



EL SABER DE MIS HIJOS  
HARÁ MI GRANDEZA

# UNIVERSIDAD DE SONORA

DIVISIÓN DE INGENIERÍA

DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN EN POLÍMEROS Y MATERIALES

## Síntesis de [10.1.10.1] Paraciclofanos Funcionalizados y Estudio de sus Propiedades de Complejación y Reconocimiento Molecular

### TESIS

Presentada al Departamento de Investigación en Polímeros y Materiales como requisito parcial para obtener el grado de

### DOCTOR EN CIENCIAS DE MATERIALES

Por:

**ENRIQUE FERNANDO VELÁZQUEZ CONTRERAS**

# Universidad de Sonora

Repositorio Institucional UNISON



“El saber de mis hijos  
hará mi grandeza”



Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

## ÍNDICE

	Página
ÍNDICE.....	ii
LISTA DE FIGURAS.....	v
LISTA DE TABLAS.....	x
RESUMEN.....	xi
INTRODUCCIÓN.....	1
<b>1. SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE LOS CICLOFANOS 1 Y 2.....</b>	<b>8</b>
1.1 Antecedentes y Significancia de Receptores Artificiales.....	9
1.1.1 Importancia de la Síntesis de Receptores Artificiales.....	9
1.1.2 Compuestos Macro-cíclicos.....	10
1.1.3 Macro-cíclicos Tipo Ciclofano.....	13
1.1.4 Métodos de Síntesis de Compuestos Macro-cíclicos.....	15
1.1.5 Diseño de Nuevos Ciclofanos Aniónicos.....	19
1.1.5.1 Antecedentes.....	19
1.1.5.2 Características Químicas de los Ciclofanos 1 y 2.....	19
1.2 Experimental.....	22
1.2.1 Síntesis.....	22
1.2.2 Análisis Elemental.....	24
1.2.3 Espectroscopía de Masas mediante Ionización por Electroaspersión....	24
1.2.4 Espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) $^1\text{H}$ y $^{13}\text{C}$ .....	24
1.3 Resultados.....	26
1.3.1 Espectroscopía de Masas de Ionización por Electroaspersión.....	27
1.3.2 Resonancia Magnética Nuclear de Protón.....	29
1.3.2.1 Asignación de las Señales.....	29
1.3.2.2 Dependencia del pD.....	36
1.3.2.3 Efecto de Agregación.....	40



1.3.3	Resonancia Magnética Nuclear de $^{13}\text{C}$ .....	42
<b>2.</b>	<b>ESTUDIOS DE RECONOCIMIENTO MOLECULAR DE LOS RECEPTORES HACIA SUSTRATOS DE INTERÉS BIOQUÍMICO.....</b>	<b>47</b>
2.1	Antecedentes y Significancia.....	48
2.1.1	Interacciones Intermoleculares.....	50
2.1.2	Determinación de Constantes de Formación de Complejos mediante Titulación Espectroscópica de RMN $^1\text{H}$ .....	62
2.1.3	Ejemplo de Reconocimiento Molecular por Receptores Tipo Ciclofano: Reconocimiento y Transporte de Monómeros de Ácidos Nucleicos.....	67
2.2	Propiedades de Reconocimiento Molecular de los Ciclofanos 1 y 2.....	72
2.3	Experimental.....	75
2.4	Resultados.....	77
2.4.1	Sustrato: Fenetilamina.....	83
2.4.2	Sustrato: Tiramina.....	83
2.4.3	Sustrato: Dopamina.....	84
2.4.4	Estudios de Reconocimiento Molecular.....	84
<b>3.</b>	<b>ESTUDIOS DE FORMACIÓN DE COMPLEJOS METÁLICOS CON IONES COBRE(II).....</b>	<b>90</b>
3.1	Antecedentes y Significancia.....	91
3.1.1	Factores Importantes en la Formación de Complejos Metálicos de Ligandos Macrocíclicos.....	94
3.1.2	Ejemplo de Reconocimiento Molecular por Complejos Metálicos de Ciclofanos: Efectos Alostéricos en Metaloreceptores.....	108
3.1.3	Efectos de la Complejación Metálica en los Ciclofanos 1 y 2.....	110
3.2	Experimental.....	113
3.2.1	Preparación de las Muestras para Análisis por Espectroscopía Ultravioleta - Visible.....	113
3.2.2	Síntesis de los Complejos para Análisis por Espectroscopía Infrarroja..	115



	Página
3.2.3 Análisis Elemental.....	117
3.2.4 Espectroscopía de Masas de Ionización por Electroaspersión.....	117
3.3 Resultados.....	117
3.3.1 Análisis Elemental y Espectroscopía de Masas.....	117
3.3.2 Espectroscopía Electrónica.....	118
3.3.3 Efecto del pH en los Espectros Electrónicos.....	121
3.3.4 Bandas d-d y Estructura de los Complejos Formados.....	121
3.3.5 Banda de Transferencia de Carga.....	126
3.3.6 Espectroscopía Infrarroja.....	126
3.3.7 Banda $\pi - \pi^*$ y Contracción de los Ciclofanos.....	134
<b>CONCLUSIONES</b> .....	138
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	140

## LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
I	Receptores macrocíclicos tipo ciclofano sintetizados en la presente investigación..... 5
1.1	Compuestos macrocíclicos más utilizados en los estudios de reconocimiento molecular..... 11
1.2	Ejemplos típicos de compuestos macrocíclicos tipo ciclofano..... 14
1.3	Esquema de la reacción de síntesis de Ciclofano 1..... 20
1.4	Esquema del equipo utilizado para la reacción de síntesis de los Ciclofanos 1 y 2..... 23
1.5	Diagrama de flujo para (a) síntesis de Ciclofano 1 (b) formación de la sal de litio y (c) purificación de Ciclofano 1..... 25
1.6	Espectro de masas de ionización por electroaspersión de Ciclofano 1..... 30
1.7	Espectro de masas de ionización por electroaspersión de Ciclofano 2..... 30
1.8	Espectro de RMN $^1\text{H}$ para Ciclofano 1..... 31
1.9	Espectro de RMN $^1\text{H}$ de ciclohexano- $\text{d}_{11}$ a diferentes temperaturas..... 34
1.10	Espectro de RMN $^1\text{H}$ para Ciclofano 2..... 35
1.11	Cambio en el acoplamiento de un sistema AX con una diferencia decreciente de los desplazamientos químicos y un alto valor de J (10 Hz)..... 37
1.12	Gráfica de los desplazamientos químicos de Ciclofano 1 (en referencia a DSS) en $\text{D}_2\text{O}$ en función del pD a concentraciones de $5 \text{ mmol dm}^{-3}$ (●) y $30 \text{ mmol dm}^{-3}$ (▲). A valores de pD por debajo de 7.5, los desplazamientos químicos fueron determinados a concentraciones menores de $1 \text{ mmol dm}^{-3}$ (▼), debido a la baja solubilidad..... 38



## LISTA DE FIGURAS (Cont.)

Figura	Página	
1.13	Gráfica de los desplazamientos químicos de Ciclofano 2 (en referencia a DSS) en D <sub>2</sub> O en función del pD a concentraciones de 5 mmol dm <sup>-3</sup> (●). A valores de pD por debajo de 8, los desplazamientos químicos fueron determinados a concentraciones menores de 1 mmol dm <sup>-3</sup> (▼), debido a la baja solubilidad.....	41
1.14	Espectro de RMN <sup>13</sup> C de Ciclofano 1.....	45
1.15	Espectro de RMN <sup>13</sup> C de Ciclofano 2.....	45
2.1	Complementariedad en forma, tamaño y grupos funcionales entre el receptor y la molécula de sustrato.....	49
2.2	(a) Monóxido de carbono: la carga parcial negativa (q <sup>-</sup> ) sobre el oxígeno, junto con la correspondiente carga parcial positiva (q <sup>+</sup> ) sobre el carbono, produce un momento dipolar dirigido a lo largo del eje C-O. (b) Agua: la carga parcial negativa sobre el oxígeno, junto con la carga parcial positiva sobre cada hidrógeno produce dos momentos dipolares, μ <sub>1</sub> y μ <sub>2</sub> , dirigidos a lo largo de los enlaces H-O. Su suma vectorial (μ) representa el momento dipolar de la molécula.....	55
2.3	Representación del enlace de hidrógeno. La figura muestra un enlace de hidrógeno entre los grupos -O-H y -C=O. Aunque el enlace de hidrógeno es entre el H y el aceptor, la longitud del enlace se define como la distancia entre el donador y el aceptor.....	57
2.4	Enlaces de hidrógeno entre las moléculas de agua en el estado líquido.....	59
2.5	Efecto hidrofóbico. Las moléculas de agua (área punteada) son desplazadas de las superficies hidrofóbicas (área rayada).....	61
2.6	Tipos de interacciones π - π entre anillos aromáticos.....	63
2.7	Compuestos análogos de nucleósidos que han mostrado actividad antiviral.....	68
2.8	Ciclofano sintetizado para acomplejar sustratos orgánicos en solución acuosa.....	70
2.9	Representación esquemática del proceso de ciclo-intercalación receptor - sustrato.....	70



## LISTA DE FIGURAS (Cont.)

Figura	Página
2.10 Aminas aromáticas utilizadas en los estudios de reconocimiento molecular.....	74
2.11 Desplazamientos de las señales en RMN $^1\text{H}$ , $\Delta$ (ppm) = $-(\delta - \delta_0)$ , de los protones d y e de Ciclofano 1 (gráfica superior), y de los protones d, e y f de Ciclofano 2 (gráfica inferior), a diferentes concentraciones de sustrato $[\text{G}]_t$ ( $\text{mmol dm}^{-3}$ ), con referencia a los desplazamientos químicos de las señales correspondientes ( $\delta_0$ ) a $[\text{G}]_t = 0$ . La concentración del receptor $[\text{H}]_t$ se mantuvo constante a $5 \text{ mmol dm}^{-3}$ ; temperatura $\approx 23^\circ \text{C}$ ; pD = 8.0. Los sustratos son fenetilamina (●), tiramina (▲) y dopamina (▼). Las líneas sólidas fueron calculadas mediante el uso de la ecuación (2.11), con las constantes de formación enlistadas en la tabla 2.3.....	81
2.12 Espectros de RMN $^1\text{H}$ obtenidos en la titulación espectrométrica de Ciclofano 1 a diferentes concentraciones de fenetilamina (pD= 8, T= $23^\circ\text{C}$ , DSS).....	82
2.13 Gráfica de la forma linearizada de la ecuación de Lang para la formación de complejo 1:1 entre el Ciclofano 1 y fenetilamina.....	82
2.14 Orientación promedio probable para sustratos con anillo de benceno incluidos en la cavidad de los ciclofanos, de acuerdo con los desplazamientos químicos en RMN $^1\text{H}$ . En el dibujo los rectángulos representan grupos fenilos proyectados a lo largo de sus planos moleculares. La localización de los protones d, e y f del receptor es señalada esquemáticamente.....	88
3.1 Representación esquemática de un metaloreceptor capaz de enlazar una molécula de sustrato mediante la combinación de (1) coordinación metálica, (2) interacciones $\pi - \pi$ y (3) enlace de hidrógeno.....	93
3.2 Parejas de ligandos macrocíclicos y de cadena abierta en las cuales se ha demostrado que el efecto macrocíclico es de origen entrópico.....	98
3.3 Conformación de los ligandos macrocíclicos y de cadena abierta en el estado libre.....	101
3.4 Ligandos utilizados para observar el rol de la preorganización en el efecto macrocíclico.....	101
3.5 Ejemplos de compuestos macrocíclicos altamente preorganizados.....	103

## LISTA DE FIGURAS (Cont.)

Figura	Página
3.6 Derivado de 18C6 con alto grado de rigidez.....	104
3.7 Compuestos macrocíclicos que contiene azufre como heteroátomos.....	106
3.8 Tetraazaciclododecanotetraacetato (DOTA).....	107
3.9 Enterobactin, agente microbiano transportador de ion férrico.....	107
3.10 Agente quelante para Fe(III).....	109
3.11 Ciclofanos estudiados por Baldes y Schneider.....	111
3.12 Estructuras de (a) ciclofano I libre, (b) complejo de I con $Zn^{2+}$ .....	111
3.13 Esquema del principio de formación de compuestos ternarios por contracción del macrociclo (L), después de la adición de un ión metálico (M): un ejemplo de efecto alostérico en receptores artificiales..	112
3.14 Diagramas de flujo para la síntesis de los complejos de cobre(II) de Ciclofano 1 en: (a) medio ácido y (b) medio alcalino.....	116
3.15 Región ultravioleta del espectro electrónico para los complejos de cobre(II) de Ciclofano 1 a diferentes relaciones de concentración a pH= 10.....	119
3.16 Región visible del espectro electrónico para los complejos de cobre(II) de Ciclofano 1 a diferentes relaciones de concentración a pH = 10.....	119
3.17 Región ultravioleta del espectro electrónico para los complejos de cobre(II) de Ciclofano 2 a diferentes relaciones de concentración a pH= 10.....	120
3.18 Región visible del espectro electrónico para los complejos de cobre(II) de Ciclofano 2 a diferentes relaciones de concentración a pH = 10.....	120
3.19 Región ultravioleta del espectro electrónico para los complejos de cobre(II) de Ciclofano 1 en relación $[Cu^{2+}]/[Receptor] = 2$ a diferentes valores de pH.....	122
3.20 Región visible del espectro electrónico para los complejos de cobre(II) de Ciclofano 1 en relación $[Cu^{2+}]/[Receptor] = 2$ a diferentes valores de pH.....	122
3.21 Región ultravioleta del espectro electrónico para los complejos de cobre(II) de Ciclofano 2 en relación $[Cu^{2+}]/[Receptor] = 2$ a diferentes valores de pH.....	123



## LISTA DE FIGURAS (Cont.)

Figura		Página
3.22	Región visible del espectro electrónico para los complejos de cobre(II) de Ciclofano 2 en relación $[Cu^{2+}]/[Receptor] = 2$ a diferentes valores de pH.....	123
3.23	Estructuras de los complejos de cobre de ciclofano 1 ( R= - O - ) y ciclofano 2 ( R= -CH <sub>2</sub> - ).....	125
3.24	Complejos de cobre(II) del ligando macrocíclico (24edtaen)H <sub>4</sub> .....	127
3.25	Espectro de infrarrojo de Ciclofano 1.....	128
3.26	Espectro de infrarrojo del complejo $[Cu_2(\text{ciclofano } 1)]$ en medio ácido....	129
3.27	Espectro de infrarrojo del complejo $[Cu_2(\text{ciclofano } 1)]$ en medio básico..	130
3.28	Espectro de infrarrojo de Ciclofano 2.....	131
3.29	Espectro de infrarrojo del complejo $[Cu_2(\text{ciclofano } 2)]$ en medio ácido....	132
3.30	Espectro de infrarrojo del complejo $[Cu_2(\text{ciclofano } 2)]$ en medio básico..	133
3.31	Espectros de absorción de la región ultravioleta de diversos [m.n]paraciclofanos en etanol al 95%. El espectro inferior corresponde al modelo de referencia de cadena abierta.....	136



## LISTA DE TABLAS

Tabla	Página
2.1 Tipos de interacciones no covalentes.....	52
2.2 Constantes de estabilidad obtenidas para los complejos formados entre el receptor de la figura 2.8 y diferentes sustratos.....	71
2.3 Desplazamientos químicos $\Delta$ (ppm) de las señales de los protones aromáticos de los receptores ciclofanos ( $5 \text{ mmol dm}^{-3}$ ) en presencia de sustratos aminas aromáticas con concentraciones $[G]_t / \text{mmol dm}^{-3} = 5$ y $30$ , constantes de formación $K = [HG]/[H][G]$ y $\Delta_{\text{max}}$ ( $\Delta$ a concentraciones infinitas de aminas) <sup>a</sup> .....	78
2.4 Desplazamientos de RMN $^1\text{H}$ ( $\Delta\delta$ ) de las aminas aromáticas utilizadas como sustratos ( $5 \text{ mmol dm}^{-3}$ ) en presencia de los ciclofanos 1 y 2 con concentraciones $[H]_t / \text{mmol dm}^{-3} = 5$ y $30$ en $\text{D}_2\text{O}$ a $\text{pD} = 8$ .....	79
3.1 Comparación del efecto macrocíclico entre el compuesto A y sus posibles análogos B y C.....	96
3.2 Diferencias en entalpía ( $\Delta H$ ), entropía ( $\Delta S$ ) y estabilidades ( $\log K$ ) de los complejos de 14-ano $\text{N}_4$ y 2,3,2-tet con iones metálicos.....	97
3.3 Valores de $Dq$ ( $\text{cm}^{-1}$ ) de los complejos metálicos de ciclam y $\text{en}_2$ .....	98
3.4 Constantes de estabilidad ( $\log K$ ) para los complejos de sodio y potasio de los macrocíclicos de la figura 3.5.....	104

## RESUMEN

Dos nuevos receptores macrocíclicos tipo ciclofano, solubles en agua, han sido sintetizados mediante la reacción de condensación entre etilendiamino-tetracético (EDTA) dianhídrido y las aminas aromáticas bis(4-aminofenil) éter o bis(4-aminofenil)metano. Los ciclofanos obtenidos son 2,9,25,32-tetraoxo-4,7,27,30-tetrakis(carboximetil)-1,4,7,10,24,27,30,33-octaaza-17,40-dioxa-[10.1.10.1] paraciclofano (**ciclofano 1**) y 2,9,25,32-tetraoxo-4,7,27,30-tetrakis-(carboximetil)-1,4,7,10,24,27,30,33-octaaza[10.1.10.1]paraciclofano (**ciclofano 2**). Las características estructurales sobresalientes comunes en ambos ciclofanos son: (1) se contienen grupos donadores amino y amida en el esqueleto anular, y grupos carboxilato como brazos pendientes, y (2) los grupos amida se encuentran unidos directamente a los anillos aromáticos.

El reconocimiento molecular en soluciones acuosas de los nuevos receptores hacia las aminas catiónicas 2-feniletilamina (fenetilamina), 2-(4-hidroxifenil)etilamina (tiramina) y 2-(3,4-dihidroxifenil)etilamina (dopamina), las cuales son sustratos biológicamente importantes, fue estudiado mediante RMN  $^1\text{H}$ . Los valores obtenidos para las constantes de formación de los complejos receptor-huésped fueron los siguientes:  $\log K = 0.8$  para el complejo ciclofano 1-fenetilamina; 1.2 para ciclofano 1-tiramina; 1.2 para ciclofano 1-dopamina; 1.6 para ciclofano 2-fenetilamina; 2.0 para ciclofano 2-tiramina. Dopamina y ciclofano 2 forman un complejo con baja solubilidad en agua. Los desplazamientos químicos de los protones aromáticos del receptor y de los sustratos sugieren la formación de complejos de inclusión en las soluciones. La estabilidad de los complejos es proporcionada por las interacciones  $\pi - \pi$  entre los grupos fenilo de los receptores y los sustratos, y por los enlaces de hidrógeno y/o interacciones electrostáticas entre los grupos pendientes  $-\text{CH}_2\text{CO}_2^-$  de



los receptores y los grupos  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_3^+$  de los sustratos. Los dos tipos de interacciones son responsables de la formación de complejos selectivos entre los nuevos receptores y las aminas aromáticas.

Los ciclofanos 1 y 2 también forman complejos binucleares neutros con iones  $\text{Cu}^{2+}$  en soluciones ácidas. La geometría de coordinación de cada centro metálico es octaédrica, siendo los átomos donadores los siguientes: los átomos de oxígeno de dos grupos carboxilato, dos nitrógenos amina y dos oxígenos amida de una misma fracción EDTA de los receptores. En soluciones alcalinas, los complejos metálicos son convertidos a quelatos aniónicos en los cuales los iones  $\text{Cu}^{2+}$  son coordinados por los nitrógenos amida desprotonados, formando un complejo de geometría cuadrado plana. Este tipo de coordinación es apoyado por el comportamiento de las bandas d-d y de transferencia de carga en los espectros electrónicos de los complejos: cuando los átomos de oxígeno de los grupos amida son reemplazados en la coordinación por los nitrógenos amida, la banda d-d presenta un desplazamiento hacia menores longitudes de onda, con un incremento en la absorptividad molar; simultáneamente la banda de transferencia de carga aumenta su intensidad. Otra característica interesante en los espectros electrónicos de los quelatos aniónicos es la formación de bandas  $\pi - \pi^*$  anormales, las cuales se asemejan bastante a las presentadas por [n.m]paraciclofanos pequeños. Estas anomalías son atribuidas a la combinación de los efectos de la transferencia de carga metal-ligando y de la proximidad de los sistemas  $\pi$  como resultado de la contracción de la cavidad de los ciclofanos durante la complejación con el metal.



## ABSTRACT

Water-soluble cyclophanes functionalized by amide groups and pendant carboxymethyl groups have been synthesized, in a single step, by a condensation reaction between ethylenediaminetetraacetic (EDTA) dianhydride and bis(4-aminophenyl) ether or bis(4-aminophenyl)methane. Cyclophanes obtained are 2,9,25,32-tetraoxo-4,7,27,30-tetrakis(carboxymethyl)-1,4,7,10,24,27,30,33-octaaza-17,40-dioxa[10.1.10.1]paracyclophane (**cyclophane 1**) and 2,9,25,32-tetraoxo-4,7,27,30-tetrakis(carboxymethyl)-1,4,7,10,24,27,30,33-octaaza-[10.1.10.1]paracyclophane (**cyclophane 2**). Common structural features in both cyclophanes are as follows: (1) amino, amide, and pendant carboxymethyl donor groups are substituents in the macrocyclic ring, and (2) the amide groups are directly bound to the aromatic groups.

Molecular recognition of these new artificial receptors with 2-phenylethylamine (phenethylamine), 2-(4-hydroxyphenyl)ethylamine (tyramine) and 2-(3,4-dihydroxyphenyl)ethylamine (dopamine), which have biologically important activities, have been studied by  $^1\text{H}$  NMR in aqueous media. The formation constants of the 1:1 host-guest complexes have been determined as:  $\log K = 0.8$  for cyclophane 1-phenethylamine; 1.2 for cyclophane 1-tyramine; 1.2 for cyclophane 1-dopamine; 1.6 for cyclophane 2-phenethylamine; 2.0 for cyclophane 2-tyramine. Dopamine and cyclophane 2 form a complex with low water-solubility. The chemical shifts of aromatic protons suggest the formation of inclusion complexes in solutions. The formation of the host-guest complexes is assisted by a  $\pi - \pi$  interaction between the phenyl groups and a hydrogen bond and/or electrostatic interaction between the pendant  $-\text{CH}_2\text{CO}_2^-$  group of the host and the  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_3^+$  arm of the guest

molecule. The two types of molecular recognition sites of the new cyclophanes result in the selective complex formation with the aromatic amines.

Cyclophanes 1 and 2 also form neutral binuclear  $\text{Cu}^{2+}$  chelates in acidic solutions. The coordination geometry around each metal center is octahedral, the donor atoms being two carboxylate oxygen atoms, two amine nitrogen atoms and two amide oxygen atoms. In alkaline solutions, the  $\text{Cu}^{2+}$  complexes are converted to anionic chelates in which deprotonated amide nitrogens are coordinated to  $\text{Cu}^{2+}$  ions in a square-planar geometry. The coordination of the amide nitrogens in alkaline solution is supported by the observation of the d-d and the charge transfer bands in their electronic spectra: when coordinated amide oxygen atoms are replaced by negatively charged amide nitrogen atoms, the d-d band shows a blue shift accompanied by an increase in the molar absorptivity; simultaneously the charge transfer band is intensified. Another interesting feature in the electronic spectra of the anionic metal chelates is the unusual  $\pi - \pi^*$  transition bands that closely resemble those of [2.2]paracyclophane. The spectral abnormalities are attributed to the combined effect of metal-ligand charge transfer and the proximity of the  $\pi$  systems as a result of the contraction of the cyclophane ring upon complexation. The shape and the size of the cyclophanes can be readily controlled by complexation.

# INTRODUCCIÓN



Un reciente e importante campo de la química es el diseño y síntesis de *receptores artificiales* que tengan la capacidad de imitar las fascinantes propiedades de los sistemas biológicos [1-7]. En el área de ciencia de materiales, la síntesis y caracterización de receptores artificiales es fundamental para la generación de toda una serie de nuevos materiales con aplicaciones potenciales de gran interés tanto a nivel académico como industrial. El desarrollo de sensores moleculares con sensibilidad sin precedente, de nuevos procedimientos analíticos y de diagnóstico, de fases selectivas para afinidad cromatográfica, de análogos enzimáticos para catálisis, y el diseño de fármacos novedosos, son sólo algunos ejemplos de las perspectivas tecnológicas generadas a partir de las investigaciones sobre receptores artificiales [2,6,7].

Considerando que la base del funcionamiento de los receptores biológicos son los enlaces no covalentes, las investigaciones sobre las fuerzas que controlan este tipo de interacciones han pasado al centro de interés de la ciencia, emergiendo una nueva área de la química denominada *química supramolecular*, la cual puede definirse como la “química que va más allá de la molécula”, y comprende el estudio de las entidades que resultan de la asociación de dos o más especies químicas unidas mediante interacciones no covalentes [6,7]. La posibilidad de alcanzar la alta eficiencia y la marcada selectividad que caracterizan a procesos bioquímicos tales como la catálisis enzimática, la inducción de señales por neurotransmisores, las reacciones antígeno-anticuerpo, y la actividad hormonal, entre otras, han llevado a considerar a la química supramolecular como una importante frontera intelectual y tecnológica [2,3,6,7].

Generalmente se ha asumido que para llevar a cabo estos procesos se requiere de estructuras del tamaño de las macromoléculas biológicas. Sin embargo, descubrimientos recientes han llevado a la idea de que dichos procesos pueden ocurrir en moléculas mucho más pequeñas y que son sintéticamente accesibles

[1,8,9]. Esto ha despertado el interés en el desarrollo de *sistemas modelo*, cuyos objetivos centrales son: (1) reproducir en forma parcial o total el comportamiento químico de los fenómenos naturales y, (2) tener una idea mas clara acerca del funcionamiento de los sistemas existentes en la naturaleza [1,8,9].

La química supramolecular y el estudio de los sistemas modelo se encuentra muy relacionado con un área de intenso crecimiento en los últimos años: *el reconocimiento molecular* [1-9]. Este fenómeno, asociado a todos los procesos biológicos señalados anteriormente, se ha definido como un proceso que implica la unión selectiva de un sustrato por una molécula de receptor con la finalidad de llevar a cabo una función específica, como el transporte de sustratos a través de membranas o la catálisis [7].

Los compuestos más utilizados como receptores en los estudios de reconocimiento molecular mediante sistemas modelo son los macrocíclicos, los cuales son compuestos cíclicos que contienen nueve o más átomos en el anillo, incluyendo al menos tres heteroátomos [10-12]. Generalmente contienen cavidades estables y bien definidas, y su capacidad para actuar como moléculas receptoras de iones y moléculas orgánicas neutras ha sido demostrada ampliamente [1-12].

Dentro de los macrocíclicos, los **ciclofanos**, que se definen como cualquier compuesto cíclico con al menos un anillo aromático formando parte del sistema anular, son considerados por varios autores como la clase central de receptores artificiales para el estudio del reconocimiento molecular; esto se debe a que todo tipo de sustratos, desde cationes y aniones (tanto inorgánicos como orgánicos) hasta moléculas neutras, pueden ser enlazados por estos macrocíclicos [13-15].

Sin embargo, aunque se han desarrollado varios receptores con capacidad para el reconocimiento molecular de aniones y moléculas neutras, los ejemplos de receptores aniónicos diseñados para sustratos orgánicos catiónicos son pocos. Dada la importancia que representan tanto a nivel bioquímico como a nivel industrial las



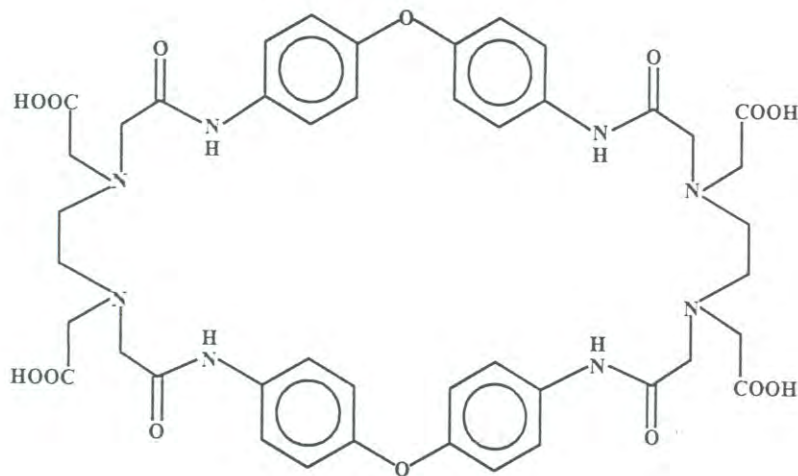
moléculas que poseen carga eléctrica positiva, se vuelve indispensable profundizar en el estudio de sistemas modelo capaces de discriminar selectivamente entre diferentes tipos de cationes, así como el de llevar a cabo una función específica sobre estos sustratos.

Es en el marco de referencia expuesto en las líneas anteriores, que el presente trabajo de tesis tiene como objetivo la síntesis de dos nuevos receptores macrocíclicos tipo ciclofano (denominados **ciclofano 1** y **ciclofano 2** en la figura I), los cuales sean capaces de reconocer selectivamente sustratos catiónicos biológicamente importantes, como fenetilamina, tiramina y dopamina.

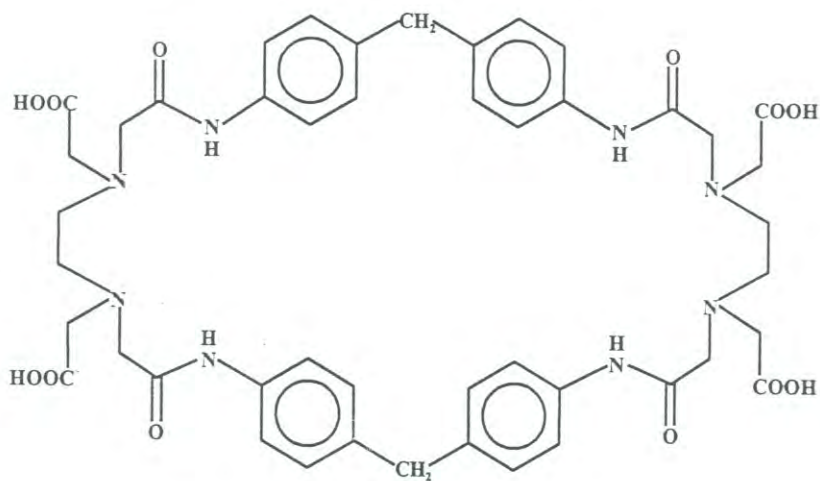
Los receptores sintetizados presentan una alta potencialidad como receptores de sustratos orgánicos, debido a sus propiedades estructurales que le proporcionan sitios de unión múltiples, característica muy deseable en el diseño de receptores artificiales [3,6,7,16,17]: contienen los grupos funcionales amino, amida y carboxilo, los cuales son sitios potenciales para la unión de sustratos a través de enlace de hidrógeno (como donadores y/o aceptores); los grupos carboxilo a valores básicos de pH se encuentran como carboxilatos, de tal manera que proporcionan, además de un aumento de la solubilidad en soluciones acuosas, sitios potenciales de unión mediante interacciones electrostáticas; adicionalmente, la naturaleza aromática de la cavidad les otorga capacidad para aumentar la fuerza del complejo formado por efecto hidrofóbico e interacciones  $\pi - \pi$ .

Aunado a las características anteriores, y debido a los grupos amina y amida, los receptores presentan un alta afinidad por cationes metálicos divalentes, particularmente por iones  $\text{Cu}^{2+}$ , con lo cual se abre la posibilidad de aplicaciones prácticas, ya sea como *sensores moleculares selectivos* de iones metálicos de transición [7,12,18], o como *agentes de extracción de metales* [12]. Además, los ciclofanos poseen dos centros de coordinación metálicos (las dos subunidades EDTA) por lo que son capaces de enlazar simultáneamente dos iones metálicos, de





**Ciclofano 1:** 2,9,25,32-tetraoxo-4,7,27,30-tetrakis(carboximetil)-1,4,7,10,24,27,30,33-octaaza-17,40-dioxa[10.1.10.1]paraciclofano.



**Ciclofano 2:** 2,9,25,32-tetraoxo-4,7,27,30-tetrakis(carboximetil)-1,4,7,10,24,27,30,33-octaaza[10.1.10.1]paraciclofano

Figura I. Receptores macrocíclicos tipo ciclofano sintetizados en la presente investigación.

tal manera que otro aspecto interesante a estudiar es la interacción de los centros metálicos en el complejo binuclear [19], lo que a su vez podría proporcionar información acerca del funcionamiento de este tipo de compuestos que se encuentran en la naturaleza, como es el caso de varias metaloenzimas [20,21]. De especial interés para el desarrollo de estas investigaciones resultan los ligandos que puedan variar sus propiedades de coordinación en función de las condiciones de pH, solvente, temperatura, etc. Basados en los cuatro grupos amida de su estructura anular, los ciclofanos 1 y 2 pueden variar sus propiedades de coordinación dependiendo del pH del medio.

Por último, la capacidad de los ciclofanos sintetizados para enlazar tanto a sustratos orgánicos, como a iones metálicos de transición, ofrece la perspectiva de obtener *metalorreceptores*, compuestos que funcionan como correceptores que combinan adecuadamente sitios de unión para enlazar tanto sustratos orgánicos como cationes metálicos, formando de esta manera supermoléculas con sustratos mixtos [6,22,23]. Existen dos aspectos importantes en los metalorreceptores: (1) las interacciones que se pueden llevar a cabo entre el ion metálico y el sustrato orgánico enlazado y, (2) la regulación de las propiedades físicas y químicas del receptor (como el tamaño de la cavidad y, por lo tanto, la selectividad), lo cual le proporciona a los metalorreceptores potencialidad para llevar a cabo funciones propias de los sistemas enzimáticos, tales como la cooperatividad y los efectos alostéricos.

Debido a la extensión del trabajo, y con fines exclusivamente de organización del mismo, dividimos la presentación de las investigaciones realizadas en tres capítulos: (1) la síntesis y caracterización de los ciclofanos; (2) los estudios de reconocimiento molecular de los receptores hacia sustratos de interés bioquímico; y (3) el estudio de los efectos de la formación de complejos metálicos con iones cobre(II), sobre las características estructurales y espectroscópicas de los receptores.



En la primer etapa de la investigación, los dos nuevos receptores tipo ciclofano fueron sintetizados por medio de las reacciones de ciclización entre etilendiaminotetracético (EDTA) dianhídrido y las diaminas aromáticas bis(4-aminofenil) éter (ciclofano 1) o bis(4-aminofenil)metano (ciclofano 2). La obtención de los receptores fue confirmada por el análisis elemental, así como por la interpretación de sus espectros de masas, resonancia magnética nuclear de protón (RMN<sup>1</sup>H) y de carbono (RMN <sup>13</sup>C), infrarrojo y ultravioleta.

En los estudios de reconocimiento molecular se obtuvieron, mediante titulación espectroscópica de RMN <sup>1</sup>H en solución acuosa, las constantes de asociación de los receptores con los sustratos fenetilamina, tiramina y dopamina. Los resultados indican la formación de complejos de inclusión estables, presentando mayor estabilidad los complejos de ciclofano 2.

En la tercer investigación se formaron los complejos de Cu(II) de ambos ciclofanos, en donde la geometría de coordinación (octaédrica o cuadrada plana) depende del pH de la solución. A valores altos de pH la coordinación del metal es mediante los nitrógenos amida desprotonados de los ciclofanos, lo cual origina la contracción de la cavidad de los receptores, provocando la formación de bandas de transiciones  $\pi - \pi^*$  inusuales para grupos aromáticos, que son originadas por la proximidad de los sistemas  $\pi$  y la transferencia de carga metal - ligando.

Sus características estructurales, así como su capacidad de reconocimiento molecular hacia sustratos orgánicos en solución acuosa y su afinidad para formar complejos metálicos binucleares que modifican las propiedades de los ligandos libres, ubican a los macrocíclicos tipo ciclofano sintetizados en la presente tesis como receptores artificiales muy útiles para las investigaciones sobre reconocimiento molecular de compuestos de interés bioquímico, así como potenciales sensores moleculares tanto para iones metálicos como para sustratos orgánicos.



## CAPÍTULO 1

# SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE LOS CICLOFANOS 1 Y 2.

## 1.1 Antecedentes y Significancia de los Receptores Artificiales.

### 1.1.1 Importancia de la Síntesis de Receptores Artificiales.

Con el fin de imitar las estrategias del reconocimiento molecular de los sistemas biológicos, se han desarrollado receptores con características similares a las moléculas naturales que son capaces de llevar el fenómeno de reconocimiento molecular, el cual se basa en una reacción de alta selectividad entre un sustrato y un receptor [1-9]. Esta selectividad se da por la complementariedad que existe entre ellos tanto en *forma y tamaño* así como en sus *características químicas* [1-9,24].

Las enzimas son un ejemplo típico de biomoléculas receptoras. Su estructura molecular bien definida les confiere dos factores de suma importancia para la alta selectividad: el primero es su capacidad para discriminar entre sustratos: solamente se unen a ellas sustratos que se complementen con la cavidad de la enzima; el segundo factor consiste en efectos de proximidad y orientación: el sustrato unido es inmovilizado y el sitio de reacción asume una relación de posición y orientación bien definida con el grupo reactivo de la enzima, para que la reacción sea promovida cuando la relación es favorable, o sea inhibida cuando la relación es desfavorable [14,25].

El estudio de los mecanismos a través de los cuales se realizan los procesos que, como la cinética enzimática, dependen del reconocimiento molecular, permite una mejor comprensión del funcionamiento de los sistemas biológicos y la generación de receptores artificiales con las propiedades observadas en los sistemas biológicos [1-9].

Como se indicó anteriormente, en los estudios de reconocimiento molecular que utilizan sistemas artificiales, las estructuras dominantes son los compuestos macrocíclicos, los cuales poseen los requerimientos para funcionar como receptores artificiales: son grandes y por lo tanto pueden contener cavidades de forma y tamaño apropiado para efectuar el reconocimiento molecular; pueden poseer numerosas

ramificaciones, puentes y conexiones, lo que permite su construcción con características dinámicas; además permiten la ubicación arbitraria de grupos estructurales, sitios de enlace y grupos funcionales reactivos [1-17].

Las investigaciones en este nuevo campo de la química se han centrado principalmente en determinar cuales son las características estructurales responsables de que ocurran los procesos bioquímicos. Se han sintetizado un buen número de sistemas modelo basados en compuestos macrocíclicos, en donde se ha tenido éxito, por ejemplo, en incrementar las velocidades de reacción en catálisis [26-27], en acelerar las velocidades de transporte [28], en separaciones enantioméricas [29], entre varias otras funciones específicas. A pesar de no ser tan eficientes como los sistemas naturales, si constituyen un gran avance para profundizar en el entendimiento de los mecanismos a través de los cuales los sistemas biológicos llevan a cabo estos procesos.

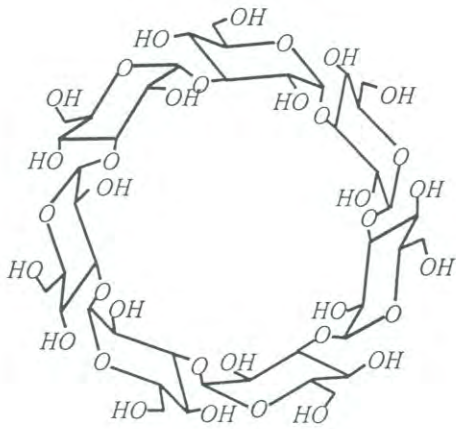
### 1.1.2 Compuestos Macrocíclicos.

Los compuestos macrocíclicos constituyen un amplio espectro de compuestos que comprenden sustancias artificiales y naturales. Este tipo de estructuras son las que utiliza la naturaleza para formar los complejos que llevan a cabo procesos biológicos esenciales, tal como el transporte de oxígeno por medio de la hemoglobina.

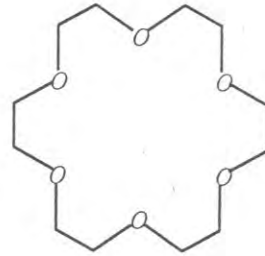
Los macrocíclicos más utilizados en estudios de reconocimiento molecular son las ciclodextrinas, los éteres corona, los macrocíclicos poliaza y los ciclofanos [1-12]. Estructuras representativas de estas familias de macrocíclicos se presentan en la figura 1.1.

Las ciclodextrinas son oligosacáridos naturales de estructura rígida y forma de balde que tienen un interior hidrofóbico y un exterior hidrofílico, lo que les permite actuar como receptores de moléculas orgánicas en solución acuosa; fueron los

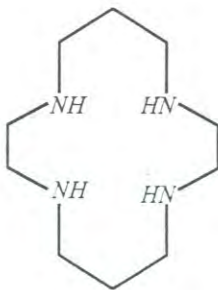




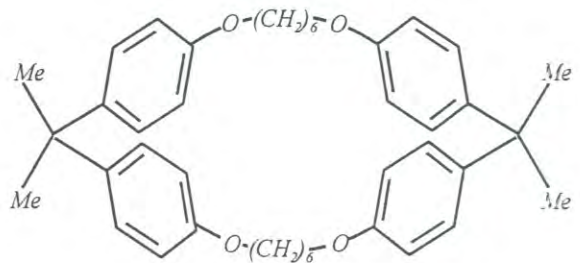
$\beta$ -ciclodextrina



Éter Corona: 18-Corona-6(18C6)



Poliaza: Ciclam



Ciclofano

Figura 1.1 Compuestos macrocíclicos más utilizados en los estudios de reconocimiento molecular

primeros compuestos que se estudiaron con la intención de observar su capacidad de formar complejos supramoleculares [1,30,31].

