

## · 2. ANTECEDENTES

### 2.1 Química Receptor–Huésped.

Una área relativamente joven dentro de la química orgánica, por la cual crece cada vez más el interés, es la complejación de moléculas orgánicas (huéspedes) dentro de cavidades, nichos o bolsas de moléculas artificiales de mayor tamaño (receptores o anfitriones). Este campo es conocido como *química de complejos receptor - huésped* [12], cuya meta principal es imitar los procesos de reconocimiento molecular que se presentan en los sistemas biológicos.

Para un efectivo reconocimiento molecular, la cavidad o bolsa de los receptores debe satisfacer la forma y el tamaño de la molécula huésped; debe contener también grupos funcionales capaces de interactuar complementariamente con el huésped (Figura 2.1). De esta manera, dentro de la síntesis de receptores artificiales las estructuras dominantes son los compuestos macrocíclicos, ya que poseen múltiples y convergentes sitios de enlace preorganizados en una estructura bien definida, los cuales pueden actuar de manera conjunta en la inclusión selectiva de un huésped [1, 4, 13]. Este tipo de estructuras son las que utiliza la naturaleza para formar los complejos que llevan a cabo muchos de los procesos biológicos esenciales.

Como ejemplos de moléculas bio-receptoras, se pueden mencionar: las enzimas, anticuerpos, membranas y sus receptores, transportadores y catalizadores entre otros, los cuales forman complejos debidamente estructurados responsables de procesos bioquímicos fundamentales tales como: actividad catalítica, rápida conducción de los impulsos del cerebro a las terminales nerviosas, réplica del DNA, por mencionar algunos. Todos estos fenómenos han sido fuente de inspiración de gran parte de los trabajos que actualmente se desarrollan dentro de este campo [1].

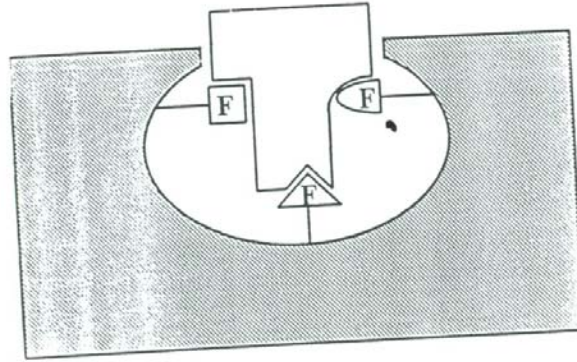


Figura 2.1 Complementariedad en forma, tamaño y grupos funcionales entre el receptor y el huésped.

Fuente: [14]

## 2.2 Principales Compuestos Macro-cíclicos.

Los receptores macrocíclicos constituyen un amplio espectro de compuestos que comprenden sustancias artificiales y naturales. Desde 1960 han sido preparados un gran número de macrociclos sintéticos, aumentando cada vez más el interés en todos los aspectos de la química de estos sistemas.

Se han realizado una gran cantidad de trabajos de investigación sobre macrociclos sintéticos dirigidos hacia la preparación de compuestos modelo de los macrociclos naturales [15]. Entre los macrociclos más utilizados en los estudios de reconocimiento molecular se encuentran las ciclodextrinas, éteres corona, macrociclos poliaza, calixarenos y ciclofanos (Figura 2.2) [14-25].

Las ciclodextrinas son oligosacáridos cíclicos naturales formados de 6 a 12 unidades de  $\alpha$ -1,4-D-glucosa, los cuales tienen una estructura rígida en forma de balde que tiene un interior hidrofóbico y un exterior hidrofílico, lo que les permite actuar como receptores de moléculas orgánicas en solución acuosa. Las ciclodextrinas más comunes están compuestas de 6, 7 y 8 unidades de glucosa, las cuales son conocidas como  $\alpha$ -,  $\beta$ - y  $\gamma$ -ciclodextrinas respectivamente.

Se ha reportado que las ciclodextrinas pueden actuar como modelos elementales del comportamiento catalítico de las enzimas [26], siendo los primeros compuestos que se estudiaron con la finalidad de observar su capacidad de formar complejos supramoleculares [12, 14, 27].

Otra familia de compuestos macrocíclicos artificiales son los polioxacicloalcanos, llamados comúnmente éteres corona, los cuales son polímeros cíclicos de etilenglicol,  $(-\text{OCH}_2\text{CH}_2-)_n$  y se nombran de la forma x-corona-y, donde y es el número de oxígenos y x es 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 [25]. El más conocido de estos compuestos es el 18-Corona-6 (18C6), sintetizado por Pedersen en 1967 (Figura 2.2). Los seis oxígenos en este macrociclo están situados idealmente para solvatar un catión de potasio, de la misma forma que lo harían las moléculas de agua. En el

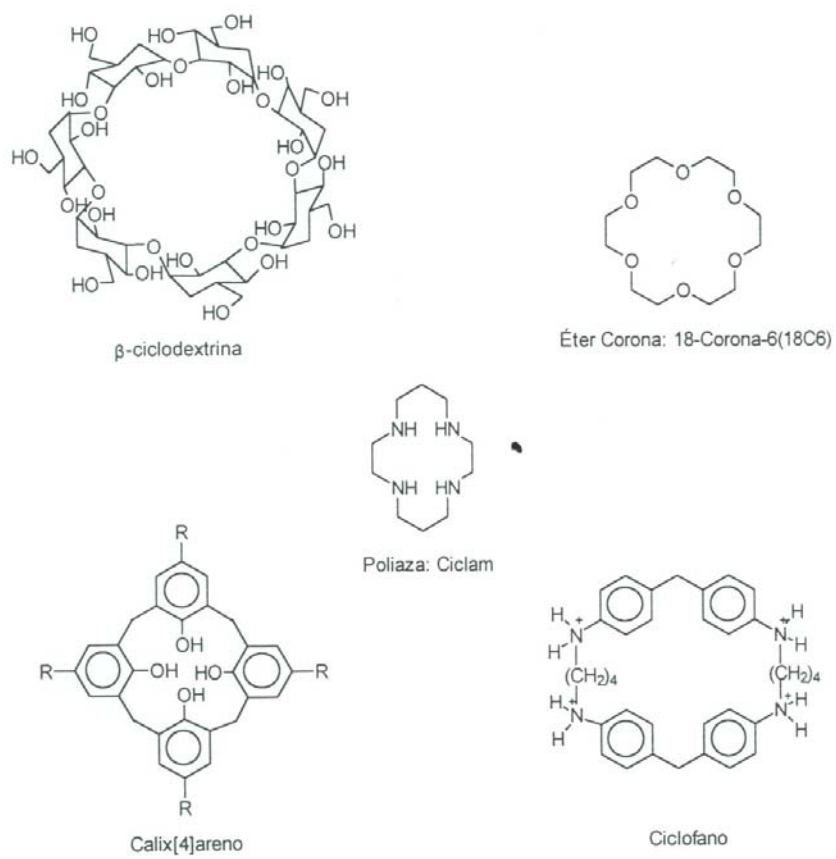


Figura 2.2 Estructuras de compuestos macrocíclicos comúnmente utilizados para el reconocimiento molecular.

