derivatives with 4, 8 and 16 carboxylic acids.
- The aggregation behaviour of these derivatives has been investigated under different conditions. Modifications of some parameters, such as concentration or deposition surface, gives rise to different morphologies of the supramolecular assemblies, varying from micelles, nanorods or hollow vesicles.

Bibliografía

Referencias Bibliográficas

- [1] A. C. Dillon, "Carbon Nanotubes for Photoconversion and Electrical Energy Storage", *Chem. Rev.*, **2010**, *110*, 6856.
- [2] D. L. Wang, H. L. L. Xin, R. Hovden, H. S. Wang, Y. C. Yu, D. A. Muller, F. J. DiSalvo, H. D. Abruna, "Structurally ordered intermetallic platinum-cobalt core-shell nanoparticles with enhanced activity and stability as oxygen reduction electrocatalysts", *Nat. Mater.*, **2013**, *12*, 81.
- [3] J. Oliver-Meseguer, J. R. Cabrero-Antonino, I. Domínguez, A. Leyva-Pérez, A. Corma, "Small Gold Clusters Formed in Solution Give Reaction Turnover Numbers of 10^7 at Room Temperature", *Science*, **2012**, *338*, 1452.
- [4] C. Y. Lin, Y. H. Lai, D. Mersch, E. Reisner, "Cu₂O vertical bar NiO_x nanocomposite as an inexpensive photocathode in photoelectrochemical water splitting", *Chem. Sci.*, **2012**, *3*, 3482.
- [5] T. N. Veziroglu, "Conversion to Hydrogen Economy", *Energy Proced.*, **2012**, *29*, 654.
- [6] H. W. Kroto, J. R. Heath, S. C. O'Brien, R. F. Curl, R. E. Smalley, "C₆₀: Buckminsterfullerene", *Nature*, **1985**, *318*, 162.
- [7] S. Iijima, "Helical Microtubules of Graphitic Carbon", *Nature*, **1991**, *354*, 56.
- [8] K. S. Novoselov, A. K. Geim, S. V. Morozov, D. Jiang, Y. Zhang, S. V. Dubonos, I. V. Grigorieva, A. A. Firsov, "Electric field effect in atomically thin carbon films", *Science*, **2004**, *306*, 666.
- [9] Z. He, C. Zhong, S. Su, M. Xu, H. Wu, Y. Cao, "Enhanced power-conversion efficiency in polymer solar cells using an inverted device structure", *Nat. Photon.*, **2012**, *6*, 593.
- [10] N. Sakai, R. Bhosale, D. Emery, J. Mareda, S. Matile, "Supramolecular n/p-Heterojunction Photosystems with Antiparallel Redox Gradients in Electron- and Hole-Transporting Pathways", *J. Am. Chem. Soc.*, **2010**, *132*, 6923.
- [11] C. Winder, N. S. Sariciftci, "Low bandgap polymers for photon harvesting in bulk heterojunction solar cells", *J. Mater. Chem.*, **2004**, *14*, 1077.
- [12] J. H. Burroughes, D. D. C. Bradley, A. R. Brown, R. N. Marks, K. Mackay, R. H. Friend, P. L. Burns, A. B. Holmes, "Light-emitting diodes based on conjugated polymers", *Nature*, **1990**, *347*, 539.
- [13] A. Aviram, M. A. Ratner, "Molecular rectifiers", *Chem. Phys. Lett.*, **1974**, *29*, 277.
- [14] S. K. Lee, R. Yamada, S. Tanaka, G. S. Chang, Y. Asai, H. Tada, "Universal Temperature Crossover Behavior of Electrical Conductance in a Single Oligothiophene Molecular Wire", *ACS Nano*, **2012**, *6*, 5078.

Bibliografía

- [15] E. Braun, Y. Eichen, U. Sivan, G. Ben-Yoseph, "DNA-Templated Assembly and Electrode Attachment of a Conducting Silver Wire", *Nature*, **1998**, *391*, 775.
- [16] N. Robertson, C. A. McGowan, "A comparison of potential molecular wires as components for molecular electronics", *Chem. Soc. Rev.*, **2003**, *32*, 96.
- [17] A. D. Franklin, M. Luisier, S.-J. Han, G. Tulevski, C. M. Breslin, L. Gignac, M. S. Lundstrom, W. Haensch, "Sub-10 nm Carbon Nanotube Transistor", *Nano Lett.*, **2012**, *12*, 758.
- [18] D. Li, S. Song, C. Fan, "Target-Responsive Structural Switching for Nucleic Acid-Based Sensors", *Acc. Chem. Res.*, **2010**, *43*, 631.
- [19] P. Wu, X.-P. Yan, "Doped quantum dots for chemo/biosensing and bioimaging", *Chem. Soc. Rev.*, **2013**, *42*, 5489.
- [20] S. Laurent, D. Forge, M. Port, A. Roch, C. Robic, L. V. Elst, R. N. Muller, "Magnetic Iron Oxide Nanoparticles: Synthesis, Stabilization, Vectorization, Physicochemical Characterizations, and Biological Applications", *Chem. Rev.*, **2008**, *108*, 2064.
- [21] R. Voggu, K. V. Rao, S. J. George, C. N. R. Rao, "A Simple Method of Separating Metallic and Semiconducting Single-Walled Carbon Nanotubes Based on Molecular Charge Transfer", *J. Am. Chem. Soc.*, **2010**, *132*, 5560.
- [22] Y. Tomonari, H. Murakami, N. Nakashima, "Solubilization of Single-Walled Carbon Nanotubes by using Polycyclic Aromatic Ammonium Amphiphiles in Water—Strategy for the Design of High-Performance Solubilizers", *Chem. Eur. J.*, **2006**, *12*, 4027.
- [23] R. Haag, F. Kratz, "Polymer Therapeutics: Concepts and Applications", *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2006**, *45*, 1198
- [24] a) E. Soussan, S. Cassel, M. Blanzat, I. Rico-Lattes, "Drug Delivery by Soft Matter: Matrix and Vesicular Carriers", *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2009**, *48*, 274 ; b) Y. Min, M. Akbulut, K. Kristiansen, Y. Golan, J. Israelachvili, "The role of interparticle and external forces in nanoparticle assembly.", *Nat. Mater.*, **2008**, *7*, 527.
- [25] I. V. Tetko, P. Bruneau, H. W. Mewes, D. C. Rohrer, G. I. Poda, "Can we estimate the accuracy of ADME-Tox predictions?", *Drug. Discov. Today*, **2006**, *11*, 700.
- [26] a) V. R. Devadasu, V. Bhardwaj, M. N. V. R. Kumar, "Can Controversial Nanotechnology Promise Drug Delivery?", *Chem. Rev.*, **2013**, *113*, 1686; b) J. B. Matson, S. I. Stupp, "Self-assembling peptide scaffolds for regenerative medicine", *Chem. Commun.*, **2012**, *48*, 26.
- [27] a) K. Sakurada, F. M. McDonald, F. Shimada, "Regenerative Medicine and Stem Cell Based Drug Discovery", *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2008**, *47*, 5718; b) M. J. Webber, J. Tongers, C. J. Newcomb, K.-T. Marquardt, J. Bauersachs, D. W. Losordo, S. I. Stupp, "Supramolecular nanostructures that mimic VEGF as a strategy for ischemic tissue repair", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **2011**, *109*, 1.

- [28] a) E. S. Fioretta, J. O. Fledderus, E. A. Burakowska-Meise, F. P. T. Baaijens, M. C. Verhaar, C. V. C. Bouten, "Polymer-based Scaffold Designs For In Situ Vascular Tissue Engineering: Controlling Recruitment and Differentiation Behavior of Endothelial Colony Forming Cells", *Macromol. Biosci.*, **2012**, *12*, 577; b) G. Perale, F. Rossi, E. Sundstrom, S. Bacchiaga, M. Masi, G. Forloni, P. Veglianese, "Hydrogels in Spinal Cord Injury Repair Strategies", *ACS Chem. Neurosci.*, **2011**, *2*, 336; c) T. G. Kim, H. Shin, D. W. Lim, "Biomimetic Scaffolds for Tissue Engineering", *Adv. Funct. Mater.*, **2012**, *22*, 2446.
- [29] a) A. Irure, M. Marradi, B. Arnaiz, N. Genicio, D. Padro, S. Penades, "Sugar/gadolinium-loaded gold nanoparticles for labelling and imaging cells by magnetic resonance imaging", *Biomater. Sci.*, **2013**; b) K. El-Boubbou, D. C. Zhu, C. Vasileiou, B. Borhan, D. Prosperi, W. Li, X. Huang, "Magnetic glyco-nanoparticles: a tool to detect, differentiate, and unlock the glyco-codes of cancer via magnetic resonance imaging", *J. Am. Chem. Soc.*, **2010**, *132*, 4490.
- [30] R. Jelinek, S. Kolusheva, "Carbohydrate Biosensors", *Chem. Rev.*, **2004**, *104*, 5987.
- [31] a) C. Fasting, C. A. Schalley, M. Weber, O. Seitz, S. Hecht, B. Kokschi, J. Dervede, C. Graf, E.-W. Knapp, R. Haag, "Multivalency as a Chemical Organization and Action Principle", *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2012**, *51*, 10472; b) M. Mammen, S.-K. Choi, G. M. Whitesides, "Polyvalent Interactions in Biological Systems: Implications for Design and Use of Multivalent Ligands and Inhibitors", *Angew. Chem. Int. Ed.*, **1998**, *37*, 2754.
- [32] a) R. Roy, D. Zanini, S. J. Meunier, A. Romanowska, "Solid-phase synthesis of dendritic sialoside inhibitors of influenza A virus haemagglutinin", *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1993**, 1869; b) N. C. Reichardt, M. Martín-Lomas, S. Penadés, "Glyconanotechnology", *Chem. Soc. Rev.*, **2013**, *42*, 4358
- [33] T. D. Ros, M. Prato, "Medicinal chemistry with fullerenes and fullerene derivatives", *Chem. Commun.*, **1999**, 663.
- [34] a) J. L. Atwood, G. A. Koutsantonis, C. L. Raston, "Purification of C₆₀ and C₇₀ by selective complexation with calixarenes", *Nature*, **1994**, *368*, 229; b) T. Suzuki, K. Nakashima, S. Shinkai, "Very Convenient and Efficient Purification Method for Fullerene (C₆₀) with 5,11,17,23,29,35,41,47-Octa-tert-butylcalix(8)arene-49,50,51,52,53,54,55,56-octol.", *Chem. Lett.*, **1994**, 699.
- [35] a) T. Anderson, K. Nilsson, M. Sundahl, G. Westman, O. Wennerstrom, "C₆₀ embedded in γ -cyclodextrin: a water-soluble fullerene", *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1992**, 604; b) N. Martín, "Two experiments that impacted the fate of fullerenes", *Chem. Commun.*, **2013**, *49*, 1039.
- [36] M. Schulz, A. Olubummo, W. H. Binder, "Beyond the lipid-bilayer: interaction of polymers and nanoparticles with membranes", *Soft Matter*, **2012**, *8*, 4849.
- [37] R. S. Ruoff, D. S. Tse, R. Malhotra, D. C. Lorents, "Solubility of fullerene C₆₀ in a variety of solvents", *J. Phys. Chem.*, **1993**, *97*, 3379.
- [38] L. Chiang, R. Upasani, J. Seirczewski, "Versatile nitronium chemistry for C₆₀ fullerene functionalization.", *J. Am. Chem. Soc.*, **1992**, *114*, 10154.