Dentro de los macrocíclicos artificiales se encuentran los polioxacicloalcanos, llamados comúnmente éteres corona, los cuales son polímeros cíclicos de etilén glicol,  $(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n$ , y se nombran de la forma *x*-corona-*y*, donde *y* es el número de oxígenos y *x* representa el número total de átomos en el anillo. La característica principal de los éteres corona es su facilidad para acomplejar fuertemente los cationes de metales alcalinos [12,32]. El más conocido de estos compuestos es el 18-Corona-6 (18C6), sintetizado por Pedersen en 1967 (Figura 1.1). Los seis oxígenos en este macrocíclico están situados idealmente para solvatar un catión potasio, exactamente igual que lo harían las moléculas de agua. En el complejo resultante el catión es solvatado por los oxígenos, pero el exterior de la molécula tiene propiedades de hidrocarburo. Como resultado, el ion acomplejado es soluble en disolventes orgánicos no polares. Por ejemplo, el complejo de 18-Corona-6 con el permanganato potásico es soluble en benceno [33].

Entre los macrocíclicos sintéticos también se encuentran los macrocíclicos poliaza, que es la clase más grande y la más diversa entre los compuestos macrocíclicos [12]. Esto es debido a que los grupos que contienen nitrógeno pueden ser de varios tipos : grupos amino secundario y terciario, pirrol, piridino, amonio y otros grupos. Además, todos estos tipos de nitrógeno se pueden encontrar en el mismo compuesto macrocíclico. Los átomos de nitrógeno también se pueden incluir en un macrocíclico en fragmentos de tiourea, guanina, amida y compuestos aza. El representante más prominente de los macrocíclicos poliaza es el 1,4,8,11-tetraazaciclotetradecano, mejor conocido como ciclám (figura 1.1) [12].

Los ciclofanos son la contraparte sintética de las ciclodextrinas y, al igual que ellas, contienen cavidades rígidas que gracias a los métodos sintéticos se pueden ajustar en forma y tamaño, además de que se le pueden introducir grupos



funcionales que le proporcionen mayor capacidad de exhibir reconocimiento molecular, razón por la cual han despertado un gran interés en los últimos años [13-15].

### 1.1.3 Macrocíclicos Tipo Ciclofano

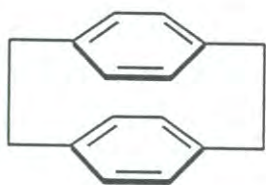
Por definición, cualquier molécula cíclica que contenga al menos un anillo aromático unido en puente por al menos una unidad alifática es considerada como ciclofano [13-15,34], nombre que proviene de la contracción de las palabras en inglés: *Cyclophenylene alkane* [35]. La figura 1.2 muestra algunos ejemplos típicos de este tipo de compuestos.

Como indicó anteriormente, los ciclofanos representan la *clase central* de receptores sintéticos en el área del reconocimiento molecular, ya que prácticamente todos los tipos de sustratos, desde cationes y aniones orgánicos e inorgánicos, hasta moléculas neutras han sido acomplejados exitosamente por medio de receptores tipo ciclofano [1-9,13-15,34-36].

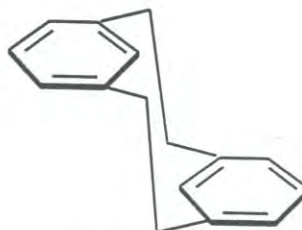
Esta sobresaliente característica de los ciclofanos se debe a que son capaces de satisfacer, en mayor o menor medida, todos los requerimientos que debe cumplir un receptor artificial para enlazar a un sustrato [36]:

- (i) debe sintetizarse por un método relativamente sencillo, a partir de reactivos fácilmente disponibles.
- (ii) debe mostrar selectividad al enlazar las moléculas huésped en base a su constitución y configuración (reconocimiento molecular).
- (iii) debe ser químicamente estable.
- (iv) debe contener sitios para la introducción de grupos catalíticos o de sitios de reconocimiento adicionales.
- (v) para su eventual aplicación debe tener la posibilidad de unirse a polímeros.

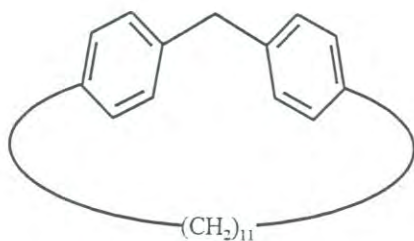




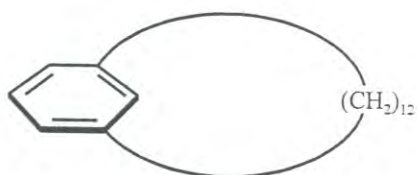
[2.2]Paraciclofano



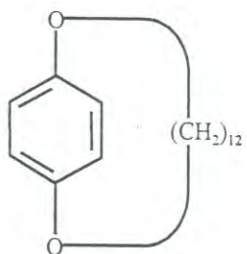
[2.2]Metaciclofano



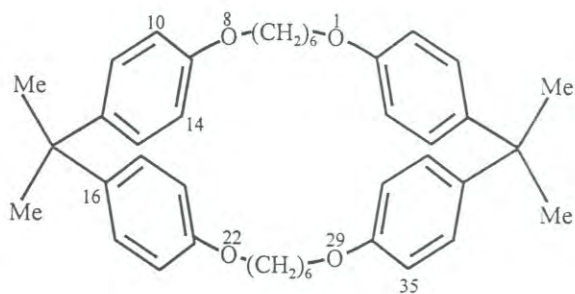
[11.1]Paraciclofano



[12]Metaciclofano



1,14-Dioxa[14]paraciclofano



15,15,36,36-tetrametil-1,8,22,29-tetraoxa[8.1.8.1]paraciclofano

Figura 1.2 Ejemplos típicos de compuestos macrocíclicos tipo ciclofano.

Fuente: [13]

Los avances en las investigaciones de las aplicaciones potenciales de los ciclofanos (y de otros macrocíclicos) como receptores artificiales son muy prometedores. A la fecha, se ha logrado un avance significativo al aumentar nuestros conocimientos en torno a cuestiones específicas vinculadas a propiedades químicas, electrónicas, espectroscópicas, magnéticas, e inclusive, acerca de los mecanismos a través de los cuales funcionan los sistemas que estos modelos simulan.

#### 1.1.4 Métodos de Síntesis de Compuestos Macrocíclicos

La formación del anillo es la etapa clave en la síntesis de un compuesto macrocíclico. Actualmente contamos con dos diferentes opciones para la formación de un macroanillo [12,37]: (i) La ciclización de un precursor apropiado de cadena abierta:



(ii) La formación de un compuesto macrocíclico a partir de dos fragmentos (denominada condensación).



Por otra parte, un compuesto macrocíclico se puede formar por la unión de: (i) dos heteroátomos, (ii) un heteroátomo y un átomo de carbono y (iii) dos átomos de carbono [12,37].

Los métodos (i) y (iii) son poco frecuentes, de tal manera que casi todas las síntesis están basadas en el método (ii), esto es, en la formación de un enlace entre un átomo de carbono y un heteroátomo. Además, todos los macrocíclicos sintetizados hasta la fecha son productos del mismo tipo de reacción: sustitución nucleofílica. Un heteroátomo (oxígeno, nitrógeno, azufre, fósforo, etc.) se comporta como la unidad nucleofílica en esta reacción, mientras que el átomo de carbono es un centro electrofílico.

Dos problemas requieren solución para tener éxito en el curso de la macrociclización [12,37]. Primero, la reactividad de los reactantes debe ser aumentada. Esto puede llevarse a cabo con el incremento, ya sea de la nucleofilidad de los grupos unidos al heteroátomo, o bien, de las tendencias electrofílicas del átomo de carbono.

El segundo problema a resolver en la síntesis de macrocíclicos es la necesidad de disminuir la oligomerización lineal de los reactantes. Este proceso puede ocurrir debido a que los reactivos son, invariablemente, dos compuestos bifuncionales. Se dispone de algunos métodos para la solución de este problema, destacando el método de alta dilución, el método de reacciones templadas y el método de control conformacional, los cuales se explican brevemente a continuación.

Método de alta dilución. El fundamento de este método es que en soluciones suficientemente diluidas, es más probable que se lleve a cabo una reacción intramolecular, la cual conducirá a la formación de un macrocíclico, que una reacción intermolecular, de la que se obtendría un polímero [12,37,38]. La reacción de ciclización uno a uno (1:1), entre dos moléculas reaccionantes de diferente clase, por ejemplo, entre un ácido y una amina, no es un proceso simultáneo sino que es una



secuencia de dos reacciones. La primera etapa es una reacción intermolecular que involucra a dos de los grupos funcionales reaccionantes, mientras que la segunda etapa es una reacción intramolecular entre los otros dos grupos. Solamente con reacciones rápidas e irreversibles puede llevarse a cabo con éxito la ciclización bajo las condiciones de alta dilución.

El método de alta dilución también se aplica a la ciclización de moléculas bifuncionales lineales.

Las reacciones de ciclización se llevan a cabo por la adición simultánea de las soluciones de los dos componentes dentro de un gran volumen de solvente puro con agitación vigorosa. Cuando la condensación es intramolecular, el precursor de cadena abierta es adicionado lentamente a un gran volumen de solvente el cual contiene una sustancia iniciadora o promotora de la ciclización. Las características específicas del proceso (temperatura, volúmenes de solución y del solvente, concentración inicial de los reactivos, etc.) dependen en gran medida del tipo de reacción de ciclización que se este llevando a cabo.

El método de alta dilución ofrece algunas ventajas: la reacción procede por la ruta apropiada; se pueden sintetizar macrocíclicos del tipo y tamaño deseados; y se pueden obtener estructuras bi- y policíclicas utilizando un macrocíclico adecuado como uno de los reactivos iniciales. La única desventaja notable que presenta es que se obtiene producto en cantidades relativamente bajas comparadas al volumen de la mezcla de reacción.

Método de reacciones templadas. Las reacciones templadas son llevadas a cabo en presencia de iones metálicos, los cuales activan y orientan, por medio de la complejación, a uno de los componentes de la reacción de macrociclización [12,37]. El efecto del templado es empleado en la síntesis de éteres corona, y se puede aumentar notablemente el rendimiento del compuesto deseado por la selección apropiada del metal catiónico. Este efecto es ampliamente aplicado en la

síntesis de bases de Schiff macrocíclicas, las cuales producen solamente productos poliméricos en ausencia de iones metálicos. Los compuestos macrocíclicos sintetizados por el método templado siempre exhiben habilidad para formar complejos, lo cual es el resultado del método de síntesis. El método presenta algunas desventajas, entre las que sobresalen las siguientes :

- a) El mecanismo de condensación es ambiguo. Cuando una reacción templada puede producir varios compuestos con el mismo tamaño de anillo e idénticos grupos funcionales, normalmente se obtiene una mezcla de todos los isómeros posibles.
- b) Usualmente el producto que se obtiene es un complejo del macrocíclico con el ion metálico. Frecuentemente no es posible separar el ligando puro del complejo.
- c) Cambios diminutos en la estructura de los reactivos hacen imposible la formación del macrocíclico. Las estructuras de los productos de las reacciones templadas son difícil de predecir. Hasta el momento, hay muy pocas guías confiables para la elección del ion metálico adecuado para una reacción templada específica.

Método de control conformacional. Varias ciclizaciones pueden llevarse a cabo exitosamente en soluciones concentradas, aún en ausencia de un ion que guíe la ciclización, ya que las conformaciones de los reactivos iniciales favorecen solo una de todas las posibles reacciones [12]. Los participantes de las reacciones controladas conformacionalmente son compuestos que en su mayoría poseen estructuras rígidas, y las distancias entre los grupos de condensación en los dos componentes reactivos generalmente son iguales. Todas las síntesis de porfirinas y ftalocianinas son llevadas a cabo por este método, obteniendo altos rendimientos.



### 1.1.5 Diseño de Nuevos Ciclofanos Aniónicos.

#### 1.1.5.1. Antecedentes.

El Departamento de Investigación en Polímeros y Materiales tiene como una de sus principales líneas de investigación la síntesis de compuestos macrocíclicos que actúan como receptores de iones específicos. En estos estudios se han obtenido, mediante la condensación entre alquildiaminas y etilendiaminotetraacético (EDTA) dianhídrido o dietilentriaminopentaacético (DTPA) dianhídrido, una nueva serie de ligandos macrocíclicos con grupos carboximetil pendientes [39-44]. Con el uso de diaminas aromáticas en lugar de alquildiaminas se pretende obtener una variedad de nuevos macrocíclicos tipo ciclofano los cuales se caracterizan por poseer anillos aromáticos en su esqueleto anular, y por ser capaces de actuar como receptores tanto de iones orgánicos e inorgánicos como de moléculas orgánicas neutras en medio acuoso o en solventes orgánicos.

Particularmente, en el presente trabajo se pretende utilizar como diaminas aromáticas bis(4-aminofenil) éter y bis(4-aminofenil)metano para obtener los **ciclofanos 1 y 2**, mediante la reacción señalada en el esquema de la figura 1.3. En virtud de que los reactantes son bifuncionalizados, la síntesis se llevó a cabo bajo el principio de alta dilución a fin de evitar la polimerización y favorecer la reacción de ciclización. Debido a los tamaños relativos de los reactantes se descarta la formación del producto de condensación 1:1, esperándose obtener el producto de la condensación 2:2.

#### 1.1.5.2. Características Químicas de los Ciclofanos 1 y 2.

Los receptores poseen cuatro grupos fenilo en el sistema anular, los cuales son introducidos para proporcionar una cavidad hidrofóbica rígida, capaz de formar complejos de inclusión estables con sustratos aromáticos mediante efecto hidrofóbico e interacciones  $\pi - \pi$ ; además, los grupos funcionales de los ligandos (amino y amida en el esqueleto del macrociclo y carboxilatos como brazos



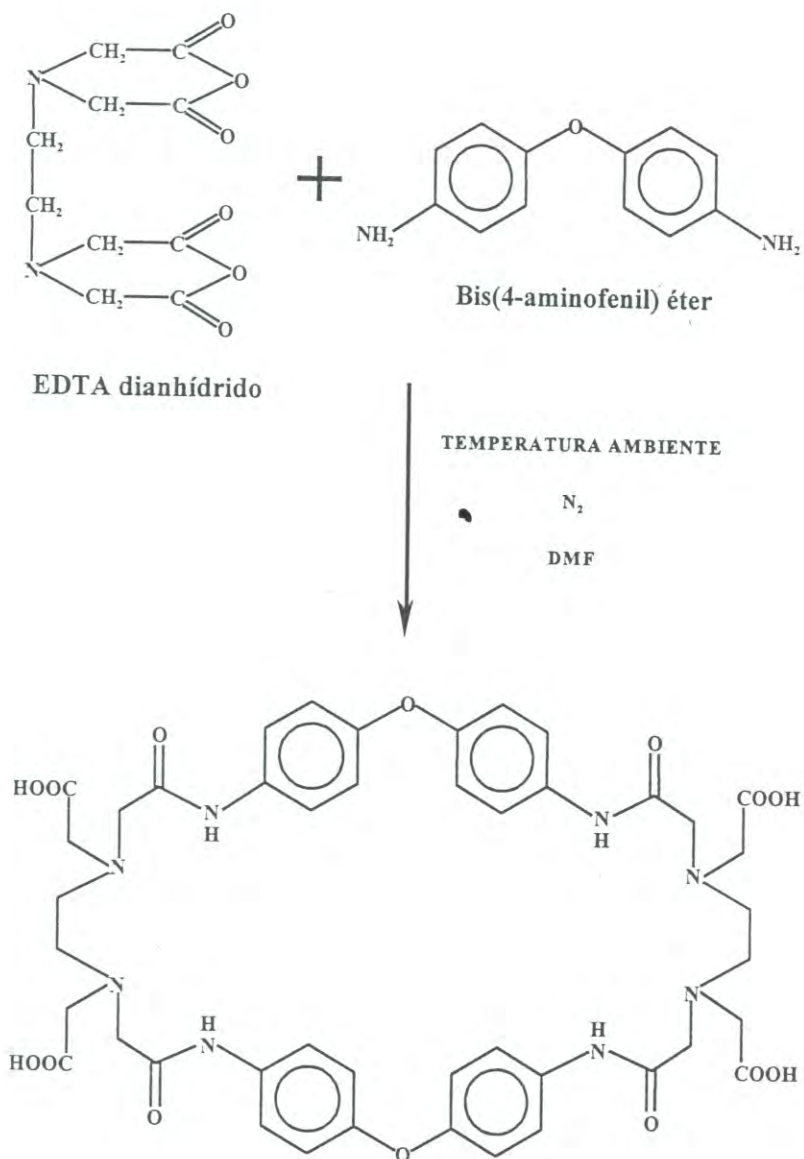


Figura 1.3 Esquema de la reacción de síntesis de Ciclofano 1.

pendientes) son sitios potenciales de reconocimiento molecular via interacciones electrostáticas y/o enlaces de hidrógeno [45,46]. La combinación de estas características convierte los ciclofanos 1 y 2 especialmente útiles para el enlace de cationes aromáticos, lo cual es una característica sobresaliente, en virtud de la relativamente baja cantidad de receptores diseñados para la complejación de cationes orgánicos, a pesar del importante rol que los sustratos catiónicos desempeñan en química y biología.

Otra característica importante de los ciclofanos 1 y 2 es su solubilidad en agua. Una de las principales metas de los estudios de reconocimiento molecular es conocer detalladamente las fuerzas y los mecanismos que controlan los procesos biológicos; para este fin, los receptores sintetizados deben presentar una aceptable solubilidad en medios acuosos, ya que el agua es el solvente de las reacciones bioquímicas. Por lo tanto, en los receptores tipo ciclofano, es necesario la incorporación en su estructura de grupos hidrofílicos apropiados. Con esta intención, se han sintetizado varios ciclofanos con centros de amonio cuaternarios [13-15,28,31] o con grupos carboxilatos [31] incorporados a la cavidad del macrociclo; sin embargo, ese diseño puede perturbar el carácter hidrofóbico de los sitios de enlaces para los sustratos. En los ciclofanos 1 y 2, la solubilidad en agua la proporcionan los cuatro grupos carboxilatos colocados como brazos pendientes, lejos de la cavidad del macrociclo; de esta manera es posible realizar investigaciones sobre la naturaleza y fuerza de las interacciones apolares en el complejo receptor-huésped, así como el papel que desempeña el efecto hidrofóbico en la formación del complejo.

Aunado a lo anterior, el número y disposición de los diferentes tipos de grupos donadores en los ciclofanos, los ubica como ligandos apropiados para la formación de complejos binucleares de iones de metales de transición con interesantes propiedades químicas y espectroscópicas [12,19,39-44,47].



## 1.2 Experimental.

### 1.2.1 Síntesis

Para llevar a cabo la reacción de síntesis de ambos ciclofanos se utilizó el sistema que se muestra en la figura 1.4, el cual consta de un matraz de tres bocas (a), un embudo de adición (b), un refrigerante (c), un sistema para entrada de nitrógeno (d) y un agitador magnético (e).

En la síntesis del ciclofano 1, en el matraz (a) se suspendieron 3.0027 gr (0.0117 moles) de EDTA dianhídrido en 300 ml de dimetilformamida (DMF), mientras que en el embudo (b) se colocó una solución que contenía 2.3455 gr (0.0117 moles) de bis(4-aminofenil) éter en 60 ml de DMF. Esta última solución fue agregada gota a gota al matraz de reacción durante dos horas, a una velocidad de aproximadamente 1 gota cada 5 segundos, para conservar el principio de alta dilución. La reacción fue llevada a cabo a temperatura ambiente, bajo una atmósfera de nitrógeno, manteniéndose en agitación magnética durante el transcurso del goteo y 20 horas más después de concluido el mismo. Transcurrido este tiempo, la solución obtenida se filtró a vacío con el fin de separar el residuo sólido (EDTA sin reaccionar y polímero formado en la reacción). El filtrado amarillo claro se concentró mediante evaporación del solvente en rotavapor a 40°C hasta obtener un líquido viscoso de color ámbar, al que le fue agregado acetona, quedando en reposo durante toda la noche. El sólido café claro obtenido se filtró y se dejó secando en una estufa a vacío durante aproximadamente tres horas. Para la purificación del ciclofano 1 se procedió a formar su sal de litio, para lo cual el producto crudo se suspendió en agua y se le agregó  $\text{Li}_2\text{CO}_3$  en relación molar 2:1 (litio/receptor); el proceso se llevó a cabo en agitación constante y se aplicó un poco de calentamiento (~40°C) para solubilizar por completo el sólido; una vez obtenida la solución, se filtró y el filtrado obtenido se concentró en rotavapor; el sólido blanco formado se purificó por recristalizaciones repetidas de soluciones acuosas de la sal

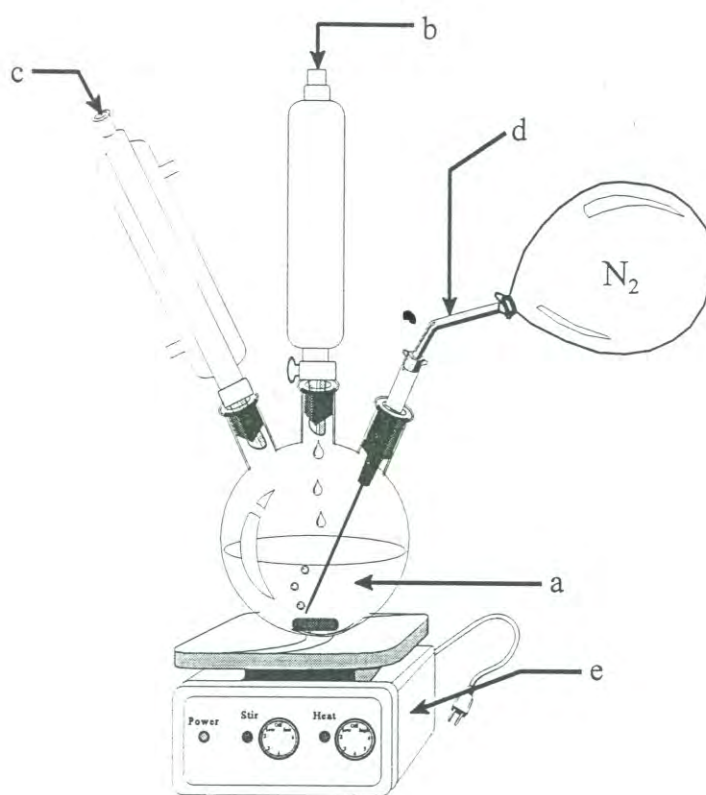


Figura 1.4 Esquema del equipo utilizado para la reacción de síntesis de los Ciclofanos 1 y 2.



de litio. Una solución de la sal de litio de **Ciclofano 1** purificada, se acidificó a  $\text{pH} \approx 3$  con HCl diluido obteniéndose la forma ácida del receptor como un precipitado de color blanco, el cual fue separado de la solución mediante centrifugación y secado en estufa de vacío a  $40^\circ\text{C}$ . El esquema del proceso se presenta en la figura 1.5.

El Ciclofano 2 fue sintetizado esencialmente por el mismo método del ciclofano 1, usando bis(4-aminofenil)metano como diamina aromática en vez de bis(4-aminofenil) éter. Las cantidades utilizadas fueron: 1.9966 gr (0.008 moles) de EDTA dianhidrido y 1.5546 gr (0.008 moles) de bis(4-aminofenil)metano. La purificación se llevó a cabo por recristalización del producto de interés a partir de una solución acuosa de etanol al 50% (v/v) de la sal de litio del producto de reacción.

#### 1.2.2 Análisis Elemental.

Para la determinación de los porcentajes de carbono, hidrógeno y nitrógeno, el producto de la síntesis de ambos receptores se envió a los Laboratorios Desert Analytics de Tucson, Arizona, U.S.A.

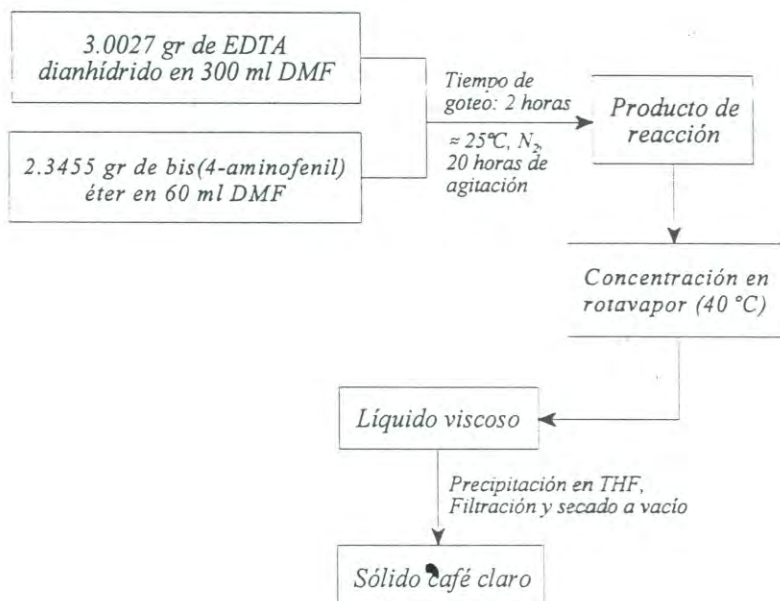
#### 1.2.3 Espectroscopía de Masas mediante Ionización por Electroaspersión.

Los espectros de masas se obtuvieron en los laboratorios de la Universidad de Arizona, en un espectrómetro JEOL HX 110A con muestras de soluciones de los ciclofanos preparadas en mezcla de solventes amoniaco-metanol (5:95).

#### 1.2.4 Espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) $^1\text{H}$ y $^{13}\text{C}$ .

Para la obtención de los espectros de RMN de los dos receptores se utilizó un espectrómetro de resonancia magnética nuclear BRUKER AM 250, en los laboratorios de la Universidad de Arizona. Las muestras de los receptores se disolvieron en agua deuterada mediante la adición de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  y se utilizó como estándar de referencia 3-(trimetilsilil)-1-propanosulfonato de sodio (DSS). Aunque

## (a) síntesis de Ciclofano 1



## (b) formación de la sal de litio



## (c) purificación de Ciclofano 1



Figura 1.5 Diagrama de flujo para: (a) síntesis de Ciclofano 1, (b) formación de la sal de litio y (c) purificación de Ciclofano 1.



los ciclofanos se encuentran cargados negativamente, se utilizó DSS como referencia interna debido a que los desplazamientos químicos no se ven afectados por la concentración del DSS: los desplazamientos de las señales de los ciclofanos ( $5 \text{ mmol dm}^{-3}$ ) a concentraciones de DSS  $0.2$  y  $5 \text{ mmol dm}^{-3}$  fueron prácticamente iguales dentro de un rango de  $0.004$  ppm.

Los valores de pH de las soluciones de las muestras fueron determinadas en un medidor de pH Beckman Phi 72 equipado con un electrodo marca Aldrich (referencia: calomel). Las mediciones se efectuaron después de obtener el espectro de RMN, y se convirtieron a valores de pD mediante la utilización de la ecuación  $\text{pD} = \text{pH}_{\text{medido}} + 0.4$  [48].

### 1.3 Resultados.

Dos nuevos receptores macrocíclicos: 2,9,25,32-tetraoxo-4,7,27,30-tetrakis(carboximetil)-1,4,7,10,24,27,30,33-octaaza-17,40-dioxa[10.1.10.1]paraciclofano (**ciclofano 1**) y 2,9,25,32-tetraoxo-4,7,27,30-tetrakis(carboximetil)-1,4,7,10,24,27,30,33-octaaza[10.1.10.1]paraciclofano (**ciclofano 2**), fueron sintetizados por la reacción de condensación entre EDTA dianhídrido y las diaminas aromáticas bis(4-aminofenil) éter y bis(4-aminofenil)metano, respectivamente. Los rendimientos para los productos purificados fueron de  $25\%$  para el ciclofano 1 y  $10\%$  para el ciclofano 2. La formación de los dos receptores fue confirmada por los resultados del análisis elemental, de los espectros de IR, RMN  $^1\text{H}$ , RMN  $^{13}\text{C}$  y por espectroscopía de masas de ionización por electroaspersión.

Los resultados del análisis elemental fueron los siguientes:  $\text{C}=57.17\%$ ,  $\text{H}=5.52\%$  y  $\text{N}=12.02\%$  para el ciclofano 1; y  $\text{C}=58.76\%$ ,  $\text{H}=5.64\%$  y  $\text{N}=11.83\%$  para el ciclofano 2. Estos valores coinciden con las fórmulas  $\text{C}_{44}\text{H}_{48}\text{N}_8\text{O}_{14}\cdot\text{H}_2\text{O}$  (calculado:  $\text{C}=56.78\%$ ,  $\text{H}=5.41\%$  y  $\text{N}=12.03\%$ ) para ciclofano 1; y  $\text{C}_{46}\text{H}_{52}\text{N}_8\text{O}_{12}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (calculado:  $\text{C}=58.46\%$ ,  $\text{H}=5.97\%$  y  $\text{N}=11.86\%$ ) para ciclofano 2.

Los nuevos ciclofanos en su forma ácida resultaron prácticamente insolubles en agua, así como en la mayoría de los solventes orgánicos comunes (etanol, acetona, tetracloruro de carbono y benceno). Sin embargo, la sal de sodio del ciclofano 1 es altamente soluble en soluciones acuosas; la sal de sodio del ciclofano 2 es menos soluble en agua pero lo suficiente para la obtención de los espectros de RMN.

### 1.3.1 Espectroscopía de masas de ionización por electroaspersión (ESI-MS).

La característica común de los espectrómetros de masas es la utilización de campos eléctricos o magnéticos para ionizar la muestra y separar los iones formados de acuerdo a su relación masa - carga eléctrica ( $m/z$ ) [49-52]. La efectividad del análisis se encuentra íntimamente relacionada con el método por el cual la muestra es convertida a iones e introducida al espectrómetro para la separación  $m/z$  [49,50].

La ionización por electroaspersión se distingue de otras formas de ionización por impartir cargas múltiples a moléculas grandes, manteniendo sin fragmentación los iones moleculares formados [50]. La cantidad de cargas eléctricas introducidas a la molécula es proporcional al peso molecular de la misma; de esta manera, los iones moleculares resultantes se encuentran dentro del rango de valores de  $m/z$  donde los espectrómetros de masas funcionan adecuadamente.

La ESI-MS ha sido utilizada para estudiar un amplio rango de compuestos de alto peso molecular que incluyen proteínas [51], nucleótidos [51], polímeros sintéticos [52] y complejos de metales de transición [52]. En la mayoría de los casos, las cargas eléctricas son generadas por la protonación de sitios básicos (grupos amino, por ejemplo) o por la desprotonación de sitios ácidos (como los grupos carboxilo).



### Interpretación de los espectros ESI - MS.

Cada pico en el espectro de ESI -MS representa la forma molecular de la muestra y difiere del pico vecino solo en el número de protones removidos (o unidos) y, por lo tanto, en la carga eléctrica del ion formado [50]. En el caso de formación de iones negativos, los picos individuales pueden ser denotados como  $(M - nH)^{n-}$  donde M es la molécula neutra y n es el número de protones removidos. De esta forma, el número de carga ( Z ) del ión asignado a cada pico puede calcularse mediante un algoritmo relativamente sencillo [50], a partir de la selección de dos de los picos del espectro. La ecuación para el cálculo es la siguiente:

$$Z_M = \frac{(m/z)_A}{\frac{(m/z)_A - (m/z)_M}{n}}$$

donde  $Z_M$  representa la carga eléctrica del pico seleccionado de menor valor de la relación  $(m/z)$ , denominado en la ecuación como  $(m/z)_M$ ; y n representa el número de picos que separan a  $(m/z)_M$  del pico seleccionado de mayor  $(m/z)$ , denominado  $(m/z)_A$ .

Una vez conocida la carga del pico seleccionado, la carga eléctrica de los picos restantes puede calcularse por simple adición o sustracción; o bien, puede calcularse de la misma forma anterior tomando otro pico para introducirlo a la ecuación.

A partir de la carga calculada (Z) y del valor de  $(m/z)$ , la masa iónica  $m_i$  se obtiene fácilmente:

$$m_i = (m/z) \times Z$$

así como el peso molecular correspondiente a la molécula neutra (M):

$$M = ( (m/z) \times Z ) \pm nM_a$$

donde n y  $M_a$  son, respectivamente, el número de aductos cargados y la masa del aducto cargado. En este caso  $M_a = 1.007$ , ya que los protones son los aductos cargados. El peso molecular de la molécula neutra normalmente se calcula a partir del promedio de las masas moleculares calculadas para cada pico.

Los espectros de ESI - MS de los ciclofanos 1 y 2 se presentan en las figuras 1.6 y 1.7. Los picos de mayor intensidad para el ciclofano 1 se presentan a valores de (m / z) de 911.5 (6% respecto al pico de mayor intensidad), 455.4 (67%) y 303.1 (100%), los cuales coinciden con los valores esperados para los iones  $(M - H)^-$ ,  $(M - 2H)^{2-}$  y  $(M - 3H)^{3-}$ , respectivamente.

El espectro ESI - MS para el ciclofano 2 nos da valores para (m/z) de 907.6 [ $(M - H)^-$ , 7%], 453.3 [ $(M - 2H)^{2-}$ , 62%] y 301.8 [ $(M - 3H)^{3-}$ , 100%].

Los resultados obtenidos para ambos ciclofanos nos confirman la formación del producto de condensación 2:2.

### 1.3.2 Resonancia Magnética Nuclear de Protón (RMN $^1H$ )

#### 1.3.2.1 Asignación de las Señales.

Ciclofano1. El espectro de RMN  $^1H$  del ciclofano 1 y la asignación de cada una de las señales se muestran en la figura 1.8, la cual se explica a continuación:

A desplazamientos químicos de 7.20 (8H, J=8.9 Hz) y 6.84 ppm (8H, J=8.9 Hz) se observan dos dobletes, los cuales son asignados a los protones (d) y (e) de los grupos fenilo. La posición a campos bajos del espectro de los protones aromáticos se debe al efecto de la corriente anular del anillo de benceno [53]. La diferencia en desplazamiento químico de los protones (d) y (e) obedece a efectos del



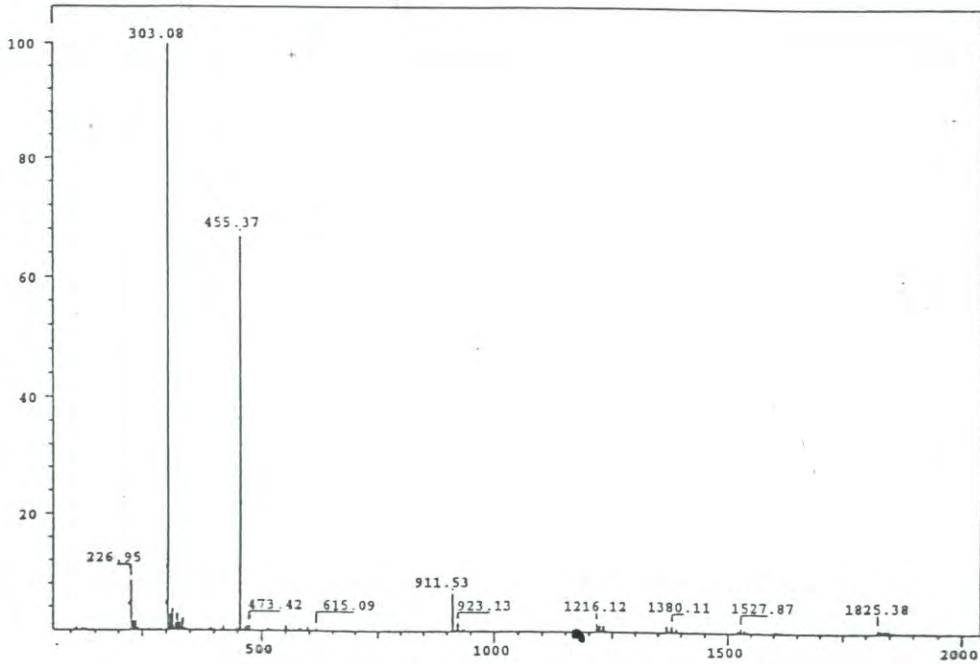


Figura 1.6 Espectro de masas de ionización por electroaspersión de Ciclofano 1.

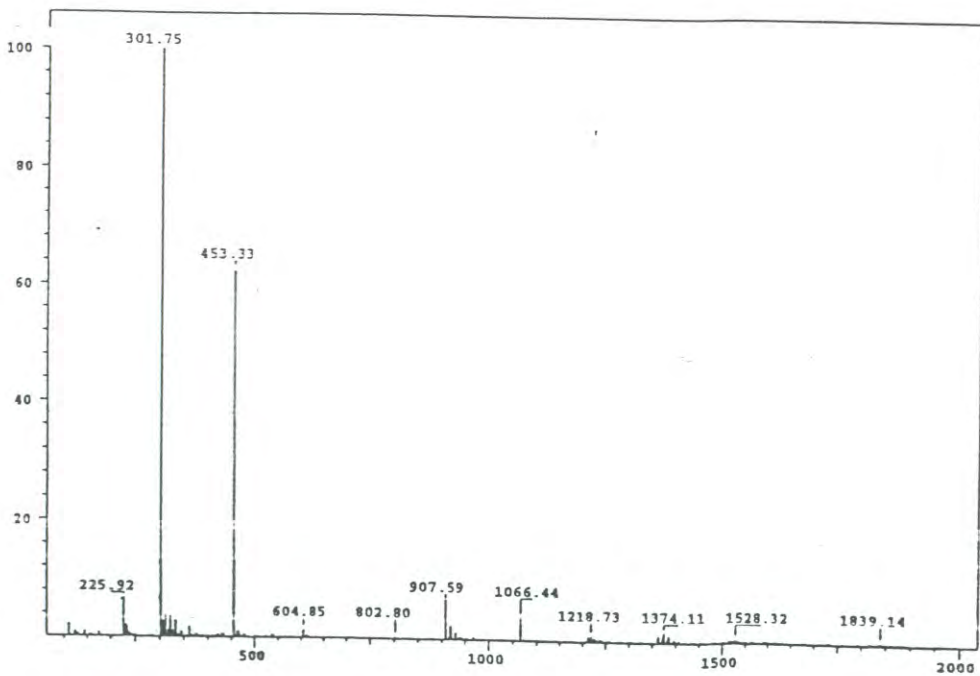


Figura 1.7 Espectro de masas de ionización por electroaspersión de Ciclofano 2.

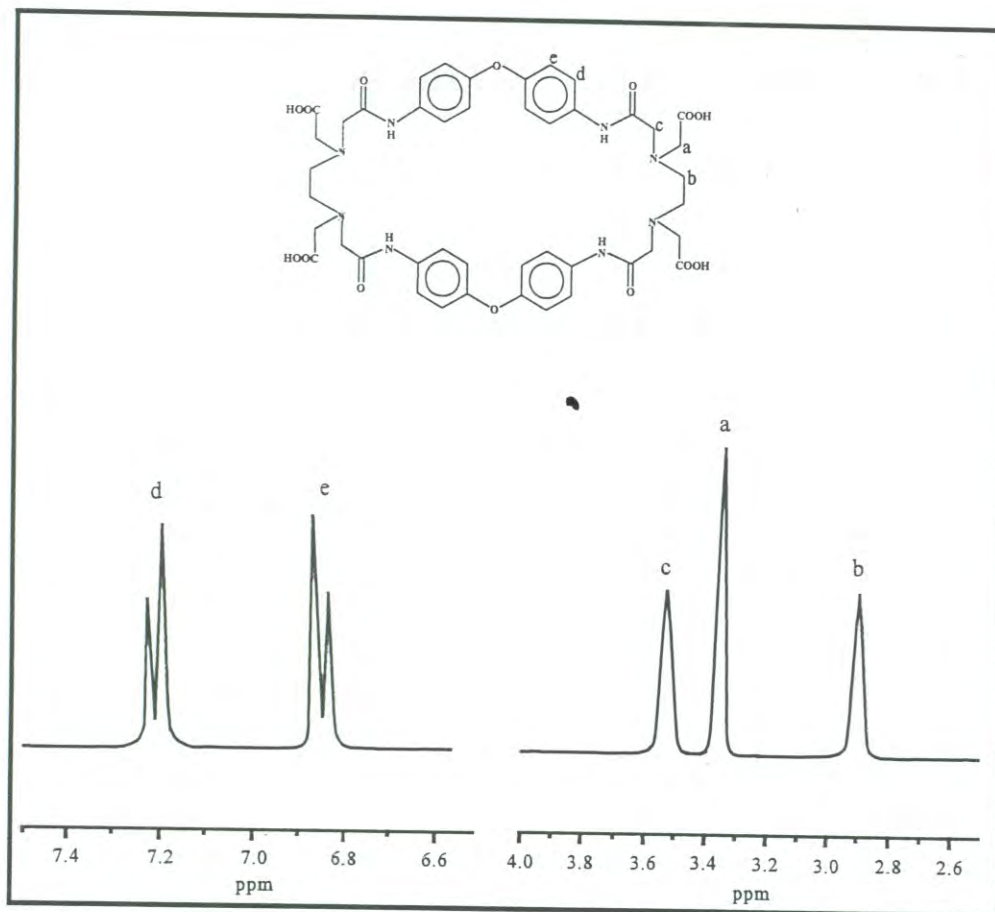


Figura 1.8 Espectro de RMN  $^1\text{H}$  para Ciclofano 1 ( $T = 23^\circ\text{C}$ ;  $\text{pD} = 8.4$ ; 250 MHz; DSS)



tipo de sustituyente: el átomo de oxígeno unido a los grupos fenilo dona electrones al anillo aromático, quedando el átomo de carbono de la posición orto con una mayor densidad electrónica que el carbono en posición meta, lo que resulta en un desplazamiento químico de los protones (e) a campo más alto que los protones (d). El grupo amida también dona electrones por resonancia a la posición orto del anillo aromático, pero en menor medida que el átomo de oxígeno (de hecho, tanto los protones (d) como los protones (e), aparecen a campos más altos en relación a los protones del benceno, que absorben a 7.27 ppm). Por otra parte, la subdivisión de las señales en un par de dobletes, el cual es característico de bencenos disustituídos en posición para, es ocasionada por el acoplamiento espín-espín entre los protones (d) y (e).