complejo resultante el catión es solvatado por los oxígenos, pero el exterior de la molécula tiene características hidrofóbicas. Como resultado, el ión acomplejado es soluble en disolventes orgánicos no polares.

Entre los macrociclos sintéticos también se encuentran los macrociclos poliaza, que es la clase más grande y más diversa entre los compuestos macrocíclicos [25]. Esto es debido a que los grupos que contienen nitrógeno pueden ser de varios tipos: amino secundario y terciario, pirrol, piridino, amonio y otros grupos. Además todos estos tipos de grupos funcionales se pueden encontrar en el mismo compuesto macrocíclico. Los átomos de nitrógeno también se pueden incluir en un macrociclo con fragmentos de tiourea, guanina, amida y compuestos aza. El representante más prominente de los macrociclos poliaza es el 1,4,8,11-tetraazaciclotetradecano, conocido comúnmente como ciclam (Figura 2.2) [25].

Dentro de las familias de macrociclos artificiales, también se encuentran los calixarenos, nombre que fue introducido por Gutsche, y que se refiere a los oligómeros cíclicos obtenidos de la condensación de formaldehído con *p*-alquilfenoles bajo condiciones alcalinas [28,29]. Estos macrociclos fenólicos llamados generalmente calix[n]arenos consisten de cuatro o más unidades fenólicas puenteadas por espaciadores metilénicos (Figura 2.2). Los calixarenos poseen una cavidad rica en electrones y un borde inferior que consiste de un arreglo cíclico de donadores de oxígeno, por lo que los calixarenos son más convenientes para la complejación de cationes que para el enlace de aniones y moléculas neutras [30].

Dentro de todas estas familias de macrociclos, los más utilizados en el reconocimiento de moléculas orgánicas de interés biológico han sido las ciclodextrinas y los ciclofanos; sin embargo, mientras las ciclodextrinas utilizadas en estos trabajos son semi sintéticas, los ciclofanos son totalmente sintéticos y por lo tanto pueden sufrir amplias modificaciones estructurales, lo que les da la ventaja de ser diseñados y sintetizados arbitrariamente bajo los principios de complementariedad entre receptor y huésped, y de preorganización de los sitios de

enlace, los cuales son factores esenciales en el control de la fuerza y la selectividad de la asociación [1, 4, 31].

### 2.3 Macrociclos Tipo Ciclofano.

Los ciclofanos se definen como toda aquella molécula receptora que contenga al menos un anillo aromático, unido al menos por un puente alifático (Figura 2.3); son considerados como la clase central de los receptores artificiales, pues varios tipos de sustratos, desde moléculas inorgánicas, orgánicas, cationes, aniones hasta moléculas neutras, pueden ser acomplejadas por receptores de este tipo [1].

Los anillos aromáticos en un receptor ciclofano son multifuncionales. Le confieren a las cavidades de inclusión una estructura bien definida y con suficiente profundidad y su rigidez es crucial para la organización de los sitios de enlace. La estabilidad de los complejos se origina de interacciones específicas entre los anillos aromáticos altamente polarizables y el huésped encapsulado, las cuales pueden ser de tipo hidrofóbico y/o van der Waals así como interacciones  $\pi$ , ya que estos anillos pueden actuar como donadores o aceptores  $\pi$ . Además, proveen sitios adecuados para la introducción de grupos funcionales en sistemas catalíticamente activos (ciclofanos catalíticos).

La solubilidad en agua de este tipo de receptores se logra mediante la introducción de un número adecuado de centros cargados, por ejemplo grupos carboxilato, los cuales son localizados ya sea en la periferia de la cavidad o a una distancia más remota de los sitios de enlace. En el caso de los tetraazaparaciclofanos, los centros de amonio protonados o cuaternarios proveen una alta solubilidad en agua.

Los ciclofanos también pueden emplearse en disolventes orgánicos como receptores para huéspedes orgánicos o iones metálicos [1, 4].

De manera general la capacidad de los ciclofanos de formar complejos de inclusión estables, se debe a que cumplen con casi todos los requisitos que deben

