UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE COMPOSTELA FACULTAD DE QUÍMICA

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÁNICA

DISEÑO, SÍNTESIS Y APLICACIONES DE SISTEMAS SUPRAMOLECULARES HOMO- Y HETERODIMÉRICOS SELECTIVOS Y EFICIENTES BASADOS EN α,γ-CICLOPÉPTIDOS

Memoria que, para optar al Grado de Doctor por la Universidad de Santiago de Compostela, presenta

Roberto J. Brea Fernández

Santiago de Compostela, Febrero 2013

D. JUAN R. GRANJA GUILLÁN, CATEDRÁTICO DEL DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÁNICA DE LA UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE COMPOSTELA,

INFORMA: Que la memoria adjunta, titulada **"Diseño, síntesis y aplicaciones de sistemas supramoleculares homo- y heterodiméricos selectivos y eficientes basados en α,γ-ciclopéptidos"**, que para optar al grado de Doctor en Química presenta D. Roberto J. Brea Fernández, ha sido realizada bajo mi dirección en los laboratorios del Departamento de Química Orgánica.

Considerando que constituye trabajo de Tesis, autorizo su presentación en la Facultad de Química de la Universidad de Santiago de Compostela.

Y para que así conste, se expide el presente certificado en Santiago de Compostela, a 31 de Octubre de 2012.

Fdo.: D. Juan R. Granja Guillán

A mi familia

AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mi más sincero agradecimiento:

- *Al Prof. Juan R. Granja, por orientarme y aconsejarme en todo momento durante la realización de este trabajo. No podría haber tenido un mejor "conductor" para este largo viaje. Gracias por no ser tan sólo un "jefe". Gracias por ser también un amigo.*
- *Al Prof. Luis Castedo y al resto de profesores (en especial a José Luís Mascareñas, Concepción González Bello y Gabriel Tojo), por sus excelentes consejos y por dejarme formar parte de un grupo multidisciplinar en el que aprender y enseñar hace que cada día sea apasionante.*
- *Al Prof. M. Reza Ghadiri, por haberme permitido tener la increíble experiencia de haber trabajado en sus laboratorios [The Scripps Research Institute, La Jolla (California)]. Igualmente, me gustaría agradecer a su grupo de investigación (Asad, David, Hari, James, Luke, Maneesh, Reshma, Seth,…), a Onur, a Victoria (mi querida "roommate") y a la "armada española", la amabilidad y simpatía mostradas, que hicieron que en EEUU me sintiese como en mi propio hogar. THANKS FOR TAKING CARE OF ME!!!*
- *Al Prof. Nazario Martín, por haberme dado la oportunidad de "pelearme" con una química apasionante, y por la acogida mostrada durante mi estancia en sus laboratorios [Universidad Complutense, Madrid]. De igual modo, quiero agradecer al Prof. Luís Sánchez toda su ayuda (que fue mucha) y sus consejos (que también fueron muchos). Finalmente, quiero mostrar mi agradecimiento más profundo a "mi grupo de investigación en el exilio" por el extraordinario tiempo que pasé con todos ellos (Ángel, Betty, Jose, Marga, María, María Ángeles,…), y en especial a mi Martiña y a los "cuatro fantásticos" (Alex, Emilio, Gus y Salvo), por haberme permitido ser uno más de ellos, compartiendo cada día (y cada noche). GRACIAS MADRID!!!*
- *Al Prof. Dirk M. Guldi, por haberme "acogido" en sus laboratorios [Universität Erlangen-Nürnberg, Erlangen (Alemania)], dándome la oportunidad de "cambiar el chip" de la Química Orgánica hacia la Fotofísica. También quiero expresar mi más sentido agradecimiento a su grupo de investigación, y en especial a Carmen (mi confidente), Renata, Yun, Sevda y Wolfgang (un alma española dentro de un cuerpo alemán). Finalmente, quiero mostrar mi enorme cariño a la "comunidad latina" (Eli, Elvira, Graci, Marcela, Patri, el dúo Pedro-Rafa, Rosario, Yennifer,…), que hizo posible que lleve a Erlangen muy dentro de mi corazón. VIELEN DANK!!!*
- *Al Prof. Manuel Mosquera [Departamento de Química Física de la Universidad de Santiago de Compostela], por su paciencia y ayuda incondicional, que me ha permitido adentrarme en el campo de la fluorescencia de la mano de todo un experto.*
- *A la Prof. Paloma Ballesteros, por haberme dado la posibilidad de disfrutar brevemente en sus laboratorios [UNED, Madrid] del apasionante mundo de los agentes de contraste. Gracias a todos sus colaboradores por el trato dispensado, y en especial a Elena, Jordi y Carmen.*

- *Al Prof. Pau Ballester [Institut Catalá d'Investigació Química (ICIQ), Tarragona], por toda su ayuda y sus consejos, que me han permitido comprender perfectamente todos los entresijos de una química apasionante. Igualmente, quiero expresar mi agradecimiento a Laura por la excelente atención prestada y el gran esfuerzo realizado.*
- *Al Ministerio de Ciencia y Tecnología (PB97-0524, SAF2001-3120, SAF2004-01044) y a la Xunta de Galicia (GRC2006/132, PGIDT00PXI20912PR, PGIDT02BTF20901PR, PGIDT04BTF209006PR, PGIDIT06PXIB209018PR, PGIDIT08CSA047209PR y R2006/124) por la financiación de este trabajo.*
- *Al Ministerio de Educación y Ciencia por la concesión de una beca FPU.*
- *A la Universidad se Santiago de Compostela por sus instalaciones y medios, entre los que sobresale especialmente el servicio de apoyo a la investigación, así como el personal que en ellos trabaja. Gracias de manera especial a Ramón, Mencha y Manolín (Unidad de RMN), Esteban e Isabel (Unidad de Masas) y Antonio (Unidad de Rayos X), por demostrar tanta paciencia ante los continuos "retos" que les he planteado a lo largo de estos años.*
- *A los que me habéis padecido y sufrido día a día en el laboratorio. Gracias "a los JG" Arcadio (excelente compañero, mejor persona), César (el mejor "discípulo" posible), Chus, Jorge, Lionel (un "junior" de oro), Manuel (el eterno JG1), Michele, Noel, Nuria y Rebe, por hacer que estos años me haya sentido orgulloso de formar parte de un grupo increíble. Al grupo del Prof. Mascareñas, desde Adrián hasta Olalla, pasando por Bea, Elena, Eugenio, Fernando, Isaac, Juan Bautista, Juan Durán, Lara, Lucía, Marisel, Mateo, Moisés y Paloma. A las "Ángeles de Conchi" (Cris, Sonia y Vero P.) por la simpatía que despliegan, y a Antonio, Bea, Emilio y Lorena por su ayuda incondicional durante tantos años. Al grupo del Prof. Tojo, por su inestimable colaboración durante todo este tiempo. Al grupo del Prof. Guitián, y en especial a Iago, Álex, y Diego por sus amenas conversaciones. Al Prof. Diego Peña por sus palabras de ánimo y sus sabios consejos. Al grupo del Prof. Antonio Mouriño, y en particular a Ramón, por ser un apoyo desde el "lado oscuro", que a veces parecía estar más lejos de lo que me hubiese gustado. A los "veteranos" o "desaparecidos en combate" (Álex, Ana, Ceci, Checho, Daniel, Edu, Eva, Gaurav, Jorge, Lucía, María José, Montse, Pili, Ramón, Salvador, Sarah, Soco, Stephan, Timm, Vero, Virginia,…) por vuestra paciencia e inestimable ayuda a lo largo de estos años. Al personal técnico del laboratorio (Áurea, Muras, Rosa,…) por la amabilidad mostrada en todo momento, y en especial a María y Sergio, por su paciencia, su sentido del humor y su simpatía.*
- *A los que me habéis padecido dentro y fuera del laboratorio, así que os merecéis un agradecimiento extra. Gracias a Rebe (mi tridente) por confiar en mí en los buenos y malos momentos y por ser ante todo una gran amiga. Gracias a Sonia por ser cómplice de tantas risas y por su apoyo incondicional. Gracias a César por demostrarme su gran corazón durante todos estos años. Gracias a Manuel, por ser mi compañero de fatigas en todo este tiempo. Gracias a Arcadio y Lionel, mis confidentes durante estos últimos años de Tesis, por ser "la gasolina" que necesitaba cada día. Gracias a Olaia y Silvia, por sus risas y "agobios", que tantos días han compartido conmigo y que hacen sin duda alguna que las aprecie aún más. Gracias a los "pichones" Alex, Diego, Julián y Iago por ser unos amigos legen-…wait for it...-darios y por conseguir que el "turineo"*

me ayudase a superar cada día duro de trabajo. Gracias al resto de asiduos a "la Viña" (véase María, Mencha, Cova, Paula,…) por dejarme disfrutar de tantos buenos momentos y aceptarme tal y como soy (que ya es mucho). Y gracias sobre todo a Juan (si, tú… JD), por ser mi mejor compañero durante todo este tiempo, un colega impresionante y un amigo de los de verdad.

- *A todos mis compañeros del Departamento de Química Orgánica, y en especial a Marta, Javi Montenegro y a la gente de mi promoción (Carlos, Fernando,…) por hacer que me sienta orgulloso de una generación irrepetible.*
- *A mis amigos "de toda la vida" por su sincera amistad y apoyo incondicional. Gracias en especial a mi "exiliado" Gerardo por toda la confianza mostrada y por su inagotable fuente de cariño. Gracias a Manuel y Miguel, que siempre han sabido ver lo mejor de mi. Y como no, gracias a todos mis compañeros del equipo de fútbol Confiados (en especial a José Luis) por tantos buenos momentos pasados. GRACIAS A TODOS!!!*
- *A mi familia, por haber estado siempre a mi lado y porque sin ellos todo esto no sería posible. Gracias a mi padres (los mejores del mundo) por la educación, cariño y confianza que me han dado. Gracias a mi abueliña (mi segunda madre) por ser mi medicina para los malos momentos. Gracias a mis hermanos (Mariam, Ale, Dolo y Carlos) y cuñaaaaaaaos (Nacho, Pequi y Charlie) por creer más en mi que yo mismo. Y no podría olvidar a mis sobrinos (Marina, Alejandro, Pablo, Martín, Jorge y Miguel), a los que tanto adoro, por hacerme sentir el tío más privilegiado del Universo.*
- *A "mi otra familia" por el enorme cariño que día a día recibo de ellos. Gracias en especial a Carmela y Toni por hacerme sentir como un hijo más, y a Pachi y Alfons por todo el afecto que siempre me brindan.*
- *A Carla, por haberlo sido todo durante la realización de esta Tesis… nuestra Tesis. Gracias por la paciencia (tantas y tantas horas esperando "la última reacción"), el apoyo incondicional (siempre estando a mi lado cuando más lo he necesitado) y el cariño demostrado durante los mejores/peores momentos de mi vida. Sabes que todo el amor que te tengo no llenaría ni cien memorias como ésta. GRACIAS MI NENIÑA!!!*
- *A todos aquellos que no nombro pero que debieran estar en esta lista, espero que me disculpen y que sepan que no es menor mi agradecimiento.*

"Investigar es ver lo que todo el mundo ha visto, y pensar lo que nadie más ha pensado"

Albert Szent Gyorgi

ÍNDICE

ÍNDICE

ABREVIATURAS

I. RESUMEN 1

II. ESTRUCTURAS NANOTUBULARES 5

1. NANOTUBOS DE CARBONO 7
2. NANOTUBOS INORGÁNICOS 9
3. ESTRUCTURAS TUBULARES AUTOENSAMBLANTES 11
4. NANOTUBOS CICLOPEPTÍDICOS 13
   - 4.1. Diseño 13
   - 4.2. Tipos de nanotubos ciclopeptídicos 15
     - *4.2.1. Estructuras nanotubulares constituidas por D,L-α-ciclopéptidos* 15
     - *4.2.2. Estructuras nanotubulares constituidas por β-ciclopéptidos* 24
     - *4.2.3. Estructuras nanotubulares constituidas por otros ciclopéptidos* 27
   - 4.3. Aplicaciones de los nanotubos ciclopeptídicos 30
     - *4.3.1. Canales selectivos de transporte transmembranoso* 30
     - *4.3.2. Antibióticos* 33
     - *4.3.3. Biosensores* 35
     - *4.3.4. Biomateriales* 37
     - *4.3.5. Materiales fotosensibles* 38
     - *4.3.6. Dispositivos electrónicos* 39
5. ESTRUCTURAS NANOTUBULARES CONSTITUIDAS POR α,γ-CICLOPÉPTIDOS 41
   - 5.1. Precedentes de α,γ-ciclopéptidos 42
   - 5.2. Nanotubos α,γ(Ach)-ciclopeptídicos 43
     - *5.2.1. Diseño* 44
     - *5.2.2. Estudios de dimerización en disolución* 46
     - *5.2.3. Nanotubos α,γ(Ach)-ciclopeptídicos microcristalinos* 48

III. OBJETIVOS 51

IV. α,γ(Acp)-CICLOPÉPTIDOS: HOMODÍMEROS 57

6. SÍNTESIS DEL ÁCIDO N-Boc-*cis*-3-AMINOCICLO-PENTANOCARBOXÍLICO (Boc-*cis*-γ-Acp-OH) 59

7. METODOLOGÍA SINTÉTICA DE CICLOPÉPTIDOS 63

8. α,γ(Acp)-CICLOPÉPTIDOS: FORMACIÓN DE HOMODÍMEROS 67

8.1. α,γ(Acp)-Ciclohexapéptidos 68

8.2. Control del diámetro interno 72

8.2.1. α,γ(Acp)-Ciclooctapéptidos 72

8.2.2. α,γ(Acp)-Ciclotetrapéptidos 74

8.2.3. α,γ(Acp)-Ciclodecapéptidos 81

8.2.4. α,γ(Acp)-Ciclododecapéptidos 82

8.2.5. α,γ(Acp)-Ciclohexadecapéptidos 87

8.3. Interacción γ–γ 89

V. α,γ-CICLOPÉPTIDOS: HETERODÍMEROS 95

9. HETEROMERIZACIÓN 97

10. SISTEMAS HETERODIMÉRICOS 101

11. FORMACIÓN DE HETERODÍMEROS α,γ-CICLOPEPTÍDICOS 110

11.1. Heterodímeros α,γ-ciclohexapeptídicos 111

11.2. Heterodímeros α,γ-ciclooctapeptídicos 119

11.3. Estudios computacionales 126

VI. α,γ-CICLOPÉPTIDOS: SISTEMAS DE TRANSFERENCIA DE ENERGÍA 129

12. SISTEMAS NATURALES DE TRANSFERENCIA DE ENERGÍA 131

13. SISTEMAS ARTIFICIALES DE TRANSFERENCIA DE ENERGÍA 140

13.1. Transferencia de energía en sistemas covalentes 140

13.2. Transferencia de energía en sistemas no covalentes 141

13.3. Fluorescencia como herramienta en sistemas artificiales de transferencia de energía 147

13.3.1. Introducción 147

13.3.2. Sondas fluorescentes 151

13.3.3. Formación de excímeros y exciplejos 153

13.3.4. Transferencia de energía por resonancia de fluorescencia (FRET) 159

14. SISTEMAS α,γ-CICLOPEPTÍDICOS DE TRANSFERENCIA DE ENERGÍA 163

14.1. Diseño y síntesis 164

14.2. Estudios de fluorescencia en estado estacionario 169

14.2.1. Homodimerización: formación de excímeros 169

14.2.2. Heterodimerización: transferencia de energía por resonancia de fluorescencia (FRET) 173

14.3. Estudios de fluorescencia con resolución temporal 178

14.3.1. Homodimerización: formación de excímeros 178

14.3.2. Heterodimerización: transferencia de energía por resonancia de fluorescencia (FRET) 180

VII. α,γ-CICLOPÉPTIDOS: SISTEMAS DE TRANSFERENCIA DE ELECTRONES 183

15. SISTEMAS NATURALES DE TRANSFERENCIA DE ELECTRONES 185

16. SISTEMAS ARTIFICIALES DE TRANSFERENCIA DE ELECTRONES 189

16.1. Transferencia de electrones en sistemas covalentes 189

16.2. Transferencia de electrones en sistemas no covalentes 196

16.3. Transferencia de electrones fotoinducida (PET) 207

17. SISTEMAS α,γ-CICLOPEPTÍDICOS DE TRANSFERENCIA DE ELECTRONES 211

17.1. Diseño y síntesis 211

17.2. Estudios electroquímicos 225

17.2.1. Voltametría cíclica 225

17.2.2. Voltametría de pulso diferencial 230

17.2.3. Medidas voltamétricas de sistemas α,γ-ciclopeptídicos 232

17.3. Estudios de fluorescencia 237

17.4. Estudios fotofísicos 242

17.4.1. Espectroscopía de absorción transitoria 242

VIII. α,γ-CICLOPÉPTIDOS: RESTRICCIÓN CONFORMACIONAL 251

18. DISEÑO *DE NOVO* 253

19. RESTRICCIÓN CONFORMACIONAL PEPTÍDICA 258

19.1. Introducción 258

19.2. Estrategias para la obtención de motivos estructurales definidos 260

19.2.1. Uniones covalentes 260

19.2.2. Sitios de coordinación con metales 261

19.2.3. Residuos no naturales ... 262

19.2.4. Modificación del esqueleto peptídico ... 264

20. α,γ-CICLOPÉPTIDOS: RESTRICCIÓN CONFORMACIONAL MEDIANTE UNIONES COVALENTES ... 266

20.1. Reacciön de acoplamiento de Sonogashira ... 267

20.2. Síntesis de N-(ω-aril)-α-aminoácidos ... 269

20.2.1. Síntesis de L-N-Boc-propargilalanina ... 269

20.2.2. Acoplamiento de Sonogashira de L-N-Boc-propargilalanina con haloarilos de distinta naturaleza electrónica ... 269

20.3. Síntesis de C_α-(ω-aril)-α-aminoácidos ... 272

20.3.1. Síntesis de propargil- y homopropargilglicinas ... 272

20.3.2. Acoplamiento de Sonogashira de propargil- y homopropargilglicinas con haloarilos de distinta naturaleza electrónica ... 275

20.3.3. Reducción de Cα-(ω-arilalquinil)-α-aminoácidos ... 277

20.3.4. Acoplamiento de Sonogashira seguido de hidrogenación (one-pot) ... 279

20.4. Estructuras diméricas covalentes basadas en α,γ-ciclopéptidos ... 281

20.4.1. Estructuras homodiméricas covalentes: interacción α–α ... 281

20.4.2. Estructuras homodiméricas covalentes: interacción γ–γ ... 283

21. α,γ-CICLOPÉPTIDOS: RESTRICCIÓN CONFORMACIONAL MEDIANTE COORDINACIÓN METÁLICA ... 287

21.1. Diseño y síntesis ... 287

21.2. Estudios de coordinación ... 296

21.2.1. Valoraciones UV-Vis ... 298

21.2.2. Espectroscopia de ^{1}H RMN ... 306

21.2.3. Espectroscopia de CD ... 308

IX. α,γ-CICLOPÉPTIDOS: FUNCIONALIZACIÓN DE LA CAVIDAD INTERNA ... 311

22. GLICOSAMINOÁCIDOS (AAas) ... 313

23. DISEÑO Y APLICACIONES DE ESTRUCTURAS CONSTITUIDAS POR GLICOSAMINOÁCIDOS ... 315

23.1. Soportes glicosaminoacídicos ... 316

23.2. Miméticos de carbohidratos ... 317

23.2.1. Oligómeros lineales ... 317

21.2.2. Oligómeros cíclicos ... 318

23.3. Peptidomiméticos basados en carbohidratos 319

23.3.1. Miméticos de giros 319

21.3.2. Péptidos activos biológicamente 319

23.4. Nanotubos cicloglicosaminopeptídicos 320

24. α,γ(Agl)-CICLOPÉPTIDOS 322

24.1. Síntesis de precursores del ácido 1-aminoglucurónico (γ-Agl) 323

24.2. Síntesis de α,γ(Agl)-ciclopéptidos 324

24.2.1. 3α,1γ(Agl)-ciclooctapéptidos 324

24.2.2. α,γ(Agl)-ciclooctapéptidos 329

X. CONCLUSIONES 333

XI. PARTE EXPERIMENTAL 345

25. MATERIALES Y MÉTODOS 347

25.1. General 347

25.2. Síntesis peptídica 348

25.3. Cromatografía 348

25.3.1. Cromatografía en capa fina 348

25.3.2. Cromatografía en columna 350

25.3.3. Cromatografía de intercambio iónico 349

25.3.4. Cromatografía de exclusión por tamaño 349

25.3.5. Cromatografía de permeación en gel 349

25.3.6. HPLC 349

25.3.7. HPLC-MASAS 350

25.4. Determinación estructural 350

25.4.1. Espectroscopia de RMN 350

25.4.2. Espectrometría de masas 351

25.4.3. Difracción de rayos X 351

25.4.4. Espectroscopia de FT-IR 351

25.4.5. Medidas termodinámicas 352

25.4.6. Medidas de fluorescencia 352

25.4.7. Medidas electroquímicas 352

25.4.8. Medidas fotofísicas 352

25.4.9. Otros 353

26. PROCEDIMIENTOS EXPERIMENTALES 355

26.1. α-Aminoácidos 355

26.1.1. Síntesis de L-N-Boc-N-propargilalanina 355

26.1.2. Síntesis de DL-N-Boc-propargilglicina 355

26.1.3. Síntesis de ácido DL-N-acetil-2-aminohex-5-inoico 357

26.1.4. Resolución enzimática de los (homo)propargilderivados 358

26.1.5. Síntesis de L-N-Boc-N-(hetero)arilpropargilalaninas 359

26.1.6. Síntesis de DL-N-Boc-(hetero)arilpropargilglicinas 361

26.1.7. Síntesis de ácidos DL-N-acetil-(hetero)aril-2-aminopent-4-inoicos 361

26.1.8. Síntesis de ácidos DL-N-acetil-(hetero)aril-2-aminohex-5-inoicos 363

26.1.9. Semi-hidrogenación de aminoácidos (hetero)arilpropargilados 364

26.1.10. Hidrogenación de aminoácidos (hetero)arilpropargilados 365

26.1.11. Acoplamiento de Sonogashira seguido de hidrogenación (One-pot) 366

26.1.12. Otros α-aminoácidos 366

26.2. γ-Aminoácidos 369

26.2.1. Síntesis de derivados del ácido 3-aminociclopentanocarboxílico 369

26.2.2. Síntesis de derivados del ácido 3-aminociclohexanocarboxílico 372

26.2.3. Síntesis de derivados del ácido 2,3,4-tri-O-acetil-1-azido-1-desoxi-β-D-glucopiranoico 375

26.3. Dipéptidos 376

26.3.1. Dipéptidos derivados del ácido 3-aminociclopentanocarboxílico 376

26.3.2. Dipéptidos derivados del ácido 3-aminociclohexanocarboxílico 378

26.3.3. Dipéptidos derivados del ácido 2,3,4-tri-O-acetil-1-azido-1-desoxi-β-D-glucopiranoico 381

26.3.4. Otros dipéptidos 383

26.4. Tetrapéptidos 383

26.4.1. Tetrapéptidos derivados del ácido 3-aminociclopentanocarboxílico 383

26.4.2. Tetrapéptidos derivados del ácido 3-aminociclohexanocarboxílico 385

26.4.3. Tetrapéptidos híbridos Acp/Ach 386

26.4.4. Tetrapéptidos derivados del ácido 2,3,4-tri-O-acetil-1-azido-1-desoxi-β-D-glucopiranoico 387

26.5. Hexapéptidos 389

2.5.1. Hexapéptidos derivados del ácido 3-aminociclopentanocarboxílico 389

2.5.2. Hexapéptidos derivados del ácido 3-aminociclohexanocarboxílico 391

26.6. Octapéptidos 392

2.6.1. Octapéptidos derivados del ácido 3-aminociclopentanocarboxílico 392

2.6.2. Octapéptidos derivados del ácido 3-aminociclohexanocarboxílico 393

2.6.3. Octapéptidos derivados del ácido 2,3,4-tri-O-acetil-1-azido-1-desoxi-β-D-glucopiranoico 394

26.7. Decapéptidos 396

2.7.1. Decapéptidos derivados del ácido 3-aminociclopentanocarboxílico 396

26.8. Dodecapéptidos 397

2.8.1. Dodecapéptidos derivados del ácido 3-aminociclopentanocarboxílico 397

2.8.2. Dodecapéptidos derivados del ácido 3-aminociclohexanocarboxílico 398

26.9. Hexadecapéptidos 398

2.9.1. Hexadecapéptidos derivados del ácido 3-aminociclopentano-carboxílico 398

26.10. Ciclotetrapéptidos 399

26.10.1. Ciclotetrapéptidos derivados del ácido 3-aminociclopentano-carboxílico 399

26.10.2. Ciclotetrapéptidos híbridos Acp/Ach 400

26.11. Ciclohexapéptidos 401

26.11.1. Ciclohexapéptidos derivados del ácido 3-aminociclopentano-carboxílico 401

26.11.2. Ciclohexapéptidos derivados del ácido 3-aminociclohexano-carboxílico 405

26.12. Ciclooctapéptidos 409

26.12.1. Ciclooctapéptidos derivados del ácido 3-aminociclopentano-carboxílico 409

26.12.2. Ciclooctapéptidos derivados del ácido 3-aminociclohexano-carboxílico 412

26.12.3. Ciclooctapéptidos derivados del ácido 2,3,4-tri-O-acetil-1-azido-1-desoxi-β-D-glucopiranoico 416

26.13. Ciclodecapéptidos 418

26.13.1. Ciclodecapéptidos derivados del ácido 3-aminociclopentano-carboxílico 418

26.14. Ciclododecapéptidos 419

26.14.1. Ciclododecapéptidos derivados del ácido 3-aminociclopentano-carboxílico 419

26.14.2. Ciclododecapéptidos derivados del ácido 3-aminociclohexano-carboxílico ... 420

26.15. Ciclohexadecapéptidos ... 421

26.15.1. Ciclohexadecapéptidos derivados del ácido 3-aminociclopentano-carboxílico ... 421

26.16. Dímeros covalentes ... 422

26.16.1. Dímeros covalentes derivados del ácido 3-aminociclopentano-carboxílico ... 422

26.16.2. Dímeros covalentes derivados del ácido 3-aminociclohexano-carboxílico ... 422

XII. ANEXOS ... 423

27. ESPECTROS DE RMN ... 425

27.1. General ... 425

27.2. α-Aminoácidos ... 426

27.2.1. Síntesis de N-Boc-N-propargilalanina ... 426

27.2.2. Síntesis de N-Boc-propargilglicina ... 427

27.2.3. Síntesis de ácido N-acetil-DL-2-aminohex-5-inoico ... 432

27.2.4. Síntesis de N-Boc-N-(hetero)arilpropargilalaninas ... 435

27.2.5. Síntesis de N-Boc-(hetero)arilpropargilglicinas ... 437

27.2.6. Síntesis de ácidos N-acetil-DL-(hetero)aril-2-aminopent-4-inoicos ... 438

27.2.7. Síntesis de ácidos N-acetil-DL-(hetero)aril-2-aminohex-5-inoicos ... 442

27.2.8. Semi-hidrogenación de aminoácidos (hetero)arilpropargilados ... 445

27.2.9. Hidrogenación de aminoácidos (hetero)arilpropargilados ... 446

27.2.10. Otros α-aminoácidos ... 447

27.3. γ-Aminoácidos ... 452

27.3.1. Síntesis de derivados del ácido 3-aminociclopentanocarboxílico ... 452

27.3.2. Síntesis de derivados del ácido 3-aminociclohexanocarboxílico ... 459

27.3.3. Síntesis de derivados del ácido 2,3,4-tri-O-acetil-1-azido-1-desoxi-β-D-glucopiranoico ... 462

27.4. Dipéptidos ... 465

27.4.1. Dipéptidos derivados del ácido 3-aminociclopentanocarboxílico ... 465

27.4.2. Dipéptidos derivados del ácido 3-aminociclohexanocarboxílico ... 470

27.4.3. Dipéptidos derivados del ácido 2,3,4-tri-O-acetil-1-azido-1-desoxi-β-D-glucopiranoico ... 475

27.4.4. Otros dipéptidos 477

27.5. Tetrapéptidos 478

27.5.1. Tetrapéptidos derivados del ácido 3-aminociclopentanocarboxílico 478

27.5.2. Tetrapéptidos derivados del ácido 3-aminociclohexanocarboxílico 480

27.5.3. Tetrapéptidos híbridos Acp/Ach 481

27.5.4. Tetrapéptidos derivados del ácido 2,3,4-tri-O-acetil-1-azido-1-desoxi-β-D-glucopiranoico 482

27.6. Hexapéptidos 485

27.6.1. Hexapéptidos derivados del ácido 3-aminociclopentanocarboxílico 485

27.6.2. Hexapéptidos derivados del ácido 3-aminociclohexanocarboxílico 488

27.7. Octapéptidos 490

27.7.1. Octapéptidos derivados del ácido 3-aminociclopentanocarboxílico 490

27.7.2. Octapéptidos derivados del ácido 2,3,4-tri-O-acetil-1-azido-1-desoxi-β-D-glucopiranoico 491

27.8. Decapéptidos 493

3.8.1. Decapéptidos derivados del ácido 3-aminociclopentanocarboxílico 493

27.9. Dodecapéptidos 494

3.9.1. Dodecapéptidos derivados del ácido 3-aminociclopentanocarboxílico 494

3.9.2. Dodecapéptidos derivados del ácido 3-aminociclohexanocarboxílico 495

27.10. Hexadecapéptidos 496

27.10.1. Hexadecapéptidos derivados del ácido 3-aminociclopentano-carboxílico 496

27.11. Ciclotetrapéptidos 497

27.11.1. Ciclotetrapéptidos derivados del ácido 3-aminociclopentano-carboxílico 497

27.11.2. Ciclotetrapéptidos híbridos Acp/Ach 499

27.12. Ciclohexapéptidos 501

27.12.1. Ciclohexapéptidos derivados del ácido 3-aminociclopentano-carboxílico 501

27.12.2. Ciclohexapéptidos derivados del ácido 3-aminociclohexano-carboxílico 521

27.13. Ciclooctapéptidos 541

27.13.1. Ciclooctapéptidos derivados del ácido 3-aminociclopentano-carboxílico 541

27.13.2. Ciclooctapéptidos derivados del ácido 3-aminociclohexano-carboxílico 545

27.13.3. Ciclooctapéptidos derivados del ácido 2,3,4-tri-O-acetil-1-azido-1-desoxi-β-D-glucopiranoico 562

27.14. Ciclodecapéptidos 571

27.14.1. Ciclodecapéptidos derivados del ácido 3-aminociclopentano-carboxílico 571

27.15. Ciclododecapéptidos 574

27.15.1. Ciclododecapéptidos derivados del ácido 3-aminociclopentano-carboxílico 574

27.15.2. Ciclododecapéptidos derivados del ácido 3-aminociclohexano-carboxílico 579

27.16. Ciclohexadecapéptidos 580

27.16.1. Ciclohexadecapéptidos derivados del ácido 3-aminociclopentano-carboxílico 580

27.17. Dímeros coordinados metálicamente 582

27.17.1. Complejo 1:1 sándwich ***DABCO⊂D*****$_{96}$** 582

27.17.2. Complejo 2:1 sándwich ***DABCO⊂D*****$_{97}$** 583

27.18. Tablas resumen 584

28. FORMACIÓN DE HETERODÍMEROS CICLOPEPTÍDICOS 585

28.1. General 585

28.2. Heterodímeros ciclohexapeptídicos 586

28.2.1. Heterodímero ciclohexapeptídico Acp/Ach ***D*****$_{20/32}$** 586

28.2.2. Heterodímero ciclohexapeptídico Acp/Acp ***D*****$_{20/33}$** 590

28.2.3. Heterodímero ciclohexapeptídico Acp/Ach ***D*****$_{33/32}$** 593

28.2.4. Heterodímero ciclohexapeptídico Acp/Ach ***D*****$_{46/48}$** 597

28.2.5. Heterodímero ciclohexapeptídico Acp/Ach ***D*****$_{46/50}$** 600

28.3. Heterodímeros ciclooctapeptídicos 601

28.3.1. Heterodímero ciclooctapeptídico Acp/Ach ***D*****$_{21/34}$** 601

28.3.2. Heterodímero ciclooctapeptídico Acp/Ach ***D*****$_{21/35}$** 605

28.3.3. Heterodímero ciclooctapeptídico Acp/Ach ***D*****$_{21/36}$** 606

29. ANÁLISIS MEDIANTE DIFRACCIÓN DE RAYOS X 607

29.1. General 607

29.2. Preparación de cristales 607

29.2.1. Ciclohexapéptidos derivados del ácido 3-aminociclopentano-carboxílico 607

29.2.2. Ciclooctapéptidos derivados del ácido 3-aminociclopentano-carboxílico 241

29.2.3. Heterodímeros ciclohexapeptídicos Acp/Ach 608

29.3. Datos cristalográficos 607

29.3.1. Ciclohexapéptidos derivados del ácido 3-aminociclopentano-carboxílico 607

29.3.2. Ciclooctapéptidos derivados del ácido 3-aminociclopentano-carboxílico 615

29.3.3. Heterodímeros ciclohexapeptídicos Acp/Ach 625

29.4. Tablas resumen 632

30. ESPECTROS DE FT-IR 633

30.1. General 633

30.2. Ciclotetrapéptidos 633

30.2.1. Ciclotetrapéptidos derivados del ácido 3-aminociclopentano-carboxílico 633

30.3. Ciclohexapéptidos 634

30.3.1. Ciclohexapéptidos derivados del ácido 3-aminociclopentano-carboxílico 634

30.3.2. Ciclohexapéptidos derivados del ácido 3-aminociclohexano-carboxílico 635

30.4. Ciclooctapéptidos 636

30.4.1. Ciclooctapéptidos derivados del ácido 3-aminociclopentano-carboxílico 636

30.4.2. Ciclooctapéptidos derivados del ácido 3-aminociclohexano-carboxílico 637

30.5. Ciclodecapéptidos 639

30.5.1. Ciclodecapéptidos derivados del ácido 3-aminociclopentano-carboxílico 639

30.6. Ciclododecapéptidos 639

30.6.1. Ciclododecapéptidos derivados del ácido 3-aminociclopentano-carboxílico 639

30.7. Heterodímeros ciclopeptídicos 640

30.7.1. Heterodímeros ciclohexapeptídicos Acp/Ach 640

30.7.2. Heterodímeros ciclohexapeptídicos Acp/Acp 641

30.7.3. Heterodímeros ciclooctapeptídicos Acp/Ach 641

30.8. Tablas resumen 642

6.8.1. Tabla resumen homodímeros ciclopeptídicos 642

6.8.2. Tabla resumen heterodímeros ciclopeptídicos 643

31. MEDIDAS TERMODINÁMICAS 645

31.1. General 645

31.2. Ciclotetrapéptidos 645

31.2.1. Ciclotetrapéptidos derivados del ácido 3-aminociclopentano-carboxílico 645

31.2.2. Ciclotetrapéptidos híbridos Acp/Ach 648

31.3. Tablas resumen 650

32. MEDIDAS DE FLUORESCENCIA 651

32.1. General 651

32.2. Modelo de red supramolecular multicomponente 651

32.3. Homodímeros ciclohexapeptídicos 652

32.3.1. Homodímero ciclohexapeptídico Ach/Ach $\boldsymbol{D_{39}}$ ***[E]**: formación de excímeros* 652

32.4. Heterodímeros ciclohexapeptídicos 653

32.4.1. Heterodímero ciclohexapeptídico Acp/Ach $\boldsymbol{D_{40/39}}$*: extinción (quenching) de excímeros* 653

32.4.2. Heterodímero ciclohexapeptídico Acp/Ach $\boldsymbol{D_{42/39}}$*: FRET* 654

32.4.3. Heterodímero ciclohexapeptídico Acp/Ach $\boldsymbol{D_{42/37}}$*: extinción (quenching) de FRET* 655

32.4.4. Heterodímero ciclohexapeptídico Acp/Ach $\boldsymbol{D_{46/50}}$*: extinción (quenching) de la fluorescencia de fullereno* 656

32.5. Estudios de fluorescencia con resolución temporal (*time-resolved*) 657

32.6. Estudios de decaimiento de la fluorescencia 658

32.7. Solapamiento espectral dapoxilo/pireno 659

32.8. Tablas resumen 660

32.8.1. Tabla resumen de constantes de asociación calculadas mediante estudios de fluorescencia 660

32.8.2. Tabla resumen de tiempos de vida calculados mediante fluorescencia con resolución temporal 661

32.8.3. Tabla resumen de tiempos de vida calculados mediante decaimiento de la fluorescencia 661

32.8.4. Tabla resumen de bandas de emisión de fluorescencia 662

33. MEDIDAS ELECTROQUÍMICAS 663
33.1. General 663
33.2. Sistemas de referencia 663
33.2.1. Referencia C_{60} 663
33.2.2. Referencia TTF 664
33.2.3. Referencia TTF-CO_2Me 664
*33.2.4. Referencia TTF-CO_2H (**47**)* 664
33.2.5. Referencia exTTF 665
33.2.6. Referencia exTTF-CO_2Me 665
*33.2.7. Referencia exTTF-CO_2H (**49**)* 665
33.3. Homodímeros ciclohexapeptídicos 666
*33.3.1. Homodímero ciclohexapeptídico Ach/Ach **D_{44}*** 666
*33.3.2. Homodímero ciclohexapeptídico Acp/Acp **D_{46}*** 667
*33.3.3. Homodímero ciclohexapeptídico Ach/Ach **D_{48}*** 668
*33.3.4. Homodímero ciclohexapeptídico Ach/Ach **D_{50}*** 669
33.4. Heterodímeros ciclohexapeptídicos 670
*33.4.1. Heterodímero ciclohexapeptídico Acp/Ach **$D_{46/48}$*** 670
*33.4.2. Heterodímero ciclohexapeptídico Acp/Ach **$D_{46/48}$*** 671
33.5. Figuras resumen 672
33.6. Tablas resumen 672
34. MEDIDAS FOTOFÍSICAS 673
34.1. General 673
34.2. Homodímeros ciclohexapeptídicos 673
*34.2.1. Homodímero ciclohexapeptídico Acp/Acp **D_{46}*** 673
*34.2.2. Homodímero ciclohexapeptídico Ach/Ach **D_{50}*** 674
34.3. Heterodímeros ciclohexapeptídicos 675
*34.3.1. Heterodímero ciclohexapeptídico Acp/Ach **$D_{46/50}$*** 675
35. ESPECTROS DE UV 677
35.1. General 677
35.2. α-Aminoácidos 677
35.2.1. N-Boc-(hetero)arilpropargilglicinas 677
35.2.2. N-Boc-(hetero)arilpropargilglicinas semi-hidrogenadas 678
35.2.3. N-Boc-(hetero)arilpropargilglicinas hidrogenadas 678

35.3. Ciclohexapéptidos 679

35.3.1. Ciclohexapéptidos derivados del ácido 3-aminociclopentano-carboxílico 679

35.3.2. Ciclohexapéptidos derivados del ácido 3-aminociclohexano-carboxílico 680

35.4. Heterodímeros ciclopeptídicos Acp/Ach 681

35.4.1. Heterodímeros ciclohexapeptídicos Acp/Ach 681

35.5. Tablas resumen 682

ABREVIATURAS

a	actividad
A	amperio
Aa	aminoácido
AAa	azucaraminoácido o glicosaminoácido [SAA *(Sugar Amino Acid)*]
ac	acuosa
Ac	acetilo
Aca	aminocicloalcanocarboxilo
ACh	acetilcolina
Ach	aminociclohexanocarboxilo
AcOEt	acetato de etilo
AcOH	ácido acético
Acp	aminociclopentanocarboxilo
ADN	ácido desoxirribonucleico
ADP	adenosín difosfato
Ala	alanina
AmPir	aminopireno
AmBu	aminobutilo
AP-1	proteína activadora 1
aPP	polipéptido aviar pancreático (*avian Pancreatic Polipeptide*)
Ar	arilo
ATP	adenosín trifosfato
BChl	bacterioclorofila
BET	retrotransferencia electrónica *(Back Electron Transfer)*
BHJ	heterounión masiva *(Bulk-HeteroJunction)*
Bipy	bipiridina (Bpy)
Bn	bencilo
BN36C10	benzonafto[36]corona-10
Boc	*tert*-butoxicarbonilo
$(Boc)_2O$	anhídrido de di-*tert*-butoxicarbonilo

BPDC	bifenil-4,4'-dicarboxilato
Bu	butilo
BZ	benzodiazepina
c	cuadruplete
CaM	calmodulina
cAMP	adenosín monofosfato cíclico
ccf	cromatografía de capa fina
CCl_4	tetracloruro de carbono
CCT	chaperonina citosólica eucariótica
ccw	en sentido contrario a las agujas del reloj *(counter-clockwise)*
CD	dicroísmo circular *(Circular Dichroism)*
$CDCl_3$	cloroformo deuterado
CDDP	ciclododecapéptido
CDP	ciclodecapéptido
CFP	proteína fluorescente ciano *(Cyan Fluorescent Protein)*
Cha	ciclohexilalanina
$CHCl_3$	cloroformo
CH_2Cl_2	diclorometano (DCM)
CH_3CN	acetonitrilo
CHDP	ciclohexadecapéptido
Chl	clorofila *(Chlorophyll)*
CHP	ciclohexapéptido
CNT	nanotubo de carbono *(Carbon NanoTube)*
COF	esqueleto orgánico covalente *(Covalent Organic Framework)*
COP	ciclooctapéptido
COSY	espectroscopia de correlación *(Correlation Spectroscopy)*
CP	ciclopéptido *(Cyclic Peptide)*
CR	recombinación de cargas *(Charge Recombination)*
CS	separación de cargas *(Charge Separation)*
CT	ciclotetrapéptido
CTV	ciclotriveratrileno
CV	voltametría cíclica *(Cyclic Voltammetry)*

cw	en el sentido de las agujas del reloj *(clockwise)*
Cys	cisteína
d	doblete
D	decaimiento/desactivación *(Deactivation)*
DAB	diaminobenceno
DABCO	1,4-diazabiciclo[2.2.2]octano
Dap	dapoxilo
Dap-OSu	éster succinimídico del ácido dapoxilo® 3-sulfonamidopropiónico
DB24C8	dibenzo[24]corona-8
DCC	*N,N'*-diciclohexilcarbodiimida
DF	fluorescencia retardada *(Delayed Fluorescence)*
DFT	teoría del funcional de la densidad *(Density Functional Theory)*
DIC	*N,N'*-diisopropilcarbodiimida
dis.	disolución
DIEA	*N,N*-diisopropiletilamina
DMAP	4-(*N,N*-dimetilamino)piridina
DME	1,2-dimetoxietano
DMF	*N,N*-dimetilformamida
DMSO	dimetilsulfóxido
DMSO-d_6	dimetilsulfóxido deuterado
DOSY	espectroscopia de difusión ordenada *(Diffusion-Ordered SpectroscopY)*
DPB	difenilbutadieno
DPNI	N,N'-di(4-piridil)-1,4,5,8-naftalenotetracarboxidiimida
DPP	polarografía de pulso diferencial *(Differential Pulse Polarography)*
4-DPPBA	ácido 4-difenilfosfinobenzoico
DPPZ	dipiridofenazina
DPV	voltametría de pulso diferencial *(Differential Pulse Voltammetry)*
DSSC	célula solar sensibilizada con colorante *(Dye-Sensitized Solar Cell)*

E	potencial
EDC	*N*-(3-dimetilaminopropil)-*N'*-etilcarbodiimida
EET	transferencia de energía de excitación *(Excitation Energy Transfer)*
EGFR	receptor de factor de crecimiento epidérmico
Em	emisión
EM	espectrometría de masas
EMAR	espectro de masas de alta resolución
E_p	potencial de pico
E_{pa}	potencial del pico anódico
E_{pc}	potencial del pico catódico
EPR	resonancia paramagnética electrónica *(Electron Paramagnetic Resonance)*
eq.	equivalente
ER	receptores de estrógeno
ESI	ionización por electrospray *(Electrospray Ionization)*
eT	transferencia de electrones *(electron Transfer)*
ET	transferencia de energía *(Energy Transfer)*
et al.	y alumnos *(et alumni)*
ETC	cadena de transporte de electrones *(Electron Transport Chain)*
Et_3N	trietilamina
Et_2O	éter etílico (dietiléter)
EtOH	alcohol etílico
eV	electronvoltio
EWG	grupo aceptor de electrones *(Electron Withdrawing Group)*
exTTF	tetratiafulvaleno π-extendido
exTTF-CO_2H	ácido *4-{[9,10-bis(1,3-ditiol-2-ilideno)-9,10-dihidroantracen-2-il]-metiloximetil}benzoico*
F	fluorescencia
FAB	bombardeo con átomos rápidos *(Fast Atom Bombardment)*
FAD	flavina adenina dinucleótido (forma oxidada)
$FADH_2$	flavina adenina dinucleótido (forma reducida)

Fc	ferroceno
Fd	ferredoxina
Felix	asociación de cuatro hélices *(Four-helix bundle)*
FET	transistor de efecto de campo *(Field-Effect Transistor)*
Fm	9-Fluorenilmetil
FMN	flavina mononucleótido (forma oxidada)
$FMNH_2$	flavina mononucleótido (forma reducida)
FNR	ferredoxina-$NADP^+$ reductasa
FRET	transferencia de energía por resonancia de fluorescencia *(Fluorescence Resonance Energy Transfer)* transferencia de energía por resonancia de Förster *(Förster Resonance Energy Transfer)*
FS	fotosistema
FT-IR	espectroscopia de Transformada de Fourier-Infrarrojo
fs	femtosegundo
FullPirr	fulleropirrolidina ($^{Pirr}C_{60}$)
FullPirr-CO_2H	ácido 4-(1-octil-3,4-fulleropirrolidin-2-il)benzoico (Fulleropirrolidina-CO_2H)
g	gramo
GABA	ácido γ-aminobutírico
GC	carbón vitrificado
GH	hormona del crecimiento *(Growth Hormone)*
Glu	ácido glutámico (o, en su forma ionizada, glutamato)
Gly	glicina
GNA	ácido nucleico glicol *(Glycol Nucleid Acid)*
GPC	cromatografía de permeación en gel (*Gel Permeation Chromatography)*
GPCR	receptor acoplado a proteína G *(G-Protein-Coupled Receptor)*
Gum	metilamina del ácido glucurónico
h	hora
H_2	hidrógeno

HAT	transportador heteromérico de aminoácidos
HATU	hexafluorofosfato de *N*-óxido de *N*-[(dimetilamino)-1*H*-1,2,3-tiazolo[4,5-b]piridin-1-il-metilen]-N-metilmetanaminio
HBTU	hexafluorofosfato de *N*-óxido de *N*-[(1*H*-benzotriazol-1-il) dimetilaminometilen]-*N*-metilmetanaminio
His	histidina
HOBt	1-hidroxibenzotriazol
HOMO	orbital molecular ocupado de más alta energía *(Highest Occupied Molecular Orbital)*
HPLC	cromatografía líquida de alta resolución
^{H}Pra	homopropargilglicina
HSMR	receptor de 7 dominios transmembrana *(Heptaspanning Membrane Receptor)*
I	intensidad
IC	conversión interna *(Internal Conversion)*
IE	impacto electrónico
IGluR	receptor ionotrópico de glutamato
IGlyR	receptor ionotrópico de glicina
Ile	isoleucina
Im	imidazol
I_{pa}	intensidad del pico anódico
I_{pc}	intensidad del pico catódico
^{i}Pr	isopropilo
IQ	ionización química
IR	infrarrojo
IRM	imagen por resonancia magnética
ISC	cruce de sistemas *(InterSystem Crossing)*
ITO	óxido de indio y estaño *(Indium Tin Oxide)*
J	constante de acoplamiento
kDa	kilodalton

kJ	kilojulio
K	Kelvin
K_a	constante de asociación
k_B	constante de Boltzmann
K_d	constante de dimerización (K_D)
K_i	constante de inhibición
LED	diodo emisor de luz *(Light-Emiting Diode)*
Leu	leucina
LHC	complejo captador de luz *(Light Harvesting Complex)*
LMCT	transferencia de carga ligando-metal *(Ligand-to-Metal Charge Transfer)*
LSV	voltametría de barrido lineal *(Linear Sweep Voltammetry)*
LUMO	orbital molecular desocupado de más baja energía *(Lowest Unoccupied Molecular Orbital)*
Lys	lisina
LTCC	canales de calcio de tipo L
m	multiplete
M	molar
$[M]^+$	ion molecular
MALDI	desorción/ionización mediante láser asistida por matriz *(Matrix Assisted Laser Desorption Ionization)*
MDMO-PPV	poli(2-metoxi-5-(3'-7'-dimetiloctiloxi)-1,4-fenilenvinileno
Me	metilo
MeOH	metanol
mg	miligramo
MHz	megahertzio
min	minuto
mL	mililitro
MLCT	transferencia de carga metal-ligando *(Metal-to-Ligand Charge Transfer)*
mM	milimolar

mmol	milimol
MOF	esqueleto metálico orgánico *(Metal Organic Framework)*
M-Por	metaloporfirina (MP)
mRR	ribonucleótido reductasa de mamífero (*mammalian ribonucleotide reductase*)]
ms	milisegundo
MT	microtúbulos
MWNT	nanotubo de pared multiple *(Multi-Walled NanoTube)*
m/z	relación masa/carga
nAChR	receptor nicotínico de acetilcolina
NAD	nicotinamida adenina dinucleótido (forma oxidada)
NADH	nicotinamida adenina dinucleótido (forma reducida)
NADP	nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (forma oxidada)
NADPH	nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (forma reducida)
NCL	ligación química nativa *(Native Chemical Ligation)*
NDI	naftalenodiimida
NIR	infrarrojo cercano
nm	nanómetro
NOESY	espectroscopia de efecto nuclear Overhauser (*Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy)*
NRD	desactivación no radiactiva *(Non-Radiative Deactivation)*
ns	nanosegundo
NUV	ultravioleta cercano
Oct	octilo
o-DCB	*orto*-diclorobenceno
OPPE	oligo-*p*-fenilenetinileno *(Oligo-p-PhenyleneEthynylene)*
OPP	oligo-*p*-fenileno *(Oligo-p-Phenylene)*
OPV	fotovoltaico orgánico *(Organic PhotoVoltaic)*
OPPV	oligo-*p*-fenilenvinileno *(Oligo-p-PhenyleneVinylene)*
Orn	ornitina
OSC	célula solar orgánica *(Organic Solar Cell)*

OT	oligotiofeno (nT)
OTF	película orgánica delgada *(Organic Thin Film)*
ox	oxidación
Ox	oxazina
P	fosforescencia
Pac	fenacilo (acetofenilo)
PBu_3	tri-*n*-butilfosfina
Pc	ftalocianina
PC	plastocianina
PCBA	ácido [6,6]-fenil-C_{61} butírico
PCBM	éster metílico del ácido [6,6]-fenil-C_{61} butírico
	1-[3-(metoxicarbonil)propil]-1-fenil-[6,6]-C_{61}]
PCR	reacción en cadena de la polimerasa
	(Polymerase Chain Reaction)
PDBA	ácido pirenodiborónico
Pd/C	paladio sobre carbón activo
PDI	3,4:9,10-bis(dicarboximida) de perileno *(Perylene Dilmide)*
PEDOT	poli(3,4-etilendioxitiofeno)
Pen	penicilamina
Per	perileno
PET	transferencia electrónica fotoinducida
	(Photoinduced Electron Transfer)
P_f	punto de fusión
ph	fenol
Ph	fenilo
Phe	fenilalanina
Phen	1,10-fenantrolina
Pheo	feofitina
Phi	9,10-fenantrenoquinona diimina
P3HT	poli(3-hexiltiofeno)
Pir	pireno
Pir-CO_2H	ácido 1-pirenoacético

Pn	pentilo
Por	porfirina (P)
p/p	peso/peso
PPE	poli-*p*-fenilenetinileno
PPir	polipireno
ppm	partes por millón
PPV	poli-*p*-fenilenvinileno
PQ	plastoquinona
Pra	propargilglicina
ps	picosegundo
PSS	poli(estireno sulfonado)
PT	politiofeno
PV	fotovoltaico *(PhotoVoltaic)*
py	piridina
Q	cociente de reacción
QD	punto cuántico *(Quantum Dot)*
R_0	radio de Förster
RAR	receptor de ácido retinoico
RARE	elemento de respuesta a ácido retinoico
RC	centro de reacción *(Reaction Center)*
RCM	ciclación por metátesis *(Ring-Closing Methatesis)*
red	reducción
RET	transferencia de energía por resonancia *(Resonance Energy Transfer)*
R_f	factor de retención
RMN	resonancia magnética nuclear
^{13}C RMN	resonancia magnética nuclear de carbono
^{1}H RMN	resonancia magnética nuclear de protón
ROESY	espectroscopia de efecto nuclear Overhauser en el plano rotatorio (*Rotational frame nuclear Overhauser Effect Spectroscopy)*

RXR	receptor de retionoides X
s	singlete
sat.	saturada
SAXS	dispersión de rayos X en ángulo pequeño *(Small-Angle X-ray Scattering)*
SBU	unidad secundaria de construcción *(Secondary Building Unit)*
SCE	electrodo estándar de calomelanos *(Standard Calomelane Electrode)*
SEC	cromatografía de exclusión por tamaño *(Size Exclusion Chromatography)*
Ser	serina
SNP	polimorfismo de nucleótido simple *(Single-Nucleotide Polymorphism)*
SPN	nanotubo peptídico autoensamblante *(Self-assembling Peptide Nanotube)*
SWNT	nanotubo de pared simple *(Single-Walled NanoTube)*
t	triplete
T	temperatura
t.a.	temperatura ambiente
TA	absorción transitoria
TAA	anisotropía de absorción transitoria
TAS	espectroscopia de absorción transitoria
TASP	proteína sintética ensamblada mediante plantilla *(Template-Assembled Synthetic Protein)*
TBA•ClO_4	perclorato de tetrabutilamonio
t-BuOK	*tert*-butóxido potásico
TBTU	tetrafluoroborato de *O*-(1*H*-benzotriazol-1-il)-*N,N,N,N'*-tetrametiluronio
TCR	receptor de antígeno en células T
TFA	ácido trifluoroacético
THF	tetrahidrofurano
Thr	treonina

TOCSY	espectroscopia de correlación total *(Total Correlation Spectroscopy)*
TOF	analizador de tiempo de vuelo *(Time of Flight)*
TOP	fotovoltaico orgánico de plantilla ordenada *(Template-ordered Organic Photovoltaic)*
T_r	tiempo de retención
truxTTF	truxeno-tetratiafulvaleno
Ts	*para*-toluensulfonilo (tosilo)
TTF	tetratiafulvaleno
TTF-CO_2H	ácido 4-(tetratiafulvalenilmetiloximetil)benzoico
UPrm	ureidopirimidona
UV	ultravioleta
V	voltio
Val	valina
V_{el}	acoplamiento electrónico
Vis	visible
VR	relajación vibracional *(Vibrational Relaxation)*
vs	*versus*
v/v	volumen/volumen
WAXS	dispersión de rayos X en ángulo grande *(Wide-Angle X-ray Scattering)*
YFP	proteína fluorescente amarillo *(Yellow Fluorescent Protein)*
Z	benciloxicarbonilo
ZC	clorofila de zinc
Zn-Por	porfirina de zinc (ZnP)

º	grado
ºC	grado Celsius
Å	angstrom
α	rotación óptica
αL	factor de cooperatividad del ligando
αP	factor de cooperatividad de la porfirina
β	factor de atenuación
β-CD	β-ciclodextrina
β-CD-St	β-ciclodextrina esteroidea
D_{Ach}	homodímero de α,γ(Ach)-ciclopéptidos
D_{Acp}	homodímero de α,γ(Acp)-ciclopéptidos
$D_{Acp/Ach}$	heterodímero de α,γ(Acp)- y α,γ(Ach)-ciclopéptidos
DL	mezcla racémica
δ	desplazamiento químico (ppm)
ΔE	amplitud del pulso
ΔH	variación de entalpía
ΔG	energía libre de Gibbs
ΔS	variación de entropía
e^-	electrón
E^0	potencial estándar del par redox
$E^{0'}$	potencial formal del par redox
$E_{1/2}$	potencial de media onda *(half-wave potential)*
E_λ	potencial de inversión
ε	coeficiente de extinción molar
ϕ	rendimiento cuántico
γ	coeficiente de actividad
γ-AAa	γ-azucaraminoácido o γ-glicosaminoácido
γ-Aca	ácido 3-aminocicloalcanocarboxílico
γ-Ach	ácido 3-aminociclohexanocarboxílico
γ-Acp	ácido 3-aminociclopentanocarboxílico
γ-Agl	ácido 2,3,4-tri-*O*-acetil-1-azido-1-desoxi-β-*D*-glucopiranurónico
γ-Ahf	ácido 4-amino-3-hidroxitetrahidrofurano-2-carboxílico

η	eficiencia
λ	longitud de onda
λ	energía de reorganización
S_n	estado de espín electrónico singlete n
S_0	estado electrónico fundamental
$S \rightarrow T$	transición singlete-triplete
ν	frecuencia
τ	tiempo de vida
T_n	estado de espín electrónico triplete n
μ	micra
μL	microlitro
μmol	micromol
μs	microsegundo
$(\pm)$	mezcla racémica
[A]	disposición alternada
[E]	disposición eclipsada



RESUMEN

La nanotecnología ha experimentado un explosivo crecimiento durante los últimos años.[i] Dicho campo se centra en la preparación, caracterización y utilización de estructuras por debajo de los 100 nm como nuevos materiales y dispositivos funcionales. La manipulación de materiales de tamaño inferior a los 100 nm no solo representa un tremendo desafío, sino que también constituye una excepcional oportunidad para abordar cuestiones de investigación básica que pueden conducir al desarrollo del conocimiento y fructificación de nuevas aplicaciones. El trabajo desarrollado en esta tesis doctoral se centra primordialmente en la preparación y aplicación de nuevos sistemas supramoleculares basados en unidades ciclopeptídicas, poniendo de manifiesto aún si cabe más el interés emergente que día a día despierta la nanotecnología en todo el ámbito científico.

En la primera sección de esta memoria doctoral se hace una breve revisión bibliográfica a modo de introducción sobre la importancia de la nanociencia y el estudio de materiales de tamaño nanométrico, centrándonos fundamentalmente en las estructuras tubulares. Dentro de las nanoestructuras destacan especialmente los nanotubos, debido a que presentan potenciales aplicaciones en áreas tan diversas como inclusión y separación molecular, catálisis, electrónica, óptica, quimioterapia y transporte transmembranoso.[ii] La estrategia empleada con mayor éxito para lograr la formación de estas nanoestructuras es el autoensamblaje molecular,[iii] al cual dedicaremos una especial atención por ser una herramienta esencial en la preparación de nuestros sistemas supramoleculares de estudio. En los siguientes capítulos se presenta la investigación propiamente realizada durante el periodo doctoral.

En una segunda sección se aborda el diseño, síntesis y aplicación de una nueva clase de péptidos cíclicos constituidos por α- y γ-aminoácidos. El objetivo fundamental de estas unidades es llevar a cabo el entendimiento de las bases termodinámicas y moleculares que gobiernan el proceso de autoensamblaje envuelto en la formación de nanotubos ciclopeptídicos,[iv] trabajando para ello con modelos diméricos sencillos. De este modo, un aspecto clave de este proyecto está centrado en el estudio del proceso de dimerización de ciclopéptidos constituidos por diferentes aminoácidos. Dentro de éstos, se observa que el ácido *cis*-3-aminociclopentanocarboxílico (γ-Acp) actúa como una magnífica unidad de construcción molecular (*building block*) para llevar a cabo este tipo de procesos, ya que induce la planaridad del anillo peptídico, favoreciendo así el autoensamblaje molecular. Del mismo modo, se muestra que ciclopéptidos constituidos por 4,[v] 6,[vi] 8,[vii] 10[vii], 12[vii] o 16 residuos dimerizan con elevadas constantes de asociación, lo que pone de manifiesto un control significativo del diámetro interno del nanotubo. Para lograr nuestros objetivos, es necesaria inicialmente la optimización de la síntesis de diferentes aminoácidos no naturales, tales como el propio γ-Acp, lo cual también será tratado en esta sección.[vi]

---

[i] a) Mirkin, C. A. *Small* **2005**, *1*, 14-16. b) Whitesides, G. M. *Small* **2005**, *1*, 172-179.
[ii] a) Martin, C. R.; Kohli, P. *Nature Reviews* **2003**, *2*, 29-37. b) Bong, D. T.; Clark, T. D.; Granja, J. R.; Ghadiri, M. R. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2001**, *40*, 988-1011.
[iii] Whitesides, G. M.; Mathias, J. P.; Setho, C. T. *Science* **1991**, *254*, 1312-1319.
[iv] Para nanotubos ciclopeptídicos, ver: a) Brea, R. J.; Reiriz, C.; Granja, J. R. *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39*, 1448-1456. b) Brea, R. J. "Self-assembling cyclic peptide-based nanomaterials". En *Ideas in Chemistry and Molecular Sciences: Advances in Nanotechnology, Materials and Devices*; Ed. Bruno Pignataro; Wiley-VCH: Weinheim (Alemania), **2010**, 3-22. c) Brea, R. J.; Granja, J. R. *An. Quím.* **2008**, *104*, 257-264. d) Brea, R. J.; Granja, J. R. "Self-Assembly of Cyclic Peptides in Hydrogen-Bonded Nanotubes". En *Dekker Encyclopedia of Nanoscience and Nanotechnology*; J. A. Schwarz, C. I. Contescu, K. Putyera, Eds.; Marcel Dekker: New York (Estados Unidos), **2004**, 3439-3457.
[v] a) Amorín, M.; Brea, R. J.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Heterocycles* **2006***, 67, 575-583.* b) Amorín, M.; Brea, R. J.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 4681-4684.
[vi] Brea, R. J.; Amorín, M.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2005**, *44*, 5710-5713.
[vii] Brea, R. J.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Chem. Commun.* **2007**, *31*, 3267-3269.

La siguiente sección aborda un desafío mucho más relevante como es el diseño y fabricación de una nueva clase de estructuras heterodiméricas tubulares, en donde la formación selectiva de los heterodímeros viene dada por los enlaces de hidrógeno que se producen a nivel del esqueleto peptídico.[vi]

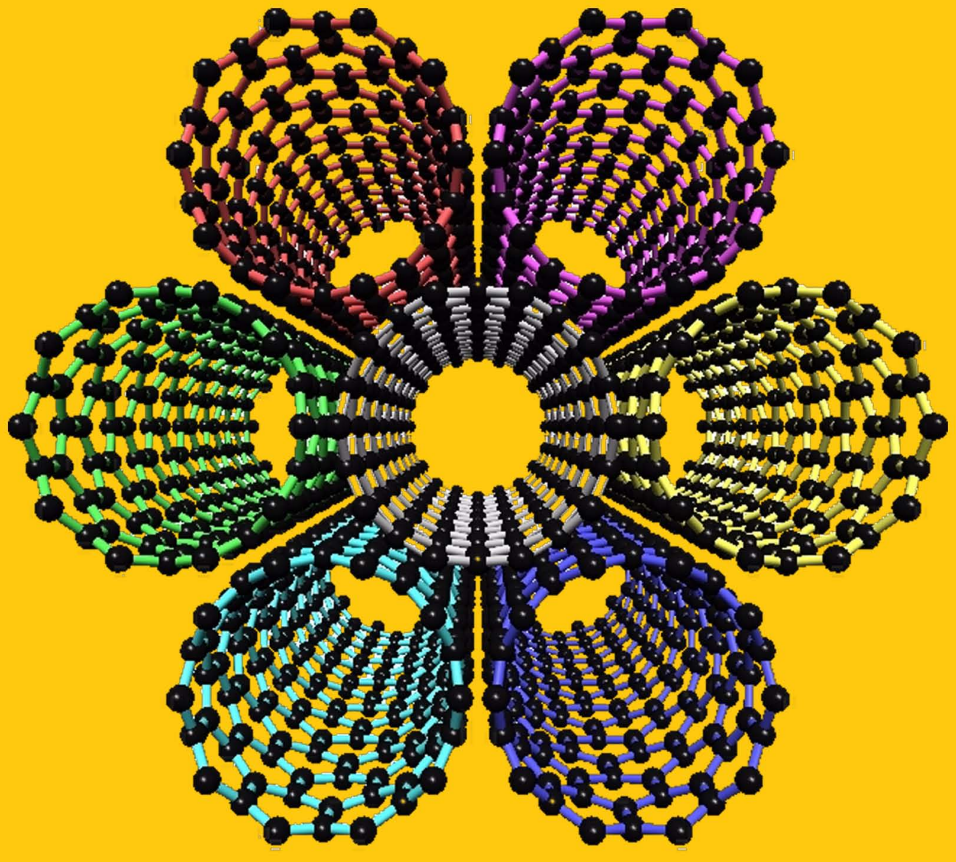
En las siguientes secciones se lleva a cabo la aplicación práctica de los sistemas previamente diseñados, lo que nos permite la preparación de novedosos sistemas de transferencia energética y/o electrónica, para los cuales es necesario disponer de ciclopéptidos adecuadamente derivatizados con grupos aceptores (dapoxilo, C_{60}) y dadores (pireno, TTF).[viii,ix]

Otro aspecto importante del trabajo doctoral es el desarrollo de una nueva metodología para llevar a cabo la modificación de aminoácidos y péptidos basada en la reacción de Sonogashira en medio acuoso.[x] La aplicación de dicha metodología al estudio de los nanotubos ciclopeptídicos nos permite la preparación de estructuras diméricas rígidas unidas covalentemente. De manera alternativa, se puede lograr la restricción conformacional de los motivos diméricos mediante la formación de complejos sándwiches intramoleculares resultantes de la coordinación metálica que tiene lugar entre subunidades ciclopeptídicas Zn-porfirínicas y el ligando divalente DABCO.[xi]

Finalmente, hacemos incidencia en la funcionalización de la cavidad interna del nanotubo mediante la introducción en la unidad ciclopeptídica de nuevos γ-aminoácidos derivados de azúcares (γ-AAas). Dichos glicosaminoácidos permiten modificar tanto las propiedades del interior del nanotubo como las de su superficie externa, lo que hace que estas nanoestructuras resulten especialmente atractivas debido a las importantes aplicaciones que se les prevén.

En resumen, la investigación recogida en esta memoria doctoral se centra fundamentalmente en el desarrollo de nuevos métodos que nos permitan llevar a cabo el control de la arquitectura molecular a escala nanométrica, y emplear las estructuras resultantes para la preparación de nuevos sistemas supramoleculares que puedan ser utilizados en diferentes campos, como la medicina, farmacología, química, biología y ciencia de materiales.[xii]

[viii] Brea, R. J.; Vázquez, M. E.; Mosquera, M.; Castedo, L.; Granja, J. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 1653-1657.
[ix] Brea, R. J.; Herranz, M. A.; Sánchez, L.; Castedo, L.; Seitz, W.; Guldi, D: M.; Martín, N.; Granja, J. R. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2007**, *104*, 5291-5294.
[x] Brea, R. J.; López-Deber, M. P.; Castedo, L.; Granja, J. R. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 7870-7873.
[xi] Hernández-Eguía, L. P.; Brea, R. J.; Castedo, L.; Ballester, P.; Granja, J. R. *Chem. Eur. J.* **2011**, *17*, 1220-1229.
[xii] Para nuevas aplicaciones de nanotubos α,γ-ciclopeptídicos, ver: a) Guerra, A.; Brea, R. J.; Amorín, M.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Org. Biomol. Chem.* **2012**, *10*, 8762-8766. b) Brea, R. J.; Pérez-Alvite, M. J.; Panciera, M.; Mosquera, M.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Chem. Asian J.* **2011**, *6*, 110-121. c) Reiriz, C.; Brea, R. J.; Arranz, R.; Carrascosa, J. L.; Garibotti, A.; Manning, B.; Valpuesta, J. M.; Eritja, R.; Castedo, L.; Granja, J. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 11335-11337. d) Brea Fernández, R. J.; Ballesteros García, P.; Granja Guillán, J. R.; Pérez Mayoral, E.; Castedo Expósito, L.; Soler Padrós, J.; Reiriz Armental, C. "Ciclopéptidos marcados magnéticamente con complejos de lantánidos", Universidad de Santiago de Compostela y Universidad Nacional de Educación a Distancia, *Número de patente:* ES 2354320 A1, *Número de solicitud:* P200801885, España, **2008**.



ESTRUCTURAS NANOTUBULARES

El estudio de materiales de tamaño nanométrico ha experimentado un espectacular incremento durante los últimos años. Actualmente, la *nanociencia*[1] ha emergido como un esfuerzo multidisciplinar, en donde el perfecto entendimiento de las propiedades ópticas, eléctricas, magnéticas y mecánicas de las nanoestructuras vislumbra una nueva generación de materiales funcionales para un gran número de aplicaciones.

La química ha jugado un papel clave en el desarrollo de la nanociencia. La formación y rotura de enlaces entre átomos o grupos de átomos es un componente fundamental de la química que permite llevar a cabo la obtención de estructuras (moléculas) cuyos tamaños varían entre 0.1 y 10 nm. El desarrollo de nuevos métodos sintéticos ha hecho posible obtener nanoestructuras con nuevas formas (esferas, barriles, cables, cubos) y composiciones (orgánicas, metálicas, óxidos, semiconductores), entre las que destacan ejemplos tan relevantes como nanocristales,[2] nanohilos,[3] copolímeros de bloque[4] y nanotubos.[5] Algunas de estas nuevas estructuras presentan importantes aplicaciones en el campo de la medicina, electrónica y ciencia de materiales debido a su empleo en el transporte de drogas, reconocimiento molecular, dispositivos ópticos y catálisis.[6]

Los nanotubos presentan un particular interés debido a sus potenciales aplicaciones (algunas de ellas inspiradas en estructuras tubulares naturales) en áreas tan diversas como inclusión y separación molecular, catálisis, electrónica, óptica, quimioterapia y transporte transmembranoso.[7] Es por ello que se han preparado numerosos nanotubos basados en zeolitas,[8] carbono grafito,[9] compuestos inorgánicos,[10] lípidos[11] y ciclodextrinas.[12] Sin embargo, en la mayoría de los casos no es posible garantizar un diámetro interno del nanotubo que sea uniforme, lo que unido a su longitud, va a ser fundamental para el desarrollo de relevantes aplicaciones.

1. NANOTUBOS DE CARBONO

Dentro de las diferentes clases de estructuras tubulares constituidas por materiales orgánicos o inorgánicos que exhiben interesantes propiedades electrónicas, mecánicas y

[1] La nanociencia incluye el estudio de objetos y sistemas en los cuales una de las dimensiones está comprendida entre 1-100 nm. a) Mirkin, C. A. *Small* **2005**, *1*, 14-16. b) Whitesides, G. M. *Small* **2005**, *1*, 172-179. c) Para terminología de nanociencia y nanotecnología, ver: Borisenko, V. E.; Ossicini, S. *What is what in the nanoworld: a handbook on nanoscience and nanotechnology*; Wiley-VCH: Weinheim (Alemania), **2004**.
[2] Murray, C. B.; Sun, S.; Gaschler, W.; Doyle, H.; Betley, T. A.; Kagan, C. R. *IBM J. Res. Dev.* **2001**, *45*, 47-56.
[3] a) Qian, C.; Kim, F.; Ma, L.; Tsui, F.; Yang, P.; Liu, J. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 1195-1198. b) Kuydendall, T.; Pauzauskie, P.; Lee, S.; Zhang, Y.; Goldberger, J.; Yang, P. *Nano Lett.* **2003**, *3*, 1063-1066. c) Lauhon, L. J.; Gudiksen, M. S.; Wang, D.; Lieber, C. M. *Nature* **2002**, *420*, 57-61.
[4] a) Lazzari, M.; López-Quintela, M. A. *Adv. Mater.* **2003**, *15*, 1583-1594. b) Krausch, G.; Magerie, R. *Adv. Mater.* **2002**, *14*, 1579-1583.
[5] a) Postma, H. W. C.; Teepen, T.; Yao, Z.; Grifoni, M.; Dekker, C. *Science* **2001**, *293*, 76-79. b) Yao, Z.; Dekker, C.; Avouris, P. *Top. Appl. Phys.* **2001**, *80*, 147-171. c) Terrones, M.; Hsu, W. K.; Kroto, H. W.; Walton, D. R. M. *Top. Curr. Chem.* **1999**, *199*, 189-234. d) Ghadiri, M. R. *Adv. Mater.* **1995**, *7*, 675-677.
[6] a) Rao, C. N. R.; Cheetham, A. K. *J. Mater. Chem.* **2001**, *11*, 2887-2894. b) Kenneth, K. *Nanoscale Mater. Chem.* **2001**, 1-13. c) Capítulo especial: "Engineering a small word". *Science* **1991**, *254*, 1300-1335.
[7] Martin, C. R.; Kohli, P. *Nature Reviews* **2003**, *2*, 29-37.
[8] Langley, P. J.; Hulliger, J. *Chem. Soc. Rev.* **1999**, *28*, 279-291.
[9] Baughman, R. H.; Zakhidov, A. A.; de Heer, W. A. *Science* **2002**, *297*, 787-792.
[10] a) Patzke, G. R.; Krumeich, F.; Nesper, R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2446-2462. b) Wolfgang, T. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 2175-2179.
[11] Huo, Q. S.; Margolese, D. I.; Ciesla, U.; Feng, P.; Gier, T. E.; Sieger, P.; Leon, R.; Petroff, P. M.; Schüth, F.; Stucky, G. D. *Nature* **1994**, *368*, 317-321.
[12] Harada, A.; Li, J.; Karachi, M. *Nature* **1993**, *364*, 516-518.

estructurales, los nanotubos de carbono (CNTs) destacan por sus diversas aplicaciones en ciencia de materiales y química medicinal.

En 1991, Ijima observó la formación de nanotubos de grafito al preparar fullerenos mediante la evaporación de carbono por descarga de un arco de corriente continua en atmósfera de argón a baja presión.[13] El descubrimiento de dichos nanotubos como una nueva forma alotrópica de carbono siguió de forma inmediata a la síntesis de fullerenos en cantidades macroscópicas,[14] por lo que desde entonces la investigación en este nuevo campo ha estado en continua evolución.[15]

Los nanotubos de carbono están constituidos por láminas de grafito, las cuales se han enrollado para dar lugar a una estructura cilíndrica. La longitud de dichos nanotubos es del orden de los micrometros, mientras que el diámetro es superior a 10 nm. Estas estructuras tubulares forman agrupaciones (*bundles*), las cuales se entremezclan en el estado sólido, dando lugar a una red altamente compleja.

Es de destacar que los nanotubos de carbono se clasifican en dos grandes grupos atendiendo al número de capas que los forman (Figura 1). Existen nanotubos de carbono formados por un solo nanotubo (SWNTs) y nanotubos formados por múltiples capas de carbono coaxiales (MWNTs). El número de capas, así como la disposición de los anillos hexagonales a lo largo de la superficie tubular, condicionan las propiedades de los nanotubos de carbono, pudiéndose comportar como conductores, semiconductores o aislantes.[16]

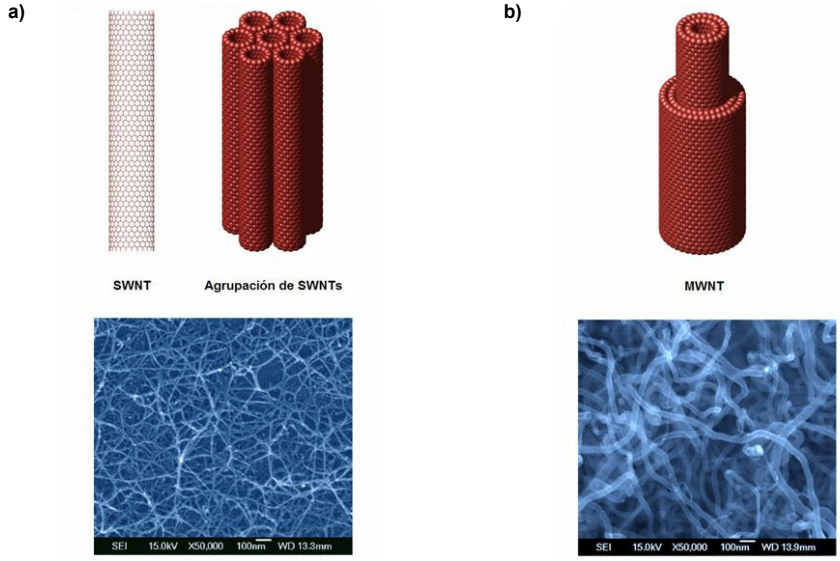


Figura 1. Tipos de nanotubos de carbono. **a)** Estructura de un nanotubo de carbono con una única capa (SWNT) y de un posible agregado (*bundle*). En la parte inferior se muestra su correspondiente imagen de microscopia electrónica de barrido (SEM). **b)** Estructura de un nanotubo de carbono con múltiples capas (MWNT). En la parte inferior se muestra su correspondiente imagen de SEM.

[13] Iijima, S. *Nature* **1991**, *354*, 56-58.
[14] Kratschmer, K.; Lamb, L. D.; Fostiropoulos, K.; Fuman, R. D. *Nature* **1990**, *347*, 354-358.
[15] a) Iijima, S. *Physica B* **2002**, *323*, 1-5. b) Guerret-Piecourt, C.; Le Bouar, Y.; Loiseau, A.; Pascard, H. *Nature* **1994**, *372*, 761-765. c) Ajayan, P. M.; Iijima, S. *Nature* **1993**, *361*, 333-334. d) Pederson, M. R.; Broughton, J. Q. *Phys. Rev. Lett.* **1992**, *69*, 2689-2692. e) Iijima, S.; Ajayan, P. M.; Ichihashi, T. *Phys. Rev. Lett.* **1992**, *69*, 3100-3103.
[16] a) Law, M.; Goldberger, J.; Yang, P. D. *Annu. Rev. Mater. Res.* **2004**, *34*, 83-122. b) Louis, S. G. *Top. Appl. Phys.* **2001**, *80*, 113-145.

Debido a sus extraordinarias propiedades, los nanotubos de carbono son considerados de gran interés en diversas aplicaciones nanotecnológicas, como biosensores, contenedores moleculares, microfibras,[17] nuevos materiales,[18] transportadores intracelulares[19] y/o dispositivos electrónicos.[20] Es por ello que en los últimos años se han desarrollado numerosas técnicas para la obtención de nuevos diseños.[21] Sin embargo, la baja solubilidad de dichas estructuras, unido a que su funcionalización controlada no ha sido totalmente optimizada, provoca que la manipulación y utilización de los nanotubos de carbono esté extremadamente limitada. De igual modo, se necesitan nuevas técnicas de purificación y caracterización que hagan que la preparación de estos nanotubos se realice de forma mucho más adecuada. Actualmente se está trabajando en dichos aspectos mediante el desarrollo de nuevas reacciones químicas y/o formación de complejos supramoleculares que permitan que los nanotubos de carbono se vuelvan más solubles, pudiéndose así integrar de manera eficiente en sistemas inorgánicos, orgánicos y biológicos.[22]

2. NANOTUBOS INORGÁNICOS

La estabilidad de la estructura tipo cilíndrica no está solamente limitada a los nanotubos de carbono, lo que ha posibilitado el estudio de otras clases de nanoestructuras tubulares dependiendo de los materiales que las componen. La posibilidad de crear nanotubos a partir de elementos de la tabla periódica próximos al carbono ha atraído la atención de numerosos investigadores.

En 1992, Tenne *et al.* llevaron a cabo el descubrimiento de cilindros moleculares cristalinos (nanotubos) constituidos por wolframio y azufre.[23] Dichas unidades WS_2 suponían el primer ejemplo de nanotubos inorgánicos y un claro impulso hacia la preparación de nuevas nanoestructuras (Figura 2a).[24] Un estudio más exhaustivo de esta nueva variedad de nanocompuestos permitió la utilización de nanotubos de WS_2 y MoS_2 como lubricantes sólidos[25] y en la preparación de nuevos materiales,[26] mientras que otros derivados MS_2 (M = Ti) presentaron diversas aplicaciones en catálisis.[27]

---

[17] Dalton, A. B.; Collins, S.; Razal, J.; Munoz, E.; Ebron, V. H.; Kim, B. G.; Coleman, J. N.; Ferraris, J. P.; Baughman, R. H. *J. Mater. Chem.* **2004**, *14*, 1-3.
[18] Edelmann, F. T. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 1381-1387.
[19] Kam, N. W. S.; Liu, Z.; Dai, H. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *45*, 577-581.
[20] a) Herranz, M. A.; Martín, N.; Campidelli, S.; Prato, M.; Brehm, G.; Guldi, D. M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 4478-4482. b) Bachtold, A.; Hadley, P.; Nakanishi, T.; Dekker, C. *Science* **2001**, *294*, 1317-1320.
[21] Rao, C. N. R.; Govindaraj, A.; Gundiah, G.; Vivekchand, S. R. C. *Chem. Eng. Sci.* **2004**, *59*, 4665-4671.
[22] a) Tasis, D.; Tagmatarchis, N.; Bianco, A.; Prato, M. *Chem. Rev.* **2006**, *106*, 1105-1136. b) Tagmatarchis, N.; Maigné, A.; Yudasaka, M.; Ijima, S. *Small* **2006**, *4*, 490-494. c) Ortiz-Acevedo, A.; Xie, H.; Zorbas, V.; Sampson, W. M.; Dalton, A. B.; Baughman, R. H.; Draper, R. K.; Musselman, I. H.; Dieckmann, G. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 9512-9517. d) Guldi, D. M.; Rahman, G. M. A.; Jux, N.; Tagmatarchis, N.; Prato, M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 5526-5530.
[23] Tenne, R.; Margulis, L.; Genut, M.; Hodes, G. *Nature* **1992**, *360*, 444-446.
[24] Para una profunda revision de nanotubos inorgánicos, ver: a) Halford, B. *C&EN* **2005**, *83*, 30-33. b) Remškar, M. *Adv. Mater.* **2004**, *16*, 1497-1504. c) Tenne, R. *Chem. Eur. J.* **2002**, *8*, 5296-5304. d) Tremel, W. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 2175-2179.
[25] a) Rapoport, L.; Fleischer, N.; Tenne, R. *J. Mater. Chem.* **2005**, *15*, 1782-1788. b) Rapoport, L.; Bilik, Y.; Feldman, Y.; Homyonfer, M.; Cohen, S. R.; Tenne, R. *Nature* **1997**, *387*, 791.
[26] a) Chen, J.; Li, S.-L.; Xu, Q.; Tanaka, K. *Chem. Commun.* **2002**, 1722-1723. b) Nordlinger, S.; Edström, K.; Gustafsson, T. *Electrochem. Solid State Lett.* **2001**, *4*, A129-A131. c) Rothschild, A.; Cohen, S. R.; Tenne, R. *Appl. Phys. Lett.* **1999**, *75*, 4025-4027.
[27] Chen, J.; Tao, Z.-L.; Li, S.-L. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 2147-2151.

Posteriormente, numerosos estudios teóricos[28] indicaron que los nanotubos de boro[29] y de nitruros de boro[30] tenían propiedades similares a los de carbono, aunque en el caso de los inorgánicos, la estructura uniforme era menos independiente de la quiralidad, repercutiendo positivamente en sus propiedades de conductividad (Figura 2b).[31] De igual modo, se encontró que estos nanotubos presentaban potenciales aplicaciones como almacenadores y sensores de H_2.[32]

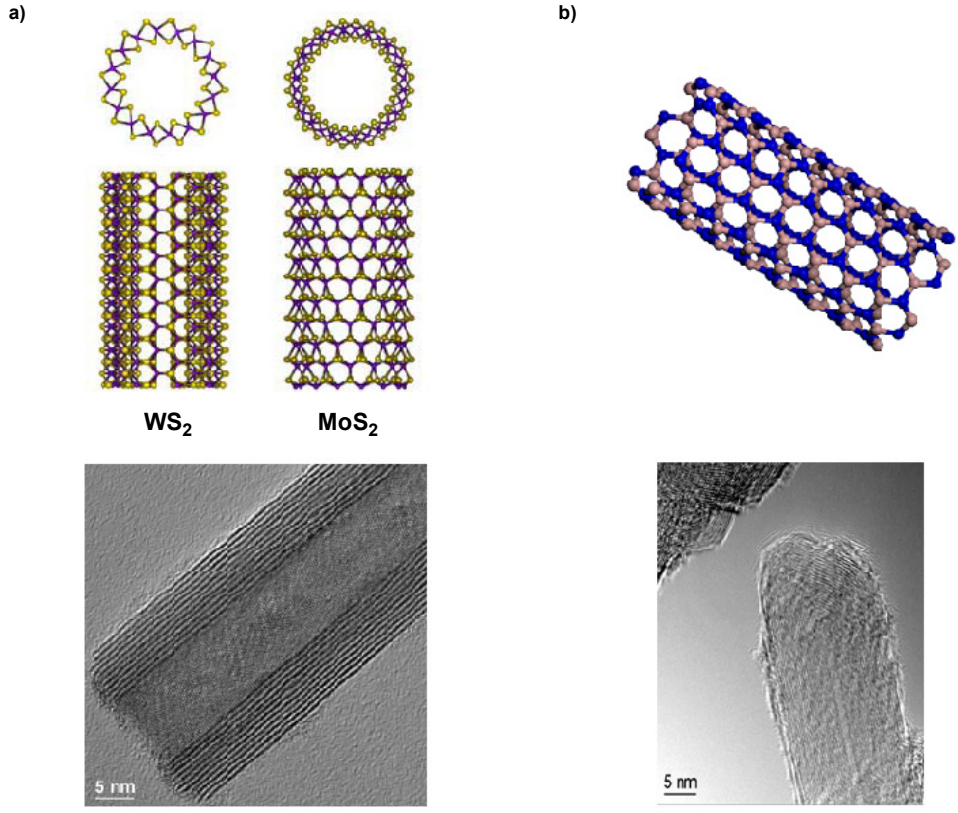


Figura 2. Ejemplos de nanotubos inorgánicos. **a)** Estructuras de nanotubos tipo MS_2 (M = W, Mo). En la parte inferior se muestra una imagen de microscopia electrónica de transmisión (TEM) de un nanotubo WS_2. **b)** Estructura de un nanotubo de nitruro de boro (BN). En la parte inferior se muestra su correspondiente imagen de TEM.

Debido al creciente interés que han despertado durante los últimos años, se han desarrollado numerosos métodos de síntesis de nanotubos inorgánicos,[33] lo que ha venido acompañado de un arduo estudio de simulación de sus estructuras y predicción de sus propiedades.[34] La mayoría de los nanotubos inorgánicos suelen estar compuestos por un

[28] a) Menon, M.; Srivastava, D. *Chem. Phys. Lett.* **1999**, *307*, 407-412. b) Rubio, A.; Corkill, J. L.; Cohen, M. L. *Phys. Rev. B* **1994**, *49*, 5081-5084.
[29] Ciuparu, D.; Klie, R. F.; Yimei, Z.; Pferfferle, L. *J. Phys. Chem. B* **2004**, *108*, 3967-3969.
[30] a) Para nanotubos BN, ver: Chopra, N. G.; Luyken, R. G.; Cherrey, K.; Crespi, V. H.; Cohen, M. L.; Louie, S. G.; Zettl, A. *Science* **1995**, *269*, 966-967. b) Para nanotubos BCN, ver: Stephan, O.; Ajayan, P. M.; Colliex, C.; Redlich, P.; Lambert, J. M.; Bernier, P.; Lefin, P. *Science* **1994**, *266*, 1683-1685.
[31] Miyamoto, Y.; Rubio, A.; Louie, S. G.; Cohen, M. L. *Phys. Rev. B.* **1994**, *50*, 18360-18366.
[32] Ma, R.; Bando, Y.; Zhu, H.; Sato, T.; Xu, C.; Wu, D. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 7672-7673.
[33] a) Tenne, R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 5125-5132. b) Rao, C. N. R.; Nath, M. *Dalton Trans.* **2003**, 1-24.
[34] Ivanovskii, A. L. *Russ. Chem. Rev.* **2002**, *71*, 175-194.

elevado número de complejos, como pueden ser sulfuros,[35] selenuros,[36] óxidos,[37] halogenuros[38] y nitruros.[39] Recientemente, se han preparado otros nanotubos inorgánicos más novedosos, entre los que destacan los de varias fases,[40] los dopados con metales,[41] los basados en silicio[42] y los metálicos.[43] Esta gran colección de nanotubos inorgánicos ha puesto de manifiesto importantes aplicaciones, entre las que destacan su utilización en el campo de la optoelectrónica y nanofluidos,[44] el transporte de iones,[45] la detección de moléculas,[46] el almacenaje de gases[47] y su empleo como intercambiadores de cationes.[48]

3. ESTRUCTURAS TUBULARES AUTOENSAMBLANTES

Debido a la complejidad que presenta la construcción de estructuras de tamaño adecuado a través de la simple formación controlada de enlaces covalentes, actualmente se ha recurrido a su preparación a partir de varias unidades sencillas que se organizan y se unen entre sí de manera espontánea mediante el establecimiento de enlaces no covalentes. Esta técnica de organización se denomina **autoensamblaje molecular**,[49] y consiste en la formación de construcciones supramoleculares a través de diversos equilibrios de asociación y disociación, los cuales conducen a la estructura termodinámicamente más estable, en donde las distintas subunidades que la conforman se encuentran unidas mediante fuerzas de enlace débil (enlaces de hidrógeno, fuerzas de van der Waals, interacciones π–π, ion-dipolo, dipolo-dipolo,…). Estas interacciones determinan muchas características físicas de las moléculas (como la solubilidad y la organización en agregados) y su explotación para la formación de estructuras con composiciones, formas y propiedades bien definidas, lo cual representa que los procesos de autoensamblaje sean una alternativa viable a la síntesis covalente. Dentro de

[35] a) Chen, J.; Li, S-L.; Tao, Z-L.; Gao, F. *Chem. Commun.* **2003**, 980-981. b) Nath, M.; Rao, C. N. R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 3451-3454. c) Nath, M.; Rao, C. N. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 4841-4842. d) Feldman, Y.; Wasserman, E.; Srolovitz, D. J.; Tenne, R. *Science* **1995**, *267*, 222-225.

[36] a) Rao, C. N. R.; Govindaraj, A. G.; Deepak, F. L.; Gunari, N. A.; Nath, M. *Appl. Phys. Lett.* **2001**, *78*, 1853-1855. b) Nath, M.; Rao, C. N. R. *Chem. Commun.* **2001**, 2236-2237.

[37] a) Yada, M.; Mihara, M.; Mouri, S.; Kuroki, M.; Kijima, T. *Adv. Mater.* **2002**, *14*, 309-313. b) Hernández, B. A.; Chang, K. S.; Fisher, E. R.; Dorhout, P. K. *Chem. Mater.* **2002**, *14*, 480-482. c) Pu, L.; Bao, X.; Zou, J.; Feng, D. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 1490-1493. d) Cheng, B.; Samulski, E. T. *J. Mater. Chem.* **2001**, *11*, 2901-2902. e) Hoyer, P. *Langmuir* **1996**, *12*, 1411-1413. f) Nakamura, H.; Matsui, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 2651-2652.

[38] Hacohen, Y. R.; Grunbaum, E.; Tenne, R.; Sloan, J.; Hutchison, J. L. *Nature* **1998**, *395*, 336-337.

[39] a) Goldberger, J.; He, R.; Zhang, Y.; Lee, S.; Yan, H.; Choi, H.-J.; Yang, P. *Nature* **2003**, *422*, 599-602. b) Li, J. Y.; Chen, X. L.; Qiao, Z. Y.; Cao, Y. G.; Li, H. *J. Mater. Sci. Lett.* **2001**, *20*, 1987-1988.

[40] a) Nath, M.; Mukhopadhyay, K.; Rao, C. N. R. *Chem. Phys. Lett.* **2002**, *352*, 163-168. b) Hsu, W. K.; Zhu, Y. Q.; Boothroyd, C. B.; Kinloch, I.; Trasobares, S.; Terrones, H.; Grobert, N.; Terrones, M.; Escudero, R.; Chen, G. Z.; Colliex, C.; Windle, A. H.; Fray, D. J.; Kroto, H. W.; Walton, D. R. M. *Chem. Mater.* **2000**, *12*, 3541-3546.

[41] a) Whitby, R. L. D.; Hsu, W. K.; Boothroyd, C. B.; Kroto, H. W.; Walton, D. R. M. *Chem. Phys. Lett.* **2002**, *359*, 121-126. b) Zhu, Y. Q.; Hsu, W. K.; Kroto, H. W.; Walton, D. R. M. *J. Phys. Chem. B* **2002**, *106*, 7623-7626. c) Remskar, M.; Skraba, Z.; Stadelmann, P.; Levy, F. *Adv. Mater.* **2000**, *12*, 814-818.

[42] Sha, J.; Niu, J.; Ma, X.; Xu, J.; Zhang, X.; Yang, Q.; Yang, D. *Adv. Mater.* **2002**, *14*, 1219-1221.

[43] a) Li, Y. D.; Wang, J. W.; Deng, Z. X.; Wu, Y. Y.; Sun, X. M.; Yu, D. P.; Yang, P. D. *J. Am. Chem.. Soc.* **2001**, *123*, 9904-9905. b) Han, C. C.; Bai, M. Y.; Lee, J. T. *Chem. Mater.* **2001**, *13*, 4260-4268. c) Hutleen, K. B.; Jirage, K. B.; Martin, C. R. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 6603-6604.

[44] Goldberger, J.; Fan, R.; Yang, P. *Acc. Chem. Res.* **2006**, *39*, 239-248.

[45] Karnik, R.; Fan, R.; Yue, M.; Li, D.; Yang, P.; Majumdar, A. *Nano Lett.* **2005**, *5*, 943-948.

[46] Fan, R.; Karnik, R.; Yue, M.; Li, D.; Majumdar, A.; Yang, P. *Nano Lett.* **2005**, *9*, 1633-1637.

[47] Varghese, O. K.; Mor, G. K.; Grimes, C. A.; Paulose, M.; Mukherjee, N. *J. Nanosci. Nanotech.* **2004**, *4*, 733-737.

[48] Reinoso, J. M.; Muhr, H.-J.; Krumeich, F.; Bieri, F.; Nesper, R. *Helv. Chim. Acta* **2000**, *83*, 1724-1733.

[49] El **autoensamblaje molecular** consiste en la asociación espontánea de moléculas dirigida por enlaces no covalentes dando lugar a estructuras termodinámicamente más estables. No se debe de confundir con la **autoorganización**, que consiste en la distribución espacial de las moléculas, átomos o iones, buscando un mínimo energético en donde las posiciones no son fijas ni están controladas por la naturaleza química de los mismos [ejemplos de autoorganización son los cristales líquidos, las micelas, emulsiones,…]. Para un amplio estudio de ambos procesos, ver: Whitesides, G. M.; Mathias, J. P.; Setho, C. T. *Science* **1991**, *254*, 1312-1319.

dichas fuerzas débiles destacan fundamentalmente los enlaces de hidrógeno debido a su direccionalidad e intensidad, lo que le confiere una mayor versatilidad en este tipo de procesos.

Durante las últimas décadas la comunidad científica ha llevado a cabo el estudio de los fundamentos de los procesos de autoensamblaje,[50] lo que ha permitido construir diversas estructuras de mayor o menor complejidad, asentando así una nueva rama de la Química conocida como **Química Supramolecular**.[51] Gracias a esta ardua investigación también se han podido establecer las bases termodinámicas de dichos procesos de autoensamblaje, lo que en muchos casos ha hecho posible la predicción de forma apropiada de la estructura supramolecular resultante.

La preparación de construcciones supramoleculares mediante procesos de autoensamblaje molecular conlleva el empleo de fuerzas de enlace débil, por lo que dichos procesos están gobernados por un conjunto de interacciones que cooperan conjuntamente. El balance energético es realmente importante, en el que la entropía adquiere un papel relevante, debido a que los procesos de autoensamblaje suponen la agregación de múltiples moléculas, siendo el factor entrópico generalmente negativo.

En los últimos años se han desarrollado estrategias altamente eficientes para la obtención de estructuras tubulares mediante enlaces no covalentes, con elevados rendimientos y un mayor o menor control del diámetro interno y de su longitud. Muchas de estas aproximaciones se han inspirado en modelos biológicos, aunque en otras ocasiones se han propuesto alternativas sintéticas altamente novedosas. Una primera estrategia consiste en el simple plegamiento (o enrollamiento) de una lámina, lo cual permite el establecimiento de un canal (Figura 3a).[52] Un segundo método se basa en la construcción de estructuras helicoidales (helicatos) a partir de moléculas lineales que se pliegan formando una hélice que deja un poro central a lo largo del eje de la misma (Figura 3b).[53] Otra alternativa emplea moléculas rígidas que a modo de listones se agrupan en torno a un orificio, formando estructuras tipo barril (Figura 3c).[54] Una cuarta estrategia se basa en la utilización de moléculas con forma sectorial (cuñas), las cuales se asocian en discos o rosetas, y que posteriormente se apilan o enrollan formando una superestructura tubular (Figura 3d).[55] Finalmente, la estrategia más reciente consiste en emplear moléculas cíclicas que se pueden apilar dando lugar a nanotubos (Figura 3e).[12,56]

---

[50] Para los estudios pioneros, ver: a) Lehn, J. M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1988**, *27*, 89-112. b) Cram, D. J. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1988**, *27*, 1009-1020. c) Pedersen, C. J. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1988**, *27*, 1021-1027.

[51] Para una visión general de la Química Supramolecular, ver: a) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2005**, *102*, 10765-10796. b) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2002**, *99*, 4762-5188. c) *Science* **2002**, *295*, 2395-2421.

[52] Esta aproximación ha sido propuesta para la formación de nanotubos de carbono a partir de grafito y para la obtención de nanotubos lipídicos mediante el enrollamiento de las correspondientes bicapas lipídicas.

[53] Para ejemplos de estructuras helicoidales obtenidas mediante esta estrategia, ver: a) Prince, R. B.; Brunsveld, L.; Meijer, E. W.; Moore, J. S. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 228-230. b) Prince, R. B.; Barnes, S. A.; Moore, J. S. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 2758-2762. c) Nelson, J. C.; Saven, J. G.; Moore, J. S. *Science* **1997**, *277*, 1793-1796. d) Moore, J. S. *Acc. Chem.* **1997**, *30*, 402-413.

[54] Para ejemplos de nanoestructuras obtenidas mediante la asociación de unidades rígidas, ver: a) Sakai, N.; Mareda, J.; Matile, S. *Acc. Chem. Res.* **2005**, *38*, 79-87. b) Taludkar, P.; Bollot, G.; Mareda, J.; Sakai, N.; Matile, S. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 6528-6529. c) Das, G.; Taludkar, P.; Matile, S. *Science* **2002**, *298*, 1600-1602. d) Aoyagi, M.; Tashiro, S.; Tominaga, M.; Biradha, K.; Fujita, M. *Chem. Commun.* **2002**, *18*, 2036-2037. e) Aoyagi, M.; Biradha, K.; Fujita, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 7457-7458.

[55] Para ejemplos de estructuras tubulares preparadas mediante el ensamblaje de moléculas con forma sectorial, ver: a) Morales, J. G.; Raez, J. Yamazaki, T.; Motkuri, K. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 8307-8309. b) Zeng, X.; Ungar, G.; Liu, Y.; Percer, V.; Dulcey, A. E.; Hobbs, J. K. *Nature* **2004**, *428*, 157-160. c) Ungar, G.; Liu, Y.; Zeng, X.; Percec, V.; Cho, W.-D. *Science* **2003**, *299*, 1208-1211. d) Hong, B. H.; Bae, S. C.; Lee, C.-W.; Jeong, S.; Kim, K. S. *Science* **2001**, *294*, 348-351. e) Gorbitz, C. H. *Chem. Eur. J.* **2001**, *7*, 5153-5159.

[56] Para ejemplos de estructuras obtenidas a partir de unidades con forma de disco, ver: a) Hartgerink, J. D.; Clark, T. D.; Ghadiri, M. R. *Chem. Eur. J.* **1998**, *4*, 1367-1372.

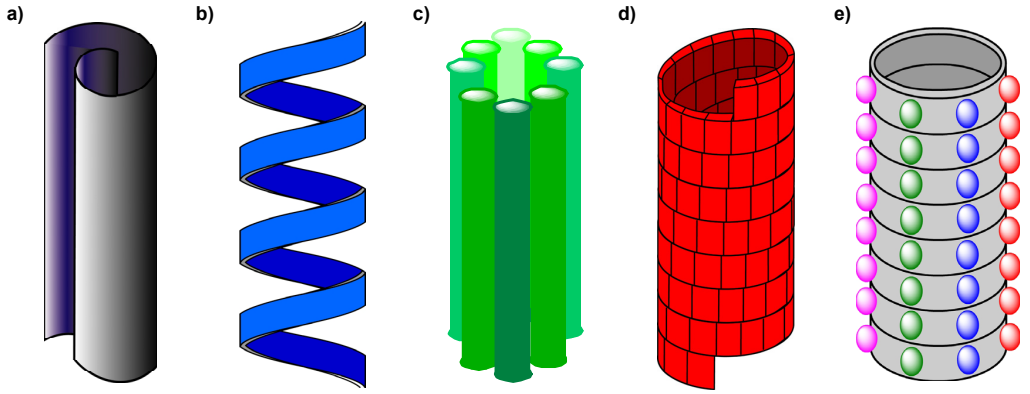


Figura 3. Estrategias para la autoorganización de componentes sencillos en forma de estructuras tubulares. **a)** Plegamiento de láminas. **b)** Plegamiento de moléculas lineales en forma de estructuras helicoidales que disponen de un canal central. **c)** Modelo tipo barril formado por el ensamblaje de moléculas rígidas. **d)** Asociación de moléculas con forma sectorial (cuña). **e)** Apilamiento de moléculas cíclicas.

El apilamiento de macrociclos para dar lugar a estructuras tubulares es particularmente atractivo debido a que el diámetro interno del nanotubo está determinado por la unidad cíclica que lo constituye, facilitando de forma sencilla el control riguroso de dicho diámetro. Esta estrategia de apilamiento de moléculas en forma de disco se emplea en la preparación de los nanotubos ciclopeptídicos.

4. NANOTUBOS CICLOPEPTÍDICOS

4.1. DISEÑO

Los nanotubos ciclopeptídicos se forman mediante el apilamiento de ciclopéptidos, entre los cuales se establecen interacciones de enlace de hidrógeno.[57] En todos ellos, el ciclopéptido adopta una conformación plana, en la cual todas las cadenas laterales de los aminoácidos presentan una orientación pseudo-ecuatorial apuntando hacia el exterior del nanotubo, mientras que los grupos amida de los enlaces peptídicos se disponen perpendicularmente al plano del anillo. De esta forma, los grupos C=O se orientan hacia una cara del ciclopéptido y los correspondientes NH se sitúan hacia la otra, de tal forma que se puedan establecer enlaces de hidrógeno entre las subunidades peptídicas debido a la complementariedad entre los grupos dadores y aceptores de enlace de hidrógeno en ambas caras del ciclopéptido (Figura 4).

[57] a) Brea, R. J.; Reiriz, C.; Granja, J. R. *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39*, 1448-1456. b) Brea, R. J. "Self-assembling cyclic peptide-based nanomaterials". En *Ideas in Chemistry and Molecular Sciences: Advances in Nanotechnology, Materials and Devices*; Ed. Bruno Pignataro; Wiley-VCH: Weinheim (Alemania), **2010**, 3-22. c) Brea, R. J.; Granja, J. R. *An. Quím.* **2008**, *104*, 257-264. d) Brea, R. J.; Granja, J. R. "Self-assembly of cyclic peptides in hydrogen-bonded nanotubes". En *Dekker Enciclopedia of Nanoscience and Nanotechnology*; Eds. Schwarz, J. A.; Contescu, C. I.; Putyera, K.; Marcel Dekker Inc.: New York (Estados Unidos), **2004**, 3439-3457. e) Bong, D. T.; Clark, T. D.; Granja, J. R.; Ghadiri, M. R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 988-1011. f) Granja, J. R.; Ghadiri, M. R. "Self-assembling peptide nanotubes". En *NMR in Supramolecular Chemistry*; Ed. Pons, M.; Kluwer Academia Publishers: Holanda, **1999**; 61-66.

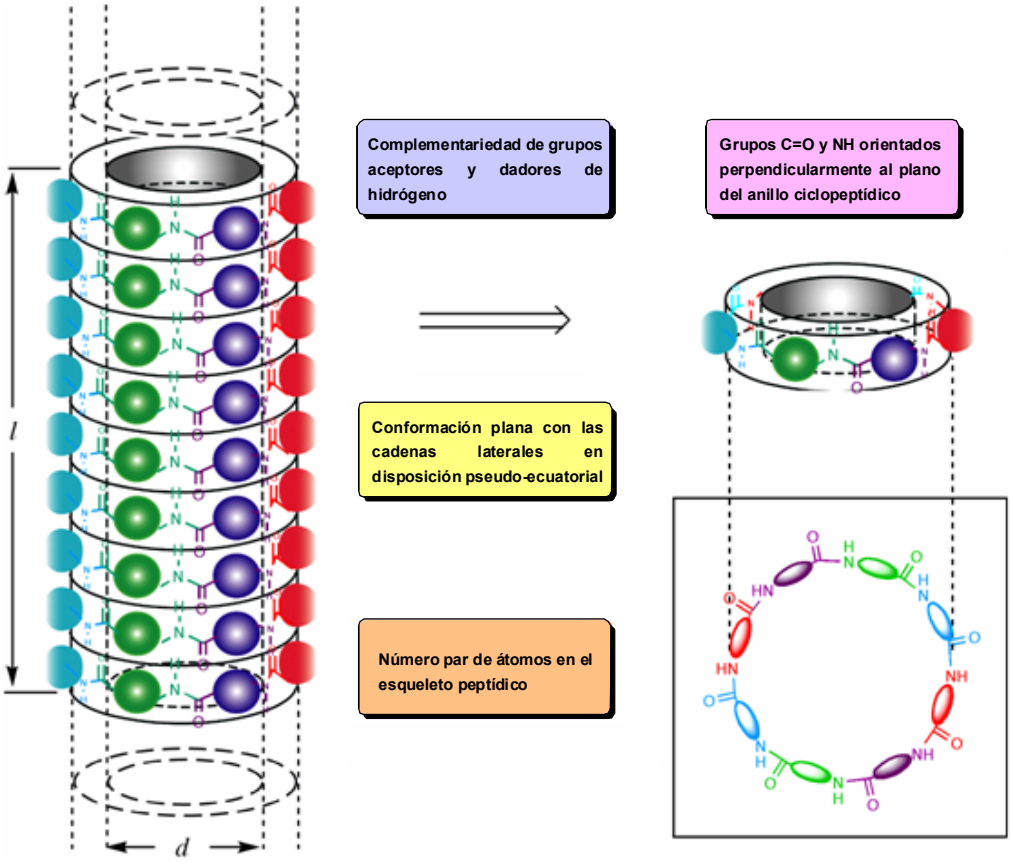


Figura 4. Representación esquemática de la estrategia general para la formación de nanotubos mediante el autoensamblaje de ciclopéptidos.

La formación de nanotubos mediante la estrategia ciclopeptídica tiene dos grandes ventajas respecto a cualquier otra. En primer lugar, el diámetro del anillo y, por lo tanto, el diámetro interno del nanotubo, puede ser fácilmente controlado mediante la variación del número de aminoácidos que constituyen cada subunidad. En segundo lugar, las propiedades de la superficie externa del nanotubo se pueden modificar de forma adecuada variando las cadenas laterales de los aminoácidos que lo componen. Así, por ejemplo, el autoensamblaje en medios lipídicos o acuosos puede ser promovido a través de la introducción en la unidad cíclopeptídica de aminoácidos con grupos hidrofóbicos o hidrofílicos, respectivamente.

El diseño apropiado del ciclopéptido y la optimización de las condiciones de autoensamblaje permiten que las estructuras tubulares resultantes adquieran aplicaciones de gran interés. Gracias a ello, los nanotubos ciclopeptídicos pueden ser usados como materiales sólidos porosos, canales iónicos, agentes antimicrobianos o biosensores.

4.2. TIPOS DE NANOTUBOS CICLOPEPTÍDICOS

La formación de nanotubos mediante el autoensamblaje de unidades ciclopeptídicas fue sugerido en 1972 por Hassall, el cual consideró que ciclotetrapéptidos compuestos por residuos alternados de α- y β-aminoácidos podrían ensamblarse para dar lugar a la correspondiente estructura tubular a través del establecimiento de enlaces de hidrógeno entre las distintas subunidades.[58] Esta hipótesis fue parcialmente verificada en 1975 mediante el análisis de la estructura cristalina del tetrapéptido *ciclo*[(*L*-Ser(O-*t*-Bu)-β-Ala-Gly-*L*-β-*Asp*(OMe)-].[59] Sin embargo, aunque se observó la presencia de la estructura tubular resultante del apilamiento de las unidades cíclicas, dichas unidades no adoptaban la conformación plana requerida y solo se encontraban unidas entre sí mediante dos enlaces de hidrógeno en lugar de los cuatro esperados.

Debido a las múltiples posibilidades de desarrollo que presentan los nanotubos ciclopeptídicos, han surgido a lo largo de los últimos años numerosas modificaciones en su estructura supramolecular. Es por ello que el estudio de la unidad ciclopeptídica adquiere gran relevancia, ya que un diseño adecuado puede conducir a estructuras tubulares con importantes aplicaciones.

