OBTENCIÓN DE UNA SUPERFICIE POLIMÉRICA CON BASE EN METACRILATOS MODIFICADA CON RESORCINARENOS Y EVALUACIÓN DE SU APLICACIÓN EN LA PRECONCENTRACIÓN DE CARNITINA POR LA TÉCNICA DE EXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA

GABRIEL ANDRÉS RAMÍREZ PERDOMO

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ciencias, Departamento de Química

Ciudad, Colombia

2022

OBTENCIÓN DE UNA SUPERFICIE POLIMÉRICA CON BASE EN METACRILATOS MODIFICADA CON RESORCINARENOS Y EVALUACIÓN DE SU APLICACIÓN EN LA PRECONCENTRACIÓN DE CARNITINA POR LA TÉCNICA DE EXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA

GABRIEL ANDRÉS RAMÍREZ PERDOMO

Tesis de investigación presentada como requisito parcial para optar al título de:

Magister en Ciencias Química - Investigación

Director

DOCTOR MAURICIO MALDONADO VILLAMIL

Línea de Investigación
Síntesis orgánica
Grupo de Investigación
Aplicaciones Analíticas de Compuestos Orgánicos (AACO)

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ciencias, Departamento de Química

Ciudad, Colombia

2022

OBTAINING A METHACRYLATE-BASED POLYMERIC SURFACE MODIFIED WITH RESORCINARENES AND EVALUATION OF ITS APPLICATION IN THE PRECONCENTRATION OF CARNITINE BY THE SOLID PHASE EXTRACTION TECHNIQUE

GABRIEL ANDRÉS RAMÍREZ PERDOMO

Research thesis presented as a partial requirement for the degree of:

Magister en Ciencias Química - Investigación

Director

DOCTOR MAURICIO MALDONADO VILLAMIL

Line of research
Organic Synthesis orgánica
Research group
Analytical Applications of Organic Compounds (AAOC)

Analytical Applications of Organic Compounds

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ciencias, Departamento de Química

City, Colombia

2022

A mis padres que lo son todo

Agradecimientos

A mis padres Gabriel Ramírez y Melba Perdomo que con su esfuerzo, comprensión y amor me motivaron a lo largo de todo el proceso.

A la Universidad Nacional de Colombia sede Bogotá, por la formación académica durante mi carrera de posgrado.

Al doctor Mauricio Maldonado Villamil por brindarme la oportunidad de realizar el posgrado en su grupo de Aplicaciones Analíticas de Compuestos Orgánicos (AACO), por su acompañamiento, paciencia y orientación en la duración de la presente investigación.

A mis compañeros del grupo de investigación los doctores Astrid Velásquez, José Luis Casas y Alex Castillo por los consejos y experiencia brindada para el desarrollo de este proceso.

Una mención especial para mis compañeros de laboratorio y mejores amigos Miguel Vela y Fredy David que me apoyaron, aconsejaron y guiaron durante la carrera, hicieron más ameno este proceso y estuvieron cuando más los necesitaba, sin ustedes esto no hubiera sido posible, nunca cambien, los quiero.

Resumen

Este trabajo de investigación tiene como objetivo la síntesis y caracterización de resorcinarenos tipo *corona* para modificar una superficie polimérica con base en metacrilatos y evaluar la interacción molecular y su capacidad de preconcentración con L-carnitina.

La investigación se realizó en cinco etapas: En la primera etapa se desarrolló la síntesis de los resorcinarenos de partida entre el resorcinol y propanal y/o heptanal obteniendo como resultado los productos ***C-***tetra(etil)calix[4]resorcinareno (**1A**) y ***C-***tetra(hexil)calix[4]resorcinareno (**1B**), los cuales fueron caracterizados por diferentes técnicas instrumentales tales como IR-ATR, RMN-^{1}H, RMN-^{13}C y espectrometría de masas obteniendo como un único confórmero el tipo *corona* de gran utilidad por su facilidad de formar sistemas tipo host-guest.

En la segunda etapa se evaluó la interacción host-guest (huésped-hospedero) en solución entre los resorcinarenos ***C-***tetra(etil)calix[4]resorcinareno (**1A**) y ***C-***tetra(hexil) calix[4]resorcinareno (**1B**) con L-carnitina (**1C**),este se realizó en disolucion acuosa donde se evaluó mediante RMN-^{1}H y espectrometría de masas evidenciando una interacción entre ellos debido a la cavidad existente entre los resorcinarenos gracias a sus interacciones tipo π.

La tercera etapa consistió en la copolimerización entre el butilmetacrilato (BMA) y etilendimetacrilato (EDMA) y su modificación física con los resorcinarenos (**1A** y **1B**) el material polímero se caracterizó a través de IR y SEM – MEB

En la cuarta etapa se evalúan las variables de tiempo, solvente, volumen de carga, concentración y pH. Elegidas las mejores condiciones estas se aplican en la última etapa para la cuantificación de la L-carnitina (**1C**) partiendo del material polímero modificado con resorcinarenos (**1A** y **1B**) mediante cromatografía líquida acoplada a masas.

Palabras clave: Resorcinarenos, Sistemas huésped–hospedero, Interacciones moleculares, L-carnitina, Cuantificación.

Abstract

This research work aims to synthesize and characterize *corona*-type resorcinarenes to modify a methacrylate-based polymeric surface and to evaluate the molecular interaction and their preconcentration ability with L-carnitine.

The research was carried out in five stages: In the first stage, the synthesis of the starting resorcinarenes between resorcinol and propanal and/or heptanal was developed obtaining as a result the products *C*-tetra(ethyl)calix[4]resorcinarene (1A) and *C*-tetra(hexyl)calix[4]resorcinarene (1B), which were characterized by different instrumental techniques such as IR-ATR, ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR and mass spectrometry obtaining as a single conformer the crown type of great utility for its ease of forming host-guest systems.

In the second stage, the host-guest interaction in solution between the resorcinarenes *C*-tetra(ethyl)calix[4]resorcinarene (1A) and C-tetra(hexyl)calix[4]resorcinarene (1B) with L-carnitine (1C) was evaluated, This was performed in aqueous solution where it was evaluated by 1H-NMR and mass spectrometry evidencing an interaction between them due to the existing cavity between the resorcinarenes thanks to their π-type interactions.

The third stage consisted of the copolymerization between butylmethacrylate (BMA) and ethylenedimethacrylate (EDMA) and its physical modification with resorcinarenes (**1A** and **1B**) the polymer material was characterized by IR and SEM-MEB.

In the fourth stage, the variables of time, solvent, loading volume, concentration and pH are evaluated. Once the best conditions are chosen, these are applied in the last stage for the quantification of L-carnitine (1C) from the polymer material modified with resorcinarenes (1A and 1B) by mass-coupled liquid chromatography.

Keywords: Resorcinarenes, Host-guest systems, Molecular interactions, L-carnitine, Quantification.

Contenido

Pág.

Resumen ..... **VII**

Contenido **11**

Lista de figuras **14**

Lista de esquemas **16**

Lista de tablas **17**

Lista de anexos **18**

Lista de abreviaturas **19**

Introducción **20**

1. Marco Referencial **22**
1.1 Generalidades de los resorcinarenos 22
1.2 Síntesis de resorcinarenos 23
1.2.1 Síntesis de resorcinarenos promovidos por ácidos de Lewis 23
1.2.2 Síntesis de resorcinarenos promovidos por ácidos de Brønsted 24
1.2.3 Síntesis de resorcinarenos promovidos por bases 25
1.2.4 Mecanismos de macrociclación 26
1.2.5 Aspectos estructurales de los resorcinarenos 28
1.3 Funcionalización de resorcinarenos 30
1.3.1 Sitios claves de los resorcinarenos 30
1.3.2 Funcionalización de resorcinarenos en el borde inferior 31
1.3.3 Funcionalización de resorcinarenos en el borde superior 32
1.4 Uso de resorcinarenos 33
1.4.1 Resorcinarenos como modificadores de polímeros 34
1.4.2 Métodos Físicos 34
1.4.3 Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) 35
1.4.4 Cromatografía de gases (GC) 39
1.4.5 Cromatografía electrocinética (EKC) y electroforesis capilar (CE) 40
1.4.6 Extracción en fase sólida (SPE) 42
1.4.7 Interacciones Host-Guest de los resorcinarenos 42
1.4.8 Interacciones Host-Guest con L-carnitina 44
1.4.9 L-carnitina 45

2. Metodología.....46
2.1 Técnicas generales utilizadas 46
2.1.1 Cromatografía en capa delgada (CCD) 46
2.1.2 Tamiz Molecular 47
2.1.3 Punto de fusión 47
2.1.4 Infrarrojo IR-ATR 47
2.1.5 Resonancia magnética nuclear (RMN) 47
2.1.6 Microscopía Electrónica de Barrido (MEB) 47
2.1.7 Cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas 48
2.2 Síntesis de Resorcinarenos 48
2.2.1 Síntesis de *C*-tetra(etil)calix[4]resorcinareno (1A).....48
2.2.2 Síntesis de *C*-tetra(hexil)calix[4]resorcinareno (1B).....49
2.3 Interacción Host-Guest (Huesped-Hospedero) 49
2.3.1 Evaluación de la interacción molecular entre una solución de L-carnitina con los resorcinarenos mediante RMN- ^{1}H. 49
2.3.2 Evaluación de la interacción molecular de la L-carnitina con los Resorcinarenos 1A y 1B mediante HPLC-MS 50
2.4 Síntesis de Poli(EDMA-co-BMA).....51
2.4.1 Modificación física de *C*-tetra(etil)calix[4]resorcinareno y *C*-tetra(hexil)calix[4] resorcinareno con Poli(EDMA-co-BMA) 52
2.5 Evaluación variable de procesos de sorción: tiempo, solventes, volumen de carga, concentración y pH 52
2.6 Protocolo de extracción.....53
2.7 Cuantificación de la L-carnitina en proceso de adsorción.....54

3. Resultados y discusión 55
3.1 Síntesis y caracterización de resorcinarenos (etapa 1) 56
3.1.1 Síntesis de *C*-tetra(etil)calix[4]resorcinareno 56
3.1.2 Síntesis de *C*-tetra(hexil)calix[4]resorcinareno 58
3.2 Interacción Host-Guest (Huésped-Hospedero) entre *C*-tetra(etil)calix[4]resorcinareno (1A) y *C*-tetra(hexil) calix[4] resorcinareno (1B) con L-carnitina (etapa 2) 62
3.2.1 Interacción molecular entre una solución de resorcinarenos (1A - 1B) con L-carnitina (1C) mediante RMN-^{1}H.....62
3.2.2 Interacción molecular entre 1A y 1B con L-carnitina mediante espectrometría de masas ionización química. 68
3.3 Síntesis del copolímero: poli(BMA-co-EDMA) y sorción con los resorcinarenos (1A y 1B) (etapa 3) 71
3.3.1 Preparación del material monolítico poli(BMA-co-EDMA).....71
3.3.2 Modificación física de *C*-tetra(etil)calix[4]resorcinareno y *C*-tetra(hexil)calix[4]resorcinareno con poli(BMA-co-EDMA).....73
3.4 Evaluaciones de variables de procesos de sorción (etapa 4) 78
3.5 Cuantificación de la L-carnitina (etapa 5) 83

4. Conclusiones 87

5. Recomendaciones 88

6. Productos académicos.....89

6.1. Congreso 89
6.2. Artículo (Revisión Actualmente) 89

7. Anexos 90

8. Bibliografía..... 90

Lista de figuras

Pág.

Figura 1-1. Conformaciones más estables de los resorcinarenos gracias a su orientación *endo* de todos los sustituyentes en el borde inferior. 29
Figura 1-2. Conformaciones donde al menos un sustituyente se presenta en la orientación *exo*. 30
Figura 1-3. Configuraciones relativas de los puentes metileno que pueden adoptar los resorcinarenos. 30
Figura 1-4. Representación estructural clave de los sitios de un resorcinareno tipo *corona*. 31
Figura 1-5. Vista superior, representación común de un resorcin[4]areno 31
Figura 1-6. Fase estacionaria RP-18 recubierta con C-tetra-n-undecilcalix[4] resorcinareno. 35
Figura 1-7. Estructuras de partículas de silica (3-(C-metilcalix[4]resorcinareno)-2-hidroxipropoxi)-propilsilil **(a)** MCR-HPS y MCR-HPS sustituidos con acetato de bromo, **(b)** BAMCR-HPS 38
Figura 1-8. Estructuras de derivados de resorcinarenos usados como aditivos eluyentes 39
Figura 1- 9. Estructura del fenil-pentiloxi-resorcinareno. 39
Figura 1-10. Estructuras derivadas de resorcinarenos usadas en sistemas cromatográficos. 41
Figura 1-11. Estructura de la L-Carnitina. 45
Figura 2-1. Preparación soluciones para estudio de interacciones moleculares por LC-MS. 51
Figura 2-2. Protocolo de extracción: **a)** carga de los cartuchos de extracción con los sorbentes **b)** acondicionamiento de los cartuchos y carga del analito de interés (L-carnitina) **c)** lavados con disolvente y elución de la L-carnitina 51
Figura 3-1. Compilado de espectros RMN-^{1}H de los compuestos **1A** (superior) y **1B** (inferior)**.** 61
Figura 3-2. Datos de caracterización **1C** (L-carnitina)**Figura 3-2.** Espectro RMN-^{1}H interacción host-guest entre *C*-tetra(etil)calix[4] resorcinareno **1A** y la L-carnitina **1C.** 63
Figura 3-3. Espectro RMN-^{1}H interacción host-guest entre *C*-tetra(hexil)calix[4] resorcinareno **1B** y la L-carnitina **1C.** 66
Figura 3-4. SEM de la estructura de poli(BMA-co-EDMA) **A.** 500 µm **B.** 50 µm **C.** 5 µm. 72
Figura 3-5. Modificación física de poli(BMA-co-EDMA) con **1A** empleando: **a.** 10 mL EtOH, tiempo 24 horas. **b.**10 mL EtOH, tiempo 48 horas y **c**. 10 mL $CHCl_3$ por 24 horas. 74

Figura 3-6. Modificación física de poli(BMA-co-EDMA) con **1B** empleando: **a.** 10 mL EtOH, tiempo 24 horas. **b.**10 mL EtOH, tiempo 48 horas y **c**. 10 mL $CHCl_3$ por 24 horas. 74
Figura 3-7. Mejores resultados experimenta de la modificación física de los resorcinarenos **1A** y **1B** con el material polimérico. 74
Figura 3-8. Espectro infrarrojo. **a.** poli(BMA-co-EDMA) **b.** poli(BMA-co-EDMA) modificado con *C*-tetra(etil)calix[4]resorcinareno (**1A**) **c**. poli(BMA-co-EDMA) modificado con *C*-tetra (hexil)calix[4]resorcinareno (**1B**). 76
Figura 3-9. SEM en diferentes magnificaciones (**mag**) 5 µm, 50 µm y 500 µm **a.** poli(BMA-co-EDMA) **b.** poli(BMA-co-EDMA) modificado con *C*-tetra(etil)calix[4] resorcinareno (**1A**) **c**. poli(BMA-co-EDMA) modificado con *C*-tetra(hexil)calix[4] resorcinareno (**1B**). 77
Figura 3-10. Parámetro de tiempo para el análisis, interacción y cuantificación del polímero modificado con **1A** y polímero con 1B frente a L-carnitina. 79
Figura 3-11. Parámetro de disolvente para el análisis, interacción y cuantificación del polímero modificado con **1A** y polímero con 1B frente a L-carnitina 80
Figura 3-12. Parámetro de volumen de carga para el análisis, interacción y cuantificación del polímero modificado con **1A** y polímero con 1B frente a L-carnitina. 80
Figura 3-13. Parámetro de concentración para el análisis, interacción y cuantificación del polímero modificado con **1A** y polímero con 1B frente a L-carnitina 81
Figura 3-14. Parámetro de pH para el análisis, interacción y cuantificación del polímero modificado con **1A** y polímero con 1B frente a L-carnitina. 82
Figura 3-15. Etapas de la extracción en fase sólida (SPE) 85
Figura 3-16. Reproducibilidad y curva de calibración de la L-carnitina de 0.1 a 0.6 mg/mL. 85

Lista de esquemas

Pág.

Esquema 1-1. Familia del calixareno con sus respectivos precursores 23
Esquema 1-2. Síntesis de resorcinarenos quirales partiendo de materiales aquirales.... 24
Esquema 1-3. Condiciones típicas para la reacción de ciclocondensación promovidas por acido de Brønsted entre el resorcinol y butanal..... 25
Esquema 1-4. Reacción de ciclocondensación mediada por el ácido tríflico entre el 2-bromoresorcinol y acetaldehído. 25
Esquema 1-5. Síntesis de resorcinarenos bajo condiciones mediadas por bases. 26
Esquema 1-6. Ciclocondensación ácida general entre el resorcinol y aldehído para la formación de resorcinarenos y oligómeros de distintos miembros..... 27
Esquema 1-7. Aspectos estructurales. 28
Esquema 1-8. Obtención del tetra(4-hidroxifenil)calix[4]resorcinareno y los rendimientos conformacionales obtenidos..... 32
Esquema 1-9. Diferentes funcionalizaciones del borde superior de los resorcinarenos 33
Esquema 1-10. Ruta sintética de resorcinarenos funcionalizados con amida unida a sílice en fase estacionaria tipo-RP 37
Esquema 1-11. Sulfometilación de resorcinarenos para interacciones huésped-hospedero con distintos aminoácidos. 43
Esquema 1-12. Sulfometilación de resorcinarenos con sustituyentes en el borde inferior de distintas cadenas alifáticas, usados para la interacción con colina..... 44
Esquema 3-1. Etapas que conforman el desarrollo del trabajo..... 55
Esquema 3-2. Reacción de obtención de *C*-tetra(etil)calix[4]resorcinareno **(1A)**. 57
Esquema 3-3. Reacción de obtención de *C*-tetra(hexil)calix[4]resorcinareno **(1B)**. 59
Esquema 3-4. Interacción host-guest entre **1A** y L-carnitina **1C**..... 64
Esquema 3-5. Interacción host-guest entre **1B** y L-carnitina **1C**..... 67
Esquema 3-6. Interacción Host-Guest (**a)** Reacción de la interacción entre la *C*-tetra(etil) calix[4]resorcinareno **1A** y la L-carnitina **1C (b)** Espectro de masas entre **1A** y **1C**..... 69
Esquema 3-7. Interacción Host-Guest (**a)** Reacción de la interacción entre la *C*-tetra(hexil) calix[4]resorcinareno **1B** y la L-carnitina **1C (b)** Espectro de masas entre **1B** y **1C.**..... 70
Esquema 3-8. Síntesis del polímero BMA-co-EDMA. 72

Lista de tablas

Pág.

Tabla 2-1. Preparación soluciones para estudio de interacciones moleculares por RMN-^{1}H. 50
Tabla 2-2. Mejores condiciones para la modificación física del material polimérico con los resorcinarenos **1A** y **1B**……52
Tabla 3-1. Datos de caracterización **1A** *C-tetra(etil)calix[4]resorcinareno* 58
Tabla 3-2. Datos de caracterización **1B** *C*-tetra(hexil)calix[4]resorcinareno 60
Tabla 3-3. Datos de caracterización **1C** (L-carnitina)**Figura 3-2.** Espectro RMN-^{1}H interacción host-guest entre *C*-tetra(etil)calix[4] resorcinareno **1A** y la L-carnitina **1C.** ... 63
Tabla 3-4. Desplazamientos de las interacciones de los protones de L-carnitina **1C** frente a *C*-tetra(etil)calix[4] resorcinareno **1A.** 64
Tabla 3-5. Desplazamientos de las interacciones de los protones del *C*-tetra(etil)calix[4] resorcinareno **1A** frente L-carnitina **1C**..... 65
Tabla 3-6. Desplazamientos de las interacciones de los protones de L-carnitina **1C** frente a *C*-tetra(hexil)calix[4] resorcinareno **1B** 66
Tabla 3-7. Desplazamientos de las interacciones de los protones del *C*-tetra(hexil)calix[4] resorcinareno **1B** frente a la L-carnitina **1C.** 67
Tabla 3-8. Mejores resultados de tiempo, solvente, volumen de carga, concentración y pH para el análisis, interacción y cuantificación del polímero, polímero modificado con **1A** y polímero modificado con **1B** frente a L-carnitina **1C**. 82
Tabla 3-9. Datos de sorción del polímero, polímero modificado con **1A**, polímero modificado con **1B** frente a la L-carnitina de 0.1 a 0.6 mg/mL. 84
Tabla 3-10. Datos cuantificación de la preconcentración de L-carnitina con resorcinarenos modificados con una superficie polimérica. 85

Lista de anexos

Pág.

Anexo 1. Espectro IR (**1A**) *C*-tetra(etil)calix[4]resorcinareno. 99
Anexo 2. Espectro RMN-^{1}H (**1A**) *C*-tetra(etil)calix[4]resorcinareno. 100
Anexo 3. Espectro RMN-^{13}C (**1A**) *C*-tetra(etil)calix[4]resorcinareno. 101
Anexo 4. Espectro de masas (**1A**) *C*-tetra(etil)calix[4]resorcinareno. 102
Anexo 5. Espectro IR (**1B**) *C*-tetra(hexil)calix[4]resorcinareno. 103
Anexo 6. Espectro RMN-^{1}H (**1B**) *C*-tetra(hexil)calix[4]resorcinareno. 104
Anexo 7. Espectro RMN-^{13}C (**1B**) *C*-tetra(hexil)calix[4]resorcinareno. 105
Anexo 8. Espectro de masas (**1B**) *C*-tetra(hexil)calix[4]resorcinareno. 106
Anexo 9. Espectro RMN-^{1}H (**1C**) L-carnitina. 107
Anexo 10. Espectro de masas de la L-carnitina (**1C**). 108
Anexo 11. Espectro de masas interacción entre la *C*-tetra(etil)calix[4]resorcinareno **1A** y la L-carnitina **1C**. 109
Anexo 12. Espectro de masas interacción entre la *C*-tetra(hexil)calix[4]resorcinareno **1B** y la L-carnitina **1C**. 110
Anexo 13. Espectro IR-ATR poli(BMA-co-EDMA) 111
Anexo 14. Datos experimentales curva de calibración de L-carnitina. 112

Lista de abreviaturas

Abreviaturas

Abreviatura	Término
ABCN	1′-azobis(ciclohexanocarbonitrilo)
ACN	Acetonitrilo
ATR	Attenuated Total Reflection (Reflexión total atenuada)
BMA	Butilmetacrilato
$CHCl_3$	Cloroformo
CCD	Cromatografía en capa delgada
DMSO	Dimetilsulfóxido
D_2O	Agua Deuterada
EDMA	Etilendimetacrilato
EtOH	Etanol
HCl	Ácido clorhídrico
LC/MS	Cromatografía de líquidos acoplada a espectrometría de masas
MeOH	Metanol
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
SEM	Scanning Electron Microscope (Microscopía electrónica de barrido)
SPE	Solid Phase Extraction (Extracción en fase sólida)
µm	Micrómetro

Introducción

Los resorcinarenos son macromoléculas cíclicas fenólicas que son obtenidas a través de reacciones de condensación a partir de resorcinol con infinidad de aldehídos tanto aromáticos como alifáticos, donde en una mezcla de etanol y ácido se obtienen altos rendimientos. Estos a su vez pueden ser modificados con múltiples sustituyentes en su borde tanto inferior como superior por medio de reacciones de metilación, aminación, diazotación, nitración entre otras, como resultado de esta variedad de grupos funcionales con los que estas moléculas pueden ser derivatizadas ha despertado el interés de muchos químicos. Las muchas variaciones estructurales que poseen estas moléculas macrocíclicas conducen a un numeroso potencial de aplicaciones como lo son: (contenedores de reacción a nanoescala, agentes de extracción de iones metálicos, agentes de reconocimiento supramolecular, agentes solvatantes quirales RMN, catalizadores reacciones tipo-Mannich, reacción de Heck, derivados de colina y oxidación C-H, sitios de intercambio en separaciones cromatográficas, agentes de protección y liberación de fármacos y en técnicas de separación) [1–3]. El uso de derivados de resorcinarenos para separaciones químicas aún continua en estudios iniciales comparado con las aplicaciones de otros macrociclos como lo son, calixarenos y éteres de corona, sin embargo, múltiples estudios que implican resorcinarenos y sus derivados ofrecen una promesa significativa en esta área. Los resorcinarenos pueden servir como huéspedes para el reconocimiento molecular de iones de amonio orgánicos en solventes próticos. Esta afinidad es alta e implica interacciones simultáneas como π-catión. Estos receptores han sido usados en el diseño de sistemas binarios fluorescentes para la señalización de cationes amonio biológicamente importantes tales como, colina, acetilcolina, y carnitina. En la literatura se encuentran varios métodos para la detección de carnitina, dada su gran importancia en la dieta humana [4,5]. Entre los diversos métodos que se pueden encontrar para la detección de este catión orgánico, destacan: el análisis con biosensores [6], los marcadores radiactivos [7,8], los métodos cromatográficos [9–12], la electroforesis capilar [13], los métodos fluorescentes [14–16] y en las últimas décadas se han reportado avances en la detección de carnitina a través de la química supramolecular [17,18].

De estos métodos, el HPLC-MS es actualmente el más utilizado para el análisis de carnitina y sus derivados, sin embargo, una de las grandes dificultades es el efecto matriz que impide una adecuada detección del analito [19,20]. Una posible solución a los problemas derivados de los efectos de matrix podría ser la aplicación de la técnica de SPE como pretratamiento de la muestra. La SPE se emplea para enriquecer el analito y desalinizar las muestras, pero en el caso de los analitos polares no se retienen suficientemente en la extracción en fase sólida de la SPE [21]. Una solución reciente a este problema ha sido el desarrollo y la aplicación de sorbentes con mayor selectividad hacia la carnitina, por ejemplo, utilizando superficies poliméricas modificadas con macrociclos de éter corona [22,23]u otros sistemas macrocíclicos como los resorcinarenos [24,25].

Los resorcinarenos, como ya se ha mencionado, se han utilizado como modificadores de materiales poliméricos mediante impregnación física. En este proceso, el sistema macrocíclico se fija al polímero por fisisorción, que puede ser eficiente dependiendo de la longitud de la cadena alquílica en el borde inferior del macrociclo. En este contexto, este trabajo describe el uso de un procedimiento de extracción en fase sólida basado en el uso de sorbentes poliméricos modificados para la extracción selectiva de carnitina. Para ello, se utilizaron polímeros a base de metacrilato, ya que presentan un alto grado de porosidad, área superficial, estabilidad química y una baja resistencia mecánica. La modificación física del polímero se realizó con *C*-tetra(etil)calix(4)resorcinareno y *C*-tetra(hexil)calix(4) resorcinareno. Se evaluó la eficacia de la retención de carnitina en las superficies modificadas examinando los efectos del tiempo de contacto, solvente, concentración, el pH y el volumen de la muestra en la sorción efectiva.

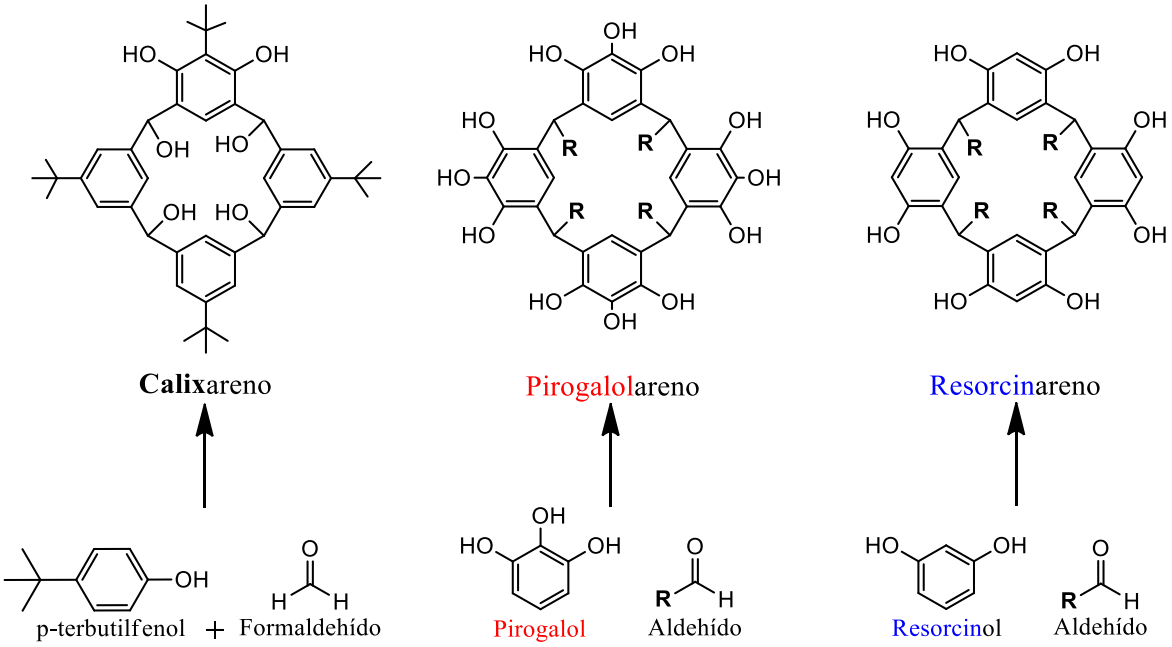
1. Marco Referencial

1.1 Generalidades de los resorcinarenos

Los resorcinarenos son macromoléculas polifenólicas, las cuales se componen básicamente de anillos aromáticos unidos por medio de puentes metino, los cuales se encuentran sustituidos según la naturaleza de aldehídos de partida usados. La primera síntesis reportada de los resorcinarenos, ocurrió en 1872 por Adolf Von Beayer [26], al obtener un material cristalino, de la condensación de resorcinol y varios aldehídos. En 1884, Michael reporta que dichos compuestos se forman por la combinación igual de número de moléculas de aldehído y resorcinol, gracias a la pérdida de un número igual de moléculas de agua. Niederl y Vogel [27] en 1940 demostraron mediante determinaciones de peso molecular, que la relación entre aldehído y resorcinol en estos productos es 4:4, proponiendo una estructura de tetrámero cíclico. Hasta 1968, más de un siglo después de la primera síntesis hecha por Beayer, Erdtman [28] demuestra su estructura mediante rayos X.

Los resorcinarenos son calixarenos derivados de resorcinol (**Esquema 1-1**), la palabra calixareno se refiere a la forma de cuenco que tiene estos compuestos (del latín *calix*, copa) [29] Gutsche [30] y Vicens [31] también llamaron estos compuestos como calix[4]resorcinarenos o calix[4]arenos derivados de resorcinol. Otros nombres como compuestos de Högberg [32] y octoles [33] también se pueden encontrar. En ausencia de un nombre trivial, Schneider y Schneider [34-35] sugieren el nombre de resorcinareno en 1994. Un ejemplo de nombrar estas estructuras es de la forma de C-metilcalix[4]resorcinareno, donde el sustituyente introducido desde el aldehído de partida es indicado con el prefijo “C-sustituyente”, en este caso C-metil, y el número entre corchetes indica el número del tamaño del macrociclo, el cual comúnmente es de 4 miembros.

Esquema 1-1. Familia del calixareno con sus respectivos precursores



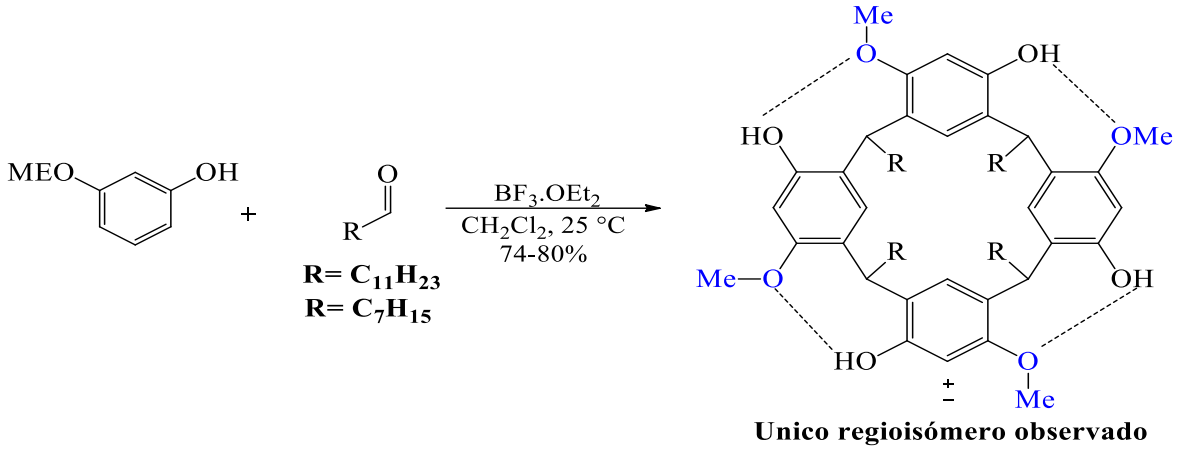
1.2 Síntesis de resorcinarenos

1.2.1 Síntesis de resorcinarenos promovidos por ácidos de Lewis

Los ácidos de Lewis también han demostrado ser mediadores en la formación de resorcinarenos [36]. En casos donde el fenol reacciona con ácidos de Lewis, éteres de resorcinol [37] y pirogalol son usualmente usados en lugar de fenoles libres. Unas gamas de ácidos de Lewis han sido usadas para mediar la reacción incluyendo $BF_3.OEt_2$, $SnCl_4$ y $AlCl_3$ [36].

El tratamiento de una mezcla de 3-metoxifenol y un aldehído alifático con $BF_3.OEt_2$ en diclorometano a 25 °C produce resorcinarenos quirales, estos en su forma racémica con rendimientos [38] entre 74% - 80% (**Esquema 1-2**).

Esquema 1-2. Síntesis de resorcinarenos quirales partiendo de materiales aquirales.

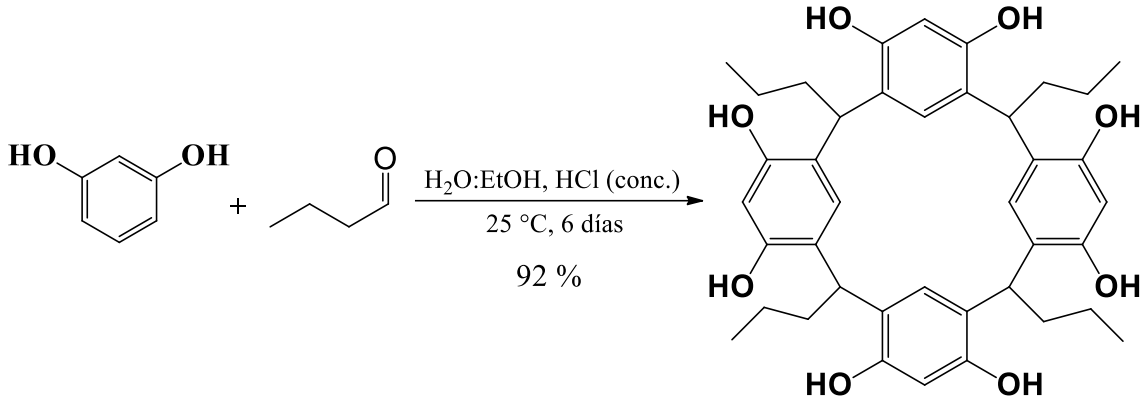


1.2.2 Síntesis de resorcinarenos promovidos por ácidos de Brønsted

El método más común para sintetizar un resorcinareno es la condensación promovida por ácido entre resorcinol y un aldehído. La reacción trabaja bien con un rango amplio de aldehídos aromáticos [32,39–43] y alifáticos [44–47]. Varios factores estereoquímicos contribuyen al resultado de la reacción: (a) las estructuras del aldehído y del fenol; (b) el tiempo de reacción; y (c) el solvente. Dado que la reacción catalizada por ácido es reversible, tiempos de reacción corto favorecen una distribución cinética de los productos, mientras tiempos de reacción más largos favorecen productos termodinámicos. No obstante, si un estereoisómero es considerablemente menos soluble que los otros, la precipitación de la mezcla de reacción puede provocar que se convierta en el producto mayoritario [48]. Una serie típica de condiciones estequiométricas 1:1 resorcinol y butanal en una mezcla 2:2:1 etanol, agua y ácido clorhídrico, se calienta a 25 °C por 6 días (**Esquema 1-3)**. Estas condiciones resultan en la precipitación del C-propilresorcin[4]areno como el isómero rccc con un rendimiento del 92% [49].

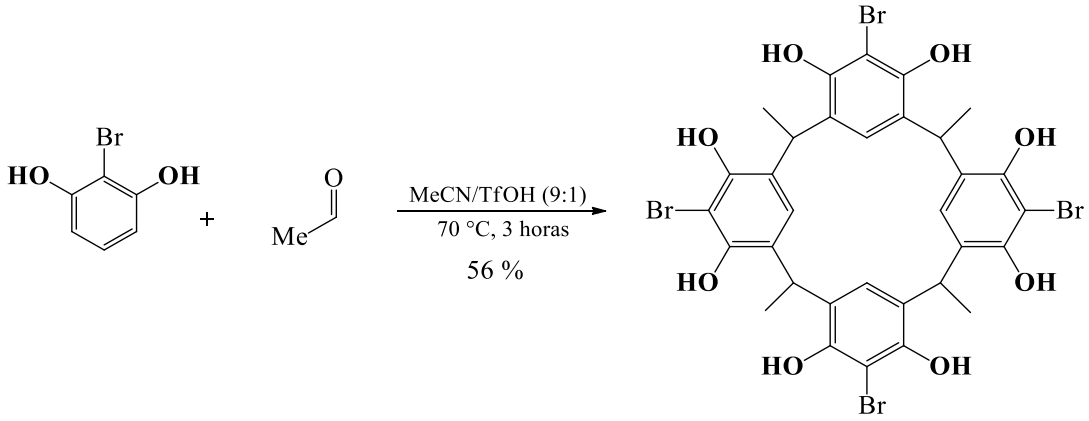
La reacción de condensación promovida por ácido en términos generales se da por el componente del aldehído. Sin embargo, la reacción no exhibe el mismo amplio alcance para reactivos fenólicos. La condensación funciona bien con fenoles ricos en electrones (donde la sustitución en la posición 2 del anillo aromático sea = Me, OH, H).