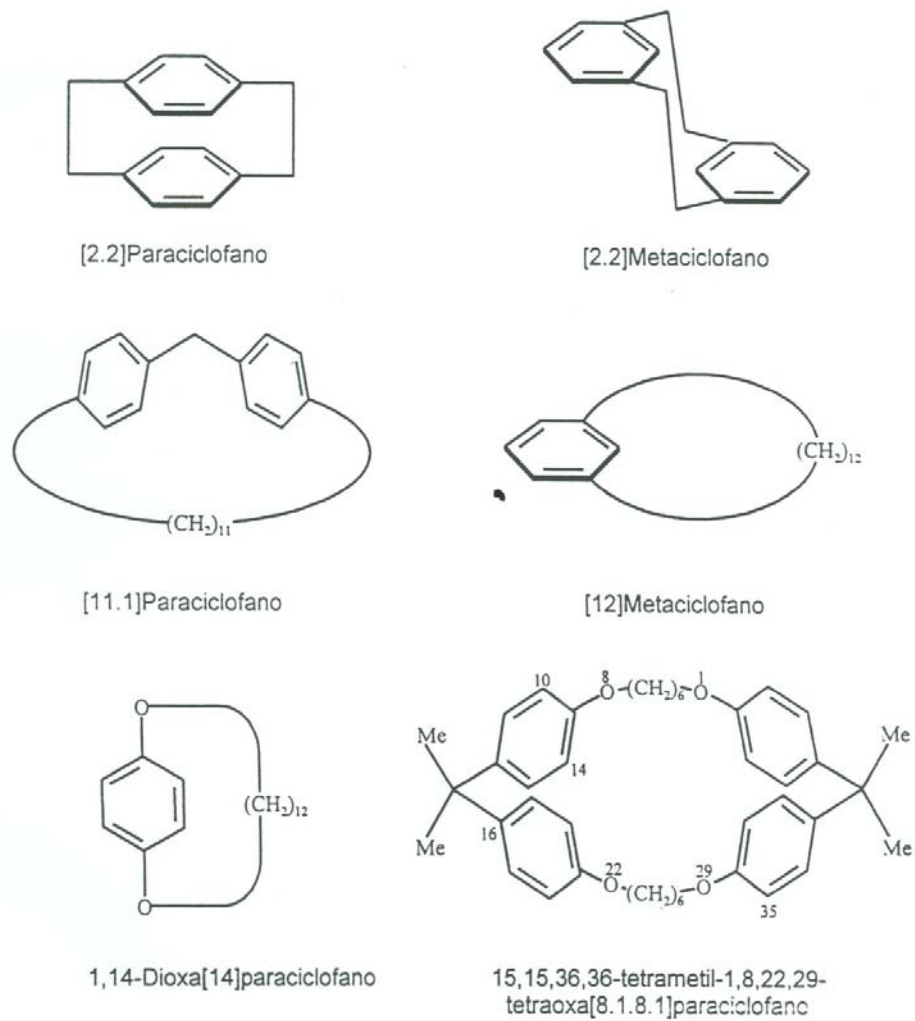


Figura 2.3 Estructuras representativas de receptores macrocíclicos tipo ciclofano.

Fuente: [1]

satisfacer los receptores artificiales para llevar a cabo el reconocimiento molecular [32]:

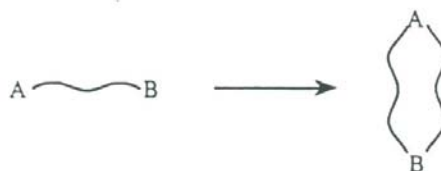
- 1) Deben ser sintetizados mediante un método sencillo, que parta de reactivos disponibles.
- 2) Deben mostrar selectividad en el reconocimiento de moléculas huésped con base a su constitución y configuración.
- 3) Deben ser químicamente estables.
- 4) Deben contar con sitios para la introducción de grupos catalíticos o sitios de reconocimientos adicionales
- 5) Para un eventual aprovechamiento, deben tener la posibilidad de unirse a polímeros.

La creación de nuevos dispositivos moleculares electrónicos para el almacenamiento y transferencia de energía, nuevas generaciones de soluciones catalíticas homogéneas, nuevos receptores y sensores moleculares con sensibilidad sin precedente, nuevas técnicas de separación, nuevos polímeros con propiedades electro ópticas, y nuevas herramientas para el mapeo del genoma humano y para la investigación del origen del plegamiento de las proteínas, son solamente algunos de los ejemplos de las aplicaciones potenciales de los ciclofanos como receptores artificiales [15].

#### 2.4 Métodos de Síntesis de Compuestos Macrocíclicos

La formación del anillo es la etapa clave en la síntesis de un compuesto macrocíclico. Actualmente se cuenta con dos diferentes opciones para la formación de un macroanillo [25,33]. (1) La ciclización de un precursor apropiado de cadena abierta.





(2) 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 [25, 33].

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 macrociclos 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 el centro electrofílico.

Dos problemas requieren solución para tener éxito en el curso de la macrociclización [25, 33]. Primero, la reactividad de los reactantes debe ser aumentada. Esto puede llevarse a cabo con el incremento, ya sea de la nucleoficidad 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 macrociclos es la oligomerización lineal de los reactivos. 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 entre los cuales destacan los métodos de reacciones templadas, control conformacional y el de alta dilución. Es mediante éste último método que se llevó a cabo la síntesis de los ciclofanos utilizados en el presente trabajo y por lo tanto se describe brevemente a continuación.

Método de alta dilución. El fundamento de este método es que en soluciones suficientemente diluidas, se favorece la reacción intramolecular, la cual conducirá a la formación de un macrociclo, en lugar de una reacción intermolecular, de la que se obtendría un polímero [25, 33, 34]. La reacción de ciclización 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 reacciones. La primera etapa es una reacción intermolecular que involucra a dos de los grupos funcionales reaccionantes, mientras que la segunda es una reacción intramolecular entre los otros dos grupos. El método de alta dilución, también se aplica a la ciclización de moléculas bifuncionales lineales.

En este caso 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 macrociclos del tipo y tamaño deseados; y se

pueden obtener estructuras bi- y policíclicas utilizando un macrociclo adecuado como uno de los reactivos iniciales. La única desventaja notable que presenta es la obtención de producto en cantidades relativamente bajas comparadas al volumen de la mezcla de reacción.

### 2.5 Estudios de Reconocimiento Molecular de Receptores Artificiales.

El reconocimiento molecular, que se define como el proceso que implica la unión selectiva de un sustrato por una molécula de receptor a fin de llevar a cabo una función específica (como la catálisis o el transporte), depende esencialmente de la naturaleza específica de las interacciones entre los sitios de enlace del huésped y del receptor. Para un reconocimiento molecular efectivo se requiere del diseño de moléculas receptoras que posean cavidades con características geométricas y electrónicas complementarias con las características de la molécula a enlazar (huésped), es decir, la molécula receptora debe poseer una cavidad que reúna la forma y el tamaño de la estructura de la molécula huésped y también contener grupos de unión capaces de interactuar con regiones complementarias de dicha molécula (Figura 2.1); además debe existir un balance entre la rigidez y flexibilidad apto para la función a realizar [14-20, 35].

Cuando un sustrato se incluye en su totalidad (o por lo menos la mayor parte de ella) en 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, tales como el enlace de hidrógeno, pares iónicos, interacciones  $\pi$ - $\pi$ , enlace de coordinación metal - ligando, efecto dipolo-dipolo inducido e interacciones de van der Waals, entre otras. Por otra parte, las propiedades de las moléculas bio-receptoras responsables del buen funcionamiento de los organismos vivos, también se basan en el uso controlado y eficiente de las débiles interacciones intermoleculares de tipo no covalente.