4.2.1. ESTRUCTURAS NANOTUBULARES CONSTITUIDAS POR *D*,*L*-α-CICLOPÉPTIDOS

Estudios preliminares

En 1974, De Santis se basó en un análisis teórico para proponer que los ciclopéptidos constituidos por un número par de α-aminoácidos con estereoquímica *D* y *L* alternante daban lugar a la formación de estructuras tubulares mediante un proceso de autoensamblaje molecular.[60] Dichos ciclopéptidos adoptarían una conformación plana en la que los grupos C=O y NH quedaban dispuestos perpendicularmente al plano de los anillos, permitiendo el establecimiento de los correspondientes enlaces de hidrógeno con la siguiente subunidad. Además, las cadenas laterales de los ciclopéptidos quedaban situadas hacia el exterior de la estructura resultante. No obstante, los estudios iniciales llevados a cabo por el grupo de Lorenzi para poder verificar de modo experimental dichas predicciones fueron inconclusos debido a la baja solubilidad de los péptidos empleados.[61] Así, por ejemplo, un estudio cristalográfico de diversos ciclopéptidos no dio lugar a la estructura con las asociaciones entre subunidades propuestas para los nanotubos, ya que cada péptido presentaba uniones a través de enlaces de hidrógeno con varias moléculas de disolvente.[62] Sin embargo, en 1993 el grupo

[58] Hassall, C. H. "Chemistry and Biology of peptides". En *Proceedings of the Third American Peptide Symposium*; Ed J. Meienhofer; Ann Arbor Sci.: Ann Arbor [Michigan (Estados Unidos)], **1972**, 153-157.
[59] Karle, I. L.; Handa, B. K.; Hassall, C. H. *Acta Crystallogr.* **1975**, *B31*, 555-560.
[60] De Santis, P.; Morosetti, S.; Rizzo, R. *Macromolecules* **1974**, *7*, 52-58.
[61] Tomasic, L.; Lorenzi, G. P. *Helv. Chim. Acta* **1987**,*70*, 1012-1016.
[62] Pavone, V.; Benedetti, E.; Di Blasco, B.; Lombardi, A.; Pedone, C.; Lorenzi, G.P. *Biopolymers* **1989**, *28*, 215-223.

de Ghadiri emplearía una sencilla estrategia de variación del pH del medio para inducir la formación de los primeros nanotubos ciclopeptídicos.[63]

Estructuras en estado sólido: nanotubos ciclopeptídicos microcristalinos

Los primeros nanotubos ciclopeptídicos fueron preparados usando el octapéptido *ciclo*[(*L*-Gln-*D*-Ala-*L*-Glu-*D*-Ala)$_2$-], el cual fue seleccionado debido a su solubilidad en medio básico acuoso. La formación del nanotubo tuvo lugar al acidificar de manera controlada una disolución del correspondiente ciclooctapéptido, observándose la aparición de agregados microcristalinos que fueron caracterizados mediante microscopia electrónica de transmisión (TEM), difracción de electrones y FT-IR. La longitud de dichos cristales variaba entre 10-30 μm, su diámetro entre 100-500 nm y estaban constituidos por haces de nanotubos peptídicos orientados todos ellos en la misma dirección. Los análisis realizados también mostraron que la estructura tubular estaba constituida por unidades cíclicas dispuestas en forma de lámina β antiparalela, con una distancia intersubunidad de 4.73 Å y con un diámetro de 14.9 Å (Figura 5).

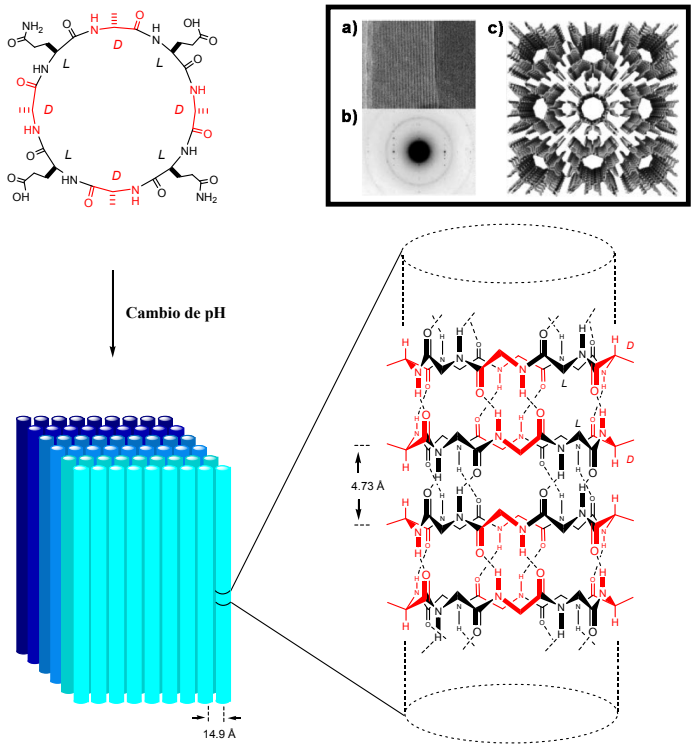


Figura 5. Estructura del ciclopéptido *ciclo*[(*L*-Gln-*D*-Ala-*L*-Glu-*D*-Ala)$_2$-] precursor de los primeros nanotubos, proceso de autoensamblaje que da lugar a los correspondientes agregados microcristalinos y modelo del nanotubo peptídico en el que se resaltan las interacciones moleculares (enlaces de hidrógeno) entre las distintas unidades ciclopeptídicas (las cadenas laterales de los aminoácidos han sido omitidas para una mejor visualización). De manera resaltada se muestra la imagen TEM (**a**) y la difracción de electrones (**b**) de los correspondientes nanotubos sólidos, junto al modelo computacional propuesto (**c**).

[63] Ghadiri, M. R.; Granja, J. R.; Milligan, R. A.; McRee, D. E.; Khazanovich, N. *Nature* **1993**, *366*, 324-327.

La elección de la secuencia peptídica fue fundamental para llevar a cabo de manera eficiente el proceso de autoensamblaje del nanotubo, ya que las cadenas laterales de Gln y Glu contribuyen de manera significativa en su formación y estabilización. A pH básico el proceso de asociación está restringido debido a la presencia de repulsiones electrostáticas entre los glutamatos resultantes, mientras que al acidificar se produce la protonación de las cadenas laterales, induciendo así la formación del nanotubo debido no solo al establecimiento de interacciones a nivel del esqueleto peptídico, sino también a la participación de los residuos de Glu y Gln en la formación de enlaces de hidrógeno (Figura 6). Los gupos Gln pueden a su vez participar en el apilamiento de los nanotubos mediante la formación de enlaces de hidrógeno intertubulares.[64]

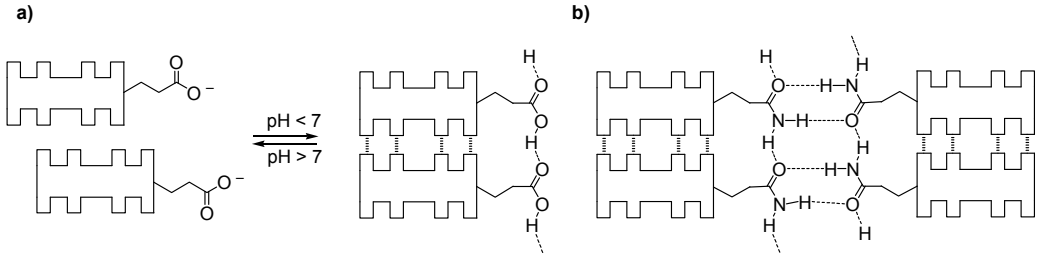


Figura 6. Proceso de autoensamblaje del *ciclo*[(*L*-Gln-*D*-Ala-*L*-Glu-*D*-Ala)$_2$-]. **a)** A pH básico las repulsiones electrostáticas de los carboxilatos dificultan la interacción entre las distintas subunidades peptídicas, mientras que a pH ácido la protonación de los residuos de Glu permite el establecimiento de enlaces de hidrógeno entre los ciclopéptidos, favoreciendo así su asociación. **b)** La presencia de Gln favorece la formación de enlaces de hidrógeno intra- e intertubulares.

Esta estrategia también permitió la obtención de agregados microcristalinos de nanotubos con diámetros internos de 13 Å, los cuales estaban constituidos por unidades de *ciclo*[(*L*-Gln-*D*-Ala-*L*-Glu-*D*-Ala)$_3$-].[65] Dicho hallazgo confirmó que el diámetro interno del nanotubo puede determinarse variando simplemente el número de aminoácidos presentes en la unidad ciclopeptídica, siempre y cuando se mantengan los principios básicos del ensamblaje.

Posteriormente, se llevó a cabo la preparación de estructuras nanotubulares sólidas empleando diversos ciclooctapéptidos no cargados, con el objetivo de obtener cristales de mayor tamaño que pudieran ser caracterizados mediante análisis de difracción de rayos X. Para ello se sintetizaron diversos ciclopéptidos formados por residuos de Gln y aminoácidos hidrófobos, pudiendo así explorar y explotar la utilización de las interacciones hidrofóbicas y de los enlaces de hidrógeno intertubulares en la formación de los nanotubos sólidos.[66] De esta forma, se estudiaron los octapéptidos *ciclo*[(*L*-Gln-*D*-Ala)$_4$-], *ciclo*[(*L*-Gln-*D*-Leu)$_4$-], *ciclo*[(*L*-Gln-*D*-Phe)$_4$-] y *ciclo*[(*L*-Gln-*D*-Val)$_4$-] mediante FT-IR, criomicroscopia electrónica y análisis de difracción de electrones, observando las estructuras cilíndricas esperadas y demostrando que la longitud de los nanotubos es proporcional al número de interacciones hidrofóbicas (Figura 7). Sin embargo, en ninguno de los casos se obtuvieron cristales de tamaño adecuado para su caracterización por difracción de rayos X.

[64] Para un estudio similar empleando Asn y Asp, ver: Polaskova, M. E.; Ede, N. J.; Lambert, J. N. *Aust. J. Chem.* **1998**, *51*, 535-540.
[65] Khazanovich, N.; Granja, J. R.; Milligan, R. A.; McRee, D. E.; Ghadiri, M. R. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 6011-6012.
[66] Hartgerink, J.; Granja, J. R.; Milligan, R. A.; Ghadiri, M. R. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 43-50.

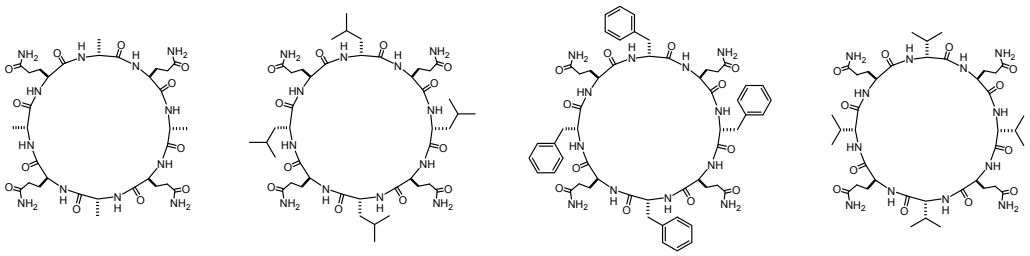


Figura 7. Ciclopéptidos empleados en el estudio que el efecto hidrofóbico ejerce sobre la formación del nanotubo.

El grupo de Undén realizó en los últimos años importantes variaciones estructurales en sus diseños, lo que les permitió introducir una mayor diversidad en los ciclopéptidos y, por lo tanto, en los nanotubos. Uno de sus mayores hallazgos fue la utilización de dos ciclopéptidos enantioméricos que se alternan a lo largo de la estructura, lo que conduce a la obtención de nanotubos heteroméricos (Figura 8a).[67] El principio fundamental de este diseño radica en la homoquiralidad de los apareamientos de las hojas plegadas *D,L*, de forma que los *L*-aminoácidos solamente establecen enlaces de hidrógeno con los *L*-aminoácidos (Figura 5).

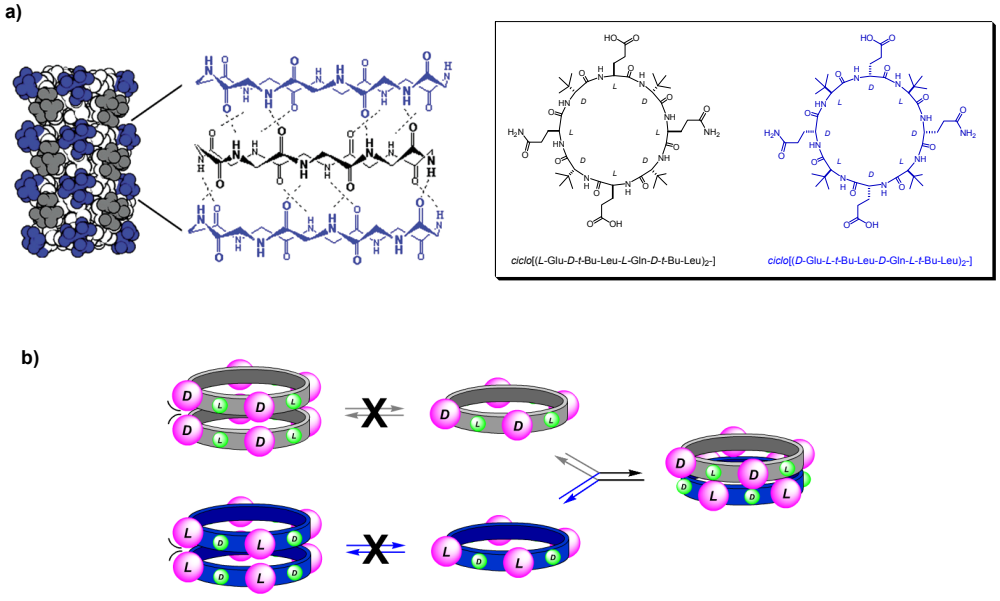


Figura 8. Nanotubos ciclopeptídicos heteroméricos. **a)** Estructura tubular heteromérica propuesta por el grupo de investigación de Undén, la cual estaría constituida por dos ciclooctapéptidos de estereoquímica opuesta que se alternan a lo largo del nanotubo. **b)** Modelo dimérico sencillo que representa la formación de nanotubos heteroméricos. El elevado volumen que ocupa la cadena lateral de la *tert*-butil-leucina dificulta la homodimerización debido a la gran repulsión estérica que se establece entre los correspondientes grupos *tert*-butilo de dicho aminoácido. Por el contrario, la heterodimerización si es un proceso favorable debido a que las cadenas laterales de la *tert*-butil-leucina se disponen enfrentadas a Gln o Glu, con lo que el impedimento estérico es mínimo [La cadena lateral de la *tert*-butil-Leu se representa por medio de una esfera rosa de gran tamaño, mientras que las cadenas laterales del resto de aminoácidos (Gln o Glu) se representan por medio de una esfera verde de tamaño inferior].

[67] Rosenthal, K.; Svensson, G.; Undén, A. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 3372-3373.

Para asegurar la alternancia de ciclopéptidos en el nanotubo, es necesaria la utilización de *tert*-butil-leucina (*t*-Bu-Leu), de modo que el homoapareamiento esté restringido debido a los impedimentos estéricos entre los grupos *tert*-butilo de idéntica quiralidad. No obstante, si es posible la formación de la estructura heteroménica en la que los grupos *tert*-butilo se enfrentan a Gln o Glu de igual configuración (Figura 8b).

Estudios de dimerización en disolución

La asociación de ciclopéptidos mediante el establecimiento de enlaces de hidrógeno entre dichas subunidades dispuestas en forma de lámina β antiparalela se puede considerar como la etapa clave en el proceso de autoensamblaje. Dicha asociación ha sido ampliamente estudiada en disolución acuosa por el grupo de investigación de Undén mediante medidas de desaparición (*quenching*) de la fluorescencia, confirmando de esta manera que el apilamiento entre las distintas unidades cíclicas sucede en disolución, y no es meramente consecuencia de la cristalización.[68]

La caracterización de los *D,L*-nanotubos ciclopeptídicos se ha llevado a cabo de forma apropiada mediante TEM, difracción de electrones y/o FT-IR, pero hasta la fecha ninguna de estas nanoestructuras ha dado lugar a cristales de forma y tamaño adecuados para su resolución a nivel atómico a través de estudios de difracción de rayos X. Con la finalidad de obtener un mejor entendimiento de las interacciones envueltas en el proceso de autoensamblaje, y de llevar a cabo estudios preliminares sobre las posibilidades de estabilización de la estructura nanotubular, el grupo de Ghadiri ha desarrollado sistemas en los cuales únicamente se permite la formación de estructuras constituidas por dos unidades cíclicas (dímeros), eliminando así las complicaciones relacionadas con el apilamiento ilimitado de los ciclopéptidos, como podría ser, por ejemplo, la baja solubilidad de las nanoestructuras resultantes. Esta restricción se consigue mediante alquilación selectiva de los grupos amino en una de las caras del anillo ciclopeptídico, por lo que es necesario proteger únicamente aquellos residuos aminoacídicos que presentan la misma quiralidad (Figura 9).[69]

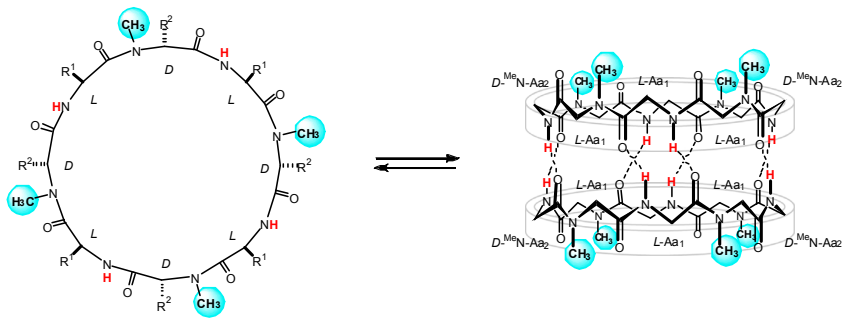


Figura 9. Modelo dimérico de un nanotubo peptídico. La presencia de grupos alquilo (en este caso metilos) en los nitrógenos de aminoácidos de igual configuración bloquea una de las caras del ciclopéptido, por lo que se previene el establecimiento de enlaces de hidrógeno con una tercera unidad cíclica, restringiendo así el crecimiento del nanotubo (las cadenas laterales se han omitido en la estructura dimérica para su mejor visualización).

[68] Karlström, A.; Undén, A. *Biopolymers* **1997**, *41*, 1-4.
[69] Clark, T. D.; Buriak, J. M.; Kobayashi, K.; Isler, M. P.; McRee, D. E.; Ghadiri, M. R. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 8949-8962.

Los primeros estudios se llevaron a cabo empleando *ciclo*[(*L*-Phe-*D*-^{Me}N-Ala)$_4$-] como unidad fundamental, observándose que dicho ciclooctapéptido se autoensamblaba para dar lugar a la correspondiente estructura dimérica con una constante de asociación de aproximadamente 2540 M^{-1}.[70] Los análisis mediante difracción de rayos X corroboraron la nanoestructura propuesta, mostrando que los cristales obtenidos de una mezcla CH_2Cl_2/hexanos estaban constituidos por dímeros, en los cuales cada ciclopéptido adoptaba la conformación plana y que se disponían en forma de lámina β antiparalela para facilitar el apilamiento, de manera que los grupos amida de los enlaces peptídicos se situaban de manera perpendicular al plano del anillo. Es de destacar la presencia de moléculas de agua en la cavidad interna de la nanoestructura, lo que pone en evidencia la naturaleza hidrofílica de dicho poro (Figura 10). Estudios en disolución de RMN y FT-IR de éste y otros ciclopéptidos N-metilados confirmaron nuevamente las estructuras propuestas, ayudando en gran manera a elucidar las bases termodinámicas de la formación de los nanotubos. Como cabía esperar estamos ante la presencia de un proceso dirigido entálpicamente gracias a la formación de ocho enlaces de hidrógeno, pero entrópicamente desfavorable. Estos estudios también sugirieron que la contribución a la entalpía de formación por parte de cada enlace de hidrógeno es únicamente de 0.5-0.8 kcal·mol^{-1}, valores que estarían muy alejados de lo que cabría esperar para este tipo de interacciones en medios apolares.[71]

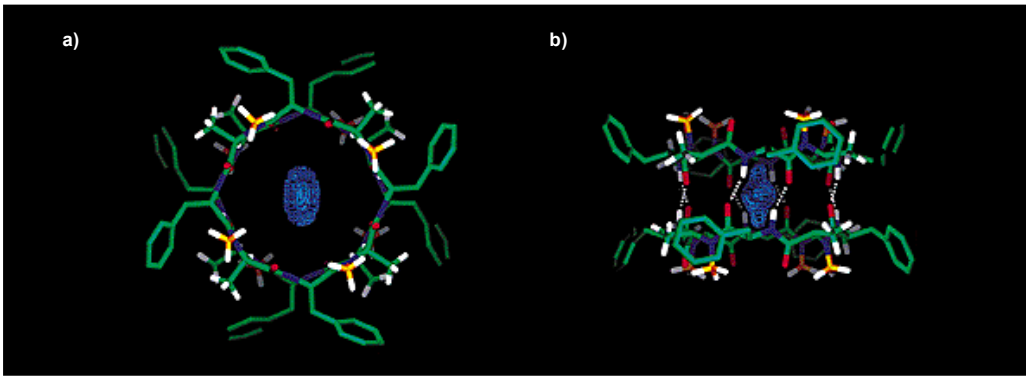


Figura 10. Vista superior (**a**) y lateral (**b**) de la estructura dimérica en estado sólido resultante de la asociación del ciclooctapéptido *ciclo*[(*L*-Phe-*D*-^{Me}N-Ala)$_4$-]. La N-alquilación de grupos amida alternados previene la oligomerización dirigida por los enlaces de hidrógeno y limita al ciclopéptido a la formación del dímero. Es de resaltar que la cavidad cilíndrica interior está ocupada por moléculas de agua parcialmente desordenadas (en color azul intenso se muestra la densidad electrónica correspondiente al agua encapsulada).

Los ciclohexapéptidos N-metilados, como por ejemplo *ciclo*[(*L*-^{Me}N-Leu-*D*-Leu)$_3$-], dimerizan con constantes de asociación más pequeñas (~ 80 M^{-1}),[72] mientras que en el caso de deca- y dodecaciclopéptidos no se ha observado la presencia de dímeros, debido a la dificultad que muestran ambas unidades para adoptar la conformación plana requerida para el proceso de autoensamblaje.[69-71] Del mismo modo, los estudios de dimerización de ciclotetrapéptidos, como por ejemplo *ciclo*[(*D*-Phe-*L*-^{All}N-Ala)$_2$-], no han mostrado evidencias de autoensamblaje.

[70] Ghadiri, M. R.; Kobayashi, K.; Granja, J. R.; Chadha, R. K.; McRee, D. E. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1995**, *34*, 93-95.
[71] a) Prins, L. J.; Reinhoudt, D. N.; Timmerman, P. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2382-2426. b) Sartorius, J.; Schneider, H.-J. *Chem. Eur. J.* **1996**, *2*, 1446-1452.
[72] a) Sun, X. C.; Lorenzi, G. P. *Helv. Chem. Acta* **1994**, *77*, 1520-1526. b) Saviano, M.; Lombardi, A.; Pedone, C.; Diblasio, B.; Sun, X. C.; Lorenzi, G. P. *J. Inclusión Phenom.* **1994**, *18*, 27-36.

De esta forma, el grupo de Ghadiri estableció que los ciclooctapéptidos son los que exhiben una óptima rigidez y predisposición para lograr el ensamblaje del nanotubo.

Un aspecto ampliamente estudiado es la variedad y la naturaleza de los N-alquil sustituyentes que pueden ser empleados para prevenir el apilamiento de las unidades cíclicas y obtener así las correspondientes estructuras diméricas. Dentro de éstos destacan los grupos metilo, alilo, *n*-propilo y pent-4-en-1-ilo, encontrándose que no existen diferencias apreciables entre la utilización de uno u otro. Otro aspecto relevante radica en la sustitución de los α-aminoácidos, ya que estudios iniciales de interacciones entre cadenas laterales mostraron que los residuos que contienen cadenas laterales γ-ramificadas favorecen la dimerización frente a los de cadenas laterales no ramificadas, probablemente debido a la predisposición que adquiere el esqueleto peptídico para la formación de la lámina β. Recientemente, las interacciones aromáticas entre cadenas laterales que tienen lugar en ciclopéptidos conteniendo homofenilalanina (homoPhe) se emplearon para inducir el crecimiento del cristal de manera ortogonal al eje de la estructura nanotubular, debido al efecto prevalente de la formación del dímero en la nucleación del cristal.[73]

Las nanoestructuras tubulares diméricas también han proporcionado el primer modelo experimental para llevar a cabo una sencilla comparación entre las estabilidades relativas de las láminas β paralela y antiparalela en disolución. Para ello se han realizado medidas de constantes de equilibrio, empleando los ciclopéptidos enantioméricos *ciclo*[(*L*-Phe-*D*-^{Me}N-Ala)$_4$-] y *ciclo*[(*D*-Phe-*L*-^{Me}N-Ala)$_4$-], obteniéndose finalmente que las estructuras lámina β antiparalela

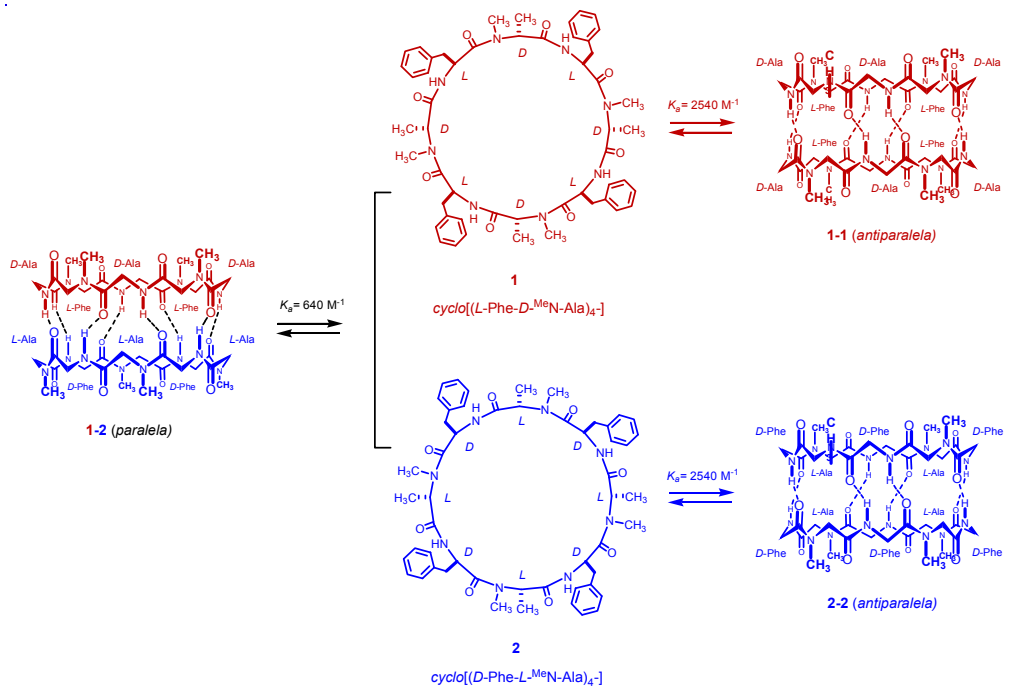


Figura 11. Estabilidad relativa de las estructuras láminas β paralelas (**1**-**2**) y antiparalelas (**1**-**1** y **2**-**2**) de dímeros tubulares constituidos por *ciclo*[(*L*-Phe-*D*-^{Me}N-Ala)$_4$-] (**1**) y *ciclo*[(*D*-Phe-*L*-^{Me}N-Ala)$_4$-] (**2**) [las cadenas laterales se han omitido en las estructura diméricas para su mejor visualización].

[73] Bong, D. T.; Ghadiri, M. R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2163-2166.

son aproximadamente 0.8 kcal·mol^{-1} más estables que las paralelas (Figura 11).[74] Estos resultados fueron corroborados posteriormente mediante estudios computacionales.[75] Estudios de RMN llevados a cabo sobre una disolución de *ciclo*[(*L*-Phe-*D*-^{Me}N-Ala-*L*-Leu-*D*-^{Me}N-Ala)$_2$-] mostraron que la proporción de los dos posibles dímeros resultantes es prácticamente la misma, por lo que se descartó que las interacciones entre cadenas laterales (Phe-Leu) contribuyan de forma significativa a la estabilidad de las láminas β, confirmando una vez más que los resultados anteriormente expuestos eran totalmente correctos.[76]

El grupo de Ghadiri también demostró la formación de enlaces de hidrógeno tipo lámina β mediante consolidación covalente de la estructura ciclopeptídica dimérica no covalente. Para ello, se llevó a cabo la captura del dímero a través de uniones covalentes entre las dos unidades cíclicas que lo componen, ampliando así la diversidad y aplicación de dichos ciclopéptidos. En un primer trabajo se estudió el *ciclo*[(*L*-Phe-*D*-^{Me}N-Ala-*L*-Hag-*D*-^{Me}N-Ala)$_2$-], el cual contiene funcionalidades olefínicas debido a la presencia de homoalilglicinas (Hag).[77] Dicho ciclooctapéptido conduce en disolventes no polares a la formación de una proporción equimolar de dos tipos de dímeros, en donde solamente uno de ellos posibilita la metátesis olefínica mediada por los enlaces de hidrógeno para dar lugar al correspondiente dímero estabilizado covalentemente (Figura 12, proceso de captura en color rojo).[78] Estudios posteriores han buscado extender esta estrategia general a otras uniones covalentes, como por ejemplo, los enlaces disulfuro. De esta forma, se estudió el *ciclo*[(*L*-Phe-*D*-^{Me}N-Ala-*L*-Cys-*D*-^{Me}N-Ala)$_2$-], en donde los enlaces de hidrógeno S-H···S estabilizan la formación del dímero previamente a la formación de los enlaces disulfuro.[79] Este proceso de captura, como en el caso anterior, está dirigido por el autoensamblaje molecular que favorece la formación de la estructura dimérica, aunque en este caso se observa la formación de otras especies como polímeros o monómeros plegados. Son estas últimas especies las que al reducirse inducen o facilitan la formación de los dímeros covalentes (Figura 12, proceso de captura en color azul).

[74] Kobayashi, K.; Granja, J. R.; Ghadiri, M. R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1995**, *34*, 95-98.
[75] a) Gailer, C.; Feigel, M. *J. Comput. Aided Mol. Des.* **1997**, *11*, 273-277. b) Chou, K. C.; Pottle, M.; Nemethy, G.; Ueda, Y.; Scheraga, H. A. *J. Mol. Biol.* **1982**, *162*, 89-112.
[76] El *ciclo*[(*L*-Phe-*D*-^{Me}N-Ala-*L*-Leu-*D*-^{Me}N-Ala)$_2$-] presenta un eje de simetría C_2 (frente al eje C_4 de **1** y **2**), por lo que puede dar lugar a dos dímeros antiparalelos diastereoméricos, que se diferencian en las distintas interacciones entre las cadenas laterales. Una mayor proporción de uno de estos dímeros en disolución indicaría que las interacciones entre las cadenas laterales juegan un papel importante en la estabilización o desestabilización de las estructuras diméricas.
[77] Clark, T. D.; Ghadiri, M. R. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 12364-12365.
[78] La importancia del autoensamblaje como fuerza directora del proceso de captura se confirmó al observar que la reacción de metátesis no tiene lugar en disolventes que inhiben la formación del dímero, como pueden ser DMF o EtOH.
[79] Clark, T. D.; Kobayashi, K.; Ghadiri, M. R. *Chem. Eur. J.* **1999**, *5*, 782-792.

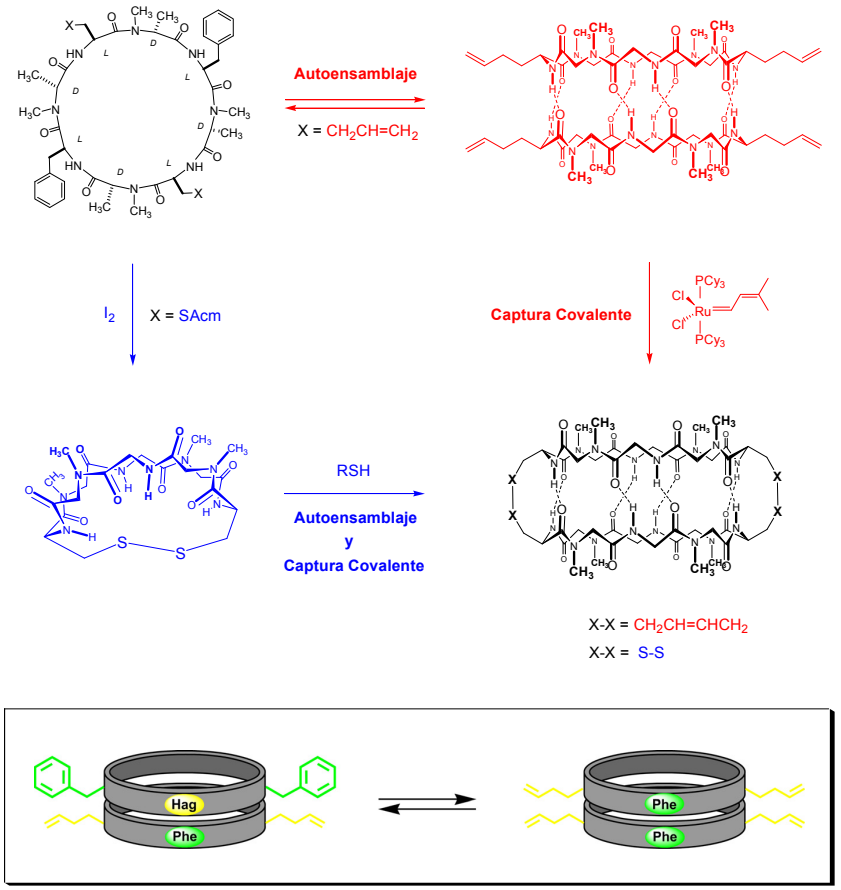


Figura 12. Consolidación de dímeros ciclopeptídicos mediante uniones covalentes entre las unidades cíclicas que los constituyen, empleando para ello cadenas laterales olefínicas (proceso de captura en color rojo) o tiólicas (proceso de captura en color azul). De manera resaltada se muestran las dos posibles estructuras diméricas de *ciclo*[(*L*-Phe-*D*-^{Me}N-Ala-*L*-Hag-*D*-^{Me}N-Ala)$_2$-], en donde solamente el isómero que enfrenta las Hag, dejando las olefinas próximas, posibilita la reacción de metátesis para dar lugar a la captura del dímero.

Recientemente se confirmó la existencia de dímeros mediante estudios de fluorescencia, empleando para ello el ciclooctapéptido *ciclo*[*L*-Ala-*D*-Leu-*L*-^{Me}N-Ala-*D*-Leu-*L*-Lys(NDI)-*D*-Leu-*L*-^{Me}N-Ala-*D*-Leu-], en donde se llevó a cabo la introducción del fluoróforo ácido 1,4,5,8-naftalenotetracarboxílico diimida (NDI).[80] El establecimiento de los enlaces de hidrógeno para dar lugar al correspondiente dímero promueve la formación intermolecular de excímeros de NDI entre las cadenas laterales de las unidades ciclopeptídicas. Dicho fenómeno de transferencia de carga permitió estimar mediante medidas de fluorescencia en $CHCl_3$ unos valores de $K_a \sim 10^2\ M^{-1}$, similares a los obtenidos mediante estudios de RMN, y que distan mucho de los observados en anteriores ciclopéptidos, aunque también es cierto que los estudios se realizaron en condiciones de sobresaturación en las medidas de fluorescencia, en donde la emisión no es proporcional a la concentración, debido a las pequeñas constantes de asociación mostradas por estos ciclopéptidos (Figura 13).

[80] Horne, W. S.; Ashkenasy, N.; Ghadiri, M. R. *Chem. Eur. J.* **2005**, *11*, 1137-1144.

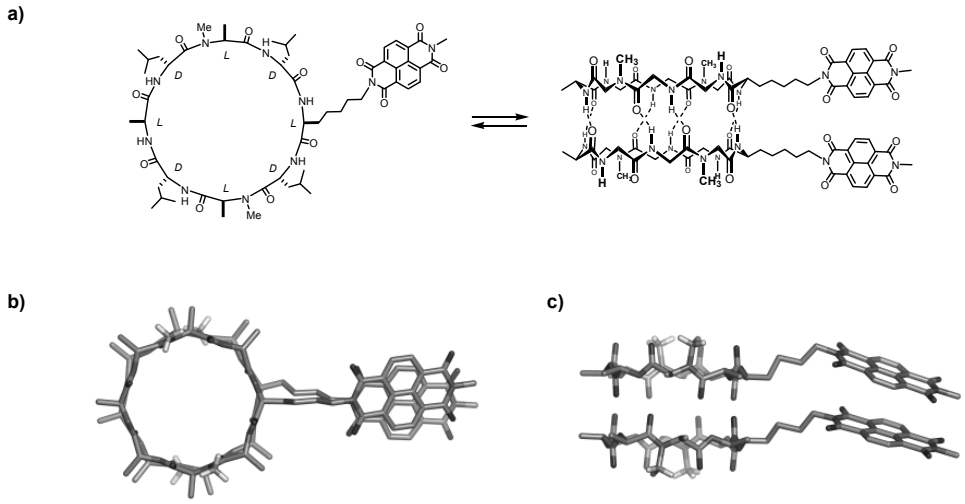


Figura 13. Estudios de dimerización de ciclopéptidos mediante medidas de fluorescencia. **a)** Representación esquemática del autoensamblaje de *ciclo*[*L*-Ala-*D*-Leu-*L*-^{Me}N-Ala-*D*-Leu-*L*-Lys(NDI)-*D*-Leu-*L*-^{Me}N-Ala-*D*-Leu-]. **b)** Vista superior y **c)** vista lateral del modelo computacional calculado de uno de los posibles dímeros (la mayoría de cadenas laterales han sido omitidas para una mejor visualización de las estructuras). La proximidad entre los grupos cromóforos permite cuantificar mediante fluorescencia la proporción de dímero/monómero.

4.2.2. ESTRUCTURAS NANOTUBULARES CONSTITUIDAS POR β-CICLOPÉPTIDOS

Los β-péptidos son una clase de biopolímeros no naturales que en disolución adoptan una gran variedad de estructuras secundarias análogas a la de los α-péptidos, incluyendo láminas plegadas, giros y conformaciones helicoidales de diferente quiralidad y radio.[81] Su capacidad de resistir la degradación enzimática y sus buenas propiedades conformacionales hacen entrever las interesantes aplicaciones a las que pueden dar lugar.[82] El grupo de Gellman acuñó el término *"foldámero"* para designar a esta clase de polímeros no naturales que poseen estructuras secundarias predecibles.[83]

Los primeros diseños de β-nanotubos fueron desarrollados por el grupo de Seebach.[84] Los análisis de modelos moleculares y de cristalografía de rayos X llevados a cabo en ciclotetrapéptidos constituidos por residuos quirales de β^3-aminoácidos mostraron que en el estado sólido se apilaban en forma de nanotubos de igual manera que en el caso de los *D*,*L*-α-ciclopéptidos. El *ciclo*[(β^3-HAla)$_4$-] adoptaba la conformación plana requerida y las distintas subunidades se asociaban mediante el establecimiento de cuatro enlaces de hidrógeno, dejando un orificio central de aproximadamente 2.6 Å (Figura 14). De igual modo, se comprobó que la estereoquímica de los β-aminoácidos (con una única cadena lateral en el

[81] Appella, D. H.; Christianson, L. A.; Klein, D. A.; Powell, D. R.; Huang, X.; Barchi, J. J.; Gellman, S. H. *Nature* **1997**, *387*, 381-384.
[82] a) Cheng, R. P.; Gellman, S. H.; DeGrado, W. F. *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 3219-3232. b) Liu, D.; DeGrado, W. F. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 7553-7559.
[83] Gellman, S. H. *Acc. Chem. Res.* **1998**, *31*, 173-180.
[84] Seebach, D.; Matthews, J. L.; Meden, A.; Wessels, T.; Baerlocher, C.; McCusker, L. B. *Helv. Chim. Acta* **1997**, *80*, 173-182.

carbono β) carecía de importancia, ya que el proceso de autoensamblaje tenía lugar tanto en ciclopéptidos constituidos por β-aminoácidos homoquirales (de igual configuración) como en ciclopéptidos con β-residuos de quiralidad alternante (alternancia entre isómeros *S* y *R*).

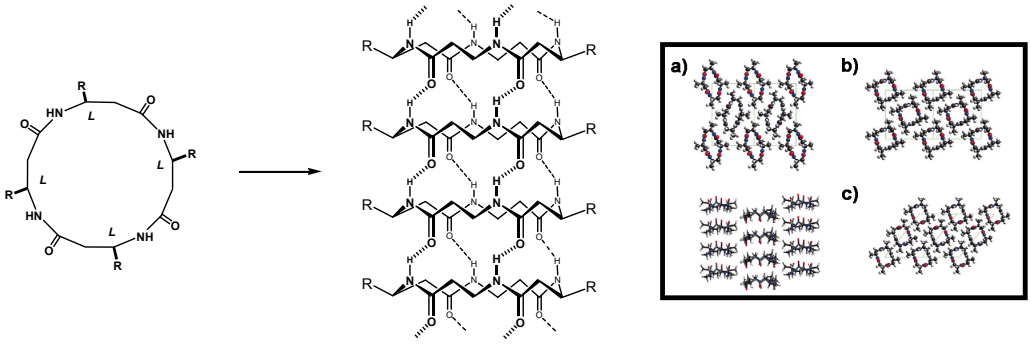


Figura 14. Modelo del proceso de autoensamblaje de ciclotetrapéptidos constituidos por β-aminoácidos. De manera resaltada se muestra la estructura cristalina de *ciclo*{[β^3-(*S*)-HAla]$_4$-} (**a**), *ciclo*{[β^3-(*R*)-HAla-β^3-(*S*)-HAla]$_2$-} (**b**) y *ciclo*{[β^3-(*R*)-HAla]$_2$-[β^3-(*S*)-HAla]$_2$-} (**c**).

Los β-nanotubos son anisotrópicos debido a que todos los grupos carbonilo están orientados hacia el mismo lado, mientras que los NH se disponen en sentido opuesto. Dicha anisotropía se deriva de la propia estructura del ciclopéptido, ya que la presencia en el β-aminoácido de un número par de átomos entre el C=O y el NH provoca la formación de un nanotubo con láminas β paralelas, en lugar de las antiparalelas características de los *D*,*L*-α-ciclopéptidos.

El grupo de investigación de Ghadiri también llevó a cabo la síntesis de ciclotetrapéptidos constituidos por β-aminoácidos.[85] Los ciclopéptidos *ciclo*[(β^3-HTrp)$_4$-], *ciclo*[(β^3-HTrp-β^3-HLeu)$_2$-] y *ciclo*[(β^3-HLeu)$_4$-] se insertan en membranas lipídicas, dando lugar a la formación de canales transmembranosos (Figura 15). Así, se observó como el tetrapéptido formado únicamente por β-HTrp transportaba más de 1.9 × 10^7 iones (K^+) por segundo, valores mayores que en el caso de la gramicidina A bajo idénticas condiciones. Esto hace pensar en la gran relevancia que pueden tener estos β^3-ciclopéptidos en la formación de canales. La resistencia que presenta el esqueleto no natural a la digestión por parte de las proteasas, sugiere la utilización de los β^3-ciclopéptidos en la formación de canales iónicos con potenciales efectos antimicrobianos en presencia de estas enzimas, lo cual sería bastante similar a la actividad desarrollada por algunos β-péptidos helicoidales.[86]

[85] Clark, T. D.; Buehler, L. K.; Ghadiri, M. R. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 651-656.
[86] Porter, E. A.; Wang, X.; Lee, H. S.; Weisblum, B.; Gellman, S. H. *Nature* **2000**, *404*, 565.

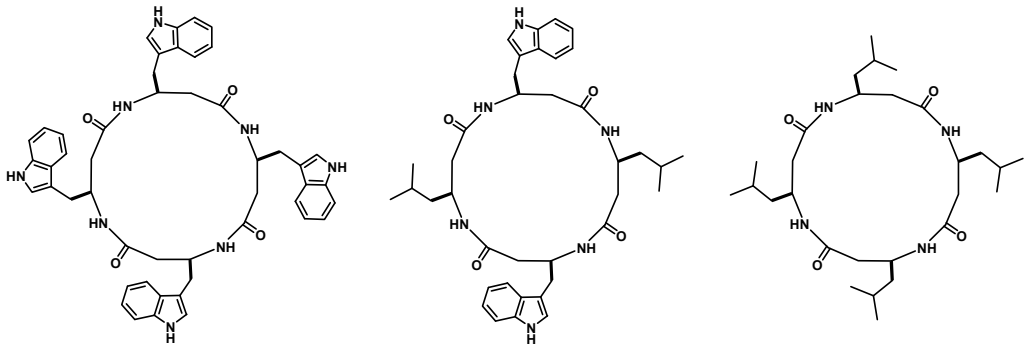


Figura 15. Precursores de nanotubos β-ciclopeptídicos empleados en estudios de transporte iónico.

En los últimos años, se han desarrollado un gran número de β-ciclopéptidos que dan lugar a estructuras tubulares mediante autoensamblaje, destacando los empleados por el grupo de Kimura, el cual ha podido llevar a cabo el análisis estructural y la observación mediante TEM de nanotubos compuestos por β^3-ciclotripéptidos.[87] Para ello utilizó el *ciclo*[(β-Ach)$_3$-], el cual dio lugar a los correspondientes nanotubos mediante el establecimiento de enlaces de hidrógeno entre las distintas subunidades (Figura 16). Generalmente, las columnas moleculares obtenidas se suelen disponer de manera antiparalela para poder estabilizar la estructura supramolecular resultante mediante anulación del momento dipolar, pero en este caso, las estructuras columnares se agregan de forma paralela, con todos los grupos amida orientados hacia la misma dirección, por lo que el momento dipolar del microcristal se ve fortalecido. Es por ello que estas asociaciones moleculares pueden tener importantes aplicaciones como mediadores vectoriales de protones, electrones e iones, debido al largo momento dipolar que presentan dichos agregados.

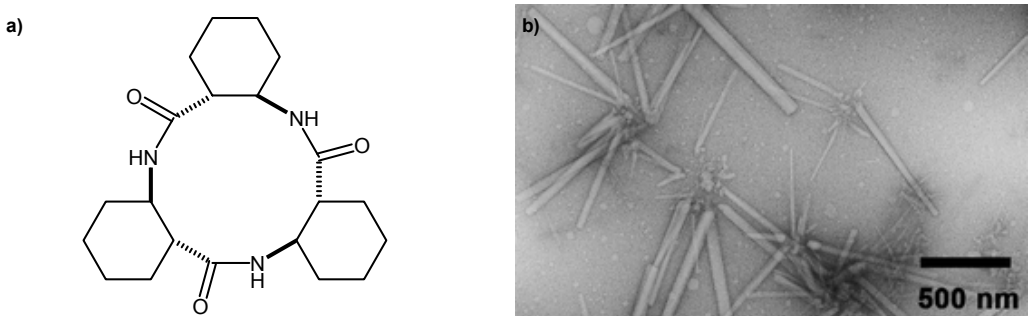


Figura 16. Nanotubos constituidos por β-ciclotripéptidos. **a)** Ciclopéptido *ciclo*[(β-Ach)$_3$-] precursor de los nanotubos (el β-Ach se encuentra en su forma *trans*). **b)** Imagen de TEM de las asociaciones moleculares de *ciclo*[(β-Ach)$_3$-].

[87] Fujimura, F.; Fukuda, M.; Sugiyama, J.; Morita, T.; Kimura, S. *Org. Biomol. Chem.* **2006**, *4*, 1896-1901.

4.2.3. ESTRUCTURAS NANOTUBULARES CONSTITUIDAS POR OTROS CICLOPÉPTIDOS

La formación de nanotubos ciclopeptídicos se ha extendido con la incorporación al esqueleto básico de diferentes γ, δ y ε-aminoácidos, en algunos casos combinados con α-aminoácidos, dando lugar a una serie de híbridos que permiten ampliar su potencial tecnológico.

El grupo de investigación de Dory ha llevado a cabo la síntesis de un ciclotripéptido que cristaliza en forma de agregados de nanotubos (Figura 17).[88] Dicha subunidad está constituida por δ-aminoácidos α,β-insaturados con geometría *trans* en el doble enlace, lo que permite al ciclopéptido adoptar la conformación plana requerida para el autoensamblaje. Dado que el esqueleto peptídico posee un número par de átomos entre el grupo carbonilo y el amino de cada residuo, todos los C=O quedan orientados en la misma dirección, de igual modo que sucedía en el caso de los β-nanotubos peptídicos. Esto provoca que el nanotubo presente un elevado momento dipolar, dando lugar a cristales altamente anisotrópicos. También es de destacar la capacidad que presentan estos nanotubos de δ-ciclotripéptidos para autoorganizarse dando lugar a cristales líquidos, en los cuales cada nanotubo actúa como una pieza fundamental en la formación de estructuras supramoleculares más complejas.[89] De esta manera, un estudio más exhaustivo permitió observar que seis δ-nanotubos se organizan en un nuevo nanotubo de mayores dimensiones, mientras que seis de estos nanotubos de segunda generación vuelven a asociarse de forma similar para dar lugar a un novedoso nanotubo de grandes dimensiones. El material resultante es altamente poroso y presenta tres tipos de orificios diferentes.

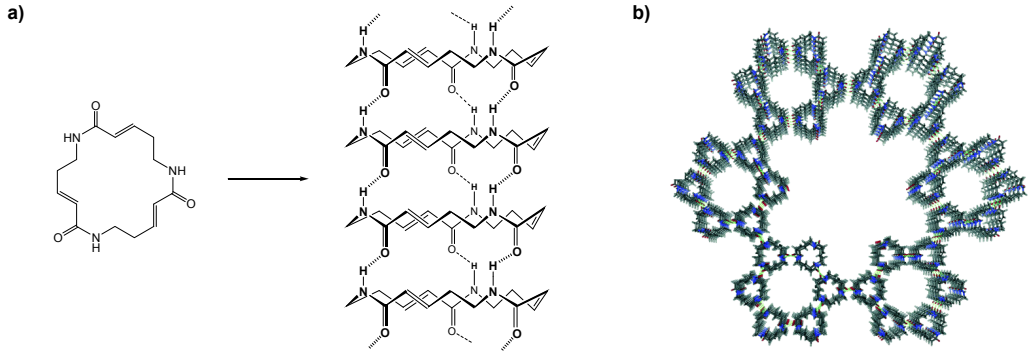


Figura 17. Nanotubos constituidos por δ-ciclopéptidos. **a)** Modelo del proceso de autoensamblaje de ciclotripéptidos constituidos por δ-aminoácidos α,β-insaturados. **b)** Autoorganización propuesta para los δ-nanotubos cuando dan lugar a la formación de cristales líquidos.

El grupo de investigación de Ghadiri ha explorado la utilidad de ε-aminoácidos derivados de 1,2,3-triazoles disubstituidos en la posición 1,4, llevando a cabo su aplicación en

[88] Gauthier, D.; Baillargeon, P.; Drouin, M.; Dory, Y. L. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 4635-4638.
[89] Leclair, S.; Baillargeon, P.; Skouta, R.; Gauthier, D.; Zhao, Y.; Dory, Y. L. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 349-353.

hélices α,[90] rígidos giros β y diferentes estructuras tubulares basadas en láminas β (Figura 18). Dichos ε-aminoácidos triazólicos pueden ser convenientemente sintetizados a través de reacciones de cicloadición 1,3-dipolar catalizadas por Cu(I) entre aminoácidos que contienen azidas y alquinos,[91] y su empleo es de gran relevancia para el diseño de nuevos nanotubos ciclopeptídicos. De esta manera, se llevó a cabo la preparación de diferentes α,ε-híbridos con la pretensión de abordar la modificación de la cavidad interna del nanotubo mediante la simple introducción de derivados triazólicos.[92] Estos α,ε-nanotubos se han estudiado tanto en disolución como en estado sólido, mostrando que la orientación del triazol es paralela al eje del nanotubo, y no perpendicular, como se podía haber supuesto inicialmente. La estructura tubular posee una cavidad con un volumen de aproximadamente 80 $Å^3$, y se debe destacar que para su formación es necesaria la utilización de disolventes próticos que participen en la estabilización del nanotubo.

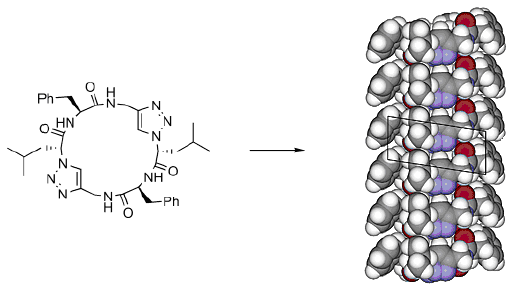


Figura 18. Proceso de autoensamblaje de α,ε-ciclopéptidos para dar lugar al correspondiente nanotubo.

La relevancia que han adquirido las estructuras nanotubulares debido a sus notorias aplicaciones ha motivado que en los últimos años se hayan diseñado un gran número de modelos análogos al de los nanotubos ciclopeptídicos. La introducción de diferentes residuos

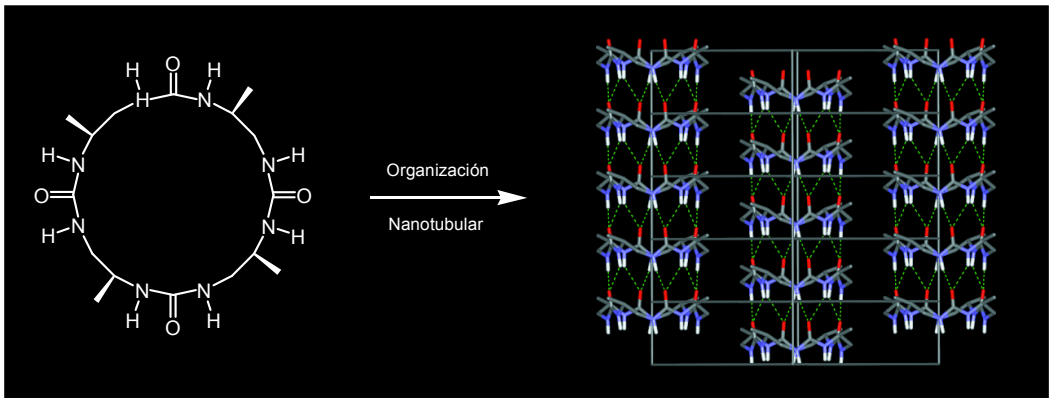


Figura 19. Oligoureas cíclicas precursoras de estructuras tubulares. Dichas cicloureas cristalizan de modo similar a los nanotubos ciclopeptídicos, observándose que el establecimiento de enlaces de hidrógeno entre el carbonilo de una urea y los gupos NH de la siguiente unidad constituye la base del apilamiento.

[90] Horne, W. S.; Yadav, M. K.; Stout, C. D.; Ghadiri, M. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 15366-15367.
[91] a) Rostovtsev, V. V.; Green, L. G.; Fokin, V. V.; Sharpless, K. B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2596-2599. b) Tornoe, C. W.; Christensen, C.; Meldal, M. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 3057-3064.
[92] a) Horne, W. S.; Scout, C. D.; Ghadiri, M. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 9372-9376. b) van Maarseveen, J. H.; Horne, W. S.; Ghadiri, M. R. *Org. Lett.* **2005**, *20*, 4503-4506.

de no aminoácidos en los ciclopéptidos ha permitido sintetizar híbridos con novedosas propiedades.[93] De igual modo, la utilización de nuevos macrociclos como unidades básicas de apilamiento permite el desarrollo de numerosas estructuras tubulares. Así, por ejemplo, el grupo de investigación de Guichard ha llevado a cabo el diseño, síntesis y análisis estructural de oligoureas cíclicas constituidas por residuos homoquirales con cadenas laterales proteinogénicas.[94] Estas unidades cristalizan en forma de nanotubos polares con densidad electrónica en sus cavidades (Figura 19).

Ranganathan *et al.* han empleado bisureas macrocíclicas sintetizadas a partir de cisteinas como análogos de ciclopéptidos.[95] A pesar de su flexibilidad, estas unidades cristalizan en forma de nanotubos uniformes, debido fundamentalmente al establecimiento de enlaces de hidrógeno entre las ureas (Figura 20a). El grupo de investigación de Shimizu también ha empleado bisureas cíclicas para llevar a cabo la preparación de estructuras columnares.[96] En este caso, la utilización de dichos macrociclos también ha conllevado el encapsulamiento reversible de un amplio rango de moléculas (entre ellas ácido acético),[97] lo que permite que la cavidad interior se emplee como confinamiento para determinadas reacciones, como por ejemplo, las fotodimerizaciones o fotoadiciones (Figura 20b).[98]

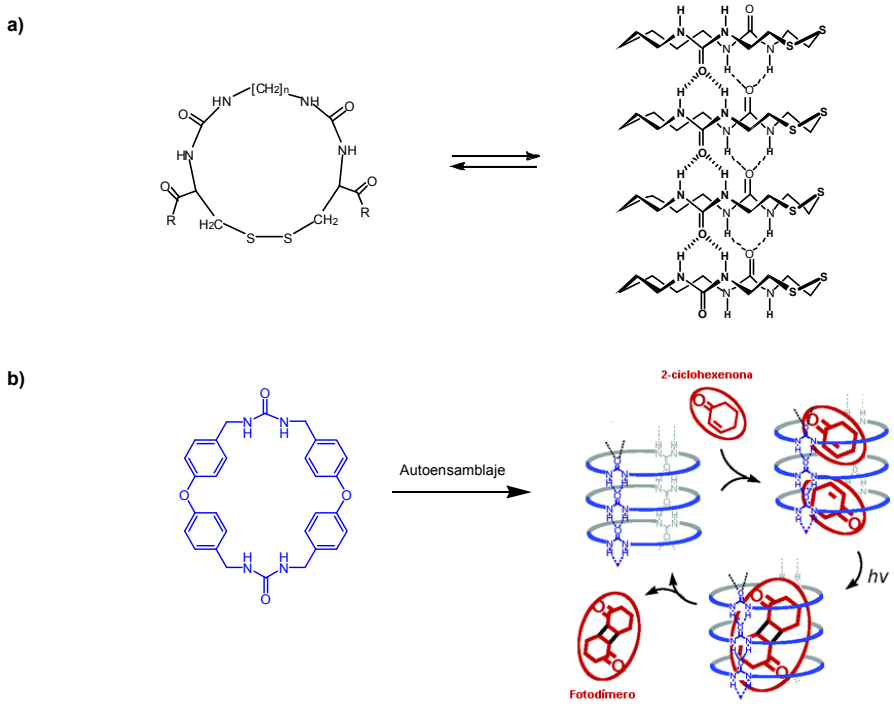


Figura 20. Bisureas macrocíclicas precursoras de nanotubos. **a)** Modelo de autoensamblaje de una bisurea sintetizada a partir de cisteinas. **b)** Fotodimerización estereoselectiva de 2-ciclohexenona. Las ciclobisureas se autoensamblan dando lugar a la correspondiente estructura tubular, en cuyo interior se encapsulan moléculas de 2-ciclohexenona. La irradiación de la enona en el espacio confinado conduce selectivamente al dímero resultante de la fotoadición 2+2.

[93] Ranganathan, D. *Acc. Chem. Res.* **2001**, *34*, 919-930.
[94] Semetey, V.; Didierjean, C.; Briand, J. P.; Aubry, A.; Guichard, G. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 1895-1898.
[95] Ranganathan, D.; Lakshmi, C.; Karle, I. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 6103-6107.
[96] Shimizu, L. S.; Smith, M. D.; Hughes, A. D.; Shimizu, K. D. *Chem. Commun.* **2001**, 1592-1593.
[97] Shimizu, L. S.; Hughes, A. D.; Smith, M. D.; Davis, M. J.; Zhang, P.; zur Loye, H.-C.; Shimizu, K. D. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 14972-14973.
[98] Yang, J.; Dewal, M. B.; Shimizu, L. S. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 8122-8123.

El grupo de investigación de Ranganathan también ha llevado a cabo la preparación de estructuras tubulares a partir de ciclodepsipéptidos.[99] En estado sólido se observó que el apilamiento de las unidades está promovido por las interacciones π–π que se establecen entre los anillos aromáticos que componen el esqueleto del depsipéptido. Es de destacar que los grupos amida se orientan hacia el plano del macrociclo, por lo que no intervienen en la estabilización del nanotubo (Figura 21).

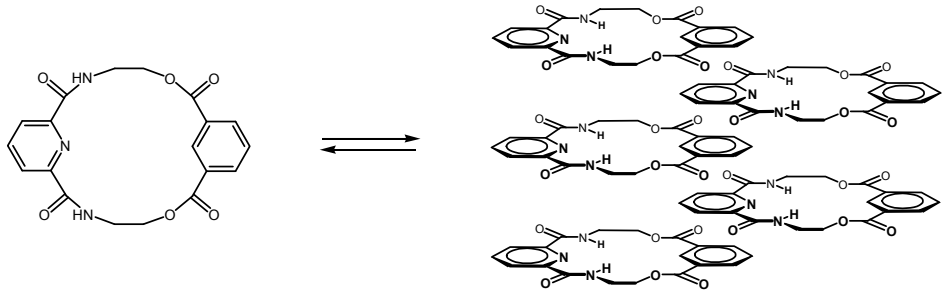


Figura 21. Representación esquemática del proceso de autoensamblaje de ciclodepsipéptidos.

La utilización de γ-aminoácidos en la construcción del esqueleto básico del ciclopéptido constituye un nuevo reto dentro del diseño de nanotubos, debido a las posibles modificaciones que se pueden producir en la cavidad interna del nanotubo. Es por ello que es necesario un estudio mucho más amplio, el cual se abordará en los siguientes capítulos de esta Tesis.

4.3. APLICACIONES DE LOS NANOTUBOS CICLOPEPTÍDICOS

4.3.1. CANALES SELECTIVOS DE TRANSPORTE TRANSMEMBRANOSO

Los canales transmembranosos presentes en la naturaleza suelen ser debidos a diversas moléculas que realizan tanto funciones de transporte y selección molecular como de control de flujo de iones o generación de energía.[100] Los nanotubos peptídicos sintéticos que presentan un interior hidrofílico y una superficie externa funcionalizada convenientemente pueden mimetizar ciertas funciones de canales iónicos. La preparación de estructuras tubulares mediante el autoensamblaje de ciclopéptidos permite modificar las propiedades del nanotubo simplemente seleccionando de manera adecuada la unidad ciclopeptídica precursora. Así, por ejemplo, el diámetro interno de la estructura tubular está determinado exclusivamente por el tamaño de la unidad cíclica básica, es decir, por el número de aminoácidos que la componen. En cuanto a la topología de la superficie externa, ésta depende únicamente de las cadenas laterales de los aminoácidos que constituyen el ciclopéptido. Debido a ello, el grupo de investigación de Ghadiri llevó a cabo el diseño y síntesis de una nueva colección de ciclopéptidos constituidos por aminoácidos con cadenas laterales no polares. Dichas unidades

[99] Ranganathan, D.; Haridas, V.; Gilardi, R.; Karle, I. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 10793-10800.
[100] a) Bayley, H. *Curr. Opin. Biotechnol.* **1999**, *10*, 94-103. b) Eisemberg, B. *Acc. Chem. Res.* **1998**, *31*, 117-123.

se ensamblan en las bicapas lipídicas formando nanotubos que las atraviesan y por los que se transportan iones pequeños de manera eficiente. Los primeros estudios mostraron que la nanoestructura tubular resultante del autoensamblaje del ciclopéptido *ciclo*[*L*-Gln-(*D*-Leu-*L*-Trp)$_3$-*D*-Leu-] presentaba una conductividad de 10^7 iones·s^{-1} tanto para Na^+ como para K^+.[101] Los resultados de conductancia iónica empleando técnicas de *patch clamp*[102] confirmaron que el transporte de los iones es tres veces más rápido que el que se produce a través del canal que genera la gramicidina A en la naturaleza.[103] La incorporación de las unidades cíclicas a las bicapas lípidicas se observó mediante espectroscopia de absorción y de fluorescencia, mientras que su ensamblaje espontáneo en forma de nanotubos fue corroborado por espectroscopia de FT-IR. Estudios posteriores de reflexión total atenuada (ATR) mostraron que la orientación del nanotubo no es perpendicular a la membrana lipídica, sino que éste se desvía unos 15º de la perpendicular, siguiendo la inclinación habitual de las cadenas lipídicas (Figura 22).[104]

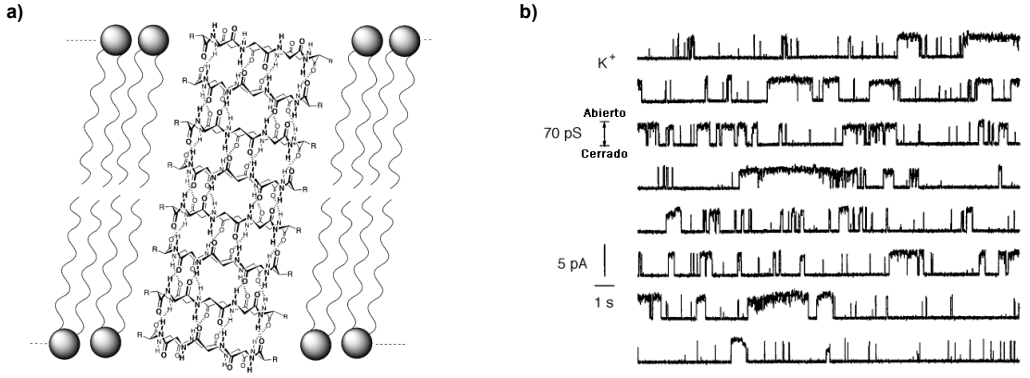


Figura 22. a) Representación esquemática del ensamblaje de ciclopéptidos en forma de un canal transmembrana. El nanotubo ciclopeptídico se inserta en la bicapa lipídica con una orientación de 15º respecto a la perpendicular. **b)** Medidas micro-*patch clamp* de conducción iónica para nanotubos autoensamblados en bicapas lipídicas a partir de *ciclo*[*L*-Gln-(*D*-Leu-*L*-Trp)$_3$-*D*-Leu-]. El cierre de los canales de iones es debido a la disrupción térmica de los enlaces de hidrógeno que constituyen el nanotubo ciclopeptídico.

Los estudios realizados sobre modelos sintéticos de membranas fosfolipídicas (tanto en liposomas como en membranas planas) confirman la predisposición que presentan los ciclopéptidos convenientemente funcionalizados para dar lugar a la formación de conductos transmembranosos y, con ello, al desarrollo de un transporte de iones altamente eficiente. También se observó que el transporte a través de dichos canales artificiales es selectivo en base al tamaño y/o en función de la polaridad de las moléculas, debido a que el interior de los

[101] Ghadiri, M. R.; Granja, J. R.; Buehler, L. K. *Nature* **1994**, 369, 301-304.
[102] Para fundamentos de la técnica de *patch clamp*, ver: a) Kandel, E. R.; Schwartz, J. H.; Jessell, T. M. *Principles of neural science*; McGraw-Hill: New York (Estados Unidos), **2000**; 152-153. b) Hamill, O. P.; Marty, A.; Neher, E.; Sakmann, B.; Sigworth, F. J. *Pflugers Arch.* **1981**, *391*, 85-100.
[103] La gramicidina A es un péptido de 18 aminoácidos que se pliega de forma helicoidal dejando un canal central. Para observar mejor su conformación y modo de acción, ver: a) Lougheed, T.; Borisenko, V.; Hennig, T.; Rück-Braun, K.; Woolley, G. A. *Org. Biomol. Chem.* **2004**, *2*, 2798-2801. b) Lien, L.; Jaikaran, D. C. J.; Zhang, Z.; Woolley, G. A. *J. Am. Chem. Soc,* **1996**, *118*, 12222-12223. c) Ketchem, R. R.; Hu, W.; Cross, T. A. *Science* **1993**, *261*, 1457-1460. d) Weinstein, S.; Wallace, B. A.; Blout, E. R.; Morrow, J. S.; Veatch, W. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1979**, *76*, 4230-4234.
[104] Kim, H. S.; Hartgerink, J. D.; Ghadiri, M. R. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 4417-4424.

nanotubos ciclopeptídicos presenta un carácter hidrofílico.[105] Así, el paso de glucosa, que requiere un diámetro de poro mayor que 9 Å, no está permitido para el caso de los nanotubos derivados de *D*,*L*-α-ciclooctapéptidos, cuyo diámetro interno es de aproximadamente 7 Å. Sin embargo, se observó que las nanoestructuras tubulares preparadas a partir del ciclodecapéptido *ciclo*[(*L*-Trp-*D*-Leu)$_4$-*L*-Gln-*D*-Leu-], las cuales tienen un diámetro interno de 10 Å, son capaces de tranportar glucosa, ácido glutámico y otras sustancias polares de manera muy eficiente.[106,107] Estos nanotubos ciclodecapeptídicos también transportan iones con similar eficiencia, pero con tiempos de apertura de canal más cortos que en el caso de los ciclooctapéptidos, debido probablemente a la mayor libertad conformacional que poseen.

El diseño de tapas (*caps*) moleculares para los nanotubos ciclopeptídicos que se insertan en las membranas es un gran reto que se ha abordado con el objetivo de controlar la apertura y cierre del canal, así como para modular su selectividad en el transporte. También en este caso, el grupo de Ghadiri ha llevado a cabo la preparación de una nueva clase de nanotubos ciclopeptídicos heteroméricos que presentan propiedades de conductividad y rectificación alteradas (Figura 23).[108] Estas estructuras supramoleculares se benefician de las diferentes características (modo de interacción y microambiente en el que residen) de las dos subunidades que se sitúan al final del canal de autoensamblaje. Dichas tapas suelen ser ciclopéptidos N-alquilados (como los estudiados previamente en disolución) que pueden bloquear el crecimiento del canal nanotubular generado por una unidad cíclica básica (Figura 23, péptido **3**), aunque también se emplearon como tapas más eficientes una gran colección de ciclopéptidos modificados con grupos catiónicos o aniónicos, o bien en los grupos amida (Figura 23, péptidos **4** y **5**) o en las cadenas laterales (Figura 23, péptidos **6** y **7**). Gracias a ello, estas unidades ciclopeptídicas tienden a situarse en la interfase entre la disolución acuosa y las cadenas fosfolipídicas, de tal forma que solo pueden interaccionar con los extremos del nanotubo ciclopeptídico que forma el canal. Las perturbaciones locales electrostáticas que traen consigo las subunidades tipo tapas (las cuales contienen grupos funcionales ionizables) son usadas para modular la selectividad y conductividad iónica del canal transmembranoso. De esta manera, cuando se emplea una tapa cargada negativamente, como por ejemplo el ciclooctapéptido *ciclo*[(*L*-Gln-*D*-Leu)$_4$-], se observa un incremento en la conductividad (10-15% en 20 mM KCl) debido a la inherente selectividad a cationes del canal resultante. La modificación de los extremos de la estructura tubular puede dar lugar a novedosas características, como mayor selectividad en el transporte, sistemas de apertura y cierre, puertas lógicas (*logic gates*),…

[105] Para un estudio teórico sobre la difusión de agua en el interior de los nanotubos ciclopeptídicos, ver: Engels, M.; Bashford, D.; Ghadiri, M. R. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 9151-9158.
[106] a) Sánchez-Quesada, J.; Kim, H. S.; Ghadiri, M. R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2503-2506. b) Granja, J. R.; Ghadiri, M. R. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 10785-10786.
[107] La modificación del número de aminoácidos de la unidad ciclopeptídica permite generar canales internos de diferentes dimensiones. De esta forma, se observa que los *D,L*-α-ciclooctapéptidos poseen un diámetro interno de van der Waals de ~7 Å, los *D,L*-α–ciclodecapéptidos de ~10 Å y los *D,L*-α-ciclododecapéptidos de ~13 Å.
[108] Sánchez-Quesada, J.; Isler, M. P.; Ghadiri, M. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 10004-10005.

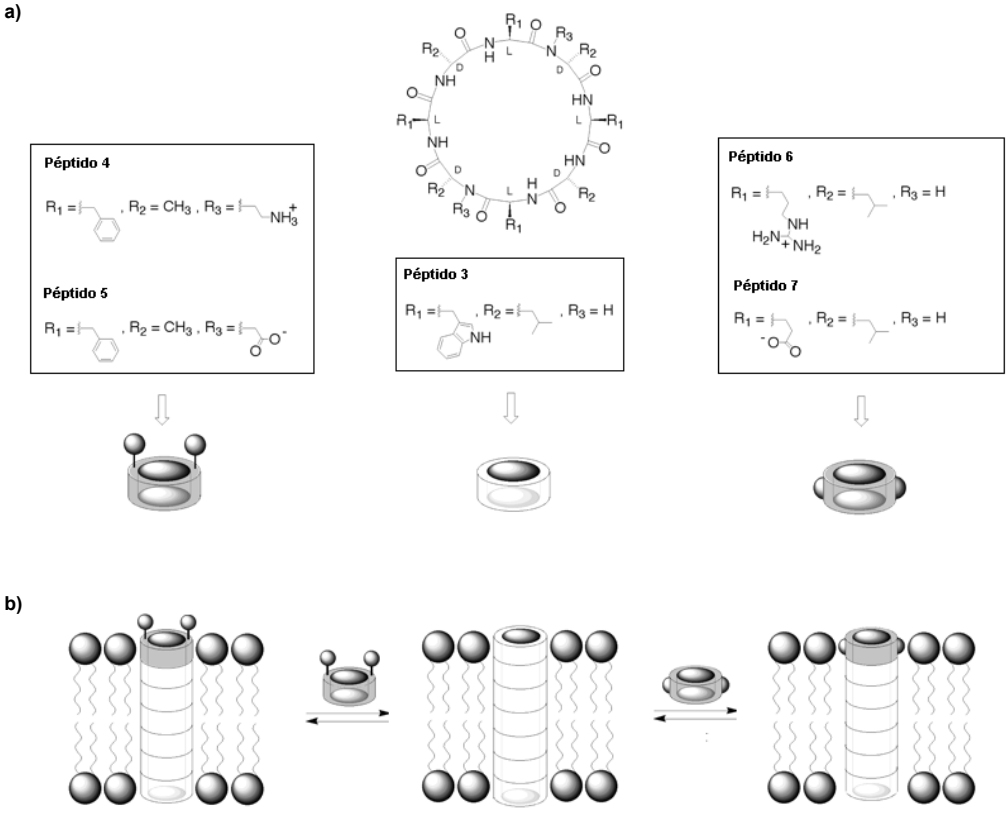


Figura 23. Diseño de tapas (*caps*) moleculares para nanotubos ciclopeptídicos insertados en membranas. **a)** Estructuras químicas de ciclopéptidos empleados en la preparación de estructuras supramoleculares heteroméricas. **b)** Representación esquemática del modo de interacción de las tapas tubulares en la formación de canales transmembranosos heteroméricos. El ciclopéptido **3** se autoensambla en las membranas lipídicas para dar lugar al canal, mientras los ciclopéptidos **4**-**7** actúan como tapas para crear la correspondiente estructura heteromérica con propiedades de conductividad iónica alteradas.

Como se comentó anteriormente, los β-ciclopéptidos también se estudiaron como canales iónicos, mostrando valores de conductividad similares a sus homólogos de α-aminoácidos.[85] La importancia de esta nueva clase de canales artificiales transmembranosos radica fundamentalmente en sus relevantes aplicaciones, que incluyen desde su utilización como biosensores hasta el transporte molecular selectivo al tamaño.

4.3.2. ANTIBIÓTICOS

La proliferación de múltiples microorganismos resistentes a antibióticos que ha acaecido durante los últimos años ha provocado que se intensifique la búsqueda de nuevos agentes antimicrobianos con novedosos modos de acción.[109] En la naturaleza existe un gran número de antibióticos peptídicos que actúan creando poros en las membranas bacterianas,

[109] a) Coates, A.; Hu, Y.; Bax, R.; Paged, C. *Nat. Drug Discovered* **2002**, *1*, 895-910. b) Neu, H. C. *Science* **1992**, *257*, 1064-1073.

provocando la muerte de dicho microorganismo al desestabilizar tanto el potencial electrostático como el gradiente iónico.[110] El grupo de investigación de Ghadiri, en colaboración con el nuestro, mimetizó este modo de acción mediante la utilización de ciclopéptidos con capacidad para apilarse en membranas lipídicas, formando así canales transmembranosos.[111,112] En particular, destacan los *D*,*L*-α-ciclooctapéptidos- y *D*,*L*-α-ciclohexapéptidos anfipáticos con al menos un residuo cargado positivamente, el cual puede interactuar con las membranas bacterianas cargadas negativamente. Estos ciclopéptidos se infiltran en la membrana lipídica y se asocian en forma de nanotubos orientados con un ángulo de 20º respecto al plano de la membrana, es decir, de manera casi paralela, lo que sugiere un modo de acción basado en un mecanismo tipo "alfombra" (*carpet*) de nanotubos, causando graves daños en las membranas (Figura 24a). Un aspecto importante de estos nanotubos antimicrobianos es que las unidades ciclopeptídicas pueden ser diseñadas para asociarse selectivamente a las bacterias frente a las membranas de mamíferos. Los estudios *in vitro* llevados a cabo con *D*,*L*-α-ciclooctapéptidos- y *D*,*L*-α-ciclohexapéptidos constituidos por un conjunto de aminoácidos apolares (3-5) y otros hidrofílicos (3-5) mostraron que dichas unidades cíclicas presentan una marcada actividad antimicrobiana, con una MIC (mínima concentración que inhibe el crecimiento bacteriano) en torno a 4 μg/mL y una buena selectividad frente a las células mamíferas (LD_{50} 100 μg/mL). Los estudios *in vivo* realizados en ratones han confirmado su acción preferencial contra las bacterias y han permitido observar que dichos ciclopéptidos exhiben actividad contra un amplio espectro de bacterias, incluida la MRSA (*methicillin-resistant Staphylococus aureus*).[113]

Los resultados obtenidos también parecen indicar que los aminoácidos hidrofílicos son de gran importancia en la selectividad que presentan las unidades cíclicas. Es probable que una contribución significativa de la actividad de los ciclopéptidos se deba a las interacciones de los mismos con los sacáridos y proteínas que recubren las membranas celulares, siendo dichas interacciones las que facilitan además la formación del nanotubo. Un papel relevante en esta selectividad lo constituye la posibilidad de conseguir una gran colección de nanotubos con diferentes superficies externas a partir de un mismo ciclopéptido, lo que presenta especial relevancia para el diseño eficiente de novedosos agentes antimicrobianos (Figura 24b).[114] En los trabajos más recientes, el grupo de investigación de Ghadiri ha mostrado que este tipo de unidades cíclicas también presentan una buena actividad antivírica, ya que al parecer, dichos ciclopéptidos dificultan la interacción con las membranas celulares.[112]

[110] Huang, H. W. *Biochemistry* **2000**, *39*, 8347-8352.
[111] a) Dartois, V.; Sánchez-Quesada, J.; Cabezas, E.; Chi, E.; Dubbelde, C.; Duna, C.; Granja, J.; Gritzen, C.; Weinberger, D.; Ghadiri, M. R.; Parr, T. R. Jr. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **2005**, *49*, 3302-3310. b) Fernández-López, S.; Kim, H. S.; Choi, E. C.; Delgado, M.; Granja, J. R.; Khasanov, A.; Kraehenbuehl, K.; Long, G.; Weinberger, D. A.; Wilcoxen, K. M.; Ghadiri, M. R. *Nature* **2001**, *412*, 452-455. c) Ganz, T. *Nature* **2001**, *412*, 392-393. d) Tesis Doctoral de Sara Fernández López - "Biological applications of peptide nanotubes" [*Universidad de Santiago de Compostela*, **2001**].
[112] a) Fletcher, J. T.; Finlay, J. A.; Callow, M. E.; Callow, J. A.; Ghadiri, M. R. *Chem. Eur. J.* **2007**, *13*, 4008-4013. b) Horne, W. S.; Wiethoff, C. M.; Cui, C.; Wilcoxen, K. M.; Amorín, M.; Ghadiri, M. R.; Nemerow, G. *Bioorganic and Medical Chemistry* **2005**, *13*, 5145-5153.
[113] Para una mayor información sobre agentes patógenos, cepas resisitentes y agentes antimicrobianos, ver: Halls, G. "The complete guide to anti-infectives". En *Scrip Reports*; PJB Publications: London (Reino Unido), **1999**.
[114] Las variaciones en las rotaciones relativas de las subunidades cíclicas permite generar nanotubos con diferentes superficies.

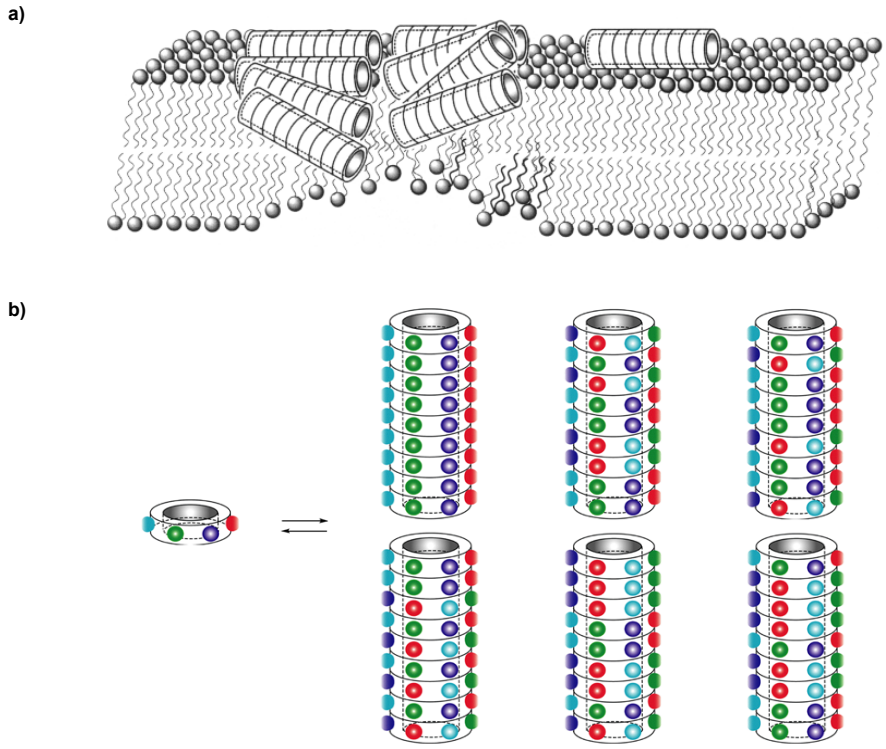


Figura 24. a) Modelo de acción tipo "alfombra" (*carpet*) propuesto para los nanotubos ciclopeptídicos. Dichas estructuras tubulares alteran las propiedades de las membranas bacterianas, provocando su desestabilización. **b)** Representación esquemática de la formación de múltiples nanotubos ciclopeptídicos con diferentes superficies a partir de un mismo ciciopéptido. Una unidad ciclopeptídica se puede ensamblar con la siguiente unidad de varias maneras, enfrentando así distintas cadenas laterales, lo que va a permitir la obtención de una gran colección de posibles agentes antimicrobianos.

El diseño de nuevos fármacos supramoleculares basados en los modelos de antimicrobianos ciclopeptídicos puede constituir un gran avance para combatir la resistencia a antibióticos que presentan cierto tipo de microorganismos.

4.3.3. BIOSENSORES

El grupo de investigación de Ghadiri también fue pionero en el diseño de sensores iónicos basados en ciclopéptidos.[115] Las unidades cíclicas adecuadamente funcionalizadas se asocian dando lugar a las correspondientes estructuras tubulares en monocapas autoensambladas (SAM) de organosulfuros en láminas de oro (Figura 25a). Las propiedades funcionales de este tipo de dispositivos se estudiaron mediante voltamperometría cíclica y espectroscopia de impedancia, mostrando una selectividad redox en la detección de pequeños iones de $[Fe(CN)_6]^{-3}$ frente a $[Mo(CN)_8]^{-4}$. Dichos estudios demostraron la viabilidad de la detección de iones mediante la difusión selectiva limitada por el tamaño en biomateriales tubulares formados en distintas superficies. Las aplicaciones de este tipo de sensores se

[115] Motesharei, K.; Ghadiri, M. R. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 11306-11312.

pueden ver incrementadas mediante variaciones en el tipo de ciclopéptido empleado, el diámetro del nanotubo y/o la longitud de las cadenas alquílicas de los adsorbatos organosulfurados.

El grupo de investigación de Bayley puso de manifiesto la utilidad de la α-hemolisina[116] como biosensor molecular.[117] Trabajos posteriores mostraron la capacidad que presentan ciertos "adaptadores moleculares" para modificar dicha proteína de manera no covalente, pudiendo así llevar a cabo la detección de pequeñas moléculas de manera mucho más eficiente.[118] El adaptador molecular se ajusta cómodamente en la cavidad interna (lumen) cilíndrica de la α-hemolisina y de manera coaxial al poro de la proteína, lo que va a provocar que todas las moléculas que fluyan a través del canal de la α-hemolisina sean filtradas por el adaptador molecular. De este modo, se pueden detectar pequeñas moléculas que se unen a dicho adaptador y que bloquean el flujo iónico, lo cual conlleva una disminución en la conductividad del canal (Figura 25b). En los estudios iniciales se emplearon β-ciclodextrinas como adaptadores moleculares, obteniendo excelentes resultados para la detección del hidrocloruro de adamantanamina.[119] La utilización de *D*,*L*-α-ciclooctapéptidos como adaptadores permite modificar más fácilmente la funcionalidad presente en la apertura del poro, simplemente variando la secuencia de aminoácidos, lo que representa una clara ventaja respecto al empleo de ciclodextrinas. Además, la simplicidad sintética de las unidades

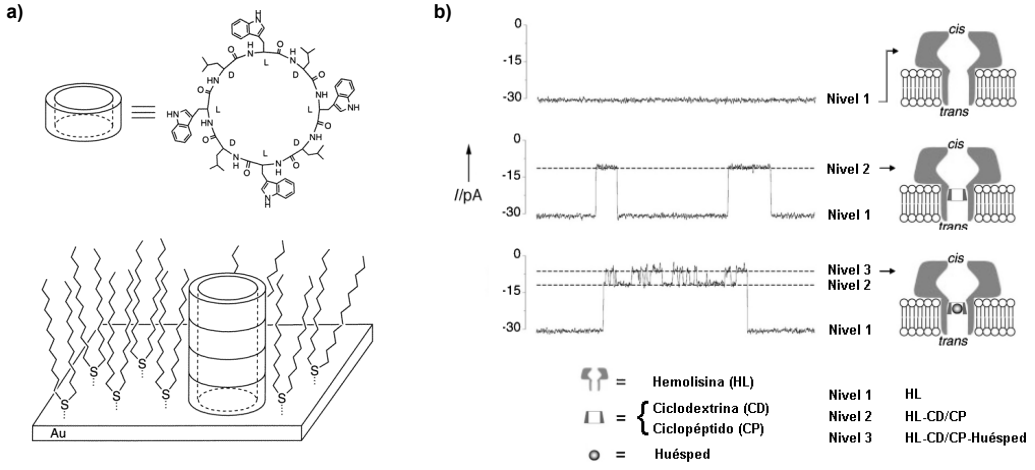


Figura 25. a) Representación esquemática de un biosensor basado en *D*,*L*-α-ciclopéptidos. Las unidades cíclicas se apilan sobre superficies de oro recubiertas de una monocapa de tioéteres, permitiendo la detección selectiva de iones limitada por el tamaño. **b)** Medidas de conductividad para una bicapa, las cuales ponen de manifiesto la utilidad de α-hemolisina con un adaptador molecular (ciclodextrina o ciclopéptido) para llevar a cabo la detección de moléculas pequeñas. El nivel 1 indica la conductividad a través de una membrana modificada solamente con α-hemolisina; el nivel 2 indica el decrecimiento de conductividad causado por la unión de un adaptador molecular dentro del lumen de la hemolisina; y el nivel 3 indica la posterior reducción en conductividad provocada por la unión del huésped al adaptador molecular mientras éste se encuentra en el interior del canal de la hemolisina.

[116] La α-hemolisina (α-HL) es una proteína natural que induce la formación de poros. Para un estudio más amplio, ver: Song, L.; Hobaugh, M. R.; Shustak, C.; Cheley, S.; Bayley, H.; Gouaux, J. E. *Science* **1996**, *274*, 1859-1865.
[117] a) Ashkenasy, N.; Sánchez-Quesada, J.; Bayley, H.; Ghadiri, M. R. Angew. Chem. Int. Ed. 2005, 44, 1401-1404. b) Sánchez-Quesada, J.; Saghatelian, A.; Cheley, S.; Bayley, H.; Ghadiri, M. R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 3063-3067. c) Braha, O.; Walker, B.; Cheley, S.; Kasianowicz, J. J.; Song, L.; Gouaux, J. E.; Bayley, H. *Chem. Biol.* **1997**, *4*, 497-505.
[118] Bayley, H.; Cremer, P. S. *Nature* **2001**, *413*, 226-230.
[119] Gu, L.-Q.; Braha, O.; Conlan, S.; Cheley, S.; Bayley, H. *Nature* **1999**, *398*, 686-690.

ciclopeptídicas permite el acceso a una gran librería química de ciclopéptidos, lo que va a facilitar que se disponga de adaptadores para una gran colección de sustratos. Un amplio estudio de estos sistemas biosensores basados en canales iónicos modificados con *D*,*L*-α-ciclooctapéptidos mostraron la detección de varias moléculas orgánicas polianiónicas, incluyendo el segundo mensajero inositol trifosfato (IP_3).[120] Claramente, dichos sistemas biosensores demuestran que la forma tubular puede ser flexiblemente controlada con el fin de maximizar la selectividad química. De igual modo, se observa como la selectividad del sensor puede ser manipulada mediante la elección del adaptador ciclopeptídico.

4.3.4. BIOMATERIALES

Inspirado en procesos de biomineralización naturales, el grupo de Ghadiri investigó la formación y estabilización de *nanoclusters* metálicos en la superficie de cristales de nanotubos ciclopeptídicos constituidos por *ciclo*[(*L*-Gln-*D*-Ala-*L*-Gln-*D*-Ala)$_2$-].[121] De este modo, se observó que los grupos carboxílicos presentes en la superficie externa del nanotubo servían como núcleos para lograr la deposición de óxido de cobre(I). El nanomaterial resultante se caracterizó mediante TEM y espectroscopia electrónica de pérdida de energía (EELS). La presencia regular de grupos funcionales en la superficie tubular también ha de servir para llevar a cabo la cristalización de minerales.

Recientemente, se ha demostrado que los péptidos sintéticos pueden ser modificados mediante la introducción de diversos iniciadores de polimerización, los cuales pueden dar lugar a reacciones que produzcan la unión covalente entre péptidos y polímeros.[122] El grupo de investigación de Biesalski ha estado trabajando en la utilización de ciclopéptidos como moldes para la preparación de materiales poliméricos porosos basados en nanotubos híbridos péptido-polímero (Figura 26).[123] De este modo, llevaron a cabo la síntesis de unidades peptídicas funcionalizadas con grupos iniciadores de radicales en sus cadenas laterales. Dichas unidades se autoensamblan para dar lugar al correspondiente nanotubo peptídico, en donde la presencia de los grupos iniciadores facilita la posterior polimerización y conduce a la formación de un esqueleto polimérico unido covalentemente al núcleo peptídico. Estas novedosas estructuras van a permitir la preparación de una gran colección de materiales híbridos con formas y tamaños determinados.

[120] Sánchez-Quesada, J.; Bayley, H.; Ghadiri, M. R.; Braha, O. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 11757-11766.
[121] Tesis Doctoral de Jeffrey D. Hartgerink – "Self-assembling peptide nanotubes" [*The Scripps Research Institute*, **1999**].
[122] a) Mei, Y.; Beers, K. L.; Byrd, H. C. M.; van der Hart, D. L.; Washburn, N. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 3472-3476. b) Becker, M. L.; Liu, J.; Wooley, K. L. *Chem. Commun.* **2003**, *2*, 180-181.
[123] a) Couet, J.; Biesalski, M. *Soft Matter* **2006**, *2*, 1005-1014. b) Couet, J.; Samuel, J. D. J. S.; Kopyshev, A.; Santer, S.; Biesalski, M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 3297-3301.

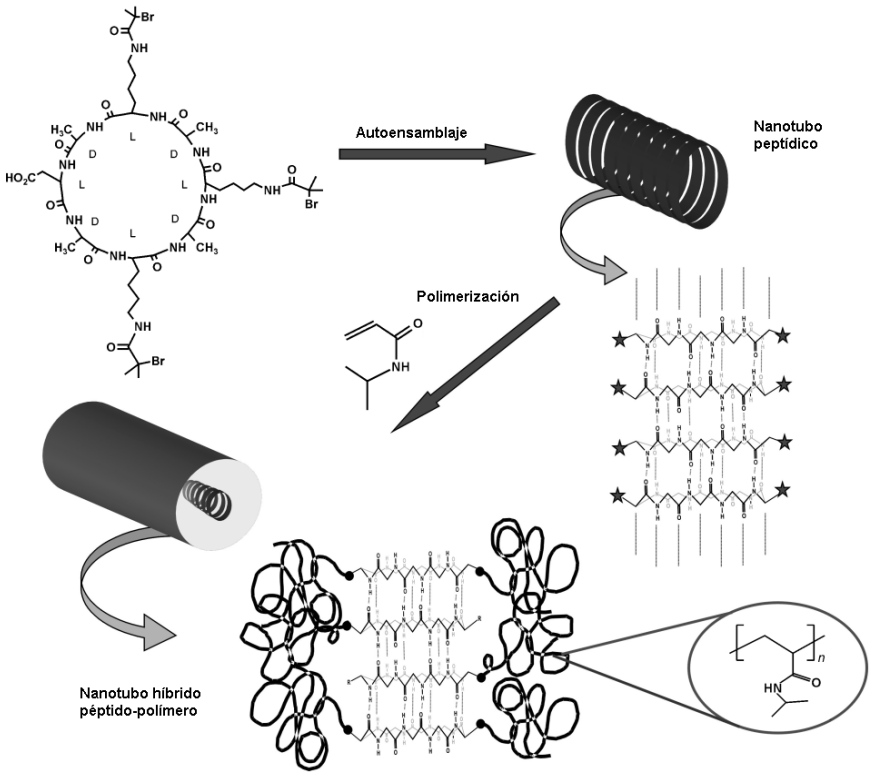


Figura 26. Preparación de nanotubos híbridos péptido-polímero. El ciclopéptido, que presenta en sus cadenas laterales grupos funcionales que pueden actuar como iniciadores de polimerización, se autoensambla para dar lugar al correspondiente nanotubo peptídico, disponiéndose los grupos iniciadores de manera exclusiva en la superficie externa de la estructura. La correspondiente polimerización en presencia de *N*-isopropilacrilamida (NIPAM) conduce al recubrimiento covalente del núcleo peptídico mediante la formación de una capa polimérica.

4.3.5. MATERIALES FOTOSENSIBLES

Las moléculas que en presencia de luz se interconvierten reversiblemente de un estado a otro han sido ampliamente estudiadas,[124] especialmente debido a su interés como dispositivos ópticos de almacenamiento de datos.[125] El grupo de investigación de Ghadiri desarrolló interruptores moleculares basados en la utilización de nanotubos ciclopeptídicos (Figura 27).[126] Para ello, se diseñó un sistema en el cual se empleaban dos ciclopéptidos N-metilados idénticos unidos covalentemente a través de un grupo azobenceno, el cual puede existir en dos geometrías distintas. En la configuración *Z* se establece la formación de enlaces de hidrógeno intramolecular entre los dos ciclopéptidos unidos por el espaciador, dando lugar a una estructura dimérica. El isómero *E* da lugar a oligómeros, debido a que las interacciones entre los ciclopéptidos unidos covalentemente están restringidas, lo que conlleva que cada grupo azobenceno se disponga de tal forma que conecte dos dímeros vecinos. Las

[124] a) Delaire, J. A.; Nakatani, K. *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 1817-1845. b) Sekkat, Z.; Knoll, W. *Adv. Photochem.* **1997**, *22*, 117-195. c) Willner, I. *Acc. Chem. Res.* **1997**, *30*, 347-356.
[125] Galaev, I. Y.; Mattiasson, B. *Trends Biotechol.* **1999**, *17*, 335-340.
[126] Vollmer, M. S.; Clark, T. D.; Steinem, C.; Ghadiri, M. R. *Angew. Chem. Int. Ed* **1999**, *38*, 1598-1601.

isomerizaciones *E*→*Z* y *Z*→*E* se llevaron a cabo mediante irradiación a 366 nm y luz visible, respectivamente. La interconversión *E*-*Z* es extremadamente rápida y tiene lugar tanto en disolución como en pequeñas películas en la interfase aire-agua.[127] Futuras investigaciones podrían permitir la preparación de nuevos materiales con capacidad de modificar sus propiedades macroscópicas en presencia de luz.

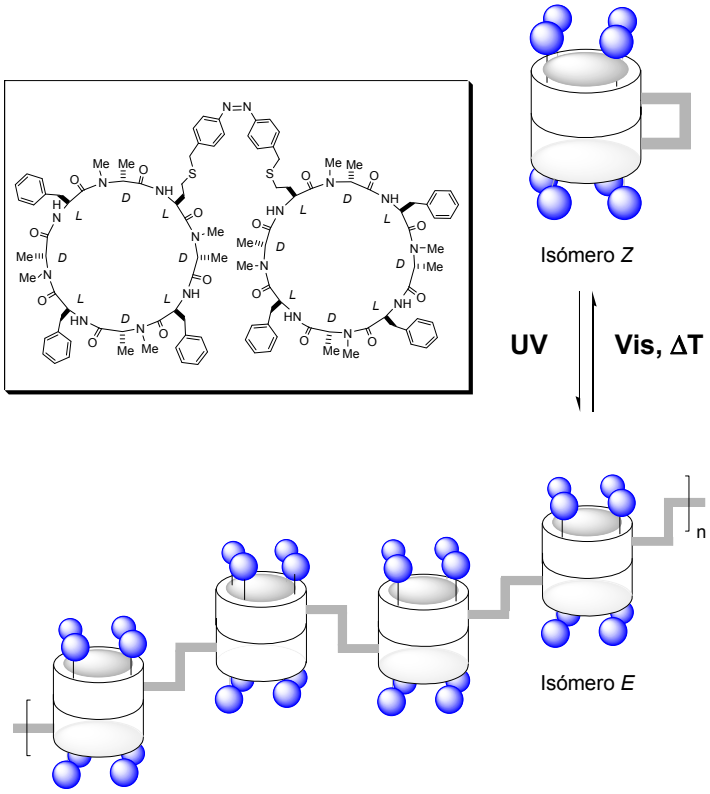


Figura 27. Estructura del azobenceno ciclopeptídico empleado como interruptor molecular y proceso de interconversión entre el isómero *cis* dimérico y el isómero *trans* oligomérico.

4.3.6. DISPOSITIVOS ELECTRÓNICOS

Durante los últimos años, se han llevado a cabo diversos estudios computacionales para poder elucidar las propiedades electrónicas de los nanotubos ciclopeptídicos.[128] Los resultados de Takeda sugirieron que los enlaces de hidrógeno que se establecen entre anillos podían deslocalizar electrones, dando lugar a la correspondiente banda de conducción.[129] Un análisis más exhaustivo sobre el papel que juegan las interacciones intra- e intersubunidad en la determinación de las estructura electrónica del nanotubo mostró que los estados electrónicos eran fuertemente dependientes de los enlaces de hidrógeno que se producen entre

[127] Steinem, C.; Janshoff, A.; Vollmer, M. S.; Ghadiri, M. R. *Langmuir* **1999**, *15*, 3956-3964.
[128] a) Okamoto, H.; Kasahara, M.; Takeda, K.; Shiraishi, K. *Springer Proc. Phys.* **2001**, *87*, 1637-1638. b) Carloni, P.; Andreoni, W.; Parrinello, M. *Phys. Rev. Lett.* **1997**, *79*, 761-764.
[129] Fukasaku, K.; Takeda, K.; Shiraishi, K. *J. Phys. Soc. Jpn.* **1997**, *66*, 3387-3390.

ciclopéptidos.[130] En cuanto a la transición (*gap*) HOMO-LUMO, se observó que tenía un valor aproximado de 5 eV, lo cual permitía vislumbrar interesantes aplicaciones bioelectrónicas para dichos sistemas ciclopeptídicos.[131]

Con el objetivo final de desarrollar sistemas electrónicos basados en unidades α-ciclopeptídicas, el grupo de Ghadiri preparó un *D*,*L*-α-ciclooctapéptido que contiene cuatro cadenas laterales catiónicas de ácido 1,4,5,8-naftalenotetracarboxílico diimida (NDI), el cual experimenta en disolución acuosa un proceso de autoensamblaje promovido por reacciones de reducción-oxidación (redox) para dar lugar a los correspondientes nanotubos ciclopeptídicos, los cuales poseen estados electrónicos altamente deslocalizados (Figura 28).[80,132] De esta forma, demostraron que el ordenamiento supramolecular consecuencia de las interacciones enlace de hidrógeno que tiene lugar en los nanotubos ciclopeptídicos proporciona un sencillo método para llevar a cabo la preparación de una nueva clase de biomateriales sintéticos que exhiben estados de carga deslocalizados. De igual modo, hay que destacar su utilidad en el diseño y fabricación de dispositivos electrónicos y ópticos.

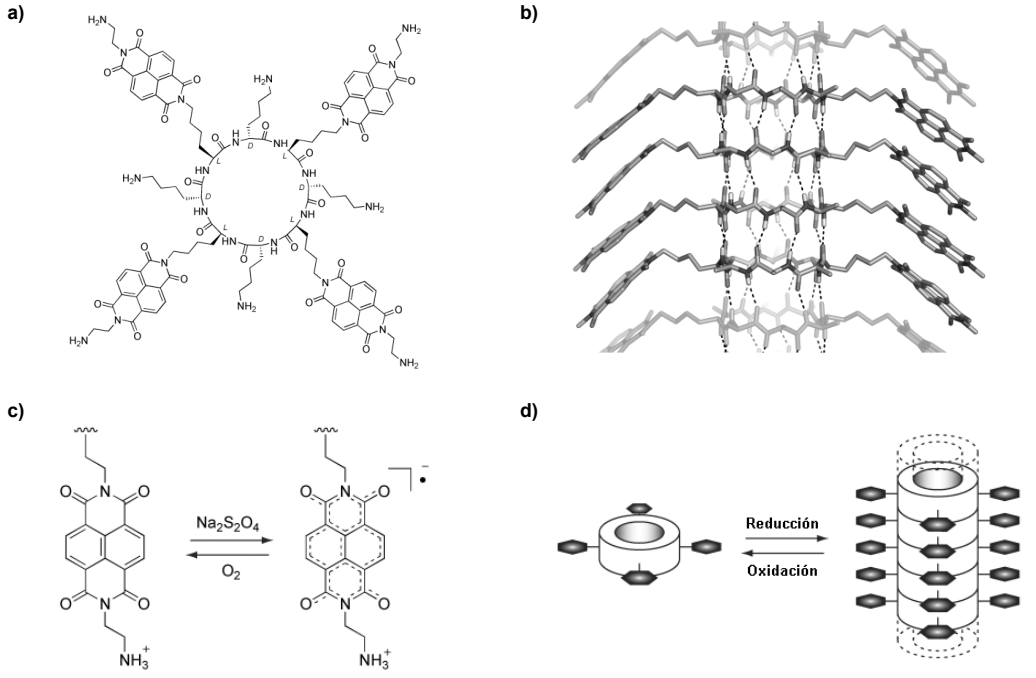


Figura 28. Dispositivos electrónicos basados en *D*,*L*-α-ciclopéptidos. **a)** Estructura química del ciclopéptido funcionalizado con unidades NDI empleado para llevar a cabo la preparación de nanotubos electrónicamente activos. **b)** Modelo calculado para la estructura tubular resultante del autoensamblaje de la unidad ciclopeptídica derivatizada con NDI, en donde se observa que los enlaces de hidrógeno intermoleculares tipo lámina β juegan un papel relevante en la yuxtaposición y apilamiento de las cadenas laterales aromáticas de NDI (la mayoría de las cadenas laterales han sido omitidas para una mayor visualización). **c)** Reducción reversible de las cadenas laterales de NDI para dar lugar a los correspondientes aniones radicales de NDI. **d)** Representación esquemática del autoensamblaje de nanotubos ciclopeptídicos promovido por reacciones redox (reducción-oxidación).

[130] Okamoto, H.; Kasahara, M.; Takeda, K.; Shiraishi, K. *Pept. Sci.* **1999**, *36*, 67-70.
[131] a) Jishi, R. A.; Braier, N. C.; White, C. T.; Mintmire, J. W. *Phys. Rev. B* **1998**, *58*, 16009-16011. b) Lewis, J. P.; Pawley, N. H.; Sankey, O. F. *J. Phys. Chem. B* **1997**, *101*, 10576-10583.
[132] Ashkenasy, N.; Horne, W. S.; Ghadiri, M. R. *Small* **2006**, *2*, 99-102.

En la actualidad, el grupo de investigación de Kimura está estudiando el proceso de autoensamblaje de *ciclo*[β-Glu(tpy)$_3$-], un novedoso ciclo-tri-β-péptido que se caracteriza por estar funcionalizado de manera conveniente con ligandos terpiridina (tpy).[133] La estructura tubular resultante es capaz de complejarse a Cu(II) debido a que dichos ligandos cubren toda la superficie del cristal, manteniendo las unidades de terpiridina dispuestas de manera plana y paralelas al esqueleto ciclopeptídico (Figura 29). Es de destacar que el nanotubo presenta una alta conductividad electrónica y un largo momento dipolar, por lo que dicho ensamblaje posee un gran número de aplicaciones en el campo de la electrónica.

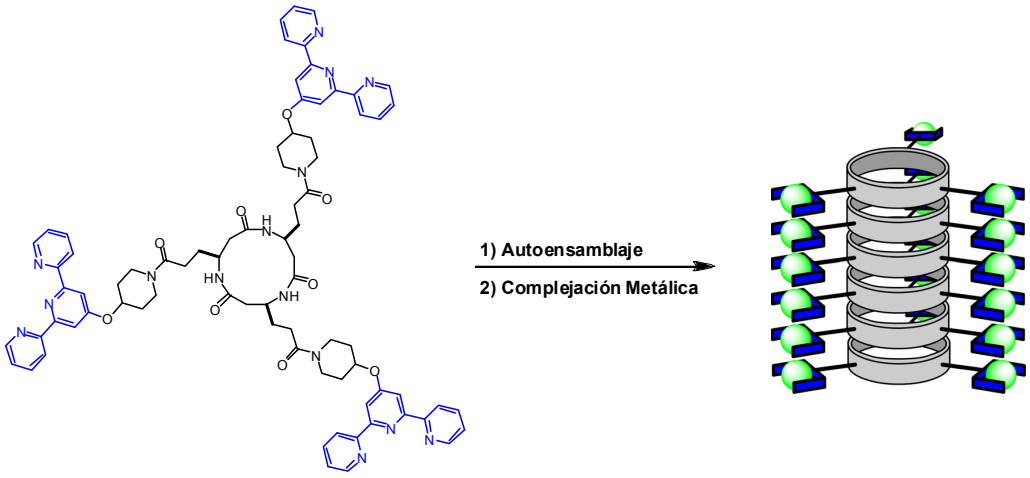


Figura 29. Representación esquematizada del proceso de autoensamblaje y posterior complejación metálica del ciclotripéptido *ciclo*[β-Glu(tpy)$_3$-] (las esferas verdes representan los átomos de cobre).

5. ESTRUCTURAS NANOTUBULARES CONSTITUIDAS POR α,γ-CICLOPÉPTIDOS

Durante los últimos años se han descrito numerosos ejemplos de estructuras peptídicas que presentan γ-aminoácidos en su esqueleto.[134] Así, el grupo de investigación de Albericio llevó a cabo la preparación de novedosos foldámeros, en los cuales cadenas peptídicas constituidas por *cis*-γ-amino-*L*-prolina daban lugar a la formación de hélices.[135] Del mismo modo, cabe destacar los estudios realizados por el grupo de Seebach sobre los plegamientos de péptidos constituidos por γ-aminoácidos, los cuales también daban lugar a las

[133] Fujimura, F.; Kimura, S. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 793-796.
[134] a) Vasudev, P. G.; Shamala, N.; Ananda, K.; Balaram, P. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 4972-4975. b) Seebach, D.; Beck, A. K.; Bierbaum, D. J. *Chemistry & Biodiversity* **2004**, *1*, 1111-1239. c) Hill, D. J.; Mio, M. J.; Prince, R. B.; Hughes, T. S.; Moore, J. S. *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 3893-4011. d) Woll, M. G.; Lai, J. R.; Guzei, I. A.; Taylor, S. J. C.; Smith, M. E. B.; Gellman, S. H. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 11077-11078. e) Hanessian, S.; Luo, X.; Schaum, R.; Michnich, S. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 8569-8570.
[135] a) Farrera-Sinfreu, J.; Giralt, E.; Castel, S.; Albericio, F.; Royo, M. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 9459-9468. b) Farrera-Sinfreu, J.; Zaccaro, L.; Vidal, D.; Salvatella, X.; Giralt, E.; Pons, M.; Albericio, F.; Royo, M. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 6048-6057.

correspondientes hélices.[136] Las características que llevan asociadas los γ-aminoácidos, junto con las propiedades que le confieren a la estructura resultante, ha provocado que la introducción de dichos residuos en una secuencia peptídica adquiera gran relevancia en la preparación de nuevos nanotubos ciclopeptídicos funcionales.