En la región de los protones alifáticos se observan tres singletes a 3.55 (8H), 3.38 (8H) y 2.97 (8H) ppm. Las señales a 3.55 y 3.38 ppm son asignadas a los protones (c) y (a) de los grupos  $-\text{CH}_2-$  que se encuentran unidos a grupos atrayentes de electrones (amida y carboxilato, respectivamente) los cuales disminuyen la densidad electrónica de dichos protones, desplazándolos a campos bajos. Sin embargo, es difícil la asignación particular de estos protones basándose exclusivamente en la diferencia en desplazamiento químico, ya que los efectos inductivos de los grupos amida y carboxilato son muy parecidos.

Para diferenciar ambas señales es necesario recurrir a la utilidad de la RMN  $^1\text{H}$  para medir efectos dinámicos, como lo es la rotación interna en torno a enlaces simples: para el caso de grupos  $-\text{CH}_2-$  (que en condiciones normales dan una sola señal aguda), si por algún efecto (como la disminución en la temperatura o la rigidez de los enlaces), su velocidad de rotación interna es lo suficientemente baja como para compararse con la velocidad de lectura del espectrofotómetro de RMN, la señal comienza a ensancharse, ya que ahora el espectrofotómetro es capaz de diferenciar entre los dos protones no equivalentes del grupo  $-\text{CH}_2-$ , pudiendo llegar incluso a separarse en dos señales claramente definidas. Un ejemplo característico de este

comportamiento, el cual demuestra que los dos protones de un grupo  $-\text{CH}_2-$  no son equivalentes químicamente cuando el carbono no está sujeto a rotación interna, se observa en el espectro del  $d_{11}$ -ciclohexano a diferentes temperaturas (figura 1.9) [53].

Tomando en cuenta lo anterior, el grupo  $-\text{CH}_2-$  de (c), al ubicarse en el esqueleto del anillo macrocíclico, debe tener una velocidad de rotación interna menor que el grupo  $-\text{CH}_2-$  de (a), que se encuentra en los brazos pendientes; por lo tanto, podemos suponer que la señal a 3.55 ppm, de mayor anchura que la señal a 3.38 ppm, es ocasionada por los protones (c).

Finalmente, la señal a 2.97 ppm corresponde a los protones (b) del carbono enlazado al nitrógeno amina, que son los que aparecen a campo más alto. Como podemos apreciar en el espectro, la anchura de la señal es similar a la anchura del pico a 3.55 ppm, debido a que las velocidades de rotación de los grupos  $-\text{CH}_2-$  (b) y  $-\text{CH}_2-$  (c), al encontrarse ambos en el esqueleto del macrociclo, son semejantes.

Ciclofano 2. El espectro de RMN  $^1\text{H}$  y la respectiva asignación de las señales se presentan en la figura 1.10. Las señales son básicamente iguales a las del ciclofano 1 (excepto, obviamente, por la presencia del pico correspondiente a los protones de los  $-\text{CH}_2-$  que se encuentran entre los anillos de benceno): 7.13 (8H, d,  $J=8.1$  Hz), 6.99 (8H, d,  $J=8.1$  Hz), 3.79 (4H, s), 3.38 (8H, s), 3.29 (8H, s) y 2.82 ppm (8H, s). La señal a 3.79 ppm es asignada a los protones bencílicos (f), los cuales se encuentran entre dos anillos aromáticos que los desprotegen por efecto de la corriente de anillo.

Las diferencias entre los ciclofanos 1 y 2, respecto a las posiciones de las señales de los protones alifáticos (a), (b) y (c), se deben fundamentalmente a las diferencias de pD al que fueron obtenidos los espectros (8.4 y 10.4, respectivamente). A pD = 10.4 el ciclofano 2 se encuentra totalmente desprotonado, por lo que sus señales aparecen a campos más altos.



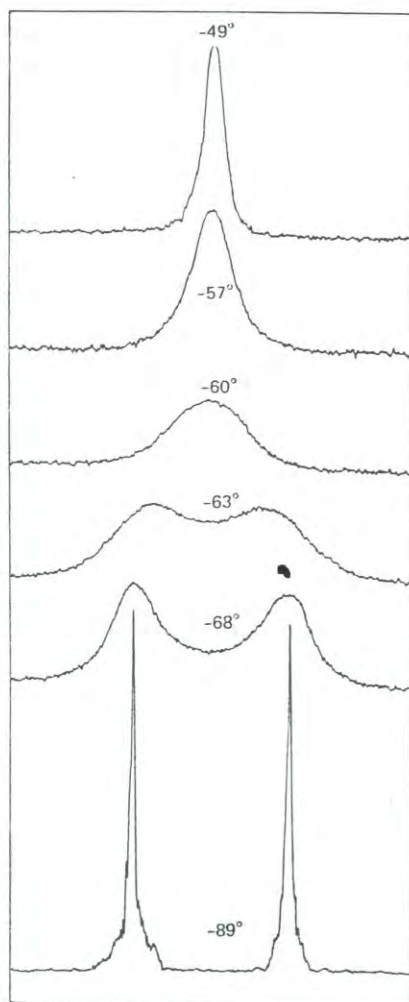


Figura 1.9 Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de ciclohexano- $\text{d}_{11}$  a diferentes temperaturas.

Fuente:[53]

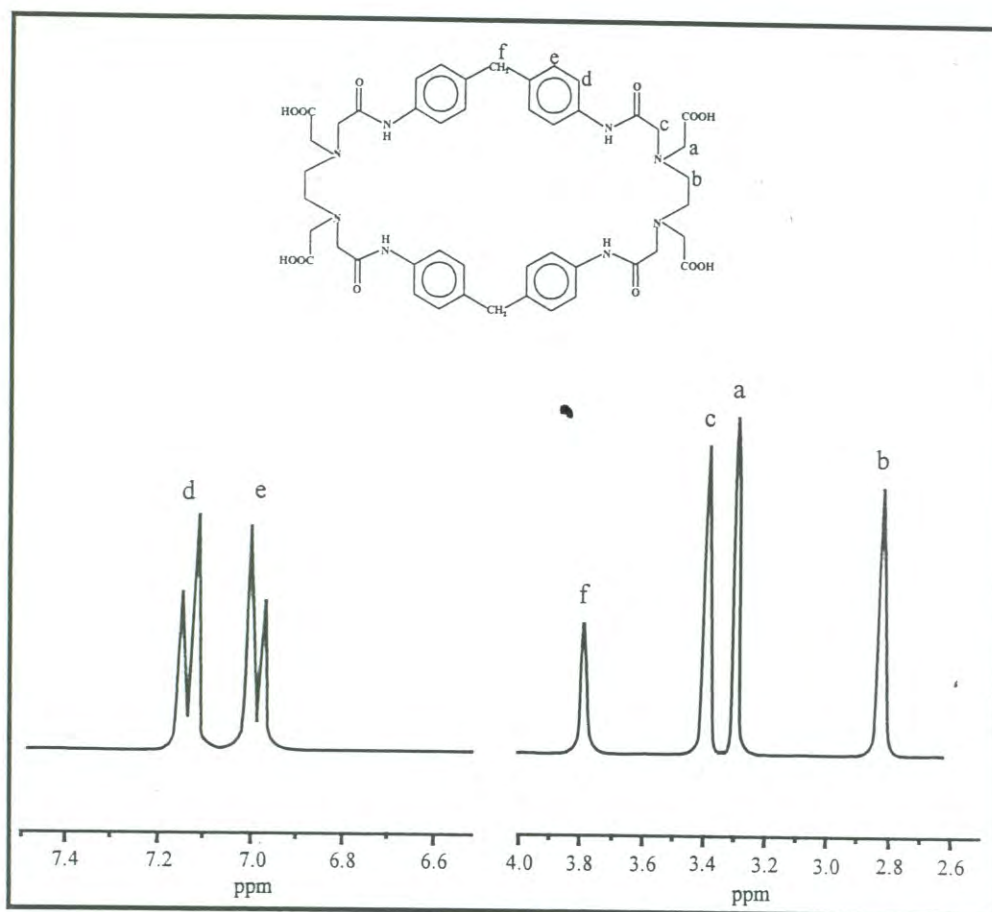


Figura 1.10 Espectro de RMN  $^1\text{H}$  para Ciclofano 2 ( $T=23^\circ\text{C}$ ;  $\text{pD}= 10.4$ ; 250 MHz; DSS).



Los protones aromáticos (e) aparecen a campo más bajo en relación al ciclofano 1, debido principalmente a la sustitución del átomo de oxígeno por el grupo  $-\text{CH}_2-$ , el cual aumenta la densidad electrónica del anillo en la posición orto en menor proporción que el grupo  $-\text{O}-$ .

Como puede observarse en los espectros de ambos ciclofanos, los picos de cada doblete de los protones (d) y (e) no guardan una relación de intensidades 1:1. Las reglas de intensidad se siguen solo para espectros de primer orden, en los cuales la razón entre la diferencia de los desplazamientos químicos de dos señales ( $\Delta\delta$ ) y su constante de acoplamiento (J) es bastante grande  $\{\Delta\delta / J \geq 10\}$ . Sin embargo, a medida que  $\Delta\delta / J$  se vuelve menor, los dobletes se aproximan entre sí, los dos picos interiores aumentan en intensidad y los dos picos exteriores disminuyen (figura 1.11) [53]. La posición del desplazamiento químico de cada protón no se obtiene ahora del centro del doblete, sino que se encuentra cargado hacia el pico interior.

Cuando comparamos los espectros de ambos ciclofanos, la diferencia en la relación de intensidades entre los picos interiores y exteriores de los dobletes de los protones (e) y (d), se debe a que los desplazamientos químicos de los protones aromáticos en el ciclofano 2 son mas parecidos entre sí con relación al ciclofano 1, por lo que la relación  $\Delta\delta / J$  es menor.

#### 1.3.2.2 Dependencia del pD.

La figura 1.12 muestra la dependencia de las señales de RMN  $^1\text{H}$  respecto al pD de la solución del ciclofano 1. Como se puede observar, cuando el pD disminuye a valores ubicados en el rango entre 7 y 9, los protones alifáticos (a), (b) y (c), sufren un desplazamiento hacia campos bajos. Este desplazamiento simultáneo de las señales de los tres protones indica que cuando bajamos el pD de la solución, los nitrógenos amina son protonados antes que los oxígenos del grupo carboxilato. La carga positiva desarrollada en el nitrógeno amina protonado origina como

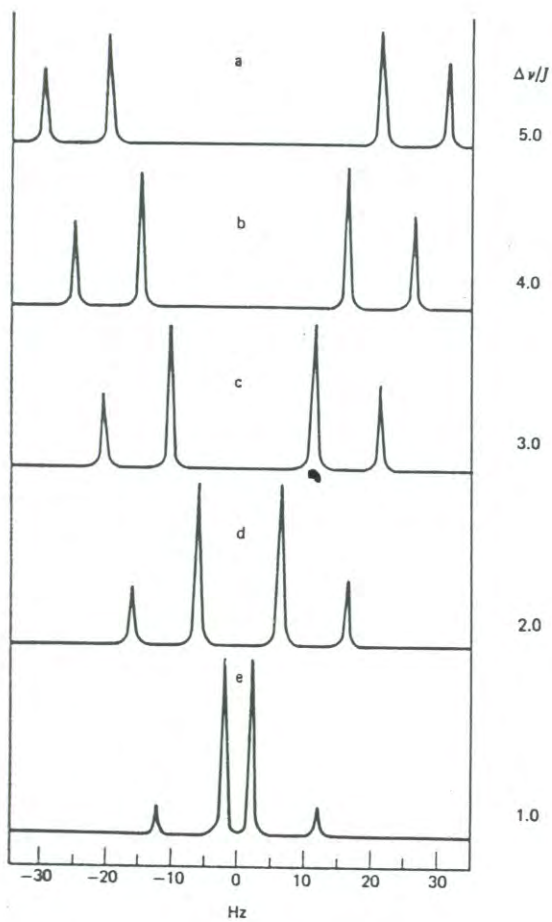


Figura 1.11 Cambio en el acoplamiento de espín de un sistema AX con una diferencia decreciente de los desplazamientos químicos y un valor alto de  $J$  (10 Hz).

Fuente: [53]



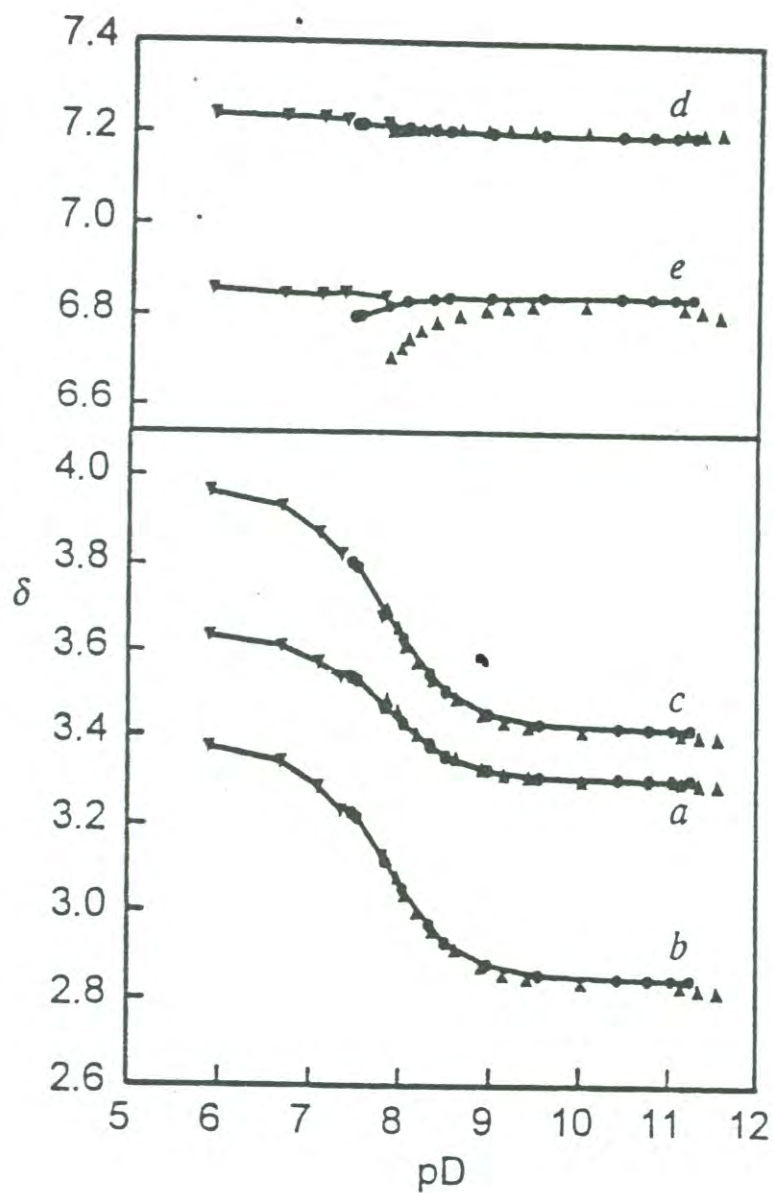


Figura 1.12 Gráfica de los desplazamientos químicos de Ciclofano 1 (en referencia a DSS) en  $D_2O$  en función del pD a concentraciones de  $5 \text{ mmol dm}^{-3}$  (●) y  $30 \text{ mmol dm}^{-3}$  (▲). A valores de pD por debajo 7.5, los desplazamientos químicos fueron determinados a concentraciones menores de  $1 \text{ mmol dm}^{-3}$  (▼), debido a la baja solubilidad. Para identificación de los protones ver figura 1.8.

consecuencia (por efecto inductivo) la disminución de la densidad electrónica de los protones (a), (b) y (c), desplazando sus señales a campo bajo. Si el grupo  $\text{COO}^-$  fuera el primero en protonarse, la señal de los protones (a) sufriera un desplazamiento a campo bajo significativamente mayor que los protones (b) y (c). Una consecuencia importante de la protonación del nitrógeno es la formación de una estructura de ión dipolar (zwitterión) para el ciclofano.

Durante el proceso de protonación, la señal del protón aromático (e) es ligeramente desplazada a campos altos. Este desplazamiento puede explicarse en términos de la anisotropía diamagnética del anillo de benceno [53], la cual se describe brevemente a continuación:

La circulación de la nube de electrones  $\pi$  del sistema aromático, por efecto del campo magnético aplicado, genera un campo magnético inducido de forma asimétrica (elipsoidal), de tal manera que este campo puede proteger o desproteger a los protones dependiendo de su ubicación con respecto a dicho campo. Cualquier protón o grupo funcional que se encuentre en el plano del anillo bencénico se encontrará desprotegido, debido a que en esta región las líneas del campo inducido están en la misma dirección del campo aplicado. Por el contrario, cualquier grupo ubicado por arriba o por abajo del plano del anillo aromático estará protegido por efecto de la corriente anular. De esta manera, en los ciclofanos, cualquier cambio en la disposición geométrica entre un protón de un grupo aromático y el plano del anillo del otro grupo fenilo, se manifiesta en un cambio de desplazamiento químico del protón en cuestión, ya que al cambiar su ubicación el protón experimentará diferentes fuerzas del campo inducido por la corriente anular. En base a lo anterior, el desplazamiento a campo alto del protón (e) durante la protonación puede ser explicado por el cambio del ángulo entre los planos moleculares de los dos grupos fenilo vecinos, lo que provoca la protección de los hidrógenos en cuestión, desplazando su señal a campos más altos.



La figura 1.13 muestra la dependencia de las señales de RMN  $^1\text{H}$  respecto al pD de la solución del ciclofano 2. La protonación de los nitrógenos amina se presenta prácticamente en el mismo rango de pD que para el ciclofano 1, por lo que podemos concluir que el grado de basicidad de estos nitrógenos es igual para ambos ciclofanos. En el rango de pD que ocurre la protonación, las señales de los protones (e) y (f) también sufren pequeños desplazamientos como consecuencia del cambio de la relación geométrica entre los dos anillos bencénicos.

#### 1.3.2.3 Efecto de Agregación.

Para el ciclofano 1, el desplazamiento a campos altos de la señal del protón (e) en el rango de pD en que ocurre la protonación, es más marcado cuando se aumenta la concentración del macrociclo (figura 1.12). Esta dependencia del desplazamiento químico (así como de otras propiedades) respecto a la concentración del ciclofano ha sido reportada con anterioridad para receptores que en su estructura contienen partes hidrofóbicas e hidrofílicas [28,54], y es atribuido a la formación de agregados moleculares los cuales forman estructuras similares a las micelas. En base a lo anterior, podemos concluir que las moléculas sufren agregación en soluciones concentradas cuando se encuentran protonadas. Esta formación de agregados puede atribuirse a interacciones electrostáticas intermoleculares entre los grupo amino protonados y los grupos carboxilato cargados negativamente.

El mismo fenómeno se observa para el protón (e) del ciclofano 2 (figura 1.13), con la particularidad de que la solubilidad en agua del ciclofano 2 disminuye rápidamente en el rango de pD de protonación, por lo que la máxima concentración utilizada en los experimentos de RMN  $^1\text{H}$  fue de  $5 \text{ mmol dm}^{-3}$ .



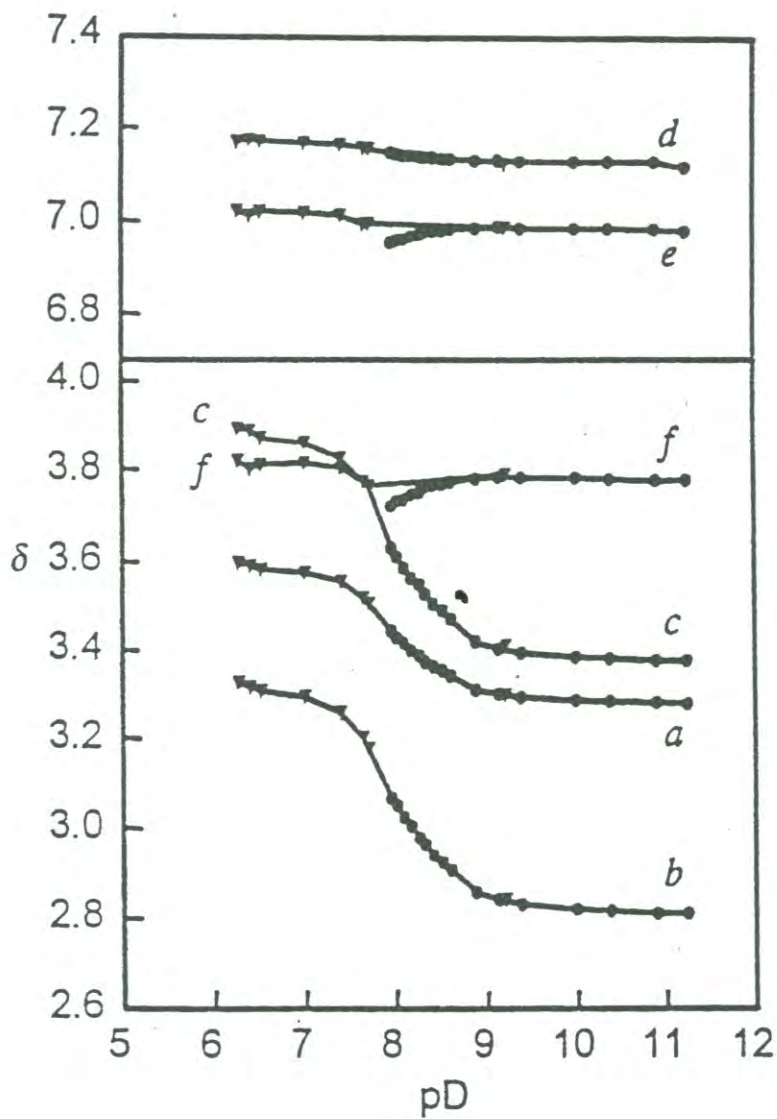


Figura 1.13 Gráfica de los desplazamientos químicos de Ciclofano 2 (en referencia a DSS) en  $D_2O$  en función del pD a concentraciones de  $5 \text{ mmol dm}^{-3}$  ( $\bullet$ ). A valores de pD por debajo 8, los desplazamientos químicos fueron determinados a concentraciones menores de  $1 \text{ mmol dm}^{-3}$  ( $\blacktriangledown$ ), debido a la baja solubilidad. Para identificación de los protones ver figura 1.10.

### 1.3.3 Resonancia Magnética Nuclear de $^{13}\text{C}$ .

Los principios básicos de la RMN  $^1\text{H}$  se aplican también a la RMN  $^{13}\text{C}$ , pero existen algunas diferencias importantes [53]:

1) Las grandes constantes de acoplamiento  $^{13}\text{C} - ^1\text{H}$  dan como resultado que las señales múltiples se traslapen significativamente, dificultando la interpretación del espectro. De esta manera, en RMN  $^{13}\text{C}$  lo común es obtener el espectro utilizando la técnica de desacoplamiento de protones denominado de banda ancha (broad band decoupling), con lo cual se obtiene una señal simple para cada tipo de carbono, aunque se pierde la información proporcionada por los acoplamientos espín-espín. Sin embargo, existe también un método alternativo de desacoplamiento (off-resonance decoupling) que permite observar el número de hidrógenos unido a cada átomo de carbono. Los acoplamientos  $^{13}\text{C} - ^{13}\text{C}$  no se observan debido a la baja probabilidad de encontrar este sistema.

2) Las técnicas de desacoplamiento afectan la intensidad de las señales, de tal manera que en  $^{13}\text{C}$  no podemos obtener el número relativo de átomos de carbono que provienen de cada señal.

3) En el caso del desplazamiento químico, en RMN  $^1\text{H}$  la protección diamagnética ( $\sigma^d$ ) es máxima cuando la nube electrónica posee simetría esférica. Sin embargo, cuando la nube electrónica es no esférica, se obstruye el movimiento precesional de los electrones en el campo magnético. Cuando las moléculas poseen distribuciones electrónicas asimétricas, se vuelve muy importante un segundo factor de protección denominado término *paramagnético* ( $\sigma^p$ ), el cual tiene una dirección opuesta a  $\sigma^d$ . La asimetría en la distribución electrónica produce corrientes electrónicas que refuerzan al campo magnético aplicado ( $H_0$ ), y por lo tanto reciben el nombre de paramagnéticas. La asimetría proviene de la presencia de estados electrónicos de alta energía, como los orbitales antienlazantes  $\sigma^*$  y  $\pi^*$ . En núcleos diferentes al hidrógeno, como  $^{13}\text{C}$ , la presencia de electrones p proporciona estados



de alta energía adecuados y por lo tanto estos núcleos presentan desplazamientos químicos grandes, del orden de 100 - 1000 ppm. Los principales factores que afectan la magnitud de  $\sigma^p$  (y por lo tanto del desplazamiento químico en RMN  $^{13}\text{C}$ ) son:

- la diferencia en energía entre los estados electrónicos enlazante y antienlazante ( $\Delta E$ ): a mayor energía del orbital antienlazante, menor  $\sigma^p$  y por lo tanto mayor protección.

- la distancia entre el núcleo y los electrones de enlace: a mayor distancia, menor  $\sigma^p$ . Este factor indica la dependencia de  $\sigma^p$  respecto a la electronegatividad de los sustituyentes: cuando existe donación de densidad electrónica al átomo de carbono, los electrones alrededor del núcleo deben alejarse entre ellos para reducir la repulsión electrostática, incrementando la distancia al núcleo y disminuyendo  $\sigma^p$ . El resultado es un desplazamiento hacia campos altos. Lo contrario ocurre con elementos o grupos electronegativos, lo cual es cualitativamente similar a la RMN  $^1\text{H}$ , pero los desplazamientos son mucho mayores.

- un tercer factor está relacionado con la densidad de carga y los órdenes de enlace, pero puede ser considerado como una medida de los enlaces múltiples: a mayor multiplicidad de los enlaces, mayor la contribución de  $\sigma^p$ . Este factor no es independiente del término radial, ya que la distancia de los electrones al núcleo y la multiplicidad del enlace están muy relacionados, pero da una racionalidad empírica a las diferencias en desplazamiento químico de la serie: etano ( $\delta = 6$  ppm), etileno ( $\delta = 123$  ppm), y el átomo de carbono central con hibridación  $sp$  de un aleno ( $\delta = 214$  ppm). Los carbonos de arenos presentan desplazamientos químicos similares a los alquenos (benceno,  $\delta = 129$  ppm). La interpretación del desplazamiento de alquinos es más compleja, ya que posee un desplazamiento intermedio entre dobles enlaces y enlaces sencillos ( $\delta = 70$  ppm para el acetileno), pero de todas formas está determinado por este tercer factor.

La interpretación en los desplazamientos químicos de la mayoría de las moléculas puede realizarse con el análisis de estos tres factores: accesibilidad de los estados excitados, distancia de la nube electrónica y multiplicidad de los enlaces.

En base en lo descrito anteriormente, las asignaciones de las señales en los espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  del ciclofano 1 (figura 1.14) son las siguientes:

Carbonos de los grupos fenilos. Se presentan en el rango de 121 -156 ppm en el siguiente orden: carbono unido a oxígeno éter ( $\delta = 155.9$  ppm) y carbono unido a nitrógeno amida ( $\delta = 134.8$  ppm), ambos a campos más bajos dentro del grupo de los carbonos aromáticos debido a la polarización de los enlaces C–O y C–N. Después se presentan los carbonos (d) ( $\delta = 125.5$  ppm) y (e) ( $\delta = 121.3$  ppm), cuya densidad electrónica aumenta por el efecto de resonancia de los grupos sustituyentes.

Carbonos de los grupo carbonilo amida y carboxilo. La región de absorción del grupo carbonilo se encuentra en el rango de 160 - 200 ppm, lo cual obedece a la presencia de estados de baja energía asociados con la circulación de carga del par de electrones no enlazante del oxígeno al orbital de antienlace  $\pi^*$ . El C=O de amida se presenta a  $\delta = 173.6$  ppm y el C=O de carboxilato a  $\delta = 180.4$  ppm, por efecto de los sustituyentes unidos a cada grupo funcional.

Carbonos alifáticos. La ausencia de estados excitados de baja energía y de enlaces  $\pi$  minimiza el término  $\sigma^p$  y ubica los desplazamientos químicos de los carbonos alifáticos a campos muy altos. El reemplazo en el carbono de un átomo de hidrógeno por un heteroátomo o un grupo funcional da por resultado un desplazamiento hacia campo bajo, debido a cambios en el factor radial. Grupos electronegativos más fuertes provocan un desplazamiento mayor, de tal manera que las asignaciones en el ciclofano 1 se dan de la siguiente manera: carbono (b) a 55.7 ppm, y carbonos (a) y (c) a 61.2 y 61.5 ppm; éstos últimos no se pueden diferenciar debido a que el



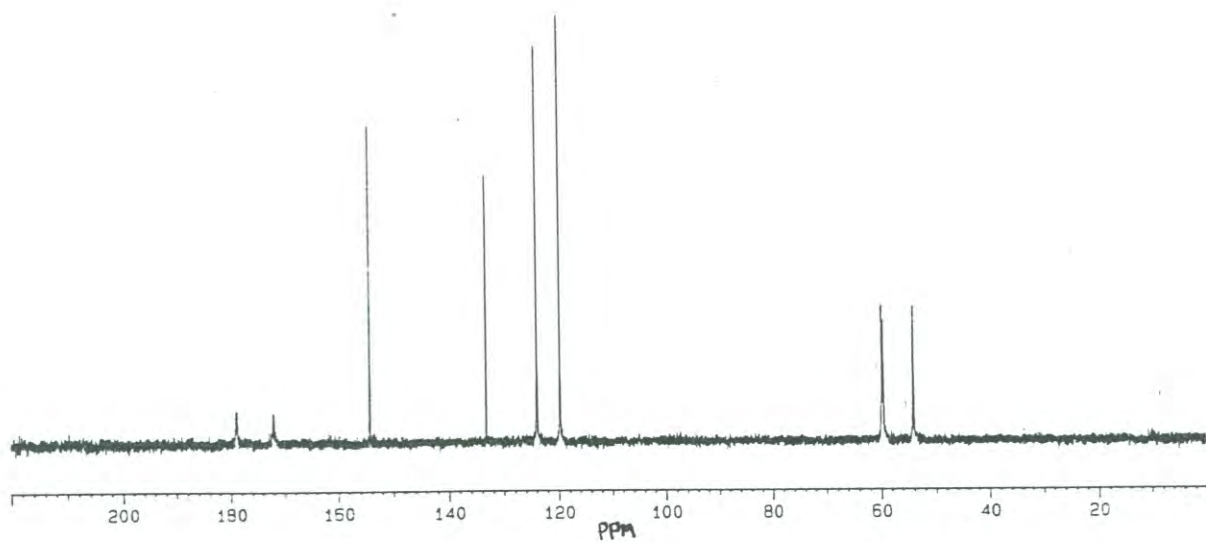


Figura 1.14 Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de Ciclofano 1 (pD = 8.4; 250 MHz; DSS).

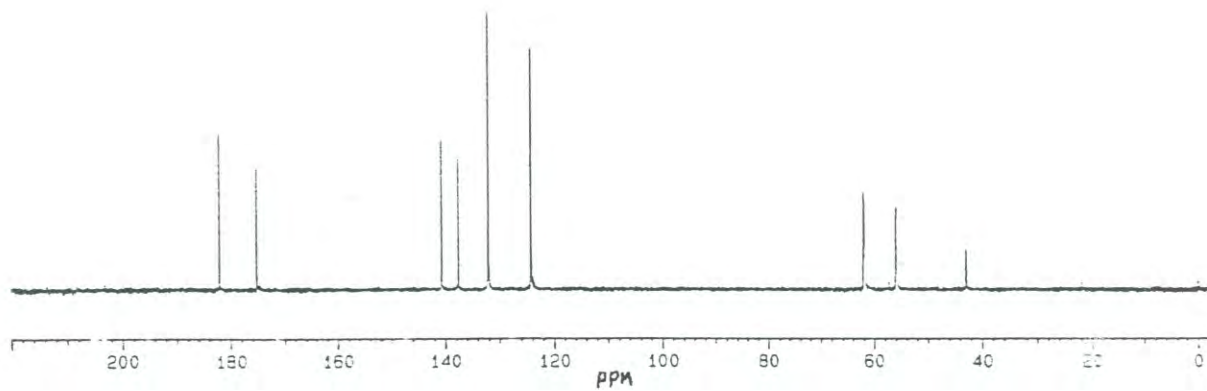


Figura 1.15 Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de Ciclofano 2 (pD = 9.8; 250 MHz; DSS).

efecto de disminución de densidad electrónica es muy similar para los grupos amida y carboxilato.

Con base en el mismo razonamiento que para el ciclofano 1, las asignaciones de las señales en el espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  del ciclofano 2 (figura 1.15) son las siguientes: carbono (f) a 42.7 ppm; carbono (b) a 55.7 ppm; a 61.6 y 61.8 ppm los carbonos (a) y (c); carbono (e) a 124.0 ppm y carbono (d) a 131.9 ppm; los carbonos aromáticos sustituidos se ubican a 137.4 ppm el carbono unido a nitrógeno amida y a 140.5 ppm el carbono unido a  $-\text{CH}_2-$ ; por último, los carbonos del grupo carbonilo aparecen a 175.0 ppm para el carbono del carbonilo amida y 181.9 ppm para el carbono de carboxilato. Como podemos observar los desplazamientos químicos son muy similares a los del ciclofano 1, excepto para los carbonos (d), (e), y el carbono unido a  $-\text{CH}_2-$ , debido a las diferencias entre los grupos  $-\text{O}-$  y  $-\text{CH}_2-$  en el efecto sobre las densidades electrónicas de los carbonos señalados.



## CAPÍTULO 2

# ESTUDIOS DE RECONOCIMIENTO MOLECULAR DE LOS RECEPTORES HACIA SUSTRATOS DE INTERÉS BIOQUÍMICO

## 2.1 Antecedentes y Significancia

Un aspecto esencial en el reconocimiento molecular es la naturaleza específica de las interacciones entre uno o más sitios de una molécula con sitios específicos de otra molécula. Para un efectivo reconocimiento, una de las moléculas debe poseer una cavidad que reúna la forma y el tamaño de la estructura de la otra molécula y también, contener grupos de unión capaces de interactuar con regiones complementarias de dicha molécula (figura 2.1) [1-7].

En términos generales, la molécula que contiene la cavidad es conocida como *anfitrión o receptor*, y la molécula que entra a la cavidad se denomina *huésped o sustrato* [2,6,14,17]. Cuando un sustrato se incluye en su totalidad (o por lo menos la mayor parte de ella) a la cavidad de un receptor, gran parte de su superficie queda en contacto con los sitios de unión del receptor, a través de interacciones no covalentes. Por ejemplo, en la catálisis enzimática el sustrato se une fuertemente al sitio activo de la enzima (que siempre es una cavidad en forma de bolsa o hendidura) mediante enlaces no covalentes, de tal manera que queda orientado de forma adecuada para que los sitios catalíticos de la enzima convergan en forma bien definida con el sustrato [9]; el número y arreglo de las interacciones no covalentes que se presentan entre el sitio activo del receptor y la molécula huésped definen en gran medida la alta selectividad mostrada por los sistemas enzimáticos. Así mismo, son las interacciones no covalentes las responsables de las complejas estructuras tridimensionales de las proteínas y el DNA. De esta manera, las interacciones no covalentes son fundamentales en los procesos de reconocimiento molecular, y gran parte de las investigaciones en esta área se encuentran enfocadas a definir el grado de participación de los diferentes tipos de fuerzas no covalentes en la estabilidad de los complejos receptor - huésped.

Es por lo descrito en las líneas anteriores que, antes de presentar la parte experimental y los resultados obtenidos en nuestras investigaciones sobre las

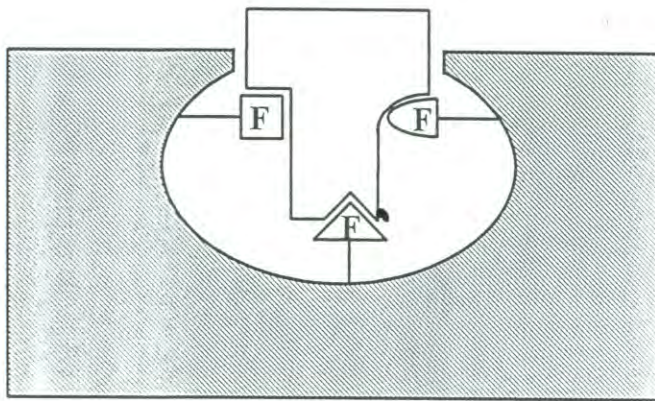


Figura 2.1 Complementariedad en forma, tamaño y grupos funcionales entre el receptor y la molécula de sustrato

Fuente: [1]



propiedades de reconocimiento molecular de los ciclofanos 1 y 2, en este capítulo revisaremos las fuerzas no covalentes más importantes que intervienen la estabilidad química de los complejos anfitrión- huésped, así como la manera de determinar la constante de estabilidad del complejo formado. De la misma forma, presentaremos un interesante ejemplo de investigación sobre reconocimiento molecular de sustratos de interés biológico por parte de receptores artificiales tipo ciclofano.

### 2.1.1 Interacciones Intermoleculares.

Por más de 150 años, desde la síntesis de la urea por Friedrich Wöhler en 1828, la química se ha enfocado a estudiar la naturaleza de las uniones covalentes a través de las cuales se forman los compuestos químicos. Como resultado de esas investigaciones se han logrado desarrollar una gran número de poderosos y sofisticados métodos para la síntesis de estructuras moleculares de alta complejidad. La química ha logrado dominar los factores que controlan la formación de los enlaces covalentes a través del área que actualmente denominamos química molecular.

Sin embargo, el hecho de que sean las interacciones no covalentes las responsables de la alta selectividad y eficiencia observadas en los sistemas bioquímicos, ha llevado a la química supramolecular al centro de interés de la química de tal manera que los estudios en esta nueva área se han incrementado notablemente en los últimos años [1-9].

El diseño de receptores artificiales capaces de llevar a cabo procesos químicos con eficiencia similar a los receptores naturales, requiere del total entendimiento de las propiedades energéticas y estereoquímicas de las fuerzas no covalentes que se establecen en la formación de los complejos anfitrión - huésped [6,17]. Para realizar esto, los químicos han tratado de imitar los eventos biológicos (lo que algunos autores han llamado “química biomimética” [6]), con la ventaja de no encontrarse limitados a los compuestos que se encuentran en la naturaleza, sino que se está en libertad de sintetizar nuevas especies e inventar nuevos procesos.

Tampoco se tienen las limitantes de pH, temperatura, concentración, fuerza iónica, etc., que poseen los sistemas biológicos.

La química supramolecular es un campo altamente interdisciplinario de la ciencia que abarca las propiedades químicas, físicas y biológicas de especies químicas de mayor complejidad que las moléculas mismas (complejos moleculares) que se mantienen unidas y organizadas por medio de fuerzas intermoleculares no covalentes [5,6]. Estas fuerzas son mucho más débiles que los enlaces covalentes; por ejemplo, un enlace covalente C - C posee una energía de 347 kJ/mol, mientras que el enlace de hidrógeno posee una energía del orden de 2 - 3 kJ/mol. De esta manera, para alcanzar la formación de complejos de alta estabilidad es necesario que varias fuerzas no covalentes entren en acción simultáneamente [1-9]. La tabla 2.1 muestra varias de las diferentes interacciones no covalentes que se presentan con mayor frecuencia en los complejos receptor - sustrato [25], las cuales describiremos brevemente a continuación.

(1) *Interacciones carga - carga*. La interacción no covalente más sencilla es la interacción electrostática entre un par de partículas cargadas, y puede considerarse como el componente de mayor fuerza de las interacciones intermoleculares, aportando aproximadamente 4.5 kJ/mol a la energía de estabilización en la formación del complejo formado [3,25].

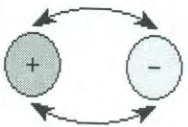
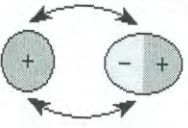
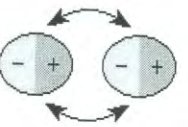
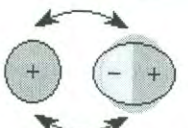
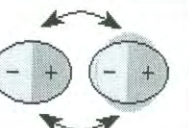
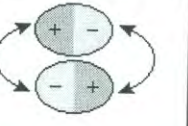
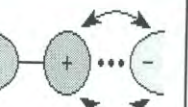
La fuerza que opera entre un par de cargas  $q_1$  y  $q_2$ , separadas en el vacío por una distancia  $r$ , está dada por la ley de Coulomb:

$$F = k \frac{q_1 q_2}{r^2} \quad (2.1)$$

donde  $k$  es una constante. Si  $q_1$  y  $q_2$  tienen el mismo signo,  $F$  es positiva y corresponde a una repulsión. Si una carga es positiva y la otra es negativa,  $F$  es negativa y el resultado es una atracción entre ambas cargas.