Generalmente, cada uno de estos enlaces involucra menos de  $1.0 \text{ kcal mol}^{-1}$ , es decir, dos órdenes de magnitud menos que la energía de los enlaces covalentes.

Además, la solvatación tanto de receptores como de huéspedes se lleva a cabo mediante este mismo tipo de fuerza.

Por lo anterior, para formar complejos de alta estabilidad y competir con la solvatación, es necesario que muchos sitios de unión estén presentes en el receptor y en el sustrato, y puedan actuar simultáneamente para crear un efecto aditivo. Por su importancia en todos los estudios de complejación receptor – huésped, esta idea se ha expresado de forma explícita en el denominado “principio de complementariedad”: *En los complejos, los receptores deben tener diversos sitios de enlace, los cuales puedan interactuar simultáneamente con los sitios de enlace de los huéspedes, sin generar repulsiones o tensiones internas* [2]. Como se mencionó anteriormente, para lograr esto, el tamaño y la geometría de ambas moléculas deben complementarse de tal forma que permitan la mayor efectividad entre las interacciones no covalentes (Figura 2.1).

Así como el principio de complementariedad gobierna el reconocimiento molecular, la preorganización gobierna la fuerza del enlace. Esto significa que, con el objetivo de minimizar la energía necesaria para el rearrreglo conformacional efectuado durante la complejación, la conformación del receptor en el estado libre debe parecerse lo más posible a la conformación del receptor en el complejo. A esta generalización se le ha llamado el “principio de preorganización” (Figura 2.4). El concepto de preorganización ha conducido a numerosos intentos de sintetizar receptores cada vez más efectivos. En general, a mayor rigidez de los receptores mayor estabilidad de los complejos formados, aunque dicha estabilidad dependerá también de las características de los huéspedes.

Los estudios de reconocimiento molecular en complejos supramoleculares artificiales pueden dar respuesta a nivel microscópico a preguntas que aún están abiertas en el área de bioquímica y biología molecular. Sin embargo, la mayor motivación para estas investigaciones es la necesidad de comprender a profundidad las interacciones de tipo no covalente, las cuales son responsables de la formación de los complejos. Con tal entendimiento no solamente se podrían diseñar sistemas

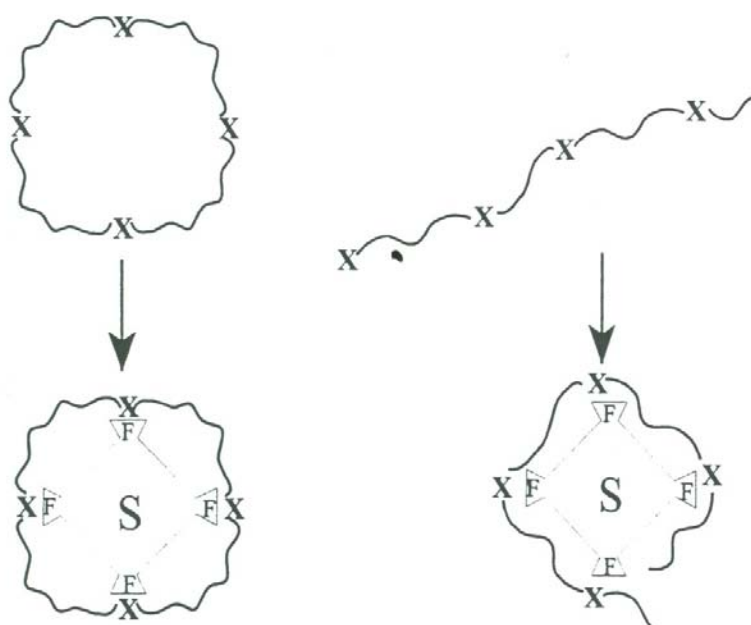


Figura 2.4 Esquematización del principio de preorganización.

artificiales que cuenten con las fascinantes propiedades de los sistemas naturales, sino también crear una química nueva de gran interés tanto para el área académica como para la industria [15].

## 2.6 Interacciones Intermoleculares.

Por mas de 150 años la química estuvo interesada principalmente en la naturaleza del enlace covalente en las moléculas orgánicas. Sin embargo desde hace un par de décadas, la naturaleza del enlace no covalente se ha colocado en el centro de atención de la química, debido a que son este tipo de interacciones las responsables de la alta selectividad y eficiencia observadas en los complejos bioquímicos [15].

Los enlaces covalentes más importantes en bioquímica, tales como el enlace C-C y el enlace C-H tienen una energía de enlace que va de 300 a 400 kJ/mol, mientras que los enlaces no covalentes biológicamente importantes son de 10 a 100 veces más débiles [36].

Sin embargo, a pesar que de manera individual estas interacciones son débiles, cuando operan conjuntamente pueden generar fuertes y específicos enlaces [13]. Es precisamente esta característica de las interacciones no covalentes la que las hace esenciales en la formación de complejos biológicos estables y a la vez reversibles, lo cual no podría ocurrir si dichas fuerzas intermoleculares fueran tan fuertes como los enlaces covalentes [36].

Las interacciones no covalentes que más comúnmente intervienen en el reconocimiento molecular son las que se describen a continuación [36]:

(1) *Interacciones carga-carga*. La interacción no covalente más sencilla es la interacción electrostática entre un par de partículas cargadas.

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

$$F = k(q_1q_2 / r^2) \quad (2.1)$$

donde  $k$  es una constante cuyo valor depende de la unidades utilizadas. Si  $q_1$  y  $q_2$  tienen el mismo signo,  $F$  resulta positiva y corresponde a una repulsión. Si una carga es positiva y la otra negativa,  $F$  resulta negativa y corresponde a una atracción de cargas.

Sin embargo, el ambiente en los procesos biológicos no es al vacío. En una célula las cargas siempre se encuentran separadas por moléculas de agua o por otras moléculas. Es por esto que el interés va hacia las interacciones en un medio, como el disolvente en una solución. La existencia de este medio dieléctrico entre cargas tiene un efecto pantalla entre ellas, por lo que la fuerza real entre dichas cargas siempre es menor a la calculada por la ecuación de la ley de Coulomb. Este efecto pantalla es considerado mediante la introducción de un término adimensional en la ecuación (2.1), denominado constante dieléctrica ( $\epsilon$ ):

$$F = k(q_1q_2 / \epsilon r^2) \quad (2.2)$$

Toda sustancia que actúe como un medio dieléctrico tiene un valor característico de  $\epsilon$ , entre más alto sea este valor, menor es la fuerza entre las cargas separadas. La constante dieléctrica del agua es alta, aproximadamente 80, mientras que los solventes orgánicos tienen valores muy bajos, en el rango de 1-10. Como consecuencia del alto valor de  $\epsilon$  para el agua, las partículas cargadas interactúan débilmente en medio acuoso, a menos que se encuentren muy cerca una de la otra.