Las cavidades internas de los nanotubos *D*,*L*-α- y β-ciclopeptídicos son hidrofílicas debido a la la presencia de grupos amida que forman enlaces de hidrógeno con otras subunidades, dependiendo algunas de sus potenciales aplicaciones de dicho carácter.[137] Una limitación que presentan estas estructuras es que no es posible modificar las propiedades de sus poros mediante introducción de grupos funcionales en su cavidad interna, debido a que todas las cadenas laterales de los aminoácidos están dispuestas hacia el exterior y a que la sustitución en Cα o Cβ interfiere en el autoensamblaje nanotubular. Sin embargo, esta desventaja desaparece cuando empleamos híbridos α,γ-ciclopeptídicos como unidad básica para llevar a cabo la construcción del nanotubo.

5.1. PRECEDENTES DE α,γ-CICLOPÉPTIDOS

Los primeros estudios de α,γ-ciclopéptidos fueron llevados a cabo por el grupo de investigación de Ishida, el cual observó que híbridos ciclopeptídicos neutros constituidos por la alternancia de α-aminoácidos con unidades de ácido 3-aminobenzoico (γ-aminoácido) se unían de manera eficiente a aniones fosfato (Figura 30a).[138] Trabajos posteriores realizados por el grupo de Kubik permitieron demostrar que estos ciclopéptidos se plegaban para actuar como receptores de aniones o cationes, dependiendo del mecanismo de unión involucrado.[139]

La introducción de cadenas alquiladas en la posición 5 del anillo aromático del γ-aminoácido permitió la obtención de ciclopéptidos capaces de formar canales transmembranosos (Figura 30b).[140] El modelo de canal propuesto se basa en la formación de una estructura dimérica en la cual las unidades ciclopeptídicas forman los extremos del canal (cabeza y cola), mientras que las cadenas alquiladas hidrofóbicas de la posición 5 se insertan en la membrana fosfolipídica para formar propiamente el canal. Los estudios de transporte iónico mostraron que dichos canales presentaban selectividad por los cationes frente a los aniones, y dentro de éstos resultaron ser ligeramente más selectivos al transporte de K^+ que al de Na^+. Por otra parte, la introducción de grupos carboxilato en el γ-aminoácido también permitió que estos ciclopéptidos puedan ser empleados como receptores de monosacáridos, lo que pone de manifiesto la utilidad de estos híbridos en la unión y/o reconocimiento de moléculas (Figura 30c).[141]

---

[136] a) Seebach, D.; Schaeffer, L.; Brenner, M.; Hoyer, D. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 776-778. b) Seebach, D.; Brenner, M.; Rueping, M.; Jaun, B. *Chem. Eur. J.* **2002**, *8*, 573-584.

[137] Se cree que las interacciones entre la red de enlaces de hidrógeno y los pares electrónicos del átomo de oxígeno de las moléculas de agua son las responsables del carácter hidrofílico del interior del nanotubo. Esto corrobora el hecho de que sean capaces de transportar iones y azúcares, o que se observe la presencia de moléculas de agua en los cristales de estos nanotubos.

[138] Ishida, H.; Suga, M.; Donowaki, K.; Ohkubo, K. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 5374-5375.

[139] a) Rodríguez-Docampo, Z.; Pascu, S. I.; Kubik, S.; Otto, S. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 11206-11210. b) Pohl, S.; Goddard, R.; Kubik, S. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 7555-7558. c) Kubik, S.; Goddard, R. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 9475-9486. d) Kubik, S. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 5846-5855.

[140] a) Ishida, H.; Qi, Z.; Sokabe, M.; Donowaki, K.; Inoue, Y. *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 2978-2989. b) Qi, Z.; Sokabe, M.; Donowaki, K.; Ishida, H. *Biophysical Journal* **1999**, *76*, 631-641.

[141] a) Bitta, J.; Kubik, S. *J. Supramol. Chem.* **2003**, *1*, 293-297. b) Bitta, J.; Kubik, S. *Org. Lett.* **2001**, *3*, 2637-2640.

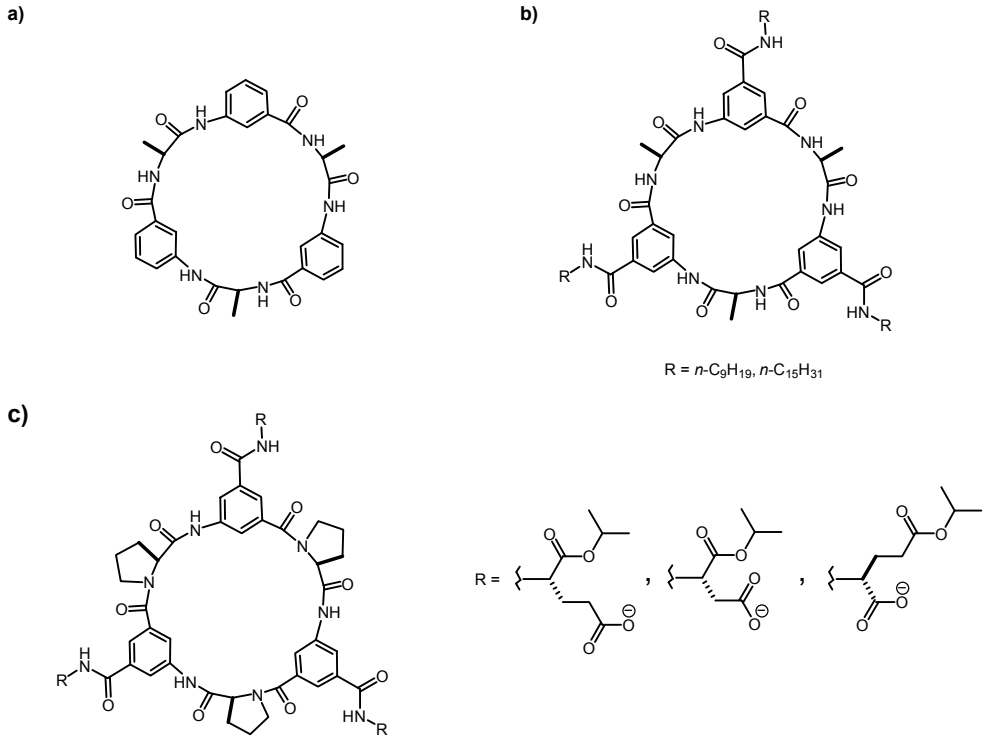


Figura 30. Híbridos α,γ-peptídicos constituidos por ácido 3-aminobenzoico. **a)** Ejemplo de α,γ-ciclopéptido empleado en el reconocimiento molecular de aniones fosfato. **b)** Estructura química de α,γ-híbridos con capacidad de formar canales transmembranosos. **c)** Ejemplos de receptores de monosacáridos basados en α,γ-ciclopéptidos.

Actualmente, el grupo de Kubik está trabajando tanto en el control del diámetro interno de la unidad ciclopéptidica como en la utilización de nuevos derivados de ácido 3-aminobenzoico, lo que permitirá el desarrollo de nuevas aplicaciones.[142] Además, demostraron que el γ-aminoácido aromático reduce en gran manera la flexibilidad conformacional, evitando así el plegamiento de la secuencia peptídica. Sin embargo, en ninguno de los casos anteriores se observó que la disposición de la unidad cíclica fuese la adecuada para que tuviese lugar el proceso de autoensamblaje y la consecuente formación de la estructura nanotubular. La utilización de nuevos γ-aminoácidos debería permitir la construcción de unidades ciclopeptídicas precursoras de nanotubos.

5.2. NANOTUBOS α,γ(Ach)-CICLOPEPTÍDICOS

Recientemente, nuestro grupo de investigación ha llevado a cabo el diseño, síntesis y caracterización de una nueva clase de ciclopéptidos constituidos por α-aminoácidos y unidades de ácido 3-aminociclohexanocarboxílico (γ-Ach).[143] Dicho γ-aminoácido cíclico restringe la

[142] Heinrichs, G.; Schellenträger, M.; Kubik, S. *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, 4177-4186.
[143] Tesis Doctoral de Manuel Amorín López - "Diseño, síntesis y estudio de α,γ-nanotubos peptídicos" [*Universidad de Santiago de Compostela*, **2005**].

flexibilidad del anillo y facilita que estos ciclopéptidos adopten la conformación plana necesaria para la formación de los correspondientes nanotubos. Además, la utilización de dicho γ-derivado nos ha servido como base para llevar a cabo la funcionalización de la cavidad interna del nanotubo.

5.2.1. DISEÑO

El primer motivo estructural propuesto fue el de los nanotubos α,γ-ciclopeptídicos, los cuales están formados por unidades cíclicas constituidas por la alternancia de α- y γ-aminoácidos (Figura 31). La quiralidad de los aminoácidos es realmente importante, ya que sólo los ciclopéptidos en los que los α-aminoácidos de configuración *D* se alternan con unidades de ácido 3-aminocicloalcanocarboxílico (γ-Aca) de configuración (*1R*,*3S*) pueden adoptar la configuración plana necesaria para la formación de nanotubos. Dado que los γ-aminoácidos cíclicos poseen un número impar de átomos (5), al igual que los α-aminoácidos (3), podemos sustituir cualquier α-aminoácido de los *D*,*L*-α-ciclopéptidos por un γ-aminoácido cíclico, siempre y cuando los α-aminoácidos de configuración *L* los sustituyamos por el isómero (*1R*,*3S*) del γ-Aca y los *D*-α-aminoácidos los intercambiemos por el (*1S*,*3R*).[144]

En el diseño de estos α,γ-ciclopéptidos es importante tener en cuenta las novedosas características de los nanotubos resultantes. Dichos nanotubos presentan dos tipos de interacciones debido a que los ciclopéptidos están constituidos por α- y γ-aminoácidos. Como hemos visto con anterioridad, ambos aminoácidos están formados por un número impar de átomos, lo que implica que cuando el péptido adopta la conformación plana necesaria para el autoensamblaje, los aminoácidos disponen sus grupos C=O y NH orientados hacia el mismo lado del plano. La disposición alternada de α- y γ-aminoácidos provoca que todos los grupos C=O y NH de los γ-aminoácidos queden orientados hacia una cara del ciclopéptido (Cara γ), mientras que hacia la otra cara se sitúan los grupos correspondientes a los α-aminoácidos (Cara α). Así, a la hora de establecer interacciones entre estos ciclopéptidos mediante una hoja plegada β antiparalela, se observa que los grupos C=O y NH de la cara α lo hacen con los α-aminoácidos de la siguiente subunidad (interacción α–α) y, de la misma forma, los grupos dadores y aceptores de enlaces de hidrógeno de la cara γ interaccionan con los de la cara γ de la otra subunidad (interacción γ–γ). Por lo tanto, el nanotubo se basa en la alternancia de interacciones de las caras α (Figura 31, enlaces de hidrógeno en azul) con interacciones de las caras γ (Figura 31, enlaces de hidrógeno en rojo) a lo largo del mismo. Otra visión de los nanotubos muestra que están formados por unidades diméricas unidas entre sí mediante hojas plegadas β antiparalelas. Así, por ejemplo, entre las caras γ de los ciclopéptidos se forman dímeros, los cuales a su vez se unen entre si mediante hojas plegadas β antiparalelas a través de sus caras α. Recíprocamente, se puede observar como el nanotubo también está formado por unidades diméricas establecidas a través de las caras α, las cuales se unen posteriormente entre si a través de las caras γ.

[144] Dada esta equivalencia estereoquímica, a lo largo de esta memoria doctoral se utilizará la nomenclatura *L*-γ-Aca para referirnos a los ácidos (*1R*,*3S*)-3-aminocicloalcanocarboxílicos y la *D*-γ-Aca para referirnos a los isómeros (*1S*,*3R*).

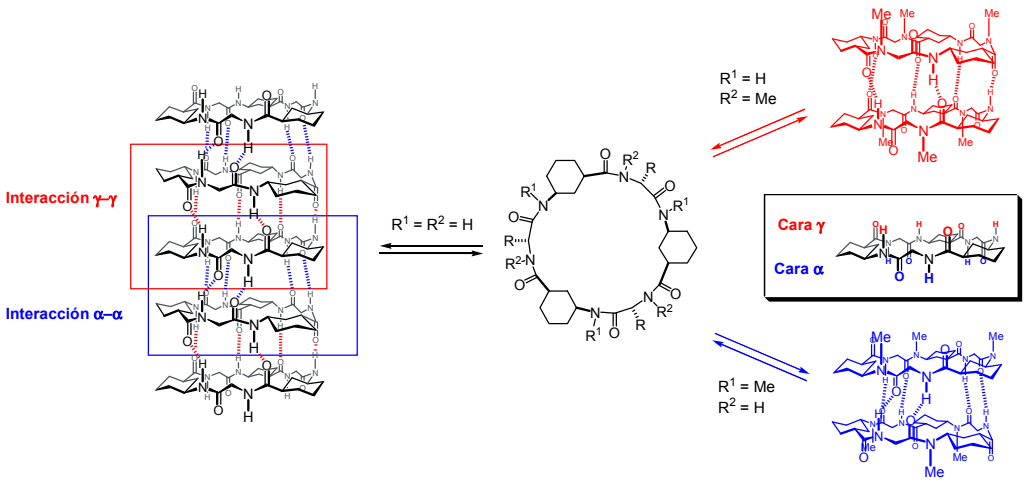


Figura 31. Modelo de nanotubo α,γ-ciclopeptídico obtenido mediante el autoensamblaje molecular de *ciclo*[(*L*-γ-Ach-*D*-α-Aa)$_3$-]. La asociación de las unidades α,γ-ciclopeptídicas se produce mediante dos tipos de interacciones. En la primera de ellas, la formación de enlaces de hidrógeno tiene lugar a través de los grupos NH y C=O de los γ-aminoácidos, por lo que la designaremos como interacción γ–γ. En la segunda de ellas, la formación de los enlaces de hidrógeno se produce a través de los α-aminoácidos, por lo que la denominaremos interacción α–α. Por lo tanto, el nanotubo se basa en la alternancia de interacciones de las caras α con interacciones de las caras γ a lo largo del mismo. De manera enmarcada se muestra la orientación de los grupos dadores y aceptores de los α- y γ-aminoácidos hacia caras diferentes del ciclopéptido. En la parte derecha también se muestran los modelos diméricos N-metilados correspondientes a cada una de las interacciones (las cadenas laterales de los aminoácidos han sido omitidas para una mejor visualización).

Hay que destacar que la formación de nanotubos que contienen γ-aminoácidos no está restringida a la alternancia de α- y γ-aminoácidos. Diferentes motivos estructurales son posibles siempre y cuando se mantenga la alternancia de la quiralidad de los aminoácidos que componen el ciclopéptido. Así, otro modelo estructural ampliamente estudiado por nuestro grupo de investigación es el de los nanotubos (3α,1γ)-ciclopeptídicos, los cuales están formados por unidades cíclicas constituidas por 3 α-aminoácidos por cada γ-Ach (Figura 32).[145] Dichas unidades ciclopeptídicas de 28 eslabones se autoensamblan para dar lugar a los correspondientes nanotubos, observándose que esta vez solamente dos grupos metileno β del anillo del ciclohexilo quedan orientados hacia el interior de la cavidad, lo que da lugar a una simetría C_2 frente a la simetría C_3 de los α,γ-ciclohexapéptidos y C_4 de los α,γ-ciclooctapéptidos. Al igual que ocurría con los α,γ-ciclopéptidos, los (3α,1γ)-ciclopéptidos presentan dos caras no equivalentes. En una de ellas, se encuentran los grupos dadores y aceptores de enlaces de hidrógeno de los *L*-α-aminoácidos (cara α,α), mientras que en la otra se hallan los C=O y NH correspondientes al *D*-γ-Ach y al *D*-α-aminoácido (cara α,γ). Debido a ello, la formación de nanotubos se basa en el establecimiento de enlaces de hidrógeno entre láminas β antiparalelas, interaccionando la cara α,α de uno de los ciclopéptidos con la cara α,α del siguiente (Figura 32, enlaces de hidrógeno en azul), o las caras α,γ entre si (Figura 32, enlaces de hidrógeno en rojo).

[145] Amorín, M.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 2100-2111.

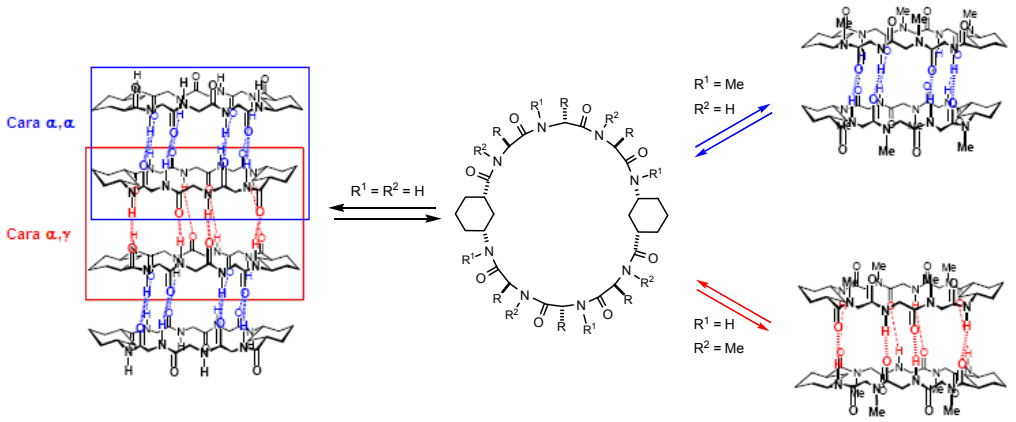


Figura 32. Modelo de nanotubo (3α,1γ)-ciclopeptídico obtenido mediante el autoensamblaje molecular de *ciclo*[(*D*-γ-Ach-*L*-α-Aa-*D*-α-Aa-*L*-α-Aa)$_2$-]. En el nanotubo se pueden observar dos tipos de enlaces de hidrógeno diferentes; uno es debido a las interacciones antiparalelas entra las caras α,α (enlaces de hidrógeno en azul), y el otro se corresponde con las interacciones antiparalelas que se producen entre las caras α,γ (enlaces de hidrógeno en rojo). En la parte derecha se muestran los modelos diméricos N-metilados correspondientes a cada una de las interacciones (las cadenas laterales de los aminoácidos han sido omitidas para una mejor visualización).

Hay que destacar que la introducción de unidades de γ-Ach en la unidad ciclopeptídica provoca que el metileno β de cada ciclohexano se proyecte hacia el lumen, creando una región hidrofóbica. Esto ha de servir como base para llevar a cabo la posterior funcionalización de la cavidad interna del nanotubo mediante la introducción de sustituyentes o heteroátomos en dicha posición.

5.2.2. ESTUDIOS DE DIMERIZACIÓN EN DISOLUCIÓN

Los primeros estudios en disolución se realizaron con ciclopéptidos especialmente diseñados para la formación de dímeros, con el fin de que pudiésemos analizar el proceso de autoensamblaje y establecer con ello las bases termodinámicas y estructurales. De este modo, se llevó a cabo inicialmente la síntesis de ciclohexapéptidos (anillos de 24 eslabones) N-metilados en los que se alternan diversos α-aminoácidos y ácido *cis*-3-aminociclohexanocarboxílico.[146] Ésto permitió observar los dos tipos de interacciones presentes en la estructura nanotubular. Por una parte se llevó a cabo el estudio de las interacciones γ–γ mediante la utilización de ciclopéptidos en los que los protones amida de los α-aminoácidos se habían sustituido por grupos metilo, obteniéndose el dímero correspondiente (Figura 31, estructura dimérica N-metilada en color rojo) con valores de K_a de aproximadamente 10^2 M^{-1}, los cuales son comparables a los observados para los *D*,*L*-ciclooctapéptidos.[69,70,74,80] Por otra parte, las interacciones α–α fueron estudiadas a través del empleo de ciclopéptidos con los residuos γ N-metilados, los cuales dieron lugar a la formación de la correspondiente estructura dimérica (Figura 31, estructura dimérica N-metilada en color azul) con elevadas constantes de asociación (K_a > 10^5 M^{-1}). Así, por ejemplo, el

[146] a) Amorín, M.; Villaverde, V.; Castedo, L.; Granja, J. R. *J. Drug. Delivery Sci. Technol.* **2005**, *15*, 87-92. b) Amorín, M.; Castedo, L.; Granja, J. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 2844-2845.

hexapéptido *ciclo*[(*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach)$_3$-] mostró que los dímeros unidos a través de los α-aminoácidos (interacción α–α) eran extremadamente estables en disolventes no polares, con valores elevados de K_a. La confirmación de la estructura dimérica se realizó mediante RMN, FT-IR y, especialmente, rayos X. El análisis cristalográfico corroboró la correspondiente estructura dimérica, observándose además una molécula de $CHCl_3$ ocupando su cavidad interna, lo que pone de manifiesto el carácter hidrófobo de dicho interior, probablemente debido al efecto del metileno β (Figura 33).[147] Es de destacar que la utilización de otros α-aminoácidos (con diferentes cadenas laterales) no conlleva la modificación de modo significativo ni de la estructura ni de los valores elevados de constantes de asociación.

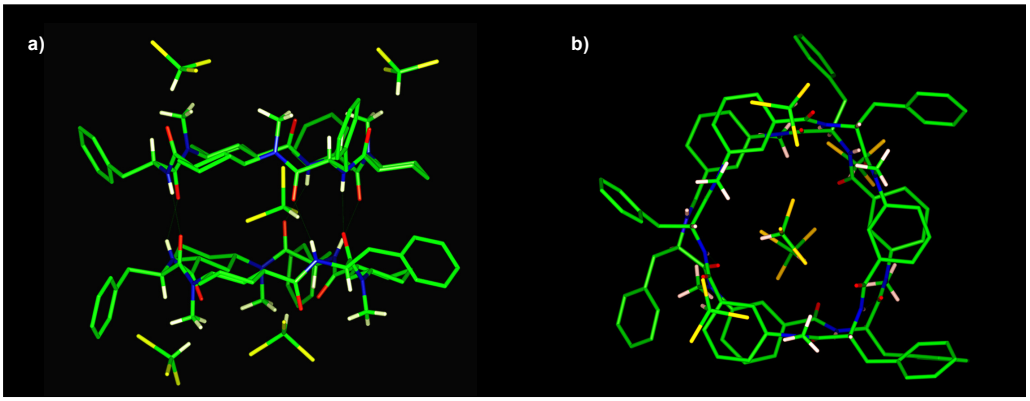


Figura 33. Vista lateral (**a**) y superior (**b**) de la estructura dimérica en estado sólido resultante de la asociación del ciclohexapéptido *ciclo*[(*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach)$_3$-]. En la cavidad interna se observa la presencia de una molécula de $CHCl_3$, lo que confirma el carácter hidrófobo del lumen.

La expansión del anillo hacia ciclooctapéptidos (anillos de 32 eslabones) condujo a resultados análogos a los anteriores, observando de nuevo que la interacción γ–γ resultaba ser más débil que la α–α.[148] En cuanto a los ciclotetrapéptidos (anillos de 16 eslabones), no se observó la presencia de dímeros para aquellos que interaccionan a través de sus caras γ, mientras que los diseñados para generar interacciones α–α poseen una constante de asociación débil (K_a ~ 15 M^{-1}), aunque lo realmente relevante sigue siendo la existencia del dímero, que también se pudo confirmar mediante análisis de difracción de rayos X.[149]

La menor constante de asociación de las interacciones γ–γ frente a las α–α se puede atribuir a la menor polaridad de los enlaces NH de los γ-Ach, debido a la mayor distancia del grupo carboxilo que ejerce un mayor efecto inductivo en los α-aminoácidos. Además, la posición del grupo metilo en los nitrógenos de la alanina puede desestabilizar la conformación plana del anillo por repulsiones estéricas con el carboxilo y la cadena lateral.

Posteriormente se demostró la capacidad que presentan los (3α,1γ)-ciclopéptidos para autoensamblarse de manera eficiente en forma de estructuras diméricas de tipo hoja plegada

[147] Para un estudio teórico sobre la adsorción de $CHCl_3$ en nanotubos ciclopeptídicos basado en los resultados con modelos diméricos sencillos obtenidos por nuestro grupo de investigación, ver: Cheng, J.; Zhu, J.; Liu, B. *Chem. Phys.* **2007**, *333*, 105-111.
[148] Amorín, M.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Chem. Eur. J.* **2005**, *11*, 6543-6551.
[149] a) Amorín, M.; Brea, R. J.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Heterocycles* **2006**, *67*, 575-583. b) Amorín, M.; Brea, R. J.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 4681-4684.

β antiparalela. Así, por ejemplo, el análisis del ciclooctapéptido *ciclo*[(*L*-^{Me}N-γ-Ach-*D*-Phe-*L*-^{Me}N-Ala-*D*-Phe)$_2$-] nos permitió estimar una K_a de aproximadamente 200 M^{-1}, cuyo valor es similar al determinado para los *D*,*L*-α-ciclopéptidos. Los estudios de FT-IR mostraron las bandas características de una lámina β plegada y de la existencia de enlace de hidrógeno, aunque la confirmación definitiva de la formación del dímero se obtuvo mediante difracción de rayos X (Figura 34). Al igual que en el caso de los α,γ-ciclopéptidos, se pudo observar el establecimiento de los dos tipos de interacciones existentes en este tipo de nanoestructuras, destacando el gran efecto que supone la presencia de los grupos metilo tanto en el proceso de autoensamblaje como en la conformación predominante del ciclopéptido.

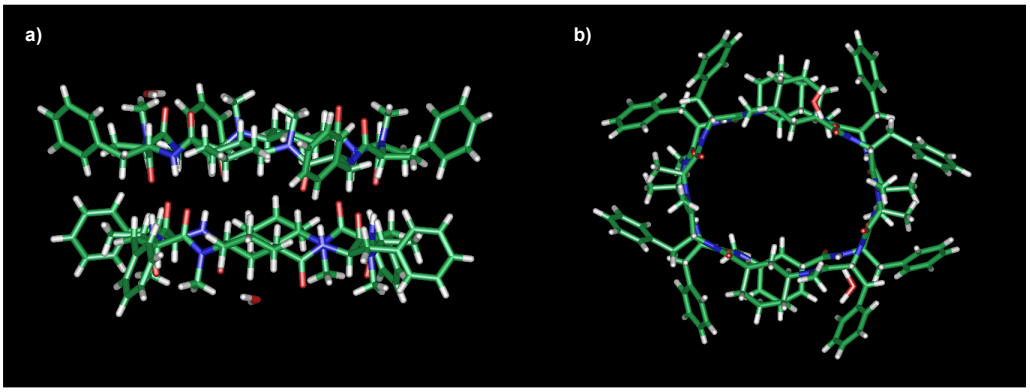


Figura 34. Vista lateral (**a**) y superior (**b**) de la estructura dimérica en estado sólido resultante de la asociación del ciclooctapéptido *ciclo*[(*L*-^{Me}N-γ-Ach-*D*-Phe-*L*-^{Me}N-Ala-*D*-Phe)$_2$-].

Los estudios de dimerización han permitido confirmar la predisposición de los α,γ-ciclopéptidos para dar lugar a la formación de nanotubos de diferente tamaño y con distintas propiedades en su cavidad interna. Además, también se pudo observar los dos tipos de interacciones presentes en estos nanotubos mediante el estudio de los correspondientes modelos diméricos sencillos.

5.2.3. NANOTUBOS α,γ(Ach)-CICLOPEPTÍDICOS MICROCRISTALINOS

Un aspecto relevante consistió en el estudio en estado sólido de las estructuras resultantes de la formación de nanotubos microcristalinos derivados de α,γ-ciclopéptidos (Figura 35). Para ello, nuestro grupo de investigación llevó a cabo el diseño de unidades básicas que permitiesen inducir la formación de los nanotubos mediante el cambio de pH. De esta forma, se sintetizaron α,γ-ciclopéptidos constituidos por γ-Ach y Gln, en los que la protonación en medios fuertemente ácidos (TFA) de los grupos amida facilita la solubilización del ciclopéptido, mientras que el posterior aumento del pH del medio (tratamiento de forma lenta y controlada con disolución de CH_3CN/H_2O) favorece el autoensamblaje molecular a medida que se desprotona el ciclopéptido. El estudio mediante FT-IR y TEM de los microcristales obtenidos sugiere que están formados por la asociación de nanotubos ciclopeptídicos.

a) **b)**

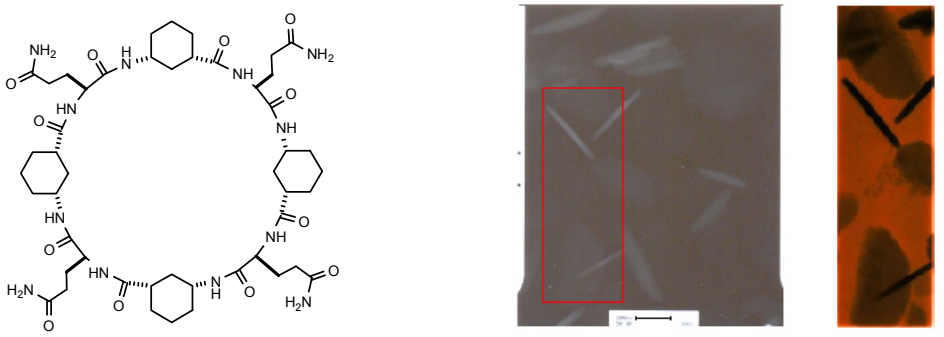
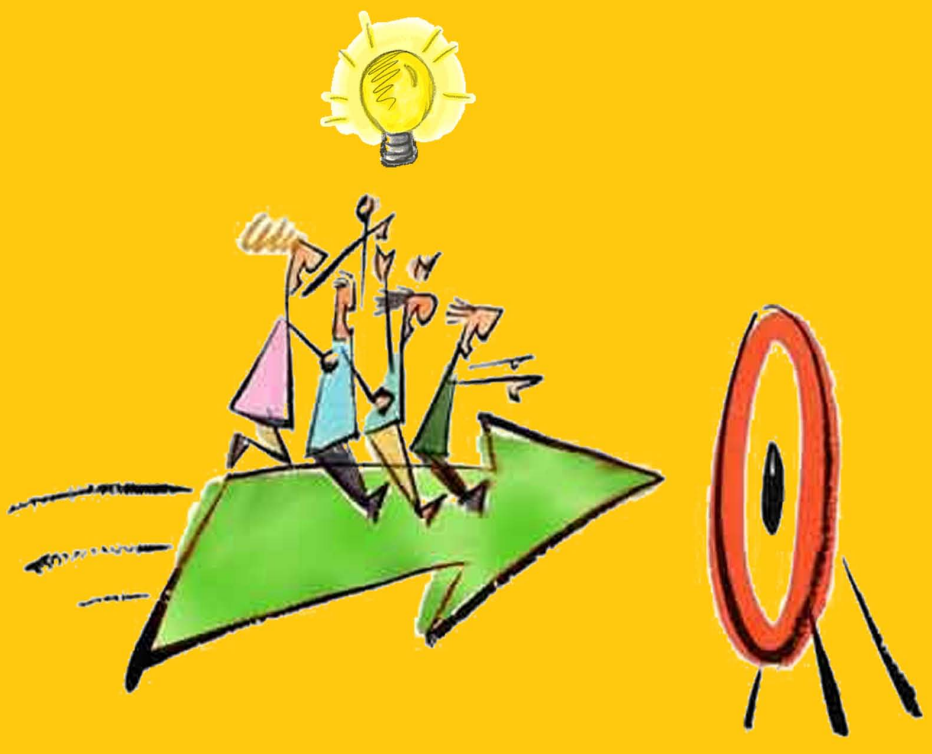


Figura 35. a) Ejemplo de un α,γ-ciclopéptido precursor de nanotubos microcristalinos. **b)** Fotografía de TEM de los nanotubos obtenidos a partir del autoensamblaje del ciclooctapéptido *ciclo*[(*D*-γ-Ach-*L*-Gln)$_4$-]. Más a la derecha se observa el positivado correspondiente a la zona de la fotografía enmarcada en rojo (la escala situada en la parte inferior del negativo equivale a 200 nm).

La funcionalización de la superficie interna de los nanotubos compuestos por estos novedosos α,γ-híbridos debería ser posible mediante la introducción de sustituyentes en el metileno β, algo que, como hemos visto con anterioridad, es imposible para las estructuras nanotubulares basadas en α- y β-ciclopéptidos. Esta capacidad de funcionalizar las cavidades de los nanotubos debe suministrar una gran herramienta para llevar a cabo el diseño de canales selectivos de iones, dispositivos selectivos de inclusión molecular y contenedores moleculares y/o catalíticos. Es por ello que la búsqueda de nuevos diseños de estructuras tubulares constituidas por α,γ-ciclopéptidos adquiere un gran interés.



OBJETIVOS

El objetivo global de este trabajo de investigación es el diseño, síntesis y aplicaciones de nuevos sistemas supramoleculares basados en α,γ-ciclopéptidos.

Los nanotubos α,γ(Ach)-ciclopeptídicos previamente estudiados en nuestro grupo de investigación han servido como base para llevar a cabo el diseño de una nueva colección de estructuras nanotubulares, en donde el tamaño y características del poro dependen exclusivamente de la unidad ciclopeptídica utilizada. Debido a los buenos resultados cosechados con dicho γ-derivado, nos hemos planteado generalizar y ampliar dicho estudio empleando otros γ-aminoácidos. Ahondando en la importancia que presentan los γ-Aca en el establecimiento de la conformación plana necesaria para el autoensamblaje ciclopeptídico debido a la rigidez que aporta la unidad cicloalcánica, decidimos seguir explorando dicha familia de compuestos, por lo que inicialmente nos hemos propuesto llevar a cabo la síntesis del ácido *cis*-3-aminociclopentanocarboxílico (γ-Acp). La utilización de unidades de γ-Acp presenta ciertas ventajas respecto al empleo de γ-Ach (Figura 36a). En primer lugar, la obtención del γ-aminoácido cíclico de 5 miembros parece más sencilla que la preparación del derivado ciclohexílico, lo que agilizaría en gran manera la preparación de los nanotubos. En segundo lugar, presenta un ángulo definido en el plano del anillo ciclopeptídico por los enlaces O=C-Cα y Cγ-N mayor que el del γ-Ach (140º frente a 120º), lo que probablemente va a favorecer la construcción de anillos ciclopeptídicos de gran tamaño (unidades cíclicas de más de 36 miembros y con diámetros internos superiores a 13 Å). Además, presenta una superficie hidrófoba externa menor (dos metilenos para γ-Acp frente a tres metilenos para γ-Ach), lo que va a repercutir en las propiedades del nanotubo. Igualmente, hay que destacar de nuevo la

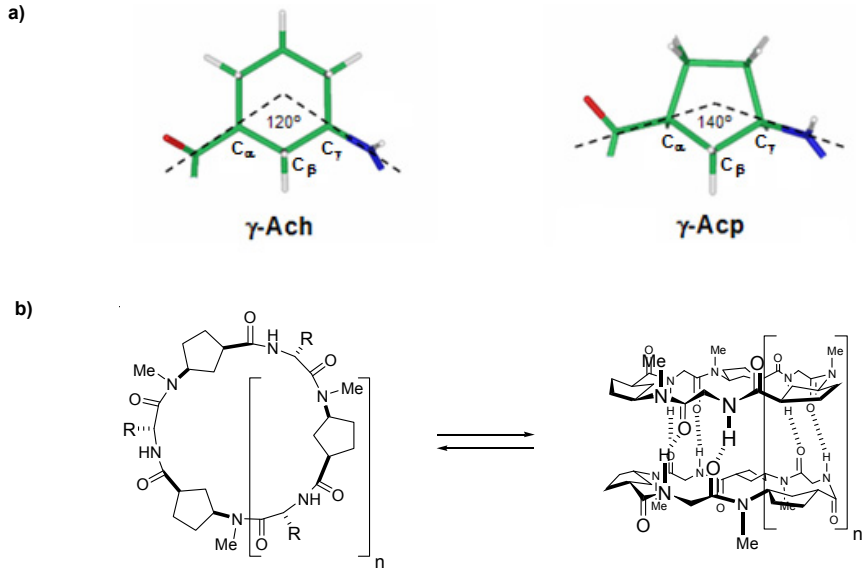


Figura 36. Nanotubos α,γ(Acp)-ciclopeptídicos. **a)** Modelos computacionales calculados en base a la disposición en la estructura ciclopeptídica de las unidades de γ-Ach y γ-Acp. Se observa como el ángulo definido en el plano del anillo ciclopeptídico por los enlaces O=C-Cα y Cγ-N es mayor en la unidad cíclica de 5 eslabones (140º para γ-Acp frente a 120º para γ-Ach), lo que va a favorecer su utilización en la construcción de anillos α,γ-ciclopeptídicos de gran tamaño. **b)** Modelo dimérico general de un nanotubo α,γ(Acp)-ciclopeptídico. Los excelentes resultados obtenidos con α,γ(Ach)-ciclopéptidos hacen que nos decantemos por estudiar el proceso de autoensamblaje dimérico correspondiente a la interacción α–α, debido a que es mucho más eficiente que la interacción γ–γ.

orientación del metileno β hacia el interior del canal, lo que va a aportar cierto carácter hidrofóbico, a la vez que ha de servir como base para llevar a cabo cualquier posible funcionalización de dicho poro. Es por todo ello que nos hemos planteado como primer objetivo de este trabajo el diseño y síntesis de péptidos cíclicos constituidos por α-aminoácidos y γ-Acp, pudiendo así estudiar el proceso de autoensamblaje envuelto en la formación de los correspondientes nanotubos ciclopeptídicos (Figura 36b). Teniendo en cuenta los resultados previos, sería conveniente centrar inicialmente nuestros esfuerzos en modelos diméricos sencillos resultantes de la interacción α–α, ya que los mayores valores de constante de asociación observados para esta interacción ($K_a > 10^5$ M^{-1}) facilitarían dicho estudio.

La modificación de la superficie externa de los α,γ-nanotubos mediante la introducción de diversas funcionalidades ha de permitirnos el desarrollo de nuevas aplicaciones. De este modo, nos hemos planteado como segundo objetivo de este trabajo la preparación de novedosos híbridos supramoleculares dador/aceptor estables termodinámicamente, para lo cual es necesario disponer de α,γ-ciclopéptidos derivatizados convenientemente en sus cadenas laterales con grupos dadores y aceptores (Figura 37). Dichas unidades dador y aceptor se conectarían selectivamente mediante interacciones enlace de hidrógeno provenientes del autoensamblaje ciclopeptídico, favoreciendo el correspondiente proceso de transferencia electrónica y/o energética a través del espacio. La construcción de estos nuevos sistemas supramoleculares adquiere gran relevancia debido a sus posibles aplicaciones como fotosistemas artificiales y/o biosensores.

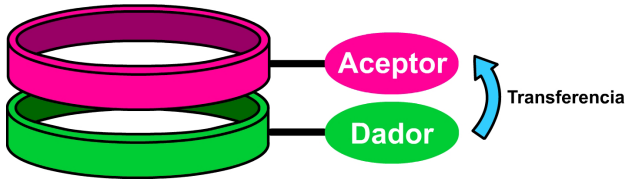


Figura 37. Sistemas supramoleculares dador/aceptor basados en dímeros α,γ-ciclopeptídicos. La introducción de grupos dadores y aceptores en las cadenas laterales de las unidades α,γ-ciclopeptídicas ha de permitirnos llevar a cabo la preparación de nuevos híbridos supramoleculares con relevantes aplicaciones. La preorganización establecida como consecuencia de las interacciones enlace de hidrógeno que tienen lugar en el proceso de autoensamblaje debe facilitar la unión selectiva de las funcionalidades dador y aceptor, favoreciendo así el proceso de transferencia electrónica y/o energética a través del espacio.

La restricción conformacional de la estructura peptídica puede aportar una gran información sobre su conformación bioactiva.[150] Las aplicaciones de los péptidos como drogas son a menudo impedidas por la escasa biodisponibilidad que presentan, debido tanto a su solubilidad en agua como a su biodegradación. Puede lograrse una solución parcial para estas desventajas, a la vez que se retiene la actividad biológica del péptido, mediante la introducción de aminoácidos modificados y/o la utilización de péptidos miméticos.[151] Recientemente, nuestro

[150] a) Kelso, M. J.; Beyer, R. L.; Hoang, H. N.; Lakdawala, A. S.; Snyder, J. P.; Oliver, W. V.; Robertson, T. A.; Appleton, T. G.; Fairlie, D. P. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 4828-4842. b) Neidigh, J. W.; Fesinmeyer, R. M.; Andersen, N. H. *Nat. Struct. Biol.* **2002**, *9*, 425-430. c) Handel, T. M.; Williams, S. A.; DeGrado, W. F. *Science* **1993**, *259*, 1288-1293.
[151] a) Bilgiçer, B.; Kumar, K. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2004**, *101*, 15324-15329. b) Nowick, J. S.; Chung, D. M.; Maitra, K.; Maitra, S.; Stigers, K. D.; Sun, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 7654-7661. c) Imperiali, B.; Prins, T. J.; Fisher, S. L. *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 1613-1616. d) Fauchére, J.-L.; Thurieau, C. *Adv. Drug. Res.* **1992**, *23*, 127-159. e) Roberts, D. C.; Vellacio, F. "Unusual amino acids in peptide synthesis". En *The peptides*; Eds. Gross, E.; Meienhofer, J.; Academic Press: New York (Estados Unidos), **1983**; 341-449.

grupo de investigación ha desarrollado una nueva estrategia para la preparación de aminoácidos y péptidos N-modificados basado en una reacción de Sonogashira[152] en medio acuoso catalizada por Pd(0).[153] Debido a los excelentes resultados previamente obtenidos, nos hemos planteado como cuarto objetivo de este trabajo la optimización de dichas condiciones de reacción, para poder así llevar a cabo la modificación adecuada de aminoácidos y péptidos que incorporen sustratos acetilénicos en sus cadenas laterales, permitiendo la introducción de diversos ligandos que puedan unirse a centros metálicos de forma eficiente (Figura 38a). El interés por este tipo de compuestos se basa en la utilización de los mismos como quimiosensores, en la formación de estructuras peptídicas rígidas mediante la coordinación con metales y/o en la introducción en los péptidos de funcionalidades con actividad farmacológica.

La aplicación de la metodología anterior al estudio de los nanotubos peptídicos ha de permitirnos la preparación de estructuras diméricas unidas covalentemente (Figura 38b). De esta forma se ven ampliados nuestros objetivos, por lo que resultará necesario llevar a cabo la síntesis de diferentes α,γ-ciclopéptidos autoensamblantes que contengan residuos de propargilglicina (Pra), los cuales suministrarán la funcionalidad acetilénica terminal necesaria para dar lugar a la reacción de Sonogashira. El tratamiento de la unidad ciclopeptídica con dihaluros (hetero)aromáticos debería permitir la formación de homo- y heterodímeros unidos covalentemente, provocando a su vez la restricción conformacional de la estructura peptídica.

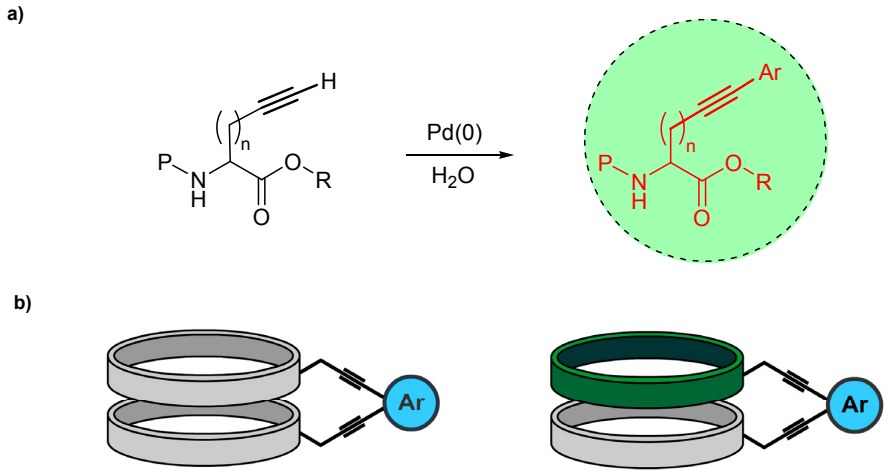


Figura 38. Sistemas supramoleculares diméricos unidos covalentemente basados en α,γ-ciclopéptidos. La restricción conformacional de la estructura peptídica a través de la introducción de aminoácidos modificados va a aportar una gran información sobre su conformación bioactiva. Es por ello que nos hemos planteado la modificación, mediante una reacción de Sonogashira en medio acuoso catalizada por Pd(0), de aminoácidos que incorporen sustratos acetilénicos en sus cadenas laterales, facilitando así la introducción de una gran colección de ligandos que puedan unirse a metales de forma eficiente. La versatilidad de esta reacción debería conllevar no solo modificar aminoácidos, sino también péptidos que contengan funcionalidades acetilénicas terminales. Del mismo modo, la aplicación de dicha metodología al estudio de los nanotubos ciclopeptídicos ha de permitirnos la preparación de estructuras diméricas unidas covalentemente. **a)** Estrategia general que pretendemos seguir para llevar a cabo la derivatización tanto de aminoácidos como de péptidos. **b)** Diferentes modelos de estructuras supramoleculares homo- y heterodiméricas unidas covalentemente que deseamos obtener empleando la metodología de Sonogashira. Es de destacar que dicho atrapado covalente provocaría a su vez la restricción conformacional de la estructura peptídica.

[152] Sonogashira, K.; Tohda, Y; Hagihara, N. *Tetrahedron Lett.* **1975**, *50*, 4467-4470.
[153] López-Deber, M. P.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Org. Lett.* **2001**, *3*, 2823-2826.

Cabe destacar que las correspondientes estructuras heterodiméricas tendrían una especial relevancia en los procesos de transferencia electrónica y/o energética anteriormente mencionados.

Como hemos observado con anterioridad, los α,γ(Aca)-nanotubos presentan cierto carácter hidrofóbico en su cavidad interna, probablemente como consecuencia del efecto que ejercen los metilenos que se orientan hacia el lumen. La funcionalización de la superficie interna de dichos nanotubos debería ser factible mediante la introducción de grupos funcionales en el carbono C2 del anillo cicloalcánico, o bien mediante la sustitución de dicho grupo metileno por un heteroátomo. Esta capacidad para modificar convenientemente las cavidades internas de los nanotubos debe favorecer el diseño de novedosas estructuras tubulares con potenciales aplicaciones, como puede ser el transporte selectivo de iones o el desarrollo de novedosos dispositivos de reconocimiento molecular. Teniendo en cuenta el gran interés que adquiere la funcionalización de la cavidad interna de los nanotubos, nos hemos propuesto como último objetivo llevar a cabo el diseño, síntesis y estudio de una nueva clase de nanoestructuras formadas por ciclopéptidos constituidos por γ-aminoácidos derivados de azúcares (Figura 39). Es de destacar que la introducción en la unidad ciclopeptídica de dichos γ-glicosaminoácidos (γ-AAas) ha de permitir modificar tanto las características del interior del nanotubo como las de su superficie externa.

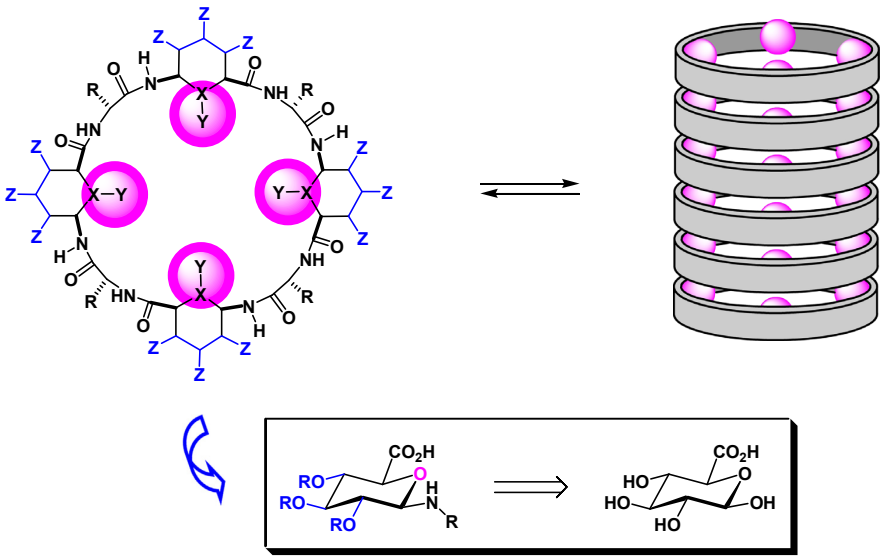
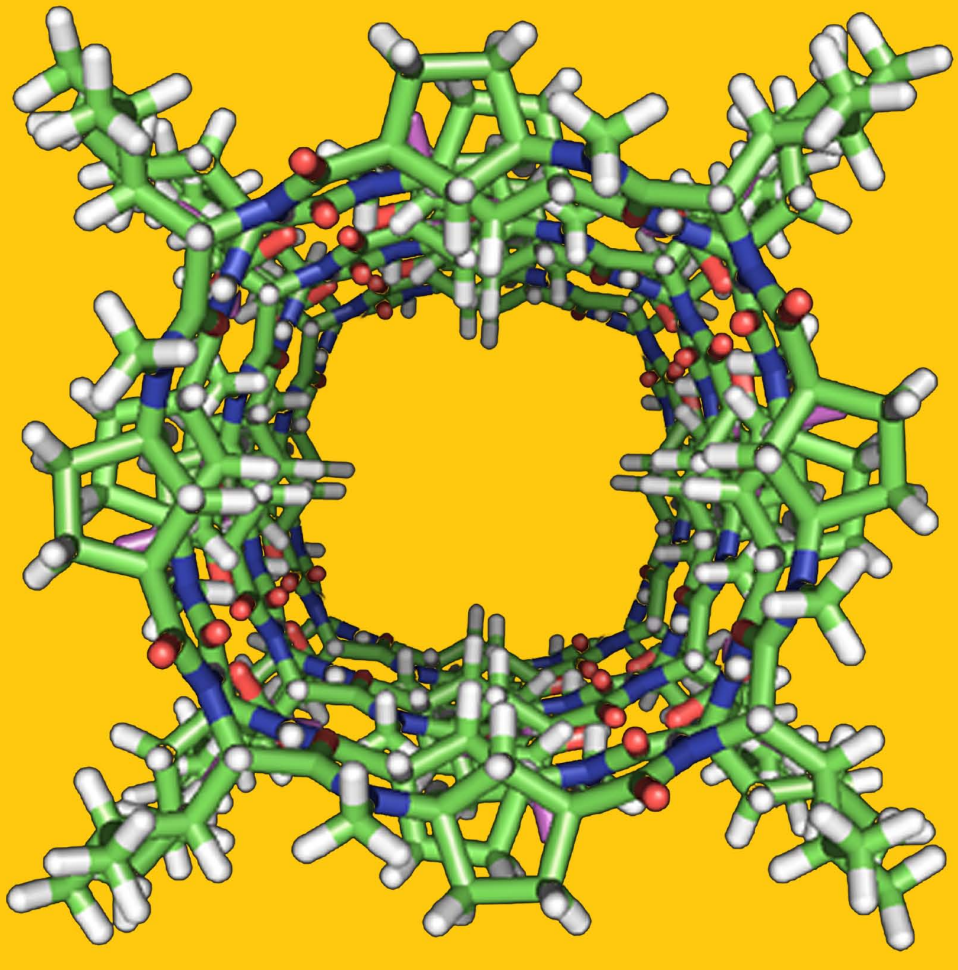


Figura 39. Funcionalización de la cavidad interna de los nanotubos α,γ-ciclopeptídicos. De manera esquemática se muestra el proceso de autoensamblaje de una nueva clase de unidades α,γ-ciclopeptídicas con capacidad para llevar a cabo la modificación de la cavidad interna del nanotubo. El modelo más relevante conllevaría la utilización de ciclopéptidos constituidos por γ-azucaraminoácidos (γ-AAas), lo que permitiría funcionalizar tanto el poro interno como la superficie externa del nanotubo.



α,γ(Acp)-CICLOPÉPTIDOS: HOMODÍMEROS

Los objetivos planteados en este trabajo abarcaban la preparación de nanotubos a partir de unidades ciclopeptídicas que contuviesen nuevos γ-aminoácidos cíclicos en su estructura. Debido a los excelentes resultados que se estaban obteniendo en nuestro grupo de investigación empleando el ácido *cis*-3-aminociclohexanocarboxílico (γ-Ach), nos propusimos llevar a cabo la utilización del ácido *cis*-3-aminociclopentanocarboxílico (γ-Acp) como unidad fundamental de nuestros estudios. Dicho γ-aminoácido presenta una superficie hidrófoba externa menor y un ángulo diedro mayor que el γ-Ach, lo cual va a permitir modificar en gran manera las propiedades de los nanotubos.

Con este propósito se llevó a cabo el diseño de nuevos ciclopéptidos constituidos por γ-Acp alternados con α-aminoácidos. Es de destacar que dicho diseño conlleva el empleo del ácido (*1R*,*3S*)-3-aminociclopentanocarboxílico (*L*-γ-Acp-OH) alternado con α-aminoácidos de configuración *D*, o bien la combinación del ácido (*1S*,*3R*)-3-aminociclopentanocarboxílico (*D*-γ-Acp-OH) con α-aminoácidos de configuración *L*. Solamente esta especial alternancia de enantiómeros permite que el ciclopéptido adopte la conformación plana necesaria para llevar a cabo el proceso de autoensamblaje, favoreciendo así que las cadenas laterales de los distintos aminoácidos no interfieran en el apilamiento de las distintas unidades ciclopeptídicas.

De esta manera, nos planteamos como primer objetivo optimizar la síntesis enantioméricamente pura de la unidad γ-Acp empleada en este proyecto.

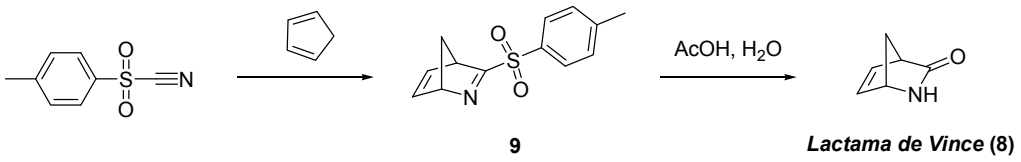
6. SÍNTESIS DEL ÁCIDO N-Boc-*cis*-3-AMINOCICLOPENTANOCARBOXÍLICO (Boc-*cis*-γ-Acp-OH)

La síntesis del γ-derivado se realizó siguiendo el procedimiento descrito por Jagt *et al*.[154] Este método es especialmente relevante debido a que puede conllevar el desarrollo de una novedosa colección de γ-aminoácidos.

Inicialmente, se llevó a cabo la preparación de la *lactama de Vince* (**8**) mediante un proceso que consta de dos etapas (Esquema 1). El primer paso de la síntesis consistió en una reacción de cicloadición [4+2] tipo Diels-Alder entre cianuro de tosilo y ciclopentadieno,[155] dando lugar al correspondiente tosil-derivado **9**. Dicho cicloaducto es inestable y se descompone fácilmente a temperatura ambiente, por lo que se decidió emplear en la siguiente etapa de reacción sin llevar a cabo ningún tipo de purificación adicional.[156] De esta forma, se procedió al tratamiento con AcOH en medio acuoso,[157] obteniéndose finalmente la *lactama de Vince* con un rendimiento global del 83% para el conjunto de las dos etapas.

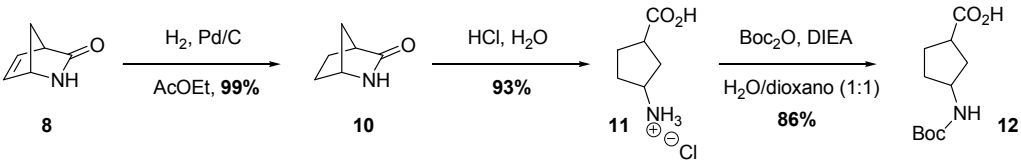
[154] Jagt, J. C.; van Leusen, A. M. *J. Org. Chem.* **1974**, *39*, 564-566.
[155] El craqueo (*cracking*) del diciclopentadieno comercial genera ciclopentadieno mediante una reacción de tipo retro-Diels-Alder. Para una explicación más detallada del proceso empleado, ver: Williamson, K. L. *Macroscale and microscale organic experiments*; D.C. Heat and Company: Lexington (MA), **1994**.
[156] La destilación del tosil-derivado condujo siempre a bajos rendimientos de reacción.
[157] El ácido acético actúa como nucleófilo atacando al centro electrófilo de la imina, seguido de la cesión de un protón. El posterior reordenamiento da lugar a la correspondiente lactama. Para el mecanismo de esta hidrólisis, ver: Morgan, P. E.; McCague, R.; Whiting, A. *Chem. Commun.* **1996**, 1811-1812.

La tediosa preparación de dicha lactama, así como su accesibilidad comercial de forma económica en escala multigramo, hizo que desestimásemos el empleo de esta alternativa sintética, optando por su adquisición a nivel industrial.



Esquema 1. Síntesis de 2-azabiciclo[2.2.1]hept-5-en-3-ona (*lactama de Vince)*.

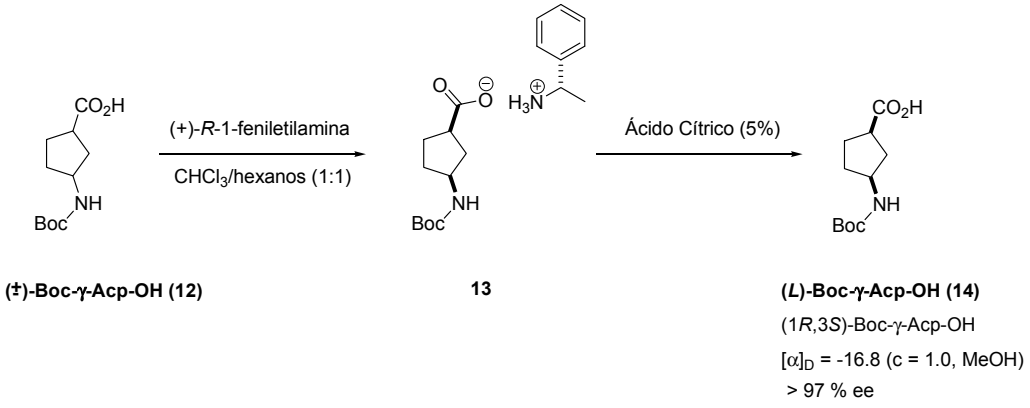
La lactama de Vince fue hidrogenada catalíticamente en presencia de 10% Pd/C, dando lugar de forma casi cuantitativa al correspondiente derivado saturado **10**. La apertura de esta nueva lactama se llevó a cabo mediante hidrólisis en medio ácido, obteniéndose la mezcla racémica del ácido *cis*-3-aminociclopentanocarboxílico (γ-Acp). A continuación se procedió a la protección del grupo amino libre mediante tratamiento de **11** con Boc_2O y DIEA en agua/dioxano. El aminoácido resultante se cristalizó de $CHCl_3$/hexanos (1:1), obteniéndose el isómero Boc-γ-Acp-OH deseado **12** con un rendimiento del 86% (Esquema 2).



Esquema 2. Síntesis del ácido Boc-*cis*-3-aminociclopentanocarboxílico (Boc-γ-Acp-OH) a partir de la lactama de Vince.

Una vez sintetizado el N-Boc-*cis*-γ-aminoácido se procedió a su resolución mediante la cocristalización con una amina quiral. Se observó que la utilización de (+)-*R*-1-feniletilamina (0.7-1 equiv.) — anteriormente empleada en la resolución del γ-Ach — en $CHCl_3$/hexanos (1:1) condujo a la obtención de la sal cristalina **13**, la cual, tras eliminación de la amina por tratamiento con medio ácido débil, permitió aislar el correspondiente *L*-derivado con un exceso enantiomérico (ee) próximo al 75%.[158] El proceso de cocristalización se repitió durante 2-3 veces para mejorar la pureza enantiomérica, obteniéndose finalmente el Boc-γ-Acp-OH levógiro **14** con una actividad óptica de $[\alpha]_D$ = -16.8 (c = 1.0, MeOH), que se corresponde con valores de exceso enantiomérico superiores al 97% (Esquema 3).

[158] La elección de feniletilamina se llevó a cabo debido a la accesibilidad económica de sus dos enantiómeros y a los buenos resultados previos obtenidos para el caso del Boc-γ-Ach-OH. Además, la utilización de brucina y otras aminas quirales en las mismas condiciones no dieron lugar a cristales de pureza adecuada.



(±)-Boc-γ-Acp-OH (12) **13** **(*L*)-Boc-γ-Acp-OH (14)**

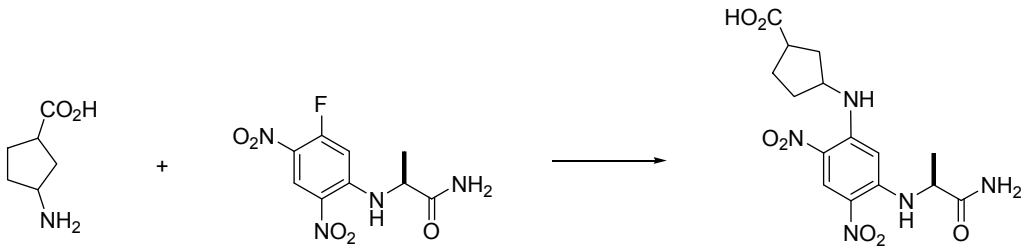
(1*R*,3*S*)-Boc-γ-Acp-OH

$[\alpha]_D$ = -16.8 (c = 1.0, MeOH)

> 97 % ee

Esquema 3. Resolución del ácido N-Boc-*cis*-3-aminociclopentanocarboxílico mediante cristalización con (+)-*R*-1-feniletilamina para dar lugar al correspondiente *L*-Boc-γ-Acp-OH. De igual modo, el enantiómero *D* se obtuvo por tratamiento de la mezcla racémica con (-)-*S*-1-feniletilamina.

La determinación formal de la pureza enantiomérica se llevó a cabo mediante el test de Marfey,[159] que consiste en la derivatización (mediante una reacción de sustitución nucleófila aromática) del aminoácido desprotegido[160] con la amida de 1-fluoro-2,4-dinitrofenil-5-*L*-alanina (Esquema 4). El análisis de la mezcla resultante mediante HPLC nos permitió cuantificar la relación entre *D*- y *L*-diastereoisómeros, y con ello determinar el exceso enantiomérico.



Reactivo de Marfey

Esquema 4. Derivatización del γ-Acp con el reactivo de Marfey mediante una sustitución nucleófila aromática, dando lugar al correspondiente diastereoisómero.

La derivatización de la mezcla racémica del γ-Acp con el reactivo de Marfey permitió establecer las condiciones de separación de ambos diastereoisómeros (*R,S,S* y *S,R,S*). Se observó que el diastereoisómero resultante del aminoácido levorotatorio [(1*R*,3*S*)]-γ-Acp] posee un tiempo de retención de 25 min, mientras que el obtenido del destrorotatorio [(1*S*,3*R*)]-γ-Acp] es de 28 min. Posteriormente se inyectó en el HPLC la muestra del enantiómero levógiro adecuadamente derivatizado, el cual proviene del *L*-Boc-γ-Acp-OH previamente resuelto y que

[159] Marfey, P. *Carlsberg Res. Commun.* **1984**, *49*, 591-596.

[160] La desprotección del Boc-γ-Acp-OH se llevó a cabo por tratamiento con TFA/CH_2Cl_2 (1:1).

presentaba un valor de $[\alpha]_D$ = -16.8 (c = 1.0, MeOH). El análisis de dicha muestra mostró una proporción de diastereoisómeros 98.7:1.3, lo que se corresponde con un valor de exceso enantiomérico superior al 97% (Figura 40).

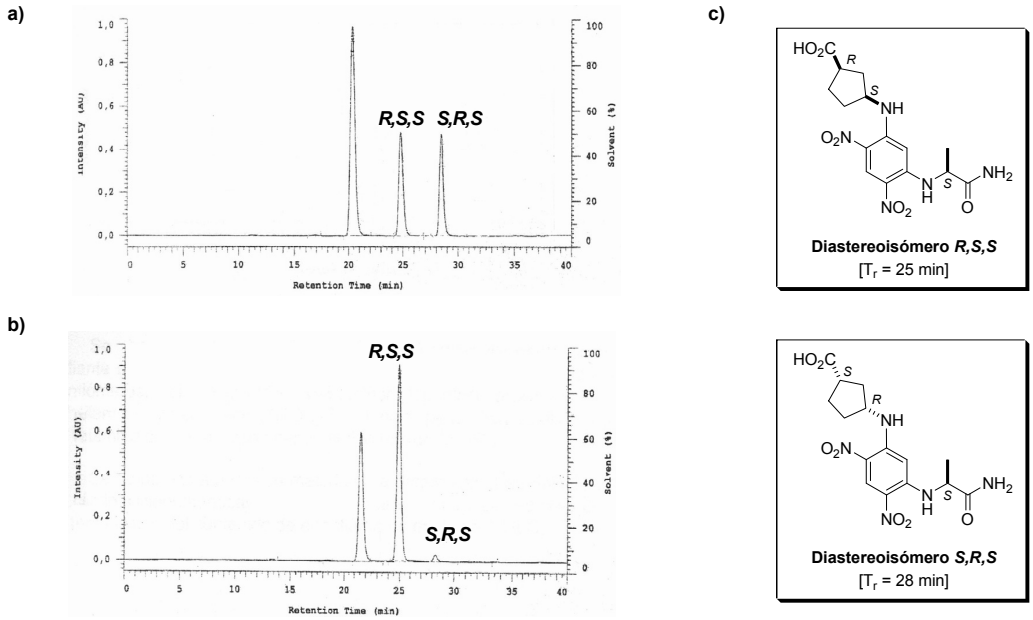
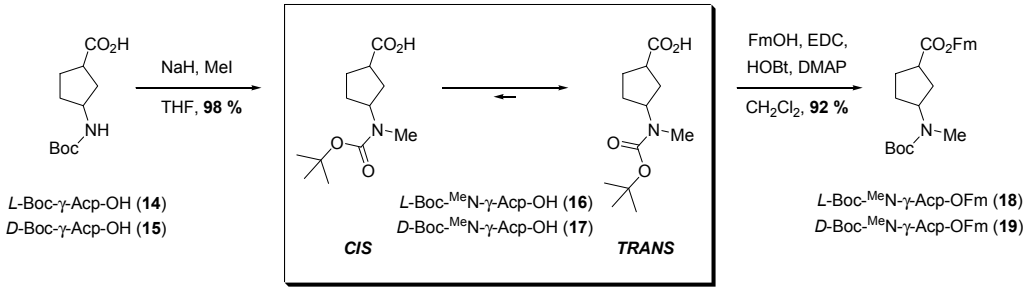


Figura 40. Cromatogramas de HPLC correspondientes al test de Marfey. **a)** Análisis de la mezcla racémica de γ-Acp. **b)** Análisis del enantiómero levorotatorio [(1*R*,3*S*)]-γ-Acp] que presenta un $[\alpha]_D$ = -16.8 (c = 1.0, MeOH). **c)** Diastereoisómeros resultantes del test de Marfey.

La N-metilación del Boc-γ-Acp-OH resuelto [enantiómero *L* (**14**) o enantiómero *D* (**15**)] se llevó a cabo mediante tratamiento con NaH y MeI en THF a 0 ºC (Esquema 5). Es importante asegurarse de que la reacción de alquilación tiene lugar de forma completa, ya que la purificación de dicho producto es bastante tediosa debido a la dificultad que presenta su separación de la sustancia de partida. En el espectro de ^{1}H RMN del derivado N-metilado se observó el desdoblamiento de la señal del H_γ, lo que es consecuencia del equilibrio conformacional de los grupos carbamato (*cis*/*trans*). Esta isomerización *cis*/*trans*[161] complica en gran medida el espectro de RMN y desgraciadamente dificultará la posterior caracterización de los péptidos lineales sintetizados.

Finalmente se procedió a la protección del extremo C-terminal mediante tratamiento de Boc-^{Me}N-γ-Acp-OH [enantiómero *L* (**16**) o enantiómero *D* (**17**)] con FmOH en presencia de EDC.HCl y HOBt, empleando como base DMAP (Esquema 5). De esta forma se obtuvo el aminoácido protegido [enantiómero *L* (**18**) o enantiómero *D* (**19**)] en sus dos extremos con un rendimiento del 92%.

[161] La alquilación del nitrógeno de la amida reduce la energía entre las formas *cis* y *trans* a aproximadamente 2.1 kJ·mol^{-1}, mientras que para los aminoácidos convencionales esta diferencia es de 10.9 kJ·mol^{-1}. Para una información más detallada, ver: Stewart, D. E.; Sarkar, A.; Wampler, J. E. *J. Mol. Biol.* **1990**, *214*, 253-260.



Esquema 5. Síntesis de los γ-Acp derivados empleados en la preparación de las unidades ciclopeptídicas. De manera resaltada se muestra el equilibrio conformacional *cis*/*trans* presente en el enlace amida.

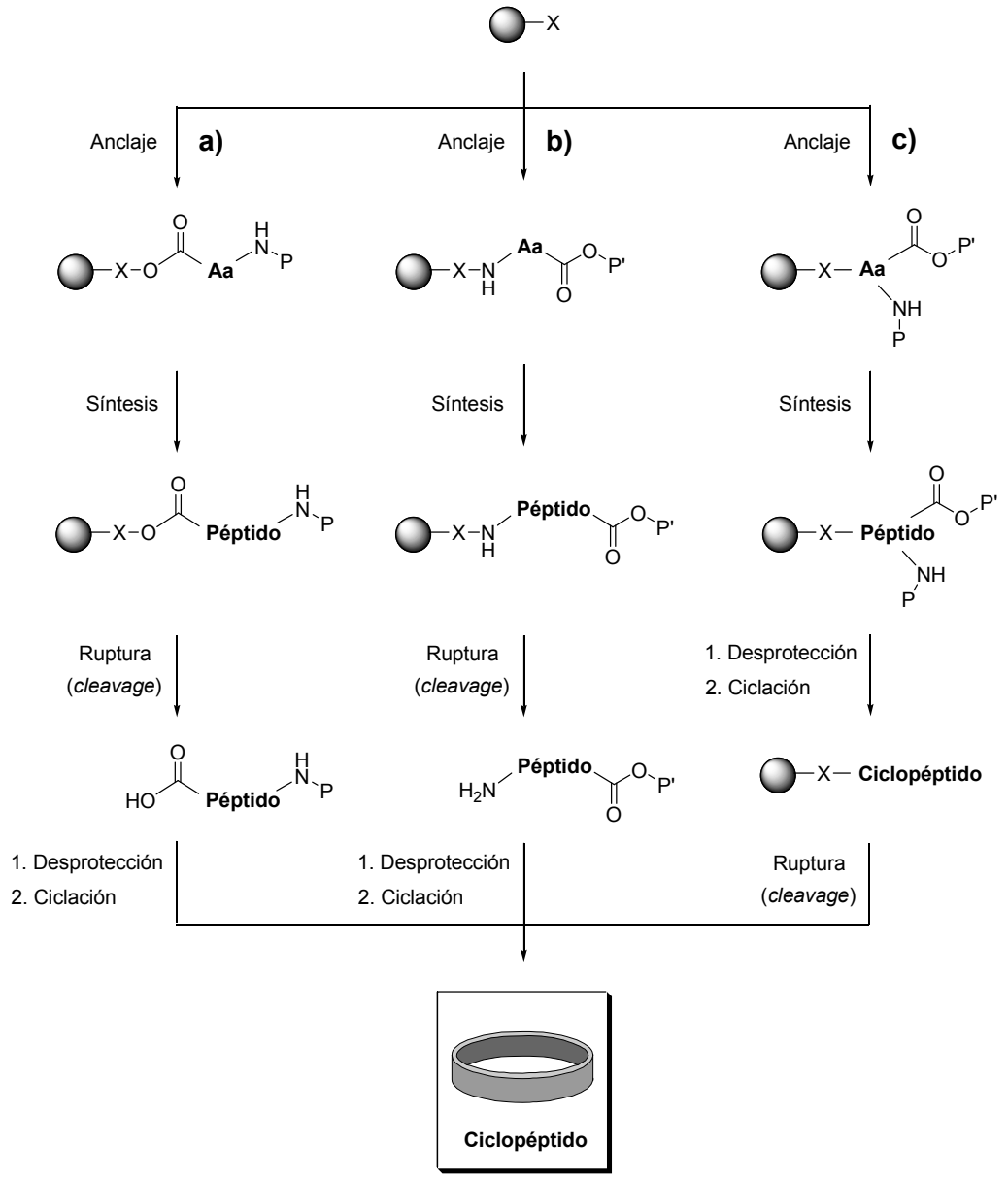
7. METODOLOGÍA SINTÉTICA DE CICLOPÉPTIDOS

Existe una gran variedad de estrategias sintéticas desarrolladas para la obtención de péptidos cíclicos. Las más comunes se llevan a cabo mediante *síntesis en fase sólida* (Esquema 6),[162] a través de la unión del primer residuo (apropiadamente protegido) a un soporte polimérico que contiene un grupo funcional apropiado. Esta unión debe ser resistente a las distintas etapas de la síntesis (acoplamientos y desprotecciones), pero suficientemente lábil como para permitir la liberación final del péptido una vez completada la síntesis. La etapa final sería la ciclación, que generalmente se realiza en disolución tras la separación del péptido de la resina. Este tipo de estrategias suelen estar basadas en síntesis lineales en las que se van introduciendo uno a uno los distintos aminoácidos, y dependen en gran medida del tipo de resina[163] y de los grupos protectores seleccionados.[164]

[162] a) Benoiton, N. L. "Solid phase synthesis". En *Chemistry of peptide synthesis*; CRC Press (Taylor & Francis Group): Boca Ratón (Florida), **2005**; 125-156. b) *Fmoc solid phase peptide synthesis: a practical approach*; Eds. Chan, W. C.; White, P. D.; Oxford University Press Inc.: New York (Estados Unidos), **2000**. c) Blackburn, C.; Kates, S. A. *Methods in Enzymology* **1997**, *289*, 3-13. d) *Solid-phase peptide synthesis*; Ed. Fields, G. B.; Academic Press: New York (Estados Unidos), **1997**. e) Lloyd-Williams, P.; Albericio, F.; Giralt, E. *Tetrahedron* **1993**, *49*, 11065-11133. f) Atherton, E.; Sheppard, R. C. *Solid phase peptide synthesis: a practical approach*; IRL Press at Oxford University Press: Oxford (Reino Unido), **1989**. g) Stewart, J. M.; Young, J. D. *Solid phase in peptide synthesis*; Pierce Chemical Company: Rockford (Illinois), **1984**. h) Merrifield, R. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, *85*. 2149-2154.

[163] Para diferentes ejemplos de resinas, ver: a) Li, P.; Kolaczkowski, E. K.; Kates, S. A. "Linkers and resins for solid-phase synthesis". En *Drug discovery strategies and methods*; Eds. Makriyannis, A.; Biegel, D.; Marcel Dekker: New York (Estados Unidos), **2004**; 175-220. b) Van Den Nest, W.; Albericio, F. "The choice of solid support". En *Optimization of solid-phase combinatorial synthesis*; Eds. Yan, B.; Czarnik, A. W.; Marcel Dekker: New York (Estados Unidos), **2002**; 91-108. c) Forns, P.; Fields, G. B. "The solid support". En *Solid-phase synthesis: a practical guide*; Eds. Kates, S. A.; Albericio, F.; Marcel Dekker: New York (Estados Unidos), **2000**; 1-77. d) Merrifield, R. B. "Solid phase peptide synthesis". En *Peptides: synthesis, structures and applications*; Ed. Gutte, B.; Academic Press: San Diego (Estados Unidos), **1995**; 93-169.

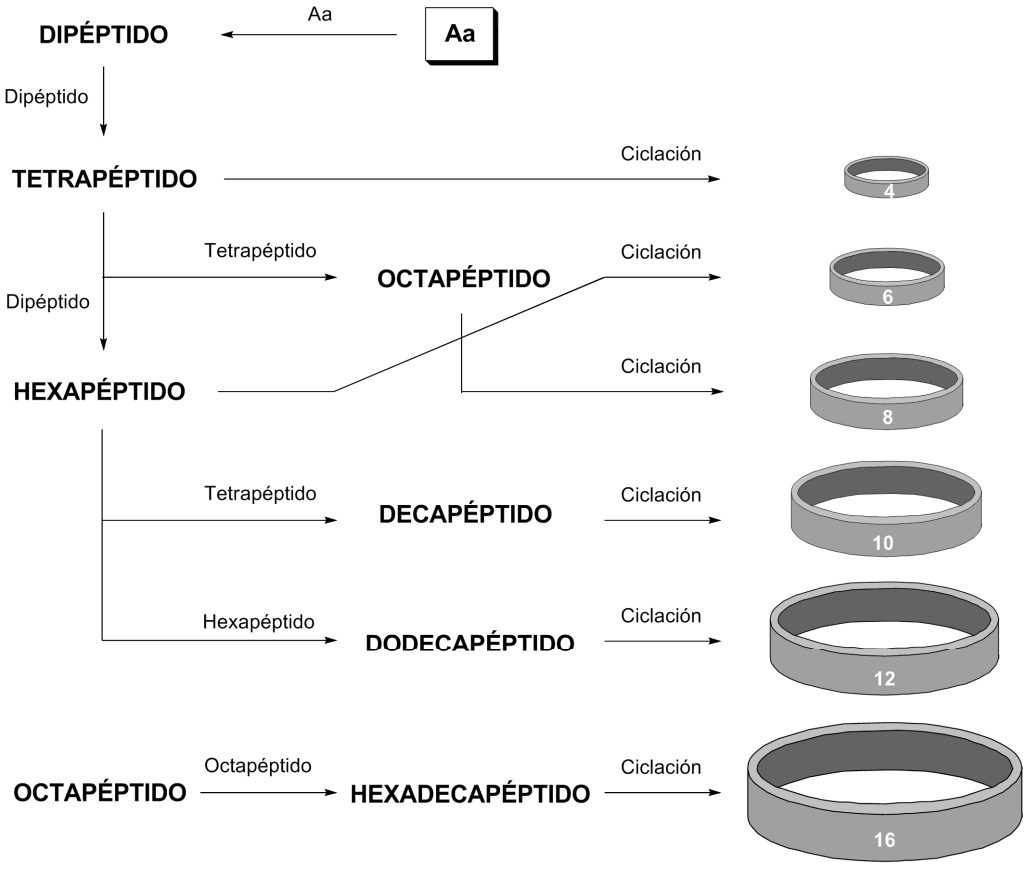
[164] Para diferentes ejemplos de grupos protectores, ver: a) Kocienski, P. J. *Protecting groups [3rd edn]*; Georg Thieme Verlag: Stuttgart (Alemania), **2005**. b) Shendage, D. M.; Froenlich, R. Haufe, G. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 3675-3678. c) Greene, T. W.; Wuts, P. G. M. *Protective Groups in Organic Synthesis [3rd edn]*; Wiley-Interscience: New York (Estados Unidos), **1999**. d) Schelhaas, M.; Waldemann, H. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1996**, *35*, 2056-2083. e) Fields, G. B.; Noble, R. L. *Int. J. Peptide Proteins Res.* **1990**, *35*, 161-214. f) Kunz, H.; Unverzagt, C. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1984**, *23*, 436-437. g) Sheehan, J. C.; Guziec, F. S. Jr. *J. Org. Chem.* **1973**, *38*, 3034-3040.



Esquema 6. Síntesis de ciclopéptidos en fase sólida. **a)** Unión del primer aminoácido a la resina a través del extremo C-terminal. **b)** Unión del primer aminoácido a la resina a través del extremo N-terminal. **c)** Unión del primer aminoácido a la resina a través de la cadena lateral del primer residuo [en todos los casos, la unión puede realizarse directamente o a través de un espaciador (*linker*)].

El segundo método de preparación de ciclopéptidos consiste en la *síntesis en disolución* (Esquema 7). En este caso se suelen emplear estrategias convergentes en las que se van preparando pequeñas unidades (dipéptidos o tetrapéptidos) que posteriormente se acoplan formando fragmentos mayores, y así sucesivamente hasta la obtención final del péptido lineal deseado. La síntesis en disolución requiere una gran planificación para optimizar los recursos, los aminoácidos, los grupos protectores y la secuencia adecuada de unión entre

los distintos fragmentos. La viabilidad de la síntesis y los rendimientos dependen en gran medida de la alternativa sintética seleccionada que conlleve el menor número posible de etapas. Es por todo ello que, por lo general, esta estrategia suele necesitar tiempos más prolongados, requiriendo una purificación tras cada acoplamiento para así poder eliminar los reactivos empleados, las sustancias de partida que no han reaccionado y los subproductos formados. Aún así, presenta algunas ventajas significativas sobre las estrategias en fase sólida, como puede ser el hecho de que no se emplean grandes excesos de ninguno de los reactivos (este hecho es realmente importante cuando los aminoácidos empleados no son comercialmente asequibles), que se conocen los productos obtenidos en cada etapa y que generalmente la purificación final es más sencilla.

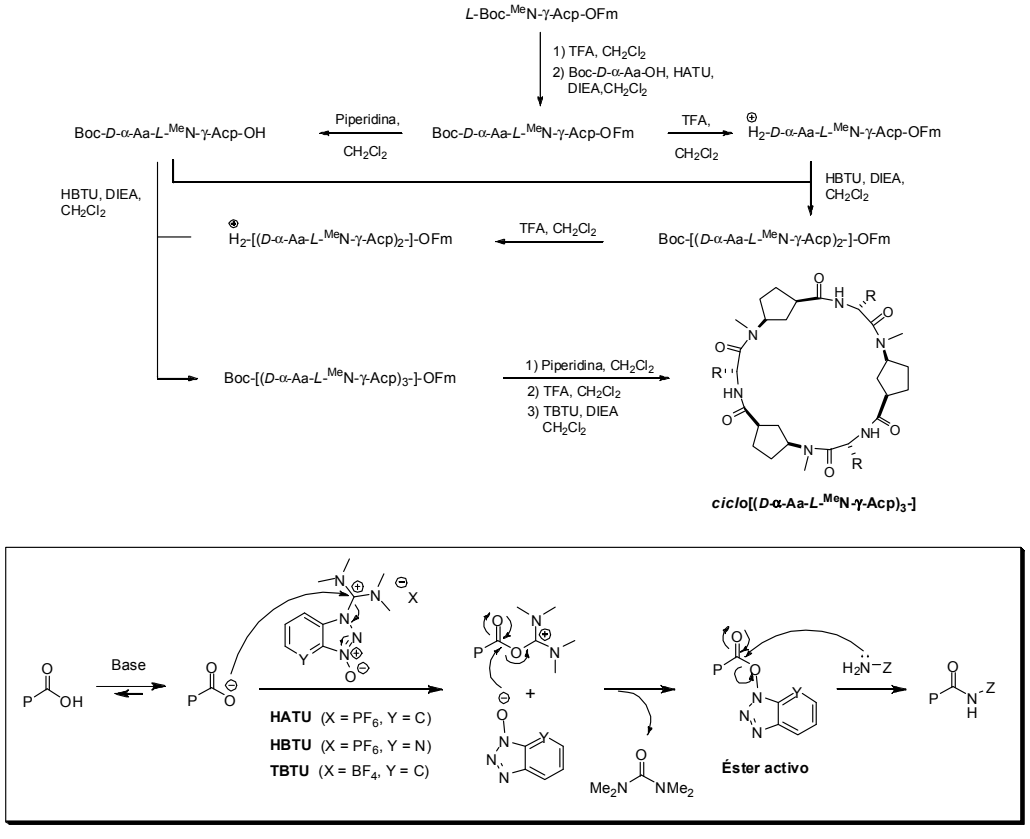


Esquema 7. Síntesis de ciclopéptidos en disolución. Estrategia general de preparación de ciclopéptidos mediante condensación de pequeñas unidades peptídicas.

Esta última estrategia de síntesis en disolución será la que emplearemos en la preparación de los ciclopéptidos N-metilados estudiados en el presente trabajo (Esquema 8). Su principal ventaja radica en que sólo es necesario realizar un acoplamiento sobre los aminoácidos N-metilados siempre al comienzo de cada síntesis. Dicha condensación es extremadamente complicada, incluso empleando reactivos altamente eficientes como el

HATU,[165] y resulta más compleja a medida que vamos aumentando el tamaño del péptido, debido fundamentalmente a que el plegamiento del mismo puede interferir en gran manera en la etapa de acoplamiento.

La ortogonalidad de los grupos protectores permite la desprotección selectiva del extremo N-terminal por tratamiento con TFA, o del C-terminal por reacción con piperidina. De esta forma, el tratamiento de TFA, seguido de posterior acoplamiento con el correspondiente Boc-aminoácido empleando HATU como agente activante para las aminas secundarias (N-metilaminoácidos), daría lugar al dipéptido deseado. El tratamiento de dicha especie con TFA o piperidina conduciría a dipéptidos con extremos N- o C- terminales libres, respectivamente, los cuales se acoplan entre sí para dar lugar al tetrapéptido correspondiente. La desprotección del extremo N-terminal de un tetrapéptido y el acoplamiento con el dipéptido que posee el grupo carboxilo libre conduce a un hexapéptido, mientras que el acoplamiento con un tetrapéptido que posee su extremo C-terminal libre conduce a un octapéptido lineal protegido. De forma análoga, se podría sintetizar péptidos lineales protegidos de cadena más larga, como podrían ser deca- , dodeca- y hexadecapéptidos.



Esquema 8. Estrategia sintética empleada para la preparación de α,γ-ciclohexapéptidos N-metilados. De manera esquematizada se muestra la síntesis de un α,γ-ciclohexapéptido, mientras que de forma resaltada se muestran los agentes de acoplamiento utilizados y el mecanismo en el que están involucradas dichas sales de guanidinio/uronio [(la forma guanidinio (*N*-isómero) es predominante, aunque menos reactiva que la forma uronio (*O*-isómero)] para la formación de un éster activo que favorezca el proceso de condensación.

[165] Albericio, F.; Carpino, L. *Methods in Enzymology* **1997**, *284*, 104-126.

La última etapa de esta síntesis sería la ciclación. Dicho proceso implica inicialmente el tratamiento del péptido lineal protegido con piperidina y después con TFA, obteniéndose el correspondiente péptido lineal desprotegido, el cual se cicla en disolución por tratamiento con TBTU.[166] En todos los casos, los ciclopéptidos preparados se purificaron mediante HPLC en fase normal (gel de sílice, CH_2Cl_2) o fase reversa (C18, CH_3CN/H_2O/TFA) y se caracterizaron mediante EM y RMN.

La síntesis en disolución que hemos descrito nos ha permitido la preparación de una gran colección de α,γ-ciclopéptidos, los cuales serán ampliamente analizados durante el transcurso de este trabajo.

8. α,γ(Acp)-CICLOPÉPTIDOS: FORMACIÓN DE HOMODÍMEROS

Una vez optimizada la metodología sintética, se llevó a cabo a continuación un detallado estudio con ciclopéptidos diseñados para la formación de los correspondientes homodímeros, pudiendo de esta manera analizar el proceso de autoensamblaje en disolución y establecer las bases estructurales y termodinámicas de dicho proceso de dimerización. Para ello recurrimos al estudio de modelos diméricos sencillos análogos a los estudiados en el caso de los ciclopéptidos constituidos por γ-Ach.

La adecuada preorganización de los ciclopéptidos resulta de gran importancia en los procesos de autoensamblaje. Es de destacar que compuestos con grupos capaces de formar

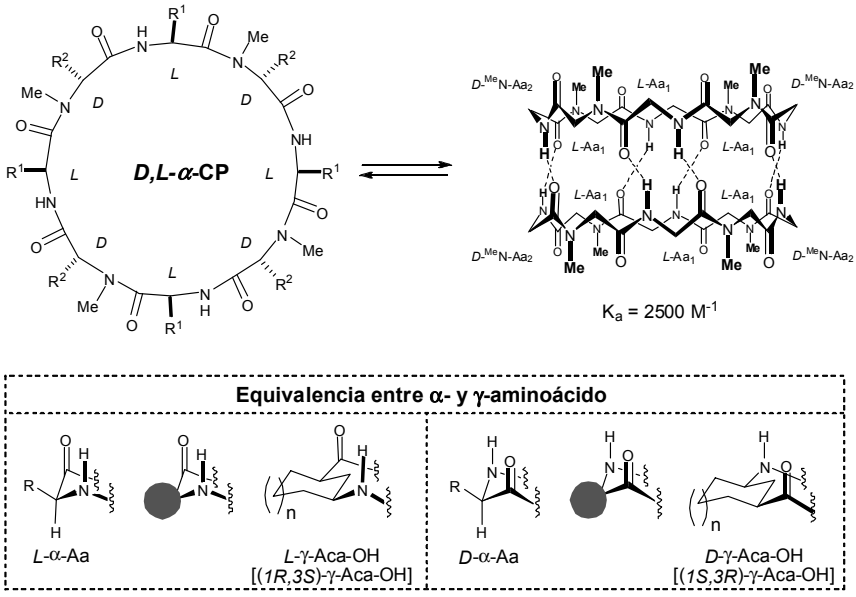


Figura 41. Modelo dimérico N-metilado para el caso de *D*,*L*-α-ciclooctapéptidos. De manera resaltada se muestra la equivalencia con el diseño de α,γ(Aca)-ciclopéptidos, los cuales pueden presentar valores de Ka superiores a 10^4 M^{-1}.

[166] Knorr, R.; Trzeciak, A.; Bannwarth, W. Y.; Gillesen, D. *Tetrahedron Lett.* **1989**, *30*, 1927-1930.

cuatro enlaces de hidrógeno, y dependiendo de la orientación ADAD (Aceptor-Dador-Aceptor-Dador), pueden llegar a alcanzar valores de K_a superiores a 10^4 M^{-1}, mientras que, por ejemplo, en el caso de los *D*,*L*-α-ciclooctapéptidos que dan lugar a dímeros formados por ocho enlaces de hidrógeno, la constante de asociación suele presentar en el mejor de los casos, un valor en torno a 2500 M^{-1} (Figura 41). Esto viene a indicar que la preorganización de los ciclopéptidos para dar lugar a las estructuras diméricas correspondientes conlleva un elevado coste entrópico que no poseen otros sistemas más rígidos. Además, ni la orientación de los enlaces de hidrógeno ni la distancia intermolecular entre las dos subunidades que forman el dímero son las más idóneas para llevar a cabo el proceso de asociación. Por todo ello, la contribución de cada enlace de hidrógeno es únicamente de 2.0 kJ·mol^{-1} (0.5 kcal·mol^{-1}), un valor demasiado pequeño para este tipo de interacciones en medios apolares.

Debido a los excelentes precedentes obtenidos en nuestro grupo de investigación cuando se llevó a cabo el estudio de la interacción α–α en estructuras diméricas formadas por α,γ-ciclopéptidos constituidos por γ-Ach, decidimos centrar nuestros esfuerzos principales en dicha interacción, debido a que el proceso de autoensamblaje es mucho más eficiente que en el caso de la otra interacción (γ–γ), lo que conllevaría la obtención de estructuras supramoleculares de mayor relevancia (Figura 42).

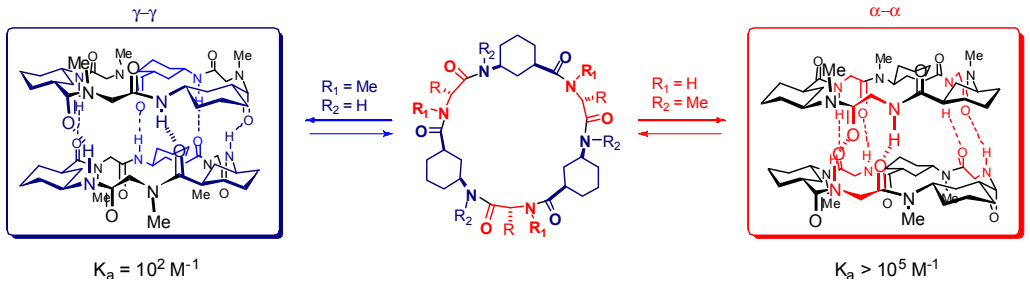


Figura 42. Modelos diméricos N-metilados correspondientes a la interacción γ–γ (en azul) y α–α (en rojo) para el caso de α,γ(Ach)-ciclohexapéptidos. Las estructuras resultantes del autoensamblaje mediante la formación de enlaces de hidrógeno a través de los α-aminoácidos muestran una especial relevancia debido a su gran estabilidad ($K_a > 10^5$ M^{-1}).

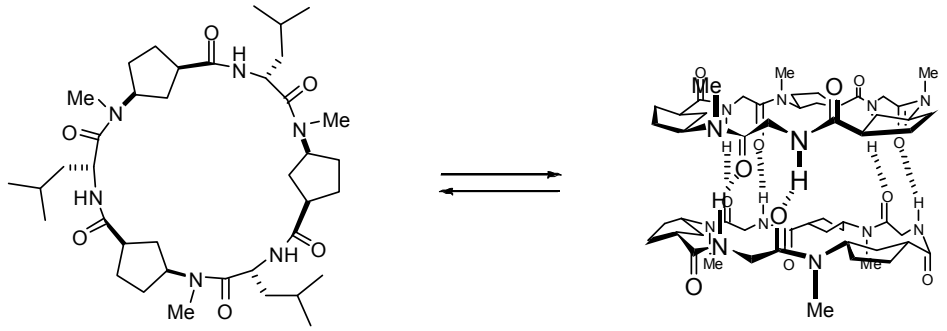
8.1. α,γ(Acp)-CICLOHEXAPÉPTIDOS

Nuestro primer objetivo fue llevar a cabo el estudio de un ciclohexapéptido en el que se alternasen tres α-aminoácidos y tres γ-Acp. Esta selección se basaba en que el tamaño del anillo resultante (24 eslabones) sería similar al de los *D*,*L*-α-ciclooctapéptidos, aunque el número de grupos dadores y aceptores de enlace de hidrógeno que participarían en el proceso de autoensamblaje sería únicamente seis.

Para el estudio de las interacciones entre los α-aminoácidos (interacción α–α) decidimos preparar el *ciclo*[(*D*-Leu-*L*-^{Me}N-γ-Acp)$_3$-] (**20**)[167] (Figura 43), para lo cual se empleó la metodología sintética descrita con anterioridad (Esquema 8), partiendo del aminoácido doblemente protegido *L*-Boc-γ-^{Me}N-Acp-OFm. Es de destacar los buenos rendimientos (60%)

[167] Brea, R. J.; Amorín, M.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2005**, *44*, 5710-5713.

obtenidos en la etapa de ciclación, la cual resultó ser sorprendentemente rápida, a pesar de que estábamos formando un macrociclo de 24 miembros.



20 **D_{20}**

Figura 43. Modelo del proceso de autoensamblaje propuesto para el ciclohexapéptido *ciclo*[(*D*-Leu-*L*-^{Me}N-γ-Acp)$_3$-] (**20**) [las cadenas laterales se han omitido en la estructura dimérica para su mejor visualización].

Los primeros análisis de ^{1}H RMN, tanto en disolventes apolares como polares, mostraron que el ciclopéptido adoptaba una conformación plana altamente simétrica. La presencia de un eje de simertría C_3 quedaba de manifiesto en que las tres Leu y los tres ^{Me}N-γ-Acp eran equivalentes, por lo que únicamente se observaban las señales correspondientes a una Leu y un ^{Me}N-γ-Acp. La constante de acoplamiento ($J_{NH,\ H\alpha}$) posee un valor de 9.4 Hz, que se ajusta a una disposición *trans* del enlace amida. En $CDCl_3$, la señal correspondiente a los NH de la Leu (δ = 8.23 ppm) permanece invariable, incluso a concentraciones por debajo de 0.5 mM y/o calentando hasta 50 ºC. Los espectros de RMN realizados adicionando diversas proporciones de MeOH (desde 10 hasta 50%) no mostraron cambios significativos en el desplazamiento de dicha señal, lo que viene a corroborar la fortaleza del proceso de autoensamblaje. La conjunción de todos estos resultados viene a indicar la presencia de una estructura dimérica (**D_{20}**) con una elevada constante de asociación, que hemos estimado superior a 10^5 M^{-1}.

La espectroscopia de FT-IR permite caracterizar de forma bastante precisa el tipo de estructura secundaria que adoptan los péptidos. Numerosos autores han demostrado que las bandas de vibración de los grupo carbonilo y NH pueden describir el tipo de motivo estructural del que forman parte,[168] debido a que las señales en IR de hélice α (n+4), hélice α 3_{10} (n+3), lámina β (n+2) o giro (n+1) son características de cada estructura (Tabla 1). De todas ellas, las señales espectroscópicas más relevantes son: el modo de vibración ***amida Ia*** (que se corresponde con la vibración del C=O en la componente perpendicular al plano de la amida), el modo de vibración ***amida Ib*** (correspondiente al C=O en su componente paralela),[169] el modo

[168] a) Demirdöven, N.; Cheatum, C. M.; Chung, H. S.; Khalil, M.; Knoester, J.; Tokmakoff, A. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 7981-7990. b) Krimm, S.; Bandekar, J. "Vibrational spectroscopy and conformation of peptides, polypeptides and proteins". En *Advances in Protein Chemistry* [Eds.: Anfinsen, C. B.; Edsall, J. T.; Richards, F. M.], Academic Press: Orlando (Florida), **1986**, 181-364.

[169] El modo de vibración amida Ib también está relacionado con la vibración del carbonilo libre, y suele ser más débil que el de tipo Ia.

de vibración ***amida II$_{II}$*** (vibración en el plano del NH y que a su vez se corresponde con la del enlace C-N) y el modo de vibración ***amida A*** (derivada del *stretching*[170] del protón amida).

Tabla 1. Estudio espectroscópico de FT-IR de varias estructuras peptídicas secundarias, en donde las bandas de vibración de C=O y NH permiten reflejar el motivo estructural que describen [D (débil), F (fuerte)].

Motivo estructural	Amida Ia[a] (perpendicular)	Amida Ib (paralela)	Amida II (paralela)
Hélice α [Poli(L-Ala)]	1658 (F)		1516 (D) *[Paralela]* 1545 (F) *[Perpendicular]*
Hélice α [Poli(L-Glu)]	1653 (F)		1510 (D) *[Paralela]* 1550 (F) *[Perpendicular]*
Hélice 3_{10} [α-Poli(L-Aib)]	1656 (F)		1545 (F) *[Perpendicular]*
Lámina β antiparalela [β-Poli(L-Ala)]	1632 (F)	1694	1524 (F) *[Paralela]* 1545 (D) *[Perpendicular]*
Lámina β antiparalela [Gly_nI]	1636 (F)	1685	1517 (D) *[Paralela]*
Lámina β antiparalela [β-$(GluCa)_n$]	1624 (F)	1693	1560 (F)*[Perpendicular]*

[a] Modos de vibración (amida Ia, amida Ib y amida II) expresados en cm^{-1}

La banda del NH, correspondiente al modo de vibración amida A, también se puede correlacionar con la distancia interatómica N···O (de un enlace de hidrógeno) a través de la frecuencia de dicho modo, de tal manera que a medida que aumenta la frecuencia también lo hace la fortaleza del enlace de hidrógeno. El valor correspondiente a esta banda cuando el NH está participando en la formación de un enlace de hidrógeno suele ser de aproximadamente 3300 cm^{-1}, mientras que cuando no está implicado, dicha banda aparece en torno a los 3400 cm^{-1}. Esto nos va a servir para poder evaluar de forma satisfactoria si se está llevando a cabo el proceso de autoensamblaje.

El FT-IR (293 K, $CHCl_3$) del ciclohexapéptido **20** mostró una banda a 3304 cm^{-1} característica de la amida A (correspondiente a una interacción de los NH con los grupos carbonilo), lo que puso de nuevo de manifiesto la presencia de un NH que está participando en la formación de un enlace de hidrógeno, tal y como se había descrito con anterioridad. También

[170] Las vibraciones *stretching* (modos de elongación) son aquellas en las que los átomos de un enlace oscilan alargando y acortando la distancia del mismo sin modificar el eje ni el ángulo de enlace. Para una explicación más detallada, ver: a) Hollas, J. M. "Vibrational spectroscopy". En *Modern spectroscopy [4th edn]*; John Wiley & Sons: West Sussex (Reino Unido), **2004**; 137-198. b) Wartewig, S. "Basic principles of vibrational spectroscopy". En *IR and Raman spectroscopy: fundamental processing [Har/Cdr edn]*; Wiley-VCH: Weinheim (Alemania), **2003**; 27-34.

se puede estimar una distancia N···O de aproximadamente 2.80 Å. De igual forma, se observaron las señales características de una lámina plegada β antiparalela. Así, las bandas a 1661 (amida Ib), 1626 (amida Ia) y 1534 (amida II_{II}) cm^{-1}, constituyeron otra evidencia de la existencia de una conformación plana en el ciclohexapéptido estudiado.

La presencia y fortaleza de esta asociación también fue confirmada mediante espectrometría de masas de tipo FAB, en la que se observó la presencia de las señales correspondientes al dímero ($[2MH]^+$ = 1429) y al monómero ($[MH]^+$ = 715).

La prueba concluyente de que el ciclohexapéptido formaba dímeros se obtuvo en estado sólido, mediante la difracción de rayos X de cristales incoloros (monoclínicos) obtenidos de una disolución de **20** en $CHCl_3$ (5 mM) equilibrada mediante difusión en una atmósfera de hexano (Figura 44). De esta forma, se observó que la estructura dimérica estaba constituida por dos unidades de ciclopéptido dispuestas en forma de lámina β antiparalela, en donde se establecen 6 interacciones de enlace de hidrógeno entre ambas subunidades, con una distancia N···O que varía entre 2.88 y 2.98 Å. La estructura tubular resultante tiene un diámetro interno de van der Waals de aproximadamente 5.4 Å, y su cavidad está parcialmente ocupada por una molécula de $CHCl_3$, lo que pone en evidencia un cierto carácter hidrófobo debido probablemente al efecto del metileno del γ-Acp que apunta hacia el interior del anillo. En cuanto al empaquetamiento, la perfecta disposición de las subunidades a lo largo del eje *a* preorganiza de alguna manera la obtención del correspondiente canal, a través del cual se disponen moléculas desordenadas de disolvente. Esto implica que los dímeros se apilan unos sobre otros mediante el establecimiento de contactos de tipo van der Waals entre sus respectivas caras γ.

Resulta llamativa la orientación que adquieren dos de las cadenas laterales de las Leu, las cuales aparecen eclipsadas y entre los dos ciclopéptidos que forman las hojas plegadas β, estableciendo contactos de van der Waals, lo cual contrasta con las estructuras observadas para el caso de los *D*,*L*-ciclooctapéptidos.

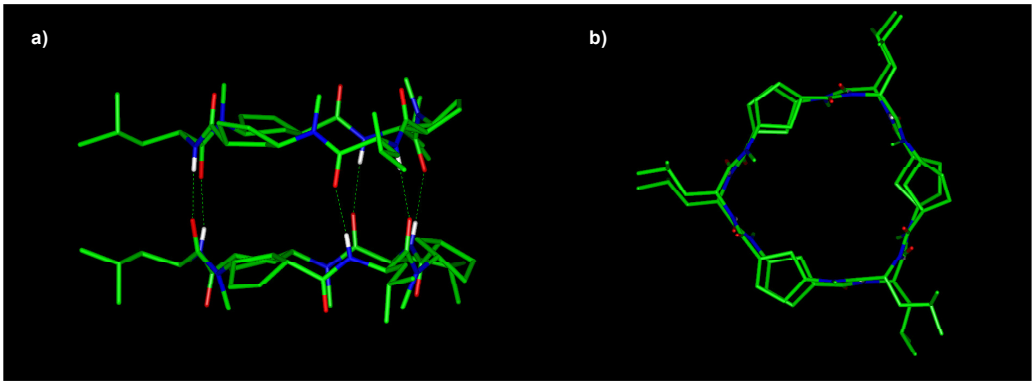


Figura 44. Vista lateral (**a**) y superior (**b**) de la estructura dimérica en estado sólido resultante de la asociación en forma de hoja plegada β del ciclohexapéptido *ciclo*[(*D*-Leu-*L*-^{Me}N-γ-Acp)$_3$-] (**20**) [las moléculas de $CHCl_3$ han sido eliminadas para una mejor visualización].

En resumen, se ha comprobado que la utilización de unidades de γ-Acp en la construcción de α,γ-ciclohexapéptidos no interfiere en el correspondiente proceso de autoensamblaje molecular. Además, se ha observado que la mayor flexibilidad del γ-Acp repercute positivamente en la adquisición de la conformación plana necesaria para el autoensamblaje del ciclopéptido. Ambos hechos se tendrán en cuenta para llevar a cabo el diseño y preparación de nuevas nanoestructuras.

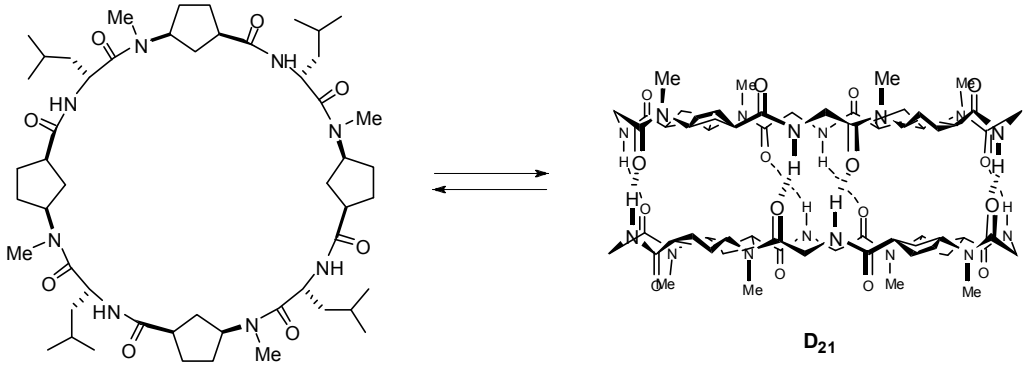
8.2. CONTROL DEL DIÁMETRO INTERNO

El siguiente paso que decidimos abordar fue la modificación del diámetro interno del nanotubo, lo que en principio sólo debe depender del número de aminoácidos presentes en el ciclopéptido. Por supuesto, esta modificación no es tan trivial, debido a que la unidad péptidica básica ha de seguir manteniendo la conformación plana necesaria para llevar a cabo el proceso de autoensamblaje. Las tensiones anulares son factores que se deben tener en cuenta, ya que pueden dificultar la asociación. De igual forma, los factores entrópicos, que implican mantener al macrociclo en una conformación determinada, pueden jugar un papel muy importante en dicho proceso.

8.2.1. α,γ(Acp)-CICLOOCTAPÉPTIDOS

Inicialmente se decidió llevar a cabo el estudio de los ciclooctapéptidos, con la esperanza de que el aumento del tamaño del anillo (32 eslabones) y la mayor libertad conformacional no dificultasen la disposición del ciclopéptido a adoptar la conformación plana requerida en el autoensamblaje. De igual forma, el establecimiento de ocho enlaces de hidrógeno entre subunidades debería favorecer su asociación.

Al igual que con el ciclohexaderivado, decidimos centrar nuestro estudio en la interacción α–α debido a su mayor sencillez e interés, ya que esperamos que, como en el caso



21 **D_{21}**

Figura 45. Modelo del proceso de autoensamblaje propuesto para el ciclooctapéptido *ciclo*[(*D*-Leu-*L*-^{Me}N-γ-Acp)$_4$-] (**21**) [las cadenas laterales se han omitido en la estructura dimérica para su mejor visualización].

de los α,γ(Ach)-ciclopéptidos, sean las interacciones que conlleven valores mayores de constante de asociación. Para ello, se llevó a cabo la síntesis del macrociclo *ciclo*[(*D*-Leu-*L*-^{Me}N-γ-Acp)$_4$-] (**21**)[171] (Figura 45), siguiendo una metodología sintética en disolución análoga a la anteriormente descrita (Esquema 7 y 8).

El ciclooctapéptido obtenido presenta un espectro de ^{1}H RMN en $CDCl_3$ bastante sencillo, debido a la presencia de un eje de simetría C_4 característico de la conformación plana. Dicha conformación se aprecia tanto en disolventes polares como apolares, mostrando un valor de $J_{NH,\ H\alpha}$ = 9.5 Hz, característico de una amida *trans*. El desplazamiento químico de los NH de las Leu permanece invariable con la concentración (δ = 8.33 ppm). Al igual que en el caso de los ciclohexapéptidos, la adición de MeOH (50%) y/o el calentamiento hasta 333 K no conllevó ningún desplazamiento químico significativo en dicha señal, por lo que estimamos de nuevo que la K_a es superior a 10^5 M^{-1}.

El FT-IR (293 K, $CHCl_3$) mostró las señales características de una lámina plegada β. De esta forma, las bandas a 1665 (amida Ib), 1626 (amida Ia) y 1536 (amida II_{II}) cm^{-1} corroboran la existencia de la conformación plana, mientras que la aparición de una banda a 3309 cm^{-1} (amida A) pone de manifiesto la presencia de un NH que está participando en la formación de un enlace de hidrógeno. También se observó un ligero incremento en la estimación de la distancia N···O (~2.85 Å) respecto a la calculada para el caso del ciclohexapéptido análogo **20** (~2.80 Å).

