

UNIVERSIDAD DE SONORA

DIVISIÓN DE INGENIERÍA

DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN EN POLÍMEROS Y MATERIALES

Estudio de Complejos de Receptores Artificiales Tipo Ciclofano
con Dopamina y Análogos en Medio Acuoso



TESIS

Que para Obtener el Grado de:

MAESTRÍA EN POLÍMEROS Y MATERIALES

Presenta:

Claudia Isabel Virués Colorado



EL SABER DE MIS HIJOS
HARA MI GRANDEZA

D. I. P. M.

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.....	iv
LISTA DE TABLAS.....	vii
OBJETIVOS.....	viii
RESUMEN.....	ix
1. INTRODUCCION.....	1
2. ANTECEDENTES.....	5
2.1 Química Receptor – Huésped.....	5
2.2 Principales Compuestos Macrocíclicos.....	7
2.3 Macrociclos Tipo Ciclofano.....	10
2.4 Métodos de Síntesis de Compuestos Macrocíclicos.....	12
2.5 Estudios de Reconocimiento Molecular de Receptores Artificiales	15
2.6 Interacciones Intermoleculares.....	18
2.7 Determinación de las Constantes de Formación de los Complejos mediante Titulación Espectroscópica por RMN ¹ H.....	29
2.8 Reconocimiento Molecular de Neurotransmisores.....	32
3. EXPERIMENTAL.....	35
3.1 Materiales.....	35
3.2 Síntesis de Ciclofanos.....	35
3.3 Caracterización.....	38
3.4 Complejación.....	40
4. RESULTADOS.....	44
4.1 Determinación de las Constantes de Formación de los Complejos de los Ciclofanos 1, 2 y 3	44
4.2 Estudios de Reconocimiento Molecular.....	55
4.3 Geometría de la Interacción Receptor – Huésped.....	57

5. CONCLUSIONES.....	63
6. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	64

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
1.1 Receptores macrocíclicos tipo ciclofano estudiados en este trabajo	3
2.1 Complementariedad en forma, tamaño y grupos funcionales entre el receptor y el huésped.....	6
2.2 Estructuras de compuestos macrocíclicos comúnmente utilizados para el reconocimiento molecular.....	8
2.3 Estructuras representativas de receptores macrocíclicos tipo ciclofano.....	11
2.4 Esquematzación del principio de preorganización.....	17
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 bipolar 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 cada hidrógeno produce dos momentos dipolares, μ_1 y μ_2 , dirigidos a lo largo de los enlaces H–O. Su suma vectorial (μ) representa el momento bipolar de la molécula.....	21
2.6 Enlace de hidrógeno. La figura muestra un enlace de hidrógeno existente entre los grupos –O–H y –C=O. Aunque el enlace de hidrógeno es entre el H y el aceptor, la longitud de dicho enlace se define como la distancia entre el donador y el aceptor.....	23
2.7 Representación esquemática del desplazamiento de las moléculas de agua (área punteada) de la superficie hidrofóbica (área rayada).	25
2.8 Interacciones π - π entre anillos aromáticos.....	27
2.9 Aminas aromáticas utilizadas como sustratos en los estudios de reconocimiento molecular	33
3.1 Aparato de reacción para la síntesis de los ciclofanos 1 y 2	37
3.2 Espectro de RMN ^1H del ciclofano 1 (T = 30 C; pD = 8.1; 400 MHz; DSS).....	39
3.3 Espectro de RMN ^1H del ciclofano 2 (T = 30 C; pD = 8.04; 400 MHz; DSS).....	41

3.4	Espectro de RMN ^1H del ciclofano 3 ($T = 30\text{ }^\circ\text{C}$; $\text{pD} = 8.02$; 400 MHz ; DSS).....	42
4.1	(a) Desplazamientos químicos (δ) en RMN ^1H con respecto al pD observados para los ciclofanos 1 (\circ) y 2 (\times). (b) Ciclofano 3	45
4.2	Desplazamientos de las señales en RMN ^1H , Δ (ppm) = $(\delta - \delta_0)$, de los protones aromáticos de los ciclofanos 1 y 3 , para $[\text{G}]_t$ de $0 - 50 \times 10^{-3}\text{ M}$, con referencia a los desplazamientos químicos de las señales correspondientes (δ_0) a $[\text{G}]_t = 0$. La concentración del receptor $[\text{H}]_t$ se mantuvo constante a $5 \times 10^{-3}\text{ M}$; temperatura $30\text{ }^\circ\text{C}$; $\text{pD} = 8$. Los sustratos son fenetilamina (fen), tiramina (tir) y dopamina (dp). Las líneas sólidas se calcularon mediante el uso de la ecuación (2.10) utilizando las constantes de formación enlistadas en la tabla 4.1.....	49
4.3	Desplazamientos de las señales en RMN ^1H , Δ (ppm) = $(\delta - \delta_0)$, de los protones aromáticos y los grupos CH_3 del ciclofano 2 , para $[\text{G}]_t$ de $0 - 50 \times 10^{-3}\text{ M}$, con referencia a los desplazamientos químicos de las señales correspondientes (δ_0) a $[\text{G}]_t = 0$. La concentración del receptor $[\text{H}]_t$ se mantuvo constante a $5 \times 10^{-3}\text{ M}$; temperatura $30\text{ }^\circ\text{C}$; $\text{pD} = 8$. Los sustratos son fenetilamina (fen), tiramina (tir) y dopamina (dp). Las señales son (\circ) señal de protones aromáticos, y (\square) señal de metilos. Las líneas sólidas se se calcularon mediante el uso de la ecuación (2.10) utilizando las constantes de formación enlistadas en la tabla 4.1.....	50
4.4	Espectros de RMN ^1H en D_2O , DSS como referencia, $\text{pD} = 8 \pm 0.1$, $T = 30\text{ }^\circ\text{C}$, de: (a) Ciclofano 1 a concentración constante $5 \times 10^{-3}\text{ M}$, con diferentes concentraciones de dopamina. (b) Dopamina ($5 \times 10^{-3}\text{ M}$) en ausencia y en presencia de ciclofano 1	51
4.5	Espectros de RMN ^1H (señal de aromáticos) en D_2O , DSS como referencia, $\text{pD} = 8 \pm 0.1$, $T = 30\text{ }^\circ\text{C}$, de: (a) Ciclofano 2 a concentración constante con diferentes concentraciones de dopamina. (b) Dopamina ($5 \times 10^{-3}\text{ M}$) en ausencia y en presencia de ciclofano 2	52
4.6	Espectros de RMN ^1H en D_2O , DSS como referencia, $\text{pD} = 8 \pm 0.1$, $T = 30\text{ }^\circ\text{C}$, de: (a) Ciclofano 3 a concentración constante $5 \times 10^{-3}\text{ M}$, con diferentes concentraciones de dopamina. (b) Dopamina ($5 \times 10^{-3}\text{ M}$) en ausencia y en presencia de ciclofano 3	53

4.6	(a) Espectros de RMN ^1H obtenidos en la titulación espectrométrica de ciclofano 3 ($5 \times 10^{-3}\text{M}$) a diferentes concentraciones de dopamina ($\text{pD} = 8.0 \pm 0.1$, $T = 30\text{ }^\circ\text{C}$, DSS). (b) Espectros de RMN ^1H de dopamina ($5 \times 10^{-3}\text{M}$) en ausencia y en presencia del ciclofano 3 ($35 \times 10^{-3}\text{M}$).....	53
4.7	Gráfica de la forma linearizada de la ecuación de Lang para la formación del complejo 1:1 entre el ciclofano 1 y dopamina.....	54
4.8	Orientación promedio probable de los sustratos aromáticos en la cavidad del ciclofano 1	62
4.9	Orientación promedio probable de los sustratos aromáticos en la cavidad de los ciclofanos 2 y 3	62

LISTA DE TABLAS

Tabla		Página
4.1	Diferencias de desplazamientos químicos de RMN, Δ_H , de los protones prueba de los receptores (concentración total $[H]_t$ 5×10^{-3} M) en presencia de los huéspedes ($[G]_t$ 35×10^{-3} M), la diferencia de desplazamiento químico, Δ_{HC} , calculadas para las señales del ligando en los complejos ligando-huésped (pD = 8, T = 30 °C), y las constantes de formación K (M^{-1}) = $[HG]/[H][G]$	47
4.2	Diferencias de desplazamientos químicos de RMN, Δ_G , de los protones de los huéspedes (concentración total $[G]_t$ 5×10^{-3} M) en presencia los receptores 1 , 2 y 3 ($[H]_t$ 35×10^{-3} M), y las diferencias de desplazamiento químico, Δ_{GC} , calculadas para los complejos receptor-huésped (pD = 8, T = 30 °C).....	48

OBJETIVOS

General

- Estudiar las propiedades de complejación de los receptores artificiales tipo ciclofano 2,9,18,25-tetraoxo-4,7,20,23-tetrakis(carboximetil)-1,4,7,10,17,20,23,26-octaaza [10.10] paraciclofano (ciclofano **1**), su derivado 2,5-dimetil-*p*-fenil (ciclofano **2**) y su derivado tetrametil-*p*-fenil (ciclofano **3**), hacia las moléculas orgánicas de interés biológico dopamina, tiramina y fenetilamina.

Específicos

- Determinar las constantes de formación para los complejos receptor-huésped de los ciclofanos **1-3**, mediante titulación espectroscópica por RMN ¹H.
- Definir las propiedades de reconocimiento molecular de los receptores artificiales hacia dopamina, tiramina y fenetilamina.
- Establecer mediante espectroscopia de RMN ¹H la disposición geométrica entre las moléculas del receptor y del huésped en los complejos formados.

RESUMEN

Se estudiaron las propiedades de complejación en medio acuoso de los receptores artificiales tipo ciclofano 2,9,18,25-tetraoxo-4,7,20,23-tetrakis(carboximetil)-1,4,7,10,17,20,23,26-octaaza [10.10] paraciclofano (ciclofano **1**), su derivado 2,5-dimetil-*p*-fenil (ciclofano **2**) y su derivado tetrametil-*p*-fenil (ciclofano **3**). Estos tres ciclofanos se caracterizan por contener dos grupos fenilo, cuatro grupos amida y cuatro amino en su esqueleto anular; además de cuatro grupos carboximetil como brazos pendientes.

Los estudios de reconocimiento molecular en solución acuosa de los receptores con las aminas catiónicas 2-feniletilamina (fenetilamina), 2-(4-hidroxifenil)etilamina (tiramina) y 2-(3,4-hidroxifenil)etilamina (dopamina) se llevaron a cabo mediante titulación de RMN ^1H . Los valores de las constantes de formación de los complejos 1:1 receptor-huésped, $K = [\text{HG}]/[\text{H}][\text{G}]$, fueron los siguientes: 17-23 para los complejos del ciclofano **1** con las tres aminas aromáticas; 20 para el ciclofano **2**-dopamina, 12-14 para **2**-tiramina y 3-8 para **2**-fenetilamina; 16 para el ciclofano **3**-dopamina, 6 para **3**-tiramina y 4 para **3**-fenetilamina.

Las constantes de formación de los complejos de los ciclofanos metil sustituidos, ciclofanos **2** y **3**, muestran un claro incremento en el orden fenetilamina < tiramina < dopamina, mientras que las estabilidades de los complejos del ciclofano **1** son menos dependientes de la naturaleza de las moléculas huésped. De esta manera, la introducción de grupos metilo incrementa la selectividad hacia dopamina, aunque las estabilidades de los complejos decrecen por el efecto estérico generado por dichos grupos.

El arreglo de los anillos aromáticos de las moléculas del receptor y del huésped en el complejo, es cara a cara en una manera desfasada. En este tipo de arreglo la estabilidad de los complejos es proporcionada por la interacción entre los grupos fenilo del receptor y del huésped, así como por las interacciones electrostáticas entre el grupo $-\text{NH}_3^+$ del huésped y los grupos $-\text{CO}_2^-$ del receptor.

1. INTRODUCCIÓN

La química receptor-huésped se refiere al estudio de los complejos supramoleculares, en los cuales dos o más moléculas se mantienen unidas mediante fuerzas intermoleculares débiles (enlaces no covalentes). Los complejos enzima-sustrato y antígeno-anticuerpo, son ejemplos de complejos supramoleculares que se presentan en la naturaleza.

Generalmente se ha asumido que para llevar a cabo los procesos bioquímicos se requiere de estructuras del tamaño de las moléculas 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. Esto ha despertado el interés en el desarrollo de sistemas modelo, cuyos objetivos centrales son reproducir el comportamiento químico de los procesos naturales y tener una idea más clara acerca del funcionamiento de los sistemas existentes en la naturaleza.

Por lo anterior, se han desarrollado una serie de receptores artificiales, los cuales han sido muy útiles en estudios de reconocimiento molecular de varios tipos de sustratos, desde cationes inorgánicos hasta sustratos orgánicos de interés biológico. Dentro de los receptores artificiales sobresalen los compuestos macrocíclicos, especialmente aquellos que contienen cavidades estables y bien definidas, tales como las ciclodextrinas, éteres corona, macrocíclicos poliazas y ciclofanos, entre otros.

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 de reconocimiento molecular [1-10]. De especial interés para nuestro grupo es la síntesis de receptores artificiales tipo ciclofano, los cuales sean capaces de enlazar selectivamente en medio acuoso moléculas orgánicas con actividad biológica; en particular, uno de nuestros principales objetivos como molécula huésped es la

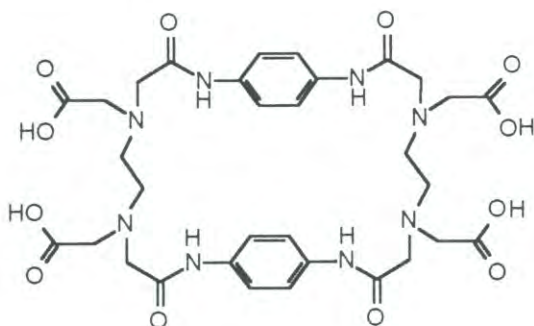
dopamina, la cual es un importante neurotransmisor que pertenece a la familia de las catecolaminas.

En un trabajo previo realizado por Inoue y colaboradores, se reportó que dopamina y tiramina fueron reconocidas selectivamente por ciclofanos que involucran cuatro grupos fenilo como parte integral de su cavidad (derivados con dos grupos difenilmetano o difenil éter) y cuatro grupos carboxilato como brazos pendientes [11]. En dicho estudio se confirmó que los efectos combinados de los brazos $-\text{CO}_2^-$ de los ciclofanos y la cavidad aromática conducen a un reconocimiento molecular selectivo hacia las aminas aromáticas. Sin embargo las estructuras de los complejos receptor-huésped resultantes aún no han sido totalmente elucidadas.

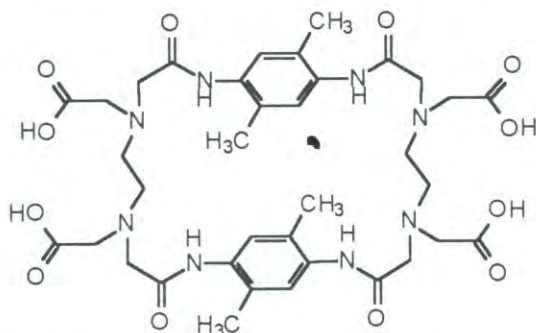
Desde esta perspectiva, es conveniente utilizar receptores de estructura mas sencilla (ciclofanos **1–3**, Figura 1.1), los cuales poseen los mismos tipos de grupos funcionales que los ciclofanos de referencia, pero su cavidad esta compuesta solo por dos grupos fenilo. El ciclofano **1** posee dos grupos *p*-fenilo, mientras que los ciclofanos **2** y **3** son derivados dimetil-*p*-fenilo y tetrametil-*p*-fenilo, respectivamente. Con la simplificación de la estructura del macrociclo es de esperarse que se facilite la determinación de la relación geométrica entre las moléculas de receptor y de huésped en sus complejos; a pesar de que el tamaño de la cavidad es menor que la de los ciclofanos de referencia, aún es lo suficientemente grande para encapsular una molécula de amina huésped.