Bibliografía

- [39] J.-M. Zhang, W. Yang, P. He, S.-S. Zhu, "Efficient and Convenient Preparation of Water-Soluble Fullerenol", *Chin. J. Chem.*, **2004**, 22, 1008.
- [40] M. Brettreich, A. Hirsch, "A highly water-soluble dendro[60]fullerene.", *Tetrahedron Lett.*, **1998**, 39, 2731.
- [41] E. Nakamura, H. Isobe, "In vitro and in vivo gene delivery with tailor-designed aminofullerenes", *Chem. Rec.*, **2010**, 10, 260.
- [42] a) A. S. Boutorine, H. Tokuyama, M. Takasugi, H. Isobe, E. Nakamura, C. Helene, "Fullerene - Oligonucleotide Conjugates : Photo-induced Sequence-Specific DNA Cleavage", *Angew. Chem. Int. Ed.*, **1994**, 33, 2462; b) Y. Z. An, C. H. B. Chen, J. L. Anderson, D. S. Sigman, C. S. Foote, Y. Rubin, "Sequence-specific modification of guanosine in DNA by a C₆₀-linked deoxyoligonucleotide: Evidence for a non-singlet oxygen mechanism.", *Tetrahedron*, **1996**, 52, 5179.
- [43] a) M. Bergamin, T. D. Ros, G. Spalluto, A. Boutorine, M. Prato, "Synthesis of a hybrid fullerene-trimethoxyindole-oligonucleotide conjugate", *Chem. Commun.*, **2001**, 17; b) T. D. Ros, M. Bergamin, E. Vazquez, G. Spalluto, B. Baiti, S. Moro, A. Boutorine, M. Prato, "Synthesis and Molecular Modeling Studies of Fullerene-5,6,7-Trimethoxyindole-Oligonucleotide Conjugates as Possible Probes for Study of Photochemical Reactions in DNA Triple Helices", *Eur. J. Org. Chem.*, **2002**, 405.
- [44] R. J. Brea, L. Castedo, J. R. Granja, M. Á. Herranz, L. Sánchez, N. Martín, W. Seitz, D. M. Guldi, "Electron transfer in Me-blocked heterodimeric α,γ -peptide nanotubular donor-acceptor hybrids", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **2007**, 104, 5291.
- [45] D. Pantarotto, A. Bianco, F. Pellarini, A. Tossi, A. Giangaspero, I. Zelezetsky, J. P. Briand, M. Prato, "Solid-Phase Synthesis of Fullerene-peptides", *J. Am. Chem. Soc.*, **2002**, 124, 12543.
- [46] a) A. Ruiz, J. Coro, L. Almagro, J. A. Ruiz, D. Molero, E. E. Maroto, S. Filippone, M. Á. Herranz, R. Martínez-Álvarez, J. C. Sancho-García, F. D. Meo, M. Suárez, N. Martín, "Diastereoselective Synthesis of C₆₀/Steroid Conjugates", *J. Org. Chem.*, **2013**, 78, 2819; b) D. MacFarland, J. Zhang, Z. Zhou, R. P. Lenk, S. R. Wilson, *U.S. Pat. Appl. US.*, **2008**, 20080214514 A1 20080904.
- [47] S. Tanimoto, S. Sakai, S. Matsumura, D. Takahashi, K. Toshima, "Target-selective photo-degradation of HIV-1 protease by a fullerene-sugar hybrid.", *Chem. Commun.*, **2008**, 5767.
- [48] T. Grosser, M. Prato, V. Lucchini, A. Hirsch, F. Wudl, "Ring Expansion of the Fullerene Core by Highly Regioselective Formation of Diazafulleroids", *Angew. Chem. Int. Ed.*, **1995**, 34, 1343.
- [49] H. Kato, C. Böttcher, A. Hirsch, "Sugar Balls: Synthesis and Supramolecular Assembly of [60]Fullerene Glycoconjugates", *Eur. J. Org. Chem.*, **2007**, 2659.
- [50] H. C. Kolb, M. G. Finn, K. B. Sharpless, "Click Chemistry: Diverse Chemical Function from a Few Good Reactions", *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2001**, 40, 2004.

- [51] R. Huisgen, *1,3-Dipolar Cycloadditional Chemistry*, **1984**, (Ed. A. Padwa), Wiley, New York.
- [52] a) F. Himo, T. Lovell, R. Hilgraf, V. V. Rostovtsev, L. Noodleman, K. B. Sharpless, V. V. Fokin, "Copper(I)-Catalyzed Synthesis of Azoles. DFT Study Predicts Unprecedented Reactivity and Intermediates", *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, *127*, 210; b) V. V. Rostovtsev, L. G. Green, V. V. Fokin, K. B. Sharpless, "A Stepwise Huisgen Cycloaddition Process: Copper(I)-Catalyzed Regioselective "Ligation" of Azides and Terminal Alkynes.", *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2002**, *41*, 2596.
- [53] N. F. Steinmetz, V. Hong, E. D. Spoerke, P. Lu, K. Breitenkamp, M. G. Finn, M. Manchester, "Buckyballs Meet Viral Nanoparticles: Candidates for Biomedicine", *J. Am. Chem. Soc.*, **2009**, *131*, 17093.
- [54] a) C. D. Doyle, J. M. Tour, "Environmentally friendly functionalization of single walled carbon nanotubes in molten urea", *Carbon*, **2009**, *47*, 3215 ; b) C. A. Dyke, J. M. Tour, "Unbundled and Highly Functionalized Carbon Nanotubes from Aqueous Reactions", *Nano Lett.*, **2003**, *3*, 1215 ; c) C. A. Dyke, J. M. Tour, "Solvent-free functionalization of carbon nanotubes", *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, *125*, 1156 ; d) J. L. Bahr, J. M. Tour, "Highly functionalized carbon nanotubes using in situ generated diazonium compounds", *Chem. Mater.*, **2001**, *13*, 3823
- [55] G. Tuci, C. Vinattieri, L. Luconi, M. Ceppatelli, S. Cicchi, A. Brandi, J. Filippi, M. Melucci, G. Giambastiani, "'Click" on Tubes: a Versatile Approach towards Multimodal Functionalization of SWCNTs", *Chem. Eur. J.*, **2012**, *18*, 8454.
- [56] Z. Jin, T. P. McNicholas, C.-J. Shih, Q. H. Wang, G. L. C. Paulus, A. J. Hilmer, S. Shimizu, M. S. Strano, "Click Chemistry on Solution-Dispersed Graphene and Monolayer CVD Graphene", *Chem. Mater.*, **2011**, *23*, 3362.
- [57] a) R. Hoogenboom, "Thiol–Yne Chemistry: A Powerful Tool for Creating Highly Functional Materials", *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2010**, *49*, 3415 ; b) G. Franc, A. K. Kakkar, "'Click" methodologies: efficient, simple and greener routes to design dendrimers", *Chem. Soc. Rev.*, **2010**, *39*, 1536; c) K. L. Killops, L. M. Campos, C. J. Hawker, "Robust, Efficient, and Orthogonal Synthesis of Dendrimers via Thiol-ene "Click" Chemistry", *J. Am. Chem. Soc.*, **2008**, *130*, 5062; d) A. B. Lowe, "Thiol-ene "click" reactions and recent applications in polymer and materials synthesis", *Polym. Chem.*, **2010**, *1*, 17.
- [58] Z. J. Witczak, R. Bielski, *Click Chemistry in Glycoscience: New Developments and Strategies.*, **2013**, John Wiley & Sons Inc.
- [59] J. Iehl, J.-F. Nierengarten, "Sequential copper catalyzed alkyne–azide and thiol–ene click reactions for the multiple functionalization of fullerene hexaadducts", *Chem. Commun.*, **2010**, *46*, 4160.
- [60] P. Gobbo, M. C. Biesinger, M. S. Workentin, "Facile synthesis of gold nanoparticle (AuNP)–carbon nanotube (CNT) hybrids through an interfacial Michael addition reaction", *Chem. Commun.*, **2013**, *49*, 2831.