La cristalización del ciclooctapéptido **21** en $CHCl_3$ bajo atmósfera de hexano dio lugar a la obtención de prismas incoloros, los cuales no condujeron a resultados de difracción de rayos X adecuados como para llevar a cabo la resolución de la estructura cristalina. Sin embargo, el análisis mediante difracción de Rayos X de los cristales obtenidos de una disolución del enantiómero *ciclo*[(*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp)$_4$-] (**22**)[172,173] en tetracloroetano (5 mM) bajo atmósfera de hexano, nos permitió observar la estructura dimérica esperada, en la que cada una de las subunidades se dispone en forma de lámina antiparalela y unida a la otra mediante el establecimiento de 8 interacciones de tipo enlace de hidrógeno, con una distancia N···O que varía entre 2.92 y 2.93 Å (Figura 46a y 46b). La estructura tubular resultante presenta distancias $C_\alpha(Leu)_i\cdots C_\alpha(Leu)_{i+4}$ de aproximadamente 13.4 y 13.6 Å y diámetros internos de van der Waals [$H_{\beta eq}(Acp)_i\cdots H_{\beta eq}(Acp)_{i+4}$] de 6.1 y 6.2 Å. En cuanto al empaquetamiento, la formación del canal se ve favorecida por la presencia de enlaces de hidrógeno intermoleculares que se establecen entre los dímeros y algunas moléculas de ácido dicloroacético posiblemente provenientes de la descomposición de tetracloroetano (Figura 46c).[174] De esta forma, se observa que las estructuras diméricas se orientan a lo largo del eje *c*, con cuatro moléculas de ácido dicloroacético interaccionando con una de las caras de un dímero e intercaladas con otras cuatro que interactúan con la cara adyacente del siguiente dímero. Este ordenamiento genera una estructura tubular formada por unidades de dímeros ciclopeptídicos y ocho moléculas de ácido dicloroacético, las cuales se alternan a lo largo del eje *c* con un periodo de aproximadamente 16.5 Å.

---

[171] Brea, R. J.; Pérez-Alvite, M. J.; Panciera, M.; Mosquera, M.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Chem. Asian J.* **2011**, *6*, 110-121.

[172] La unidad ciclopeptídica **22** se preparó de forma novedosa a partir del tetrapéptido lineal totalmente desprotegido H_2N-[(*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp)$_2$-]-OH mediante condiciones de ciclación de baja dilución (5 mM), favoreciendo así los procesos intermoleculares y la formación predominante de dicho ciclooctapéptido.

[173] Brea, R. J.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Chem. Commun.* **2007**, *31*, 3267-3269.

[174] El ácido dicloroacético se obtuvo presumiblemente como resultado de la oxidación del tetracloroetano inducida por la luz. Griesbaum, K.; Hayes, M. P.; Werli, V. *Can. J. Chem.* **1988**, *66*, 1366-1370.

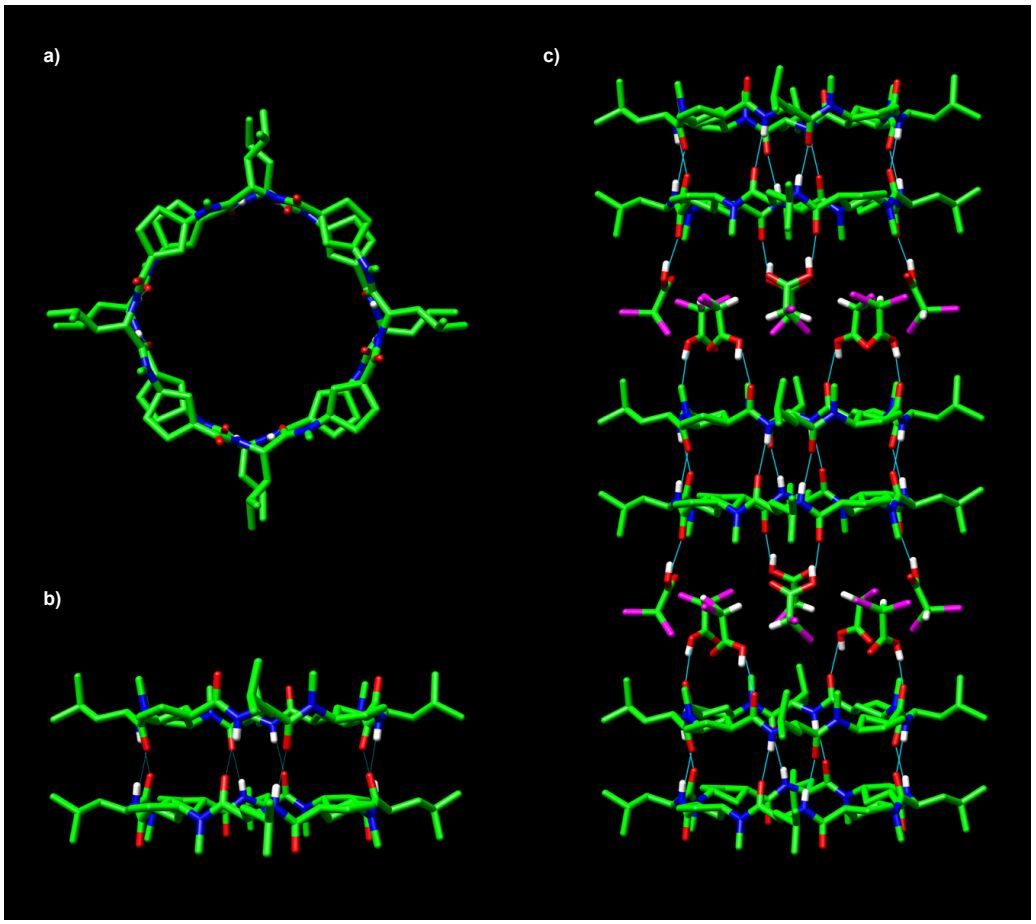


Figura 46. Vista lateral (**a**) y superior (**b**) de la estructura dimérica en estado sólido resultante de la asociación del ciclooctapéptido **22** (las moléculas de ácido dicloroacético han sido eliminadas para una mejor visualización). También se muestra la vista lateral de la estructura tubular resultante del empaquetamiento de las unidades diméricas a lo largo del eje *c* (**c**), en donde se observa el establecimiento de enlaces de hidrógeno intermolecular entre los dímeros y las moléculas de ácido dicloroacético que provienen de la descomposición de tetracloroetano.

En resumen, hemos demostrado que los α,γ(Acp)-ciclooctapéptidos pueden dar lugar a los correspondientes dímeros de manera eficiente ($K_a > 10^5\ M^{-1}$) mediante el establecimiento de enlaces de hidrógeno a través de las interacciones α–α. Del mismo modo, se ha comprobado que es posible aumentar el tamaño interno de los nanotubos α,γ-ciclopeptídicos sin interferir en la constante de asociación de las estructuras supramoleculares resultantes.

8.2.2. α,γ(Acp)-CICLOTETRAPÉPTIDOS

A continuación se procedió al estudio de los nanotubos más pequeños que podemos obtener, los cuales van a estar formados por la asociación de dos unidades de ciclotetrapéptidos. Las estructuras tubulares construidas según este modelo deberían de tener un diámetro interno inferior a 1 Å.

Al abordar este estudio ya habíamos intuido que la formación de los correspondientes dímeros podría no estar muy favorecida debido a que las unidades ciclopeptídicas van a estar unidas entre sí por únicamente cuatro enlaces de hidrógeno. Además, el elevado valor del ángulo definido en el plano del anillo ciclopeptídico por los enlaces O=C-Cα y Cγ-N (140º) dificulta en gran manera la conformación plana necesaria para el autoensamblaje molecular. Por tanto, fue necesario preparar un ciclotetrapéptido en donde tuviéramos alternados dos α-aminoácidos y dos γ-Acp metilados, de forma que se pudiese estudiar la interacción α–α de manera adecuada.

El ciclopéptido *ciclo*[(*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp)$_2$-] (**23**)[175] (Figura 47a) se preparó siguiendo la estrategia anteriormente descrita (Esquema 7 y 8). Es de destacar que en este caso la ciclación debe realizarse en condiciones de alta dilución (0.2 mM) para prevenir los procesos intermoleculares y evitar la formación predominante del ciclooctapéptido **22** (Figura 47b).[173]

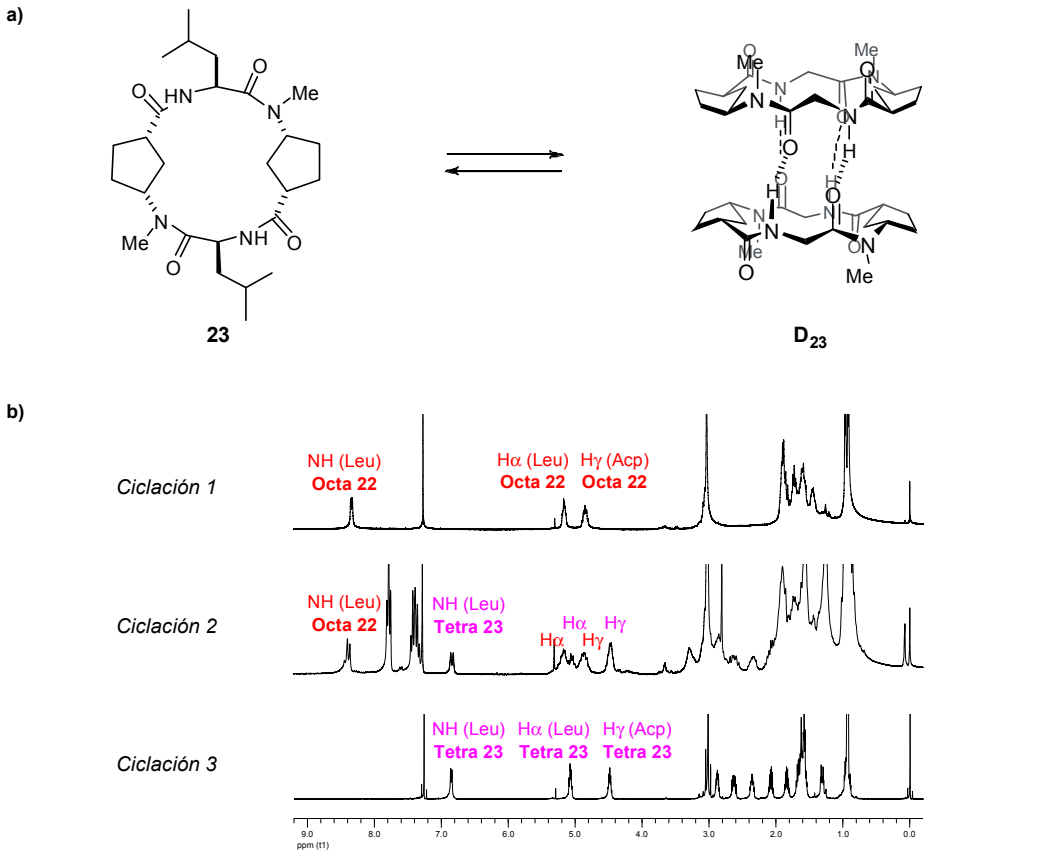


Figura 47. a) Modelo del proceso de autoensamblaje propuesto para el ciclotetrapéptido **23** (las cadenas laterales se han omitido en la estructura dimérica para su mejor visualización). **b)** Formación ciclotetrapéptido *vs* ciclooctapéptido a partir del tetrapéptido lineal H_2N-[(*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp)$_2$-]-OH. La ciclación en condiciones de baja dilución (> 5 mM) conlleva la formación predominante del ciclooctapéptido **22** (*Ciclación 1*), mientras que en condiciones de alta dilución (< 0.2 mM) se obtiene exclusivamente el ciclotetrapéptido **23** (*Ciclación 3*). El crudo de reacción de la ciclación realizada en condiciones habituales (1 mM) nos permite observar la formación de ambos ciclopéptidos de forma casi equimolar (*Ciclación 2*).

[175] a) Amorín, M.; Brea, R. J.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Heterocycles* ***2006****, 67, 575-583.* b) Amorín, M.; Brea, R. J.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 4681-4684.

El FT-IR (293 K, $CHCl_3$) del ciclotetrapéptido obtenido mostró dos bandas características de una vibración amida A de los NH. Una de ellas, a 3419 cm^{-1}, es característica de un NH libre (especie monomérica), mientras que la otra, a 3302 cm^{-1}, es propia de un NH que está formando enlaces de hidrógeno (especie dimérica $\mathbf{D_{23}}$). Es de destacar que también se observó la aparición de bandas a 1668 (amida Ib), 1623 (amida Ia) y 1538 (amida II_{II}) cm^{-1}, todas ellas características de una estructura tipo lámina plegada β antiparalela.

El ciclotetrapéptido **23** presenta un espectro de ^{1}H RMN bastante sencillo, debido a la presencia de un eje de simetría C_2 característico de la conformación plana, la cual es necesaria para la formación de los correspondientes dímeros. Dicha conformación se aprecia tanto en disolventes polares como apolares, mostrando unos valores de $J_{NH,\ H\alpha}$ comprendidos entre 9.0 y 9.5 Hz.

En $CDCl_3$, se observa que la señal correspondiente a los NH de la Leu se desplaza a campo bajo al incrementar la concentración del ciclopéptido y/o al disminuir la temperatura (Figura 48). Esto es característico de un proceso de asociación/disociación (equilibrio monómero⇔dímero) más rápido que la escala de tiempos de RMN, por lo que se observa una señal promedio de los NH debidos al monómero y al dímero. Dicha señal aparece comprendida entre δ 7.7 y 6.1 ppm, según la concentración y temperatura estudiadas. Hay que destacar que las señales de los protones $H\alpha_{Leu}$ y $H\gamma_{Acp}$ también se desapantallan con el aumento de la concentración, aunque lo hacen en menor grado que la señal de NH_{Leu}.

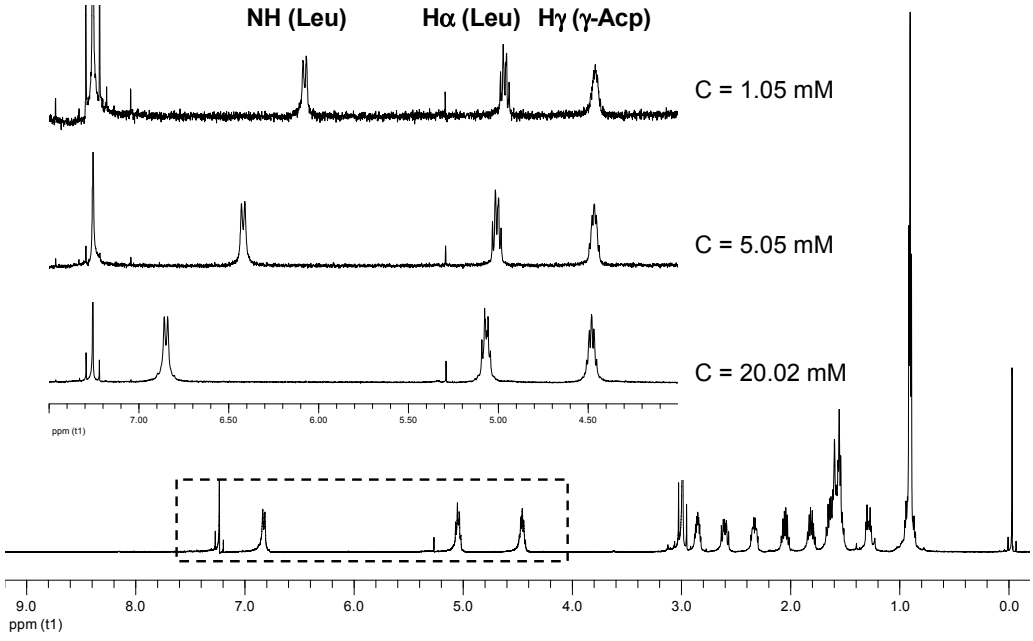


Figura 48. Espectros de ^{1}H RMN en $CDCl_3$ y a 303 K correspondientes al ciclotetrapéptido **23** a tres concentraciones diferentes (los espectros han sido ampliados desde 7.5 a 4.0 ppm para su mejor visualización).

Para el cálculo de las variables termodinámicas del proceso de autoensamblaje se midieron los desplazamientos correspondientes a los NH de las Leu a diferentes temperaturas (rango de temperaturas comprendido entre 243 y 303 K) y diferentes concentraciones

(1-20 mM), empleando una ecuación de regresión de tipo no lineal, que correlaciona los desplazamientos de los NH con la constante de asociación para un proceso en equilibrio entre monómero y dímero (modelo de LaPlanche).[176] La expresión matemática de dicha ecuación es la siguiente: $\delta_{obs} = \delta_{dim} + (\delta_{mon} - \delta_{dim})\cdot[-1 + (1 + 8K_aC)^{1/2}] / (4K_aC)$, donde C se corresponde con la concentración de cada experimento, mientras que K_a, δ_{mon} y δ_{dim} son valores calculados a partir de los datos observados (δ_{obs}). Para las condiciones estudiadas se calcularon los correspondientes valores de K_a a diferentes temperaturas. La correlación entre el $\log K_a$ y el inverso de la T (conocido como *representaciones de Van't Hoff*) nos permite obtener una recta a partir de la cual se relaciona la variación de entalpía (ΔH) con la pendiente y la variación de entropía (ΔS) con la ordenada en el origen (Figura 49). Así, para el proceso de autoensamblaje analizado en $CDCl_3$ se observó una $K_{a\ (298)} = 47\ M^{-1}$, mientras que los valores termodinámicos obtenidos fueron $\Delta H°_{298} = -12.6\ kJ\cdot mol^{-1}$ y $\Delta S°_{298} = -10.4\ J\cdot K^{-1}\cdot mol^{-1}$. Esto pone de manifiesto que estamos ante la presencia de un proceso dirigido entálpicamente, aunque entrópicamente desfavorable, debido a que la asociación del monómero para dar lugar al correspondiente dímero conlleva un aumento en el orden del sistema.

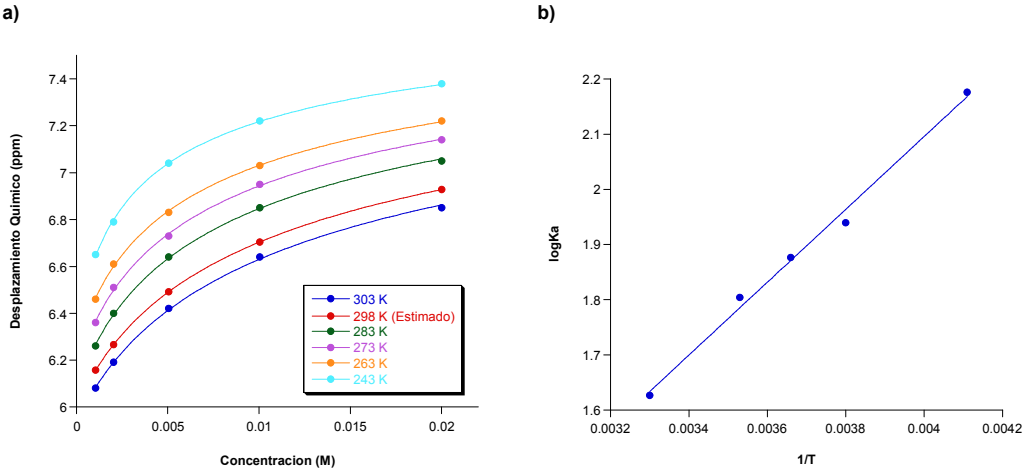


Figura 49. a) Gráfica que muestra el desplazamiento químico observado en ^1H RMN para la señal del NH frente a la concentración (El ajuste de los datos a la ecuación $\delta_{obs} = \delta_{dim} + (\delta_{mon} - \delta_{dim})\cdot[-1 + (1 + 8K_aC)^{1/2}] / (4K_aC)$ permite obtener los valores de K_a para cada temperatura). **b)** Representación de Van't Hoff correspondiente al proceso de autoensamblaje molecular estudiado.

Después de un exhaustivo estudio, hemos demostrado que los ciclopéptidos constituidos de manera alternada por dos α-aminoácidos y dos γ-Acp pueden dar lugar a enlaces de hidrógeno a través de las interacciones α–α, provocando la formación de las correspondientes estructuras diméricas. Es de destacar los buenos valores de K_a ($47\ M^{-1}$) obtenidos, sobre todo si consideramos que estamos trabajando con un macrociclo de 16 eslabones con fuertes restricciones geométricas. De igual forma, se pone en evidencia que la sustitución de dos unidades de γ-Ach por γ-Acp conlleva pequeñas variaciones estructurales sin modificar de forma apreciable la formación de los enlaces de hidrógeno, dando lugar a un

[176] LaPlanche, L. A.; Thompson, H. B.; Rogers, M. T. *J. Phys. Chem.* **1965**, *69*, 1482-1488.

proceso de autoensamblaje eficiente que conduce a los dímeros correspondientes.[177] Aparentemente, la mayor flexibilidad del anillo ciclopentánico compensa el mayor ángulo diedro (O=C-Cα/Cγ-N), de manera que no se modifica la capacidad de formar la hoja plegada β entre ciclopéptidos. Esta restricción estructural que aporta el γ-Acp puede jugar un papel muy importante en el caso de macrociclos más grandes, donde dicha flexibilidad puede ser clave para mantener la conformación plana necesaria para el proceso de asociación.

A continuación decidimos centrar nuestros esfuerzos en el estudio de las interacciones resultantes del empaquetamiento ciclopentilo/ciclohexilo. Para ello, fue necesario la prepararación de un ciclotetrapéptido híbrido Acp/Ach en donde tuviéramos alternados dos α-aminoácidos con dos unidades metiladas de γ-aminoácidos diferentes (una unidad de γ-Acp y otra de γ-Ach), de forma que se pudiese así estudiar tanto la interacción α–α como el empaquetamiento Acp/Ach.

El ciclopéptido *ciclo*[*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach-*D*-Leu-*L*-^{Me}N-γ-Acp-] (**24**)[175a] (Figura 50) se sintetizó siguiendo la metodología anteriormente descrita (Esquema 7 y 8). De nuevo, la ciclación debe realizarse en condiciones de alta dilución (0.2 mM) para favorecer la formación predominante del ciclotetrapétido híbrido deseado.

El péptido cíclico **24** carece de simetría C_2 (a diferencia del ciclotetrapéptido **23**), por lo que puede formar dos tipos distintos de estructuras diméricas a través de las uniones α–α, $\mathbf{D_{24[}_{sin}_{]}}$[178] y $\mathbf{D_{24[}_{anti}_{]}}$[179] (Figura 50), cuyas estabilidades pueden diferir debido a las diferencias en las interacciones que se establecen entre monómeros. Este hecho nos permitió evaluar si el empaquetamiento entre anillos ciclopentilos y ciclohexilos (empaquetamiento Acp/Ach en $\mathbf{D_{24[}_{anti}_{]}}$) es más favorable que los empaquetamientos ciclopentilo/ciclopentilo y ciclohexilo/ciclohexilo (empaquetamiento Acp/Acp y Ach/Ach, respectivamente, en $\mathbf{D_{24[}_{sin}_{]}}$), lo que favorecería la formación selectiva del dímero alternado $\mathbf{D_{24[}_{anti}_{]}}$.

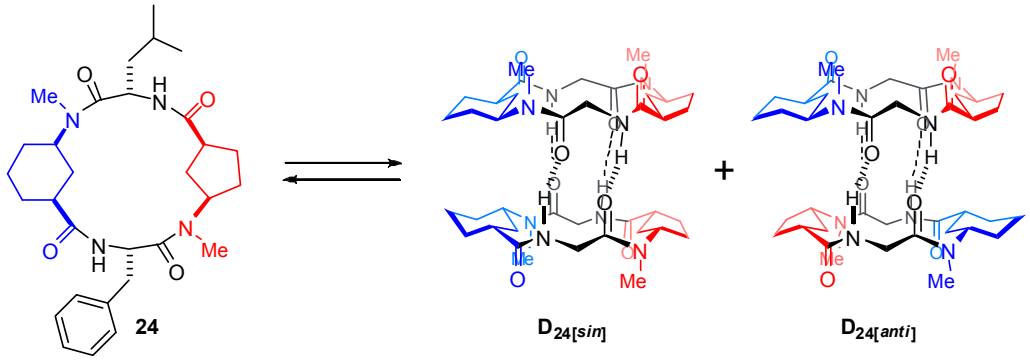


Figura 50. Modelo del proceso de autoensamblaje propuesto para el ciclotetrapéptido híbrido Acp/Ach **24**, en el que se muestra los dos estereoisómeros diméricos posibles $\mathbf{D_{24[}_{sin}_{]}}$ y $\mathbf{D_{24[}_{anti}_{]}}$ (las cadenas laterales se han omitido en las estructuras diméricas para su mejor visualización).

[177] Las contribuciones entálpicas y entrópicas son mucho menores en el caso del dímero formado por la asociación del ciclotetrápeptido constituido por dos γ-Acp, mientras que el valor de K_a es tres veces mayor (los valores termodinámicos en $CDCl_3$ y a 298 K para el dímero formado por la asociación del ciclotetrapéptido constituido por dos γ-Ach son: K_a = 15 M^{-1}, ΔH^o = -30.8 kJ·mol^{-1} y ΔS^o = -82.0 J·K^{-1}·mol^{-1}).
[178] La nomenclatura *sin* hace referencia a una disposición sin-coplanar (conformación eclipsada).
[179] La nomenclatura *anti* hace referencia a una disposición anti-coplanar (conformación alternada).

Un estudio exhaustivo de **24** mediante ^{1}H-RMN nos permitió inicialmente apreciar, tanto en disolventes polares como apolares, la conformación plana necesaria para la formación de los correspondientes dímeros. Para todos los casos, los valores de $J_{NH,\ H\alpha}$ están comprendidos entre 9.1 y 9.5 Hz. En $CDCl_3$, se observó que la señal correspondiente a los NH de los α-aminoácidos se desplazaba progresivamente a campo bajo desde 6.0 a 6.7 ppm al incrementar la concentración desde 1.0 a 20.0 mM, lo que corroboró la formación de los enlaces de hidrógeno intramoleculares característicos del proceso de asociación (Figura 51). A más altas concentraciones, dicho pico se divide en dos señales que se corresponden con cada uno de los NH de los dos α-aminoácidos (Leu y Phe).[180] El análisis termodinámico del proceso de autoensamblaje del híbrido **24** mostró una constante de dimerización (K_a = 28 M^{-1}) similar a la obtenida para el ciclotetrapéptido **23**.

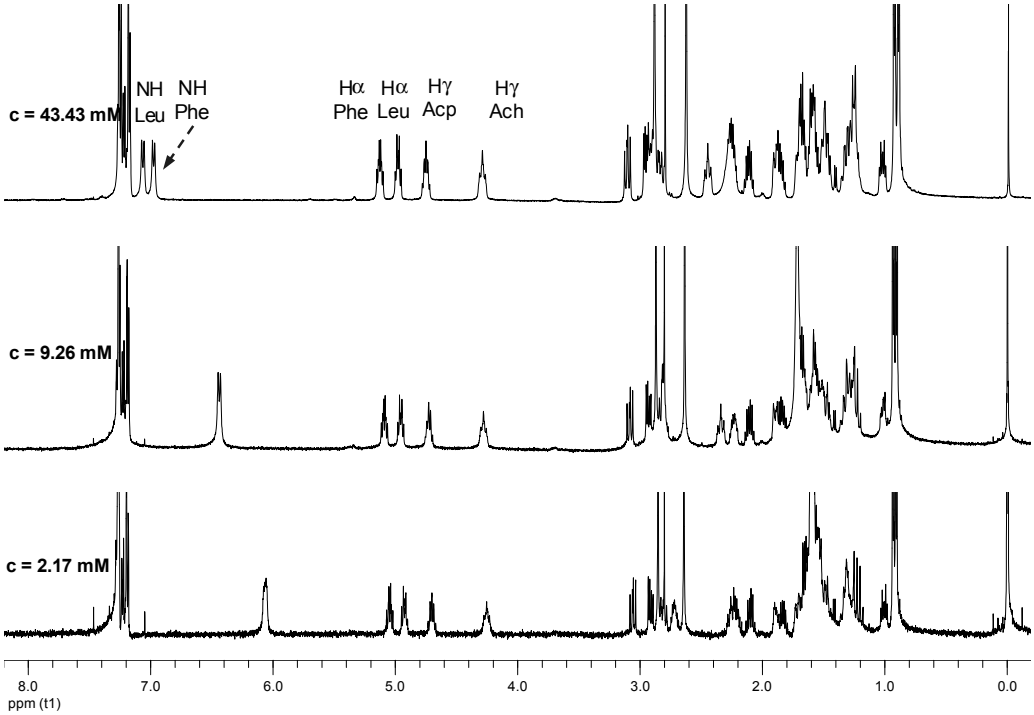


Figura 51. Espectros de ^{1}H RMN de diferentes disoluciones (43.43, 9.26 y 2.17 mM) de ciclotetrapéptido **24** en $CDCl_3$ y a 293 K, corroborando la formación de los enlaces de hidrógeno intramoleculares característicos del proceso de autoensamblaje. A altas concentraciones se observa el desdoblamiento del pico del NH, dando lugar a dos señales que se corresponden con cada uno de los NH de los α-aminoácidos.

Desafortunadamente, el rápido intercambio en la escala de tiempos de RMN entre el monómero y los correspondientes dímeros imposibilitó el estudio del equilibrio entre $\mathbf{D_{24[}_{sin}_{]}}$ y $\mathbf{D_{24[}_{anti}_{]}}$ en $CDCl_3$, incluso a 213 K (Figura 52a). Sin embargo, el análisis de una disolución 40 mM de **24** en una mezcla 4:1 de CD_2Cl_2/CS_2 a baja temperatura (178 K) permitió observar el equilibrio lento entre ambos dímeros. El espectro de ^{1}H-RMN resultante mostró cuatro señales

[180] La asignación de cada uno de los NH se llevó a cabo mediante experimentos bidimensionales de RMN, mostrando que la señal más desapantallada (δ = 7.06 ppm) correspondía con el NH de la Leu y la más apantallada (δ = 6.97 ppm) con el NH de la Phe.

características de NH (8.51, 8.33, 7.64 y 7.46 ppm) que se corresponden con los dímeros **D$_{24[sin]}$** y **D$_{24[anti]}$**, los cuales se encuentran en aproximadamente una relación 1:1 (Figura 52b). Este hecho sugiere que no existe preferencia en el empaquetamiento entre los anillos ciclopentilo y ciclohexilo para el caso de los dímeros resultantes del proceso de autoensamblaje de α,γ-ciclotetrapéptidos.

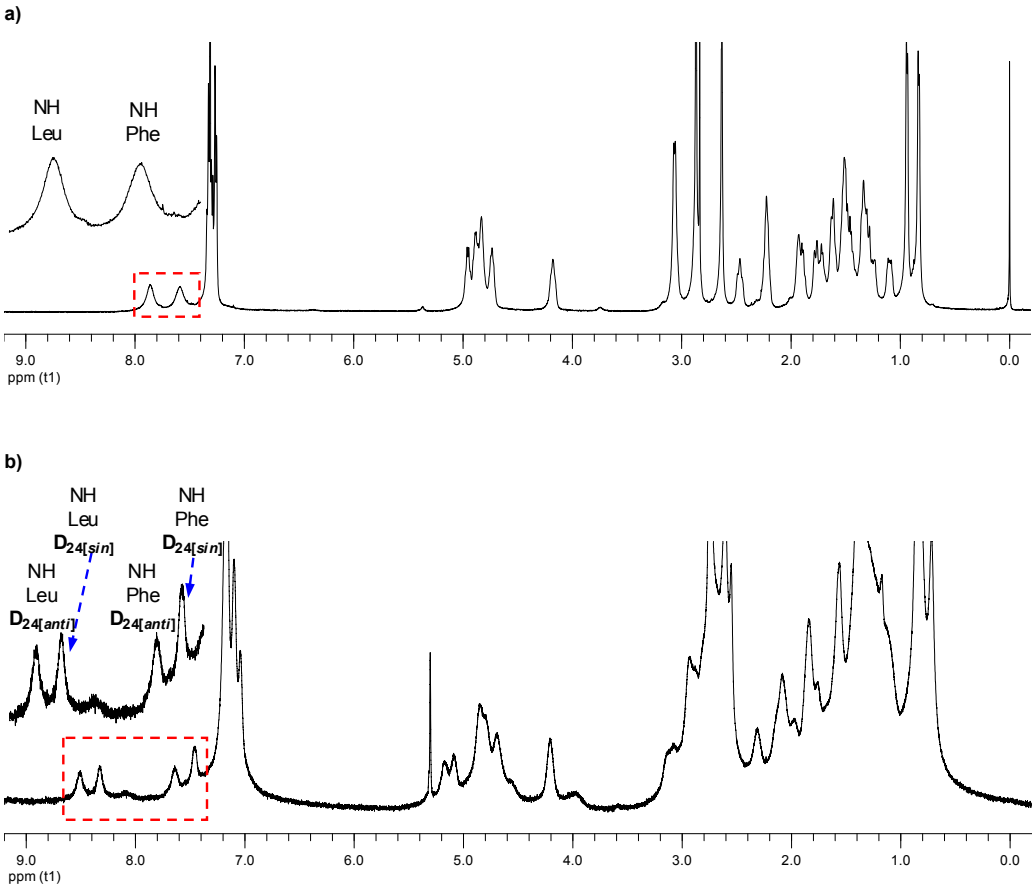
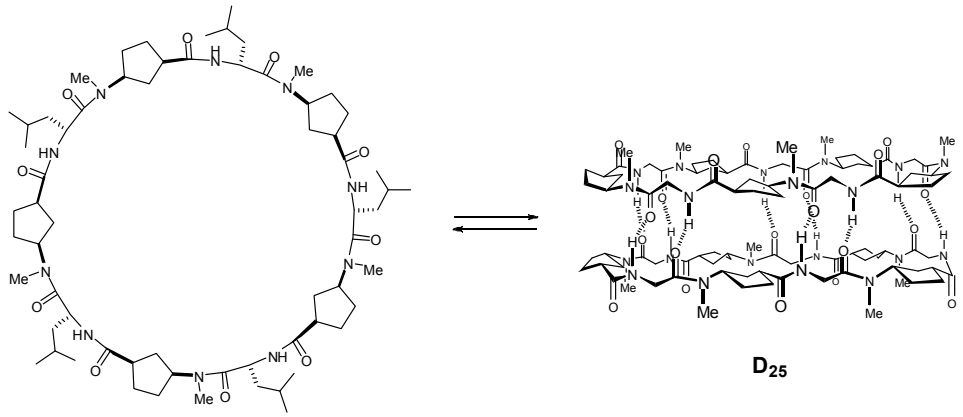


Figura 52. a) Espectro de ^{1}H RMN de una disolución 43.43 mM de ciclotetrapéptido **24** en $CDCl_3$ y a 213 K (el espectro ha sido ampliado desde 8.0 a 7.4 ppm para su mejor visualización). **b)** Espectro de ^{1}H RMN de una disolución 43.43 mM de ciclotetrapéptido **24** en CD_2Cl_2/CS_2 (4:1) y a 178 K, mostrando las señales de NH características de los dos posibles dímeros **D$_{24[sin]}$** y **D$_{24[anti]}$** (el espectro ha sido ampliado desde 8.7 a 7.3 ppm para su mejor visualización).

Debido a los buenos resultados obtenidos en el estudio de anillos de 16 (ciclotetrapéptidos), 24 (ciclohexapéptidos) y 32 (ciclooctapéptidos) miembros, se decidió a continuación emplear el γ-Acp en la síntesis de ciclopéptidos de mayor tamaño, donde la conformación plana puede venir dada por la restricción estructural que aporta dicho aminoácido. Además, la formación de un mayor número de enlaces de hidrógeno va a favorecer en gran manera el proceso de autoensamblaje.

8.2.3. α,γ(Acp)-CICLODECAPÉPTIDOS

Decidimos entonces llevar a cabo la preparación del *ciclo*[(*D*-Leu-*L*-^{Me}N-γ-Acp)$_5$-] (**25**),[173] (Figura 53) cuyo anillo de 40 miembros fue sintetizado en disolución empleando una metodología análoga a la utilizada en anteriores ejemplos (Esquema 7 y 8). La purificación final mediante HPLC nos permitió obtener el correspondiente ciclodecapéptido, el cual fue caracterizado adecuadamente mediante EM, FT-IR y RMN.



25 **D_{25}**

Figura 53. Modelo del proceso de autoensamblaje propuesto para el ciclodecapéptido **25** (las cadenas laterales se han omitido en la estructura dimérica para su mejor visualización).

El ciclodecapéptido obtenido presenta una gran simplicidad en su espectro de ^{1}H RMN en $CDCl_3$, debido a la presencia de un eje de simetría C_5 característico de la conformación plana, la cual es necesaria para la formación del correspondiente dímero **D_{25}**. Dicha conformación se aprecia tanto en disolventes polares como apolares, mostrando un valor de $J_{NH,\ H\alpha}$ = 9.1 Hz, característico de una amida *trans*. El desplazamiento químico de los NH de las Leu permanece invariable con la concentración (δ = 8.42 ppm).[181] La adición de MeOH (50%) y/o el calentamiento hasta 333 K no provocan ningún tipo de desplazamiento químico significativo en dicha señal, por lo que estimamos que la K_a es superior a 10^5 M^{-1}, de igual manera que habíamos calculado para el caso del ciclohexapéptido **20** y del ciclooctapéptido **21**.

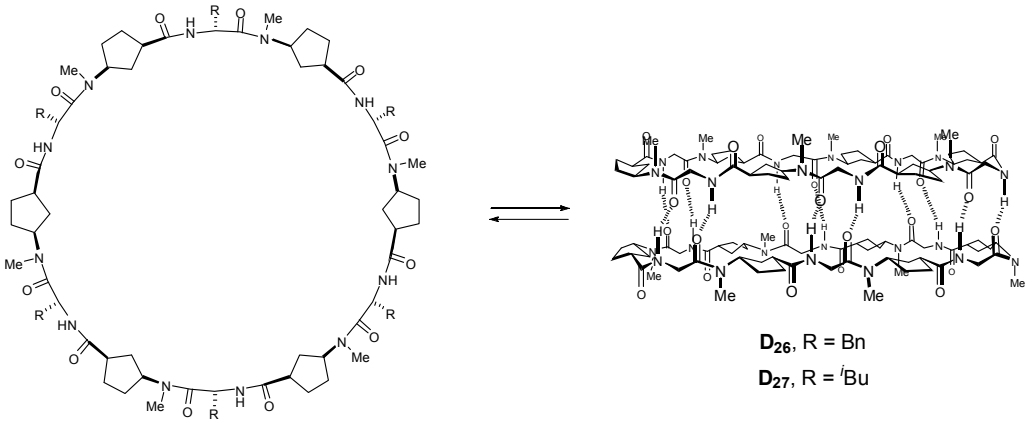
El FT-IR (293 K, $CHCl_3$) mostró las señales características de una lámina plegada β. Así, las bandas a 1665 (amida Ib), 1627 (amida Ia) y 1534 (amida II_{II}) cm^{-1}, constituyen otra evidencia de la existencia de una conformación plana de los ciclodecapéptidos. Además, la aparición de una banda a 3313 cm^{-1} característica de la amida A, pone de nuevo de manifiesto la presencia de un NH que está participando en la formación de un enlace de hidrógeno, tal y como se había descrito con anterioridad. Siguiendo la correlación de Krimm,[168b] se puede considerar una distancia N···O ligeramente superior a la observada para los ciclopéptidos de menor tamaño descritos previamente.

[181] La señal de los NH permanece constante incluso cuando trabajamos con concentraciones inferiores a 1 mM.

La cristalización del ciclodecapéptido en tetracloroetano bajo atmósfera de hexano condujo a la obtención de prismas incoloros. Desgraciadamente, los resultados de difracción de rayos X no presentaron suficiente calidad como para llevar a cabo la resolución de la estructura cristalina. Esto creemos que es consecuencia tanto de la alta dispersión que posee dicha estructura debido al elevado número de moléculas de disolvente desordenadas a lo largo de la organización tubular, como de la simetría (C_5) que presenta el ciclodecapéptido, difícil de encontrar en la mayoría de los sistemas cristalográficos.

8.2.4. α,γ(Acp)-CICLODODECAPÉPTIDOS

Para llevar a cabo el estudio de estructuras tubulares con diámetro interno superior a 15 Å se preparó el *ciclo*[(*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Acp)$_6$-] (**26**),[173] (Figura 54) con el que se pudo analizar la interacción α–α característica de los nanotubos formados por α,γ-ciclododecapéptidos. Dicho macrociclo se sintetizó en disolución siguiendo la metodología habitual empleada en los anteriores diseños (Esquema 7 y 8). Es de resaltar los excelentes rendimientos (75%) obtenidos en la etapa de ciclación, la cual resultó ser de nuevo sorprendentemente rápida, a pesar de que estábamos formando un macrociclo de 48 miembros. Otro aspecto relevante a destacar en este caso es que el dodecapéptido lineal Boc-[(*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Acp)$_6$-]-OFm presenta un espectro de ^{1}H RMN en el que parece apreciarse una estructura secundaria bien definida (Figura 55). Desgraciadamente, la alta repetitividad que tiene lugar en la secuencia polipeptídica —formada exclusivamente por dos tipos de aminoácidos (γ-Acp y Phe) — dificulta enormemente la elucidación de la correspondiente estructura mediante RMN. Del mismo modo, tampoco hemos sido capaces de obtener cristales adecuados que nos permitan la caracterización mediante difracción de rayos X. Aún así, creemos que es muy probable que



26, R = Bn
27, R = ^{i}Bu

D$_{26}$, R = Bn
D$_{27}$, R = ^{i}Bu

Figura 54. Modelo del proceso de autoensamblaje propuesto para los ciclododecapéptidos **26** y **27** (las cadenas laterales se han omitido en la estructura dimérica para su mejor visualización).

estos péptidos se comporten como novedosos foldámeros que adoptan preferentemente una estructura secundaria ordenada.[182]

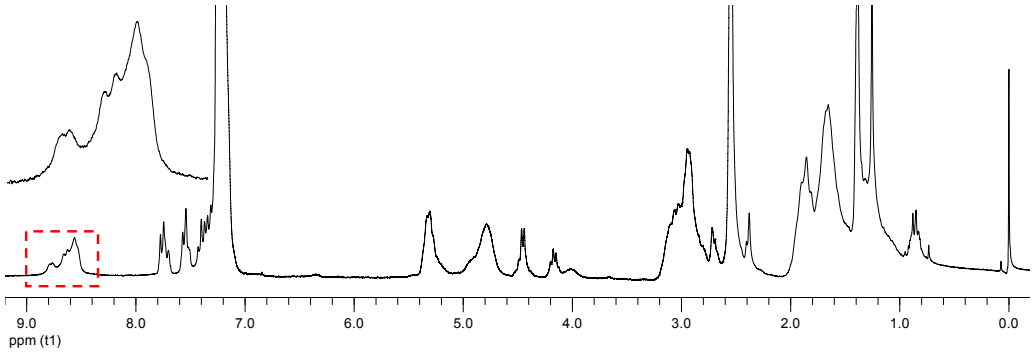


Figura 55. Espectro de ^{1}H RMN del dodecapéptido lineal Boc-[(*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Acp)$_6$-]-OFm, en el que parece apreciarse una estructura secundaria bien definida (la zona correspondiente a las señales de NH ha sido ampliada desde 8.95 a 8.35 ppm para su mejor visualización).

El ciclododecapéptido obtenido **26** presenta un comportamiento espectroscópico similar al de las unidades cíclicas descritas anteriormente. Su espectro de ^{1}H RMN en $CDCl_3$ mostró la presencia de un eje de simetría C_6 y un valor de $J_{NH,\ H\alpha}$ = 8.9 Hz propio de una amida *trans*. Ambos hechos sugieren que el ciclopéptido adquiere la conformación plana necesaria para el proceso de autoensamblaje. El desplazamiento químico de los NH de las Phe no varía con la concentración (δ = 8.61 ppm).[181] Distintas adiciones de MeOH (desde 10 hasta 50%) y/o el calentamiento a diferentes temperaturas (desde 303 a 333 K) no conllevaron ningún tipo de desplazamiento químico significativo en dicha señal, por lo que de nuevo estimamos una K_a mayor de 10^5 M^{-1}.

El FT-IR (293 K, $CHCl_3$) mostró tanto la participación en enlace de hidrógeno como la presencia de una lámina plegada β antiparalela. Así, la aparición de una banda a 3315 cm^{-1} (amida A), junto con la presencia de las bandas características a 1665 (amida Ib), 1623 (amida Ia) y 1525 (amida II_{II}) cm^{-1}, constituyen una nueva evidencia de la existencia de un proceso de autoensamblaje molecular.

La obtención de prismas incoloros (monoclínicos) obtenidos de una disolución de **26** en tetracloroetano (5 mM) equilibrada mediante difusión en una atmósfera de hexano nos permitió llevar a cabo el análisis cristalográfico de la estructura. Al igual que en el caso de los ciclodecapéptidos, y a pesar de la aparente buena calidad de los cristales, los resultados de difracción no tenían suficiente calidad como para llevar a cabo su resolución, lo que pone en evidencia la necesidad de buscar rutas alternativas a la simple cristalización de estos macrociclos de tamaño tan elevado. De esta forma, se han llevado a cabo estudios de cocristalización del ciclododecapéptido **26** en presencia de diferentes moléculas (adamantano, C_{60} y tetraetilenglicol), tratando así de forzar su atrapado en el interior de la cavidad. Dichos

[182] Para foldámeros análogos a la estructura esperada, ver: a) Simpson, G. L.; Gordon, A. H.; Lindsay, D. M.; Promsawan, N.; Crump, M. P.; Mulholland, K.; Hayter, B. R.; Gallagher, T. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 10638-10639. b) Schmitt, M. A.; Choi, S. H.; Guzei, I. A.; Gellman, S. H. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 4538-4539. c) Crisma, M.; Moretto, A.; Toniolo, C.; Kaczmarek, K.; Zabrocki, J. *Macromolecules* **2001**, *34*, 5048-5052. d) Hill, D. J.; Mio, M. J.; Prince, R. B.; Hughes, T. S.; Moore, J. S. *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 3893-4011.

experimentos iniciales han resultado infructuosos, aunque es probable que una investigación más exhaustiva nos permita obtener estructuras cristalinas adecuadas, reduciendo así el número de moléculas de disolvente desordenado y aumentando de esta forma la calidad de la resolución.

Decidimos a continuación llevar a cabo un estudio espectroscópico comparativo entre ciclopéptidos de estructura análoga pero de tamaño distinto (Tablas 2 y 3). Para ello fue necesario sintetizar inicialmente el ciclopéptido *ciclo*[(*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp)$_6$-] (**27**) (Figura 54) siguiendo la metodología habitual empleada en los anteriores diseños (Esquema 7 y 8). Dicho macrociclo presentó un comportamiento similar al descrito para el ciclododecapéptido **26**, corroborando por RMN[183] la existencia de un proceso de autoensamblaje molecular.

Los datos extraídos del estudio mediante RMN de diferentes ciclopéptidos de fórmula molecular *ciclo*[(Leu-^{Me}N-γ-Acp)$_n$-] (n = 2, 3, 4, 5, 6, 8) (Tabla 2) mostraron que la señal de NH_{Leu} se desplaza a campo bajo (desde 6.83 ppm para el ciclotetrapéptido **23** hasta 8.42 ppm para el ciclodecapéptido **25**) al ir aumentando el tamaño de la unidad cíclica y el número de enlaces de hidrógeno que se ponen en juego en el proceso de autoensamblaje, lo que está ampliamente relacionado con la K_a del proceso. Probablemente el pequeño apantallamiento que se produce en dicha señal para unidades de mayor tamaño viene relacionado con una ligera disminución en la estabilidad de las correspondientes estructuras diméricas. En el caso de la señal de $H\alpha_{Leu}$ se observó un comportamiento similar, pero con variaciones menos significativas. Del mismo modo, se comprobó que los valores de desplazamiento químico para

Tabla 2. Estudio espectroscópico de RMN en $CDCl_3$ (25 ºC) de diversos ciclopéptidos *D*,*L*- o *L*,*D*-alternantes de fórmula molecular *ciclo*[(Leu-^{Me}N-γ-Acp)$_n$-] (n = 2, 3, 4, 5, 6, 8) que se autoensamblan para dar lugar a las correspondientes estructuras homodiméricas, en donde se muestran los desplazamientos químicos de las señales de NH_{Leu}, $H\alpha_{Leu}$ y $H\gamma_{Acp}$, así como los valores correspondientes de las constantes de acoplamiento ($J_{NH,\ H\alpha}$) [**CT**: ciclotetrapéptido; **CHP**: ciclohexapéptido; **COP**: ciclooctapéptido; **CDP**: ciclodecapéptido; **CDDP**: ciclododecapéptido; **CDDP**: ciclohexadecapéptido].

Ciclopéptido	δ NH_{Leu}[a]	δ $H\alpha_{Leu}$	δ $H\gamma_{Acp}$	$J_{NH,\ H\alpha}$[b]
CTP 23	6.83	5.05	4.47	9.4
CHP 20	8.23	5.18	4.80	9.4
COP 21	8.33	5.16	4.84	9.5
CDP 25	8.42	5.20	4.92	9.1
CDDP 27	8.32	5.17	4.84	9.1
CHDP 29	8.26	5.05	4.81	9.0

[a] Desplazamientos químicos expresados en ppm

[b] Constantes de acoplamiento expresadas en Hz

[183] El espectro de ^{1}H RMN del ciclododecapéptido **27** mostró un eje de simetría C_6 y un valor de $J_{NH,\ H\alpha}$ = 9.1 Hz propio de una amida *trans*, sugiriendo que dicha unidad cíclica adquiere una conformación plana.

la señal de $H\gamma_{Acp}$ tampoco variaban demasiado al aumentar el tamaño del anillo ciclopeptídico, situándose entre 4.80 y 4.92 ppm, excepto para el caso del ciclotetrapéptido **23**, cuyo valor es mucho menor (4.47 ppm). Finalmente, se observó que los valores de $J_{NH,\ H\alpha}$ estaban comprendidos para todos los casos entre 9.0 y 9.5 Hz (valores propios de una amida *trans*). Todos estos hechos confirman que los ciclopéptidos estudiados adquieren la conformación plana necesaria para que tenga lugar el proceso de autoensamblaje, dando lugar a las correspondientes estructuras diméricas con elevadas constantes de asociación.[184]

En cuanto al estudio espectroscópico mediante FT-IR de varios ciclopéptidos de distinto tamaño (Tabla 3), cabe resaltar que todos los casos reflejan la participación en enlace de hidrógeno, así como la presencia de una lámina plegada β antiparalela. Del mismo modo, también hay que destacar que a medida que aumentamos el tamaño del ciclopéptido, la banda de la amida A se desplaza ligeramente hacia la izquierda, lo que pone de manifiesto el aumento de la distancia N···O. El resto de modos de vibración permanecen casi inalterados, y cualquier posible variación entra dentro de lo esperado.

Tabla 3. Estudio espectroscópico de FT-IR en $CHCl_3$ (25 ºC) de diversos ciclopéptidos que se autoensamblan para dar lugar a las correspondientes estructuras homodiméricas, en donde las bandas de vibración de C=O y NH permiten reflejar el motivo estructural que describen [**CT**: ciclotetrapéptido; **CHP**: ciclohexapéptido; **COP**: ciclooctapéptido; **CDP**: ciclodecapéptido; **CDDP**: ciclododecapéptido].

Ciclopéptido	Amida A	Amida Ia	Amida Ib	Amida II
CTP 23	3302	1668	1623	1538
CHP 20	3304	1661	1626	1534
COP 21	3309	1665	1626	1536
CDP 25	3313	1665	1627	1534
CDDP 26	3315	1665	1623	1525

[a] Modos de vibración (amida A, amida Ia, amida Ib y amida II) expresados en cm^{-1}

Una vez evaluado el buen comportamiento del γ-Acp en la construcción de anillos α,γ-ciclopeptídicos de gran tamaño que se autoensamblan adecuadamente en sus correspondientes dímeros, decidimos a continuación evaluar la preparación de estructuras análogas empleando esta vez macrociclos constituidos por el aminoácido γ-Ach. Como habíamos visto con anterioridad para el caso de unidades ciclopeptídicas de menor tamaño (tetra-, hexa y octapéptidos cíclicos), los resultados tanto para α,γ(Ach)- como para α,γ(Acp)-ciclopéptidos fueron muy similares, por lo que *a priori* se esperaría que para anillos de más de 32 miembros constituidos por el aminoácido ciclohexánico tuviésemos un comportamiento idéntico al de los derivados ciclopentánicos **25**, **26** y **27** previamente descritos.

[184] Los valores de Ka estimados se consideran superiores a $10^5\ M^{-1}$, excepto para el caso del ciclotetrapéptido **23**, cuyo valor no llega a $10^2\ M^{-1}$.

Para llevar a cabo dicho estudio comparativo y ver si es posible la formación de las correspondientes estructuras supramoleculares diméricas, se procedió inicialmente a la preparación del ciclododecapéptido *ciclo*{[*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach-*D*-Ser(Bn)-*L*-^{Me}N-γ-Ach-]$_3$-} (**28**) (Figura 56), siguiendo la misma estrategia sintética que para el resto de unidades cíclicas (Esquema 7 y 8). La purificación final por HPLC nos permitió obtener el ciclododecapéptido deseado, el cual se caracterizó adecuadamente mediante EM y RMN.

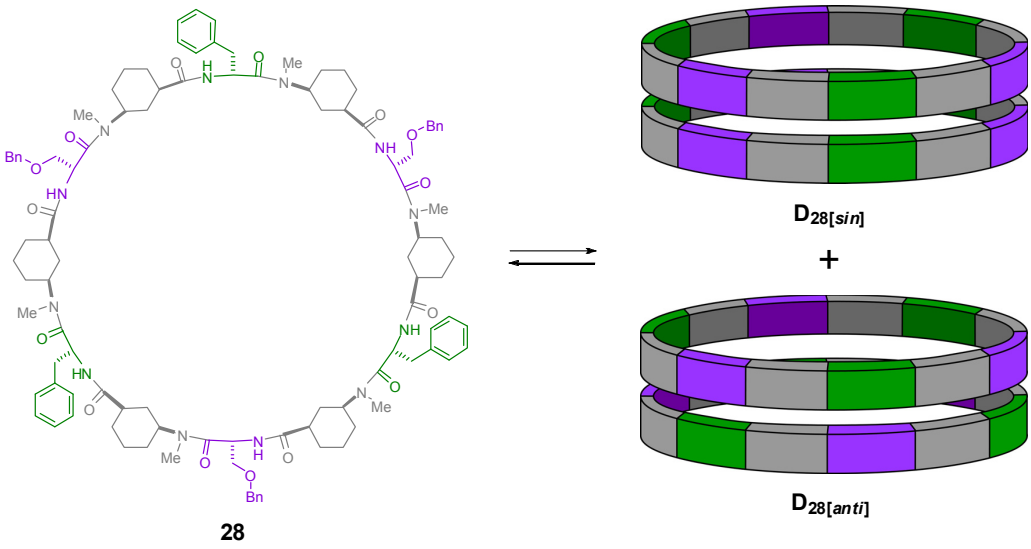


Figura 56. Modelo del proceso de autoensamblaje propuesto para el ciclododecapéptido **28**, en el que se muestra los dos estereoisómeros diméricos posibles **D$_{28[sin]}$** y **D$_{28[anti]}$** (las cadenas laterales se han omitido en las estructuras diméricas para su mejor visualización) [Phe en verde; Ser en violeta; ^{Me}N-γ-Ach en gris].

El péptido cíclico **28** presenta simetría C_3 (carece de la simetría C_6 característica de los ciclododecapéptidos **26** y **27**), por lo que podría formar dos tipos distintos de estructuras diméricas a través de las uniones α–α, **D$_{28[sin]}$** y **D$_{28[anti]}$** (Figura 56). Sin embargo, los estudios iniciales de ^{1}H RMN en $CDCl_3$ mostraron un espectro mucho más complicado de lo esperado (Figura 57, *superior*), debido fundamentalmente al gran número de señales presentes y al ensanchamiento de las mismas. El análisis a baja temperatura (223 K) permitió un estudio mucho más exhaustivo del comportamiento del ciclododecapéptido **28** (Figura 57, *inferior*). Inicialmente se comprobó que cada pico se obtenía de manera más definida, pudiendo así apreciar mucho mejor el gran número de señales presentes en el espectro. Del mismo modo, se observó un desapantallamiento considerable en las señales correspondientes a los NH al disminuir la temperatura. Todos estos hechos sugieren que el ciclododecapéptido **28** está involucrado en un equilibrio complejo, en el que coexisten varias formas plegadas (conformaciones mayoritarias) con las estructuras diméricas **D$_{28[sin]}$** y **D$_{28[anti]}$** esperadas (conformaciones minoritarias). Desgraciadamente, los reiterados intentos por obtener cristales adecuados para su análisis mediante difracción de rayos X que nos permitiesen elucidar claramente la estructura del ciclopéptido resultaron fallidos.

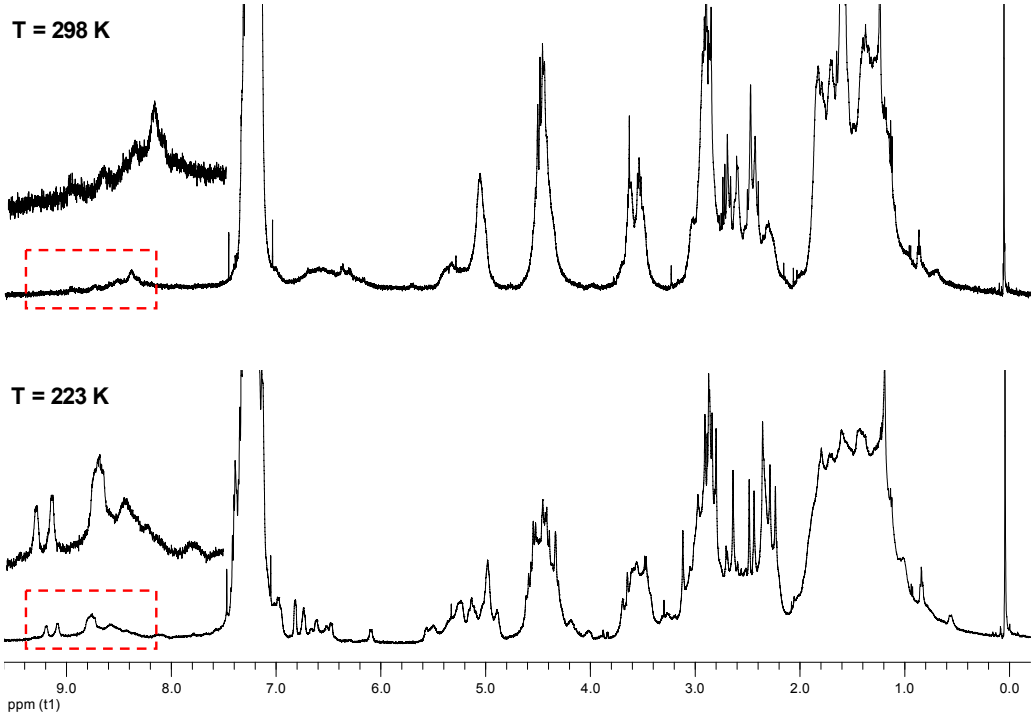
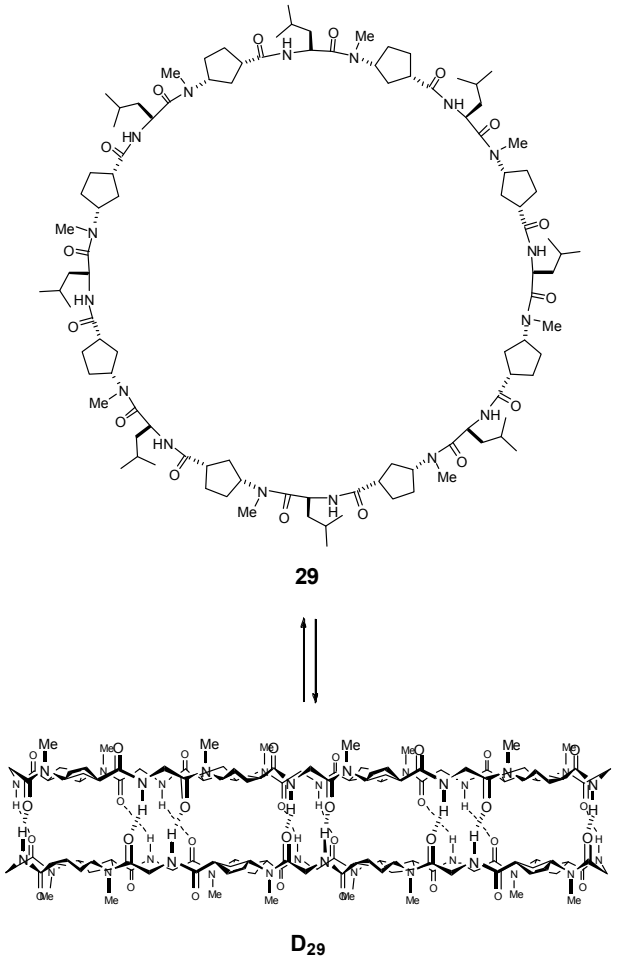


Figura 57. Espectros de ^{1}H RMN del ciclododecapéptido **28** a 298 K *(superior)* y a 223 K *(inferior)*, en el que se aprecia su complejidad (la zona correspondiente a las señales de NH ha sido ampliada desde 9.40 a 7.90 ppm para su mejor visualización).

La conformación tipo silla en la que se disponen los anillos ciclohexánicos de los γ-Ach aportan demasiada rigidez a los ciclopéptidos de más de 32 miembros, impidiendo que se adquiera la conformación plana necesaria para que tenga lugar el proceso de autoensamblaje. Sin embargo, la utilización de Acp como γ-aminoácido permite llevar a cabo la construcción de anillos ciclopeptídicos de gran tamaño sin que se vea imposibilitado en ningún momento la formación de las correspondientes estructuras diméricas. Este hecho viene dado fundamentalmente por la mayor flexibilidad que tiene el anillo ciclopentánico, lo que le permite amoldarse convenientemente a cada secuencia ciclopeptídica, dando lugar a la conformación plana requerida.

8.2.5. α,γ(Acp)-CICLOHEXADECAPÉPTIDOS

Decidimos a continuación llevar a cabo la preparación del ciclohexadecapéptido *ciclo*[(*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp)$_8$-] (**29**) (Figura 58), siguiendo la metodología sintética empleada anteriormente (Esquema 7 y 8). Dicho ciclopéptido nos permitiría el estudio de estructuras tubulares con diámetro interno cercano a los 2 nm (20 Å), las cuales podrían presentar importantes aplicaciones en diversos campos, debido fundamentalmente al enorme poro que poseen.



29 $\rightleftharpoons$ $\mathbf{D_{29}}$

Figura 58. Modelo del proceso de autoensamblaje propuesto para el ciclohexadecapéptido **29** (las cadenas laterales se han omitido en la estructura dimérica para su mejor visualización).

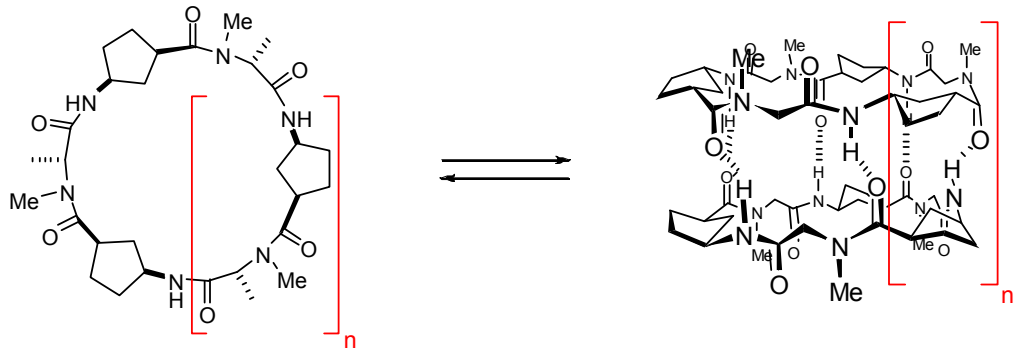
Al igual que en las unidades cíclicas estudiadas con anterioridad, se observó que el ciclohexadecapéptido **29** presentaba una gran simplicidad en su espectro de ^{1}H RMN en $CDCl_3$, debido esta vez a la presencia de un eje de simetría C_8. Igualmente, el valor de $J_{NH,\ H\alpha}$ (9.0 Hz) resultó se típico de una amida *trans*, sugiriendo de esta forma que el ciclopéptido adquiere la conformación plana necesaria para dar lugar al correspondiente homodímero. Por otra parte, el desplazamiento químico de los NH de la Leu permanece invariable con la concentración (δ = 8.26 ppm), por lo que podemos estimar de nuevo una K_a mayor de 10^5 M^{-1}. Desgraciadamente, la estructura dimérica propuesta no ha podido ser corroborada mediante análisis por difracción de rayos X debido a la baja calidad de los cristales obtenidos.

Se ha comprobado que el diámetro interno de los nanotubos se puede modular variando simplemente el número de aminoácidos que constituyen la unidad básica, ya que hemos demostrado que las interacciones α–α entre dichas unidades son termodinámicamente favorables para todos los α,γ(Acp)-ciclopéptidos estudiados.

8.3. ESTUDIO DE LA INTERACCIÓN γ–γ

Decidimos a continuación explorar la interacción que tiene lugar a través de las caras γ, la cual en principio debería ser menos estable que la interacción α–α previamente estudiada.[185] De nuevo, la similitud que existe entre los γ-aminoácidos nos hace presuponer que los resultados para los Acp-cicloderivados van a ser análogos a los obtenidos con anterioridad para los Ach-cicloderivados,[146,148,149] los cuales daban lugar a la formación de estructuras diméricas con valores de K_a del orden de 10^1-10^2 M^{-1}.

Para el estudio de las interacciones entre los γ-aminoácidos (interacción γ–γ) decidimos preparar en primer lugar el ciclohexapéptido *ciclo*[(*L*-γ-Acp-*D*-^{Me}N-Ala)$_3$-] (**30**) (Figura 59), el cuál se sintetizó de forma análoga a los ciclopéptidos anteriores (Esquema 7 y 8), partiendo esta vez de *D*-Boc-^{Me}N-Ala-OFm. La elección de dicho α-aminoácido se llevó a cabo considerando los precedentes obtenidos en el grupo de Ghadiri,[59,74] en donde la utilización del residuo de ^{Me}N-Ala permite minimizar la interacción estérica desfavorable que tiene lugar entre el grupo N-metilo y los sustituyentes del carbono β de las cadenas laterales de los α-aminoácidos, la cual puede dificultar la formación de los correspondientes dímeros.



30, n = 1
31, n = 2

D_{30}, n = 1
D_{31}, n = 2

Figura 59. Modelo del proceso de autoensamblaje propuesto para el ciclohexapéptido **30** y el ciclooctapéptido **31** (las cadenas laterales se han omitido en la estructura dimérica para su mejor visualización).

Los estudios de ^{1}H RMN en $CDCl_3$ a 298 K mostraron un espectro más complicado de lo esperado.[186] Este hecho sugiere que probablemente el ciclohexapéptido **30** no está dando lugar a la correspondiente estructura dimérica **D_{30}** (conformación muy minoritaria), sino que se dispone en una conformación plegada bien definida (conformación mayoritaria). Desafortunadamente, los numerosos intentos por obtener cristales idóneos para su análisis

[185] La baja estabilidad de la interacción γ–γ respecto a la interacción α–α se atribuye fundamentalmente a la menor polaridad de los enlaces N-H de los γ-aminoácidos, debido a la mayor distancia del grupo C=O, el cual ejerce un mayor efecto inductivo en los α-aminoácidos. Además, el menor valor de Ka también puede ser debido a repulsiones estéricas que pueden provocar la desestabilización de la conformación plana.
[186] La presencia de un eje de simetría C_3 en el ciclohexapéptido **30** nos hacía presagiar la simplicidad del espectro resultante.

mediante difracción de rayos X que permitiesen corroborar nuestra propuesta resultaron totalmente fallidos.

Decidimos entonces llevar a cabo el estudio de los ciclooctapéptidos, con la esperanza de que el aumento del tamaño del anillo pudiese facilitar la disposición del macrociclo a adoptar la conformación plana necesaria para el autoensamblaje. Así, se sintetizó el ciclooctapéptido *ciclo*[(*L*-γ-Acp-*D*-^{Me}N-Ala)$_4$-] (**31**) (Figura 59), siguiendo de nuevo una metodología análoga a la del ciclohexapéptido **30** (Esquema 7 y 8). Es de destacar los buenos rendimientos (85%) obtenidos en la etapa de ciclación, la cual resultó ser sorprendentemente rápida. El ciclopéptido resultante se caracterizó convenientemente mediante EM y RMN.

Los estudios de ^{1}H RMN en $CDCl_3$ a 298 K mostraron de nuevo un espectro mucho más complicado de lo esperado.[187] El análisis a baja temperatura (273 y 253 K) permitió un análisis mucho más exhaustivo del comportamiento del ciclooctapéptido **31** (Figura 60). De este modo, se observó que cada pico se obtenía de manera más definida, pudiendo así apreciar mucho mejor el gran número de señales presentes en el espectro, especialmente en la zona característica de los NH. Al igual que en el caso del ciclohexapéptido análogo **30**, este hecho sugiere que el ciclooctapéptido **31** está involucrado en un equilibrio complejo, en el que coexisten varias formas plegadas (conformaciones mayoritarias) con la estructura dimérica **D$_{31}$** esperada (conformación muy minoritaria).

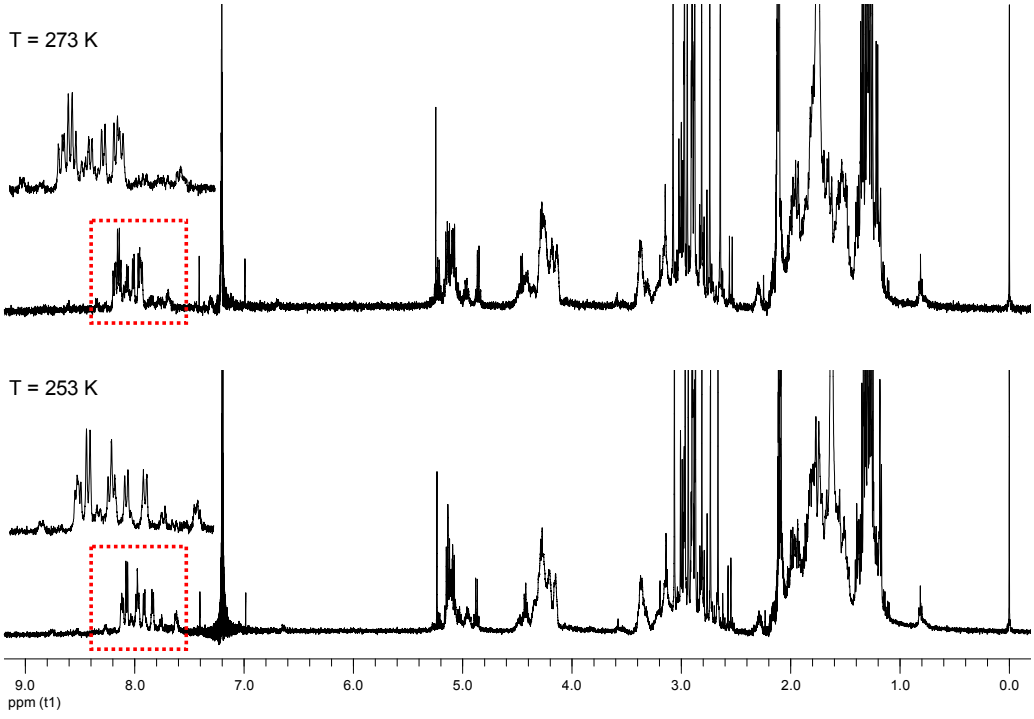


Figura 60. Espectros de ^{1}H RMN del ciclooctapéptido **31** a 273 K *(superior)* y a 253 K *(inferior)*, en el que se aprecia su complejidad (la zona correspondiente a las señales de NH ha sido ampliada desde 8.40 a 7.55 ppm para su mejor visualización).

[187] La presencia de un eje de simetría C_4 en el ciclooctapéptido **31** nos hacía presagiar la simplicidad del espectro resultante.

El valor de $J_{NH,\ H\alpha}$ para todos los casos resultó estar comprendido entre 6.8 y 7.0 Hz, por lo que no se ajusta — a diferencia de los ciclopéptidos de tipo interacción α–α anteriormente descritos — a la orientación *trans* de una amida,[188] sugiriendo de esta forma que el ciclopéptido no adquiere la conformación plana necesaria para dar lugar al correspondiente homodímero. Probablemente, la amida adquiere una disposición *cis* que facilita la formación de la estructura peptídica plegada.

La prueba concluyente de que el ciclooctapéptido **31** no formaba preferentemente dímeros se obtuvo en estado sólido, mediante la difracción de rayos X de cristales incoloros obtenidos en CH_2Cl_2 bajo atmósfera de hexano (Figura 61). De esta forma, se observó que el ciclopéptido se plegaba sobre sí mismo para satisfacer las posibilidades de enlaces de hidrógeno intramoleculares, dando lugar a una estructura plegada bien definida (**P_{31}**). Cabe

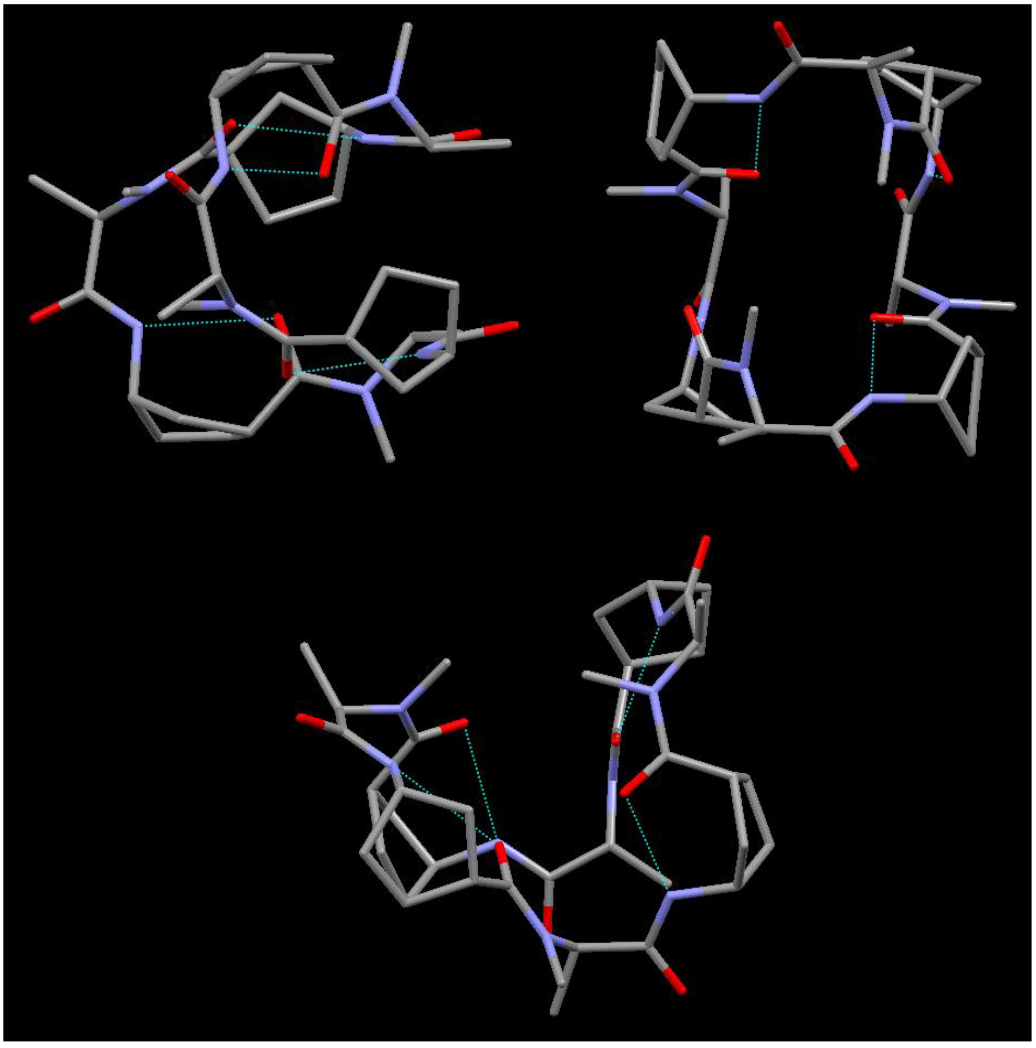


Figura 61. Estructura resultante de la cristalización del ciclooctapéptido **31** [ESTRUCTURA PLEGADA **P_{31}**]. *Plano ab*: arriba izquierda; *Plano bc*: arriba derecha; *Plano ac*: abajo.

[188] Smith, L. J.; Bolin, K. A.; Schawalb, E. H.; MacArthur, M. W.; Thornton, J. M.; Dobson, C. M. *J. Mol. Biol.* **1996**, *255*, 494-506.

resaltar que los cuatro enlaces de hidrógeno intramoleculares se establecen entre el NH y el C=O de cada una de las unidades del propio γ-Acp, por lo que representan en cierta manera una nueva clase de giros de tipo γ.[189]

Se ha observado que la interacción γ–γ que tiene lugar en los α,γ(Acp)-ciclopéptidos estudiados no conduce a la formación de los dímeros esperados, sino que conlleva preferentemente la obtención de estructuras plegadas. El plegamiento de los correspondientes ciclopéptidos viene dado fundamentalmente por la formación de giros tipo γ, los cuales se obtienen como consecuencia del establecimiento de enlaces de hidrógeno intramolecular a nivel del esqueleto del propio γ-Acp. Dado los buenos resultados obtenidos en la formación de estructuras diméricas a través de la interacción α–α, todo parece indicar que la no N-protección del γ-Acp aumenta en gran manera su flexibilidad, permitiendo así que el aminoácido se disponga de forma que satisfaga las posibilidades de establecer enlaces de hidrógeno intramoleculares entre su NH y su C=O. De este modo, se evita la formación de la estructura dimérica esperada y se favorece la obtención de la conformación derivada del plegamiento.

Recientemente, estudios computacionales de dimerización llevados a cabo en nuestro grupo de investigación han permitido analizar de manera más exhaustiva cada una de las interacciones (α–α y γ–γ), adquiriendo resultados que se ajustan a los obtenidos experimentalmente (Figura 62).[190] Las simulaciones efectuadas predijeron que las energías de interacción en las especies α–α son bastante similares a las que tienen lugar en las estructuras diméricas γ–γ. Sin embargo, la comparación de las energías de dimerización (sumatorio de las

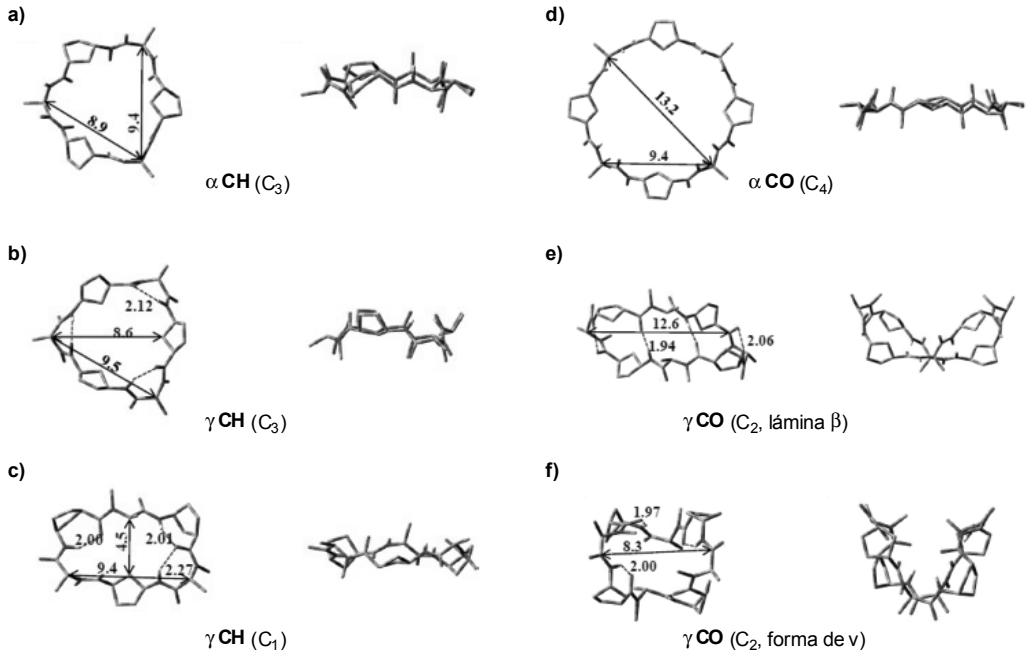


Figura 62. Vistas superior y lateral de las conformaciones más relevantes de los α- y γ-monómeros ciclohexapeptídicos (**a**, **b** y **c**) y ciclooctapeptídicos (**d**, **e** y **f**), las cuales han sido optimizadas mediante cálculos computacionales. La simetría aproximada está indicada entre paréntesis. Los valores seleccionados de distancias interatómicas están expresados en Å [**CH**: ciclohexapéptido; **CO**: ciclooctapéptido].

[189] Para giros γ, ver: Chou, K. C. *Anal. Biochem.* **2000**, *286*, 1-16.
[190] García-Fandiño, R.; Castedo, L.; Granja, J. R.; Vázquez, S. A. *J. Phys. Chem. B* **2010**, *114*, 4973-4983.

energías de interacción y de deformación de los monómeros) mostró que el autoensamblaje a través de la interacción α–α está favorecido energéticamente sobre el que tiene lugar a través de la interacción γ–γ. Del mismo modo, se sugirió que la preferencia por la interacción α–α es debida a las diferencias entre las energías de deformación en los monómeros α y γ,[191] antes que a las diferencias entre las fortalezas relativas de los enlaces de hidrógeno α–α y γ–γ. Así, un análisis mucho más preciso permitió revelar que los monómeros γ podían adoptar diferentes conformaciones con la presencia de enlaces de hidrógeno intramoleculares (Figura 62b, 62c, 62e y 62f), un hecho que no tiene lugar en los monómeros α (Figura 62a y 62d). La estabilización de los monómeros γ debido a enlaces de hidrógeno intramoleculares provoca un aumento significativo de las energías de deformación en este tipo de monómeros, lo cual genera un decrecimiento, en valor absoluto, de las energías de dimerización. Además, el análisis computacional basado en propiedades locales de densidad electrónica corroboró que los enlaces N-H de los α-aminoácidos están más polarizados que los de los γ-aminoácidos.

El estudio teórico de la estructura, dinámica y propiedades de los nanotubos α,γ(Ach)-ciclopeptídicos mediante simulaciones moleculares ha permitido corroborar su alta estabilidad, especialmente en disolventes no polares (Figura 63).[192] Este hecho viene dado fundamentalmente por la formación de una gran red de enlaces de hidrógeno entre ciclopéptidos, en donde la interacción α–α resulta ser más estable que la γ–γ, especialmente en agua. La aplicación práctica de estos estudios computacionales ha permitido la preparación tanto de nanotubos α,γ(Ach)-[143] como α,γ(Acp)-ciclopeptídicos.[193]

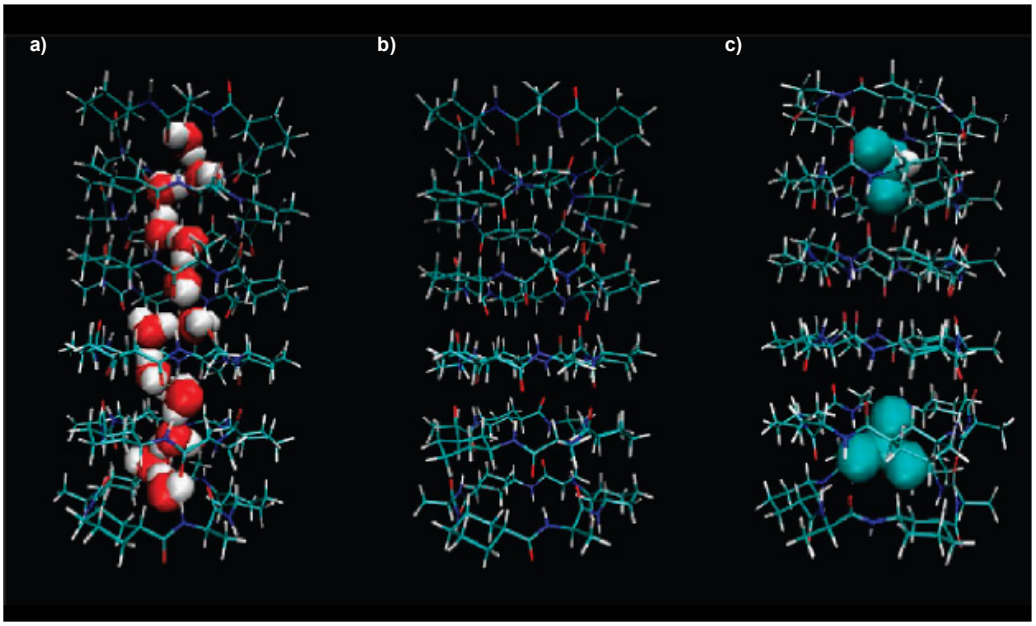


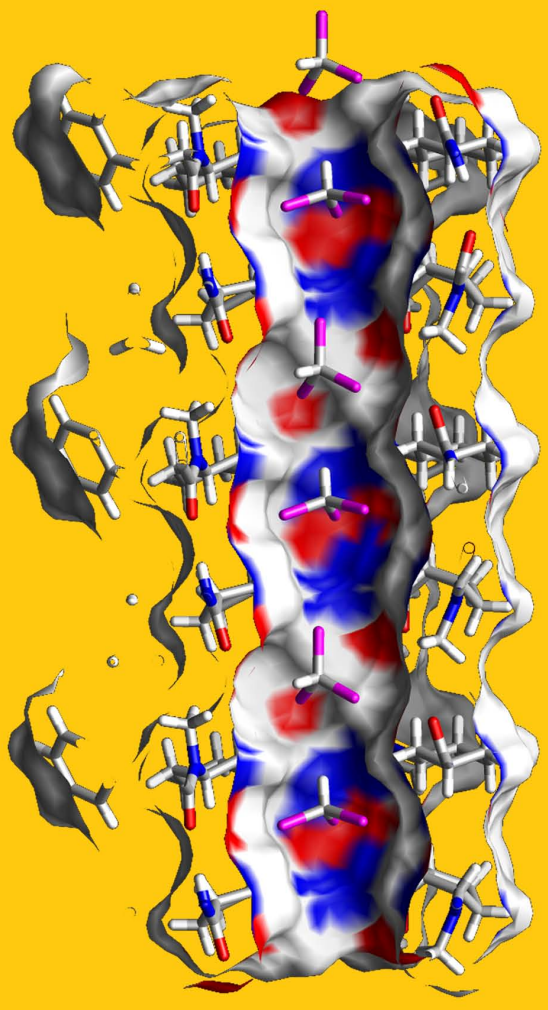
Figura 63. Simulaciones moleculares resultantes del autoensamblaje de *ciclo*[(*L*-γ-Acp-*D*-α-Aa)$_3$-] para dar lugar al correspondiente nanotubo ciclopeptídico en **a)** agua, **b)** metanol y **c)** cloroformo.

[191] Los monómeros α hacen referencia a los ciclopéptidos que pueden formar enlaces de hidrógeno a través de los α-aminoácidos, mientras que los monómeros γ son aquellos que lo hacen a través de los γ-aminoácidos.
[192] García-Fandiño, R.; Granja, J. R.; D'Abramo, M.; Orozco, M. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 15678-15686.
[193] Reiriz, C.; Brea, R. J.; Arranz, R.; Carrascosa, J. L.; Garibotti, A.; Manning, B.; Valpuesta, J. M.; Eritja, R.; Castedo, L.; Granja, J. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 11335-11337.

En resumen, el empleo de γ-Acp como unidad fundamental en la construcción de α,γ-ciclopéptidos nos ha permitido llevar a cabo la síntesis de una gran colección de anillos de tamaño adecuado (16, 24, 32, 40, 48 y 64 miembros). Probablemente, la flexibilidad estructural que suministra el γ-aminoácido, junto con el ángulo diedro de 140º del que dispone hace posible que el ciclopéptido adopte la conformación plana requerida para el proceso de autoensamblaje.[194] Las macroestructuras peptídicas resultantes adquieren gran relevancia debido a sus posibles aplicaciones como catalizadores, materiales porosos, almacenadores de gases y líquidos, receptores y transportadores iónicos o moleculares.

La introducción de una mayor diversidad en las estructuras nanotubulares es otro de los grandes retos dentro de este campo. El desarrollo de diferentes sistemas diméricos basados en nuestro modelo hace necesario la búsqueda de nuevas metodologías supramoleculares, entre las que destaca la heterodimerización peptídica.

[194] La conformación plana para dar lugar a las correspondientes estructuras diméricas se ha adoptado únicamente en los ciclopéptidos de interacción α–α. En el caso de la interacción γ–γ, los ciclopéptidos dieron lugar a estructuras plegadas.



α,γ-CICLOPÉPTIDOS: HETERODÍMEROS

Un segundo aspecto que decidimos abordar en esta memoria de Tesis Doctoral fue el desarrollo de nuevos sistemas heterodiméricos basados en el modelo α,γ-ciclopeptídico descrito con anterioridad.

La heterodimerización de péptidos es un proceso común en la naturaleza,[195] constituyendo una sencilla herramienta de diversificación estructural y versatilidad funcional. Estos mismos beneficios cabría esperarlos para el desarrollo de una batería de α,γ-ciclopéptidos con capacidad para formar heterooligómeros entre sí. Sin embargo, mientras que en todos los casos naturales conocidos la selectividad de hetero- frente a homodimerización es debida principalmente a las interacciones entre las cadenas laterales de los componentes monoméricos, en nuestro caso cabría esperar que dichas interacciones no sean necesarias para la heterodimerización preferencial de los α,γ-ciclopéptidos. De este modo, las ventajas combinatoriales que aporta el proceso de heterodimerización seguirían estando disponibles sin perjuicio de la posibilidad de la explotación de las cadenas laterales para otros fines.

Las posibles limitaciones que pueden presentar las especies homodiméricas a la hora de llevar a cabo su aplicabilidad han hecho que nos planteemos efectuar una expansión en nuestro modelo de estudio, empleando el diseño heterodimérico. Es por ello que es conveniente que profundicemos inicialmente en los fenómenos de heteromerización, con el fin de explorar adecuadamente las bases termodinámicas que rigen dicho proceso.

9. HETEROMERIZACIÓN

La homomerización se define como la asociación física entre moléculas idénticas, mientras que la heteromerización es la asociación entre moléculas distintas. Esta asociación puede ser entre dos monómeros para formar dímeros o entre múltiples monómeros para formar oligómeros. Las técnicas hasta la fecha disponibles no permiten distinguir fácilmente entre dímeros u oligómeros, de forma que el término dímero es a menudo usado como la forma más simple de unidad funcional oligomérica.

El autoensamblaje de biomoléculas que son capaces de formar selectivamente tanto especies homo- como heterodiméricas representa un gran reto para la comunidad científica, ya que los procedimientos actuales no proporcionan suficiente potencial de reconocimiento para llevar a cabo el autoensamblaje selectivo tanto de homo- como de heterodímeros.[196]

En la naturaleza, las interacciones entre subunidades proteicas (ya sea en especies homo- o heterodiméricas) son un fenómeno muy importante en la regulación y la catálisis, además de constituir un medio económico para alcanzar diversidad estructural y versatilidad funcional.[195]

---

[195] a) Bowers, P. M.; Cokus, S. J.; Eisenberg, D.; Yeates, T. O. *Science* **2004**, *306*, 2246-2249. b) Tsuchisaka, A.; Theologis, A. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2004**, *101*, 2275-2280. c) Young, M. R.; Yang, H.-S.; Colburn, N. H. *Trends Mol. Med.* **2003**, *9*, 36-41. d) Eferl, R.; Ricci, R.; Kenner, L.; Zenz, R.; David, J.-P; Rath, M.; Wagner, E. F. *Cell* **2003**, *112*, 181-192. e) Nair, S. K.; Burley, S. K. *Cell* **2003**, *112*, 193-205. f) Felsher, D. W. *Nat. Rev. Cancer* **2003**, *3*, 375-380.

[196] a) Gauba, V.; Hartgerink, J. D. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 2683-2690. b) Barret, E. S.; Dale, T. J.; Rebek, J. Jr. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 8818-8824. c) Zheng, W.; Jacobs, H. O. *Adv. Funct. Mater.* **2005**, *15*, 732-738. d) Ovchinnikov, M. V.; Brown, A. M.; Liu, X.; Mirkin, C. A.; Zakharov, L. N.; Rheingold, A. L. *Inorg. Chem.* **2004**, *43*, 8233-8235.

Uno de los ejemplos más característicos es el de los receptores acoplados a proteína G [GPCRs (*G-protein-coupled receptors*)], también llamados receptores de 7 dominios transmembrana [HSMRs (*heptaspanning membrane receptors*) o 7TM].[197,198] Esta familia constituye el mayor número de proteínas de membrana implicadas en la transducción de señal. Cabe destacar que los GPCRs juegan un papel clave en la fisiología celular, controlando procesos tales como el metabolismo, la secreción, la diferenciación, el crecimiento celular, las respuestas inflamatorias e inmunes o la neurotransmisión, de ahí que su disfunción de lugar a diversas enfermedades.[198]

Los receptores de 7 dominios transmembrana son capaces de interaccionar con una gran variedad de proteínas — tanto intracelulares como de la misma membrana plasmática — debido a sus características estructurales y a su localización subcelular.[199] Entre las proteínas que pueden interaccionar con dichos receptores se incluyen los propios miembros de la misma familia (Figura 64). Estos receptores clásicamente se han considerado como unidades

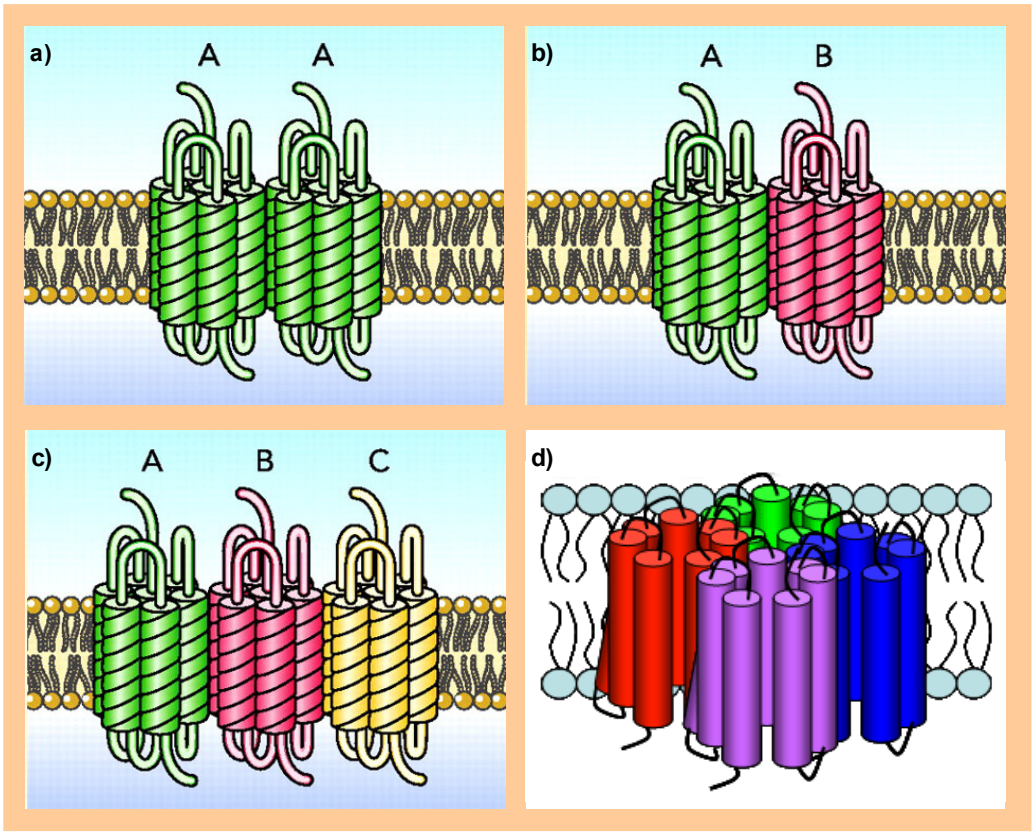


Figura 64. Homodímero (**a**), heterodímero (**b**), heterotrímero (**c**) y heterotetrámero (**d**) de receptores acoplados a proteína G.

[197] Para que una proteína sea clasificada como 7TM ha de cumplir dos premisas fundamentales. La primera es que debe de estar constituida por una sola cadena proteica capaz de cruzar siete veces la membrana celular, por lo que debe de presentar en su estructura siete secuencias de unos 25-35 residuos consecutivos, fundamentalmente hidrofóbicos, dispuestos en una estructura de hélices α que se internan en la membrana plasmática, lo que permite que un ligando extracelular ejerza su efecto específico dentro de la célula. La segunda premisa es que debe presentar la habilidad de interaccionar con una proteína G, por eso reciben también el nombre de GPCRs.

[198] a) Levoye, A.; Dam, J.; Ayoub, M. A.; Guillaume, J.-L.; Jockers, R. *EMBO reports* **2006**, *7*, 1094-1098. b) Prinster, S. C.; Hague, C.; Hall, R. A. *Pharmacol. Rev.* **2005**, *57*, 289-298. c) Milligan, G. *Mol. Pharmacol.* **2004**, *66*, 1-7.

[199] Estas interacciones determinan las propiedades del receptor, como por ejemplo, la compartimentación celular o la selección de la señal.

funcionales independientes, por lo que el descubrimiento de los procesos de homo- y heteromerización de GPCRs revolucionó la forma de afrontar el estudio de su funcionalidad.[200] Hoy en día, se acepta que la oligomerización es un hecho común en la biología de estos receptores.[201] Los oligómeros presentan características funcionales diferentes a las de los receptores que lo constituyen; así, la oligomerización, al conferir nuevas propiedades a los GPCRs, constituye un posible mecanismo de generar nuevas funciones en estos receptores. Por lo tanto, la oligomerización ha dado lugar a un nuevo nivel de complejidad que gobierna la señalización y regulación de estas proteínas.

Otro ejemplo importante de especies heteroméricas son los canales iónicos activados por ligandos, entre los que destacan el receptor nicotínico de acetilcolina (nAChR)[202] y el receptor de $GABA_A$[203] (Figura 65). Ambos complejos heteroméricos pertenecen a la familia de

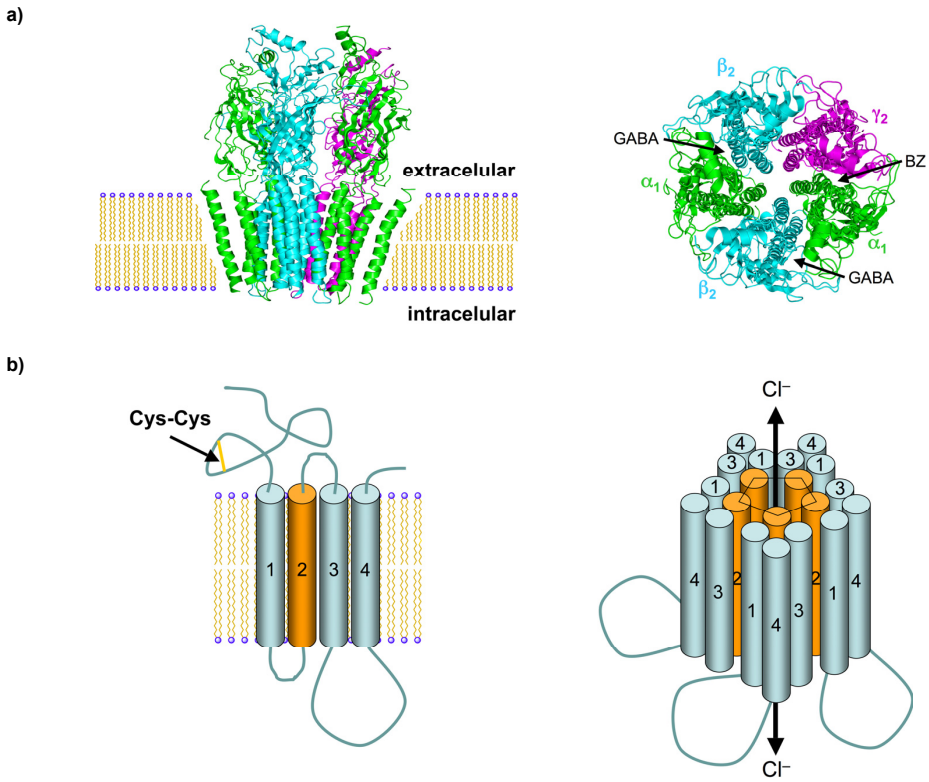


Figura 65. a) Vista lateral (*izquierda*) y superior (*derecha*) del receptor nicotínico de acetilcolina incrustado en la membrana celular. **b)** *Izquierda*, Subunidad monomérica de $GABA_A$ incrustada en una bicapa lipídica, mostrando las cuatro hélices α transmembrana (cilindros 1-4) y el puente disulfuro característico de la familia de receptores *Cys-loop*. *Derecha*, Representación esquemática de la estructura del receptor de $GABA_A$, mostrando las cinco subunidades que lo componen dispuestas simétricamente alrededor del canal responsable del transporte de iones cloruro.

[200] Fuxe, K.; Marcellino, D.; Guidolin, D.; Woods,A.S.; Agnati, L. F. *Physiology* **2008**, *23*, 322-332.
[201] Terrillon, S.; Bouvier, M. *EMBO reports* **2004**, *5*, 30-34.
[202] El nAChR es un canal iónico colinérgico capaz de responder al mediador químico acetilcolina (ACh), siendo activado por la nicotina. Su importancia radica en que está involucrado en varias funciones centrales, entre las cuales se incluyen el control voluntario del movimiento, memoria, atención, sueño, alerta, dolor y ansiedad. Para más información, ver: Unwin, N. *J. Mol. Biol.* **2005**, *346*, 967-989.
[203] El receptor de $GABA_A$ es capaz de responder al ácido γ-aminobutírico (GABA), el cual es el principal neurotransmisor inhibidor en el sistema nervioso central. Una vez activado, el receptor de $GABA_A$ permite el transporte selectivo de iones cloruro a través de su poro, provocando un efecto inhibidor sobre la neurotransmisión. Cabe resaltar que dicho receptor también es objetivo molecular de las benzodiazepinas (BZs), una clase de fármacos tranquilizantes. Para más información, ver: Sieghart , W.; Sperk, G. *Curr. Top. Med. Chem.* **2002**, *2*, 795-816.

receptores bucle Cys (*Cys-loop*)[204] y están constituidos por cinco subunidades dispuestas alrededor de un canal central que se abre para permitir que los iones pasen a través del mismo. Cabe resaltar que existen numerosas subunidades diferentes que se pueden unir en una gran variedad de combinaciones para formar distintos subtipos de canal iónico.[205,206] Es por ello que cada canal se expresa de diferente manera en diferentes tejidos, lo que permite la modulación selectiva del transporte de iones. De este modo, un solo neurotransmisor puede producir distintos efectos según el lugar del cuerpo en el que es liberado.[207]

El número de complejos heteroméricos presentes en la naturaleza es prácticamente ilimitado, destacando entre ellos otros ejemplos especialmente relevantes como son los receptores ionotrópicos de glutamato (IGluRs)[208] y de glicina (IGlyRs), los canales de calcio de tipo L (LTCCs),[209] las chaperoninas de tipo I (características de bacterias, mitocondrias y cloroplastos) y de tipo II — las cuales incluyen la chaperonina citosólica eucariótica (CCT)[210] (Figura 66) y el termosoma.[211] — y los transportadores heteroméricos de aminoácidos (HATs).[212] Todas estas especies supramoleculares poseen funciones muy importantes y altamente relacionadas con sus estructuras. Este hecho hace que la caracterización de dichos complejos heteroméricos — muchas veces extremadamente complejos — adquiera un gran interés.

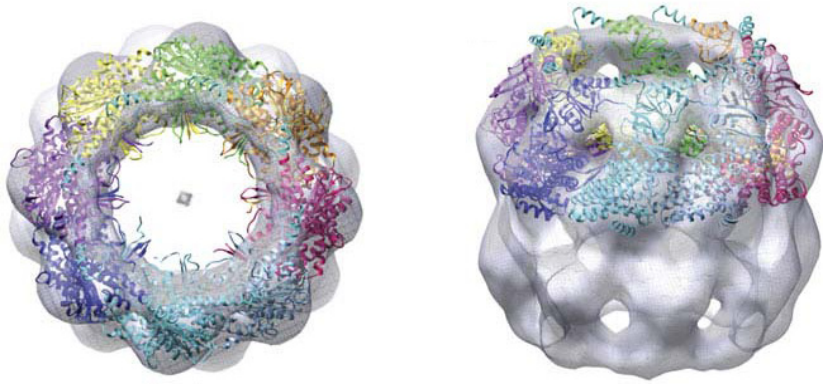


Figura 66. Vista superior (*izquierda*) y lateral (*derecha*) de una chaperonina CCT, en la que se puede observar la alta complejidad que presenta dicha estructura heteromérica.

[204] Sine, S.; Engel, A. *Nature* **2006**, *440*,448-455.
[205] Comúnmente, varios tipos diferentes de subunidades se asocian para formar un complejo heteromérico, como por ejemplo, el receptor nicotínico $\alpha4\beta2$, el cual está constituido por dos subunidades $\alpha4$ y tres subunidades $\beta2$; aunque a veces, el canal se puede formar mediante la asociación de un solo tipo de subunidad, como es el caso del receptor nicotínico $\alpha7$, el cual es una especie homomérica constituida porcinco subunidades $\alpha7$.
[206] a) Millar, N. S.; Gotti, C. *Neuropharmacology* **2009**, *56*, 237-246. b) Gotti, C.; Moretti, M.; Gaimarri, A.; Zanardi, A.; Clementi, F.; Zoli, M. *Biochemical Pharmacology* 2007, *74*,1102-1111.
[207] Heldt, S. A.; Ressler, K. J. *Neuroscience* **2007***, 150*, 370-385.
[208] Los IGluRs son un componente crítico del sistema nervioso central de vertebrados y se caracterizan por mediar en la mayoría de procesos de neurotransmisión excitatoria rápida. Para más información, ver: Brockie, P. J.; Maricq, A. V. *Biochem. Soc. Trans.* **2006**, *34*, 64-67.
[209] Los LTCCs son canales dependientes del voltaje con permeabilidad por los cationes Ca^{2+}. Para más información, ver: Groth, R. D.; Dunbar, R. L.; Mermelstein, P. G. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2003**, *311*, 1159-1171.
[210] La CCT (también denominada TRIC o c-cpn) es un complejo de proteínas chaperonina que se encuentra en el citosol de células eucariotas. Dicho complejo se caracteriza por poseer una estructura en forma de esfera hueca, la cual se compone de ocho subunidades proteicas diferentes, y dentro de la cual tiene lugar el plegado de proteínas tan relevantes como la actina y la tubulina. Para más información, ver: Martín-Benito, J.; Grantham, J.; Boskovic, J.; Brackley, K. I.; Carrascosa, J. L.; Willison, K. R.; Valpuesta, J. M. *EMBO reports* **2007**, *8*, 252-257.
[211] El termosoma es un complejo de proteínas chaperonina que presenta su función en los microorganismos unicelulares *Archaea*. Dicho complejo se caracteriza por poseer una estructura en forma de esfera hueca, la cual se compone de una, dos o tres subunidades proteicas diferentes, y dentro de la cual se pliegan las proteínas. Para más información, ver: Ditzel, L.; Löwe, J.; Stock, D.; Stetter, K.; Huber, H.; Huber, R.; Steinbacher, S. *Cell* **1998**, *93*, 125-138.
[212] Verrey, F.; Closs, E.I.; Wagner, C.A.; Palacín, M.; Endou, H.; Kanai, Y. *Pflugers Arch.* **2004**, *447*, 532-542.

Las técnicas instrumentales disponibles en la actualidad no permiten caracterizar fácilmente las especies oligoméricas, de forma que el estudio de las unidades básicas heterodiméricas adquiere una mayor relevancia. Los factores de crecimiento, el complejo Fos/Jun empleado en el reconocimiento de secuencias de ADN o la Tubulina son claros ejemplos que ponen de manifiesto la importancia que presenta la formación de especies heterodiméricas.