Tabla 2.1 Tipos de interacciones no covalentes.

Tipo de interacción	Modelo	Ejemplo	Dependencia de la energía con la distancia
<b>Carga-carga</b> Es la fuerza de rango más alto; no direccional		$^+ \text{NH}_3$ $\text{O}=\text{C}=\text{O}$	$1/r$
<b>Carga-dipolo</b> Depende de la orientación del dipolo		$^+ \text{NH}_3$ $\text{H}-\text{O}-\text{H}$	$1/r^2$
<b>Dipolo-dipolo</b> Depende de la orientación mutua de los dipolos		$\text{H}-\text{O}-\text{H}$ $\text{H}-\text{O}-\text{H}$	$1/r^3$
<sup>a</sup> <b>Carga-dipolo inducido</b> Depende de la polarizabilidad de la molécula en la que se induce el dipolo		$^+ \text{NH}_3$ $\text{C}_6\text{H}_6$	$1/r^4$
<sup>a</sup> <b>Dipolo-dipolo inducido</b> Depende de la polarizabilidad de la molécula en la que se induce el dipolo		$\text{H}-\text{O}-\text{H}$ $\text{C}_6\text{H}_6$	$1/r^5$
<sup>a</sup> <b>Dispersión</b> Involucra sincronización mutua de cargas fluctuantes		$\text{C}_6\text{H}_6$ $\text{C}_6\text{H}_6$	$1/r^6$
<b>Enlace de hidrógeno</b> Atracción de carga + enlace covalente parcial		$\text{N}-\text{H} \cdots \text{O}=\text{C}$	Longitud de enlace fija

<sup>a</sup>Los dipolos inducidos y las fuerzas de dispersión dependen de la distorsión de la distribución electrónica en un átomo o molécula no polar.



Sin embargo, normalmente nos interesan las interacciones en un medio, como lo es el disolvente en una solución. En este caso, las cargas se encuentran separadas entre ellas por moléculas del disolvente. La existencia de este *medio dieléctrico* tiene un efecto pantalla entre ellas, de tal manera que la fuerza real que opera entre las cargas siempre es menor a la calculada por la ecuación de la ley de Coulomb. Este efecto pantalla es tomado en cuenta introduciendo un término adimensional en la ecuación (2.1), denominado *constante dieléctrica* ( $\epsilon$ ):

$$F = k \frac{q_1 q_2}{\epsilon r^2} \quad (2.2)$$

Cualquier sustancia que actúa como un medio dieléctrico tiene un valor característico de  $\epsilon$ ; entre más alto es este valor, menor es la fuerza entre las cargas separadas. La constante dieléctrica del agua es alta ( $\epsilon \approx 80$ ), mientras que los solventes orgánicos tienen valores mucho menores ( $\epsilon = 1-10$ ). Una consecuencia del alto valor de  $\epsilon$  para el agua, es que las partículas cargadas interactúan débilmente en medios acuosos, a menos que se encuentren muy cerca.

La energía de interacción ( $U$ ) entre las cargas esta dada por una ecuación similar a ecuación (2.2):

$$U = k \frac{q_1 q_2}{\epsilon r} \quad (2.3)$$

Las dos principales características de las interacciones carga - carga provienen de la ecuación (2.3). Primero, son completamente no direccionales, y dependen sólo de la distancia de la separación entre ellas. Segundo, la energía de interacción varia proporcionalmente con el inverso de la primer potencia de la distancia. Estas características distinguen a las interacciones carga - carga de las demás interacciones no covalentes.

(2) *Interacciones de Dipolos Permanentes e Inducidos.*

Dipolos Permanentes. Moléculas que no tienen una carga neta pueden tener una distribución de carga interna asimétrica. Por ejemplo, la distribución electrónica de la molécula de monóxido de carbono se encuentra de tal manera que el átomo de oxígeno es ligeramente más negativo que el átomo de carbono (figura 2.2a). Las moléculas que presentan esta característica se denominan *polares* y se dice que tienen un *momento dipolar permanente* ( $\mu$ ), parámetro que expresa la magnitud de la polaridad de la molécula. Si una molécula lineal, como por ejemplo el CO, posee cargas parciales  $q^+$  y  $q^-$ , separadas por una distancia  $x$ , el momento dipolar es un vector dirigido hacia  $q^-$ , cuya magnitud es:

$$\mu = q \times x \quad (2.4)$$

En moléculas con formas más complejas, como el agua, el momento dipolar es una suma de vectores (figura 2.2b).

En solución, las moléculas con dipolos permanentes pueden ser atraídas por un ión cercano (interacción carga - dipolo) o por otro dipolo permanente (interacción dipolo - dipolo). A diferencia de las interacciones carga - carga, las interacciones dipolo dependen de la orientación de las moléculas. Además, son interacciones de corto alcance: la energía de una interacción carga - dipolo es proporcional a  $1/r^2$  y la energía de las interacciones dipolo - dipolo a  $1/r^3$ ; de esta manera, los dipolos permanentes deben estar muy cerca el uno del otro para que la interacción sea fuerte.

Dipolos Inducidos. Moléculas que no poseen dipolos permanentes pueden volverse polares en presencia de un campo eléctrico. Dicho campo puede ser aplicado externamente, con un instrumento de laboratorio, o puede ser producido por un medio ambiente. por una molécula cargada, o por una partícula dipolar. Una molécula a la que se le puede inducir un dipolo de la manera descrita se denomina *polarizable*. Los anillos aromáticos, por ejemplo, son muy polarizables, debido a que sus electrones pueden ser fácilmente desplazados en el plano del anillo. Las



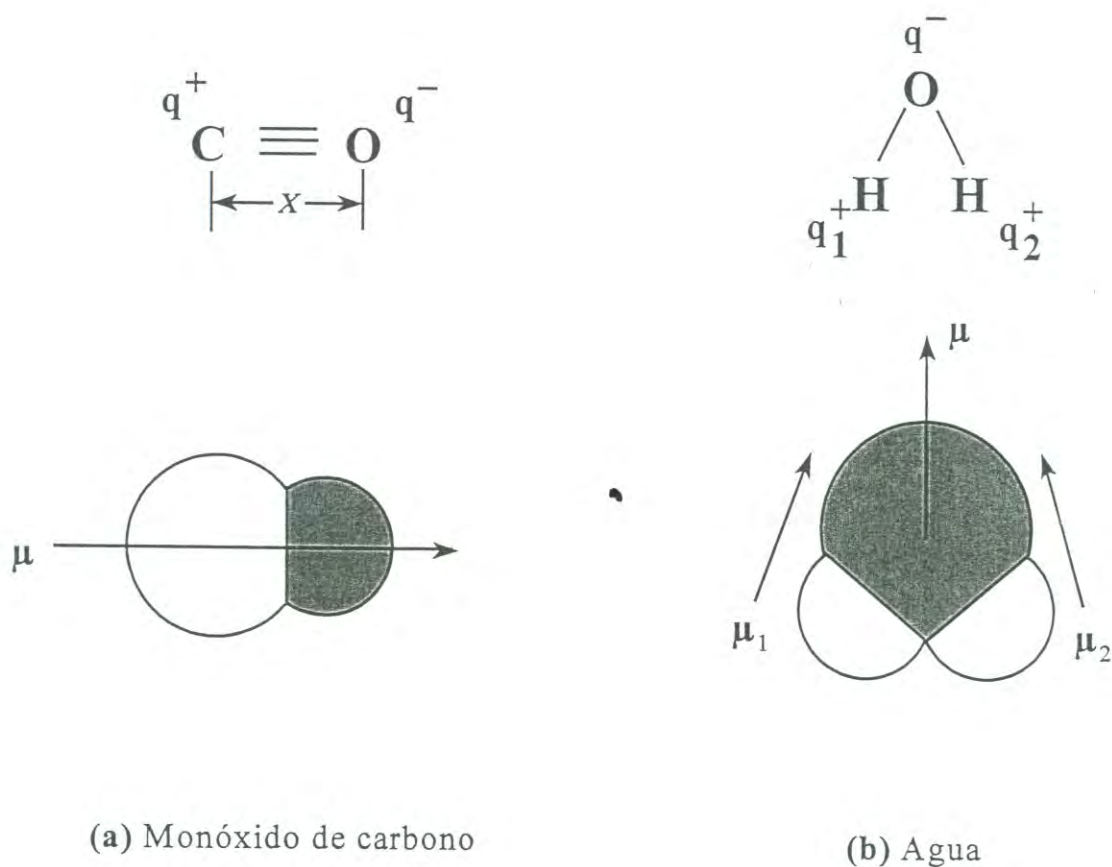


Figura 2.2 (a) Monóxido de carbono: la carga parcial negativa ( $q^-$ ) sobre el oxígeno, junto con la correspondiente carga parcial positiva ( $q^+$ ) sobre el carbono, produce un momento dipolar dirigido a lo largo del eje C - O. (b) Agua: la carga parcial negativa sobre el oxígeno, junto con la carga parcial positiva sobre cada hidrógeno produce dos momentos dipolares,  $\mu_1$  y  $\mu_2$ , dirigidos a lo largo de los enlaces H - O. Su suma vectorial ( $\mu$ ) representa el momento dipolar de la molécula.

Fuente: [25]



interacciones de moléculas polarizables se conocen como *interacciones de dipolo inducido*. Un anión o un catión pueden inducir un dipolo en una molécula polarizable y por lo tanto ser atraídos hacia ella (*interacción carga - dipolo inducido*) o un dipolo permanente puede hacer lo mismo (*interacción dipolo - dipolo inducido*). Estas interacciones de dipolos inducidos son de un alcance aún más corto que las interacciones de dipolos permanentes, teniendo energías de interacción proporcionales a  $1/r^4$  y  $1/r^5$ , respectivamente.

(3) *Fuerzas de Dispersión*. Aún moléculas que no tienen ni carga neta ni dipolos permanentes pueden atraerse una a otra si están lo suficientemente cerca. La distribución de la carga electrónica en una molécula nunca es estática, sino que se encuentra fluctuando. Cuando dos moléculas se aproximan a distancias muy cortas, las fluctuaciones de sus cargas se sincronizan dando como resultado una fuerza de atracción neta. Este tipo de interacciones se conocen como *fuerzas de dispersión* (o *fuerzas de van der Waals*) y su energía de interacción depende de  $1/r^6$ , por lo que son significativas sólo a distancias muy pequeñas.

(4) *Enlace de hidrógeno*. Es la interacción que más frecuentemente se encuentra en el reconocimiento a nivel biológico, particularmente en la química de proteínas y en los complejos anfitrión - huésped [5]. También es parte fundamental en el apareamiento de las bases nitrogenadas de los ácidos nucleicos [25].

El enlace de hidrógeno es la interacción entre un átomo de hidrógeno unido covalentemente en un *grupo donador* (como O-H o N-H) y un par de electrones no enlazados en un *grupo aceptor* ( como C=O ), tal como se muestra en la figura 2.3. El átomo al cual se encuentra unido el hidrógeno es el *donador* y el átomo con el par electrónico no enlazado es el *aceptor*, de esta manera, la longitud del enlace de hidrógeno se define como la distancia centro - centro entre los átomos donador y aceptor.

La propiedad de un átomo para funcionar como átomo donador en un enlace de hidrógeno depende de su electronegatividad. Entre más electronegativo es el

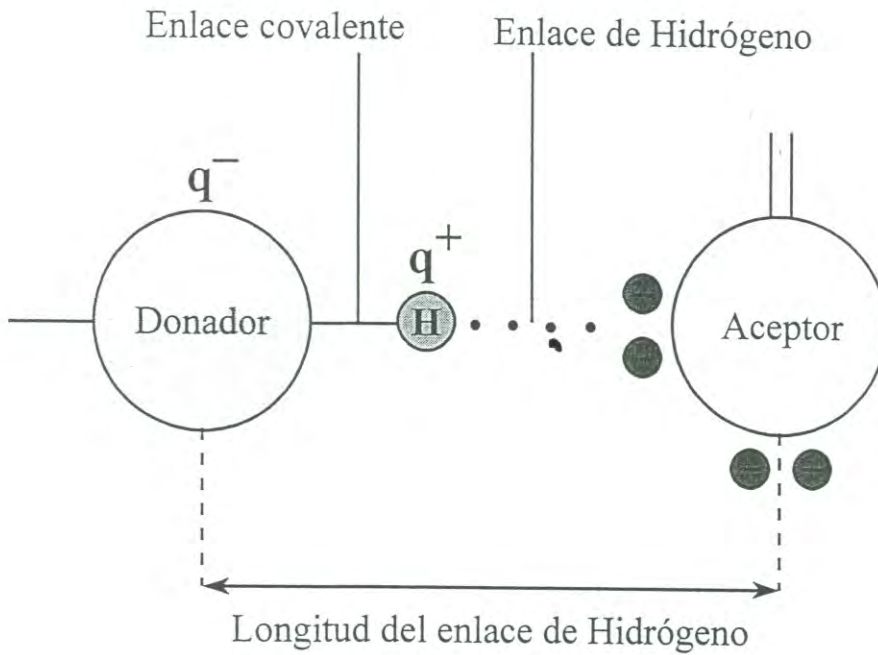


Figura 2.3 Representación del enlace de hidrógeno. La figura muestra un enlace de hidrógeno entre los grupos  $-O-H$  y  $-C=O$ . Aunque el enlace de hidrógeno es entre el H y el aceptor, la longitud del enlace se define como la distancia entre el donador y el aceptor.

Fuente: [25]



átomo donador, el hidrógeno tiene mayor carácter positivo y más fuertemente es atraído por el par electrónico del átomo aceptor. Normalmente, sólo flúor, nitrógeno y oxígeno tienen las electronegatividades apropiadas para funcionar como átomos donadores.

El enlace de hidrógeno tiene características tanto de enlace covalente como de interacción no covalente, y este doble carácter se refleja en la distancia entre el átomo de hidrógeno y el átomo aceptor en un enlace de hidrógeno, la cual es considerablemente menor que la esperada de los radios de van der Waals.

Por otra parte, el enlace de hidrógeno puede ser la fuerza intermolecular más fuerte, dependiendo del solvente. En solventes no polares la contribución en la constante de estabilidad del complejo puede llegar hasta 10 kJ/mol, mientras que en solventes próticos, la competencia de las moléculas del solvente por los sitios de enlace en el sustrato debilita el enlace de hidrógeno entre el receptor y el sustrato.

El ejemplo clásico de la importancia de los enlaces de hidrógeno en la estabilidad de los compuestos químicos es el agua, la cual en estado líquido desarrolla una estructura altamente ordenada en donde cada molécula de agua interacciona mediante enlace de hidrógeno con otras tres moléculas (figura 2.4). Esta red de enlaces de hidrógeno le confiere propiedades únicas tales como su alto punto de ebullición y su alto punto de fusión.

Los receptores moleculares que utilizan el enlace de hidrógeno frecuentemente forman enlaces fuertes con el sustrato, y presentan un alto nivel de enantioselectividad [3,17]. Esto es debido a la fuerza del enlace de hidrógeno y al alto grado de direccionalidad del mismo. Cambios pequeños en la geometría de los enlaces de hidrógeno los debilitan en gran medida. Esta direccionalidad permite que los receptores artificiales sean diseñados de tal manera que enlacen fuertemente a los sustratos sólo en una conformación particular; cualquier cambio en la estructura de los sustratos puede debilitar fuertemente el enlace debido al cambio en la



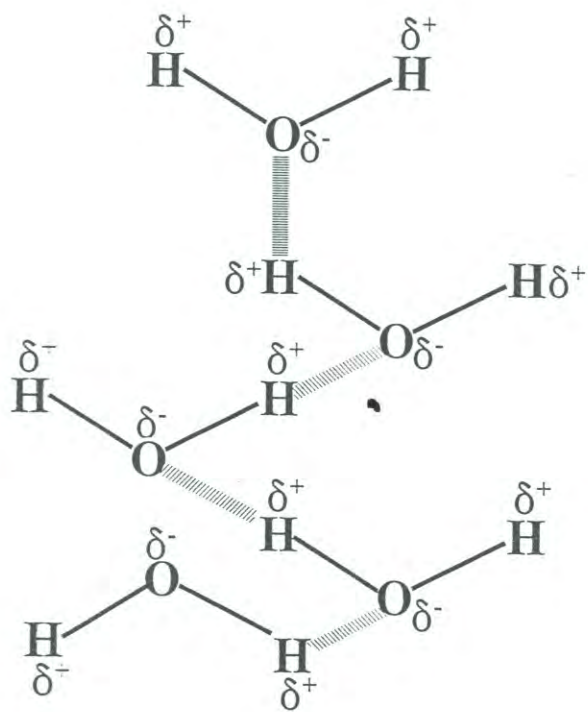


Figura 2.4 Enlaces de hidrógeno entre las moléculas de agua en el estado líquido.

Fuente: [25]

conformación del complejo y la consecuente distorsión de la geometría de los enlaces de hidrógeno [17].

(5) *Efecto hidrofóbico*. Los términos “efecto hidrofóbico”, “interacción hidrofóbica” y “enlace hidrofóbico” son ampliamente utilizados para describir el fenómeno en donde, en soluciones acuosas, los grupos no polares tienden a unirse entre ellos (figura 2.5) [3,13,14,15,17]. De esta manera, en procesos de reconocimiento anfitrión - huésped en ambiente acuoso, si la molécula huésped es no polar (o contiene grupos no polares), son las interacciones hidrofóbicas las fuerzas importantes que lo llevarán a incluirse al interior de la cavidad de la molécula receptora.

Para que suceda lo anterior, la molécula huésped debe liberarse de la cápsula de hidratación que la envuelve, y también debe desplazar a las moléculas de agua que se encuentran en la cavidad del anfitrión. Las moléculas de agua liberadas durante este proceso de inclusión son aceptadas por el medio, donde se consideran moléculas “libres”. Analizado de esta manera podemos considerar que la fuerza impulsora del proceso descrito es la entropía; sin embargo, el proceso también puede ser entálpicamente favorable ya que las interacciones entre moléculas agua - agua y grupo no polar (sustrato) - grupo no polar (receptor) normalmente son más fuertes que las interacciones sustrato - agua y cavidad del anfitrión - agua [3,13].

(6) *Interacciones  $\pi - \pi$* . El término interacción  $\pi - \pi$  se utiliza para describir las interacciones no covalentes que se presentan entre sistemas  $\pi$  deslocalizados, lo cual incluye a las moléculas aromáticas [3,5,17,25,55,56]. Estas interacciones representan un tipo de atracción intermolecular muy importante en química, biología y ciencia de materiales, ya que controlan varios fenómenos de reconocimiento molecular como: el empaquetamiento de moléculas aromáticas en el estado cristalino (y por lo tanto las propiedades de estos materiales); el arreglo helicoidal y las propiedades del DNA; el reconocimiento molecular de drogas por receptores biológicos, enzimas y receptores artificiales, entre otros [55].

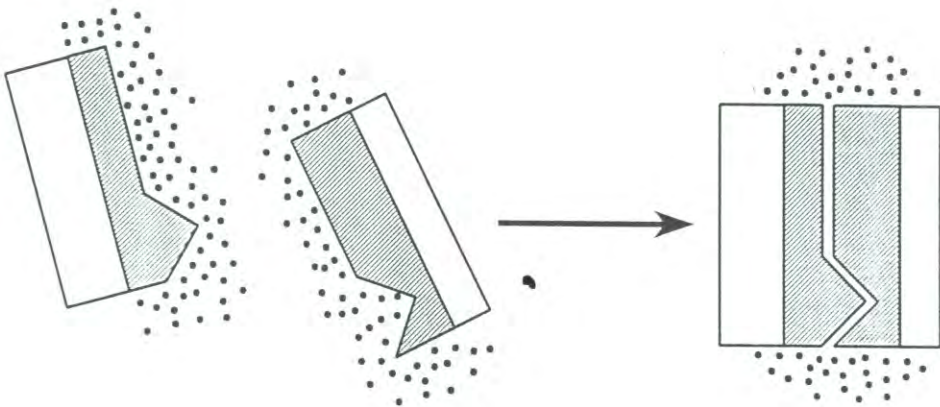


Figura 2.5 Efecto hidrofóbico. Las moléculas de agua (área punteada) son desplazadas de las superficies hidrofóbicas (área rayada).

Fuente: [15]



Se han identificado dos importantes geometrías para las interacciones  $\pi$  -  $\pi$  en sistemas aromáticos: cara- a -cara y borde- a -cara, las cuales se representan en la figura 2.6 [5]. Mediante el estudio de las preferencias entre estas dos geometrías en diferentes sistemas, se ha concluido que en la naturaleza de las interacciones  $\pi$  -  $\pi$  son muy importantes las interacciones electrostáticas entre regiones complementarias en la distribución de carga parciales de los anillo aromáticos: cuando las distribuciones son complementarias (anillo con sustituyente atractor de densidad electrónica con anillo con sustituyente donador) el sistema prefiere un arreglo cara a cara; en ausencia de tal complementariedad se prefiere un arreglo borde a cara.

### 2.1.2 Determinación de Constantes de Formación de Complejos Mediante Titulación Espectroscópica de RMN $^1\text{H}$ .

En la investigación sobre las propiedades de reconocimiento molecular de los ciclofanos sintetizados se utilizó la espectroscopía de RMN  $^1\text{H}$ , la cual es una de las herramientas analíticas más poderosas para la investigación de las interacciones receptor-sustrato (en la literatura química reciente se encuentran innumerables ejemplos en los cuales la titulación espectroscópica con RMN  $^1\text{H}$  ha sido utilizada en estudios de complejación).

Los estudios con RMN  $^1\text{H}$  se basan en que al menos un sitio (protón) del receptor en forma de complejo (o del sustrato en forma de complejo) debe presentar un desplazamiento químico que resulte significativamente diferente del desplazamiento químico del mismo protón del receptor (o del sustrato) en su forma libre. La magnitud de esta diferencia da información tanto de la fuerza de la complejación como de la estructura del complejo [32,57-59]. El cambio en el desplazamiento químico de las señales de RMN  $^1\text{H}$  se debe a que en el complejo,

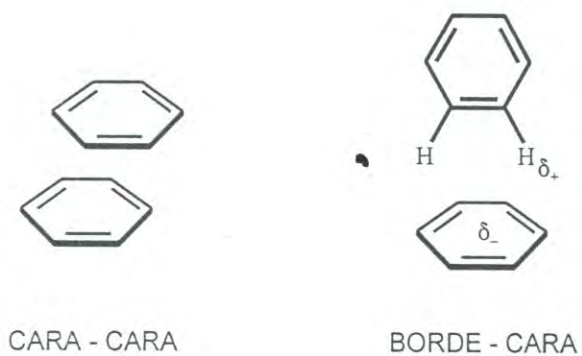


Figura 2.6 Tipos de interacciones  $\pi$  -  $\pi$  entre anillos aromáticos.

Fuente: [5]

las distancias entre ambos componentes son lo suficientemente pequeñas para que afecten mutuamente su posición en el espectro. Los protones en el receptor pueden ser afectados por los efectos anisotrópicos de las unidades aromáticas del sustrato o por efecto de la densidad de carga de los centros iónicos del sustrato (y viceversa). Ya que estos efectos decrecen rápidamente conforme aumenta la distancia entre ambos componentes, los protones presentan diferentes desplazamientos químicos dependiendo de su orientación relativa mutua. Estimaciones y comparaciones con cálculos teóricos para diferentes orientaciones del sustrato dentro de la cavidad del receptor conducen a evidencias precisas sobre la geometría del complejo. Además, esto sirve como prueba directa de que el sustrato está dentro de la cavidad en un arreglo especial, y no al azar.

Por otra parte, la estabilidad del complejo puede describirse en términos de sus constantes de formación ( $K_f$ ) o de disociación ( $1/K_f$ ). Si utilizamos G para designar la molécula huésped y H para referirnos a la molécula de receptor, la formación del complejo de inclusión, HG, puede describirse por la siguiente reacción en equilibrio:



de donde:

$$K_f = \frac{[HG]}{[G][H]} \quad (2.5)$$

Esta ecuación se puede reformular, expresando las concentraciones del receptor y del sustrato en el equilibrio ( $[H]$  y  $[G]$  en la ecuación (2.5)) en función de las concentraciones iniciales ( $[H]_0$  y  $[G]_0$ ) de ambos:

$$K_f = \frac{[HG]}{([G]_0 - [HG])([H]_0 - [HG])} \quad (2.6)$$



Si la velocidad de intercambio entre las formas libre y complejada del receptor es lo suficientemente lenta en la escala de tiempo del fenómeno de resonancia magnética, se observarán diferentes señales ( $\delta_H$  y  $\delta_{HG}$ ) para cada una de las dos formas del receptor [57,58]. En estas condiciones, la fracción molar del complejo ( $n_{HG}$ ) se puede calcular a partir de las intensidades relativas de las señales del receptor libre y del complejo:

$$\frac{I_{HG}}{I_{HG} + I_H} = n_{HG}$$

y como:

$$[HG] = n_{HG} [H]_0$$

al substituir esta expresión en la ecuación (2.6) podemos obtener:

$$K_f = \frac{n_{HG} / [H]_0}{(1 - n_{HG}) \left( \frac{[G]_0}{[H]_0} - n_{HG} \right)} \quad (2.7)$$

donde los términos de la ecuación (2.7) son obtenidos experimentalmente, por lo que a partir de ella obtenemos el valor de la constante de formación del complejo  $K_f$ .

Por otro lado, si la velocidad de intercambio es muy rápida, el espectrómetro registra una sola señal, a un desplazamiento químico promedio de las poblaciones de ambas formas [57,58]:

$$\bar{\delta} = n_H \delta_H + n_{HG} \delta_{HG} \quad (2.8)$$

donde  $n$  representa la fracción molar.

En esta condición, el grado de desplazamiento ( $\Delta\delta$ ) de la señal del protón del receptor con referencia a la posición en ausencia del sustrato, es proporcional al porcentaje de receptor que se encuentra en forma de complejo. En esta situación,

la constante de formación del complejo puede ser determinada utilizando la siguiente relación, la cual se obtiene a partir del manejo adecuado de la relación (2.8):

$$\Delta\delta = \Delta\delta_{\max} \cdot \frac{[HG]}{[H]_0} \quad (2.9)$$

donde  $\Delta\delta_{\max}$  corresponde al máximo desplazamiento del protón del receptor utilizado para monitorear la titulación espectroscópica ; esto es, cuando la totalidad del receptor está formando complejo con el sustrato, condición que se presenta a concentraciones lo suficientemente altas del sustrato:  $[G]_0/[H]_0 = \infty$ .

El término  $[HG]$  en la ecuación (2.6) puede substituirse ahora por las diferencias en desplazamiento químico obtenidos de la titulación espectroscópica, despejando  $[HG]$  de la ecuación (2.9):

$$[HG] = \frac{\Delta\delta_i}{\Delta\delta_{\max}} \cdot [H]_0$$

El procedimiento anterior lleva a obtener la siguiente relación:

$$K_f = \frac{\frac{\Delta\delta_i}{\Delta\delta_{\max}} \cdot [H]_0}{\left([G]_{0,i} - \frac{\Delta\delta_i}{\Delta\delta_{\max}} \cdot [H]_0\right) \left([H]_0 - \frac{\Delta\delta_i}{\Delta\delta_{\max}} \cdot [H]_0\right)} \quad (2.10)$$

El término  $[G]_0$  de la ecuación (2.6) fué sustituido por  $[G]_{0,i}$  en la ecuación (2.10) para indicar que la concentración del sustrato es diferente en cada solución en la serie de la titulación.

El rearrreglo de la ecuación (2.10) nos conduce a la ecuación linearizada (2.11), la cual es una de las formas de expresar la ecuación de Lang [60].

$$\frac{[G]_{0,i}}{\Delta\delta_i} = ([G]_{0,i} + [H]_0 - \frac{\Delta\delta_i}{\Delta\delta_{\max}} \cdot [H]_0) \cdot \frac{1}{\Delta\delta_{\max}} + \frac{1}{K_f} \cdot \frac{1}{\Delta\delta_{\max}} \quad (2.11)$$

De acuerdo a la ecuación (2.11), si mediante la titulación espectroscópica obtenemos una serie de valores de  $\Delta\delta_i$  para diferentes concentraciones  $[G]_{0,i}$ , la gráfica de  $[G]_{0,i}/\Delta\delta_i$  contra  $[G]_{0,i} + [H]_0 - (\Delta\delta_i/\Delta\delta_{\max})[H]_0$  nos da una recta con pendiente igual a  $1/\Delta\delta_{\max}$  y cuya intersección esta dada por  $1/(K_f \cdot \Delta\delta_{\max})$ . Conociendo ambos parámetros es posible obtener el valor de la constante de formación de la reacción de complejación ( $K_f$ ).

### 2.1.3 Ejemplo de Reconocimiento Molecular por Receptores Tipo Ciclofano: Reconocimiento y Transporte de Monómeros de Ácidos Nucleicos.

Recientemente, compuestos análogos de nucleósidos han llamado fuertemente la atención debido a su potencial uso en la quimioterapia antiviral [61]. Por ejemplo, el 9-[(2-hidroetoxi)metil]-9H-guanina (aciclovir, figura 2.7a) es utilizado en el tratamiento de infecciones por herpes, y una amplia familia de nucleósidos que contienen a 2',3'-dideoxiribosa, incluyendo 2',3'-dideoxicitidina (ddc, figura 2.7b) y 3'-azido-2',3'-dideoxitimidina (AZT, figura 2.7c), han demostrado tener actividad anti-HIV. De hecho, AZT es un fármaco aprobado en el tratamiento del SIDA.

El mecanismo de acción de estos fármacos es el siguiente: después de que estas sustancias entran a la célula, ya sea por simple difusión o por la ayuda de proteínas transportadoras de la membrana celular, son fosforiladas en el citoplasma produciendo un nucleótido activo, el cual puede inhibir una enzima esencial para el virus, como la DNA polimerasa y terminar el crecimiento de la cadena de DNA del virus.



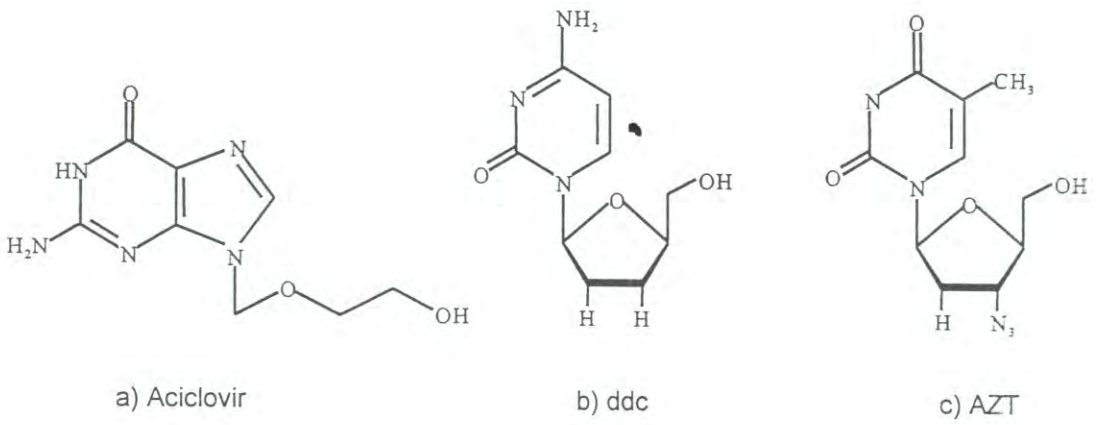


Figura 2.7 Compuestos análogos de nucleósidos que han mostrado actividad antiviral.

Fuente: [62]

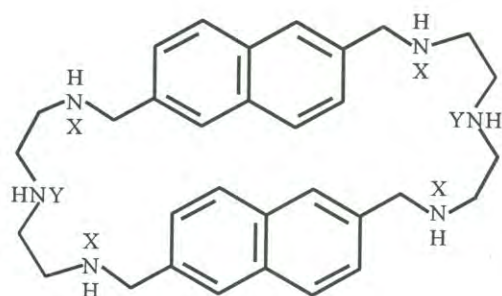
Podemos observar entonces que el primer requerimiento para la actividad farmacológica es el transporte de estos análogos de nucleósidos al interior de las células infectadas a través de la membrana celular lipofílica. Si contáramos con transportadores selectivos de estos compuestos pudiéramos utilizarlos para aumentar el ingreso de los fármacos a la célula, elevando su actividad biológica.

Se han realizado varios estudios respecto a lo señalado anteriormente los cuales, además de haber tenido éxito en el reconocimiento y/o transporte de nucleótidos, nucleósidos y bases púricas y pirimidínicas, han contribuido a mejorar el entendimiento del mecanismo y la bioenergética del reconocimiento selectivo y el transporte celular de estos importantes compuestos bioquímicos [61,62].

Como ejemplo de receptores artificiales tipo ciclofano que presentan propiedades de reconocimiento molecular hacia monómeros de ácidos nucleicos, presentamos enseguida una de las investigaciones realizadas por Jean-Marie Lehn y colaboradores [62].

En este trabajo se sintetizó el macrocíclico tipo ciclofano mostrado en la figura 2.8. El receptor se encuentra principalmente en su forma tetraprotonada, contiene dos subunidades naftaleno planas y dos subunidades dietilentriamina cargadas positivamente. Se diseñó para acomplejar sustratos en solución acuosa por medio de la combinación de las interacciones  $\pi - \pi$  y de fuerzas electrostáticas (figura 2.9). Además, las unidades dietilentriamina son lo suficientemente flexibles para permitir que la cavidad se ajuste al sustrato para una interacción más efectiva entre las superficies hidrofóbicas del receptor y de la molécula huésped.

Las constantes de estabilidad obtenidas para los complejos receptor-huésped entre el ciclofano y diferentes sustratos se presentan en la tabla 2.2. Estos datos arrojan una serie de observaciones interesantes: primero, la estabilidad de los complejos se incrementa con el número de cargas negativas, como se observa para la secuencia  $AMP^{2-}$ ,  $ADP^{3-}$ ,  $ATP^{4-}$  y al comparar las constantes de estabilidad de los sustratos neutros adenina, guanina, citosina y uracilo, con sus contrapartes cargadas



$1$  X = Y = par de electrones  
 $1-4H^+$  X = H, Y = par de electrones  
 $1-6H^+$  X = Y = H

Figura 2.8 Ciclofano sintetizado para acomplejar sustratos orgánicos en solución acuosa.

Fuente: [62]

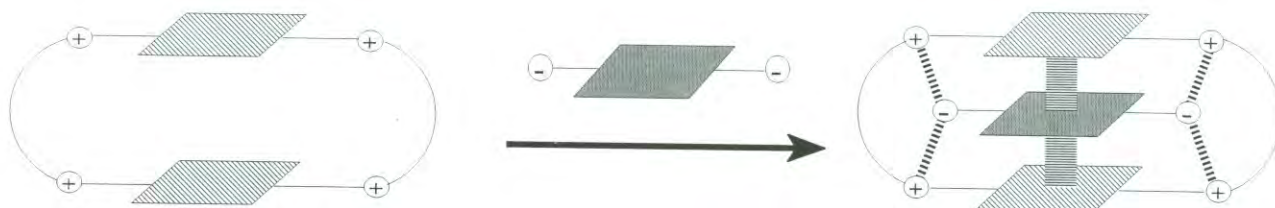


Figura 2.9 Representación esquemática del proceso de ciclo-intercalación receptor - sustrato.

Fuente: [62]



Tabla 2.2 Constantes de estabilidad obtenidas para los complejos formados entre el receptor de la figura 2.8 y diferentes sustratos.

Sustrato	log K
Adenina	2.2
Guanina	3.3
Citocina	1.6
Uracilo	1.9
Monofosfato de Adenina ( $\text{AMP}^{2-}$ ) Adenosin	4.3
difosfato ( $\text{ADP}^{3-}$ )	5.1
Adenosin trifosfato ( $\text{ATP}^{4-}$ )	5.2
Monofosfato de Guanina ( $\text{GMP}^{2-}$ )	4.9
Monofosfato de Citocina ( $\text{CMP}^{2-}$ )	3.7
Monofosfato de Uracilo ( $\text{UMP}^{2-}$ )	4.1

Fuente: [62]

AMP<sup>2-</sup>, GMP<sup>2-</sup>, CMP<sup>2-</sup> y UMP<sup>2-</sup>. En contraste con resultados obtenidos anteriormente con otros receptores, en este caso las fuerzas electrostáticas parecen jugar un papel importante.

El segundo aspecto interesante es la comparación de la selectividad del receptor hacia los derivados monofosfatados AMP<sup>2-</sup>, GMP<sup>2-</sup>, CMP<sup>2-</sup> y UMP<sup>2-</sup>. Aquí las constantes aumentan significativamente conforme aumenta el tamaño de la superficie plana del sustrato, siendo los derivados purina acomplejados más fuertemente que los derivados pirimidina.

Por último, podemos observar una importante selectividad dentro de las siguientes series de compuestos: GMP<sup>2-</sup> forma complejos más estables que AMP<sup>2-</sup> y UMP<sup>2-</sup> más estable que CMP<sup>2-</sup>. De manera similar, guanina se une más fuerte que adenina por un orden de magnitud, y uracilo más fuertemente que citosina.

Estas selectividades pueden ser interesantes para el diseño de agentes que realicen uniones específicas, así como para la modificación de cadenas sencillas de ácidos nucleicos.

## 2.2 Propiedades de Reconocimiento Molecular de los Ciclofanos 1 y 2.

El diseño de receptores artificiales capaces de unir selectivamente sustratos biológicos es de particular importancia para la química supramolecular. Gracias a las investigaciones en esta área se tiene conocimiento de los sitios de enlace específicos de varios complejos biológicos receptor-huésped, lo que a su vez ha llevado al entendimiento de los mecanismos de acción del reconocimiento molecular y, en consecuencia, al desarrollo de nuevos fármacos para el tratamiento terapéutico de distintas enfermedades [63].

De especial interés para el presente trabajo de tesis, son los estudios de reconocimiento molecular de los ciclofanos 1 y 2 hacia las aminas aromáticas: 2-fenetilamina, y sus derivados 2-(4-hidroxifenil)etilamina (tiramina) y 2-(3,4-dihidroxifenil)etilamina (dopamina), cuyas estructuras químicas se presentan en la



figura 2.10. En particular, el interés en dopamina se debe a que es un importante neurotransmisor (perteneciente a la familia de neurotransmisores catecolaminas) cuya inapropiada regulación biológica esta asociada con varias enfermedades neurológicas, entre ellas el *Mal de Parkinson*, padecimiento cuyo tratamiento nos permite visualizar la importancia de entender detalladamente los mecanismos de reconocimiento molecular a nivel biológico [25].

El Mal de Parkinson se caracteriza por un severo desorden neurológico, y se han encontrado niveles anormalmente bajos de dopamina en una particular región de los cerebros de los pacientes. Al intentar tratar a las personas que padecen esta enfermedad con dosis de dopamina, se encontró que no es capaz de atravesar la barrera sangre-cerebro, donde se encuentra un bloqueador selectivo que impide que algunas sustancias penetren al cerebro; sin embargo, el compuesto dopa (un precursor de dopamina) si es capaz de atravesar dicha barrera. Así, muchos individuos con la enfermedad de Parkinson que han sido tratados con dosis diarias de dopa, han mejorado significativamente sus síntomas clínicos. Este ejemplo en las diferencias de selectividad de los receptores a nivel de las membranas biológicas es sumamente ilustrativo de la importancia de conocer detalladamente los factores que controlan las interacciones receptor-sustrato en el reconocimiento molecular.

Se espera que los ciclofanos 1 y 2 formen complejos estables con las aminas aromáticas indicadas (especialmente con dopamina), debido al efecto combinado de las interacciones entre los grupos aromáticos del receptor y del huésped, y de las interacciones electrostáticas entre los grupos  $-\text{CO}_2^-$  del receptor y los grupos  $\text{NH}_3^+$  de los sustratos. También se pretende medir la contribución de los grupos  $-\text{OH}$  de las aminas aromáticas en la fuerza de la complejación, ya que existe la posibilidad de formación de enlaces de hidrógeno con los grupos amina y amida de los receptores.



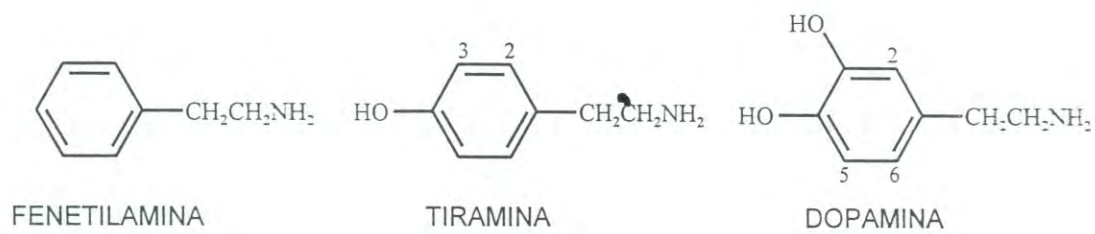


Figura 2.10 Aminas aromáticas utilizadas en los estudios de reconocimiento molecular.