Bibliografía

- [61] A. Sánchez, E. Pedroso, A. Grandas, "Maleimide-Dimethylfuran exo Adducts: Effective Maleimide Protection in the Synthesis of Oligonucleotide Conjugates", *Org. Lett.*, **2011**, *13*, 4364.
- [62] S. H. Friedman, D. L. DeCamp, R. P. Sijbesma, G. Srdanov, F. Wudl, G. L. Kenyon, "Inhibition of the HIV-1 protease by fullerene derivatives: model building studies and experimental verification", *J. Am. Chem. Soc.*, **1993**, *115*, 6506.
- [63] a) E. Nakamura, H. Tokuyama, S. Yamago, T. Shiraki, Y. Sugiura, "Biological activity of water-soluble fullerenes. Structural dependence of DNA cleavage, cytotoxicity and enzyme inhibitory activities.", *Bull. Soc. Chem. Jpn.*, **1996**, *69*, 2143; b) M. Calvaresi, F. Zerbetto, "Baiting Proteins with C₆₀", *ACS Nano*, **2010**, *4*, 2283.
- [64] H. Tzoupis, G. Leonis, S. Durdagi, V. Mouchlis, T. Mavromoustakos, M. G. Papadopoulos, "Binding of novel fullerene inhibitors to HIV-1 protease: insight through molecular dynamics and molecular mechanics Poisson–Boltzmann surface area calculations.", *J. Comput. Aided. Mol. Des.*, **2011**, *25*, 959.
- [65] D. I. Schuster, S. R. Wilson, A. N. Kirschner, R. F. Schinazi, S. Schlueter-Wirtz, P. Tharnish, T. Barnett, J. Ermolieff, J. Tang, M. Brettreich, A. Hirsch, "Evaluation of the anti-HIV potency of a water-soluble dendrimeric fullerene.", *Proc. Electrochem. Soc.*, **2000**, *11*, 267.
- [66] S. Marchesan, T. D. Ros, G. Spalluto, J. Balzarini, M. Prato, "Anti-HIV properties of cationic fullerene derivatives", *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2005**, *15*, 3615.
- [67] a) S. Tanimoto, D. Takahashi, K. Toshima, "Chemical methods for degradation of target proteins using designed light-activatable organic molecules", *Chem. Commun.*, **2012**, *48*, 7659; b) S. Tanimoto, S. Sakai, E. Kudo, S. Okada, S. Matsumura, D. Takahashi, K. Toshima, "Target-Selective Photodegradation of HIV-1 Protease and Inhibition of HIV-1 Replication in Living Cells by Designed Fullerene–Sugar Hybrids", *Chem. Asian J.*, **2012**, *7*, 911
- [68] Y. J. Tang, J. M. Ashcroft, D. Chen, G. Min, C.-H. Kim, B. Murkhejee, C. Larabell, J. D. Keasling, F. F. Chen, "Charge-Associated Effects of Fullerene Derivatives on Microbial Structural Integrity and Central Metabolism", *Nano Lett.*, **2007**, *7*, 754.
- [69] a) M. Durka, K. Buffet, J. Iehl, M. Holler, J.-F. Nierengarten, J. Taganna, J. Bouckaert, S. P. Vincent, "The functional valency of dodecamannosylated fullerenes with *Escherichia coli* FimH—towards novel bacterial antiadhesives", *Chem. Commun.*, **2011**, *47*, 1321; b) P. Compain, C. Decroocq, J. Iehl, M. Holler, Damien Hazelard, T. M. Barragan, C. O. Mellet, J.-F. Nierengarten, "Glycosidase Inhibition with Fullerene Iminosugar Balls: A Dramatic Multivalent Effect", *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2010**, *49*, 5753
- [70] K. Kurotobi, Y. Murata, "A Single Molecule of Water Encapsulated in Fullerene C₆₀", *Science*, **2011**, *333*, 613.
- [71] T. Grobner, F. C. Prischl, "Gadolinium and nephrogenic systemic fibrosis.", *Kidney Int.*, **2007**, *72*, 260.

- [72] F. Cataldo, T. D. Ros, "Chapter 8: Gadolinium Endohedral Metallofullerene-Based MRI Contrast Agents", *Medicinal Chemistry and Pharmacological Potential of Fullerenes and Carbon Nanotubes.*, **2008**, Springer Science + Business Media.
- [73] Z. Chen, L. Ma, Y. Liu, C. Chen, "Applications of Functionalized Fullerenes in Tumor Theranostics", *Theranostics*, **2012**, *2*, 238.
- [74] S.-g. Kang, G. Zhou, P. Yang, Y. Liu, B. Sun, T. Huynh, H. Meng, L. Zhao, G. Xing, C. Chen, Y. Zhao, R. Zhou, "Molecular mechanism of pancreatic tumor metastasis inhibition by Gd@C₈₂(OH)₂₂ and its implication for de novo design of nanomedicine", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **2012**, *109*, 15431.
- [75] a) J. Meng, X. Liang, X. Chen, Y. Zhao, "Biological characterizations of [Gd@C₈₂(OH)₂₂]_n nanoparticles as fullerene derivatives for cancer therapy", *Integr. Biol.*, **2013**, *5*, 43; b) D. Yang, Y. Zhao, H. Guo, Y. Li, P. Tewary, G. Xing, W. Hou, J. J. Oppenheim, N. Zhang, "[Gd@C₈₂(OH)₂₂]_n Nanoparticles Induce Dendritic Cell Maturation and Activate Th1 Immune Responses", *ACS Nano*, **2010**, *4*, 1178; c) Y. Liu, F. Jiao, Y. Qiu, "The effect of Gd@C₈₂(OH)₂₂ nanoparticles on the release of Th1/Th2 cytokines and induction of TNF-alpha mediated cellular immunity.", *Biomaterials.*, **2009**, *30*, 3934; d) C. Chen, G. Xing, J. Wang, Y. Zhao, B. Li, J. Tang, G. Jia, T. Wang, J. Sun, L. Xing, H. Yuan, Y. Gao, H. Meng, Z. Chen, F. Zhao, Z. Chai, X. Fang, "Multihydroxylated [Gd@C₈₂(OH)₂₂]_n Nanoparticles: Antineoplastic Activity of High Efficiency and Low Toxicity", *Nano Lett.*, **2005**, *5*, 2050; e) H. Meng, G. Xing, B. Sun, F. Zhao, H. Lei, W. Li, Y. Song, Z. Chen, H. Yuan, X. Wang, J. Long, C. Chen, X. Liang, N. Zhang, Z. Chai, Y. Zhao, "Potent Angiogenesis Inhibition by the Particulate Form of Fullerene Derivatives", *ACS Nano*, **2010**, *4*, 2773.
- [76] L. Y. Chiang, L.-Y. Wang, J. W. Swirczewski, S. Soled, S. Cameron, "Efficient Synthesis of Polyhydroxylated Fullerene Derivatives via Hydrolysis of Polycyclosulfated Precursors", *J. Org. Chem.*, **1994**, *59*, 3960.
- [77] N. Gharbi, M. Pressac, M. Hadchouel, H. Szwarc, S. R. Wilson, F. Moussa, "[60]Fullerene is a Powerful Antioxidant in Vivo with No Acute or Subacute Toxicity", *Nano Lett.*, **2005**, *5*, 2578.
- [78] F. Beuerle, N. Chronakis, A. Hirsch, "Regioselective synthesis and zone selective deprotection of [60]fullerene tris-adducts with an e,e,e addition pattern", *Chem. Commun.*, **2005**, 3676.
- [79] S. S. Ali, J. Hardt, K. L. Quick, J. S. Kim-Han, B. F. Erlanger, T. T. Huang, C. J. Epstein, L. L. Dugan, "A biologically effective fullerene (C₆₀) derivative with superoxide dismutase mimetic properties.", *Free Radical Biol. Med.*, **2004**, *37*.
- [80] a) L. L. Dugan, D. M. Turetsky, C. Du, D. Lobner, M. Wheeler, C. R. Almlı, C. K.-F. Shen, T.-Y. Luh, D. W. Choi, T.-S. Lin, "Carboxyfullerenes as neuroprotective agents", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1997**, *94*, 9434; b) M. D. Tzirakis, M. Orfanopoulos, "Radical Reactions of Fullerenes: From Synthetic Organic Chemistry to Materials Science and Biology", *Chem. Rev.*, **2013**, *113*, 5262; c) A. Kahnt, D. M. Guldi, M. Brettreich, U. Hartnagel, A. Hirsch, "Reaction of water-soluble fullerenes with O₂⁻ and other reactive radical species", *J. Mater. Chem.*, **2010**, *20*, 83.