10. SISTEMAS HETERODIMÉRICOS

El primer ejemplo destacado de heterodímero en la naturaleza es el factor de transcripción AP-1,[213] el cual se obtiene mediante la asociación de las oncoproteínas nucleares Fos y Jun. Ambas proteínas pertenecen a la familia de factores de transcripción que utiliza el motivo bZIP[214] en el reconocimiento de secuencias de ADN. Además, aparecen expresadas en diferentes cánceres y enfermedades proliferativas, por lo que existe un gran interés en antagonizar su actividad.[215] Cabe resaltar que dichas proteínas se caracterizan por asociarse al sitio de unión pseudopalindrómico AP-1 del ADN (5'-TGAGTCA-3') en forma de heterodímeros no covalentes. El análisis mediante difracción de rayos X de la estructura cristalográfica del dominio bZIP del correspondiente complejo c-Fos/c-Jun unido al ADN ha permitido observar que tanto Fos como Jun adoptan estructuras de hélice α (Figura 67).[216] Las regiones C-terminales dimerizan formando una estructura tipo ovillo enrollado (*coiled-coil*) asimétrico en el que la subunidad Jun se enrolla alrededor de la subunidad Fos. La formación preferente del heterodímero sobre cualquiera de los homodímeros es debida a la extensa red de interacciones electrostáticas que tienen lugar entre las subunidades en la cremallera de leucinas. Por otra parte, las regiones N-terminales llevan a cabo contactos básicos específicos con el ADN en el surco mayor. En cuanto a su funcionalidad, las proteínas AP-1 controlan los procesos de diferenciación, proliferación y apoptosis celular mediante su capacidad para modular la expresión y función de reguladores del ciclo celular como, por ejemplo, ciclina D1, p53 y los inhibidores p21(WAF1), p19(ARF) y p16(INK).[217,218] Es por ello que dichos complejos

[213] Los factores de transcripción heterodiméricos AP-1 (denominados también complejos Fos/Jun o proteínas activadoras 1) se obtienen por asociación de los factores de la familia Fos (Fos, FosB, Fra1, Fra2) con los de la familia Jun (Jun, JunB, JunD). Cabe destacar que los heterodímeros resultantes se caracterizan por unirse a secuencias consenso en el ADN (sitios AP-1). Para más información, ver: a) Ramirez-Carrozzi, V.; Kerppola, T. *Mol. Cell. Biol.* **2003**, *23*, 1737-1749. b) Chinenov, Y.; Kerppola, T. K. *Oncogene* **2001**, *20*, 2438-2452. c) Kerppola, T. K. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1996**, *93*, 10117-10122. d) Kerppola, T. K.; Curran, T. *Cell* **1991**, *66*, 317-326. e) Kerppola, T. K.; Curran, T. *Science* **1991**, *254*, 1210-1214.

[214] El motivo estructural de tipo bZIP es uno de los más sencillos utilizados por las proteínas para el reconocimiento de secuencias específicas de ADN de doble cadena, ya que consiste simplemente en dímeros de hélices α. El dominio de unión al ADN contiene generalmente unos 60-80 residuos y dos subdominios diferenciados: una **región básica** que contiene aproximadamente 20 aminoácidos básicos e hidrofóbicos, que corresponde al extremo N-terminal de las hélices, y es la encargada de llevar a cabo los contactos con el ADN, y la región de **cremallera de leucinas**, que contiene unos 30 aminoácidos y está situada a continuación de la región básica hacia el extremo C-terminal, que es la encargada de la dimerización. Ambas regiones están separadas por un espaciador de unos seis aminoácidos, cuya longitud, aunque no secuencia, se conserva en toda la familia de cremallera de leucinas. Para motivos bZIP, ver: a) Vinson, C.; Myakishev, M.; Acharya, A.; Mir, A. A.; Moll, J. R.; Bonovich, M. *Mol. Cell. Biol.* **2002**, *22*, 6321-6335. b) Glover, J. N.; Harrison, S. C. *Nature* **1995**, *373*, 257-261. c) Ellenberger, T. E.; Brandl, C. J.; Struhl, K.; Harrison, S. C. *Cell* **1992**, *71*, 1223-1237. d) O'Shea, E. K.; Klemm, J. D.; Kim, P. S.; Alber, T. *Science* **1991**, *254*, 539-544. e) Vinson, C. R.; Sigler, P. B.; McKnight, S. L. *Science* **1989**, *246*, 911-916.

[215] Angel, P.; Karin, M *Biochimica et Biophysica Acta* **1991**, *1072*, 129-157.

[216] Glover, J. N.; Harrison, S. C. *Nature* **1995**, *373*, 257-261.

[217] Ameyar, M.; Wisniewska, M.; Weitzman, J. B. *Biochimie* **2003**, *85*,747-752.

[218] Dentro de las proteínas de la familia Jun, c-Jun es la única capaz de regular positivamente la proliferación a través de la represión de la función y expresión de genes supresores de tumores como p53, y de inducción de la transcripción de ciclina D1.

heterodiméricos adquieren una gran importancia debido a su implicación en la regulación de la expresión de genes relacionados con la respuesta a diversos estímulos, como citoquinas, factores de crecimiento, estrés e infecciones virales o bacterianas.[219]

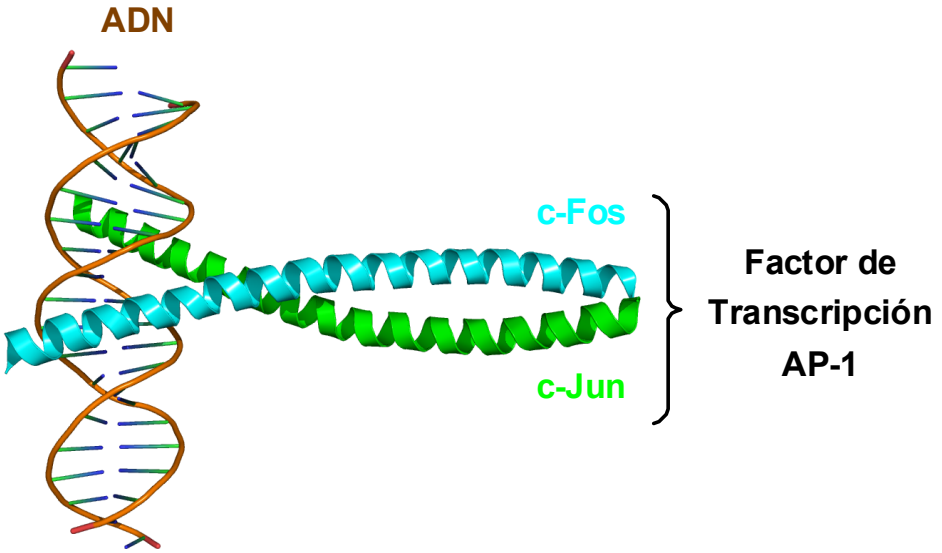


Figura 67. Estructura cristalográfica del complejo AP-1/ADN, en el que se muestra como el heterodímero formado por c-Fos (en azul) y c-Jun (en verde) reconoce secuencias específicas de ADN (marrón).

Otro de los ejemplos más estudiados de heterodimerización es el de los receptores metabotrópicos $GABA_B$ ($GABA_BR$),[220] los cuales están constituidos por subunidades $GABA_{B1}$ y $GABA_{B2}$ (Figura 68).[221] Cabe resaltar que la expresión de $GABA_{B1}$ en ausencia de $GABA_{B2}$ conduce a la retención de la subunidad en el retículo endoplasmático, mientras que la expresión de la subunidad $GABA_{B2}$ por sí sola favorece su expresión en la superficie, aunque sin actividad funcional (el receptor no se une al agonista, por lo que no puede iniciar una respuesta como consecuencia a dicha exposición). La expresión de las dos subunidades de manera conjunta — en forma de complejo $GABA_{B1}/GABA_{B2}$ — conduce a la expresión en la membrana plasmática del receptor funcional. Por otra parte, ha sido demostrado que la asociación de $GABA_{B2}$ a $GABA_{B1}$ provoca el enmascaramiento de la señal de retención[222] de los receptores funcionales.[223] En cuanto a su función en el organismo, los receptores $GABA_B$ son los encargados de estimular la apertura de los canales de K^+, lo que previene la apertura de los canales de sodio y detiene la liberación de neurotransmisores. Por ello, son considerados como receptores con capacidad inhibidora. Estudios recientes también han permitido observar que las especies heterodiméricas $GABA_B$ pueden jugar un papel importante en el desarrollo.[224]

[219] Hess J.; Angel, P.; Schorpp-Kistner, M. *J. Cell. Sci.* **2004**, *117*, 5965-5973.
[220] a) Chen, K.; Li, H.; Ye, N.; Zhang, J.; Wang, J *Brain Res. Bul.l* **2005**, *67*,310-318. b) Bowery, N. G.; Bettler, B.; Froestl, W.; Gallagher, J. P.; Marshall, F.; Raiteri, M.; Bonner, T. I.; Enna, S. J. *Pharmacol. Rev.* **2002**, *54*, 247-264.
[221] La subunidad $GABA_{B1}$ es esencial para la unión del ligando, mientras que la subunidad $GABA_{B2}$ es vital para llevar a cabo la expresión funcional del dímero del receptor en la superficie celular.
[222] Margeta-Mitrovic, M.; Jan, Y. N.; Jan, L. Y. *Neuron* **2000**, *27*, 97-106.
[223] White, J. H.; Wise, A.; Main, M. J.; Green, A.; Fraser, N. J.; Disney, G. H.; Barnes, A. A.; Emson, P.; Foord, S. M.; Marshall, F. H. *Nature* **1998**, *296*, 679-682.
[224] Dzitoyeva, S.; Gutnov, A.; Imbesi, M.; Dimitrijevic, N.; Manev, H. *Brain Res. Dev. Brain Res.* **2005**,158, 111-114.

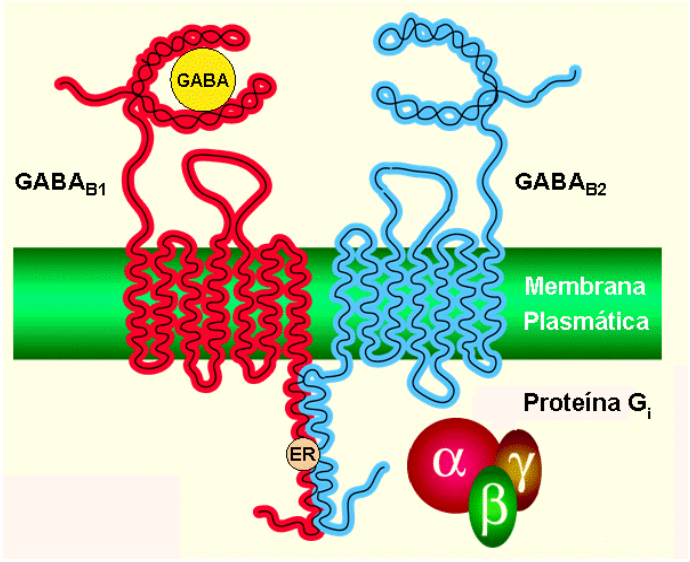


Figura 68. Representación esquemática de la estructura heterodimérica del receptor $GABA_B$.

El siguiente motivo heterodimérico que queremos resaltar es la Tubulina, el cual está constituido por la asociación de dos subunidades proteicas distintas de tubulina. El nombre **tubulina** se refiere a una familia de proteínas globulares de 55 kDa. La familia de las tubulinas está formada fundamentalmente por las tubulinas α, β y γ, las cuales comparten una identidad entre sus cadenas de aminoácidos de aproximadamente 35-40%, aunque su similitud con cualquier otra proteína conocida es mínima.[225] Las tubulinas α y β son las subunidades esenciales de uno de los principales componentes del citoesqueleto, los microtúbulos (MTs), mientras que la tubulina γ es un componente fundamental del centrosoma. Existen asimismo otras variantes menores — no presentes en todos los organismos eucariotas — denominadas tubulina δ, ε y ζ.[226] Por otra parte, se denomina comúnmente **Tubulina** a un heterodímero formado por dos subunidades (tubulina α y β), el cual se asocia de manera altamente organizada generando los MTs (Figura 69).[227] Estos heterodímeros se ensamblan en los protofilamentos de tal forma que la tubulina β de un dímero contacta con la tubulina α del dímero siguiente. Por ello, los MTs son polares de forma inherente, ya que presentan tubulina α en un extremo del polímero [extremo negativo o extremo (-)] y tubulina β en el otro [extremo positivo o extremo (+)]. Los 13 protofilamentos que forman un MT se disponen uno al lado de otro, de manera que si seguimos las subunidades α o β lateralmente alrededor del MT, se observa que forman una hélice de tres subunidades. De este modo, la hélice recorre tres subunidades hasta completar una vuelta. Este tipo de hélice no es perfectamente simétrica, lo que resulta en la formación de una "junta" en el lugar de la pared del MT donde cada hélice completa una vuelta. Los protofilamentos interaccionan entre ellos lateralmente sobre todo a través de contactos α–α y β–β, aunque en la "junta" la tubulina α contacta con la tubulina β.[228]

[225] Little, M.; Seehaus, T. *Comp Biochem Physiol B.* **1988**, *90*, 655-670.
[226] Oakley, B.R. *Trends Cell Biol.* **2000**, *10*, 537-542.
[227] Estudios tradicionales de TEM utilizando células fijadas con glutaraldehído establecieron que un microtúbulo está formado normalmente por 13 protofilamentos de tubulina alineados linealmente. Para más información, ver: Tilney, L. G.; Bryan, J.; Bush, D.J.; Fujiwara, K.; Mooseker, M.S.; Murphy, D.B.; Snyder, D.H. *J Cell Biol* **1973**, *59*, 267-275.
[228] Nogales, E.; Whittaker, M.; Milligan, R. A.; Downing, K. H. *Cell* **1999**, *96*, 79-88.

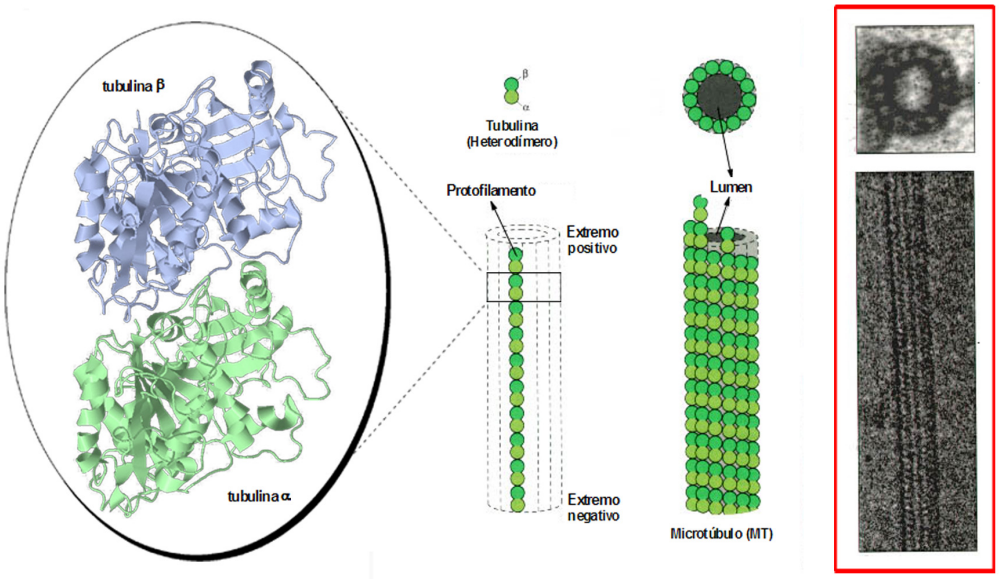


Figura 69. Formación de microtúbulos mediante polimerización de Tubulina. El heterodímero Tubulina, el cual está constituido por dos monómeros de estructura casi idénticas (tubulinas α y β), se ensambla de forma altamente organizada para dar lugar a la correspondiente estructura microtubular. De manera resaltada se muestra la imagen TEM de un microtúbulo.

Un ejemplo análogo al anterior es el de las integrinas,[229] las cuales se definen como una superfamilia de glicoproteínas de membrana que median la adhesión de células con la matriz extracelular y de células entre sí mismas, siendo consideradas como el mayor y más importante grupo de receptores para proteínas de la matriz extracelular. De este modo, son responsables de proveer el nexo funcional entre el ambiente extracelular y el citoesqueleto, factor que resulta fundamental para los mecanismos de adhesión y migración celular, así como para la propagación de varios tipos de sistemas de señalización. En cuanto a su morfología, todas las integrinas se encuentran estructuradas como heterodímeros asociados de forma no covalente (Figura 70). Basándose en la similitud de secuencia, las subunidades individuales de cada heterodímero se designan como subunidad α y subunidad β,[230] las dos del tipo transmembrana, cuyas combinaciones definen las propiedades adhesivas y de señalización. Ambas subunidades poseen dos extremos separados que penetran en la membrana plasmática y tienen pequeños dominios citoplásmicos. Cabe resaltar que la mayor parte de la proteína se encuentra expuesta hacia el medio extracelular, mientras que el citoesqueleto de actina y la maquinaria de señalización se encuentran asociados al pequeño dominio citoplasmático. La importancia de las integrinas radica fundamentalmente en que son moléculas responsables de numerosos procesos fisiológicos en donde resulta vital el contacto directo entre las células intervinientes, sirviendo no solo como molécula puente para interacción intercelular, sino también como molécula puente ente la matriz extracelular y el citoesqueleto de la célula, a través de la cual se intercambian señales celulares. Cabe destacar que la

[229] Dzamba, B.; Bolton M.; Desimone, D. "The integrin family of cell adhesion molecules". En *Frontiers in Molecular Biology, Cell Adhesion*; M. Beckerle, Ed.; Oxford University Press: Londres (Reino Unido), **2001**. 100-154.
[230] La subunidad α contiene aproximadamente entre 1.000 y 1.200 residuos aminoacídicos, en cambio la β presenta entre 760 y 790 residuos.

función tan relevante que posee dicha familia de proteínas es consecuencia directa de la estructura heterodimérica que presenta.

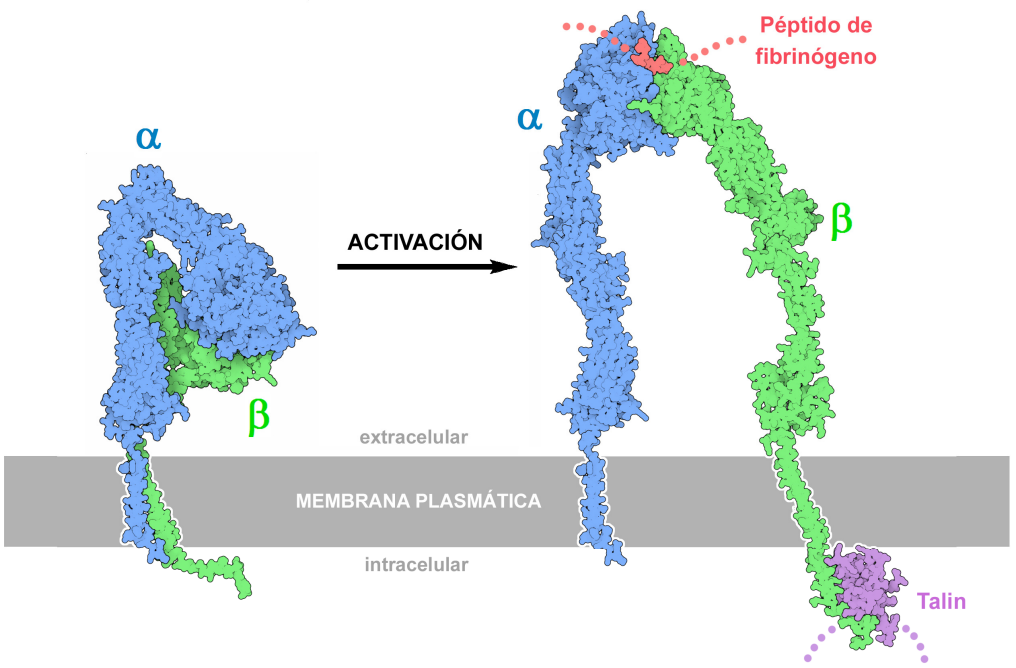


Figura 70. Proceso de activación del heterodímero integrina constituido por las subunidades α y β. *Izquierda,* La forma inactiva de la integrina presenta una estructura plegada en la que el sitio de unión se dispone cerca de la membrana. *Derecha,* La activación de la forma inactiva — en presencia de determinados ligandos — provoca su apertura, ampliando así el sitio de unión fuera de la superficie celular. En este caso, se ejemplifica una integrina activa que está interactuando con un péptido corto de fibrinógeno (en la parte superior de color rojo) y con un dominio proteico de Talin (en la parte inferior de color morado).

Otros ejemplos especialmente relevantes de heterodimerización presentes en la naturaleza son los complejos RAR/RXR[231] y HOXB1/PBX1,[232] los factores de transcripción Myc/Max[233] y NκB p50/p65,[234] los receptores de factores de crecimiento epidérmico (EGFRs) del tipo ErbB2/ErbB3,[235] los receptores de estrógeno (ERs) β1/βn[236] y los receptores de antígeno en células T (TCRs)[237] (Figura 71).

[231] Los receptores de ácido retinoico (RARs) y los receptores de retinoides X (RXRs) forman heterodímeros que se unen dentro de la región reguladora de genes diana a través de los elementos de respuesta a ácido retinoico (RAREs). Para más información, ver: Clarke, N.; Germain, P.; Altucci, L.; Gronemeyer, H. *Exp. Rev. Mol. Med.* **2004**, *6*, 1-23.
[232] Piper, D. E.; Batchelor, A. H.; Chang, C. P.; Cleary, M. L.; Wolberger, C. *Cell* **1999**, *96*, 587-597.
[233] El complejo heterodimérico Myc/Max es muy similar al Fon/Jun. Para más información, ver: Blackwood, E. M.; Eisenman, R. N. *Science* **1991**,*251*, 1211-1217.
[234] El heterodímero NκB p50/p65 pertenece a la familia de factores de transcripción Rel, la cual regula funciones celulares tan diversas como la respuesta inmune, el crecimiento celular y el desarrollo. Para más información, ver: Chen, F. E.; Huang, D.-B.; Chen, Y.-Q.; Ghosh, G. Nature 1998, 391, 410-413.
[235] Los heterodímeros que contienen ErbB2 son potentes mediadores de la señal, promoviendo la supervivencia prolongada y la mitogénesis de señalización. Para más información, ver: Holbro, T.; Beerli, R. R.; Maurer, F.; Koziczak, M.; Barbas III, C. F.; Hynes, N. E. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2003**, *100*, 8933-8938.
[236] Leung, Y.-K.; Mak, P.; Hassan, S.; Ho, S.-M. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2006**, *103*, 13162-13167.
[237] Los TCRs son heterodímeros — constituidos por las subunidades α y β — que forman parte de la superfamilia de las inmunoglobulinas y que se caracterizan por asociarse a diversas proteínas para facilitar su función. Para más información, ver: Kane, L. P.; Lin, J.; Weiss, A. *Curr. Opin. Immunol.* **2000**, *12*, 242-249.

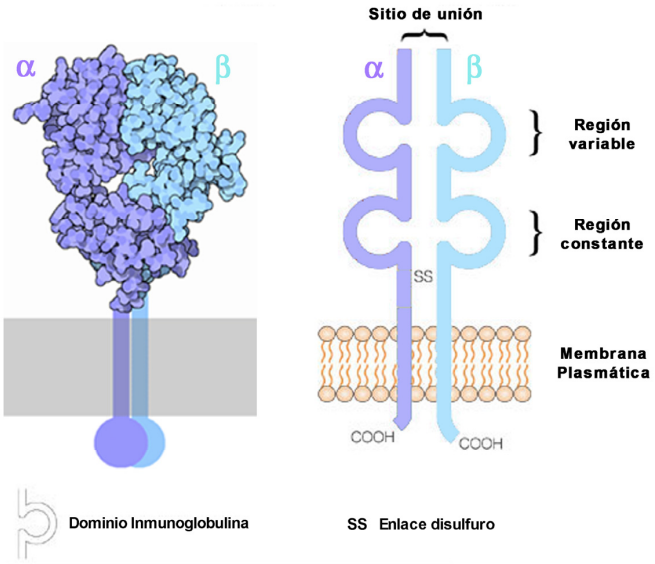


Figura 71. Representación esquemática de un receptor de antígeno en células T insertado en una membrana plasmática. Dicho complejo heterodimérico α/β participa en la activación de las células T (denominadas también como linfocitos T) en respuesta a la presencia de un antigeno.

La importancia que adquieren los complejos heterodiméricos naturales ha propiciado que durante los últimos años numerosos grupos de investigación hayan realizado extraordinarios avances en la construcción de sistemas supramoleculares heterodiméricos artificiales altamente funcionales.[238] Cabe resaltar el trabajo desarrollado recientemente por el grupo de Nowick basado en la construcción de sistemas diméricos sensibles empleados para estudiar las interacciones entre láminas β (Figura 72a).[239] Dichos sistemas supramoleculares están constituidos por péptidos caracterizados por poseer una estructura que contiene una plantilla o molde (*template*) de láminas β del tipo Orn(Hao-CO-^{i}Pr).[240] Desafortunadamente, el análisis de las constantes de equilibrio no reveló ninguna preferencia significativa por la formación de los correspondientes heterodímeros.[241] Este hecho es consecuencia de la ausencia de interacciones aromáticas favorables entre láminas β. La construcción de novedosos diseños en los que se han incorporado adecuadamente residuos de Thr y Val ha permitido el reconocimiento selectivo de secuencias láminas β, obteniendo así péptidos que forman preferencialmente homo- o heterodímeros con aproximadamente unas diez veces de selectividad (Figura 72b).[242] El modelo propuesto facilita la preparación de sistemas homo- y/o heterodiméricos de manera selectiva, los cuales presentan grandes ventajas sobre las

[238] a) Luo, Z.; Åkeran, A.; Zhang, S.; Nordén, B. *Soft. Matter.* **2010**, *6*, 2260-2270. b) Gorska, K.; Huang, K.-T.; Chaloin, O.; Winssinger, N. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 7695-7700. c) Kretsinger, J. K.; Schneider, J. P. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 7907-7913. d) Kornilova, A. Y.; Wishart, J. F.; Ogawa, M. Y. *Biochemistry* **2001**, *40*, 12186-12192. e) Arndt, K. M.; Pelletier, J. N.; Müller, K. M.; Alber, T.; Michnick, S. W.; Plückthun, A. *J Mol. Biol.* **2000**, *295*, 627-639.
[239] a) Khakshoor, O.; Nowick, J. S. *Curr Opin Chem Biol.* **2008**, *12*, 722-729. b) Chung, D. M.; Nowick, J. S. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 3062-3063. c) Nowick, J. S.; Lam, K. S.; Khasanova, T. V.; Kemnitzer, W. E.; Maitra, S.; Mee, H. T.; Liu, R. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 4972-4973.
[240] El aminoácido no natural Hao ayuda a preorganizar la lámina β, favoreciendo de este modo la formación de las especies diméricas. Dicha unidad es un mimético de una hebra β tripeptídica que está compuesto por los grupos hidrazina, ácido 5-amino-2-metoxibenzoico y ácido oxálico, por eso se designa con la abreviatura de tres letras Hao. Para más información, ver: Nowick, J. S.; Chung, D. M.; Maitra, K.; Maitra, S.; Stigers, K. D.; Sun, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 7654-7661.
[241] Chung, D. M.; Dou, Y.; Baldi, P.; Nowick, J. S. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 9998-9999.
[242] Nowick, J. S.; Chung, D. M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 1765-1768.

horquillas peptídicas β (*β-hairpin*). Más recientemente, han empleado una metodología análoga para llevar a cabo la construcción de una nueva colección de especies homo- y heterodiméricas rígidas bien definidas a partir de macrociclos peptídicos que contienen motivos de hebras β (*β-strands*) y miméticos de giros β (*β-turns*) (Figura 72c).[243] Los ensamblajes artificiales resultantes son similares a las proteínas naturales con estructura lámina β, por lo que facilitarán el diseño adecuado de moléculas que interactúen a través de la formación de láminas β, siendo así de gran utilidad para controlar las interacciones entre proteínas y/o para inhibir las interacciones β asociadas con los péptidos y la agregación de proteínas.

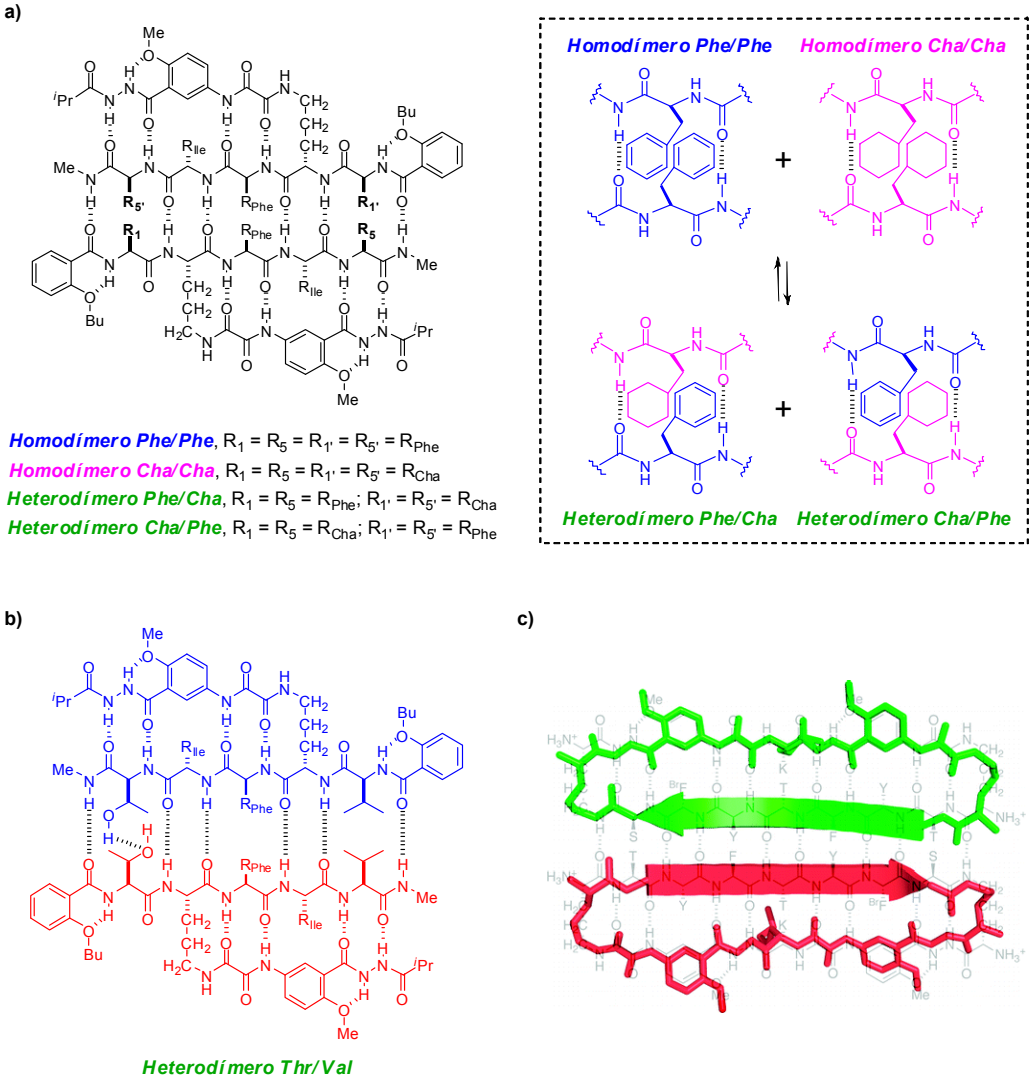


Figura 72. a) Estructuras homo- y heterodiméricas resultantes de la asociación a través de láminas β de péptidos que contienen el motivo Orn(Hao-CO-^{i}Pr). De manera resaltada se muestra el equilibrio homo/hetero que tiene lugar en ausencia de interacciones aromáticas favorables entre láminas β. **b)** Estructura del heterodímero Thr/Val, el cual presenta una selectividad de aproximadamente 10 veces sobre los correspondientes homodímeros. **c)** Estructura cristalográfica de un dímero constituido por macrociclos peptídicos que contienen hebras β y miméticos de giros β.

[243] a) Khaskshoor, O.; Lin, A. J.; Korman, T. P.; Sawaya, M. R.;Tsai, S.-C.; Eisenberg, D.; Nowick, J. S. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 11622-11628. b) Khakshoor, O.; Demeler, B.; Nowick, J. S. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**,*129*, 5558-5569.

La construcción de heterodímeros no peptídicos también ha sufrido un espectacular incremento durante las últimas décadas,[244] destacando particularmente los estudios llevados a cabo empleando capsulas diméricas no covalentes constituidas por ureas. A mediados de la década de los noventa, los grupos de investigación de Rebek[245] y Böhmer[246] describieron — de manera independiente — los primeros ejemplos de autoensamblaje de dos unidades de calix[4]areno, las cuales dimerizaban a través de interacciones borde superior/borde superior mediante un patrón autocomplementario de enlaces de hidrógeno basado en ocho funcionalidades urea (Figura 73a). Estudios posteriores llevados a cabo por el grupo de Rebek mostraron que la combinación de dos unidades distintas de calix[4]areno adecuadamente funcionalizadas conllevaba la formación preferencial de las especies heterodiméricas (Figura 73b).[247,248] El análisis exhaustivo de las correspondientes estructuras diméricas permitió observar su capacidad para encapsular reversiblemente pequeñas moléculas mediante intercambio lento respecto a la escala de tiempos del RMN, reflejando así su gran potencial en diferentes campos, como catálisis, reconocimiento molecular o almacenaje de gases. El creciente interés por estas nanoestructuras ha propiciado la preparación de novedosas cápsulas no covalentes homo- y heterodiméricas a partir de diferentes moldes moleculares, como pueden ser calix[4]pirroles,[249] piridin[4]arenos,[250] resorcin[4]arenos[251] y pirogalol[4]arenos (Figura 73c).[252] Del mismo modo, también se pudo observar la formación de cápsulas hexaméricas de mayor complejidad constituidas por pirogalolarenos, resorcinarenos y/o combinaciones de ambas moléculas.[253] Recientemente, el grupo de Rebek llevó a cabo el estudio cinético y termodinámico del equilibrio homo/hetero mediante técnicas de fluorescencia.[254,255] Cabe destacar fundamentalmente los experimentos de transferencia de energía por resonancia de fluorescencia (FRET), los cuales permitieron seguir el proceso de autoensamblaje heterodimérico de manera adecuada (Figura 73d y 73e). La conveniente introducción de grupos fluoróforos en cada una de las subunidades que componen las cápsulas resultantes del proceso de autoensamblaje conlleva la construcción de sistemas supramoleculares dador/aceptor altamente eficientes, los cuales tienen una gran importancia en el desarrollo de nuevos biosensores.

---

[244] a) Schröder, T.; Geisler, T.; Walhorn, V.; Schnatwinkel, B.; Anselmetti, D.; Mattay, J. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2010**, *12*, 10981-10987. b) Corbellini, F.; van Leeuwen, F. W. B.; Beijleveld, H.; Kooijman, H.; Spek, A. L.; Verboom, W.; Crego-Calama, M.; Reinhoudt, D. N. *New J. Chem.* **2005**, *29*, 243-248. c) Li, X.-Q.; Jiang, X.-K.; Wang, X.-Z.; Li, Z.-T. *Tetrahedron* **2004**, *9*, 2063-2069. d) Zhao, X.; Wang, X.-Z.; Jiang, X.-K.; Chen, Y.-Q.; Li, Z.-T.; Chen, G.-J. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 15128-15139. e) Corbin, P. S.; Zimmerman, S. C. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 3779-3780.

[245] a) Hamann, B. C.; Shimizu, K. D.; Rebek, J. Jr. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 1326-1329. b) Shimizu, K. D.; Rebek, J. Jr. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1995**, *92*, 12403-12407.

[246] a) Mogk, O.; Paulus, E. F.; Böhmer, V.; Thondorf, I.; Vogt, W. *Chem. Commun.* **1996**, *22*, 2533-2534. b) Mogck, O.; Böhmer, V.; Vogt, W. *Tetrahedron* **1996**, *52*, 8489-8496.

[247] Castellano, R. K.; Kim, B. H.; Rebek, J. Jr. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*,12671-12672.

[248] a) Thondorf, I.; Rudzevich, Y.; Rudzevich, V.; Böhmer, V. *Org. Biomol. Chem.* **2007**, *5*, 2775-2782. b) Rudzevich, Y.; Vysotsky, M. O.; Böhmer, V.; Brody, M. S.; Rebek, J. Jr.; Broda, F.; Thondorf, I. *Org. Biomol. Chem.* **2004**, *2*, 3080-3084. c) Rebek, J. Jr. *Chem. Commun.* **2000**, *8*, 637-643.

[249] Ballester, P.; Gil-Ramírez, G. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2009**, *106*, 10455-10459.

[250] Letzel, M. C.; Decker, B.; Rozhenko, A. B.; Schoeller, W. W.; Mattay, J. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 9669-9674.

[251] a) Busi, S.; Saxell, H.; Fröhlich, R.; Rissanen, K. *Cryst. Eng. Comm.* **2008**, *10*, 1803-1809. b) Mansikkamäki, H.; Nissinen, M.; Schalley, C. A. ; Rissanen, K. *New J. Chem.* **2003**, *27*, 88-97.

[252] Dalgarno, S. J.; Power, N. P.; Atwood, J. L. *Chem. Commun.* **2007**, 3447-3449.

[253] a) Kvasnica, M.; Chapi, J. C.; Purse, B. W. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *10*, 2292-2296. b) Cave, G. W. V.; Antesberger, J.; Barbour, L. J.; McKinlay, R. M.; Atwood, J. L. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 5263-5266. c) Palmer, L. C.; Shivanyuk, A.; Yamanka, M.; Rebek, J. Jr. *Chem. Commun.* **2005**, *7*, 857-858. d) Yamanaka, M.; Shivanyuk, A.; Rebek, J. Jr. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 2939-2943.

[254] Para sistemas dador/aceptor empleando Pir y Per como fluoróforos, ver: a) Barrett, E. S.; Dale, T. J.; Rebek, J. Jr. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 2344-2350. b) Barrett, E. S.; Dale, T. J.; Rebek, J. Jr. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 8818-8824. c) Barrett, E. S.; Dale, T. J.; Rebek, J. Jr. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 3818-1819. d) Barrett, E. S.; Dale, T. J.; Rebek, J. Jr. *Chem. Commun.* **2007**, *41*, 4244-4226.

[255] Para sistemas dador/aceptor empleando cumarinas como fluoróforos, ver: Castellano, R. K.; Craig, S. L.; Nuckolls, C.; Rebek, J. Jr. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 7876-7882.

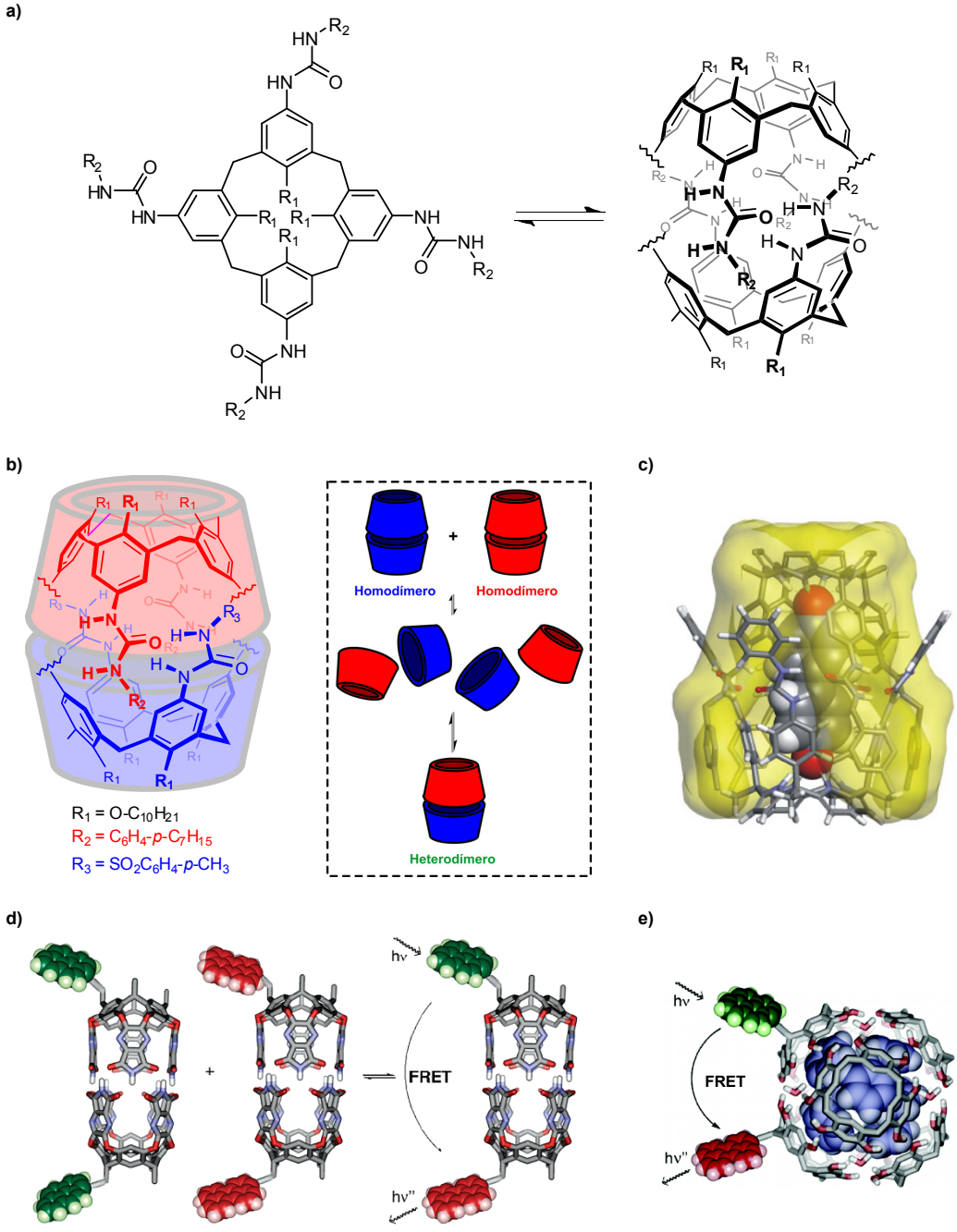


Figura 73. a) Representación esquemática del proceso de autoensamblaje de dos unidades de calix[4]areno para dar lugar a las correspondientes especies diméricas. **b)** Cápsula heterodimérica resultante del autoensamblaje selectivo entre dos unidades de calix[4]areno distintas. De manera resaltada se muestra el equilibrio homo/hetero presente en disolución, en la que destaca la formación preferencial del heterodímero. **c)** Modelo molecular minimizado correspondiente a una especie heterodimérica constituida por dos subunidades distintas de calix[4]pirrol, la cual está encapsulando una molécula de *bis*-N-oxido-bipiridina. **d)** Equlibrio homo/hetero entre cápsulas diméricas derivadas de resorcin[4]areno y convenientemente funcionalizadas con grupos fluoróforos dadores (Pir) y aceptores (Per). La presencia de los cavitandos dador y aceptor en la misma cápsula permite observar la señal correspondiente a la transferencia de energía por resonancia de fluorescencia (FRET), corroborando así la formación de la especie heterodimérica. **e)** Sistema supramolecular heterohexamérico dador/aceptor (Pir/Per) constituido por asociación de diferentes unidades de resorcin[4]arenos.

En cuanto a los nanotubos ciclopeptídicos, los estudios de Undén[67] (Figura 8) y Ghadiri[108] (Figura 23) mencionados con anterioridad mostraron la obtención de estructuras nanotubulares heteroméricas constituidas por dos subunidades *D,L*-α-ciclopeptídicas diferentes. La formación preferencial de dichas estructuras está gobernada por las interacciones que se establecen entre las cadenas laterales de cada subunidad. Estos resultados podrían ser la base que permita vislumbrar la preparación de una nueva clase de heterodímeros nanotubulares en la cual la selectividad sea consecuencia exclusivamente de las interacciones intermoleculares que se producen a nivel del esqueleto peptídico, siendo independiente de las cadenas laterales empleadas.

La heterodimerización peptídica constituye una herramienta fundamental para llevar a cabo la construcción de nuevos sistemas supramoleculares funcionales. De este modo, parece viable su utilización en la preparación de sistemas heterodiméricos constituidos por dos unidades α,γ-ciclopeptídicas diferentes.

11. FORMACIÓN DE ESPECIES HETERODIMÉRICAS α,γ-CICLOPEPTÍDICAS

Teniendo en cuenta los buenos resultados cosechados en la obtención de homodímeros a partir de diferentes unidades α,γ-ciclopeptídicas, decidimos a continuación evaluar la formación de las especies heterodiméricas. Cabe destacar que hemos resuelto centrar fundamentalmente nuestros estudios en la interacción α–α, ya que conduciría a la preparación de estructuras supramoleculares heterodiméricas mucho más estables y de mayor aplicación.

La preparación de los correspondientes heterodímeros tendría lugar mediante la combinación de una unidad α,γ(Acp)- y otra α,γ(Ach)-ciclopeptídica. De este modo, las interacciones resultantes del empaquetamiento ciclopentilo/ciclohexilo podrían favorecer en gran manera la formación selectiva del heterodímero. Desgraciadamente, los estudios previos realizados con el ciclotetrapéptido híbrido Acp/Ach **24** no mostraron la preferencia en el empaquetamiento entre los anillos ciclopentilo y ciclohexilo para el caso de los dímeros resultantes del proceso de autoensamblaje de α,γ-ciclotetrapéptidos (Figura 50).[175a] Probablemente, la alta restricción conformacional que tiene lugar en el ciclo de 16 miembros provoca que el análisis de las interacciones Acp/Ach sea extremadamente complejo, por lo que el estudio de los heterodímeros α,γ-ciclotetrapeptídicos resultantes también lo es. Es por ello que decidimos expandir nuestro modelo hacia anillos de mayor tamaño, en los que las subunidades se dispongan correctamente en su conformación plana para dar lugar a las correspondientes estructuras heterodiméricas con valores de constante de asociación adecuados ($K_a > 10^5\ M^{-1}$).

11.1. HETERODÍMEROS α,γ-CICLOHEXAPEPTÍDICOS

Nuestro primer objetivo fue llevar a cabo el estudio de formación de heterodímeros entre dos unidades α,γ-ciclohexapeptídicas distintas; un primer macrociclo constituido por tres α-Aas y tres γ-Acp, y un segundo macrociclo similar al anterior en el que se alternasen tres α-Aas y tres γ-Ach. Para ello, fue necesario inicialmente la preparación del α,γ(Ach)-derivado *ciclo*[(*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach)$_3$-] (**32**)[148] (Figura 74), el cual se sintetizó a partir de *L*-Boc-^{Me}N-γ-Ach-OFm[256] empleando la metodología descrita anteriormente (Esquema 7 y 8). Cabe resaltar que dicho macrociclo se autoensambla para dar lugar al homodímero **D$_{32}$** en disolventes no polares con una K_a superior a 10^5 M^{-1},[257] por lo que presenta un comportamiento similar al de los α,γ(Acp)-ciclohexapéptidos descritos con anterioridad.

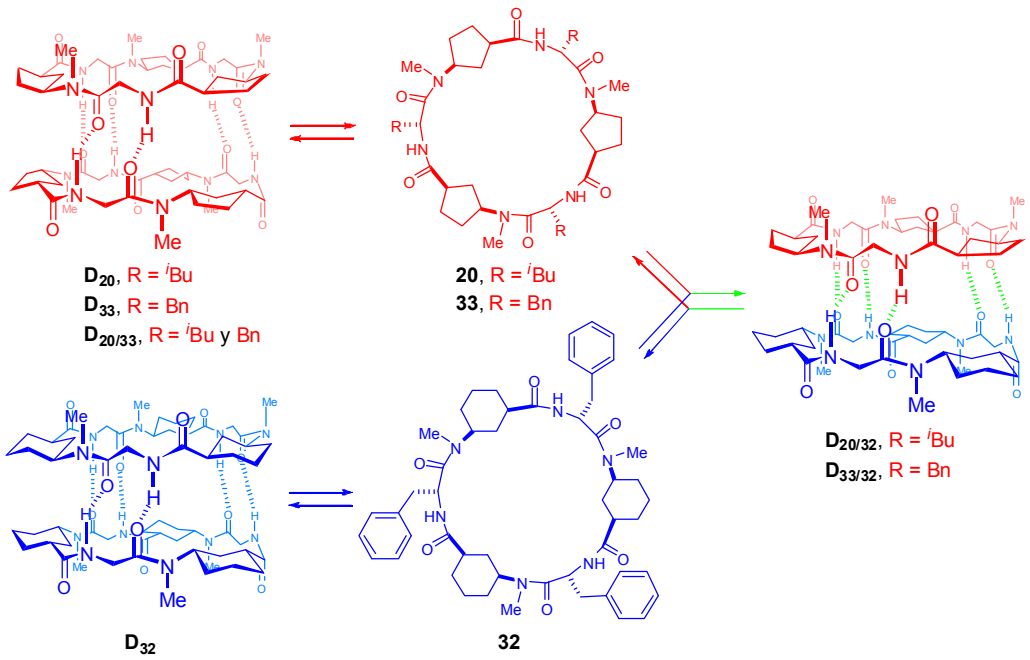


Figura 74. Homo- y heterodimerización de *ciclo*[(*D*-Leu-*L*-^{Me}N-γ-Acp)$_3$-] (**20**), *ciclo*[(*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach)$_3$-] (**32**) y *ciclo*[(*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Acp)$_3$-] (**33**).

A continuación se decidió proceder al estudio de formación de las correspondientes especies heterodiméricas. Para ello, se llevaron a cabo experimentos de adición controlada de uno de los ciclopéptidos sobre el otro, lo que nos permitió observar la aparición mediante

[256] La preparación de *L*-Boc-^{Me}N-γ-Ach-OFm se llevó a cabo de forma análoga a la del derivado ciclopentánico, partiendo esta vez de H_2N-γ-Ach-OH.

[257] El espectro de ^{1}H RMN del ciclopéptido **32** en disolventes no polares reflejó las características típicas de la formación del homodímero **D$_{32}$**, mostrando un valor de constante de acoplamiento ($J_{NH,\ H\alpha}$) de 9.2 Hz y un desplazamiento químico (δ) de la señal correspondiente a los NH de la Phe de 8.73 ppm. Cabe resaltar que el valor de la constante de asociación (K_a) para la formación del homodímero **D$_{32}$** debe ser superior a 10^5 M^{-1}, ya que esta última señal (NH_{Phe}) permanece invariable, incluso a concentraciones por debajo de 0.1 mM, independientemente de si el disolvente contiene 30% MeOH o si las muestras son calentadas hasta 50º C. Del mismo modo, el espectro de FT-IR en $CHCl_3$ mostró las bandas características de una estructura tipo lámina plegada β antiparalela.

^{1}H RMN de señales características de los heterodímeros resultantes. De igual forma, se pudo analizar si el equilibrio estaba desplazado hacia la formación selectiva de las especies heterodiméricas obtenidas.

La formación de heterodímeros se confirmó inicialmente mediante adiciones sucesivas de **20** (desde 0 hasta 0.80 equivalentes) a una disolución 2.10 mM de **32** en $CDCl_3$ (Figura 75). De este modo, se observó mediante ^{1}H RMN la aparición de un nuevo grupo de señales que no se correspondían con ninguno de los posibles homodímeros y que probablemente pertenecían a la especie heterodimérica $\mathbf{D_{20/32}}$.

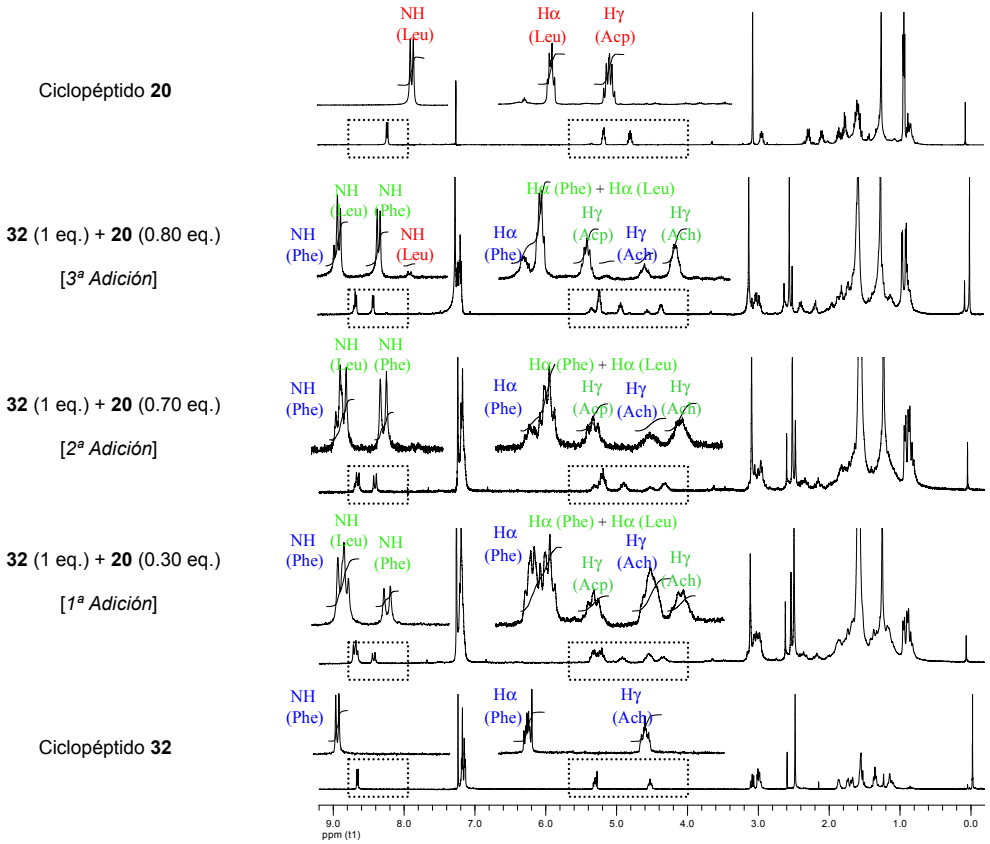


Figura 75. Espectros de ^{1}H RMN correspondientes a la formación del heterodímero $\mathbf{D_{20/32}}$ mediante adición de diferentes equivalentes (0.30, 0.70 y 0.80 eq.) de **20** a una disolución 2.10 mM de **32** (298 K, $CDCl_3$). Las señales en rojo corresponden al homodímero $\mathbf{D_{20}}$, las señales en azul corresponden al homodímero $\mathbf{D_{32}}$ y las señales en verde corresponden al heterodímero $\mathbf{D_{20/32}}$.

El análisis de una disolución 0.8:1 de los ciclopéptidos **20** y **32** en $CHCl_3$ mostró que el heterodímero se correspondía con la especie mayoritaria presente en el equilibrio, corroborando así la formación preferencial de la estructura heterodimérica. Cabe destacar que el estudio detallado de dicha muestra permitió determinar que el heterodímero $\mathbf{D_{20/32}}$ era aproximadamente 30 veces más abundante que los correspondientes homodímeros $\mathbf{D_{20}}$ y $\mathbf{D_{32}}$, lo cual a 298 K se corresponde con una diferencia de energía de 2.0 kcal·mol^{-1}.

La naturaleza heterodimérica de la nueva especie, **$D_{20/32}$**, se confirmó mediante picos de cruce nOe entre las señales de $H\gamma_{Acp}$ (δ = 4.92 ppm) y $H\alpha_{Ach}$ (δ = 2.62 ppm) (Figura 76).[258]

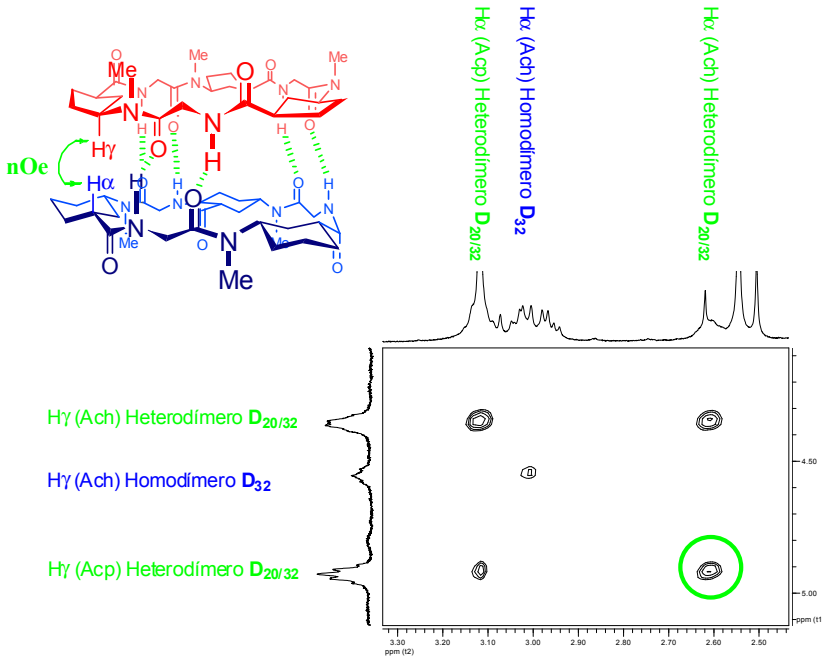


Figura 76. Espectro de ROESY correspondiente a la región $C_\alpha H$ y $C_\gamma H$ de los γ-aminoácidos de una mezcla 0.8:1 de los ciclohexapéptidos **20** y **32**, mostrando el pico de cruce nOe HγAcp[**20**]–HαAch[**32**] característico del heterodímero **$D_{20/32}$**.

La prueba concluyente de la heterodimerización se obtuvo en estado sólido mediante la difracción de rayos X de cristales incoloros (prismáticos) resultantes de una disolución 1:1 de los ciclopéptidos **20** y **32** en $CHCl_3$ (5 mM) equilibrada mediante difusión en una atmósfera de hexano (Figura 77). De esta forma, se observó que la estructura heterodimérica estaba constituida por dos ciclopéptidos diferentes (una unidad cíclica derivada de Acp y otra derivada de Ach) dispuestos en forma de lámina β antiparalela, en donde se establecen 6 interacciones de enlace de hidrógeno entre ambas subunidades monoméricas, con una distancia interatómica N···O que varía entre 2.82 y 2.90 Å. En cuanto al empaquetamiento, la perfecta disposición de las subunidades a lo largo del eje *a* preorganiza de alguna manera la obtención del correspondiente canal, debido fundamentalmente a la proximidad que hay entre heterodímeros, los cuales se apilan unos sobre otros mediante el establecimiento de contactos de tipo van der Waals entre sus respectivas caras γ. El canal resultante contiene dos moléculas de $CHCl_3$ por unidad; una primera molécula en la cavidad del heterodímero — poniendo de nuevo en evidencia el carácter hidrófobo del interior del nanotubo — y una segunda en posiciones variables entre los sucesivos heterodímeros.

[258] La presencia de este nOe solo puede ser característico del heterodímero **$D_{20/32}$**.

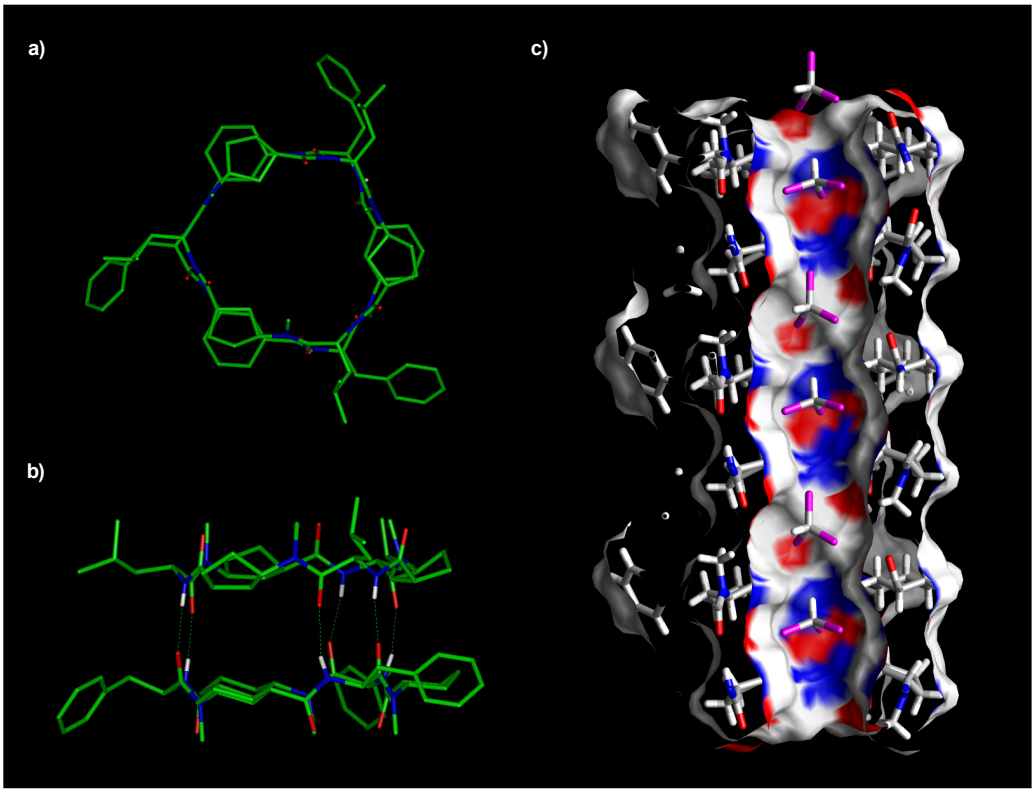


Figura 77. Vista superior (**a**) y lateral (**b**) de la estructura heterodimérica $\mathbf{D_{20/32}}$ en estado sólido [las moléculas de $CHCl_3$ han sido eliminadas para una mejor visualización]. También se muestra la vista lateral de la estructura tubular resultante del empaquetamiento de las unidades heterodiméricas a lo largo del eje *a* (**c**).

Con el fin de descartar posibles efectos derivados de las cadenas laterales y demostrar que la interacción Acp/Ach juega un papel definitivo en la selectividad del proceso de heterodimerización, se decidió sintetizar a continuación un nuevo derivado α,γ(Acp)-ciclohexapeptídico, *ciclo*[(*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Acp)$_3$-] (**33**)[167], en el que se ha procedido a la sustitución de Leu por Phe.[259] De este modo, podríamos investigar el proceso de heterodimerización Acp/Acp que tiene lugar al combinar el ciclopéptido **33** con el macrociclo **20** preparado anteriormente, pudiendo así determinar si la selectividad en la formación del heterodímero es debida a las interacciones que tienen lugar entre las cadenas laterales de cada monómero. En el caso de que la estabilidad de la especie heterodimérica fuese resultado de dichas interacciones, el posible heterodímero $\mathbf{D_{20/33}}$ (el cual se distingue de $\mathbf{D_{20/32}}$ en los dos esqueletos peptídicos que lo constituyen pero no en las cadenas laterales) debería de tener una estabilidad similar a la que presenta $\mathbf{D_{20/32}}$ en relación a $\mathbf{D_{20}}$. Sin embargo, la combinación de los dos ciclopéptidos constituidos por Acp dio lugar a una mezcla estadística de tres

[259] El espectro de ^{1}H RMN del ciclopéptido **33** en disolventes no polares reflejó las características típicas de la formación del homodímero $\mathbf{D_{33}}$, mostrando un valor de constante de acoplamiento ($J_{NH,\ H\alpha}$) de 9.2 Hz y un desplazamiento químico (δ) de la señal correspondiente a los NH de la Phe de 8.56 ppm. Cabe resaltar que el valor de la constante de asociación (K_a) para la formación del homodímero $\mathbf{D_{33}}$ debe ser superior a 10^5 M^{-1}, ya que esta última señal (NH_{Phe}) permanece invariable, incluso a concentraciones por debajo de 0.1 mM, independientemente de si el disolvente contiene 30% MeOH o si las muestras son calentadas hasta 50º C. Del mismo modo, el espectro de FT-IR en $CHCl_3$ mostró las bandas características de una estructura tipo lámina plegada β antiparalela.

especies; dos correspondientes a los homodímeros **D_{20}** y **D_{33}** y otra resultante de la obtención del heterodímero **$D_{20/33}$**, lo que indica que el efecto de poseer distintas cadenas laterales no es el responsable de la formación selectiva del heterodímero (Figura 78).

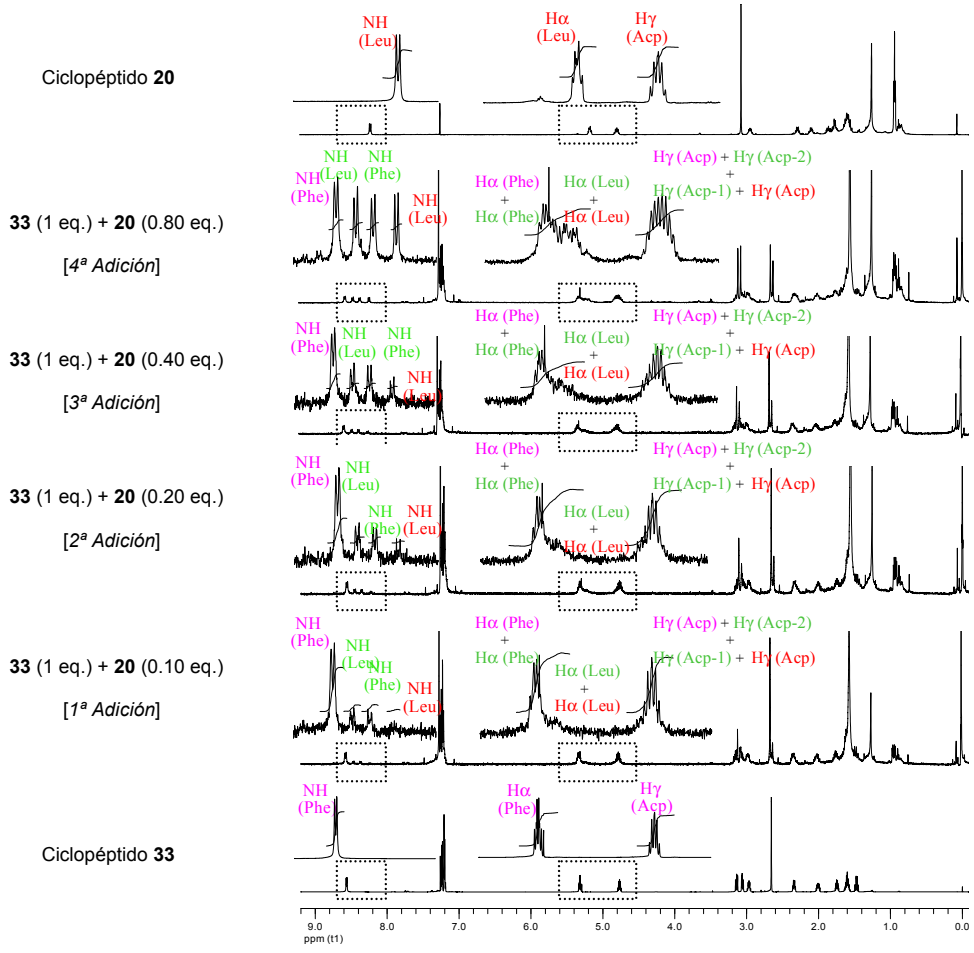


Figura 78. Espectros de ^{1}H RMN correspondientes a la formación del heterodímero **$D_{20/33}$** mediante adición de diferentes equivalentes (0.10, 0.20, 0.40 y 0.80 eq.) de **20** a una disolución 1.96 mM de **33** (298 K, $CDCl_3$). Las señales en rojo corresponden al homodímero **D_{20}**, las señales en fucsia corresponden al homodímero **D_{33}** y las señales en verde corresponden al heterodímero **$D_{20/33}$**(Acp-1: Acp de **20**; Acp-2: Acp de **33**).

La combinación del nuevo α,γ(Acp)-ciclopéptido **33** con el constituido por Ach **32** condujo al desplazamiento del equilibrio hacia la formación exclusiva del heterodímero deseado, lo que permitió establecer que la formación selectiva de dicha especie viene dada exclusivamente por las interacciones que se establecen a nivel del esqueleto peptídico, y que en modo alguno es derivada de la presencia de efectos entre cadenas laterales (Figura 79). El análisis de una disolución 1:0.9 de los ciclopéptidos **33** y **32** en $CHCl_3$ confirmó la formación preferencial del heterodímero **$D_{33/32}$**, además de no mostrar ninguna traza observable del homodímero **D_{32}**. Este hecho permitió determinar que la diferencia de estabilidad entre los hetero- y homodímeros era incluso mayor que en el caso de **$D_{20/32}$** y **D_{20}**.

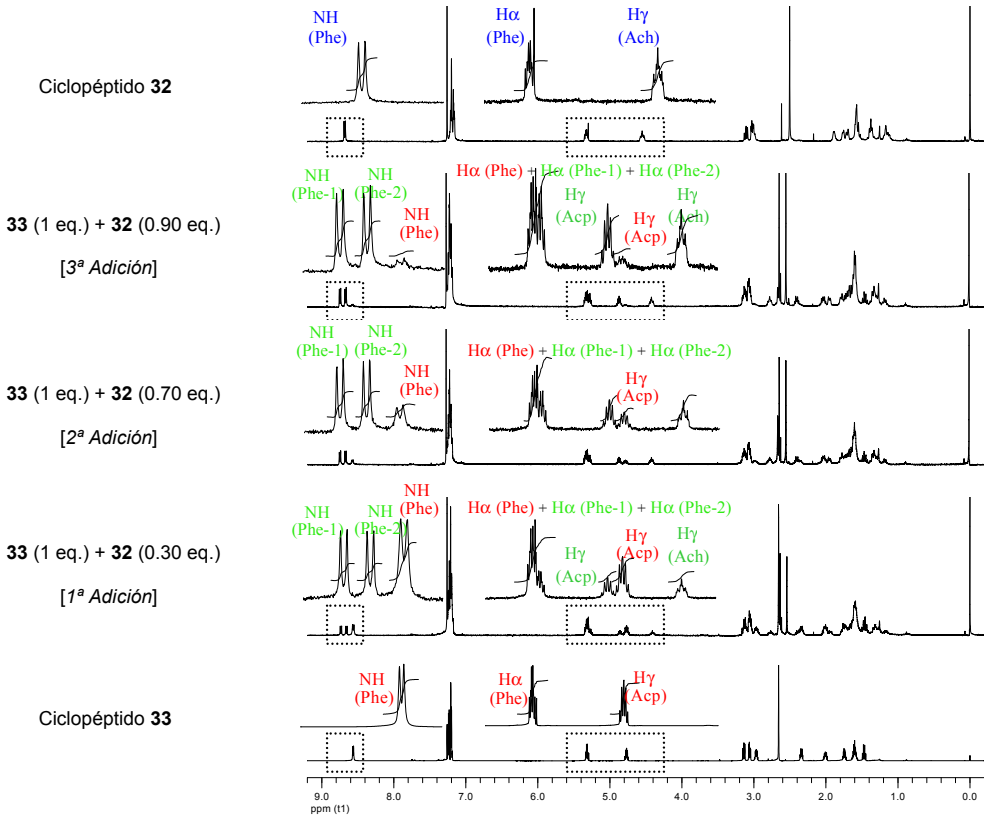


Figura 79. Espectros de ^{1}H RMN correspondientes a la formación del heterodímero $\mathbf{D_{33/32}}$ mediante adición de diferentes equivalentes (0.30, 0.70 y 0.90 eq.) de **32** a una disolución 4.66 mM de **33** (298 K, $CDCl_3$). Las señales en rojo corresponden al homodímero $\mathbf{D_{33}}$, las señales en azul corresponden al homodímero $\mathbf{D_{32}}$ y las señales en verde corresponden al heterodímero $\mathbf{D_{33/32}}$ (Phe-1: Phe de **33**; Phe-2: Phe de **32**).

Al igual que en el caso de $\mathbf{D_{20/32}}$, la naturaleza heterodimérica de la nueva especie $\mathbf{D_{33/32}}$ se confirmó mediante picos de cruce nOe entre las señales de $H\gamma_{Acp}$ (δ = 4.86 ppm) y $H\alpha_{Ach}$ (δ = 2.77 ppm) (Figura 80).[260]

La cristalización de una mezcla equimolar de los ciclopéptidos **33** y **32** en $CHCl_3$ bajo atmósfera de hexano condujo a la obtención de prismas incoloros. Desafortunadamente, los resultados de difracción de rayos X no presentaron suficiente calidad como para llevar a cabo la resolución de la correspondiente estructura cristalina. Probablemente, este hecho sea consecuencia de la alta dispersión que posee la organización tubular como resultado del gran número de moléculas de disolvente que se encuentran desordenadas a lo largo de la nanoestructura. Parece obvio pensar que la combinación de dos subunidades α,γ-ciclopeptídicas con cadenas laterales Phe no es la más adecuada para llevar a cabo los estudios de difracción de rayos X, sobre todo si lo comparamos con los excelentes resultados obtenidos para el caso del heterodímero $\mathbf{D_{20/32}}$ (Figura 77) y del homodímero $\mathbf{D_{20}}$ (Figura 44), los cuales presentan una o ninguna subunidad ciclopeptídica con Phe, respectivamente. Concretamente, parece ser que la presencia de residuos aminoacídicos de Leu facilita en gran

[260] La presencia de este nOe solo puede ser característico del heterodímero $\mathbf{D_{33/32}}$.

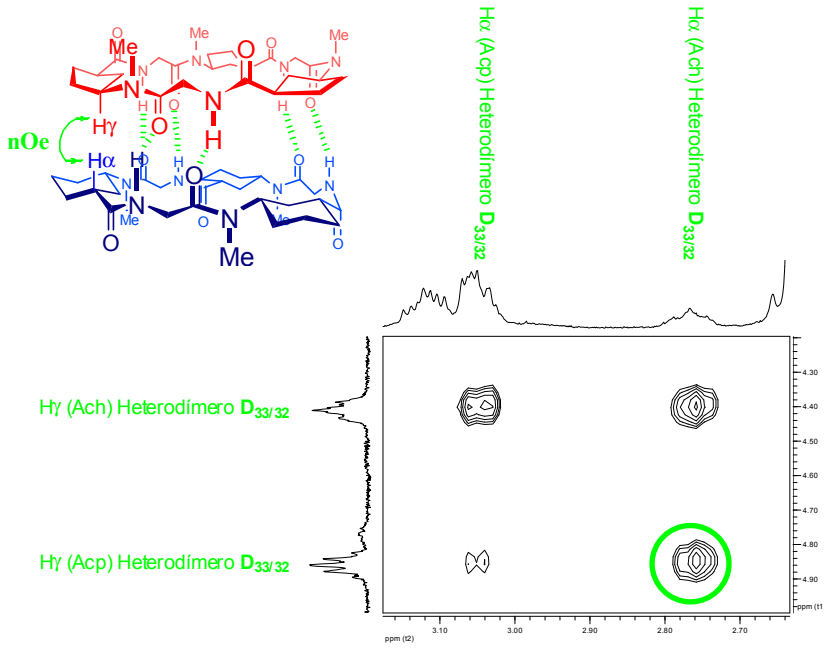


Figura 80. Espectro de ROESY correspondiente a la región $C_\alpha H$ y $C_\gamma H$ de los γ-aminoácidos de una mezcla 1:0.9 de los ciclohexapéptidos **33** y **32**, mostrando el pico de cruce nOe HγAcp[**33**]–HαAch[**32**] característico del heterodímero $\mathbf{D_{33/32}}$.

manera el empaquetamiento de las unidades homo- y heterodiméricas debido a la excelente disposición que adquieren dichos residuos en el estado sólido, lo que va a repercutir favorablemente en el análisis de difracción de rayos X. Es por ello que la utilización de unidades cíclicas conteniendo Leu adquiere especial relevancia para poder obtener buenos resultados cristalográficos, los cuales deben conducir a la elucidación estructural de las correspondientes especies diméricas.

La causa de la alta estabilidad de los heterodímeros no está totalmente esclarecida. Sin embargo, el análisis de las estructuras cristalinas de $\mathbf{D_{20}}$ (Figura 44), $\mathbf{D_{32}}$[148] y $\mathbf{D_{20/32}}$ (Figura 77) sugiere que la especie heterodimérica es más estable que las correspondientes homodiméricas debido a que se produce una considerable mejora en el alineamiento de los grupos dadores y aceptores de enlace de hidrógeno. Este hecho podría ser en parte como consecuencia de que el empaquetamiento entre los anillos ciclopentilo y ciclohexilo es más favorable que el que se produce entre los anillos ciclopentilo-ciclopentilo y ciclohexilo-ciclohexilo. La hipótesis anterior se corroboró mediante el estudio de las distancias intramoleculares correspondientes a cada una de las especies diméricas en el estado cristalino (Tabla 4) y el análisis de las distancias intramoleculares determinadas a partir de las modos de vibración de elongación (*strech*) de las bandas correspondientes a las señales de NH (Tabla 5).

En cuanto a las distancias intradímero entre unidades ciclopeptídicas determinadas en el estado sólido (Tabla 4), cabe destacar que los valores para el caso del heterodímero $\mathbf{D_{20/32}}$ resultaron ser generalmente menores que para el de los homodímeros $\mathbf{D_{20}}$ y $\mathbf{D_{32}}$. Especialmente relevante son las distancias interatómicas N···O (enlace de hidrógeno), las cuales ponen de manifiesto la mayor fortaleza de los enlaces de hidrógeno en la especie

heterodimérica. De este modo, se puede observar la gran predisposición que presentan las unidades α,γ(Acp)- y α,γ(Ach)-ciclopeptídicas para combinarse dando lugar a la formación de un heterodímero mucho más estable termodinámicamente que los correspondientes ensamblajes homodiméricos.

Tabla 4. Estudio de distancias de enlace entre subunidades ciclopeptídicas correspondientes a las estructuras cristalinas de homo- y heterodímeros ciclohexapeptídicos [$\mathbf{D_{20}}$: homodímero de **20**; $\mathbf{D_{32}}$: homodímero de **32**; $\mathbf{D_{20/32}}$: heterodímero de **20 + 32**].

Dímero	$^{Me}N\cdots C{=}O$[a]	$C_{H\gamma}\cdots C_{H\alpha}$	$C_{H\alpha}\cdots C_{H\gamma}$	$O{=}C\cdots N^{Me}$	$NH\cdots O{=}C$	$C_{H\alpha}\cdots C_{H\alpha}$	$C{=}O\cdots HN$
	5.65	4.49	4.74	5.85	2.90	5.09	2.88
$\mathbf{D_{20}}$	5.74	4.61	4.45	5.71	2.88	5.06	2.91
	5.62	4.42	4.50	5.63	2.87	5.14	2.98
	5.71	4.56	4.51	5.58	2.83	5.05	2.93
$\mathbf{D_{32}}$	5.84	4.79	4.85	5.86	2.91	4.88	2.97
	5.62	4.61	4.63	5.67	3.00	5.02	2.89
	5.68	4.58	4.39	5.61	2.93	5.07	2.90
$\mathbf{D_{20/32}}$	5.48	4.18	4.48	5.66	2.97	5.15	2.82
	5.49	4.19	4.59	5.71	2.83	5.08	2.87

[a] Las distancias de enlace están expresadas en Å

Posteriormente, el estudio mediante FT-IR de las frecuencias de elongación de las señales de NH (modo vibración amida A) también permitió determinar las distancias entre subunidades cíclicas para cada una de las especies diméricas (Tabla 5). Así, se observó inicialmente como el valor de dicho modo de vibración resultaba ser menor para el caso de los heterodímeros $\mathbf{D_{20/32}}$ (ν = 3300 cm^{-1}) y $\mathbf{D_{33/32}}$ (ν = 3300 cm^{-1}) que para el de los correspondientes homodímeros $\mathbf{D_{20}}$ (ν = 3304 cm^{-1}), $\mathbf{D_{32}}$ (ν = 3303 cm^{-1}) y $\mathbf{D_{33}}$ (ν = 3303 cm^{-1}). De esta forma, se pudo estimar que la distancia interatómica N···O (enlace de hidrógeno) — la cual está correlacionada con la frecuencia del modo de vibración amida A según el modelo de Krimm[168b] — era menor en las especies heterodiméricas, como consecuencia de una mayor fortaleza en el enlace de hidrógeno.

Tabla 5. Estudio espectroscópico de FT-IR en $CHCl_3$ (25 ºC) de diversos ciclohexapéptidos y mezclas ciclohexapeptídicas que se ensamblan para dar lugar a las correspondientes estructuras homo- y heterodiméricas, en donde las bandas de vibración de C=O y NH permiten reflejar el motivo estructural que describen.

Dímero	Amida A	Amida Ia	Amida Ib	Amida II
$\mathbf{D_{20}}$	3304	1661	1626	1534
$\mathbf{D_{32}}$	3303	1665	1625	1527
$\mathbf{D_{33}}$	3303	1664	1625	1530
$\mathbf{D_{20/32}}$[a]	3300	1660	1625	1543
$\mathbf{D_{33/32}}$[a]	3300	1663	1625	1531
$\mathbf{D_{20/33}}$[b]	3303	1660	1625	1539

[a] Heterodímero Acp/Ach

[b] Heterodímero Acp/Acp

Los resultados obtenidos mediante RMN, FT-IR y difracción de rayos X mostraron de manera concluyente como la combinación de α,γ(Acp)- y α,γ(Ach)-ciclohexapéptidos permite la preparación selectiva de una novedosa clase de heterodímeros, los cuales presentan una estabilidad superior a la de los correspondientes homodímeros.

Debido al interés propiciado por este nuevo tipo de sistemas heterodiméricos, decidimos ampliar nuestro modelo de estudio hacia la síntesis de heterodímeros ciclopeptídicos de mayor tamaño. El aumento del diámetro interno de la unidad cíclica básica no debería repercutir en la formación de los correspondientes heterodímeros, favoreciendo así la construcción de estructuras supramoleculares con mayor aplicabilidad en campos tan diversos como catálisis, almacenaje de gases y/o reconocimiento molecular.

11.2. HETERODÍMEROS α,γ-CICLOOCTAPEPTÍDICOS

El siguiente paso que decidimos abordar fue el estudio de formación de heterodímeros ciclooctapeptídicos de forma análoga al efectuado con anterioridad para el caso de los hexapéptidos cíclicos. De este modo, podríamos llevar a cabo la preparación selectiva de estructuras supramoleculares heterodiméricas a través del establecimiento de ocho enlaces de hidrógeno entre subunidades distintas.

Nuestro objetivo inicial fue evaluar la construcción de heterodímeros entre un primer ciclopéptido constituido por cuatro α-Aas y cuatro γ-Acp y una segunda unidad ciclopeptídica similar a la anterior en la que se alternasen esta vez cuatro α-Aas y cuatro γ-Ach. Para ello, fue necesario la preparación del α,γ(Ach)-derivado *ciclo*[(*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach)$_4$-] (**34**)[148] (Figura 81),

el cual se sintetizó a partir de *L*-Boc-^{Me}N-γ-Ach-OFm[256] empleando la metodología descrita anteriormente (Esquema 7 y 8). Cabe resaltar que dicho macrociclo se autoensambla para dar lugar al homodímero **D_{34}** en disolventes no polares con una K_a superior a 10^5 M^{-1},[261] por lo que presenta un comportamiento similar al de los α,γ(Acp)-ciclooctapéptidos descritos con anterioridad.

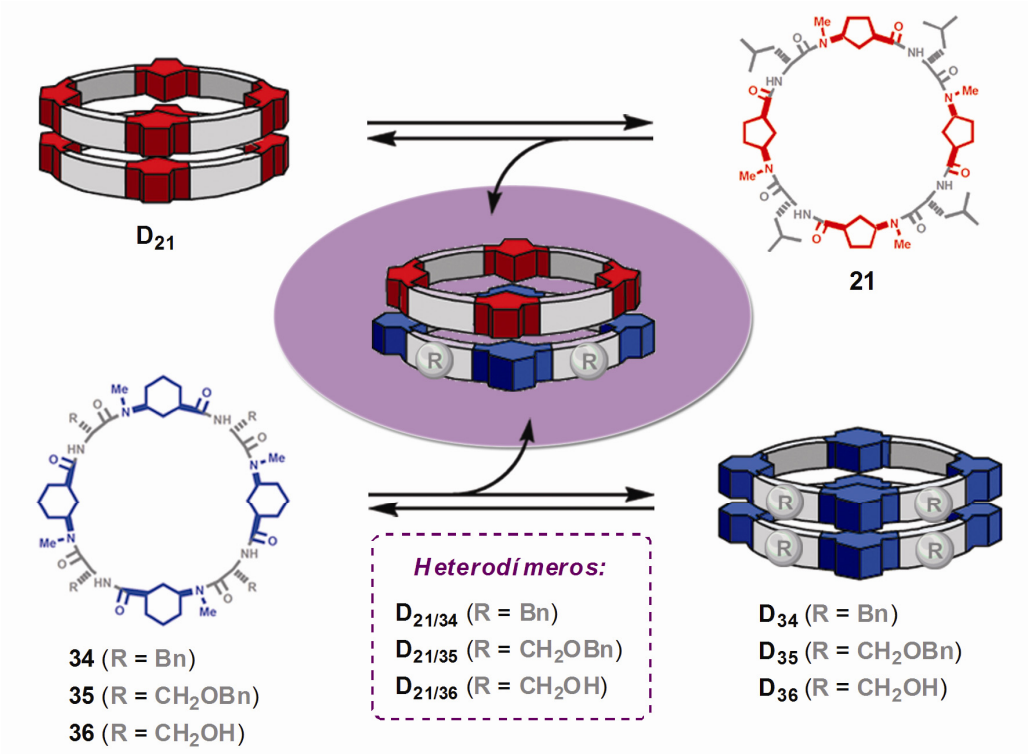


Figura 81. Estructuras de los derivados α,γ(Acp)- (**21**) y α,γ(Ach)-ciclooctapeptídicos (**34**, **35** y **36**) y de sus correspondientes homo- (**D_{21}**, **D_{34}**, **D_{35}** y **D_{36}**) y heterodímeros (**$D_{21/34}$**, **$D_{21/35}$** y **$D_{21/36}$**).

La posibilidad de formación del correspondiente heterodímero se evaluó mediante adiciones sucesivas de **34** (desde 0 a 1.70 equivalentes) a una disolución 1.70 mM de **21** en $CDCl_3$ (Figura 82).[171] De este modo, se observó mediante ^{1}H RMN la aparición de un nuevo grupo de señales que no se correspondían con ninguno de los posibles homodímeros y que atribuimos a la especie heterodimérica **$D_{21/34}$**. Al igual que en el caso de los ciclohexapéptidos, la presencia casi exclusiva de esta nueve especie en el equilibrio parecía indicar que la formación de dicho heterodímero tenía lugar de manera preferencial.

[261] El espectro de ^{1}H RMN del ciclopéptido **34** en disolventes no polares reflejó las características típicas de la formación del homodímero **D_{34}**, mostrando un valor de constante de acoplamiento ($J_{NH,\ H\alpha}$) de 8.6 Hz y un desplazamiento químico (δ) de la señal correspondiente a los NH de la Phe de 8.57 ppm. Cabe resaltar que el valor de la constante de asociación (K_a) para la formación del homodímero **D_{34}** debe ser superior a 10^5 M^{-1}, ya que esta última señal (NH_{Phe}) permanece invariable, incluso a concentraciones por debajo de 0.1 mM, independientemente de si el disolvente contiene 30% MeOH o si las muestras son calentadas hasta 50º C. Del mismo modo, el espectro de FT-IR en $CHCl_3$ mostró las bandas características de una estructura tipo lámina plegada β antiparalela.

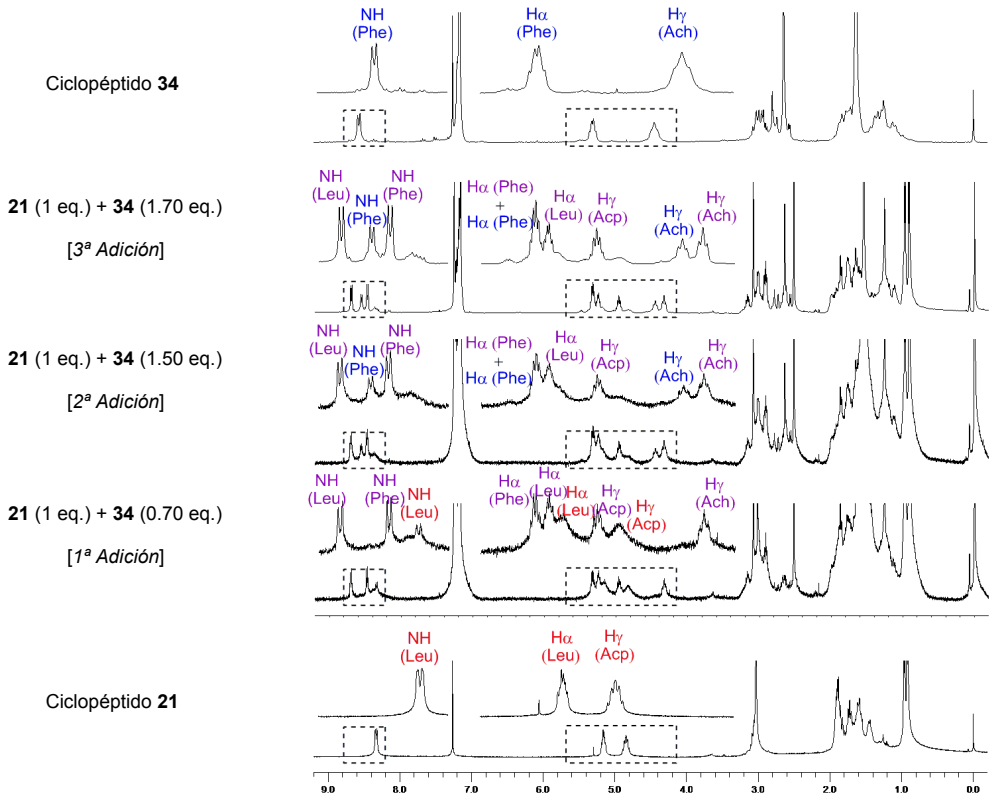


Figura 82. Espectros de ^{1}H RMN correspondientes a la formación del heterodímero $\mathbf{D_{21/34}}$ mediante adición de diferentes equivalentes (0.70, 1.50 y 1.70 eq.) de **34** a una disolución 1.70 mM de **21** (298 K, $CDCl_3$). Las señales en rojo corresponden al homodímero $\mathbf{D_{21}}$, las señales en azul corresponden al homodímero $\mathbf{D_{34}}$ y las señales en violeta corresponden al heterodímero $\mathbf{D_{21/34}}$.

El carácter heterodimérico de la nueva especie, $\mathbf{D_{21/34}}$, se confirmó mediante picos de cruce nOe entre las señales de $H\gamma_{Acp}$ (δ = 4.96 ppm) y $H\alpha_{Ach}$ (δ = 2.67 ppm), y entre las señales de $H\gamma_{Ach}$ (δ = 4.33 ppm) y $H\alpha_{Acp}$ (δ = 3.17 ppm) (Figura 83).

La cristalización de una disolución 1:1 de los ciclopéptidos **21** y **34** en tetracloroetano bajo atmósfera de hexano condujo a la obtención de prismas incoloros. Desafortunadamente, los resultados de difracción de rayos X no presentaron suficiente calidad como para llevar a cabo la elucidación de la estructura cristalina. Probablemente, esto sea consecuencia de la alta dispersión que posee la organización tubular resultante debido al gran número de moléculas de disolvente desordenadas a lo largo de la nanoestructura.

A continuación decidimos determinar cuáles eran las interacciones responsables de la formación preferencial de las especies heterodiméricas; si bien las que se producen a nivel del esqueleto peptídico o aquellas que tienen lugar entre las cadenas laterales de los residuos aminoacídicos. Para ello se llevó a cabo la preparación del ciclooctapéptido *ciclo*{[*D*-Ser(Bn)-*L*-^{Me}N-γ-Ach]$_4$-} (**35**)[171] (Figura 81), el cual se sintetizó a partir del derivado aminoacídico *L*-Boc-^{Me}N-γ-Ach-OFm[206] empleando la metodología descrita previamente (Esquema 7 y 8), y en

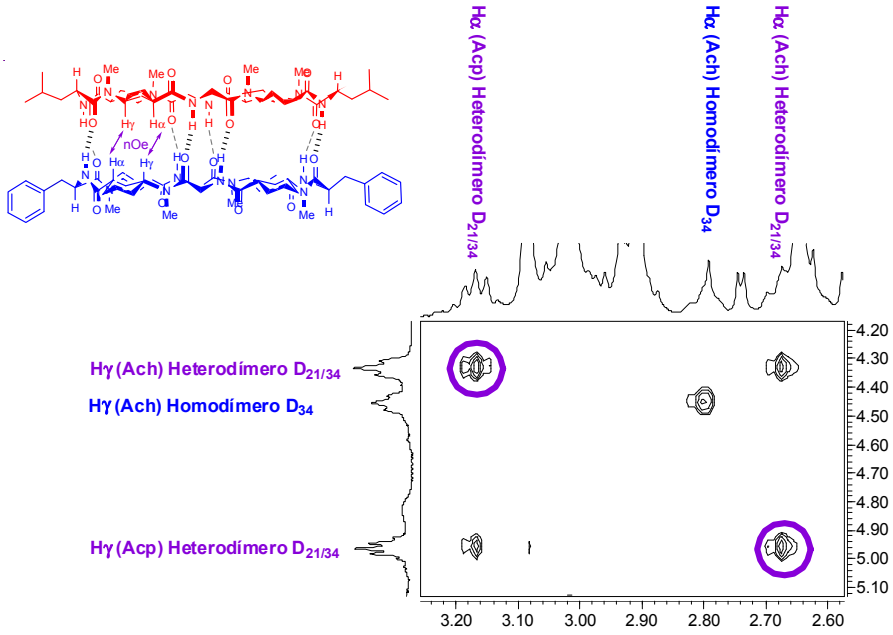


Figura 83. Espectro de ROESY correspondiente a la región $C_\alpha H$ y $C_\gamma H$ de los γ-aminoácidos de una mezcla 1:1.7 de los ciclooctapéptidos **21** y **34**, mostrando los picos de cruce nOe HγAcp[**21**]–HαAch[**34**] y HαAcp[**21**]–HγAch[**34**] característicos del heterodímero $\mathbf{D_{21/34}}$.

el que hemos sustituido — respecto al derivado **34** — las Phe por Ser convenientemente protegidas.[262] De este modo, el nuevo macrociclo permitiría estudiar la formación del correspondiente heterodímero $\mathbf{D_{21/35}}$ y observar si se produce algún cambio significativo respecto a los experimentos previos, lo cual podría ser atribuido a las diferencias entre las interacciones de las cadenas laterales.

El espectro de ^{1}H RMN de una mezcla equimolar de los ciclooctapéptidos **21** y **35** en $CDCl_3$ (Figura 84) permitió observar de nuevo la formación preferencial del correspondiente heterodímero $\mathbf{D_{21/35}}$.[171] Los resultados obtenidos sugieren — al igual que acontecía para el caso de los ciclohexapéptidos — que la formación selectiva de los heterodímeros ciclooctapeptídicos es debida fundamentalmente a las interacciones de enlace de hidrógeno intramolecular que se establecen entre los esqueletos de las subunidades α,γ(Acp)- y α,γ(Ach)-ciclopeptídicas, siendo independiente de las cadenas laterales empleadas. De este modo, la mejor complementariedad entre los grupos dadores y aceptores de ambos macrociclos induce la formación preferencial de la especie heterodimérica.

[262] El espectro de ^{1}H RMN del ciclopéptido **35** en disolventes no polares reflejó las características típicas de la formación del homodímero $\mathbf{D_{35}}$, mostrando un valor de constante de acoplamiento ($J_{NH,\ H\alpha}$) de 8.4 Hz y un desplazamiento químico (δ) de la señal correspondiente a los NH de la Ser de 8.41 ppm. Cabe resaltar que el valor de la constante de asociación (K_a) para la formación del homodímero $\mathbf{D_{34}}$ debe ser superior a 10^5 M^{-1}, ya que esta última señal (NH_{Ser}) permanece invariable, incluso a concentraciones por debajo de 0.1 mM, independientemente de si el disolvente contiene 30% MeOH o si las muestras son calentadas hasta 50º C. Del mismo modo, el espectro de FT-IR en $CHCl_3$ mostró las bandas características de una estructura tipo lámina plegada β antiparalela.

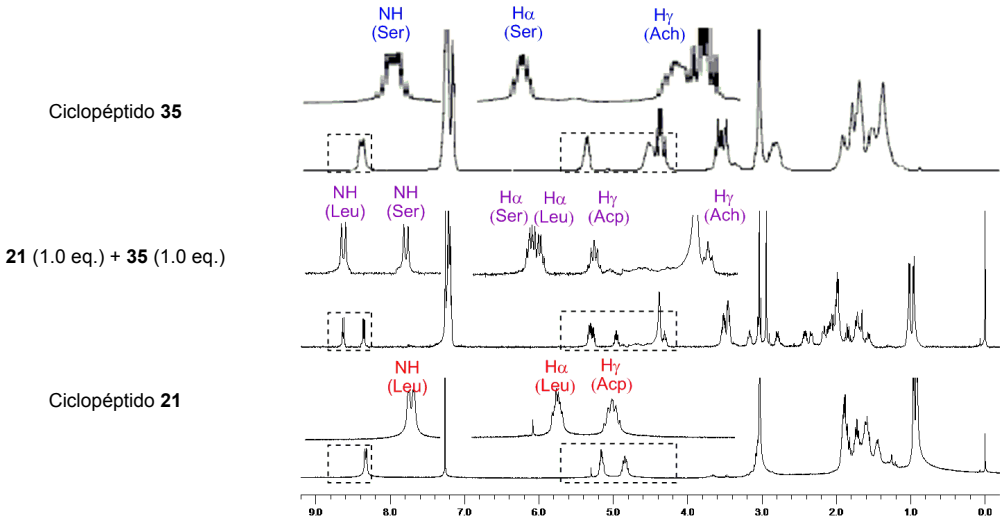


Figura 84. Espectros de ^{1}H RMN correspondientes a la formación del heterodímero $\mathbf{D_{21/35}}$ mediante adición de 1.00 equivalente de **35** a una disolución 2.00 mM de **21** (298 K, $CDCl_3$). Las señales en rojo corresponden al homodímero $\mathbf{D_{21}}$, las señales en azul corresponden al homodímero $\mathbf{D_{35}}$ y las señales en violeta corresponden al heterodímero $\mathbf{D_{21/35}}$.

La posterior hidrogenación catalítica del compuesto **35** en presencia de 10% Pd/C dio lugar al ciclooctapéptido *ciclo*[(*D*-Ser-*L*-^{Me}N-γ-Ach)$_4$-] (**36**)[171] (Figura 81), el cual se caracteriza por poseer los residuos de Ser en su forma libre.[263] De esta forma, podríamos evaluar si las posibles interacciones cadena lateral/cadena lateral que tienen lugar entre los grupos hidroxilo de las Ser en su forma homodimérica $\mathbf{D_{36}}$ juegan un papel importante en su estabilización, o incluso determinar si la formación del correspondiente heterodímero $\mathbf{D_{21/36}}$ sería mucho más favorable (Figura 85).

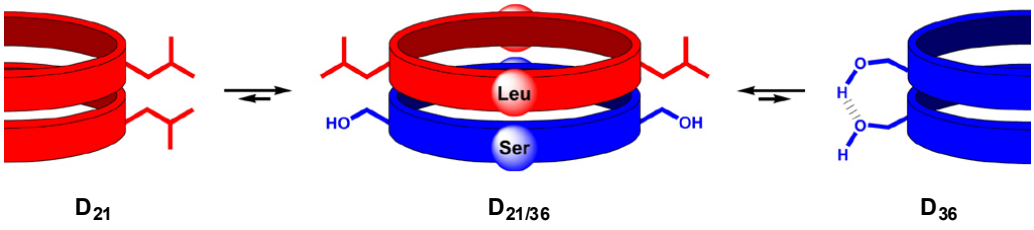


Figura 85. Equilibrios implicados en la formación del heterodímero $\mathbf{D_{21/36}}$. En el lado derecho, se muestran las posibles interacciones de enlace de hidrógeno que se establecen entre las cadenas laterales de los residuos de Ser en el homodímero $\mathbf{D_{36}}$.

La adición sucesiva de una disolución 8.40 mM de **36** (desde 0 a 1.00 equivalentes) en CD_3OH a una disolución 1.70 mM de **21** en $CDCl_3$ (Figura 86) permitió observar nuevamente

[263] Aunque el ciclopéptido **36** no es muy soluble en disolventes no polares, su espectro de ^{1}H RMN en $CDCl_3$ reflejó de nuevo las características típicas de la formación del correspondiente homodímero $\mathbf{D_{36}}$, mostrando un valor de constante de asociación (K_a) que debe ser superior a 10^5 M^{-1}. Del mismo modo, el espectro de FT-IR en CaF_2 reveló las bandas características de una estructura tipo lámina plegada β antiparalela.

mediante ^{1}H RMN la formación predominante de la especie heterodimérica **$D_{21/36}$**, confirmando el efecto prevalente de las interacciones esqueleto/esqueleto sobre las interacciones cadena lateral/cadena lateral.[171]

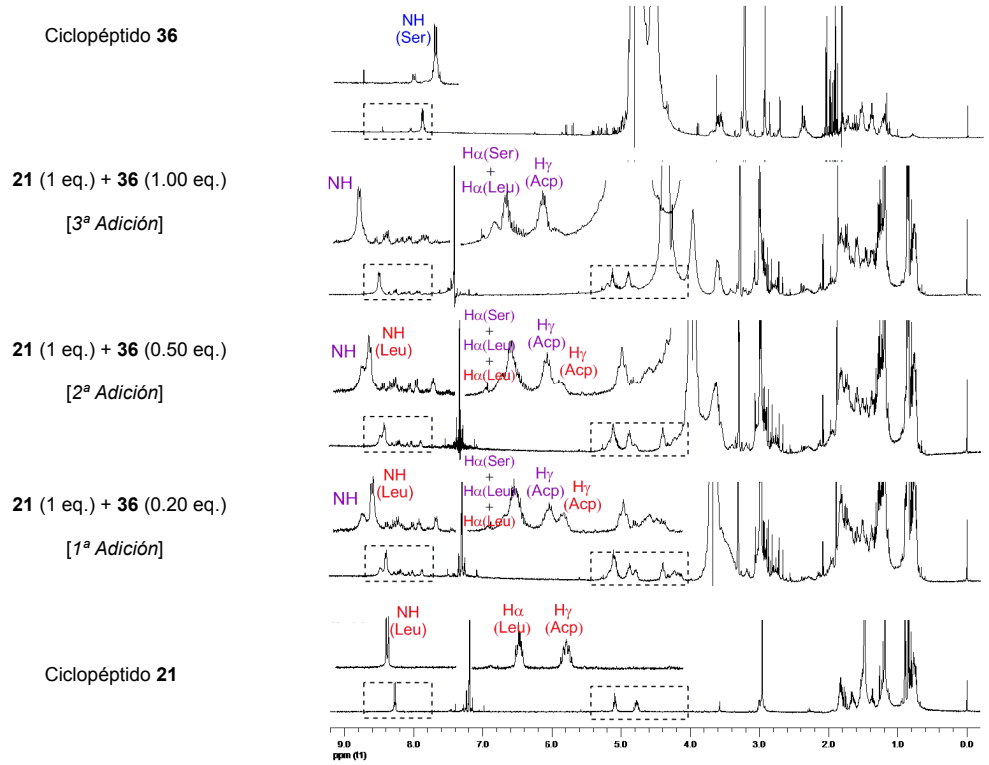


Figura 86. Espectros de ^{1}H RMN correspondientes a la formación del heterodímero **$D_{21/36}$** mediante adición de diferentes equivalentes (0.20, 0.50 y 1.00 eq.) de **36** a una disolución 1.70 mM de **21** (298 K, $CDCl_3$). Las señales en rojo corresponden al homodímero **D_{21}**, las señales en azul corresponden al homodímero **D_{36}** y las señales en violeta corresponden al heterodímero **$D_{21/36}$**.

Una vez comprobado que la formación selectiva de los heterodímeros ciclooctapeptídicos era independiente de las cadenas laterales empleadas, decidimos centrar nuestros estudios en las interacciones intersubunidad que se establecen a nivel del esqueleto peptídico. Así, se pensó en llevar a cabo un estudio detallado entre las estabilidades relativas de las láminas β paralela y antiparalela en disolución para el caso de las especies heterodiméricas (Figura 87). Para ello, se pensó en emplear dos ciclopéptidos de quiralidad opuesta, **22** y **34**, los cuales se podrían autoensamblar para dar lugar a los correspondientes homodímeros **D_{22}** y **D_{34}** a través de una lámina β antiparalela. La combinación de ambos macrociclos permitiría la formación de la especie heterodimérica **$D_{22/34}$**, en la cual cada subunidad se dispone en forma de lámina β paralela.

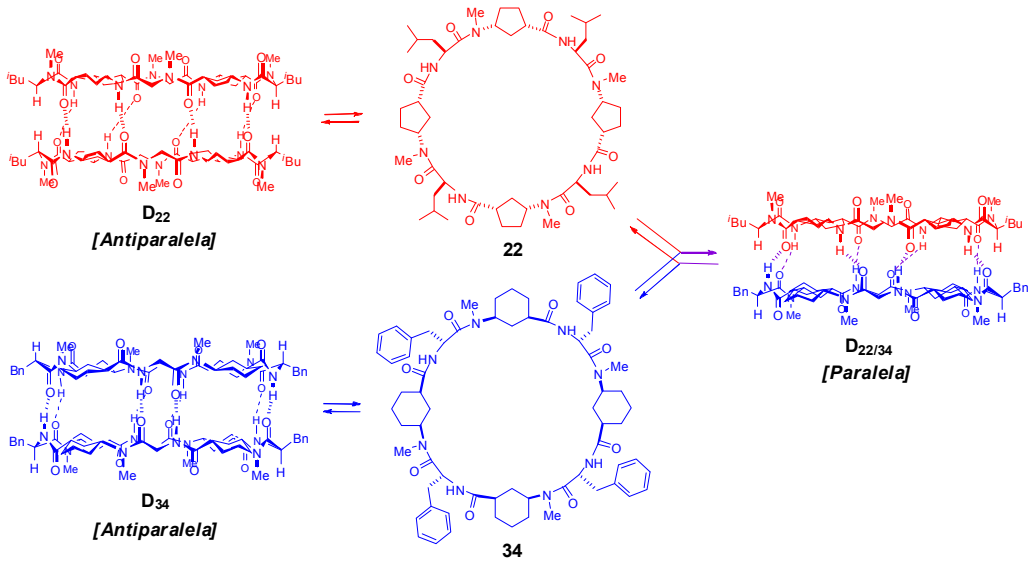


Figura 87. Estructuras homodiméricas de láminas β antiparalelas $\mathbf{D_{22}}$ y $\mathbf{D_{34}}$ constituidas por los ciclooctapéptidos *ciclo*[(*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp)$_4$-] (**22**) y *ciclo*[(*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach)$_4$-] (**34**), respectivamente. La combinación de ambos ciclopéptidos conllevaría la formación preferencial de la estructura heterodimérica de láminas β paralelas $\mathbf{D_{22/34}}$.

La adición sucesiva de **34** (desde 0 a 1.00 equivalentes) a una disolución 2.30 mM de **22** en $CDCl_3$ (Figura 88) permitió observar mediante ^{1}H RMN que la formación de la especie heterodimérica $\mathbf{D_{22/34}}$ no tenía lugar. Este hecho podría ser consecuencia de la mayor estabilidad relativa que presentan los homodímeros de láminas β antiparalelas $\mathbf{D_{22}}$ y $\mathbf{D_{34}}$ respecto a las especie heterodimérica de lámina β paralelas $\mathbf{D_{22/34}}$ resultante de su combinación.

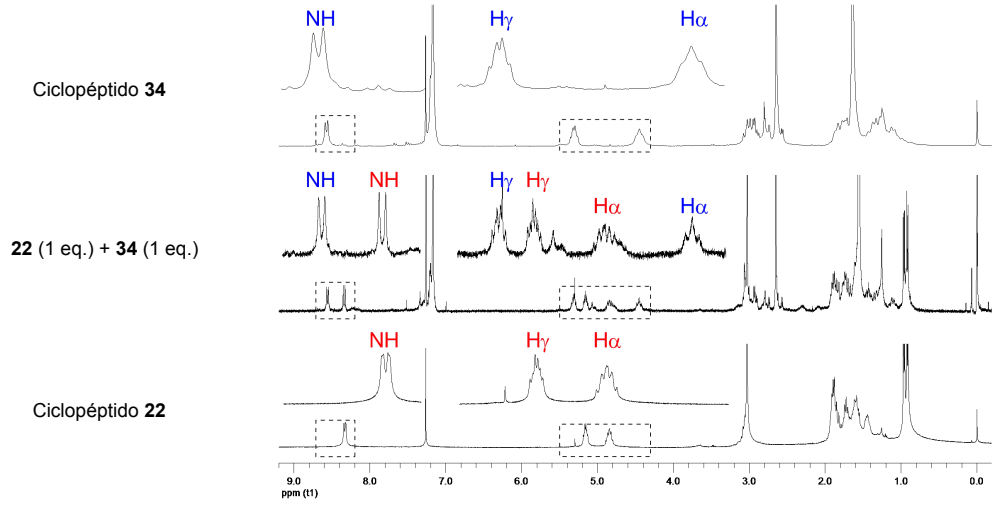


Figura 88. Espectros de ^{1}H RMN correspondientes al intento de preparación del heterodímero $\mathbf{D_{22/34}}$ mediante adición de 1.00 equivalente de **34** a una disolución 2.30 mM de **22** (298 K, $CDCl_3$), mostrando que la formación de dicha estructura heterodimérica de láminas β paralelas no tiene lugar de modo satisfactorio, probablemente debido a que su estabilidad relativa es mucho menor que la de los homodímeros de láminas β antiparalelas $\mathbf{D_{22}}$ y $\mathbf{D_{34}}$. Las señales en rojo corresponden al homodímero $\mathbf{D_{22}}$ y las señales en azul corresponden al homodímero $\mathbf{D_{34}}$.