Por otra parte, la introducción de los grupos metilo en los ciclofanos **2** y **3** aumentan tanto la hidrofobicidad de la cavidad, como las restricciones estéricas en el esqueleto del macrociclo, lo cual permite estudiar dos factores importantes en la capacidad de los receptores para formar complejos de inclusión estables con sustratos orgánicos.

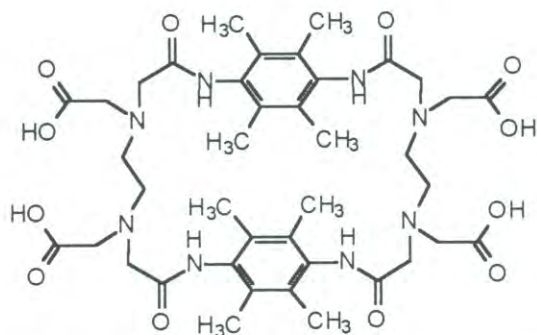
Considerando el marco de referencia anteriormente expuesto, en este trabajo se reportan los estudios de RMN ^1H de los complejos receptor-huésped de los ciclofanos **1**, **2** y **3** con dopamina, tiramina y fenetilamina en D_2O ; se determinaron las



Ciclofano 1: 2,9,18,25-tetraoxo-4,7,20,23-tetrakis(carboximetil)-1,4,7,10,17,20,23,26-octaaza[10.10]paraciclofano.



Ciclofano 2: 2,9,18,25-tetraoxo-4,7,20,23-tetrakis(carboximetil)-1,4,7,10,17,20,23,26-octaaza-2,5-dimetil[10.10]paraciclofano.



Ciclofano 3: 2,9,18,25-tetraoxo-4,7,20,23-tetrakis(carboximetil)-1,4,7,10,17,20,23,26-octaaza-2,3,5,6-tetrametil[10.10]paraciclofano.

Figura 1.1. Receptores macrocíclicos tipo ciclofano estudiados en este trabajo.

constantes de formación para los complejos receptor-huésped y se propone la relación geométrica que existe entre las moléculas constituyentes.

· 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].

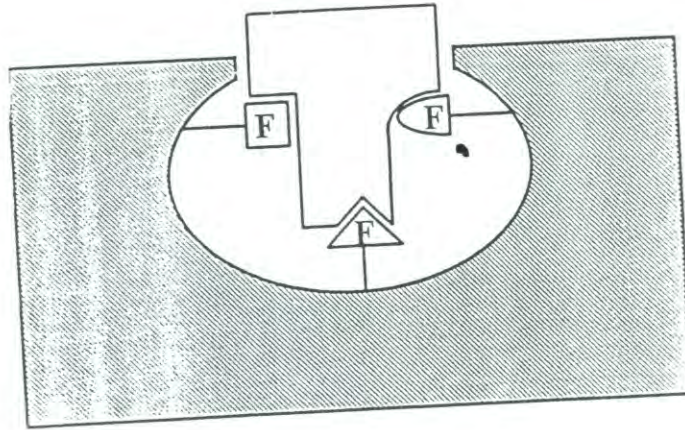


Figura 2.1 Complementariedad en forma, tamaño y grupos funcionales entre el receptor y el huésped.

Fuente: [14]

2.2 Principales Compuestos Macrocíclicos.

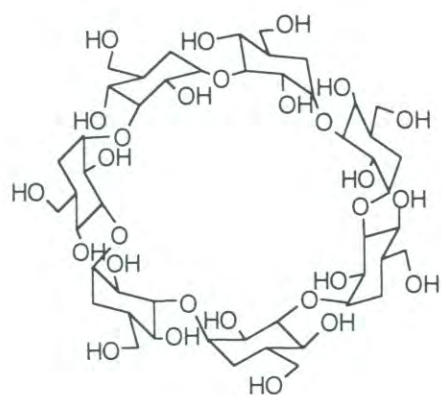
Los receptores macrocíclicos constituyen un amplio espectro de compuestos que comprenden sustancias artificiales y naturales. Desde 1960 han sido preparados un gran número de macrociclos sintéticos, aumentando cada vez más el interés en todos los aspectos de la química de estos sistemas.

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 α -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 α -, β - y γ -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].

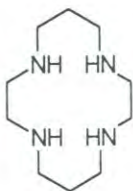
Otra familia de compuestos macrocíclicos artificiales son los polioxacicloalcanos, llamados comúnmente éteres corona, los cuales son polímeros cíclicos de etilenglicol, $(-OCH_2CH_2-)_n$ y se nombran de la forma x-corona-y, donde y es el número de oxígenos y x es el número total de átomos en el anillo. 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



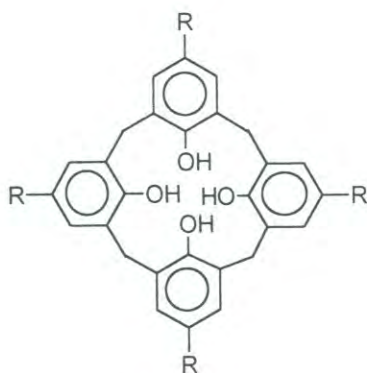
β -ciclodextrina



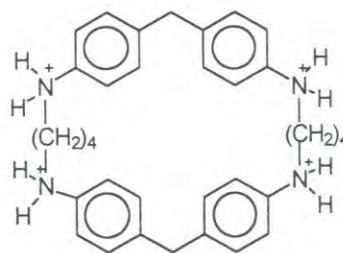
Éter Corona: 18-Corona-6(18C6)



Poliaza: Ciclam



Calix[4]areno



Ciclofano

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-tetraazacicotetradecano, 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.

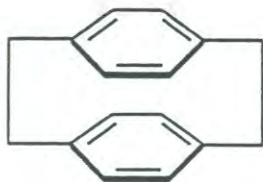
Los ciclofanos se definen como toda aquella molécula receptora que contenga al menos un anillo aromático, unido al menos por un puente alifático (Figura 2.3); son considerados como la clase central de los receptores artificiales, pues varios tipos de sustratos, desde moléculas inorgánicas, orgánicas, 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 π , ya que estos anillos pueden actuar como donadores o aceptores π . Además, proveen sitios adecuados para la introducción de grupos funcionales en sistemas catalíticamente activos (ciclofanos catalíticos).

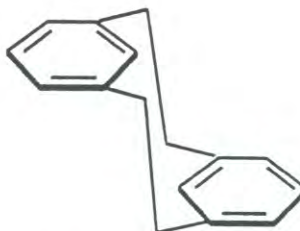
La solubilidad en agua de este tipo de receptores se logra mediante la introducción de un número adecuado de centros cargados, por ejemplo grupos carboxilato, los cuales son localizados ya sea en la periferia de la cavidad o a una distancia más remota de los sitios de enlace. En el caso de los tetraazaparciclofanos,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

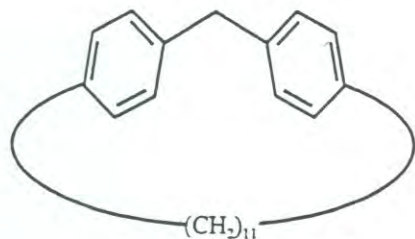
De manera general la capacidad de los ciclofanos de formar complejos de inclusión estables, se debe a que cumplen con casi todos los requisitos que deben



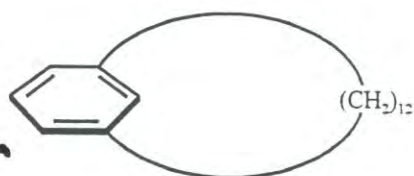
[2.2]Paraciclofano



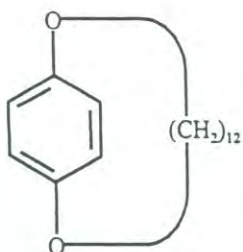
[2.2]Metaciclofano



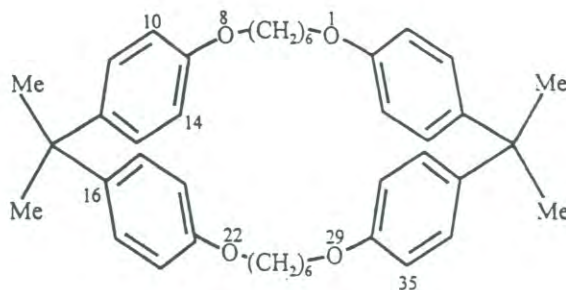
[11.1]Paraciclofano



[12]Metaciclofano



1,14-Dioxa[14]paraciclofano



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

Figura 2.3 Estructuras representativas de receptores macrocíclicos tipo ciclofano.

Fuente: [1]

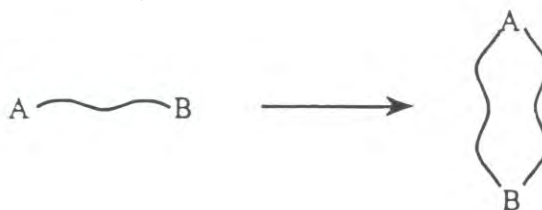
satisfacer los receptores artificiales para llevar a cabo el reconocimiento molecular [32]:

- 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 Macroclícos

La formación del anillo es la etapa clave en la síntesis de un compuesto macroclícos. 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 π - π , 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

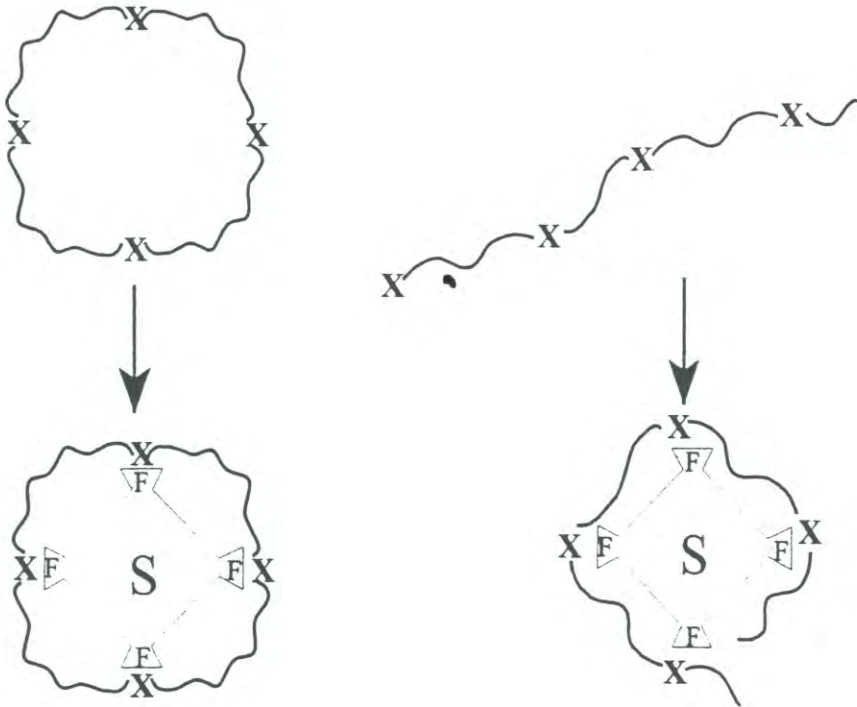


Figura 2.4 Esquemización del principio de preorganización.

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 (ϵ):

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

Toda sustancia que actúe como un medio dieléctrico tiene un valor característico de ϵ , 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 ϵ 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 (μ), 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,

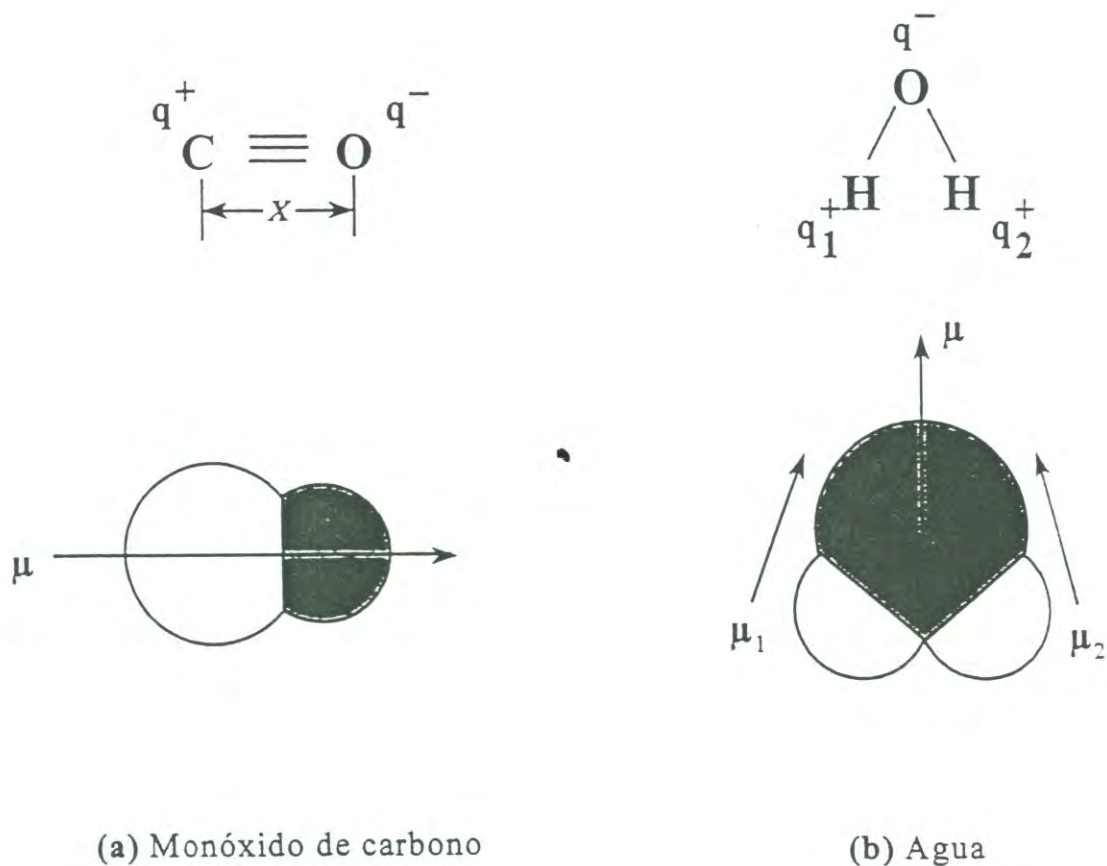


Figura 2.5 (a) Monóxido de carbono: la carga parcial negativa (q^-) sobre el oxígeno junto con la correspondiente carga parcial positiva (q^+) sobre el carbono produce un momento dipolar dirigido a lo largo del eje C–O. (b) Molécula de agua: la carga parcial negativa sobre el oxígeno junto con la carga parcial positiva sobre los hidrógenos produce dos momentos dipolares, μ_1 y μ_2 , dirigidos a lo largo de los enlaces H–O. La suma vectorial (μ) 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.