Bibliografía

- [81] a) L. Xiao, H. Takada, X. H. Gan, N. Miwa, "The water-soluble fullerene derivative "Radical Sponge" exerts cytoprotective action against UVA irradiation but not visible-light-catalyzed cytotoxicity in human skin keratinocytes.", *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2006**, *16*, 1590; b) H. Aoshima, S. Yamana, S. Nakamura, T. Mashino, "Biological safety of water-soluble fullerenes evaluated using tests for genotoxicity, phototoxicity, and pro-oxidant activity", *J. Toxicol. Sci.*, **2010**, *35*, 401; c) L. Xiao, H. Takada, K. Maeda, M. Haramoto, N. Miwa, "Antioxidant effects of water-soluble fullerene derivatives against ultraviolet ray or peroxy lipid through their action of scavenging the reactive oxygen species in human skin keratinocytes.", *Biomed. Pharmacother.*, **2005**, *59*, 351.
- [82] S. Kato, H. Aoshima, Y. Saitoh, N. Miwa, "Fullerene-C₆₀ incorporated in liposome exerts persistent hydroxyl radical-scavenging activity and cytoprotection in UVA/B-irradiated keratinocytes", *J. Nanosci. Nanotechnol.*, **2011**, *11*, 3814.
- [83] H. Lodish, A. Berk, S. L. Zipursky, P. Matsudaira, D. Baltimore, J. Darnell, *Molecular Cell Biology*, **2000**, W.H. Freeman & Co., New York, 5th edn.
- [84] P. L. Felgner, T. R. Gadek, M. Holm, R. Roman, H. W. Chan, M. Wenz, J. P. Northrop, G. M. Ringold, M. Danielsen, "Lipofection: a highly efficient, lipid-mediated DNA-transfection procedure.", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **1987**, *84*, 7413.
- [85] A. Montellano, T. D. Ros, A. Bianco, M. Prato, "Fullerene C₆₀ as a multifunctional system for drug and gene delivery", *Nanoscale*, **2011**, *3*, 4035.
- [86] D. Sigwalt, M. Holler, J. Iehl, J.-F. Nierengarten, M. Nothisen, E. Morin, J.-S. Remy, "Gene delivery with polycationic fullerene hexakis-adducts", *Chem. Commun.*, **2011**, *47*, 4640.
- [87] R. Maeda-Mamiya, E. Noiri, H. Isobe, W. Nakanishic, K. Okamoto, K. Doi, T. Sugaya, T. Izumi, T. Homma, E. Nakamura, "In vivo gene delivery by cationic tetraamino fullerene", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **2010**, *107*, 5339.
- [88] a) M. I. Belousova, N. G. Mironova, M. S. Yurev, "A mathematical model of the photodynamic fullerene-oxygen action on biological tissues.", *Optic. Spectrosc.*, **2005**, *98*, 349; b) D. M. Guldi, M. Prato, "Excited-state properties of C₆₀ fullerene derivatives.", *Acc. Chem. Res.*, **2000**, *33*, 695.
- [89] Y. Yamakoshi, N. Umezawa, A. Ryu, K. Arakane, N. Miyata, Y. Goda, T. Masumizu, T. Nagano, "Active Oxygen Species Generated from Photoexcited Fullerene (C₆₀) as Potential Medicines: O₂^{•-} versus ¹O₂", *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, *125*, 12803.
- [90] H. Tokuyama, S. Yamago, E. Nakamura, T. Shiraki, Y. Sugiura, "Photoinduced biochemical activity of fullerene carboxylic acid", *J. Am. Chem. Soc.*, **1993**, *115*, 7918.
- [91] C. Yu, T. Canteenwala, L. Y. Chiang, B. Wilson, K. Pritzker, "Photodynamic effect of hydrophilic C₆₀-derived nanostructures for catalytic antitumoral antibacterial applications", *Synth. Met.*, **2005**, *153*, 37.
- [92] a) F. Liao, Y. Saitoh, N. Miwa, "Anticancer effects of fullerene [C₆₀] included in polyethylene glycol combined with visible light irradiation through ROS generation and DNA fragmentation on fibrosarcoma cells with scarce cytotoxicity to normal fibroblasts",

- Oncol. Res.*, **2011**, *19*, 203; b) K. Nobusawa, M. Akiyama, A. Ikeda, M. Naito, "pH responsive smart carrier of [60] fullerene with 6-amino-cyclodextrin inclusion complex for photodynamic therapy", *J. Mater. Chem.*, **2012**, *22*, 22610.
- [93] A. Ikeda, T. Iizuka, N. Maekubo, R. Aono, J.-i. Kikuchi, M. Akiyama, T. Konishi, T. Ogawa, N. Ishida-Kitagawa, H. Tatebe, K. Shiozaki, "Cyclodextrin Complexed [60]Fullerene Derivatives with High Levels of Photodynamic Activity by Long Wavelength Excitation", *ACS Med. Chem. Lett.*, **2013**, *4*, 752.
- [94] T. D. James, K. R. A. S. Sandanayake, R. Iguchi, S. Shinkai, "Novel saccharide-photoinduced electron-transfer sensors based on the interaction of boronic acid and amine.", *J. Am. Chem. Soc.*, **1995**, *117*, 8982.
- [95] Q. Liu, B. Chen, Q. Wang, X. Shi, Z. Xiao, J. Lin, X. Fang, "Carbon Nanotubes as Molecular Transporters for Walled Plant Cells", *Nano Lett.*, **2009**, *9*, 1007.
- [96] H. Dumortier, S. Lacotte, G. Pastorin, R. Marega, W. Wu, D. Bonifazi, J.-P. Briand, M. Prato, S. Muller, A. Bianco, "Functionalized Carbon Nanotubes Are Non-Cytotoxic and Preserve the Functionality of Primary Immune Cells", *Nano Lett.*, **2006**, *6*, 1522.
- [97] a) D. Pantarotto, R. Singh, D. McCarthy, M. Erhardt, J. P. Briand, M. Prato, K. Kostarelos, A. Bianco, "Functionalized carbon nanotubes for plasmid DNA gene delivery", *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2004**, *43*, 5242; b) Q. Lu, J. M. Moore, G. Huang, A. S. Mount, A. M. Rao, L. L. Larcom, P. C. Ke, "RNA Polymer Translocation with Single-Walled Carbon Nanotubes", *Nano Lett.*, **2004**, *4*, 2473; c) Y. Liu, D. C. Wu, W. D. Zhang, X. Jiang, C. B. He, T. S. Chung, S. H. Goh, K. W. Leong, "Polyethylenimine-grafted multiwalled carbon nanotubes for secure noncovalent immobilization and efficient delivery of DNA", *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2005**, *44*, 4782.
- [98] P. Chakravarty, R. Marches, N. S. Zimmerman, A. D.-E. Swafford, P. Bajaj, I. H. Musselman, P. Pantano, R. K. Draper, E. S. Vitetta, "Thermal ablation of tumor cells with antibody-functionalized single-walled carbon nanotubes", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **2008**, *105*, 8697.
- [99] N. Saito, Y. Usui, K. Aoki, N. Narita, M. Shimizu, K. Hara, N. Ogiwara, K. Nakamura, N. Ishigaki, H. Kato, S. Taruta, M. Endo, "Carbon nanotubes: biomaterial applications", *Chem. Soc. Rev.*, **2009**, *38*, 1897.
- [100] C. Chung, Y.-K. Kim, D. Shin, S.-R. Ryoo, B. H. Hong, D.-H. Min, "Biomedical Applications of Graphene and Graphene Oxide", *Acc. Chem. Res.*, **2013**, *46*, 2211.
- [101] a) W. A. Scrivens, J. M. Tour, K. E. Creek, L. Pirisi, "Synthesis of ^{14}C -labeled C_{60} , its suspension in water, and its uptake by human keratinocytes", *J. Am. Chem. Soc.*, **1994**, *116*, 4517; b) S. Yamago, H. Tokuyama, E. Nakamura, K. Kikuchi, S. Kananishi, K. Sueki, H. Nakahara, S. Enomoto, F. Ambe, "In vivo biological behavior of a water-miscible fullerene: ^{14}C labeling, absorption, distribution, excretion and acute toxicity", *Chem. Biol.*, **1995**, *2*, 385.
- [102] a) E. Nakamura, H. Isobe, "Functionalized fullerenes in water. The first 10 years of their chemistry, biology, and nanoscience", *Acc. Chem. Res.*, **2003**, *36*, 807; b) P. Rajagopalan,