Los datos obtenidos mediante RMN, FT-IR y difracción de rayos X mostraron de manera concluyente como los heterodímeros resultantes de la combinación de unidades α,γ(Acp)- y α,γ(Ach)-ciclooctapeptídicas presentan una estabilidad superior a la de los correspondientes homodímeros. Del mismo modo, también se corroboró que la formación preferencial de dichas especies heterodiméricas es independiente de las cadenas laterales empleadas.

La modelización computacional podría aportar nuevos datos sobre las propiedades estructurales de los α,γ-nanotubos peptídicos, al igual que debería ayudar en la interpretación de las observaciones experimentales obtenidas en el caso de los heterodímeros.

11.3. ESTUDIOS COMPUTACIONALES

Recientemente, nuestro grupo de investigación llevó a cabo un estudio teórico empleando cálculos de teoría del funcional de la densidad [DFT *(density functional theory)*][264], los cuales permitieron caracterizar adecuadamente las estructuras moleculares diméricas resultantes del autoensamblaje molecular de unidades α,γ(Acp)- y α,γ(Ach)-ciclopeptídicas constituidas por 6 y 8 aminoácidos.[190] Del mismo modo, dicho análisis computacional nos ayudó a estudiar de manera más profunda la preferencia del proceso de heterodimerización respecto al de homodimerización.

Los resultados obtenidos tanto para los α,γ-ciclohexapéptidos como para los α,γ-ciclooctapéptidos fueron muy similares, consiguiéndose valores de energía de interacción próximos a -33[265] [-50][266] (para el caso de los anillos de 24 miembros) y a -46[207] [-67][208] kcal·mol^{-1} (para el caso de los anillos de 32 miembros). Además, se observó que para ambos macrociclos la formación de las especies heterodiméricas es considerablemente más favorable que la formación de los correspondientes homodímeros, corroborando así los datos experimentales mostrados con anterioridad. Cabe destacar que el estudio computacional empleaba como unidad cíclica de estudio *c*[(*D*-Ala-*L*-^{Me}N-γ-Aca)$_n$-] (n = 3 para ciclohexapéptidos; n = 4 para ciclooctapéptidos), en la que se usó Ala como α-Aa para simplificar el modelo de análisis. Los cálculos teóricos se llevaron a cabo con el paquete infórmatico GAUSSIAN03[267], empleando dos funcionales DFT diferentes; el primero de ellos, el más popular hoy en día, B3LYP[268,,269], y el

[264] La **teoría del funcional de la densidad** es un procedimiento variacional alternativo a la solución de la ecuación de Schrödinger, en el que el parámetro a optimizar es el funcional que relaciona la distribución de densidad electrónica con la energía del sistema. Para más información, ver: Martin, R. M. *Electronic structure basic theory and practical methods*, Cambridge University Press: Cambridge (Reino Unido), **2004**.
[265] Energía calculada empleando el funcional B3LYP.
[266] Energía calculada empleando el funcional M05-2X.
[267] Frisch, M. J.; Trucks, G. W.; Schlegel, H. B.; Scuseria, G. E.; Robb, M. A.; Cheeseman, J. R.; Montgomery, J. A. Jr.; Vreven, T.; Kudin, K. N.; Burant, J. C.; Millam, J. M.; Iyengar, S. S.; Tomasi, J.; Barone, V.; Mennuci, B.; Cossi, M.; Scalmani, G.; Rega, N.; Petersson, G. A.; Nakatsuji, H.; Hada, M.; Ehara, M.; Toyota, K.; Fukuda, R.; Hasegawa, J.; Ishida, M.; Nakajima, T.; Honda, Y.; Kitao, O.; Nakai, H.; Klene, M.; Li, X.; Knox, J. E.; Hratchian, H. P.; Cross, J. B.; Bakken, V.; Adamo, C.; Jaramillo, J.; Gomperts, R.; Stratmann, R. E.; Yazyev, O.; Austin, A. J.; Cammi, R.; Pomelli, C.; Ochterski, J. W.; Ayala, P. Y.; Morokuma, K.; Voth, G. A.; Salvador, P.; Dannenberg, J. J.; Zakrzewski, V. G.; Dapprich, S.; Daniels, A. D.; Strain, M. C.; Farkas, O.; Malick, D. K.; Rabuck, A. D.; Raghavachari, K.; Foresman, J. B.; Ortiz, J. V.; Cui, Q.; Baboul, A. G.; Clifford, S.; Cioslowski, J.; Stefanov, B. B.; Liu, G.; Liashenko, A.; Piskorz, P.; Komaromi, I.; Martin, R. L.; Fox, D. J.; Keith, T.; Al-Laham, M. A.; Peng, C. Y.; Nanayakkara, A.; Challacombe, M.; Gill, P. M. W.; Johnson, B.; Chen, W.; Wong, M. W.; Gonzalez, C.; Pople, J. A. *Gaussian 03*, *Revision A.01*, Gaussian, Inc., Wallingford (CT), **2004**.
[268] a) Becke, A. D. *J. Chem. Phys*. **1993**, *98*, 5648-5652. b) Becke, A. D. *J. Chem. Phys*. **1992**, *96*, 2155-2160.
[269] Lee, C.; Yang, W.; Parr, R. G. *Phys. Rev.* **1988**, *B37*, 785-789.

segundo de ellos, M05-2X,[270,271] el cual se suele utilizar para llevar a cabo el cálculo de energías de interacción no covalente en sistemas biológicos complejos. Además, se empleó el funcional B3LYP y la base 6-31G(d)[272] para llevar a cabo las optimizaciones totales de geometría. Finalmente, debemos resaltar que las coordenadas geométricas de inicio se construyeron a partir de los datos de difracción de rayos X previamente descritos.[143,146,148,167,173]

En el caso particular de las estructuras diméricas resultantes del proceso de autoensamblaje de los ciclooctapéptidos (Figura 89), las energías de enlace obtenidas mediante cálculos DFT en fase gaseosa fueron -41.7, -37.2 y -39.9 kcal·mol^{-1} para $\mathbf{D_{Acp}}$,[273] $\mathbf{D_{Ach}}$,[274] y $\mathbf{D_{Acp\text{-}Ach}}$,[275] respectivamente. Los valores de energía tan negativos resultaron ser totalmente coherentes, sobre todo si tenemos en cuenta las elevadas constantes de asociación ($K_a > 10^5$ M^{-1}) determinadas experimentalmente.[143,148,173] Cabe resaltar que la formación del homodímero $\mathbf{D_{Acp}}$ está energéticamente favorecida sobre la del homodímero $\mathbf{D_{Ach}}$ por 4.5 kcal·mol^{-1}. Los cálculos sugieren que, en gran medida, esto es consecuencia de una mayor energía de deformación para el ciclopéptido derivado de γ-Ach. Del mismo modo, se observó que la energía de enlace del heterodímero es más próxima a la del homodímero $\mathbf{D_{Acp}}$ que a la del $\mathbf{D_{Ach}}$, lo que indica que, desde el punto de vista de las consideraciones energéticas, la formación de la especie heterodimérica es preferible a la formación de los homodímeros. Por otra parte, debido a que la mezcla está favorecida entrópicamente, los cálculos computacionales están totalmente en concordancia con las observaciones experimentales, demostrando de nuevo que el proceso de heterodimerización es preferible al de homodimerización.

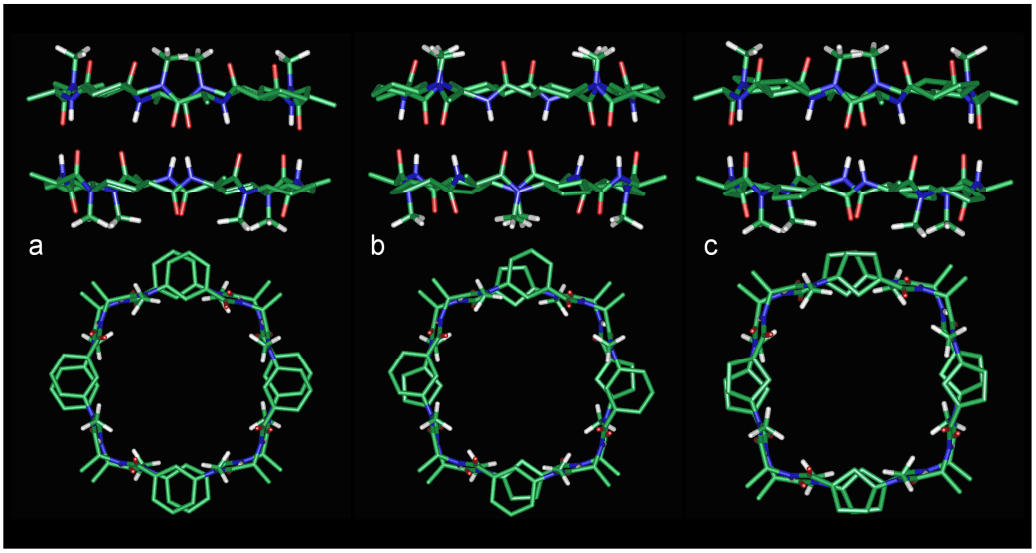


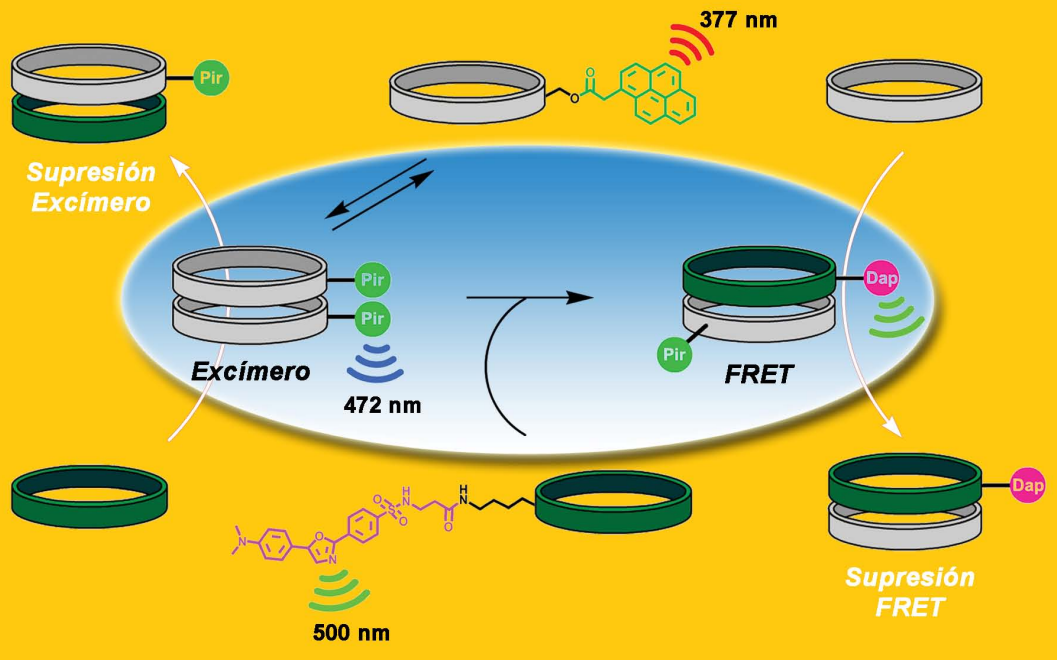
Figura 89. Vista lateral y superior de los modelos moleculares calculados para los homodímeros ciclooctapeptídicos $\mathbf{D_{Acp}}$ (**a**) y $\mathbf{D_{Ach}}$ (**c**), y para el heterodímero ciclooctapeptídico $\mathbf{D_{Acp/Ach}}$ (**b**). Estos sistemas son derivados de las unidades cíclicas *c*[(*D*-Ala-*L*-^{Me}N-γ-Ach)$_4$-] y *c*[(*D*-Ala-*L*-^{Me}N-γ-Acp)$_4$-].

[270] Zhao, Y.; Schultz, N. E.; Truhlar, D. G. *J. Chem. Theory Comput.* **2006**, *2*, 364-382.
[271] Zhao, Y.; Truhlar, D. G. *J. Chem. Theory Comput.* **2007**, *3*, 289-300.
[272] Hehre, W. J.; Radom, L.; Schleyer, P. v. R.; Pople, J. A. *Ab Initio Molecular Orbital Theory*; John Wiley & Sons: New York (Estados Unidos), **1986**.
[273] Homodímero resultado del autoensamblaje de *c*[(*D*-Ala-*L*-^{Me}N-γ-Acp)$_4$-].
[274] Homodímero resultado del autoensamblaje de *c*[(*D*-Ala-*L*-^{Me}N-γ-Ach)$_4$-].
[275] Heterodímero constituido por *c*[(*D*-Ala-*L*-^{Me}N-γ-Acp)$_4$-] y *c*[(*D*-Ala-*L*-^{Me}N-γ-Ach)$_4$-].

Los cálculos computacionales realizados proporcionan una prueba adicional sobre la formación de heterodímeros α,γ-ciclopeptídicos Acp/Ach. Además, permitieron predecir que la heterodimerización está energéticamente favorecida sobre la homodimerización, aunque las diferencias de energía que acompañan a cada uno de los procesos resultan ser muy similares entre sí. Las contribuciones entrópicas — no exploradas en este estudio — también podrían jugar un papel importante en este tipo de procesos de dimerización.

En resumen, la combinación de una unidad α,γ(Acp)-ciclopeptídica con otra derivada de γ-Ach nos permitieron llevar a cabo la preparación de una nueva clase de estructuras heterodiméricas, las cuales resultan ser más estables que los correspondientes homodímeros. La formación selectiva de la especie heterodimérica viene dada fundamentalmente por las interacciones enlace de hidrógeno que se establecen a nivel del esqueleto peptídico, siendo independiente de las cadenas laterales que empleemos. De este modo, la introducción de diversas funcionalidades podría permitir el desarrollo de nuevas aplicaciones potenciales, sin alterar en ningún momento la estructura heterodimérica.

El estudio exhaustivo del equilibrio homo/hetero y la modificación de la superficie externa mediante la conveniente funcionalización de las unidades cíclicas básicas abre las puertas a la construcción de manera altamente eficiente y selectiva de una extensa colección de ensamblajes supramoleculares estables termodinámicamente, los cuales pueden adquirir una gran relevancia debido a sus posibles aplicaciones como fotosistemas artificiales, dispositivos electrónicos y/o biosensores.



α,γ-CICLOPÉPTIDOS: SISTEMAS DE TRANSFERENCIA DE ENERGÍA

El tercer objetivo que decidimos afrontar en esta memoria de Tesis Doctoral fue el análisis exhaustivo de las bases termodinámicas que rigen los procesos de homo- y heterodimerización α,γ-ciclopeptídica.

La conveniente funcionalización de las unidades cíclicas mediante la introducción de grupos aceptores y/o dadores ha de permitirnos la preparación de manera selectiva de una extensa colección de nanoestructuras supramoleculares estables termodinámicamente, las cuales adquieren gran relevancia en la construcción de novedosos sistemas de transferencia energética altamente eficientes, diseñados especialmente para llevar a cabo el estudio de equilibrios multicomponente en los que estén involucrados procesos de homo- y heterodimerización. Dichos ensamblajes supramoleculares pueden adquirir especial interés debido a sus posibles aplicaciones como fotosistemas artificiales, dispositivos optoelectrónicos y/o biosensores, mimetizando de algún modo la capacidad como transferidores de energía que presentan un gran número de biomoléculas.

12. SISTEMAS NATURALES DE TRANSFERENCIA DE ENERGÍA

La fotosíntesis natural es un ejemplo eficaz de la organización jerárquica de una gran multitud de moléculas cromóforas en el espacio para dar lugar a procesos de transferencia energética.[276,277] A través de la fotosíntesis, las plantas, las algas (eucariotas unicelulares) y una gran variedad de bacterias son capaces de transferir energía luminosa solar a los centros de reacción molecular para su conversión en energía química con una eficiencia próxima al 100%.

La fotosíntesis consiste fundamentalmente en la transformación de materia inorgánica en materia orgánica (*reacciones que fijan carbono*) empleando la energía bioquímica (ATP) obtenida por medio de la energía solar a través de pigmentos fotosintéticos y cadenas transportadoras de electrones (*reacciones dependientes de la luz*) (Figura 90).[278,279] Los orgánulos citoplasmáticos encargados de la realización de dicho proceso son los **cloroplastos**, unas estructuras polimorfas de color verde (esta coloración es debida a la presencia del pigmento clorofila) propias de las células vegetales.[280] En el interior de estos orgánulos se halla una cámara que contiene un medio interno llamado **estroma**, que alberga diversos componentes, entre los que cabe destacar enzimas encargadas de la transformación del dióxido de carbono en materia orgánica y unos sacos aplastados denominados **tilacoides**,

[276] a) Brixner, T.; Stenger, J.; Vaswani, H. M.; Cho, M.; Blankenship, R. E.; Fleming, G. R. *Nature* **2005**, *434*, 625-628. b) Yoder, L. M.; Cole, A. G.; Sension, R. J. *Photosynth. Res.* **2002**, *72*, 147-158. c) Pullerits, T.; Sundström, V. *Acc. Chem. Res.* **1996**, *29*, 381-389. d) Wasielewski, M. R. *Chem. Rev.* **1992**, *92*, 435-461. e) Huber, R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1989**, *28*, 848-869.

[277] La fotosíntesis natural también constituye un claro ejemplo de organización espacial de diversos aceptores y dadores para dar lugar a numerosos procesos de transferencia electrónica, como veremos en el siguiente capítulo.

[278] Nelson, D. L.; Cox, M. M. "Oxidative phosphorylation and photophosphorylation". En *Lehninger principles of biochemistry [4th edn]*; W. H. Freeman & Co.: New York (Estados Unidos), **2005**; 690-750.

[279] En la actualidad se diferencian dos tipos de procesos fotosintéticos: la **fotosíntesis oxigénica** y la **fotosíntesis anoxigénica**. La primera de ellas es propia de las plantas superiores, las algas y las cianobacterias, donde el dador de electrones es el agua y, como consecuencia, se desprende oxígeno. La segunda, también conocida con el nombre de fotosíntesis bacteriana, la realizan las bacterias púrpuras y verdes del azufre, en las que el dador de electrones es el sulfuro de hidrógeno y, consecuentemente, no se libera oxígeno sino azufre, que puede ser acumulado en el interior de la bacteria o, en su defecto, expulsado al agua.

[280] Las bacterias fotosintéticas carecen de cloroplastos, por lo que el proceso tiene lugar en centros reactivos sobre la membrana celular, la cual se pliega dentro de la célula para formar sacos, tubos u hojas, incrementando la superficie disponible.

cuya membrana contiene pigmentos fotosintéticos. Los tilacoides pueden encontrarse repartidos por todo el estroma (tilacoides del estroma), o bien, pueden ser pequeños, tener forma discoidal y encontrarse apilados originando unos montones, denominados **grana** (tilacoides de grana). Cabe destacar que en la membrana de los grana se ubican los sistemas enzimáticos encargados de captar la energía luminosa, llevar a cabo el transporte de electrones y sintetizar ATP.

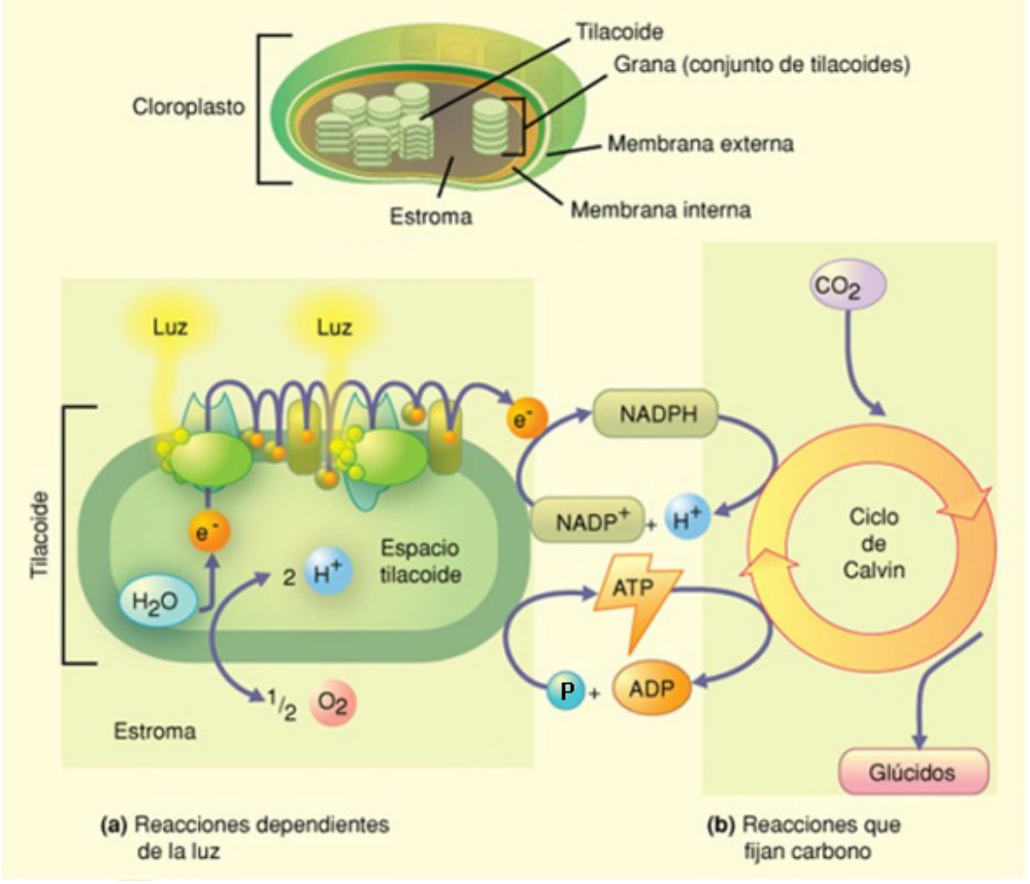


Figura 90. Representación esquemática del proceso fotosintético oxigénico que tiene lugar en plantas, en el que se pueden observar dos fases características. En la parte superior se muestra la estructura de un cloroplasto.

El fenómeno fotosintético incluye dos fases principales; las reacciones dependientes de la luz (*fase luminosa*), que tienen lugar exclusivamente cuando los organismos están iluminados, y las reacciones de fijación (o asimilación) de carbono (a veces erróneamente llamada *fase oscura*), que son impulsadas por los productos resultantes de la fase anterior. En las reacciones dependientes de la luz, la clorofila y otros pigmentos fotosintéticos absorben la energía luminosa para llevar a cabo su conservación en forma de ATP y NADPH, al mismo tiempo que se libera O_2. En las reacciones de fijación de carbono, el ATP y el NADPH resultante se utiliza para llevar a cabo la reducción de CO_2, permitiendo la formación de triosas fosfato, almidón y sacarosa, así como de otros productos derivados de ellos. La especial relevancia que adquieren los pigmentos fotosintéticos como captadores y transportadores de energía hace que sea necesario un análisis mucho más detallado de la fase luminosa.

La **fase luminosa** (también denominada fase clara, fase fotoquímica o reacción de Hill)[281] es la primera etapa de la fotosíntesis, en la cual se convierte la energía solar en energía química (Figura 91).[282] La luz es absorbida por complejos proteicos constituidos fundamentalmente por pigmentos fotosintéticos (mayoritariamente clorofilas). Estos complejos pigmento-proteína se agrupan en unidades llamadas fotosistemas, las cuales se ubican en la membrana tilacoidal. La energía luminosa absorbida por los pigmentos (clorofilas) se transmite a sus electrones externos, los cuales se liberan de la molécula y producen una especie de corriente eléctrica en el interior del cloroplasto al incorporarse a la cadena de transporte de electrones [ETC (*electron transport chain*)]. Esta energía puede ser empleada tanto en la producción de ATP mediante fotofosforilación, como en la síntesis de NADPH. Ambos compuestos son necesarios para la siguiente fase (Ciclo de Calvin), donde se sintetizarán los primeros azúcares que servirán para la producción de sacarosa y almidón. Los electrones cedidos por los pigmentos son repuestos mediante la oxidación de H_2O (fotólisis), proceso en el cual se genera el O_2 que las plantas liberan a la atmósfera.

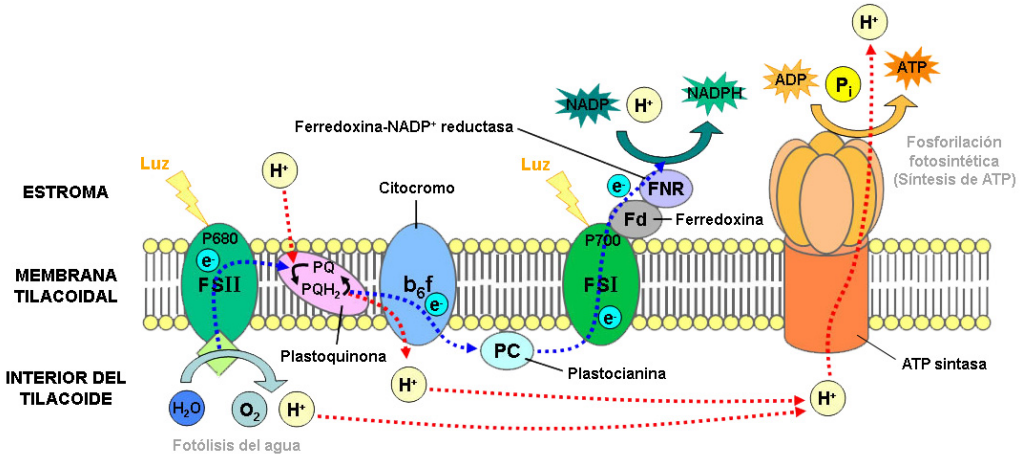


Figura 91. Representación esquemática de la fase luminosa de la fotosíntesis.

El proceso de la fase luminosa — supuesto para dos electrones — comienza con la incidencia de fotones sobre el fotosistema II (FS II), lo que provoca la excitación y liberación de dos electrones por parte del pigmento diana clorofila P680,[283] los cuales se transfieren rápidamente a la feofitina [(Pheo); primer aceptor de electrones].[284] Los electrones liberados son

[281] Se denomina fase luminosa, ya que al utilizar la energía lumínica, sólo puede llevarse a cabo en condiciones de alta luminosidad, ya sea natural o artificial.
[282] Berg, J. M.; Timoczko, J. L.; Stryer, L. "The light reactions of photosynthesis". En *Biochemistry [5th edn]*; W. H. Freeman & Co.: New York (Estados Unidos), **2002**.
[283] El pigmento diana P680 (dador principal del fotosistema II) se refiere a cualquiera de los dos dímeros especiales de clorofila (también llamados pares especiales), P_{D1} y P_{D2}. Estos dos pares forman un dímero excitónico, lo que significa que se comportan funcionalmente como una sola entidad; así, por ejemplo, son excitados como si fueran una sola molécula. El número 680 indica el máximo de absorción en la parte roja del espectro visible (680 nm). El dador principal recibe la energía de excitación mediante la absorción de un fotón de frecuencia adecuada (color) y/o por transferencia de energía de excitación de otras clorofilas dentro del fotosistema II. Para más información, ver: a) Raszewski, G.; Diner, B. A.; Schlodder, E.; Renger, T. *Biophys. J.* **2008**, *95*, 105-119. b) Rappaport, F.; Guergova-Kuras, M.; Nixon P. J.; Diner, B. A.; Lavergne, J. *Biochemistry* **2002**, *41*, 8518-8527.
[284] La feofitina (Pheo) es un pigmento fotosintético que sirve como primer portador de electrones intermediario en la cadena de transporte electrónico del fotosistema II. Desde el punto de vista bioquímico, la feofitina es una molécula de clorofila que carece del ión central de Mg^{2+}. Para más información, ver: Klimov, V. V. *Photosyn. Res.* **2003**, *76*, 247-53.

inmediatamente repuestos por el dador Z (primer dador de electrones) mediante electrones procedentes de la fotólisis del agua en el interior del tilacoide (la molécula de H_2O se disocia por efecto de la luz en 2 H^+ + 2 e^- + ½ O_2).[285] Cabe destacar que los protones resultantes del proceso fotolítico se van acumulando en el interior del tilacoide, mientras que el oxígeno es desprendido directamente al exterior. A continuación, los electrones pasan a una cadena de transporte de electrones, que invertirá su energía liberada en la síntesis de ATP. La teoría quimioosmótica (*hipótesis quimiosmótica de Mitchell*)[286] nos explica perfectamente como ocurre dicho fenómeno. Inicialmente, los electrones son cedidos a las plastoquinonas (PQ), las cuales captan a su vez dos protones del estroma. Ambas partículas — electrones y protones — pasan al complejo del citocromo b_6f,[287,288] el cual bombea los protones al interior del tilacoide. Se consigue así una gran concentración de protones (suma de los bombeados por el complejo del citocromo b_6f y los resultantes de la fotólisis del agua) en los tilacoides, lo cual se compensa regresando al estroma a través de la proteína ATP-sintasa,[288] que invierte la energía del paso de los protones en sintetizar ATP (fotofosforilación). Los electrones se transfieren a continuación del complejo del citocromo b_6f a la plastocianina (PC), que los cede a su vez al fotosistema I (FS I). Los electrones son de nuevo impulsados por la energía de la luz[289] a un nivel energético superior, de manera que se liberan de la clorofila P700[290] para ser captados posteriormente por el aceptor A_0. A continuación son transportados a través de una serie de filoquinonas hasta llegar a la ferredoxina (Fd). Esta proteína los cede posteriormente a la enzima ferredoxina-$NADP^+$ reductasa (FNR), que capta también dos protones del estroma, y que es la encargada de llevar a cabo la reducción de $NADP^+$ en NADPH + H^+. El balance final de la fase luminosa acíclica muestra que por cada molécula de H_2O (y por cada cuatro fotones) se forman ½ molécula de O_2, 1.3 moléculas de ATP y 1 molécula de NADPH + H^+. Esta molécula de NADPH será empleada, junto al ATP producido, en la fase posterior de la fotosíntesis (Ciclo de Calvin) para convertir el dióxido de carbono atmosférico (o disuelto en el agua en medios acuáticos) en materia orgánica.

---

[285] La molécula de P680 oxidada ($P680^+$) es el agente biológico oxidante más fuerte conocido. Presenta un potencial redox (E_h) estimado de ~ 1.3 V, lo que hace posible que pueda oxidar el agua durante la fotosíntesis oxigénica.

[286] La teoría sugiere esencialmente que la mayor parte de la síntesis de ATP en la respiración celular es consecuencia de un gradiente electroquímico existente entre la membrana interna y el espacio intermembrana de la mitocondria. Para más información, ver: Mitchell, P. *Nature* **1961**, *161*, 144-148.

[287] El complejo del citocromo b_6f o plastoquinol-plastocianina reductasa es un complejo enzimático intermediario en el transporte de electrones entre los fotosistemas II y I durante la fotosíntesis oxigénica. Además, es capaz de participar en la formación del gradiente electroquímico de protones transmembrana — empleado por el complejo ATP-sintasa para generar ATP (fotofosforilación) — al transferir protones del estroma al lumen de los tilacoides. Así, es responsable de la transferencia acíclica y cíclica de electrones entre dos transportadores redox móviles, el plastoquinol (PQH_2) y la plastocianina (PC). Cabe destacar que está compuesto por cuatro subunidades: un citocromo b_6 portando grupos hemo de bajo y alto potencial (b_L y b_H), un citocromo *f* con un grupo hemo *c* covalentemente unido, una proteína ferrosulfurada [ISP (*iron-sulfur protein*)] de Rieske conteniendo un único centro [Fe_2S_2], y la subunidad IV (proteína de 17 kDa). Para más información, ver: a) Stroebel, D.; Choquet, Y.; Popot, J.-L.; Picot, D. *Nature* **2003**, *426*, 413-418. b) Cramer, W. A.; Martinez, S. E.; Furbacher, P.; Huang, D.; Smith, J. L. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **1994**, *4*, 536-544.

[288] Al igual que los fotosistemas, los complejos citocromo b_6f y ATP-sintasa también se localizan en la membrana tilacoidal, aunque no se encuentran unidos a pigmentos fotosintéticos.

[289] La iluminación con luz de longitud de onda superior a 680 nm (*rojo lejano*) provoca que solo tenga lugar la **fase luminosa cíclica**. En dicho proceso interviene de forma exclusiva el FS I, generándose un flujo de electrones que da lugar únicamente a la síntesis de ATP. Al no intervenir el fotosistema II, no hay fotólisis del agua y, por consiguiente, no se produce la reducción del $NADP^+$ ni se desprende O_2. La fase cíclica se emplea para subsanar el déficit de ATP obtenido en la fase acíclica y poder así afrontar la fase oscura posterior. La fase luminosa cíclica puede producirse al mismo tiempo que la acíclica.

[290] El pigmento diana P700 (dador principal del fotosistema I) representa un dímero especial de clorofila *a* (también conocido con el nombre de par especial). El número 700 indica el máximo de absorción en la parte roja del espectro visible (700 nm). El dador principal recibe la energía de excitación mediante la absorción de un fotón de frecuencia adecuada (color) y/o por transferencia de energía de excitación de otras clorofilas dentro del fotosistema I. Para más información, ver: Setif, P.; Mathis, P. "Photosystem I reaction centre and its primary electron transfer systems". En *Encyclopedia of Plant Physiology (New Series) [4th edn]*, Vol. 19: Photosynthesis III; Eds.: L. A. Staehelin, C. J. Arntzen; Springer-Verlag: Berlín (Alemania), **1986**, 476-486.

La etapa clave de la fase luminosa es la captura de la luz y la posterior transferencia de energía. El primer evento que tiene lugar es la absorción de luz por parte de una molécula fotoreceptora, la cual puede transferir energía de manera eficiente a otras moléculas fotoactivas situadas en sus proximidades. Cabe resaltar que dichas moléculas fotosintéticas juegan un papel especialmente relevante en el proceso de fotosíntesis. Es por ello que es necesario un estudio mucho más profundo sobre su estructura, propiedades y modo de acción.

Los pigmentos fotosintéticos son lípidos que se hayan unidos a ciertas proteínas presentes en algunas membranas plasmáticas, y que se caracterizan por presentar sistemas conjugados (alternancia de enlaces sencillos con enlaces dobles) que explican en gran medida la absorción de luz visible.[291] En las plantas se encuentran las clorofilas y los carotenoides; en las cianobacterias y las algas rojas también existen las ficoeritrobilinas y las ficocianobilinas (ambas pertenecientes a la familia de las ficobilinas); y en las bacterias fotosintéticas están las bacterioclorofilas (Figura 92). Las **clorofilas** (Chls) están formadas por un anillo porfirínico con un átomo de magnesio (Mg^{2+}) en el centro, asociado a una cadena de fitol (monoalcohol de veinte carbonos). Como consecuencia, se conforma una molécula de carácter anfipático, en donde la porfirina actúa como polo hidrófilo y el fitol como polo lipófilo. Se distinguen dos variedades principales de clorofila: la clorofila *a* (Chl *a*),[292] que alberga un grupo metilo en el tercer carbono porfirínico y que absorbe luz de longitud de onda cercana a 630 nm, y la clorofila *b* (Chl *b*),[293] que contiene un grupo formilo y que absorbe a 660 nm. Las **bacterioclorofilas** (BChls)[294] se encuentran en varias bacterias fotótrofas y presentan una estructura similar a la de las clorofilas. Los organismos que contienen bacterioclorofilas realizan la fotosíntesis pero no producen oxígeno. Además, emplean longitudes de onda de luz que no son absorbidas por las plantas. Las **ficobilinas** (ficoeritrobilinas[295,296] y ficocianobilinas;[296,297] de color rojo y azul, respectivamente) son lípidos que se hayan unidos covalentemente a ciertas proteínas específicas originando las ficobiliproteínas (ficoeritrina y ficocianina),[298] las cuales a su vez se asocian en forma de complejos altamente ordenados denominados ficobilisomas.[299] Los **carotenoides** son isoprenoides y absorben luz de 440 nm, pudiendo ser de dos clases; los carotenos,[300] que son de color rojo, y las xantófilas,[301] derivados oxigenados de los nombrados anteriormente, que son de color amarillento.

---

[291] La presencia de sistemas conjugados se relaciona tanto con su capacidad de aprovechamiento de la luz para iniciar reacciones químicas como con poseer color propio.

[292] *Advances in photosynthesis and respiration*, Vol. 19: Chlorophyll *a* fluorescence. A signature of photosynthesis; Eds. G. C. Papageorgiou, Govindjee; Springer: Dordrecht (Holanda), **2004**.

[293] Raven, P. H.; Evert, R. F.; Eichhorn, S. E. "Photosynthesis, light, and life". En *Biology of plants [7th edn]*; W. H. Freeman & Co.: New York (Estados Unidos), **2005**; 119-127.

[294] a) Jochum, T.; Reddy, C. M.; Eichhöfer, A.; Buth, G.; Szmytkowski, J.; Kalt, H.; Moss, D.; Balaban, T. S. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **2008**,*105*, 12736-12741. b) Egawa, A.; Fujiwara, T.; Mizoguchi, T.; Kakitani, T.; Koyama, Y. Akutsu, H. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2007**,*104*, 790-795. c) Li, Y. F.; Zhou, W.; Blankenship, R. E.; Allen, J. P. *J. Mol. Biol.* **1997**, *271*, 456-471.

[295] Dammeyer, T.; Hofmann, E.; Frankenberg-Dinkel, N. *J. Biol. Chem.* **2008**, *283*, 27547-27554.

[296] Killilea, S. D.; O'Carra, P.; Murphy, R. F. *Biochem. J.* **1980**, *187*, 311-320.

[297] a) Szalontai, B.; Gombos, Z.; Csizmadia, V.; Bagyinka, C.; Lutz, M. *Biochemistry* **1994**, *33*, 11823-11832. b) Crespi, H. L.; Smith, U.; Katz, J. J. *Biochemistry* **1968**, *7*, 2232-2242.

[298] a) Schluchter, W. M.; Shen, G.; Alvey, R. M.; Biswas, A.; Saunée N. A.; Williams, S. R.; Mille, C. A.; Bryant, D. A. *Adv. Exp. Med. Biol.* **2010**, *675*, 211-228. b) MacColl, R. *J. Fluoresc.* **1991**, *1*, 135-140. c) Glazer, A. N. *Methods Enzymol.* **1988**, *167*, 291-303.

[299] a) Guan, X.; Qin, S.; Zhao, F.; Zhang, X.; Tang, X. *Int. J. Biol. Sci.* **2007**, *3*, 434-445. b) Grossman, A. R.; Schaefer, M. R.; Chiang, G. G.; Collier, J. L. *Microbiol. Rev.* **1993**, *57*, 725-749.

[300] Coultate, T. P. *Food. The chemistry of its components [4th edn]*; The Royal Society of Chemistry: Cambridge (Reino Unido), **2002**.

[301] a) Bungard, R. A.; Ruban, A. V.; Hibberd, J. M.; Press, M. C.; Horton, P.; Scholes, J. D. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1999**, *96*, 1135-1139. b) Johnson, G. N.; Young, A. J.; Scholes, J. D.; Horton, P. *Plant Cell Environ.* **1993**, *16*, 673-679.

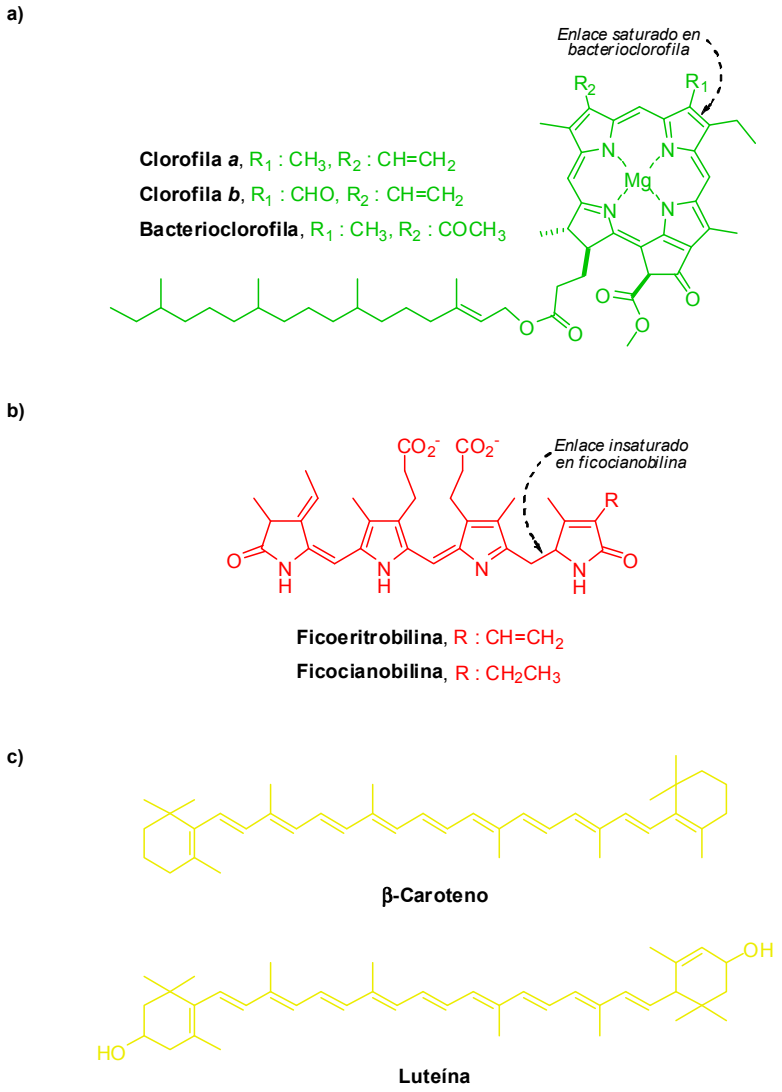


Figura 92. Fotopigmentos primarios y secundarios. **a)** Las clorofilas *a* y *b* y la bacterioclorofila son los principales captadores de energía luminosa. **b)** La ficoeritrobilina y la ficocianobilina (ambas pertenecientes a la familia de las ficobilinas) son pigmentos antena en cianobacterias y algas rojas. **c)** El β-caroteno (perteneciente al grupo de los carotenoides) y la luteína (perteneciente al grupo de las xantófilas) son pigmentos secundarios en plantas.

Como hemos visto con anterioridad, los pigmentos fotosintéticos se hayan alojados en unas proteínas transmembranales que se establecen en forma de conjuntos bien organizados denominados fotosistemas, en los que se distinguen dos unidades fundamentales diferentes: la antena y el centro de reacción. En la antena o complejo captador de luz [LHC (*light harvesting complex*)] predominan los pigmentos fotosintéticos (fundamentalmente clorofilas) sobre las proteínas. De hecho, existen entre doscientas y cuatrocientas moléculas de pigmentos de antena de varios tipos y tan sólo dos proteínas intermembranales. Sin embargo, la antena carece de pigmento diana. En el centro de reacción [RC (*reaction center*) o CC (*core complex*)]

las proteínas predominan sobre los pigmentos. En dicho núcleo es donde se localiza el pigmento diana, el primer aceptor de electrones y el primer dador de electrones.[302]

Los fotosistemas I y II son los encargados de captar la luz y de emplear su energía para impulsar el transporte de electrones a través de una cadena de aceptores. Aunque la estructura, composición y propiedades de los fotosistemas es ligeramente diferente,[303] su mecanismo de captación y transferencia de energía es análogo (Figura 93).[304] De este modo, se observa — para ambos casos — que la incidencia de un fotón sobre un electrón de un pigmento fotosintético de antena conlleva la captación de la energía de dicho fotón por parte del electrón, provocando así su ascenso a posiciones más alejadas del núcleo atómico (hacia niveles superiores respecto a su estado cuántico fundamental). En el supuesto caso de que el pigmento estuviese aislado, al descender al nivel inicial, la energía captada se liberaría en

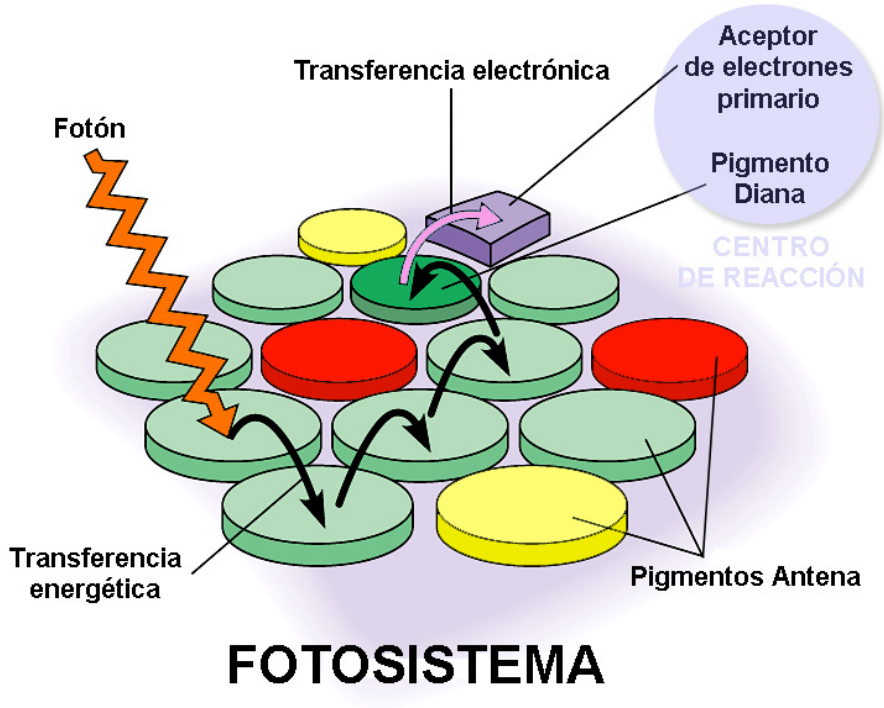


Figura 93. Mecanismo de captación, transferencia energética y electrónica en fotosistemas. Los fotones absorbidos por una molécula de pigmento fotosintético situada en el complejo captador de luz (antena) se transfieren de pigmento en pigmento mediante transferencia de energía por resonancia hasta alcanzar el pigmento diana situado en el centro de reacción, donde comienza el proceso de transferencia electrónica.

[302] En términos generales, se puede decir que existe una molécula de pigmento diana, unas cuantas de pigmentos no diana, una de primer aceptor de electrones, una de primer dador de electrones y entre dos y cuatro proteínas de membrana.

[303] El fotosistema I capta la luz cuya longitud de onda es menor o igual a 700 nm. Su antena se caracteriza por encerrar dentro de sí una gran proporción de clorofila *a*, y una menor de clorofila *b*. En el centro de reacción, la molécula diana es la clorofila a_I que absorbe a 700 nm, siendo llamada por ello clorofila P700. El aceptor primario de electrones se denomina aceptor A_0 y el dador primario es la plastocianina. Por otra parte, el fotosistema II capta luz cuya longitud de onda es menor o igual a 680nm. Su antena se caracteriza por encerrar dentro de sí una gran proporción de clorofila *a*, y una menor de clorofila *b* (aunque mayor que en el caso del fotosistema I). En el centro de reacción, la molécula diana es la clorofila a_{II} que absorbe a 680 nm, siendo llamada por ello clorofila P680. El aceptor primario de electrones se denomina feofitina y el dador primario es el dador Z. Cabe destacar que el FS I presenta un sistema de captación de luz mucho más complejo que el de FS II, ya que exhibe más subunidades en su estructura general. Además, el FS I puede transferir electrones desde las moléculas de P700 excitadas (P700*) al primer aceptor de electrones tanto de manera cíclica como no cíclica.

[304] Zhang. T.; Wu, W.-J.; Hu, B.-R.; Man, Y.H.; Liu, Z.-M. *Adv. Nat. Sci.* **2010**, *3*, 291-298.

forma de calor o de radiación de mayor longitud de onda (*fluorescencia*).[305,306] Sin embargo, al existir diversos tipos de pigmentos muy próximos, la energía de excitación captada por un determinado pigmento puede ser transferida eficientemente a otro al que se induce el estado de excitación.[307] Este fenómeno de **transferencia de excitón por resonancia inductiva**[305,308] se produce gracias a un estado de resonancia entre la molécula dadora relajada y la aceptora.[309] Los excitones se transfieren siempre hacia los pigmentos que absorben a mayor longitud de onda, continuando el proceso hasta alcanzar el pigmento fotosintético diana. Al llegar a dicho pigmento — situado en el centro de reacción fotosintético — se observa instantáneamente como se desencadenan los procesos de transferencia electrónica, en los que ahondaremos en el siguiente capítulo de esta memoria de Tesis Doctoral.

La función principal de los complejos antena es la captura de energía luminosa y su transferencia a los centros de reacción para poder llevar a cabo procesos redox fotoinducidos. Inicialmente, los complejos antena atrapan fotones de la luz, elevando los electrones a niveles más altos que su estado cuántico fundamental, provocando así que la energía resultante se vaya transfiriendo por resonancia entre diferentes moléculas de clorofila hasta llegar al centro de reacción fotosintético, en donde se desencadenan los transportadores de electrones. La transmisión de energía desde los complejos antena hasta los centros de reacción se produce dentro de los 100 ps y con una alta eficiencia (cercana al 100%). Desafortunadamente, la falta de información estructural que se tiene sobre los complejos captadores de luz provoca que el conocimiento de las vías y mecanismos subyacentes de transferencia de energía sea realmente limitado. A diferencia de las reacciones de migración de electrones que se producen localmente en el centro de reacción,[310] la transferencia de energía de la luz desde los complejos antena a los núcleos de reacción molecular es un evento global que requiere una acción concertada — secuencial o paralela — de todos los complejos pigmento-proteína, incluyendo LHC-II, LHC-I y RC. De este modo, para entender el mecanismo de transferencia de energía dentro del sistema fotosintético es necesario el conocimiento detallado de la información estructural de cada componente y del ensamblaje global de todos los componentes. Es por ello que en los últimos años numerosos grupos han encauzado sus esfuerzos hacia la determinación estructural de los complejos antena,[311] especialmente en bacterias púrpuras debido a su menor complejidad.[312]

---

[305] Valeur, B. *Molecular fluorescence: principles and applications*; Wiley-VCH: Weinheim (Alemania), **2002**.

[306] a) Valeur, B.; Berberan-Santos, M. N. *J. Chem. Educ.* **2011**, *88*, 731-738. b) Skoog, D. A.; Holler, F. J.; Crouch, S. R. *Principles of instrumental analysis [6th edn]*; Brooks/Cole: Florence [Kentucky (Estados Unidos)], **2006**.

[307] Las moléculas de pigmento transfieren directamente su energía de excitación a otras moléculas fotosintéticas vecinas (basales), con propiedades electrónicas semejantes. Dicho proceso es particularmente importante para canalizar la energía luminosa a los centros de reacción fotosintéticos.

[308] La transferencia de excitón por resonancia inductiva — conocida comúnmente con el nombre de transferencia de energía por resonancia de fluorescencia (FRET), transferencia de energía por resonancia de Förster (FRET) o transferencia lineal de energía — será estudiada con mayor profundidad en secciones posteriores de esta memoria de Tesis Doctoral. Para más información, ver: a) Lakowicz, J. R. *Principles of fluorescence spectroscopy [2nd edn]*; Plenum Pub. Corp.: New York (Estados Unidos), **1999**. b) Förster, T. *Ann. Phys.* **1948**, *437*, 55-75.

[309] Es necesario que el espectro de emisión del dador se solape, al menos en parte, con el espectro de absorción del aceptor.

[310] Treutlein, H.; Schulten, K.; Brünger, A.; Karplus, M.; Deisenhofer, J.; Michel, H. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1992**, *89*, 75-79.

[311] Para LHCs en plantas, ver: a) Barros, T.; Royant, A.; Standfuss, J.; Dreuw, A.; Kühlbrandt, W. *EMBO J.* **2009**, *28*, 298-306. b) Liu, Z.; Yan, H.; Wang, K.; Kuang, T.; Zhang, J.; Gui, L.; An, X.; Chang, W. *Nature* **2004**, *428*, 287-292. c) Kühlbrandt, W.; Wang, D. N.; Fujiyoshi, Y. *Nature* **1994**, *367*, 614-621.

[312] Para LHCs en bacterias púrpuras, ver: a) Scheuring, S.; Reiss-Husson, F.; Engel, A.; Rigaud, J.-L.; Ranck, J.-L. *EMBO J.* **2001**, *20*, 3029-3035. b) McLuskey, K.; Prince, S. M.; Cogdell, R. J.; Isaacs, N. W. *Biochemistry* **2001**, *40*, 8783-8789. c) Hu, X.; Schulten, K. *Biophys. J.* **1998**, *75*, 683-694. d) Koepke, J.; Hu, X.; Muenke, C.; Schulten, K.; Michel, H. *Structure* **1996**, *4*, 581-597. e) Hu, X.; Xu, D.; Hamer, K; Schulten, K.; Koepke, J.; Michel, H. *Prot. Sci.* **1995**, *4*, 1670-1682. f) Montoya, G.; Cyrklaff, M.; Sinning, I. *J. Mol. Biol.***1995**, *250*, 1-10. g) Karrasch, S; Bullough, P.; Ghosh, R. *EMBO J.* **1995**, *14*, 631-638.

La resolución estructural mediante rayos X del complejo proteico antena LHC-II a partir de bacterias fotosintéticas púrpuras reveló que sus bacterioclorofilas están dispuestas de manera circular (Figura 94).[313,314] Dicho hallazgo estimuló la realización de considerables esfuerzos en la fabricación de anillos biomiméticos cromóforos, muchos de los cuales permitieron vislumbrar la fotofísica de colección y transferencia de energía de dichas proteínas.[315] Cabe destacar que la utilización de BChls como cromóforos en sistemas antena artificiales resulta extremadamente complicado, debido a que no son químicamente estables.[316] Es por ello que es necesaria la búsqueda de mejores candidatos que permitan mimetizar el comportamiento de los sistemas antena naturales. Así, es necesario trabajar con moléculas químicamente estables que absorban luz de manera adecuada y que sean capaces de transferir eficientemente dicha energía a otras partes de la antena.[317]

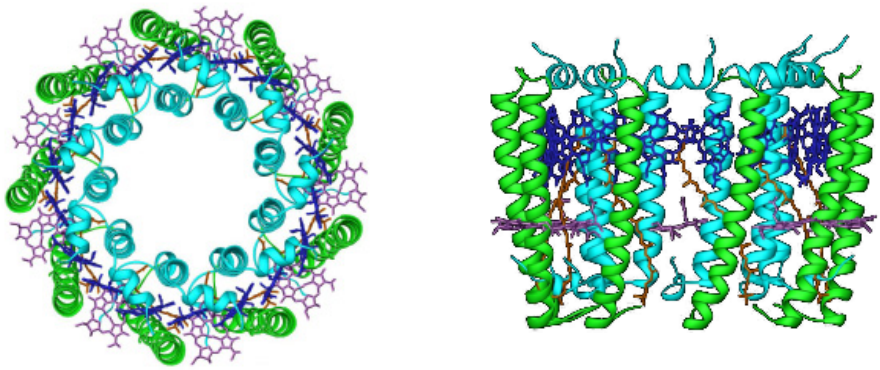


Figura 94. Vista superior (*izquierda*) y lateral (*derecha*) de un complejo captador de luz LHC-II en *Rhodopseudomonas acidophila*.[313] Las proteínas (en color verde y ciano) definen el alineamiento respectivo de las moléculas de bacterioclorofila (BChls *a* en color violeta; BChls *b* en color azul), otorgándoles propiedades óptimas de absorción y emisión para llevar a cabo procesos de transferencia de energía direccionales altamente eficientes. Las moléculas de carotenoide se muestran en color marrón.

La especial relevancia que adquiere el fenómeno de la fotosíntesis ha provocado el desarrollo de numerosas estrategias para llevar a cabo la construcción de una matriz multicromófora altamente eficiente que permita el desarrollo de sistemas fotosintéticos artificiales para la conversión de energía solar.

---

[313] McDermott, G.; Prince, S. M.; Freer, A. A.; Hawthornthwaite-Lawless, A. M.; Papiz, M. Z.; Cogdell, R. J.; Isaacs, N. W. *Nature* **1995**, *374*, 517-521.

[314] La estructura tridimensional del complejo LHC-II en bacterias púrpuras presenta una organización circular compuesta por heterodímeros — cada uno constituido por una apoproteína α y otra β — que se unen conjuntamente a tres moléculas de BChl y a una molécula de carotenoide. La estructura completa es una nonámero $\alpha_9\beta_9$. Los pigmentos están encerrados por dos anillos concéntricos de hélices α transmembrana. Las moléculas de BChl están dispuestas en dos grupos distintos.; nueve moléculas de BChls *a* monoméricas absorben a 800 nm (B800) y dieciocho moléculas de BChls *b* fuertemente acopladas absorben a 850 nm (B850).

[315] a) Rucareanu, S.; Schuwey, A.; Gossauer, A. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 3396-3413. b) Shoji, O.; Tanaka, H.; Kawai, T.; Kobuke, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 8598-8599. c) Nakamura, Y.; Hwang, I.-W.; Aratani, N.; Ahn, T. K.; Ko, D. M.; Takagi, A.; Kawai, T.; Matsumoto, T.; Kim, D.; Osuka, A. *J. Am. Chem.Soc.* **2005**, *127*, 236-246. d) Larsen, J.; Brüggemann, B.; Polívka,T.; Sundström, V.; Åkesson, E.; Sly, J.; Crossley, M. J. *J. Phys. Chem. A* **2005**, *109*, 10654-10662. e) Takahashi, T.; Kobuke, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 2372-2373. f) Li, J.; Ambroise, A.; Yang, S. I.; Diers, J. R.; Seth, J.; Wack, C. R.; Bocian, D. F.; Holten, D.; Lindsey, J. S. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 8927-8940.

[316] a) Gryshuk, A. L.; Chen, Y.; Potter, W.; Ohulchansky, T.; Oseroff, A.; Pandey, R. K. *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 1874-1881. b) Goedheer, J. C. *Biochim. Biophys. Acta* **1958**, *27*, 478-490.

[317] Las **porfirinas** constituyen un claro ejemplo de moléculas cromóforas que pueden ser empleadas como modelo de Chls y BChls en sistemas captadores de luz. Además, dichos compuestos se caracterizan por su gran estabilidad química y por su alta eficiencia en procesos de transferencia energética y/o electrónica.

13. SISTEMAS ARTIFICIALES DE TRANSFERENCIA DE ENERGÍA

13.1. TRANSFERENCIA DE ENERGÍA EN SISTEMAS COVALENTES

Una de las estrategias más comúnmente empleadas para llevar a cabo la preparación de sistemas de captación y transporte energético es aquella que emplea unidades aceptor y dador — como puede ser el caso de diferentes anillos aromáticos, porfirinas y clorofilas de tamaño y forma adecuada — conectadas covalentemente.[318] De esta forma, el grupo de Wasielewski ha llevado a cabo la observación de múltiples vías de transferencia de energía de excitación [EET (*excitation energy transfer*)] en un tetrámero de clorofila (Chl) que presenta tres distancias Chl-Chl diferentes (Figura 95).[319] El correspondiente tetrámero Pir(Chl)$_4$ se sintetizó por unión covalente de 20-(4-etinilfenil)-Chl a las posiciones 1, 3, 6 y 8 de pireno. La posterior

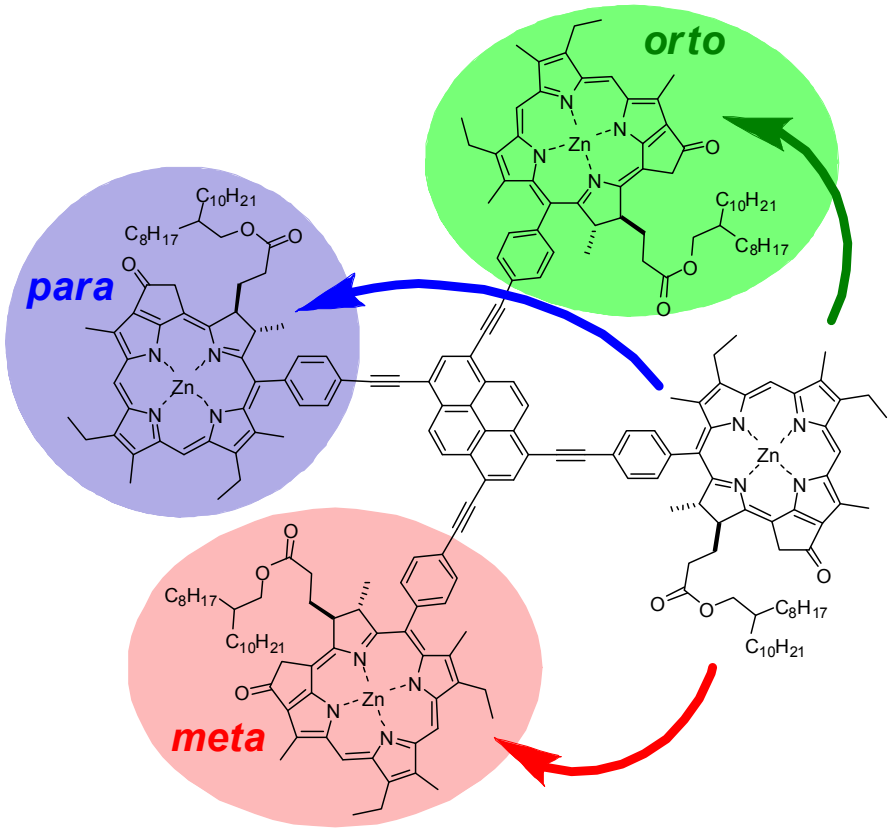


Figura 95. Tetrámero covalente de clorofila *a*, en el que se muestran las tres posibles vías de EET (orto, meta y para).

[318] a) Iehl, J.; Holler, M.; Nierengarten, J.-F.; Yoosaf, K.; Malicka , J. M.; Armaroli, N.; Strub, J.-M.; van Dorsselaer, A.; Delavaux-Nicot, B. *Aust. J. Chem.* **2011**, *64*, 153-159. b) Hirakawa, K.; Segawa, H. *Photochem. Photobiol. Sci.* **2010**, *9*, 704-709. c) Kupstat, A.; Knopp, D.; Niessner, R.; Kumke, M. U. *J. Phys. Chem. B* **2010**, *114*, 1666-1673. d) Hurenkamp, J. H.; Browne, W. R.; Augulis, R.; Pugzlys, A.; van Loosdrecht, P. H. M.; van Esch, J. H.; Feringa, B. L. *Org. Biomol. Chem.* **2007**, *5*, 3354-3362.

[319] Gunderson, V. L.; Wilson, T. M.; Wasielewski, M. R. *J. Phys. Chem. C* **2009**, *113*, 11936-11942.

confirmación de las múltiples vías de EET se realizó mediante medidas espectroscópicas femtosegundo de absorción transitoria [TA (*transient absorption*)] y de anisotropía de absorción transitoria [TAA (*transient absorption anisotropy*)]. Así, se pudo determinar los tiempos de vida media para las tres posibles vías de transferencia de energía (*orto*, 20 ps; *meta*, 34 ps; *para*, 150 ps). Estos resultados indicaron que la EET entre cromóforos no adyacentes con alta fuerza de oscilador,[320] como la *para*-Chl en el tetrámero $Pir(Chl)_4$, es realmente significativa. Además, se observó como la utilización adicional de las vías *menores* de EET (*orto* y *meta*) puede proporcionar mayores oportunidades para el diseño de eficientes captadores de luz en futuros sistemas fotosintéticos artificiales.

La estrategia covalente favorece la construcción de sistemas de transferencia de energía eficientes de manera relativamente sencilla, permitiendo así el estudio de aspectos tan importantes como las constantes de velocidad de transferencia energética y/o electrónica, las distancias y la orientación de los pares dador-aceptor, las interacciones electrónicas y la energía libre de la reacción. Desafortunadamente, esta metodología presenta enormes limitaciones debido fundamentalmente a la extrema complicación, elevada ineficiencia y alto coste que presenta la preparación exclusivamente mediante síntesis covalente de una buena matriz estructural que permita una adecuada orientación y proximidad entre las unidades dadora y aceptora,[321] la cual ha de favorecer una apropiada organización espacial para lograr una transferencia de energía eficiente. Es por ello que actualmente se está trabajando en el desarrollo de nuevas estrategias que permitan optimizar dicho ordenamiento, pudiendo lograr así un control más eficaz de la transferencia de energía. Los procesos de autoensamblaje en los que los componentes individuales se asocian espontáneamente de manera predeterminada se han convertido en una de las técnicas ascendentes ["de abajo hacia arriba" (*"bottom up"*)] más poderosas para imitar el ordenamiento natural de las biomoléculas, facilitando así la preparación de materiales optoelectrónicos bien organizados.[322]

13.2. TRANSFERENCIA DE ENERGÍA EN SISTEMAS NO COVALENTES

El autoensamblaje molecular proporciona una sencilla herramienta para llevar a cabo la organización de un gran número de moléculas cromóforas en forma de estructuras supramoleculares electroactivas que pueden variar su tamaño desde la escala de nanómetros de longitud a las dimensiones macroscópicas.[323] Las estructuras resultantes deben ofrecer vías tanto para la migración de energía de excitación de luz entre los cromóforos de la antena, como para la transferencia energética desde las antenas a los centros de reacción. Además, deben

[320] La fuerza de oscilador es una cantidad adimensional que expresa la fuerza de la transición. Para más información, ver: Hilborn, R. C. *Am. J. Phys.* **1982**, *50*, 982-986.
[321] Los sistemas más adecuados son aquellos en los que las limitaciones estructurales permiten llevar a cabo el control de la distancia y la orientación entre los dadores y aceptores electrónicos.
[322] a) Young, E. R.; Rosenthal, J.; Hodgkiss, J. M.; Nocera, D. G. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 7678-7684. b) Fernández, G.; Pérez, E. M.; Sánchez, L.; Martín, N. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 1094-1097. c) Janssen, P. G. A.; Vandenbergh, J.; Van Dongen, J. L. J.; Meijer, E. W.; Schenning, A. P. H. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 6078-6079. d) Del Guerzo, A.; Olive, A. G. L.; Reichwagen, J.; Hopf, H.; Desvergne, J. P. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 17984-17985.
[323] a) Miller, R. A.; Presley, A. D.; Francis, M. B. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 3104-3109. b) Endo, M.; Fujitsuka, M.; Majima, T. *Chem. Eur. J.* **2007**, *13*, 8660-8666. c) Hu, Y. Z.; Tsukiji, S.; Shinkai, S.; Oishi, S.; Hamachi, I. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 241-253.

incorporar conductos de carga — tales como "cables" moleculares (*molecular "wires"*)[324] — que de manera eficiente puedan mover electrones y huecos entre los centros de reacción y los sitios catalíticos. Durante los últimos años, el reto científico fundamental en este aspecto ha estado focalizado en el desarrollo de pequeños bloques funcionales con un número mínimo de enlaces covalentes, los cuales presentan propiedades adecuadas de reconocimiento molecular para facilitar el autoensamblaje completo de los sistemas fotosintéticos artificiales. De este modo, nos beneficiamos de las formas, tamaños e interacciones intermoleculares que presentan dichas unidades básicas para dirigir la formación de estructuras supramoleculares con mayores propiedades electrónicas.

El grupo de investigación de Wasielewski ha desarrollado durante la última década una novedosa metodología para llevar a cabo la preparación de estructuras supramoleculares que presentan mayores propiedades de captación de energía y de transporte de carga. Dicha estrategia está basada en la utilización de unidades de construcción molecular (*building blocks*) covalentes constituidas por imidas resistentes químicamente y por colorantes diimida, o bien por biomiméticos de porfirinas y clorofilas con formas y tamaños particulares, las cuales se unen mediante interacciones intermoleculares, tales como π–π y/o interacciones ligando-metal. Así, el empleo de 3,4:9,10-bis(dicarboximida) de perileno (PDI) y de sus correspondientes derivados ha atraído un gran interés en la preparación de materiales activos para recogida de luz,[325] fotovoltaica[326] y estudio básico de los procesos de carga fotoinducida y transferencia de energía.[327] Cabe resaltar que la unidad PDI es fotoquímica- y térmicamente estable,[328] y puede ser fácilmente modificada en los nitrógenos de su funcionalidad imida, así como en las posiciones 1, 6, 7 y 12 de la "bahía".[329] Las modificaciones en dichas posiciones pueden alterar las propiedades electrónicas del PDI, dando lugar a derivados que absorben la luz desde regiones del espectro del ultravioleta cercano [NUV (*near-ultraviolet*)] hasta la región del infrarrojo cercano [NIR (*near-infrared*)].[330] Por otra parte, los potenciales redox del PDI se pueden ajustar mediante el empleo de sustituyentes adecuados, lo que permite la preparación de derivados que pueden actuar como buenos aceptores[331] o dadores de electrones.[332] Además, el PDI también presenta la capacidad de autoensamblarse en disolución a través de interacciones hidrofóbicas/hidrofílicas, así como por apilamiento (*stacking*) π–π.[333] La utilización de dicho cromóforo ha permitido la construcción de *building blocks* con especial relevancia en

[324] Los **cables moleculares** son objetos a escala molecular que conducen la corriente eléctrica. Dichas unidades son los pilares fundamentales para la construcción de dispositivos electrónicos moleculares. Presentan diámetros típicos inferiores a 3 nm, mientras que su longitud puede ser macroscópica. Para más información, ver: a) *Charge and excitation transport through molecular wires*; Eds. L. B. A. Siebbeles, F. C. Grozema; Wiley-VCH: Weinheim (Alemania), **2011**. b) Cattena, C. J.; Bustos-Marun, R. A.; Pastawski, H. M. *Phys. Rev. B* **2010**, *82*, 144201. c) Mihailovic, D. *Prog. Mater. Sci.* **2009**, *54*, 309-350. d) *Atomic and molecular wires*; Ed. S. Roth, C. Joachim; Kluwer Academic Publisher: Dordrecht (Holanda), **1997**.

[325] Tomizaki, K.; Loewe, R. S.; Kirmaier, C.; Schwartz, J. K.; Retsek, J. L.; Bocian, D. F.; Holten, D.; Lindsey, J. S. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 6519-6534.

[326] a) Schmidt-Mende, L.; Fechtenkotter, A.; Müllen, K.; Moons, E.; Friend, R. H.; MacKenzie, J. D. *Science* **2001**, *293*, 1119-1122. b) Gregg, B. A.; Cormier, R. A. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 7959-7960.

[327] a) Schenning, A. P. H. J.; van Herrikhuyzen, J.; Jonkheijm, P.; Chen, Z.; Würthner, F.; Meijer, E. W. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 10252-10253. b) Würthner, F.; Thalacker, C.; Sautter, A. *Adv. Mater.* **1999**, *11*, 754-758.

[328] Langhals, H.; Ismael, R. *Eur. J. Org. Chem.* **1998**, 1915-1917.

[329] La secuencia de anillos bencénicos provoca la organización de los átomos de carbono en forma de una región con bahía que imparte un grado elevado de reactividad química. La región bahía es característica de los hidrocarburos policíclicos aromáticos [PAHs (*polycyclic aromatic hydrocarbons*)], la cual comprende un anillo de benceno fusionado en *orto*. En el caso particular del PDI, la región de la bahía se correspondería con las posiciones 1, 6, 7 y 12 del núcleo del perileno. Para más información, ver: a) Baqui, M.; Dutta, T.; Chakraborty, S.; Melinger, J. S.; Zhong, H.; Keightley, A.; Peng, Z. *J. Phys. Chem. A* **2011**, *115*, 1579-1592. b) Platt, K. L.; Grupe, S. *Chem. Res. Toxicol.* **2005**, *18*, 700-710.

[330] Wonneberger, H.; Ma, C.-Q.; Gatys, M. A.; Li, C.; Baüerle, P.; Müllen, K. *J. Phys. Chem. B*, **2010**, *114*, 14343-14347.

[331] Ahrens, M. J.; Fuller, M. J.; Wasielewski, M. R. *Chem. Mater.* **2003**, *15*, 2684-2686.

[332] Zhao, Y.; Wasielewski, M. R. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 7047-7050.

[333] Würthner, F. *Chem. Commun.* **2004**, *14*, 1564-1579.

el campo de la optoelectrónica.[334] Así, Wasielewski *et al.* han podido sintetizar recientemente una tríada dador-aceptor constituida por un aceptor cromóforo PDI, un dador primario aminopireno (AmPir) y un dador secundario diaminobenceno (DAB).[335] Dicha tríada presenta un estado monomérico en tolueno, mientras que en metilciclohexano da lugar a la formación supramolecular de un hexámero helicoidal (Figura 96). Del mismo modo, han podido atestiguar mediante espectroscopia de resonancia paramagnética electrónica [EPR (*electron paramagnetic resonance*)][336] con resolución temporal el primer ejemplo de transporte no covalente de carga secundaria en un sistema π-apilado, el cual resulta ser competitivo con el proceso de recombinación de carga. Este comportamiento es realmente importante para el desarrollo de sistemas artificiales de fotosíntesis y dispositivos de fotovoltaica orgánica para la conversión de energía solar.

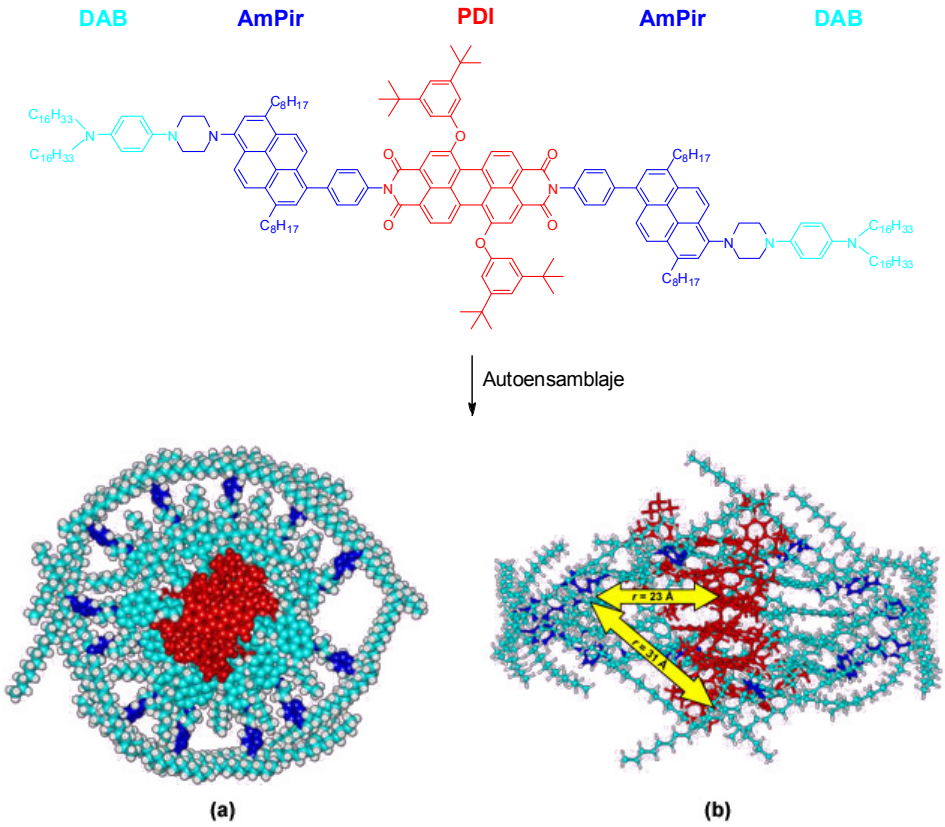


Figura 96. Vista superior (**a**) y lateral (**b**) de la estructura hexamérica helicoidal resultante del proceso de autoensamblaje de la tríada dador-aceptor monomérica DAB-AmPir-PDI-AmPir-DAB. La estructura supramolecular correspondiente ha sido obtenida mediante estudios SAXS/WAXS en metilciclohexano.

[334] a) Kamm, V.; Battagliarin, G.; Howard, I. A.; Pisula, W.; Mavrinskiy, A.; Li, C.; Müllen, K.; Laquai, F. *Adv. Ener. Mater.* **2011**, *2*, 297-302. b) Giaimo, J. M.; Lockard, J. V.; Sinks, L. E.; Scott, A. M.; Wilson, T. M.; Wasielewski, M. R. *J. Phys. Chem. A* **2008**, *112*, 2322-2330.

[335] Bullock, J. E.; Carmieli, R.; Mickley, S. M.; Vura-Weis, J.; Wasielewski, M. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 11919-11929.

[336] La resonancia paramagnética electrónica (EPR) o resonancia de espín electrónico (ESR) es una técnica espectroscópica para el estudio de especies químicas que tienen uno o más electrones no apareados, como pueden ser los radicales libres o los complejos inorgánicos que poseen un ión metálico de transición. Los principios físicos de esta técnica son análogos a los del RMN, pero se excitan espines electrónicos en lugar de nucleares. Para más información, ver: Lund, A.; Shiotani, M.; Shimada, S. *Principles and applications of ESR spectroscopy*; Springer-Verlag: Heidelberg (Alemania), **2011**.

Como hemos indicado anteriormente, durante los últimos años se han realizado considerables esfuerzos en mimetizar la estructura y comportamiento de los LHCs naturales mediante la utilización de cromóforos de forma circular.[315] Sin embargo, se ha observado que es necesaria una estrategia mucho más eficiente que permita la construcción de matrices multicromóforas apropiadas para llevar a cabo el desarrollo de novedosos sistemas fotosintéticos artificiales de conversión y transferencia de energía solar. La posición 20 de la clorofila *a* (Chl *a*) ofrece un nuevo sitio para la fijación rígida de diversos ligandos, los cuales se pueden utilizar en la preparación de estructuras supramoleculares Chl basadas en uniones metal-ligando.[337] Con el fin de explorar esta estrategia, el grupo de Wasielewski ha sintetizado un derivado de zinc 20-(4-piridil)clorofila (ZC) que se autoensambla de manera eficiente para dar lugar al correspondiente tetrámero cíclico (Figura 97).[338] La formación de dicha especie ha sido corroborada en disolución mediante estudios de dispersión de rayos X en ángulo pequeño y grande (SAXS/WAXS) con una fuente de sincrotrón. Estudios exhaustivos de anisotropía han permitido observar como el tetrámero cíclico de ZC resultante presenta velocidades de transferencia de energía intramolecular ultrarrápidas (1.3 ps). El gran momento dipolar que presenta la transición de menor energía electrónica de ZC — en comparación con el de las metaloporfirinas — favorece el aumento de la velocidad de transferencia de energía de Förster (a través del espacio) entre las clorofilas. La extensión de esta estrategia supramolecular hace posible el diseño y autoensamblaje de anillos de clorofila monodispersos de mayor tamaño, los cuales han de favorecer la transferencia de energía en sistemas fotosintéticos artificiales.

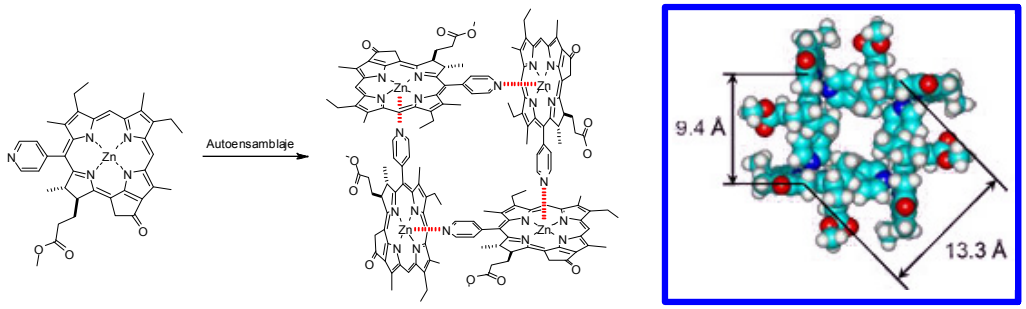


Figura 97. Proceso de autoensamblaje de un derivado de zinc 20-(4-piridil)clorofila para dar lugar al correspondiente tetrámero cíclico. De manera resaltada se muestra la estructura del tetrámero cíclico de ZC obtenida mediante estudios SAXS/WAXS en tolueno.

Siguiendo la misma dirección conceptual, se llevó a cabo la síntesis de un homodímero de Chl enlazado mediante una unidad de butadiino, cuyas propiedades fotofísicas fueron estudiadas en tolueno.[339] La unión butadiino entre las posiciones 20 de ambos macrociclos dio lugar a una nueva transición electrónica polarizada a lo largo del eje longitudinal del correspondiente ensamblaje dimérico. Esta transición aumenta en gran medida la capacidad del homodímero para absorber el espectro solar en un rango amplio de longitud de onda. Medidas espectroscópicas femtosegundo de absorción transitoria revelaron que la velocidad

[337] Kelley, R. F.; Tauber, M. J.; Wasielewski, M. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 4779-4791.
[338] Kelley, R. F.; Goldsmith, R. H.; Wasielewski, M. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 6384-6385.
[339] Kelley, R. F.; Lee, S. J.; Wilson, T. M.; Nakamura, Y.; Tiede, D. M.; Osuka, A.; Hupp, J. T.; Wasielewski, M. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 4277-4284.

relativa de rotación de los macrociclos alrededor del enlace butadiino es similar a la que se observa en sistemas de porfirina análogos.[340] La posterior adición de ligandos simétricos de triple unión (*3-fold*) coordinantes a metales induce el autoensamblaje en forma de estructuras prismáticas, en las cuales los homodímeros Chl-Chl comprenden las caras de los prismas (Figura 98).[339] Dichas estructuras fueron confirmadas por SAXS y mediciones WAXS en disolución usando una fuente de sincrotrón. La fotoexcitación de los correspondientes ensamblajes prismáticos permitió observar la presencia de diversos procesos de transferencia de energía a través del espacio altamente eficientes, los cuales se producen de manera intramolecular entre los diferentes dímeros macrocíclicos dentro de los propios prismas. La dependencia de la distancia de la transferencia de energía entre las caras de los prismas se observó mediante la variación del tamaño de los ensamblajes prismáticos, empleando para ello ligandos simétricos de triple unión que presentan "brazos" de diferente longitud. De este modo, se pudo comprobar que dicha dependencia es algo más débil que la predicha por el modelo dipolo-dipolo de Förster, dando lugar así a procesos de transferencia de energía mucho más eficientes cuanto mayores son las distancias entre las caras de los prismas. Estos resultados muestran que el autoensamblaje de prismas macrocíclicos discretos proporciona una nueva y útil estrategia para controlar el flujo del excitón singlete en sistemas fotosintéticos artificiales.

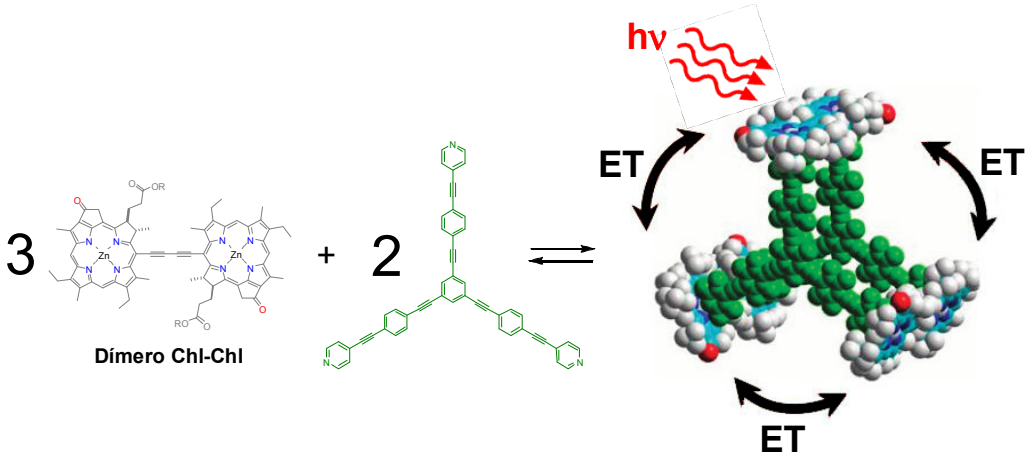


Figura 98. Proceso de autoensamblaje de un prisma simétrico que contiene unidades diméricas Chl-Chl en sus caras, las cuales dan lugar a diversos procesos intramoleculares de transferencia de energía. De manera resaltada se muestra la estructura del prisma obtenida mediante estudios SAXS/WAXS en tolueno.

A escala molecular, los procesos controlados de transferencia de energía han adquirido una especial importancia debido a su gran aplicabilidad en áreas tan diversas como la fotosíntesis artificial, electrónica molecular y/o óptica.[276d,341] Dichos fenómenos se han empleado frecuentemente para el estudio de novedosos y numerosos sistemas artificiales no covalentes.[342] Cabe destacar el interés que presentan las ciclodextrinas multicromóforas debido a su aplicación como modelos de estudio en transporte de energía de excitación[343] y efectos de

[340] Winters, M. U.; Kaernbratt, J.; Eng, M.; Wilson, C. J.; Anderson, H. L.; Albinsson, B. *J. Phys. Chem. C* **2007**, *111*, 7192-7199.
[341] Gust, D.; Moore, T. A.; Moore, A. L. *Acc. Chem. Res.* **1993**, *26*, 198-205.
[342] Wasielewski, M. R. *Acc. Chem. Res.* **2009**, *42*, 1910-1921.
[343] Berberan-Santos, M. N.; Choppinet, P.; Fedorov, A.; Jullien, L.; Valeur B. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 2526-2533.

antena[344], como nanoreactores para inducir fotoreacciones selectivas dentro de la cavidad mediante procesos de transferencia de energía desde los cromóforos antena,[345] o como nanosensores fluorescentes de surfactantes catiónicos u otras especies catiónicas.[346] Particularmente importante resulta su utilización en la construcción de miméticos de antenas fotosintéticas captadoras de luz, ya que presentan una organización circular de los cromóforos análoga a la de los complejos fotosintéticos LHC-I y LHC-II (Figura 94).[315] Así, el grupo de investigación de Valeur ha podido sintetizar una nueva clase de β-ciclodextrinas (β-CDs) solubles en agua con siete unidades cromóforas esteroideas de naftaleno, las cuales pueden formar complejos de inclusión 2:1 en presencia de diferentes colorantes (*dyes*). Dichos nanoensamblajes se han empleado para comparar — mediante experimentos de intensidad y anisotropía de fluorescencia con resolución temporal — las dinámicas de los procesos de transporte de energía de excitación entre los cromóforos antena (homotransferencia) con las dinámicas de los procesos de transferencia de energía desde los cromóforos antena a un aceptor encapsulado (heterotransferencia) (Figura 99).[347] Finalmente, hemos de indicar que recientemente se han diseñado muchos otros sistemas artificiales no covalentes de transferencia de energía basados en ADN,[348] dendrímeros,[349] nanotubos peptídicos,[350] nanopartículas,[351] polímeros[352] y organizaciones de porfirinas[353] o cumarinas.[354]

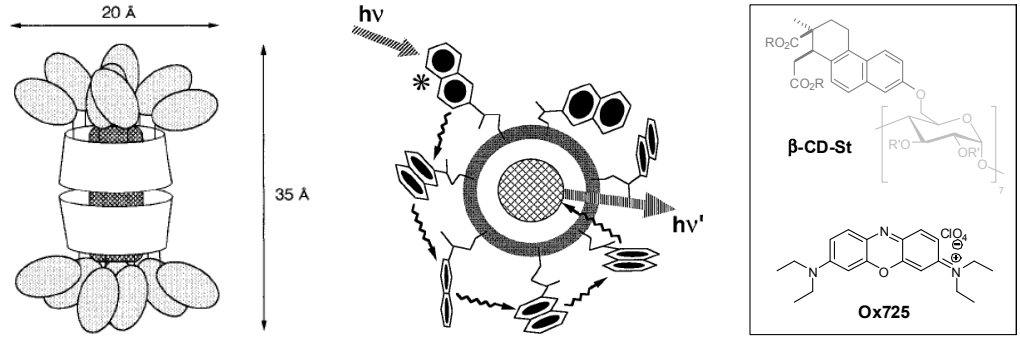


Figura 99. Representación esquemática de un complejo (β-CD-St)$_2$: colorante que puede dar lugar a procesos de salto (*hopping*) y atrapado (*trapping*) de energía de excitación. De manera resaltada se muestra la estructura de las β-ciclodextrinas esteroideas solubles en agua (β-CD-St) y del colorante (*dye*) aceptor oxazina (Ox725) que se encapsula en el interior del complejo homodimérico resultante del autoensamblaje de las β-CD-Sts.

La presencia de cromóforos adecuados (normalmente fluoróforos con óptimas propiedades espectroscópicas) permite evaluar los diferentes procesos de transferencia de energía que tienen lugar en una gran multitud de ensamblajes moleculares mediante el empleo de técnicas espectroscópicas de fluorescencia apropiadas.

[344] Jullien, L.; Canceill, J.; Valeur, B.; Bardez, E.; Lefèvre, J. P.; Lehn, J.-M.; Marchi-Artzner, V.; Pansu, R. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 5432-5442.
[345] Wang, P.; Jullien, L.; Valeur, B.; Filhol, J.-S.; Canceill, J.; Lehn, J.-M. *New J. Chem.* **1996**, *20*, 895-907.
[346] Choppinet, P.; Jullien, L.; Valeur, B. *J. Chem. Soc., Perkin. Trans. 2.* **1999**, 249-255.
[347] Berberan-Santos, M. N.; Choppinet, P.; Fedorov, A.; Jullien, L.;Valeur, B. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122,* 11876-11886.
[348] Albinsson, B. *Nat. Chem.* **2011**, *3*, 269-270.
[349] Gilat, S. L.; Adronov, A. Fréchet, J. M. J. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 1422-1427.
[350] Kim, J. H.; Lee, M.; Lee, J. S.; Park, C. B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 517-520.
[351] Li, M.; Cushing, S. K.; Wang, Q.; Shi, X.; Hornak, L. A.; Hong, Z.; Wu, N. *J. Phys. Chem. Lett.* **2011**, *2*, 2125-2129.
[352] Dupray, L. M.; Devenney, M.; Striplin, D. R.; Meyer, T. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 10243-10244.
[353] Van Patten, P. G.; Shreve, A. P.; Donohoe, R. J. *J. Phys. Chem.* **1998**, *102*, 4209-4216.
[354] Tyson, D. S.; Castellano, F. N. *Inorg. Chem.* **1999**, *38*, 4382.

La importancia de la fluorescencia como herramienta de investigación en el estudio de la estructura y dinámica de la materia — y particularmente de los sistemas artificiales de transferencia energética — se debe fundamentalmente a la gran sensibilidad, especificidad y selectividad que aportan las técnicas fluorométricas, así como a la relevante información espacial y temporal que suministran sobre el ambiente que rodea a la molécula emisora.

13.3. FLUORESCENCIA COMO HERRAMIENTA EN SISTEMAS ARTIFICIALES DE TRANSFERENCIA DE ENERGÍA

13.3.1. INTRODUCCIÓN

La *luminiscencia*[355,356] se define como la emisión de fotones de luz ultravioleta, visible o infrarrojo a partir de especies excitadas electrónicamente. Los compuestos luminescentes pueden ser de diferentes clases:

- Orgánicos: hidrocarburos aromáticos (naftaleno, antraceno, fenantreno, pireno, perileno,...), fluoresceína, rodaminas, cumarinas, oxazinas, polienos, aminoácidos (triptófano, tirosina y fenilalanina), etc.
- Inorgánicos: iones uranilo (UO_2^{+}), iones lantánido (Eu^{3+}, Tb^{3+},...), vidrios dopados (con Nd, Mn, Ce, Sn, Cu, Ag,…), cristales [ZnS, CdSe, GaP, Al_2O_3/Cr^{3+} (rubí),…], etc.
- Organometálicos: complejos rutenio [$Ru(biPi)_3$], complejos con iones lantánido, complejos con agentes fluorogénicos quelatantes (oxina,…), etc.

Los tipos de luminiscencia se clasifican según el modo de excitación (Tabla 6), destacando particularmente aquellos fenómenos que resultan de la absorción de fotones, los cuales elevan a las especies absorbentes a estados electrónicos excitados. La emisión de fotones que acompaña los procesos de relajación (desexcitación) se denomina *fotoluminiscencia* [fluorescencia, fosforescencia o fluorescencia retardada (DF; *delayed fluorescence*)],[357] la cual es uno de los posibles efectos físicos resultantes de la interacción de la luz con la materia. Cabe destacar que la fotoluminiscencia presenta una especial relevancia debido a su gran aplicabilidad en el ámbito científico.

---

[355] La *luminiscencia* es toda emisión de luz cuyo origen no radica exclusivamente en el aumento de temperatura; la emisión de radiación lumínica puede ser generada en condiciones de temperatura ambiente o más baja. Por el contrario, la *incandescencia* es una emisión de luz provocada directamente por el calor (aumento de temperatura). Es por ello que la luminiscencia se denomina habitualmente como *luz fría* (*cold light*), mientras que la incandescencia se conoce con el nombre de *luz caliente* (*hot light*).

[356] a) *Luminescence applied in sensor science (Topics in current chemistry)*, Vol. 300; Eds. L. Prodi, M. Montalti, N. Zaccheroni; Springer: Heildelberg (Alemania), **2011**. b) *Luminescence. From theory to applications*; Ed. C. R. Ronda; Wiley-VCH: Weinheim (Alemania), **2008**. c) *Handbook of luminescence, display materials and devices*; Eds. H. S. Nalwa, L. S. Rohwer; American Scientific Publishers: Los Angeles (Estados Unidos), **2003**. d) *Spectrophotometry, luminescence and colour; Science & compliance (Analytical spectroscopy library)*, Vol. 6; Eds. G. Burgess, D. G. Jones; Elsevier: Amsterdam (Holanda), **1995**.

[357] a) Di Bartolo, B.; Collins, J. "Principles of photoluminescence". En *Handbook of luminescent semiconductor materials*; Eds. L. Bergman, J. L. McHale; CRC Press: Boca Ratón [Florida (Estados Unidos)], **2012**, 1-20. b) Ye, R.; Barron, A. R. "Photoluminescence spectroscopy and its applications". En *Physical methods in Inorganic and Nano Chemistry*; Barron, A. R. Conexión sitio Web: http://cnx.org/content/m23040/1.8/ [*Versión 1.8*; 16 de Junio; *Creative Commons Attribution License* CC-BY 3.0], **2010**. c) *Photoluminescence research progress*; Eds. H. K. Wright, G. V. Edwards; Nova Science Publishers: New York (Estados Unidos), **2008**.

Tabla 6. Tipos de luminiscencia.

Fenómeno	Modo de excitación
Fotoluminiscencia (fluorescencia, fosforescencia, fluorescencia retardada)	Absorción de luz (fotones)
Radioluminiscencia	Radiación ionizante (rayos X, α, β, γ)
Catodoluminiscencia	Rayos catódicos (haces de electrones)
Electroluminiscencia	Campo eléctrico
Termoluminiscencia	Calentamiento después de un almacenamiento previo de energía (irradiación radiactiva)
Quimioluminiscencia	Procesos químicos (oxidación,…)
Bioluminiscencia	Procesos bioquímicos
Tribololuminiscencia	Fuerzas electrostáticas y de fricción
Sonoluminiscencia	Ultrasonidos

Una vez una molécula es excitada por la absorción de un fotón, puede regresar al estado fundamental mediante emisión de fluorescencia o fosforescencia, aunque hemos de destacar que otras vías de relajación alternativas son altamente probables (Figura 100). Así, cabe resaltar procesos como la conversión interna [(IC); regreso directo al estado fundamental sin emisión], el cruce de sistemas [(ISC); posiblemente seguida de emisión de fosforescencia], la transferencia de carga intramolecular y el cambio conformacional. Además, hemos de señalar que existen otras alternativas consecuencia de las interacciones que se establecen entre la molécula en el estado excitado y otras moléculas (relajadas), dando lugar a procesos competitivos con la desexcitación tan relevantes como la formación de excímeros y exciplejos y las transferencias energéticas, electrónicas y/o protónicas. Todas las vías de relajación mencionadas pueden competir con la emisión de fluorescencia si tienen lugar en una escala de tiempos comparable con el tiempo de vida durante el cual las moléculas permanecen en el estado excitado. Dicho tiempo medio representa la ventana de tiempo experimental (*experimental time window*) para la observación de procesos dinámicos. Las características de fluorescencia (espectro, rendimiento cuántico,[358] tiempo de vida[359]), las cuales se ven afectadas por cualquier proceso de estado excitado que implique interacciones de la molécula excitada

[358] El rendimiento cuántico de fluorescencia (ϕ_F) es la fracción de moléculas excitadas que regresan al estado fundamental S_0 mediante emisión de fotones de fluorescencia. En otras palabras, el rendimiento cuántico de fluorescencia es la relación que existe entre el número de fotones emitidos (durante todo el decaimiento) y el número de fotones absorbidos.

[359] El tiempo de vida de la fluorescencia (τ_F) depende básicamente del tiempo promedio que permanece la molécula en su estado de excitación antes de emitir un fotón.

con su entorno más cercano, pueden proporcionar información sobre dicho microambiente. Debemos señalar que algunos procesos de estados excitados (cambio conformacional, transferencia de electrones y/o protones, transferencia de energía, formación de excímeros y/o exciplejos,…) pueden dar lugar a especies fluorescentes cuya emisión se puede superponer a la de la molécula inicialmente excitada. Este tipo de emisiones se debe distinguir de la fluorescencia "primaria" proveniente de la molécula excitada.

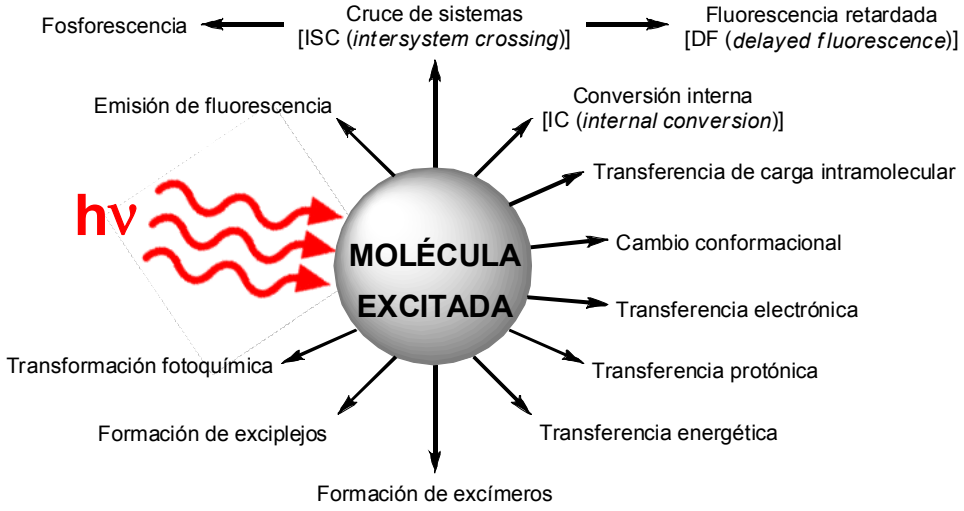


Figura 100. Posibles vías de relajación (desexcitación) de moléculas excitadas.

El diagrama de Perrin-Jablonski[305,360] es un mecanismo eficaz para visualizar de manera sencilla los posibles procesos que pueden tener lugar como consecuencia de una transición radiactiva o no radiactiva (Figura 101). En el mismo, los estados electrónicos singletes se nombran como S_0 (estado electrónico fundamental), S_1, S_2,…, mientras que los estados tripletes se denotan como T_1, T_2,… Cabe destacar que los niveles vibracionales están asociados a cada estado electrónico. Del mismo modo, es importante resaltar que la absorción es muy rápida (~ 10^{-15} s) respecto al resto de procesos, por lo que — de acuerdo al principio de Frank-Condon[305,361] — no existe desplazamiento concomitante del núcleo. Las flechas verticales corresponden a la absorción desde el nivel vibracional 0 (nivel más bajo) de S_0, debido a que la mayoría de moléculas se encuentran en este nivel a temperatura ambiente. La absorción de un fotón puede llevar a una molécula a uno de los niveles vibracionales de S_1, S_2,… Las posibles

[360] a) Atkins, P.; de Paula, J. *Atkins' physycal chemistry [9th edn]*; Oxford University Press: Oxford (Reino Unido), **2010**. b) Jablonski, A. *Z. Physik.* **1935**, *94*, 38-46. c) Jablonski, A. *Nature* **1933**, *131*, 839-840. d) Perrin, F. *Ann. Phys.* **1929**, *12*, 169-275.

[361] La importancia relativa de las sub-bandas vibracionales en la distribución de la intensidad de una transición electrónica se interpreta sobre la base del principio de Franck-Condon. Dicho principio se fundamenta en el hecho de que las masas de los núcleos son mucho mayores que la del electrón, por lo que las transiciones electrónicas en una molécula tienen lugar de manera extremadamente rápida (10^{-15} s) cuando se comparan con el movimiento vibracional de los núcleos atómicos (10^{-10}-10^{-12} s). De esta forma, el principio de Franck-Condon establece que la geometría de una molécula es la misma antes y después de la transición electrónica. Para más información, ver: a) Tellinghuisen, J. "The Franck-Condon principle in bound-free transitions". En *Advances in chemical physics: photodissociation and photoionization [Vol. 60]*; Ed. K. P. Lawley; John Wiley & Sons, Inc.: Hoboken (Estados Unidos), **2007**. b) Condon, E. *Phys. Rev.* **1928**, *32*, 858-872. c) Condon, E. *Phys. Rev.* **1926**, *28*, 1182-1201. d) Franck, J. *T. Faraday Soc.* **1926**, *21*, 536-542.

vías de relajación posteriores conllevan procesos tales como fluorescencia (F),[362] fosforescencia (P),[363] fluorescencia retardada (DF),[364] conversión interna (IC),[365] cruce de sistemas (ISC),[366] relajación vibracional (VR)[367] o desactivación no radiactiva (NRD).[368] Además, hemos de recordar que — aunque no se muestran en la figura 101 — existen otras alternativas de relajación consecuencia de las interacciones que tienen lugar en el estado excitado con otras moléculas, entre las que se recogen procesos fotofísicos tan importantes como la emisión de excímeros y la transferencia energética y/o electrónica. Estas últimas serán tratadas de manera particular en secciones posteriores de esta Tesis Doctoral.

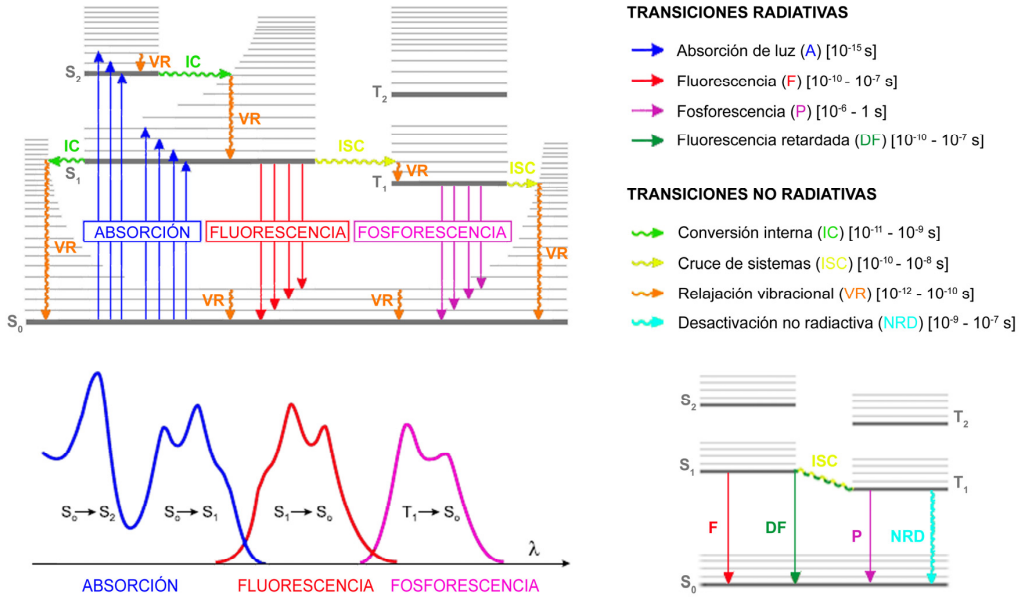


Figura 101. Diagramas de Perrin-Jablonski, mostrando las principales transiciones radiativas y no radiativas que pueden tener lugar en una molécula excitada y los tiempos característicos que llevan asociados cada una de ellas. En la parte inferior (*izquierda*) se indica las posiciones relativas de los espectros de absorción, fluorescencia y emisión.

[362] La fluorescencia (F) se corresponde con la emisión de fotones (transición radiactiva) que acompaña al proceso de relajación $S_1 \rightarrow S_0$.
[363] La fosforescencia (P) se corresponde con la emisión de fotones (transición radiactiva) que acompaña al proceso de relajación $T_1 \rightarrow S_0$.
[364] El cruce de sistemas $T_1 \rightarrow S_1$ tiene lugar cuando la diferencia de energía entre ambos estados es pequeña y el tiempo de vida de T_1 es suficientemente largo. Dicha transición da lugar posteriormente a una emisión con la misma distribución espectral que la fluorescencia normal (F) pero con mucho mayor tiempo de decaimiento, debido a que las moléculas permanecen en el estado triplete (T_1) antes de emitir desde S_1. La emisión fluorescente resultante se denomina fluorescencia retardada (DF). Cabe destacar que este proceso está activado térmicamente, por lo que su eficiencia aumenta con la temperatura.
[365] La conversión interna (IC) es una transición no radiactiva que tiene lugar entre dos estados electrónicos de misma multiplicidad de espín [$S_n \rightarrow S_m$; n y m con idéntica multiplicidad de espín]. En disolución, el proceso es seguido de una relajación vibracional (VR) hacia el nivel vibracional más bajo del estado electrónico final.
[366] El cruce de sistemas (ISC) es un proceso de relajación no radiactivo que tiene lugar entre dos niveles vibracionales isoenergéticos que pertenecen a estados electrónicos de diferente multiplicidad [$S_n \rightarrow T_m$; n y m con diferente multiplicidad de espín].
[367] La relajación vibracional (VR) comprende la transferencia de manera vibracional del exceso de energía de una especie excitada a moléculas del disolvente. El exceso de energía vibracional se pierde inmediatamente como consecuencia de los choques entre las moléculas excitadas y el disolvente.
[368] La desactivación no radiactiva (NRD) tiene lugar entre el estado electrónico triplete T_1 y el estado electrónico singlete fundamental S_0 [$T_1 \rightarrow S_0$]. Dicha transición no radiactiva compite con la fosforescencia (transición radiactiva), siendo predominante sobre ella en disolución a temperatura ambiente.

13.3.2. SONDAS FLUORESCENTES

La especial relevancia de la fluorescencia como herramienta en el estudio estructural y dinámico de la materia radica fundamentalmente en la gran información que aporta sobre el microambiente que rodea a la molécula emisora.[369] Cabe indicar que existen numerosos parámetros físicos y químicos (tales como temperatura, polaridad, pH, presión, viscosidad, enlaces de hidrógeno, potencial eléctrico,…) que caracterizan dicho microentorno, por lo que pueden afectar de manera considerable a las características de fluorescencia de una molécula. Como consecuencia de la fuerte influencia que ejerce el medio circundante en la emisión de fluorescencia, las moléculas fluorescentes son empleadas actualmente como sondas para la investigación de sistemas físicoquímicos, bioquímicos y biológicos. Dichas sondas fluorescentes (*fluorescent probes*) se dividen en tres grupos fundamentales: las sondas intrínsecas, las sondas extrínsecas unidas covalentemente y las sondas extrínsecas asociadas. Las sondas intrínsecas son ideales, aunque existen muy pocos ejemplos (el más destacado es el triptófano en proteínas). Los casos de sondas extrínsecas unidas covalentemente son numerosos (Figura 102a),[370] y presentan la ventaja — respecto a las asociadas — de que su localización es conocida. Aún así, debido a la dificultad que presenta la síntesis de moléculas o macromoléculas con sondas específicas unidas covalentemente, la mayoría de investigaciones

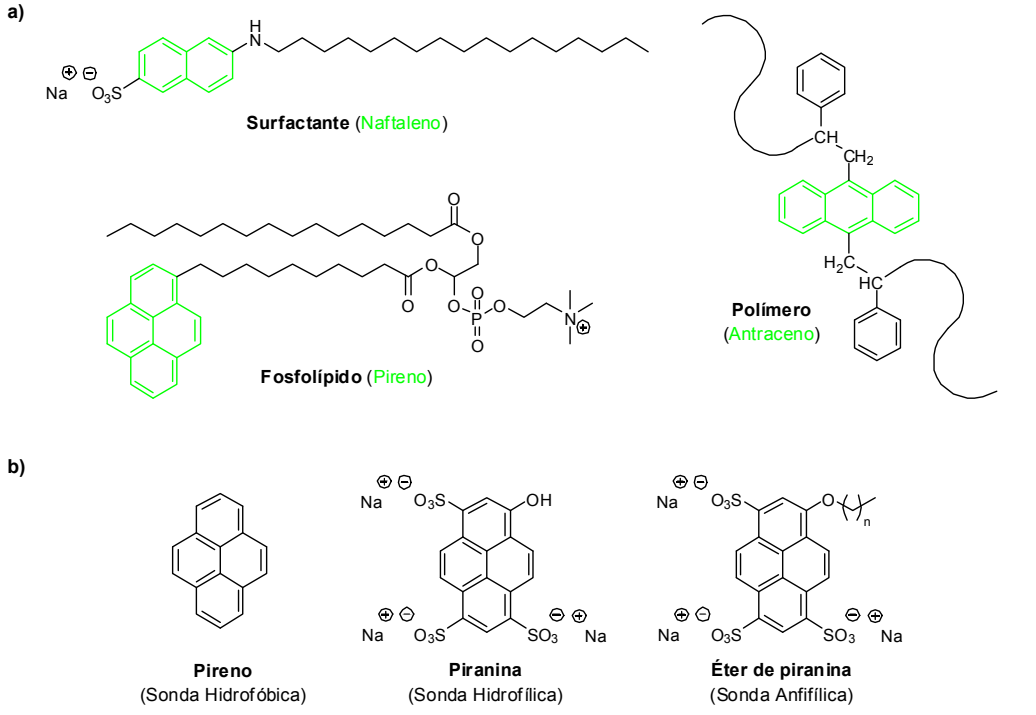


Figura 102. a) Ejemplos de diferentes clases de compuestos que presentan sondas fluorescentes (en color verde) unidas covalentemente. **b)** Ejemplos de sondas fluorescentes hidrofóbicas, hidrofílicas y anfifílicas.