Esquema 1-3. Condiciones típicas para la reacción de ciclocondensación promovidas por ácido de Brønsted entre el resorcinol y butanal.



La presencia de grupos electro atrayentes (NO_2, COOH, Br) en la posición C-2 del resorcinol inhibe la reacción de ciclocondensación. Afortunadamente, la reactividad reducida de los resorcinoles pobres en electrones puede ser compensada mediante el uso de ácidos fuertes de Brønsted. Por ejemplo, el ácido tríflico en acetonitrilo cataliza con éxito la reacción de ciclocondensación entre el 2-bromoresorcinol relativamente pobre en electrones en una variedad de aldehídos aromáticos y alifáticos [50]. (**Esquema 1-4**).

Esquema 1-4. Reacción de ciclocondensación mediada por el ácido tríflico entre el 2-bromoresorcinol y acetaldehído.



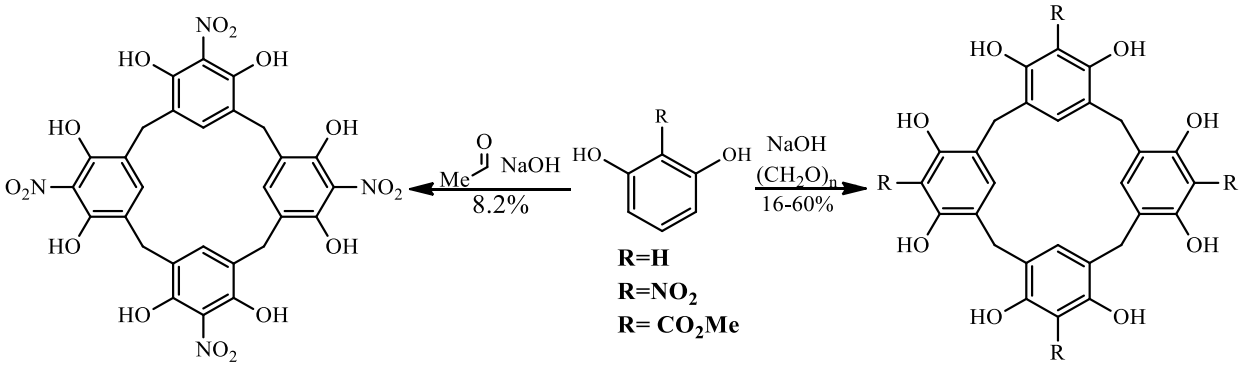
1.2.3 Síntesis de resorcinarenos promovidos por bases

Hay únicamente tres ejemplos publicados de resorcinarenos sintetizados mediados por base. La literatura sobre la síntesis de resorcinarenos contrasta con la de los calixarenos, los cuales en su mayoría son preparados con mayor frecuencia bajo condiciones

básicas[51]. Los derivados de resorcinol pobres en electrones se someten fácilmente a la ciclocondensación en condensaciones mediadas por bases, con paraformaldehído también funcionan mejor en condiciones básicas. Los resorcinoles más reactivos bajo condiciones mediados por bases son aquellos que tienen el peor rendimiento en ciclocondensaciones promovidas por ácido. Esta característica de la síntesis de resorcinarenos mediados por bases se resalta en el **Esquema 1-5,** donde se obtiene un rendimiento bajo cuando se usa resorcinol con paraformaldehído (16%), mientras un rendimiento alto se obtiene usando 2-nitroresorcinol (60%). Posiblemente, las mejoras en los rendimientos para los derivados del resorcinol pobres en electrones se deben a una mayor facilidad de generar reactivos intermedios desprotonados.

Las reacciones controladas por bases funcionan mejor con paraformaldehído, pero también procede con otros aldehídos, aunque con rendimientos muchos más bajos. El tratamiento del 2-nitroresorcinol con acetaldehído en NaOH acuoso permite un rendimiento del 8,2% del C-metiltetranitroresorcin[4]areno en su forma de diastereómero rcct (**Esquema 1-5**). El producto de la mezcla también contiene el dímero del 2-nitroresorcinol y ciclooligomeros mas grandes, así como el tetrámero cíclico diana [52].

Esquema 1-5. Síntesis de resorcinarenos bajo condiciones mediadas por bases.

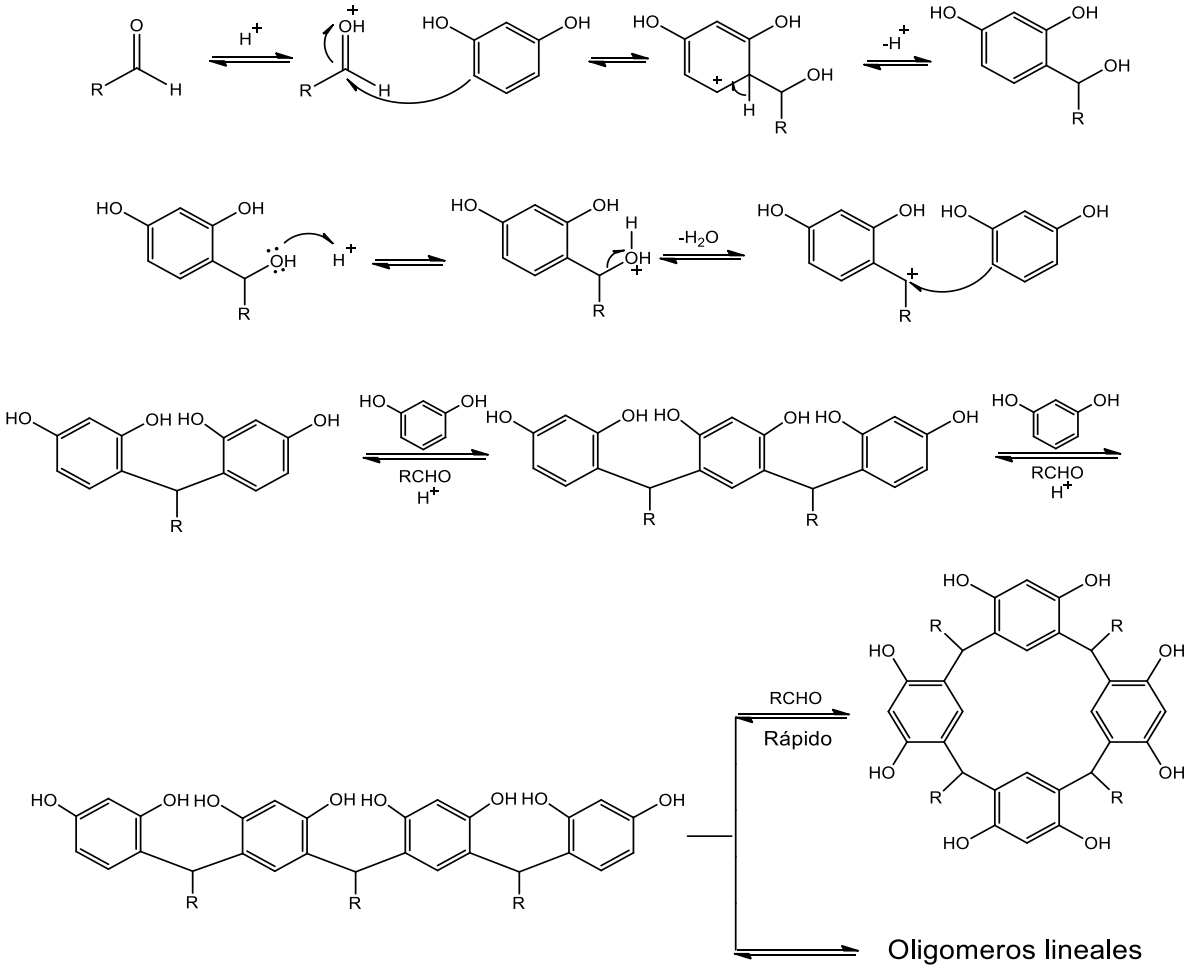


1.2.4 Mecanismos de macrociclación

La síntesis de los resorcinarenos se da a partir de la cicloadición ácida de resorcinol y un aldehído, el cual puede ser alifático o aromático. El producto mayoritario obtenido mediante esta ruta sintética es del macrociclo de cuatro miembros, aunque se ha reportado la presencia del pentámero y el hexámero variando las condiciones de

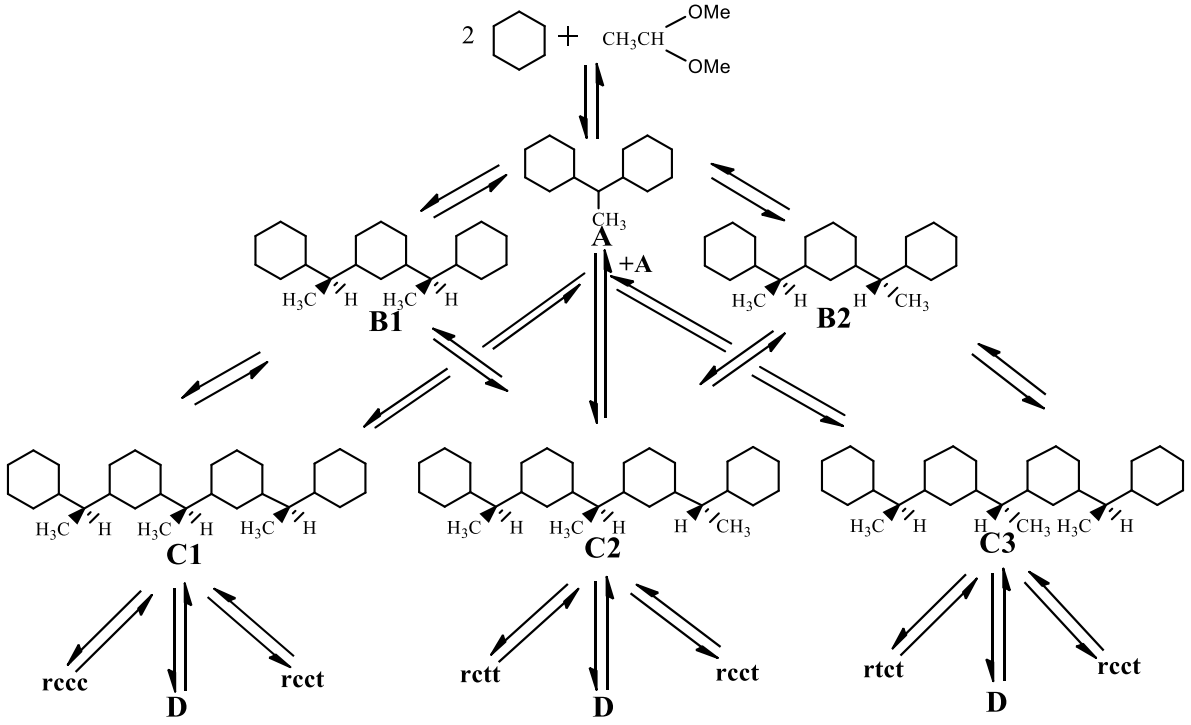
reacción [29]. Esto se da gracias a la protonación del aldehído, seguido de una sustitución electrofílica en la posición orto del resorcinol con posterior pérdida de agua, lo que genera a su vez la formación de un carbocatión que promueve una segunda sustitución electrofílica sobre la posición orto de otra unidad de resorcinol, dando la formación del dímero. Las sustituciones *orto* electrofílica se repiten para así formar los trímeros y tetrámeros, para después la ciclación de este último, formando así el resorcinareno, o la propagación de la cadena para la obtención de oligómeros [53] (**Esquema 1-6**).

Esquema 1-6. Ciclocondensación ácida general entre el resorcinol y aldehído para la formación de resorcinarenos y oligómeros de distintos miembros.



Weinelt y Schneider [53] demuestran mediante un estudio cinético que la presencia del tetrámero es más común gracias a las velocidades de adición que se dan entre el aldehído protonado y el resorcinol. Dicho estudio concluye que la apertura y cierre del macrociclo de cuatro miembros se da de manera más rápida que la propagación de la cadena para la formación de oligómeros lineales de cinco y seis miembros, a su vez la formación de los oligómeros lineales de más de cuatro miembros es más rápida que la apertura del macrociclo, lo que promueve en su mayoría la formación de los ciclos de cuatro miembros. (**Esquema 1-7.**)

Esquema 1-7. Aspectos estructurales.

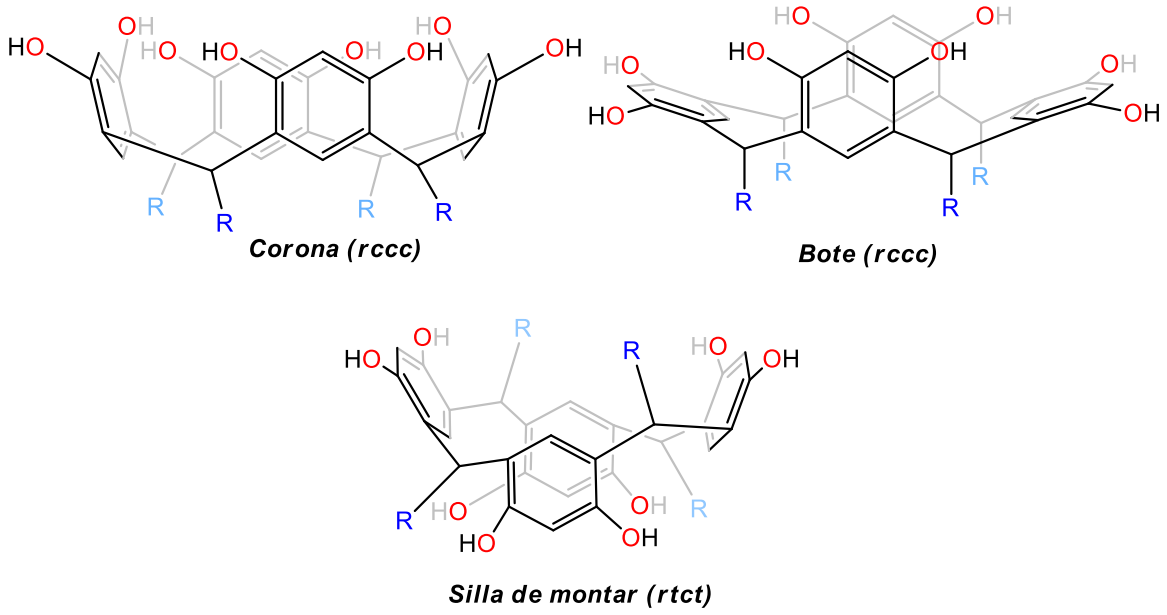


1.2.5 Aspectos estructurales de los resorcinarenos

Los resorcinarenos al ser moléculas no planares pueden en principio, existir en diferentes formas isoméricas. La estereoquímica está definida generalmente como una combinación de los siguientes tres elementos estereoquímicas:

1. Los resorcinarenos pueden adoptar varias conformaciones macrocíclicas, sin embargo, la más común es la del tipo *corona*. La configuración es clasificada de acuerdo a la orientación de los sustituyentes del borde inferior, estos pueden ser ya sea axial-ecuatorial o *endo-exo*, con respecto a la cavidad del resorcinareno. Por tanto, cuando todos los sustituyentes del borde inferior están en posición *endo* se presentan las conformaciones *corona, bote y cuchara*, que son las más estables [54,55] (**Figura 1-1**). El confórmero *corona* presenta todos los hidroxilos hacia arriba formando un anillo de puentes de hidrógeno intramoleculares que estabilizan dicha conformación [54], mientras que la conformación *bote* presenta dos anillos opuestos cara a cara, y los otros dos están casi paralelos con el puente metino [54]. La configuración *cuchara* se presenta como una hibridación de los confórmeros *corona* y *silla* [55].

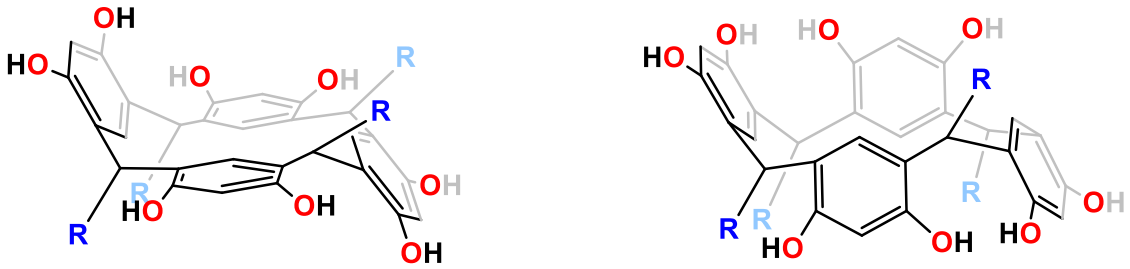
Figura 1-1. Conformaciones más estables de los resorcinarenos gracias a su orientación *endo* de todos los sustituyentes en el borde inferior.



Otro tipo de configuraciones es dado cuando al menos uno de los sustituyentes se encuentra en la orientación *exo*, de esta manera se hacen presentes las conformaciones *silla* y *diamante* de las cuales los hidroxilos de uno o dos anillos del macrociclo apuntan hacia abajo del plano [56,57] (**Figura 1-2**). Sin embargo, las conformaciones que presentan todos sus sustituyentes en orientación *endo* (*corona, bote* y *montura*), aportan una

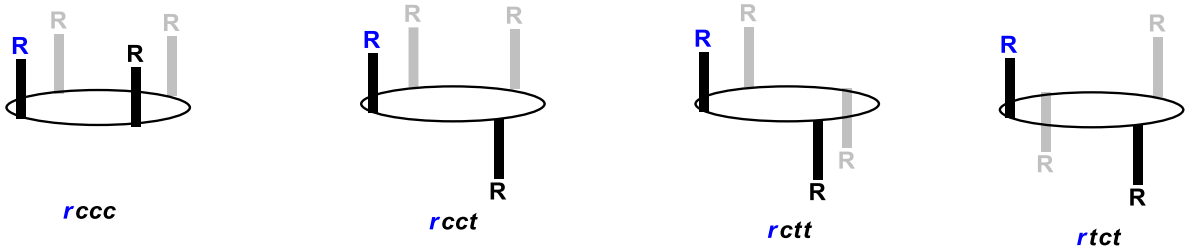
cavidad en forma de cuenco, cualidad que favorece los acomplejamientos huésped-hospedero.

Figura 1-2. Conformaciones donde al menos un sustituyente se presenta en la orientación *exo.*



2. La configuración relativa de los sustituyentes del puente metileno, da cualquiera de los siguientes ordenamientos, todos cis (ccc), cis-cis-trans (cct), cis-trans-trans (ctt) y trans-cis-trans (tct) (**Figura 1-3**).

Figura 1-3. Configuraciones relativas de los puentes metileno que pueden adoptar los resorcinarenos.



3. La configuración individual de los sustituyentes en los puentes metileno la cual, en conformaciones del macrociclo con simetría C, pueden ser axiales o ecuatoriales[57].

1.3 Funcionalización de resorcinarenos

1.3.1 Sitios claves de los resorcinarenos

Los resorcinarenos se muestran desde varias conformaciones, siendo el tipo *corona* la más común, en la **figura 1-4 y 1-5,** Se muestran características claves estructurales de este tipo de conformación: el borde superior incluyendo la posición más común de los

sustituyentes, es decir la posición del C-2 (carbono 2) del anillo del resorcinol, las cuatro cadenas laterales equivalentes y uno de los cuatro puentes carbono. Los resorcinarenos sustituidos en el borde superior (i.e, funcionalizados) se consiguen por uno de dos métodos: bien sea por ciclocondensación de un sustituyente del C-2 de un resorcinol con un aldehído o por funcionalización después de haber sintetizado [47].

Figura 1-4. Representación estructural clave de los sitios de un resorcinareno tipo *corona*.

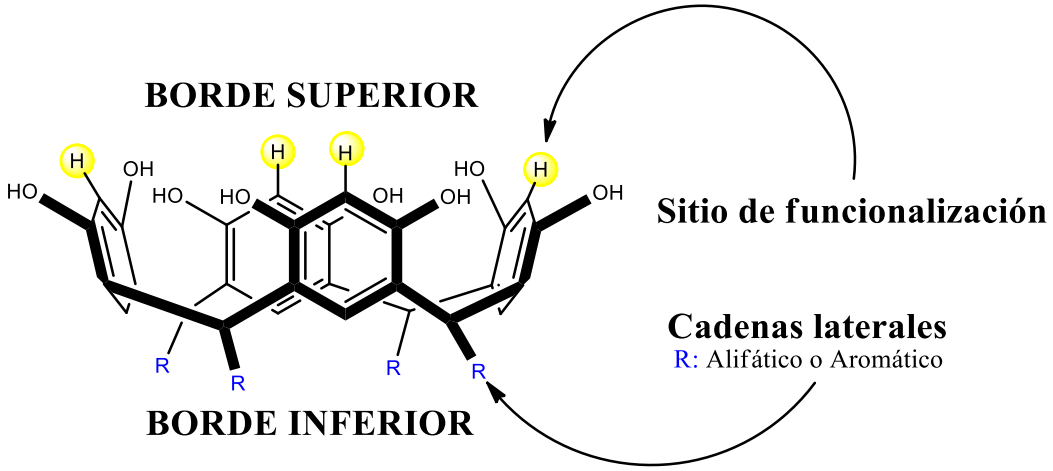
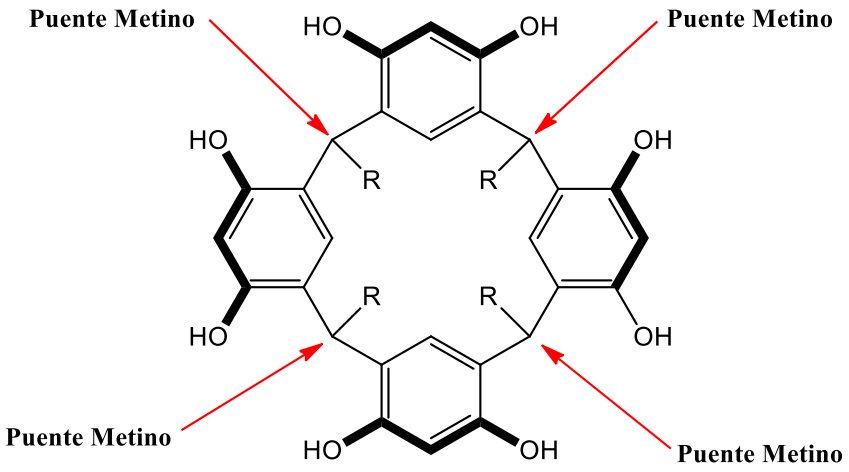


Figura 1-5. Vista superior, representación común de un resorcin[4]areno



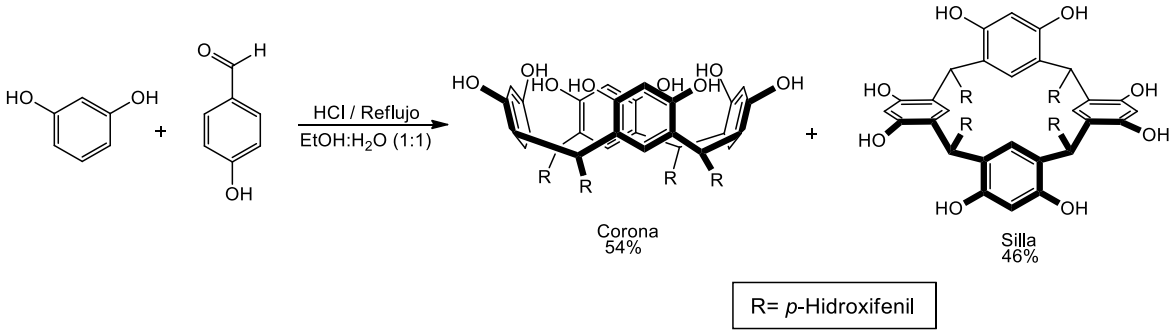
1.3.2 Funcionalización de resorcinarenos en el borde inferior

Los resorcinarenos presentan una gran versatilidad con respecto a la química supramolecular, puesto que pueden ser funcionalizados en distintas partes de su

estructura, dando así una gran variedad de moléculas hospederas [29]. Los sustituyentes en el borde inferior se dan a partir del aldehído de partida, comúnmente se presenta sustituciones alifáticas y aromáticas.

Se pueden evidenciar varios ejemplos de resorcinarenos con sustituyentes en el borde inferior de distintas clases, donde las modificaciones sobre el resorcinareno dependen de la longitud de la cadena alifática del aldehído empleado [58,59]. También cabe resaltar estudios de sustituyentes aromáticos en el borde inferior evidenciado en la ciclocondensación acida entre *p*-hidroxibenzaldehido y resorcinol, para la obtención del tetra(4-hidroxifenil)calix[4]resorcinareno (**Esquema 1-8**), de la cual se evidenció la mezcla entre confórmeros *corona* y silla (54% y 46% respectivamente).

Esquema 1-8. Obtención del tetra(4-hidroxifenil)calix[4]resorcinareno y los rendimientos conformacionales obtenidos.

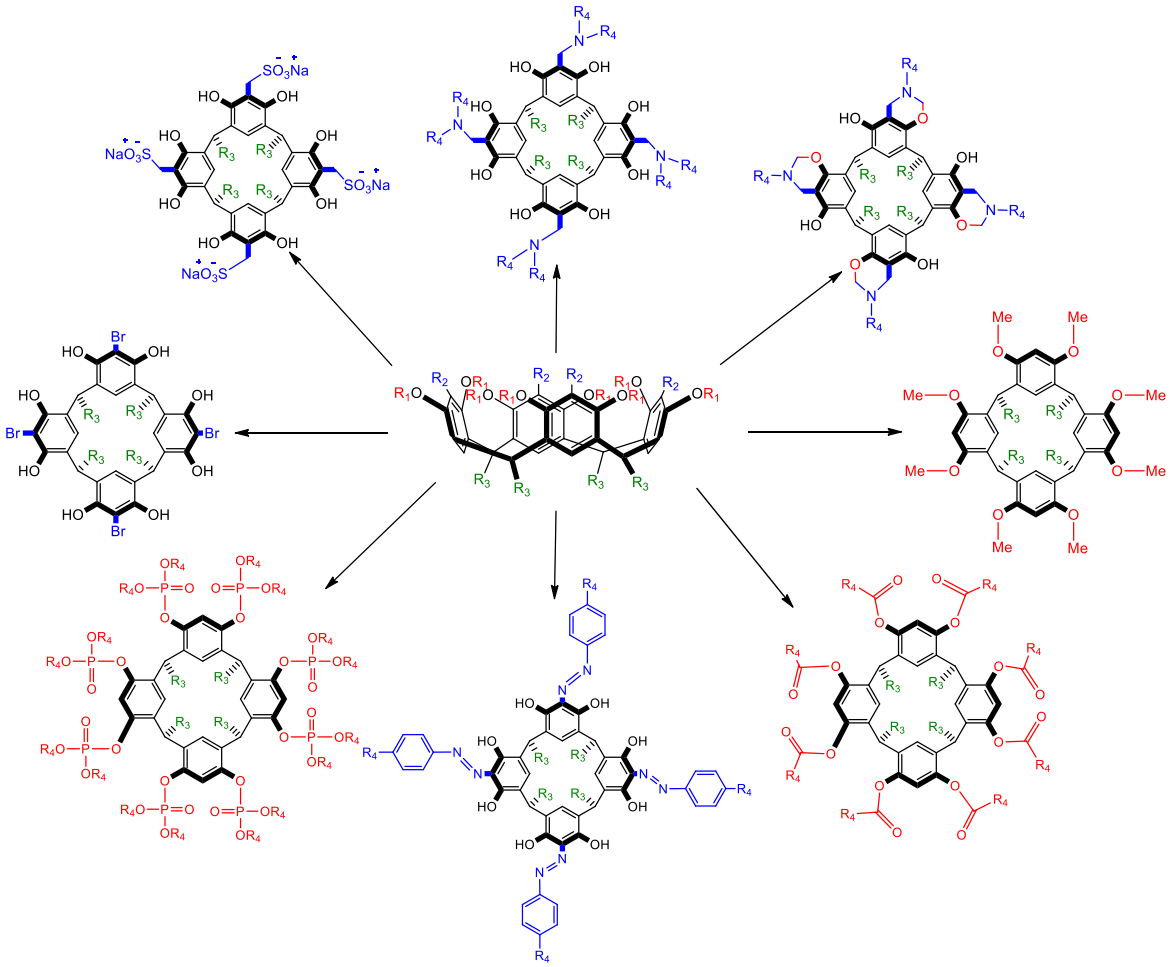


1.3.3 Funcionalización de resorcinarenos en el borde superior

Los resorcinarenos también pueden ser funcionalizados en el borde superior con varios grupos funcionales como lo son aminas, iminas, azufre, grupos alquilo y azo entre otros, generando una amplia variedad de compuestos macrociclicos con diferentes propiedades de reconocimiento, selectividad, solubilidad y grado de hidrofobicidad. Este último aspecto es muy importante, porque con la introducción de los grupos polares a los resorcinarenos, es posible diseñar macrociclos anfifílicos con una cabeza hidrofílica y una cola hidrofóbica que pueden auto ensamblarse en micelas y otros agregados útiles para el transporte de fármacos [60]. Los sitios para la modificación química de los resorcinarenos son de los grupos hidroxilo en la posición 2 del anillo de las unidades de

resorcinol. Las funcionalizaciones de los resorcinarenos con diferentes grupos pueden dar lugar a varias estructuras como se muestran en el **esquema 1-9.**

Esquema 1-9. Diferentes funcionalizaciones del borde superior de los resorcinarenos.



1.4 Uso de resorcinarenos

Las aplicaciones de los derivados de resorcinarenos en técnicas de separación modernas incluyen la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), cromatografía de gases (GC), electroforesis capilar (EC), y extracción en fase solida (SPE).

1.4.1 Resorcinarenos como modificadores de polímeros

En los últimos 15 años, la entrada de los polímeros en campos avanzados de aplicación ha sido eficaz gracias a su creciente capacidad de adaptarse a necesidades específicas, que a menudo implican la modificación de sus propiedades de superficie, por lo tanto, como lo revela un análisis de la producción científica del año 2000 al 2016, los métodos de modificación de superficies han ganado más y más atención y representan más de la mitad de la producción científica global que abarca polímeros y modificaciones poliméricas [61].

El objetivo en común del tratamiento de superficies, es modificar la capa externa de un polímero, insertando algunos grupos funcionales sobre la superficie con el fin de mejorar sus propiedades de barrera, humectabilidad, capacidad de sellado, impresión y absorción de colorantes, su resistencia a cristalizarse, su adhesión a otros materiales o su interacción con un ambiente biológico, mientras se mantienen sus propiedades masivas del polímero.

Tradicionalmente, los métodos de modificación de superficie de polímeros han sido divido entre métodos químicos y métodos físicos, pero los avances recientes mencionados anteriormente en la aplicación de polímeros en biomateriales, ahora abre el camino a la inserción de una nueva categoría de métodos de modificación de polímeros, estos basados en rutas biológicas. Todos o la gran mayoría de estos enfoques sufren (al menos uno), ser costosos, restringidos a procesamientos de lotes, procesos riesgosos o la producción de grandes volúmenes de residuos [62].

1.4.2 Métodos Físicos

Aunque las superficies de materiales poliméricos han sido modificadas mediante métodos químicos durante años de una manera efectiva para diversidad de aplicaciones, se han desarrollado métodos de tratamiento de superficies basados en principios físicos para introducir grupos funcionales que contienen oxígeno en las superficies de los polímeros, principalmente para mejorar la adhesión, la humectabilidad y la capacidad de impresión para superar los principales inconvenientes relacionados con los métodos químicos, que a menudo necesitan un control riguroso del proceso, pueden causar problemas ambientales debido a los agentes químicos utilizados y pueden implicar

cambios indeseables en la morfología de la superficie del polímero. Algunos de los métodos físicos más comunes, como la descarga de llama y corona, son hoy en día ampliamente explotados a nivel industrial, pero la desaparición de las funcionalidades impartidas en el tiempo es el principal inconveniente [61].

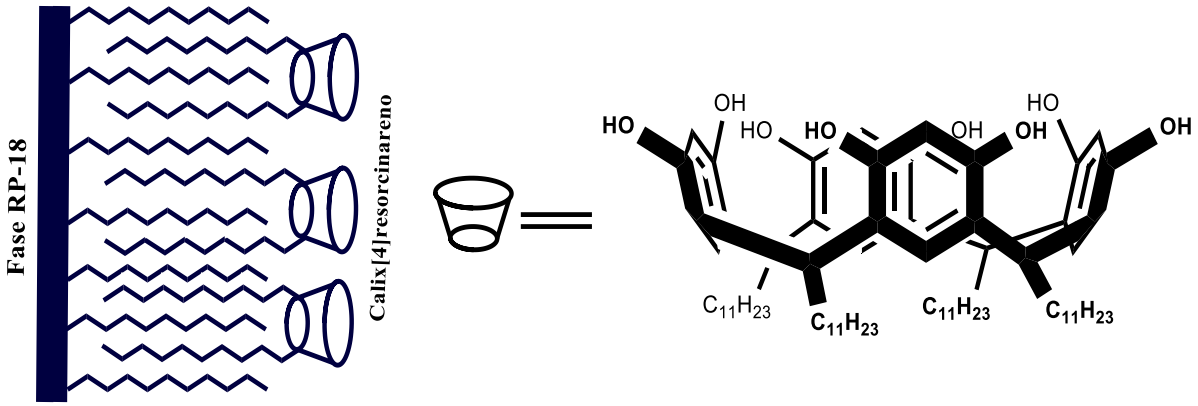
En este sentido y teniendo en cuenta lo anteriormente mencionado de la capacidad que poseen los resorcinarenos de moléculas hospederas para diferentes tipos de moléculas tipo tetraalquilamonio, el presente estudió se evaluó las posibles interacciones en la formación de complejos tipos Host-Guest de dos resorcinarenos modificados y sin modificar y su respectiva cuantificación con L-carnitina.

1.4.3 Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)

Los derivados de los resorcinarenos han sido empleados como fases estacionarias y móviles [63] en HPLC. Los resorcinarenos usados como fases estacionarias en HPLC pueden dividirse en dos tipos: (1) el borde inferior del resorcinareno unido covalentemente a partículas de sílice; (2) El borde inferior modificado con largas cadenas alquilo, para una adsorción efectiva sobre gotas de resinas de poliestireno. En cualquier caso, el borde superior de los resorcinarenos puede o no modificarse con varios grupos funcionales para propósitos específicos de separación. Si bien adicionando derivados de resorcinareno a las fases móviles podría ser una opción para ofrecer una selectividad específica para los analitos, ciertas características de estas moléculas limitan su aplicación, incluyendo su solubilidad, su absorción UV, costos y toxicidad.

En un ejemplo, Torsten et al [64]. Modifica el borde inferior de un resorcinareno para incrementar la hidrofobicidad del ligando, mientras el borde superior permaneció sin cambios. El ligando resultante C-tetra-n-undecilcalix[4]resorcinareno se disolvió en acetonitrilo y se pasó a través de una columna de fase reversa C18 (RP-18), para recubrir la superficie de la columna, como se muestra en la **Figura 1-6.** La columna demostró buena estabilidad durante un uso amplio durante 5 meses, incluso cuando se añadió metanol al 40% a la fase móvil acuosa.