Toda interacción de cargas involucra un cambio de energía ( $U$ ), dicha energía esta dada por la ecuación (2.3):

$$U = k (q_1q_2 / \epsilon r) \quad (2.3)$$

Las dos principales características de las interacciones carga–carga provienen de las ecuaciones (2.2) y (2.3). Primero, la fuerza entre las cargas es completamente no direccional y dependen solamente de la distancia de separación. Segundo, la

energía de interacción es inversamente proporcional a 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.*

Moléculas que no tienen una carga neta pueden tener una distribución de carga interna asimétrica. Por ejemplo, la distribución de la molécula de monóxido de carbono es tal que el oxígeno se encuentra ligeramente más negativo que el átomo de carbono (Fig 2.5 a). Este tipo de moléculas se denominan polares y se dice que tienen un momento dipolar permanente ( $\mu$ ), el cual expresa la magnitud de la polaridad de una molécula. Si una molécula lineal como el  $C\equiv O$  tiene cargas parciales  $q^+$  y  $q^-$ , separadas por una distancia  $x$ , el momento dipolar es un vector dirigido hacia  $q^-$ , cuya magnitud es:

$$\mu = qx$$

En moléculas más complejas, como el agua, el momento dipolar es una suma de vectores (Figura 2.5 b).

En medio acuoso, 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 dipolares dependen de la orientación de las moléculas. Además, estas son interacciones de corto alcance: la energía de una interacción carga–dipolo es proporcional a  $1/r^2$ , mientras que la energía de la interacción dipolo–dipolo es proporcional a  $1/r^3$ . Por lo tanto, un par de dipolos permanentes deben estar muy cerca para que la interacción sea fuerte.

Por otro lado, las moléculas que no tengan dipolos permanentes, pueden ser polarizadas por la presencia de un campo eléctrico. Dicho campo puede ser externo, aplicado por un instrumento de laboratorio, o puede ser producido por el ambiente químico, el cual contenga moléculas cargadas o partículas dipolares. Una molécula,



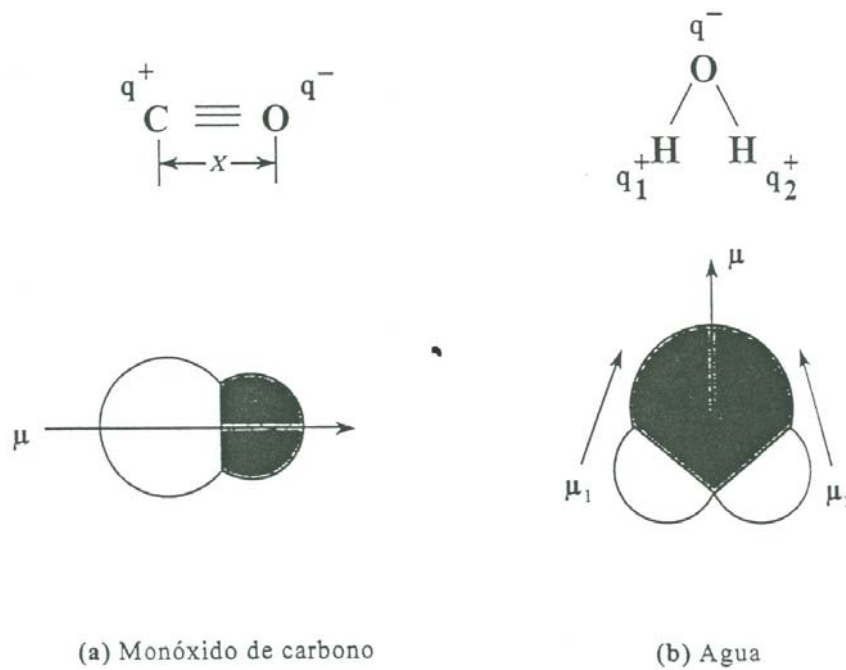


Figura 2.5 (a) Monóxido de carbono: la carga parcial negativa ( $q^-$ ) sobre el oxígeno junto con la correspondiente carga parcial positiva ( $q^+$ ) sobre el carbono produce un momento dipolar dirigido a lo largo del eje C–O. (b) Molécula de agua: la carga parcial negativa sobre el oxígeno junto con la carga parcial positiva sobre los hidrógenos produce dos momentos dipolares,  $\mu_1$  y  $\mu_2$ , dirigidos a lo largo de los enlaces H–O. La suma vectorial ( $\mu$ ) representa el momento dipolar de la molécula.

a la cual se le puede inducir un dipolo, se dice que es una molécula *polarizable*. Los anillos aromáticos, por ejemplo, son muy polarizables, debido a que sus electrones pueden ser fácilmente desplazados en el plano del anillo. Las interacciones de moléculas polarizables, se denominan *interacciones dipolo inducido*. Un anión o un catión pueden inducir un dipolo en una molécula polarizable y de este modo ser atraídos hacia ella (*interacción carga-dipolo inducido*) o un dipolo permanente puede hacer lo mismo (*interacción dipolo-dipolo inducido*). Estas interacciones de dipolo inducido son de menor alcance que las interacciones de dipolo permanente, con energías de interacción proporcionales a  $1/r^4$  y  $1/r^5$ , respectivamente.

(3) *Fuerzas de Dispersión*. Incluso dos moléculas que no tengan ni carga neta ni dipolos permanentes se pueden atraer entre ellas, si se encuentran lo suficientemente cerca. La distribución de la carga electrónica en una molécula nunca es estática, sino fluctuante. Cuando dos moléculas se encuentran a distancias muy cortas, sus cargas fluctuantes se sincronizan dando como resultado una fuerza atractiva neta. Estas fuerzas intermoleculares son conocidas como *fuerzas de dispersión* (o fuerzas de van der Waals). Su energía de interacción es proporcional a  $1/r^6$ , por lo que sólo son posibles a distancias muy cortas. Sin embargo, cuando dos moléculas planas se apilan una sobre la otra, este tipo de interacciones pueden ser particularmente fuertes.