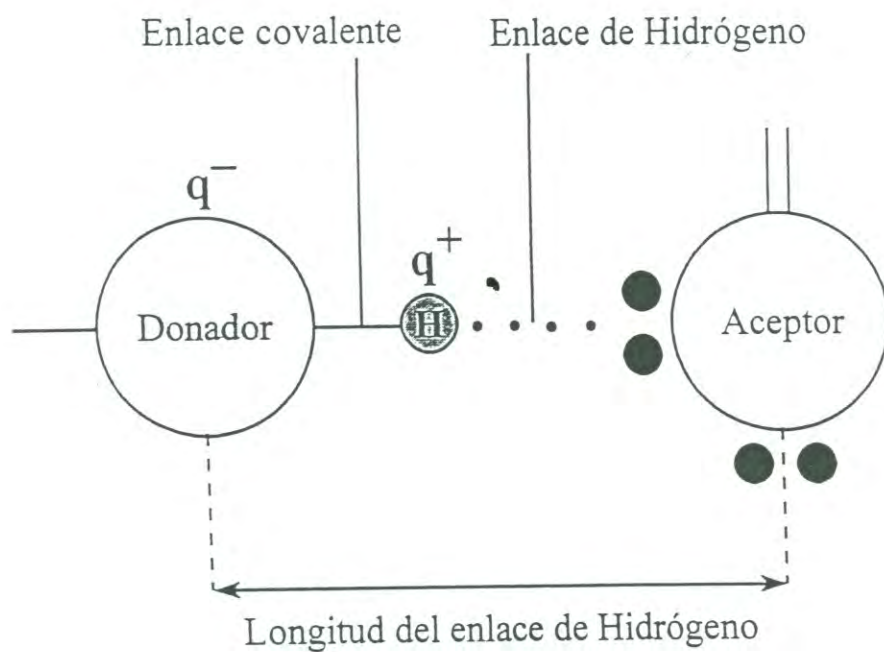


Figura 2.6 Enlace de hidrógeno. La figura muestra un puente de hidrógeno existente entre los grupos $-O-H$ y $-C=O$. Aunque el puente de hidrógeno es entre el H y el aceptor, la longitud de dicho puente se define como la distancia entre el donador y el aceptor.

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].

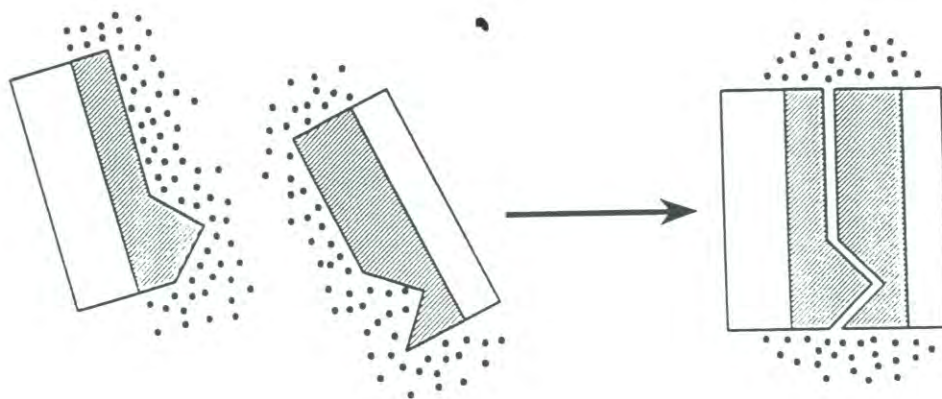


Figura 2.7 Representación esquemática del desplazamiento de las moléculas de agua (área punteada) de la superficie hidrofóbica (área rayada).

(6) *Interacciones π - π* . Son interacciones de tipo no covalente que ocurren entre los sistemas π -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 π - π en sistemas aromáticos: cara a cara y borde a cara (Figura 2.8) [38].

Las cargas negativas permanentes de las nubes de electrones π 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 π (interacción C-H - electrones π). La alta polarizabilidad de la nube π 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 kJ mol⁻¹ en fase gas y 6 kJ mol⁻¹ en agua. Los datos experimentales de constantes de asociación en benceno varían considerablemente, pero muestran en agua valores alrededor de 1 M⁻¹.

Las energías libres de asociación ΔG 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

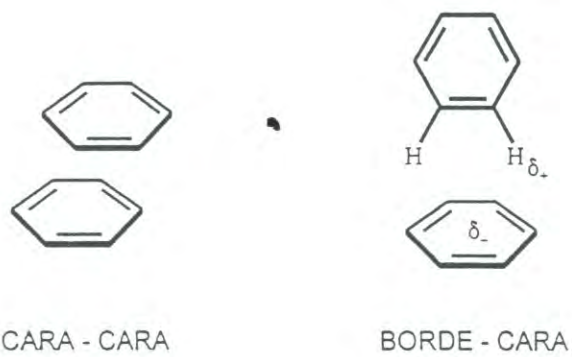


Figura 2.8 Interacciones π - π entre anillos aromáticos.

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 π [39].

(7) *Interacciones catión - electrones π e Interacciones Relacionadas.* Las fuerzas entre cationes y grupos funcionales eléctricamente neutros, tales como electrones π 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 (ΔG) 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 π pueden ser incluso más fuertes que las interacciones con el agua. Los valores negativos de ΔG 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 π* . Aunque en muchos casos las interacciones C-H- π 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 ^1H .

La espectroscopia de RMN ^1H 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 (δ) significativamente diferentes de los δ 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:

$$K_f = [HG]/[G][H] \quad (2.4)$$

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:

$$K_f = [HG]/([G]_0 - [HG]) ([H]_0 - [HG]) \quad (2.5)$$

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 (δ_H y δ_{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:

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

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]:

$$\delta = n_H \delta_H + n_{HG} \delta_{HG} \quad (2.7)$$

donde n representa la fracción molar.

En esta condición, la diferencia de desplazamiento ($\Delta\delta_i$) 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)

$$\Delta\delta_i = \Delta\delta_{\max} ([HG]/[H]_0) \quad (2.8)$$

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 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):

$$[HG] = (\Delta\delta_i/\Delta\delta_{\max})([H]_0)$$

El procedimiento anterior conduce a obtener la siguiente relación:

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

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 linealizada (2.10), la cual es una de las formas de expresar la ecuación de Lang [42].

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

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

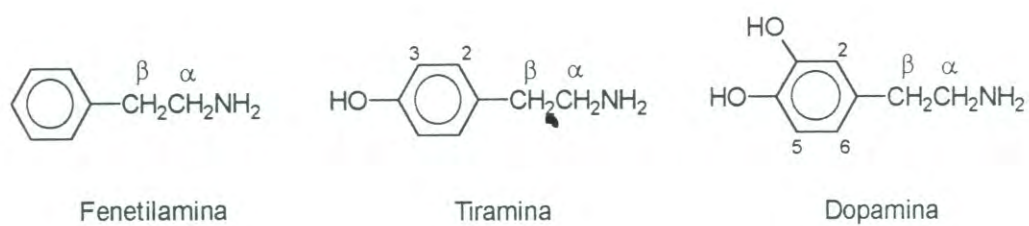


Figura 2.9. Aminas aromáticas utilizadas como sustratos en los estudios de reconocimiento molecular.

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.

3. EXPERIMENTAL

3.1 Materiales.

Para el caso del ciclofano **1**, se realizaron los estudios a partir del macrociclo proporcionado por Inoue y colaboradores [45].

Para la síntesis y purificación de los ciclofanos **2** y **3** se utilizaron los siguientes reactivos:

1. EDTA dianhídrido, 98 %, marca ALDRICH
2. N,N-Dimetilformamida (DMF), marca FISHER SCIENTIFIC
3. 2,5-dimetil-*p*-fenilendiamina, marca ALDRICH
4. 2,3,5,6-tetrametil-1,4-fenilendiamina, marca ALDRICH
5. EtOH, marca MERCK
6. Li₂CO₃, marca MALLINCKRODT
7. Sílica gel 60 (230-400 mesh), marca MERCK
8. EtOH/H₂O (8:2)

Para la formación de los complejos y su estudio espectroscópico mediante RMN ¹H, se utilizaron los siguientes reactivos:

1. Feniletilamina (fenetilamina), marca ALDRICH
2. 2-(4-hidroxifenil)etilamina (tiramina), marca SIGMA
3. 2-(3,4-hidroxifenil)etilamina (dopamina), marca SIGMA
4. Agua deuterada (D₂O), 99.9 % D, marca ALDRICH
5. Na₂CO₃, 99 %, marca ALDRICH
6. DCl, 20 %, marca ALDRICH

3.2 Síntesis de los Ciclofanos.

Los receptores macrocíclicos **2** y **3** fueron sintetizados de acuerdo con la metodología reportada por Inoue y colaboradores [47]. Para llevar a cabo las reacciones de síntesis se utilizó el sistema que se muestra en la Figura 3.1, el cual

consta de un matraz de 2 bocas (a), un embudo de adición (b), un sistema para flujo de nitrógeno (c), y un agitador magnético (d).

Para la síntesis del ciclofano **2**, en el matraz (a) se suspendieron 3.00 g (11.7 mmol) de EDTA dianhídrido en 300 mL de dimetilformamida (DMF), mientras que en el embudo (b) se colocó una solución que contenía 1.6 g (11.7 mmol) de 2,5-dimetil-*p*-fenilendiamina en 90 mL de DMF. Esta última solución fue agregada gota a gota al matraz de reacción durante dos horas, a una velocidad aproximada de una gota por cada 5 segundos, para conservar el principio de alta dilución. La reacción se llevó a cabo a temperatura ambiente, bajo atmósfera de nitrógeno, manteniéndose con agitación magnética durante 20 horas incluyendo el tiempo de goteo. El crudo de reacción se filtró en un filtro de vidrio poroso, con la finalidad de separar el remanente sólido (EDTA sin reaccionar y polímero formado durante la reacción). El solvente se eliminó en un evaporador rotatorio a presión reducida a una temperatura de 40 °C hasta obtener un líquido viscoso de color ámbar, al cual se adicionaron 40 mL de EtOH y se dejó en reposo durante toda la noche. Se obtuvo un precipitado color café claro, el cual se filtró y se seco a vacío a 80 °C durante tres horas. La purificación del ciclofano **2** se llevó a cabo mediante la formación de su sal de litio, para lo cual el producto crudo se suspendió en 40 mL de agua y se le agregó Li_2CO_3 poco a poco en relación molar 2:1 (litio/ligante); el proceso se llevó a cabo con agitación constante a temperatura de ~ 40 °C hasta la disolución total del sólido. La solución resultante (pH \approx 7.3) se concentró a la cuarta parte de su volumen inicial, posteriormente se llevó a cabo la purificación mediante cromatografía en columna, utilizando como fase estacionaria sílica gel 60 (230-400 mesh) y como fase móvil EtOH/H₂O (8:2). El rendimiento fue de 6 %.

El ciclofano **3** se sintetizó y purificó de acuerdo a procedimiento descrito para el ciclofano **2**, usando en este caso 2,3,5,6-tetrametil-1,4-fenilendiamina como diamina aromática, en lugar de 2,5-dimetil-*p*-fenilendiamina. Las cantidades utilizadas fueron: 3.00 g (11.7 mmol) de EDTA dianhídrido y 1.92 g (11.7 mmol) de 2,3,5,6-tetrametil-1,4-fenilendiamina. El rendimiento fue de 8 %.

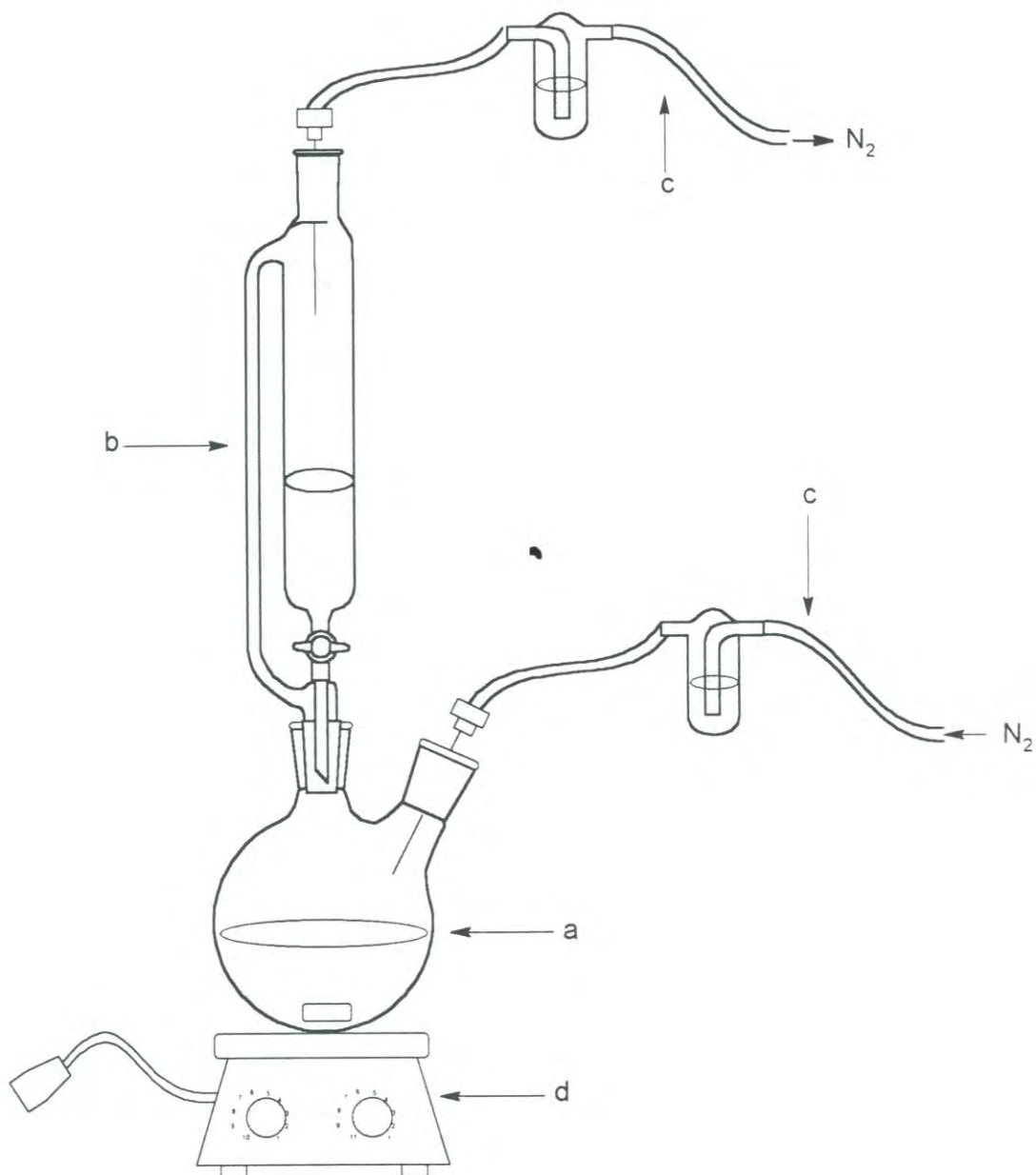


Figura 3.1. Aparato de reacción para la síntesis de los ciclofanos 1 y 2.