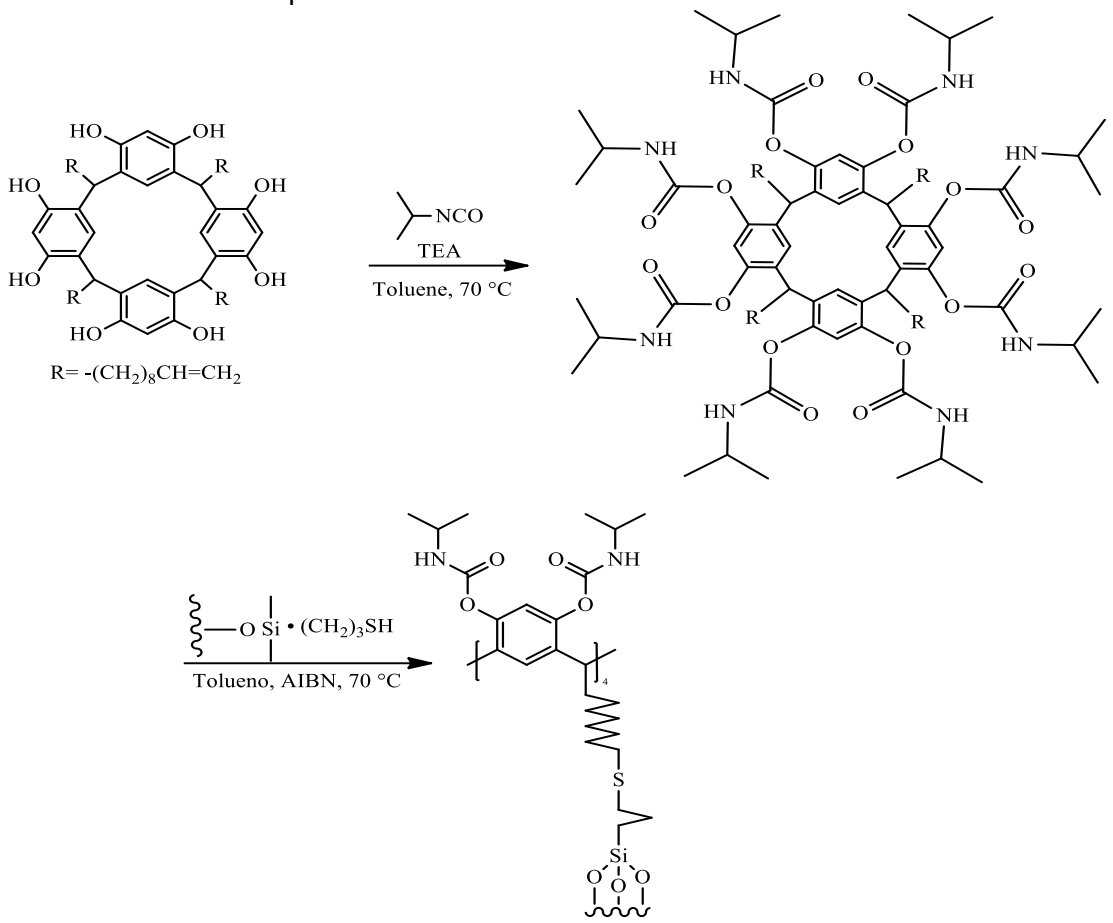
Figura 1-6. Fase estacionaria RP-18 recubierta con C-tetra-n-undecilcalix[4] resorcinareno.



Ruderisch *et al*[65] preparo una fase estacionaria HPLC uniendo mediante enlaces covalentes un derivado de un resorcinareno con grupos polares carbonato en el borde superior sobre un sustrato de sílice. Los grupos de resorcinarenos de fase estacionaria con una alta polaridad proporciona varias ventajas, tales como mayor estabilidad hidrolítica de la fase estacionaria en condiciones altamente acuosas, alta eficiencia para analitos polares y selectividad para ácidos de bajo peso molecular [66].

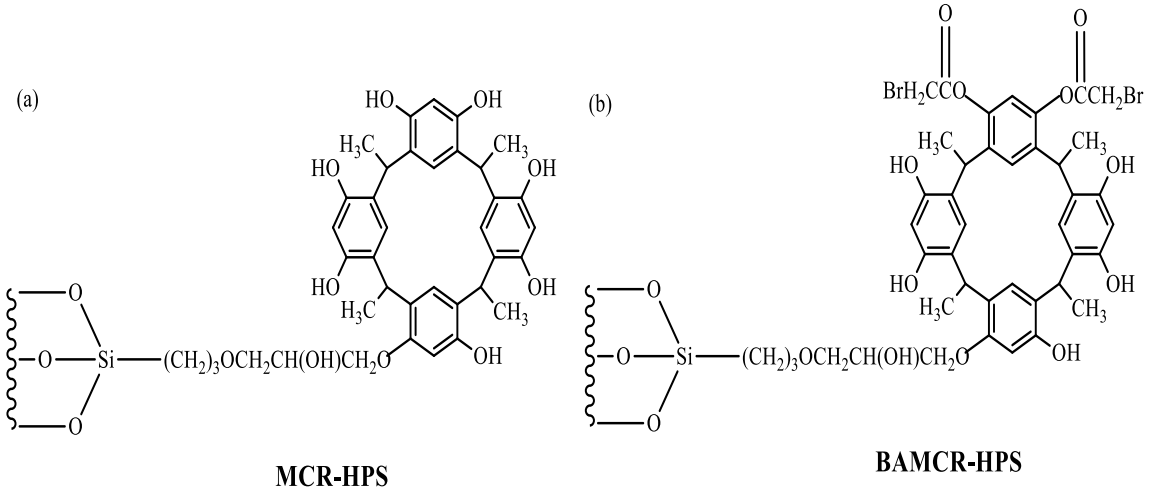
La ruta sintética para las partículas de sílice basadas en resorcinareno se muestra en el **Esquema 1-10.** La separación de cuatro compuestos que incluyen uracilo, fenol, naftaleno y antraceno fueron desarrollados con esta fase estacionaria y se comparó con la obtenida (C18) n-octadecilo de uso común, menos común n-octil (C8) y fases estacionarias C8 Nautilus, la última de las cuales contenía un grupo polar dentro de su cadena alquil. Los cuatros compuestos fueron separados bajo las mismas condiciones cromatográficas. A diferencia de la columna C18, la fase estacionaria basada en resorcinarenos retuvo el analito polar más fuerte. Uno podría esperar que naftaleno hidrofóbico y el antraceno fueran atrapados en la cavidad hidrofóbica del resorcinareno. Sin embargo, los resultados experimentales indican que esta interacción fue débil en el mejor de los casos.

Esquema 1-10. Ruta sintética de resorcinarenos funcionalizados con amida unida a sílice en fase estacionaria tipo-RP



En otro ejemplo, Aghazadeh-Habashi et al [63,64]. hizo dos columnas de sílice basadas en resorcinarenos para separaciones HPLC empleando partículas de sílice (3-(C-metilcalix[4]resorcinareno)-2-hidroxipropoxi)-propilsilil (MCR-HPS) y MCR-HPS sustituido con acetato de bromo (BAMCR-HPS) (**Figura 1-7.**) Estas dos columnas fueron usadas para separar derivados de benceno. Además, BAMCR-HPS fue usado para separar una serie de fármacos quirales.

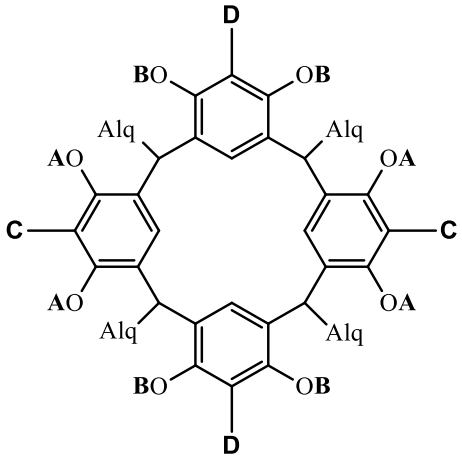
Figura 1-7. Estructuras de partículas de silica (3-(C-metilcalix[4]resorcinareno)-2-hidroxipropoxi)-propilsilil **(a)** MCR-HPS y MCR-HPS sustituidos con acetato de bromo, **(b)** BAMCR-HPS



En otro ejemplo, Lipkowski et al [68]. añadió resorcinarenos a una fase móvil para separar una serie de derivados de benceno incluyendo: benceno, etilbenceno, p-xileno, p-cresol y tolueno en una columna fase reversa empaquetada con LiChrosorb RP-18 (250 x 1 mm i.d.). Múltiples derivados de resorcinarenos (**Figura 1-8.**) fueron agregados a la fase móvil acetonitrilo-agua (86:14 v/v) para investigar el efecto que tienen los resorcinarenos macrocíclicos en la eficiencia de separación. Primero, se estudió el efecto que provoca el aumento constante en la longitud de la cadena alquílica en los bordes inferiores de los resorcinarenos en el tiempo de retención.

Los resorcinarenos con longitudes de cadenas más largas (C_{15}) fueron retenidos en la columna por más tiempo que los resorcinarenos de cadenas corta (C_1); específicamente, el tiempo de retención de C_{15}, fue >80.0 min mientras el tiempo que el uso del resorcinareno C_1 fue de 3.67 min.

Figura 1-8. Estructuras de derivados de resorcinarenos usados como aditivos eluyentes

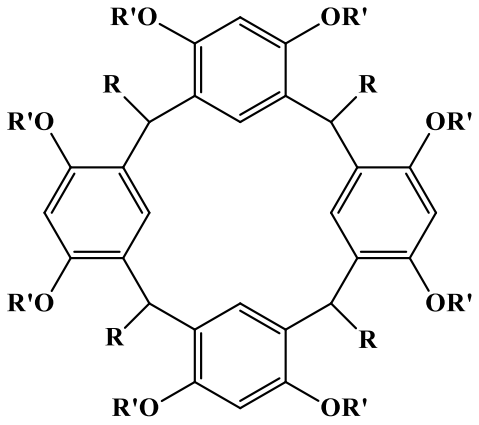


1.Alq=CH_3 **A** = **B** = **C** = **D** = H
2.Alq=C_3H_7 **A** = **B** = **C** = **D** = H
3.Alq=C_5H_7 **A** = **B** = **C** = **D** = H
4.Alq=C_7H_{15} **A** = **B** = **C** = **D** = H
5.Alq=$C_{15}H_{31}$ **A** = **B** = **C** = **D** = H
6.Alq=CH_3 **A** = Ts, **B** = **C** = **D** = H
7.Alq=CH_3 **A**=p-$ClC_6H_4SO_2$, **B**=**C**=**D**=H
8.Alq=CH_3 **A**=Ts,**B**=**C**=H,**D**=$CH_2N(C_2H_5)_2$
9.Alq=CH_3 **A**=**B**=H,**C**=**D**=$CH_2N(C_6H_{13})_2$
10.Alq=CH_3 **A**=**B**=Ts,**C**=**D**=H
11.Alq=CH_3 **A**=$P(O)(OC_3H_7)_2$,**B**=**C**=H,**D**=$CH_2N(C_2H_5)_2$
12.Alq=CH_3 **A**=$P(O)(OC_3H_7)_2$,**B**=**C**=**D**=H

1.4.4 Cromatografía de gases (GC)

Los derivados de resorcinarenos se han recubierto o unido covalentemente a la pared interna de columnas capilares de sílice fundida en GC. En esta aplicación, la estabilidad térmica de los derivados de resorcinarenos es un factor el cual debe abordarse. Un ejemplo de este enfoque, Zhang et al [69]. modifica un resorcinareno en su borde inferior con grupos fenilo y el borde superior con n-C_5H_{11} (**Figura 1-9).** En donde la columna se usa para separar alcanos, alcoholes, fenoles e hidrocarburos, especialmente clorotolueno, cresol e isómeros de xilenol.

Figura 1- 9. Estructura del fenil-pentiloxi-resorcinareno.



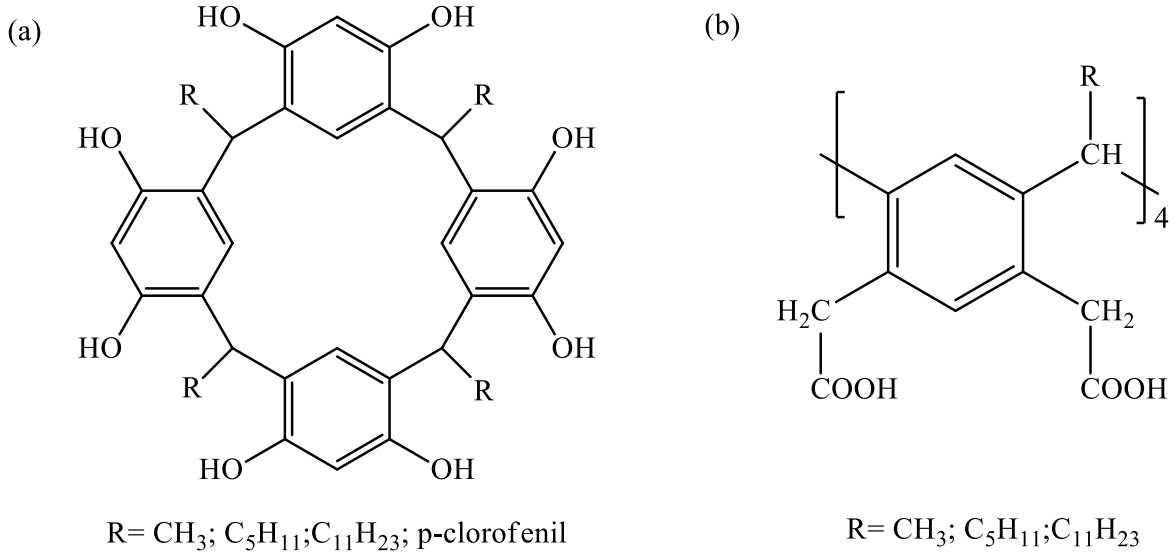
R= Fenil, R' n-C_5H_{11}

1.4.5 Cromatografía electrocinética (EKC) y electroforesis capilar (CE)

La electroforesis capilar separa especies iónicas por distinta movilidad electroforética. Por lo general, CE no separa especies neutras, ya que se mueven hacia el detector a la misma velocidad que el flujo electrosmótico. Agregar derivados de resorcinarenos es una opción para separar especies neutras en CE. Los resorcinarenos sirven como fases pseudo-estacionarias, dos factores principales deben ser considerados: (1) la solubilidad de los derivados de resorcinarenos en una solución buffer acuosa, en la mayoría de los casos, solventes orgánicos como CH_3OH, CH_3CN o DMSO son agregados para mejor la solubilidad de estos. (2) Los derivados de resorcinarenos pueden interferir con la detección de analitos, especialmente cuando sus absorciones UV están muy cerca a las de los analitos.

Bächman *et al* [70,71] aplicaron una serie de derivados de resorcinarenos como fases pseudo-estacionarias en EKC para la separación de especies no cargadas. En un estudio, los resorcinarenos fueron modificados en su borde inferior con diferentes cadenas alquilo (**Figura 1-10 (a)**) [70]. La separación de 12 hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs), incluyendo naftaleno, fenantreno, antraceno, fluoranteno, pireno, trifenileno, criseno, benzofluoranteno entre otros, fueron realizados con fases pseudo-estacionarias.

Figura 1-10. Estructuras derivadas de resorcinarenos usadas en sistemas cromatográficos.



Los resorcinarenos son considerados como una “plataforma” con hidrofobicidad ajustable y como portadores de cargas negativas. Sin embargo, la longitud de las cadenas alquilo en el borde superior de los resorcinarenos tienen un efecto significativo en la eficacia de separación y selectividad entre PAHs. De los cuatro resorcinarenos estudiados (**Figura 1-10 (a)**) el único con la cadena alquilo más larga mostró una selectividad apropiada para la separación de los 12 PAHs. Los resorcinarenos de C_5 y grupos clorofenilo mostraron una eficacia de separación mejor que la de los grupos C_1 pero fueron inferiores a los de grupos C_{11}. Los resorcinarenos por si mismos tienen absorciones UV debido a su anillo aromático en el andamio.

En otro estudio [72], el borde superior del resorcinareno fue modificado con ocho grupos ácidos carboxílicos y el borde inferior con cadenas alquilo de diferentes longitudes. Los ácidos resorcinarenos-octacarboxilicos (**Figura 1-10 (b)**) tenían una buena solubilidad y movilidad electroforética en electrolitos. Estos se utilizaron como fases pseudo-estacionarias en EKC para la separación de trece aminas isoméricas [73].

1.4.6 Extracción en fase sólida (SPE)

La extracción en fase sólida (SPE) es una técnica muy común de preparación de muestra para cromatografía. Donde soluciones líquidas son aplicadas, esta técnica tiene grandes similitudes con la cromatografía líquida (LC). Uno de los procedimientos comunes para usar los materiales en fase-sólida es poner el sorbente en una pequeña columna (tubo de jeringa), generalmente está hecho de un material inerte como polipropileno o vidrio donde pasa una solución contiene el compuesto de interés a través de esta columna. El sorbente de la columna es seleccionado específicamente para retener compuestos de interés [74]. Esta técnica ya ha sido empleada en el grupo de investigación por Castillo [24] et al para la evaluación de resorcinarenos quirales con norepinefrina

1.4.7 Interacciones Host-Guest de los resorcinarenos

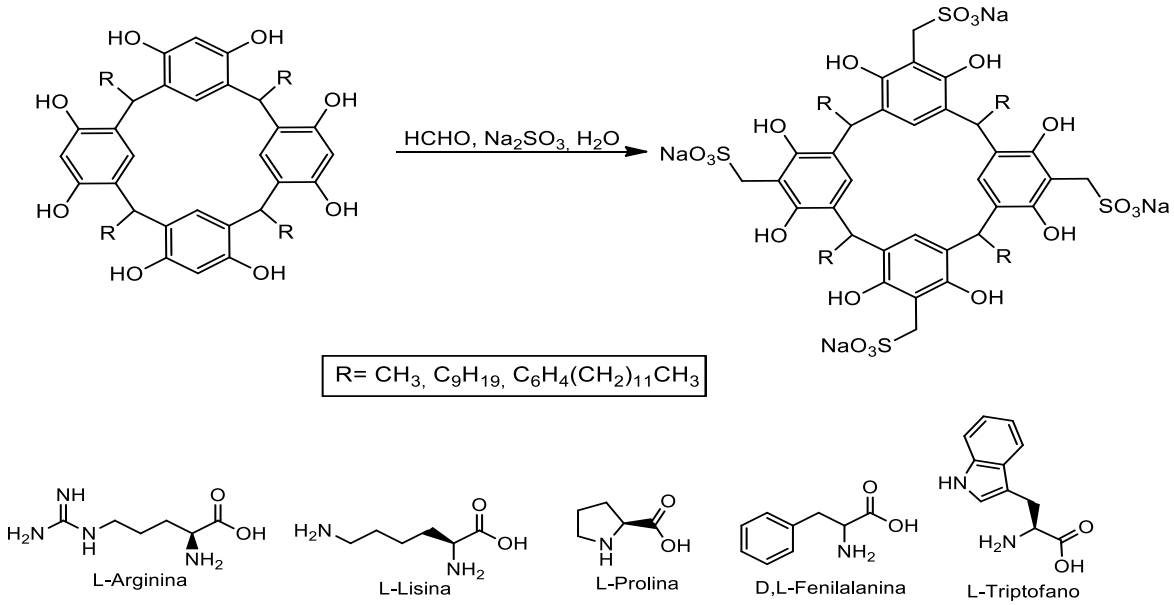
Las características estructurales más importantes de los resorcinarenos son su forma de cuenco, su cavidad aromática hospedera, los ocho grupos hidroxilo en el borde superior de la cavidad del resorcinareno y los sustituyentes alifáticos o aromáticos unidos a los puentes metino en el borde inferior [75]. Dadas estas particulares, una cualidad de estos compuestos es la capacidad de alojar dentro de sí una gran variedad de iones y moléculas para la formación de complejos, lo que convierte a estos macrociclos en atractivos receptores para numerosos grupos funcionales.

Las interacciones que son más habituales son las llevadas a cabo en el borde superior, gracias a la complementariedad que puede presentarse entre la cavidad y el tamaño del huésped y que son estabilizadas, en gran mayoría, por interacciones del tipo CH-π y catión-π [76]. Dada su facilidad de interaccionar gracias a su ambiente químico rico en electrones, los resorcinarenos tienen una amplia gama de acomplejamientos, entre las que cabe resaltar las dadas con cationes metálicos y cationes del tipo alquilamonio, las cuales han sido estudiadas tanto en solución como directamente en forma sólida [76].

La cavidad hospedante puede ser modificada en los dos bordes del macrociclo, lo que induce a cambios conformacionales, las cuales pueden ser cuidadosamente diseñadas para la interacción específica con un analito, lo que convierte a los resorcinarenos en una plataforma atractiva en cuanto a interacciones huésped-hospedero. Un claro ejemplo fue

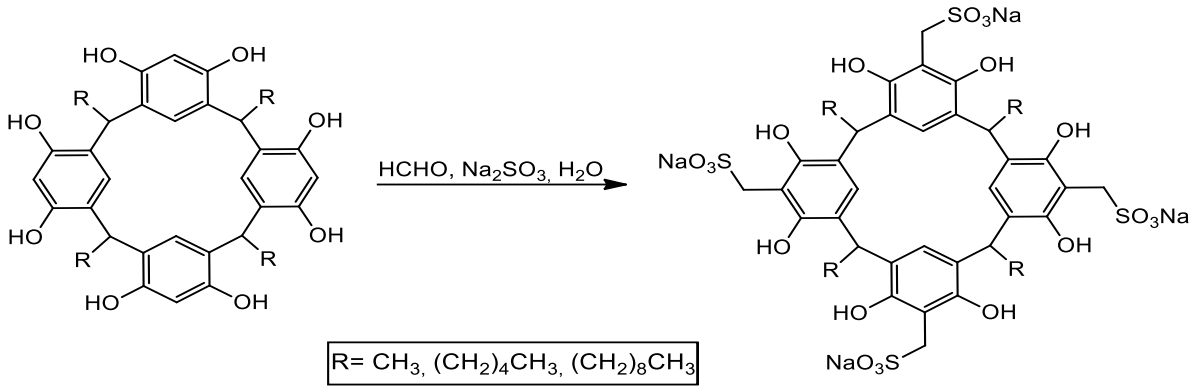
la interacción entre varios aminoácidos (L-Lisina, L-Arginina, D y L- Fenilalanina y L-Triptófano) y un resorcinareno tetrametilsulfonado, los cuales formaban complejos tipo huésped-hospedero en agua [77]. (**Esquema 1-11**)

Esquema 1-11 Sulfometilación de resorcinarenos para interacciones huésped-hospedero con distintos aminoácidos.



Un caso destacado se da en las interacciones huésped-hospedero con resorcinarenos funcionalizados, es la Sulfometilación (**Esquema 1-12**) que fue llevada a cabo por Sanabria *et al* [58], a través de la reacción de formaldehído y sulfito de sodio en presencia de una mezcla de agua y etanol, donde se usaron distintos resorcinarenos con sustituciones de diferentes sustituyentes alifáticos en el borde inferior, obtuvo buenos resultados en lo que respecta a la interacción huésped-hospedero con colina.

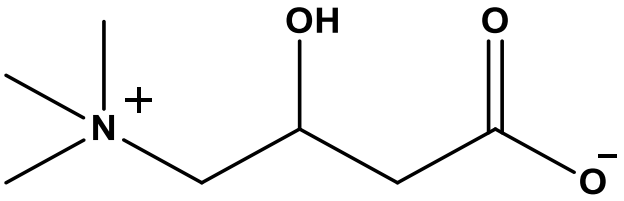
Esquema 1-9. Sulfometilación de resorcinarenos con sustituyentes en el borde inferior de distintas cadenas alifáticas, usados para la interacción con colina.



1.4.8 Interacciones Host-Guest con L-carnitina

En el caso específico de los resorcinarenos, existe una afinidad muy destacada con las sales de amonio, y aunque presenta interacciones con otro tipo de moléculas con distintos grupos funcionales, esta interacción es de gran interés para los complejos huésped-hospedero del presente trabajo. Una de estas posibles interacciones se puede presentar con la carnitina **(Figura 1-11)**, este es un nutriente esencial derivado de dos aminoácidos esenciales; lisina y metionina es un componente importante para el cuerpo humano [78] ya que funciona como transportador de ácidos grasos hacia la mitocondria, la cual genera energía para el cuerpo y sus órganos puedan realizar sus funciones naturales y desechar toxinas, su déficit puede conllevar a sufrir de hipoglucemia hipoceótica y encefalopatía hepática, o más adelante en la vida con miopatía esquelética y cardíaca o muerte súbita por arritmia cardíaca. En la actualidad existen distintos métodos para la detección de carnitina, que van desde quimioluminiscentes [79], enzimáticos [80], voltamperométricos [81], entre otros; pero aun así presentan problemas de sensibilidad e interferencia. Sin embargo, se ha presentado una afinidad particular de los resorcinarenos por huéspedes con las características estructurales de la carnitina, por lo que se puede plantear que con una adecuada funcionalización tanto en el borde superior e inferior, se podría mejorar la sensibilidad de detección con respecto a los métodos usados hasta la actualidad.

Figura 1-11. Estructura de la L-Carnitina.



1.4.9 L-carnitina

La L-carnitina [82] es un compuesto natural que se encuentra en la mayoría, si no en todos, los tejidos de mamíferos, incluido el cerebro [83]. Aunque la carnitina puede ser obtenida en la dieta y sintetizada en el hígado, riñón y cerebro, esta es considerada un nutriente "condicionalmente esencial" para los humanos bajo ciertas circunstancias específicas cuando los niveles intracelulares son bajos (E.g. infantes prematuros, pacientes de edad avanzada, diabetes y condiciones genéticas que resultan en una deficiencia primaria o secundaria de carnitina) [84,85].

La L-carnitina funciona principalmente en el transporte activo de ácidos grasos de cadena largas (Acil-CoAs de cadena larga) en la mitocondria para su degradación mediante β-oxidación [85–87]. El plasma y tejidos humanos, incluyendo cerebro, contienen L-carnitina libre, así como sus derivados acilados con variedad de cadenas de carbono, incluyendo derivados acetilados y palmitoilados [88]

En los últimos años, ha habido un interés considerable en el potencial terapéutico de la L-carnitina y el acetil-L-carnitina (ALCAR) para la neuroprotección [89–99]. Se ha reportado la eficacia terapéutica de la L-carnitina en tratamiento para infantes con algunos errores congénitos de metabolismo [100–102]. Un número de ensayos clínicos y estudios de caso han reportado la eficacia de ALCAR para la neuroprotección in condiciones que conducen a lesiones del sistema central o periférico en adultos. Aunque relativamente pocos estudios han determinado la eficiencia del acetil-L-carnitina para el desarrollo de la neuroprotección en lesiones del cerebro, los resultados de estos estudios son prometedores [103–105].

2. Metodología

El trabajo se desarrolló en cinco etapas que se describen a continuación:

Etapa 1. Síntesis de dos resorcinarenos *C*-tetra(etil)calix[4]resorcinareno (**1A**) y *C*-tetra(hexil)calix[4]resorcinareno (**1B**)

Etapa 2. Interacción molecular (Host-Guest) entre los resorcinarenos (**1A** y **1B**) con (**1C**)

Etapa 3. Síntesis del copolímero: poli(BMA-co-EDMA) y su posterior modificación física con los resorcinarenos (**1A** y **1B**)

Etapa 4. Evaluación de las variables del proceso de sorción: tiempo, solventes, volumen de carga, concentración y pH.

Etapa 5. Evaluación de la interacción del copolimero modificado con L-carnitina por medio de HPLC-MS.

A continuación, se describen los métodos empleados en cada una de las etapas del trabajo

2.1 Técnicas generales utilizadas

Para el desarrollo de este trabajo se emplearon las siguientes técnicas y metodologías. Todos los reactivos químicos fueron adquiridos comercialmente y usados sin purificación previa.

2.1.1 Cromatografía en capa delgada (CCD)

Se usaron cromatoplacas (Merck, Kieselgel 60 PF254) de 0,25 mm de espesor y diámetro de partícula de 10 µm de la casa Merck®. Como eluyente se empleó mezcla de solventes benceno: ácido acético: agua en relación 10:4:0.1 respectivamente y como agente revelador luz ultravioleta y cámara de yodo.

2.1.2 Tamiz Molecular

Para la reducción de partícula de los polímeros sintetizados se empleó un tamiz analítico de 0.8" x alto 2" ASTM E11 con una abertura de 106µm, malla 140 Mesh de la casa Endecotts.

2.1.3 Punto de fusión

Los puntos de función de los resorcinarenos fueron tomados en un fusiómetro Electrothermal 9100 SMP11 con una velocidad de calentamiento de 1 a 10 °C por min de la casa Stuart-Equipment y se reportan sin corregir.

2.1.4 Infrarrojo IR-ATR

Los espectros IR fueron tomados en un espectrómetro ThermoFisher Scientific iD1 Nicolet iS5 IR con accesorio ATR de seleniuro de zinc (ZnSe) y dado en cm^{-1} (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA)

2.1.5 Resonancia magnética nuclear (RMN)

Los espectros de RMN-^{1}H y RMN-^{13}C se tomaron en un espectrómetro Bruker Avance 400 (400 MHz para ^{1}H y 100 MHz para ^{13}C), usando DMSO-d_6 y D_2O como solventes; los desplazamientos químicos se dan en unidades δ (ppm) utilizando la señal de disolvente como referencia.

2.1.6 Microscopía Electrónica de Barrido (MEB)

La caracterización morfológica del copolímero y la modificación física de los resorcinarenos se realizó utilizando un microscopio electrónico de barrido QUANTA 200 marca FEI con detectores de electrones secundarios y de electrones retrodispersados y una sonda EDAX. Las muestras, al no ser conductoras, fueron pretratadas con un equipo de recubrimiento metálico de oro y de evaporación de carbono.

2.1.7 Cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas

La reacción de la mezcla se centrifugó a 15.000 rpm durante 3 minutos a temperatura ambiente, el sobrenadante se diluyó 1000 veces y se analizaron 2 µL en un Bruker Impact II LC Q-TOF MS equipado con ionización por electrospray (ESI) en modo positivo. Las condiciones cromatográficas fueron, columna Intensity Solo C18 (2,1 × 100 mm, 1,8 µm) (Bruker Daltonik), a una temperatura de 40 °C y un caudal de 0,250 mL min^{-1}. Se utilizaron las fases móviles de agua (A) y acetonitrilo (B), cada una con un 0,1% de ácido fórmico. Elución isocrática 5 %B a 2 min. Condiciones de la fuente ESI: desplazamiento de la placa final 500 V, capilar 4500 V, nebulizador 1,8 bar, gas seco nitrógeno 8,0 L/min, temperatura seca 220 °C.

2.2 Síntesis de Resorcinarenos

La síntesis de resorcinarenos se llevó a cabo según los múltiples protocolos establecidos en los trabajos de investigación del grupo de Aplicaciones Analíticas de Compuestos Orgánicos (AACO) [58,59,59,63,106] a través de los años, donde la reacción de condensación se realizó en una mezcla agua:etanol variando los sustituyentes del borde inferior del resorcinareno mediante los aldehídos de partida. La relación estequiométrica usada fue 4:4.

2.2.1 Síntesis de *C*-tetra(etil)calix[4]resorcinareno (1A)

Se añadió cuidadosamente ácido clorhídrico (3 mL) a una solución de resorcinol (10 mmol) y el aldehído (10 mmol) respectivamente, en una mezcla de etanol/agua 1:1 (50 mL) en un balón de reacción, se enfría la mezcla hasta alcanzar los 0° grados, seguido a esto se hizo reaccionar a reflujo con agitación constante durante un tiempo de 6 a 12 h, se hace el respectivo seguimiento por CCD posteriormente se lleva a temperatura ambiente, se filtró y lavó con agua. Finalmente, el filtrado se secó al vacío y se caracterizó mediante técnicas espectroscópicas IR, RMN-^{1}H y RMN-^{13}C.

<u>2,8,14,20-Tetraquis(etil)calix[4]resorcinareno:</u> fue obtenido como un sólido amarillo con un rendimiento de 89%, un punto de fusión (descomposición) >250 °C. IR (ATR-ZnSe/cm^{-1}): 3400 (O–H), 2980 (ArC-H), 2920 (alifático C-H), 1610 (C=C), 1500 (O-H), 1290 (C-O); (**Anexo 1**) RMN-^{1}H, DMSO-d_6, δ (ppm): 0.79 (t, 12 H, CH_3), 2.09 (q, 8H, CH_2), 4.09 (t, 4H, CH), 6.15 (s, 4H, orto a OH), 7.21 (s, 4H, meta a OH), 9.00 (s, 8H, OH) (**Anexo 2**); RMN-

^{13}C, δ (ppm): 12.6, 26.6, 35.1, 102.3, 123.1, 125.0, 151.6 (**Anexo 3**); masa teórica calculada 600.3 m/z: 601.3 [M+1] (**Anexo 4**)

2.2.2 Síntesis de *C*-tetra(hexil)calix[4]resorcinareno (1B)

Se añadió cuidadosamente ácido clorhídrico (3 mL) a una solución de resorcinol (10 mmol) y el aldehído (10 mmol) respectivamente, en una mezcla de etanol/agua 1:1 (50 mL) en un balón de reacción, se enfría la mezcla hasta alcanzar los 0° grados, seguido a esto se hizo reaccionar a reflujo con agitación constante durante un tiempo de 18 h a 24 h, se hace el respectivo seguimiento por CCD posteriormente se lleva a temperatura ambiente, se purifica mediante rotaevaporación. Finalmente, el filtrado se secó al vacío y se caracterizó mediante técnicas espectroscópicas IR, RMN-^{1}H y RMN-^{13}C.

2,8,14,20-Tetraquis(hexil)calix[4]resorcinareno: fue obtenido como un sólido color naranja con un rendimiento de 78%, un punto de fusión (descomposición) >250 °C. IR (ATR-ZnSe/cm^{-1}): 3300 (O–H), 2950-2910 (ArC-H), 2860 (alifático C-H), 1610 (C=C), 1510 (O-H), 1280 (C-O) (**Anexo 5**); RMN-^{1}H, DMSO-d_6, δ (ppm): 0.82 (t, 12H, CH_3), 1.21 (m, 32H, CH_2), 1.99 (q, 8H, CH_2), 4.21 (t, 4H, CH), 6.14 (s, 4H, orto a OH), 7.11 (s, 4H, meta a OH), 8.87 (s, 8H, OH) (**Anexo 6**); RMN-^{13}C, δ (ppm): 13.8, 22.1, 27.7, 28.8, 31.4, 32.5, 34.0, 102.3, 123.0, 124.8, 151.6 (**Anexo 7**); masa teórica calculada: 824.5 m/z: 847.5 [M+Na] (**Anexo 8**)

2.3 Interacción Host-Guest (Huesped-Hospedero)

2.3.1 Evaluación de la interacción molecular entre una solución de L-carnitina con los resorcinarenos mediante RMN- ^{1}H.

La evaluación de interacción entre el *C*-tetra(etil)calix[4]resorcinareno y el *C*-tetra(hexil)calix[4]resorcinareno y la L-carnitina se llevaron a cabo por RMN-^{1}H. Para esto se planteó las siguientes cantidades de cada compuesto para cada estudio de interacción molecular (**Tabla 2-1**)

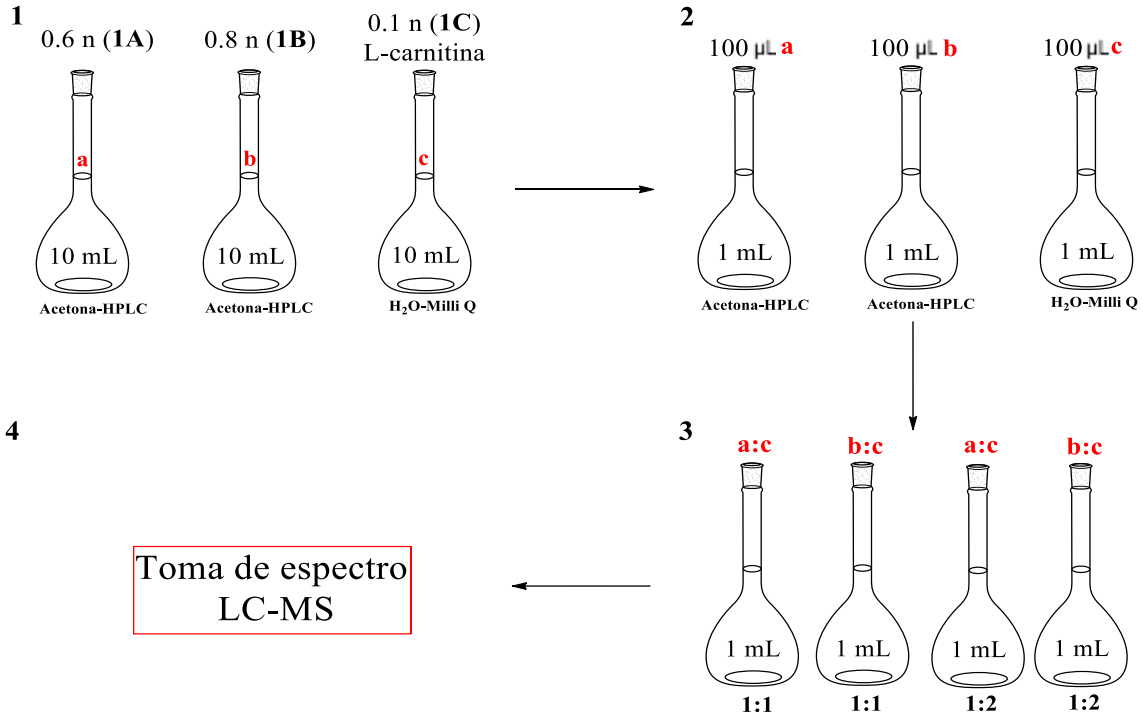
Tabla 2-1. Preparación de soluciones para estudio de interacciones moleculares por RMN-^{1}H.

Muestra	Compuesto	Cantidad (mmol)	Solvente	Cantidad (µL)
1	L-carnitina	0.124	D_2O	700
2	Etilresorcinareno	0.016	DMSO-d_6	500
	L-carnitina	0.062	D_2O	200
3	Etilresorcinareno	0.033	DMSO-d_6	500
	L-carnitina	0.012	D_2O	200
4	Hexilresorcinareno	0.012	DMSO-d_6	600
	L-carnitina	0.062	D_2O	100
5	Hexilresorcinareno	0.024	DMSO-d_6	600
	L-carnitina	0.012	D_2O	100

2.3.2 Evaluación de la interacción molecular de la L-carnitina con los Resorcinarenos 1A y 1B mediante HPLC-MS

Para evaluar la interacción de los resorcinarenos *C*-tetra(etil)calix[4]resorcinareno (**1A**) y *C*-tetra(hexil)calix[4]resorcinareno (**1B**) con la L-carnitina se realizó el siguiente procedimiento (**figura 2-1.**)

Figura 2-1. Preparación de soluciones para estudio de interacciones moleculares por LC-MS.