(4) *Enlace de Hidrógeno*. Una de las interacciones de tipo no covalente de gran importancia en bioquímica, es el enlace de hidrógeno. La estructura y propiedades del agua, así como de la mayoría de las moléculas biológicas, son determinadas principalmente por este tipo de interacciones. Un enlace de hidrógeno es una interacción entre un átomo de hidrógeno enlazado covalentemente a un grupo donador (como O-H o N-H) y un par de electrones no enlazados en un grupo aceptor (como O=C), como se muestra en la Figura 2.6. La longitud del enlace de hidrógeno se define como la distancia centro-centro entre los átomos donador y aceptor.

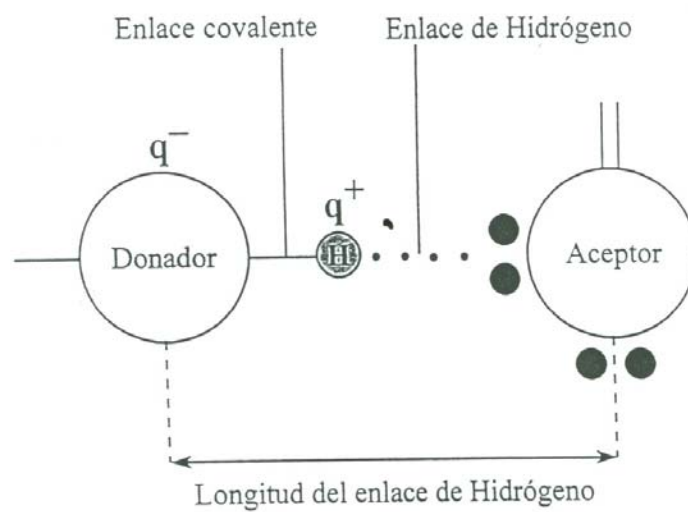


Figura 2.6 Enlace de hidrógeno. La figura muestra un puente de hidrógeno existente entre los grupos  $-O-H$  y  $-C=O$ . Aunque el puente de hidrógeno es entre el H y el aceptor, la longitud de dicho puente se define como la distancia entre el donador y el aceptor.

La capacidad de un átomo para funcionar como donador en un enlace de hidrógeno depende en gran medida de su electronegatividad. Entre más electronegativo es el átomo donador más positivo es el átomo de hidrógeno y más fuertemente es atraído por el par electrónico del átomo aceptor. Entre los átomos que se encuentran en las moléculas biológicas, solamente O y N tienen electronegatividades apropiadas para funcionar como átomos donadores.

El enlace de hidrógeno tiene tanto carácter de enlace covalente como de enlace no covalente y esto se refleja en la longitud de enlace, la cual es considerablemente menor que la esperada con base a los radios de van der Waals.

De manera general, la energía de este tipo de interacciones es considerablemente más alta que la de muchos otros enlaces no covalentes, lo cual es congruente con su carácter parcialmente covalente. Sin embargo, en los estudios de reconocimiento molecular esto puede ser diferente, dependiendo del solvente en el que se esté trabajando. Por ejemplo en solventes no polares la contribución a la estabilidad del complejo puede ser alta, mientras que en solventes próticos la competencia de las moléculas de solvente por los sitios de enlace debilita los puentes de hidrógeno entre el receptor y el sustrato.

(5) *Efecto Hidrofóbico*. En un solvente polar, como por ejemplo el agua, las moléculas no polares tienden a asociarse para reducir la superficie hidrofóbica que originalmente era expuesta al agua (Figura 2.7) [37]. De manera particular, en la formación de complejos moleculares, si la molécula huésped no es polar, o es insoluble o poco soluble en agua, el efecto hidrofóbico es la fuerza principal que conduce a la inclusión de dicho huésped en la cavidad hidrofóbica del receptor. Para esto, la molécula debe liberarse de su propio caparazón de moléculas de agua y también desplazar las moléculas de agua que se encuentran dentro de la cavidad del receptor, originando un micro ambiente hidrofóbico.

La liberación de las moléculas de agua durante este proceso de inclusión molecular ocasiona un incremento en la entropía, el cual facilita la formación del complejo [12].

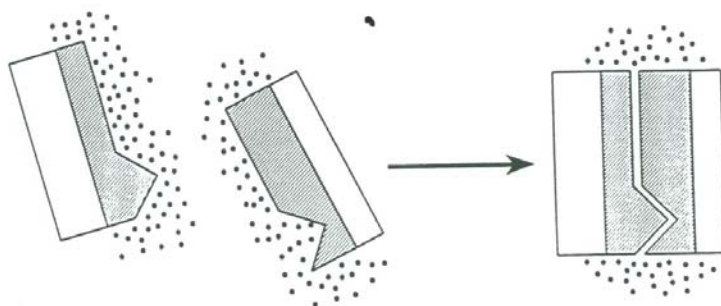


Figura 2.7 Representación esquemática del desplazamiento de las moléculas de agua (área punteada) de la superficie hidrofóbica (área rayada).

(6) *Interacciones  $\pi$ - $\pi$* . Son interacciones de tipo no covalente que ocurren entre los sistemas  $\pi$ -deslocalizados, incluyendo las interacciones entre moléculas aromáticas. Estas interacciones representan una clase importante de fuerza intermolecular en química, biología y ciencias de materiales, ya que son las responsables de controlar una serie de fenómenos de auto ensamblaje y de reconocimiento molecular, tales como: el empaquetamiento de las moléculas aromáticas en el estado cristalino, las interacciones de entre los ácidos nucleicos, las cuales determinan la estructura de doble hélice y las propiedades del DNA, la estructura tridimensional de las proteínas, el reconocimiento molecular de fármacos por receptores biológicos o de huéspedes por receptores artificiales, solo por mencionar algunos. Se han identificado dos importantes geometrías para la interacciones  $\pi$ - $\pi$  en sistemas aromáticos: cara a cara y borde a cara (Figura 2.8) [38].