3.3 Caracterización

La formación de los receptores **2** y **3** fue confirmada por espectroscopia de RMN ^1H ; los resultados del estudio coinciden con los reportados previamente [47]. Para la obtención de los espectros de RMN de los receptores se utilizó un espectrómetro de resonancia magnética nuclear BRUKER 400. Las muestras de los receptores se disolvieron en agua deuterada mediante la adición de Na_2CO_3 y se utilizó como estándar de referencia 3-(trimetilsilil)-1-propanosulfonato de sodio (DSS).

Los valores de pH de las soluciones de los receptores fueron determinados en un medidor de pH corning 320 equipado con un electrodo marca Aldrich (referencia: de 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 $\text{pD} = \text{pH medido} + 0.4$ [46].

Los resultados obtenidos se muestran a continuación:

Ciclofano 1. La síntesis de ciclofano **1** no se llevó a cabo en este trabajo, sin embargo es pertinente incluir el espectro de RMN ^1H obtenido de la muestra proporcionada. Dicho espectro con sus respectivas asignaciones se muestra en la Figura 3.2.

El análisis espectroscópico de RMN ^1H mostró en 7.15 ppm un singulete que integra para 8 protones, el cual corresponde al grupo fenilo; en 3.62 y 3.35 ppm dos singuletes que integran para 8 protones cada uno, los cuales corresponden a los protones (c) y (a) de los grupos $-\text{CH}_2-$ que se encuentran unidos a los grupos electroattractores, amida y carboxilato, respectivamente. Finalmente, una señal en 3.03 ppm, que también integra para 8 protones, que corresponde a los protones (b) del carbono enlazado al nitrógeno de amina.

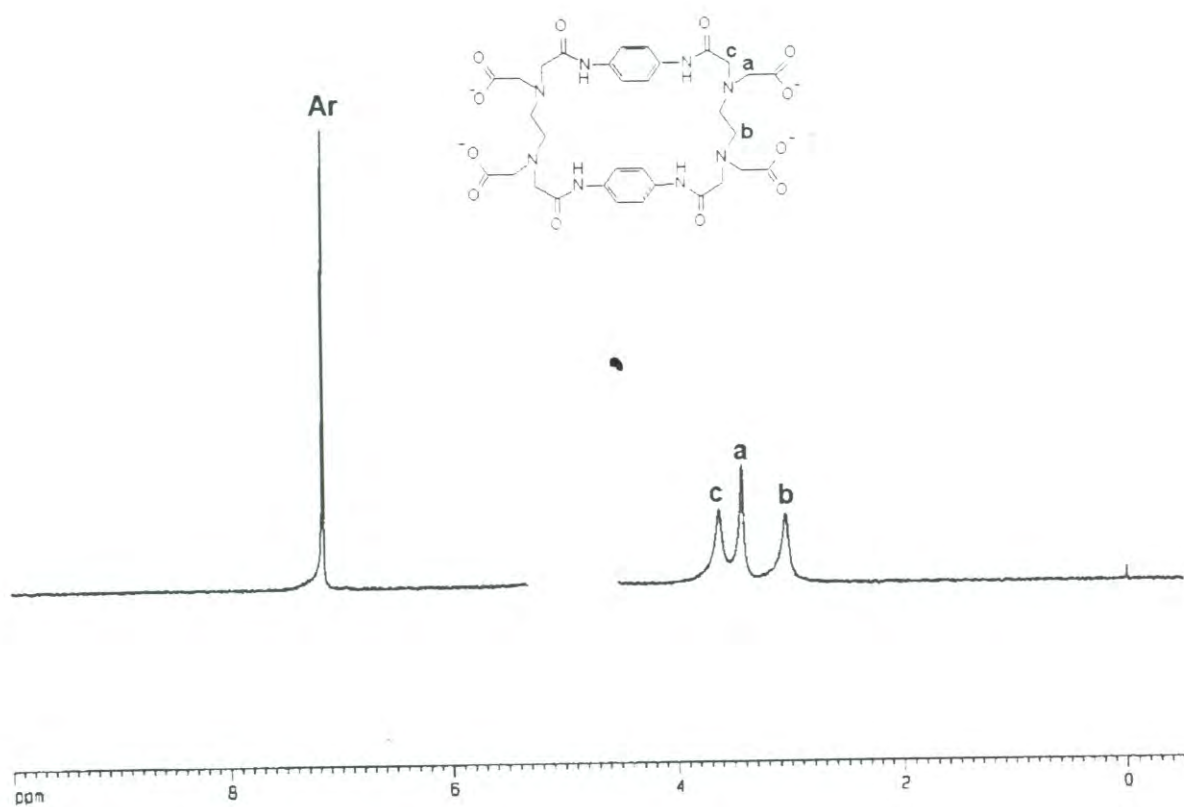


Figura 3.2. Espectro de RMN ^1H del ciclofano **1** ($T = 30\text{ }^\circ\text{C}$; $\text{pD} = 8.1$; 400 MHz; DSS)

Ciclofano 2. El espectro de RMN ^1H con sus respectivas asignaciones se encuentra en la Figura 3.3

Las señales son básicamente iguales a las del ciclofano **1** (excepto, por la presencia del pico correspondiente a los protones de los grupos metilo sustituyentes en los anillos aromáticos): 7.02 (s, 4H); 3.63 (s, 8H); 3.41 (s, 8H); 3.04 (s, 8H); 2.00 (s, 12H). La señal en 2.00 ppm se asignó a los protones de los grupos metilo unidos a los grupos aromáticos, que los desprotegen por el efecto de la corriente anular.

Ciclofano 3. El espectro de RMN ^1H con sus respectivas asignaciones se encuentra en la Figura 3.4

Las señales en el espectro de RMN ^1H son muy parecidas a las de los ciclofanos **1** y **2** (a excepción, de que en este caso desaparece la señal de los protones aromáticos, debido a que los anillos aromáticos presentes en la estructura del macrociclo ahora se encuentran totalmente sustituidos por grupos metilo): 3.47 (s, 8H); 3.37 (s, 8H); 2.99 (s, 8H), 1.89 (s, 24 H). La señal en 1.89 ppm, corresponde a los protones de los grupos metilo unidos a los anillos aromáticos.

Las pequeñas diferencias entre los ciclofanos **1**, **2** y **3** respecto a los desplazamientos químicos de la señales de los protones alifáticos (a), (b) y (c), se deben fundamentalmente a la diferencia entre los valores de pD a los cuales fueron obtenidos los espectros (8.1, 8.04 y 8.02 respectivamente).

3.4 Complejación.

Las titulaciones de RMN ^1H se llevaron a cabo a un pD de 8.0 ± 0.1 a una temperatura de 30 °C. Los valores de pH de las soluciones de las muestras fueron determinados en un medidor de pH corning 320 equipado con un electrodo marca Aldrich (con referencia de 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 $\text{pD} = \text{pH medido} + 0.4$ [46].

Los desplazamientos de las señales de RMN ^1H de los protones de la molécula de ciclofano en presencia de las moléculas de huésped fueron utilizados

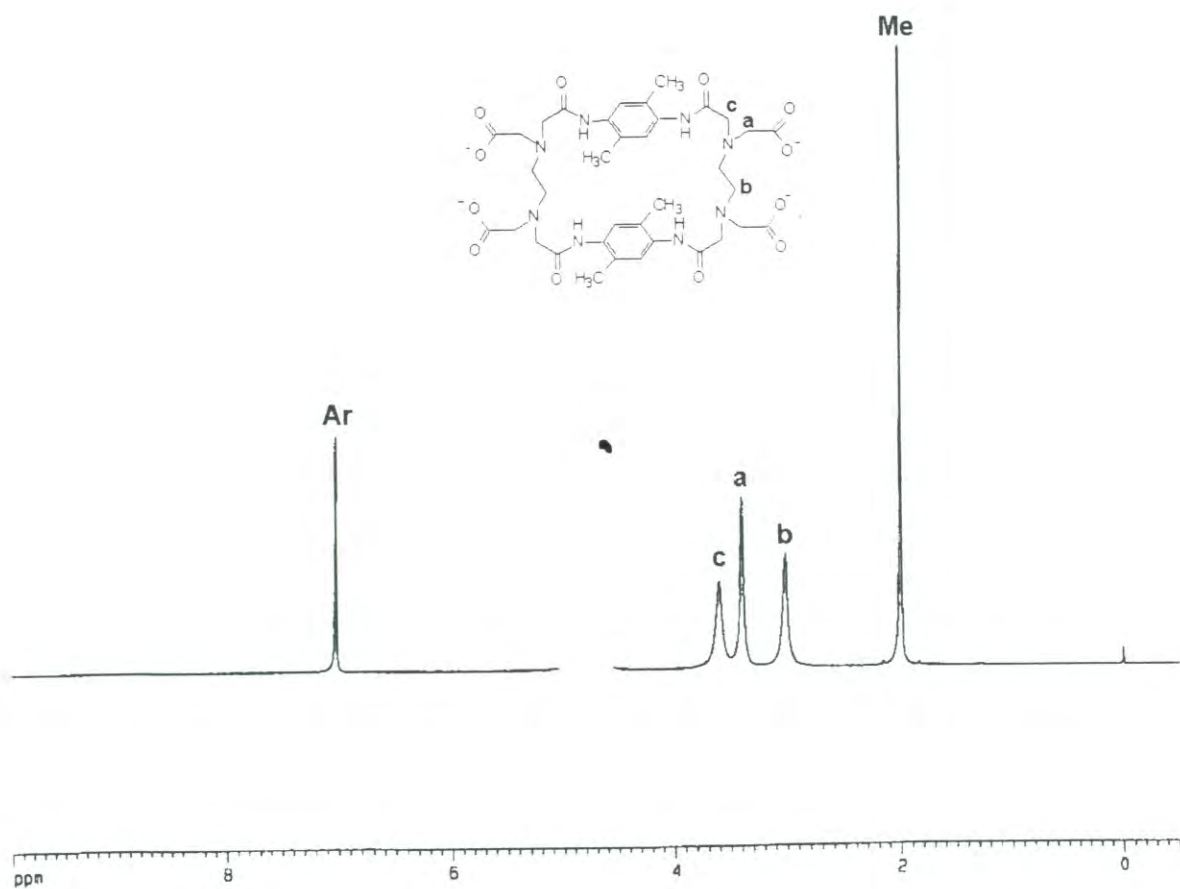


Figura 3.3. Espectro de RMN ^1H del ciclofano **2** ($T = 30\text{ }^\circ\text{C}$; $pD = 8.04$; 400 MHz; DSS)

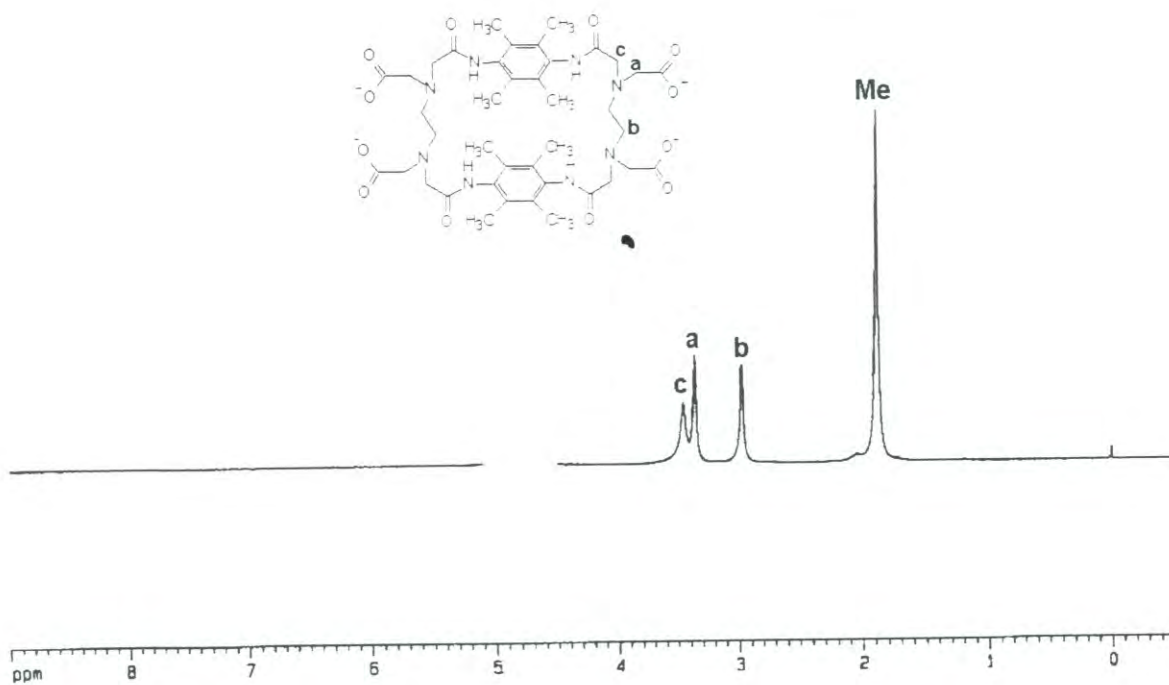


Figura 3.4. Espectro de RMN ^1H del ciclofano **3** (T = 30 °C; pD = 8.02; 400 MHz; DSS).

como evidencia de la formación de los complejos [40, 41, 49]. La concentración del receptor en estos experimentos fue de 5×10^{-3} M, mientras que las concentraciones de los sustratos variaron desde 5 hasta 50×10^{-3} M.

Las soluciones madre del receptor y los sustratos fueron preparadas disolviendo las cantidades adecuadas en agua deuterada (D_2O), y el pD de las soluciones se ajustó a 8 ± 0.1 adicionando la cantidad mínima necesaria de Na_2CO_3 , a fin de minimizar un posible efecto del electrolito sobre la reacción de complejación.

La dopamina se oxida gradualmente en presencia de aire cuando se encuentra en solución acuosa, por lo que las mediciones de RMN 1H se llevaron a cabo con soluciones recién preparadas. Las soluciones fueron estables a pD = 8.0 ± 0.1 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 1H .

4. RESULTADOS

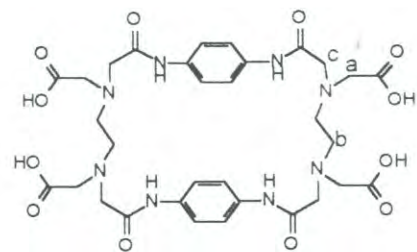
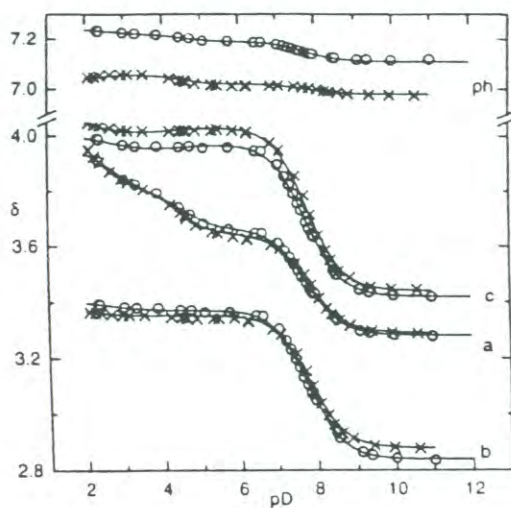
4.1 Determinación de las Constantes de Formación de los Complejos de los Ciclofanos **1**, **2**, y **3**.