2.4 Síntesis de Poli(EDMA-co-BMA)

Los polímeros poli(BMA-co-EDMA) se sintetizaron siguiendo un procedimiento adaptado de la metodología de Castillo-Aguirre[24]. El inhibidor de los monómeros se eliminó mediante cromatografía en columna clásica, usando silica gel 60 (0.063-0.200 mm de diámetro de partícula). Una mezcla de etilenglicoldimetacrilato (EDMA) (12%, 570 µL) y butilmetacrilato (BMA) (18%, 1 mL) se mezclaron: ciclohexanol (58.8%, 3.1 mL) y dodecanol (11.2%, 0.56 g) a una temperatura 57° C en presencia de 1,1 azobis (ciclohexanocarbonitrilo) (ABCN) (0.2%, 10 mg). Después se homogenizó mediante ultrasonido durante 20 min a temperatura ambiente, luego se utilizó argón durante 10 min. El sólido formado se transfiere a un recipiente hermético y se calentó a baño de María a 57 °C durante 19 - 40 h. El sólido formado se enfrió a temperatura ambiente y se hizo lavados con EtOH; se secó al vacío a 55 °C hasta una masa constante. Finalmente,

el polímero fue triturado y tamizado a un tamaño de partícula de 106 µm. El material polimérico se caracterizó a través de IR (**Anexo 12**) y SEM.

2.4.1 Modificación física de *C*-tetra(etil)calix[4]resorcinareno y *C*-tetra(hexil)calix[4] resorcinareno con Poli(EDMA-co-BMA)

La modificación física de los resorcinarenos con el polímero se realizó siguiendo un procedimiento de la metodología de Castillo-Aguirre[24] donde el *C*-tetra(etil) y *C*-tetra(hexil)calix[4]resorcinareno (0.84 mmol) respectivamente fue disuelto en (10 mL) de solvente. Posteriormente (500 mg) de polímero tamizado fueron agregados, la mezcla se lleva agitación constante por 36 h a temperatura ambiente. El sólido obtenido fue lavado con EtOH a pH neutro y luego secado al vacío a 57 °C por 2 h, las mejores condiciones se muestran en la **tabla 2-2**.

Tabla 2-2. Mejores condiciones para la modificación física del material polimérico con los resorcinarenos **1A** y **1B**.

Condiciones	1A	1B	Pol + 1A (g)	Pol + 1B (g)
a. Solvente EtOH por 24 h	2.234 g	2.100 g	0.234	0.100
b. Solvente EtOH por 48 h	2.196 g	2.069 g	0.196	0.069
c. Solvente $CHCl_3$ por 24 h	2.353 g	2.550 g	0.353	0.550

2.5 Evaluación variable de procesos de sorción: tiempo, solventes, volumen de carga, concentración y pH

Para el análisis de la interacción y la cuantificación de sorción del copolímero modificado con los resorcinarenos **1A** y/o **1B** frente al analito L-carnitina **1C**, previamente se evalúan las mejores condiciones:

- Tiempo
- Solvente
- Volumen de carga
- Concentración
- pH

Para ello la determinación del contenido de analito se hizo mediante análisis gravimétrico (en batch), donde la metodología estándar para las pruebas fueron pesar el papel filtro totalmente seco, 50 mg de los tres adsorbentes: **P=** Polímero(BMA-co-EDMA), **A=** Polímero modificado con **1A** y **B=** Polímero modificado con **1B** con 3 mL de L-carnitina 0.01 M disuelto en H_2O Milli – Q y 1 hora de tiempo agitación, se filtra, se deja evaporar por completo el solvente después se procedió a pesar cada papel filtro. Se realizó las medidas cambiando variables como: tiempo, solvente, volumen de carga, concentración y pH.

2.6 Protocolo de extracción

Una vez establecidas las anteriores condiciones, se propuso el protocolo de extracción en fase sólida de la siguiente manera:

1. Carga de los cartuchos de extracción con la cantidad del sorbente, usando fritas para sostener el sorbente.

2. Acondicionamiento del cartucho con el disolvente predeterminado en este caso agua Milli-Q.

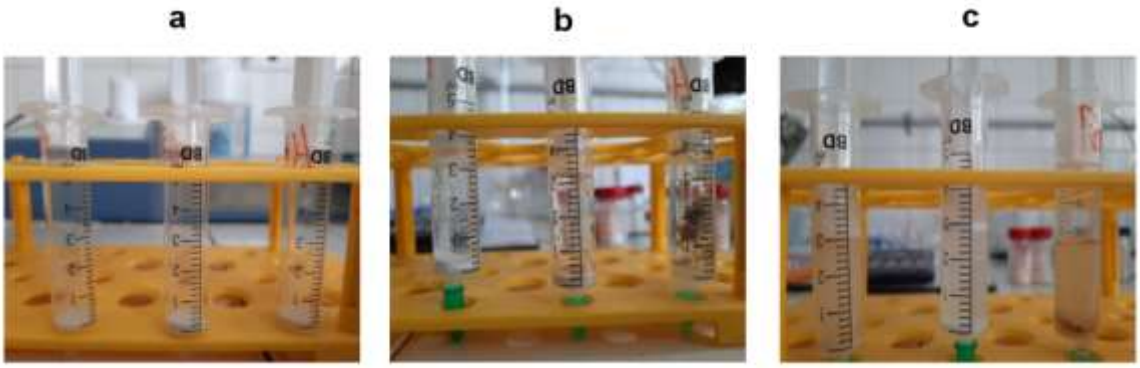
3. Carga del analito de interés L-carnitina.

4. Lavados con diferentes tipos de disolvente para la purificación del analito.

5. La elución como parte final del proceso de extracción para su posterior cuantificación.

Lo anterior se plasma en la siguiente **figura 2-2**

Figura 2-2. Protocolo de extracción: **a)** carga de los cartuchos de extracción con los sorbentes **b)** acondicionamiento de los cartuchos y carga del analito de interés (L-carnitina) **c)** lavados con disolvente y elución de la L-carnitina.



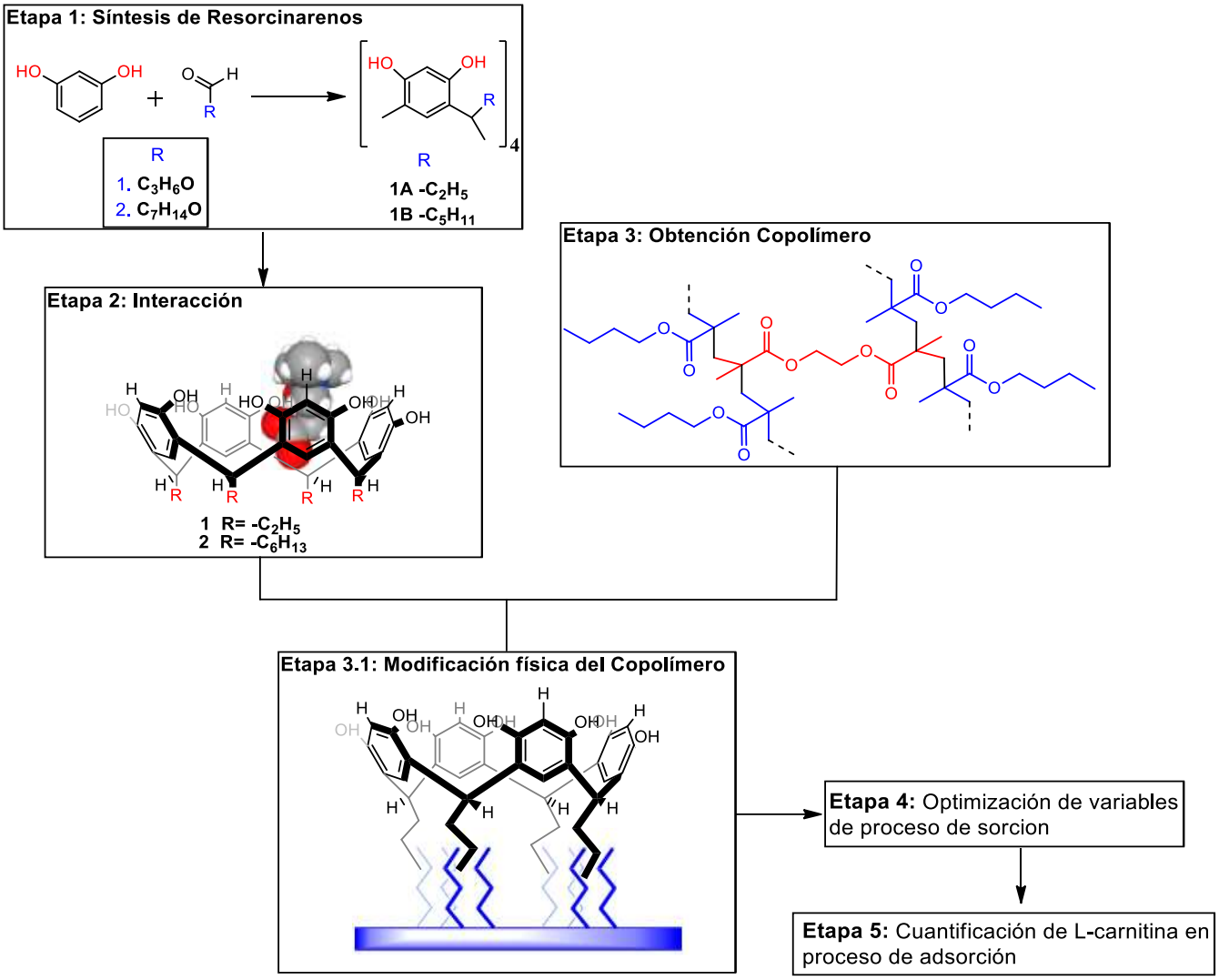
2.7 Cuantificación de la L-carnitina en proceso de adsorción

Después de establecer las mejores condiciones de adsorción de L-carnitina (**Tabla 3-7**) se procedió la sorción mediante extracción en fase sólida (**SPE**) descrito en el apartado anterior, para ello se alistan tres columnas de extracción, en cada uno se alistan 50 mg de compuesto (Poli(BMA-co-EDMA), polímero modificado con **1A** o polímero modificado con **1B**) cargados cada uno con 3 mL de una solución 0.01 M de L-carnitina preparado con H_2O Milli - Q pH 7**.** Finalmente se coloca en un agitador (Shaker) por 60 minutos y se extraen, después, se toman alícuotas de 0.6 mg/mL y 1.2 mg/mL de concentración por triplicado para realizar la debida cuantificación mediante cromatografía líquida de alta resolución acoplada a masas LC-MS, las especificaciones de esta técnica se encuentra en la sección **2.1.7.** Para el proceso de desorción se realiza el mismo procedimiento mencionado anteriormente, solo se lleva a pH 2 seguida de la toma en LC-MS.

3. Resultados y discusión

Los análisis y discusión de resultados se dividirán en cinco etapas principalmente, las cuales fueron presentadas en la metodología y se esquematizan a continuación.

Esquema 3-1. Etapas que conforman el desarrollo del trabajo



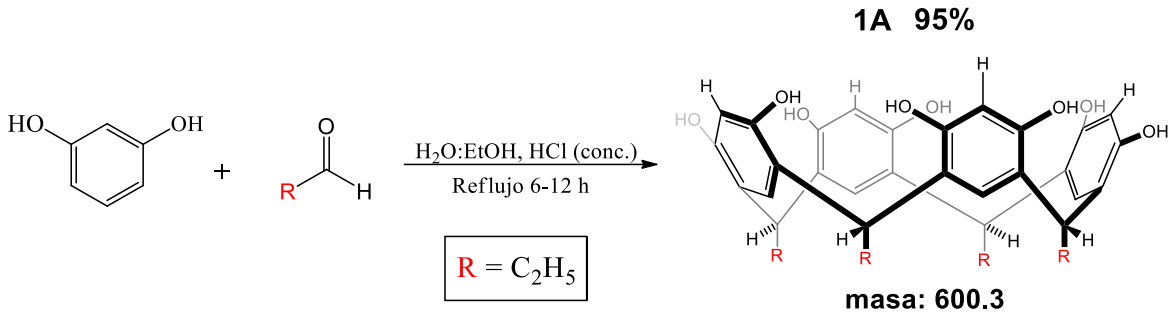
3.1 Síntesis y caracterización de resorcinarenos (etapa 1)

En los procesos de interacción Host-Guest (huésped-hospedero) con los resorcinarenos **1A** y **1B** los cuales los diferencia la longitud de la cadena alquílica (Esquema 3-2 y 3-3) es crucial que la conformación permita un reconocimiento seguro, esto se logra cuando los resorcinarenos presentan una conformación tipo *corona*, para esto se adaptaron diferentes tipos de metodologías [3, 29, 107]. Las principales diferencias de estos procesos radican en el tiempo de reacción, temperatura y tipo de solvente empleado, el que presentó resultados más prometedores fue el trabajo publicado por Franco[107] y colaboradores, esta metodología consiste en la ciclocondensación acida entre el resorcinol y el aldehído correspondiente, ya sea propanal para el resorcinareno **1A** y heptanal para el resorcinareno **1B**. En este proceso el disolvente empleado fue una mezcla etanol/agua en proporciones 1:1. Finalmente la reacción es sometida a agitación constante en reflujo por distintos tiempos dependiendo del aldehído a utilizar.

3.1.1 Síntesis de *C*-tetra(etil)calix[4]resorcinareno

En la síntesis del *C*-tetra(etil)calix[4]resorcinareno (**esquema 3-2**) se obtuvo como un sólido de color amarillo con un rendimiento del 95%. El análisis por IR (**Anexo 1**) se puede resaltar la banda de 3400 cm^{-1}, que presenta un ensanchamiento propio de tensiones OH, atribuidas a los hidroxilos del borde superior del resorcinareno. También la banda en 2920 cm^{-1}, asignadas a las cadenas alifáticas del borde inferior por vibraciones CH; la señal en 1610 cm^{-1} indica la presencia de vibraciones -C=C- para los anillos de las unidades de resorcinol y por último la banda en 1290 cm^{-1} muestra las vibraciones C-O de las uniones entre los hidroxilos y los anillos del resorcinol. En general estas bandas son típicas para resaltar las características funcionales del macrociclo.

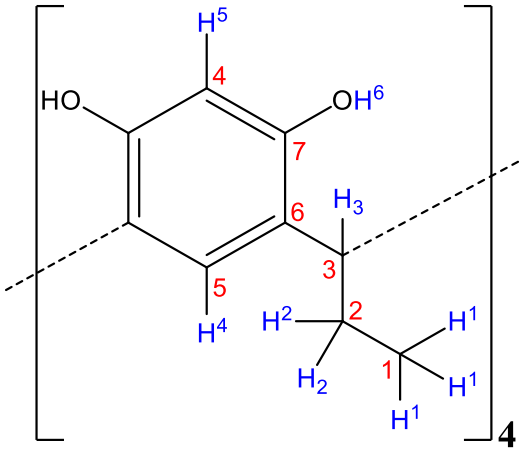
Esquema 3-2. Reacción de obtención de *C*-tetra(etil)calix[4]resorcinareno **(1A)**.



Continuando con el análisis de la estructura del compuesto obtenido se realizó el espectro de RMN-^{1}H (**Anexo 2**) donde se destaca la señal en 9.00 ppm con integración para 8 protones, correspondiente a los hidroxilos de las unidades de resorcinol; un par de señales con desplazamiento en 7.21 y 6.15 ppm (ambas singletes) las cuales son las únicas que se presentan en zona de hidrógenos aromáticos, que indica la presencia de protones en las posiciones 1 y 2 de la unidad de resorcinol respectivamente. Además, y a manera de resaltar esta multiplicidad de singuletes que identifica el confórmero *corona*. Por otro lado, una señal con desplazamiento en 4.09 ppm que integra para 4 hidrógenos y con una multiplicidad triplete es asignada al puente metino, que a su vez está unido a un metileno procedente de la cadena alifática proveniente del aldehído de partida. El resto de señales corresponden con la cadena alifática en el borde inferior, como ejemplo se tiene las señales de 2.09 (q, 8H, CH_2) y 0.79 (t, 12H, CH_3) las cuales explican las cadenas alifáticas de los CH_2 Y CH_3 carbonos que sustituyen el borde inferior del resorcinareno.

Con respecto al espectro RMN-^{13}C (**Anexo 3**), muestra un total de 7 señales donde se puede ver dos grupos de señales, específicamente 4 en campo bajo (asignadas a la parte aromática de la molécula) y 3 en campo alto (correspondientes a la parte alifática). Con respecto a campo bajo, las señales de 151.6, 125.0, 123.1 y 102.3 ppm son asignadas por desplazamiento del sistema aromático. En campo alto, cabe resaltar la señal en 35.1 ppm para el puente metino y que explica su mayor desplazamiento frente a las demás de este campo debido a la unión con los anillos del macrociclo; las señales restantes son asignadas a la cadena alquílica del borde inferior 26.6 para el carbono CH_2 y 12.6 para carbono CH_3. Toda la información de los análisis por RMN de la molécula **1A** está condensada en la **Tabla 3-1**.

Tabla 3-1. Datos de caracterización **1A** *C-tetra(etil)calix[4]resorcinareno*



^{1}H	ppm	^{13}C	ppm
1	(0.79)	1	12.6
2	(2.09)	2	26.6
3	(4.09)	3	35.2
4	(6.15)	4	102.3
5	(7.21)	5	123.1
6	(9.00)	6	125.0
-----	------	7	151.6

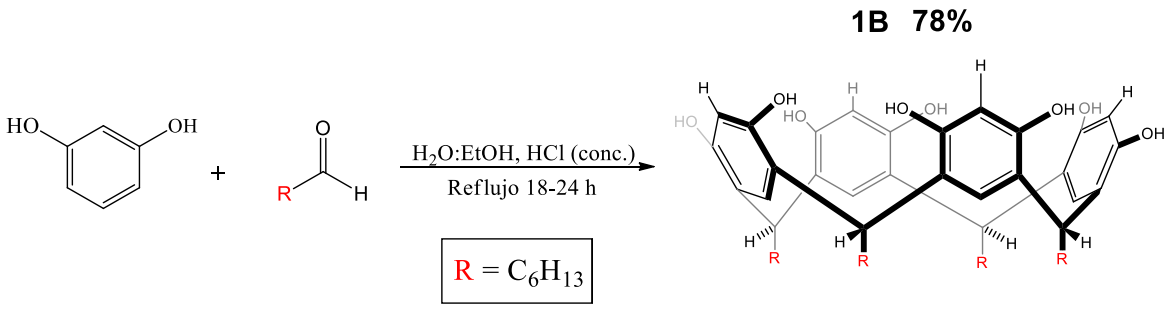
Basados en los análisis espectrales, y en concreto con el espectro de RMN-^{1}H en las que solo se observa un singlete tanto para los hidrógenos aromáticos como para los del hidroxilo, se puede deducir que la síntesis conduce mayoritariamente a la formación de un solo tipo de isómero, evidenciado por las señales *orto* y *meta* del singlete con integración para 4 hidrógenos que indica ambientes químicos iguales para estas posiciones. Finalmente se realizó un espectro de masas de masa molecular 600.3 obteniendo un ion pseudomolecular de 601.3 [M+1] (**Anexo 4**) lo que corrobora la correcta síntesis del tetrámero **1A** y que no se formaron aductos adicionales.

3.1.2 Síntesis de *C*-tetra(hexil)calix[4]resorcinareno

Con respecto a la síntesis del *C*-tetra(hexil)calix[4]resorcinareno (**esquema 3-3**) se obtuvo un sólido de color naranja con un rendimiento del 78% esta disminución del porcentaje de rendimiento con respecto al resorcinareno anterior pudo darse por varios factores como el disolvente empleado, ya que se usó la misma mezcla 1:1 etanol/agua en las dos síntesis y en diferentes publicaciones de la síntesis de resorcinarenos, se plantea que el uso de diferentes proporciones de esta mezcla afecta directamente la polaridad y por esta razón el rendimiento mismo de los conformeros, encontrando valores que varían entre 28 y 97%[108] dependiendo del tamaño de cadena. Otro factor, fue el efecto del catalizador ya que también permite un cambio del rendimiento del aducto obtenido. Por último, la evaluación del tiempo de reacción usado para la síntesis de los dos resorcinarenos presenta una variación dependiendo del tamaño del aldehído

empleado ya que interviene directamente la estabilidad conformacional [108] encontrándose que a mayor tamaño de cadena mayor tiempo empleado de reacción, variando los tiempos entre 6 hasta 36 horas. Por esta razón, se realizó seguimiento de las reacciones por cromatografía de placa delgada (CCD) para corroborar los tiempos de reacción, reactivos consumidos de partida y poder dar como concluida la reacción. Posterior a esto se analizó mediante IR (**Anexo 5**). De lo anterior se puede resaltar la banda de 3300 cm^{-1}, que presenta un ensanchamiento propio de tensiones OH, atribuidas a los hidroxilos del borde superior del resorcinareno. También la banda en 2860 cm^{-1}, asignadas a las cadenas alifáticas del borde inferior por vibraciones CH; la señal en 1610 cm^{-1} indica la presencia de vibraciones -C=C- para los anillos de las unidades de resorcinol y por último la banda en 1280 cm^{-1} muestra las vibraciones C-O de las uniones entre los hidroxilos y los anillos del resorcinol.

Esquema 3-3. Reacción de obtención de *C*-tetra(hexil)calix[4]resorcinareno **(1B)**.

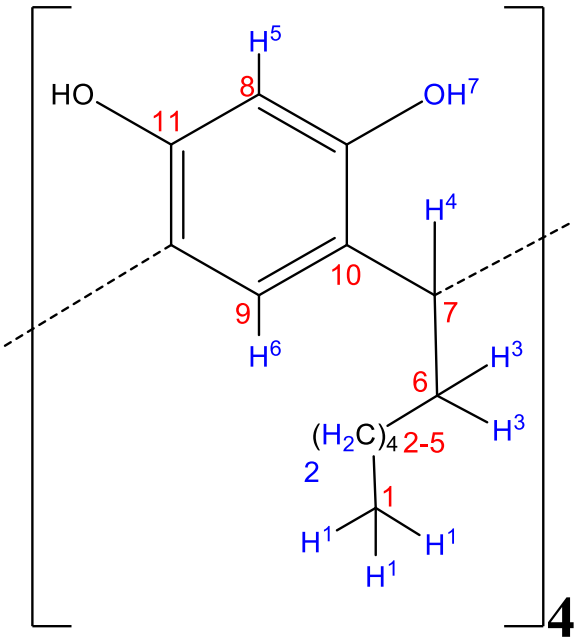


Para profundizar en la elucidación estructural, el compuesto fue analizado por RMN-^{1}H (**Anexo 6**) donde se destacan las señales en los 8.87 ppm con integración para 8 protones, correspondiente a los hidroxilos de las unidades de resorcinol; un par de señales con desplazamiento en 7.11 y 6.14 ppm (ambas singletes) al estar las señales en un mismo lado del espacio nos indica que el confórmero es del tipo *corona*, además las señales son las únicas que se presentan en zona de hidrógenos aromáticos, que indica la presencia de protones en las posiciones *orto* y *meta* de la unidad de resorcinol respectivamente. Por otro lado, una señal con desplazamiento en 4.21 ppm que integra para 4 hidrógenos y con una multiplicidad triplete es asignada al puente metino, la cual reitera la condensación (igual que el compuesto anterior (**1A**) y ciclación del macrociclo de cuatro miembros, que a su vez está unido a un metileno procedente de la cadena alifática aportada por el aldehído. El resto de señales cumplen con las sustituciones

alifáticas en el borde inferior, como ejemplo se tiene las señales de 0.82 (t, 12H, CH_3), 1.21 (m, 32H, CH_2) y 1.99 (q, 8H, CH_2), 2.20 (m, 8H, CH_2), las cuales explican las 4 cadenas alifáticas de seis carbonos que sustituyen el borde inferior del resorcinareno.

Mediante RMN-^{13}C (**Anexo 7**) se resaltan un total de 11 señales donde se puede ver dos grupos de señales, específicamente 4 en campo bajo (asignadas a la parte aromática de la molécula) y 7 en campo alto (correspondientes a la parte alifática). Con respecto a campo bajo, las señales de 151.6, 124.8, 123.0 y 102.3 ppm son asignadas por desplazamiento a la posición *orto* y *meta* a los hidroxilos, al carbono aromático unido al puente metino y al carbono aromático unido a los hidroxilos. En campo alto, cabe resaltar la señal en 34.0 ppm para el puente metino y que explica su mayor desplazamiento frente a las demás de este campo debido a la unión con los anillos del macrociclo; las señales restantes son asignadas a la cadena alquílica del borde inferior 32.5, 31.4, 28.8, 27.7, 22.1 para carbonos CH_2 y 13.8 para carbono CH_3. toda la información de los análisis por RMN de la molécula **1B** está condensada en la **Tabla 3-2**.

Tabla 3-2. Datos de caracterización **1B** *C*-tetra(hexil)calix[4]resorcinareno

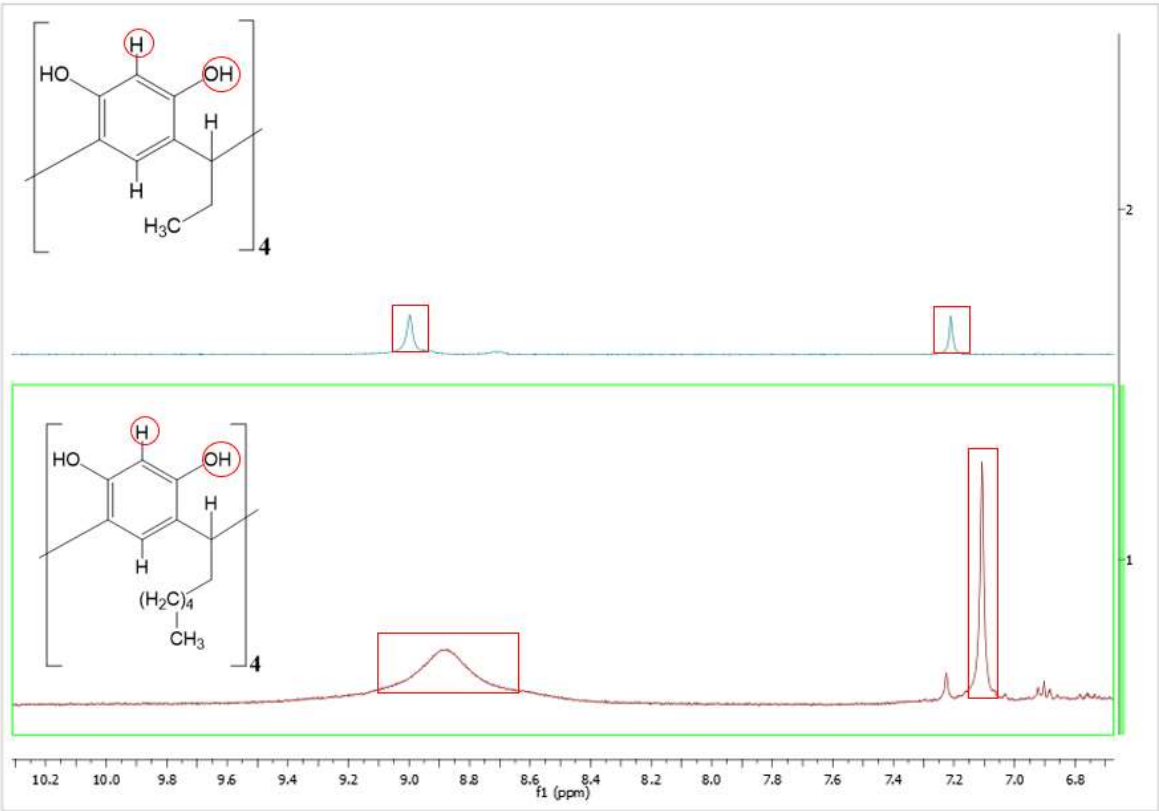


^{1}H	ppm	^{13}C	ppm
1	(0.82)	1	13.8
2	(1.21)	2	22.1
3	(1.99)	3	27.7
4	(4.21)	4	28.8
5	(6.14)	5	31.4
6	(7.11)	6	32.5
7	(8.87)	7	34.0
---	---	8	102.3
---	---	9	123.0
---	---	10	124.8
---	---	11	151.6

De la misma manera al resorcinareno se realizó un espectro de masas de masa molecular 824.5 obteniendo un ion pseudomolecular de 847.5 correspondiente a su masa más un sodio de masa 23 [M+Na] (**Anexo 8**) lo que corrobora la adecuada síntesis del aducto **1B** y productos colaterales como la polimerización de la molécula.

En esta primera etapa del trabajo se obtuvieron los dos resorcinarenos propuestos con características similares entre sí. Un sólido de color amarillo para el compuesto **1A** y uno de color naranja para el compuesto **1B** con rendimiento similares a lo reportado en la literatura [53]. Adicional se resaltan en los dos compuestos la obtención de los confórmeros tipo *corona*; este tipo de análisis se obtiene a partir de las dos señales que se observan con una multiplicidad de singuletes para los hidroxilos y los hidrógenos aromáticos más desplazados en campo bajo, evidenciando la equivalencia en el ambiente químico del compuesto **1A** y **1B** respectivamente como se observa en la **figura 3-1.**

Figura 3-1. Compilado de espectros RMN-^{1}H de los compuestos **1A** (superior) y **1B** (inferior)**.**



3.2 Interacción Host-Guest (Huésped-Hospedero) entre *C*-tetra(etil)calix[4]resorcinareno (1A) y *C*-tetra(hexil) calix[4] resorcinareno (1B) con L-carnitina (etapa 2)

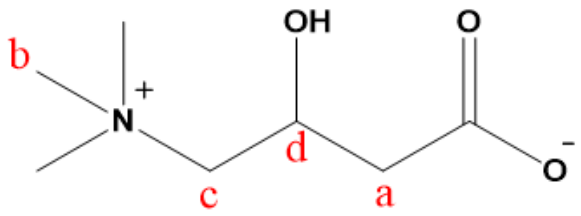
Como parte inicial sobre los procesos de interacción Huesped-Hospedero se realizó un estudio en solución para establecer la afinidad de estos tipos de compuestos, gracias a que los resorcinarenos poseen una cavidad rica en electrones que les permite formar interacciones con compuestos específicos como lo son grupos tetraalquilamonio, interacciones de tipo CH- π, puente de hidrogeno, dipolo-dipolo, catión-π[109] que tienen como propiedad principal la presencia de fuertes donadores de electrones como lo son los grupo hidroxilo, permitiendo que la densidad electrónica del anillo aumente[109]. Después de caracterizar los resorcinarenos **1A** y **1B**, resaltando la existencia del conformero tipo *corona* como producto mayoritario, se procedió a realizar las pruebas de interacción con L-carnitina. Para el proceso de análisis e interacción de los resorcinarenos (**1A**-**1B**) y evaluar sus propiedades host-guest con el analito (L-carnitina) se realizaron mediante dos técnicas: 1. Resonancia Magnética Nuclear protónica (**tabla 2-1**) se emplea esta metodología que consiste en analizar los desplazamientos químicos (ppm) más representativos de los resorcinarenos (Host) y como estos fluctúan en presencia de una molécula externa (Host-Guest) 2. Espectrometría de masas del tipo electrospray método conocido como “ionización suave”, técnica elegida por ser sencilla y rápida, tiempos de análisis cortos, mayor sensibilidad lo que da lugar a fragmentaciones “mínimas” y espectros relativamente sencillos de interpretar.

3.2.1 Interacción molecular entre una solución de resorcinarenos (1A - 1B) con L-carnitina (1C) mediante RMN-^{1}H

Después de caracterizar los resorcinarenos **1A** (anexo 2) y **1B** (anexo 4) por las técnicas descritas y de confirmar su conformación tipo *corona*, se realizó la toma RMN-^{1}H de la L-carnitina con el fin de identificar sus señales (anexo 9), estas señales se tabulan en la **tabla 3-3** para observar sus posteriores desplazamientos en su interacción Host-Guest con *C*-tetra(etil)calix[4]resorcinareno (1A) y *C*-tetra(hexil)calix[4]resorcinareno (1B), para la toma del primer espectro RMN-^{1}H de la interacción, se tomó (0,12 mmol) de L-carnitina disuelta en (200 µL) de D_2O mezclada con (0,03 mmol) de *C*-tetra(etil)calix[4] resorcinareno en (500 µL) DMSO-d_6 respectivamente, agitando finalmente las muestras

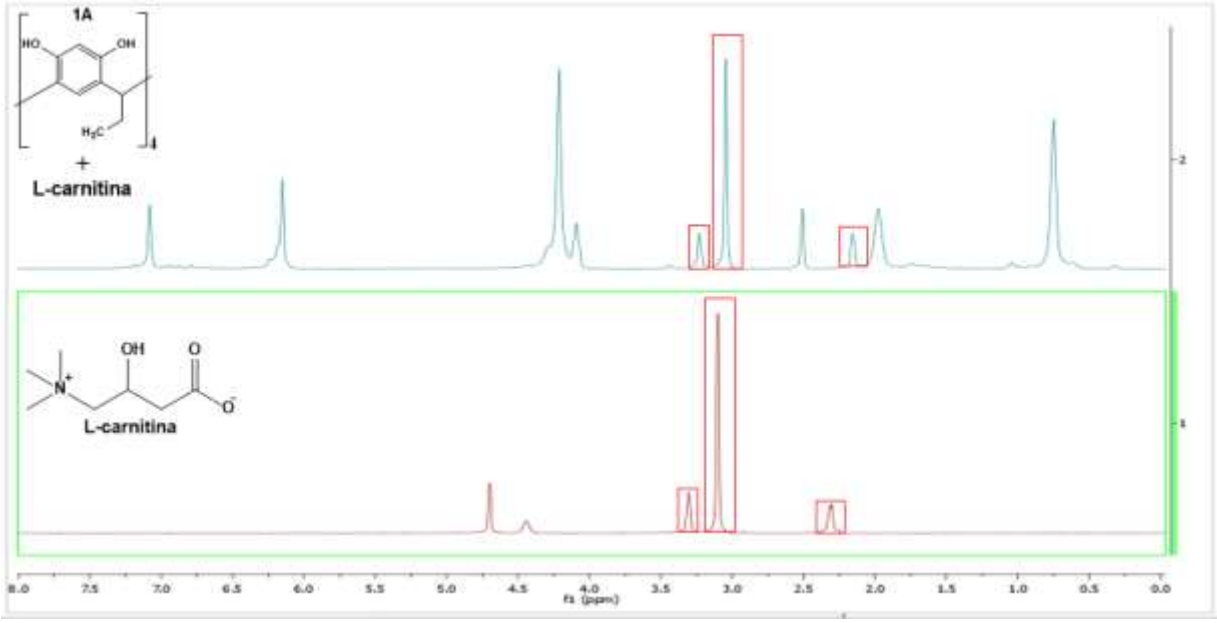
durante 15 minutos hasta su completa dilución, teniendo como resultado se procedió a la toma del espectro RMN-^{1}H (**Figura 3-2**)

Tabla 3-3. Datos de caracterización del compuesto **1C** (L-carnitina)



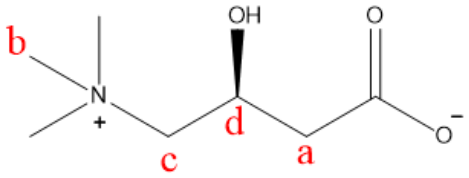
Protón	L-Carnitina (δ ppm)
A	2.40
B	3.19
C	3.39
D	4.53

Figura 3-2. Espectro RMN-^{1}H interacción host-guest entre *C*-tetra(etil)calix[4] resorcinareno **1A** y la L-carnitina **1C.**



En la anterior figura se observan desplazamientos de las señales de la L-carnitina, estos corrimientos se tabulan en la **tabla 3-4.**

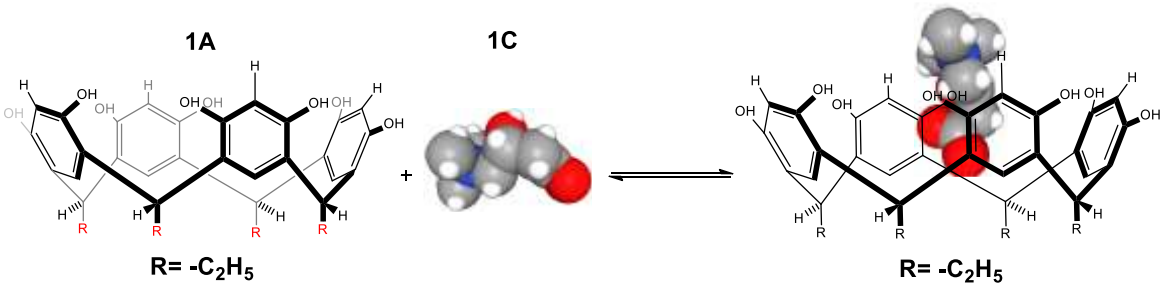
Tabla 3-4. Desplazamientos de las interacciones de los protones de L-carnitina **1C** frente a *C*-tetra(etil)calix[4] resorcinareno **1A.**



Protón	L-Carnitina (1C) δ ppm	1A + 1C	Diferencia de δ ppm
a	2.40	2.16	**0.24**
b	3.19	3.04	**0.15**
c	3.39	3.23	**0.16**
d	4.53	----	----

Con respecto a las señales de la L-carnitina, muestran desplazamientos hacia campo alto en comparación al espectro de la L-carnitina libre y el espectro de la L-carnitina acomplejada con el resorcinareno (**figura 3-2**), lo que era el comportamiento esperado, en donde se corrobora lo publicado en artículos sobre la afinidad existente de los resorcinarenos con grupos tetraalquilamonio[109], esta interacción, estaría dada por la formación del sistema CH-π entre la L-carnitina y la cavidad rica de electrones del resorcinareno (catión-π), la cual enriquece la densidad electrónica de los protones del grupo tetraalquilamonio (**esquema 3-4**).