Las cargas negativas permanentes de las nubes de electrones  $\pi$  pueden conducir a repulsión en complejos cara a cara, a menos que las unidades aromáticas se encuentren desplazadas de tal manera que los correspondientes átomos de hidrógeno aromáticos (carga parcial positiva) pueden ejercer una fuerza atractiva hacia el sistema  $\pi$  (interacción C-H - electrones  $\pi$ ). La alta polarizabilidad de la nube  $\pi$  también puede incrementar las fuerzas dispersivas en orientaciones menos desplazadas. Cálculos de dinámica molecular (MD) y cálculos de orbitales moleculares (MO) a nivel *ab initio* para dímeros de benceno, indican una predominancia de complejos borde a cara sobre los arreglos de apilamiento cara a cara por  $3 \text{ kJ mol}^{-1}$  en fase gas y  $6 \text{ kJ mol}^{-1}$  en agua. Los datos experimentales de constantes de asociación en benceno varían considerablemente, pero muestran en agua valores alrededor de  $1 \text{ M}^{-1}$ .

Las energías libres de asociación  $\Delta G$  en complejos supramoleculares de receptores que contienen unidades aromáticas muestran un incremento sistemático por cada fracción aromática adicional interactuando con huéspedes que también contienen unidades aromáticas. Este efecto es observado en cloroformo, donde las

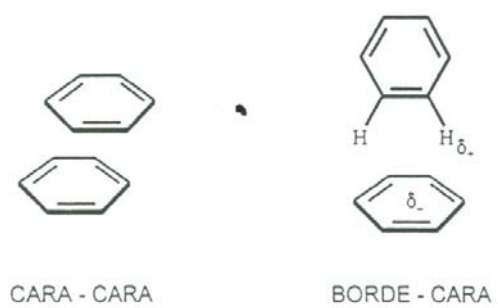


Figura 2.8 Interacciones  $\pi$ - $\pi$  entre anillos aromáticos.

Fuente: [18]

fuerzas solvofóbicas pueden ser disminuidas y donde la polarizabilidad del solvente también es mucho mayor que en agua.

La intercalación en DNA y RNA es el fenómeno de apilamiento biológicamente más importante. Estudios experimentales con derivados de DNA modificado han mostrado que la formación de la doble hélice se debe tanto a la interacción  $\pi - \pi$  de las nucleobases como a los enlaces de hidrógeno [39].

Interacciones entre sistemas aromáticos ocurren en muchos complejos con ciclofanos y en la mayoría de los casos se observa un incremento de la afinidad de enlace con el incremento del tamaño de las superficies  $\pi$  [39].

(7) *Interacciones catión - electrones  $\pi$  e Interacciones Relacionadas.* Las fuerzas entre cationes y grupos funcionales eléctricamente neutros, tales como electrones  $\pi$  y pares de electrones libres, juegan un papel importante en complejos supramoleculares sintéticos y biológicos. Estas fuerzas son la base de muchos ionóforos de tipo éter corona. Se han medido las afinidades ( $\Delta G$ ) entre cationes sencillos y dichos aceptores en fase gas y se ha demostrado que, en ausencia de solventes que compitan por los sitios de enlace, las interacciones de cationes pequeños con sistemas  $\pi$  pueden ser incluso más fuertes que las interacciones con el agua. Los valores negativos de  $\Delta G$  aumentan con el incremento del efecto donador de electrones de la base neutra (tipo Lewis) y esto representa un factor importante para el diseño de receptores.

Por otra parte, generalmente los enlaces C-H tienen un pequeño momento dipolar (alrededor de 0.4 Debye para sistemas alifáticos) con el átomo de hidrógeno cargado positivamente, por lo que éste puede ejecutar una fuerza atractiva con cualquier fragmento molecular que contenga una carga parcial negativa o una nube electrónica polarizable. Este tipo de atracción se denomina *Interacción C-H-electrones  $\pi$* . Aunque en muchos casos las interacciones C-H- $\pi$  son mucho más pequeñas que otras fuerzas no covalentes son fundamentales para la estabilización del arreglo cara- cara de superficies aromáticas [39].



## 2.7 Determinación de las Constantes de Formación de los Complejos Mediante Titulación Espectroscópica por RMN $^1\text{H}$ .

La espectroscopia de RMN  $^1\text{H}$  es una de las principales herramientas, tanto para la medición de las constantes de formación de los complejos, como para el análisis de la relación geométrica que existe entre las moléculas constituyentes de los mismos, lo cual es posible mediante la observación de los cambios de desplazamiento que ocurren con la complejación [40].

En términos generales, las señales de al menos un sitio de la molécula huésped (y con frecuencia también del receptor) en forma de complejo deben mostrar desplazamientos químicos ( $\delta$ ) significativamente diferentes de los  $\delta$  mostrados en su forma libre. Esto es una regla y se debe a las distancias cortas que existen entre los dos componentes (receptor y huésped) en el complejo molecular. El huésped es afectado por la corriente de las unidades aromáticas o por efectos de campo de centros iónicos del receptor. Estos efectos se incrementan tan rápido como la distancia disminuye, ocasionando que los protones muestren diferentes desplazamientos químicos dependiendo de su orientación. Estimaciones y comparaciones con cálculos teóricos para diferentes orientaciones del huésped dentro de la cavidad del ligando, frecuentemente conducen a evidencias precisas para la geometría del complejo. Esto demuestra que la formación del complejo ocurre con una geometría particular y no al azar [4, 12, 41].

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:

$$K_f = \frac{[HG]}{[G][H]} \quad (2.4)$$

Esta ecuación se puede reformular, expresando las concentraciones del receptor y del sustrato en el equilibrio ( $[H]$  y  $[G]$  de la ecuación (2.4)) en función de las concentraciones iniciales ( $[H]_0$  y  $[G]_0$ ) de ambos:

$$K_f = \frac{[HG]}{([G]_0 - [HG])} \frac{([H]_0 - [HG])}{[HG]} \quad (2.5)$$

Si la velocidad de intercambio entre las formas libre y complejada del ligando es lo suficientemente lenta en la escala del tiempo del fenómeno de resonancia magnética, se observaran diferentes señales ( $\delta_H$  y  $\delta_{HG}$ ) para cada una de las dos formas del receptor[12, 41]. 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 en el complejo:

$$I_{HG}/I_H + I_H = n_{HG}$$

y como:

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

al sustituir esta expresión en la ecuación (2.5) podemos obtener:

$$K_f = \frac{(n_{HG} [H]_0)}{(1 - n_{HG})} \left( \frac{[G]_0}{[H]_0} - n_{HG} \right) \quad (2.6)$$

donde los términos de la ecuación (2.6) se obtienen experimentalmente, por lo que de esta manera se puede obtener el valor de la constante de formación del complejo  $K_f$ .