### 2.3 Experimental

En la titulación espectrométrica de RMN  $^1\text{H}$  se utilizó como estándar de referencia DSS. Como se indicó anteriormente, los desplazamientos químicos de los receptores no se ven afectados por la concentración del DSS. No obstante, en las titulaciones con las aminas aromáticas la concentración de DSS fue  $0.2 \text{ mmol dm}^{-3}$ , la cual es mucho menor que las concentraciones del receptor y de los sustratos, a fin de minimizar las posibles interacciones electrostáticas tanto con el receptor como con los sustratos.

La titulaciones de RMN  $^1\text{H}$  se llevaron a cabo a un pD de 8 a una temperatura de  $23^\circ\text{C}$ . Los valores de pH de las soluciones de las muestras fueron determinados en un medidor de pH Beckman Phi 72 equipado con un electrodo marca Aldrich (referencia: calomel). Las mediciones se efectuaron después de obtener el espectro de RMN y se convirtieron a valores de pD mediante la utilización de la ecuación  $\text{pD} = \text{pH}_{\text{medido}} + 0.4$  [48].

Los desplazamientos de las señales de RMN  $^1\text{H}$  de los protones de la molécula de ciclofano en presencia de las moléculas huésped fueron utilizados como evidencia de la formación de los complejos [32,57-59]. Ya que los desplazamientos químicos de las señales de los ciclofanos dependen de la concentración, y en virtud de que la formación de complejos receptor - huésped en solución acuosa debe estudiarse utilizando concentraciones de receptor por debajo de la concentración de agregación crítica [28], la molaridad del receptor en estos experimentos fue de  $5 \text{ mmol dm}^{-3}$ , valor donde la agregación del ciclofano es despreciable. Las concentraciones de los sustratos se variaron desde 5 hasta  $50 \text{ mmol dm}^{-3}$ .

Las soluciones madre del receptor y los sustratos fueron preparadas disolviendo las cantidades adecuadas en agua deuterada ( $\text{D}_2\text{O}$ ), y el pD de las soluciones se ajustó a 8 adicionando una mínima cantidad de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ . En este punto es importante considerar que no se presenta complejación significativa de los ciclofanos con los iones de los metales alcalinos, ya que los desplazamientos de

RMN  $^1\text{H}$  de las sales de sodio, litio y potasio de los ciclofanos son prácticamente iguales a  $\text{pD} = 8$ , dentro de un rango de  $\pm 0.003$  ppm. Además, cuando se utilizan altas concentraciones de NaCl o KCl ( $30\text{-}50$   $\text{mmol dm}^{-3}$ ) en una solución  $5$   $\text{mmol dm}^{-3}$  del ciclofano a  $\text{pD} = 8$ , la señal de los protones (e) del ciclofano 1 sufrió un desplazamiento de sólo  $0.01\text{-}0.02$  ppm, mientras que los protones (e) y (f) del ciclofano 2 se desplazaron sólo  $0.01\text{-}0.03$  ppm; los desplazamientos de los otros protones (incluyendo los protones (d)) de ambos ciclofanos fueron menores a  $0.002$  ppm.

Sin embargo, la presencia de una cantidad alta de un electrólito si influye en la formación de los complejos con aminas aromáticas ya que en presencia de KCl a concentraciones de  $0.1$   $\text{mmol dm}^{-3}$ , las curvas de titulación de RMN de los ciclofanos ( $5$   $\text{mmol dm}^{-3}$ ) alcanzan la saturación a concentraciones mayores de sustrato que cuando se utilizan concentraciones bajas de electrolito, lo cual indica que el ion metálico compite con el sustrato en la reacción de complejación. Es por lo anterior que se utilizó una mínima cantidad de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  para ajustar el  $\text{pD}$  de las soluciones madre, de tal manera que se minimizó un posible efecto del electrolito sobre la reacción de complejación.

Dopamina se oxida gradualmente en presencia de aire cuando se encuentra en solución acuosa, por lo que las mediciones de RMN  $^1\text{H}$  se llevaron a cabo con soluciones recientemente preparadas. Las soluciones fueron estables a  $\text{pD} = 8$  y se mantuvieron incoloras durante la obtención del espectro sin necesidad de remover el oxígeno de la solución; no se detectaron señales debidas a impurezas en el espectro de RMN  $^1\text{H}$ .



## 2.4 Resultados

Las señales de RMN  $^1\text{H}$  de ambos ciclofanos sufren desplazamientos químicos significativos en presencia de fenetilamina, tiramina o dopamina, lo cual indica la formación de complejos entre el receptor y los sustratos [38,57-59]. No se observan nuevos picos en el espectro, por lo que la velocidad de intercambio entre los receptores libres y sus respectivos complejos es alta en la escala de tiempo de lectura del instrumento de RMN.

La tabla 2.3 muestra los cambios en desplazamientos químicos para los protones aromáticos (d), (e) y (f) de los receptores, con referencia a las correspondientes señales en ausencia de las aminas huéspedes. Las señales de los protones aromáticos de los sustratos también presentan un desplazamiento a campo alto en presencia del receptor (tabla 2.4). Estos cambios en el desplazamiento químico de los protones aromáticos sugieren que existen interacciones entre los grupos aromáticos del receptor y del huésped [13,59], por lo que probablemente la molécula de ciclofano encapsula en su cavidad una molécula de amina aromática.

Las constantes de formación de los complejos receptor-huésped fueron determinadas mediante titulaciones espectrométricas de RMN  $^1\text{H}$  a  $\text{pD} \approx 8$  [57,60]. El  $\text{pD}$  utilizado en las titulaciones de RMN fue condicionado por dos parámetros: (1) la solubilidad del ciclofano, la cual disminuye rápidamente conforme baja el  $\text{pD}$  y, (2) las propiedades de las aminas huéspedes: por arriba de un valor de  $\text{pD} = 9.0$ , el espectro de RMN  $^1\text{H}$  de las aminas muestra dos patrones de señales, indicando la presencia de dos especies con una velocidad de intercambio menor que el tiempo de lectura del fenómeno de RMN [57,58]; además, tiramina y dopamina son inestables a valores más altos de  $\text{pD}$ .

Las señales de los protones aromáticos (d) y (e) de los ciclofanos fueron utilizados para medir las diferencias en desplazamiento químico cuando se añaden al receptor diferentes concentraciones de sustrato, las cuales se utilizan para la

Tabla 2.3. Desplazamientos químicos  $\Delta$ (ppm) de las señales de los protones aromáticos de los receptores ciclofanos ( $5 \text{ mmol dm}^{-3}$ ) en presencia de sustratos aminos aromáticos con concentraciones  $[\text{G}]_t/\text{mmol dm}^{-3} = 5$  y  $30$ , constantes formación  $K = [\text{HG}]/[\text{H}][\text{G}]$  y  $\Delta_{\text{max}}$  ( $\Delta$  a concentraciones infinitas de aminos)<sup>a</sup>.

Receptor-Huésped	Protón	$\Delta, ^b[\text{G}]_t = 5$	$\Delta, ^b[\text{G}]_t = 30$	$\log K^c$	$\Delta_{\text{max}} ^b$
Ciclofano 1-fenetilamina	<i>d</i>	0.005	0.026	1.0	0.12
	<i>e</i>	0.016	0.089	0.8	0.55
Ciclofano 1-tiramina	<i>d</i>	0.006	0.037	1.2	0.11
	<i>e</i>	0.021	0.097	1.2	0.30
Ciclofano 1-dopamina	<i>d</i>	0.011	0.050	1.3	0.13
	<i>e</i>	0.031	0.145	1.2	0.42
Ciclofano 2-fenetilamina	<i>d</i>	-0.018	-0.046	1.9	-0.069
	<i>e</i>	0.067	0.199	1.6	0.37
	<i>f</i>	0.107	$\sim 0.29^d$	$1.9^c$	$0.39^d$
Ciclofano 2-tiramina	<i>d</i>	-0.015	$-0.017^e$	$2.7^e$	$-0.026^e$
	<i>e</i>	0.084	0.176	2.0	0.25
	<i>f</i>	0.128	$\sim 0.24^d$	$2.3^c$	$0.27^d$
Ciclofano 2-dopamina <sup>f</sup>	<i>d</i>	-0.014			
	<i>e</i>	0.080			
	<i>f</i>	0.124			

<sup>a</sup> En  $\text{D}_2\text{O}$  con  $\text{pD} = 8.0 \pm 0.1$ . <sup>b</sup> El signo negativo indica desplazamientos hacia campos bajos y el signo positivo hacia campos altos, en relación a las correspondientes señales cuando  $[\text{G}]_t = 0$ . <sup>c</sup> La incertidumbre de  $\log K$  es de  $\pm 0.1$ , a menos que se indique lo contrario. <sup>d</sup> La señal se encuentra traslapada con la señal vecina a altas concentraciones del sustrato; las constantes de formación fueron determinadas a concentraciones bajas de sustrato. <sup>e</sup> El mayor desplazamiento hacia campo bajo es de  $-0.023$  ppm cuando  $[\text{G}]_t = 20 \text{ mmol dm}^{-3}$ ; por arriba de este valor el desplazamiento tiende a disminuir conforme se incrementa la concentración. La constante de formación aproximada fue obtenida a partir de los datos para  $[\text{G}]_t \leq 20 \text{ mmol dm}^{-3}$ . <sup>f</sup> A concentraciones mayores de sustrato se formaron complejos receptor-huésped insolubles en agua.

Tabla 2.4 Desplazamientos<sup>a</sup> ( $\Delta\delta$ ) de RMN <sup>1</sup>H de las aminas aromáticas utilizadas como sustratos ( 5 mmol dm<sup>-3</sup>) en presencia de los ciclofanos 1 y 2 con concentraciones [H]<sub>t</sub>/ mmol dm<sup>-3</sup> = 5 y 30 en D<sub>2</sub>O a pD = 8

Huésped-Receptor	[H] <sub>t</sub>	CH <sub>2</sub> -NH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> -Ph	Protones Aromáticos <sup>b</sup>
fenetilamina-ciclofano 1	5	0.035	0.031	0.04 (promedio)
	30	0.139	~0.15 <sup>c</sup>	~0.18 <sup>c</sup>
tiramina-ciclofano 1	5	0.043	0.038	0.036 (H2), 0.044 (H3)
	30	0.185	~0.14 <sup>c</sup>	0.142 (H2), 0.198 (H3)
dopamina-ciclofano 1	5	0.056	0.046	0.061(H6), 0.048( H5), -0.04 <sup>c</sup> (H2)
	30	0.204	~0.14 <sup>c</sup>	0.192 (H6), 0.150 (H5), -0.15 <sup>c</sup> (H2)
fenetilamina-ciclofano 2 <sup>d</sup>	5	0.131	0.116	0.08 (promedio)
tiramina-ciclofano 2 <sup>d</sup>	5	0.185	0.147	0.095 (H2), 0.157 (H3)
dopamina-ciclofano 2 <sup>d</sup>	5	0.186	~0.1 <sup>c</sup>	0.168 (H6), 0.094 (H5), 0.114 (H2)

<sup>a</sup>Desplazamiento hacia campo alto (ppm) en relación al valor cuando [H]<sub>t</sub> = 0. <sup>b</sup> Para la notación de los hidrógenos, ver las fórmulas de los sustratos. <sup>c</sup> Se traslapa con la señal del receptor. <sup>d</sup>La solubilidad en agua del ciclofano 2 es demasiado baja para las mediciones de RMN a concentraciones mayores de receptor.



determinación de las constantes de formación de los complejos. Las señales de los protones alifáticos no son útiles para este fin debido a que a  $pD \approx 8$ , la posición presenta una alta dependencia del  $pD$ , lo que resultaría en una alta incertidumbre en las constantes de formación.

La figura 2.11 indica los valores de  $\Delta\delta$  de los protones aromáticos de los ciclofanos en función de las concentraciones de las aminas; éstos desplazamientos son en referencia a las correspondientes señales en ausencia de los sustratos. Las curvas de saturación observadas son evidencia de la formación de los complejos receptor/sustrato [64]. La figura 2.12 muestra como ejemplo los espectros de RMN  $^1H$  obtenidos en la titulación espectrométrica de ciclofano 1 con fenetilamina.

Los valores de las constantes de formación de los complejos ( $K$ ) y los desplazamientos máximos de las señales ( $\Delta\delta_{max}$ ) fueron determinados mediante la ecuación de Lang (2.11), utilizando para los cálculos un programa de cómputo basado en dicha ecuación. La figura 2.13 presenta la gráfica de la forma linealizada de la ecuación para los datos obtenidos en la titulación de ciclofano 1 con dopamina; como podemos apreciar, los datos de  $[G]_{0,i}/\Delta\delta_i$  contra  $[G]_{0,i} + [H]_0 - (\Delta\delta_i/\Delta\delta_{max})[H]_0$ , se ajustan correctamente a una recta, comprobando la formación de un complejo 1:1 receptor - sustrato.

Los valores de  $K$  y  $\Delta\delta_{max}$  obtenidos se reportan en la tabla 2.3; como podemos observar, las constantes determinadas con ambos protones (d) y (e) coinciden satisfactoriamente.

Las líneas sólidas de las gráficas de la figura 2.11 son las curvas obtenidas al utilizar los valores de desplazamientos químicos ( $\Delta\delta$ ) calculados con los valores de  $K$  y  $\Delta\delta_{max}$  obtenidos de la ecuación de Lang. Las curvas también se ajustan muy bien a los datos experimentales. Las curvas obtenidas asumiendo la formación de un complejo 2:1 presentan una desviación sistemática de los datos experimentales, lo cual es una prueba indirecta de que únicamente se forma un complejo 1:1 para cada sistema receptor/huésped.

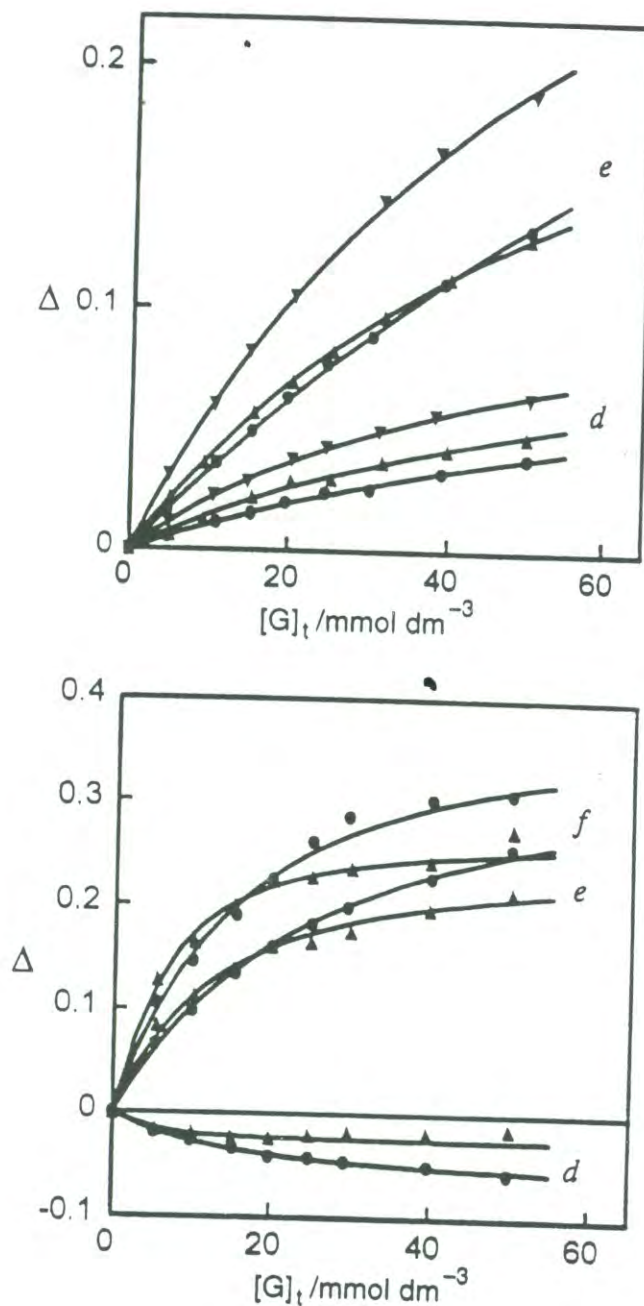


Figura 2.11 Desplazamientos de las señales en RMN <sup>1</sup>H,  $\Delta$  (ppm) =  $-(\delta - \delta_0)$ , de los protones d y e de Ciclofano 1 (gráfica superior), y de los protones d, e y f de Ciclofano 2 (gráfica inferior), a diferentes concentraciones de sustrato  $[G]_t$  (mmol dm<sup>-3</sup>), con referencia a los desplazamientos químicos de las señales correspondientes ( $\delta_0$ ) a  $[G]_t = 0$ . La concentración de receptor  $[H]$ , se mantuvo constante a 5 mmol dm<sup>-3</sup>; temperatura  $\approx 23^\circ$  C; pD = 8.0. Los sustratos son fenetilamina (●), tiramina (▲) y dopamina (▼). Las líneas sólidas fueron calculadas mediante el uso de la ecuación (2.11), con las constantes de formación enlistadas en la tabla 2.3.

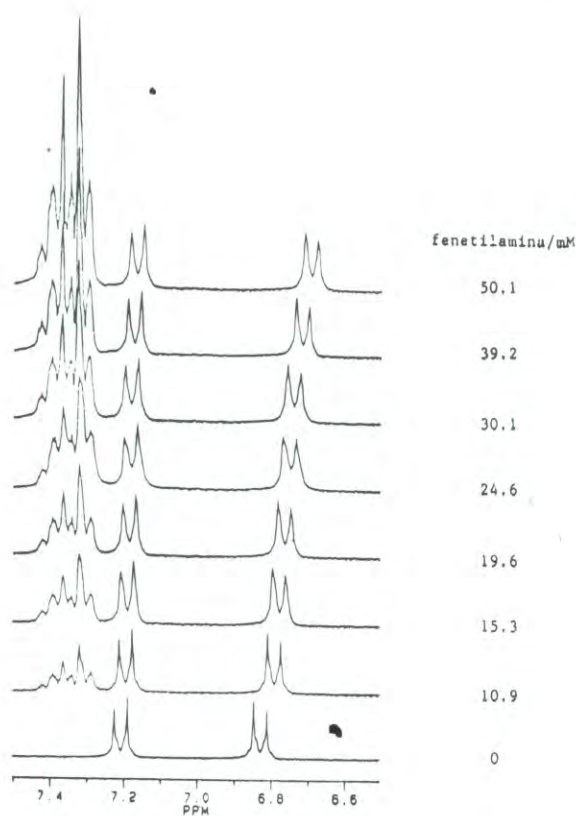
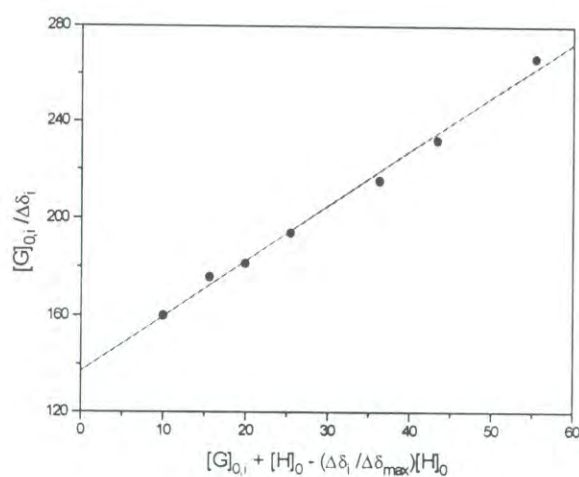


Figura 2.12 Espectros de RMN  $^1\text{H}$  obtenidos en la titulación espectrométrica de Ciclofano 1 (5 mM) a diferentes concentraciones de fenetilamina (pD= 8, T= 23°C, DSS).



$[G]_{0,1}$ (mM)	$\Delta\delta_1$ (ppm)
4.977	0.03108
10.577	0.06012
14.919	0.08222
20.429	0.10535
31.256	0.14506
38.33	0.16499
50.39	0.18879

Figura 2.13 Gráfica de la forma linealizada de la ecuación de Lang para la formación de complejo 1:1 entre el Ciclofano 1 y dopamina.



#### 2.4.1 Sustrato: Fenetilamina.

La señal del protón (e) del ciclofano 2 en presencia de fenetilamina es desplazada en mayor magnitud que la señal correspondiente del ciclofano 1 a la misma concentración de sustrato (tabla 2.3) y, además, el desplazamiento observado para el ciclofano 2 alcanza la saturación a una concentración de amina menor que en el caso del ciclofano 1 (figura 2.11). La señal del protón (d) exhibe, para todos los sustratos, un comportamiento interesante en presencia de la molécula huésped, ya que es desplazada hacia campo alto para el ciclofano 1 y hacia campo bajo para el ciclofano 2. Además, la magnitud de los desplazamientos es muy pequeña comparada con los desplazamientos del protón (e). Como se revisará más adelante, este comportamiento indica que la ubicación de los protones (d) en el complejo es cerca del plano nodal de la corriente anular del sistema  $\pi$  de la amina aromática. El protón (f) del  $-\text{CH}_2-$  ubicado entre los dos grupos fenilo muestra un mayor desplazamiento hacia campo alto en referencia al protón (e).

La constante de formación del complejo ciclofano 2/fenetilamina es significativamente mayor que el complejo formado por el ciclofano 1 y el mismo sustrato (tabla 2.3).

#### 2.4.2 Sustrato: Tiramina.

En presencia de tiramina, las señales del protón (d) de ciclofano 1, y los protones (e) y (f) del ciclofano 2 son desplazadas a campos altos. En ambos casos, los desplazamientos alcanzan la saturación a concentraciones menores que en presencia de fenetilamina. El protón (d) del ciclofano 2 muestra una inusual dependencia de la concentración: la señal se desplaza hacia campo bajo conforme se incrementa la concentración de tiramina, hasta un valor de  $[\text{G}]_t \approx 20 \text{ mmol dm}^{-3}$ , pero por arriba de esta concentración la magnitud del desplazamiento tiende a disminuir (figura 2.11); en este caso la constante de formación fue determinada utilizando los datos para valores de  $[\text{G}]_t \leq 20 \text{ mmol dm}^{-3}$ . Para los dos ciclofanos, los

complejos 1:1 ciclofano/tiramina presentan valores de constante de formación mayores que los complejos ciclofano/fenetilamina; la diferencia es mayor en el caso del ciclofano 2 (tabla 2.3).

#### 2.4.3 Sustrato: Dopamina.

Las constantes de formación de los complejos del ciclofano 1 con tiramina y dopamina son prácticamente iguales (tabla 2.3). Para el ciclofano 2, en presencia de dopamina en cantidades equimolares, los desplazamientos de los protones (d), (e) y (f) son casi idénticos que los desplazamientos en presencia de tiramina. Estos resultados nos indican que la interacción es prácticamente la misma con los dos sustratos. No se determinaron las constantes de formación ciclofano 2/dopamina, ya que a concentraciones altas de amina se forma un sólido blanco, y ya no es posible continuar la titulación de RMN. El sólido formado fue soluble en dimetilsulfóxido y su espectro de RMN  $^1\text{H}$  indica que se formó un complejo ciclofano 2/dopamina 1:2. Ya que las titulaciones de RMN de los otros sistemas muestran la formación de complejos 1:1 en solución, es probable que en el estado sólido del complejo 1:2 ciclofano 2/dopamina, una molécula de dopamina se encuentre encapsulada dentro de la cavidad del receptor mientras que la segunda molécula de dopamina se encuentre como contracción fuera de la cavidad; sin embargo, la estructura en el estado sólido puede diferir de la estructura en solución.

#### 2.4.4 Estudios de Reconocimiento Molecular.

Como se indicó anteriormente, para un efectivo reconocimiento molecular debe existir complementariedad entre la cavidad del receptor y el sustrato, tanto en tamaño y geometría, como en grupos funcionales. En los ciclofanos 1 y 2, cada receptor contiene dos unidades diamina y dos unidades EDTA unidas por cuatro enlaces amida. Los grupos amida se encuentran dentro del sistema conjugación de los grupos fenilo, y por lo tanto los átomos -NH-CO-C- de cada grupo amida están



en el mismo plano molecular del anillo aromático al cual se encuentra enlazado el nitrógeno amida. Esta planaridad define la geometría de las cavidades de los ciclofanos. Los tres grupos funcionales (amino, amida y los carboxilatos como grupos pendientes) contribuyen a la solubilidad en agua de los receptores, y son sitios potenciales de reconocimiento molecular. Los grupos carboxilato cargados negativamente aumentan la capacidad de reconocimiento molecular hacia cationes aromáticos, como resultado de las interacciones electrostáticas.

Para ambos ciclofanos, las constantes de formación de sus complejos con los sustratos amina presentan un incremento en el orden fenetilamina < tiramina ≈ dopamina. Para los mismos sustratos, los complejos del ciclofano 2 tienen constantes de formación mayores que las constantes de los correspondientes complejos del ciclofano 1. Los desplazamientos de los protones aromáticos tanto del receptor como del huésped también son mayores para los complejos del ciclofano 2 en comparación con los desplazamientos correspondientes a ciclofano 1.

Los desplazamientos observados para los protones aromáticos en los espectros de RMN  $^1\text{H}$  sugieren que los complejos de inclusión se forman como resultado de efectos hidrofóbicos. Sin embargo, la interacción hidrofóbica no es la única fuerza de atracción importante para la formación de los complejos, ya que no hay una interacción significativa observada con el anión aromático fenilacetato,  $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{CO}_2^-$ , ni con el zwitter ion aromático de fenilalanina:  $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{CH}(\text{NH}_3^+)\text{CO}_2^-$ . Por ejemplo, a  $\text{pD} = 8$ , en una solución que contiene el ciclofano 1 ( $5 \text{ mmol dm}^{-3}$ ) y ácido fenilacético ( $30 \text{ mmol dm}^{-3}$ ), el protón (d) es desplazado solo  $0.003 \text{ ppm}$  y el protón (e)  $0.02 \text{ ppm}$ , ambos hacia a campo alto; mientras que con fenilalanina como sustrato, los desplazamientos para los mismos protones son de  $0.006 \text{ ppm}$  para el protón (d) y  $0.008 \text{ ppm}$  para (e), también hacia campo alto.

Los grupos amino y fenolato de los sustratos amina se encuentran protonados en el  $\text{pD}$  al cual se llevaron a cabo los estudios:  $\text{pK}_a = 9.83$  para fenetilamina;  $9.3$  y  $10.9$  para tiramina [65]. De esta manera, el brazo  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_3^+$  de la amina



aromática puede formar un par iónico con el grupo  $-\text{CH}_2\text{CO}_2^-$  del ciclofano, a través de enlace de hidrógeno o de interacción electrostática. La formación del enlace  $-\text{N}-\text{H}^+ \cdots \text{O}-\text{CO}-$  es confirmado por la observación del desplazamiento hacia campo alto de los protones  $-\text{CH}_2-$  del grupo  $-\text{CH}_2\text{NH}_3^+$  después de la complejación (tabla 2.4); el desplazamiento hacia campo alto indica que la densidad electrónica del átomo de carbono unido al grupo  $-\text{NH}_3^+$  se incrementa como resultado de la deprotonación parcial de  $-\text{NH}_3^+$  durante la interacción con el grupo  $-\text{CO}^-$  del receptor. La interacción electrostática de apareamiento de iones estabiliza el complejo formado.

En virtud de que el efecto hidrofóbico de las aminas huésped con la cavidad del ciclofano puede debilitarse en el orden fenetilamina > tiramina > dopamina, debido a la presencia del grupo hidrofílico  $-\text{OH}$  en tiramina y dopamina, se espera que las estabildades de los complejos fueran en ese orden. Sin embargo, los complejos de tiramina y dopamina son más estables que los complejos de fenetilamina. De la misma manera, los desplazamientos de las señales de los protones aromáticos tanto del receptor como de los sustratos, son más pronunciados en los complejos de tiramina y dopamina (tablas 2.3 y 2.4). De acuerdo a este comportamiento, el grupo  $-\text{OH}$  debe contribuir a la estabilización del complejo, probablemente a través de la formación de enlaces de hidrógeno con uno de los sitios potenciales para el enlazamiento de hidrógeno del receptor (el nitrógeno amina y el oxígeno del carboxilato). Cuando se prepara una solución que contiene fenol ( $5 \text{ mmol dm}^{-3}$ ) y el ciclofano 1 ( $30 \text{ mmol dm}^{-3}$ ), los protones aromáticos muestran un desplazamiento muy pequeño hacia campo alto ( $0.02 \text{ ppm}$ ) en referencia a la señal en ausencia del receptor; además la señal del protón (e) del ciclofano 1 ( $5 \text{ mmol dm}^{-3}$ ) no presenta desplazamiento cuando se encuentra en presencia de fenol ( $30 \text{ mmol dm}^{-3}$ ). De esta manera, no hay indicación de la formación de complejo entre el ciclofano 1 y fenol, por lo que podemos concluir que la interacción del grupo  $-\text{OH}$  no es lo suficientemente fuerte como para formar un complejo receptor/huésped por sí misma. Sin embargo, cuando el ciclofano y tiramina o dopamina forman un complejo



de inclusión, el grupo  $\text{-OH}$  de la molécula huésped se encuentra ubicado cerca de un sitio del receptor capaz de formar enlace de hidrógeno, de tal forma que dicha interacción aumenta la estabilidad del complejo.

Por otra parte, la corriente de anillo de un grupo fenil produce en su vecindad un campo magnético cuya protección (o desprotección) para los hidrógenos vecinos depende de la posición donde el protón se encuentra ubicado: un protón localizado a lo largo del eje normal del plano molecular experimenta los mayores desplazamientos a campo alto, mientras que un protón que se encuentre en el plano molecular del sistema  $\pi$  sufrirá los mayores desplazamientos hacia campo bajo [66]. La superficie nodal del campo inducido cero se encuentra alrededor de los  $35^\circ$  del plano molecular. Este efecto de la corriente de anillo proporciona información sobre la orientación de la molécula encapsulada en la cavidad del ciclofano.

El protón (d) del ciclofano 2 es desplazado hacia campo bajo con la complejación, mientras que los protones (e) y (f) se desplazan a campo alto, siendo el desplazamiento de (f) mayor que el desplazamiento de (e). Para los complejos del ciclofano 1, tanto el protón (d) como el protón (e) se desplazan hacia campos altos, pero el desplazamiento de (d) es mucho menor que el desplazamiento del protón (e). De estos desplazamientos podemos concluir que la molécula huésped tiene una orientación dentro de la cavidad del ciclofano como la que se señala en la figura 2.14, de la cual podemos destacar dos puntos importantes:

(1) el grupo  $\text{-CH}_2\text{-}$  ubicado entre los grupos fenilo del ciclofano 2, y el  $\text{-O-}$  en el caso del ciclofano 1, se encuentra de cara al plano molecular del anillo bencénico de los sustratos aromáticos (región de máxima protección del campo inducido por el sistema  $\pi$  de la molécula huésped).

(2) los relativamente bajos desplazamientos de los protones (d) (a campo alto para el ciclofano 1 y a campo bajo para el ciclofano 2), indican que estos protones se encuentran cerca del plano nodal de la corriente anular del sistema  $\pi$  de la amina

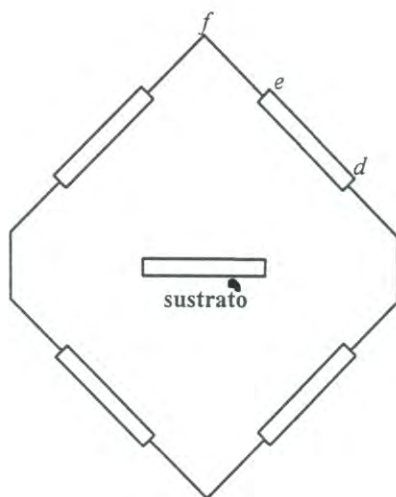


Figura 2.14 Orientación promedio probable para sustratos con anillo de benceno incluidos en la cavidad de los ciclofanos, de acuerdo con los desplazamientos químicos en RMN  $^1\text{H}$ . En el dibujo los rectángulos representan grupos fenilo proyectados a lo largo de sus planos moleculares. La localización de los protones d, e y f del receptor es señalada esquemáticamente. Si suponemos que los protones f se encuentran sobre la normal del anillo de benceno del sustrato, la distancia de los protones f al centro del anillo se encuentra en el rango de 5 - 6 Å.



aromática (hacia el eje del plano para el ciclofano 1 y hacia el plano molecular para el ciclofano 2).

Esta orientación es consistente con un cálculo electrostático realizado por Hunter y Sanders [55], en el cual se reportó que una interacción atractiva entre los sistemas  $\pi$  del receptor y del huésped se presenta cuando las moléculas se encuentran dispuestas como se indica en la figura 2.14. Dicho estudio es congruente con las observaciones experimentales, y de manera general se basa en lo siguiente:

Consideremos un sistema receptor-huésped, donde el receptor es un macrocíclico tipo ciclofano y las moléculas huésped son sustratos aromáticos. Cuando los anillos aromáticos del ciclofano son polarizados por grupos donadores de densidad electrónica al anillo (como es en el caso del ciclofano 1), dichos grupos quedan deficientes en electrones, mientras que el anillo aumenta su densidad electrónica. De esta manera, la región del receptor que queda por arriba del plano del sistema  $\pi$  de la molécula huésped (posición cara a cara), son aquellas que se encuentran deficientes de electrones, es decir, los grupos donadores de electrones unidos al anillo ( $-O-$  para el ciclofano 1), mientras que las regiones que interactúan con los átomos de hidrógeno de las moléculas huésped son aquellas ricas en electrones. Esta orientación nos lleva al esquema de la figura 2.14.

Los complejos del ciclofano 2 son más estables que los complejos del ciclofano 1. Esta diferencia es atribuible al grupo que une los dos grupos fenilo en los ciclofanos. Uno de los factores probables que origina la diferencia en estabildades es el efecto estérico del grupo  $-CH_2-$ , el cual define la geometría de la cavidad del ciclofano de forma más estricta que lo hace el átomo de oxígeno en el ciclofano 1. Como se revisará en el siguiente capítulo, un factor clave en la formación de complejos de inclusión por parte de receptores artificiales, es la preorganización que presente el receptor antes de la complejación; como un principio general, a mayor rigidez de la estructura macrocíclica mayor preorganización del receptor y, en consecuencia, mayor estabilidad de los complejos formados.

## CAPÍTULO 3

# ESTUDIO DE FORMACIÓN DE COMPLEJOS METÁLICOS CON IONES COBRE(II)



### 3.1 Antecedentes y Significancia.

Una vez que han sido identificadas el tipo de interacciones y los sitios específicos mediante los cuales un receptor reconoce selectivamente a cierto tipo de sustratos, es conveniente considerar la posibilidad de introducir sitios de unión adicionales en la estructura del macrocíclico. Esto conduce a la formación de *coreceptores*, los cuales se definen como moléculas receptoras politópicas, las cuales combinan dos o más subunidades de enlace dentro de la misma arquitectura macrocíclica. Las subunidades pueden cooperar para la complejación simultánea de uno o varios sustratos, y pueden también funcionar como cocatalizadores o coacarreadores, desempeñando entonces una función sobre el sustrato como una reacción química o el transporte. Además, debido a la capacidad para el múltiple reconocimiento y a los efectos mutuos del enlace en las subunidades, los coreceptores son capaces de llevar a cabo formas de comportamiento molecular muy selectivas tales como la comunicación o transferencia de señales cuando un sustrato es complejado o liberado por el coreceptor [7,18] (proceso fundamental en la ciencia de materiales, particularmente en el desarrollo de sensores moleculares), así como la cooperatividad, los efectos alostéricos y la regulación de reacciones químicas [7,22,67,68] (procesos fundamentales en los sistemas biológicos).

Los receptores politópicos son muy variados: pueden clasificarse como homotópicos o heterotópicos, dependiendo si los grupos funcionales que contienen los receptores son capaces de enlazar diferentes tipos de sustratos; con respecto al número y naturaleza de los sustratos, el complejo formado puede ser mono- o polinuclear: si es polinuclear tiene dos posibilidades: homonuclear o heteronuclear, dependiendo si los sustratos enlazados son idénticos o diferentes.

De particular interés dentro de los coreceptores heterotópicos son los *metalreceptores*, los cuales tienen la capacidad de enlazar tanto iones metálicos como moléculas orgánicas por medio de unidades específicas para cada tipo de sustrato. En este caso, generalmente primero se presenta la unión del ion metálico, el cual funciona



como sitio de interacción para otro sustrato [7,19-23] (figura 3.1). De esta manera, los metaloreceptores, y los complejos formados por ellos, abren una interesante área para el estudio de las interacciones y las posibles reacciones entre las especies inorgánicas y orgánicas enlazadas simultáneamente. En vista del número de complejos metálicos conocidos, y de los varios sustratos moleculares potenciales, pueden diseñarse numerosos tipos de metaloreceptores que resulten de interés para formar sistemas modelo tanto para especies químicas no biológicas, como para sistemas bioinorgánicos.

Los ciclofanos 1 y 2 tienen la capacidad, dadas sus propiedades químicas y estructurales, de funcionar adecuadamente tanto como sensores de iones metálicos, o como metaloreceptores: poseen dos subunidades EDTA y una subunidad aromática formada por los cuatro grupos fenilo. Cada una de las subunidades EDTA es capaz de enlazar fuertemente un ion metálico a través de los grupos amina y amida; además, el complejo metálico binuclear resultante es potencialmente capaz de enlazar sustratos orgánicos a través de interacciones múltiples, vía los centros metálicos, interacciones  $\pi$ - $\pi$  e interacciones con los grupos funcionales que no participen en la coordinación con el metal.

En virtud de lo anterior, después de establecer las propiedades de reconocimiento molecular hacia sustratos orgánicos por parte de los receptores sintetizados en el presente trabajo, el siguiente paso en la presente investigación es el estudio de la formación de complejos con iones cobre(II). El objetivo de estos estudios es la caracterización de las propiedades estructurales, electrónicas y espectroscópicas de los complejos formados, para lo cual se pretende investigar los efectos de la complejación de iones cobre(II) sobre las propiedades de los nuevos receptores. Se espera que la coordinación con  $\text{Cu}^{2+}$  con ambos ciclofanos sea muy efectiva, debido a la alta afinidad del cobre(II) por los ligandos poliaza [47,69-72]. Los estudios se llevarán a cabo mediante el análisis de los espectros ultravioleta - visible e infrarrojo de los complejos metálicos.

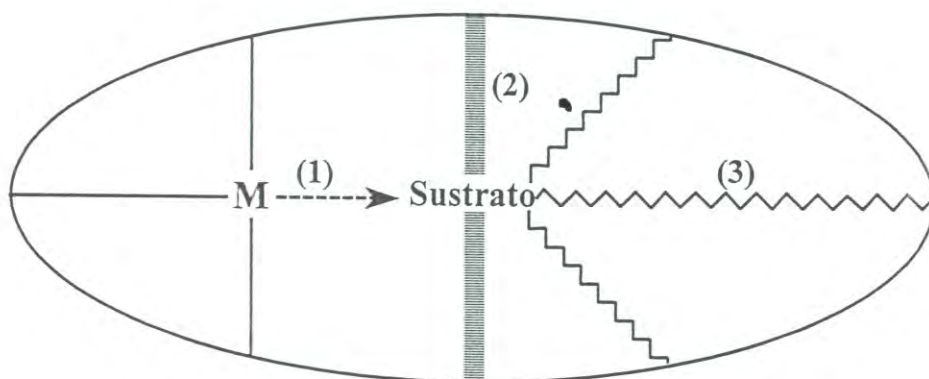


Figura 3.1 Representación esquemática de un metaloreceptor capaz de enlazar una molécula de sustrato mediante la combinación de (1) coordinación metálica, (2) interacciones  $\pi - \pi$  y (3) enlace de hidrógeno.

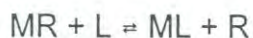
Fuente: [23]

Ya que generalmente los complejos receptor-sustrato son caracterizados por su geometría (estructura, conformación), su termodinámica (estabilidad, entalpía y entropía de formación) y su cinética (velocidades de formación o disociación), antes de presentar la parte experimental, en este capítulo revisaremos las características generales que influyen en estos factores; asimismo, se presentará un interesante ejemplo de la aplicación de metaloreceptores en el área del reconocimiento molecular.

### 3.1.1 Factores Importantes en la Formación de Complejos Metálicos de Ligandos Macroclíclicos.

Con frecuencia, aunque no siempre, los macroclíclicos forman complejos más estables que los correspondientes ligandos de cadena abierta. Este fenómeno fue primeramente observado por Cabiness y Margerum con ciclam hexametilado y fue denominado, por analogía con el efecto quelato, **efecto macroclíclico** [10-12,47].

El efecto macroclíclico es expresado en términos cuantitativos como la diferencia en los valores del logaritmo de la constante de complejación,  $\log K$ , (ó de las energías libres de complejación) de los complejos formados por el compuesto clíclico y su análogo acíclico. Alternativamente, esta diferencia puede ser conceptualizada como el valor del  $\log K$  de la siguiente reacción de intercambio:



donde:

M = sustrato.

R = ligando de cadena abierta.

L = ligando macroclíclico.

MR = complejo sustrato-ligando de cadena abierta.

ML = complejo sustrato-ligando macroclíclico.

Los factores que desempeñan un papel importante en el efecto macroclíclico son los que se describen a continuación:



### *Selección del Análogo de Cadena Abierta.*

Aunque tal vez resulte obvio, es importante señalar que el efecto macrocíclico depende fundamentalmente de la elección del compuesto análogo de cadena abierta, ya que la magnitud de dicho efecto puede cambiar drásticamente con la elección del punto de referencia. Por ejemplo, en la tabla 3.1 se compara la magnitud del efecto macrocíclico del ligando A tomando como referencia dos posibles análogos (B y C) de cadena abierta para este macrocíclico. Como podemos observar, el efecto es extremadamente alto si comparamos A con B, pero sólo moderado si se compara A con C, que es otro compuesto análogo posible para medir el efecto macrocíclico [12].