Los estudios de complejación mediante RMN ^1H se realizaron a pD 8 debido a los siguientes argumentos: (1) la solubilidad de los receptores ciclofano **1-3** decrecen rápidamente a valores de pD < 8 ; (2) a pD ≤ 8 las aminas huésped se encuentran totalmente protonadas, es decir, en forma de cationes, lo cual favorece las interacciones electrostáticas con los receptores; (3) a valores de pD > 8 dopamina es inestable; (4) para posibles aplicaciones de interés bioquímico, es importante realizar los estudios de reconocimiento molecular a valores cercanos al pH fisiológico.

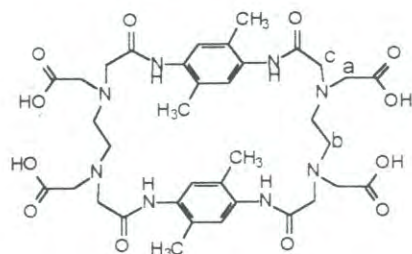
En la determinación de las constantes de formación de los complejos se utilizaron las señales de los protones aromáticos de los ciclofanos para medir las diferencias en desplazamiento químico cuando se añaden al receptor diferentes concentraciones de sustrato, ya que dichas señales muestran una dependencia del pD muy pequeña. Las señales de los protones alifáticos no son útiles par este fin, debido a que alrededor de pD 8 los ciclofanos sufren protonación de los nitrógenos amina, lo cual resulta en un gran desplazamiento de las señales de RMN de los protones alifáticos (Figura 4.1 [45]) y, en consecuencia, se originaría una alta incertidumbre en los valores de las constantes de formación. Para los ciclofanos metil-sustituidos, **2** y **3**, también se utilizaron en el estudio de complejación las señales de los protones de los grupos metilo unidos a los anillos aromáticos.

Los valores de pD de las soluciones se ajustaron a 8 ± 0.1 ; el error en el desplazamiento químico debido a la disparidad en el pD fue muy pequeño y se corrigió por el uso de las curvas de δ vs pD reportadas previamente para estos ciclofanos [45, 47].

Las señales de los protones aromáticos de los receptores tipo ciclofano sufrieron un desplazamiento a campo alto en presencia de las aminas aromáticas y las señales de los huéspedes también se desplazaron a campo alto en presencia de

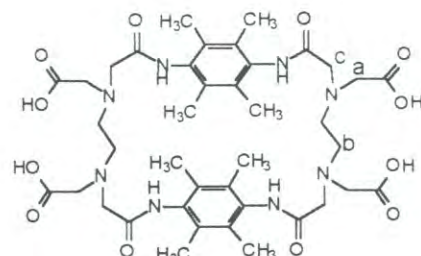
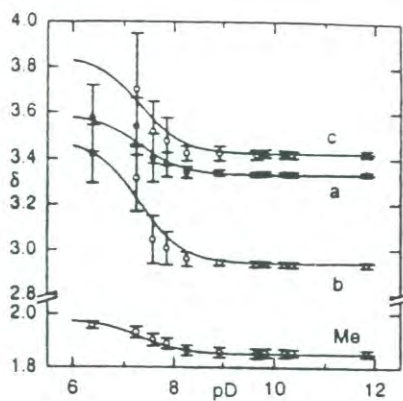


Ciclofano 1



Ciclofano 2

a)



Ciclofano 3

b)

Figura 4.1. (a) Desplazamientos químicos (δ) en RMN ^1H con respecto al pD observados para los ciclofanos 1 (\circ) y 2 (\times). (b) Ciclofano 3 [45].

los receptores (Tablas 4.1 y 4.2). Estos cambios en los desplazamientos químicos sugieren la formación de complejos receptor-huésped entre los ciclofanos **1-3** y las aminas aromáticas fenetilamina, tiramina y dopamina.

Las figuras 4.2 y 4.3 muestran las diferencias de desplazamiento químico Δ_H de las señales del receptor en función de la concentración del huésped; estos desplazamientos se determinaron tomando como referencia las señales correspondientes del receptor en ausencia de las aminas aromáticas. Las curvas de saturación observadas son una evidencia fuerte de la formación de complejos receptor-huésped de composición definida. Los espectros de RMN ^1H obtenidos en la titulación espectrométrica de los ciclofanos **1-3** con dopamina, se muestran como ejemplo en las figuras 4.4 - 4.6.

Cuando el receptor y el huésped se encuentran en equilibrio con su complejo 1:1, es posible calcular los valores de las constantes de formación de los complejos (K) y los desplazamientos máximos de las señales a partir de la ecuación de Lang [34]. La figura 4.7 presenta las gráficas de la forma linearizada de la ecuación de Lang para los datos obtenidos en la titulación de los ciclofanos **1-3** con dopamina; como se puede 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 para todas las combinaciones receptor-huésped comprobando la formación de complejos en una relación 1:1.

Los parámetros K y Δ_{HC} proporcionados en la tabla 4.1 se determinaron mediante repetición de cálculos de mínimos cuadrados, hasta que el ajuste lineal de la ecuación de Lang convergiera [11, 42].

Para el caso de fenetilamina, las señales de referencia de los receptores **2** y **3** muestran cambios muy pequeños en los valores de Δ_H y, consecuentemente, los parámetros determinados tienen un error relativo grande; de hecho, las constantes de formación para los complejos de ciclofano **2**, determinadas a partir de las dos señales de referencia, presentan una diferencia significativa (Tabla 4.1). Sin embargo, las gráficas de Lang muestran una relación lineal sin ninguna desviación sistemática, por lo que, a pesar de tener una desviación estándar relativamente

Tabla 4.1. Diferencias de desplazamientos químicos de RMN, Δ_H , de los protones prueba de los receptores (concentración total $[H]_t$ 5×10^{-3} M) en presencia de los huéspedes ($[G]_t$ 35×10^{-3} M), las diferencias de desplazamiento químico, Δ_{HC} , calculadas para las señales del receptor en los complejos receptor-huésped, y las constantes de formación K (M^{-1}) = $[HG]/[H][G]$.

receptor	protón	huésped	Δ_H^a	Δ_{HC}^b	K^c
1	arH	dopamina	-0.043	-0.099	23
		tiramina	-0.036	-0.090	20
		fenetilamina	-0.027	-0.074	17
2	arH	dopamina	-0.026	-0.064	20
		tiramina	-0.022	-0.077	12
		fenetilamina	-0.011	-0.050	8
	CH ₃	dopamina	-0.024	-0.062	20
		tiramina	-0.022	-0.067	14
		fenetilamina	-0.014	-0.154	3
3	CH ₃	dopamina	-0.017	-0.044	16
		tiramina	-0.016	-0.094	6
		fenetilamina	-0.010	-0.088	4

^a $\Delta_H = \delta_H([G]_t=35 \times 10^{-3}M) - \delta_H([G]_t=0)$, pD = 8.0 y $T = 30$ °C.

^b desplazamientos referenciados a δ_H para $[G]_t = 0$, o $\Delta_{HC} = \delta_H([G]_t=\infty) - \delta_H([G]_t=0)$.

^c Error estimado ± 2 .

Tabla 4.2. Diferencias de desplazamientos químicos de RMN, Δ_G , de los protones de los huéspedes (concentración total $[G]_t$ 5×10^{-3} M) en presencia de los receptores **1**, **2** y **3** ($[H]_t$ 35×10^{-3} M), y las diferencias de desplazamiento químico, Δ_{GC} , calculadas para los complejos receptor-huésped (pD = 8.0, $T = 30$ °C).

	Δ_G^a			Δ_{GC}^b		
	1	2	3	1	2	3
dopamina ^c						
ar 2	-0.059	-0.027	-0.015	-0.137	-0.068	-0.043
ar 5	-0.045	-0.031	-0.019	-0.104	-0.078	-0.054
ar 6	-0.067	-0.052	-0.027	-0.157	-0.131	-0.077
α -CH ₂	-0.059	-0.048	-0.031	-0.137	-0.119	-0.089
β -CH ₂	-0.064	-0.043	-0.022	-0.148	-0.107	-0.065
tiramina ^c						
ar 2	-- ^d	-0.034	-0.021	-- ^d	-0.111	-0.125
ar 3	-0.045	-0.024	-0.017	-0.113	-0.080	-0.098
α -CH ₂	-0.055	-0.041	-0.028	-0.138	-0.136	-0.167
β -CH ₂	-0.059	-0.034	-0.020	-0.147	-0.111	-0.118
fenetilamina ^e						
ar	-0.046	-0.016	-0.014	-0.127	-0.103	-0.112
α -CH ₂	-0.049	-0.028	-0.023	-0.136	-0.176	-0.190

^a $\Delta_G = \delta_G([H]_t=35 \times 10^{-3}M) - \delta_G([H]_t=0)$.

^b Desplazamientos referenciados a δ_G para $[H]_t = 0$, o $\Delta_{GC} = \delta_G([H]_t=\infty) - \delta_G([H]_t=0)$.

^c Ver Figura 2.9.

^d Traslape con señales del receptor.

^e Valor promedio de protones aromáticos; la señal de los protones β -CH₂ fue traslapada con señales del receptor.

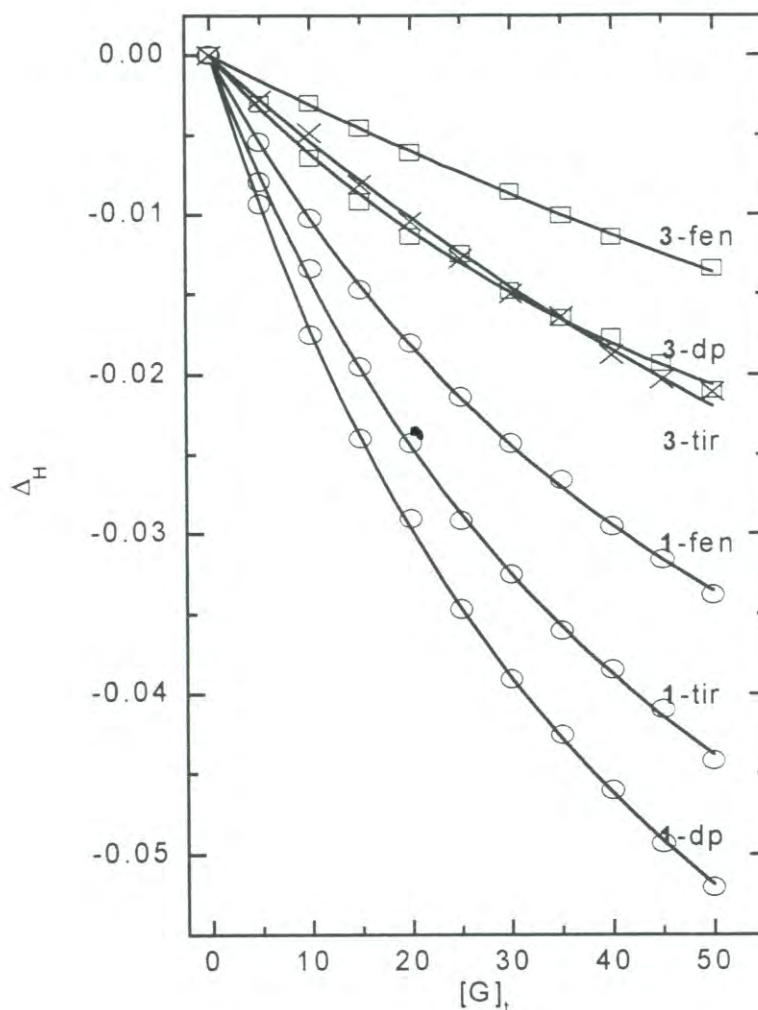


Figura 4.2. Desplazamientos de las señales en RMN ^1H , Δ_H (ppm) = $(\delta - \delta_0)$, de los protones aromáticos de los Ciclofanos 1 y 3, para $[G]_t$ de 0-50 $\times 10^{-3}$ M, con referencia a los desplazamientos químicos de las señales correspondientes (δ_0) a $[G]_t = 0$. La concentración de receptor $[H]_t$ se mantuvo constante 5 $\times 10^{-3}$ M; temperatura 30° C; pD = 8. Los sustratos son fenetilamina (fen), tiramina (tir) y dopamina (dp). Las líneas sólidas se calcularon mediante el uso de la ecuación (2.10) con las constantes de formación enlistadas en la tabla 4.1.

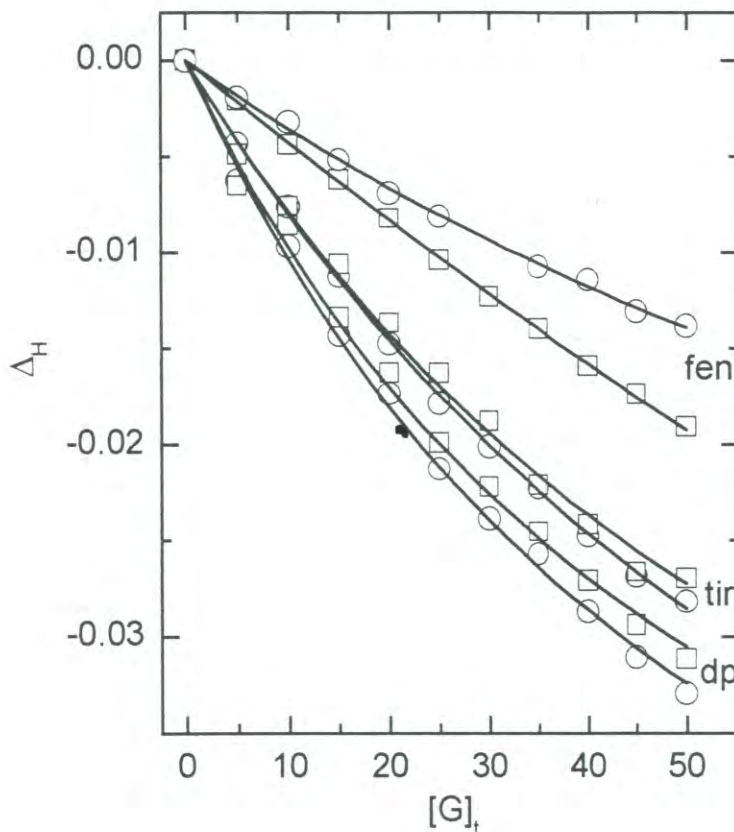


Figura 4.3. Desplazamientos de las señales en RMN ^1H , Δ_H (ppm) = $(\delta - \delta_0)$, de los protones aromáticos y de los grupos CH_3 de Ciclofano 2, para $[\text{G}]_i$ de 0-50 $\times 10^{-3}$ M, con referencia a los desplazamientos químicos de las señales correspondientes (δ_0) a $[\text{G}]_i = 0$. La concentración de receptor $[\text{H}]_i$ se mantuvo constante 5×10^{-3} M; temperatura 30°C ; $\text{pD} = 8$. Los sustratos son fenetilamina (fen), tiramina (tir) y dopamina (dp). Las señales son (○) señal de protones aromáticos, y (□) señal de los protones de los metilos. Las líneas sólidas se calcularon mediante el uso de la ecuación (2.10) con las constantes de formación enlistadas en la tabla 4.1.