[369] El éxito de la fluorescencia también es consecuencia de la especificidad de las características de fluorescencia debido al microambiente de la molécula emisora.
[370] Existen varios ejemplos de sondas fluorescentes unidas a surfactantes, cadenas de polímeros, fosfolípidos, proteínas, polinucleótidos,…

son llevadas a cabo empleando sondas asociadas no covalentes. Los sitios de solubilización de las sondas extrínsecas se rigen por su naturaleza química y por las interacciones específicas resultantes, las cuales se pueden establecer en la región del sistema que se considera. De este modo, el carácter hidrófilo, hidrófobo o anfifílico (anfipático) de una sonda es realmente esencial (Figura 102b). Así por ejemplo, el pireno (Pir) es una sonda de regiones hidrófobas; además, su sensibilidad a la polaridad es extremadamente útil. En contraste, la piranina[371] es muy hidrofílica, por lo que se localizará en regiones acuosas hidrofílicas; además, es sensible al pH. La introducción de una cadena alquílica larga [-$(CH_2)_n$-CH_3] en el grupo hidroxilo de la piranina provoca que la molécula resultante (éter de piranina)[372] se convierta en anfifílica, a la vez que se pierde la sensibilidad al pH; la funcionalidad fluorófora desempeña el papel de una cabeza polar, por lo que se localizará en la interfaz surfactante-agua de sistemas compuestos por moléculas anfifílicas (bicapas de membranas y vesículas, sistemas micelares,…). De esta manera, se pone de manifiesto que la elección de una adecuada sonda fluorescente es crucial para obtener interpretaciones inequívocas.

Cuando un analito es fluorescente, es posible su detección fluorimétrica directa mediante la utilización de un espectrofluorímetro que opere a longitudes de onda de excitación y observación apropiadas. Este es el caso de hidrocarburos aromáticos (como por ejemplo en aceites crudos), proteínas (en leche de vaca, en suero de sangre,…), algunas drogas (morfina), clorofilas, etc. Sin embargo, la mayoría de iones y moléculas no son fluorescentes, por lo que se precisa de métodos indirectos tales como:

- **Derivatización.** La reacción de un analito con un reactivo da lugar a un compuesto fluorescente.[373] Este método es usado habitualmente en bioquímica y química clínica.
- **Formación de complejos fluorescentes.** Es la base de la mayoría de métodos de reconocimiento de iones y moléculas.
- **Inhibición (*quenching*) de la fluorescencia.** Es resultado de la colisión del analito con un compuesto fluorescente. Este método es particularmente adecuado para la detección de gases tales como el O_2 (disuelto en agua o sangre), SO_2, H_2S, amoníaco, HCl, Cl_2,…

Actualmente, la formación de complejos fluorescentes constituye una eficaz herramienta para llevar a cabo el estudio de propiedades estructurales de numerosos sistemas moleculares,[374] así como de fenómenos de agregación y de cambios conformacionales de proteínas y otras moléculas. Además, dicho método constituye la base fundamental para el análisis de diferentes procesos que permiten utilizar como señal de respuesta la variación de la intensidad de la fluorescencia tras la coordinación. Dentro de éstos, cabe destacar fenómenos tan relevantes como la emisión de excímeros o exciplejos, la desactivación por transferencia de energía (EET) y/o la transferencia electrónica fotoinducida (PET).

[371] La piranina es el nombre común que se suele emplear para denominar a la sal trisódica del ácido 8-hidroxipireno-1,3,6-trisulfónico. Es un fluoróforo soluble en agua que presenta importantes aplicaciones como agente colorante, reactivo de detección óptica e indicador de pH.
[372] Sal trisódica del ácido 8-alcoxipireno-1,3,6-trisulfónico.
[373] La derivatización se emplea a menudo en conjunción con cromatografía líquida con detección de fluorescencia.
[374] El inmunoensayo de fluorescencia es un método de mayor importancia en aplicaciones bioquímicas y biomédicas.

13.3.3. FORMACIÓN DE EXCÍMEROS Y EXCIPLEJOS

Un ***excímero***[305] se define de forma general como un complejo formado por la interacción de una molécula de fluoróforo en el estado excitado con otra en el estado fundamental (Esquema 9).[375] Así, un excímero equivale a un complejo homo- o heterodimérico de corta duración (tiempos de vida del orden de los nanosegundos) donde al menos una de las moléculas se encuentra en un estado electrónico excitado. Hemos de destacar que habitualmente se emplea erróneamente el vocablo excímero para denominar ambos casos (tanto homo- como heterodímeros). De forma mucho más correcta, el término ***excímero*** [proveniente de la contracción de "dímero excitado" (***excited dimer***)][376] se limita estrictamente a aquellas situaciones en las que se forma una especie homodimérica; los componentes que conforman el dímero son idénticos (Esquema 9a). Por otra parte, el término ***exciplejo*** [proveniente de la contracción de "complejo excitado" (***excited complex***)][376d,377,378] es utilizado de forma más precisa en el caso concreto de que se obtenga una especie heterodimérica; los componentes que constituyen el complejo son diferentes (Esquema 9b).

a)

$$^1M^* + {}^1M \rightleftharpoons {}^1(MM)^*$$

b)

$$^1D^* + {}^1A \rightleftharpoons {}^1(DA)^*$$

$$^1A^* + {}^1D \rightleftharpoons {}^1(DA)^*$$

Esquema 9. a) Formación de excímeros [(MM*); dímeros en el estado excitado] por colisión entre una molécula excitada (M*) y una molécula idéntica no excitada (M). La representación simbólica (MM)* muestra que la energía de excitación está deslocalizada sobre las dos partes, tal y como ocurre en el caso de las interacciones excitónicas. **b)** Formación de exciplejos [(DA)*; complejos estado excitado] por colisión entre una molécula excitada [dadora (D) o aceptora (A) de electrones] y una molécula diferente no excitada (aceptora o dadora de electrones).

La formación de excímeros y exciplejos son procesos controlados por difusión. Esto provoca que los efectos fotofísicos sean detectados a concentraciones relativamente altas de las especies que se tratan, de modo que pueden ocurrir un número suficiente de colisiones durante los tiempos de vida del estado excitado. Cabe resaltar que tanto la temperatura como la viscosidad son parámetros realmente importantes a la hora de evaluar dichos efectos.

---

[375] Los excímeros — en ciertas ocasiones, especies diatómicas — se forman entre dos átomos o moléculas que no podrían unirse o enlazarse si ambas estuvieran en su estado fundamental.

[376] a) Suk, J.; Wu, Z.; Wang, L.; Bard, A. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 14675-14685. b) Karuppannan, S.; Chambron, J.-C. *Chem. Asian J.* **2011**, *6*, 964-984. c) Yoo, H.; Yang, J.; Yousef, A.; Wasielewski, M. R.; Kim, D. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 3939-3944. d) Cho, D. W.; Fujitsuka, M.; Choi, K. H.; Park, M. J.; Yoon, U. C.; Majima, T. *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 4576-4582. e) de Silva, P.; Gunaratne, H. Q. N.; Gubnnlaugsson, T.; Huxley, A. J. M.; McCoy, C. P.; Rademacher, J. T.; Rice, T. E. *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 1515-1566. f) Barashkov, N. N.; Sakhno, T. V.; Nurmukhametov, R. N.; Khakhel', O. A. *Russ. Chem. Rev.* **1993**, *62*, 539-552. g) Birks, J. B. *Rep. Prog. Phys.* **1975**, *38*, 903-974.

[377] a) Mac, M.; Uchacz, T.; Danel, A.; Miranda, M. A.; Paris, C.; Pischel, U. *Photochem. Photobiol. Sci.* **2008**, *7*, 633-641. b) MacLachlan, M. J.; Rose, A.; Swager, T. M. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123,* 9180-9181. c) Galindo, F.; Jiménez, M. C.; Miranda, M. A.; Tormos, R. *Chem. Commun*. **2000**, *18*, 1747-1748. d) Speiser, S. *Chem. Re*v. **1996**, *96*, 1953-1976. e) Basu, S. *J. Photochem.* **1978**, *9*, 539-544.

[378] Un ejemplo bien conocido de un exciplejo es el complejo estado excitado que forman el antraceno y la *N,N*-dietilanilina, el cual es resultado de la transferencia de un electrón desde la molécula con grupo amino hasta la molécula de antraceno en su estado excitado. Para más información, ver: a) Weller, A. "Mechanism of electron transfer reactions with excited molecules". En *Fast reactions and primary processes in chemical kinetics, Proceedings of the Fifth Nobel Symposium*; Ed. S. Claesson; Interscience Publishers (John Wiley & Sons): New York (Estados Unidos), **1967**, 413-428. b) Weller, A. *Prog. React. Kinet*. **1961**, *1*, 187-213.

Los excímeros solamente pueden formarse cuando uno de los componentes del homodímero se encuentra en su estado excitado. Cuando el excímero retorna a su estado fundamental, sus componentes se disocian, pudiendo — en algunos casos — llegar a repelerse entre sí. La formación de excímeros es un fenómeno dependiente de una interacción bimolecular, por lo que está favorecida por la presencia de una alta densidad de monómeros. Por el contrario, en condiciones de baja densidad, simplemente se producen monómeros excitados que decaen a su estado fundamental antes de que puedan interactuar con otro monómero no excitado para formar así el correspondiente excímero.

La banda de emisión de fluorescencia de un excímero se encuentra localizada a longitudes de onda mayores (menor energía) que la correspondiente al estado excitado del monómero (Figura 103).[379] Además, dicha señal no muestra bandas vibrónicas.[380] De este modo, un excímero puede ser convenientemente determinado y caracterizado mediante su emisión fluorescente.

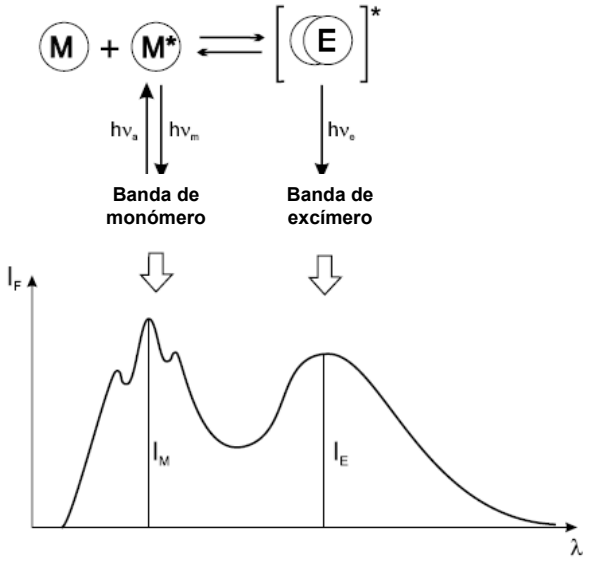


Figura 103. Espectro de emisión de fluorescencia correspondiente a la formación de excímeros. De manera resaltada se muestran las bandas del monómero y del complejo excimérico resultante.

Las especies excimércas se obtienen habitualmente cuando dos unidades fluoróforas idénticas (normalmente moléculas aromáticas planas) se sitúan próximas en el espacio (en torno a 3-4 Å), estableciendo interacciones (generalmente de apilamiento π) necesarias para la formación del excímero. Teniendo en cuenta estos principios, se observa como los pirenos,[381] al

[379] Los excímeros presentan bandas de emisión desplazadas hacia el rojo (emisión del excímero) cuando se comparan con la emisión del propio fluoróforo (emisión del monómero). En numerosos casos se observan las dos emisiones a la vez, siendo de gran utilidad para la determinación de complejos homodiméricos.

[380] En contraste con la banda de emisión del monómero (banda fina), la banda de excímero (banda ancha) no presenta estructura debido a que el estado más bajo es disociativo y, por lo tanto, puede considerarse como un continuo.

[381] a) Zhao, Z.; Chen, S.; Lam, J. W. Y.; Wang, Z.; Lu, P.; Mahtab, F.; Sung, H. H. Y.; Williams, I. D.; Ma, Y.; Kwok, H. S.; Tang, B. Z. *J. Mater. Chem.* **2011**, *21*, 7210-7216. b) Nakamura, M.; Saito, N.; Takayama, K.; Kumamoto, S.; Yamana, K. *Chem. Lett.* **2007**, *36*, 602-603. c) Suzuki, I.; Ui, M.; Yamauchi, A. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 4498-4499. d) Mohanambe, L.; Vasudevan, S. *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 14345-14354. e) Guler, M. O.; Claussen, R. C.; Stupp, S. I. *J. Mater. Chem.* **2005**, *15*, 4507-4512. f) Cheng, K. A. W. Y.; Schepp, N. P.; Cozens, F. L. *J. Phys. Chem. A* **2004**, *108*, 7132-7134.

igual que naftalenos,[382] antracenos,[383] perilenos[384] y otros hidrocarburos aromáticos policíclicos,[385] dan lugar a excímeros de manera adecuada (Figura 104). Generalmente estos complejos exciméricos se pueden detectar mediante la emisión de fluorescencia característica del mismo. En el caso particular del pireno, cuando las dos unidades de Pir están separadas (monómeros), se observa la presencia de una banda de emisión de fluorescencia bien definida que oscila entre 370 y 430 nm. Sin embargo, cuando las dos unidades de Pir están apiladas una sobre la otra a una distancia de 3.37 Å (excímero),[386] se observa claramente una banda ancha de emisión de fluorescencia situada entre 450 nm y 500 nm (Figura 103). La aparición de esta señal tan característica permite determinar de manera inequívoca — mediante un espectro de emisión de fluorescencia — la presencia del correspondiente homodímero inter- o intramolecular formado por dos subunidades monoméricas de pireno. Esta información se emplea a su vez habitualmente para determinar la constante de asociación (K_a) entre dos subunidades para dar un dímero.

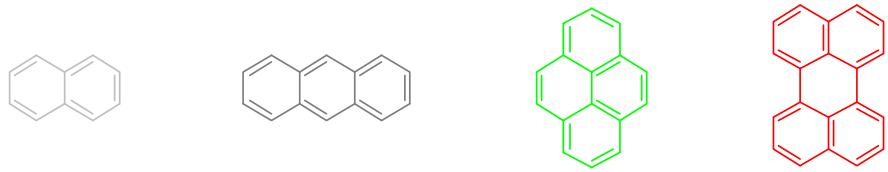


Figura 104. Compuestos que dan lugar a excímeros.

La aplicación más importante de los excímeros radica en su utilización para llevar a cabo la construcción de **láseres excímero**,[387,388] los cuales resultan de la emisión estimulada en la longitud de onda del UV profundo de complejos homodiméricos (fundamentalmente homodímeros de gases nobles; Xe_2) excitados mediante un haz de electrones.[389] Estos láseres

[382] a) Pabst, M.; Lunkenheimer, B.; Köhn, A. *J. Phys. Chem.* C **2011**, *115*, 8335-8344. b) Abad, S.; Vayá, I.; Jiménez, M. C.; Pischel, U.; Miranda, M. A. *ChemPhysChem* **2006**, *7*, 2175-2183. c) Picraux, L. B.; Weldon, B. T.; McCusker, J. K.. *Inorg. Chem.* **2003**, *42*, 273-282.

[383] a) Akatsuka, A.; Momotake, A.; Shinohara, Y.; Kanna, Y.; Sato, T.; Moriyama, M.; Takahashi, K.; Nishimura, Y.; Arai, T. *J. Photoch. Photobio. A* **2011**, *223*, 1-5. b) Lekha, P. K,; Prasad, E. *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 3699-3706. c) Jaseer, M.; Prasad, E. *J. Photoch. Photobio. A* **2010**, *214*, 248-256. d) Ghosh, K.; Sen, T.; Patra, A. *New J. Chem.* **2010**, *34*, 1387-1393. e) Chen, K.-H.; Yang, J.-E.; Hwang, C.-Y.; Fang, J.-M. *Org. Lett.* **2008**, *10*, 4401-4404. f) Mizobe, Y.; Miyata, M.; Hisaki, I.; Hasegawa, Y.; Tohnai, N. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 4295-4298.

[384] a) Yasukuni, R.; Laurent, G.; Okazaki, K.; Oki, M.; Torimoto, T.; Asahi, T. *J. Photoch. Photobio. A* **2011**, *221*, 194-198. b) Muraih, J. K.; Harris, J.; Taylor, S. D.; Palmer, M. *Biochim. Biophys. Acta* **2012**, *1818*, 673-678. c) Katoh, R.; Sinha, S.; Murata, S.; Tachiya, M. *J. Photoch. Photobio. A* **2001**, *145*, 23-34. d) Johnson, P. C.; Offen, H. W. *Chem. Phys. Lett.* **1973**, *18*, 258-260.

[385] a) Amicangelo, J. C. *J. Phys. Chem. A* **2005**, *109*, 9174-9182. b) Cione, A. P. P.; Scaiano, J. C.; Neumann, M. G.; Gessner, F. *J. Photoch. Photobio. A* **1998** *118*, 205-209. c) Seko, T.; Ogura, K.; Kawakami, Y.; Sugino, H.; Toyotama, H.; Tanaka, J. *Chem. Phys. Lett.* **1998**, *291*, 438-444. d) Lewis, F. D.; Burch, E. L. *J. Photoch. Photobio. A* **1996**, *96*, 19-23. e) Matsui, A. H.; Mizuno, K. *J. Phys. D Appl. Phys.* **1993**, *26*, B242-B244. f) Haynes, D. R.; Helwig, K. R.; Tro, N. J.; George, S. M. *J. Chem. Phys.* **1990**, *93*, 2836-2847.

[386] La distancia entre subunidades para el caso del excímero de pirenos es de 3.37 Å, mientras que el valor experimental de la energía de estabilización del excímero (ΔH) es 170 $kJ \cdot mol^{-1}$.

[387] a) *Excimer laser technology*; Eds. D. Basting, G. Marowsky; Springer-Verlag: Heidelberg (Alemania), **2005**. b) Basov, N. G.; Danilychev, V. A.; Popov, Y.; Khodkevich, D. D. *Zh. Eksp. Fiz. i Tekh. Pis'ma, Red.* **1970**, *12*, 473-474.

[388] No confundir con los **láseres exciplejo**, los cuales están formados por complejos diatómicos heterodiméricos compuestos habitualmente por un gas noble y un halógeno [como por ejemplo, el cloruro de xenón (XeCl)]. Para más información, ver: a) Paschotta, R. *Encyclopedia of laser physics and technology*; Wiley-VCH: Weinheim (Alemania), **2008**. b) Searles, S. K.; Hart, G. A. *Appl. Phys. Lett.* **1975**, 27, 243-245. Cabe destacar que, en el ámbito científico, los láseres excímero y exciplejo se suelen denominar globalmente como láseres excímero.

[389] En condiciones apropiadas de estimulación eléctrica, se crea una pseudo-molécula (la cual existe solamente en un estado excitado) que puede originar una luz láser en el rango ultravioleta.

presentan grandes ventajas por el simple hecho de que los componentes del excímero poseen interacciones atractivas en su estado excitado (estado asociativo excitado) y fuertemente repulsivas en su estado fundamental (estado no asociativo), haciéndolos especialmente útiles en el campo de la fotolitografía para la fabricación de dispositivos microelectrónicos (circuitos integrados o *chips*).[390,391] Cabe resaltar que los excímeros también se emplean satisfactoriamente en biofísica para evaluar distancias entre biomoléculas,[392] así como para determinar la conformación de cadenas polipeptídicas[393] y la estructura terciaria y cuaternaria de proteínas.[394] Del mismo modo, la emisión de excímeros puede jugar un papel especialmente relevante en el desarrollo de nuevos sensores fluorescentes con importante aplicación biomédica. Así, la formación o ruptura de excímeros, como resultado de la adición de un determinado ión (anión o catión), puede servir para detectar la presencia del mismo. Teniendo en cuenta estas consideraciones, el grupo de Teramae ha llevado a cabo la preparación de diferentes moléculas conteniendo grupos guanidinio como unidades coordinantes y funcionalidades pireno como unidades emisoras de señal (Figura 105).[395] Dichos compuestos muestran en metanol una banda de fluorescencia situada a 390 nm que se asigna a la emisión de pireno como monómero. La adición del anión pirofosfato ($P_2O_7^{2-}$) provoca la coordinación con dos moléculas de agua a través de los grupos guanidinio mediante interacciones electroestáticas y de enlace de hidrógeno, lo que induce así al apilamiento π de dos subunidades de pireno. El correspondiente complejo presenta una nueva banda de emisión a 476 nm resultado de la formación de un excímero intermolecular.[396] Además, se observó que la adición de otros aniones ($H_2PO_4^-$, CH_3COO^-, SCN^-, Cl^- y Br^-) no produce ningún efecto o cambio significativo en la emisión del receptor, por lo que estamos ante la presencia de un sensor selectivo a pirofosfato. La metodología descrita ha sido empleada en la actualidad para la construcción de biosensores altamente selectivos a diferentes iones y moléculas.[397] De este

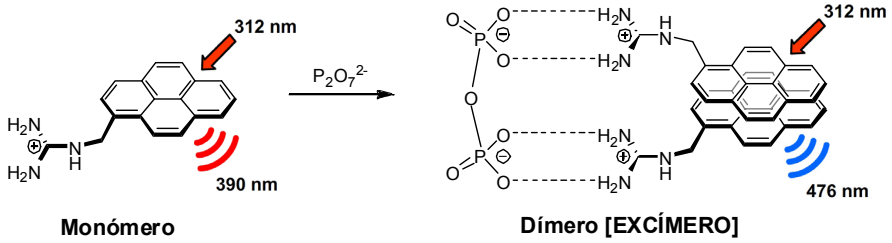


Figura 105. Formación de un excímero intermolecular empleado como sensor de aniones pirofosfato ($P_2O_7^{2-}$).

[390] Jain, K. *Excimer laser lithography*; SPIE Press: Bellingham [Washington (Estados Unidos)], **1990**.
[391] La elevada potencia de salida del láser excímero de luz ultravioleta también permite su aplicación en cirugía (especialmente la ocular), tratamientos dermatológicos y como fuente de bombeo para excitar colorantes. Para más información, ver: Shields, H.; Dyer, P. E. *Excimer lasers, optics, and applications;* SPIE Press: San José [California (Estados Unidos)], **1997**.
[392] Conibear, P. B.; Bagshaw, C. R.; Fajer, P. G.; Kovacs, M.; Malnasi-Csizmadia, A. *Nat. Struct. Biol.* **2003**, *10*, 831-835.
[393] Goodeweeck, M.; Van der Auweraer, M.; De Schryver, F. C. *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 2334-2341.
[394] Hossai, M. A.; Matsumura, S.; Kanai, T.; Hamasaki, K.; Mihara, H.; Ueno, A. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **2000**, 1527-1533.
[395] Nishizawa, S.; Kato, Y.; Teramae, N. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 9463-9464.
[396] Liao, J. H.; Chen, C. T.; Fang, J. M. *Org. Lett.* **2002**, *4*, 561-564.
[397] a) Karuppannan, S.; Chambron, J. C. *Chem. Asian J.* **2011**, *6*, 964-984. b) Schazmann, B.; Alhashimy, N.; Diamond, D. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 8607-8614. c) Abe, A. M. M.; Helaja, J.; Koskinen, A. M. P. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 4537-4540. d) Lodeiro, C.; Lima, J. C.; Parola, A. J.; Seixas de Melo, J. S.; Capelo, J. L.; Covelo, B.; Tamayo, A.; Pedras, B. *Sensor. Actuat. B Chem.* **2006**, *115*, 276-286. e) Kim, S. K.; Lee, S. H.; Lee, J. Y.; Lee, J. Y.; Bartsch, R. A.; Kim, J. S. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 16499-16506. f) Strauss, J.; Daub, J. *Org. Lett.* **2002**, *4*, 683-686. g) Yang, J.-S.; Lin, C.-S.; Hwang, C. Y. *Org. Lett.* **2001**, *3*, 889-892.

modo, se ha podido observar la especial relevancia que adquieren los excímeros como nuevos elementos de señal fluorescente en sensores de ácidos nucleicos,[398,399] permitiendo así la detección de diferentes biomoléculas, el estudio de las interacciones proteína-ADN y la investigación de procesos enzimáticos en sistemas biológicos complejos. Recientemente, el grupo de Zhang ha empleado la capacidad del pireno como excímero para controlar la formación de dúplex de GNA [ácido nucleico glicol (*glycol nucleid acid*)],[400] aplicándolo así al diseño de sensores fluorescentes selectivos de Cu(II) (Figura 106a).[401] Finalmente, cabe resaltar la gran utilidad que exhiben los complejos exciméricos para llevar a cabo la detección, la determinación conformacional y el plegamiento ordenado de foldámeros (Figura 106b), [402] así como el control estructural de diferentes polímeros.[403]

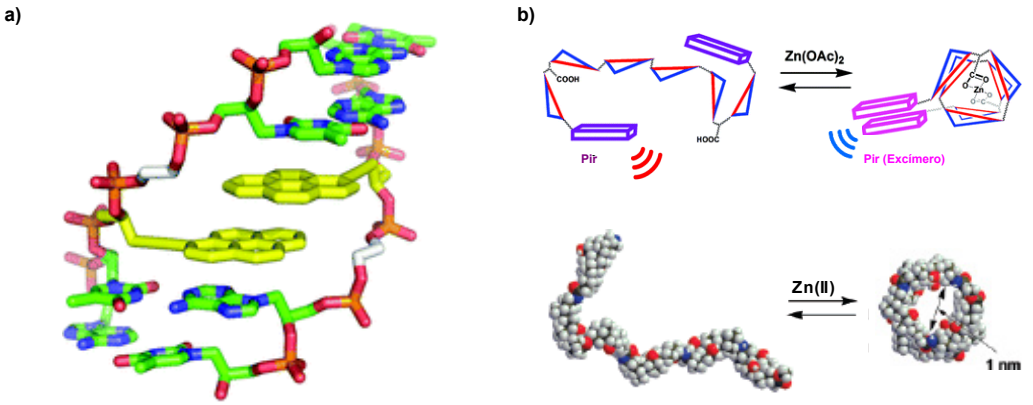


Figura 106. a) Formación de excímeros fuertes mediante apilamiento de funcionalidades pireno en dúplex de GNA. **b)** Representación esquemática (*arriba*) y modelos moleculares (*abajo*) correspondientes al plegamiento ordenado en presencia de $Zn(OAc)_2$ de un foldámero híbrido compuesto por seis unidades de colato y dos unidades de ácido glutámico (Glu), el cual ha sido convenientemente funcionalizado con pireno en sus dos extremos. Dicha organización se observa mediante emisión de excímero, por lo que el sistema puede actuar como un sensor selectivo de Zn(II).

En cuanto a la formación de exciplejos, existen numerosos ejemplos conocidos en el ámbito de la Química Orgánica.[404] Como hemos mencionado con anterioridad, la transferencia

[398] a) Zhang, R.; Tang, D.; Lu, P.; Yang, X.; Liao, D.; Zhang, Y.; Zhang, M.; Yu, C.; Yam, V. W. W. *Org. Lett.* **2009**, *11*, 4302-4305. b) Wu, C.; Wang, C.; Yan, L.; Yang, C. J. *J. Biomed. Nanotechnol.* **2009**, *5*, 495-504. c) Conlon, P.; Yang, C. J.; Wu, Y.; Chen, Y.; Martínez, K.; Kim, Y.; Stevens, N.; Martí, A. A.; Jockusch, S.; Turro, N. J.; Tan, W. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 336-342.

[399] Para la utilización de excímeros como sensores de ADN, ver: a) Wang, C.; Wu, C.; Chen, Y.; Song, Y.; Tan, W.; Yang, C. J. *Curr. Org. Chem.* **2011**, *15*, 465-476. b) Werder, S.; Malinovskii, V. L.; Häner, R. *Org. Lett.* **2008**, *10*, 2011-2014. c) Okamoto, A.; Kanatani, K.; Saito, I. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 4820-4827. d) Ohtani, Y.; Yamana, K.; Nakano, H. *Nucleic Acids Res Suppl.* **2002**, *2*, 169-70.

[400] El GNA es un polímero sintético similar al ADN y/o al ARN, distinguiéndose únicamente en la composición de su esqueleto. Mientras que el ADN (o el ARN) presentan una unidad de azúcar de desoxirribosa (o de ribosa) en su esqueleto, el GNA está compuesto por la repetición de unidades de glicoles unidas mediante enlaces fosfodiéster. Para más información, ver: a) Zhang, L.; Peritz, A.; Meggers, E. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 4174-4175. b) Acevedo, O. L.; Andrews, R. S. *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 3931-3934. c) Ueda, N.; Kawabata, T.; Takemoto, K. *J. Heterocyclic Chem.* **1971**, *8*, 827-829.

[401] Zhou, H.; Ma, X.; Eang, J.; Zhang, L. *Org. Biomol. Chem.* **2009**, *7*, 2297-2302.

[402] a) Häner, R.; Samain, F.; Malinovskii, V. L. *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 5701-5708. b) Zhong, Z.; Zhao, Y. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 2891-2894. c) Kawamura, S.-I.; Morita, T.; Kimura, S. *Sci. Technol. Adv. Mat.* **2006**, 7, 544-551.

[403] a) Li, M.-C.; Ho, R.-M.; Lee, Y.D. *J. Mater. Chem.* **2011**, *21*, 2451-2454. b) Yang, J.; Li, H.; Wang, G.; He, B. *J. Appl. Polym. Sci.* **2001**, *82*, 2347-2351.

[404] a) Benniston, A. C.; Harriman, A.; Whittle, V. L.; Zelzer, M.; Harrington, R. W.; Clegg, W. *Photochem. Photobiol. Sci.* **2010**, *9*, 1009-1017. b) Klosterman, J. K.; Iwamura, M.; Tahara, T.; Fujita, M. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 9478-9479. c) Gould, I.; Young, R. H.; Mueller, L. J.; Farid, S. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 8176-8187.

de un electrón desde una molécula de *N,N*-dietilanilina hasta una molécula de antraceno da lugar a la formación de un complejo heterodimérico de estado excitado (exciplejo) perfectamente definido (Figura 107a).[378] La importancia de dichas especies excipléjicas intermoleculares ha impulsado el análisis de su estructura y dinámica de formación.[405] Aunque la construcción de exciplejos intramoleculares constituidos por funcionalidades dador y aceptor unidas covalentemente ha sido investigada extensamente durante los últimos años,[406] recientemente los mayores esfuerzos han sido destinados hacia la preparación de exciplejos inter- e intramoleculares luminiscentes resultantes de la unión no covalente entre diferentes componentes moleculares debido a la especial relevancia que presentan sus aplicaciones.[404b,407] Así por ejemplo, el grupo de Swager ha llevado a cabo la construcción de una nueva clase de rotaxano que presenta una banda de emisión correspondiente a una especie excipléjica intermolecular (Figura 107b).[408] El exciplejo resultante se establece entre las funcionalidades fenilacetileno (grupo rico en electrones) y diester de bipiridina (grupo deficiente en electrones). El conocimiento adecuado de las características espectroscópicas de estos sistemas multicromóforos debe ser de gran utilidad para llevar a cabo el diseño de nuevos dispositivos fotoquímicos y/o fotofísicos. Finalmente, hemos de destacar que los exciplejos son considerados en algunos casos como especies intermediarias en transferencia electrónica desde un dador a un aceptor.

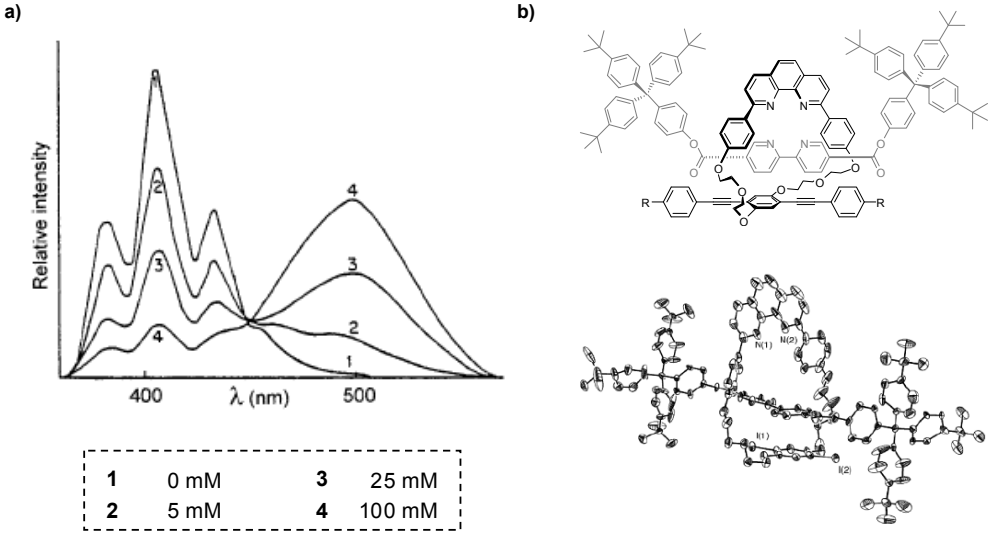


Figura 107. a) Espectros de emisión de fluorescencia de una disolución de antraceno (0.3 mM) en tolueno en presencia de varias alícuotas de *N,N*-dietilanilina de diferente concentración (desde 0 a 100 mM). **b)** Representación esquemática estructural (*arriba*) y modelo molecular obtenido mediante difracción de rayos X (*abajo*) de un rotaxano con capacidad de formar exciplejos intermoleculares entre unidades fenilacetileno (dador) y bipiridina (aceptor).

[405] Staerk, H.; Mitzkus, R.; Meyer, H.; Weller, A. *Appl. Phys. B* **1983**, *30*, 153-156.
[406] a) Galindo, F.; Jiménez, M. C.; Miranda, M. A.; Tormos, R. *Chem. Commun.* **2000**, *18*, 1747-1748. b) Roy, M. B.; Ghosh, S.; Bandyopadhyay, P.; Bharadwaj, P. K. *J. Lumin*. **2000**, *92*, 115-121. c) Lewis, F. D.; Wagner-Brennan, J. M.; Miller, A. M. *Can. J. Chem*. **1999**, *77*, 595-604. d) Nishizawa, S.; Watanabe, M.; Uchida, T.; Teramae, N. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **1999**, 141-143. e) Speiser, S. *Chem. Rev*. **1996**, *96*, 1953-1976.
[407] a) Shi, Y.; Li, X.; Yang, J.; Gao, F.; Tao, C. *J. Fluoresc.* **2011**, *21*, 531-538. b) Kielar, F.; Montgomery, C. P.; New, E. J.; Parker, D.; Poole, R. A.; Richardson, S. L.; Stenson, P. A. *Org. Biomol. Chem.* **2007**, *5*, 2975-2982. c) Horváth, A. *Coord. Chem. Rev.* **1997**, *159*, 41-54.
[408] MacLachlan, M. J.; Rose, A.; Swager, T. M. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**,*123*, 9180-9181.

El estudio de excímeros y exciplejos adquiere una vital importancia para poder comprender fenómenos tan importantes como el transporte de energía y la dinámica molecular, así como para diseñar nuevos sensores químicos más eficientes.

13.3.4. TRANSFERENCIA DE ENERGÍA POR RESONANCIA DE FLUORESCENCIA (FRET)

Las transiciones no radiativas de transferencia de excitación de energía requieren algún tipo de interacción entre una molécula dadora y una aceptora, lo que puede ocurrir si el espectro de emisión del dador se solapa con el espectro de absorción del aceptor (Figura 108a). Así, varias transiciones vibrónicas en el dador presentan prácticamente la misma energía que las correspondientes transiciones en el aceptor (Figura 108b). Se dice entonces que dichas transiciones están acopladas o que se encuentran en resonancia. De este modo se emplea el término transferencia de energía por resonancia de fluorescencia o Förster (FRET)[305,308b,409] para designar el proceso de transferencia de energía que puede tener lugar entre fluoróforos (dador y aceptor) mediante un mecanismo de acoplamiento dipolo-dipolo.[410] Cabe destacar que dicha expresión es incorrecta, ya que no es la fluorescencia lo que se transfiere, sino la energía electrónica del dador. Por lo tanto, es recomendado emplear mejor los términos transferencia de energía de excitación o transferencia de energía electrónica (EET) o transferencia de energía por resonancia (RET). Aún así, y una vez aclarada la terminología, decidimos seguir manejando el acrónimo FRET para designar dichos procesos de transferencia de energía debido a su generalizada utilización en el ámbito científico.

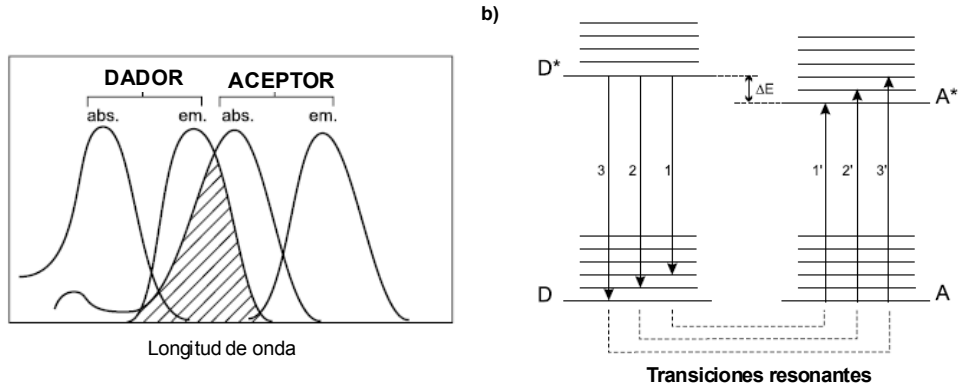


Figura 108. a) Integral de solapamiento entre el espectro de emisión del dador y el de absorción del aceptor. **b)** Diagrama de Perrin-Jablonski de los niveles de energía de las moléculas de dador (D) y aceptor (A), mostrando las transiciones acopladas para el caso en el que la relajación vibracional es más rápida que la transferencia de energía (acoplamiento muy débil).

[409] a) FRET - Förster resonance energy transfer: from theory to applications; Eds. I. L. Medintz, N. Hildebrandt; Wiley-VCH: Weinheim (Alemania), **2012**. b) *FRET and FLIM techniques [Laboratory techniques in biochemistry and molecular biology, Vol. 33]*; Ed. T. W. J. Gadella; Elsevier: Oxford (Reino Unido), **2008**. c) Cardullo, R. A. *Method. Cell Biol.* **2007**, *81*, 479-494. d) Cardullo, R. A. "Nonradiative fluorescence resonance energy transfer". En *Nonradioactive labeling and detection of biomolecules*; Ed. C. Kessler; Springer-Verlag: Heidelberg (Alemania), **1992**, 414-423. d) Förster, T. *Discuss. Faraday Soc*. **1959**, 264, 7-17.

[410] La transferencia de energía es resultado de interacciones coulombianas dipolo-dipolo de largo alcance (mecanismo Förster). Para más información, ver: Cardullo, R. A. *Microsc. Anal.* **2002**, *15*, 19-21.

La técnica de FRET se emplea normalmente para medir distancias inter- e intramoleculares, así como para el estudio de interacciones macro- y supramoleculares. Dicha técnica es extremadamente sofisticada, por lo que requiere una adecuada determinación de parámetros espectroscópicos críticos. Aún así, el principio y el mecanismo de transferencia de FRET es extremadamente sencillo (Figura 108b y 109). Una molécula de dador (D) absorbe luz a una longitud de onda que temporalmente la lleva a un estado electrónico de mayor energía (D*). Antes de que el electrón decaiga hacia su estado fundamental (S_0), la proximidad de una molécula de aceptor (A) provoca la transferencia de energía no radiante desde el dador al aceptor mediante una interacción dipolo-dipolo. De este modo, la molécula dadora cede su energía a una molécula aceptora, la cual decae a continuación radiactivamente a su longitud de onda de emisión de fluorescencia característica. Cabe destacar que en FRET sólo una de las dos moléculas necesita ser fluorescente. Sin embargo, la mayoría de los ejemplos se basan en la utilización de moléculas dadoras y aceptoras fluorescentes, cuyas propiedades espectrofluorométricas se pueden modular al producirse la transferencia de energía.

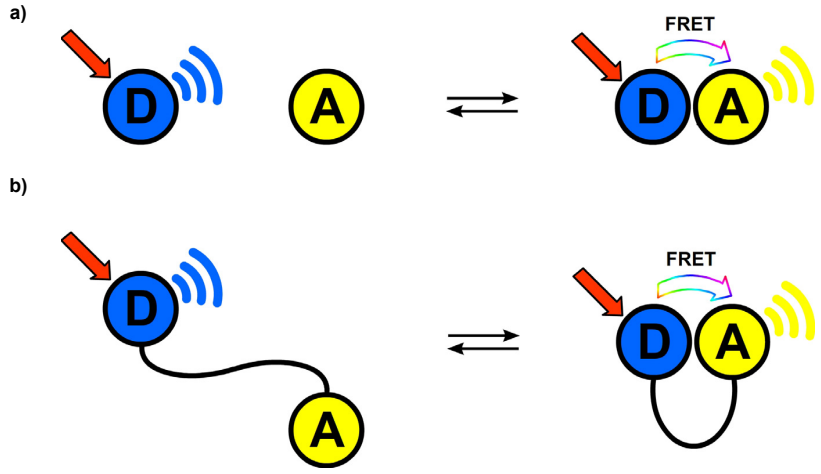


Figura 109. FRET intermolecular (bimolecular) (**a**) e intramolecular (unimolecular) (**b**) entre una molécula de dador (D) y una molécula de aceptor (A). Inicialmente, las moléculas dadora y aceptora se encuentran separadas por una distancia lo suficientemente larga ($r >> R_0$) como para que no tenga lugar la transferencia de energía; de esta manera, la intensidad de emisión de fluorescencia del dador es máxima. La aproximación de ambas moléculas (como consecuencia de cambios conformacionales, establecimiento de interacciones débiles, uniones a metales,…) hasta una distancia adecuada (10-100 Å) permite la transferencia de energía no radiactiva desde el dador al aceptor, lo que provoca la inhibición (*quenching*) de la molécula dadora y la emisión de la molécula aceptora.

Los aspectos más relevantes que debemos considerar cuando llevamos a cabo el estudio de cualquier proceso de FRET son los siguientes:

- Es precisa una gran proximidad entre los fluoróforos ($r_{Dador/Aceptor}$ ~ 10-100 Å).
- El espectro de absorción del fluoróforo aceptor debe superponerse con el espectro de emisión de fluorescencia del dador (Figura 108a). Cuanto mayor sea el solapamiento espectral, más eficiente será la transferencia.
- La orientación relativa que adquieren los momentos dipolo de la emisión del dador y de la absorción del aceptor debe ser la adecuada para llevar a cabo el proceso de

manera eficiente; las orientaciones de los dipolos de las transiciones dador y aceptor deben ser aproximadamente paralelas.[411]

- Si se produce la extinción de la fluorescencia de fluoróforo aceptor (*photobleaching*), ésta debe venir acompañada de un aumento en la intensidad de la emisión del fluoróforo dador. Esto es consecuencia de la inhibición del FRET, ya que la excitación de gran intensidad provoca que el aceptor sea incapaz de absorber más fotones. De este modo, al excitar el fluoróforo dador, la intensidad producida por éste aumenta considerablemente ya que no pierde energía por transferencia al aceptor, el cual se encuentra previamente bloqueado.

La eficiencia (E) del FRET equivale al rendimiento cuántico de la transición de transferencia de energía, siendo entonces la fracción de eventos de transferencia de energía que se producen por eventos de excitación del dador. Dicho parámetro depende enormemente de todos los factores enunciados previamente, y se encuentra íntimamente relacionado con el radio de Förster (R_0)[412] mediante la ecuación 1,[305,413]

$$E = \frac{1}{1 + (r / R_0)^6} \qquad \text{(Ecuación 1)}$$

siendo *r* la distancia entre la molécula dadora y la aceptora.

La transferencia de energía de tipo FRET es una es una herramienta valiosa para la investigación de una gran variedad de fenómenos biológicos que conllevan cambios en la proximidad molecular (Figura 110).[414] Así, se emplea habitualmente para estudiar la estructura y confirmación de proteínas[415] y ácidos nucleicos,[411a,416] la distribución espacial y el ensamblaje de complejos proteicos,[417] las interacciones receptor-ligando,[418] las interacciones de moléculas sencillas,[414b,419] la distribución y el transporte de lípidos,[420] los sensores de potencial de membrana,[421] los sustratos de proteasa fluorogénicos[422] y los indicadores de cAMP (adenosín

[411] a) Iqbal, A.; Arslan, S.; Okumus, B.; Wilson, T. J.; Giraud, G.; Norman, D. G.; Ha, T.; Lilley, D. M. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2008**, *105*, 11176-11181. b) VanBeek, D. B.; Zwier, M. C.; Schorb, J. M.; Krueger, B. P. *Biophys. J.* **2007**, *92*, 4168-4178.

[412] El radio de Förster (R_0) se define como la distancia entre el dador y el aceptor a la cual la eficiencia de la transferencia de energía es del 50%.

[413] Para confirmación experimental de la teoría de Förster, ver: a) Haugland, R. P.; Yguerabide, J.; Stryer, L. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1969**, *63*, 23-30. b) Stryer, L.; Haugland, R. P. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1967**, *58*, 719-726.

[414]. a) Gambin, Y.; Deniz, A. A. *Mol. Biosyst,* **2010**, *6*, 1540-1547. b) Best, R. B.; Merchant, K. A.; Gopich, I. V.; Schuler, B.; Bax, A.; Eaton, W. A. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2007**, *104*, 18964-18969. c) Zhang, J.; Campbell, R. E.; Ting, A. Y.; Tsien, R. Y. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2002**, *3*, 906-918.

[415] a) Martin, D. S.; Fathi, R.; Mitchison, T. J.; Gelles, J. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2010**, *107*, 5453-5458. b) Majumdar, D. S.; Smirnova, I.; Kasho, V.; Nir, E.; Kong, X.; Weiss, S.; Kaback, H. R. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2007**, *104*, 12640-12645.

[416] Coban, O.; Lamb, D. C.; Zaychikov, E.; Heumann, H.; Nienhaus, G. U. *Biohys. J.* **2006**, *90*, 4605-4617.

[417] a) Yin, J.; Lin, A. J.; Buckett, P. D.; Wessling-Resnick, M.; Golan, D. E.; Walsh, C. T. *Chem. Biol.* **2005**, *12*, 999-1006. b) Wallrabe, H.; Elangovan, M.; Burchard, A.; Periasamy, A.; Barroso, M. *Biophys. J*. **2003**, *85*, 559-571.

[418] Srisa-Art, M.; Dyson, E. C.; de Mello, A. J.; Edel, J. B. *Anal. Chem.* **2008**, *80*, 7063-7067.

[419] a) McCann, J. J.; Choi, U. B.; Zheng, L.; Weninger, K.; Bowen, M. E. *Biophys. J.* **2010**, *99*, 961-970. b) Lee, N. K.; Kapanidis, A. N.; Wang, Y.; Michalet, X.; Mukhopadhyay, J.; Ebright, R. H.; Weiss, S. *Biophys. J.* **2005**, *88*, 2939-2953.

[420] a) Hatzakis, N. S.; Bhatia, V. K.; Larsen, J.; Madsen, K. L.; Bolinger, P. Y.; Kunding, A. H.; Castillo, J.; Gether, U.; Hedegård, P.; Stamou, D. *Nat. Chem. Biol.* **2009**, *5*, 835-841. b) Chen, H.; Kim, S.; Li, L.; Wang, S. Park, K.; Cheng, J. X. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2008**, *105*, 6596-6601.

[421] a) Bradley, J.; Luo, R.; Otis, T. S.; Di Gregorio, D. A. *J. Neurosci.* **2009**, *29*, 9197-9209. b) Steinberg, B. E.; Touret, N.; Vargas-Caballero, M.; Grinstein, S. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2007**, *104*, 9523-9528.

[422] a) Suzuki, M.; Ito, Y.; Sakata, I.; Sakai, T.; Husimi, Y.; Douglas, K. T. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2005**, *330*, 454-460. b) Cummings R. T.; Salowe, S. P.; Cunningham, B. R.; Wiltsie, J.; Park, Y. W.; Sonatore, L. M.; Wisniewski, D.; Douglas, C. M.; Hermes, J. D.; Scolnick, E. M. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2002**, *99*, 6603-6606.

monofosfato cíclico)[423] y calcio.[424] Además, su manejo es habitual en inmunoensayos,[425] ensayos de fusión de membrana,[426] secuenciación automática de ADN,[427] ensayos PCR en tiempo real y detección de SNPs (polimorfismos de nucleótido simple),[428] detección de la hibridación de ácidos nucleicos[429] y ensayos de extensión del iniciador (*primer*) para detección de mutaciones.[430] Finalmente, hemos de destacar que la utilización de FRET como mecanismo de cambio y co-localización de proteínas y otras moléculas permite la obtención de imágenes con una resolución espacial superior a la de los límites de la microscopía óptica convencional.[431] La gran información que aporta el proceso de FRET hace que su aplicación adquiera especial importancia en el estudio de sistemas supramoleculares fluorescentes.

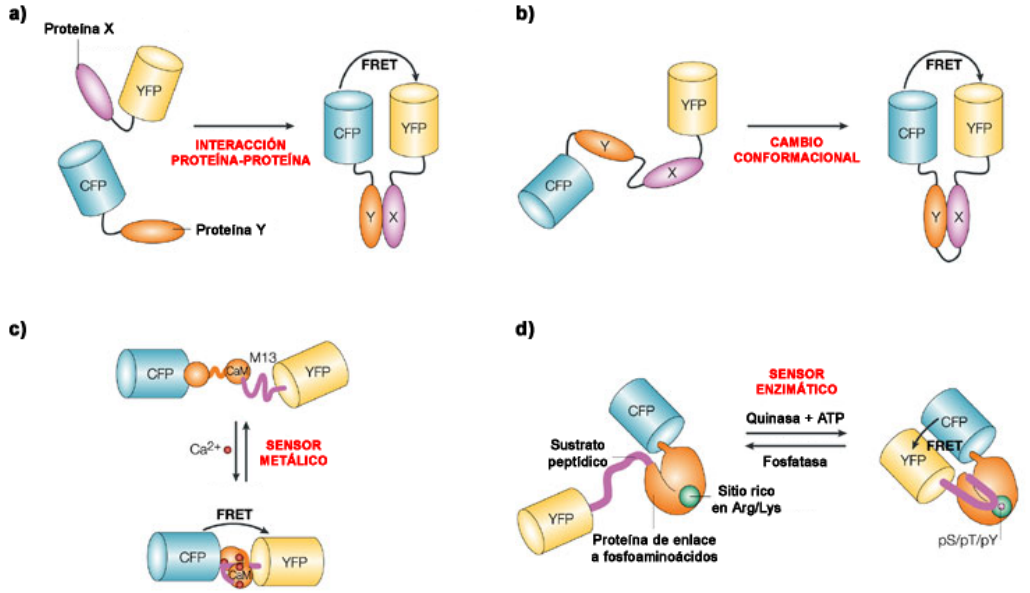


Figura 110. Aplicaciones de FRET en sondas proteícas marcadas fluorescentemente con CFP (proteína fluorescente ciano; molécula dadora) e YFP (proteína fluorescente amarilla; molécula aceptora).[414c] Los sistemas proteicos pueden interactuar de manera adecuada para disponer próximos sus fluoróforos e incrementar así la eficiencia del FRET. **a)** Estudio de interacciones proteína-proteína. **b)** Análisis de cambios conformacionales. **c)** Sensor *Cameleon* empleado para llevar a cabo mediciones de Ca^{2+} intramolecular. **d)** Sensor enzimático de fosforilación con especificidad para diferentes quinasas. [CaM: calmodulina;[432] pS: fosfoserina; pT: fosfotreonina; pY: fosfotirosina].

[423] Landa, L. R.; Harbeck, M.; Kaihara, K.; Chepurny, O.; Kitiphongspattana, K.; Graf, O.; Nikolaev, V. O.; Lohse, M. J.; Holz, G. G.; Roe, M. W. *J. Biol. Chem.* **2005**, *280*, 31294-31302.
[424] Palmer, A. E.; Tsien, R. Y. *Nat. Protoc.* **2006**, *1*, 1057-1065.
[425] a) Kokko, T.; Liljenbäck, T.; Peltola, M. T.; Kokko, L.; Soukka, T. *Anal. Chem.* **2008**, *80*, 9763-9768. b) Charbonnière, L. J.; Hildebrandt, N.; Ziessel, R. F.; Löhmannsröben, H. G. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 12800-12809.
[426] a) Kaufmann, A. M.; Goldman, S. D.; Krise, J. P. *Anal. Biochem.* **2009**, *386*, 91-97. b) Yoon, T. Y.; Okumus, B.; Zhang, F.; Shin, Y. K.; Ha, T. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2006**, *103*, 19731-19736.
[427] Mardis, E. R. *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.* **2008**, *9*, 387-402.
[428] a) Bailey, V. J.; Easwaran, H.; Zhang, Y.; Griffiths, E.; Belinsky, S. A.; Herman, J. G.; Baylin, S. B.; Carraway, H. E.; Wang, T. H. *Genome Res.* **2009**, *19*, 1455-1461. b) Rudi, K.; Zimonja, M.; Hannevik, S. E.; Drømtorp, S. M. *Biotechniques* **2006**, *40*, 323-329.
[429] a) Schwartz, D. E.; Gong, P.; Shepard, K. L. *Biosens. Bioelectron.* **2008**, *24*, 383-390. b) Robertson, K. L.; Yu, L.; Armitage, B. A.; López, A. J.; Peteanu, L. A. *Biochemistry* **2006**, *45*, 6066-6074.
[430] Chen, X.; Zehnbauer, B.; Gnirke, A.; Kwok, P. Y. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1997**, *94*, 10756-10761.
[431] a) Tadross, M. R.; Park, S. A.; Veeramani, B.; Yue, D. T. *J. Microsc.* **2009**, *233*, 192-204. b) van Rheenen, J.; Langeslag, M.; Jalink, K. *Bioohys. J.* **2004**, *86*, 2517-2529.
[432] La calmodulina [CaM (***calmodulin***; abreviatura de ***cal****cium-****modul****ated protein***] es una proteína acídica intracelular que actúa como receptor de iones Ca^{2+}. Además, se asocia a multitud de proteínas, modulando sus actividades. Para más información, ver: a) Chin, D.; Means, A. R. *Trends Cell Biol.* **2000**, *10*, 322-8. b) Stevens, F. C. *Can. J. Biochem. Cell Biol.* 1983, *61*, 906-10.

Las técnicas de fluorescencia han sido ampliamente utilizadas en el análisis de los procesos de autoensamblaje en Química Macro- y Supramolecular.[433] Sin embargo, su aplicación al estudio de los nanotubos ciclopeptídicos continúa siendo todavía muy escasa. Como hemos mencionado con anterioridad, los grupos de investigación de Undén[68] y Ghadiri[80,132] (Figura 13 y 28) han confirmado mediante medidas de fluorescencia el apilamiento entre las distintas unidades cíclicas que tiene lugar en disolución. Desafortunadamente, los estudios se centraron fundamentalmente en el desarrollo de nuevas aplicaciones a nivel electrónico, por lo que no han profundizado en el estudio detallado del equilibrio y/o en el control de cada una de las señales que se producen.

14. SISTEMAS α,γ-CICLOPEPTÍDICOS DE TRANSFERENCIA DE ENERGÍA

Como hemos visto previamente, una adecuada estructura de la matriz que permite tanto la orientación como la proximidad entre las unidades dadoras y aceptoras es necesaria para lograr una apropiada organización espacial que conlleve una eficiente transferencia de energía. De hecho, sin esta disposición, no es posible llevar a cabo un control preciso del proceso de transferencia energético. Es por tal razón que el diseño de materiales porosos constituidos por una matriz en estado sólido de nanotubos peptídicos autoensamblantes [*Self-assembling peptide nanotubes* (SPNs)], en los cuales los procesos de homo- y/o heterodimerización se pueden controlar fácilmente, presenta un gran interés.[57] El autoensamblaje de biomoléculas con capacidad para formar selectivamente entidades homo- y/o heterodiméricas representa uno de los grandes desafíos en la actualidad, debido a que los procedimientos de los que se dispone habitualmente no ofrecen el poder suficiente de reconocimiento molecular para llevar a cabo la asociación preferencial en forma de especies homo- y/o heterodiméricas.[196] En la naturaleza, las interacciones que se establecen entre subunidades proteicas (ya sea en homo- o heterodímeros) son un fenómeno realmente importante en regulación y catálisis, constituyendo así un medio altamente económico para alcanzar diversidad estructural y versatilidad funcional.[195] Basándonos en dichos principios, esperamos lograr resultados similares mediante el desarrollo de ensamblajes sintéticos que sean capaces de formar selectivamente especies homo- y/o heterodiméricas. Es por ello que nos planteamos como objetivo principal la fabricación controlada de nanobiomateriales homo- y heterodiméricos captadores de luz a través de la autoorganización de unidades α,γ-ciclopeptídicas. Estos sistemas deben actuar como eficientes plataformas de transferencia de energía, proporcionando una distribución espacial optimizada. Del mismo modo, la formación controlada de los complejos homo- y heterodiméricos nos ha de permitir la construcción de novedosas redes supramoleculares multicomponente basadas en α,γ-ciclopéptidos fluorescentes, los cuales presentarán diferentes señales características según la especie que constituyan. Este hecho ha de ser especialmente relevante en el desarrollo de

[433] a) Amendola, V.; Fabbrizzi, L.; Foti, F.; Licchelli, M.; Mangano, C.; Pallavicini, P.; Poggi, A.; Sacchi, D.; Taglietti, A. *Coord. Chem. Rev.* **2006**, *250*, 273-299. b) Azov, V. A.; Schlegel, A.; Diederich, F. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 4635-4638. c) Kanekiyo, Y.; Naganawa, R.; Tao, H. *Chem. Commun.* **2004**, *8*, 1006-1007. d) Martin, R. B.; Fu, K.; Li, H.; Cole, D.; Sun, Y.-P. *Chem. Commun.* **2003**, *18*, 2368-2369. e) Winnik, F. M. *Chem. Rev.* **1993**, *93*, 587-614.

sistemas moleculares para procesado de información basado en transferencia fotoinducida energética y/o electrónica.[434]

14.1. DISEÑO Y SÍNTESIS

Hemos decidido emplear las excepcionales propiedades espectrales del pireno (tiempo de vida excepcionalmente largo,[435] rendimiento cuántico de fluorescencia adecuado, dependencia de la polaridad del disolvente respecto a las intensidades de las bandas vibracionales de fluorescencia,[436] formación y emisión de excímeros,[437]…)[305] para evaluar diferentes sistemas homo- y heterodiméricos.[438] La introducción de funcionalidades Pir en las unidades α,γ-cíclicas debe permitirnos realizar medidas de constantes de asociación de los procesos de homo- y heterodimerización mediante adecuadas técnicas espectroscópicas de fluorescencia.[439] Además, para complementar la información extraída de los α,γ-ciclopéptidos conteniendo pireno, hemos pensado en utilizar además un segundo cromóforo — en este caso particular el dapoxilo (Dap) — que puede actuar como aceptor en procesos de transferencia de energía de tipo FRET. La elección de Dap como fluoróforo aceptor es debida a sus óptimas características espectroscópicas,[440] así como al excelente solapamiento espectral que existe entre su banda de absorción y la de emisión del pireno (Figura 111). Este hecho permite que ambas funcionalidades (Pir y Dap) constituyan un eficiente par de FRET para el estudio de redes supramoleculares constituidas por especies homo- y heterodiméricas en equilibrio, las cuales presentan señales de fluorescencia distintivas.[441] Aunque existen varios ejemplos de la utilización de Pir en pares de FRET combinados con otros fluoróforos como perilenos,[254,442] cumarinas[255,443] o fluoresceínas,[444] para nuestro conocimiento, esta es la primera vez que se empleará el par Pir/Dap en el estudio de procesos de transferencia energética. Del mismo modo, cabe destacar que el modelo de estudio propuesto pretende combinar la formación de excímeros de pireno y los efectos de FRET para llevar a cabo el análisis de sistemas complejos de asociación intermolecular.

---

[434] a) Jang, S. S.; Jang, Y. H.; Kim, Y.-H.; Goddard, W. A., III; Flood, A. H.; Laursen, B. W.; Tseng, H.-R.; Stoddart, J. F.; Jeppesen, J. O.; Choi, J. W. Steuerman, D. W.; Delonno, E.; Heath, J. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 1563-1575. b) Li, X.; Sinks, L. E.; Rybtchinski, B.; Wasielewski, M. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 10810-10811.

[435] Birks, J. B. *Photophysics of aromatic molecules*; Wiley-Interscience: Londres (Reino Unido), **1970**.

[436] a) Dong, D. C.; Winnik, M. A. *Can. J. Chem.* **1984**, *62*, 2560-2565. b) Thomas, J. K. *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, *99*, 2039-2044.

[437] a) Fetzer, J. C. *Large (C ≥ 24) polycyclic aromatic hydrocarbons: chemistry and analysis [Chemical analysis, Vol. 158]*; Ed. J. D. Winefordner; John Wiley & Sons, Inc.: New York (Estados Unidos), **2000**. b) Van Dyke, D. A.; Pryor, B. A.; Smith, P. G.; Topp, M. R. *J. Chem. Educ.* **1998,** *75*, 615-620. c) Muenter, J. S.; Deutsch, J. L. *J. Chem. Educ.* **1996,** *73*, 580-585. d) Halpern, A. M.; Reeves, J. H. *Experimental physical chemistry: a laboratory textbook*; Scott Foresman & Co.: Glenview [Illinois (Estados Unidos)], **1988**.

[438] Para nanotubos *D*,*L*-α-ciclopeptídicos funcionalizados con Pir, ver: Murota, K.; Sakamoto, S.; Kazuaki, K. *Chem. Lett.* **2007**, *36*, 1070-1071.

[439] Para medidas de K_a en derivados de Pir, ver: a) Choi, J. K.; Kim, S. H.; Yoon, J.; Lee, K.-H.; Bartsch, R. A.; Kim, J. S. *J. Org. Chem.*, **2006**, *71*, 8011-8015. b) Kim, S. K.; Bok, J. H.; Bartsch, R. A.; Lee, J. Y.; Jong S. K. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 4839-4842.

[440] El dapoxilo presenta λ_{em} larga (500 nm), así como altos coeficientes de extinción y elevados rendimientos cuánticos. Para más información, ver: a) Diwu, Z.; Lu, Y.; Zhang, C.; Klaubert, D. H.; Haugland, R. P. *Proc. SPIE* **1999**, *3602*, 256-259. b) Diwu, Z.; Lu, Y.; Zhang, C.; Klaubert, D. H.; Haugland, R. P. *Photochem. Photobiol.* **1997**, *66*, 424-431.

[441] Giepmans, B. N. G.; Adams, S. R.; Ellisman, M. H.; Tsien, R. Y. *Science* **2006**, *312*, 217-224.

[442] Para par de FRET Pir/Per, ver: a) Kashida, H.; Takatsu, T.; Sekiguchi, K.; Asanuma, H. *Chem. Eur. J*. **2010**, *16*, 2479-2486. b) Teo, Y. N.; Wilson, J. N.; Kool, E. T. *J. Am. Chem. Soc.* **2009,** *131,* 3923-3933. c) Lindegaard, D.; Madsen, A. S.; Astakhova, I. V.; Malakhov, A. D.; Babu, B. R.; Korshunb, V. A.; Wengel, J. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 94-99. d) Wilson, J. N.; Gao, J.; Kool, E. T. *Tetrahedron* **2007,** *63,* 3427-3433.

[443] Hossain, M. A.; Mihara, H.; Ueno, A. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 11178-11179.

[444] Para par de FRET Pir/Flu, ver: a) Margulies, D.; Melman, G.; Felder, C.; Arad-Yelin, R.; Shanzer, A. *J. Am. Chem. Soc*. **2004**, *126*, 15400-15401. b) Hossain, M. A.; Mihara, H. ; Ueno, A. *J. Am. Chem. Soc*. **2003**, *125*, 11178-11179.

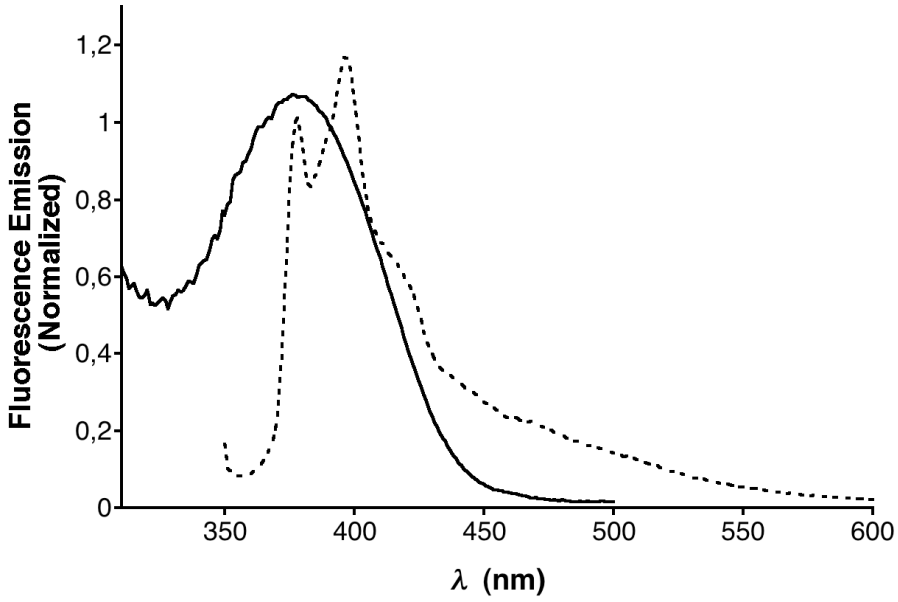
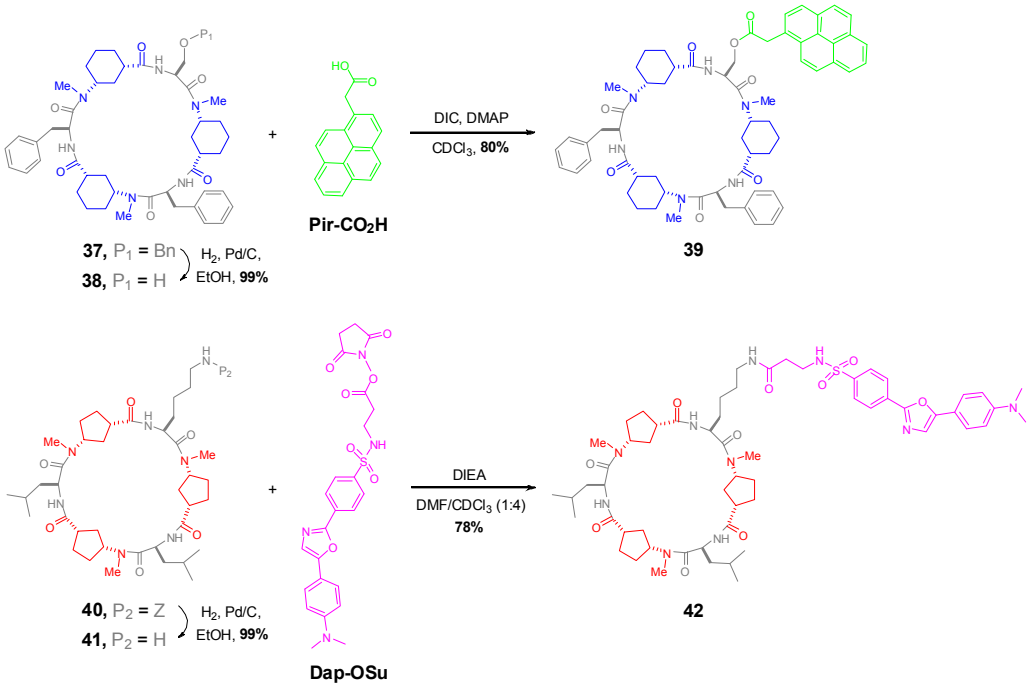


Figura 111. Superposición de los espectros de absorción de dapoxilo (línea sólida) y de emisión de pireno (línea punteada), mostrando un solapamiento espectral casi completo, el cual favorece que la transferencia de energía (FRET) entre los dos fluoróforos (desde el dador pireno al aceptor dapoxilo) se realice de manera eficiente. Todos los espectros fueron normalizados para llevar a cabo la representación gráfica.

Teniendo en cuenta las consideraciones previas, nuestro objetivo fundamental fue llevar a cabo el estudio exhaustivo de redes supramoleculares formadas por diferentes equilibrios que involucran unidades α,γ-ciclohexapeptídicas fluorescentes constituidas por funcionalidades Pir y Dap, los cuales son regulados por procesos de homo- y heterodimerización.[445] Para ello fue necesario inicialmente la preparación del α,γ(Ach)-derivado *ciclo*{[*L*-Phe-*D*-^{Me}N-γ-Ach]$_2$-*L*-Ser(Bn)-*D*-^{Me}N-γ-Ach-} (**37**),[146a] el cual se sintetizó a partir de *D*-Boc-^{Me}N-γ-Ach-OFm[446] empleando la metodología descrita anteriormente (Esquema 7 y 8). El macrociclo resultante fue tratado con hidrógeno (H_2) en presencia de 10% Pd/C, para dar lugar de forma casi cuantitativa el correspondiente derivado *ciclo*{[*L*-Phe-*D*-^{Me}N-γ-Ach]$_2$-*L*-Ser-*D*-^{Me}N-γ-Ach-} (**38**).[146a] El ciclohexapéptido desprotegido fue acoplado posteriormente con ácido 1-pirenoacético (**Pir-CO_2H**) en presencia de DIC/DMAP, obteniéndose el ciclopéptido fluorescente *ciclo*{[*L*-Phe-*D*-^{Me}N-γ-Ach]$_2$-*L*-Ser(1-Pirenoacetil)-*D*-^{Me}N-γ-Ach-} (**39**)[445] (Esquema 10). A continuación, llevamos a cabo la preparación del α,γ(Acp)-derivado complementario *ciclo*{[*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp]$_2$-*L*-Lys(Z)-*D*-^{Me}N-γ-Acp-} (**40**),[445] el cual se sintetizó a partir de *L*-Boc-^{Me}N-γ-Ach-OFm empleando de nuevo la metodología habitual descrita previamente (Esquema 7 y 8). Al igual que en el caso anterior, la unidad cíclica obtenida fue tratada con hidrógeno en presencia de 10% Pd/C para dar lugar al correspondiente ciclohexapéptido desprotegido *ciclo*{[*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp]$_2$-*L*-Lys-*D*-^{Me}N-γ-Acp-} (**41**).[445] Dicho macrociclo se trató con éster succinimídico del ácido dapoxilo® 3-sulfonamidopropiónico, obteniéndose el

[445] Brea, R. J.; Vázquez, M. E.; Mosquera, M.; Castedo, L.; Granja, J. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 1653-1657.
[446] La preparación de *D*-Boc-^{Me}N-γ-Ach-OFm se llevó a cabo de forma análoga a la del derivado ciclopentánico, partiendo esta vez de H_2N-γ-Ach-OH.

ciclopéptido fluorescente *ciclo*{[*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp]$_2$-*L*-Lys(Dapoxilo)-*D*-^{Me}N-γ-Acp-} (**42**)[445] (Esquema 10). De este modo, podemos disponer de dos α,γ-ciclohexapéptidos complementarios con propiedades espectroscópicas adecuadas para lograr de manera satisfactoria el análisis de sistemas que envuelven diferentes especies homo- y heterodiméricas en el equilibrio.



Esquema 10. Síntesis de los α,γ-ciclohexapéptidos fluorescentes *ciclo*{[*L*-Phe-*D*-^{Me}N-γ-Ach]$_2$-*L*-Ser(1-Pirenoacetil)-*D*-^{Me}N-γ-Ach-} (**39**) y *ciclo*{[*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp]$_2$-*L*-Lys(Dapoxilo)-*D*-^{Me}N-γ-Acp-} (**42**).

Cabe resaltar que todos los macrociclos obtenidos se autoensamblan para dar lugar a los correspondientes homodímeros (**D$_{37\text{-}42}$**) en disolventes no polares con valores de K_a superiores a 10^5 M^{-1},[447] por lo que presentan un comportamiento similar al de los α,γ(Acp)- y α,γ(Ach)-ciclohexapéptidos mostrados con anterioridad. Sin embargo, en este caso particular, todos los cicloderivados sintetizados presentan un eje de simetría C_1 en lugar del eje de simetría C_3 característico de las unidades α,γ-ciclohexapeptídicas descritas previamente. Esta falta de simetría facilita que se puedan formar tres homodímeros no equivalentes (isómeros rotacionales), los cuales se diferencian en las interacciones cruzadas que tienen lugar entre las cadenas laterales de las correspondientes subunidades monoméricas. Esta diferencia en la orientación relativa de las cadenas laterales es claramente responsable de la obtención de tres

[447] Los espectros de ^{1}H RMN de los diferentes ciclopéptidos (**37**-**42**) en disolventes no polares reflejaron las características típicas de la formación de homodímeros (**D$_{37\text{-}42}$**), mostrando valores adecuados de constante de acoplamiento ($J_{NH,\ H\alpha}$) comprendidos entre 8.5-9.5 Hz y desplazamientos químicos (δ) de las señales correspondientes a los NH en torno a 8.0-9.0 ppm. Cabe resaltar que el valor de la constante de asociación (K_a) para la formación de los diferentes homodímeros debe ser superior a 10^5 M^{-1}, ya que las señales de los NH permanecen invariables, incluso a concentraciones por debajo de 0.1 mM, independientemente de si el disolvente contiene 30% MeOH o si las muestras son calentadas hasta 50º C. Del mismo modo, los espectros de FT-IR en $CHCl_3$ mostraron las bandas características de una estructura tipo lámina plegada β antiparalela.

especies bien definidas; un homodímero eclipsado (**D [E]**) en el que los α-aminoácidos Ser(P_1) o Lys(P_2) se enfrentan entre sí [Ser(P_1)/Ser(P_1), Phe_1/Phe_2 y Phe_2/Phe_1 para el caso de los Ach-derivados y Lys(P_2)/Lys(P_2), Leu_1/Leu_2 y Leu_2/Leu_1 para el caso de los Acp-derivados] y otros dos homodímeros alternados (**D [A]$_{cw}$** y **D [A]$_{ccw}$**) en el que los α-aminoácidos Ser(P_1) o Lys(P_2) no se disponen uno frente a otro (Figura 112).[448] De este modo, se observó como los espectros de ^{1}H RMN en disolventes no polares de todos los ciclohexapéptidos sintetizados (**37**-**42**) exhibían claramente tres conjuntos de señales que corresponden a cada uno de los tres homodímeros, reflejando así las interacciones de hidrógeno tipo lámina β (características de la formación de especies homodiméricas) que tienen lugar entre cada subunidad. Lógicamente, la relativa complejidad del equilibrio es consecuencia de la presencia de los tres diastereoisómeros rotacionales posibles, los cuales están intercambiándose lentamente en la escala de tiempos del RMN. El análisis exhaustivo de las diferentes mezclas homodiméricas mostró que todos los ciclohexapéptidos presentan una relación similar entre los tres isómeros rotacionales, excepto el caso de **38**, en el que se observó claramente la formación preferencial de la especie eclipsada frente a las alternadas (**D$_{38}$ [A]$_{cw}$** : **D$_{38}$ [E]** : **D$_{38}$ [A]$_{ccw}$** ~ 1 : 2 : 1) (Tabla 7).[449] La formación selectiva del homodímero **D$_{38}$ [E]** se atribuyó al posible establecimiento de enlaces de hidrógeno intramoleculares entre los grupos hidroxilo de las Ser de cada subunidad monomérica, haciéndolos así responsables fundamentales del desplazamiento del equilibrio hacia la obtención de esta especie más estable (Figura 112).

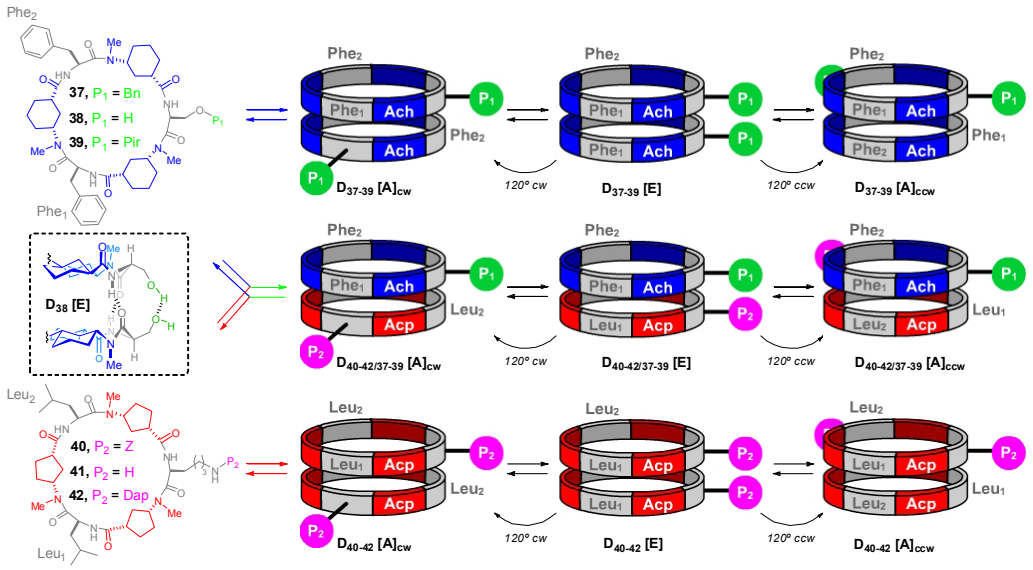


Figura 112. Homo- y heterodimerización de diversos α,γ(Ach)- (**37**-**39**) y α,γ(Acp)-ciclohexapéptidos (**40**-**42**). El autoensamblaje molecular de dichos macrociclos da lugar a la formación de tres especies homodiméricas que se diferencian en el apareamiento entre los α-aminoácidos que los componen. Así, en el dímero eclipsado los aminoácidos Ser(P_1) y/o Lys(P_2) se enfrentan entre sí, mientras que en el caso de los dos dímeros alternados los residuos Ser(P_1) y/o Lys(P_2) no se disponen uno frente a otro. De manera resaltada se muestra el homodímero **D$_{38}$ [E]**, el cual se obtiene mayoritariamente frente a los correspondientes homodímeros alternados **D$_{38}$ [A]$_{cw}$** y **D$_{38}$ [A]$_{ccw}$** debido a la posible interacción de enlace de hidrógeno que tiene lugar entre los grupos hidroxilo de las Ser, lo que provoca un claro aumento en su estabilidad.

[448] **[E]**: disposición eclipsada; **[A]**: disposición alternada; **cw**: en el sentido de las agujas del reloj (*clockwise*); **ccw**: en sentido contrario a las agujas del reloj (*counter-clockwise*).
[449] Estudios posteriores mostraron que la relación entre las especies diméricas es independiente de la concentración de los α,γ-ciclohexapéptidos y de la temperatura.

Tabla 7. Relaciones en $CDCl_3$ entre el isómero rotacional eclipsado (**D [E]**) y los alternados (**D [A]$_{cw}$** y **D [A]$_{ccw}$**) de diversas estructuras homo- y heterodiméricas basadas en α,γ(Acp)- y α,γ(Ach)-ciclohexapéptidos. De manera resaltada se muestra el resultado para el homodímero **D$_{38}$** (sombreado amarillo).

Compuesto	D [A]$_{cw}$: D [E] : D [A]$_{ccw}$[a]
D$_{37}$	1 : 1 : 1
D$_{38}$	1 : 2 : 1
D$_{39}$	1 : 1 : 1
D$_{40}$	1 : 1 : 1
D$_{41}$	1 : 1 : 1[b]
D$_{42}$	1 : 1 : 1
D$_{40/39}$	1 : 1 : 1
D$_{42/37}$	1 : 1 : 1
D$_{42/39}$	1 : 1 : 1

[a] Relación determinada mediante espectroscopia de ^{1}H RMN

[b] Relación determinada en d_6-DMSO

La combinación de los diferentes α,γ(Ach)- (**37**-**39**) y α,γ(Acp)-ciclohexapéptidos (**40**-**42**) permitió observar una vez más la formación preferencial de los correspondientes heterodímeros Acp/Ach (Figura 112).[445] De esta manera, la adición de los Acp-cicloderivados sobre los Ach-derivados (o viceversa) conllevó la preparación de una gran colección de estructuras supramoleculares heterodiméricas de mayor estabilidad (**D$_{40\text{-}42/37\text{-}39}$**). Además, se pudo determinar nuevamente mediante espectroscopia de ^{1}H RMN la presencia de tres diastereoisómeros rotacionales heterodiméricos — uno en disposición eclipsada y otros dos en disposiciones alternadas — en una proporción similar (**D [A]$_{cw}$** : **D [E]** : **D [A]$_{ccw}$** ~ 1 : 1 : 1) (Tabla 7). Este hecho pone de manifiesto por enésima vez que la formación selectiva de las especies heterodiméricas α,γ-ciclopeptídicas Acp/Ach es consecuencia únicamente de las interacciones de enlace de hidrógeno intramolecular que se establecen a nivel del esqueleto peptídico, siendo independientes de las cadenas laterales que empleemos.

La conveniente funcionalización de las unidades α,γ-ciclopeptídicas con grupos fluoróforos adecuados (Pir y Dap) ha permitido la construcción de una serie de sondas fluorescentes que pueden tener especial relevancia en el estudio de equilibrios homo- y heterodiméricos en disolución. Un profundo examen de los diferentes fenómenos de asociación debe suministrarnos una gran información sobre las bases estructurales y termodinámicas de los mismos.

Una vez diseñado nuestro modelo de estudio, decidimos afrontar el análisis exhaustivo de los diferentes procesos de homo- y heterodimerización α,γ-ciclopeptídica que tienen lugar en dicho sistema supramolecular mediante la utilización de herramientas basadas en técnicas espectroscópicas de fluorescencia.[445]

14.2. ESTUDIOS DE FLUORESCENCIA EN ESTADO ESTACIONARIO

14.2.1. HOMODIMERIZACIÓN: FORMACIÓN DE EXCÍMEROS

Homodímero D_{39} [E]: Formación de excímeros

El primer equilibrio estudiado fue el correspondiente al proceso de homodimerización del α,γ(Ach)-ciclohexapéptido **39** (Figura 112 y 113). Cabe recordar que dicho derivado se autoensambla en disolventes no polares para dar lugar a una mezcla estadística de tres especies homodiméricas; dos correspondientes a diastereoisómeros rotacionales con las funcionalidades Pir en disposición alternada (**D_{39} [A]$_{cw}$** y **D_{39} [A]$_{ccw}$**) y otra correspondiente al diastereoisómero rotacional que presenta los fluoróforos en disposición eclipsada (**D_{39} [E]**).

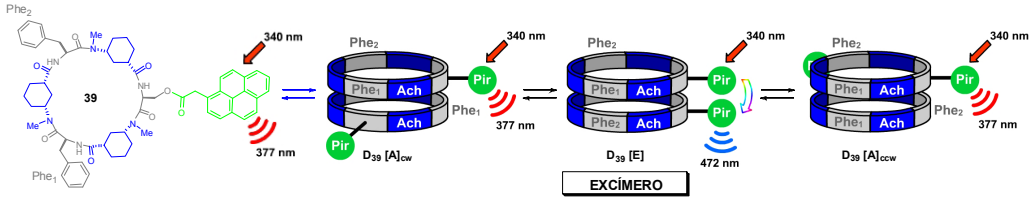


Figura 113. Proceso de homodimerización correspondiente al *ciclo*{[*L*-Phe-*D*-^{Me}N-γ-Ach]$_2$-*L*-Ser(1-Pirenoacetil)-*D*-^{Me}N-γ-Ach-} (**39**), mostrando los tres posibles isómeros rotacionales. De manera resaltada se indica la formación de excímero a partir del diastereoisómero que presenta las funcionalidades Pir en disposición eclipsada (**D_{39} [E]**).

La irradiación de una disolución 300 nM de **39** en $CHCl_3$ generó el espectro de emisión característico de pireno, con dos máximos situados a 377 y 397 nm (Figura 114). El aumento de la concentración de **39** mediante adición sucesiva de pequeñas alícuotas de una disolución *stock* concentrada de dicho α,γ-ciclohexapéptido dio lugar a la aparición de una nueva banda a 472 nm, correspondiente con la emisión del excímero de pireno.[450] De este modo, se observa como el espectro de emisión de los ciclopéptidos que contienen funcionalidades Pir presenta dos bandas características bien definidas; una banda de emisión — situada en la región espectral del UV — correspondiente al pireno, la cual se identifica con su típica estructura vibrónica, y otra banda de emisión — situada a mayor longitud de onda — correspondiente a

[450] a) García-Echeverría, C. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 6031-6032. b) Ueno, A.; Suzuki, I.; Osa, T. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 6391-6397.

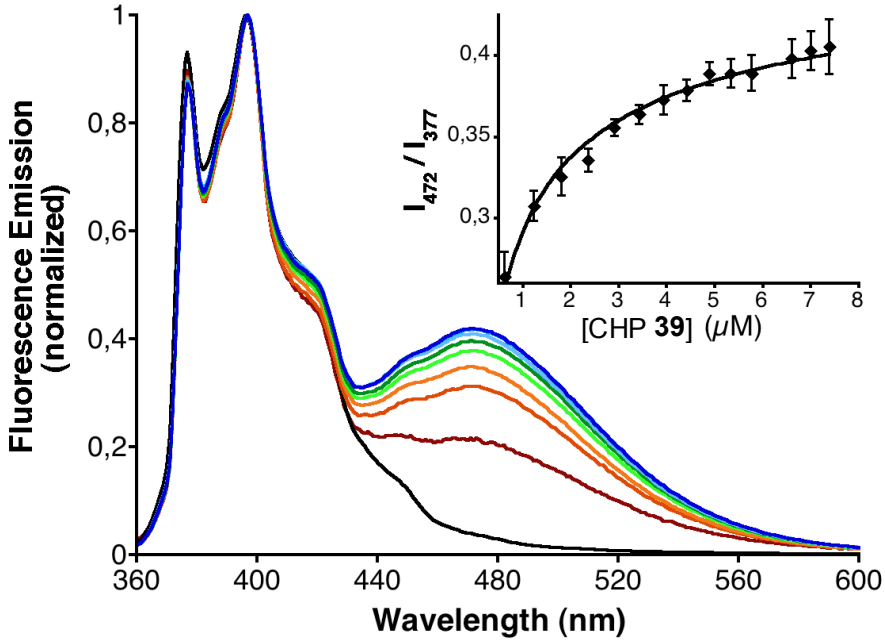


Figura 114. Espectros de emisión de fluorescencia de pireno de diferentes disoluciones de *ciclo*{[*L*-Phe-*D*-^{Me}N-γ-Ach]$_2$-*L*-Ser(1-Pirenoacetil)-*D*-^{Me}N-γ-Ach-} (**39**) en $CHCl_3$ (longitud de onda de excitación de 340 nm), desde 0.3 μM (línea marrón) a 7.4 μM (línea azul oscura), corroborando la formación del correspondiente homodímero **D_{39} [E]**. Ácido 1-pirenoacético (7.4 μM) ha sido utilizado como control (línea negra). La gráfica insertada en la parte superior derecha muestra la valoración y el ajuste necesarios para el cálculo de K_a. Todos los espectros fueron normalizados para llevar a cabo la representación gráfica.

una de las especies homodiméricas de corta vida que se encuentra en forma de excímero (estado electrónico excitado).[376] La intensidad relativa de ambas bandas debe permitirnos estimar la relación entre el monómero y el dímero en disolución. De esta manera, considerando que la formación de los excímeros está geométricamente permitida en solo uno de los tres posibles homodímeros — concretamente en **D_{39} [E]** (Figura 113) —, empleamos la banda de emisión observada (472 nm) para llevar a cabo el cálculo de la constante de asociación (K_a) correspondiente al proceso de homodimerización de **39**. En base a las mediciones realizadas, hemos podido determinar un valor de K_a en $CHCl_3$ de 2.1×10^6 M^{-1} mediante análisis de ajuste por mínimos cuadrados (Figura 114, gráfica insertada)[451,452] a la ecuación 2,

$$I_{Obs} = \frac{1}{3} I_{Dim} \frac{(4K_D C_{Tot} + 1) - \sqrt{8K_D C_{Tot} + 1}}{4K_D C_{Tot}} \qquad \text{(Ecuación 2)}$$

la cual es una forma simplificada — en la que hemos considerado la imposibilidad de diferenciar entre la emisión del monómero (**39**) y la emisión de los homodímeros en disposición

[451] Se observa como los datos experimentales y la ecuación teórica 2 siguen la misma tendencia, produciéndose un ajuste a la curva realmente bueno.
[452] La constante de asociación (K_a) se determinó mediante análisis de ajuste por mínimos cuadrados a la ecuación apropiada (ecuación 2), empleando para ello *Mathematica 4.1* (Wolfram Research, Champaign, IL) y/o *Kaleidagraph 3.5* (Sinergy Software, Reading, PA).

alternada (**D_{39} [A]$_{cw}$** y **D_{39} [A]$_{ccw}$**), y que la banda de 472 nm corresponde exclusivamente a la especie **D_{39} [E]** que da lugar a excímero, por lo que sólo estamos estimando 1/3 de la concentración de ciclopéptido **39** que forma homodímero — de la ecuación 3,[453,454]

$$I_{Obs} = I_{Mon}\frac{\sqrt{8K_DC_{Tot}+1}-1}{4K_DC_{Tot}} + I_{Dim}\frac{(4K_DC_{Tot}+1)-\sqrt{8K_DC_{Tot}+1}}{4K_DC_{Tot}} \qquad \text{(Ecuación 3)}$$

siendo I_{Obs} la intensidad de emisión de fluorescencia observada, I_{Mon} la intensidad de emisión de fluorescencia del monómero, I_{Dim} la intensidad de emisión de fluorescencia del dímero, K_D la constante de dimerización (o constante de asociación K_a) y C_{Tot} la concentración total.

Las técnicas de fluorescencia en estado estacionario nos han permitido establecer el valor exacto de la K_a para el caso de los homodímeros α,γ-ciclohexapeptídicos. Dichas especies presentan las constantes de asociación más grandes medidas hasta la actualidad para el caso de nanotubos ciclopeptídicos autoensamblantes. Además, los homodímeros resultantes presentan hasta tres ordenes de magnitud más que las especies homodiméricas α-*D*,*L*-ciclopeptídicas con idéntico número de interacciones de enlace de hidrógeno (seis).[69,70]

Heterodímero $D_{40/39}$: Extinción (*quenching*) de excímeros

Teniendo en cuenta los estudios previos, era obvio esperar que la formación del heterodímero constituido por **39** y una unidad α,γ(Acp)-ciclohexapeptídica complementaria tuviese lugar con mucha mayor afinidad que los procesos de homodimerización de cualquiera de los dos ciclopéptidos (Figura 112 y 115). De esta forma, se observó que la adición del

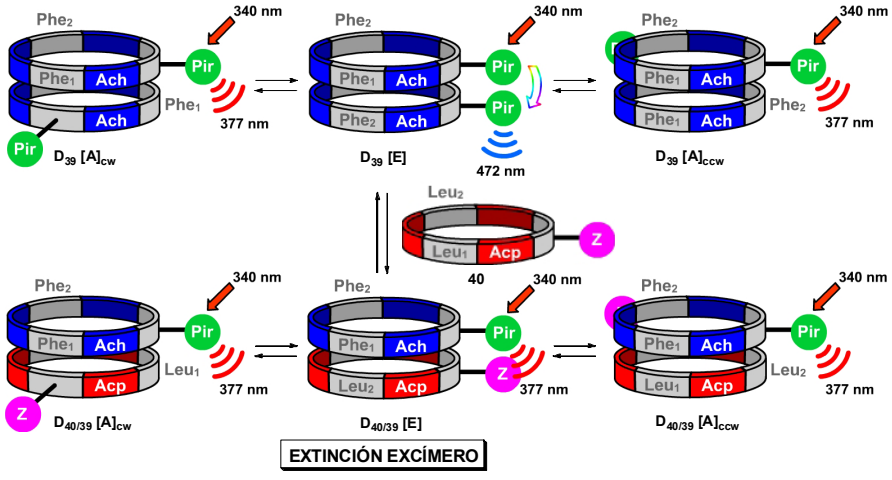


Figura 115. Formación del heterodímero α,γ-ciclohexapeptídico **$D_{40/39}$**. De manera resaltada se indica la extinción de la señal de excímero.

[453] Para el modelo y la ecuación empleada, ver: a) Park, J. W.; Song, H. E.; Lee, S. Y. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 7071-7076. b) Song, H. E.; Lee, S. Y.; Park, J. W. *J. Phys. Chem. B* **2002**, *106*, 5177-5183. c) Martin, R. B. *Chem. Rev.* **1996**, *96*, 3043-3064.

[454] La ecuación 3 ha sido demostrada a partir de la ecuación de Benesi-Hildebrand (ΔI / [β-CD] = $K\Delta I_\infty$ - $K\Delta I$) para el cálculo de la K_a en un sistema monómero/dímero (2M ⇔ D). Para más información, ver: Park, J. W.; Song, H. J. *J. Phys. Chem.* **1989**, *93*, 6454-6458.

ciclohexapéptido no fluorescente **40** — no contiene ningún componente fluoróforo — competía con la formación del homodímero $\mathbf{D_{39}}$ mediante el eficaz secuestro de la unidad cíclica **39** en forma de complejo heterodimérico Acp/Ach $\mathbf{D_{40/39}}$, provocando así la extinción de la banda de emisión del excímero (Figura 115 y 116). Esta observación corrobora claramente el modelo de especies homodiméricas como responsables de la emisión del excímero. Además, aporta una nueva evidencia de la mayor estabilidad que presentan los ensamblajes heterodiméricos frente a los homodiméricos.

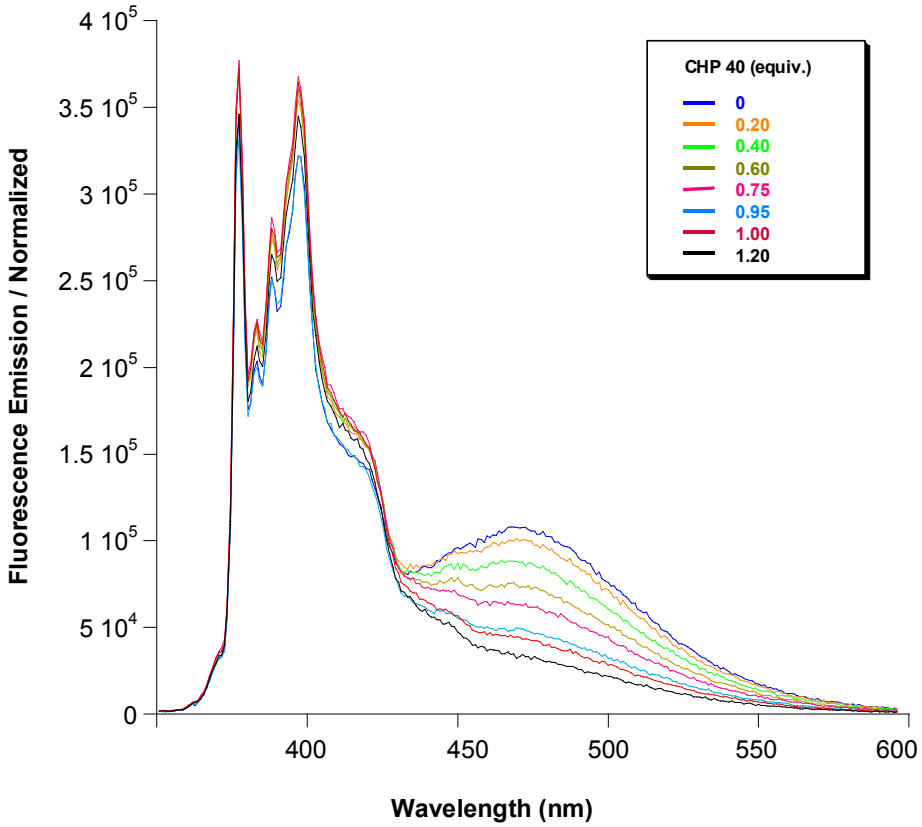


Figura 116. Espectros de emisión de fluorescencia de pireno de una disolución 3.68 μM de *ciclo*{[*L*-Phe-*D*-^{Me}N-γ-Ach]$_2$-*L*-Ser(1-Pirenoacetil)-*D*-^{Me}N-γ-Ach-} (**39**) en $CHCl_3$ (longitud de onda de excitación de 340 nm) en presencia de diferentes equivalentes (desde 0 a 1.2 eq.) de *ciclo*{[*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp]$_2$-*L*-Lys(Z)-*D*-^{Me}N-γ-Acp-} (**40**), mostrando la disrupción del homodímero $\mathbf{D_{39}}$ (y en particular del homodímero $\mathbf{D_{39}}$ **[E]** que da lugar al excímero) y corroborando la formación del correspondiente heterodímero $\mathbf{D_{40/39}}$. Todos los espectros fueron normalizados para llevar a cabo la representación gráfica.

A continuación, decidimos evaluar la formación preferencial del heterodímero Acp/Ach frente a la de los correspondientes homodímeros Acp y Ach mediante procesos de transferencia de energía por resonancia de fluorescencia (FRET) entre α,γ-ciclopéptidos que contienen unidades Pir y Dap en sus cadenas laterales.

14.2.2. HETERODIMERIZACIÓN: TRANSFERENCIA DE ENERGÍA POR RESONANCIA DE FLUORESCENCIA (FRET)

Heterodímero $D_{42/39}$: FRET

El siguiente equilibrio analizado fue el correspondiente al proceso de heterodimerización que tiene lugar al combinar los ciclohexapéptidos fluorescentes **39** y **42**, el cual conduce a la formación selectiva del complejo heterodimérico aceptor/dador Acp/Ach $\mathbf{D_{42/39}}$ (Figura 112 y 117). Al igual que en el caso del homodímero $\mathbf{D_{39}}$, la ausencia en los ciclohexapéptidos de eje de simetría C_3 (las unidades cíclicas **39** y **42** presentan únicamente eje de simetría C_1) propicia la obtención de una mezcla estadística de tres especies heterodiméricas; dos correspondientes a isómeros rotacionales con las funcionalidades Pir y Dap en disposición alternada ($\mathbf{D_{42/39}}$ $\mathbf{[A]_{cw}}$ y $\mathbf{D_{42/39}}$ $\mathbf{[A]_{ccw}}$) y otra correspondiente al isómero rotacional que presenta los fluoróforos Pir y Dap en disposición eclipsada ($\mathbf{D_{42/39}}$ **[E]**).

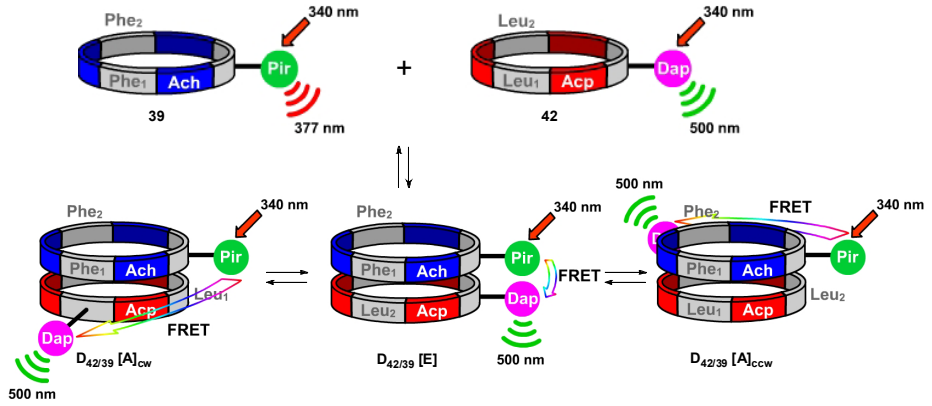


Figura 117. Formación preferencial del heterodímero α,γ-ciclohexapeptídico $\mathbf{D_{42/39}}$. De manera resaltada se muestran los diferentes procesos intramoleculares de FRET para cada uno de los isómeros rotacionales.

La irradiación de una disolución 0.1 μM de **42** en $CHCl_3$ generó el espectro de emisión característico de dapoxilo, con un máximo situado a 500 nm (Figura 118). La adición de sucesivas alicuotas de una disolución *stock* concentrada de **39** dio lugar a un incremento considerable en la intensidad de emisión de fluorescencia a 500 nm. Considerando que el ciclopéptido derivatizado con Pir (**39**) no emite a longitudes próximas a 500 nm, y que la concentración se mantiene constante a lo largo de la valoración, podemos afirmar con seguridad que el aumento de intensidad en la banda de emisión es consecuencia de un proceso intramolecular de transferencia de energía por resonancia de fluorescencia (FRET) entre las funcionalidades Pir y Dap en la especie heterodimérica $\mathbf{D_{42/39}}$. Del mismo modo, la valoración inversa mediante adición de sucesivas alicuotas de **42** a una disolución 5.0 μM de **39** mostró de nuevo un incremento sustancial en la intensidad de la emisión de fluorescencia de la banda de dapoxilo y una reducción significante en las bandas del pireno, poniendo de manifiesto de forma más evidente el proceso intramolecular heterodimérico de FRET.

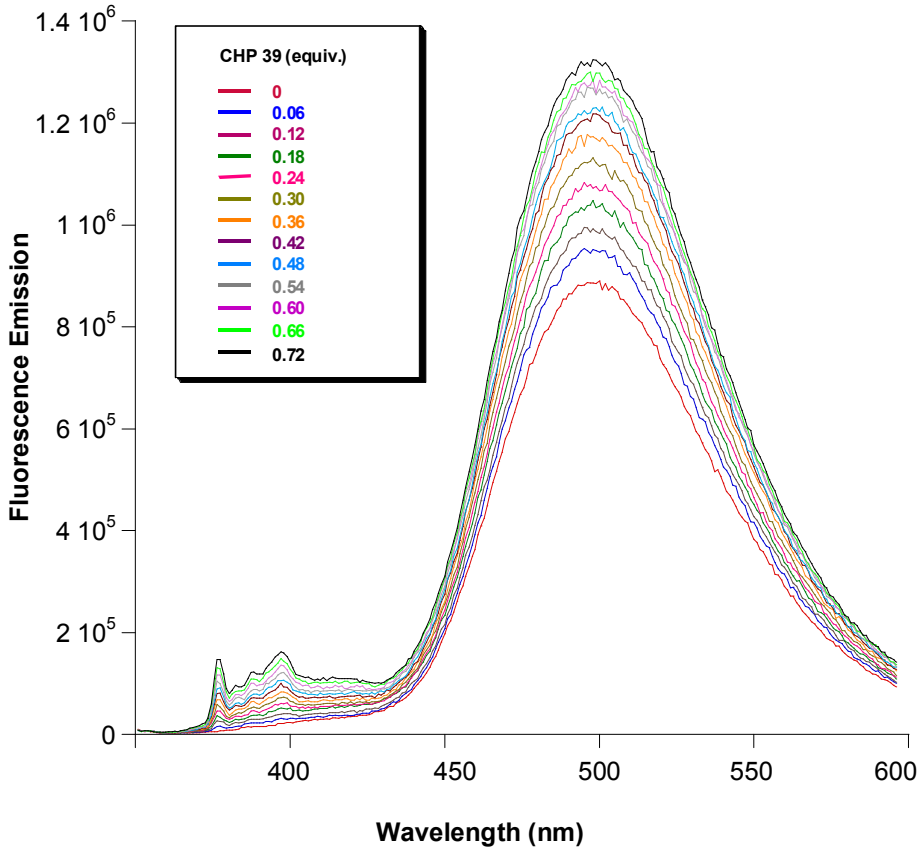


Figura 118. Espectros de emisión de fluorescencia de una disolución 0.81 μM de *ciclo*{[*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp]$_2$-*L*-Lys(Dapoxilo)-*D*-^{Me}N-γ-Acp-} (**42**) en $CHCl_3$ (longitud de onda de excitación de 340 nm) en presencia de diferentes equivalentes (desde 0 a 0.72 eq.) de *ciclo*{[*L*-Phe-*D*-^{Me}N-γ-Ach]$_2$-*L*-Ser(1-Pirenoacetil)-*D*-^{Me}N-γ-Ach-} (**39**), corroborando la formación del correspondiente heterodímero $\mathbf{D_{42/39}}$. Todos los espectros fueron normalizados para llevar a cabo la representación gráfica.

Como hemos indicado con anterioridad, la transferencia de energía es fundamentalmente posible debido al solapamiento espectral casi completo (próximo al 100%) que existe entre la banda de absorción del dapoxilo y la de emisión del pireno, lo cual asegura una transferencia de energía eficiente entre los dos fluoróforos (Figura 111).[305] Teniendo en cuenta dicho espectro de solapamiento espectral y considerando un rendimiento cuántico de pireno igual a 0.03 bajo estas condiciones,[455] hemos podido determinar un radio de Förster (R_0) de 23 Å, empleando para ello la ecuación 4,[305]

$$R_0 = \left[\frac{9000(\ln 10)\kappa^2 \phi_D}{128\pi^5 N_A n^4} \int_0^\infty I_D(\lambda)\varepsilon_A(\lambda)\lambda^4 d\lambda \right]^{1/6} \qquad \text{(Ecuación 4)}$$

[455] Masuko, M.; Ohuchi, S.; Sode, K.; Ohtani, H.; Shimadzu, A. *Nucleic Acids Res.* **2000**, *28*, *e34*.

o de forma mucho más simplificada — asumiendo que R_0 está expresado en Å, λ en nm y $\varepsilon_A(\lambda)$ en $M^{-1}\cdot cm^{-1}$ (integral de solapamiento espectral en $M^{-1}\cdot cm^{-1}\cdot nm^4$) y haciendo el cambio de unidades de manera adecuada — mediante la ecuación 5,[305]

$$R_0 = 0.2108\left[\kappa^2 \phi_D n^{-4} J\right]^{1/6} \qquad \text{(Ecuación 5)}$$

siendo κ^2 el factor de orientación,[456] ϕ_D el rendimiento cuántico de fluorescencia del dador (Pir) en ausencia de transferencia, *J* la superposición (o solapamiento) espectral entre la absorción del aceptor (Dap) y la emisión del dador (Pir),[457,458] N_A el número de Avogadro y *n* el índice de refracción del medio en el rango de longitud de onda donde la transferencia es significativa.

Heterodímero $D_{42/37}$: Extinción (*quenching*) de FRET

La disrupción de la especie supramolecular heterodimérica **$D_{42/39}$** se logró satisfactoriamente mediante adición competitiva de la unidad α,γ(Ach)-ciclohexapeptídica complementaria no fluoróforo **37** (Figura 112 y 119), observándose un evidente aumento en la emisión natural del pireno a 377 y 397 nm y una reducción drástica de la señal correspondiente al Dap situada a 500 nm (Figura 120). Este resultado es consecuencia de la formación de los heterodímeros Acp/Ach **$D_{42/37}$** — mayoritariamente — y Ach/Ach **$D_{37/39}$** — minoritariamente —, los cuales no presentan posibilidad alguna de dar lugar a procesos de transferencia de energía.

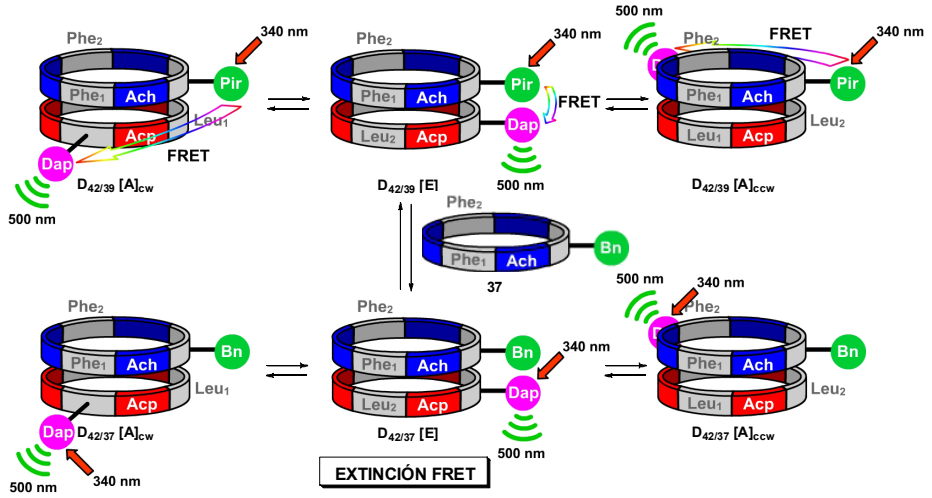


Figura 119. Formación preferencial del heterodímero α,γ-ciclohexapeptídico **$D_{42/37}$**. De manera resaltada se indica la extinción de la señal de FRET como consecuencia de la disrupción del heterodímero **$D_{42/39}$**.