Bibliografía

- F. Wudl, R. F. Schinazi, F. D. Boudinot, "Pharmacokinetics of a water-soluble fullerene in rats", *Antimicrob. Agents Chemother.*, **1996**, *40*, 2262.
- [103] C. Bussy, H. Ali-Boucetta, K. Kostarelos, "Safety Considerations for Graphene: Lessons Learnt from Carbon Nanotubes", *Acc. Chem. Res.*, **2012**, *46*, 692.
- [104] L. Lacerda, H. Ali-Boucetta, M. A. Herrero, G. Pastorin, A. Bianco, M. Prato, K. Kostarelos, "Tissue histology and physiology following intravenous administration of different types of functionalized multiwalled carbon nanotubes", *Nanomedicine*, **2008**, *3*, 149.
- [105] J. Lundquist, E. Toone, "The cluster glycoside effect.", *Chem. Rev.*, **2002**, *102*, 555.
- [106] J. Badjić, A. Nelson, S. Cantrill, W. Turnbull, J. Stoddart, "Multivalency and cooperativity in supramolecular chemistry", *Acc. Chem. Res.*, **2005**, *38*, 723.
- [107] A. Bernardi, J. Jimenez-Barbero, A. Casnati, C. De Castro, T. Darbre, F. Fieschi, J. Finne, H. Funken, K. E. Jaeger, M. Lahmann, T. K. Lindhorst, M. Marradi, P. Messner, A. Molinaro, P. V. Murphy, C. Nativi, S. Oscarson, S. Penades, F. Peri, R. J. Pieters, O. Renaudet, J. L. Reymond, B. Richichi, J. Rojo, F. Sansone, C. Schaffer, W. B. Turnbull, T. Velasco-Torrijos, S. Vidal, S. Vincent, T. Wennekes, H. Zuilhof, A. Imberty, "Multivalent glycoconjugates as anti-pathogenic agents", *Chem. Soc. Rev.*, **2013**, *42*, 4709.
- [108] B. G. Davis, "Biochemistry. Mimicking posttranslational modifications of proteins", *Science*, **2004**, *303*, 480.
- [109] G. J. Brewer, N. Matinyan, "Congregation of gangliosides at the junction between two model membranes", *Biochemistry*, **1992**, *31*, 1816.
- [110] M. L. Wolfenden, M. J. Cloninger, "Mannose/Glucose-Functionalized Dendrimers To Investigate the Predictable Tunability of Multivalent Interactions", *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, *127*, 12168.
- [111] F. Cardona, G. Isoldi, F. Sansone, A. Casnati, A. Goti, "Building Multivalent Imino-Sugar-Based Ligands on Calixarene Cores via Nitrene Cycloadditions", *J. Org. Chem.*, **2012**, *77*, 6980.
- [112] A. Martinez, M. C. Ortiz, F. J. M. Garcia, "Cyclodextrin-based multivalent glycodisplays: covalent and supramolecular conjugates to assess carbohydrate-protein interactions", *Chem. Soc. Rev.*, **2013**, *42*, 4746.
- [113] J. Geng, F. Biedermann, J. M. Zayed, F. Tian, O. A. Scherman, "Supramolecular Glycopolymers in Water: A Reversible Route Toward Multivalent Carbohydrate-Lectin Conjugates Using Cucurbit[8]uril", *Macromolecules*, **2011**, *44*, 4276.
- [114] M. Marradi, F. Chiodo, I. Garcia, S. Penades, "Glyconanoparticles as multifunctional and multimodal carbohydrate systems", *Chem. Soc. Rev.*, **2013**, *42*, 4728.
- [115] Y. C. Lee, *Carbohydr. Res.*, **1978**, *67*, 519.

- [116] Y. M. Chabre, R. Roy, "Multivalent glycoconjugate syntheses and applications using aromatic scaffolds", *Chem. Soc. Rev.*, **2013**, *42*, 4657.
- [117] R. Ribeiro-Viana, M. Sánchez-Navarro, J. Luczkowiak, J. R. Koeppel, R. Delgado, J. Rojo, B. G. Davis, "Virus-like glycodendrinanoparticles displaying quasi-equivalent nested polyvalency upon glycoprotein platforms potently block viral infection", *Nat. Commun.*, **2012**, *3*, 1303.
- [118] a) Y. van Kooyk, T. B. Geijtenbeek, "DC-SIGN: escape mechanism for pathogens", *Nat. Rev. Immunol.*, **2003**, *3*, 697; b) T. B. Geijtenbeek, R. Torensma, S. J. van Vliet, G. C. van Duijnhoven, G. J. Adema, Y. van Kooyk, C. G. Figdor, "Identification of DC-SIGN, a novel dendritic cell-specific ICAM-3 receptor that supports primary immune responses", *Cell*, **2000**, *100*, 575.
- [119] a) A. J. Engering, M. Cella, D. Fluittsma, M. Brockhaus, E. C. Hoefsmit, A. Lanzavecchia, J. Pieters, "The mannose receptor functions as a high capacity and broad specificity antigen receptor in human dendritic cells", *Eur. J. Immunol.*, **1997**, *27*, 2417; b) J. Banchereau, R. M. Steinman, "Dendritic cells and the control of immunity", *Nature*, **1998**, *392*, 245.
- [120] C. Grandjean, C. Rommens, H. Gras-Masse, O. Melnyk, "One-Pot Synthesis of Antigen-Bearing, Lysine-Based Cluster Mannosides Using Two Orthogonal Chemoselective Ligation Reactions This work was financially supported by the ANRS and the Fondation pour la Recherche Medicale (Sidaction grant to CG). We are grateful to B. Coddeville and G. Montagne for recording ES-MS and NMR spectra, respectively, and also to Dr. S. Brooks for proofreading the manuscript", *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2000**, *39*, 1068.
- [121] T. Toyokuni, S. Hakomori, A. K. Singhal, "Synthetic carbohydrate vaccines: synthesis and immunogenicity of Tn antigen conjugates", *Bioorg. Med. Chem.*, **1994**, *2*, 1119.
- [122] a) R. J. Payne, C.-H. Wong, "Advances in chemical ligation strategies for the synthesis of glycopeptides and glycoproteins", *Chem. Commun.*, **2010**, *46*, 21; b) D. Macmillan, C. R. Bertozzi, "Modular assembly of glycoproteins: towards the synthesis of GlyCAM-1 by using expressed protein ligation", *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2004**, *43*, 1355; c) M. R. Pratt, C. R. Bertozzi, "Synthetic glycopeptides and glycoproteins as tools for biology", *Chem. Soc. Rev.*, **2005**, *34*, 58; d) B. G. Davis, "Synthesis of glycoproteins", *Chem. Rev.*, **2002**, *102*, 579; e) N. Gaidzik, U. Westerlind, H. Kunz, "The development of synthetic antitumour vaccines from mucin glycopeptide antigens", *Chem. Soc. Rev.*, **2013**, *42*, 4421.
- [123] a) R. Injac, M. Perse, N. Obermajer, V. Djordjevic-Milic, M. Prijatelj, A. Djordjevic, A. Cerar, B. Strukelj, "Potential hepatoprotective effects of fullereneol C₆₀(OH)₂₄ in doxorubicin-induced hepatotoxicity in rats with mammary carcinomas", *Biomaterials*, **2008**, *29*, 3451; b) D. A. Arndt, M. Moua, J. Chen, R. D. Klaper, "Core structure and surface functionalization of carbon nanomaterials alter impacts to daphnid mortality, reproduction, and growth: acute assays do not predict chronic exposure impacts", *Environ. Sci. Technol.*, **2013**, *47*, 9444.
- [124] C. Bingel, "Cyclopropanierung von Fullerenen", *Chem. Ber.*, **1993**, *126*, 1957.
- [125] a) J. Geng, G. Mantovani, L. Tao, J. Nicolas, G. Chen, R. Wallis, D. A. Mitchell, B. R. G. Johnson, S. D. Evans, D. M. Haddleton, "Site-Directed Conjugation of "Clicked"

Bibliografía

- Glycopolymers To Form Glycoprotein Mimics: Binding to Mammalian Lectin and Induction of Immunological Function", *J. Am. Chem. Soc.*, **2007**, *129*, 15156; b) B. G. Davis, R. C. Lloyd, J. B. Jones, "Controlled Site-Selective Glycosylation of Proteins by a Combined Site-Directed Mutagenesis and Chemical Modification Approach", *J. Org. Chem.*, **1998**, *63*, 9614.
- [126] M. Sánchez-Navarro, "Síntesis de Sistemas Multivalentes de Carbohidratos basados en Glicodendrones", *Tesis Doctoral*, **2009**.
- [127] VP-ITC, *Instruction Manual*, **2001**, *MicroCal Inc. Northampton, MA*, <http://www.microcalorimetry.com>.
- [128] a) R. O'Brien, J. E. Ladbury, B. Z. Chowdry, *Isothermal titration calorimetry of biomolecules*, **2000**, *Ed. Harding, S.E.; Chowdry B.Z, Oxford University Press*; b) T. K. Dam, C. F. Brewer, "Thermodynamic studies of lectin-carbohydrate interactions by isothermal titration calorimetry", *Chem. Rev.*, **2002**, *102*, 387.
- [129] a) M. Ambrosi, N. R. Cameron, B. J. Davis, "Lectins: tools for the molecular understanding of the glycode", *J. Org. Biomol. Chem.*, **2005**, *3*, 1593; b) A. Pusztai, S. Bardocz, *Lectins Biomedical Perspectives.*, **2005**, *Taylor & Francis*.
- [130] I. J. Goldstein, R. D. Poretz, *The Lectins*, **1986**, (*Liener, I.E; Sharon, N.; Goldstein, I. J eds*) *Academic Press, Inc., New York*.
- [131] J. Bouckaert, R. Loris, F. Poortmans, L. Wyns, "Crystallographic structure of metal-free concanavalin A at 2.5 Å resolution", *Proteins Struct. Funct. Genet.*, **1995**, *23*, 510.
- [132] a) T. K. Dam, R. Roy, S. K. Das, S. Oscarson, C. F. Brewer, "Binding of multivalent carbohydrates to concanavalin A and Dioclea grandiflora lectin. Thermodynamic analysis of the "multivalency effect".", *J. Biol. Chem.*, **2000**, *275*; b) B. N. Murthy, S. Sinha, A. Suroliya, S. S. Indi, N. Jayaraman, "SPR and ITC determination of the kinetics and the thermodynamics of bivalent versus monovalent sugar ligand-lectin interactions", *Glycoconjugate J.*, **2008**, *25*, 313.
- [133] a) X. Camps, E. Dietel, A. Hirsch, S. Pyo, L. Echegoyen, S. Hackbarth, B. Röder, "Globular Dendrimers Involving a C₆₀ Core and a Tetraphenyl Porphyrin Function", *Chem. Eur. J.*, **1999**, *5*, 2362; b) A. Hirsch, I. Lamparth, T. Groesser, H. R. Karfunkel, "Regiochemistry of Multiple Additions to the Fullerene Core: Synthesis of a Th-Symmetric Hexakis adduct of C₆₀ with Bis(ethoxycarbonyl)methylene", *J. Am. Chem. Soc.*, **1994**, *116*, 9385.
- [134] H. Li, S. A. Haque, A. Kitaygorodskiy, M. J. Meziani, M. Torres-Castillo, Y.-P. Sun, "Alternatively Modified Bingel Reaction for Efficient Syntheses of C₆₀ Hexakis-Adducts", *Org. Lett.*, **2006**, *8*, 5641.
- [135] E. Pretsch, P. Bühlmann, M. Badertscher, *Structure Determination of Organic Compounds - Tables of Spectral Data*, **2009**, *4th Edition*, *Springer*.
- [136] a) R. K. Iha, K. L. Wooley, A. M. Nyström, D. J. Burke, M. J. Kade, C. J. Hawker, "Applications of Orthogonal "Click" Chemistries in the Synthesis of Functional Soft Materials", *Chem. Rev.*, **2009**, *109*, 5620; b) P. Thirumurugan, D. Matosiuk, K. Jozwiak,