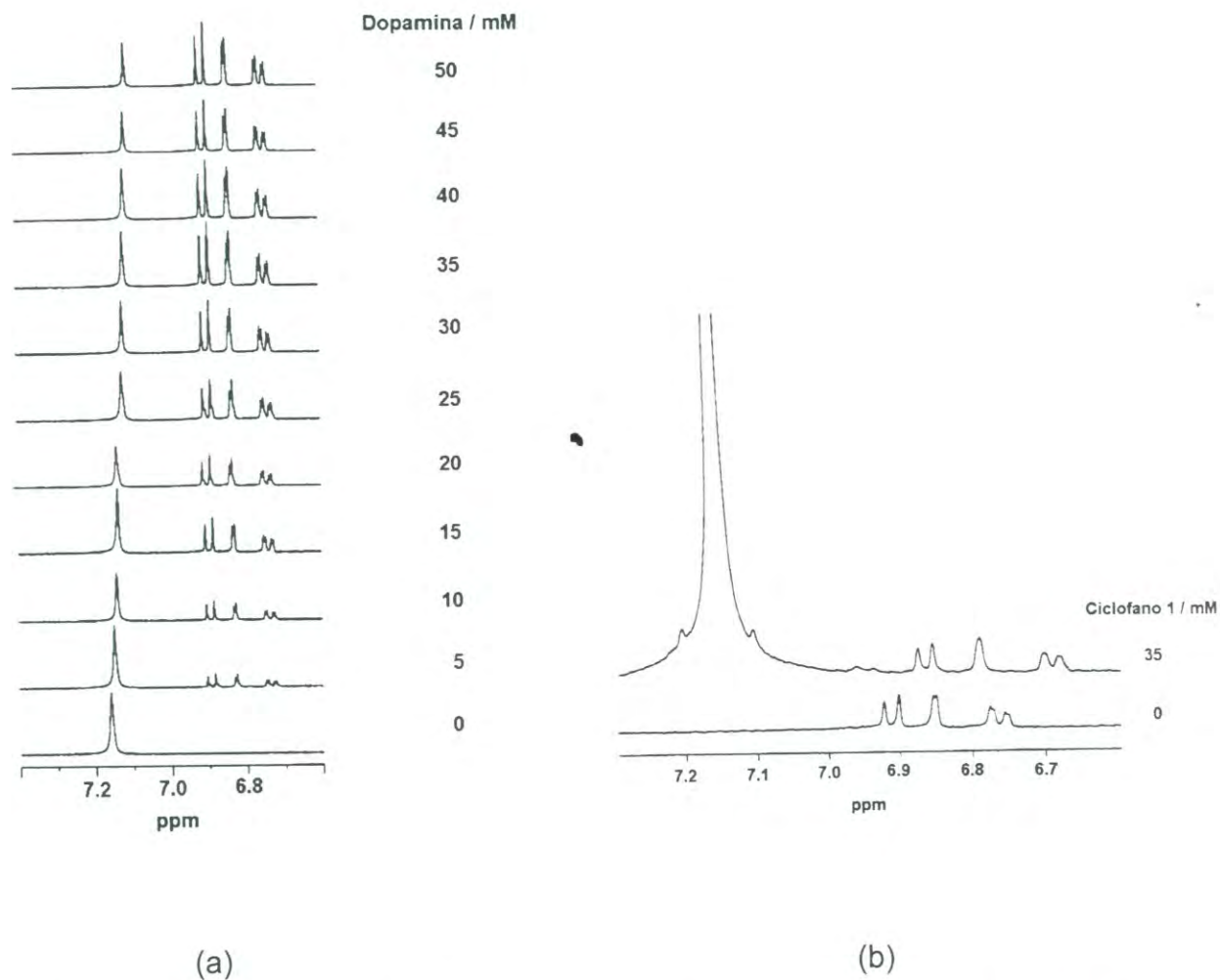


Figura 4.4. Espectros de RMN ^1H en D_2O , DSS como referencia, $\text{pD} = 8 \pm 0.1$, $T = 30^\circ\text{C}$, de: (a) Ciclofano **1** a concentración constante 5×10^{-3} M, con diferentes concentraciones de dopamina. (b) Dopamina (5×10^{-3} M) en ausencia y en presencia de ciclofano **1**.

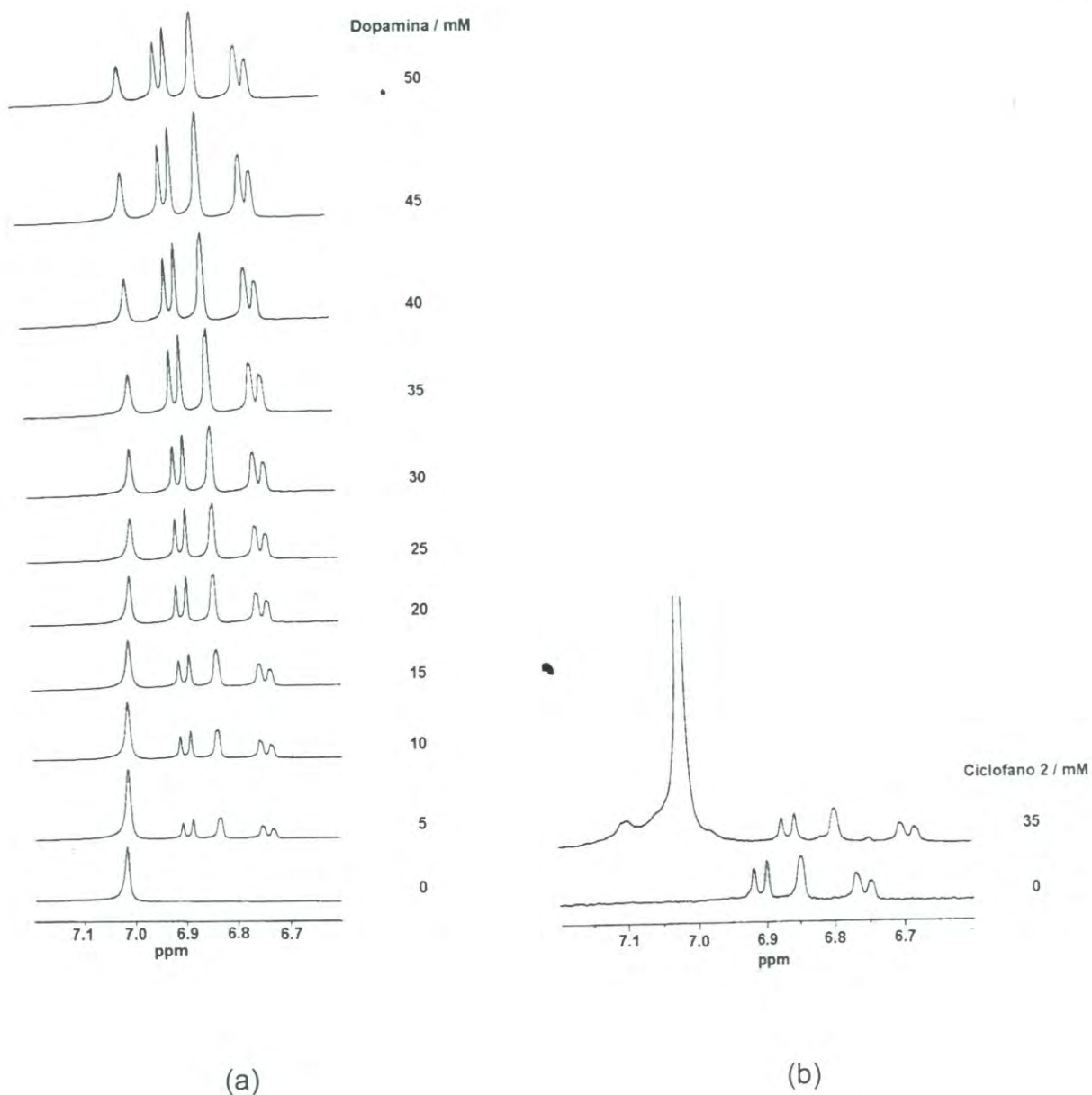


Figura 4.5. Espectros de RMN ^1H (señal de aromáticos) en D_2O , DSS como referencia, $\text{pD} = 8 \pm 0.1$, $T = 30^\circ\text{C}$, de: (a) Ciclofano **2** a concentración constante 5×10^{-3} M, con diferentes concentraciones de dopamina. (b) Dopamina (5×10^{-3} M) en ausencia y en presencia de ciclofano **2**.

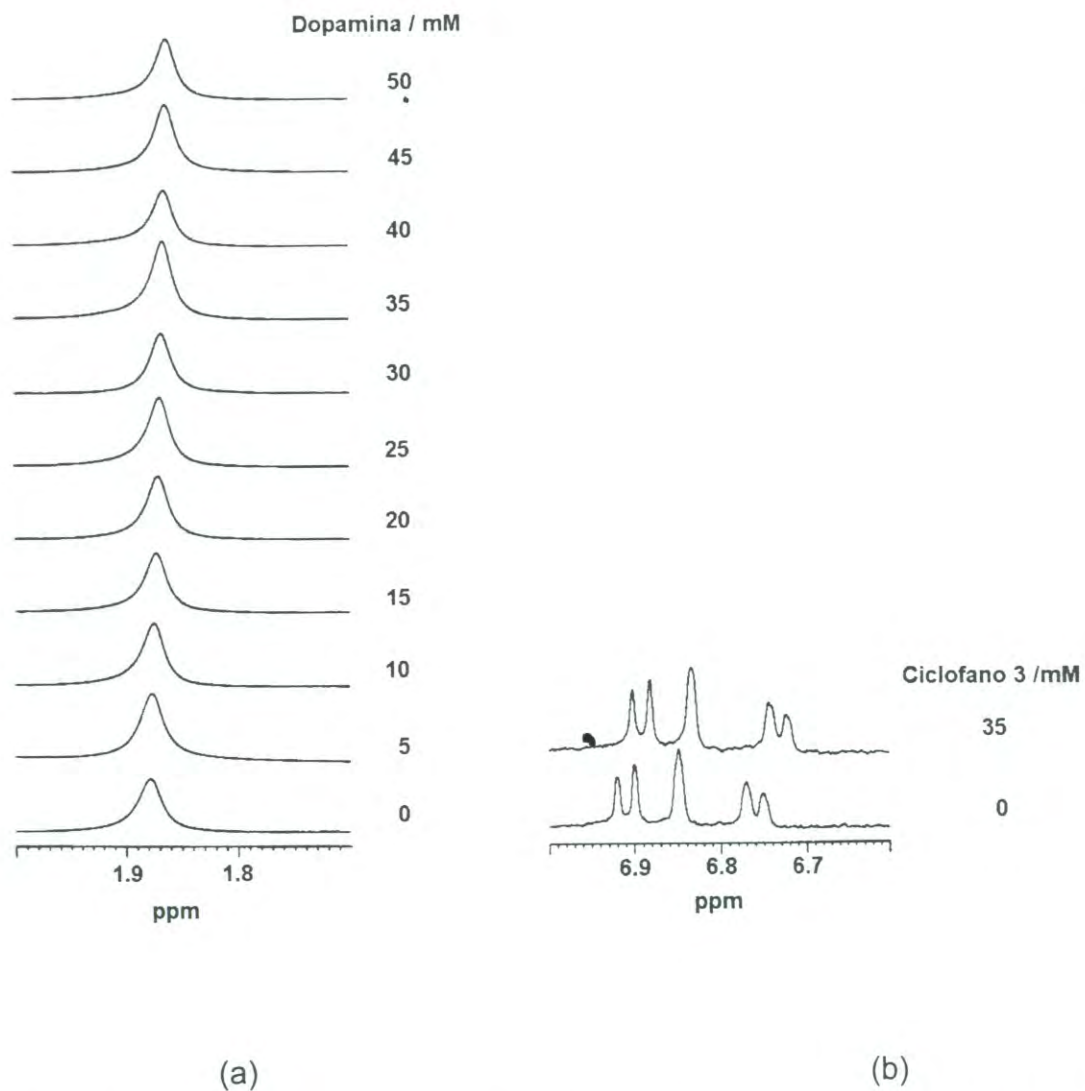
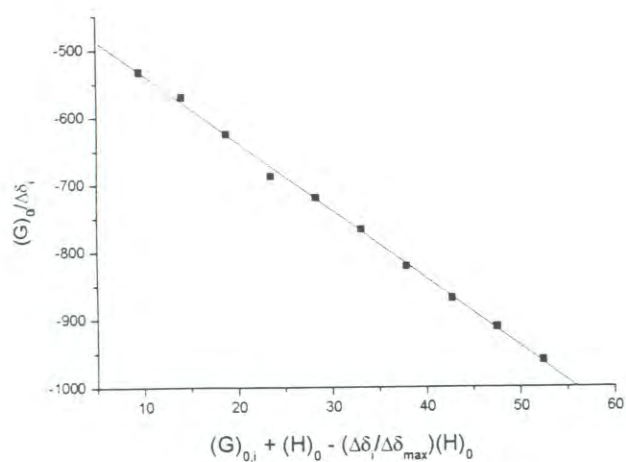
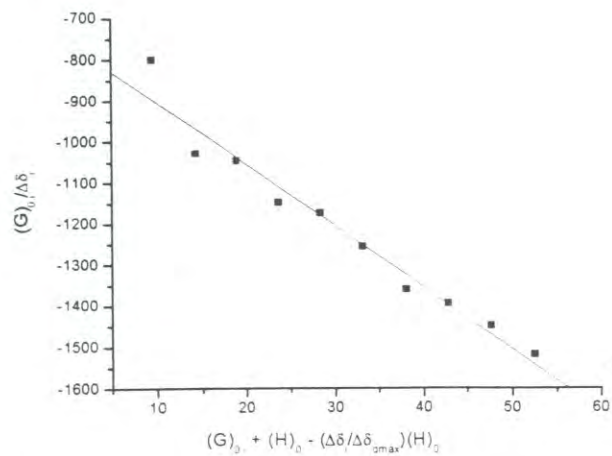


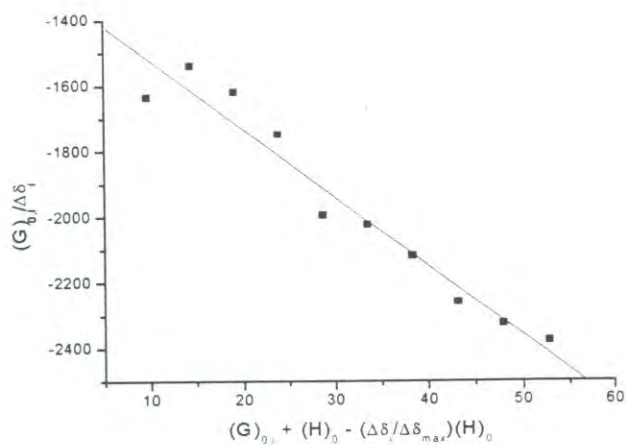
Figura 4.6. Espectros de RMN ^1H en D_2O , DSS como referencia, $\text{pD} = 8 \pm 0.1$, $T = 30^\circ\text{C}$, de: (a) Ciclofano **3** a concentración constante 5×10^{-3} M, con diferentes concentraciones de dopamina. (b) Dopamina (5×10^{-3} M) en ausencia y en presencia de ciclofano **3**.



(a)



(b)



(c)

Figura 4.7. (a) Gráfica de la forma linealizada de la ecuación de Lang para la formación del complejo 1:1 entre el ciclofano 1- dopamina. (b) Ciclofano 2-dopamina (protones aromáticos) y (c) Ciclofano 3-dopamina.

grande, podemos inferir que fenetilamina también forma complejos receptor-huésped en una relación 1:1 con los ciclofanos **2** y **3**.

Las líneas sólidas en las figuras 4.2 y 4.3 se calcularon a partir de los valores de K y Δ_{HC} que se encuentran en la Tabla 4.1; estas curvas se ajustan bastante bien a los datos experimentales para todas las combinaciones receptor-huésped.