### *Propiedades Fisicoquímicas de la Reacción de Complejación.*

Las investigaciones sobre la termodinámica de la reacción llevan a la conclusión que tanto el factor entálpico como el factor entrópico pueden ser los responsables del efecto macrocíclico. En la tabla 3.2 se comparan la termodinámica de los complejos de cobre, níquel y zinc con los ligandos 2,3,2-tet (cadena abierta) y 14-anoN<sub>4</sub> [69]. Se puede apreciar que las diferencias en las estabilidades de los complejos (log K), las cuales son mayores para el complejo 14-anoN<sub>4</sub> (efecto macrocíclico), se deben básicamente a las diferencias en las entalpías de complejación.

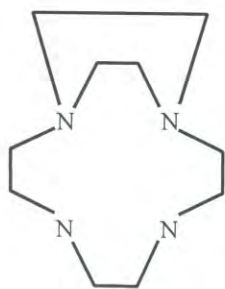
Otras veces, el efecto macrocíclico tiene un origen entrópico. Esto ha sido demostrado, por ejemplo, para los complejos de cobre de las siguientes parejas de ligandos macrocíclicos y de cadena abierta que se muestran en la figura 3.2.

Independientemente si la reacción de complejación es conducida por el factor entálpico o el entrópico, se ha observado que generalmente el efecto macrocíclico tiende a incrementar la fuerza del enlace receptor-sustrato. Esto se ha observado, por ejemplo, al comparar los valores de  $Dq$  de los complejos metálicos de ciclám y su análogo de cadena abierta [74]. Como se aprecia en la tabla 3.3, los complejos macrocíclicos tienen valores mayores de  $Dq$  que los complejos de los ligandos convencionales.

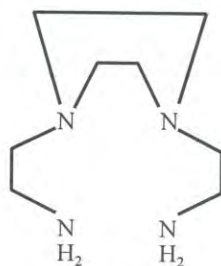
Tabla 3.1 Comparación del efecto macrocíclico entre el compuesto A y sus posibles análogos B y C.

EFECTO MACROCÍCLICO <sup>a</sup>		
ION METÁLICO (M)	A vs. B	A vs. C
Ni <sup>2+</sup>	9.6	2.3
Cu <sup>2+</sup>	9.6	3.2
Zn <sup>2+</sup>	5.2	4.2
Cd <sup>2+</sup>	5.8	3.7

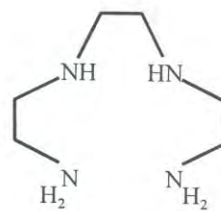
<sup>a</sup> efecto macrocíclico =  $\log [MA]/[M][A] - \log [MX]/[M][X]$  (X = B o C)



A



B

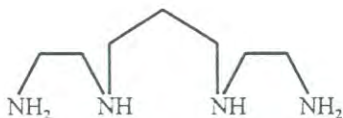
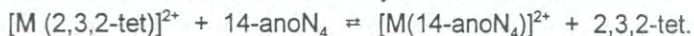


C

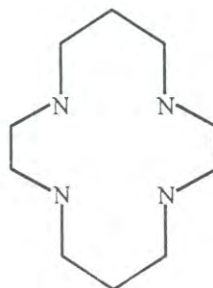
Tabla 3.2 Diferencias en entalpía ( $\Delta H$ ), entropía ( $\Delta S$ ) y estabilidades ( $\log K$ ), de los complejos de 14-anoN<sub>4</sub> y 2,3,2-tet con iones metálicos<sup>a</sup>.

Ion metálico	Cu(II)	Ni(II)	Zn(II)
<b>log K</b>			
14-anoN <sub>4</sub>	26.5	19.4	15.5
2,3,2-tet	23.2	15.9	12.6
$\Delta \log K(\text{MAC})$	3.3	3.5	2.9
<b><math>\Delta H</math> (kcal·mol<sup>-1</sup>)</b>			
14-anoN <sub>4</sub>	-32.4	-24.1	-14.8
2,3,2-tet	-27.7	-18.6	-11.9
$\Delta H(\text{MAC})$	-4.7	-5.5	-2.9
<b><math>\Delta S</math> (cal·deg<sup>-1</sup>·mol<sup>-1</sup>)</b>			
14-anoN <sub>4</sub>	13.0	8.0	21.0
2,3,2-tet	13.0	10.0	18.0
$\Delta S(\text{MAC})$	0.0	-2.0	3.0

<sup>a</sup>Los valores de  $\log K(\text{MAC})$ ,  $\Delta H(\text{MAC})$  y  $\Delta S(\text{MAC})$  son las cantidades termodinámicas del efecto macrocíclico y se refieren a la reacción:



2,3,2-tet



14-anoN<sub>4</sub>





Hancock y colaboradores [47] han desarrollado un modelo que explica el aumento en la fuerza del enlace basado en el hecho de que la macrociclización incrementa el número de nitrógenos secundarios, los cuales tienen un carácter más básico que los nitrógenos primarios. En dos unidades de  $\text{en}_2$  existen cuatro nitrógenos primarios; en los ligandos tetraaza de cadena abierta hay dos nitrógenos primarios y dos secundarios; mientras que ciclam contiene cuatro nitrógenos secundarios. Naturalmente el efecto inductivo de los sustituyentes alquilo debe dar un carácter más básico a los átomos de nitrógeno de cualquier tipo de ligando, y por lo tanto el enlace de coordinación debe ser más fuerte; sin embargo, en ligandos de cadena abierta el efecto del aumento en la basicidad se ve opacado por el impedimento estérico (consecuencia de la introducción de los grupos alquilo) y por la disminución de la solvatación. Se concluye de lo anterior que el efecto del aumento en la basicidad de los nitrógenos es más remarcado en los complejos de macrocíclicos, debido a que el aumento de nitrógenos secundarios no está asociado a la introducción de sustituyentes alquilo.

Por otra parte, aunque el término *efecto macrocíclico* caracteriza en sentido estricto la termodinámica de la interacción metal-ligando, también se puede considerar que dicho efecto se debe a una disminución en la velocidad de disociación del complejo en relación con la velocidad de formación [24]. Los valores de las velocidades de disociación para los complejos de macrocíclicos generalmente son menores que las velocidades de disociación de los ligandos convencionales. Cualitativamente, este decremento es una consecuencia natural de las restricciones topológicas existentes en un ligando cíclico, las cuales provocan que un ligando contenga varios puntos de coordinación (en otras palabras, un anillo no tiene una salida lateral para el sustrato).

### *Preorganización*

El punto más importante para que se de una eficiente complejación es la *preorganización* del ligando [12,13,16]. Esto significa que con el objetivo de minimizar la energía necesaria para el rearreglo conformacional sufrido durante la complejación,



la conformación del ligando en el estado libre debe parecerse lo más posible a la conformación del ligando en el complejo. En general, los macrocíclicos son ligandos más preorganizados que los análogos de cadena abierta, y se cree que ésta es la razón principal para que se presente el efecto macrocíclico. De hecho, cuando ocurre la complejación, se presume que un ligando multidentado converge sus grupos funcionales ligantes: todos los grupos donadores empiezan a acercarse y cada uno de sus pares de electrones no enlazantes se orientan al punto central. Previo a la complejación (en el estado libre) dicha conformación es poco probable debido a las fuerzas repulsivas de los electrones no enlazantes y a las interacciones electrostáticas. De esta manera, los ligandos de cadena abierta libres, tienden a adoptar la formas de zig-zag. En el caso de los macrocíclicos éstos se encuentran restringidos para adoptar la conformación zig-zag, por lo que ya se encuentran pre-tensionados en su forma libre (Figura 3.3).

El rol de la preorganización en el efecto macrocíclico ha sido bien elucidado por numerosos estudios estructurales y teóricos. Por ejemplo, el enlace de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  y  $\text{Ba}^{2+}$  con 18C6 es de 3 a 4 órdenes de magnitud más fuerte que su análogo de cadena abierta [12] (figura 3.4).

El concepto de preorganización ha conducido a numerosos intentos de producir ligandos más efectivos que los macrocíclicos tradicionales. Las estrategias comunes para alcanzar un alto grado de preorganización son las siguientes:

- 1) Aumentar la rigidez e insertar puentes en el sistema anular [12]. Actualmente existe una amplia variedad de macrocíclicos altamente preorganizados, los cuales pueden dividirse en dos amplios grupos: los que utilizan unidades estructurales rígidas (ligandos policíclicos) y aquellos que emplean puentes entre los centros donadores de los macrocíclicos (ligandos jaula). Los ejemplos más prominentes son los esferandos que contienen unidades anisol; los torandos, los cuales están hechos de pequeños (hetero)ciclos fusionados; los criptandos y otros macrocíclicos reforzados que utilizan



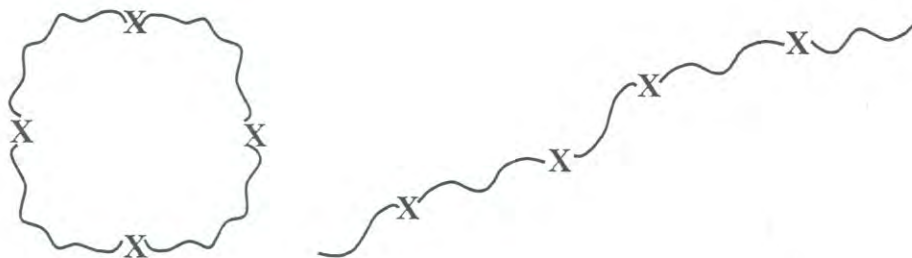


Figura 3.3 Conformación de los ligandos macrocíclicos y de cadena abierta en el estado libre.

Fuente: [12]

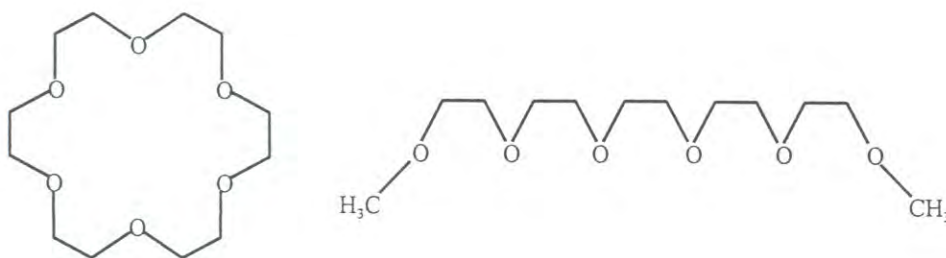


Figura 3.4 Ligandos utilizados para observar el rol de la preorganización en el efecto macrocíclico.

Fuente: [12]

puentes a través de nitrógeno. Algunos ejemplos de este tipo de compuestos se muestran en la figura 3.5.

La tabla 3.4 ilustra lo que se puede lograr con macrocíclicos de alta rigidez. Como se puede observar, las constantes de estabilidad para los ligandos son muy altas, aumentando su valor conforme aumenta la rigidez del macrocíclico. Un hecho que particularmente llama la atención es que el torando E de la figura 3.5 presenta una afinidad extremadamente alta para los metales alcalinos, aún y cuando los nitrógenos piridina son comúnmente considerados como donadores no apropiados para cationes duros.

Un aspecto importante a considerar es el hecho de que el incremento en las restricciones estéricas de los ligandos puede ocasionar algunos problemas:

(1) ligandos demasiado rígidos frecuentemente presentan una velocidad de formación del complejo demasiado baja; (2) la inserción de puentes adicionales, los cuales poseen características estereoquímicas propias, pueden alterar desfavorablemente las propiedades del ligando; (3) el aumento en la rigidez puede causar efectos laterales inesperados: recientemente, Li y Still [74] reportaron la síntesis de un derivado de 18C6, el cual puede adoptar solamente una conformación (figura 3.6). Este ligando forma un complejo con potasio que es dos veces más estable que el complejo con 18C6, debido a su mayor preorganización. Sin embargo, también presenta una ganancia de 3 órdenes de magnitud en la complejación con sodio, de tal manera que no sólo se incrementa la afinidad, sino que también se invierte la selectividad del ligando.

2) Introducción de Substituyentes Periféricos. Una serie de estudios en macrocíclicos que contienen azufre ejemplifica como la ingeniería de la estructura del ligando puede incrementar la eficiencia de la complejación por medio de modificaciones menores de los macrocíclicos comunes, lo cual se explica a continuación [12,75]. En general, los macrocíclicos que contienen azufre presentan un efecto macrocíclico pequeño. El origen de este fenómeno es que estos ligandos requieren de un rearrreglo conformacional muy fuerte durante la complejación, debido a que los átomos de azufre

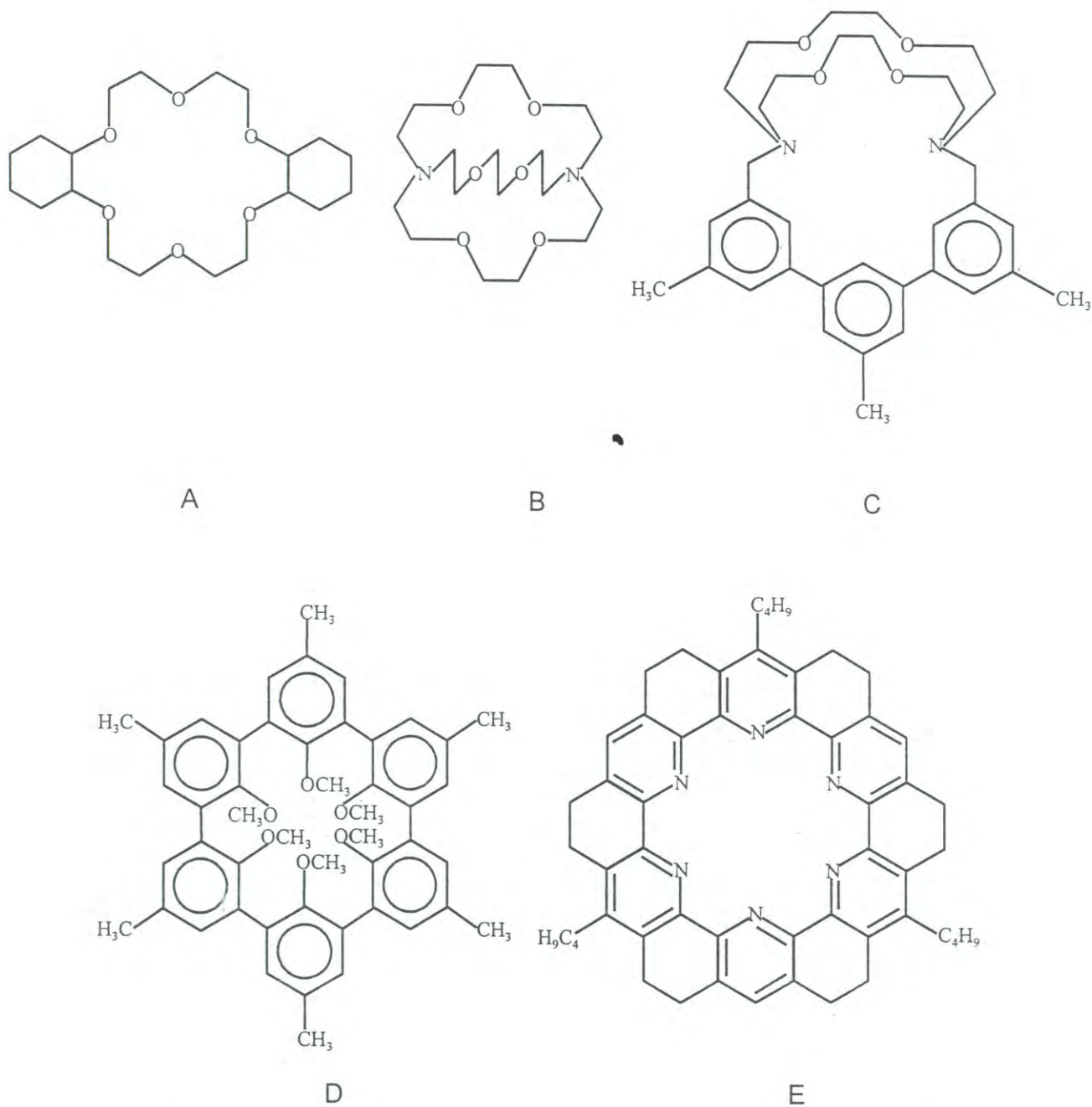


Figura 3.5 Ejemplos de compuestos macrocíclicos altamente preorganizados.

Fuente: [12]



Tabla 3.4 Constantes de estabilidad ( $\log K$ ) para los complejos de sodio y potasio de los macrocíclicos de la figura 3.5.

Ligando	Complejo con sodio	Complejo con potasio
A	6.4	8.3
B	10.6	13.2
C	9.9	13.9
D	14.1	4.4
E	14.7	14.3

Fuente: [12]

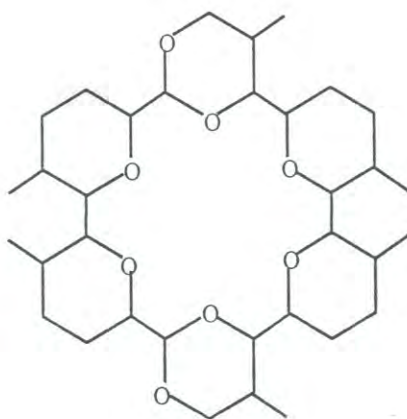


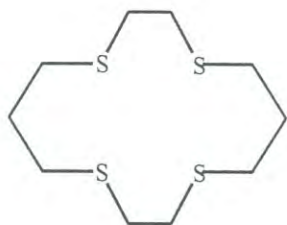
Figura 3.6 Derivado de 18C6 con alto grado de rigidez.

Fuente: [74]

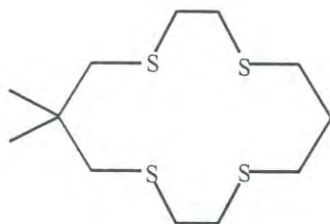
se encuentran en una conformación *exodentada*, esto es, la orientación de los pares electrónicos no enlazantes es hacia afuera de la cavidad (esta preferencia conformacional está relacionada con las propiedades torsionales inherentes de los enlaces SC-CS, SC-CC y CS-CC). Sin embargo, la introducción apropiada de grupos gem-dimetil pueden cambiar las preferencias torcionales del ligando e inducir conformaciones más preorganizadas, aumentando la eficiencia de la complejación, como se puede apreciar en la figura 3.7.

*Funcionalización De Macrocíclicos.* Los macrocíclicos pueden ser funcionalizados mediante la inserción de brazos pendientes. La introducción de estos grupos aumenta el número de grupos donadores disponibles para la complejación, y abre la posibilidad de sintetizar una amplia variedad de ligandos preorganizados con grupos funcionales que no pueden ser incluidos fácilmente en el anillo macrocíclico. Probablemente el caso más importante de este tipo de compuestos son los ciclopoli(azacarboxilatos), los cuales son ampliamente usados en química analítica. Tales ligandos generalmente muestran una eficiencia extremadamente alta. Por ejemplo, el complejo de calcio con tetraazaciclododecanotetracetato (DOTA), figura 3.8, es probablemente el más estable de todos los complejos de calcio que se han reportado [12,76]. El mismo ligando es también el más fuerte agente quelante para gadolinio(III) [76], tres órdenes de magnitud más eficiente que el mejor agente quelante conocido de cadena abierta: ácido dietilentriaminopentacético.

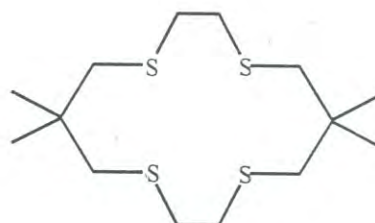
Por otra parte, aún y cuando el macrocíclico no tenga capacidad de coordinación, puede adicionar preorganización a la molécula quelante. Un interesante ejemplo es el que ocurre en la naturaleza con el macrocíclico con brazos pendientes Enterobactin (figura 3.9), que es un agente microbiano transportador de  $\text{Fe}^{3+}$  con el cual forma un complejo extremadamente estable, con  $\log K \approx 49$ . Este quelato es 6 órdenes de magnitud más estable que su análogo de cadena abierta, el trímero de N-(dihidroxibenzoil)serina [77]. Aunque este no es un efecto macrocíclico en sentido



A



B



C

Macrocíclico		A	B	C
Eficacia de la complejación <sup>a</sup>	Ni/Nitrometano	1	7	50
	Cu/Metanol	1	4	12
Conformación de los electrones del azufre en el ligando libre		todos exo	inter-media	todas endo

<sup>a</sup>Eficacia: relación entre las constantes de complejación en referencia al ligando A

Figura 3.7 Compuestos macrocíclicos que contienen azufre como heteroátomos.

Fuente: [75]



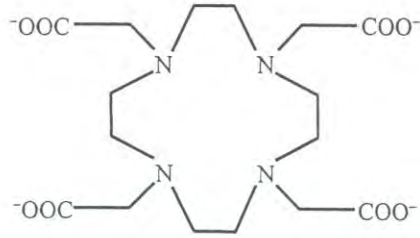


Figura 3.8 Tetraazaciclododecanotetraacetato (DOTA).

Fuente: [77]

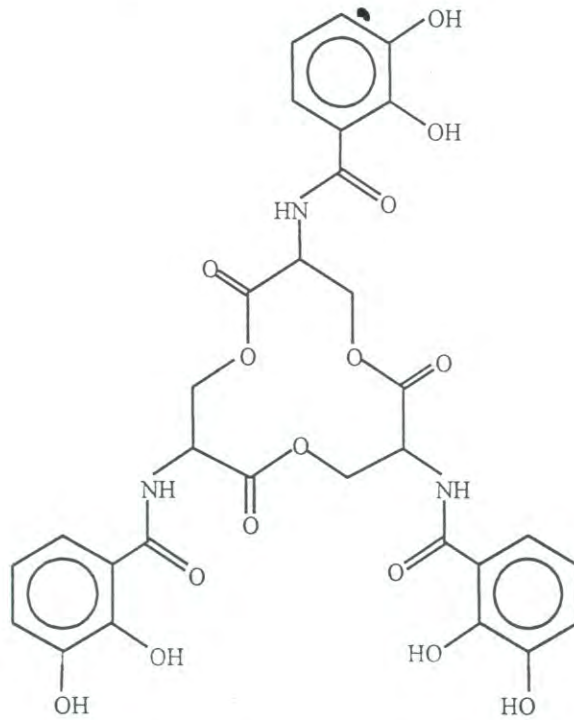


Figura 3.9 Enterobactin, agente microbiano transportador de ion férrico.

Fuente: [77]

estricto, ya que son los oxígenos de los grupos catecolatos de los brazos del compuesto, los únicos involucrados en el enlace del Fe(III), el macrocíclico proporciona mayor preorganización en la molécula y es responsable del apropiado arreglo de los grupos ligantes. La misma lógica parece residir en el diseño del más eficiente agente quelante sintético que se conoce para el Fe(III) (Figura 3.10). El complejo de este ligando con Fe(III) es aún más estable que el complejo de Enterobactin a pH fisiológico [78].

### 3.1.2 Ejemplo de Reconocimiento Molecular por Complejos Metálicos de Ciclofanos: Efectos Alostéricos en Metaloreceptores.

Como se indicó anteriormente, varios grupos de investigación [13-15] han mostrado un gran interés en estudiar la capacidad de los ciclofanos para formar complejos con iones metálicos ya que esto puede traer consigo múltiples ventajas, entre ellas, el hecho de que puedan ser utilizados como detectores de metales en solución, tanto cualitativa como cuantitativamente. Si esta capacidad de los ciclofanos es complementada con el fenómeno de reconocimiento molecular, las aplicaciones potenciales se incrementan sorprendentemente ya que la unión con el metal induce a la aparición de efectos alostéricos en el receptor.

Los efectos alostéricos son muy importantes en los sistemas bioquímicos ya que proporcionan el medio por el cual se pueden regular procesos biológicos, tales como la actividad catalítica de las enzimas[9,67]. La unión de un metal o una molécula orgánica a la enzima induce cambios conformacionales del sitio activo y altera la afinidad de la unión de una enzima a su sustrato. Estos efectos han sido reproducidos con éxito en sistemas modelo que utilizan ciclofanos como receptores de moléculas orgánicas [22,67,68]. En estos estudios, ciclofanos que tienen grupos donadores en el sistema anular han presentado cambios conformacionales importantes (contracción del anillo macrocíclico) cuando entran en coordinación con iones metálicos, siendo entonces capaces de complejar sustratos aromáticos. En ausencia del ión metálico la formación

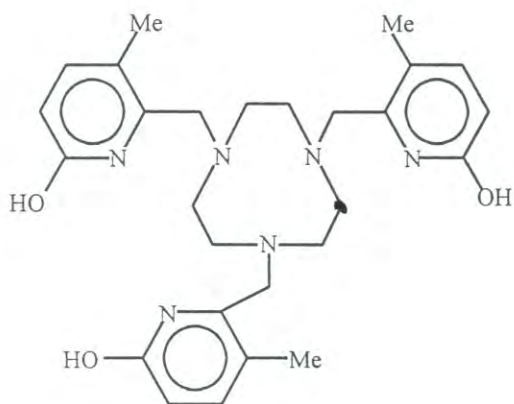


Figura 3.10 Agente quelante para Fe(III).

Fuente: [78]



del complejo receptor/sustrato no se lleva a cabo. En este sentido cualquier molécula simétrica bifuncional puede presentar un comportamiento alostérico. La investigación que se describe a continuación es un buen ejemplo del efecto alostérico en metalorreceptores.

En 1995, Baldes y Schneider [68] reportaron la formación de complejos ternarios en los que la cavidad para moléculas huésped lipofílicas de los receptores I y II de la figura 3.11 es modificada por contracción del espacio vacío, mediante la unión de cationes metálicos. La simulación por mecánica molecular del poliazaciclofano I indica una forma casi esférica cuando la cavidad se encuentra libre de complejación con cationes metálicos (figura 3.12a). Cuando iones metálicos  $Zn^{2+}$  son unidos a la fracción etilendiamino del ciclofano, la cavidad se vuelve más pequeña y fuertemente anisotrópica (figura 3.12b), permitiendo de esta manera el encapsulamiento óptimo para moléculas huésped tipo naftaleno, tal como se indica en el esquema de la figura 3.13 (en este experimento se utilizó como molécula huésped el ácido 8-anilinaftalen-1-sulfónico, ANS). El potencial de energía necesario para la formación de una cavidad más pequeña es proporcionada por la alta estabilidad del complejo metálico formado.

Como puede apreciarse, la complejación de un ion metálico por una molécula del receptor antes del reconocimiento de una molécula huésped resulta muy interesante, más aún si se toma en cuenta que, además de que son los efectos alostéricos los responsables de regular la actividad catalítica de las enzimas, es éste también el principio de la función de los cofactores enzimáticos, en donde un cofactor se une a una enzima para que esta logre llevar a cabo su acción sobre un sustrato específico, notándose así la importancia de estudiar esta nueva característica que presentan los ciclofanos.

### 3.1.3 Efectos de la Complejación Metálica en los Ciclofanos 1 y 2.

Los grupos donadores que contienen los ciclofanos (amina, amida y carboxilatos como brazos pendientes) les proporcionan alta afinidad por iones de metales de

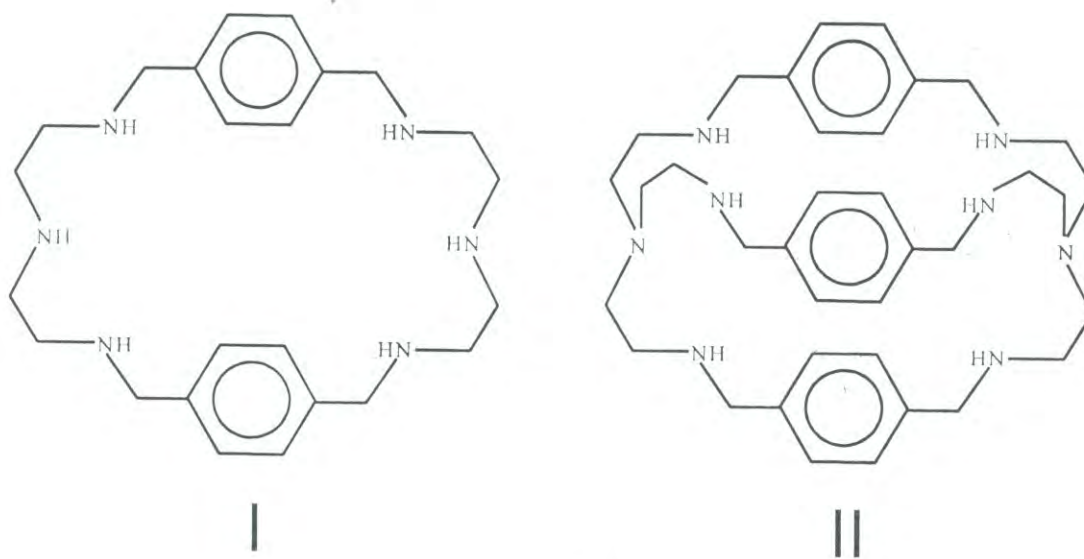


Figura 3.11 Ciclofanos estudiados por Baldes y Schneider.

Fuente: [68]

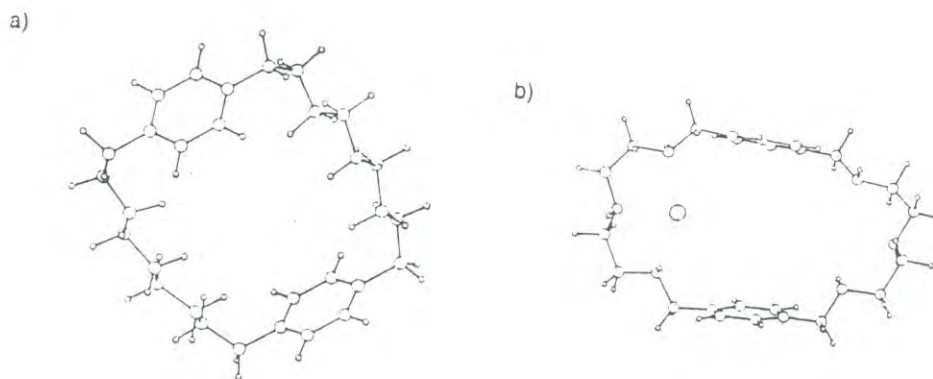


Figura 3.12 Estructuras de: (a) ciclofano I libre y (b) complejo de I con  $Zn^{2+}$ .

Fuente: [68]

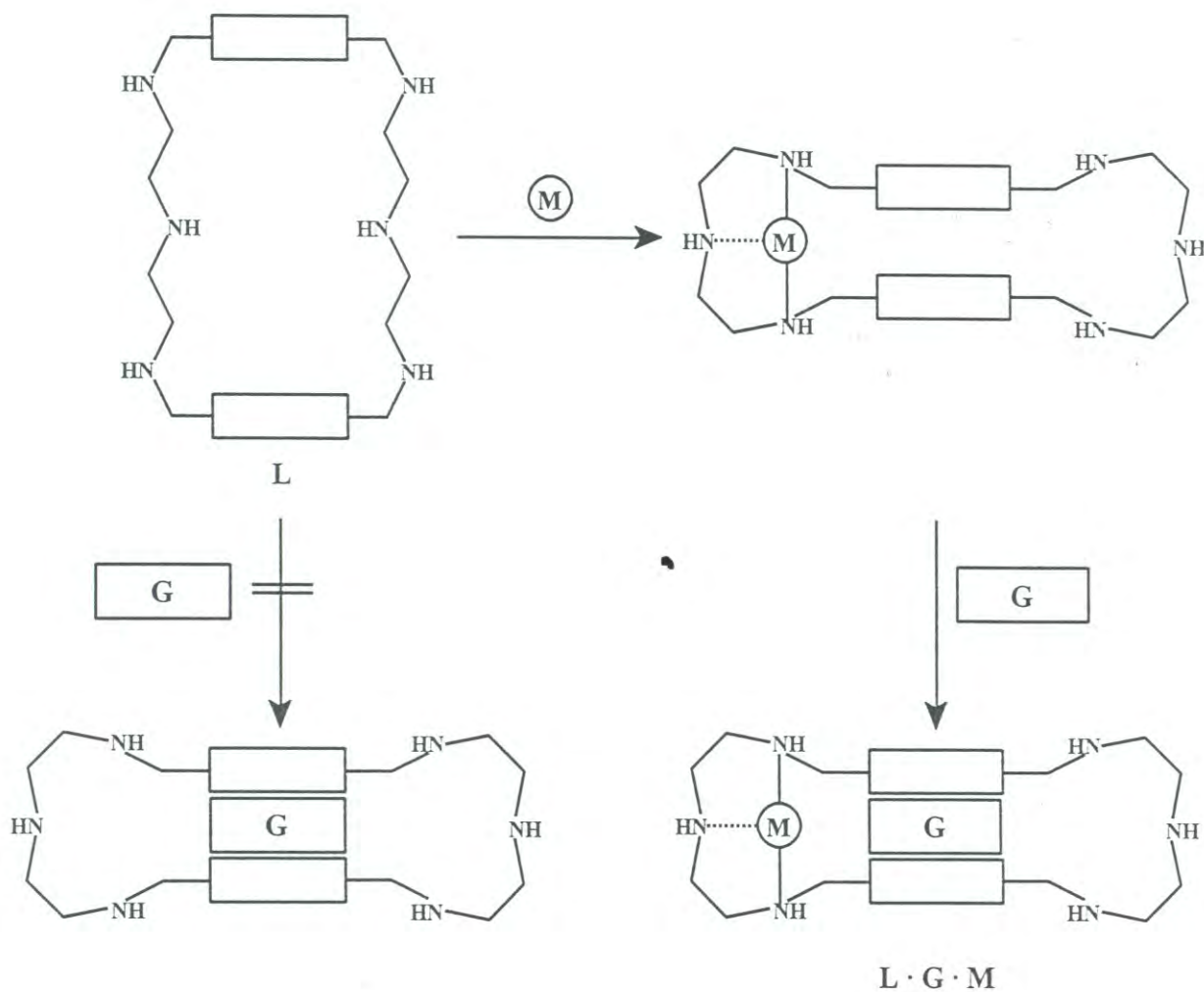


Figura 3.13 Esquema del principio de formación de compuestos ternarios por contracción del macrociclo (L), después de la adición de un ión metálico (M): un ejemplo de efecto alostérico en receptores artificiales.

Fuente: [68]



transición. Los grupos amida, que se encuentran directamente unidos a los grupos fenilos, tienen dos posibles modos de coordinación con el ion metálico dependiendo del pH del medio: a través de los átomos de oxígeno (medio ácido), o bien, por medio de los nitrógenos desprotonados (medio básico). Estos modos de coordinación afectan en diferente grado la forma y tamaño de la cavidad de los receptores (y en consecuencia su selectividad), de tal manera que los ciclofanos 1 y 2 representan excelentes sistemas modelo para estudiar los efectos alostéricos provocados por la coordinación metálica.

Se espera que la coordinación con iones cobre(II) ocasione un gran efecto alostérico en los ciclofanos, dado que los complejos de iones cobre(II) son los de mayor estabilidad dentro de los complejos de metales de transición. Además, presentan bandas d-d en el espectro electrónico cuya intensidad y posición del máximo de absorción son sensibles al modo de coordinación con el ligando, por lo que los efectos de la complejación de los ciclofanos con iones Cu(II) pueden ser convenientemente estudiados mediante espectroscopía ultravioleta - visible.

## 3.2 Experimental

### 3.2.1 Preparación de las Muestras para Análisis por Espectroscopía Ultravioleta - Visible.

Los estudios de espectroscopía en la región ultravioleta - visible de los complejos de cobre de los receptores se llevaron a cabo en un espectrofotómetro PERKIN - ELMER modelo LAMBDA 2, en soluciones preparadas a partir de soluciones madre de los ciclofanos y cloruro de cobre(II) ( $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ), de la manera en que se indica a continuación:

#### Efecto de la concentración de iones $\text{Cu}^{2+}$ .

A fin de estudiar el efecto de la coordinación con  $\text{Cu}^{2+}$  sobre las propiedades de los espectros electrónicos de los ciclofanos se trabajó con soluciones de pH = 10 (buffer:  $\text{NaHCO}_3(0.05 \text{ M})\text{-NaOH}(0.1\text{M})$ ), con relaciones  $[\text{Cu}^{2+}]/[\text{L}] = 0, 1 \text{ y } 2$ , manteniendo constante la concentración del ciclofano a  $0.01 \text{ mmol dm}^{-3}$ . Para estudiar la transición de

transferencia de carga y la banda d-d de los complejos, la concentración del receptor fue de  $0.1 \text{ mmol dm}^{-3}$ .

Efecto del pH. Para medir el efecto del pH sobre el espectro electrónico de los complejos se prepararon soluciones ( $[\text{Cu}^{2+}]/[\text{Receptor}] = 2$ ) a diferentes valores de pH, para lo cual se prepararon soluciones madre del receptor ( $0.2 \text{ mmol dm}^{-3}$ ) y de cloruro de cobre ( $1 \text{ mmol dm}^{-3}$ ), de la siguiente manera:

*Ciclofano 1* ( $0.21 \text{ mmol dm}^{-3}$ ): en un matraz volumétrico se suspendieron  $0.0049$  gr del receptor en aproximadamente  $15 \text{ cm}^3$  de agua destilada y se añadió  $\text{NaOH } 1 \text{ mol dm}^{-3}$  hasta disolución completa, aforando después a la marca de  $25 \text{ cm}^3$ .

$\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  ( $1.0 \text{ mmol dm}^{-3}$ ): se disolvieron  $0.00852$  gr de  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  en  $50 \text{ cm}^3$  de agua destilada.

El estudio de la banda de transferencia de carga y de la transición d-d se efectuó preparando soluciones de concentraciones  $0.1$  y  $0.2 \text{ mmol dm}^{-3}$  de receptor y  $\text{CuCl}_2$  respectivamente, de la forma que se indica a continuación:

Una solución alcalina se obtuvo mezclando en un matraz volumétrico de  $10 \text{ cm}^3$  los siguientes volúmenes:  $5 \text{ cm}^3$  de la solución madre del receptor,  $2 \text{ cm}^3$  de la solución madre de  $\text{CuCl}_2$  y aforando con agua destilada hasta la marca. El pH de esta solución fue  $11.8$ .

Una solución ácida se preparó de la misma manera que la alcalina, pero añadiendo, después de la disolución con  $\text{NaOH}$ , una mínima cantidad de  $\text{HCl } 1 \text{ mol dm}^{-3}$  antes de aforar a la marca de  $10 \text{ cm}^3$ , obteniendo un pH de  $2.7$ .

Soluciones con valores de pH intermedios se obtuvieron mezclando diferentes volúmenes de las soluciones ácida y alcalina.

Los espectros para el análisis de la banda  $\pi \rightarrow \pi^*$  se obtuvieron por dilución  $1:10$  de las soluciones anteriores. La concentración del receptor en estas soluciones fue  $0.01 \text{ mmol dm}^{-3}$ .



### 3.2.2 Síntesis de los Complejos para Análisis por Espectroscopía Infrarroja.

Los espectros de infrarrojo de los complejos de cobre de ambos receptores se obtuvieron mediante la formación de pastillas de bromuro de potasio, en un instrumento FTIR PERKIN ELMER modelo 1600, para lo cual se prepararon muestras sólidas de los complejos de ambos ciclofanos. El procedimiento es esencialmente igual para los dos ligandos, por lo que a continuación sólo se describirá la síntesis de los complejos para el ciclofano 1:

*Formación del complejo en medio ácido.* Se mezclaron soluciones del receptor y de cloruro de cobre(II)  $[\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}]$  preparadas de la siguiente manera:

Ciclofano 1: 0.0440 gr. ( $4.72 \times 10^{-5}$  moles) de receptor se suspendieron en  $10 \text{ cm}^3$  de agua destilada y se disolvieron añadiendo 0.0067 gr. ( $9.0 \times 10^{-5}$  moles) de carbonato de litio  $[\text{Li}_2\text{CO}_3]$ .

Cloruro de Cobre(II): 0.0152 gr. ( $8.91 \times 10^{-5}$  moles) de  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  se disolvieron en  $10 \text{ cm}^3$  de agua destilada.

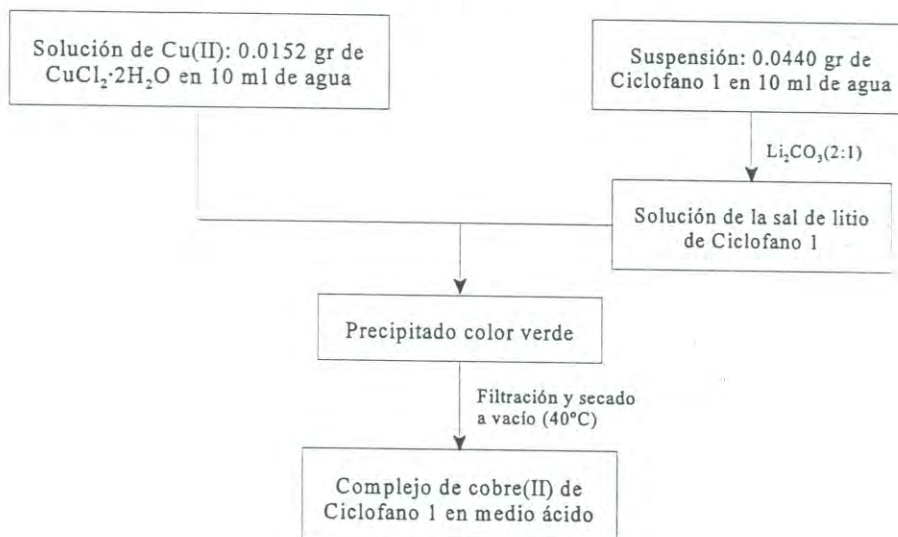
Al añadir la solución del Ciclofano 1 a la de  $\text{CuCl}_2$  se formó un precipitado color verde, el cual se dejó en reposo durante toda la noche. Al día siguiente se filtró y se secó a vacío, a  $40^\circ\text{C}$  de temperatura.