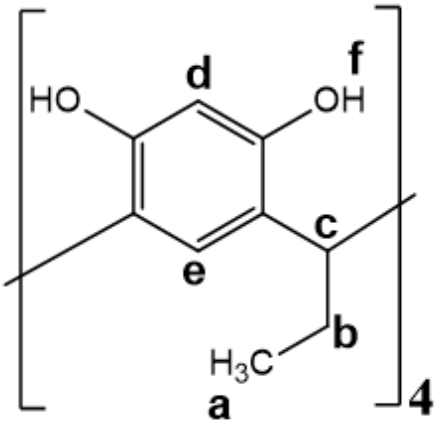
Esquema 3-4. Interacción host-guest entre **1A** y L-carnitina **1C**



De manera complementaria se muestran los desplazamientos RMN-^{1}H del resorcinareno **1A** (**Tabla 3-5**) donde los desplazamientos de los protones **a** al **d** son demasiados bajos, a excepción del protón **e** lo que demuestra que la capacidad de interacción host-guest del compuesto **1A** respecto al analito es fuerte en esa área y se demuestra con mayor interacción en su borde inferior del mismo, asimismo se podría decir que el analito está llegando hacia la parte más profunda del resorcinareno.

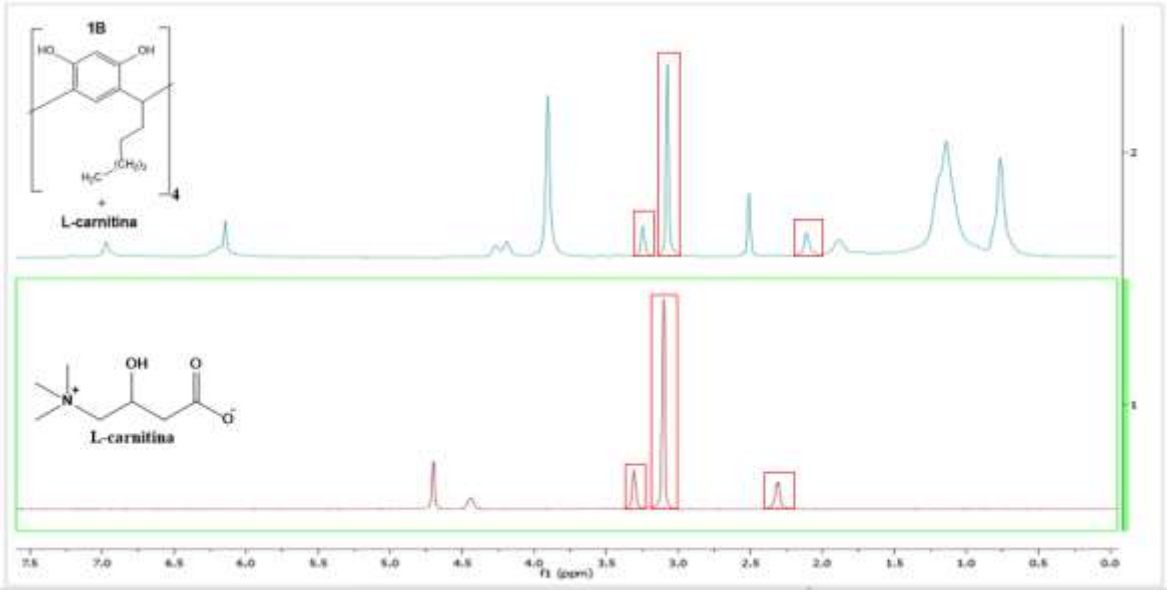
Tabla 3-5. Desplazamientos de las interacciones de los protones del *C*-tetra(etil)calix[4] resorcinareno **1A** frente L-carnitina **1C**

Protón	1A δ ppm	1A + 1C	Diferencia δ ppm
a	0.79	0.74	**0.05**
b	2.09	2.15	**0.06**
c	4.09	4.09	**0.00**
d	6.15	6.15	**0.00**
e	7.21	7.07	**0.14**
f	9.00	-----	----



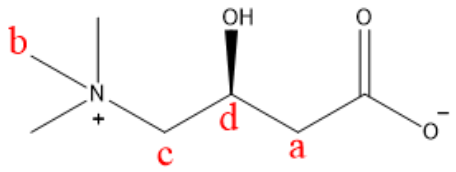
Para la toma del segundo espectro RMN-^{1}H se realizó la misma metodología del compuesto **1A**, aquí se tomó (0,12 mmol) de L-carnitina disuelta en (100 µL) de D_2O mezclada con (0,03 mmol) de *C*-tetra(hexil)calix[4]resorcinareno en (600 µL) DMSO-d_6 respectivamente, agitando finalmente las muestras durante 15 minutos hasta su completa dilución, teniendo como resultado (**Figura 3-3**)

Figura 3-3. Espectro RMN-^{1}H interacción host-guest entre *C*-tetra(hexil)calix[4] resorcinareno **1B** y la L-carnitina **1C.**



En la anterior figura se observan desplazamientos de las señales de la L-carnitina, estos corrimientos se tabulan en la **tabla 3-6**

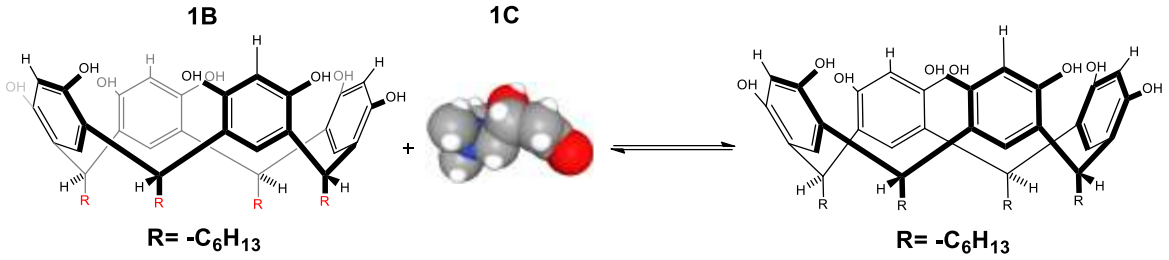
Tabla 3-6. Desplazamientos de las interacciones de los protones de L-carnitina **1C** frente a *C*-tetra(hexil)calix[4] resorcinareno **1B**



Protón	L-Carnitina (1C) δ ppm	1B + 1C	Diferencia δ ppm
a	2.40	2.11	**0.29**
b	3.19	3.07	**0.12**
c	3.39	3.24	**0.15**
d	4.53	----	----

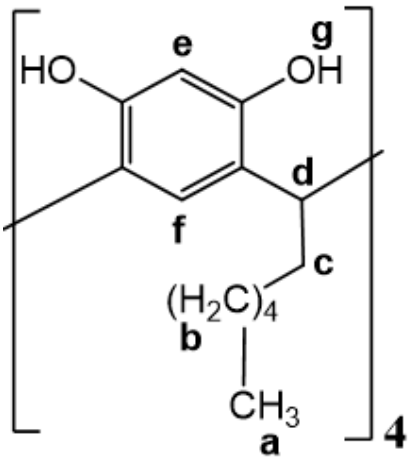
Con respecto a las señales de la L-carnitina también se muestran desplazamientos hacia campo alto en comparación al espectro de la L-carnitina libre y el espectro de la adición de L-carnitina acomplejada con el resorcinareno (**figura 3-2**) lo que indica la interacción del huésped en la cavidad electrónica del macrociclo, que se ve más marcada en la señal de los metilos al ser estos los que interactúan directamente con la cavidad hospedera (**esquema 3-5**).

Esquema 3-5. Interacción host-guest entre los compuestos **1B** y **1C**



De igual manera se muestran los desplazamientos RMN-^{1}H del resorcinareno **1B** (**Tabla 3-7**) donde los desplazamientos de los protones **a** al **e** siguen con la tendencia a ser demasiados bajos a excepción del protón **f** que demuestra que la capacidad de interacción host-guest del compuesto **1B** y entra a la cavidad más baja en el borde inferior.

Tabla 3-7. Desplazamientos de las interacciones de los protones del *C*-tetra(hexil)calix[4] resorcinareno **1B** frente a la L-carnitina **1C.**



Protón	1B δ ppm	1B + 1C	Diferencia δ ppm
a	0.82	0.76	**0.06**
b	1.21	1.14	**0.07**
c	1.99	1.88	**0.11**
d	4.21	4.19	**0.02**
e	6.14	6.14	**0**
f	7.11	6.97	**0.14**
g	8.87	-----	----

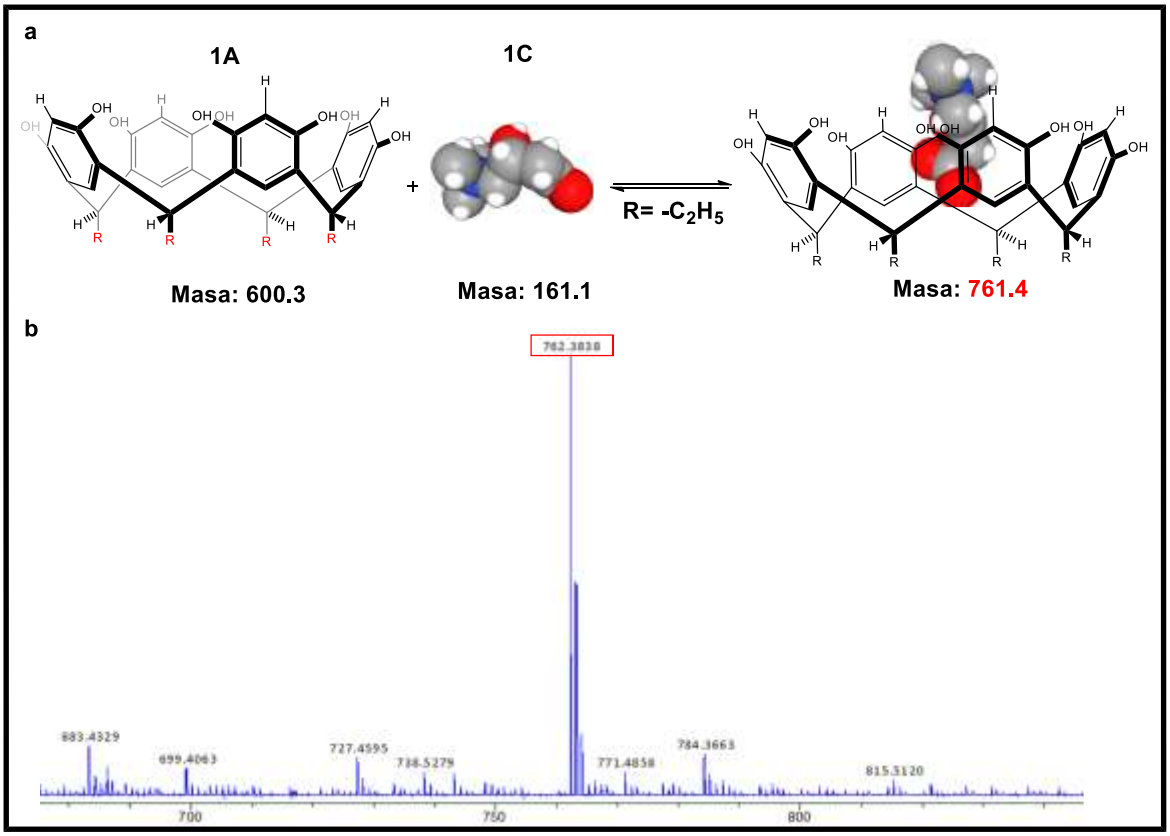
Como se planteó anteriormente existe una interacción entre los compuestos 1A y 1B frente a 1C de las que se analizan que: en primera medida se puede observar que no hay diferencias notables en la interacción entre los dos resorcinarenos y la L-carnitina ya que los desplazamientos del analito tienen un corrimiento similar. La diferencia del protón a de la L-carnitina frente a 1A y 1B es solo de 0.05 para el protón b 0.03 y el protón c de solo 0.01 respectivamente, en segunda medida las interacciones de estos agregados moleculares se mantienen unidas a enlaces del tipo no covalente[52,110,111] las interacciones

más fuertes se ve en el protón a de la L-carnitina donde el enlace es del tipo CH-π, debido a la cadena alifática adyacente a los grupos hidroxilo y carboxilato de la carnitina y el sistema pi proporcionado por los sistemas de los resorcinarenos, la segunda interacción más dominante se ve en el protón b también por una interacción del tipo CH-π adicional de un enlace tipo catión-π del grupo tetraalquilamonio de la L-carnitina frente al sistema π aromático del resorcinareno, finalmente la interacción del protón c de igual forma es del tipo CH-π finalizando el último tipo de coordinación supramolecular[112] entre el analito y los resorcinarenos.

3.2.2 Interacción molecular entre 1A y 1B con L-carnitina mediante espectrometría de masas.

Para analizar la posible interacción de los compuestos a analizar, se necesitaba de una técnica poderosa para la identificación de una amplia variedad de compuestos químicos para ello se utilizó el equipo de espectrometría de masas, el cual tenía una gran accesibilidad para este tipo de moléculas de interés se empleó como fuente, la ionización química que produce relativamente poca excitación lo que da lugar a pocas fragmentaciones y los espectros resultantes sean en este caso "sencillo" de identificar y obtener un peso molecular exacto. Para ello en primera instancia se tomó el espectro de masas de la L-carnitina (**Anexo 9**) siendo consecuente con su peso molecular teórico 161.1 y el resultado de su ion pseudomolecular 162.1 correspondiente a [M+1], teniendo en cuenta los espectros de masas de **1A** (**Anexo 4**) con su ion pseudomolecular 601.3 [M+1] y el espectro de masas de **1B** (**Anexo 8**) 847.5 [M+Na], se evaluó la interacción de la L-carnitina con los resorcinarenos de **1A** y **1B** descrito en la **figura 2-1**, allí se tomaron relaciones estequiométricas 1:1 y 1:2 de calix[4]resorcinareno y L-carnitina respectivamente, se realizó la toma de los espectros de masas, teniendo como resultado una primera interacción entre las moléculas **1A** y **1C** (**Anexo 11**) con un ion pseudomolecular de 762.38 lo que corrobora junto al análisis RMN-^{1}H (**figura 3-2**) el complejo que se forma entre el huésped **1A** y el analito **1C** esto debido a las interacciones no covalentes que existen entre las dos moléculas como lo son de tipo: catión-π y CH- π que existen entre el *C*-tetra(etil)calix[4]resorcinareno y la L-carnitina. La adecuada interacción entre el resorcinareno **1A** y **1C** se plasma en el **esquema 3-6.**

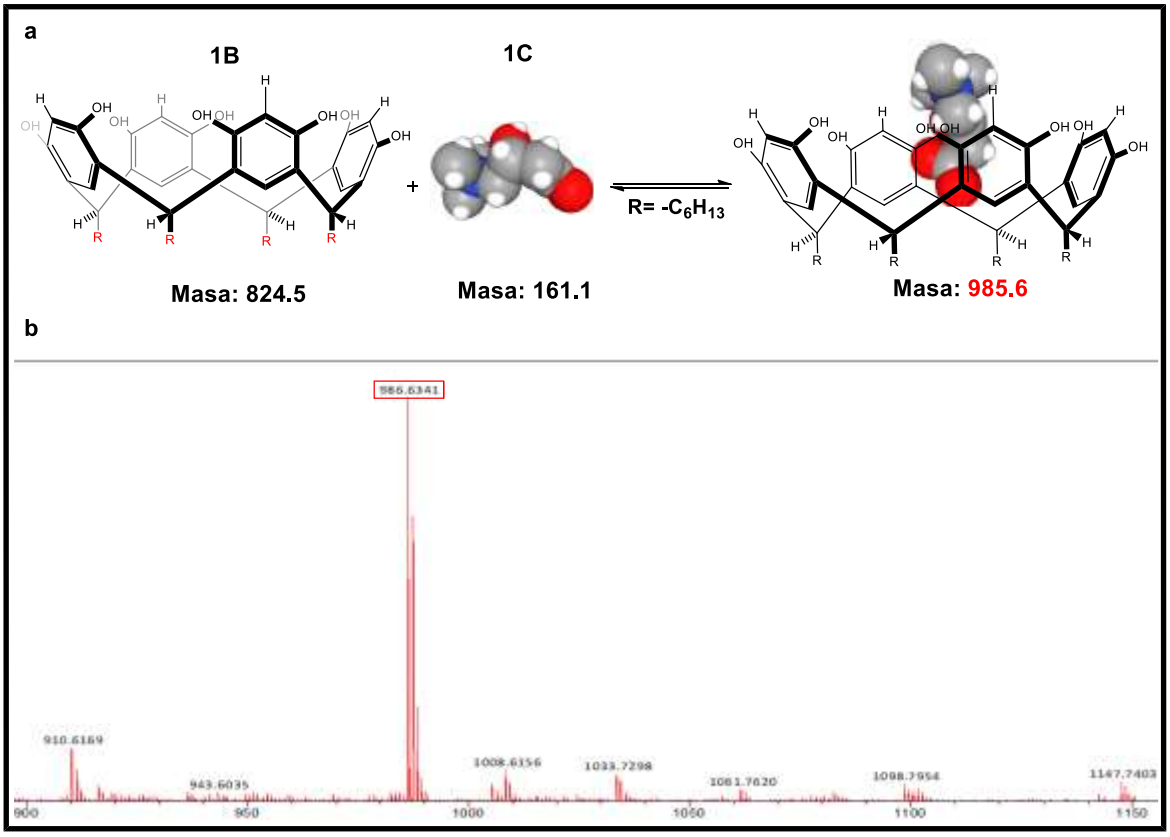
Esquema 3-6. Interacción Host-Guest (**a)** Reacción de la interacción entre la *C*-tetra(etil) calix[4]resorcinareno **1A** y la L-carnitina **1C (b)** Espectro de masas entre **1A** y **1C**.



El resultado de la segunda interacción entre las moléculas **1B** y **1C** (**Anexo 12**) con un ion pseudomolecular de 986.63 lo que corrobora junto al análisis RMN-^{1}H (**figura 3-3**) el complejo que se forma entre el huésped **1B** y el analito **1C** esto debido a las interacciones no covalentes como catión-π y CH-π que existen entre el *C*-tetra(hexil)calix[4]resorcinareno y la L-carnitina. Pese a que se tomaron relaciones estequiométricas 1:1 y 1:2 de calix[4]resorcinareno y L-carnitina respectivamente para analizar la mejor interacción la relación estequiométrica predominante en los dos casos **1A vs 1C** y **1B vs 1C** fue de 1:1, ya que de lo contrario se debería evidenciar una señal para una relación 1:2 de 923.5 entre **1A** y **1C** (**Anexo 11**) y una señal de 1147.7 entre **1B** y **1C** (**Anexo 12**).

La adecuada interacción entre el resorcinareno **1B** y **1C** se plasma en el **esquema 3-7.**

Esquema 3-7. Interacción Host-Guest (**a)** Reacción de la interacción entre la *C*-tetra(hexil) calix[4]resorcinareno **1B** y la L-carnitina **1C (b)** Espectro de masas entre **1B** y **1C.**



Al igual que la sección anterior de la interacción de los resorcinarenos 1A y 1B frente a la L-carnitina mediante la técnica de RMN-^{1}H, esta complementó este tipo de estudio de interacción mediante cromatografía líquida acoplada a masas (LC/MS). Para este tipo de técnica complementaria, se utilizó la técnica de ionización suave que al producir relativamente poca excitación de los iones en fase gaseosa da lugar a pocas fragmentaciones y una estabilidad del complejo en principio bastante alta, adicional resultan en espectros relativamente sencillos de analizar e interpretar (**Esquema 3-6 y 3-7** respectivamente) lo que permite una mayor determinación del peso molecular del analito. En adición la técnica es bastante útil ya que permitió identificar cual fue la mejor relación entre 1:1 y 1:2 del resorcinareno y la carnitina respectivamente, ya que no se ven picos estables. En el caso del resorcinareno 1A frente a 1C en una relación 1:2 no se

observa un ion pseudomolecular en 923.5 y para el resorcinareno 1B frente a 1C en una relación 1:2 tampoco se observa un pico estable en 1123.7.

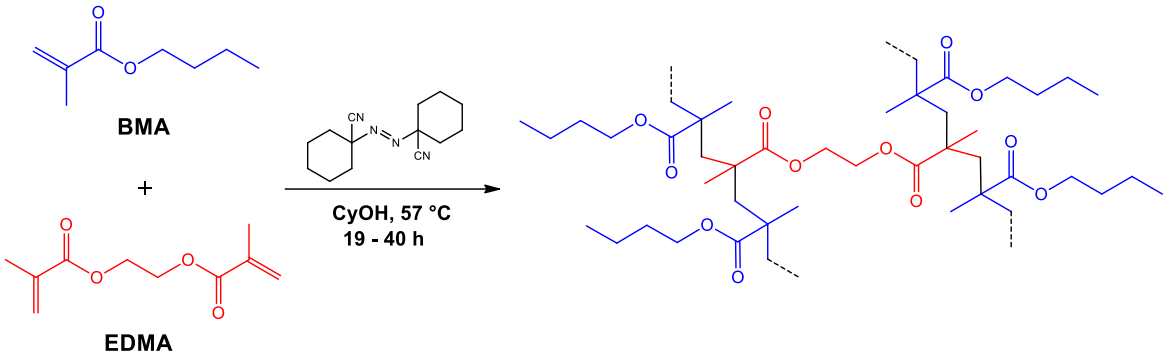
3.3 Síntesis del copolímero: poli(BMA-co-EDMA) y sorción con los resorcinarenos (1A y 1B) (etapa 3)

Después de sintetizar los macrociclos que se emplearían en la modificación del material polimérico, se procedió a realizar la síntesis del copolímero. Como parte de las etapas del trabajo, se realizó la síntesis de materiales monolíticos derivados de BuMA ya que su reactividad los convierte en materiales muy prometedores para la reacción con los resorcinarenos sintetizados en este trabajo. Cabe destacar que estos materiales han sido previamente estudiados [24,25]. En cuanto a la elección de estos polímeros debemos recordar que al ser monolitos de origen orgánico[113] presenta tolerancia a valores mayores de pH que los hechos de bases inorgánicas convencionales. Volviendo a este tipo de monolitos orgánicos, existen factores que influyen en su obtención. Se eligió un derivado de metacrilato ya que la polaridad de este compuesto está definida por el radical del grupo Ester como lo es la del butilmetacrilato, en cuanto al entrecruzante fue de suma importancia emplear el Etilendimetacrilato (EDMA) entre mayor porcentaje se adicione, mayor será el área superficial presente [114] lo que influye en una mayor eficiencia de transferencia de masas y un mejor anclaje entre el analito (L-carnitina) y la fase estacionaria en cuanto al iniciador que en este caso fue el ABCN se adiciono entre 0.1-1% ya que es el porcentaje adecuado para que no afecte el tamaño de los poros [115] ya que esto afectaría la resistencia de la fase estacionaria a la fase móvil.

3.3.1 Preparación del material monolítico poli(BMA-co-EDMA)

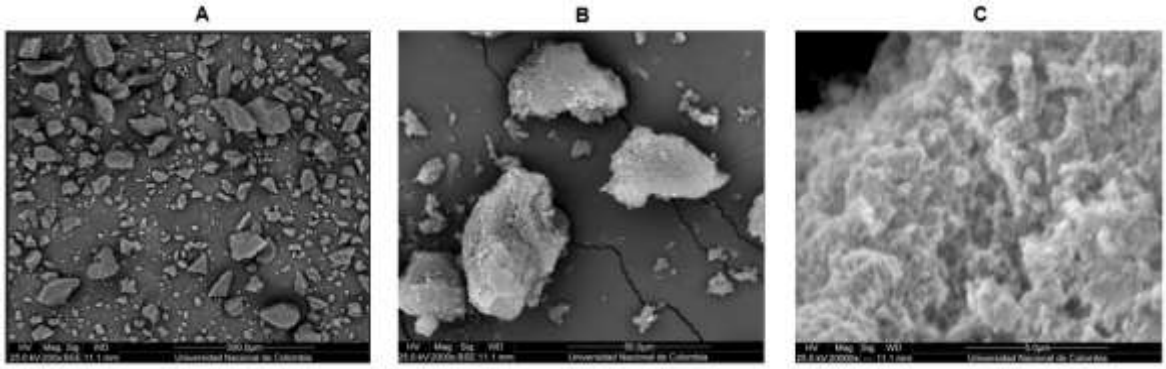
Inicialmente se preparó el copolímero poli(BMA-co-EDMA) de acuerdo con el procedimiento propuesto por Nasirtabrizi[99] y posteriormente modificado por Castillo-Aguirre y colaboradores [24] (**Esquema 3-8**) detallado en la metodología sección **2.4**. Del 60% de porógenos el 90% corresponde al ciclohexanol y el 10% a dodecanol. En cuanto al 40% restante de monómeros y entrecruzante: 40% equivale al entrecruzante y 60% al monómero. Para el iniciador se debe calcular el 1% de la mezcla de monómero y entrecruzante.

Esquema 3-8. Síntesis del polímero BMA-co-EDMA.



El copolímero que se obtuvo fue de color blanco, con moderada resistencia mecánica y se caracterizó empleando IR-ATR (**Anexo 13**). En esta caracterización se encuentran las señales características de estos compuestos 2.957 cm-1 (C–H), 1.724 cm-1 (C=O), 1.144 cm-1 (C–O), 945 cm-1 (C-O-C). También se empleó SEM para observar (**figura 3-4)**. En la estructura del polímero poli(BMA-co-EDMA) se pueden observar diferentes aumentos: 500, 50 y 5 µm. En la microscopia A (500 µm) se observa los glóbulos en grupos que dan la estructura característica de los monolitos las micrografías B y C permiten distinguir estructuras granulares que dan lugar al espacio intersticial del copolímero. Los poros entre glóbulos permiten velocidades de flujo altas de fase móvil mientras que los más pequeños proporcionan área superficial, necesaria para una capacidad mayor del monolito.

Figura 3-4. SEM de la estructura de poli(BMA-co-EDMA) **A.** 500 µm **B.** 50 µm **C.** 5 µm



3.3.2 Modificación física de los copolímeros con *C*-tetra(etil)calix[4]resorcinareno y *C*-tetra(hexil)calix[4] resorcinareno con poli(BMA-co-EDMA)

Las modificaciones sobre las superficies poliméricas se pueden realizar mediante la funcionalización del monómero antes de realizar la reacción de copolimerización [116], también mediante impresión molecular [117]. Por último la mas empleada es la post-funcionalización o *"grafting"* es decir por reacciones químicas sobre algún grupo funcional del polímero o también se puede hacer por medio de un proceso físico o de impregnación para ello se tuvo en cuenta la metodología propuesta por Castillo [24,25] y colaboradores para la modificación física de los polímeros se emplearon los resorcinarenos (1A y 1B), se realizaron modificaciones respectivas para obtener óptimas condiciones: el primer cambio de solventes debido a los resorcinarenos 1A y 1B empleados en este trabajo no son tan voluminosos como los descritos en las metodologías de ellos, donde se emplean solventes como dimetilformamida (DMF) y dimetilsulfoxido (DMSO) o incluso mezclas entre ellos para una mejor modificación física del material polimérico, donde se propuso solventes con un punto de ebullición más bajo, lo que mejoraría la reacción y un adicional de bajar la toxicidad de estos solventes a la hora de su manipulación, para ello se planteó:

a. Solvente EtOH por 24 h

b. Solvente EtOH por 48 h

c. Solvente $CHCl_3$ por 24 h

Lo anterior se plasma en la **figura 3-5**. En el espectro infrarrojo (IR) se observa las bandas características del copolímero en 2.958 cm^{-1} (C–H), 1.724 cm^{-1} (C=O), 1.145 cm^{-1} (C–O), 944 cm^{-1} (C-O-C) una banda adicional sobre los 3389 cm^{-1} (-OH) que es característica de los grupos hidroxilo (-OH) proveniente del *C*-tetra(etil)calix[4] resorcinareno (**1A**) en este último el mejor procedimiento para la modificación física del material lo lleva empleando el solvente $CHCl_3$ por un tiempo de 24 horas ya que se observa una mayor intensidad en la banda (-OH) que viene de la molécula **1A.** Esto debido a la afinidad que pudiera existir del material polimérico y el solvente ya que al cambiar el solvente va variando la polaridad del mismo por lo que este puede ser un factor determinante a la hora de la modificación física del material. Lo mismo ocurre para

lo sorción con la molécula **1B** donde la mejor metodología es la opción c (**figura 3-6**).

Figura 3-5. Modificación física de poli(BMA-co-EDMA) con **1A** empleando: **a.** 10 mL EtOH, tiempo 24 horas. **b.**10 mL EtOH, tiempo 48 horas y **c.** 10 mL $CHCl_3$ por 24 horas.

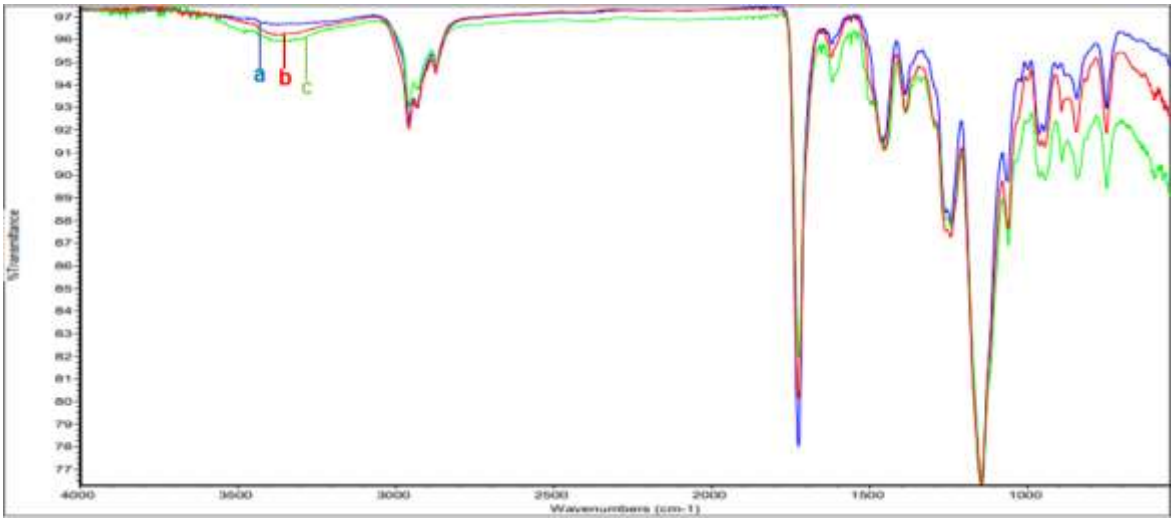
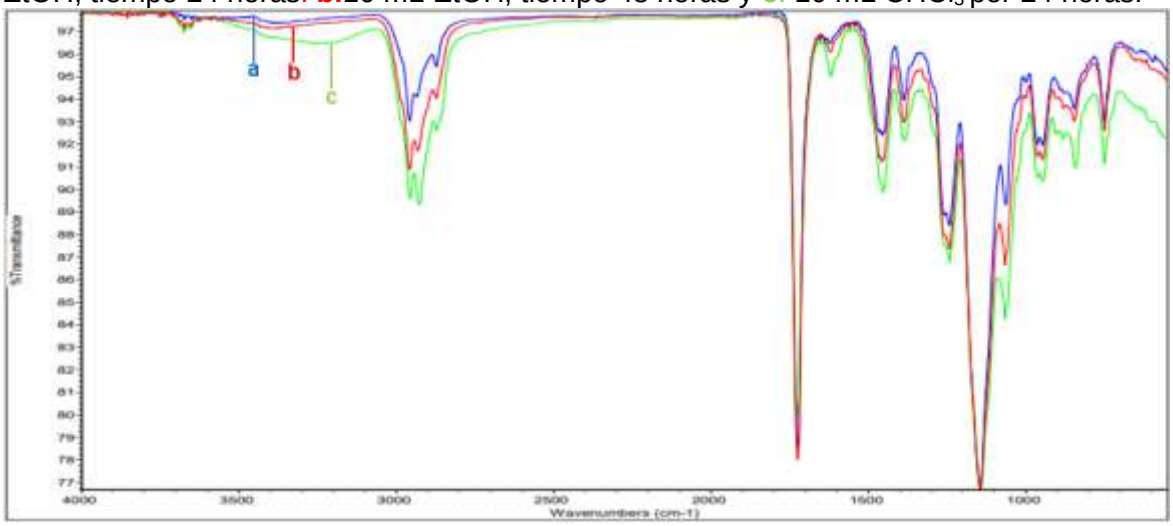
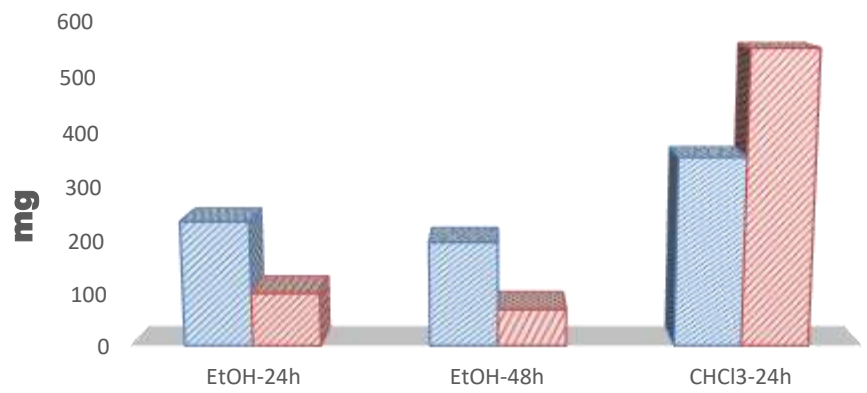


Figura 3-6. Modificación física de poli(BMA-co-EDMA) con **1B** empleando: **a.** 10 mL EtOH, tiempo 24 horas. **b.**10 mL EtOH, tiempo 48 horas y **c.** 10 mL $CHCl_3$ por 24 horas.



El segundo cambio son las cantidades empleadas descritas en **sección 2.4.1** ya que no se obtenían cantidades significantes del material polimérico modificado con los resorcinarenos **1A** y **1B**, por lo que planteó aumentar estas cantidades para ello se emplearon en ambos casos 2g del copolímero BMA-co-EDMA por 1g de resorcinareno **1A** y **1B** respectivamente obteniendo los siguientes resultados **Figura 3-7**

Figura 3-7. Mejores resultados experimentales de la modificación física de los resorcinarenos **1A** y **1B** con el material polimérico.

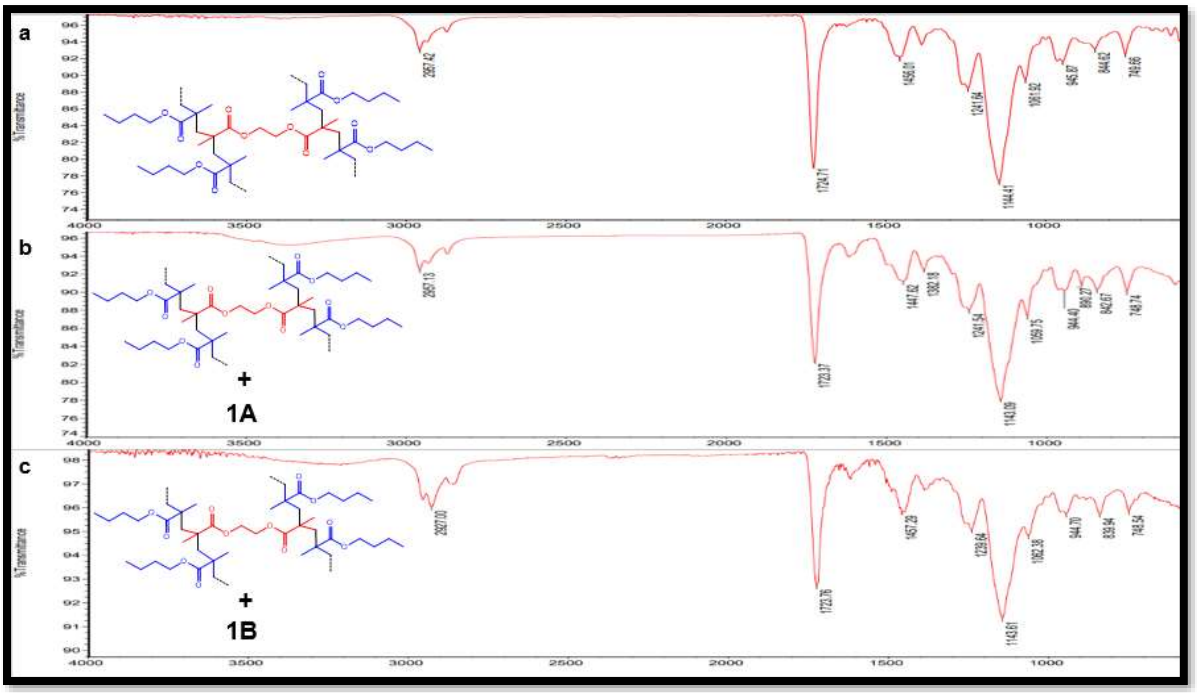


	EtOH-24h	EtOH-48h	CHCl3-24h
1A	234	196	353
1B	100	69	550

Estos resultados complementan el buen resultado de modificar el solvente y las cantidades usadas para la modificación física polimérica de los resorcinarenos empleados en este trabajo. Obtenido los mejores resultados de modificación **0.353 g** Polímero modificado con 1A y **0.550 g** de polímero modificado con 1B se procedió a calcular la cantidad de resorcinareno sustituido en el polímero, para ello se calcula las micromoles del compuesto modificado (**1A**), el resultado obtenido se divide en los gramos de partida del polímero, obteniendo como resultado 294 µmol del copolimero modificado de **1A.** El mismo procedimiento se aplica para el resorcinareno sustituido con el polímero (**1B**), obteniendo como resultado 333.5 µmol del copolimero modificado de **1B**.