Por otra parte, también se calculó la diferencia de desplazamiento químico de la señal del huésped, Δ_{GC} , en el complejo receptor-huésped, a partir de la constante de formación del complejo y de la diferencia de desplazamiento Δ_G observada para concentraciones dadas de receptor y de huésped, con base a la relación $\Delta_{GC} = \Delta_G[G]/[HG]$. Los valores obtenidos de Δ_{GC} se muestran en la Tabla 4.2. Las figuras 4.4 - 4.6 muestran como ejemplo los espectros de RMN 1H obtenidos de dopamina con los ciclofanos **1-3**.

Para realizar este cálculo, las constantes de formación de los complejos de ciclofano **2**, se asumieron como los promedios de los valores determinados por las dos señales de referencia, es decir, las señales de los protones aromáticos y las de los protones metílicos enlazados a los anillos aromáticos.

Los valores de Δ_{GC} de los complejos de fenetilamina con los ciclofano **2** y **3** son tentativos, puesto que las constantes de formación son muy pequeñas y muestran un error relativo grande debido a las pequeñas diferencias de desplazamiento químico cuando se añade al huésped (5×10^{-3} M) una concentración alta de receptor (35×10^{-3} M).

4.2 Estudios de Reconocimiento Molecular.

Los desplazamientos químicos observados para los protones aromáticos del receptor y del huésped en los espectros de RMN 1H sugieren que se forman complejos de inclusión como resultado de los efectos hidrofóbicos. Sin embargo, la interacción hidrofóbica no es la única fuerza de atracción importante para la formación de los complejos. A valores de pD 8, al cual se llevaron a cabo los experimentos de RMN, los grupos carboxilato de los receptores se encuentran en su

forma aniónica [45, 47] mientras que los nitrógenos de las aminas se encuentran completamente protonados: $pK_a = 9.83$ para fenetilamina y 9.3 para tiramina [48]. Por lo tanto, se presume que los complejos se encuentran estabilizados por una interacción electrostática entre un grupo $-NH_3^+$ en una molécula huésped y los grupos $-CO_2^-$ de la molécula de receptor, además de la interacción entre los grupos aromáticos. La presencia de las interacciones electrostáticas se confirmó por el hecho de que los protones $\alpha-CH_2$ del huésped mostraron desplazamientos a campo alto en presencia de los receptores (Tabla 4.2); el desplazamiento hacia campo alto indica que la densidad electrónica del átomo de carbono unido al grupo $-NH_3^+$ se incrementa como resultado de la deprotonación parcial de $-NH_3^+$ durante la interacción con el grupo $-CO_2^-$.

Las constantes de formación de los complejos del ciclofano **1** con las tres aminas son prácticamente idénticas, lo cual sugiere que los grupos OH presentes en las aminas huésped no contribuyen significativamente a la estabilidad de los complejos. A $pD = 8$ el grupo fenol no es capaz de tener una interacción electrostática debido a que el protón del fenol no se encuentra dissociado, y el puente de hidrógeno es insignificante en solución acuosa debido a la fuerte solvatación del agua.

Al incrementar el número de grupos metilo en las unidades aromáticas de los ciclofanos, se esperaba que la cavidad hidrofóbica de los receptores fuera más profunda y de ésta manera se incrementara el efecto hidrofóbico en la interacción receptor-huésped. Contrario a esta expectativa, las estabilidades de los complejos decrecieron conforme aumentó el número de grupos metilo presentes en los ciclofanos: receptor **1** > receptor **2** > receptor **3** para todos los huéspedes. Este comportamiento probablemente obedece al efecto estérico de los grupos metilo, el cual impide el encapsulado de una molécula de huésped y dicho efecto domine sobre el efecto hidrofóbico.

Las constantes de formación de los complejos de **2** y **3** muestran un claro incremento en el orden fenetilamina < tiramina < dopamina, mientras que las

constantes de formación de los complejos de **1** son menos dependientes de la naturaleza de las moléculas huésped. 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 **1-3**, cada receptor contiene dos unidades EDTA unidas por cuatro enlaces amida. En el ciclofano **1**, los grupos amida se encuentran dentro del sistema de 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 la cavidad del ciclofano **1**.

De trabajos previos realizados por Inoue y colaboradores [45] se conoce que en el ciclofano **3**, el plano del anillo aromático rota de $60\text{-}70^\circ$ del plano del grupo amida, debido al efecto estérico de los grupos metilo. Como resultado de este impedimento estérico, la estructura del ciclofano **3** es menos flexible que la de ciclofano **1** y, además, su cavidad se define en forma más estricta para favorecer la inclusión de una molécula de dopamina; como consecuencia, la selectividad hacia dopamina se incrementa tras la introducción de grupos metilo. Un factor clave en la formación de los 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.

4.3 Geometría de la Interacción Receptor-Huésped.

Los desplazamientos de los protones aromáticos de las aminas huésped, que se observan en los espectros de RMN cuando ocurre la formación de los complejos, se atribuyen a la influencia de la corriente de electrones de los anillos aromáticos del receptor. Esta corriente de los grupos fenilo produce en sus alrededores 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 π sufrirá los mayores desplazamientos hacia campo bajo. La superficie nodal del campo inducido cero se encuentra alrededor de los 35° del plano molecular (55° de la normal del centro del anillo). Este efecto de la corriente del anillo proporciona información sobre la orientación de la molécula en el interior de la cavidad del ciclofano.

Un modelo dipolo muestra que la influencia del campo magnético en el desplazamiento químico de un protón ubicado a una determinada distancia y un cierto ángulo respecto del grupo fenilo, está dada por [49]:

$$\delta_{rc} \text{ (en ppm)} = 27.6 (1 - 3\cos^2\theta)/r^3 \quad (4.1)$$

Donde, r es la distancia (en Å) entre el protón de referencia y el centro del anillo del grupo fenilo, y θ es el ángulo entre el vector r y la normal para el centro del anillo. Puesto que tanto el receptor como el huésped sufren desplazamientos a campo alto cuando se forma el complejo, los protones aromáticos de una de las moléculas que forman el complejo se encuentran localizados en una región de $\theta < 55^\circ$ de la normal para el centro del anillo fenilo de la otra molécula; por lo tanto, las moléculas de receptor y huésped en el complejo se encuentran dispuestas en una geometría que es básicamente cara a cara (en vez de cara a borde).

Debido a que los protones de la molécula huésped en el complejo son susceptibles al campo producido por los dos grupos fenilos del receptor, el desplazamiento químico inducido por cada uno de los grupos fenilo, δ_{rc} , se obtiene al dividir entre dos la diferencia en el desplazamiento químico observado en el protón de referencia, Δ_{GC} . Asumiendo que el contacto de van der Waals es 3.4 Å para el arreglo cara a cara en los complejos del ciclofano **1** [50], la distancia r y el $\cos\theta$ del protón de referencia del huésped se pueden calcular a partir de la distancia d , definida como la distancia entre las normales de los centros de los anillos aromáticos del receptor y del huésped: $r = [3.4^2 + d^2]^{1/2}$ y $\cos\theta = 3.4/r$.

Para el complejo ciclofano **1**-dopamina, mediante la sustitución de $\delta_{rc} = \Delta_{GC}/2$ en la ecuación 4.1, se obtiene una distancia $d = 3.8 \text{ \AA}$ para el protón aromático 2; 4.0 \AA para el protón 5; 3.7 \AA para el protón 6 (Figura 2.9). Los mismos valores de d se obtuvieron en un mapa de contorno de δ_{rc} basado en un modelo de doble hélice [51]. Estos valores de d indican las posiciones promedio de los protones aromáticos, ya que en solución la molécula huésped se reorienta rápidamente, dando como resultado una rápida relocalización de los protones del grupo fenilo. Puesto que las posiciones promedio de todos los protones aromáticos en la molécula huésped son prácticamente iguales ($3.7 - 4.0 \text{ \AA}$), suponemos que la relocalización de dichos protones ocurre alrededor de un centro común, el cual muy probablemente es el centro del anillo del grupo fenilo al cual se encuentra unidos los protones. En este caso el valor medio de d (3.8 \AA) da la posición del centro del anillo fenilo de la molécula huésped con respecto al centro del anillo del receptor, es decir, los grupos fenilo de las moléculas de receptor y de huésped se encuentran dispuestos uno con respecto a otro de manera desfasada por una distancia $d = 3.8 \text{ \AA}$ a lo largo de sus planos moleculares, como se ilustra esquemáticamente en la Figura 4.8. En este tipo de arreglo, con una distancia de desfase de 3.8 \AA , un protón aromático de dopamina se encuentra ubicado por arriba de un átomo de carbono del grupo fenilo del ciclofano **1**. Esta posición es ocupada por todos los protones aromáticos con la misma probabilidad, con un cierto tiempo de vida, de tal manera que el centro del anillo de la molécula huésped se mantiene a una distancia $d = 3.8 \text{ \AA}$. Cuando un protón se ubica por arriba de un átomo de carbono aromático, se presenta una interacción H- π entre los átomos, conduciendo a la estabilidad del arreglo cara a cara. Este tipo de arreglo es consistente con un cálculo electrostático, el cual reveló que el acomodo cara a cara es estable solamente si es de manera desfasada [52]. En el caso de los complejos de **1** con tiramina y fenetilamina el promedio de las distancias fue $d = 3.9 \text{ \AA}$, lo cual sugiere que el arreglo receptor-huésped en estos complejos es idéntico al del complejo con dopamina.

En un trabajo previo de Inoue y colaboradores [11], se reportó que dopamina y sus análogos, fenetilamina y tiramina, son reconocidos por un ciclofano que contiene en su estructura cuatro grupos fenilo que provienen de dos grupos difenil metano, los cuales se encuentran en lugar de los grupos *p*-fenilo de los ciclofanos **1–3** (Figura 1.1). Los valores de las constantes de formación de los complejos son de 40-500 M⁻¹. Un ciclofano similar cuya cavidad consta de dos grupos difenil éter forma complejos ligeramente menos estables con las aminas aromáticas, cuyas constantes de formación son de 6-20. Las constantes de formación del ciclofano **1** son de este mismo orden de magnitud, a pesar de que este ciclofano tiene solamente dos anillos fenilo en su estructura macrocíclica. Un modelo molecular simple muestra que la separación entre dos grupos fenilo en una molécula receptora puede ser hasta 8 Å, distancia que está muy cerca del doble del valor predicho para la distancia de contacto de van der Waals. De esta manera, la cavidad del ciclofano **1** está definida adecuadamente para encapsular una molécula huésped, la cual se presume se inserta entre los grupos fenilo del receptor en el complejo receptor-huésped resultante, como se ilustra esquemáticamente en la Figura 4.8.

Para los complejos de los ciclofanos metil-sustituídos, **2** y **3**, la distancia cara a cara entre los grupos fenilo del receptor y del huésped se asume como 3.7 Å, la cual corresponde a la suma de los radios de van der Waals del grupo metilo, 2.0 Å, y la mitad del espesor del grupo fenilo, 1.7 Å [50]. Las posiciones de los protones aromáticos de las moléculas huésped en sus complejos fueron determinadas a partir de los valores de $\Delta_{GC}/2$, resultando los valores que se indican a continuación. Complejo 2-dopamina: $d = 4.0$ Å para el protón aromático 6; 4.3 Å (Ar 5) y 4.4 Å (Ar 2); complejo 3-dopamina: 4.4 Å (Ar 6); 4.5 Å (Ar 5) y 4.7 Å (Ar 2); complejo 2-tiramina: $d = 4.1$ Å (Ar 2) y 4.3 Å (Ar 3); complejo 3-tiramina: $d = 4.0$ Å (Ar 2) y 4.2 Å (Ar 3); complejo 2-fenetilamina: $d = 4.2$ Å para los protones aromáticos y complejo 3-fenetilamina: $d = 4.1$ Å para los protones aromáticos.

Para todas las combinaciones receptor-huésped, los protones aromáticos tienen valores de d prácticamente iguales, indicando la posición del centro del anillo

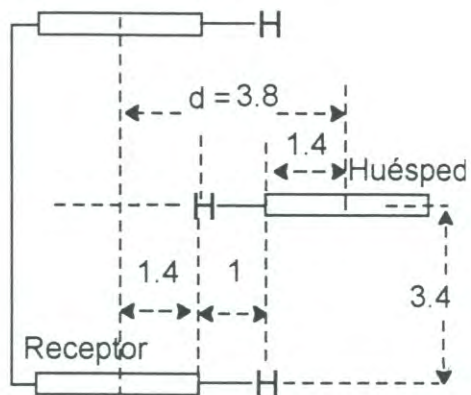


Figura 4.8. Orientación promedio probable de los sustratos aromáticos en la cavidad del ciclofano 1

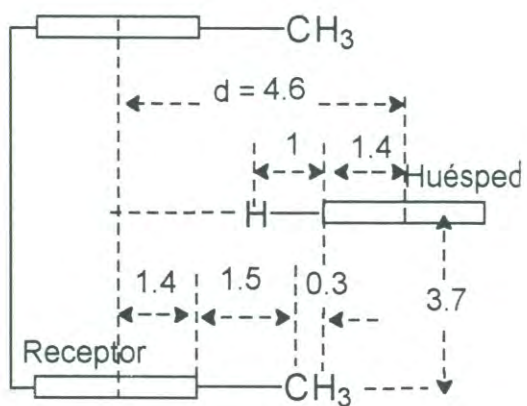


Figura 4.9. Orientación promedio probable de los sustratos aromáticos en la cavidad de los ciclofanos 2 y 3

aromático en un arreglo cara a cara, tal como se describió previamente para los complejos de ciclofano **1**.

Los valores de d de los complejos de los ciclofanos **2** y **3** con dopamina son mayores que los del complejo con el ciclofano **1**. Por lo tanto, los grupos fenilo de los receptores y de los huéspedes se encuentran más desfasados uno con respecto a otro en los complejos de los ciclofanos metil sustituidos y, en consecuencia, la profundidad de inserción de una molécula huésped en la cavidad del receptor es significativamente más pequeña (Figura 4.9). Puesto que la distancia de enlace C-C es 1.5 Å y la componente del vector C-H en C-CH₃ a lo largo del eje C-C es de 0.3 Å, en el arreglo cara a cara con una distancia de desfase $d = 4.6$ Å, los protones de CH₃ se colocan arriba de un átomo de carbono del anillo aromático del huésped y un protón aromático del huésped se ubica por arriba del punto medio de enlace C-CH₃ del ciclofano (Figura 4.9). Este arreglo se deduce para el complejo **3**-dopamina, en el cual el valor medio de d es 4.5 Å.

Para los otros complejos de los ciclofanos **2** y **3**, los valores de d son ligeramente más pequeños, y por tanto los anillos fenilo del receptor y del huésped se encuentran ligeramente más cerca uno de otro. En todos los casos de los complejos de los ciclofanos metil-sustituidos, un protón aromático del huésped se ubica fuera del eje del orbital p del carbono del anillo aromático del ciclofano; por otra parte, en los complejos de ciclofano **1**, un protón aromático de una molécula huésped se ubica justo arriba de un átomo de carbono aromático del receptor. De esta manera, la interacción H- π entre el receptor y el huésped es más débil en los complejos de ciclofanos metil-sustituidos. Este comportamiento es consistente con el hecho de que las constantes de formación de los complejos de los ciclofanos **2** y **3** son más pequeñas que las correspondientes a los complejos de ciclofano **1**.