*Formación del complejo en medio básico.* 0.200 gr ( $1.8 \times 10^{-4}$  moles) del complejo preparado en medio ácido se suspendieron en  $20 \text{ cm}^3$  de agua destilada. Después se añadieron 0.0028 gr. ( $3.8 \times 10^{-5}$  moles) de hidróxido de calcio, obteniendo la solución un color verde más intenso. El complejo se solubiliza después de agitación magnética por 15 minutos. La solución se filtró y se dejó evaporar hasta obtener  $5\text{-}10 \text{ cm}^3$ ; se añadió acetona para precipitar y se dejó en reposo hasta el día siguiente. Se filtró, se lavó con acetona y se secó a vacío a  $40^\circ\text{C}$  de temperatura.

El esquema de los procesos para la síntesis de los complejos se presenta en la figura 3.14.



## (a) síntesis en medio ácido



## (b) síntesis en medio básico

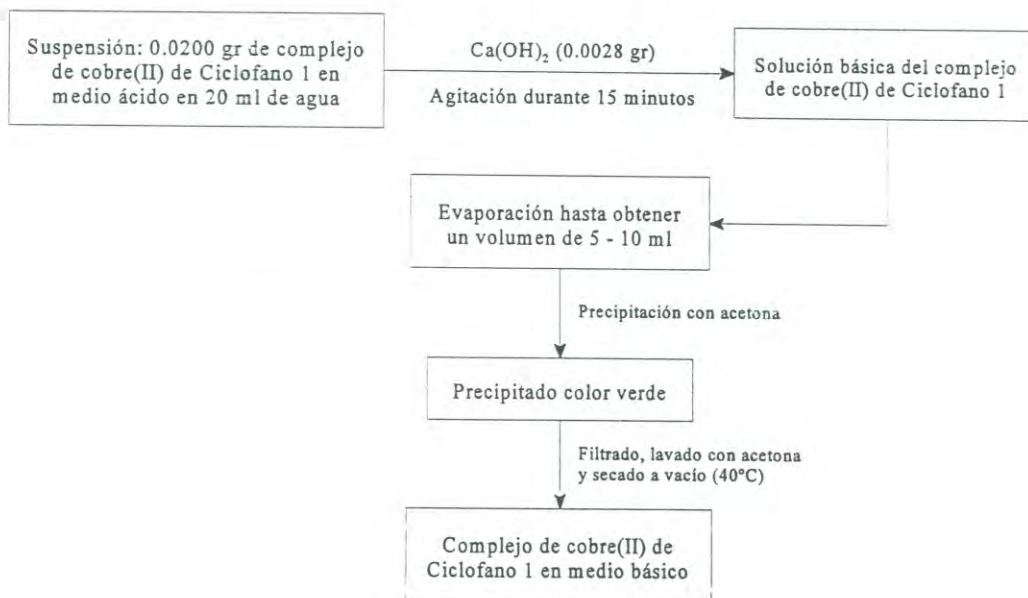


Figura 3.14 Diagramas de flujo para la síntesis de los complejos de cobre(II) de Cyclofano 1 en: (a) medio ácido y (b) medio alcalino.

### 3.2.3. Análisis Elemental.

La determinación de los porcentajes de carbono, hidrógeno y nitrógeno de muestras sólidas de los complejos de cobre fue realizada por los laboratorios Desert Analytics de Tucson, Arizona, USA.

### 3.2.4. Espectroscopía de Masas de Ionización por Electroaspersión.

Los espectros de masas se obtuvieron en los laboratorios de la Universidad de Arizona, en un espectrómetro JEOL HX 110A, en muestras de soluciones de los complejos metálicos preparadas en mezcla de solventes amoníaco - metanol.

## 3.3 Resultados

La primer evidencia de formación de los complejos de los dos receptores con iones  $\text{Cu}^{2+}$  se presenta durante la preparación de las soluciones de los mismos, ya que originalmente las soluciones de los receptores son incoloras, mientras que la solución de  $\text{CuCl}_2$  es de color verde claro; en medio básico, al añadir a cada solución de receptor la solución de  $\text{CuCl}_2$ , el color de la mezcla se torna a un verde brillante intenso, el cual es característico de los complejos de  $\text{Cu(II)}$  [79].

### 3.3.1 Análisis Elemental y Espectroscopía de Masas (ESI -MS).

Los resultados del análisis elemental de los complejos de cobre de los ciclofanos son los siguientes:

Ciclofano 1: carbono, 45.41%; hidrógeno, 4.49%; nitrógeno, 9.69%. Los valores calculados para  $[\text{Cu}_2(\text{ciclofano 1})]^\circ \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (fórmula molecular:  $\text{Cu}_2\text{C}_{44}\text{H}_{58}\text{N}_8\text{O}_{21}$ ) son: carbono, 45.47%; hidrógeno, 5.03%; nitrógeno, 9.64%.

Ciclofano 2: carbono, 48.35%; hidrógeno, 5.21%; nitrógeno, 9.84%. Los valores calculados para  $[\text{Cu}_2(\text{ciclofano 2})]^\circ \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (fórmula molecular:  $\text{Cu}_2\text{C}_{46}\text{H}_{60}\text{N}_8\text{O}_{18}$ ) son: carbono, 48.46%; hidrógeno, 5.30%; nitrógeno, 9.83%.



En los espectros de ESI - MS se aprecian las siguientes señales para relaciones m/z de las especies binucleares ( $^{63}\text{Cu} - ^{63}\text{Cu}$ ) de los ligandos (L):

Ciclofano 1: 516.0 (49%), que corresponde a  $[\text{Cu}_2\text{L} - 2\text{H}^+]^{2-}$ ; 343.7(100%),  $[\text{Cu}_2\text{L} - 3\text{H}^+]^{3-}$ ; 257.6 (7%),  $[\text{Cu}_2\text{L} - 4\text{H}^+]^{4-}$ .

Ciclofano 2: 1030.3 (26%),  $[\text{Cu}_2\text{L} - \text{H}^+]^{-}$ ; 513.9(100%),  $[\text{Cu}_2\text{L} - 2\text{H}^+]^{2-}$ .

Los picos correspondientes a las especies mononucleares presentan intensidades menores a 9% respecto al pico principal.

Los resultados del análisis elemental y de la espectroscopía de masas confirman la formación de complejos binucleares de cobre de los ciclofanos, los cuales prácticamente permanecen sin disociarse en solución.

### 3.3.2 Espectroscopía Electrónica.

Los espectros electrónicos de los ciclofanos 1 y 2 presentan una banda de absorción con máximos a 255 y 248 nm respectivamente, debida a la transición  $\pi \rightarrow \pi^*$ , lo cual coincide con los espectros de derivados de benceno [53]. Sin embargo, cuando a una solución alcalina del receptor se le añade una solución conteniendo iones  $\text{Cu}^{2+}$  el espectro de ultravioleta-visible cambia marcadamente. Este comportamiento se puede apreciar en las figuras 3.15 - 3.18, las cuales muestran los espectros electrónicos de los ciclofanos 1 y 2 en ausencia y en presencia de  $\text{Cu}^{2+}$  a pH = 10.

Como se puede observar en los espectros correspondientes al ciclofano 1, conforme se incrementa la concentración de  $\text{Cu}^{2+}$ , la banda a 255 nm se debilita y aparecen nuevas bandas debidas a transiciones  $\pi \rightarrow \pi^*$  a 242, 277 y 316 nm, así como una banda a 380 nm asignada a la transferencia de carga metal-ligando [80,81] y otra banda a 660 nm debida a la transición  $d \rightarrow d$  del cobre(II) [80,81].

Cambios espectrales similares se observaron para el ciclofano 2 en presencia de  $\text{Cu}^{2+}$  en pH alcalino: la banda a 248 nm disminuye de intensidad, y aparecen nuevas bandas a 238, 272, 304, 374 y 650 nm.



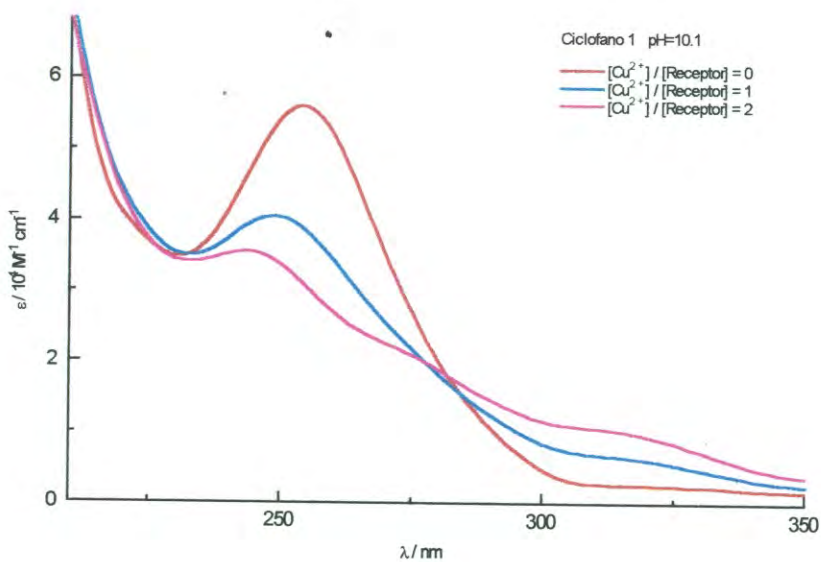


Figura 3.15 Región ultravioleta del espectro electrónico para los complejos de cobre(II) de **Ciclofano 1** a diferentes relaciones de concentración a pH=10.

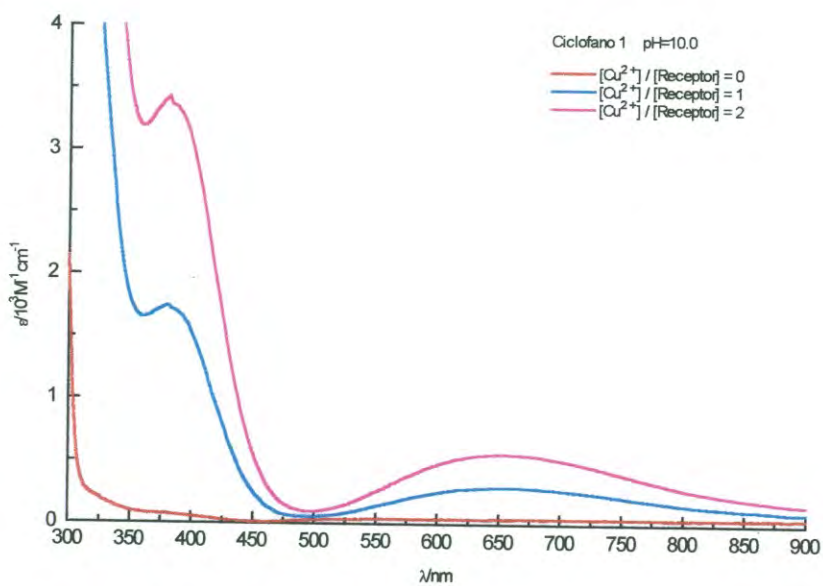


Figura 3.16 Región visible del espectro electrónico para los complejos de cobre(II) de **Ciclofano 1** a diferentes relaciones de concentración a pH=10.

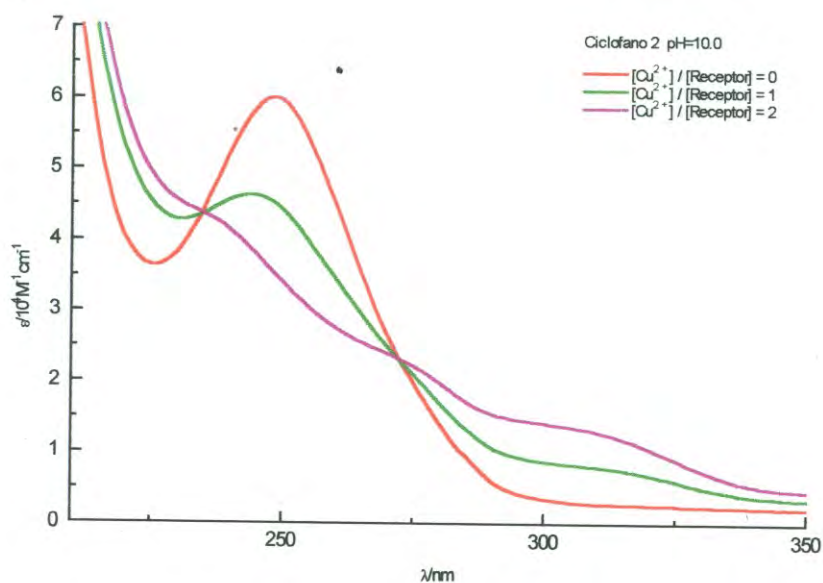


Figura 3.17 Región ultravioleta del espectro electrónico para los complejos de cobre(II) de **Ciclofano 2** a diferentes relaciones de concentración a pH=10.

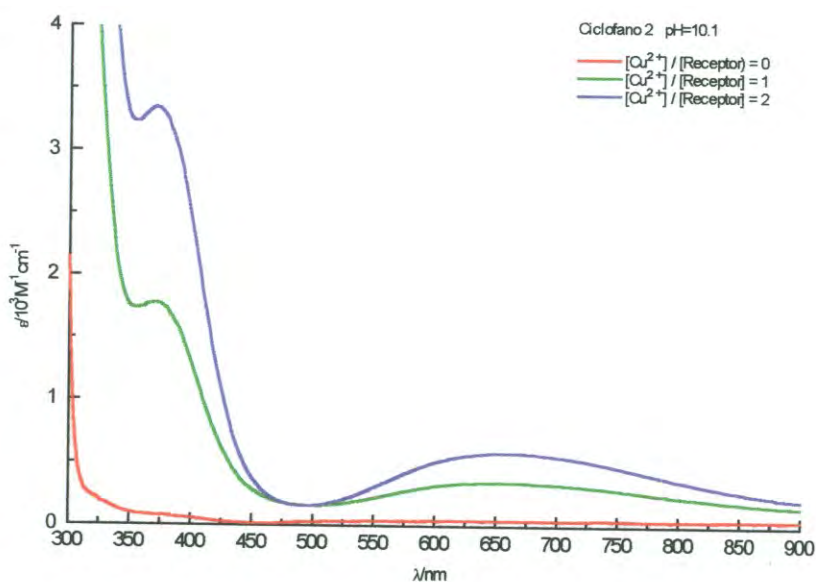


Figura 3.18 Región visible del espectro electrónico para los complejos del cobre(II) de **Ciclofano 2** a diferentes relaciones de concentración a pH=10.

### 3.3.3 Efecto del pH en los Espectros electrónicos.

Los espectros ultravioleta y visible de ambos complejos de cobre muestran una fuerte dependencia del pH de la solución, tal como se puede apreciar en las figuras 3.19 - 3.22. Para el espectro del ciclofano 1, conforme los valores de pH decrecen, las bandas  $\pi \rightarrow \pi^*$  originadas por la complejación con el metal (242, 277 y 316 nm) y la banda de transferencia de carga (380 nm) disminuyen de intensidad, mientras que la banda original (banda antes de la complejación) a 255 nm aumenta. Cuando las soluciones de los complejos tienen un  $\text{pH} \leq 6$ , sus espectros en la región ultravioleta se asemejan bastante a los espectros de los ligandos libres (no coordinados) para los mismos valores de pH.

De la misma manera, la banda d-d sufre un desplazamiento hacia mayores longitudes de onda y una disminución en la absorptividad molar, conforme disminuye el pH de la solución.

### 3.3.4 Bandas d-d y Estructura de los Complejos Formados.

El comportamiento de los espectros electrónicos con respecto al pH de la solución puede explicarse a partir del análisis de las bandas d-d, cuya modificación en posición e intensidad sugiere un cambio significativo en la coordinación de los iones Cu(II) con los ligandos. En los ciclofanos, los grupos amida tienen dos sitios potenciales para la coordinación: (1) el oxígeno del grupo carbonilo y (2) los átomos de nitrógeno cuando se encuentran desprotonados (pH alto). De acuerdo con lo reportado en estudios anteriores con ligandos análogos [82,83], cuando los nitrógenos amida entran en coordinación con el cobre junto con los nitrógenos amina del ciclofano, se observa una banda a  $\lambda \approx 600$  nm con una absorptividad molar del orden de  $200 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ; si la coordinación del metal se da con los oxígenos amida, la banda de absorción d-d se presenta a mayor longitud de onda con una menor absorptividad molar ( $\lambda \approx 700\text{-}800$  nm,  $\epsilon \approx 50 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ).

En soluciones alcalinas, los complejos de cobre de los ciclofanos 1 y 2 muestran una banda de absorción a  $\lambda \approx 650$  nm con  $\epsilon \approx 240\text{-}300 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$  (figuras 3.16 y 3.18), lo



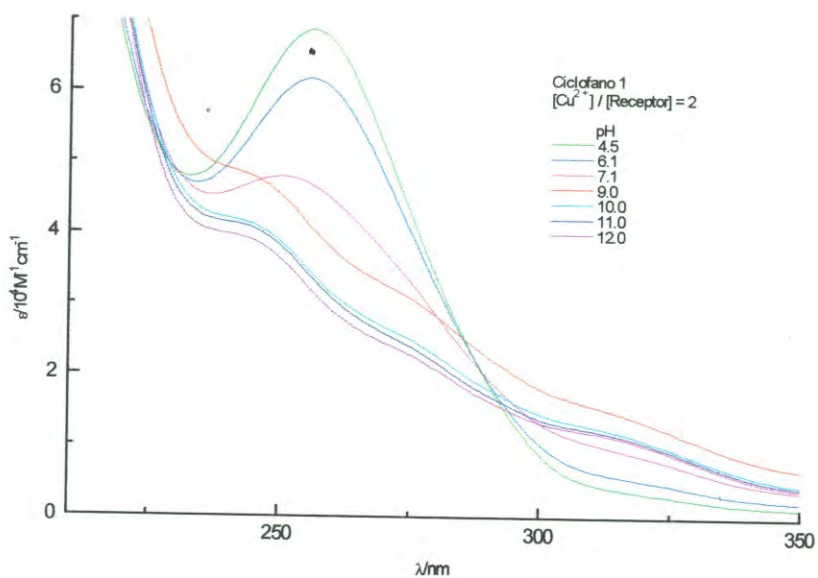


Figura 3.19 Región ultravioleta del espectro electrónico para el complejo de cobre(II) de **Ciclofano 1** en relación  $[Cu^{2+}]/[Receptor]=2$  a diferentes valores de pH.

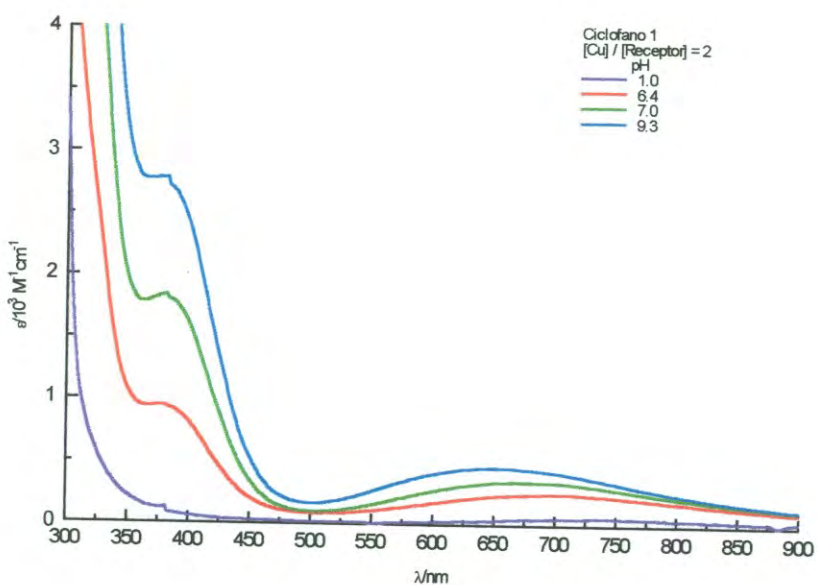


Figura 3.20 Región visible del espectro electrónico para el complejo de cobre(II) de **Ciclofano 1** en relación  $[Cu^{2+}]/[Receptor]=2$  a diferentes valores de pH.

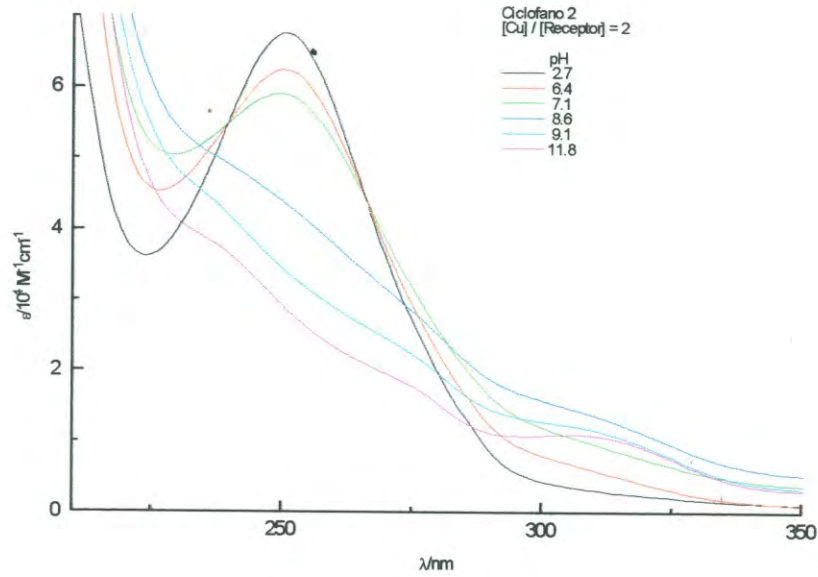


Figura 3.21 Región ultravioleta del espectro electrónico para el complejo de cobre(II) de **Ciclofano 2** en relación  $[\text{Cu}^{2+}] / [\text{Receptor}] = 2$  a diferentes valores de pH. ●

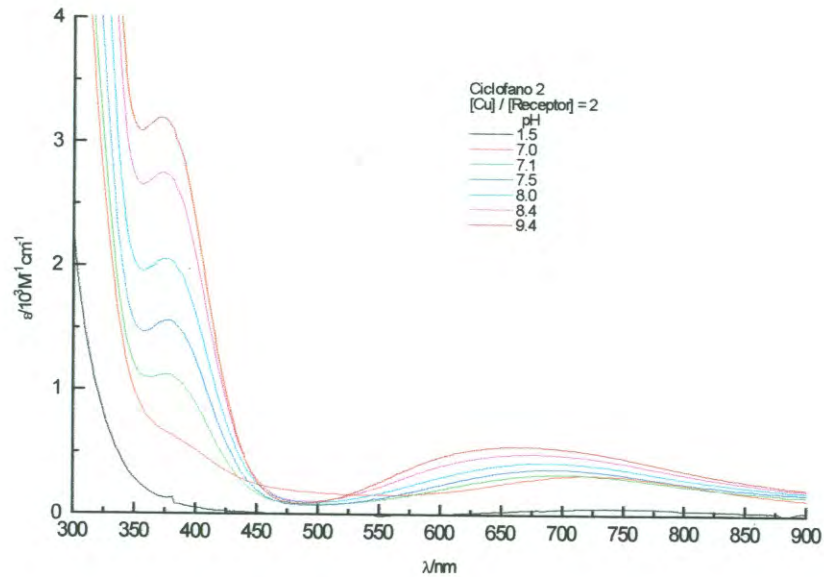


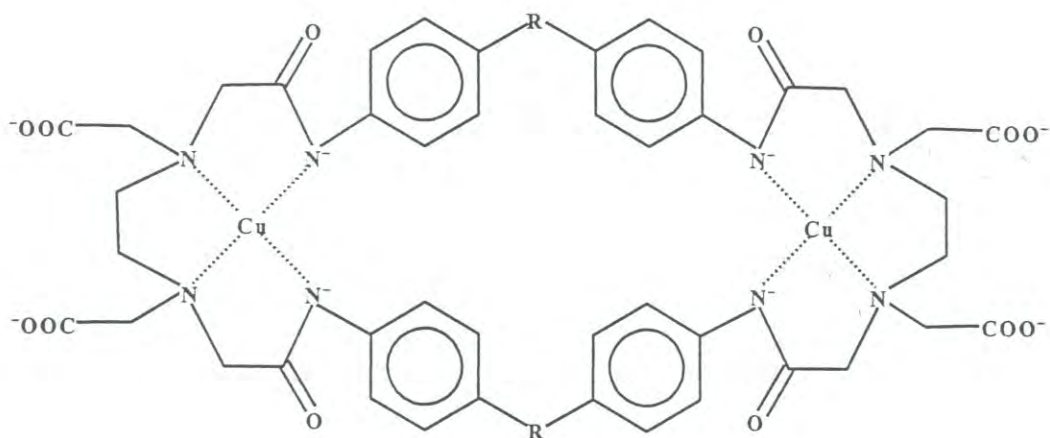
Figura 3.22 Región visible del espectro electrónico para el complejo de cobre(II) de **Ciclofano2** en relación  $[\text{Cu}^{2+}] / [\text{Receptor}] = 2$  a diferentes valores de pH.

cual soporta la formación de un complejo cuadrado plano con una estructura tipo I [82,83] (figura 3.23). Debe hacerse notar que la deprotonación de los grupos amida en medio básico es un proceso altamente endergónico, el cual no se lleva a cabo en ausencia del metal. Lo que hace posible este proceso es la alta estabilidad del complejo metal-ligando formado, lo cual compensa la energía que se requiere para la deprotonación [84].

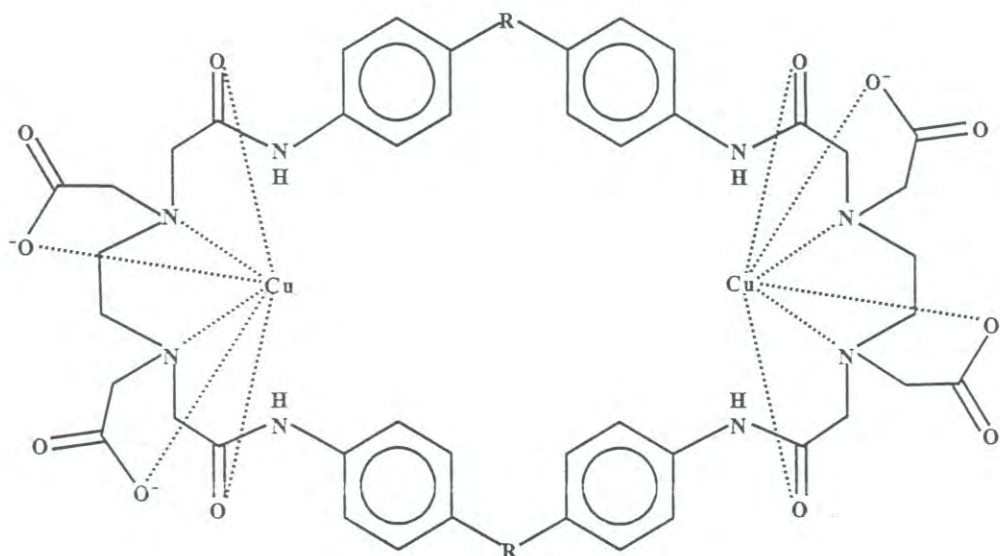
Como se puede apreciar en los espectros de las figuras 3.20 y 3.22, a valores bajos de pH, esta banda presenta un desplazamiento a mayores longitudes de onda con una disminución de la absorptividad molar ( $\lambda \approx 700-800 \text{ nm}$ ,  $\epsilon \approx 50 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ). Por lo tanto, a pH bajo una parte de los complejos de coordinación tipo I, cambian su estructura a una coordinación octaédrica (estructura tipo II), donde el cobre se coordina con los oxígenos del grupo amida [82,83] (figura 3.23). Este desplazamiento a mayores longitudes de onda y la disminución en intensidad de las bandas d-d cuando los átomos de nitrógeno se reemplazan por átomos de oxígeno, también ha sido reportado en otros complejos de  $\text{Cu}^{2+}$  [79].

Podemos ahora presentar un panorama general de lo que sucede cuando cambiamos el pH de la solución de los complejos de cobre de los ciclofanos: en medio ácido, cuando los nitrógenos del grupo amida se encuentran protonados, el cobre se encuentra hexacoordinado (geometría octaédrica) asumiendo una estructura tipo II. Los enlaces de coordinación del cobre en esta estructura son con los dos nitrógenos amina, con los dos carboxilatos y con los dos oxígenos de los carbonilos amida. En medio básico, los átomos de oxígeno de los carbonilos amida son reemplazados en la coordinación por los átomos de nitrógeno amida cargados negativamente (por la deprotonación en pH básico). Cuando esto sucede, la geometría del cobre cambia de octaédrica a cuadrado plana (estructura tipo I) provocando el desplazamiento hacia menor longitud de onda de la banda d-d y el aumento en la absorptividad molar. Este comportamiento respecto al pH y los modos de coordinación indicados para los complejos de cobre de los ciclofanos 1 y 2, se han encontrado para otros ligandos





ESTRUCTURA I (geometría cuadrada plana; medio básico)



ESTRUCTURA II (geometría octaédrica; medio ácido)

Figura 3.23 Estructuras de los complejos de cobre de ciclofano 1 ( R = - O - ) y ciclofano 2 ( R = - CH<sub>2</sub> - ).

análogos que contienen grupos amida, como por ejemplo para el macrociclo de 24 miembros (24edtaen) $H_4$ , el cual contiene 2 unidades etilendiaminotetraacetato y 2 unidades etilendiamina. En el complejo binuclear de cobre de este ligando (figura 3.24), a valores altos de pH la banda d-d se presenta a  $\lambda_{\max} = 660 \text{ nm}$  ( $\epsilon = 190 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ), mientras que a valores bajos de pH hay un desplazamiento hacia el rojo y una disminución de la absorptividad molar ( $\lambda = 730 \text{ nm}$ ,  $\epsilon = 80 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ); como se puede apreciar, el comportamiento es muy similar al de los complejos de cobre de los ciclofanos 1 y 2.

### 3.3.5 Banda de Transferencia de Carga.

La coordinación del metal con los nitrógenos amida en medio básico también es apoyada por las bandas a 380 y 370 nm de los complejos de cobre de los ciclofanos 1 y 2, respectivamente, las cuales son asignadas a la transferencia de carga [80,81] de los orbitales  $t_2$  del metal a los orbitales  $\pi^*$  del sistema N-C=O en el ligando, donde el enlace N-C tiene un carácter parcial de doble enlace. Estas bandas disminuyen su intensidad conforme baja el valor de pH, y prácticamente desaparecen a  $\text{pH} \approx 1$ .

En el complejo binuclear de cobre del ligando (24edtaen) $H_4$  esta banda de transferencia de carga se observa a 270 nm. La diferencia en la posición de  $\lambda_{\max}$  se debe a que en los ciclofanos 1 y 2 los orbitales  $\pi$  de los grupos fenilo, al estar unidos directamente a los nitrógenos amida, interactúan con los orbitales del sistema Cu-N-C=O, extendiendo la conjugación del sistema  $\pi$ , lo cual conduce a una menor energía de los orbitales  $\pi^*$ .

### 3.3.6 Espectroscopía Infrarroja (IR).

Los espectros de infrarrojo de los ligandos libres y de sus complejos de cobre preparados en medio básico y en medio ácido, se presentan en las figuras 3.25 - 3.30. En el espectro IR del complejo de cobre del ciclofano 1 en medio ácido se observa un desplazamiento de la banda C = O, con respecto al ligando libre, de 1680 a 1610  $\text{cm}^{-1}$ .

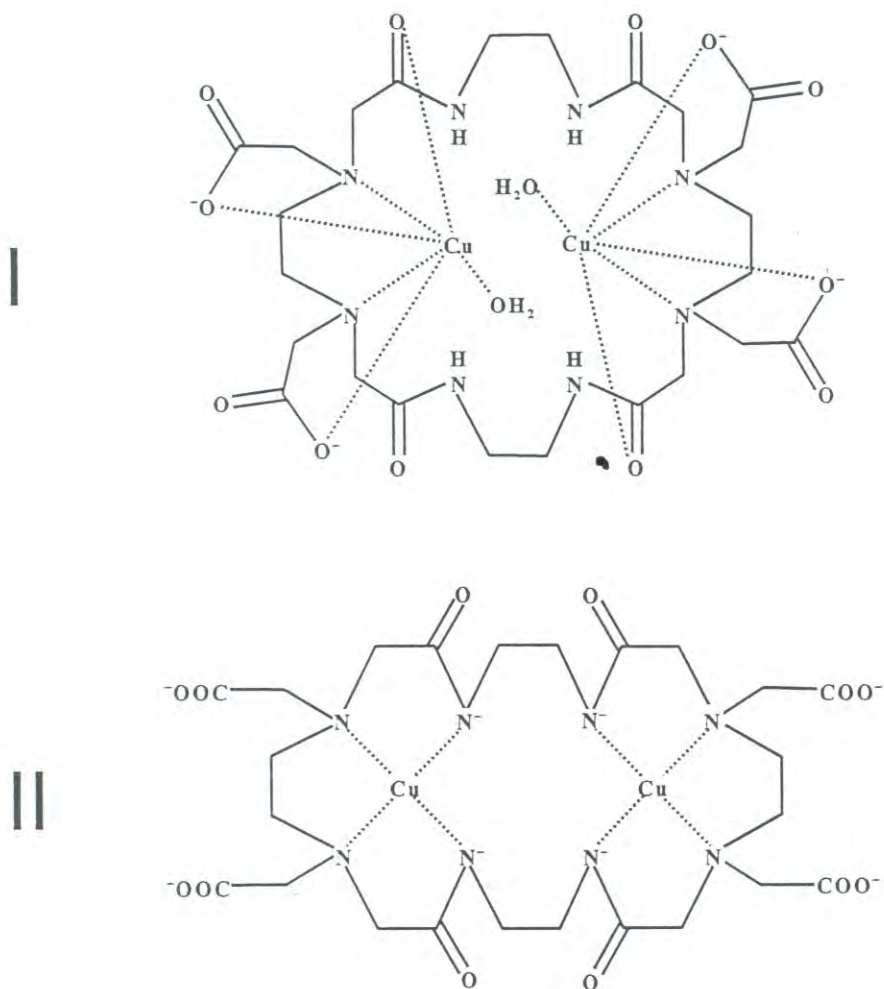
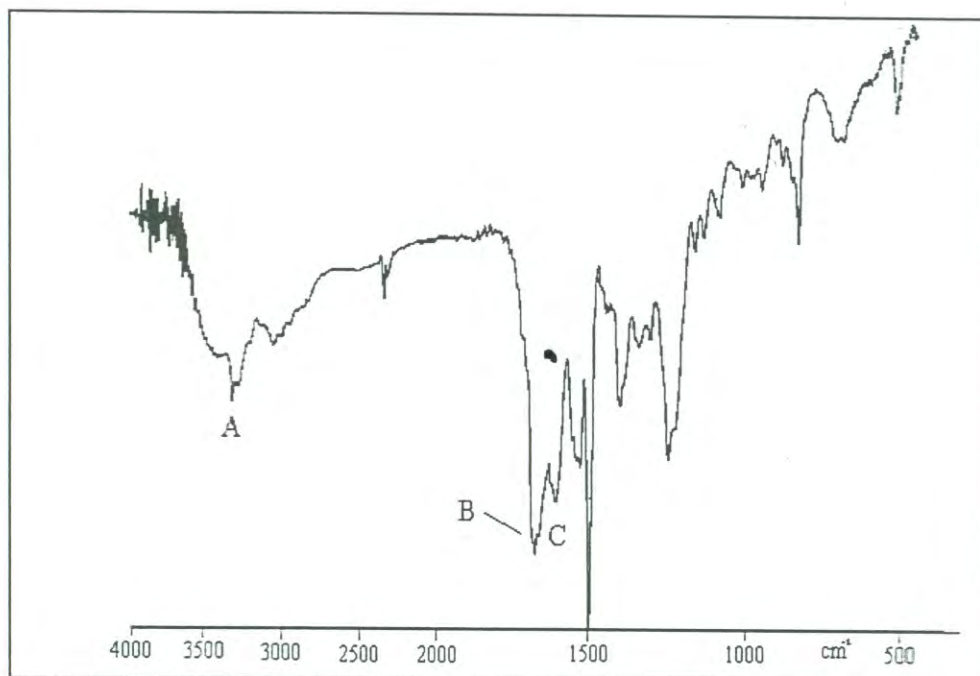


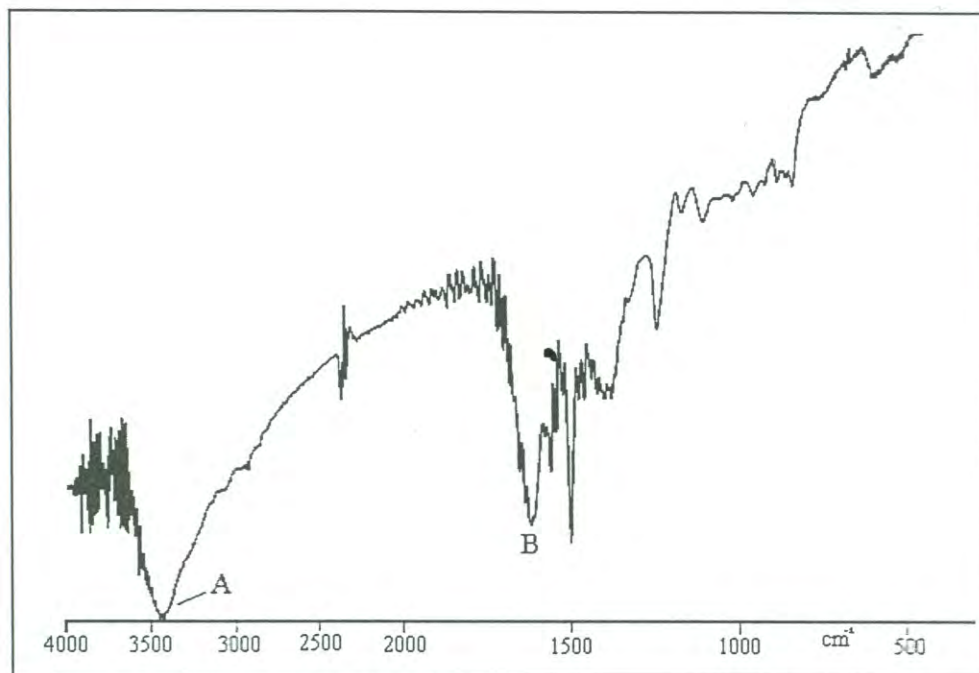
Figura 3.24 Complejos de cobre(II) del ligando macrocíclico (24edtaen) $H_4$ .





- A: Estiramiento N-H de amida,  $3320 \text{ cm}^{-1}$   
 B: Traslape:  $\left. \begin{array}{l} \text{Estiramiento C=O, banda de amida I} \\ \text{Estiramiento C=O, grupo carboxilo} \end{array} \right\} 1680 \text{ cm}^{-1}$   
 C: Flexión N-H, banda de amida II,  $1620 \text{ cm}^{-1}$

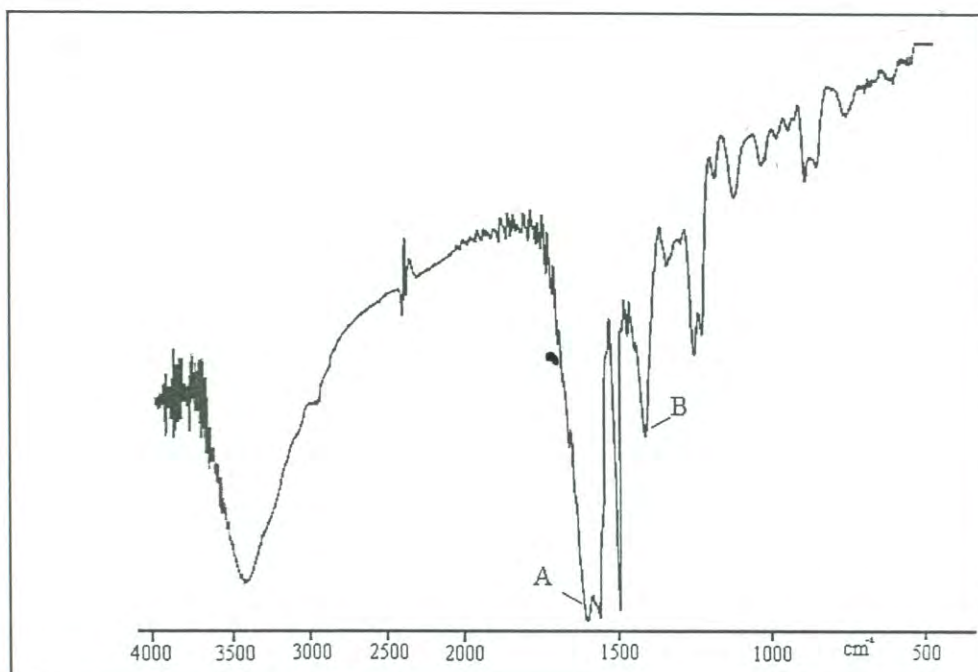
Figura 3.25 Espectro de Infrarrojo de Ciclofano 1.