- "Click Chemistry for Drug Development and Diverse Chemical–Biology Applications", *Chem. Rev.*, **2013**, *113*, 4905.
- [137] J.-F. Nierengarten, J. Iehl, V. Oerthel, M. Holler, B. M. Illescas, A. Muñoz, N. Martín, J. Rojo, M. Sánchez-Navarro, S. Cecioni, S. Vidal, K. Buffet, M. Durka, S. P. Vincent, "Fullerene sugar balls", *Chem. Commun.*, **2010**, *46*, 3860.
- [138] M. Reynolds, M. Marradi, A. Imberty, S. Penadés, S. Pérez, "Multivalent Gold Glycoclusters: High Affinity Molecular Recognition by Bacterial Lectin PA-IL", *Chem. Eur. J.*, **2012**, *18*, 4264.
- [139] a) S. M. Dimick, S. C. Powell, S. A. McMahon, D. N. Moothoo, J. H. Naismith, E. J. Toone, "On the Meaning of Affinity: Cluster Glycoside Effects and Concanavalin A", *J. Am. Chem. Soc.*, **1999**, *121*, 10286; b) J. B. Corbell, J. J. Lundquist, E. J. Toone, "A comparison of biological and calorimetric analyses of multivalent glycodendrimer ligands for concanavalin A", *Tetrahedron: Asymm.*, **2000**, *11*, 95.
- [140] M. Sánchez-Navarro, A. Muñoz, B. M. Illescas, J. Rojo, N. Martín, "[60]Fullerene as Multivalent Scaffold: Efficient Molecular Recognition of Globular Glycofullerenes by Concanavalin A", *Chem. Eur. J.*, **2011**, *17*, 766.
- [141] Z. Yang, R. Delgado, L. Xu, R. F. Todd, E. G. Nabel, A. Sanchez, G. J. Nabel, "Distinct cellular interactions of secreted and transmembrane Ebola virus glycoproteins", *Science*, **1998**, *279*, 1034.
- [142] J. He, S. Choe, R. Walker, P. Di Marzio, D. O. Morgan, N. R. Landau, "Human immunodeficiency virus type 1 viral protein R (Vpr) arrests cells in the G2 phase of the cell cycle by inhibiting p34cdc2 activity", *J. Virol.*, **1995**, *69*, 6705.
- [143] J. Luczkowiak, A. Muñoz, M. Sánchez-Navarro, R. Ribeiro-Viana, A. Ginieis, B. M. Illescas, N. Martín, R. Delgado, J. Rojo, "Glycofullerenes Inhibit Viral Infection", *Biomacromolecules*, **2013**, *14*, 431.
- [144] D. H. Dube, C. R. Bertozzi, "Glycans in cancer and inflammation--potential for therapeutics and diagnostics", *Nat. Rev. Drug. Discov.*, **2005**, *4*, 477.
- [145] a) L. Kong, J. H. Lee, K. J. Doores, C. D. Murin, J. P. Julien, R. McBride, Y. Liu, A. Marozsan, A. Cupo, P. J. Klasse, S. Hoffenberg, M. Caulfield, C. R. King, Y. Hua, K. M. Le, R. Khayat, M. C. Deller, T. Clayton, H. Tien, T. Feizi, R. W. Sanders, J. C. Paulson, J. P. Moore, R. L. Stanfield, D. R. Burton, A. B. Ward, I. A. Wilson, "Supersite of immune vulnerability on the glycosylated face of HIV-1 envelope glycoprotein gp120", *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **2013**, *20*, 796; b) M. N. Amin, J. S. McLellan, W. Huang, J. Orwenyo, D. R. Burton, W. C. Koff, P. D. Kwong, L. X. Wang, "Synthetic glycopeptides reveal the glycan specificity of HIV-neutralizing antibodies", *Nat. Chem. Biol.*, **2013**, *9*, 521.
- [146] L. L. Kiessling, J. C. Grim, "Glycopolymer probes of signal transduction", *Chem. Soc. Rev.*, **2013**, *42*, 4476.
- [147] J. M. McCarthy, B. Rasines Moreno, D. Filippini, H. Komber, M. Maly, M. Cernescu, B. Brutschy, D. Appelhans, M. S. Rogers, "Influence of Surface Groups on Poly(propylene imine) Dendrimers Antiprion Activity", *Biomacromolecules*, **2012**, *14*, 27.

Bibliografía

- [148] a) L. Xu, H. Zhang, Y. Wu, "Dendrimer Advances for the Central Nervous System Delivery of Therapeutics", *ACS Chem. Neurosci.*, **2013**, 5, 2; b) O. Klementieva, E. Aso, D. Filippini, N. Benseny-Cases, M. Carmona, S. Juvés, D. Appelhans, J. Cladera, I. Ferrer, "Effect of Poly(propylene imine) Glycodendrimers on β -Amyloid Aggregation in Vitro and in APP/PS1 Transgenic Mice, as a Model of Brain Amyloid Deposition and Alzheimer's Disease", *Biomacromolecules*, **2013**, 14, 3570.
- [149] a) S.-K. Wang, P.-H. Liang, R. D. Astronomo, T.-L. Hsu, S.-L. Hsieh, D. R. Burton, C.-H. Wong, "Targeting the carbohydrates on HIV-1: Interaction of oligomannose dendrons with human monoclonal antibody 2G12 and DC-SIGN", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **2008**, 105, 3690; b) X. Shi, S. H. Wang, I. Lee, M. Shen, J. R. Baker, "Comparison of the internalization of targeted dendrimers and dendrimer-entrapped gold nanoparticles into cancer cells", *Biopolymers*, **2009**, 91, 936; c) S. Ki Choi, T. Thomas, M.-H. Li, A. Kotlyar, A. Desai, J. J. R. Baker, "Light-controlled release of caged doxorubicin from folate receptor-targeting PAMAM dendrimer nanoconjugate", *Chem. Commun.*, **2010**, 46, 2632.
- [150] R. Ribeiro-Viana, J. J. García-Vallejo, D. Collado, E. Pérez-Inestrosa, K. Bloem, Y. van Kooyk, J. Rojo, "BODIPY-Labeled DC-SIGN-Targeting Glycodendrons Efficiently Internalize and Route to Lysosomes in Human Dendritic Cells", *Biomacromolecules*, **2012**, 13, 3209.
- [151] a) A. Llevot, D. Astruc, "Applications of vectorized gold nanoparticles to the diagnosis and therapy of cancer", *Chem. Soc. Rev.*, **2012**, 41, 242; b) D. N. Heo, D. H. Yang, H. J. Moon, J. B. Lee, M. S. Bae, S. C. Lee, W. J. Lee, I. C. Sun, I. K. Kwon, "Gold nanoparticles surface-functionalized with paclitaxel drug and biotin receptor as theranostic agents for cancer therapy", *Biomaterials*, **2012**, 33, 856.
- [152] F. Wilkinson, W. P. Helman, A. B. Ross, *J. Phys. Chem. Ref. Data*, **1993**, 22, 113.
- [153] O. Shimizu, J. Watanabe, K. Imakubo, S. Naito, "Absolute Quantum Yields and Lifetimes of Photosensitized Phosphorescence of Singlet Oxygen O₂ (1Deltag) in Air-Saturated Aqueous and Organic Solutions of Phenalenone", *Chem. Lett.*, **1999**, 1, 67.
- [154] J. W. Arbogast, A. P. Darmanyan, C. S. Foote, F. N. Diederich, R. L. Whetten, Y. Rubin, M. M. Alvarez, S. J. Anz, "Photophysical properties of sixty atom carbon molecule (C₆₀)", *J. Phys. Chem.*, **1991**, 95, 11.
- [155] a) R. V. Bensasson, M. Brettreich, J. Frederiksen, H. Göttinger, A. Hirsch, E. J. Land, S. Leach, D. J. McGarvey, H. Schönberger, "Reactions of e⁻aq, co₂^{•-}, ho, o₂^{•-} and o₂(1δg) with a dendro[60]fullerene and c₆₀[c(cooh)₂]_n (n = 2–6)", *Free Radical Biol. Med.*, **2000**, 29, 26; b) F. Rancan, M. Helmreich, A. Mölich, N. Jux, A. Hirsch, B. Röder, F. Böhm, "Intracellular Uptake and Phototoxicity of 31,32-Didehydrophytychlorin-fullerene Hexaadducts", *Photochem. Photobiol.*, **2007**, 83, 1330.
- [156] S. Kotha, K. Mandal, "Metathesis of a novel dienediyne system: A unique example involving the usage of in situ generated ethylene as cross-ene-yne metathesis partner", *J. Organomet. Chem.*, **2007**, 692, 4921.
- [157] J. Iehl, R. Pereira de Freitas, J.-F. Nierengarten, "Click chemistry with fullerene derivatives", *Tetrahedron Lett.*, **2008**, 49, 4063.