5. CONCLUSIONES

Los receptores artificiales, ciclofanos **1**, **2** y **3**, mostraron propiedades de reconocimiento molecular en solución acuosa hacia los cationes aromáticos: fenetilamina, tiramina y dopamina, con las cuales formaron complejos estables receptor – huésped.

Las dos principales fuerzas de enlace en los complejos son: 1) las interacciones entre los grupos fenilo de los huéspedes y los grupos fenilo de los receptores (ciclofanos) y 2) las interacciones electrostáticas entre los grupos carboxilato ($-\text{COO}^-$) pendientes de los receptores y los grupos $-\text{NH}_3^+$ de los huéspedes.

Al incrementar el número de grupos metilo en las unidades aromáticas de los ciclofanos, las estabildades de los complejos decrecieron en el orden ciclofano **1** > ciclofano **2** > ciclofano **3** para todos los huéspedes. Probablemente esto se deba al efecto estérico de los grupos metilo que obstaculiza el encapsulado de una molécula huésped. De hecho, la profundidad de la inserción de una molécula huésped en la cavidad del receptor es menor en los complejos de los ciclofanos **2** y **3**. El efecto estérico domina sobre el efecto hidrofóbico, el cual es mayor en los ciclofanos metil-sustituídos.

Las constantes de formación de los complejos de **1** no dependen de la naturaleza de las moléculas huésped, por lo que se puede sugerir que los grupos OH no contribuyen significativamente a la estabilidad de los complejos. Por otra parte, las constantes de formación de los complejos de **2** y **3** muestran un claro incremento en el orden fenetilamina < tiramina < dopamina. Este comportamiento se atribuye a las restricciones estéricas que imponen los grupos metilo, lo cual provoca que la geometría de la cavidad del ciclofano **3** se encuentre definida de tal manera que favorece la inclusión de una molécula de dopamina.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. DIEDERICH, F., **1991**. *Cyclophanes*, Editorial The Royal Society of Chemistry, Cambridge.
2. CRAM, D. J., CRAM, J. M., **1994**. *Container Molecules and Their Guests*, Editorial Royal Society of Chemistry, Cambridge.
3. VÖGTLE, F., **1996**. *Molecular Recognition: Receptors for Molecular Guests*, Comprehensive Supramolecular Chemistry, Vol. 2, Pergamon, New York.
4. ODASHIMA, K., KOGA, K., **1983**. *Cyclophanes in Host–Guest Chemistry*, en “Cyclophanes Vol. II”, Editorial Academic Press, Inc., p. 629–678.
5. TABUSHI, I., YAMAMURA, K., **1983**. *Water Soluble Cyclophanes as Hosts and Catalysts*. In F. Vögtle (ed.), Top. Curr. Chem. 113, Cyclophanes I, pp. 145–182.
6. MURAKAMI, Y., **1983** *Functionalized Cyclophanes as Catalysts and Enzyme Model*, en F. Vögtle (ed.), Top. Curr. Chem. 115, Cyclophanes II, p. 107–155.
7. WEBB, T. H., WILCOX, C. S., **1993**. *Chem. Soc. Rev.* 22 : 383.
8. MURAKAMI, Y., KIKUCHI, J., HISAEDA, Y., HAYASHIDA, O., **1996**. *Chem. Rev.* 96: 721.
9. IZATT, R. M., BRADSHAW, J. S., PAWLAK, K., BRUENING, R. L., TARBET, B. J., **1992**. *Chem. Rev.* 92,:1261 (1992).
10. IZATT, R. M., PAWLAK, K., BRADSHAW, J. S., BRUENING, R. L., **1995**. *Chem. Rev.* 95: 2529.
11. INOUE, M. B., VELAZQUEZ, E. F., INOUE, M., FERNANDO, Q., **1997**. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*: 2113.
12. FRANKE, J., VÖGTLE, F., **1986**. *Complexation of Organic Molecules in Water Solution*, Top. Curr. Chem. 132: 135.
13. DAVIS, A. P., **1996**. *Molecular Recognition by Large Ring Molecules*, Editorial John Wiley & Sons Ltd, Inglaterra.
14. REBEK, J., JR., **1987**. *Science*. 235: 1478.

15. LINDOY, L. F., *The Chemistry of Macrocyclic Ligand Complexes*, **1989**. Editorial Cambridge University Press, New York.
16. SCHNEIDER, H. J., **1991**. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 30: 1417.
17. GELLMAN, S. H., **1997**. *Chem. Rev.* 97: 1231.
18. HAMILTON, A. D., **1990**. *J. Chem. Educ.* 67: 821.
19. LEHN, J. M., **1988**. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 27: 89.
20. LEHN, J. M., **1995**. *Supramolecular Chemistry. Concepts and Perspectives*, Editorial VCH, Alemania.
21. BARAN, E. J., **1995**. *Química Bioinorgánica*, Editorial McGraw-Hill/Interamericana, Madrid.
22. DUGAS, H., **1996**. *Bioorganic Chemistry. A Chemical Approach to Enzyme Action*, 3ª edición, Editorial Springer, New York.
23. MELSON, G. A., **1979**. *Coordination Chemistry Macrocyclic Compounds*, Editorial Plenum Press, New York.
24. DIEDERICH, F., **1990**. *J. Chem. Educ.* 67: 813.
25. a) ZOLOTOV, Y. A., **1997**. *Macrocyclic Compounds in Analytical Chemistry*, Editorial John Wiley & Sons, Inc., New York. b) PEDERSEN, C. J. **1988**. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 27: 1021.
26. BRESLOW, R., **1971**. *Advan. Chem. Ser.* 100: 21
27. SZEJTLI, J. **1998**. *Chem. Rev.* 98: 1473
28. GUTSCHE, C. D., 1989. *Calixarenes. The Royal Society of Chemistry*, Cambridge, England.
29. VINCENS, J., BÖHMER, V., **1991**. *Calixarenes. A Versatile Class of Macrocyclic Compounds*. Kluwer, Dordrecht.
30. ATWOOD, J. L., HOLMAN, K. T., STREED, J. W., **1996**. *Chem. Commun.* 1407
31. PETERSON, B. R., WALLIMANN, P., CARCANAGUE, D. R., DIEDERICH, F., **1995**. *Tetrahedro* 51: 401.

32. SUTHERLAND, I., **1983**. *Cyclophanes as Synthetic Analogs of Enzymes and Receptors*, en *Cyclophanes*, Vol II, Editorial Academic Press, Inc., p. 679.
33. LEHN, J. M., **1973**. "Design of Organic Complexing Agents. Strategies toward Properties" en "Structure and Bonding", Vol. 16, Editorial Springer, Berlin.
34. KNOPS, P., SENDHOFF, N., MEKELBURGER, H. B., VÖGTLE, F., **1991**. "High Dilution Reactions – New Synthetic Applications" en *Macrocycles*, Top. Curr. Chem. 161: 3
35. LEHN, J. M., **1990**. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 29: 1304.
36. MATHEWS, C. K., VAN HODE, K. E., **1996**. *Biochemistry*, Editorial Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc., USA.
37. TABUSHI, I., YAMAMURA, K., **1983**. *Water Soluble Cyclophanes as Hosts and Catalysts*, Top. Curr. Chem. 113: 145.
38. HUNTER, C. A., **1994**. *Chem. Soc. Rev.* 23(2): 101.
39. SCHNEIDER, H. J., YATSIMIRSKI, A., 2000. "Principles and Methods in Supramolecular Chemistry", Editorial John Wiley & Sons, LTD.
40. SCHNEIDER, H. J., BLATTER, T., PALM, B., PFINGSTAG, U., RÜDIGER, V., THEIS, I., **1992**. *J. Am. Chem. Soc.* 114: 7704.
41. MACOMBER, R. S., **1992**. *J. Chem. Educ.* 69: 375.
42. LANG, R. P., **1962**. *J. Am. Chem. Soc.* 84: 1185.
43. FELDMAN, R. S., MEYER, J. S., QUENZER, L. F., **1997**. *Principles of Neuropsychopharmacology*, Sunderland, Sinauer, p. 277-344.
44. ROBINS-TREVOR, W., **1992**. *Milestones in Dopamine Research*, Semin. Neurosci. 4: 93.
45. INOUE, M. B., INOUE, M., SUGICH, R., MACHI, L., VELÁZQUEZ, E. F., FERNANDO, Q., **2001**. *Inorg. Chim. Acta.* 317: 181.
46. MIKKELSEN, K., NIELSEN, S. O., **1960**. *J. Phys. Chem.* 64: 6332.

47. M. B. INOUE, M. B., E. F. VELAZQUEZ, E. F., F. MEDRANO, F., K. L. OCHOA, K. L., J. C. GALVEZ, J. C., M. INOUE, M., AND Q. FERNANDO, Q., **1998**. *Inorg. Chem.* 37: 4070.
48. PEDERSEN, C. J., **1988**. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 27: 1021.
49. DEAN, J. D., **1985**. *Lange's Handbook of Chemistry*, 13th ed. Table 5-8, MacGraw-Hill, New York .
50. ABRAHAM, R. J., FELL, S. C. M., SMITH, K. M., **1997** *Org. Magn. Reson.* 9: 367.
51. PAULING, L., **1960**. *The Nature of the Chemical Bonds*, 3rd. ed. Cornell University Press, Ithaca, NY , p. 261.
52. JOHNSON, C. E. JR., BOVEY, F. A., **1958**. *J. Chem. Phys.* 29: 1012.
53. HUNTER, C. A., SANDERS, J. K. M., **1990**. *J. Am. Chem. Soc.* 112: 5525.

ANEXO

Artículo Relacionado con la Tesis de Maestría, Aceptado para su Publicación:

CLAUDIA VIRUÉS, ENRIQUE F. VELÁZQUEZ, MICHIKO B. INOUE, and MOTOMICHI INOUE. 2003 “**NMR Studies of Host–Guest Complexes of Anionic Cyclophanes with Dopamine and Its Analogues in Aqueous Media**”. *Journal of Inclusion Phenomena*.

Dr. E.F. Velazquez
Universidad de Sonora
Dep. de Investigacion en
Polimeros Y Materiales
Ap.do Postal 130
Hermosillo, Sonora 83000
Mexico

Date: 19 August 2003

Tel.no.(direct): (0)78 6576536
E-mail address : silvia.iviglia@wkap.nl

Our ref.: JIPH1666-L J5AUT1 1889476
NMR Studies of Host-Guest Complexes of Anionic Cyclophanes
with Dopamine and Its Analogues in Aqueous Media
VIRUES/VELAZQUEZ/INOUE/INOUE

Dear Dr. Velazquez,

I have received the reports from our advisors on your manuscript, submitted to the journal Journal of Inclusion Phenomena

Based on the advice received, the Editor Dr J.D. Lamb has decided that your paper can be accepted, providing that all corrections as suggested by the referees are incorporated.

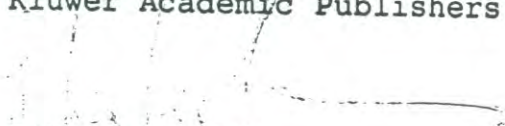
I am enclosing herewith a copy of the relevant remarks for your perusal. You are requested to submit your revised paper in triplicate, within one month together with a listed response to the reviewers' comments in duplicate.

I would be grateful if you could let me know whether you are prepared to make the suggested amendments and, if so, when I may expect to receive the revised version.

Please send us the originals of any figures in your manuscript if you have not yet done so, these will be necessary for production purposes. It would also be appreciated if you could send us the electronic file of your revised manuscript on disc.

Please remember to quote the manuscript number JIPH1666-L at all times. Thank you. I look forward to hearing from you again.

Sincerely yours,
Kluwer Academic Publishers


Silvia Iviglia
Editorial Office JIPH

PLEASE RETURN YOUR
REVISED MANUSCRIPT
ACCOMPANIED BY DISK

----- Original Message -----

From: <silvia.iviglia@wkap.nl>

To: <evlzqz@guaymas.uson.mx>

Cc: <silvia.iviglia@wkap.nl>

Sent: Monday, October 20, 2003 7:31 AM

Subject: JIPH 1666 -L

>

>

>

>

>

>

>

>

>

>

>

>

>

>

>

>

>

>

>

>

>

>

>

>

>

>

>

>

>

>

>

>

>

>

>

>

>

>

>

>

>

>

>

>

>

>

>

>

>

>

>

>

>

>

>

Dr. E.F. Velazquez
Universidad de Sonora
Dep. de Investigacion en
Polimeros Y Materiales
Ap.do Postal 130
Hermosillo, Sonora 83000
Mexico

> Date: 20 October 2003

> Tel.no.(direct):(0)78 6576536

> silvia.iviglia@wkap.nl

> Our ref.: JIPH1666-L

J3AUT1 1926298

> NMR Studies of Host-Guest Complexes of Anionic Cyclophanes

> with Dopamine and Its Analogues in Aqueous Media

> VIRUES/VELAZQUEZ/INOUE/INOUE

> Dear Dr. Velazquez ,

> I am pleased to inform you that your manuscript has been

> accepted for publication and will appear in one of the next

> issues of the journal:

> Journal of Inclusion Phenomena

> You will be contacted about proofs and offprints in due

> course by our Manufacturing Department. Any queries

> concerning the production of your manuscript should be

> sent to:

> Kluwer Academic Publishers

> Manufacturing Department

> Journal of Inclusion Phenomena

> P.O. Box 990

> 3300 AZ Dordrecht

> The Netherlands

> Please remember to quote the manuscript number

> JIPH1666-L at all times. Thank you.

> Sincerely yours,

> Kluwer Academic Publishers

> Silvia Iviglia
> Editorial Office JIPH
>
> ---
> [Este correo revisado contra virus por Inmune01 usando Declude Virus]
> [This E-mail scanned for viruses by Inmune01 using Declude Virus]
>

Correspondence author: Enrique F. Velazquez
E-mail address: evlzqz@guaymas.uson.mx

NMR Studies of Host–Guest Complexes of Anionic Cyclophanes with Dopamine and Its Analogues in Aqueous Media

CLAUDIA VIRUÉS, ENRIQUE F. VELÁZQUEZ, MICHIKO B. INOUE, and MOTOMICHI INOUE

Departamento de Investigación en Polímeros y Materiales, Universidad de Sonora, Apdo. Postal 130, Hermosillo, Sonora 83000, México

Key words: cyclophanes, dopamine, host–guest complexes, NMR

Abstract

NMR studies were carried out on the complexation of dopamine, tyramine and phenethylamine with cyclophanes that incorporate two phenylene groups in the macrocyclic framework and four pendant carboxylate arms: the cyclophanes studied were 2,9,18,25-tetraoxo-4,7,20,23-tetrakis(carboxymethyl)-1,4,7,10,17,20,23,26-octaaza[10.10]paracyclophane (**1**), its 2,5-dimethyl-*p*-phenylene derivative (**2**) and tetramethyl-*p*-phenylene derivative (**3**). The formation constants of the 1:1 host–guest complexes, $K = [\text{HG}]/[\text{H}][\text{G}]$, were determined as: 17–23 for the complexes of **1** with the aromatic amines; 20 for **2**–dopamine complex, 12–14 for **2**–tyramine and 3–8 for **2**–phenethylamine; 16 for **3**–dopamine, 6 for **3**–tyramine and 4 for **3**–phenethylamine. The formation constants of the complexes of the methyl-substituted cyclophanes, **2** and **3**, show a clear increase in the order phenethylamine < tyramine < dopamine,