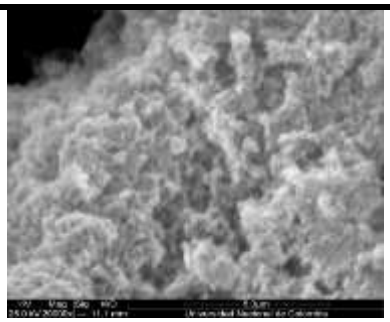
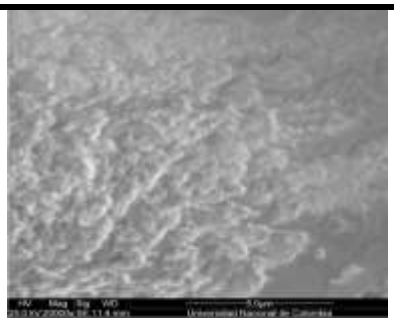
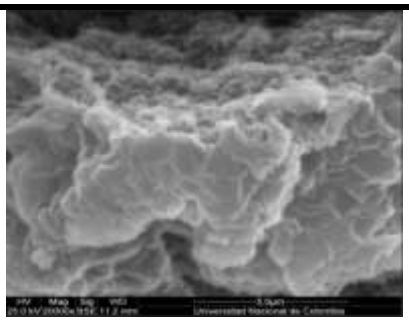
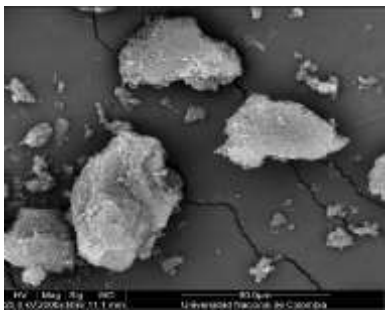
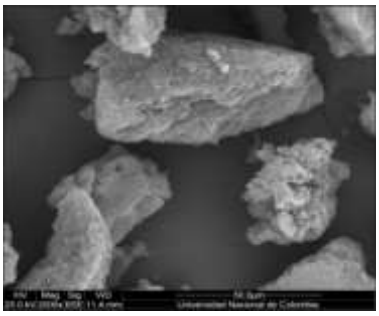
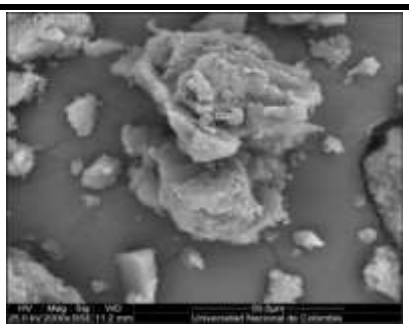
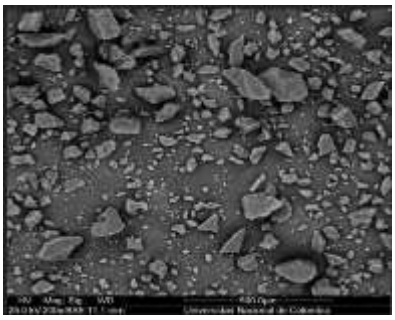
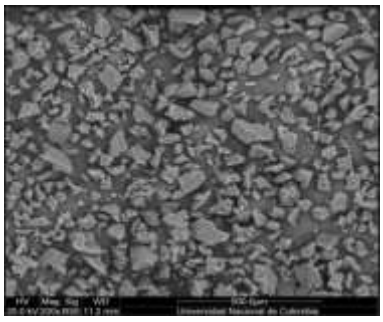
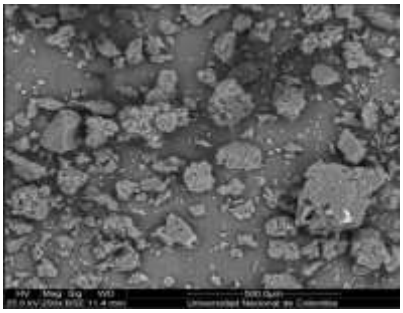
Teniendo claro estas modificaciones se realizó la toma de espectro infrarrojo **figura 3-7** donde se comparan los espectros infrarrojos del copolímero libre **a** con la modificación física de las moléculas **1A** y **1B** respectivamente. Allí se evidencia la modificación física por la banda de más importancia 3389 cm^{-1} (-OH) y 3280 cm^{-1} (-OH) de los resorcinarenos 1A y 1B respectivamente.

Figura 3-8. Espectro infrarrojo. **a.** poli(BMA-co-EDMA) **b.** poli(BMA-co-EDMA) modificado con *C*-tetra(etil)calix[4]resorcinareno (**1A**) **c**. poli(BMA-co-EDMA) modificado con *C*-tetra (hexil)calix[4]resorcinareno (**1B**).



También se empleó la técnica SEM para observar posibles cambios en la estructura de los diferentes copolímeros **figura 3-8**. En esta se pueden observar diferentes tipos de aumentos: 500, 50 y 5 µm, las microscopías develan que los copolímeros son bastantes uniformes y porosos. Se observa que la formación de microglóbulos (producto de la nucleación al momento de la copolimerización) es similar a microscopías tomadas a otros materiales poliméricos por Merhar y colaboradores[118] . En adición, se observa el crecimiento de cada uno de los copolímeros preparados **figura 3-8 (a)** y **(b),** donde se observa que el más homogéneo es el polímero **(b).**

Figura 3-9. SEM en diferentes magnificaciones (**mag**) 5 µm, 50 µm y 500 µm **a.** poli(BMA-co-EDMA) **b.** poli(BMA-co-EDMA) modificado con *C*-tetra(etil)calix[4] resorcinareno (**1A**) **c**. poli(BMA-co-EDMA) modificado con *C*-tetra(hexil)calix[4] resorcinareno (**1B**).

Mag.	**(a)** Poli(BMA-co-EDMA)	**(b)** Poli(BMA-co-EDMA) + **1A**	**(c)** Poli(BMA-co-EDMA) + **1B**
5 µm			
50 µm			
500 µm			

Estos resultados son un logró importante en la modificación física de superficies poliméricas derivadas del BMA, ya que demuestran que es posible “anclar” fisicamente macrociclos de este tipo de resorcinareno de cadena alquilica corta y larga a monolitos derivados del butilmetacrilato.

3.4 Evaluaciones de variables de procesos de sorción (etapa 4)

Completadas las anteriores 3 etapas de la investigación se debe marcar unas variables claras y concisas para el análisis de la interacción y la cuantificación del copolímero modificado con los resorcinarenos **1A** y **1B** frente al analito L-carnitina (etapa 4), resaltando la importancia de establecer las condiciones óptimas del proceso, esto con el fin de evitar procedimientos engorrosos con relación en tiempo y costos para la última etapa que se realizó mediante LC-MS donde se debe de tener claro el tipo de disolvente, evitar desangrados en la columna, tiempo mínimo y máximo que se usó en la medición entre otros factores (descritos a profundidad en la **sección 2.5**), para esto se realiza por medio del análisis gravimétrico en "batch" que consiste en poner en contacto el sorbente con la solución del analito, pasa por un proceso de filtrado y se deja volatilizar hasta obtener una masa constante y se registra el sólido obtenido, para ello se evaluaron las siguientes condiciones de:

- Tiempo
- Disolvente
- Volumen de carga
- Concentración
- pH

Allí se toma como referencia la capacidad máxima calculada de adsorción de los dos resorcinarenos modificados tabulados en la columna **E** de la tabla **3-10,** se realiza la corrección base con el blanco y se calcula el porcentaje total de retención de cada variable:

$$\%R = \frac{mf - mi}{ms} X\ 100$$

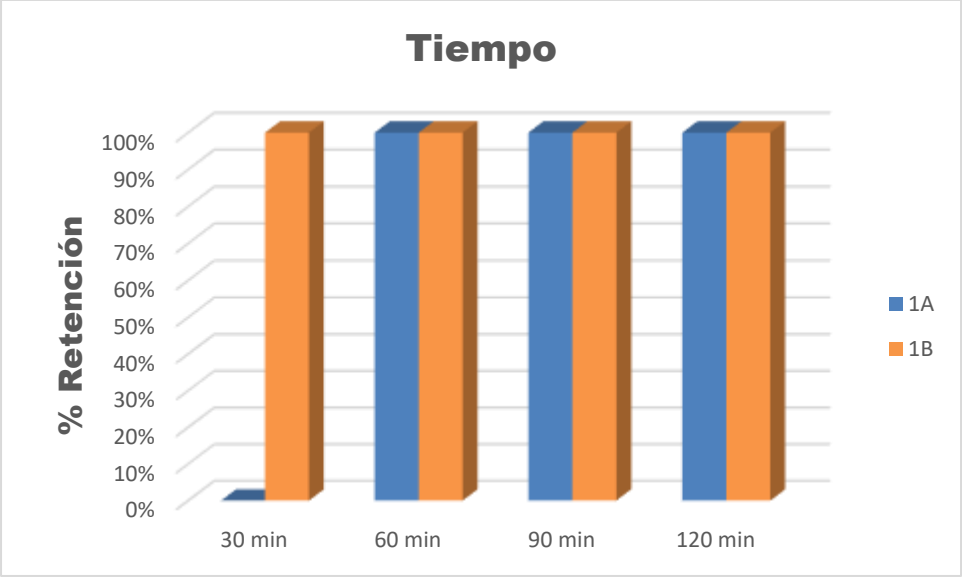
Donde:

%R = Porcentaje de retención
mf = masa final
mi = masa inicial
ms = masa sorbente

Usando la ecuación se puede establecer las mejores condiciones del proceso, obteniendo que:

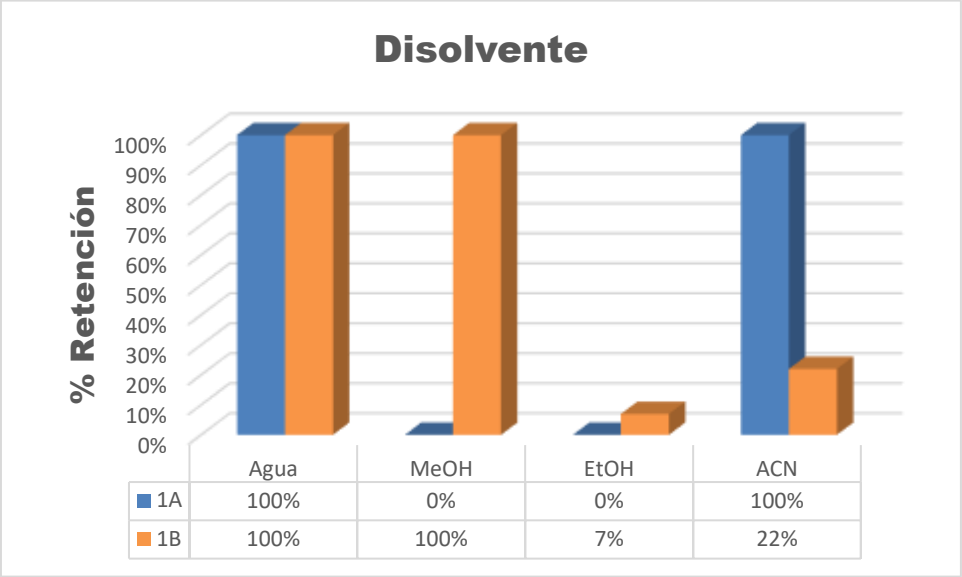
el primer parámetro que se evaluó fue del tiempo que es un factor importante a la hora de su evaluación y cuantificación cualquier tipo de interacción se postuló 4 tipos de variables con intervalos de 30 minutos que iban desde los 30 minutos a los 120 minutos, los resultados se muestran en la **figura 3-10**. En este primer parámetro de tiempo el mejor resultado fue de 60 minutos, en este tiempo se tuvo el porcentaje máximo de sorción para los dos tipos de resorcinarenos modificados es importante resaltar que los mejores resultados se basaron sobre los dos resorcinarenos en general.

Figura 3-10. Parámetro de tiempo para el análisis, interacción y cuantificación del polímero modificado con **1A** y polímero con 1B frente a L-carnitina.



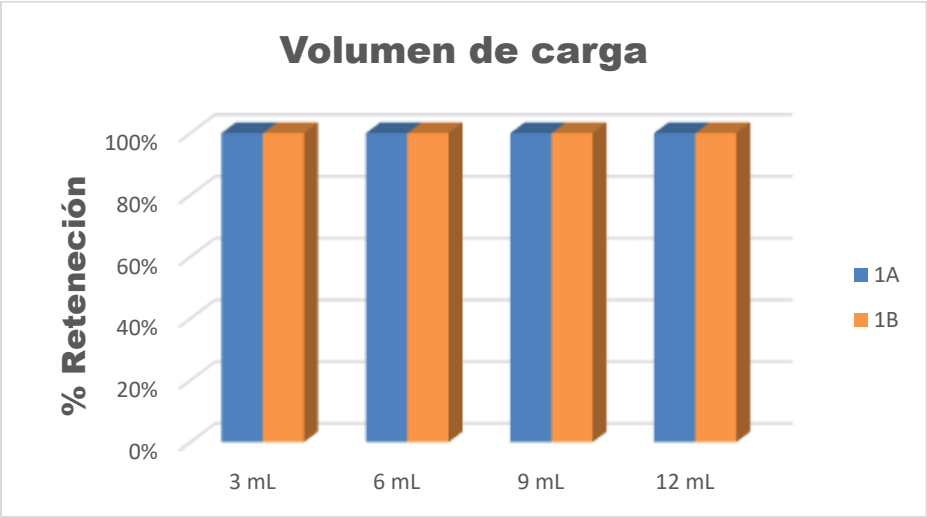
El segundo parámetro a evaluar es el solvente a emplear, este juega un papel importante en el trabajo ya que, debe ser un solvente que disuelva el analito y que no interactúe con el polímero modificado y que sea práctico al momento de emplear en la cromatografía. para ello se postularon solventes de polaridad similar entre ellos agua (H_2O), metanol (MeOH), etanol (EtOH) y acetonitrilo (ACN), los mejores resultados se muestran a continuación en la **figura 3-11.**

Figura 3-11. Parámetro de disolvente para el análisis, interacción y cuantificación del polímero modificado con **1A** y polímero con 1B frente a L-carnitina



los resultados lo tuvieron los solventes agua y acetonitrilo, aunque el acetonitrilo tuvo un buen porcentaje para el polímero modificado con 1A; el agua como disolvente en ambos casos para el polímero modificado con 1A y 1B da resultados más adecuados, por un lado eligiendo el agua como disolvente tenemos un mayor control de pH en el sistema, por otro lado una baja contaminación en el proceso. Para la tercera variable que es el volumen de carga, los resultados se muestran a continuación:

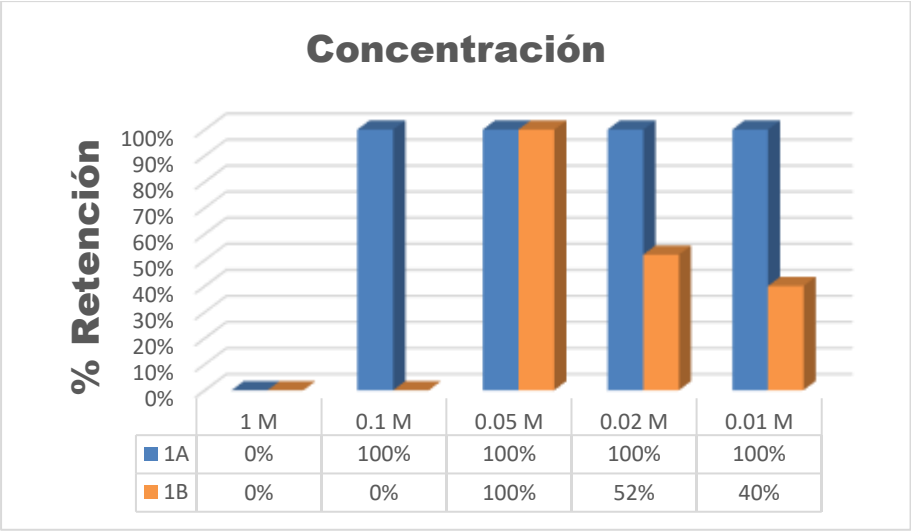
Figura 3-12. Parámetro de volumen de carga para el análisis, interacción y cuantificación del polímero modificado con **1A** y polímero con 1B frente a L-carnitina.



Los resultados anteriores demuestran que no importa que volumen de carga se emplee, los resultados desde 3 mL son óptimos para utilizar, lo que da una ventaja a la hora de emplear cualquier técnica experimental ya que se puede manejar una amplia gama de este parámetro. Para efectos prácticos se eligió el primer resultado de 3 mL para las siguientes evaluaciones.

Para la siguiente variable que es la de concentración se obtuvieron los siguientes resultados **figura 3-13**

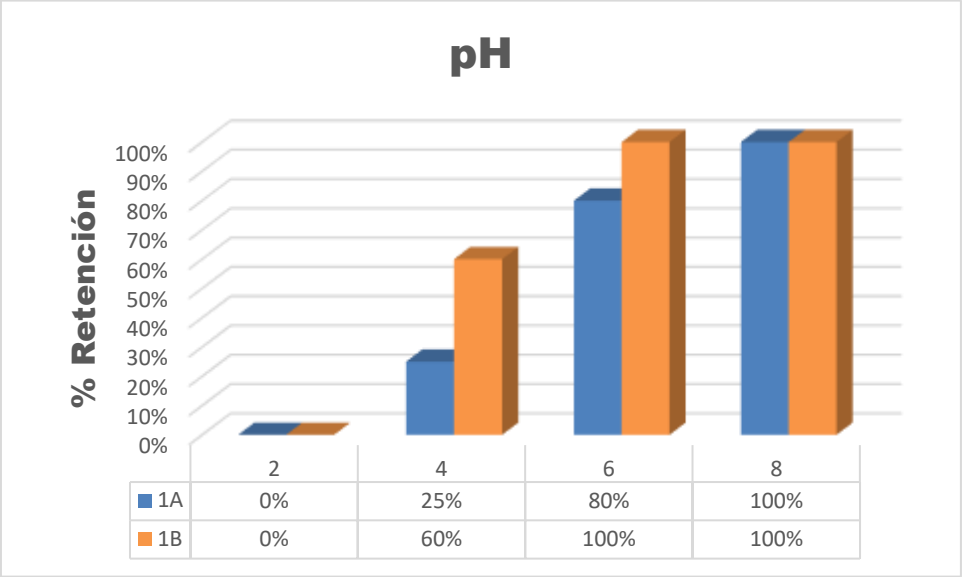
Figura 3-13. Parámetro de concentración para el análisis, interacción y cuantificación del polímero modificado con **1A** y polímero con 1B frente a L-carnitina



Para este parámetro de tanta importancia se adicionó un valor, en esta observó una tendencia que disminuye la concentración, sobretodo en el polímero modificado con el resorcinareno 1B, hallando su máximo valor de retención en una concentración de 0.05 M, de aquí ya existe un punto de inflexión en su % de retención, por lo que la concentración ideal para ambos casos es de 0.05 M.

Para la última variable que fue el pH los resultados fueron **figura 3-14**

Figura 3-14. Parámetro de pH para el análisis, interacción y cuantificación del polímero modificado con **1A** y polímero con 1B frente a L-carnitina.



El comportamiento de los copolímeros modificados con los resorcinarenos 1A y 1B resulto en un mejor porcentaje de retención a medida que se va alejando de un pH ácido y acercando más a un pH neutro los mejores resultados de retención se da entre un pH de 6 a 8 este comportamiento se podría dar por el comportamiento de la L-carnitina como zwitterión, ya que sus cadenas laterales con su grupo amino está protonado y permitiría generar más enlaces de hidrógeno con los oxígenos del macrociclo e interacciones con la cavidad del macrociclo.

Los mejores resultados que se obtuvieron después del análisis gravimétrico se tabulan a continuación en la **tabla 3-8.**

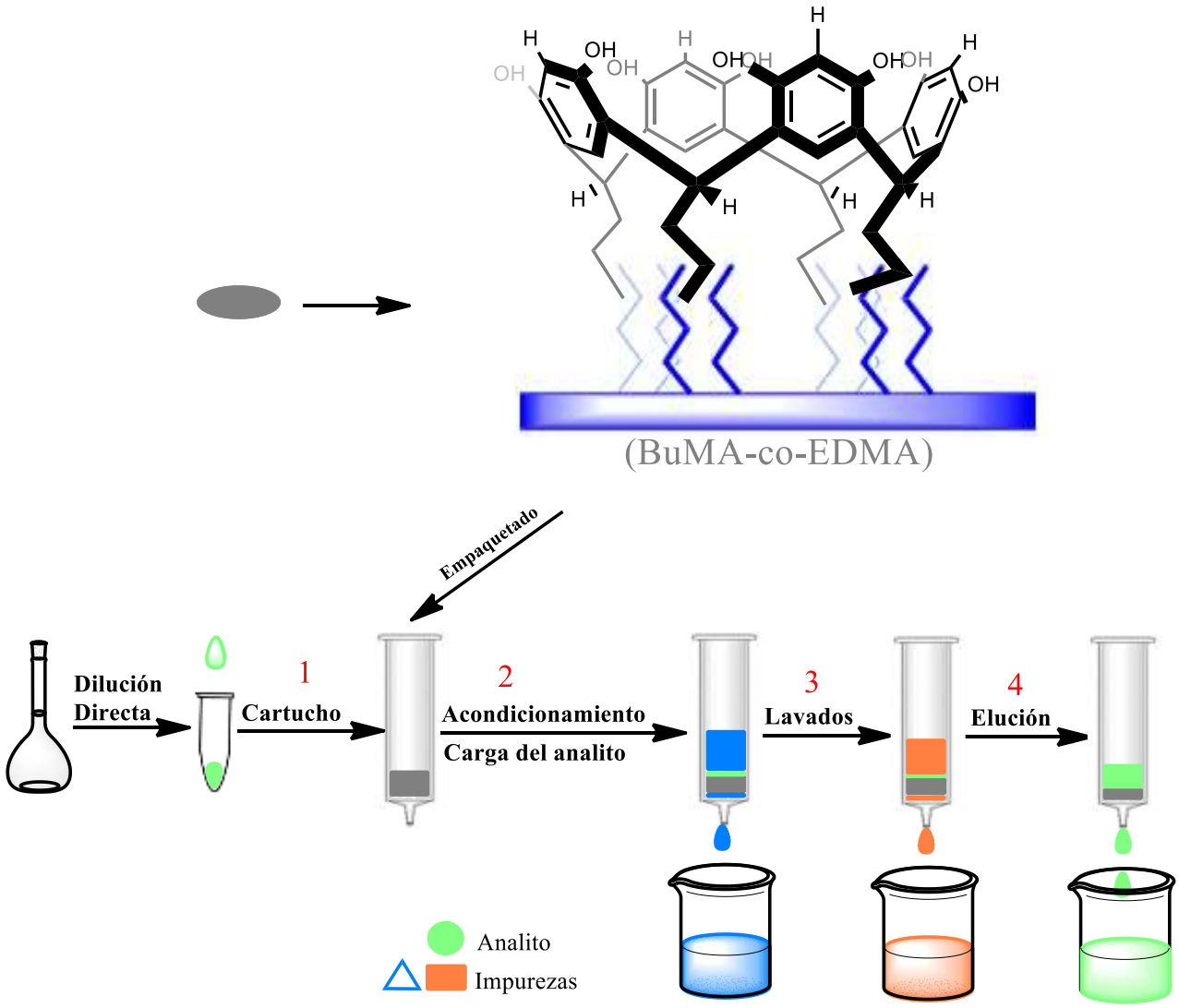
Tabla 3-8. Mejores resultados de tiempo, solvente, volumen de carga, concentración y pH para el análisis, interacción y cuantificación del polímero, polímero modificado con **1A** y polímero modificado con **1B** frente a L-carnitina **1C**.

Variables	Tiempo	Solvente	Volumen de carga	Concentración	pH
Compuesto	60 min	H_2O	3 mL	0.05 M	6-8
Polímero + **1A**					
Polímero + **1B**					

3.5 Cuantificación de la L-carnitina (etapa 5)

Después de establecer las mejores condiciones de adsorción establecidas en la **tabla 3-8** de L-carnitina se procedió hacer el proceso de sorción mediante extracción en fase sólida (**SPE**) **figura 3-15.**

Figura 3-15. Etapas de la extracción en fase sólida (SPE)



Este procedimiento inicia con la etapa 1, donde se alista un cartucho o columna de extracción y se carga con un tipo de material poroso es decir los sorbentes obtenidos de

la copolimerización. Este con el propósito de una retención selectiva en la fase sólida de los compuestos que interfieren en la solución de la muestra.

En la siguiente etapa de acondicionamiento consiste en poner disolventes en contacto con el sorbente con el fin de un mejor fijado del sorbente en el cartucho. Posterior a esto se añade el analito de interés (L-carnitina) a las condiciones establecidos en el parágrafo anterior, seguido a esto se da la etapa 3 denominada etapa de lavados que tiene como objetivo eliminar impurezas o componentes no deseados del analito que hayan sido retenidos en simultáneo mediante el arrastre por lavado. Finalmente, la última etapa, la etapa de elución donde se recoge nuestro analito de interés para su posterior cuantificación, allí se tomó 2 alícuotas por cartucho de concentraciones 0.6 mg/mL y 1.2 mg/mL para un total de 6 alícuotas. por otro lado, para el proceso de desorción se vuelven a cargar los tres cartuchos variando el pH a un valor de 2. Se tomaron 2 alícuotas por contenedor a las mismas concentraciones para su posterior lectura mediante LC Q-TOF MS. El mismo procedimiento mencionado anteriormente se lleva a cabo con el polímero modificado con el resorcinareno **1B**.

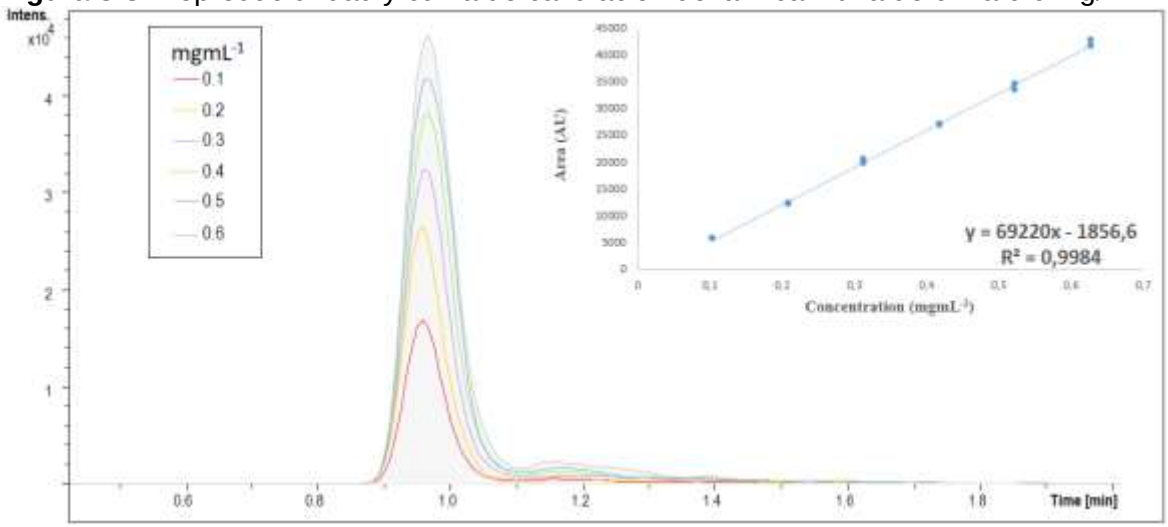
Los mejores resultados anteriormente mencionados se tabulan a continuación **Tabla 3-9.**

Tabla 3-9. Datos de adsorción del polímero, polímero modificado con **1A**, polímero modificado con **1B** frente a la L-carnitina de 0.1 a 0.6 mg/mL.

Compuesto	Concentración	Area	Compuesto	Concentración	Area	Compuesto	Concentración	Area
POL	0.6 mg/mL	3489,9	POL + 1A	0.6 mg/mL	3781,5	POL + 1B	0.6 mg/mL	3479,9
		3822,8			3751			4009,9
		4240,1			4541,8			3200,1
	1.2 mg/mL	8407,2		1.2 mg/mL	9482,5		1.2 mg/mL	7618,9
		8563,8			7248,3			7216
		6752,2			6340,5			8822,7

Posterior al proceso de extracción de fase sólida, se procede a la cuantificación de la misma, para ello primero se realizó una curva de calibración de seis puntos de 0.1 mg/mL a 0.6 mg/mL (**Anexo 14**) obteniendo como resultado una buena reproducibilidad y una buena linealidad (R^2 = 0,9984) la cual se muestra en la **figura 3-16**.

Figura 3-8. Reproducibilidad y curva de calibración de la L-carnitina de 0.1 a 0.6 mg/mL.



Partiendo de la linealidad que se obtuvo previamente, se eligen las mejores áreas de cada compuesto, POL **(8563.8),** POL + 1A **(6340,5)** y POL + 1B (**7216**), a partir de estos datos se calculó la concentración de los 3 compuestos partiendo de la ecuación de la recta, los datos obtenidos se tabulan en la siguiente **tabla 3-10.**

Tabla 3-10. Datos cuantificación de la preconcentración de L-carnitina con resorcinarenos modificados con una superficie polimérica.

Sorbente	**A** Área	**B** mmol/g	**C** Conc. (mg/ml)	**D** Carnitina absorbida	**E** Capacidad Máxima	**F** % Absorbido
Polímero	8563	---	0.1505	---	---	---
Polímero + **1A**	6340	0.2940	0.1184	1.290 mg	2.369 mg	54.45
Polímero + **1B**	7216	0.3335	0.1310	0.780 mg	2.686 mg	29.03

Teniendo en cuenta los resultados tabulados en la **tabla 3-10** se puede apreciar que él % de absorción para el sistema del polímero + **1A** es casi el doble en comparación con el sistema del polímero + **1B**. Este comportamiento se puede atribuir a la posible formación de complejos en el sistema **1B**, dadas por tipos de fuerzas intermoleculares no covalentes como pueden ser del tipo hidrofóbicas [119] que crecen al aumentar la cadena alquílica, impidiendo que la carnitina ingrese con facilidad a la cavidad del resorcinareno **1B.** por otro lado, la mejor interacción entre la L-carnitina y el sistema del resorcinareno del polímero + **1A** se deba a las posibles interacciones del tipo cation-π y del tipo π- π [52] dentro de la cavidad que existen del resorcinareno con la cara del tetrametilamonio del

analito. A pesar de que los dos resorcinarenos **1A** y **1B** presentan una interacción similar con la L-carnitina en solución los resultados muestran que la interacción en fase heterogénea es mayor entre el sorbente poli(BuMA-co-EDMA) modificado con el resorcinareno **1A.**

4. Conclusiones

1. Se sintetizaron con buenos rendimientos y conformaciones definidas dos calix[4]resorcinarenos de diferente longitud de cadena en su borde inferior: *C*-tetra(etil)calix[4]resorcinareno (**1A**) y *C*-tetra(hexil)calix[4]resorcinareno (**1B**), con rendimientos del 95% y 78% respectivamente, los cuales fueron caracterizados por diferentes técnicas instrumentales tales como: IR-ATR, RMN-^{1}H, RMN-^{13}C y espectrometría de masas, confirmando la conformación tipo *corona*.

2. Se sintetizó el copolímero poli(BMA-co-EDMA), comprobando su obtención mediante IR-ATR y SEM.

3. Los estudios de acomplejamiento entre los resorcinarenos **1A** y **1B** con la carnitina presentaron muy buenos resultados, resaltando el desplazamiento en las señales de la L-carnitina para los sistemas de los resorcinarenos mediante (RMN-^{1}H) y su respectivo acoplamiento (espectrometría de masas), demostrando la interacción host-guest de los sistemas.

4. Se logró la modificación de la superficie polimérica con resorcinarenos, obteniendo un 35% para el polímero modificado con **1A** y un 58% para el polímero modificado con **1B,** estos se caracterizaron vía IR-ATR y SEM.

5. Se evaluó la preconcentración de la L-carnitina mediante la técnica de extracción en fase sólida (SPE) y se cuantificó mediante cromatografía líquida acoplada a masas obteniendo un porcentaje de absorción del polímero modificado con **1A** de 54.45% y del 29.03% para el polímero modificado con **1B** respectivamente.

6. La extracción en fase sólida como método para la cuantificación de la L-carnitina con polímeros modificados físicamente con resorcinarenos, presenta una mayor eficiencia, rapidez y selectividad con resorcinarenos de cadenas alquílicas cortas.

5. Recomendaciones

- ✓ Realizar una búsqueda de procedimientos para optimizar el porcentaje de rendimiento de adsorción de la L-carnitina de los polímeros modificados físicamente con los resorcinarenos 1A y 1B.
- ✓ Realizar una serie de síntesis donde se prueben solventes de distinto rango de polaridad para mejorar el rendimiento de los resorcinarenos modificados físicamente
- ✓ Experimentar y expandir los parámetros de tiempo, solvente, volumen de carga, concentración y pH en pro de una mejor concentración de L-carnitina.

6. Productos académicos

6.1. Congreso

1. XVIII Congreso Colombiano de Química

Popayán, Colombia, 6 – 8 noviembre 2019

Estudio de la reacción de nitración del *C*-tetra(etil)calix[4]resorcinareno.

Gabriel Andrés Ramírez Perdomo, Mauricio Maldonado Villamil.

6.2. Artículo (Revisión Actualmente)

1. Sometido: Evaluation of a Resorcinarene-based adsorbents as a solid-phase extraction material for the enrichment of L-carnitine.

7. Bibliografía

1. Pitt, M. A. & Johnson, D. W. Main group supramolecular chemistry. *Chem. Soc. Rev.* **36**, 1441–1453 (2007).

2. Izatt, R. M. Charles J. Pedersen's legacy to chemistry. *Chem. Soc. Rev.* **46**, 2380–2384 (2017).

3. Agrawal, Y. K. & Patadia, R. N. Studies on resorcinarenes and their analytical applications. *Rev. Anal. Chem.* **25**, 155–239 (2006).

4. Morand, R., Donzelli, M., Haschke, M. & Krähenbühl, S. Quantification of plasma carnitine and acylcarnitines by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry using online solid-phase extraction. *Anal. Bioanal. Chem.* **405**, 8829–8836 (2013).

5. Johnson, D. W. An acid hydrolysis method for quantification of plasma free and total carnitine by flow injection tandem mass spectrometry. *Clin. Biochem.* **43**, 1362–1367 (2010).

6. Zhang, Z. *et al.* Electrochemical enzyme biosensor for carnitine detection based on cathodic stripping voltammetry. *Sensors Actuators, B Chem.* **321**, 128473 (2020).

7. Wang, M. *et al.* A simple and precise method for measurement of serum free carnitine and acylcarnitines by isotope dilution HILIC-ESI-MS/MS. *Int. J. Mass Spectrom.* **446**, 116208 (2019).

8. Seline, K. G. & Johein, H. The determination of l-carnitine in several food samples. *Food Chem.* **105**, 793–804 (2007).

9. Lu, W. H. *et al.* Using matrix-induced ion suppression combined with LC-MS/MS for quantification of trimethylamine-N-oxide, choline, carnitine and acetylcarnitine in dried blood spot samples. *Anal. Chim. Acta* **1149**, 338214 (2021).

10. Rudolph, W., Remane, D., Wissenbach, D. K. & Peters, F. T. Liquid chromatography-mass spectrometry-based determination of ergocristine, ergocryptine, ergotamine, ergovaline, hypoglycin A, lolitrem B, methylene cyclopropyl acetic acid carnitine, N-acetylloline, N-formylloline, paxilline, and peramine in equine hai. *J. Chromatogr. B Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* **1117**, 127–135 (2019).

11. Minkler, P. E., Stoll, M. S. K., Ingalls, S. T., Kerner, J. & Hoppel, C. L. Validated Method for the Quantification of Free and Total Carnitine, Butyrobetaine, and Acylcarnitines in Biological Samples. *Anal. Chem.* **87**, 8994–9001 (2015).

12. Ahn, J. H., Kwak, B. M., Park, J. M., Kim, N. K. & Kim, J. M. Rapid determination of L-carnitine in infant and toddler formulas by liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Korean J. Food Sci. Anim. Resour.* **34**, 749–756 (2014).

13. Prokorátová, V., Kvasnička, F., Ševčík, R. & Voldřich, M. Capillary electrophoresis determination of carnitine in food supplements. *J. Chromatogr. A* **1081**, 60–64 (2005).

14. Tan, X. *et al.* Novel competitive fluorescence sensing platform for l-carnitine based on cationic pillar[5]arene modified gold nanoparticles. *Sensors (Switzerland)* **18**, (2018).

15. Chen, Y. C., Tsai, C. J. & Feng, C. H. Fluorescent derivatization combined with aqueous solvent-based dispersive liquid-liquid microextraction for determination of butyrobetaine, L-carnitine and acetyl-L-carnitine in human plasma. *J. Chromatogr. A* **1464**, 32–41 (2016).