- [158] T. Tsujimoto, H. Uyama, S. Kobayashi, "Enzymatic Synthesis of Cross-Linkable Polyesters from Renewable Resources", *Biomacromolecules*, **2001**, 2, 29.
- [159] a) X. Yu, W.-B. Zhang, K. Yue, X. Li, H. Liu, Y. Xin, C.-L. Wang, C. Wesdemiotis, S. Z. D. Cheng, "Giant Molecular Shape Amphiphiles Based on Polystyrene-Hydrophilic [60]Fullerene Conjugates: Click Synthesis, Solution Self-Assembly, and Phase Behavior", *J. Am. Chem. Soc.*, **2012**, 134, 7780; b) J. Iehl, J.-F. Nierengarten, "A Click-Click Approach for the Preparation of Functionalized [5:1]-Hexaadducts of C60", *Chem. Eur. J.*, **2009**, 15, 7306.
- [160] F. Wessendorf, J.-F. Gnichwitz, G. H. Sarova, K. Hager, U. Hartnagel, D. M. Guldi, A. Hirsch, "Implementation of a Hamilton-receptor-based hydrogen-bonding motif toward a new electron donor-acceptor prototype: electron versus energy transfer", *J. Am. Chem. Soc.*, **2007**, 129, 16057.
- [161] A. J. Hilmer, K. Tvrđy, J. Zhang, M. S. Strano, "Charge Transfer Structure-Reactivity Dependence of Fullerene-Single-Walled Carbon Nanotube Heterojunctions", *J. Am. Chem. Soc.*, **2013**, 135, 11901.
- [162] T. Betzel, T. Hess, B. Waser, J.-C. Reubi, F. Roesch, "closo-Borane Conjugated Regulatory Peptides Retain High Biological Affinity: Synthesis of closo-Borane Conjugated Tyr3-Octreotate Derivatives for BNCT", *Bioconjugate Chem.*, **2008**, 19, 1796.
- [163] D. Kushwaha, V. K. Tiwari, "Click Chemistry Inspired Synthesis of Glycoporphyrin Dendrimers", *J. Org. Chem.*, **2013**, 78, 8184.
- [164] S. Kanamathareddy, C. D. Gutsche, "Selective Upper Rim Functionalization and Lower Rim Bridge Building with Calix[4]arenes and Calix[6]arenes", *J. Org. Chem.*, **1996**, 61, 2511.
- [165] O. Altan Bozdemir, S. Erbas-Cakmak, O. O. Ekiz, A. Dana, E. U. Akkaya, "Towards Unimolecular Luminescent Solar Concentrators: Bodipy-Based Dendritic Energy-Transfer Cascade with Panchromatic Absorption and Monochromatized Emission", *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2011**, 50, 10907.
- [166] R. Pereira de Freitas, J. Iehl, B. Delavaux-Nicot, J.-F. Nierengarten, "Synthesis of fullerene building blocks bearing alkyne or azide groups and their subsequent functionalization by the copper mediated Huisgen 1,3-dipolar cycloaddition", *Tetrahedron*, **2008**, 64, 11409.
- [167] J. Iehl, J.-F. Nierengarten, "A Click-Click Approach for the Preparation of Functionalized [5:1]-Hexaadducts of C60", *Chem. Eur. J.*, **2009**, 15, 7306.
- [168] a) X. Wang, L. Liu, Y. Luo, H. Zhao, "Bioconjugation of Biotin to the Interfaces of Polymeric Micelles via In Situ Click Chemistry", *Langmuir*, **2008**, 25, 744; b) Y. Cao, E. Galoppini, P. I. Reyes, Y. Lu, "Functionalization of Nanostructured ZnO Films by Copper-Free Click Reaction", *Langmuir*, **2013**, 29, 7768.
- [169] S. Kolemen, O. A. Bozdemir, Y. Cakmak, G. Barin, S. Erten-Ela, M. Marszalek, J.-H. Yum, S. M. Zakeeruddin, M. K. Nazeeruddin, M. Graetzel, E. U. Akkaya, "Optimization

- of distyryl-Bodipy chromophores for efficient panchromatic sensitization in dye sensitized solar cells", *Chem. Sci.*, **2011**, *2*, 949.
- [170] N. Martín, J.-F. Nierengarten, *Supramolecular chemistry of fullerenes and carbon nanotubes*, Wiley-VCH, Weinheim, **2012**.
- [171] a) T. Haino, Y. Matsumoto, Y. Fukazawa, "Supramolecular nano networks formed by molecular-recognition-directed self-assembly of ditopic calix[5]arene and dumbbell [60]fullerene", *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, *127*, 8936; b) T. Haino, H. Araki, Y. Fujiwara, Y. Tanimoto, Y. Fukazawa, "Fullerene sensors based on calix[5]arene", *Chem. Commun.*, **2002**, 2148.
- [172] a) A. Sygula, F. R. Fronczek, R. Sygula, P. W. Rabideau, M. M. Olmstead, "A double concave hydrocarbon buckycatcher", *J. Am. Chem. Soc.*, **2007**, *129*, 3842; b) S. S. Gayathri, M. Wielopolski, E. M. Perez, G. Fernandez, L. Sanchez, R. Viruela, E. Orti, D. M. Guldi, N. Martín, "Discrete supramolecular donor-acceptor complexes", *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2009**, *48*, 815.
- [173] E. M. Pérez, L. Sánchez, G. Fernández, N. Martín, "exTTF as a building block for fullerene receptors. unexpected solvent-dependent positive homotropic cooperativity", *J. Am. Chem. Soc.*, **2006**, *128*, 7172.
- [174] G. Fernández, E. M. Pérez, L. Sánchez, N. Martín, "Self-organization of electroactive materials: a head-to-tail donor-acceptor supramolecular polymer", *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2008**, *47*, 1094.
- [175] a) E. M. Perez, M. Sierra, L. Sanchez, M. R. Torres, R. Viruela, P. M. Viruela, E. Orti, N. Martín, "Concave tetrathiafulvalene-type donors as supramolecular partners for fullerenes", *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2007**, *46*, 1847; b) M. Gallego, J. Calbo, J. Aragón, R. M. Krick Calderon, F. H. Liquido, T. Iwamoto, A. K. Greene, E. A. Jackson, E. M. Pérez, E. Ortí, D. M. Guldi, L. T. Scott, N. Martín, "Electron Transfer in a Supramolecular Associate of a Fullerene Fragment", *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2014**, *53*, 2170.
- [176] B. Grimm, J. Santos, B. M. Illescas, A. Muñoz, D. M. Guldi, N. Martín, "A new exTTF-crown ether platform to associate fullerenes: cooperative n-pi and pi-pi effects", *J. Am. Chem. Soc.*, **2010**, *132*, 17387.
- [177] M. A. Herranz, C. Ehli, S. Campidelli, M. Gutierrez, G. L. Hug, K. Ohkubo, S. Fukuzumi, M. Prato, N. Martín, D. M. Guldi, "Spectroscopic characterization of photolytically generated radical ion pairs in single-wall carbon nanotubes bearing surface-immobilized tetrathiafulvalenes", *J. Am. Chem. Soc.*, **2008**, *130*, 66.
- [178] J. Bartelmess, A. R. Soares, M. V. Martinez-Diaz, M. G. Neves, A. C. Tome, J. A. Cavaleiro, T. Torres, D. M. Guldi, "Panchromatic light harvesting in single wall carbon nanotube hybrids-immobilization of porphyrin-phthalocyanine conjugates", *Chem. Commun.*, **2011**, *47*, 3490.
- [179] a) C. Oelsner, C. Schmidt, F. Hauke, M. Prato, A. Hirsch, D. M. Guldi, "Interfacing strong electron acceptors with single wall carbon nanotubes", *J. Am. Chem. Soc.*, **2011**, *133*, 4580; b) C. Ehli, C. Oelsner, D. M. Guldi, A. Mateo-Alonso, M. Prato, C. Schmidt, C.