Sin embargo, si contrario a lo anterior, la velocidad de intercambio entre la forma libre y complejada es muy rápida, se presenta el fenómeno conocido como

coalescencia, observándose por lo tanto una sola señal, a un desplazamiento químico promedio de las poblaciones de ambas formas [12, 41]:

$$\bar{\delta} = n_H \bar{\delta}_H + n_{HG} \bar{\delta}_{HG} \quad (2.7)$$

donde  $n$  representa la fracción molar.

En esta condición, la diferencia de desplazamiento ( $\Delta\bar{\delta}_i$ ) de la señal del protón del receptor con referencia a la posición en ausencia del sustrato, es proporcional al porcentaje del receptor que se encuentra en forma de complejo. En esta situación, la constante de formación del complejo se puede determinar utilizando la siguiente relación, la cual se obtiene a partir del manejo adecuado de la relación (2.7)

$$\Delta\bar{\delta}_i = \Delta\bar{\delta}_{\max} ([HG]/[H]_0) \quad (2.8)$$

donde  $\Delta\bar{\delta}_{\max}$  corresponde al máximo desplazamiento del protón del receptor utilizado para monitorear la titulación espectroscópica, esto es, cuando la totalidad del receptor se encuentra en forma de complejo, lo cual sucede a concentraciones lo suficientemente altas de sustrato  $[G]_0/[H]_0 = \infty$ .

El término  $[HG]$  en la ecuación (2.5) puede sustituirse ahora por las diferencias en desplazamiento químico obtenidas en la titulación espectroscópica, despejando  $[HG]$  de la ecuación (2.8):

$$[HG] = (\Delta\bar{\delta}_i/\Delta\bar{\delta}_{\max})([H]_0)$$

El procedimiento anterior conduce a obtener la siguiente relación:

$$K_f = [(\Delta\bar{\delta}_i/\Delta\bar{\delta}_{\max})([H]_0)]/([(G]_{0,i} - (\Delta\bar{\delta}_i/\Delta\bar{\delta}_{\max})([H]_0))([H]_0 - (\Delta\bar{\delta}_i/\Delta\bar{\delta}_{\max})([H]_0))] \quad (2.9)$$

El término  $[G]_0$  de la ecuación (2.5) es sustituido por  $[G]_{0,i}$  en la ecuación (2.9) para indicar que la concentración del sustrato es diferente en cada solución en la serie de la titulación.

El arreglo de la ecuación (2.9) conduce a la ecuación linearizada (2.10), la cual es una de las formas de expresar la ecuación de Lang [42].

$$[G]_{0,i}/\Delta\delta_i = \{[G]_{0,i} + [H]_0 - (\Delta\delta_i/\Delta\delta_{\max})([H]_0)\} / \Delta\delta_{\max} + (1/K_f) (1/\Delta\delta_{\max}) \quad (2.10)$$

De acuerdo a la ecuación (2.10) 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  $1/\Delta\delta_{\max}$  cuya intersección está dada por  $1/(K_f \Delta\delta_{\max})$ . Conociendo ambos parámetros, es posible calcular la constante de formación de la reacción de complejación ( $K_f$ ).

## 2.8 Reconocimiento Molecular de Neurotransmisores.

El interés de este trabajo por el estudio de reconocimiento molecular de los ciclofanos **1**, **2** y **3** hacia las aminas aromáticas de la Figura 2.9, principalmente hacia dopamina, se debe a que esta es el neurotransmisor de la familia de las catecolaminas más importante del sistema nervioso central de los mamíferos y participa en la regulación de diversas funciones como la conducta motora, la emotividad y la afectividad, así como en la comunicación neuroendócrina.

Los efectos funcionales de la dopamina se ejercen a través de la activación de cinco subtipos de receptores y existen diversas funciones cerebrales en las que la dopamina tiene una importante función reguladora. Esta función se ve ejemplificada de manera significativa por algunos procesos patológicos relacionados con alteraciones en la transmisión dopaminérgica como la enfermedad de Parkinson y la esquizofrenia, así como la adicción a drogas (anfetaminas y cocaína por ejemplo) [43, 44]. Aunque una revisión de estos aspectos excede los objetivos del presente

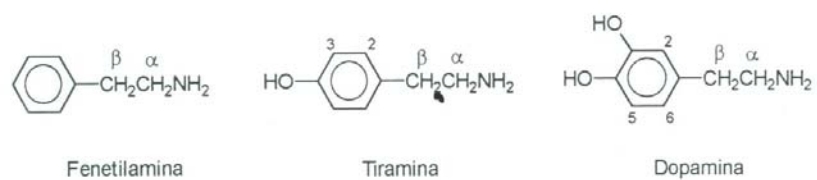


Figura 2.9. Aminas aromáticas utilizadas como sustratos en los estudios de reconocimiento molecular.

trabajo, es conveniente describir brevemente al menos una de las alteraciones más frecuentes.

La enfermedad de Parkinson es originada por una disminución importante en el contenido de dopamina, ocasionando los trastornos de la postura y el movimiento característico de esta enfermedad [44], la cual es tratada principalmente con un precursor de dopamina (L-DOPA). Esto se debe a que L-DOPA, a diferencia de dopamina, es capaz de atravesar la barrera hematoencefálica y de esta manera ser capturada por las neuronas dopaminérgicas, las cuales la convierten a dopamina. En este caso, sería de gran interés farmacológico contar con un receptor sintético de dopamina que pudiera transportar directamente la molécula de dopamina a través de la barrera hematoencefálica.

Como se revisó anteriormente, el diseño de receptores artificiales capaces de enlazar selectivamente sustratos de interés biológico, es de gran importancia para el estudio de los aspectos aún no entendidos de los mecanismos de reconocimiento molecular, y de los diferentes tipos de receptores celulares, lo cual permitirá no sólo avanzar en la comprensión de dichos mecanismos, sino también en el diseño de nuevas estrategias farmacológicas que incidan en la terapéutica de los procesos patológicos.