16. Manjón, A., Obón, J. M. & Iborra, J. L. Determination of L-carnitine by flow injection analysis with NADH fluorescence detection. *Anal. Biochem.* **281**, 176–181 (2000).

17. He, Q., Vargas-Zúñiga, G. I., Kim, S. H., Kim, S. K. & Sessler, J. L. Macrocycles as Ion Pair Receptors. *Chem. Rev.* **119**, 9753–9835 (2019).

18. Ruiz-Botella, S., Vidossich, P., Ujaque, G., Vicent, C. & Peris, E. A Tetraferrocenyl-Resorcinarene Cavitand as a Redox-Switchable Host of Ammonium Salts. *Chem. - A Eur. J.* **21**, 10558–10565 (2015).

19. Taylor, P. J. Matrix effects: The Achilles heel of quantitative high-performance liquid chromatography-electrospray-tandem mass spectrometry. *Clin. Biochem.* **38**, 328–334 (2005).

20. Huang, Z. *et al.* Determination of inorganic pharmaceutical counterions using hydrophilic interaction chromatography coupled with a Corona® CAD detector. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **50**, 809–814 (2009).

21. Johnson, W. M., Kido Soule, M. C. & Kujawinski, E. B. Extraction efficiency and quantification of dissolved metabolites in targeted marine metabolomics. *Limnol. Oceanogr. Methods* **15**, 417–428 (2017).

22. Lee, M. *et al.* Selective solid-phase extraction of catecholamines by the chemically modified polymeric adsorbents with crown ether. *J. Chromatogr. A* **1160**, 340–344 (2007).

23. Chen, L. Q. *et al.* High-throughput and selective solid-phase extraction of urinary catecholamines by crown ether-modified resin composite fiber. *J. Chromatogr. A* **1561**, 48–55 (2018).

24. Castillo-Aguirre, A. & Maldonado, M. Preparation of methacrylate-based polymers modified with chiral resorcinarenes and their evaluation as sorbents in norepinephrine microextraction. *Polymers (Basel).* **11**, 1–21 (2019).

25. Velásquez-Silva, B. A., Castillo-Aguirre, A., Rivera-Monroy, Z. J. & Maldonado, M. Aminomethylated calix[4]resorcinarenes as modifying agents for glycidyl methacrylate (GMA) rigid copolymers surface. *Polymers (Basel).* **11**, (2019).

26. Baeyer, A. Ueber die Verbindungen der Aldehyde mit den Phenolen und aromatischen Kohlenwasserstoffen. *Berichte der Dtsch. Chem. Gesellschaft* **5**, 1094–1100 (1872).

27. Niederl, J. & Vogel, H. Aldeyde-Resorcinol Condensations. *J. Am. Chem. Soc.* **62**, 2512 (1940).

28. Holger Erdtman and Sverker Hogberg. *Tetrahedron Lett.* 1679–1682 (1968).

29. Jain, V. K. & Kanaiya, P. H. Chemistry of calix[4]resorcinarenes. *Russ. Chem. Rev.* **80**, 75–102 (2011).

30. In, R., Recognition, M. & Devices, S. and Supramolecular Devices. 67–94 (1999).

31. *Calixarenes: a versa tile class of macrocyclic compounds*.

32. Verboom, W., Durie, A., Egberink, R. J. M., Asfari, Z. & Reinhoudt, D. N. Ipso Nitration of p-tert-Butylcalix[4]arenes. *J. Org. Chem.* **57**, 1313–1316 (1992).

33. Cram, D. J. The Design of Molecular Hosts, Guests, and Their Complexes (Nobel Lecture). *Angew. Chemie Int. Ed. English* **27**, 1009–1020 (1988).

34. Schneider, U. & Schneider, H. -J. Synthese und Eigenschaften von Makrocyclen aus Resorcinen sowie von entsprechenden Derivaten und Wirt-Gast-Komplexen. *Chem. Ber.* **127**, 2455–2469 (1994).

35. Pfeiffer, C. R., Feaster, K. A., Dalgarno, S. J. & Atwood, J. L. Syntheses and characterization of aryl-substituted pyrogallol[4]arenes and resorcin[4]arenes. *CrystEngComm* **18**, 222–229 (2015).

36. de Namor, A. F. D. *et al.* Thermodynamic and electrochemical aspects of the interactions of functionalised calix(4)arenes and metal cations in ‘allosteric media’”. *Pure Appl. Chem.* **66**, 435–440 (1994).

37. Iwanek, W. The synthesis of octamethoxyresorc[4]arenes catalysed by Lewis acids. *Tetrahedron* **54**, 14089–14094 (1998).

38. McIldowie, M. J., Mocerino, M., Skelton, B. W. & White, A. H. Facile Lewis Acid Catalyzed Synthesis of C4 Symmetric Resorcinarenes. *Org. Lett.* **2**, 3869–3871 (2000).

39. Yamakawa, Y., Ueda, M., Nagahata, R., Takeuchi, K. & Asai, M. Rapid synthesis of dendrimers based on calix[4]resorcinarenes. *J. Chem. Soc. - Perkin Trans. 1* 4135–4139 (1998). doi:10.1039/a806475j

40. 40. Kijima, T.; Kato, Y.; Ohe, K.; et al. Bull. Chem. Soc. Jpn. 1994.pdf.

41. Lewis, P. T. *et al.* Tetraarylboronic Acid Resorcinarene Stereoisomers. Versatile New Substrates for Divergent Polyfunctionalization and Molecular Recognition. *J. Org. Chem.* **62**, 6110–6111 (1997).

42. Beer, P. D. Meldola Medal Lecture. Redox responsive macrocyclic receptor

molecules containing transition metal redox centres. *Chem. Soc. Rev.* **18**, 409–450 (1989).

43. Curtis, A. D. M. Novel Calix[4]resorcinarene glycosides. *Tetrahedron Lett.* **38**, 4295–4296 (1997).

44. Aoyama, Y., Tanaka, Y. & Sugahara, S. Molecular Recognition. 5. Molecular Recognition. **68**, 5397–5404 (1989).

45. Gibb, B. C., Chapman, R. G., Sherman, J. C. & Soc, D. J. J. A. C. Synthesis of Hydroxyl-Footed Cavitands their rigidity , enforced cavities , and synthetic viability . Thus , the incorporation of new functionalities into the pendant groups of these compounds would expand their versatility toward future applications . Fo. *Reactions* 1505–1509 (1996).

46. Kobayashi, K., Asakawa, Y., Kato, Y. & Aoyama, Y. Complexation of Hydrophobic Sugars and Nucleosides in Water with Tetrasulfonate Derivatives of Resorcinol Cyclic Tetramer Having a Polyhydroxy Aromatic Cavity: Importance of Guest–Host CH–π Interaction. *J. Am. Chem. Soc.* **114**, 10307–10313 (1992).

47. Scott, M. P. & Sherburn, M. S. *Resorcinarenes and Pyrogallolarenes*. *Comprehensive Supramolecular Chemistry II* **1**, (Elsevier, 2017).

48. Tunstad, L. M. *et al.* Host-Guest Complexation. 48. Octol Building Blocks for Cavitands and Carcerands. *J. Org. Chem.* **54**, 1305–1312 (1989).

49. Morikawa, O., Ueno, R., Nakajima, K., Kobayashi, K. & Konishi, H. Trifluoromethanesulfonic acid-catalyzed synthesis of resorcinarenes: Cyclocondensation of 2-bromoresorcinol with aldehydes. *Synthesis (Stuttg).* 761–765 (2002). doi:10.1055/s-2002-25765

50. Beyeh, N. K. & Rissanen, K. Tetranitroresorcin[4]arene: synthesis and structure of a new stereoisomer. *Tetrahedron Lett.* **50**, 7369–7373 (2009).

51. Bourgeois, J. M. & Stoeckli-Evans, H. Synthesis of new resorcinarenes under alkaline conditions. *Helv. Chim. Acta* **88**, 2722–2730 (2005).

52. Vicens, J. & Vicens, Q. Origins and emergences of supramolecular chemistry. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* **65**, 221–235 (2009).

53. Weinelt, F. & Schneider, H. J. Mechanisms of Macrocycle Genesis. The Condensation of Resorcinol with Aldehydes. *J. Org. Chem.* **56**, 5527–5535 (1991).

54. Sverker Hógberg, A. G. Stereoselective Synthesis and DNMR Study of Two 1,8,15,22-T etraphenyl [I4]metacyclophan-3,5,10,12,17,19,24,26-octolss. *J. Am. Chem. Soc.* **102**, 6046–6050 (1980).

55. Ma, B. Q. & Coppens, P. A novel scoop-shaped conformation of C-methylcalix[4]resorcinarene in a bilayer structure. *Chem. Commun.* **2**, 424–425 (2002).

56. Abis, L., Dalcanale, E., Du vosel, A. & Sperala, S. Structurally New Macrocycles from the Resorcinol-Aldehyde Condensation. Configurational and Conformational Analyses by Means of Dynamic NMR, NOE, and T1 Experiments. *J. Org. Chem.* **53**, 5475–5479 (1988).

57. Timmerman W.; Reinhoudt, D. N. P. . V., Timmerman W.; Reinhoudt, D. N. P. . V. & Timmerman W.; Reinhoudt, D. N. P. . V. Resorcinarenes. *Tetrahedron* **52**, 2663–2704 (1996).

58. Sanabria, E., Esteso, M. A., Pérez-Redondo, A., Vargas, E. & Maldonado, M. Synthesis and characterization of two sulfonated resorcinarenes: A new example of a linear array of sodium centers and macrocycles. *Molecules* **20**, 9915–9928 (2015).

59. Velásquez-Silva, A., Cortés, B., Rivera-Monroy, Z. J., Pérez-Redondo, A. & Maldonado, M. Crystal structure and dynamic NMR studies of octaacetyl-tetra(propyl)calix[4]resorcinarene. *J. Mol. Struct.* **1137**, 380–386 (2017).

60. Castillo-Aguirre, A., Esteso, M. A. & Maldonado, M. Resorcin[4]arenes: Generalities and Their Role in the Modification and Detection of Amino Acids. *Curr. Org. Chem.* **24**, 2412–2425 (2020).

61. Fabbri, P. & Messori, M. *Surface Modification of Polymers: Chemical, Physical, and Biological Routes*. *Modification of Polymer Properties* (Elsevier Inc., 2017). doi:10.1016/B978-0-323-44353-1.00005-1

62. Fader, R. *et al.* Novel organic polymer for UV-enhanced substrate conformal imprint lithography. *Microelectron. Eng.* **98**, 238–241 (2012).

63. Maldonado, M., Sanabria, E., Batanero, B. & Esteso, M. Á. Apparent molal volume and viscosity values for a new synthesized diazoted resorcin[4]arene in DMSO at several temperatures. *J. Mol. Liq.* **231**, 142–148 (2017).

64. Sokoließ, T., Menyes, U., Roth, U. & Jira, T. Separation of cis- and trans-isomers of thioxanthene and dibenz[b,e]oxepin derivatives on calixarene- and resorcinarene-bonded high-performance liquid chromatography stationary phases. *J. Chromatogr. A* **948**, 309–319 (2002).

65. Ruderisch, A. *et al.* Synthesis and characterization of a novel resorcinarene-based stationary phase bearing polar headgroups for use in reversed-phase high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. A* **1095**, 40–49 (2005).

66. Aghazadeh-Habashi, A., Asghar, W. & Jamali, F. Simultaneous determination of selected eicosanoids by reversed-phase HPLC method using fluorescence detection and application to rat and human plasma, and rat heart and kidney samples. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **110**, 12–19 (2015).

67. Synthesis, A. 3 , 3 0 -Diaryl-BINOL Phosphoric Acids as Enantioselective Extractants of Benzylic Primary Amines. **43**, 34–43 (2011).

68. Lipkowski, J. *et al.* Host-guest interactions of calix[4]resorcinarenes with benzene

derivatives in conditions of reversed-phase high-performance liquid chromatography. Determination of stability constants. *J. Phys. Org. Chem.* **11**, 426–437 (1998).

69. Zhang, H. *et al.* Resorcarene derivative used as a new stationary phase for capillary gas chromatography. *J. Chromatogr. A* **787**, 161–169 (1997).

70. Bachmann, K. *et al.* Resorcarenes as Pseudostationary Phases with Selectivity for Electrokinetic Chromatography. *Anal. Chem.* **67**, 1722–1726 (1995).

71. Bazzanella, A. *et al.* Highly efficient separation of amines by electrokinetic chromatography using resorcarene-octacarboxylic acids as pseudostationary phases. *J. Chromatogr. A* **792**, 143–149 (1997).

72. Bazzanella, A., Bächmann, K., Milbradt, R., Böhmer, V. & Vogt, W. Discontinuous electrokinetic chromatography of parabens using different substituted resonances as pseudostationary phases. *Electrophoresis* **20**, 92–99 (1999).

73. Li, N., Harrison, R. G. & Lamb, J. D. Application of resorcinarene derivatives in chemical separations. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* **78**, 39–60 (2014).

74. Zwir-Ferenc, A. & Biziuk, M. Solid phase extraction technique - Trends, opportunities and applications. *Polish J. Environ. Stud.* **15**, 677–690 (2006).

75. Puttreddy, R. *et al.* Host–guest complexes of conformationally flexible C -hexyl-2-bromoresorcinarene and aromatic N -oxides: solid-state, solution and computational studies . *Beilstein J. Org. Chem.* **14**, 1723–1733 (2018).

76. Ballester, P. & Biros, S. M. CH-π and π-π Interactions as Contributors to the Guest Binding in Reversible Inclusion and Encapsulation Complexes. *Importance Pi-Interactions Cryst. Eng. Front. Cryst. Eng.* 79–107 (2012). doi:10.1002/9781119945888.ch3

77. Kazakova, E. K. *et al.* The complexation properties of the water-soluble tetrasulfonatomethylcalix[4]resorcinarene toward α-aminoacids. *J. Incl. Phenom.* **43**, 65–69 (2002).

78. Zeisel, S. H. A conceptual framework for studying and investing in precision nutrition. *Front. Genet.* **10**, 1–11 (2019).

79. Wang, X. F., Zhou, Y., Xu, J. J. & Chen, H. Y. Signal-on electrochemiluminescence biosensors based on CdS-carbon nanotube nanocomposite for the sensitive detection of choline and acetylcholine. *Adv. Funct. Mater.* **19**, 1444–1450 (2009).

80. Zhu, B. *et al.* A highly selective ratiometric visual and red-emitting fluorescent dual-channel probe for imaging fluoride anions in living cells. *Biosens. Bioelectron.* **52**, 298–303 (2014).

81. Pereira, N. M. *et al.* Electrodeposition of Co and Co composites with carbon nanotubes using choline chloride-based ionic liquids. *Surf. Coatings Technol.* **324**, 451–462 (2017).

82. Askarpour, M. *et al. Beneficial effects of L-carnitine supplementation for weight management in overweight and obese adults: An updated systematic review and dose-response meta-analysis of randomized controlled trials*. *Pharmacological Research* **151**, (Elsevier Ltd, 2020).

83. Jones, L. L., McDonald, D. A. & Borum, P. R. Acylcarnitines: Role in brain. *Prog. Lipid Res.* **49**, 61–75 (2010).

84. Ribas, G. S., Vargas, C. R. & Wajner, M. L-carnitine supplementation as a potential antioxidant therapy for inherited neurometabolic disorders. *Gene* **533**, 469–476 (2014).

85. Alves, E. *et al.* Acetyl-l-carnitine provides effective in vivo neuroprotection over 3,4-methylenedioximethamphetamine-induced mitochondrial neurotoxicity in the adolescent rat brain. *Neuroscience* **158**, 514–523 (2009).

86. Calabrese, V., Stella, A. M. G., Calvani, M. & Butterfield, D. A. Acetylcarnitine and cellular stress response: Roles in nutritional redox homeostasis and regulation of longevity genes. *J. Nutr. Biochem.* **17**, 73–88 (2006).

87. Cahova, M. *et al.* Carnitine supplementation alleviates lipid metabolism derangements and protects against oxidative stress in non-obese hereditary hypertriglyceridemic rats. *Appl. Physiol. Nutr. Metab.* **40**, 280–291 (2015).

88. Benjamin Chun-Kit Tong. 乳鼠心肌提取 HHS Public Access. *Physiol. Behav.* **176**, 139–148 (2017).

89. Suchy, J., Chan, A. & Shea, T. B. Dietary supplementation with a combination of α-lipoic acid, acetyl-l-carnitine, glycerophosphocoline, docosahexaenoic acid, and phosphatidylserine reduces oxidative damage to murine brain and improves cognitive performance. *Nutr. Res.* **29**, 70–74 (2009).

90. Scafidi, S., Racz, J., Hazelton, J., McKenna, M. C. & Fiskum, G. Neuroprotection by acetyl-L-carnitine after traumatic injury to the immature rat brain. *Dev. Neurosci.* **32**, 480–487 (2011).

91. Zhang, R. *et al.* Neuroprotective effects of pre-treament with L-carnitine and Acetyl-L-carnitine on ischemic injury in vivo and in vitro. *Int. J. Mol. Sci.* **13**, 2078–2090 (2012).

92. Patel, S. P., Sullivan, P. G., Lyttle, T. S., Magnuson, D. S. K. & Rabchevsky, A. G. Acetyl-l-carnitine treatment following spinal cord injury improves mitochondrial function correlated with remarkable tissue sparing and functional recovery. *Neuroscience* **210**, 296–307 (2012).

93. Kocsis, K. *et al.* Acetyl-L-carnitine and oxaloacetate in post-treatment against LTP impairment in a rat ischemia model. An in vitro electrophysiological study. *J. Neural Transm.* **122**, 867–872 (2015).

94. Hota, K. B., Hota, S. K., Chaurasia, O. P. & Singh, S. B. Acetyl-L-carnitine-mediated neuroprotection during hypoxia is attributed to ERK1/2-Nrf2-regulated

mitochondrial biosynthesis. *Hippocampus* **22**, 723–736 (2012).

95. Barhwal, K., Hota, S. K., Prasad, D., Singh, S. B. & Ilavazhagan, G. Hypoxia-induced deactivation of NGF-mediated ERK1/2 signaling in hippocampal cells: Neuroprotection by acetyl-L-carnitine. *J. Neurosci. Res.* **86**, 2705–2721 (2008).

96. 102. Ishii, T.; Shimpo, Y.; Matsuoka, Y.; Kinoshit, K. 2000.pdf.

97. Wainwright, M. S., Mannix, M. K., Brown, J. & Stumpf, D. A. L-Carnitine Reduces Brain Injury after Hypoxia-Ischemia in Newborn Rats. *Pediatr. Res.* **54**, 688–695 (2003).

98. Wainwright, M. S., Kohli, R., Whitington, P. F. & Chace, D. H. Carnitine treatment inhibits increases in cerebral carnitine esters and glutamate detected by mass spectrometry after hypoxia-ischemia in newborn rats. *Stroke* **37**, 524–530 (2006).

99. Roe, C. R. *et al.* Metabolic response to carnitine in methylmalonic aciduria. *Arch. Dis. Child.* **58**, 916–920 (1983).

100. Vieira Neto, E. *et al.* Analysis of acylcarnitine profiles in umbilical cord blood and during the early neonatal period by electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Brazilian J. Med. Biol. Res.* **45**, 546–556 (2012).

101. Schmidt-Sommerfeld, E. *et al.* Quantitation of urinary carnitine esters in a patient with medium-chain acyl-coenzyme A dehydrogenase deficiency: Effect of metabolic state and l-carnitine therapy. *J. Pediatr.* **115**, 577–582 (1989).

102. Rashed, M. S., Ozand, P. T., Bucknall, M. P. & Little, D. Diagnosis of inborn errors of metabolism from blood spots by acylcarnitines and amino acids profiling using automated electrospray tandem mass spectrometry. *Pediatr. Res.* **38**, 324–331 (1995).

103. Ribas, G. S. *et al.* Reduction of lipid and protein damage in patients with disorders of propionate metabolism under treatment: a possible protective role of l-carnitine supplementation. *Int. J. Dev. Neurosci.* **28**, 127–132 (2010).

104. Al-Sharefi, A. & Bilous, R. Reversible weakness and encephalopathy while on long-term valproate treatment due to carnitine deficiency. *BMJ Case Rep.* **2015**, 1–3 (2015).

105. Kim, H. *et al.* Acquired encephalopathy associated with carnitine deficiency after cefditoren pivoxil administration. *Neurol. Sci.* **33**, 1393–1396 (2012).

106. Luis Casas-Hinestroza, J. & Maldonado, M. Conformational Aspects of the O-acetylation of C-tetra(phenyl)calixpyrogallol[4]arene. *Molecules* **23**, (2018).

107. Franco, L. S., Salamanca, Y. P., Maldonado, M. & Vargas, E. F. Lina S. Franco, † Yina P. Salamanca, †,‡ Mauricio Maldonado, ‡ and Edgar F. Vargas* ,†. 1042–1044 (2010).

108. Plachkova-Petrova, D., Petrova, P., Miloshev, S. & Novakov, C. Optimization of

reaction conditions for synthesis C-tetramethylcalix[4] resorcinarene. *Bulg. Chem. Commun.* **44**, 208–215 (2012).

109. Morikawa, O. *et al.* Host-guest complexation behavior of resorcinarenes with tetraalkylammonium ions and N-methylpyridinium ions in methanol: The effect of bulky hydrophobic substituents at the extra-annular positions. *Phosphorus, Sulfur Silicon Relat. Elem.* **181**, 2877–2886 (2006).

110. J.-M. Lehn. Supramolecular Chemistry-Scope and Perspectives Molecules, Supermolecules, and Molecular Devices (Nobel Lecture). *Angew. Chemie Int. Ed. English* **27**, 89–112 (1988).

111. Lehn, J. -M. Supramolecular chemistry — Molecular information and the design of supramolecular materials. *Makromol. Chemie. Macromol. Symp.* **69**, 1–17 (1993).

112. Pastor, A. & Martínez-Viviente, E. NMR spectroscopy in coordination supramolecular chemistry: A unique and powerful methodology. *Coord. Chem. Rev.* **252**, 2314–2345 (2008).

113. Ongkudon, C. M., Kansil, T. & Wong, C. Challenges and strategies in the preparation of large-volume polymer-based monolithic chromatography adsorbents. *J. Sep. Sci.* **37**, 455–464 (2014).

114. Eeltink, S. & Svec, F. Recent advances in the control of morphology and surface chemistry of porous polymer-based monolithic stationary phases and their application in CEC. *Electrophoresis* **28**, 137–147 (2007).

115. Horák, D. *et al.* The effect of polymeric porogen on the properties of macroporous poly(glycidyl methacrylate-co-ethylene dimethacrylate). *Polymer (Guildf).* **34**, 3481–3489 (1993).

116. Mustafina, A. R., Elistratova, Y. G., Syakaev, V. V., Amirov, R. R. & Konovalova, A. I. Receptor properties of calix[4]resorcinarenes toward tetramethylammonium and choline cations in micellar solutions of sodium dodecyl sulfate. *Russ. Chem. Bull.* **55**, 1419–1424 (2006).

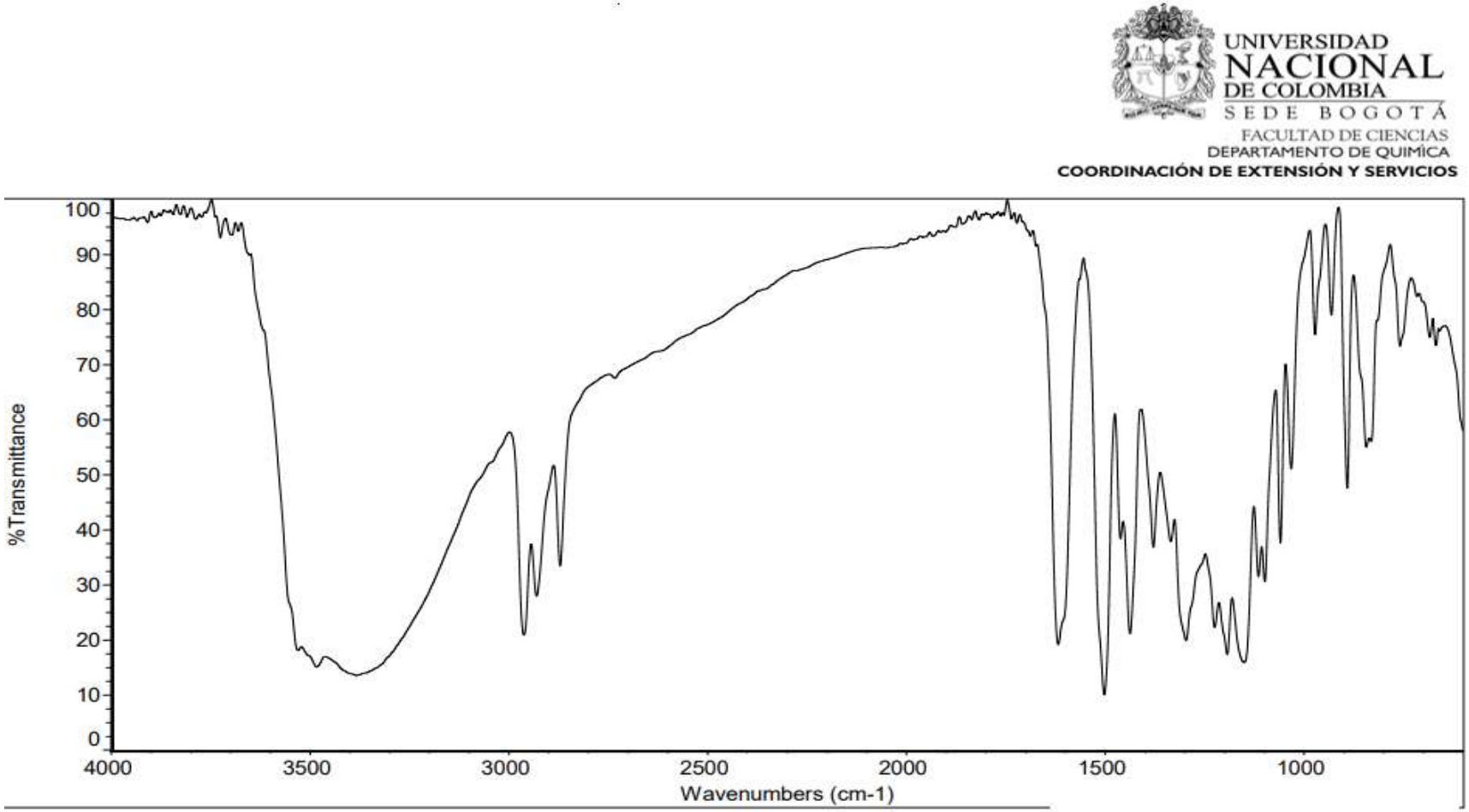
117. Paquin, F., Rivnay, J., Salleo, A., Stingelin, N. & Silva, C. Multi-phase semicrystalline microstructures drive exciton dissociation in neat plastic semiconductors. *J. Mater. Chem. C* **3**, 10715–10722 (2015).

118. Merhar, M., Podgornik, A., Barut, M., Žigon, M. & Štrancar, A. Methacrylate monoliths prepared from various hydrophobic and hydrophilic monomers - Structural and chromatographic characteristics. *J. Sep. Sci.* **26**, 322–330 (2003).

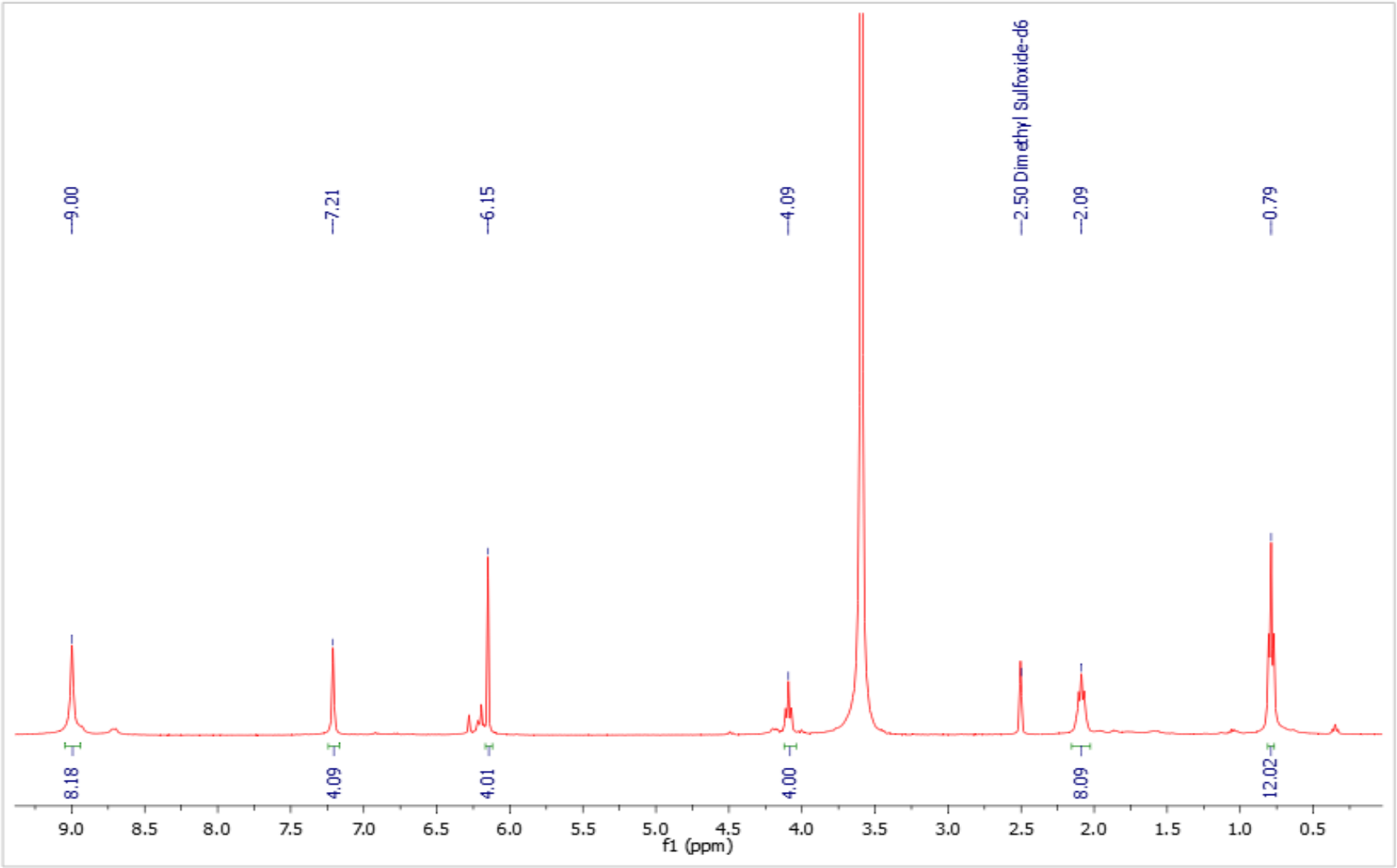
119. Ermakova, A. M. *et al.* Nanoconjugates of a calixresorcinarene derivative with methoxy poly(ethylene glycol) fragments for drug encapsulation. *Beilstein J. Nanotechnol.* **9**, 2057–2070 (2018).

8. Anexos

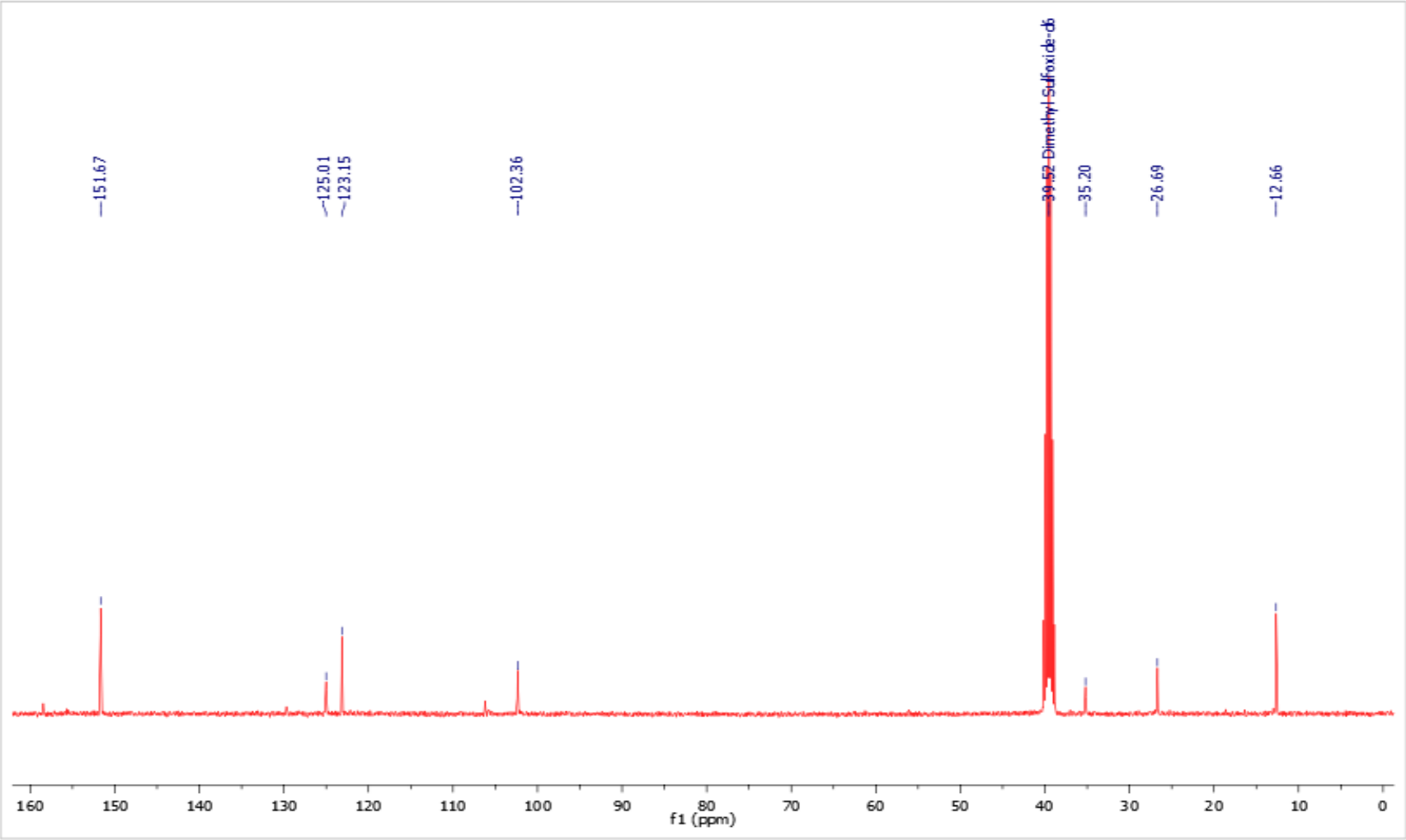
Anexo 1. Espectro IR (**1A**) *C*-tetra(etil)calix[4]resorcinareno.



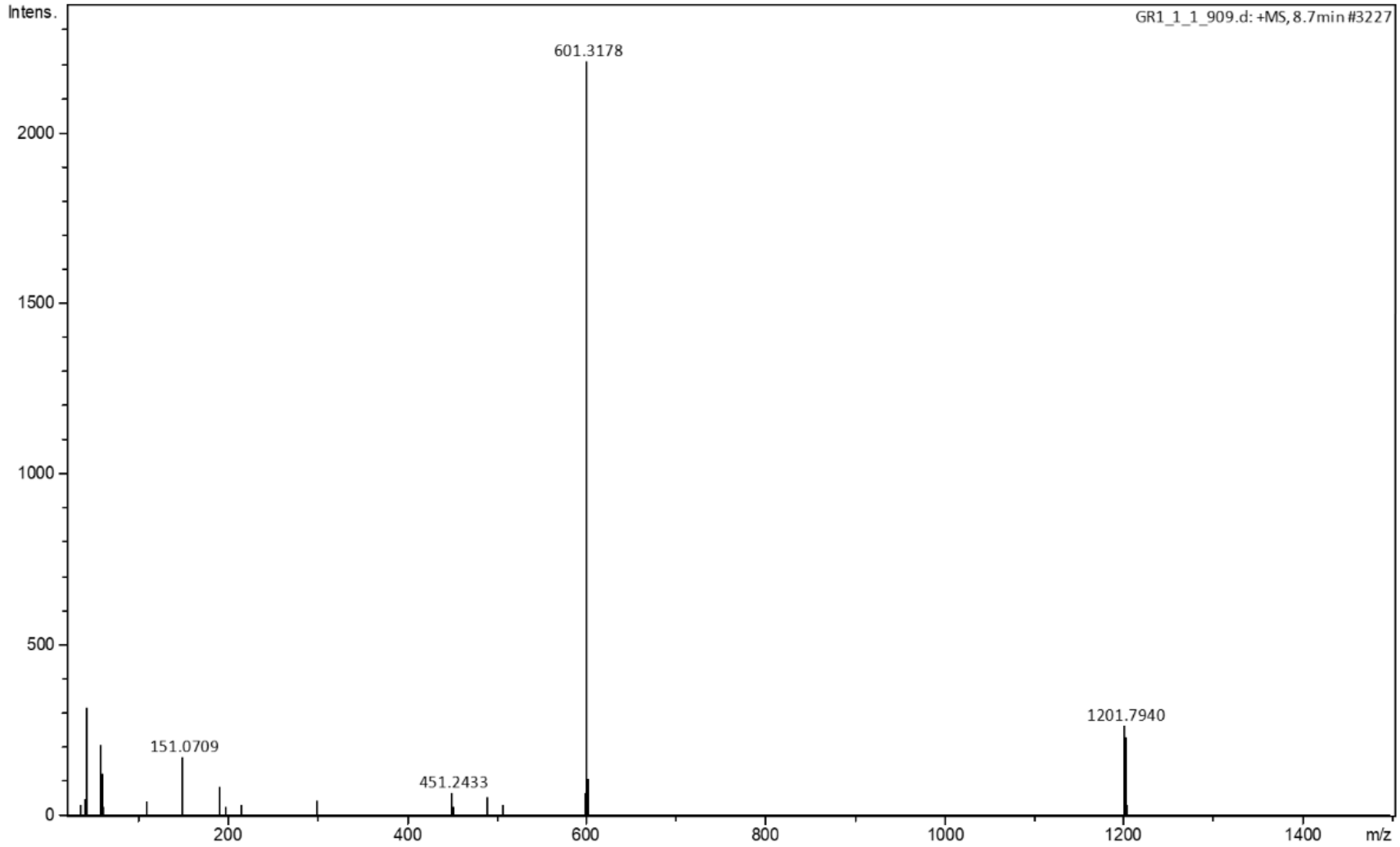
Anexo 2. Espectro RMN-^{1}H (**1A**) *C*-tetra(etil)calix[4]resorcinareno.