- Backes, F. Hauke, A. Hirsch, "Manipulating single-wall carbon nanotubes by chemical doping and charge transfer with perylene dyes", *Nat. Chem.*, **2009**, *1*, 243.
- [180] F. Wang, K. Matsuda, A. F. Rahman, X. Peng, T. Kimura, N. Komatsu, "Simultaneous discrimination of handedness and diameter of single-walled carbon nanotubes (SWNTs) with chiral diporphyrin nanotweezers leading to enrichment of a single enantiomer of (6,5)-SWNTs", *J. Am. Chem. Soc.*, **2010**, *132*, 10876.
- [181] a) C. Romero-Nieto, R. García, M. A. Herranz, C. Ehli, M. Ruppert, A. Hirsch, D. M. Guldi, N. Martín, "Tetrathiafulvalene-based nanotweezers-noncovalent binding of carbon nanotubes in aqueous media with charge transfer implications", *J. Am. Chem. Soc.*, **2012**, *134*, 9183; b) C. Romero-Nieto, R. Garcia, M. A. Herranz, L. Rodriguez-Perez, M. Sanchez-Navarro, J. Rojo, N. Martin, D. M. Guldi, "Stable electron donor-acceptor nanohybrids by interfacing n-type TCAQ with p-type single-walled carbon nanotubes", *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2013**, *52*, 10216.
- [182] Z. Liu, X. Sun, N. Nakayama-Ratchford, H. Dai, "Supramolecular chemistry on water-soluble carbon nanotubes for drug loading and delivery", *ACS Nano*, **2007**, *1*, 50.
- [183] a) T. M. Allen, W. W. Cheng, J. I. Hare, K. M. Laginha, "Pharmacokinetics and pharmacodynamics of lipidic nano-particles in cancer", *Anticancer Agents Med. Chem.*, **2006**, *6*, 513; b) G. Storm, M. T. ten Kate, P. K. Working, I. A. Bakker-Woudenberg, "Doxorubicin entrapped in sterically stabilized liposomes: effects on bacterial blood clearance capacity of the mononuclear phagocyte system", *Clin. Cancer Res.*, **1998**, *4*, 111.
- [184] C. C. Lee, E. R. Gillies, M. E. Fox, S. J. Guillaudeu, J. M. Frechet, E. E. Dy, F. C. Szoka, "A single dose of doxorubicin-functionalized bow-tie dendrimer cures mice bearing C-26 colon carcinomas", *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **2006**, *103*, 16649.
- [185] a) A. Chuvilin, U. Kaiser, E. Bichoutskaia, N. A. Besley, A. N. Khlobystov, "Direct transformation of graphene to fullerene", *Nat. Chem.*, **2010**, *2*, 450; b) D. V. Kosynkin, A. L. Higginbotham, A. Sinitskii, J. R. Lomeda, A. Dimiev, B. K. Price, J. M. Tour, "Longitudinal unzipping of carbon nanotubes to form graphene nanoribbons", *Nature*, **2009**, *458*, 872; c) A. K. Geim, K. S. Novoselov, "The rise of graphene", *Nat. Mater.*, **2007**, *6*, 183.
- [186] A. Ciesielski, P. Samori, "Graphene via sonication assisted liquid-phase exfoliation", *Chem. Soc. Rev.*, **2014**, *43*, 381.
- [187] a) L. Rodríguez-Pérez, M. A. Herranz, N. Martín, "The chemistry of pristine graphene", *Chem. Commun.*, **2013**, *49*, 3721; b) Z. Liu, Q. Liu, Y. Huang, Y. Ma, S. Yin, X. Zhang, W. Sun, Y. Chen, "Organic Photovoltaic Devices Based on a Novel Acceptor Material: Graphene", *Adv. Mater.*, **2008**, *20*, 3924; c) Q. Liu, Z. Liu, X. Zhang, L. Yang, N. Zhang, G. Pan, S. Yin, Y. Chen, J. Wei, "Polymer Photovoltaic Cells Based on Solution-Processable Graphene and P3HT", *Adv. Funct. Mater.*, **2009**, *19*, 894.
- [188] H. Lim, J. S. Lee, H. J. Shin, H. S. Shin, H. C. Choi, "Spatially resolved spontaneous reactivity of diazonium salt on edge and basal plane of graphene without surfactant and its doping effect", *Langmuir*, **2010**, *26*, 12278.

Bibliografía

- [189] J. Malig, N. Jux, D. Kiessling, J.-J. Cid, P. Vázquez, T. Torres, D. M. Guldi, "Towards Tunable Graphene/Phthalocyanine-PPV Hybrid Systems", *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2011**, *50*, 3561.
- [190] J. A. Mann, J. Rodríguez-Lopez, H. D. Abruña, W. R. Dichtel, "Multivalent binding motifs for the noncovalent functionalization of graphene", *J. Am. Chem. Soc.*, **2011**, *133*, 17614.
- [191] J. A. Mann, W. R. Dichtel, "Improving the binding characteristics of tripodal compounds on single layer graphene", *ACS Nano*, **2013**, *7*, 7193.
- [192] a) F. G. Brunetti, H. Isla, J. Arago, E. Orti, E. M. Perez, N. Martín, "Exploiting multivalent nanoparticles for the supramolecular functionalization of graphene with a nonplanar recognition motif", *Chem. Eur. J.*, **2013**, *19*, 9843; b) R. Cao, H. Isla, E. M. Pérez, N. Martín, "exTTF-capped gold nanoparticles as multivalent receptors for C₆₀", *Chem. Sci.*, **2011**, *2*, 1384.
- [193] T. Nakanishi, "Supramolecular soft and hard materials based on self-assembly algorithms of alkyl-conjugated fullerenes", *Chem. Commun.*, **2010**, *46*, 3425.
- [194] H. Li, S. S. Babu, S. T. Turner, D. Neher, M. J. Hollamby, T. Seki, S. Yagai, Y. Deguchi, H. Mohwald, T. Nakanishi, "Alkylated-C₆₀ based soft materials: regulation of self-assembly and optoelectronic properties by chain branching", *J. Mater. Chem. C*, **2013**, *1*, 1943.
- [195] A. M. Cassell, C. L. Asplund, J. M. Tour, "Self-Assembling Supramolecular Nanostructures from a C(60) Derivative: Nanorods and Vesicles", *Angew. Chem. Int. Ed.*, **1999**, *38*, 2403.
- [196] S. Zhou, C. Burger, B. Chu, M. Sawamura, N. Nagahama, M. Toganoh, U. E. Hackler, H. Isobe, E. Nakamura, "Spherical bilayer vesicles of fullerene-based surfactants in water: a laser light scattering study", *Science*, **2001**, *291*, 1944.
- [197] H. Isobe, T. Homma, E. Nakamura, "Energetics of water permeation through fullerene membrane", *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **2007**, *104*, 14895.
- [198] T. Homma, K. Harano, H. Isobe, E. Nakamura, "Nanometer-sized fluoros fullerene vesicles in water and on solid surfaces", *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2010**, *49*, 1665.
- [199] T. Nakanishi, N. Miyashita, T. Michinobu, Y. Wakayama, T. Tsuruoka, K. Ariga, D. G. Kurth, "Perfectly straight nanowires of fullerenes bearing long alkyl chains on graphite", *J. Am. Chem. Soc.*, **2006**, *128*, 6328.
- [200] T. Nakanishi, K. Ariga, T. Michinobu, K. Yoshida, H. Takahashi, T. Teranishi, H. Mohwald, G. K. D., "Flower-shaped supramolecular assemblies: hierarchical organization of a fullerene bearing long aliphatic chains", *Small*, **2007**, *3*, 2019.
- [201] a) T. Aida, E. W. Meijer, S. I. Stupp, "Functional supramolecular polymers", *Science*, **2012**, *335*, 813; b) Y. Yamamoto, G. Zhang, W. Jin, T. Fukushima, N. Ishii, A. Saeki, S. Seki, S. Tagawa, T. Minari, K. Tsukagoshi, T. Aida, "Ambipolar-transporting coaxial

- nanotubes with a tailored molecular graphene–fullerene heterojunction", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **2009**, *106*, 21051.
- [202] L. Sanchez, R. Otero, J. M. Gallego, R. Miranda, N. Martín, "Ordering fullerenes at the nanometer scale on solid surfaces", *Chem. Rev.*, **2009**, *109*, 2081.
- [203] A. D. Thomsen, E. Malmström, S. Hvilsted, "Novel polymers with a high carboxylic acid loading", *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, **2006**, *44*, 6360.
- [204] J. N. Coleman, "Liquid exfoliation of defect-free graphene", *Acc. Chem. Res.*, **2013**, *46*, 14.
- [205] a) J. L. Segura, N. Martín, D. M. Guldi, *Chem. Soc. Rev.*, **2005**, *34*, 31; b) A. B. Mallik, J. Locklin, S. C. B. Mannsfeld, C. Reese, M. S. Roberts, M. L. Senatore, H. Zi, Z. Bao, *Organic Field-Effect Transistors*, **2007**, CRC Press: Boca Raton; c) M. Mass-Torrent, C. Rovira, *Chem. Soc. Rev.*, **2008**, *37*, 827.
- [206] W. Li, Y. Yamamoto, T. Fukushima, A. Saeki, S. Seki, S. Tawaga, H. Masunaga, S. Sasaki, M. Takata, T. Aida, *J. Am. Chem. Soc.*, **2008**, *130*, 8886.
- [207] a) S. Yoshimoto, E. Tsutsumi, Y. Honda, Y. Murata, M. Murata, K. Komatsu, O. Ito, K. Itaya, "Controlled molecular orientation in an adlayer of a supramolecular assembly consisting of an open-cage C₆₀ derivative and ZnII octaethylporphyrin on Au(111)", *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2004**, *43*, 3044; b) A. M. López, A. Mateo-Alonso, M. Prato, "Materials chemistry of fullerene C₆₀ derivatives", *J. Mater. Chem.*, **2011**, *21*, 1305.
- [208] a) S. Sattin, A. Daggetti, M. Thepaut, A. Berzi, M. Sánchez-Navarro, G. Tabarani, J. Rojo, F. Fieschi, M. Clerici, A. Bernardi, "Inhibition of DC-SIGN-mediated HIV infection by a linear trimannoside mimic in a tetravalent presentation", *ACS Chem. Biol.*, **2010**, *5*, 301; b) J. Luczkowiak, S. Sattin, I. Sutkeviciute, J. J. Reina, M. Sanchez-Navarro, M. Thepaut, L. Martinez-Prats, A. Daggetti, F. Fieschi, R. Delgado, A. Bernardi, J. Rojo, "Pseudosaccharide functionalized dendrimers as potent inhibitors of DC-SIGN dependent Ebola pseudotyped viral infection", *Bioconjugate Chem.*, **2011**, *22*, 1354.
- [209] A. Muñoz, B. M. Illescas, M. Sánchez-Navarro, J. Rojo, N. Martín, "Nanorods versus Nanovesicles from Amphiphilic Dendrofullerenes", *J. Am. Chem. Soc.*, **2011**, *133*, 16758.