A: Estiramiento N-H de amida,  $3450\text{ cm}^{-1}$

B: Traslape:  $\left. \begin{array}{l} \text{Estiramiento C=O, banda de amida I} \\ \text{Flexión N-H, banda de amida II} \\ \text{Estiramiento C=O, grupo carboxilo} \end{array} \right\} 1620\text{ cm}^{-1}$

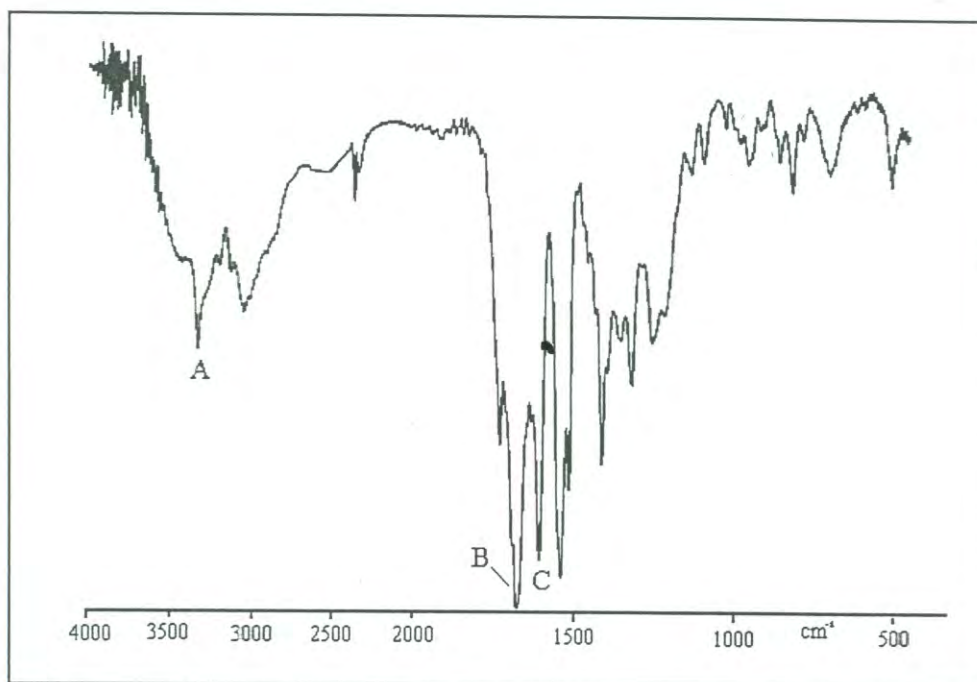
Figura 3.26 Espectro de Infrarrojo del complejo  $[\text{Cu}_2(\text{Ciclofano } 1)]$  en medio ácido



- A: Traslape: { Estiramiento C=O, banda de amida I }  
                   { Estiramiento C=O, grupo carboxilo } 1600 cm<sup>-1</sup>
- B: Estiramiento, anión carboxilato, 1410 cm<sup>-1</sup>

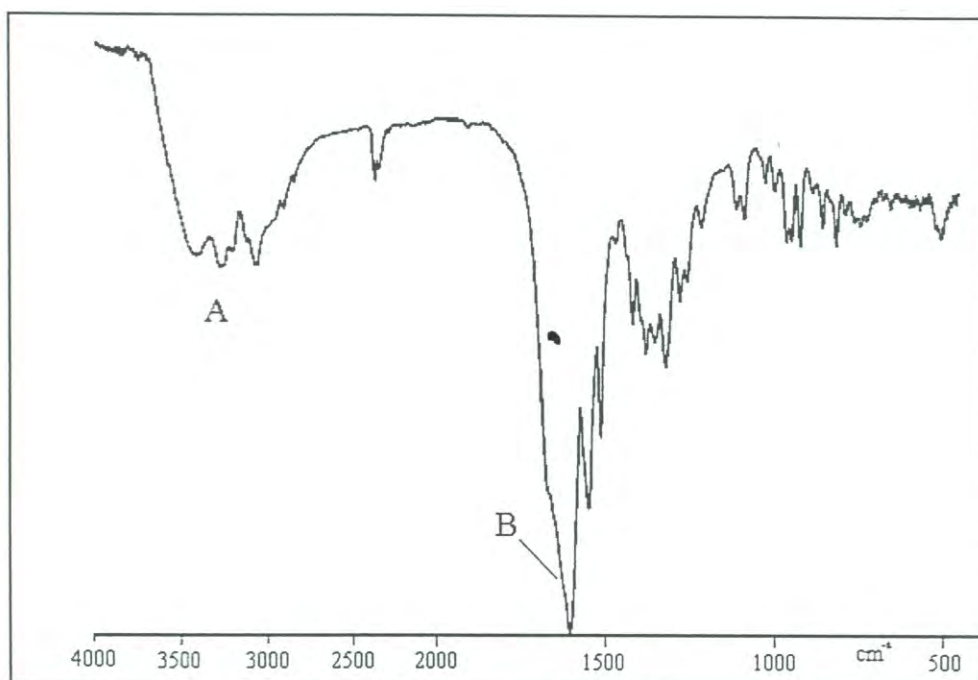
Figura 3.27 Espectro de Infrarrojo del complejo [Cu<sub>2</sub>(Ciclofano 1)] en medio básico





- A: Estiramiento N-H de amida,  $3320\text{ cm}^{-1}$   
B: Traslape: { Estiramiento C=O, banda de amida I }  
              { Estiramiento C=O, grupo carboxilo }  $1680\text{ cm}^{-1}$   
C: Flexión N-H, banda de amida II,  $1610\text{ cm}^{-1}$

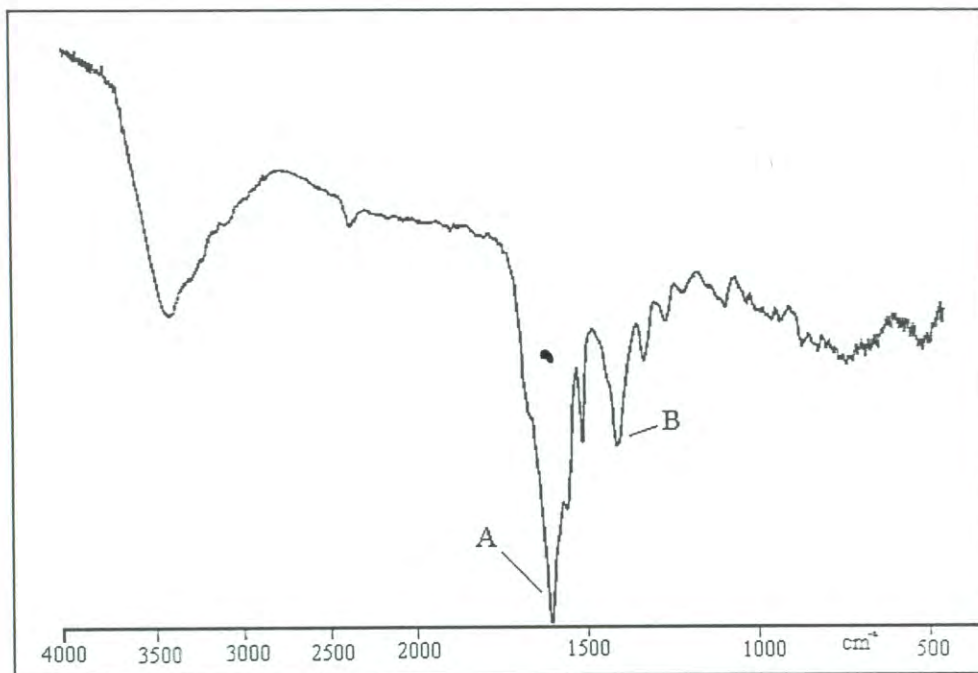
Figura 3.28 Espectro de Infrarrojo de Ciclofano 2



A: Estiramiento N-H,  $3320\text{ cm}^{-1}$

B: Traslape:  $\left. \begin{array}{l} \text{Estiramiento C=O, banda de amida I} \\ \text{Flexión N-H, banda de amida II} \\ \text{Estiramiento C=O, grupo carboxilo} \end{array} \right\} 1610\text{ cm}^{-1}$

Figura 3.29 Espectro de Infrarrojo del complejo  $[\text{Cu}_2(\text{Ciclofano } 2)]$  en medio ácido



A: Traslape: {Estiramiento C=O, banda de amida I}  
              {Estiramiento C=O, grupo carboxilo } 1610 cm<sup>-1</sup>  
B: Estiramiento del anión carboxilato, 1410 cm<sup>-1</sup>

Figura 3.30 Espectro de Infrarrojo del complejo [Cu<sub>2</sub>(Ciclofano 2)] en medio básico



Este corrimiento hacia frecuencias menores nos confirma que en medio ácido, los carbonilos de los grupos amida toman parte en la coordinación con el metal, formando un complejo con la geometría octaédrica indicada en los resultados de ultravioleta - visible. La razón de la disminución de la frecuencia de absorción del enlace C=O es la donación electrónica del átomo de oxígeno hacia el metal, la cual debilita el doble enlace C = O desplazando su absorción a frecuencias más bajas [85,86].

Como se indicó anteriormente, en el complejo en medio básico la coordinación es por medio de los nitrógenos amida deprotonados. Se espera entonces que, al perderse la coordinación con el metal, la absorción del C=O en el complejo fuera similar al C=O del ligando libre. Sin embargo, la banda se presenta prácticamente a la misma frecuencia que en el complejo formado en medio ácido. Esto se debe probablemente a la resonancia de los electrones del nitrógeno cargado negativamente con los electrones  $\pi$  del grupo carbonilo, por lo que también en este caso hay un desplazamiento a frecuencias menores respecto a la posición de la banda C=O en el ciclofano no coordinado.

Otra banda en el infrarrojo importante para el análisis de las características estructurales de los complejos es la banda a  $1410\text{ cm}^{-1}$ , la cual es asignada al anión carboxilato [87]. Esta banda se encuentra en los complejos formados en medio básico y no se observa en los complejos ácidos, donde el grupo carboxilo se encuentra coordinado.

Los espectros de infrarrojo de los complejos de cobre del ciclofano 2 presentan un comportamiento similar a sus análogos de ciclofano 1.

### 3.3.7 Banda $\pi$ - $\pi^*$ y Contracción de los Ciclofanos.

La banda  $\pi$ - $\pi^*$  presentada por los ciclofanos no coordinados en la región de 248 -255 nm coincide con los datos reportados para compuestos derivados de benceno p-substituídos de cadena abierta, pero cambia significativamente, tanto en apariencia como en intensidad, en presencia de iones  $\text{Cu}^{2+}$  en medio alcalino (figuras 3.15 y 3.17). Este



comportamiento anormal de los espectros de los complejos a valores altos de pH se asemeja bastante a los espectros de  $[n,n]$ paraciclofanos pequeños, donde  $n = 2,3$  [88,89] (ver figura 3.31). Estos paraciclofanos muestran tres bandas debidas a transiciones  $\pi \rightarrow \pi^*$  en el rango espectral de los 245 - 320 nm, en contraste con los dialquilbencenos acíclicos, los cuales muestran una sola banda a estas longitudes de onda. De acuerdo a Cram y colaboradores [88,89], esta anomalía de las bandas de transiciones  $\pi \rightarrow \pi^*$  es ocasionada por la proximidad y la distorsión de los dos grupos fenilo: los anillos fenilo están dispuestos (torcidos) en forma de bote, y las distancias interfaciales C-C son de tan sólo 2.78 - 3.09 Å. Estudios espectrales y cálculos de orbital molecular de  $[1.1]$ paraciclofano demostraron que la interacción entre los orbitales  $\pi$  de los dos anillos aromáticos deformados generan nuevos orbitales moleculares y disminuyen la diferencia de energía entre los orbitales HOMO y LUMO, lo que ocasiona un espectro electrónico que difiere de los espectros de p-dialquilbencenos acíclicos. La anomalía de los espectros de  $[n.n]$ paraciclofanos decrece conforme la longitud de los puentes entre los grupos fenilos aumenta. Los espectros de  $[n.n]$ paraciclofanos donde  $n \geq 4$  son prácticamente iguales a los de p-dialquilbencenos acíclicos. Estudios sistemáticos de varios ciclofanos que contienen dos grupos aromáticos en el anillo macrocíclico demostraron que las propiedades espectrales son sensibles al modo de orientación (lo que en inglés se conoce como "stacking") entre las superficies aromáticas [90]. Dichas propiedades espectrales, las cuales están relacionadas con las interacciones  $\pi - \pi$ , han llamado fuertemente la atención en el ámbito de la química supramolecular, debido a que este tipo de interacción es una de las fuerzas de atracción importantes en la formación de complejos supramoleculares.

En los ciclofanos 1 y 2 los sistemas  $\pi$  extendidos pueden presentar interacciones mutuas cuando, al darse la complejación del metal con los nitrógenos amida de cada una de las fracciones EDTA de los ciclofanos, y debido a que los nitrógenos amida se encuentran directamente unidos a los anillos aromáticos, el enlace -N-Cu-N- provoca la

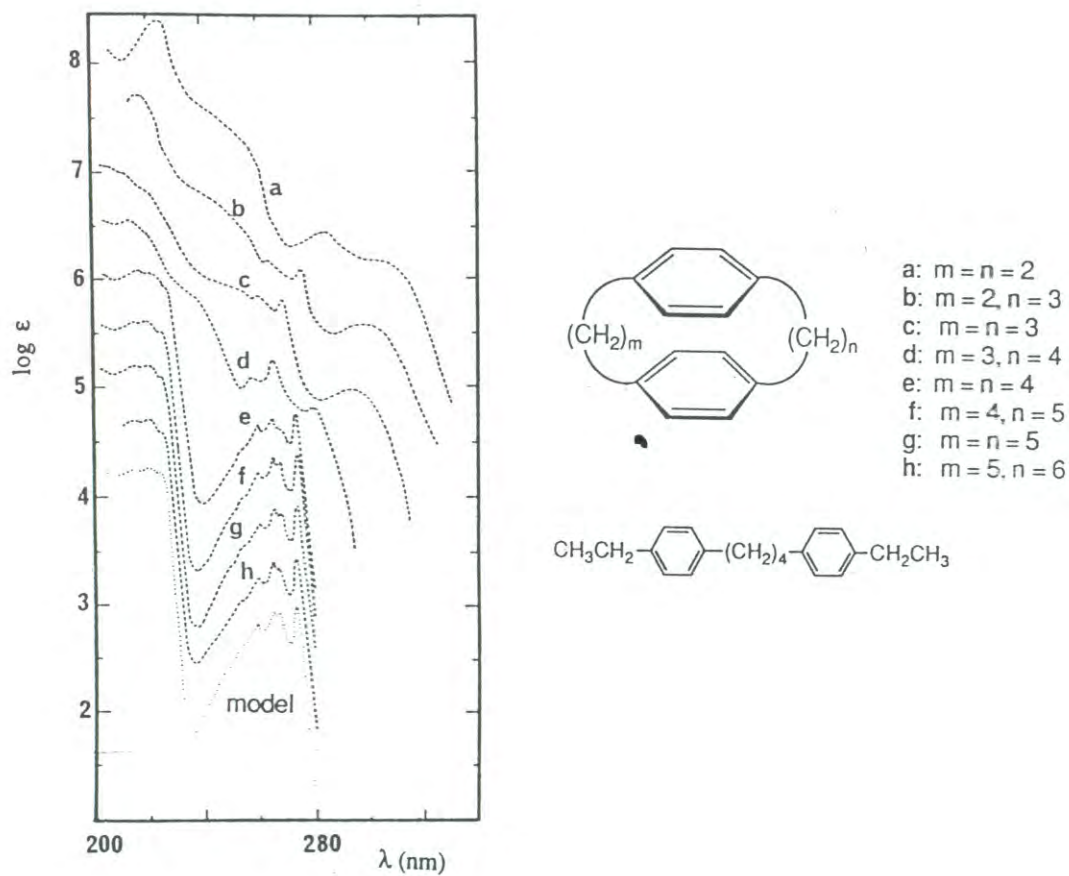


Figura 3.31 Espectros de absorción de la región ultravioleta de diversos [m.n]paraciclofanos en etanol al 95%. El espectro inferior corresponde al modelo de referencia de cadena abierta.

Fuentes: [88, 89]



contracción del macrocíclico, con lo que los grupos fenilo se aproximan entre sí originando efectos transanulares similares a los que se presentan en los paraciclofanos pequeños. Conforme disminuye el pH de la solución, se pierde la coordinación con los nitrógenos amida (que ahora se encuentran protonados), la cavidad del macrocíclico se extiende, los grupos fenilo se alejan y se eliminan las interacciones entre los sistemas  $\pi$ . Como consecuencia de lo anterior, la banda  $\pi$ - $\pi^*$  en espectros electrónicos de los complejos a valores bajos de pH se asemeja bastante a la de los ciclofanos no complejados. En las investigaciones de Cram sobre paraciclofanos [88], se encontró que la distancia mínima entre dos anillos de benceno (ubicados cara a cara) que genera fuertes repulsiones es 3.09 Å; de esta manera, la distancia entre los grupos fenilos en la cavidad de los ciclofanos en los complejos en medio alcalino debe ser igual o menor a ese valor.

Este comportamiento representa un novedoso ejemplo de como el tamaño de la cavidad, y muy posiblemente las propiedades de reconocimiento molecular, de los receptores ciclofanos pueden ser modificados por la complejación de un ión metálico, simulando los efectos alostéricos que ocurren en los sistemas biológicos.

## CONCLUSIONES

Los nuevos receptores artificiales, ciclofanos 1 y 2, exhibieron propiedades de reconocimiento molecular con los cationes aromáticos: fenetilamina, tiramina y dopamina, con quienes formaron complejos estables receptor - huésped. Los receptores no reconocen compuestos con estructuras similares como fenol, el anión aromático fenilacetato, y el zwitter ion fenilalanina.

Las dos principales fuerzas de enlace entre los ciclofanos y las aminas aromáticas son la interacción  $\pi - \pi$  entre los grupos fenilo de los sustratos y los receptores, y el enlace de hidrógeno (o apareamiento de iones) entre los grupos pendientes carboxilato ( $\text{COO}^-$ ) del receptor y los grupos  $\text{NH}_3^+$  de las moléculas huésped. Tiramina y dopamina formaron complejos más estables que fenetilamina, por lo que los grupos OH de los sustratos contribuyen en alguna medida a la estabilización de los complejos.

Ciclofano 2 formó complejos de mayor estabilidad que ciclofano 1, lo cual se atribuyó a una mayor preorganización de la cavidad de ciclofano 2. De especial interés resultó el hecho de que ciclofano 2 formó un sólido insoluble en agua con dopamina, lo que indica que probablemente los sitios de reconocimiento molecular de ciclofano 2 se encuentran ubicados de manera más favorable para la complejación con dopamina.

Los ciclofanos 1 y 2 también formaron complejos binucleares con iones  $\text{Cu(II)}$ , con quienes a valores de pH altos se enlazaron fuertemente a través de enlaces de coordinación con los nitrógenos amida cargados negativamente. Al estar los nitrógenos amida directamente unidos a los grupos fenilo, este modo de coordinación originó la contracción de la cavidad de los receptores, provocando en los ciclofanos efectos transanulares los cuales, junto con la transferencia de carga

metal - ligando, indujeron fuertes modificaciones en el espectro electrónico de los mismos. Este comportamiento proporciona a los nuevos receptores una buena perspectiva para su uso potencial como sensores químicos para iones  $\text{Cu(II)}$  y/o como metaloreceptores.



## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1) J. Rebek, Jr., "Model Studies in Molecular Recognition", *Science* 235 (1987) 1478-1483.
- 2) F. Diederich, "Molecular Recognition in Aqueous Solution", *J. Chem. Educ.* 67 (1990) 813-820.
- 3) H.J. Schneider, "Mechanisms of Molecular Recognition: Investigation of Organic Host-Guest Complexes", *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 30 (1991) 1417-1436.
- 4) S.H. Gellman, "Introduction: Molecular Recognition", *Chem. Rev.* 97 (1997) 1231-1232.
- 5) A.D. Hamilton, "Molecular Recognition. Design and Synthesis of Artificial Receptors Employing Directed Hydrogen Bonding Interactions", *J. Chem. Educ.* 67 (1990) 821-828.
- 6) J.M. Lehn, "Supramolecular Chemistry - Scope and Perspectives. Molecules, Supermolecules, and Molecular Devices", *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 27 (1988) 89-112.
- 7) J.M. Lehn, "Supramolecular Chemistry. Concepts and Perspectives", Editorial VCH, Alemania, 1995.
- 8) E.J. Baran, "Química Bioinorgánica", Editorial McGraw-Hill/Interamericana, Madrid, 1995.
- 9) H. Dugas, "Bioorganic Chemistry. A Chemical Approach to Enzyme Action", Editorial Springer, New York, 3ª edición, 1996.
- 10) G.A. Melson, "Coordination Chemistry of Macrocyclic Compounds", Editorial Plenum Press, New York, 1979.
- 11) L.F. Linday, "The Chemistry of Macrocyclic Ligand Complexes", Editorial Cambridge University Press, New York, 1989.
- 12) Y. A. Zolotov, "Macrocyclic Compounds in Analytical Chemistry", Editorial John Wiley & Sons, Inc., New York, 1997.
- 13) F. Diederich, "Cyclophanes". Editorial The Royal Society of Chemistry, Cambridge, 1991.
- 14) K. Odashima y K. Koga, "Cyclophanes in Host-Guest Chemistry" en "Cyclophanes, Vol II", Editorial Academic Press, Inc., 1983, p. 629 - 677.
- 15) I. Tabushi y K. Yamamura, "Water Soluble Cyclophanes as Hosts and Catalysts", *Top. Curr. Chem.* 113 (1983) 145 - 182.
- 16) D.J. Cram, "The Design of Molecular Host, Guest and their Complexes", *Angew. Chem. int. Ed. Engl.* 27 (1988) 1009 - 1020..
- 17) T.H. Webb y C.S. Wilcox, "Enantioselective and Diastereoselective Molecular Recognition of Neutral Molecules", *Chem. Soc. Rev.* 22 (1993) 383 - 395.
- 18) L. Fabrizzi y A. Poggi, "Sensors and Switches from Supramolecular Chemistry", *Chem. Soc. Rev.* 24 (1995) 197 - 202.

- 19) T.A. Kaden, "Homo - and Heterobinuclear Metal Complexes with Bis-Macrocyclic Ligands" en *Transition Metals in Supramolecular Chemistry*, Editorial Kluwer Academic Publisher, Netherlands, 1994, p. 211 - 225.
- 20) B.L. Feringa, O.J. Gelling, M.T. Rispens y M. Lubben, "Self-Assembly of Mono - and Dinuclear Metal Complexes; Oxidation Catalysis and Metallo Enzyme Models" en *Transition Metals in Supramolecular Chemistry*, Editorial Kluwer Academic Publisher, Netherlands, 1994, p. 171 - 190.
- 21) P.A. Gosling, R.J.M.K. Gebbink, A.P.H.J. Schenning, M.C. Feiters y R.J.M. Nolte, "Supramolecular Models of Metallo-Proteins" en *Transition Metals in Supramolecular Chemistry*, Editorial Kluwer Academic Publisher, Netherlands, 1994, p. 291 - 307.
- 22) A. Hamilton, J.M. Lehn y J.L. Sessler, "Coreceptor Molecules. Synthesis of Metalloreceptors Containing Porphyrin Subunits and Formation of Mixed Substrate Supermolecules by Binding of Organic Substrates and of Metal Ions", *J. Am. Chem. Soc.* 108 (1986) 5158 - 5167.
- 23) J.E. Kickham, S.J. Loeb y S.L. Murphy, "Molecular Receptors for Adenine and Guanine Employing Metal Coordination, Hydrogen Bonding and  $\pi$  - Stacking Interactions", *Chem. Eur. J.* 3 (1997) 1203 - 1213.
- 24) D.H. Busch, "The Complete Coordination Chemistry - One Practitioner's Perspective" *Chem. Rev.* 93 (1993) 847 - 860.
- 25) C.K. Mathews y K.E. Van Hode, "Biochemistry", Editorial Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc., USA, 1996.
- 26) P. Mattei y F. Diederich, "A Flavo-Thiazolio-Cyclophane as a Functional Model for Pyruvate Oxidase", *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 35 (1996) 1341 - 1344.
- 27) F. Diederich y H.D. Lutter, "Catalytic Cyclophanes 4. Supramolecular Catalysis of Benzoin Condensations by a Thiazolium Cyclophane", *J. Am. Chem. Soc.* 111 (1989) 8438 - 8443.
- 28) F. Diederich and K. Dick, "A New Water Soluble Macrocyclic Host of the Cyclophanes Type: Host - Guest Complexation with Aromatic Guest in Aqueous Solution and Acceleration of the Transport of Arenes through an Aqueous Phase", *J. Am. Chem. Soc.* 106 (1984) 8024 - 8036.
- 29) P.P. Castro, T.M. Georgiadis y F. Diederich, "Chiral Recognition in Clefs and Cyclophane Cavities Shaped by the 1,1'-Binaphthyl Major Groove", *J. Org. Chem.*, 54 (1989) 5835 - 5841.
- 30) J. Szejtli, "Introduction and General Overview of Cyclodextrin Chemistry", *Chem. Rev.* 98(1998) 1743 - 1753.
- 31) J. Franke y F. Vögtle, "Complexation of Organic Molecules in Water Solution" *Top. Curr. Chem.* 132 (1986) 135 - 170.
- 32) C.J. Pedersen, "The Discovery of Crown Ethers", *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 27 (1988) 1021 - 1027.
- 33) A. Streitwieser y C.H. Heathcok, "Química Orgánica", Editorial McGraw-Hill, México, 3ª edición, 1989, p. 248 -249.



- 34) D.J. Cram, "Cyclophanes: A personal Account" en "Cyclophanes, Vol I", Editorial Academic Press, Inc., 1983, p. 1 - 21.
- 35) E. Weber, "Cyclophanes", Editorial Springer - Verlag, Alemania, 1994.
- 36) I. Sutherland, "Cyclophanes as Synthetic Analogs of Enzymes and Receptors" en "Cyclophanes, Vol II", Editorial Academic Press, Inc., 1983. p. 679.
- 37) J.M. Lehn, "Design of Organic Complexing Agents. Strategies toward Properties" en "Structure and Bonding", Editorial Springer, Berlin, Vol 16, 1973.
- 38) P. Knops, N. Sendhoff, H.B. Meikelburger y F. Vögtle, "High Dilution Reactions - New Synthetic Applications" en "Macrocycles", Top. Curr. Chem. 161 (1991) 3 - 35.
- 39) M.B. Inoue, C.A. Villegas, K. Asano, M. Nakamura, M. Inoue y Q. Fernando, "New 12-Membered and 24-Membered Macrocycles with Pendant Acetato Groups and X-ray Crystal Structures of the Copper(II) and Manganese(II) Complexes", Inorg. Chem. 31 (1992) 2480 - 2483.
- 40) M.B. Inoue, Q. Fernando, C.A. Villegas y M. Inoue, "Structure of a Lead(II) Complex of a New 13-Membered Macrocycle with Two Pendant Carboxymethyl Groups", Acta. Cryst. C49 (1993) 875 - 878.
- 41) M.B. Inoue, M. Inoue, I.C. Muñoz, M.A. Bruck y Q. Fernando, "Syntheses of new 15-Membered and 16-Membered Macrocyclic Ligands with Three Pendant Acetato Groups and the Structures of the Gadolinium(III) Complexes", Inorg. Chim. Acta 209 (1993) 29 - 34.
- 42) M.B. Inoue, M. Inoue y Q. Fernando, "Capped Trigonal Prism Coordination Geometry in a Cobalt(II) Chelate with a 24-Membered Macrocyclic Ligand in Which Two Ethylenediaminetetraacetate and Ethylenediamine Groups are Linked by Amide Bonds", Inorg. Chim. Acta 209 (1993) 35 - 39.
- 43) M. B. Inoue, L. Machi, M. Inoue y Q. Fernando, "Coordination of Histamine and Imidazole with Macrocyclic  $Zn^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$  and  $Cu^{2+}$  Chelates of Dioxotetrazacycloalcanediacetates", Inorg. Chim. Acta, 261 (1997) 59 - 65.
- 44) M.B. Inoue, R.E. Navarro, M. Inoue y Q. Fernando, "Manganese(II) and Gadolinium(III) Complexes with 13- and 16-Membered Dioxopolyazacycloalkanes Having Pendant Hydroxy and Carboxymethyl Groups", Inorg. Chem. 34 (1995) 6074 - 6079.
- 45) M. Dhaenens, L. Lacombe, J.M. Lehn y J.P. Vigneron, "Binding of Acetylcholine and other Molecular Cations by a Macrocyclic Receptor Molecule of Speland Type", J. Chem. Soc., Chem. Commun. (1984) 1097 - 1099.
- 46) F. Vögtle, T. Merz y H. Wirtz, "Large Carbocyclic Cavities for the Selective Inclusion of Organic Guest Molecules in Aqueous Solution", Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 24 (1985) 221 - 222.
- 47) A.E. Martell y R.D. Hancock, "Metal Complexes in Aqueous Solutions", Editorial Plenum Press, New York, 1996.
- 48) K. Mikkelsen y S.O. Nielsen, "Acidity Measurements with Glass Electrode in  $H_2O$  -  $D_2O$  Mixtures", J. Phys. Chem. 64 (1960) 6332 - 6337.
- 49) J.T. Watson, "Introduction to Mass Spectrometry", Editorial Lippincott - Raven Publishers, Philadelphia, 3ª edición, 1997.



- 50) S.A. Hofstadler, R.R. Bakhtiar y R.D. Smith, "Electrospray Ionization Mass Spectrometry. Part I: Instrumentation and Spectral Interpretation", *J. Chem. Educ.* 73 (1996) A82 - A88.
- 51) S.A. Hofstadler, RR. Bakhtiar y R.D. Smith, "Electrospray Ionization Mass Spectrometry. Part II: Applications in Characterizations of Peptides and Proteins", *J. Chem. Educ.* 73 (1996) A118 - A123.
- 52) S.A. Hofstadler, RR. Bakhtiar y R.D. Smith, "Electrospray Ionization Mass Spectrometry. Part III: Applications in Inorganic Chemistry and Synthetic Polymer Chemistry", *J. Chem. Educ.* 73 (1996) A162 - A169.
- 53) J.B. Lambert, H.F. Shurvell, D. Lighter y R.G. Cooks, "Introduction to Organic Spectroscopy", Editorial MacMillan Publishing Company, New York, 1987, p. 1 - 132.
- 54) M.A. Petti, T.J. Shepodd, R.E. Barrans, Jr., y D.A. Dougherty, "'Hydrophobic' Binding of Water-Soluble Guests by High - Symmetry, Chiral Hosts. An Electron - Rich Receptor Site with a General Affinity for Quaternary Ammonium Compounds and Electron - Deficient  $\pi$  System", *J. Am. Chem. Soc.* 110 (1988) 6825 - 6840.
- 55) C.A. Hunter y J.K.M. Sanders, "The Nature of  $\pi$  -  $\pi$  Interactions", *J. Am. Chem. Soc.* 112 (1990) 5525 - 5534.
- 56) C.A. Hunter, "The Role of Aromatic Interactions in Molecular Recognition", *Chem. Soc. Rev.* (1994) 101 - 109.
- 57) R.S. Macomber, "An Introduction to NMR Titration for Studying Rapid Reversible Complexation", *J. Chem. Educ.* 69 (1992). 375 - 378.
- 58) Y. Kikuchi, Y. Kato, Y. Tanaka, H. Toi y Y. Aoyama, "Molecular Recognition and Stereoselectivity: Geometrical Requirements for Multiple Hydrogen - Bonding Interaction of Diols with a Multidentate Polyhydroxy Macrocyclic", *J. Am. Chem. Soc.* 113 (1991) 1349 - 1354.
- 59) H.J. Schneider, T. Blatter, B. Palm, U. Pfingstag, V. Rüdiger e I. Theis, "Complexations of Nucleosides, Nucleotides, and Analogs in an Azoniacyclopentane. Van der Waals and Electrostatic Binding Increments and NMR Shielding Effects", *J. Am. Chem. Soc.* 114 (1992) 7704 - 7708.
- 60) R.P. Lang, "Molecular Complexes and their Spectra. XIV. Iodine Complexes with Thiourea and Thioacetamide", *J. Am. Chem. Soc.*, 84 (1962) 1185 - 1192.
- 61) H. Furuta, K. Furuta y J.L. Sessler, "Enhanced Transport of Nucleosides and Nucleoside Analogues with Complementary Base - Pairing Agents", *J. Am. Chem. Soc.* 113 (1991) 4706 - 4707.
- 62) M. Dhaenens, J.M. Lehn y J.P. Vigneron, "Molecular Recognition of Nucleosides, Nucleotides and Anionic Planar Substrates by a Water - Soluble Bis-Intercalad - Type Receptor Molecule", *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2.*, (1993) 1379 - 1381.
- 63) R.E. Babine y S.L. Bender, "Molecular Recognition of Protein - Ligand Complexes: Applications to Drug Design", *Chem. Rev.*, 97 (1997) 1359 - 1472.
- 64) A.D. Attle y R.T. Raines, "Analysis of Receptor - Ligands Interactions", *J. Chem. Educ.*, 72 (1995) 119 - 124.

- 65) J.A. Dean, "Lange's Handbook of Chemistry", Editorial McGraw - Hill, New York, 1985, 13<sup>a</sup> edición, tabla 5-8.
- 66) J.E. Johnson y F.A. Bouey, "Calculation of Nuclear Magnetic Resonance Spectra of Aromatic Hydrocarbons", J. Chem. Phys. 29 (1958) 1012 - 1014.
- 67) J. Rebek, Jr., T. Costello, L. Marshall, R. Wattlely, R.C. Gadwood y K. Onan, "Allosteric Effects in Organic Chemistry: Binding Cooperativity in a Model for Subunit Interactions", J. Am. Chem. Soc. 107 (1985) 7481 - 7487.
- 68) R. Baldes y H.J. Scheider, "Complexes from Polyazacyclophanes, Fluorescence Indicators, and Metal Cations - An Example of Allosterism through Ring Contraction", Angew. Chem. Int. Ed. Engl., 34 (1995) 321 - 323.
- 69) R.D. Hancock, "Chelate Ring Size and Metal Ion Selection. The Basis of Selectivity for Metal Ions in Open - Chain Ligands and Macrocycles", J. Chem. Educ., 69 (1992) 615 - 621.
- 70) N.F. Curtis, "Macrocyclic Coordination Compounds Formed by Condensation of Metal - Amine Complexes with Aliphatic Carbonyl Compounds", Coord. Chem. Rev., 3 (1968) 3 - 47.
- 71) J.M. Palmer, E. Papaconstantinou y J.F. Endicott, "Oxidation - Reduction Chemistry of Coordination Complexes with Macrocyclic Ligands. The Cu(trans[14]diene)<sup>+</sup> - Cu(trans[14]diene) System. Electrochemical, Spectral, and Solution Studies", Inorg. Chem., 8 (1969) 1516 - 1523.
- 72) F.L. Urbach, "Ligand Field Spectra and Magnetic Properties of Synthetic Macrocyclic Complexes", en "Coordination Chemistry of Macrocyclic Compounds", Editorial Plenum Press, New York, 1979, p. 345 - 392.
- 73) V.J. Thom, J.C.A. Boeyens, G.J. McDougall y R.D. Hancock, "Origin of the High Field Strength and Macrocyclic Enthalpy in Complexes of Nitrogen - Donor Macrocycles", J. Am. Chem. Soc., 106 (1984) 3198 - 3207.
- 74) G. Li y W.C. Still, "An 18-Crown-6 Derivative with Only One Conformation", J. Am. Chem. Soc., 115 (1993) 3804 - 3805.
- 75) A.Y. Nazarenko, R.M. Izatt, J.D. Lamb, J.M. Desper, B.E. Matysik y S.H. Gellman, "Thermodynamics of Copper(II) Complexation by Macrocyclic Tetrathioethers at 25 °C in Water-Methanol Mixtures and Acetonitrile: Correlations of Complexation Enthalpy and Ligand Conformational Preferences", Inorg. Chem., 31(1992) 3990 - 3993.
- 76) W.P. Cacheris, S.K. Nickle y D. Sherry, "Thermodynamic Study of Lanthanide Complexes of 1,4,7-Triazacyclononane-N,N',N''-triacetic Acid and 1,4,7,10-Tetraazacyclododecane-N,N',N'',N'''-tetraacetic Acid", Inorg. Chem. 26 (1987) 958 - 960.
- 77) R.C. Scarrow, D.J. Ecker, C. Ng, S. Liu y K.N. Raymond, "Iron(III) Coordination Chemistry of Linear Dihydroxiserine Compounds Derived from Enterobactin", Inorg. Chem. 30 (1991) 900 - 906.
- 78) A.E. Martell, R.J. Motekaitis y M.J. Welch, "N,N',N''-Tris(3-hydroxy-6-methyl-2-pyridylmethyl)-1,4,7-triazacyclononane, a New Effective Ligand for Iron(III)", J.Chem.Soc., Chem. Commun., (1990) 1748 - 1749.



- 79) F.A. Cotton y G. Wilkinson, "Química Inorgánica Avanzada", Editorial LIMUSA, México, 1996, 4ª edición, p. 982.
- 80) M. Gerloch y E.C. Constable, "Transition Metal Chemistry. The Valence Shell in d-Block Chemistry", Editorial VCH, Alemania, 1994.
- 81) D. F. Shriver, P. Atkins y C.H. Langford, "Inorganic Chemistry", Editorial W.H. Freeman and Company, New York, 1994, 2ª edición.
- 82) M.B. Inoue, P. Oram, G. Andreu-de-Riquer, M. Inoue, P. Borbat, A. Raitsimring y Q. Fernando, "Transition Metal Complexes of 12- and 13-Membered Functionalized Macrocycles, Dioxotetraazacycloalcanediacetates", *Inorg. Chem.* 34 (1995) 3528 - 3535.
- 83) M.B. Inoue, F. Medrano, M. Inoue, A. Raitsimring y Q. Fernando, "A New Chelating Cyclophane and Its Complexation with Ni<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup> and Zn<sup>2+</sup>: Spectroscopic Properties and Allostereism via Ring Contraction", *Inorg. Chem.*, 36 (1997) 2335 -
- 84) L. Fabbrizzi, M. Licchelli, P. Pallavicini, D. Sacchi y A. Taglietti, "Sensing of Transition Metals Through Fluorescence Quenching or Enhancement. A Review", *Analyst*, 121 (1996) 1763 - 1768.
- 85) K. Nakamoto, "Infrared Spectra of Inorganic and Coordination Compounds", Editorial John Wiley & Sons, New York, 1970, 2ª edición.
- 86) J. M. Casas y A. Martín, "Simple Preparation of Palladium(II) Complexes and Determination of Their Structures by Infrared Spectroscopy", *J. Chem. Educ.*, 74 (1997) 1327 - 1328.
- 87) R.M. Silverstein, G. C. Bassler y T.C. Morrill, "Identificación Espectrométrica de Compuestos Orgánicos", Editorial Diana, México, 1980, p. 115.
- 88) D.J. Cram, N.L. Allinger y H. Steinberg, "Macro Rings. VII. The Spectral Consequences of Bringing Two Benzene Rings Face to Face", *J. Am. Chem. Soc.*, 76 (1954) 6132 - 6141.
- 89) D.J. Cram, R.H. Bauer, N.L. Allinger, R.A. Reeves, W.J. Wechter y E. Heilbronner, "Macro Rings. XXI. Mono- and Polysubstituted [2.2]Paracyclophanes", *J. Am. Chem. Soc.*, 81 (1959) 5977 - 5983.
- 90) M.W. Haenel y D. Schweitzer, "Electronic Interactions Between Polycyclic Arenes in Cyclophanes", *Adv. Chem. Ser.* 217 (1988) 333 - 355.



## PUBLICACIONES RELACIONADAS CON EL TRABAJO DE TESIS

- (1) Michiko B. Inoue, Enrique F. Velazquez, Motomichi Inoue and Quintus Fernando. "Molecular recognition of phenethylamine, tyramine and dopamine with new anionic cyclophanes in aqueous media". *Journal of Chemical Society, Perkin Transactions 2*, (1997) 2113.
- (2) Michiko B. Inoue, Enrique F. Velazquez, Felipe Medrano, Karen L. Ochoa, J.C. Galvez, Motomichi Inoue and Quintus Fernando. "Binuclear Copper(II) Chelates of Amide-Based Cyclophanes". *Inorganic Chemistry*, 37 (1998) 4070.
- (3) Michiko B. Inoue, Enrique F. Velazquez, Adriana Ruiz-Lucero, Motomichi Inoue, Arnold Raitsimring and Quintus Fernando. "Binuclear Copper(II) Chelates with a 24-Membered Amide-Based Macrocyclic". *Inorganic Chemistry*, 38 (1999) 834.

## OTRAS PUBLICACIONES

- (1) M. B. Inoue, E. F. Velazquez and M. Inoue. "One Step Chemical Synthesis of Doped Polythiophene by use of Copper(II) Perchlorate as an Oxidant". *Synthetic Metals*, 24 (1988) 223.
- (2) Gloria J. Pyrka, Quintus Fernando, Michiko B. Inoue, Motomichi Inoue and Enrique F. Velazquez. "Structure of 5,5'-Dibromo-2,2'-bithiophene". *Acta Crystallographica*, C44 (1988) 562.