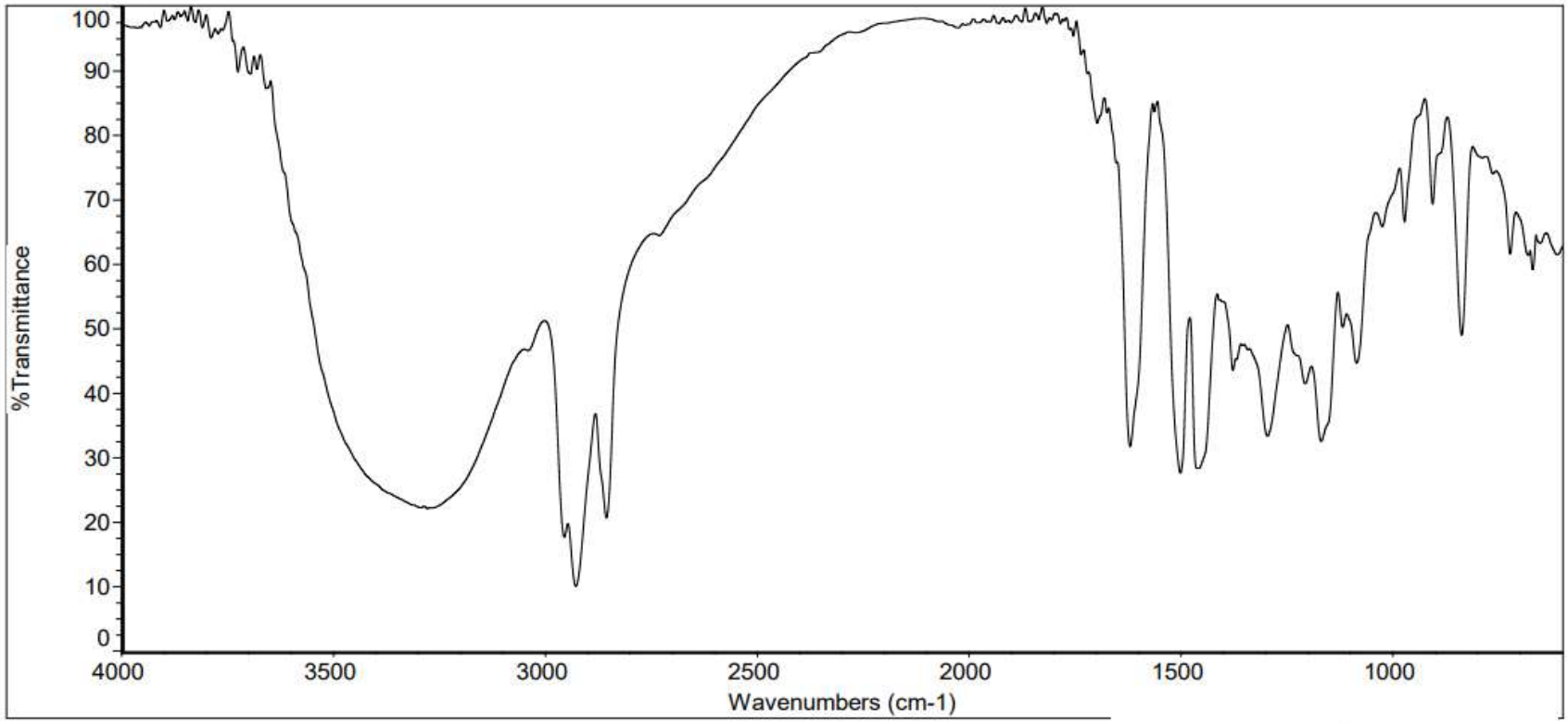
Anexo 3. Espectro RMN-^{13}C (**1A**) *C*-tetra(etil)calix[4]resorcinareno.



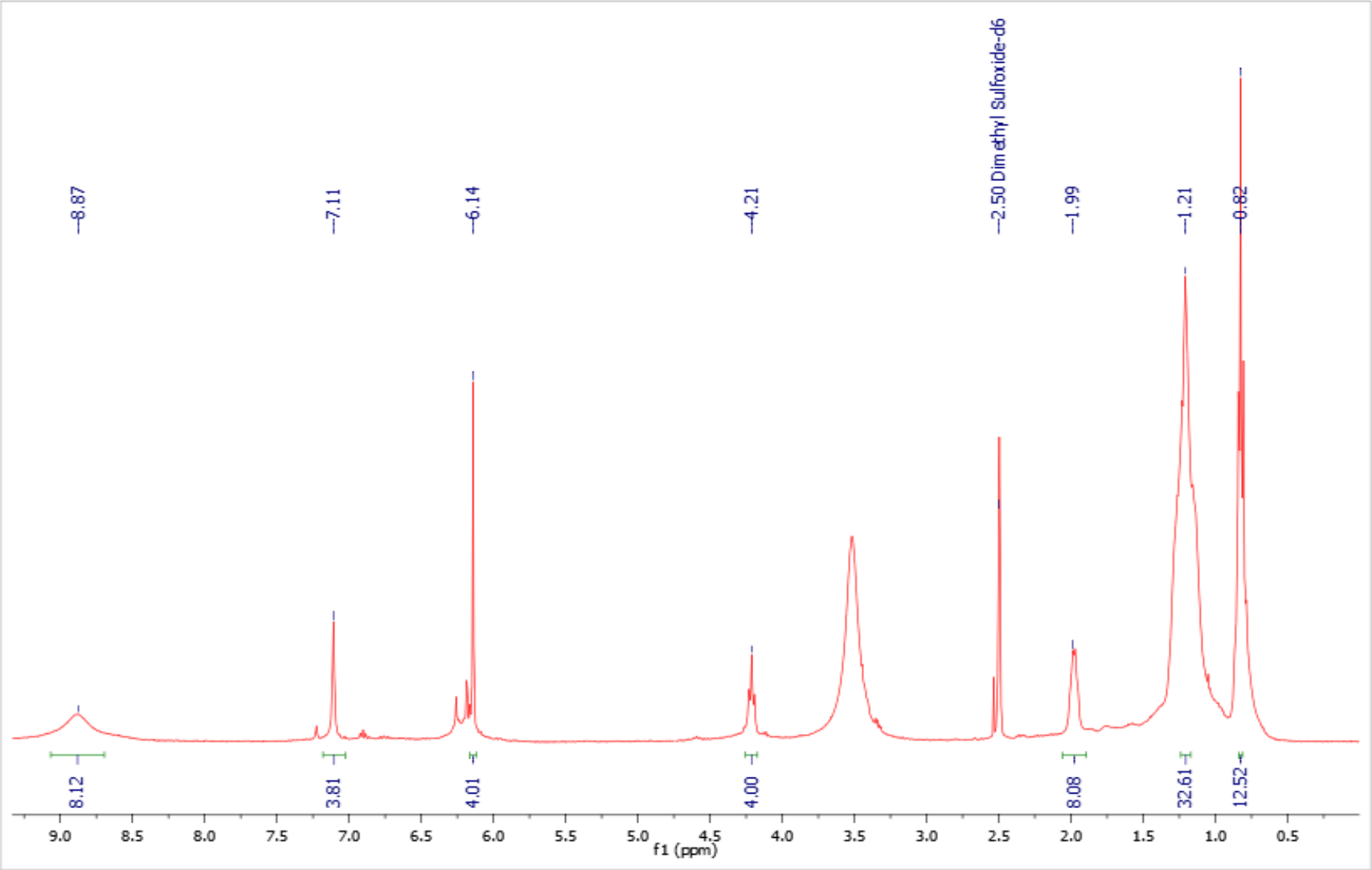
Anexo 4. Espectro de masas (**1A**) *C*-tetra(etil)calix[4]resorcinareno.



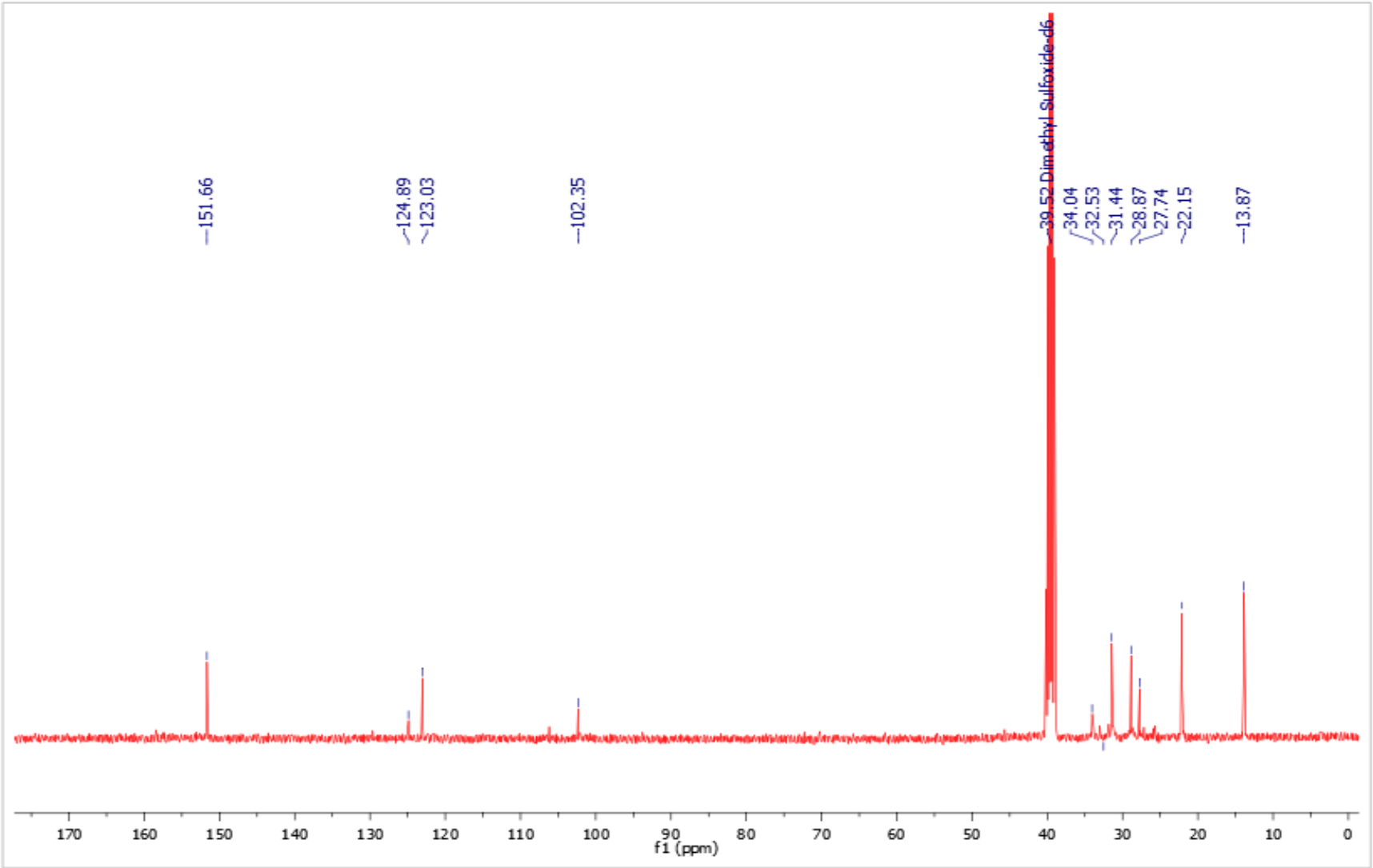
Anexo 5. Espectro IR (**1B**) *C*-tetra(hexil)calix[4]resorcinareno.



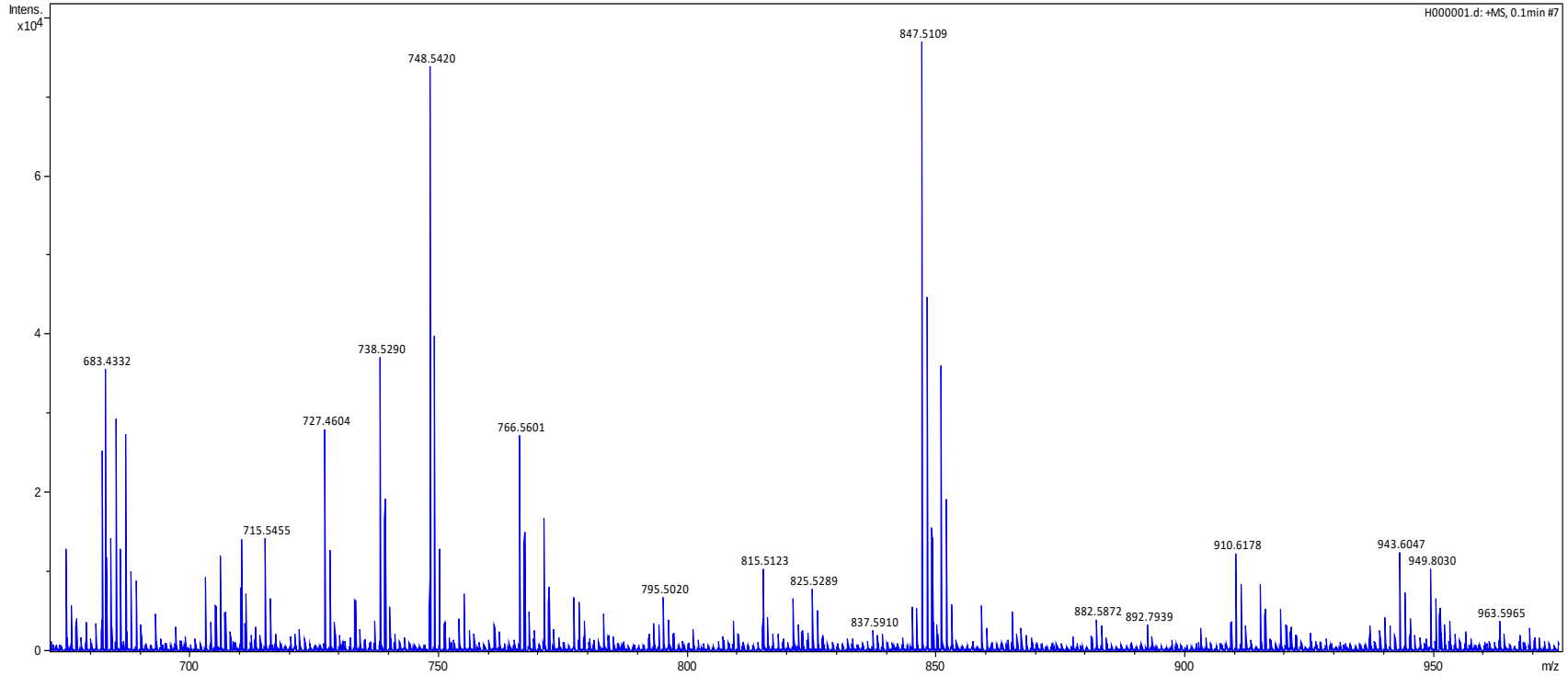
Anexo 6. Espectro RMN-^{1}H (**1B**) *C*-tetra(hexil)calix[4]resorcinareno.



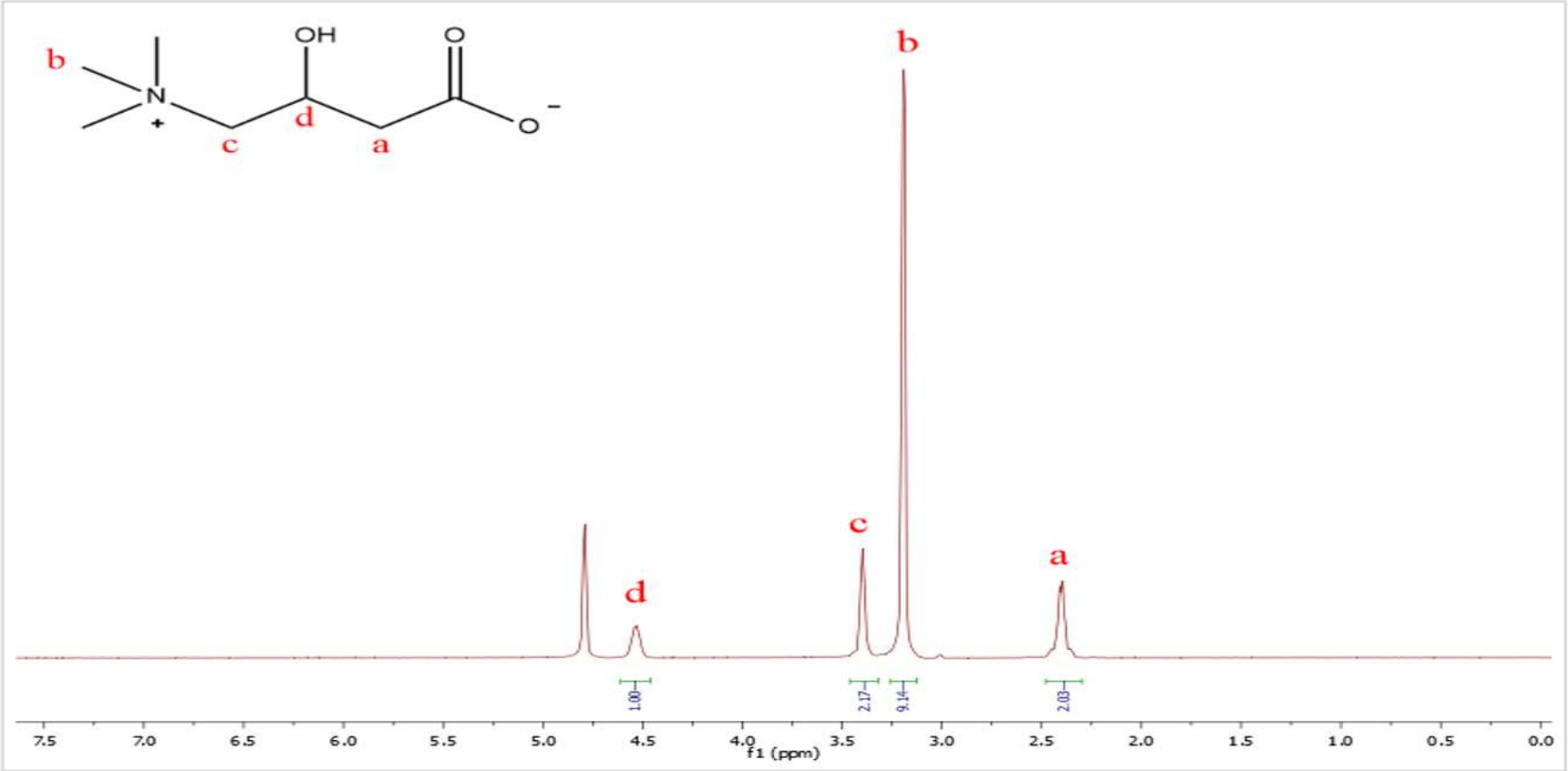
Anexo 7. Espectro RMN-^{13}C (**1B**) *C*-tetra(hexil)calix[4]resorcinareno.



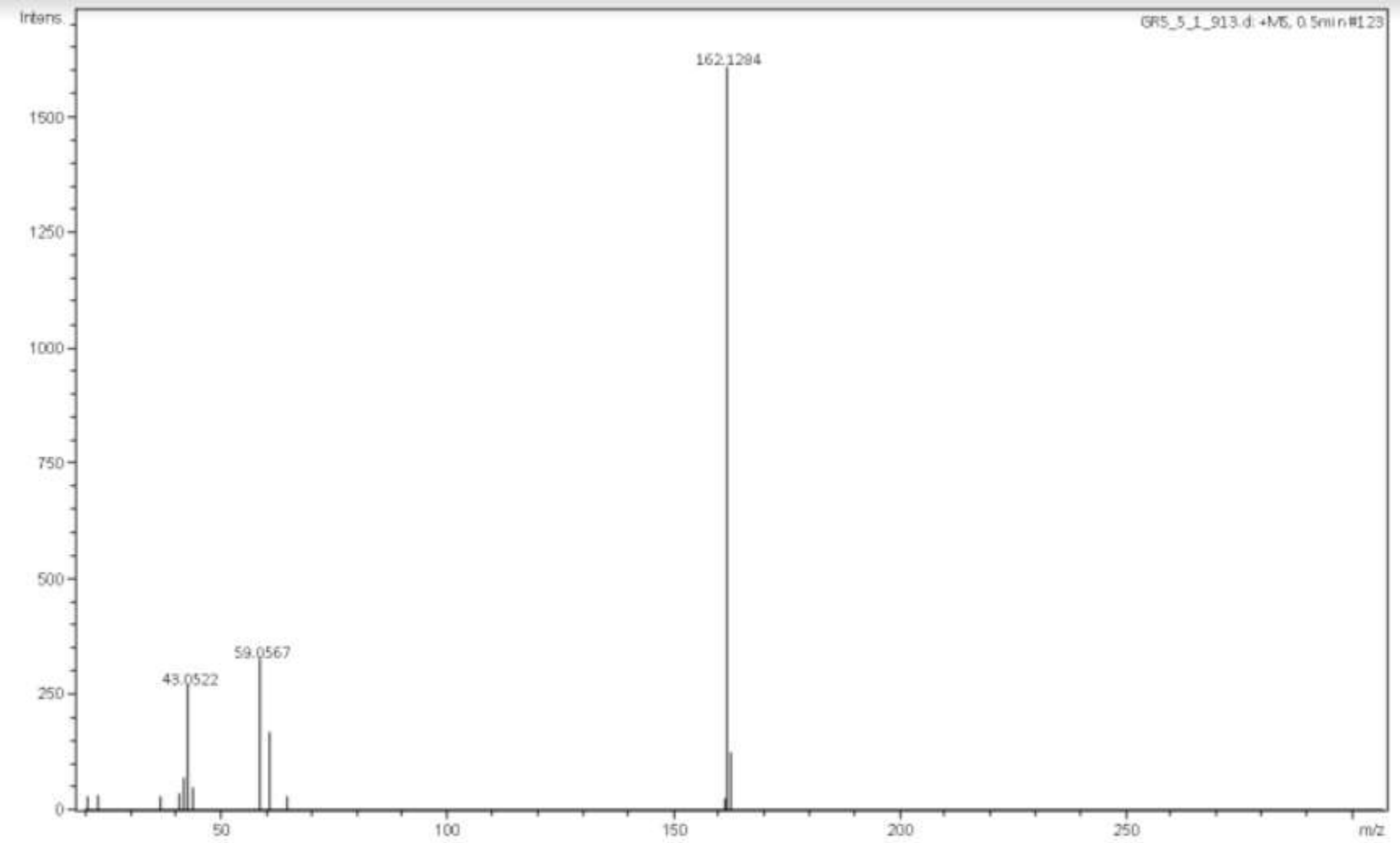
Anexo 8. Espectro de masas (**1B**) *C*-tetra(hexil)calix[4]resorcinareno.



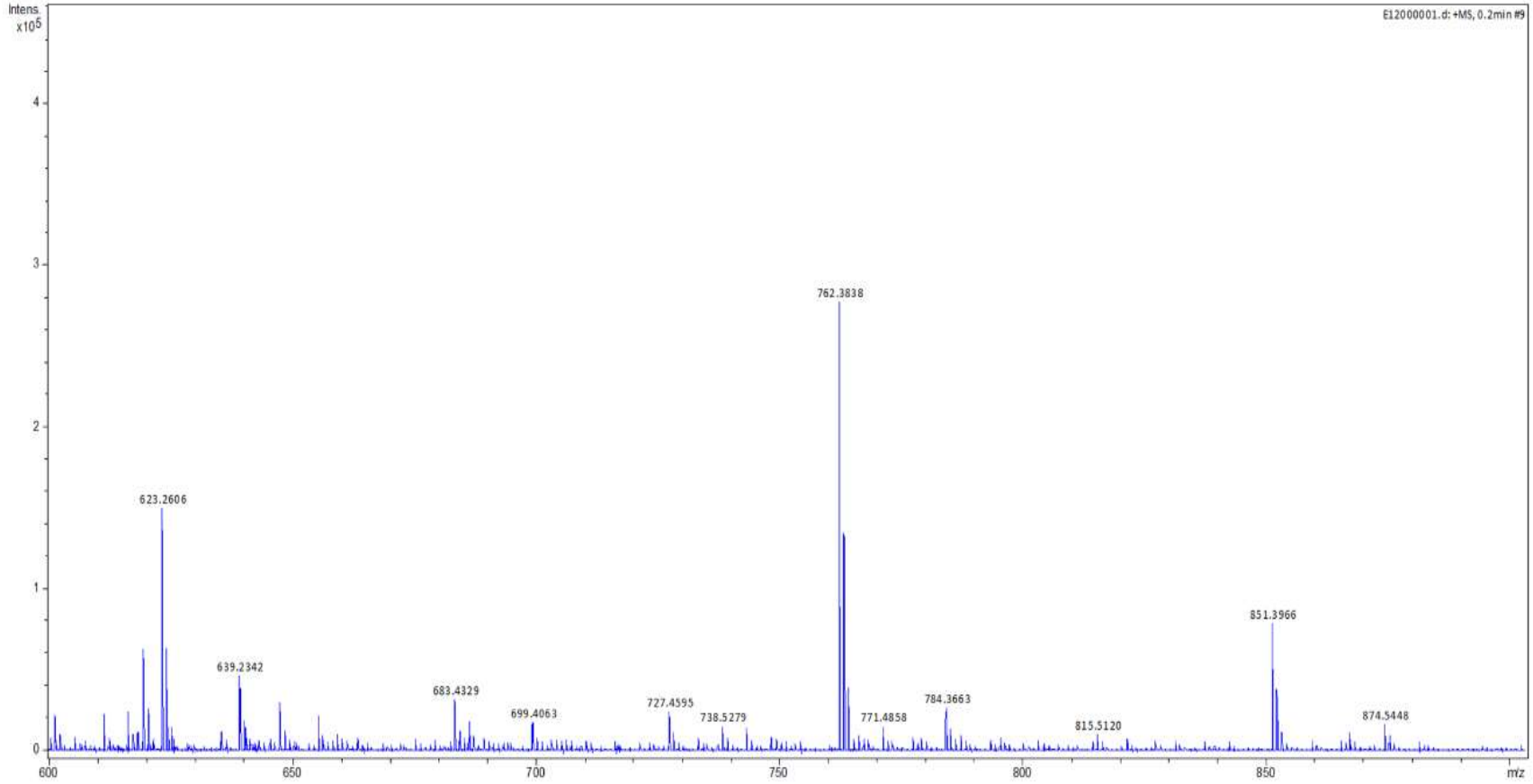
Anexo 9. Espectro RMN-^{1}H (**1C**) L-carnitina



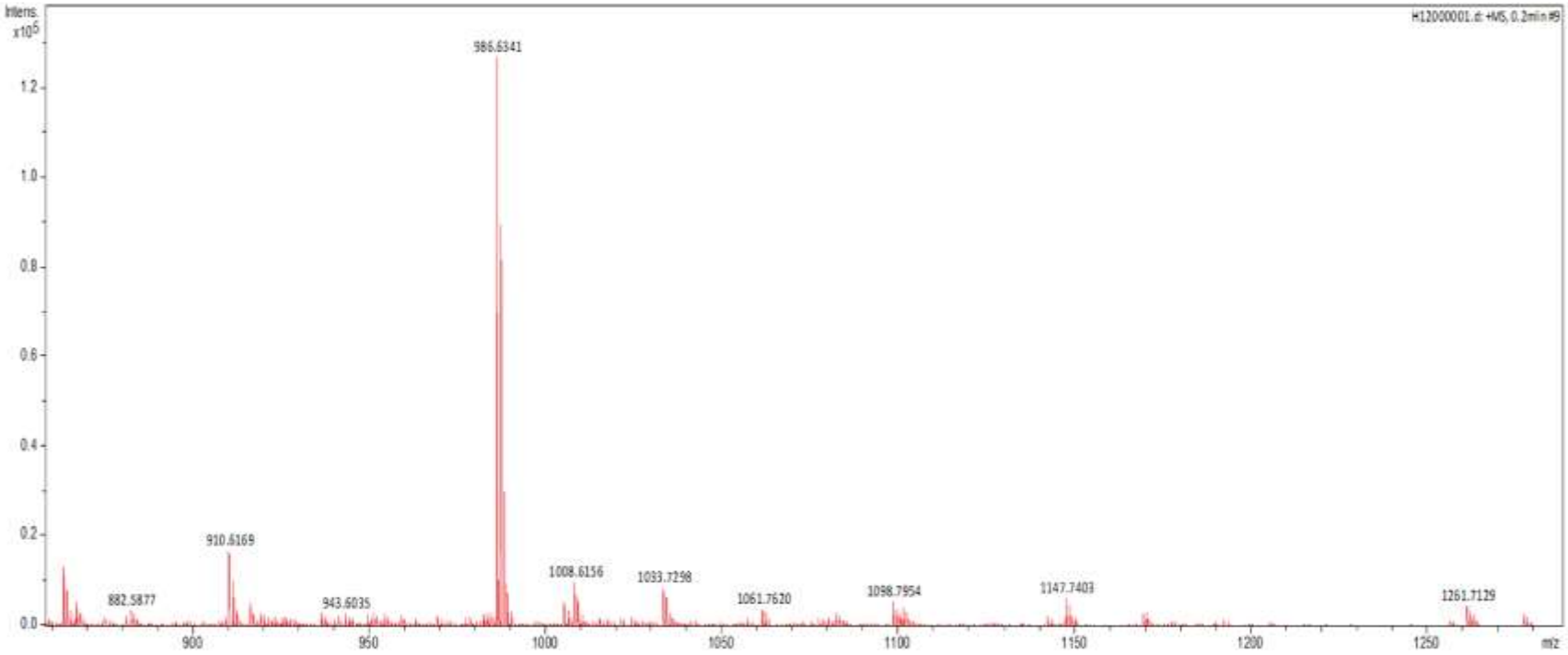
Anexo 10. Espectro de masas de la L-carnitina (**1C**).



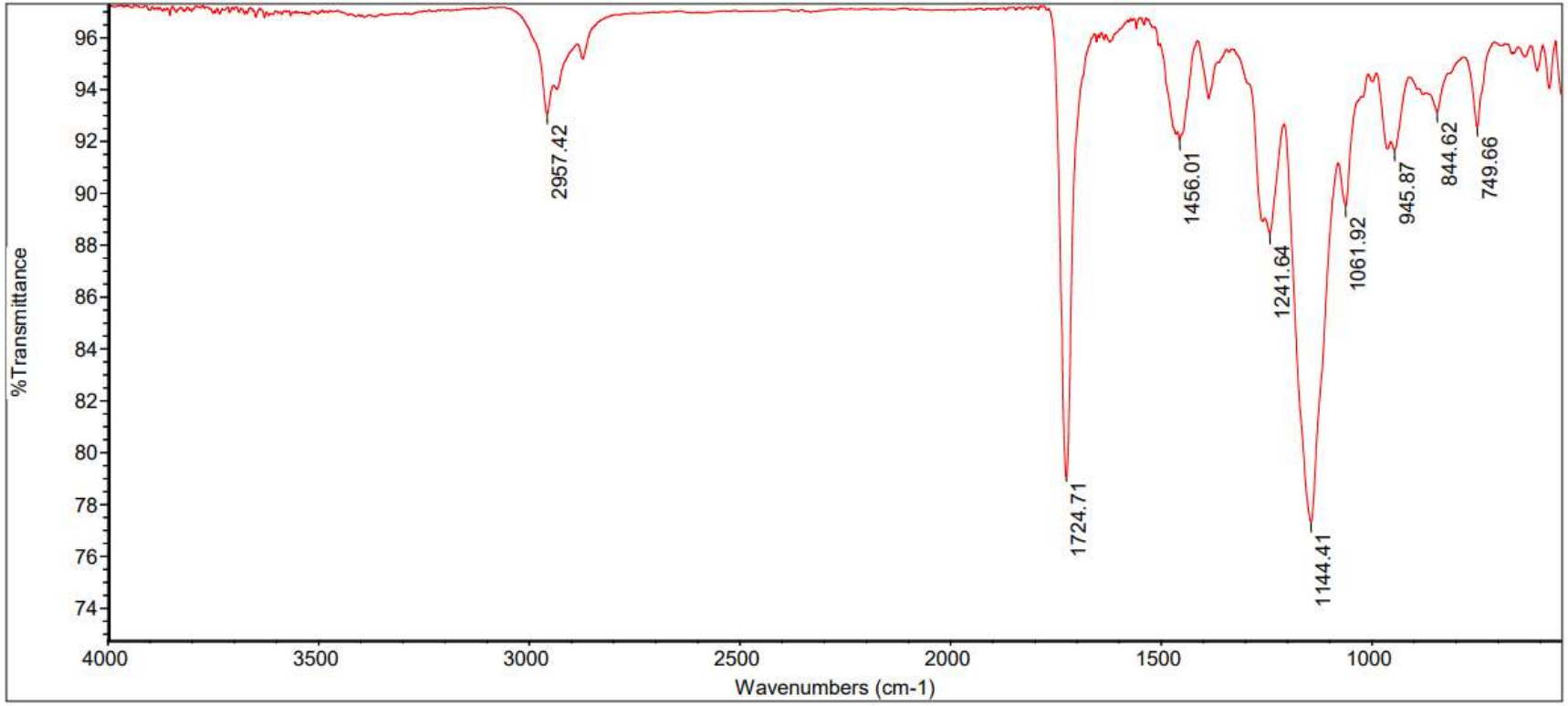
Anexo 11. Espectro de masas interacción entre la *C*-tetra(etil)calix[4]resorcinareno **1A** y la L-carnitina **1C**.

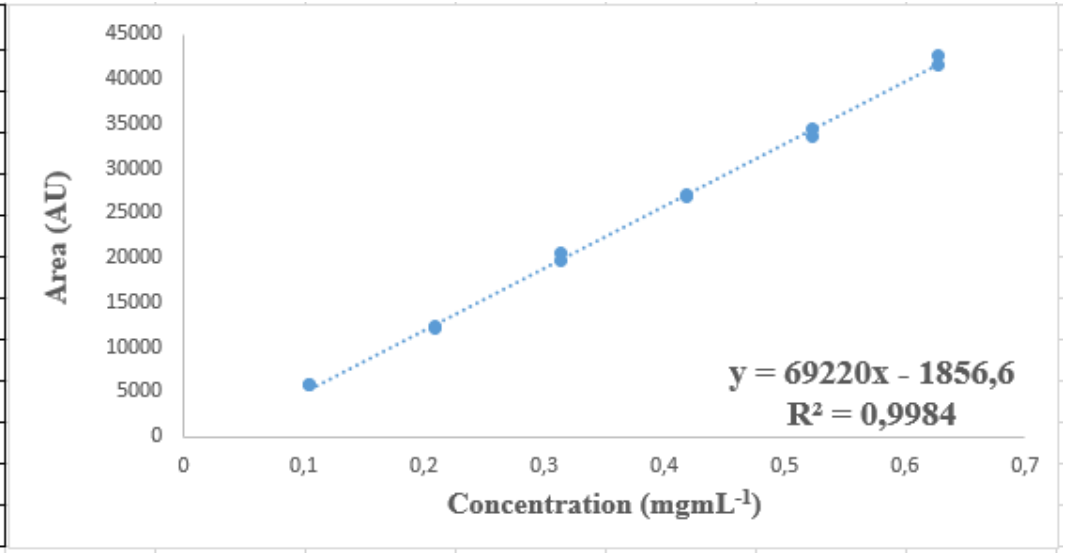


Anexo 12. Espectro de masas interacción entre la *C*-tetra(hexil)calix[4]resorcinareno **1B** y la L-carnitina **1C**.



Anexo 13. Espectro IR-ATR poli(BMA-co-EDMA)



Anexo 14. Datos experimentales curva de calibración de L-carnitina.

Level	Dilution Factor	$mgmL^{-1}$	Area
1	0,1	0,10472	5777,4
	0,1	0,10472	5785,1
2	0,2	0,20944	12066
	0,2	0,20944	12247
3	0,3	0,31416	20488
	0,3	0,31416	19729
4	0,4	0,41888	27104
	0,4	0,41888	26885
5	0,5	0,5236	34521
	0,5	0,5236	33495
6	0,6	0,62832	41482
	0,6	0,62832	42586