[456] El factor de orientación (κ^2) se calcula mediante la ecuación $\kappa^2 = \text{sen}\phi_D \times \text{sen}\phi_A \times \cos\varphi - 2\cos\phi_D \times \cos\phi_A$, siendo ϕ_D el rendimiento cuántico del dador (Pir) y ϕ_A el rendimiento cuántico del aceptor (Dap). Normalmente se asume que su valor es igual a 2/3 si los dipolos están orientados aleatoriamente y se pueden reorientar rápidamente durante el estado de excitación.

[457] El solapamiento espectral (J) se calcula mediante la integral $J = \int_0^\infty I_D(\lambda)\varepsilon_A(\lambda)\lambda^4 d\lambda$.

[458] Suele expresarse en unidades $M^{-1}\cdot cm^{-1}\cdot nm^4$ o $Å^6\cdot mol^{-1}$.

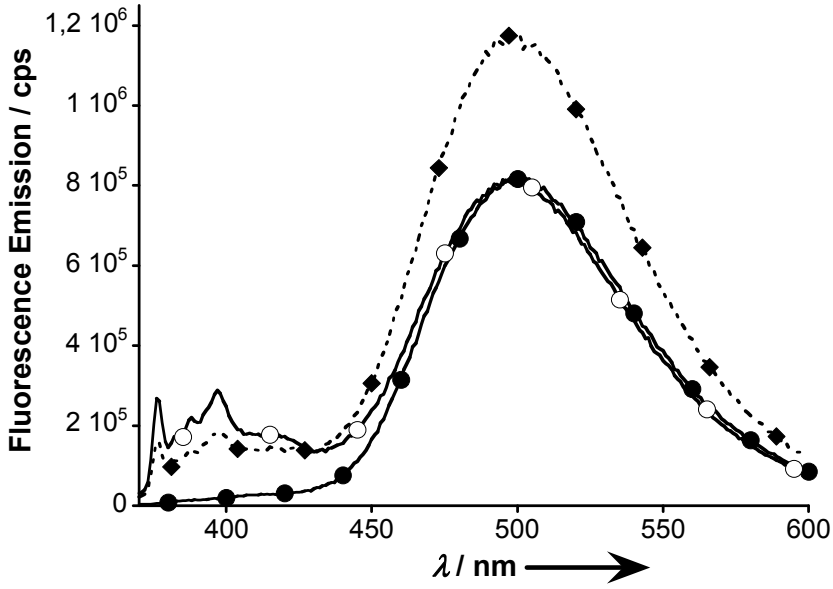


Figura 120. Espectros de emisión de fluorescencia de: **a)** una disolución monomérica 0.1 μM (●, línea sólida) de *ciclo*{[*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp]$_2$-*L*-Lys(Dapoxilo)-*D*-^{Me}N-γ-Acp-} (**42**); **b)** una disolución (♦, línea punteada) de heterodímero **D$_{42/39}$**, mostrando el FRET; **c)** una disolución (○, línea sólida) de heterodímero **D$_{42/37}$** [obtenido mediante la adición de exceso de *ciclo*{[*L*-Phe-*D*-^{Me}N-γ-Ach]$_2$-*L*-Ser(Bn)-*D*-^{Me}N-γ-Ach-} (**37**) al heterodímero **D$_{42/39}$**], mostrando la supresión del FRET. Todas las disoluciones en $CHCl_3$. Longitud de onde de excitación de 340 nm. Todos los espectros fueron normalizados para llevar a cabo la representación gráfica.

Finalmente, cabe destacar que — como era de esperar — la adición de un exceso considerable (~100 equiv.) de ácido 1-pirenoacético sobre una disolución del dapoxilderivado ciclopeptídico **42** no indujo ningún cambio significativo en la intensidad de emisión de dicho macrociclo. Este hecho es consistente con la ausencia de una unidad cíclica complementaria funcionalizada con Pir, poniendo así de manifiesto la importancia del modelo homo- y heterodimérico en el proceso de transferencia de energía.

Los estudios de fluorescencia en estado estacionario nos han permitido analizar de forma mucho más exhaustiva las bases termodinámicas que rigen los procesos de homo- y heterodimerización de los α,γ-ciclohexapéptidos. De este modo, hemos podido determinar los valores de constante de asociación para los derivados α,γ(Ach)-ciclohexapeptídicos funcionalizados convenientemente con unidades Pir en sus cadenas laterales, presentando valores de K_a (en $CHCl_3$ de 2.1×10^6 M^{-1}) hasta cinco órdenes de magnitud más que los α,γ-ciclotetrapéptidos análogos descritos con anterioridad (Tabla 8).[459] Estos resultados son los mayores obtenidos para la formación de nanotubos ciclopeptídicos, especialmente si se comparan con los *D*,*L*-α-ciclopéptidos que presentan igual número de enlaces de hidrógeno.[460] La gran estabilidad y fácil preparación de las nanoestructuras resultantes hacen que adquieran

[459] La formación de dos enlaces de hidrógeno adicionales produjo un incremento considerable en los valores de K_a.
[460] Los valores de K_a de los α,γ-ciclohexapéptidos son tres órdenes de magnitud mayores que el de los correspondientes *D*,*L*-α-ciclohexapéptidos.

Tabla 8. Constantes de asociación (K_a) de diversas estructuras homodiméricas

Compuesto	K_a[a]
D_{23}	47[b]
D_{24}	28[b]
D_{39}	2.1×10^{6}[c]

[a] Los valores de K_a están expresados en M^{-1}

[b] Determinada mediante análisis de Van`t Hoff

[c] Determinada mediante estudios de fluorescencia

una especial relevancia en la construcción de sistemas de transferencia de energía. Además, la presencia de diferentes fluoróforos permite disponer de una enorme colección de sondas α,γ-ciclopeptídicas fluorescentes, las cuales pueden ser empleadas de manera satisfactoria en el estudio de diversos estados de asociación. El control de la concentración de las mismas, así como de los procesos en las que intervienen, facilita el estudio de complejos sistemas multicomponente en los que participan especies homo- y heterodiméricas en el equilibrio mediante la emisión de señales distintivas de fluorescencia (Tabla 9).

Tabla 9. Estudio de fluorescencia en $CHCl_3$ (longitud de onda de excitación de 340 nm, T = 298 K) de diversas estructuras homo- y heterodiméricas, en donde se muestran las principales bandas de emisión [**Em_1** y **Em_2**: bandas de emisión características de pireno; **Em_3**: banda de emisión característica del excímero de pireno; **Em_4**: banda de emisión característica de dapoxilo]. De manera resaltada se muestran: **a)** la banda de emisión de excímero para el caso del homodímero **D_{39} [E]** (sombreado azul pálido), cuya formación viene determinada por la aparición de dicha señal; **b)** la banda de emisión de dapoxilo para el caso del heterodímero **$D_{42/39}$** (sombreado verde claro) responsable del FRET intramolecular, cuya formación viene determinada por el aumento de dicha señal.

Compuesto	Em_1[a]	Em_2	Em_3	Em_4
Ácido 1-pirenoacético[461]	377	397		
D_{39} [E]	377	397	472	
D_{42}				500
$D_{42/39}$	377	397		500

[a] Las longitudes de onda de cada banda de emisión están expresadas en nm

[461] El ácido 1-pirenoacético se emplea como referencia de pireno, ya que no da lugar a la formación de excímeros.

Decidimos a continuación llevar a cabo la caracterización completa de la dinámica de los procesos que tienen lugar en el equilibrio, empleando para ello técnicas de fluorescencia con resolución temporal *(time-resolved)*.[305,462]

14.3. ESTUDIOS DE FLUORESCENCIA CON RESOLUCIÓN TEMPORAL

14.3.1. HOMODIMERIZACIÓN: FORMACIÓN DE EXCÍMEROS

En primer lugar, se procedió a irradiar una disolución de homodímero $\mathbf{D_{39}}$ a la longitud de onda de excitación del pireno (333 nm), lo que permitió observar un decaimiento de la fluorescencia a la longitud de onda de emisión del pireno (380 nm) que se ajustó a un modelo biexponencial con dos tiempos de vida diferentes de 24 y 7 ns (Figura 121a, Tabla 10). El tiempo de 24 ns se corresponde con el decaimiento normal de emisión de pireno en un

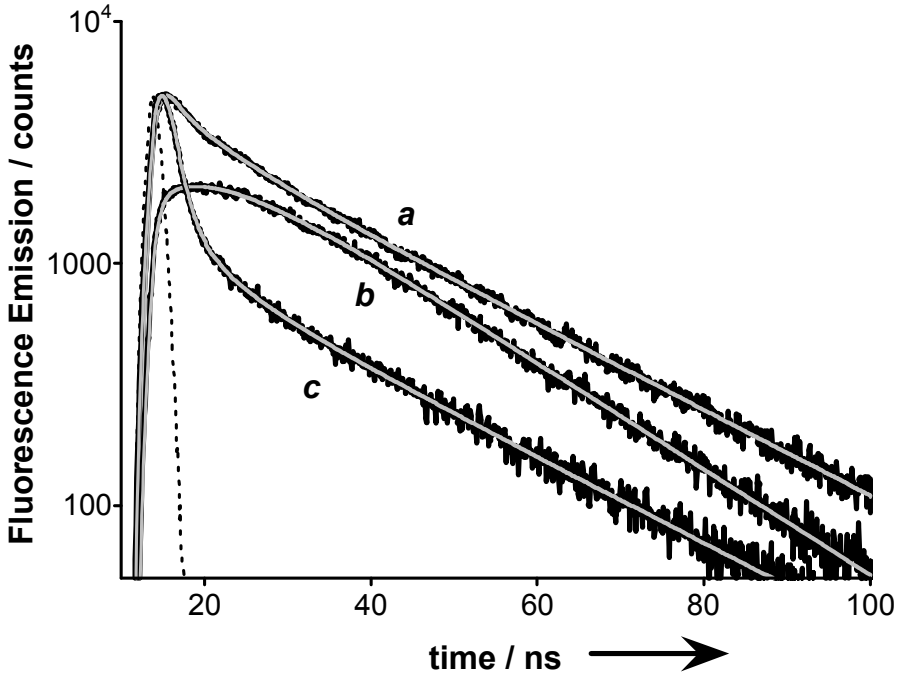


Figura 121. a) Espectros de emisión de fluorescencia con resolución temporal (longitud de onda de emisión de 380 nm) de una disolución monomérica 5 μM de *ciclo*{[*L*-Phe-*D*-^{Me}N-γ-Ach]$_2$-*L*-Ser(1-Pirenoacetil)-*D*-^{Me}N-γ-Ach-} (**39**). **b)** Espectros de emisión de fluorescencia con resolución temporal (longitud de onda de emisión de 470 nm) de una disolución de homodímero $\mathbf{D_{39}}$. **c)** Espectros de emisión de fluorescencia con resolución temporal (longitud de onda de emisión de 380 nm) del heterodímero $\mathbf{D_{42/39}}$ [obtenido mediante la adición de una disolución 5 μM de *ciclo*{[*L*-Phe-*D*-^{Me}N-γ-Ach]$_2$-*L*-Ser(1-Pirenoacetil)-*D*-^{Me}N-γ-Ach-} (**39**) a una disolución 1 μM de *ciclo*{[*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp]$_2$-*L*-Lys(Dapoxilo)-*D*-^{Me}N-γ-Acp-} (**42**)]. Todas las disoluciones en $CHCl_3$. La emisión se muestra en color negro. La línea punteada representa el pulso del láser. Las líneas grises representan los mejores ajustes a los datos experimentales.

[462] *Time-Resolved Fluorescence Spectroscopy in Biochemistry and Biology, NATO ASI Series (Series A, Life Sciences)*; Eds. R. B. Cundall, R. E. Dale; Plenum Press: New York (Estados Unidos), **1983**.

Tabla 10. Tiempos de vida (τ_1 y τ_2) resultantes del análisis mediante fluorescencia con resolución temporal de diversas disoluciones de estructuras homo- y heterodiméricas en $CHCl_3$. En el caso de la especie que da lugar a FRET intramolecular se indica la distancia media entre fluoróforos ($r_{Pir\text{-}Dap}$).

Compuesto	λ_{em}[a]	τ_1[b]	τ_2	$r_{Pir\text{-}Dap}$[c]	Eficiencia[d]
D_{39}	380	24	7		
D_{39}	470	19	7		
$D_{42/39}$ [A]	380	24	1	14	96
$D_{42/39}$ [E]	380	24	nd[e]		>99

[a] La longitud de onda de emisión (λ_{em}) está expresada en nm

[b] Los tiempos de vida están expresados en ns

[c] La distancia media entre los fluoróforos ($r_{Pir\text{-}Dap}$) está expresada en Å

[d] La eficiencia de la transferencia está expresada en %

[d] No detectable

disolvente desoxigenado, por lo que se asignó a los dos diastereoisómeros rotacionales en disposición alternada (**D_{39} [A]$_{cw}$** y **D_{39} [A]$_{ccw}$**), en los cuales la formación de excímero es geométricamente imposible. Por otra parte, el tiempo de vida de 7 ns se asignó al isómero rotacional que presenta apiladas sus cadenas laterales conteniendo pireno (**D_{39} [E]**), el cual puede dar lugar a la emisión de excímero. Las medidas de decaimiento de fluorescencia realizadas a la longitud de onda de emisión del excímero de pireno (470 nm) también mostraron un decaimiento biexponencial con dos tiempos de vida de 19 y 7 ns (Figura 121b, Tabla 10). El tiempo más largo (19 ns) se asocia a valores positivos de factor pre-exponencial y se corresponde con el decaimiento del excímero, el cual — como puede ser fácilmente deducido de los propios factores pre-exponenciales — se forma principalmente en el estado excitado. El tiempo más corto (7 ns) presenta un factor pre-exponencial negativo y se asignó al proceso de cambio conformacional que da lugar a la disposición geométrica requerida para la formación del excímero (Figura 122).

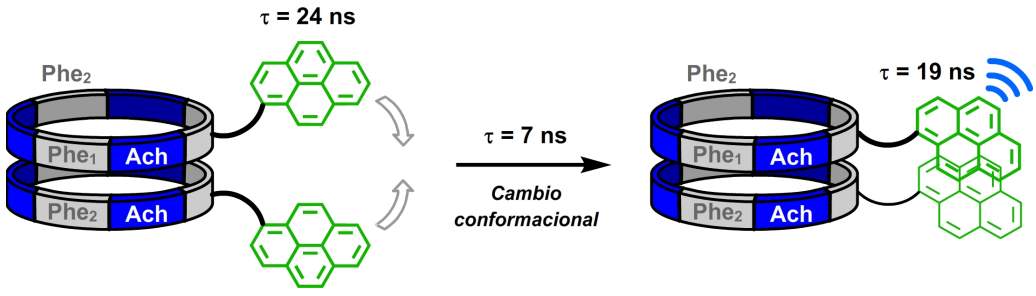


Figura 122. Cambio conformacional que tiene lugar en el homodímero **D_{39} [E]** para lograr la disposición geométrica requerida para la formación del excímero.

14.3.2. HETERODIMERIZACIÓN: TRANSFERENCIA DE ENERGÍA POR RESONANCIA DE FLUORESCENCIA (FRET)

En segundo lugar, se llevó a cabo el estudio de emisión temporal del complejo heterodimérico **$D_{42/39}$**, el cual da lugar a procesos de transferencia de energía por resonancia de fluorescencia. La irradiación a 333 nm de una disolución del heterodímero **$D_{42/39}$** nos permitió observar de nuevo a 380 nm un decaimiento de la fluorescencia que se ajustó a un modelo biexponencial con dos tiempos de vida diferentes de 24 y 1 ns (Figura 121c, Tabla 10). El tiempo de 24 ns se asignó al decaimiento normal de emisión de pireno correspondiente al homodímero **D_{39}**, que en este caso concreto se encuentra en exceso. El decaimiento exponencial de 1 ns pertenece a un nuevo fenómeno de transferencia de energía realmente rápido. Este tiempo de vida del proceso FRET (1 ns),[463] junto con el radio de Förster previamente estimado (23 Å) mediante medidas de fluorescencia en estado estacionario, nos permitió determinar una distancia media pireno-dapoxilo ($r_{Pir\text{-}Dap}$) de 14 Å, con un 96% de eficiencia en el proceso de transferencia de energía,[464] empleando para ello la ecuación 6,[305]

$$r = \frac{R_0}{(\tau_D^0 / \tau_{te})^{1/6}} \qquad \text{(Ecuación 6)}$$

siendo R_0 el radio de Förster, τ^0_D el tiempo de vida del estado excitado del dador (pireno) en ausencia de transferencia y τ_{te} el tiempo de vida del estado excitado del proceso de transferencia de energía.[465] La distancia $r_{Pir\text{-}Dap}$ estimada (14 Å) corresponde a los isómeros rotacionales donde los fluoróforos no están próximos (disposiciones alternadas **$D_{42/39}$ $[A]_{cw}$** y **$D_{42/39}$ $[A]_{ccw}$**) (Figura 123). La distancia $r_{Pir\text{-}Dap}$ correspondiente al diastereoisómero rotacional donde los fluoróforos están muy próximos (disposición eclipsada **$D_{42/39}$ [E]**) no se pudo establecer debido a que dicha especie presenta una transferencia de energía mucho más rápida que en el caso de las disposiciones alternadas, haciendo imposible su detección en la escala de tiempos del nanosegundo. Además, cabe resaltar que la eficiencia de esta transferencia ha de ser muy cercana al 100%.

Los estudios de fluorescencia mediante resolución temporal han permitido profundizar en la dinámica de los procesos de homo- y heterodimerización α,γ-ciclohexapeptídica, pudiendo así caracterizar completamente cada uno de los estados que se involucran en los mismos. Además, han servido como complemento perfecto de los estudios de fluorescencia en estado estacionario, aportando de manera conjunta una enorme información sobre los complejos equilibrios de asociación que tienen lugar en sistemas supramoleculares multicomponente.

---

[463] La constante de transferencia de energía ($\kappa_{te} = 1/\tau_{te}$) estimada para este proceso fue 1 ns^{-1}. Dicha constante representa el valor promedio ponderado de las diferentes conformaciones y distancias entre las funcionalidades dador (pireno) y aceptor (perileno).

[464] La eficiencia (E) del FRET hace referencia al rendimiento cuántico de la transición correspondiente a la transferencia de energía. Dicha eficiencia se calcula empleando la ecuación $E = 1 / [1 + (r/R_0)^6]$ (ecuación 1).

[465] El error estimado en la determinación de la distancia dador-aceptor ($r_{Pir\text{-}Dap}$) es de aproximadamente el 10%, derivado fundamentalmente del cálculo del radio de Förster. Para más información, ver: Stryer, L. *Annu. Rev. Biochem.* **1978**, *47*, 819-846.

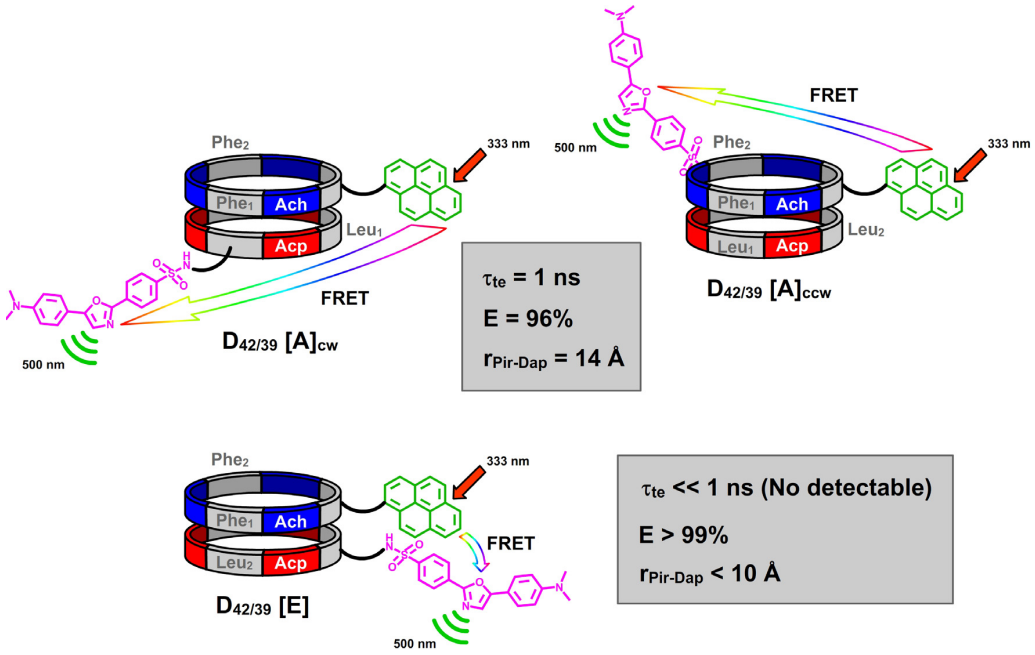
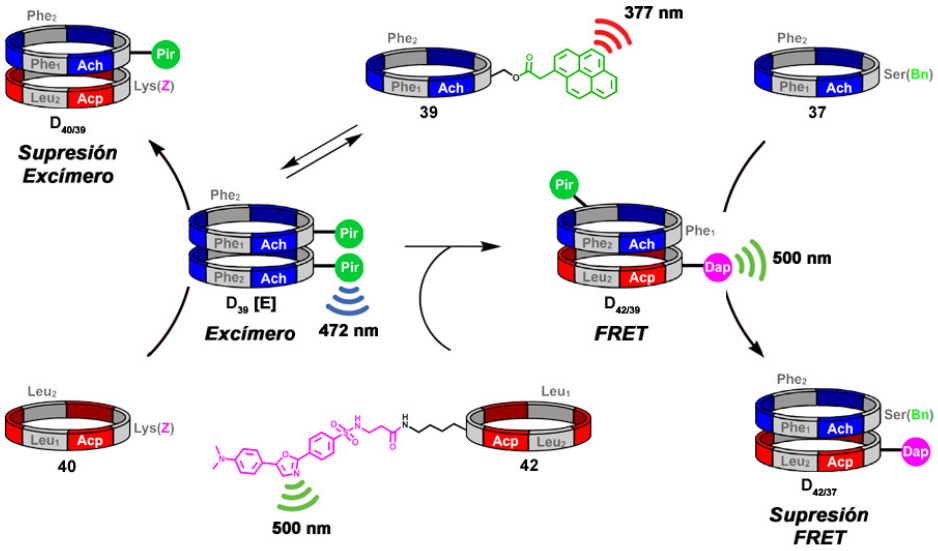


Figura 123. Procesos intramoleculares de transferencia de energía por resonancia de fluorescencia (FRET) que tienen lugar en el heterodímero Acp/Ach **$D_{42/39}$** entre una unidad de pireno (dador) y otra de dapoxilo (aceptor). La transferencia de energía en los dos diastereoisómeros rotacionales en disposición alternada (**$D_{42/39}$ [A]$_{cw}$** y **$D_{42/39}$ [A]$_{ccw}$**) presenta un tiempo de vida de 1 ns, mientras que la del diastereoisómero rotacional en disposición eclipsada (**$D_{42/39}$ [E]**) resulta ser mucho más rápida, siendo imposible su detección en la escala de tiempos del nanosegundo.

En resumen, las técnicas espectroscópicas de fluorescencia nos han servido para obtener de nuevo pruebas concluyentes de la formación de especies homo- y heterodiméricas resultantes del autoensamblaje molecular de α,γ(Acp)- y/o α,γ(Ach)-ciclohexapéptidos. La introducción de funcionalidades Pir ha permitido determinar la constante de asociación del proceso de homodimerización de los α,γ(Ach)-cicloderivados (K_a = 2.1 × 10^6 M^{-1}), mostrando así la fortaleza de la interacción tipo lámina β responsable de la formación del homodímero. A pesar de esta fortaleza, se pudo observar una clara selectividad hacia la formación de los heterodímeros Acp/Ach, poniendo nuevamente de manifiesto la mayor estabilidad de las especies heterodiméricas frente a las correspondientes homodiméricas. Cabe resaltar que la formación selectiva de los heterodímeros Acp/Ach se debe fundamentalmente a las interacciones de enlace de hidrógeno que se establecen a nivel del esqueleto peptídico, siendo independiente de las cadenas laterales que presenten los ciclopéptidos. El equilibrio homo/hetero permite de esta forma la formación selectiva de una amplia colección de ensamblajes supramoleculares con aplicaciones potenciales como biosensores, catalizadores y dispositivos ópticos y/o electrónicos. La introducción de las funcionalidades fluoróforas resultó ser particularmente relevante para el diseño y caracterización de un novedoso sistema multicomponente constituido por unidades α,γ-ciclohexapeptídicas derivadas de Pir y Dap, las cuales presentan señales fluorescentes características fácilmente controlables (Tabla 9). Dichos sistemas están diseñados específicamente para el estudio de redes supramoleculares multicomponente que involucran procesos de homo- y heterodimerización (Esquema 11). Los exhaustivos análisis de fluorescencia mostrados con anterioridad corroboraron que las

unidades α,γ-cíclicas actúan como plataformas adecuadas para la transferencia eficiente de energía, proporcionando una distribución espacial optimizada entre fluoróforos, una característica que podría ser utilizada con éxito para el desarrollo de ensamblajes captadores/convertidores de luz eficientes. Además, se ha empleado por primera vez la formación de excímeros de pireno junto con la transferencia de energía por resonancia de fluorescencia (FRET) para conseguir distintas señales fluorescentes características ligadas a diversos estados de asociación. Finalmente, también hemos de resaltar la utilización de un nuevo par de FRET entre Pir y Dap, el cual se caracteriza por una alta eficiencia en la transferencia y por poseer longitudes de onda de excitación y emisión convenientes para estudios biológicos de imagen.

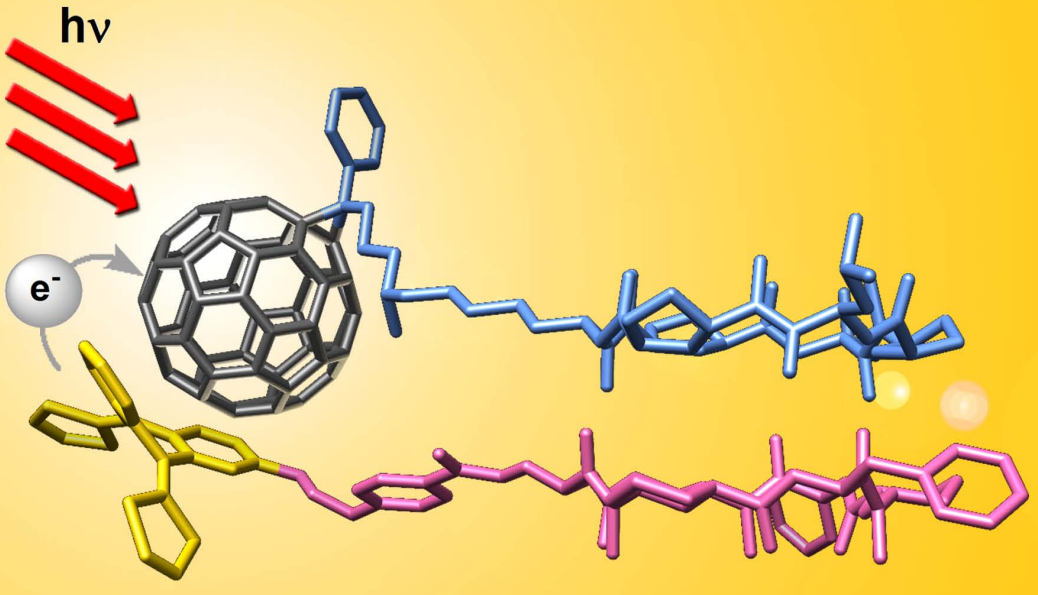


Esquema 11. Representación general de un sistema supramolecular multicomponente basado en α,γ-ciclohexapéptidos fluorescentes resultado de la formación controlada de homo- y heterodímeros.

La aplicación de la estrategia anterior en la construcción de redes supramoleculares de transferencia de energía constituidas por unidades cíclicas de mayor tamaño debe facilitar nuevamente el estudio detallado de las bases termodinámicas que rigen los equilibrios de homo- y heterodimerización presentes en las mismas.[171,466]

La utilización del diseño de red multicomponente descrito con anterioridad también ha de permitirnos la preparación de novedosos sistemas híbridos supramoleculares dador/aceptor de transferencia electrónica fotoinducida.

[466] Recientemente, el estudio mediante fluorescencia de los procesos de homodimerización de los α,γ-ciclooctapéptidos *ciclo*{[*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Acp-*D*-Ser(Pir)-*L*-^{Me}N-γ-Acp-]$_2$-} y *ciclo*{[*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach-*D*-Ser(Pir)-*L*-^{Me}N-γ-Ach-]$_2$-} ha permitido determinar unos valores de K_a en $CHCl_3$ de 7.3×10^8 y 1.2×10^8 M^{-1}, respectivamente. Además, también se ha podido observar la formación preferencial de los heterodímeros α,γ-cicloctapeptídicos mediante procesos FRET altamente eficientes entre funcionalidades Pir (dador) y Per (aceptor) introducidas convenientemente en cada una de las subunidades ciclopeptídicas.



α,γ-CICLOPÉPTIDOS: SISTEMAS DE TRANSFERENCIA DE ELECTRONES

El cuarto objetivo planteado en esta memoria de Tesis Doctoral abarcaba la preparación de sistemas supramoleculares de transferencia electrónica fotoinducida basados en el modelo α,γ-ciclopeptídico descrito con anterioridad, para lo cual fue necesario disponer de componentes α,γ-cíclicos convenientemente funcionalizados en sus cadenas laterales con grupos dadores y aceptores de electrones.

La introducción de unidades electrodadoras y/o electroaceptoras en los α,γ-ciclopéptidos debe permitirnos obtener una gran variedad de nanoestructuras supramoleculares funcionales estables termodinámicamente, las cuales adquieren gran relevancia en la construcción de novedosos sistemas de transferencia electrónica altamente eficientes. Los correspondientes nanoensamblajes presentan potenciales aplicaciones como fotosistemas artificiales y/o dispositivos optoelectrónicos, mimetizando de algún modo la capacidad como transferidores de electrones que presentan numerosas moléculas naturales.

15. SISTEMAS NATURALES DE TRANSFERENCIA DE ELECTRONES

Uno de los ejemplos más característicos de biomoléculas que presentan capacidad para actuar como eficientes transferidores electrónicos es el de las enzimas **oxidorreductasas** (Figura 124).[467] Esta familia de enzimas es responsable de catalizar un gran número de procesos de reducción/oxidación biológicos. De este modo, se caracterizan por llevar a cabo la transferencia de electrones — acompañada del correspondiente cambio compensatorio en la cantidad de hidrógeno y oxígeno — desde una molécula dadora (agente reductor) hasta otra aceptora (agente oxidante). Su clasificación se hace en base a su modo de acción y/o al dador/aceptor de electrones empleado, pudiendo encontrar ejemplos tan notables como el de las enzimas deshidrogenasas (alcohol deshidrogenasa, piruvato deshidrogenasa,…),[468]

a) **b)**



Figura 124. Ejemplos de oxidorreductasas. **a)** Alcohol deshidrogenasa. **b)** Dihidrofolato reductasa.

[467] a) *Springer handbook of enzymes [Class 1 - Oxidoreductases, Vol. S1 (2nd edn)]*; Eds. A. Chang, D. Schomburg, I. Schomburg; Springer-Verlag: Berlín (Alemania), **2009**. b) *Springer handbook of enzymes [Class 1 – Oxidoreductases I-XII, Vol. 16-27 (2nd edn)]*; Eds. A. Chang, D. Schomburg, I. Schomburg; Springer-Verlag: Berlín (Alemania), **2004**-**2006**.

[468] Las deshidrogenasas (DH) son enzimas que oxidan un sustrato mediante una reacción de reducción que transfiere uno o más hidruros (H^-) a un aceptor de electrones, generalmente NAD^+, $NADP^+$ o coenzimas flavina (FAD, FMN,…).

reductasas (dihidrofolato reductasa, 5-α reductasa,…),[469] oxidasas (citocromo *c* oxidasa, glucosa oxidasa,…),[470] oxigenasas (mono- y dioxigenasas)[471] y peroxidasas (lactoperoxidasa, eosinófilo peroxidaxa,…).[472] Sin embargo, en el metabolismo celular las reacciones de óxido-reducción resultan ser menos patentes; simplemente consisten en la oxidación o reducción de grupos funcionales, por lo que suelen implicar a coenzimas — como pueden ser los pares NAD^+/NADH, $NADP^+$/NADPH, FAD/$FADH_2$ o FMN/$FMNH_2$ — que también varían su estado redox. La mayoría de oxidorreductasas presentan una función especialmente relevante en la naturaleza, siendo claves en el metabolismo energético de las células. Dentro de este grupo de enzimas, destacan particularmente aquellas que intervienen activamente en el proceso fotosintético.

Como habíamos mencionado con anterioridad, la fotosíntesis natural es un claro ejemplo de la organización jerárquica de una gran colección de moléculas cromóforas en el espacio para dar lugar a procesos de transferencia energética y/o electrónica eficientes (Figura 90 y 91).[276] Además, cabe resaltar que en la fotosíntesis se encuentran dos de los procesos termodinámicamente más exigentes: la oxidación de agua y la reducción de dióxido de carbono. Dicho fenómeno natural tiene lugar por medio de una compleja secuencia de captación de luz, separación de cargas fotoinducida y eventos de catálisis. Así, la luz absorbida por una molécula antena (habitualmente clorofila) es transferida a los centros de reacción donde se lleva a cabo la separación de cargas. Hemos de destacar que la transferencia de electrones inicial genera una cascada de reacciones redox que liberan energía de forma escalonada. Tanto los electrones desprendidos como la energía emitida son fundamentales para transformar de manera eficiente el NADP en NADPH. Finalmente, la entrada en el ciclo de CO_2 permite obtener carbohidratos y liberar más energía, permitiendo así la transformación de ADP en ATP, el cual es responsable de almacenar dicha energía. Dentro del proceso fotosintético, cabe destacar fundamentalmente aquellas biomoléculas que forman parte de la cadena de transporte de electrones (Figura 125). Dicho módulo de transferencia electrónico está constituido por un conjunto de proteínas transportadoras de electrones y por grupos prostéticos asociados. Así, el sistema de transferencia de electrones entre los dos fotosistemas (FS I y FS II) está formado por feofitina (Pheo), plastoquinona (PQ), citocromos *b* y *f* — con su correspondiente complejo b_6f — y plastocianina (PC), mientras que el sistema de transferencia de electrones posterior al FS I está compuesto por quinonas especiales, proteínas hierro-azufre (Fe-S), ferredoxina (Fd) y una flavoproteína que reduce $NADP^+$. Este mecanismo se denomina habitualmente como **flujo de electrones no cíclico**. Por otra parte, los electrones también pueden volver atrás y pasar desde la cadena transportadora de FS I al complejo citocromo b_6f en la cadena de transporte de electrones de FS II. Este otro mecanismo se conoce como **flujo de electrones cíclico**, y permite que FS I opere sin FS II.

[469] Las reductasas (R) son enzimas que catalizan reacciones de reducción.
[470] Las oxidasas (O) son enzimas que catalizan reacciones de oxidación/reducción empleando oxígeno molecular (O_2) como aceptor de electrones. En estas reacciones, el O_2 se reduce a H_2O o H_2O_2.
[471] Las oxigenasas (O) son enzimas que oxidan un sustrato mediante la transferencia de oxígeno presente en el oxígeno molecular (O_2, como en el aire). A diferencia de las oxidasas — en donde el oxígeno no se encuentra en el producto oxidado (enzimas disimilativas) —, las oxigenasas incorporan el oxígeno al sustrato de la molécula, presentando así un carácter asimilativo.
[472] Las peroxidasas (PO) son enzimas — habitualmente hemoproteicas —que catalizan la oxidación de sustratos mediante la utilización de peróxidos. De este modo, regulan reacciones bisustrato de carácter redox, empleando un peróxido como oxidante y un segundo sustrato de características reductoras que es oxidado por el peróxido. Cabe destacar que las reacciones de las peroxidasas no forman parte de las rutas usuales del metabolismo energético, sino que se usan fundamentalmente en la síntesis de algunos compuestos y como protección de determinadas sustancias.

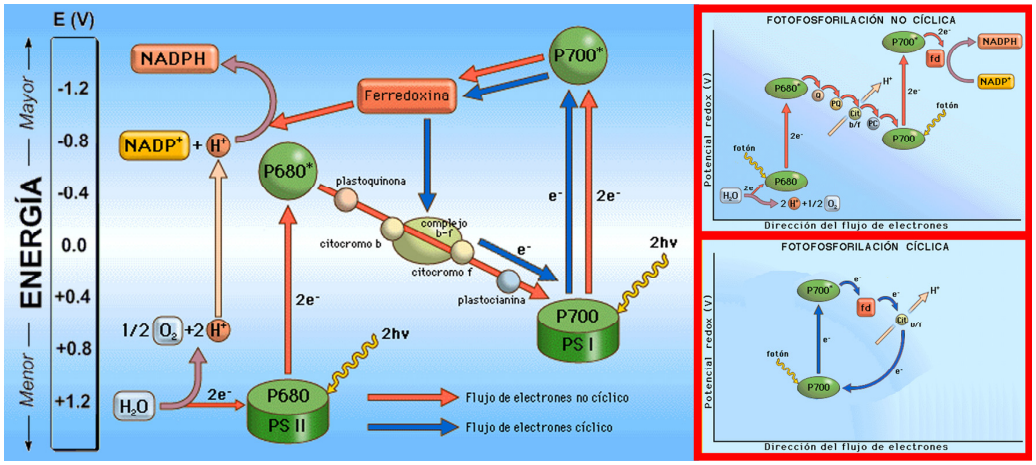


Figura 125. Esquema Z de la fotosíntesis. Dicho esquema energético describe los cambios de oxidación/reducción que tienen lugar durante la fase luminosa del proceso fotosintético. De manera resaltada se muestran los mecanismos de fotofosforilación no cíclico y cíclico.

Un aspecto muy importante en la fotosíntesis es la velocidad con la que se produce la transferencia energética y/o electrónica. Considerando que el tiempo de vida de un estado excitado es simplemente de unos cuantos nanosegundos,[305] se puede establecer que, tras la absorción de luz, la separación de cargas debe tener lugar en dicha escala de tiempos (habitualmente se produce en un tiempo de 3-30 ps). Los siguientes procesos de transferencia electrónica son significativamente más lentos (en un intervalo de tiempos entre 200 ps y 20 ms). Todos estos fenómenos de absorción de luz y transferencia de energía y/o electrones ocurren en un medio completamente ordenado. Como consecuencia de ello, la estructura de las proteínas implicadas en la fotosíntesis adquiere un carácter crítico; las antenas y los centros de reacción deben estar orientados de una manera muy determinada (Figura 126). Los centros de reacción en la fotosíntesis son — básicamente — un ensamblaje de cofactores unidos a proteínas con una orientación y una posición apropiadas. Sin embargo, a pesar de que empiezan a conocerse en profundidad muchos de los procesos químicos que tienen lugar en la

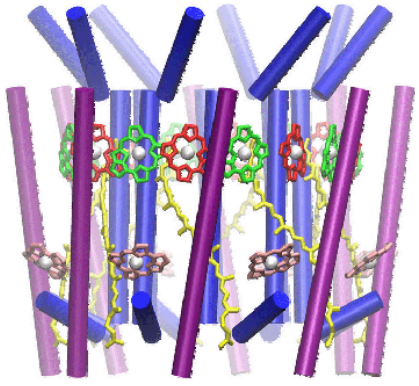


Figura 126. Representación esquemática de la orientación adquirida por los pigmentos fotosintéticos alojados en un fotosistema. Las moléculas de fotopigmento (en verde, rojo y amarillo) se alinean de forma ordenada respecto a las proteínas transmembranales (en color violeta).

fotosíntesis,[473] todavía son necesarios considerables estudios para entender perfectamente y reproducir artificialmente todos los fenómenos implicados — captación de luz, separación de cargas fotoinducida y reacciones de catálisis — en el proceso fotosintético. Este hecho sirve como fuente de inspiración para el desarrollo de novedosos sistemas fotosintéticos artificiales capaces de imitar este proceso biológico eficiente que representa la conversión de energía inagotable a bajo coste y de manera no contaminante.[474] Teniendo en cuenta que la fotosíntesis produce 10^{22} kJ·año^{-1} de material biológico (aproximadamente 100 veces más que los alimentos necesarios para la humanidad) mediante la conversión de solamente el 0.02-0.05% de la energía solar incidente, es evidente que los sistemas artificiales fotosintéticos deben desempeñar un papel activo modificando la correlación entre el suministro de energía y la energía demandada.[475] Esa influencia se ve agravada por el hecho de que los progresos realizados en la construcción de modelos sintéticos capaces de emular eficientemente el fenómeno de la fotosíntesis también han sido aplicados a la fabricación a escala molecular de dispositivos optoelectrónicos, destacando especialmente aquellos efectuados en el campo de los fotovoltaicos orgánicos [OPVs (*organic photovoltaics*)].[476] Cabe destacar que ambos modelos — tanto los artificiales fotosintéticos como los fotovoltaicos — deben presentar ciertas características comunes:

- Captación eficiente del espectro solar.
- Transferencia de energía unidireccional.
- Transferencia de carga vectorial.
- Movimiento de los portadores de carga [electrones y huecos (*holes*)[477]].

Todos estos procesos evolucionan entre diferentes clases de moléculas foto- y electroactivas — aceptores y dadores de electrones — para producir finalmente un estado metaestable, el cual es equivalente a un estado de separación de cargas tipo par ión-radical.[478] El requisito básico para llevar a cabo la construcción de un centro de reacción artificial que funcione de manera eficiente consiste en la conexión de las unidades dadoras y aceptoras foto- y electroactivas por medio de un puente (*bridge*) o enlazador (*linker*) — fundamentalmente un conector constituido por enlaces covalentes o uniones débiles — que controla sus interacciones electrónicas y, por lo tanto, el acoplamiento electrónico, así como las velocidades y los rendimientos de transferencia de electrones.[276d,479,480]

---

[473] Zhang, T.; Wu, W.-J.; Hu, B.-R.; Man, Y.-H.; Liu, Z.-M. *Adv. Nat. Sci.* **2010**, *3*, 291-298.
[474] Martín, N.; Sánchez, L.; Herranz, M. A.; Illescas, B.; Guldi, D. M. *Acc Chem Res.* **2007**, *40*, 1015-1024.
[475] a) Barber, J.; Andersson, B. *Nature* **1994**, *370*, 31-34. b) Armaroli, N.; Balzani, V. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 52-66.
[476] a) Riedel, I.; von Hauff, E.; Parisi, J.; Martín, N.; Giacalone, F.; Dyakonov, V. *Adv. Funct. Mater.* **2005**, *15*, 1979-1987. b) Ma,W.; Yang, C.; Gong, X.; Lee, K.; Heeger, A. J. *Adv. Funct. Mater.* **2005**, *15*, 1617-1622. c) Li, G.; Shrotriya, V.; Huang, J.; Tao, Y.; Moriarty, T.; Emery, K.; Yang, Y. *Nature Mater.* **2005**, *4*, 864-868.
[477] Un hueco de electrón — o simplemente hueco (*hole*) — es la ausencia de un electrón en la banda de valencia.
[478] La teoría de Marcus nos permite explicar detalladamente el proceso de transferencia electrónico. Los sistemas participantes en la transferencia de electrones pueden ser expresados de la forma **D-B-A**, donde D y A son el dador y el aceptor de electrones, respectivamente, y B es el puente (*bridge*) o unidad de acoplamiento entre D y A. Este conector suele estar constituido por enlaces covalentes o interacciones débiles (no covalentes). Así, el proceso de transferencia de electrones puede expresarse de la siguiente manera: **D-B-A** — $h\nu$ → **D*-B-A** — eT → **D$^{\bullet+}$-B-A$^{\bullet-}$**. Para más información, ver: a) *Electron transfer in chemistry [Vol. I-V]*; Ed. V. Balzani; Wiley-VCH: Weinheim (Alemania), **2001**. b) Launay, J. P. *Chem. Soc. Rev.* **2001**, 30, 386-397. c) Número especial: "Electron transfer". *Chem. Rev.* **1992**, *92*, 365-490. d) Marcus, R. A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1993**, *32*, 1111-1122. e) Marcus, R. A.; Sutin, N. *Biochim. Biophys. Acta* **1985**, *811*, 265-322. f) Marcus, R. A. *J. Chem. Phys.* **1956**, 24, 966-978.
[479] a) Wasielewski, M. R. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 5051-5066. b) Gust, D.; Moore, T. A.; Moore, A. L. *Acc. Chem. Res.* **2001**, *34*, 40-48.
[480] a) Winder, C.; Sariciftci, N. S. *J. Mater. Chem.* **2004**, *14*, 1077-1086. b) Brabec, C. J.; Sariciftci, N. S.; Hummelen, J. C. *Adv. Funct. Mater.* **2001**, *11*, 15-26.

El objetivo fundamental de la fotosíntesis artificial es mimetizar el comportamiento de las plantas verdes y de otros organismos fotosintéticos que emplean la luz solar para lograr una gran cantidad de energía química.[481] Dicha perspectiva requiere la integración de multiples funciones químicas dentro de una arquitectura estable. Como resultado, los sistemas fotosintéticos artificiales se han desarrollado mucho más lentamente que otros dispositivos de conversión de energía solar, como pueden ser las células solares de estado sólido,[482] las células fotovoltaicas de dióxido de titanio (TiO_2) — comúnmente denominadas células de Grätzel[483] — y las películas orgánicas delgadas [OTFs (*organic thin films*)].[484]

La vital importancia que adquiere la captación de transferencia de energía y/o electrones ha permitido que durante los últimos años se hayan desarrollado sofisticadas y versátiles estrategias para llevar a cabo la preparación de sistemas fotosintéticos artificiales y células fotovoltaicas.

16. SISTEMAS ARTIFICIALES DE TRANSFERENCIA DE ELECTRONES

16.1. TRANSFERENCIA DE ELECTRONES EN SISTEMAS COVALENTES

A lo largo de las últimas décadas, en la comunidad científica se ha extendido un enorme interés por el diseño y preparación de sistemas artificiales que reproduzcan el proceso fotosintético de forma eficiente, así como sus posibles aplicaciones en campos tan relevantes como optoelectrónica, fotónica, diseño de sensores y — muy especialmente — en la conversión de energía solar en energía eléctrica.[485] Esta perspectiva debe ser fundamental para poder capturar energía solar a gran escala en un futuro no muy lejano.[485] Desafortunadamente, todavía no se ha conseguido sintetizar una molécula artificial capaz de perdurar polarizada

[481] Balzani, V.; Credi, A.; Venturi, M. "Photoinduced charge separation and solar energy conversión". En *Molecular devices and machines: a journey into the nanoworld*; Eds. V. Balzani, A. Credi, M. Venturi; Wiley-VCH: Weinheim (Alemania), **2003**, 132-173.

[482] a) Chung, I.; Lee, B.; He, J.; Chang, R. P. H.; Kanatzidis, M. G. *Nature* **2012**, *485*, 486-490. b) Lane, P. A. "Solid state organic solar cells". En *Organic thin films for photonic applications [ACS Symposium Series, Vol. 1039]*; Eds. W. N. Herman, S. R. Flom, S. H. Foulger; American Chemical Society: Filadelfia (Estados Unidos), **2010**, 185-198. c) Shiokawa, H.; Yokoyama, M.; Hiramoto, M. *Surf. Rev. Lett.* **2007**, 14, 539-542.

[483] Las **células de Grätzel** son dispositivos fotovoltaicos de TiO_2 nanoestructurado y sensibilizado con colorante — un tipo de células solares sensibilizadas con colorante [DSSCs (*dye-sensitized solar cells*)] —, cuyos mecanismos para la transferencia electrónica se caracterizan por ser similares a los que se producen en las plantas durante el proceso fotosintético. De hecho, este tipo de células permiten que el colorante empleado — el cual puede ser de naturaleza sintética o natural — sea la propia clorofila. La principal limitación de estos dispositivos es su eficiencia, que se sitúa en torno al 11% en un laboratorio, aunque si se extrapola a un nivel industrial disminuye de forma notoria. Es por ello que se trabaja en el incremento de la eficiencia, así como en el desarrollo de configuraciones alternativas y más prácticas. Para más información, ver: a) Grätzel, M. *MRS Bull.* **2005**, *30*, 23-27. b) Schmidt-Mende, L.; Zakeeruddin, S. M.; Grätzel, M. *Appl. Phys. Lett.* **2005**, *86*, 013504/1-013504/3. c) Grätzel, M. J. *Photochem. Photobiol. A* **2004**, *164*, 3-14. d) Grätzel, M. *Nature* **2001**, *414*, 338-344. e) O'Regan, B.;Grätzel, M. *Nature* 1991, 353, 737-740.

[484] a) Yang, Y.; Ma, L.; Wu, J. *MRS Bull.* **2004**, *29*, 833-837. b) Collier, C. P.; Mattersteig, G.; Wong, E. W.; Luo, Y.; Beverly, K. ; Sampaio, J.; Raymo, F. M.; Stoddart, J. F.; Heath, J. R. *Science* **2000**, *289*, 1172-1175.

[485] a) Alstrum-Acevedo, J. H.; Brennaman, M. K.; Meyer, T. J. *Inorg. Chem.* **2005**, *44*, 6802-6827. b) Arakawa, H.; Aresta, M.; Armor, J. N.; Barteau, M. A.; Beckman, E. J.; Bell, A. T.; Bercaw, J. E.; Creutz, C.; Dinjus, E.; Dixon, D. A.; Domen, K.; DuBois, D. L.; Eckert, J.; Fujita, E.; Gibson, D. H.; Goddard, W. A.; Goodman, D. W.; Keller, J.; Kubas, G. J.; Kung, H. H.; Lyons, J. E.; Manzer, L. E.; Marks, T. J.; Morokuma, K.; Nicholas, K. M.; Periana, R.; Que, L.; Rostrup-Nielson, J.; Sachtler, W. M. H.; Schmidt, L. D.; Sen, A.; Somorjai, G. A.; Stair, P. C.; Stults, B. R.; Tumas, W. *Chem Rev.* **2001**, *101*, 953-996.

durante el tiempo necesario para reaccionar de forma útil con otras moléculas, aunque las perspectivas son especialmente prometedoras.[480,485] Con frecuencia, lo que se realiza es el reemplazo del pigmento clorofila por una amalgama de compuestos químicos con capacidad de captar luz. Sin embargo, se desconoce lo que se debe de hacer con los electrones liberados en el proceso fotosintético. Teniendo en cuenta estas consideraciones, el grupo de Moore llevó a cabo la fabricación de un sistema artificial basado en cromóforos — aceptores y dadores de electrones análogos a los que se encuentran en la naturaleza —, en el que se observaba como los enlaces covalentes permitían controlar tanto la separación y orientación entre unidades, como las interacciones electrónicas de acoplamiento molecular, las cuales rigen las velocidades de los procesos de transferencia de energía y/o electrones (Figura 127a).[486] De este modo, se disponía por primera vez de un cloroplasto de carácter artificial. Dicho sistema se encontraba constituido por una mezcla de compuestos orgánicos sintéticos relacionados con el pigmento de clorofila, los cuales, al iluminarse, tenían la capacidad de realizar la fotólisis del agua, generando hidrógeno y oxígeno en estado gas. El tamaño físico del cloroplasto artificial era mucho mayor en comparación con el de los cloroplastos naturales,[280] y su eficacia de

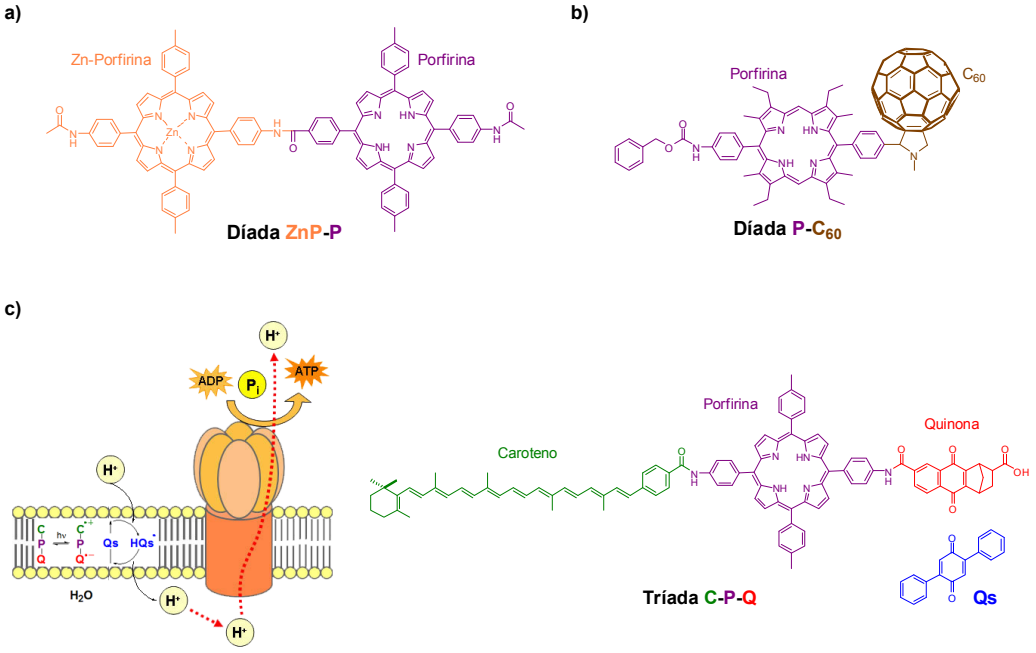


Figura 127. Sistemas covalentes empleados por Moore como antenas y centros de reacción fotosintéticos artificiales. **a)** Díada fotoactiva ZnP-P, en la que la porfirina metalada actúa como antena para la porfirina libre. **b)** Díada P-C_{60} que imita las propiedades de un centro reactivo fotosintético. La porfirina actúa como cromóforo dador de electrones (mimético de la clorofila), mientras que la unidad [60]fullereno se comporta como un excelente aceptor de electrones. Tras incidir la luz en el sistema, los electrones emitidos son trasportados hasta el *buckminsterfullereno*, el cual se queda cargado eléctricamente y manteniendo estable su carga. **c)** Representación esquemática de una membrana sintética artificial basada en liposomas para la síntesis de ATP mediada por la luz. Dicho sistema está constituido fundamentalmente — además de por la enzima ATP-sintetasa — por la tríada C-P-Q y la quinona Qs, que actúan conjuntamente como bomba de protones.

[486] a) Gust, D.; Moore, T. A.; Moore, A. L. *Pure & Appl. Chem.* **1998**, *70*, 2189-2200. b) Gust, D.; Moore, T. A.; Moore, A. L.; Gao, F.; Luttrull, D.; DeGraziano, J. M.; Ma, X. C.; Makings, L. R.; Lee, S.-J.; Trier, T. T.; Bittersmann, E.; Seely, G. R.; Woodward, S.; Bensasson, R. V.; Rougte, M.; de Schryver, F. C.; Van der Auweraer, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 3638-3649.

conversión de energía lumínica en química era notablemente inferior. Este primer experimento fue todo un hito y supuso un espectacular avance hacia la obtención de dispositivos fotosintéticos construidos artificialmente que funcionasen de manera conveniente (Figura 127b).[487] Estudios posteriores — incorporando una vesícula (liposoma) rodeada de una cubierta análoga a las membranas de los orgánulos citoplasmáticos naturales, así como la enzima ATP-sintetasa — permitieron observar un comportamiento similar al de los cloroplastos encontrados en la naturaleza, sintetizando ATP a partir de energía solar, aunque con un número más reducido de componentes que la cadena fotosintética natural (Figura 127c).[488]

Los resultados anteriores han servido como base para la preparación de novedosos dispositivos fotosintéticos artificiales, los cuales presentan altas eficiencias de conversión de energía lumínica en energía química, mimetizando de forma espectacular el comportamiento de los fotosistemas naturales. De este modo, recientemente se ha podido llevar a cabo la construcción de una gran colección de módulos foto- y electroactivos basados en díadas y/o multisistemas porfirina-perileno,[489] copolímeros de bloque dador-aceptor[490] y esqueletos orgánicos covalentes [COFs (*covalent organic frameworks*)][491,492] (Figura 128).

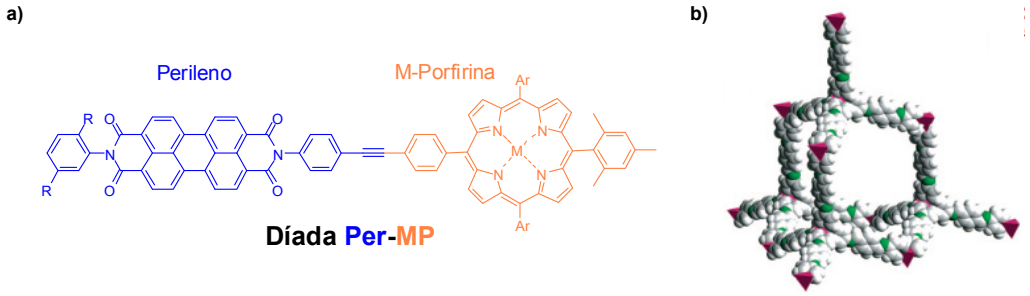


Figura 128. Sistemas fotosintéticos artificiales basados en díadas Per-MP (**a**) y 3D COFs (**b**).

El descubrimiento de la capacidad conductora de los poliacetilenos permitió observar el enorme potencial que presentan los polímeros π-conjugados.[493] Este hecho ha propiciado la búsqueda de una gran variedad de moléculas conductoras o semiconductoras — tanto orgánicas como inorgánicas — que faciliten el desarrollo de novedosas aplicaciones

[487] a) Gust, D.; Moore, T. A.; Moore, A. L. *Faraday Disc.* **2012**, *155*, 9-26. b) Gust, D.; Moore, A. L.; Moore, T. A. "Towards molecular logic and artificial photosynthesis". En *Proceedings of the 2007 Solvay conference on chemistry*; Eds. J.-P. Sauvage, P. Gaspard; Wiley-VCH: Weinheim (Alemania), **2010**, 321-354. c) Liddell, P. A.; Kuciauskas, D.; Sumida, J. P.; Nash, B.; Nguyen, D.; Moore, A. L.; Moore, T. A.; Gust, D. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 1400-1405.
[488] a) Steinberg-Yfrach, G.; Rigaud, J.-L.; Durantini, E. N.; Moore, A. L.; Gust, D.; Moore, T. A. *Nature* **1998**, 392, 479-482. b) Steinberg-Yfrach, G. ; Liddell, P. A.; Hung, S.-C.; Moore, A. L.; Gust, D.; Moore, T. A. *Nature* **1997**, 385, 239-241.
[489] Uthukumaran, K.; Loewe, R. S.; Kirmaier, C.; Hinidn, E.; Schwartz, J. K, Sazanovich, I. V.; Diers, J. R.; Bocian, D. F.; Holten, D.; Lindsey, J. S. *J. Phys. Chem. B* **2003**, *107*, 3431-3442.
[490] Neuteboom, E. E.; Meskers, S. C. J.; van Hal, P. A.; van Duren, J. K. J.; Meijer, E. W.; Dupin, H.; Pourtois, G.; Cornil, J.; Lazzaroni, R.; Brédas, J.-L.; Beljonne, D.; Janssen, R. A. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 8625-8638.
[491] Los COFS son estructuras cristalinas porosas construidas mediante la unión covalente fuerte de unidades secundarias de construcción [SBUs (*secondary building units*) — constituidas a su vez por elementos ligeros (H, B, C, N y O) —, dando lugar así a estructuras predeterminadas. Para más información, ver: Feng, X.; Ding, X.; Jiang, D. *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *en prensa* [doi: 10.1039/c2cs35157a].
[492] a) Uribe-Romo, F. J.; Hunt, J. R.; Furukawa, H.; Klöck, C.; O'Keeffe, M.; Yaghi, O. M. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 4570-4571. b) El-Kaderi, H. M.; Hunt, J. R.; Mendoza-Cortés, J. L.; Côté, A. P.; Taylor, R. E.; O'Keeffe, M.; Yaghi, O. M. *Science* **2007**, *316*, 268-272.
[493] Shirakawa, H.; Louis, E. J.; MacDiarmid, A. G.; Chiang, C. K.; Heeger, A. J. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1977**, *16*, 578-580.

electrónicas como diodos emisores de luz [LEDs (*light-emiting diodes*)], transistores de efecto de campo [FETs (*field-effect transistors*)] y dispositivos fotovoltaicos [PVs (*photovoltaics*)]. Dentro de las aplicaciones mencionadas, destaca fundamentalmente la que hace referencia a los módulos fotovoltaicos.

En la actualidad, las células solares basadas en silicio monopolizan el mercado de los materiales fotovoltaicos.[494] Sin embargo, estas células presentan considerables desventajas, entre las que destaca primordialmente sus altos costes de producción (la igualdad con los costes de la energía de combustibles fósiles se alcanza como mínimo después de un periodo de 5-7 años).[495] Es por ello que para algunas aplicaciones potenciales, la utilización de células solares orgánicas [OSCs (*organic solar cells*][496] representa una alternativa válida y menos costosa que las células inorgánicas. Además, los módulos orgánicos son mucho más ligeros y flexibles, y su fabricación resulta menos laboriosa, ya que se pueden aplicar tecnologías de polímeros de impresión.[497] La única limitación salientable que presentan es que típicamente muestran eficiencias (η) inferiores al 5%, mientras que los dispositivos cristalinos de silicio se aproximan a la eficiencia teórica límite del 29%.

Habitualmente, las células solares orgánicas presentan una arquitectura tipo sándwich establecida por la organización de sus distintos componentes (Figura 129). Así, suelen estar constituidas por un sustrato transparente de vidrio o plástico, sobre el que secuencialmente se depositan — en la parte superior — capas de: i) óxido de indio y estaño (ITO; *indium tin oxide*), que actúa como ánodo; ii) un polímero PEDOT:PSS;[498] iii) el material activo; iv) una interfase salina (usualmente LiF); y, finalmente, v) aluminio, que actúa como cátodo. La diferencia de funcionamiento de los dos electrodos metálicos proporciona suficiente energía para romper el excitón inicial (par electrón-hueco íntimamente unidos).

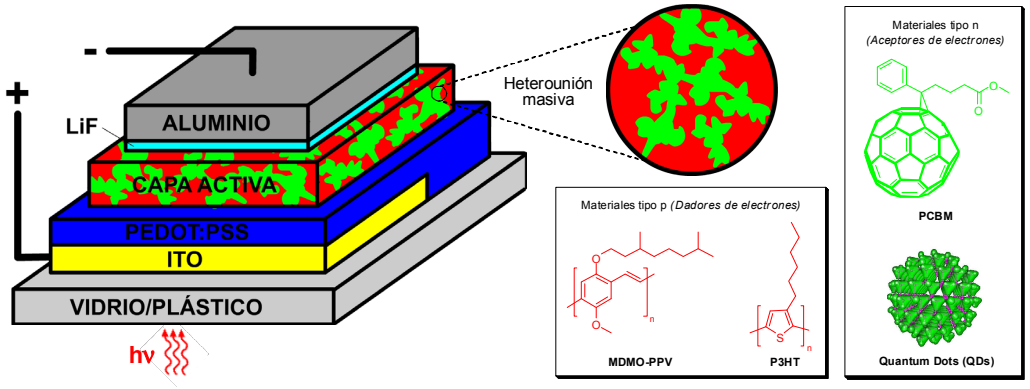


Figura 129. Arquitectura tipo sándwich característica de las células solares orgánicas. En este caso particular, la capa activa resulta de la heterounión masiva de dos materiales diferentes (un material p electrodador y un material n electroaceptor), cuyas estructuras habituales se muestran de manera resaltada [MDMO-PPV: Poli(2-metoxi-5-(3'-7'-dimetiloctiloxi)-1,4-fenilenvinileno; P3HT: Poli(3-hexiltiofeno); PCBM: 1-[3-(metoxicarbonil)propil]-1-fenil-[6,6]-C_{61}].

[494] *Solar cells – Silicon wafer-based technologies*; Ed. L. A. Kosyachenko; InTech: Rijeka (Croacia), **2011**.
[495] Departamento de Energía de Estados Unidos. "Frequently asked questions on photovoltaics". Conexión sitio Web: http://www.nrel.gov/docs/fy05osti/37322.pdf, **2010**.
[496] a) Günes, S.; Neugebauer, H.; Sariciftci. N. S. *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 1324-1338. b) Hoppe, H.; Sariciftci, N. S. *J. Mater. Res.* **2004**, *19*, 1924-1945.
[497] Hoth, C. N.; Schilinsky, P.; Choulis, S. A.; Brabec, C. J. *Nano Lett.* **2008**, *8*, 2806-2813.
[498] PEDOT:PSS es una mezcla polimérica constituida por dos ionómeros. El PEDOT [Poli(3,4-etilendioxitiofeno)] es un polímero conjugado que transporta cargas positivas, mientras que el PSS [Poli(estireno sulfonado)] se caracteriza por transportar cargas negativas. La combinación de ambos polímeros permite la formación de una sal macromolecular.

En cuanto a la capa de material fotoactivo, la estrategia más empleada para obtener buenos rendimientos fotovoltaicos es la heterounión masiva [BHJ (*bulk-heterojunction*)].[499,500] En este caso particular, la capa activa está formada por una red interpenetrante de materiales de tipo p (normalmente polímeros semiconductores dadores de electrones basados en poli-*p*-fenilenvinilenos (PPVs) — como el MDMO-PPV[501] — o politiofenos (PTs) — como el P3HT[502]) y materiales tipo n (normalmente derivados fullerénicos solubles aceptores de electrones — como el PCBM[503] — o nanopartículas semiconductoras — como los puntos cuánticos [QDs (*quantum dots*)][504]) (Figura 129).[505] La estrategia de heterounión masiva ha permitido alcanzar eficiencias de conversion superiores al 5%.[506] De este modo, numerosos laboratorios han podido sintetizar una gran colección de materiales electroactivos para su utilización en células solares, permitiendo así la generación de energía de manera adecuada.[507] Cabe destacar especialmente los estudios realizados por los grupos de investigación de Hummelen,[508] Janssen,[508,509] Nierengarten[510], Otsubo[511] y Martín[512] referentes a díadas dador-aceptor (C_{60}) (Figura 130a-d). Los sistemas resultantes (D-C_{60}) están fundamentalmente constituidos por unidades aceptoras [60]fullereno enlazadas covalentemente a distintos electrodadores. La desactivación de la fluorescencia en disolventes polares es atribuida a un proceso de transferencia electrónica intramolecular que desactiva el estado excitado y da lugar a un estado de separación de cargas ($D^{\bullet+}$-$C_{60}^{\bullet-}$) con tiempos de vida en la escala del subnanosegundo. Entre las metodologías empleadas para aumentar el tiempo de vida del estado de cargas separadas (τ_{CS}) se encuentran: i) el aumento de la longitud del espaciador entre las unidades dadora y aceptora de electrones (Figura 130d), y/o ii) la formación de

[499] Para más información de heterounión masiva (BHJ), ver: a) Halls, J. J. M.; Walsh, C. A.; Greenham, N. C.; Marseglia, E. A.; Friend, R. H.; Moratti, S. C.; Holmes, A. B. *Nature* **1995**, *376*, 498-500. b) Yu, G.; Gao, J.; Hummelen, J. C.; Wudl, F.; Heeger, A. J. *Science* **1995**, *270*, 1789-1791. c) Smilowitz, L.; Sariciftci, N. S.; Wu, R.; Gettinger, C.; Heeger, A. J.; Wudl, F. *Phys. Rev.* B **1993**, *47*, 13835-13842. d) Sariciftci, N. S.; Smilowitz, L.; Heeger, A. J.; Wudl, F. *Science* **1992**, *258*, 1474-1476.

[500] La fase activa de las primeras OSCs estaba constituida por dos capas de material electroactivo (heterounión p-n). De esta forma, la transferencia electrónica originada en la interfase de ambas capas generaba la corriente eléctrica.

[501] **MDMO-PPV**: Poli(2-metoxi-5-(3'-7'-dimetiloctiloxi)-1,4-fenilenvinileno.

[502] **P3HT**: Poli(3-hexiltiofeno).

[503] El **PCBM** se denomina habitualmente como éster metílico del **PCBA** (ácido [6,6]-fenil-C_{61} butírico), aunque su nomenclatura más correcta es 1-[3-(metoxicarbonil)propil]-1-fenil-[6,6]-C_{61}.

[504] Los **puntos cuánticos** [QDs (*quantum dots*)] son generalmente nanoestructuras semiconductoras que confinan el movimiento — en las tres direcciones del espacio — de los electrones de la banda de conducción, de los huecos de la banda de valencia o de los excitones (pares de enlaces de electrones de conducción de banda y huecos de banda de valencia). Una de las propiedades más interesantes que presentan los QDs es que, al ser iluminados, reemiten luz en una longitud de onda muy específica y que depende del tamaño de los mismos. De esta forma, cuanto más pequeñas sean los correspondientes puntos, menor será la longitud de onda y más acusadas las propiedades cuánticas de la luz que emiten. Dichas nanopartículas suelen estar constituidas por una gran variedad de componentes diferentes, tales como seleniuro de cadmio (CdSe), arseniuro de galio (GaAs),… Para más información, ver: a) Harrison, P. *Quantum wells, wires and dots: theoretical and computacional physics of semiconductor nanostructures* [3rd edn]; John Wiley & Sons: Chichester (Reino Unido), **2010**. b) *Quantum dots [Selected topics in electronics and systems, Vol. 25]*; E. Borovitskaya, M. Shur; World Scientific Pub. Co. Inc.: Londres (Reino Unido), **2002**.

[505] a) Ma, W.; Yang, C.; Gong, X.; Lee, K.; Heeger, A. J. *Adv. Funct. Mater.* **2005**, *15*, 1617-1622. b) Li, G.; Shrotriya, V.; Huang, J.; Yao, Y.; Moriarty, T.; Emery, K.; Yang, Y. *Nature Mater.* **2005**, *4*, 864-868.

[506] Cabe destacar que se pueden lograr mayores valores de eficiencia de conversión mediante: i) aumento de la dimensionalidad de los componentes de la fase activa (se mejora así el orden en el seno de la fase activa), y ii) mejora de las propiedades dadora y/o aceptora de los componentes de la fase activa, con lo que se favorece el proceso de transferencia electrónica.

[507] Para materiales orgánicos fotoactivos obtenidos mediante estrategia covalente, ver: a) Delgado, J. D.; Bouit, P. A.; Filippone, S.; Herranz, M.; Martín, N. *Chem. Commun.* **2010**, *46*, 4853-4865. b) Heeger, A. J. *J. Phys. Chem. B* **2001**, *105*, 8475-8491.

[508] Peeters, E.; van Hal, P. A.; Knol, J.; Brabec, C. J.; Sariciftci, N. S.; Hummelen, J. C.; Janssen, R. A. J. *J. Phys. Chem. B* **2000**, *104*, 10174-10190.

[509] Neugebauer, H.; Loi, M. A.; Winder, C.; Sariciftci, N. S.; Cerullo, G.; Gouloumis, A.; Vázquez, P.; Torres, T. *Sol. Energ. Mat. Sol. C* **2004**, *83*, 201-209.

[510] Gu, T.; Tsamouras, D.; Melzer, C.; Krasnikov, V.; Gisselbrecht, J.-P.; Gross, M.; Hadziioannou, G.; Nierengarten, J.-F. *Chem. Phys. Chem.* **2002**, 124-127.

[511] a) Otsubo, T.; Yoshio, A.; Takimiya, K. *Pure Appl. Chem.* **2005**, *77*, 2003-2010. b) Yamashiro, T.; Aso, Y.; Otsubo, T.; Tang, H.; Harima, Y.; Yamashita, K. *Chem. Lett.* **1999**, *5*, 443-444.

[512] Wielopolski, M.; Atienza, C.; Clark, T.; Guldi, D. M.; Martín, N. *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 6379-6390.

sistemas multi-redox (tríadas o sistemas mucho más complejos) en los que los procesos de transferencia electrónica tienen lugar secuencialmente (Figura 130e).[513]

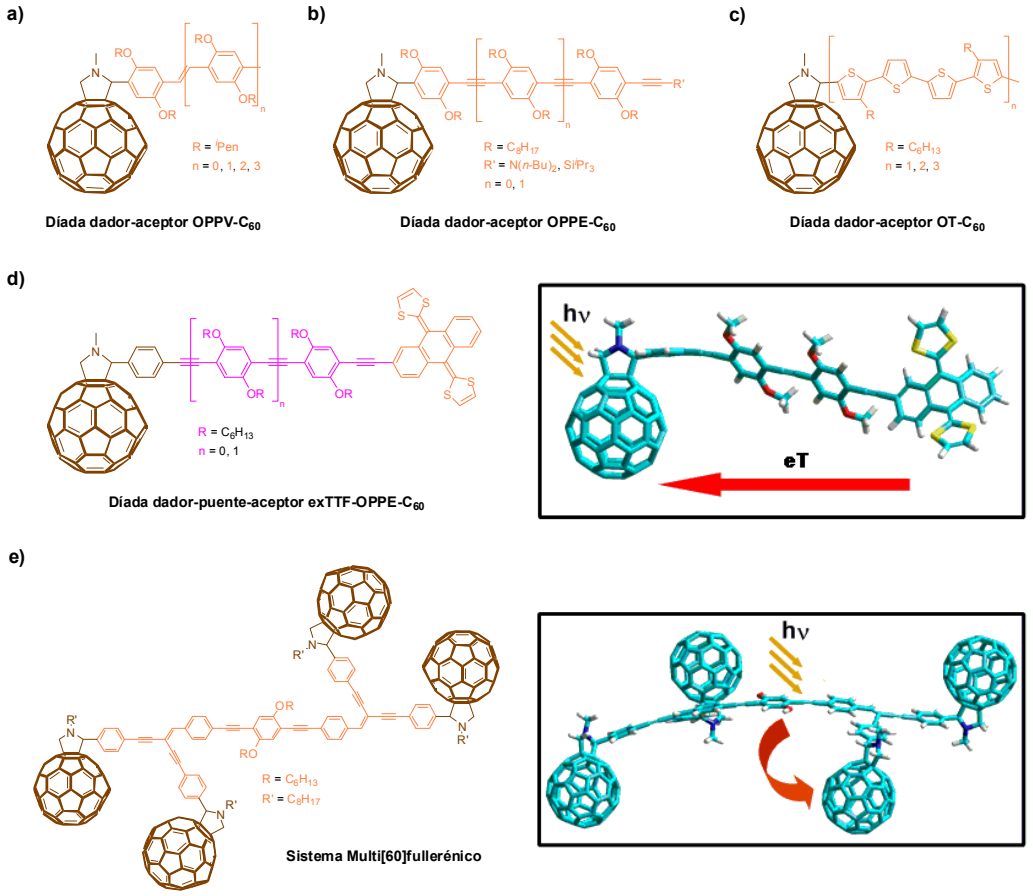


Figura 130. Dispositivos fotovoltaicos basados en sistemas dador-aceptor (C_{60}). **a)** Díadas dador-aceptor sintetizadas por Hummelen y Janssen mediante unión covalente de una unidad de oligo-*p*-fenilenvinileno (OPPV) a otra de C_{60}. **b)** Díadas dador-aceptor sintetizadas por Nierengarten mediante unión covalente de una unidad de oligo-*p*-fenilenetinileno (OPPE) a otra de C_{60}. **c)** Díadas dador-aceptor sintetizadas por Otsubo mediante unión covalente de una unidad de oligotiofeno (OT o nT) a otra de C_{60}. **d)** Díadas dador-aceptor sintetizadas por Martín mediante unión covalente de una unidad de tetratiafulvaleno π-extendido (exTTF) a otra de C_{60}, empleando OPPE como puente (espaciador). De forma resaltada se muestra su modelo molecular calculado para n = 1. **e)** Sistema multi[60]fullerénico sintetizado por Martín mediante unión covalente de cuatro unidades de C_{60} a un núcleo central π-conjugado. De forma resaltada se muestra su modelo molecular calculado.

Los dispositivos fotoactivos son un método eficaz de generación de energía, con capacidad para imitar muchos de los procesos de conversión energética y/o transporte electrónico que ocurren en la naturaleza. Así, la utilización de sistemas biomiméticos dador/aceptor que reducen el complejo mecanismo natural a sus elementos más básicos puede conducir a un mejor entendimiento de la fotosíntesis y a la obtención de fuentes energéticas artificiales para procesos biológicos.

[513] a) Atienza, C. M.; Fernández, G.; Sánchez, L.; Martín, N.; Sá Dantas, I.; Wienk, M. M.; Janssen, R. A. J.; Rahman, G. M. A.; Guldi, D. M. *Chem. Commun.* **2006**, *5*, 514-516. b) Imahori, H.; Guldi, D. M. ; Tamaki, K.; Yoshida, Y.; Luo, C.; Sakata, Y.; Fukuzumi, S. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 6617-6628.

Los sistemas moleculares de tipo dador-puente-aceptor — descritos comúnmente como sistemas D-B-A (*donor-bridge-acceptor*) — también constituyen excelentes modelos para estudiar la correlación entre la estructura y las propiedades de transporte de carga de distintos fragmentos empleados como cables moleculares.[324] Durante las últimas décadas, se han estudiado una gran variedad de moléculas como posibles cables moleculares; desde cadenas alifáticas saturadas a sistemas aromáticos, o incluso a sistemas mucho más complejos como pueden ser los nanotubos de carbono.[514,515] Actualmente, los sistemas π-conjugados oligoméricos son los más adecuados para el transporte de carga debido a su facilidad de deslocalización electrónica (Figura 131).[512,516] Dicha familia de cables moleculares posee una estructura deslocalizada altamente conjugada que proporciona un camino eficiente a través del cual se pueden mover los electrones con facilidad.

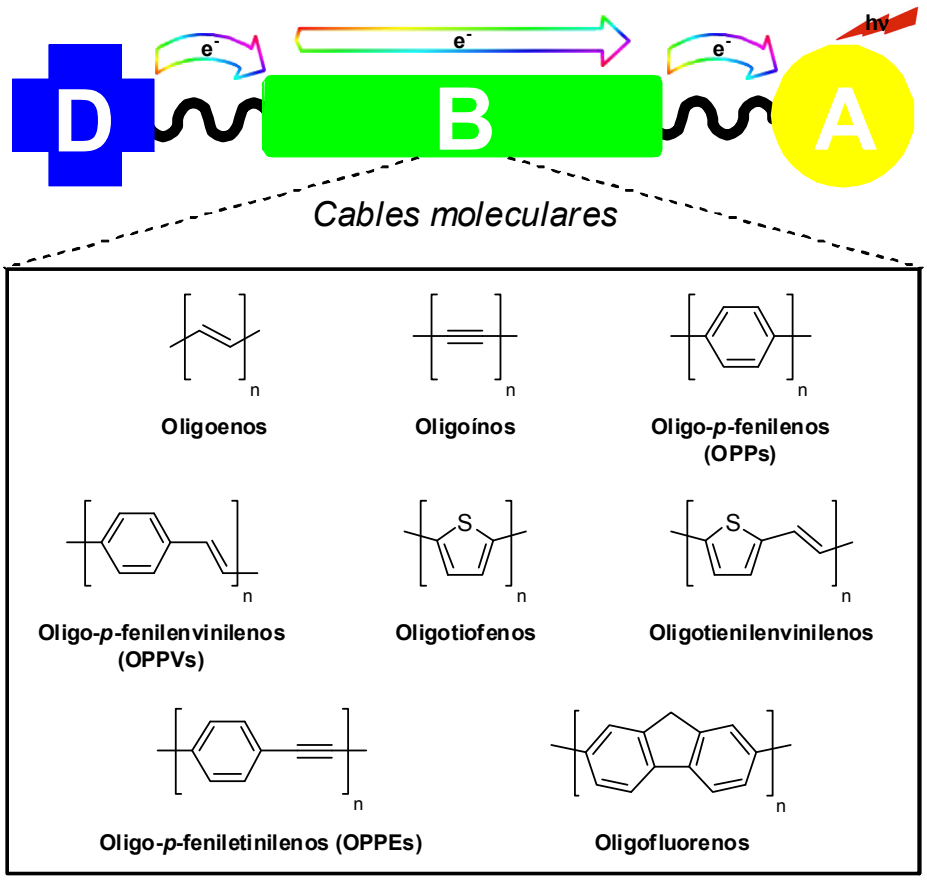


Figura 131. Fragmentos oligoméricos π-conjugados empleados habitualmente como cables moleculares en sistemas dador-puente-aceptor (D-B-A) de transferencia electrónica fotoinducida.

[514] a) *Charge and exciton transport through molecular wires*; Eds L. D. A. Siebbeles, F. C. Grozema; Wiley-VCH: Weinheim (Alemania), **2011**. b) *Molecular wires – From design to properties [Topics in current chemistry, Vol. 257]*; Ed. L. De Cola; Springer: Berlín (Alemania) **2005**.

[515] Los espaciadores no covalentes también pueden ser empleados como eficientes cables moleculares. Uno de los ejemplos más característicos es el de los ácidos nucleicos — especialmente el ADN —, tal y como veremos en apartados posteriores.

[516] a) Oswald, F.; Islam, D.-M. S.; Araki, Y.; Troiani, V.; de la Cruz, P.; Moreno, A.; Ito, O.; Langa, F. *Chem. Eur. J.* **2007**, *13*, 3924-3933. b) Atienza-Castellanos, C.; Wielopolski, M.; Guldi, D. M.; Van der Pol, C.; Bryce, M. R.; Filippone, S.; Martín, N. *Chem. Commun.* **2007**, *48*, 5164-5166. c) Nakamura, T.; Fujitsuka, M.; Araki, Y.; Ito, O.; Ikemoto, J.; Takimiya, K.; Aso, Y.; Otsubo, T. *J. Phys. Chem. B* **2004**, *108*, 10700-10710.

La estrategia covalente permite la construcción de sistemas artificiales de transferencia electrónica de manera extremadamente sencilla, lo que facilita el análisis de parámetros tan relevantes como la velocidad de transferencia de electrones, las distancias y orientación de los pares dador-aceptor y la energía libre de la reacción. Desafortunadamente, esta metodología no favorece una óptima disposición espacial de las unidades electrodadoras y electroaceptoras, lo que repercute negativamente en su eficiencia. Es por ello que — al igual que ocurre en el caso de los sistemas de transferencia de energía — actualmente se emplean numerosas estrategias no covalentes para lograr una adecuada organización espacial con el objetivo de controlar eficazmente el proceso de transferencia electrónica, lo que debe conducir a la preparación de materiales electrónicos extremadamente eficientes.

16.2. TRANSFERENCIA DE ELECTRONES EN SISTEMAS NO COVALENTES

La distancia y orientación entre las unidades dadoras y aceptoras de electrones son factores claves que determinan la naturaleza cinética de los distintos procesos fotofísicos que ocurren durante la iluminación. La separación de cargas fotoinducida es un fenómeno mucho más sensible a la distancia entre cromóforos que la transferencia de energía de amplio rango.[517] En el caso particular de las díadas dador-aceptor, la conexión directa (covalente) de los centros redox activos permite obtener reacciones de separación de carga extremadamente rápidas, aunque también se producen reacciones de recombinación de carga muy rápidas. La utilización de conexiones supramoleculares (no covalentes) — como por ejemplo, enlaces de hidrógeno[518], interacciones π–π[519] y/o coordinación a metales[520] — entre las unidades electrodadoras y electroaceptoras permite modular las señales y lograr un control mucho más eficiente sobre los diferentes fenómenos fotofísicos que tienen lugar en los correspondientes sistemas artificiales. De este modo, el autoensamblaje molecular proporciona una excelente herramienta para llevar a cabo la organización de un gran número de moléculas foto- y electroactivas en forma de dispositivos fotosintéticos artificiales.

La hábil combinación de fragmentos moleculares electroactivos complementarios a través de fuerzas débiles no covalentes ha sido aprovechada de modo excepcional tanto para la construcción de ensamblajes que responden a estímulos como para lograr el autoordenamiento de unidades dadoras y/o aceptoras de electrones, pudiendo emplearse así en la fabricación de complejos dispositivos optoelectrónicos. Una de las aproximaciones más utilizadas para la fabricación de nanoestructuras electroactivas consiste en la utilización de porfirinas (Por) y metaloporfirinas (M-Por) como cromóforos y en su posterior incorporación en

[517] Peeters, E.; Van Hal, P. A.; Meskers, S. C. J.; Janssen, R. A. J.; Meijer, E. W. *Chem. Eur. J.* **2002**, *8*, 4470-4474.
[518] a) Neuteboom, E. E.; Beckers, E. H. A.; Meskers, S. C. J.; Janssen, R. A. J. *Org. Biomol. Chem.* **2003**, *1*,198-203. b) Schenning, A. P. H. J.; van Herrikhuyzen, J.; Jonkheijm, P.; Chen, Z.; Wurthner, F.; Meijer, E. W. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 10252-10253. c) Beckers, E. H. A.; van Hal, P. A.; Schenning, A. P. H. J.; El-Ghayoury, A.; Peeters, E.; Rispens, M. T.; Hummelen, J. C.; Meijer, E. W.; Janssen, R. A. J. *J. Mater. Chem* **2002**, *12*, 2054-2060.
[519] a) Ahrens, M. J.; Kelley, R. F.; Dance, Z. E.; Wasielewski, M. R. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2007**, *9*, 1469-1478. b) Li, X.; Sinks, L. E.; Rybtchinski, B.; Wasielewski, M. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 10810-10811. c) Ahrens, M. J.; Sinks, L. E.; Rybtchinski, B.; Liu, W.; Jones, B. A.; Giaimo, J. M.; Gusev, A. V.; Goshe, A. J.; Tiede, D. M.; Wasielewski, M. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 8284-8294.
[520] a) Ballardani, R.; Balzani, V.; Clemente-León, M.; Credi, A.; Gandolfi, M. T.; Ishow, E.; Perkins, J.; Stoddart, J. F.; Tseng, H.-R.; Wenger, S. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 12786-12795. b) Kercher, M; König, B; Zieg, H.; De Cola, L. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 11541-11551. c) Hauke, F; Swartz, A.; Guldi, D. M.; Hirsch, A. *J. Mat. Chem.* **2002**, *12*, 2088-2094.

ensamblajes moleculares (Figura 132a-b).[521] Dichos sistemas pirrólicos son particularmente importantes en el diseño de arquitecturas robustas y complejas, debido fundamentalmente a la rigidez que presenta su esqueleto molecular. De este manera, se puede acceder rutinariamente a materiales uni-, bi- y tridimensionales (1D, 2D y 3D). Es por ello que la comunidad científica ha focalizado su investigación en el desarrollo de nuevas estrategias que permitan la obtención de materiales porfirínicos organizados jerárquicamente, en los cuales la estructura local es diferente que la organización global.[522] Cabe resaltar que la aplicación de muchas de estas estrategias no covalentes a la química de ftalocianinas (Pcs)[523] ha permitido la construcción de materiales electrónicos ftalocianínicos bien definidos (Figura 132c).[521b,524] Los ensamblajes porfirínicos y ftalocianínicos son de vital importancia, no solo como modelos para el estudio de antenas captadoras de luz y centros de reacción fotosintéticos, sino también como unidades de construcción para la preparación de una gran variedad de dispositivos fotónicos funcionales.[479]

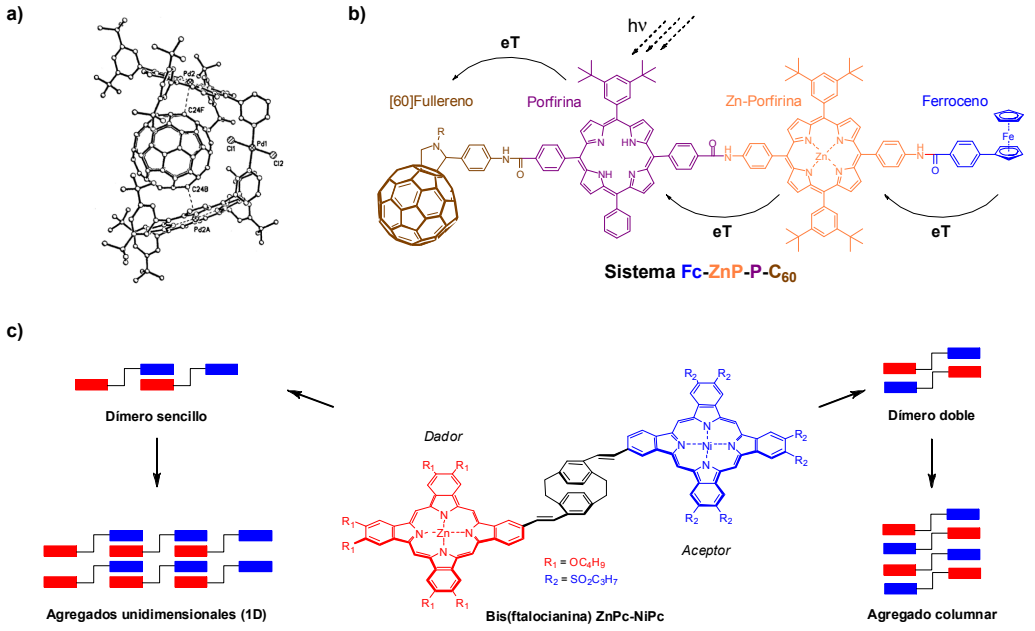


Figura 132. Materiales porfirínicos y ftalocianínicos de transferencia electrónica fotoinducida obtenidos mediante ensamblaje molecular. **a)** Estructura cristalina de una bis-porfirina (Por-Por) con una unidad de C_{60} encapsulada. La combinación de interacciones π–π y fuerzas electrostáticas que tiene lugar entre las porfirinas de la "pinza" permite la complejación del [60]fullereno. **b)** Tétrada Fc-ZnP-P-C_{60}, en el que se ilustra el proceso múltiple de transferencia electrónica fotoinducida. **c)** Estructura de una bis-ftalocianina ZnPc-NiPc — constituida por un dador ZnPc y un aceptor NiPc unidos covalentemente mediante un paraciclofano central — y representación esquemática de sus posibles modos de autoensamblaje mediante interacciones dador/aceptor.

[521] a) Drain, C. M.; Varotto, A.; Radivojevic, I. *Chem. Rev.* **2009**, *109,* 1630-1658. b) Elemans, J. A. A. W.; van Hameren, R.; Nolte, R. J. M.; Rowan, A. E. *Adv. Mater.* **2006**, *18*, 1251-1266. c) Guldi, D. M. *Pure Appl. Chem.* **2003**, *75*, 1069-1075. d) Gust, D.; Moore, T. A. "Intramolecular photoinduced electron-transfer reactions of porphyrins". En *The Porphyrin Handbook*; Eds. D. Gust, T. A. Moore; Academic Press: New York (Estados Unidos), **1999**, 153-190.
[522] Milic, T.; Garno, J. C.; Batteas, J. D.; Smeureanu, G.; Drain, C. M. *Langmuir* **2004**, *20*, 3974-3983.
[523] Las ftalocianinas (Pcs) son compuestos macrocíclicos que contienen 4 unidades isoindólicas N-fusionadas. De esta forma, disponen de un anillo central de 16 átomos que puede coordinarse a un átomo metálico para dar lugar a numerosos derivados que se pueden emplear como colorantes y pigmentos. Para más información, ver: *Phthalocyanines – Properties and applications*; C. C. Leznoff, A. B. P. Lever; Wiley-VCH: Weinheim (Alemania), **1989**.
[524] a) Spänig, F.; López-Duarte, I.; Fischer, M. K. R.; Martínez-Díaz, M. V.; Bäuerle, P.; Torres, T.; Guldi, D. M. *J. Mater. Chem.* **2011**, *21*, 1395-1403. b) *Functional phthalocyanine molecular materials [Structure and bonding, Vol. 135]*; Ed. J. Jiang; Springer: Heildeberg (Alemania), **2010**. c) de la Escosura, A.; Martínez-Díaz, M. V.; Thordarson, P.; Rowan, A. E.; Nolte, R. J. M.; Torres, T. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 12300-12308.

Otra de las aproximaciones habitualmente empleada para la preparación de ensamblajes foto- y electroactivos se basa en la transferencia de carga metal-ligando [MLCT (*metal-to-ligand charge-transfer*)][525] de estados excitados de complejos metal-polipiridilo (Figura 133b).[485a,526] Los estados excitados MLCT han sido ampliamente estudiados, mientras que la síntesis de complejos d^6 polipiridilo se realiza habitualmente a nivel industrial, por lo que durante los últimos años se han podido desarrollar diversas estrategias para la preparación de complejos ensamblajes moleculares basados en estos principios. Además, las propiedades de los estados fundamentales y excitados de numerosos complejos metálicos y nanoestructuras supramoleculares son rutinariamente investigadas en superficies y en medios rígidos en escalas de tiempo cortos (del orden de 10^2 fs). Hemos de mencionar que esta aproximación utiliza los mismos principios físicos y las mismas estrategias sistemáticas de ensamblaje molecular que la descrita para el caso de las porfirinas.

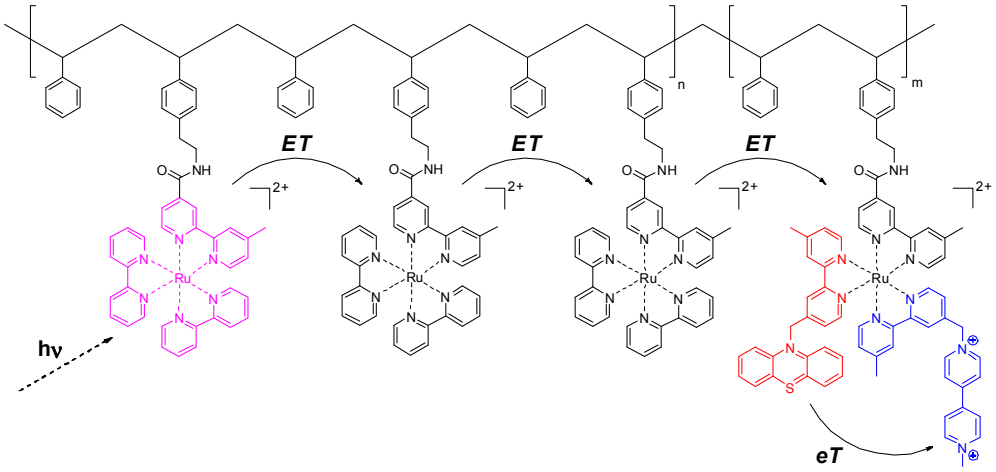


Figura 133. Dispositivo fotosintético (antena-centro de reacción) polimérico, en el que se ilustra la transferencia de electrones (eT) sensibilizada que sigue al proceso de excitación de MLCT en una antena de Ru(II).

Las interacciones no covalentes ofrecen nuevas posibilidades para la construcción de sistemas biomiméticos fotosintéticos artificiales, además de presentar efectos ampliamente beneficiosos en términos de tiempos de vida de los pares ión-radical fotogenerados. Por lo tanto, esta aproximación es idónea para la preparación de sistemas fotosintéticos artificiales basados en unidades [60]fullereno, los cuales reproducen claramente el proceso natural de la fotosíntesis. Cabe destacar especialmente los estudios realizados referentes a díadas, tríadas

[525] El fenómeno de MLCT es consecuencia de la transferencia de electrones desde orbitales moleculares con carácter metálico a otros con carácter de ligando. Dichos procesos se observan habitualmente en complejos — como por ejemplo, tris(2,2'-bipiridil)rutenio(II), W(CO)4(Phen) y Fe(CO)3(Bipy)] — que contienen ligandos que presentan orbitales π^* de baja energía — como por ejemplo, Bipy, Phen, CO, CN^- y SCN^- —, especialmente ligandos aromáticos. La transición ocurre siempre que el ión metálico presente un número de oxidación bajo para sus orbitales d. Cabe destacar que el fenómeno de MLCT provoca la oxidación del centro metálico, a diferencia del de transferencia de carga ligando-metal [LMCT (*ligand-to-metal charge transfer*)], el cual resulta en la reducción del centro metálico como consecuencia de la transferencia de electrones del ligando al metal. Para más información, ver: Atkins, P. W.; Overton, T. L.; Rourke, J. P.; Weller, M. T.; Armstrong, F. A. *Shriver & Atkin's inorganic chemistry [5th edn]*; Oxford University Press: Oxford (Reino Unido), **2010**.

[526] a) Brixner, T.; Stenger, J.; Vaswani, H. M.; Cho,M.; Blankenship, R. E.; Fleming, G. R. *Nature* **2005**, *434*, 625-628. b) Jordanides, X. J.; Scholes, G. D.;Shapley, W. A.; Reimers, J. R.; Fleming, G. R. *J. Phys. Chem. B.* **2004**, *108*, 1753-1765. c) Yang, M.; Damjanovic, A.; Vaswani, H. M.; Fleming, G. R. *Biophys. J.* **2003**, *85*, 140-158.

y sistemas poliméricos supramoleculares dador/aceptor (C_{60}) (Figura 134).[527] Los ensamblajes resultantes (D···C_{60}) están fundamentalmente constituidos por unidades aceptoras [60]fullereno unidas de forma no covalente a distintos electrodadores, como por ejemplo porfirinas,[528] ftalocianinas,[529] oligotiofenos,[530] tetratiafulvalenos (TTFs)[531] y ureidopirimidonas (UPrms).[532]

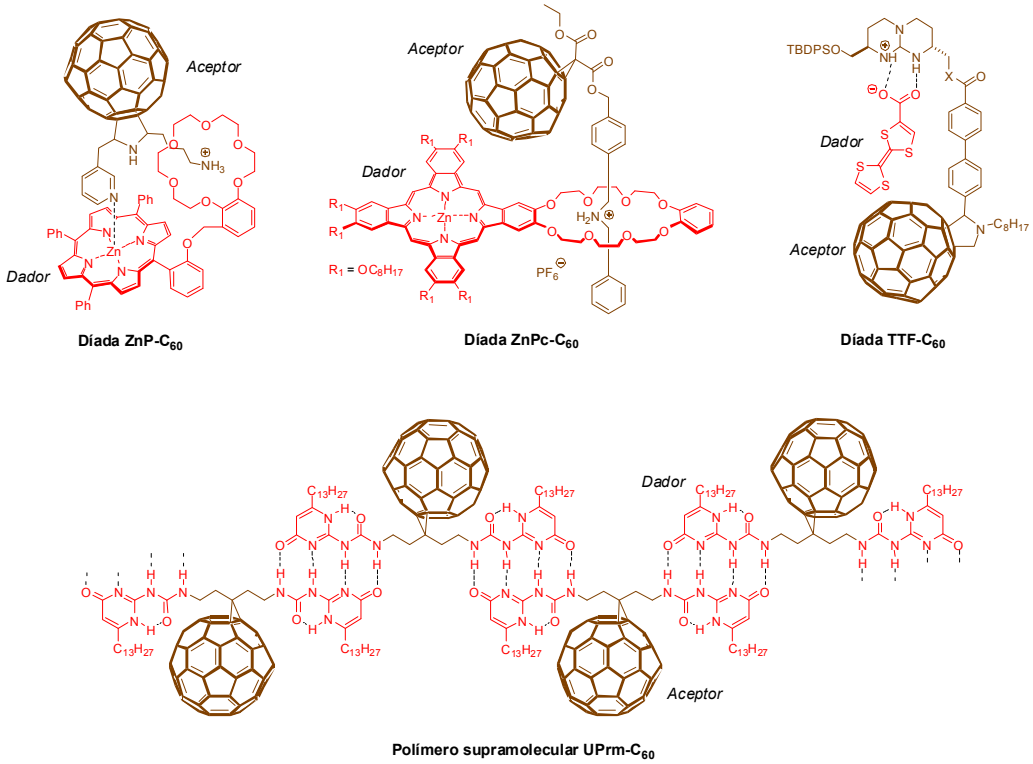


Figura 134. Ejemplos representativos de sistemas supramoleculares dador/aceptor (C_{60}).

Siguiendo el mismo modelo conceptual, numerosos grupos de investigación han procedido a la preparación de novedosos sistemas supramoleculares de transferencia electrónica fotoinducida — los cuales pueden actúar como eficientes materiales fotosintéticos artificiales — mediante el ensamblaje molecular de unidades electrodadoras a la superficie de nanotubos de carbono (electroaceptores).[527a,533] Hemos de mencionar especialmente los esfuerzos realizados conjuntamente por los grupos de investigación de Prato, Guldi y Martín en

[527] a) *Supramolecular chemistry of fullerenes and carbon nanotubes*; Eds. N. Martín, J.-F. Nierengarten; Wiley-VCH: Weinheim (Alemania), **2012**. b) Martín, N. *Chem. Commun.* **2006**, *20*, 2093-2104. c) Sánchez, L.; Martín, N.; Guldi, D. M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 5374-5382. d) El-Khouly, M. E.; Ito, O.; Smith' P. M.; D'Souza, F. *J Photoch. Photobio. C* **2004**, *5*, 79-104.

[528] a) Sessler, J. L.; Jayawickramarajah, J.; Gouloumis, A.; Torres, T.; Guldi, D. M.; Maldonado S.; Stevenson, K. J. *Chem. Commun.* **2005**, *14*, 1892-1894. b) D'Souza, F. ; Deviprasad, G. R.; Zadler, M. E.; El-Kouly, M. E.; Fujitsuka, F. Ito, O. *J. Phys. Chem.* **2003**, *107*, 4801-4807.

[529] Guldi, D. M.; Ramey, J.; Martínez-Díaz, M. V.; de la Escosura, A.; Torres, T.; da Ros, T.; Prato, M. *Chem. Commun.* **2002**, *23*, 2774-2775.

[530] Huang, C.-H. ; McClenaghan, N. D.; Kuhn, A.; Hofstraat, J. W.; Bassani, D. M. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 3409-3412.

[531] Segura, M.; Sánchez, L.; de Mendoza, J.; Martín, N.; Guldi, D. M. *J. Am. Chem.Soc.* **2003**, *125*, 15093-15100.

[532] Sánchez, L.; Rispens, M. T.; Hummelen, J. C. Angew. Chem. Int. Ed. **2002**, *41*, 838-840.

[533] a) Maligaspe, E.; Sandanayaka, A. S. D.; Hasobe, T.; Ito, O.; D'Souza, F. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 8158-8164. b) Klare, J. E.; Murray, I. P.; Goldberger, J.; Stupp, S. I. *Chem. Commun.* **2009**, *25*, 3705-3707. c) Guldi, D. M. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2007**, *9*, 1400-1420. d) **Guldi**, D. M.; Rahman, G. M. A.; Jux, N.; Tagmatarchis, N.; Prato, M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 5526-5530.

la exploración de la química no covalente de derivados tetrafulvalénicos (Figura 135).[534] Así, mostraron que los sistemas pireno-tetratiafulvaleno — bien Pir-TTF o Pir-exTTF — daban lugar a fuertes fuerzas interactivas π–π con diferentes tipos de nanotubos de carbono (interacciones π–π Pir-CNT, tanto con SWNTs como con MWNTs). Este hecho permitió observar enormes diferencias en el contexto de la transferencia de carga fotoinducida. En particular, la inyección de carga en la banda de conducción de los nanotubos de carbono daba lugar a estados par ión-radical estables (en la escala de tiempos de femto/picosegundos) solamente para los MWNTs, mientras que los tiempos de vida para los SWNTs resultaban ser más cortos.

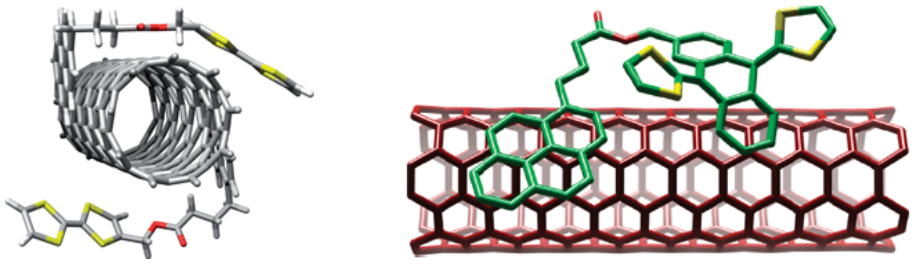


Figura 135. Dispositivos supramoleculares de transferencia de carga fotoinducida basados en interacciones π–π entre nanotubos de carbono y unidades pireno funcionalizadas con derivados TTF (*izquierda*) y exTTF (*derecha*).

Recientemente, se han sido desarrollado numerosos sistemas fotosintéticos artificiales no covalentes basados en esqueletos metálicos orgánicos [MOFs (metal organic frameworks)][535,536] y COFs (Figura 136).[491,537,538] Cabe destacar los estudios realizados por el grupo de investigación de Jiang referentes a la preparación de estructuras cristalinas foto- y electroconductoras de COFs bidimensionales (2D COFs), en los cuales cada lámina está constituida por unidades de construcción areno que se sitúan una sobre otra de manera eclipsada (Figura 136b,c).[538b,539] Teniendo en cuenta estos principios, el grupo de investigación de Dichtel ha desarrollado la síntesis de cuantiosas nanoestructuras COFs mediante un novedoso protocolo catalizado por un ácido de Lewis, pudiendo formar así ésteres boronato directamente a partir de catecoles y ácidos arilborónicos (Figura 136d).[540]. Dicha metodología

[534] a) Pérez, E. M.; Illescas, B. M.; Herranz, M. A.; Martín, N. *New J. Chem.* **2009**, *33*, 228-234. b) Ehli, C.; Guldi, D. M.; Herranz, M. A.; Martín, N.; Campidelli, S.; Prato, M. *J. Mater. Chem.* **2008**, *18*, 1498-1503.

[535] Los MOFs son compuestos cristalinos constituidos por iones metálicos o *clusters* coordinados, dando lugar a moléculas orgánicas rígidas que pueden formar estructuras porosas en una, dos o tres dimensiones (1D, 2D o 3D). Para más información, ver: a) *Metal-organic frameworks – Application from catalysis to gas strorage*; Ed. D. Farrusseng; Wiley-VCH: Weinheim (Alemania), **2011**. b) Eddaoudi, M.; Kim, J.; Rosi, N.; Vodak, D.; Wachter, J.; O'Keeffe, M.; Yaghi, O. M. *Science* **2002**, *295*, 469-472.

[536] a) Kent, C. A.; Liu, D.; Ma, L.; Papanikolas, J. M.; Meyer, T. J.; Lin, W. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 12940-12943. b) Li, Q.; Zhang, W.; Miljanic, O. S.; Knobler, C. B.; Stoddart, J. F.; Yaghi, O. M. *Chem. Commun*. **2010**, *46*, 380-382. c) D'Alessandro, D. M.; Kanga, J. R. R.; Caddy, J. S. *Aust. J. Chem.* **2011**, *64*, 718-722.

[537] Para más información sobre COVs que se autoensamblan en redes 2D y 3D robustas mediante interacciones débiles no covalentes π–π, ver: a) Han, S. S.; Furukawa, H.; Yaghi, O. M.; Goddard III, W. A. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 11580-11581. b) Côté, A. P.; Benin, A. I.; Ockwig N. W.; Matzger, A. J.; O'Keeffe, M.; Yaghi, O. M. *Science*, **2005**, *310*, 1166-1170.

[538] a) Wan, S.; Gandara, F.; Asano, A.; Furukawa, H.; Saeki, A.; Dey, S. K.; Liao, L.; Ambrogio, M. W.; Botros, Y. Y.; Duan, X.; Seki, S.; Stoddart, J. F.; Yaghi, O. M. *Chem. Mater.* **2011**, *23*, 4094-4097. b) Ding, X.; Chen, L.; Honsho, Y.; Feng, X.; Saengsawang, O.; Guo, J.; Saeki, A.; Seki, S.; Irle, S.; Nagase, S.; Parasuk, V.; Jiang, D. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 14510-14513.

[539] a) Feng, X.; Chen, L.; Honsho, Y.; Saengsawang, O.; Liu, L.; Wang, L.; Saeki, A.; Irle, S.; Seki, S.; Dong Y, Jiang, D. *Adv Mater.* **2012**, *24*, 3026-3031. b) Feng, X.; Liu, L.; Honsho, Y.; Saeki, A.; Seki, S.; Irle, S.; Dong, Y.; Nagai, A.; Jiang, D. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 2618-2622. c) Wan, S.; Guo, J.; Kim, J.; Ihee, H.; Jiang, D. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 5439-5442. d) Wan, S.; Guo, J.; Kim, J.; Ihee, H.; Jiang, D. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 8826-8830.

[540] a) Spitler, E. L.; Giovino, M. R.; White, S. L.; Dichtel, W. R. *Chem. Sci.* **2011**, *2*, 1588-1593. b) Spitler, E. L.; Dichtel, W. R. *Nature Chem.* **2010**, *2*, 672-677.

permite la construcción de una nueva clase de COFs que contienen una red cuadrada constituida por macrociclos de ftalocianina (Pc) unidos por conectores derivados de ácidos bis(fenilen)borónicos.[540,541] Las ftalocianinas se ensamblan/apilan de forma eclipsada a través de interacciones débiles no covalentes π–π para formar poros nanométricos de distintos tamaños, los cuales se disponen de forma paralela a los cromóforos apilados. La gran absorbancia y estabilidad que presentan los correspondientes materiales porosos, así como el posible transporte de carga eficiente a través de las unidades cromóforas ftalocianinas apiladas, revelan sus enormes aplicaciones en el campo de los dispositivos fotovoltaicos orgánicos.

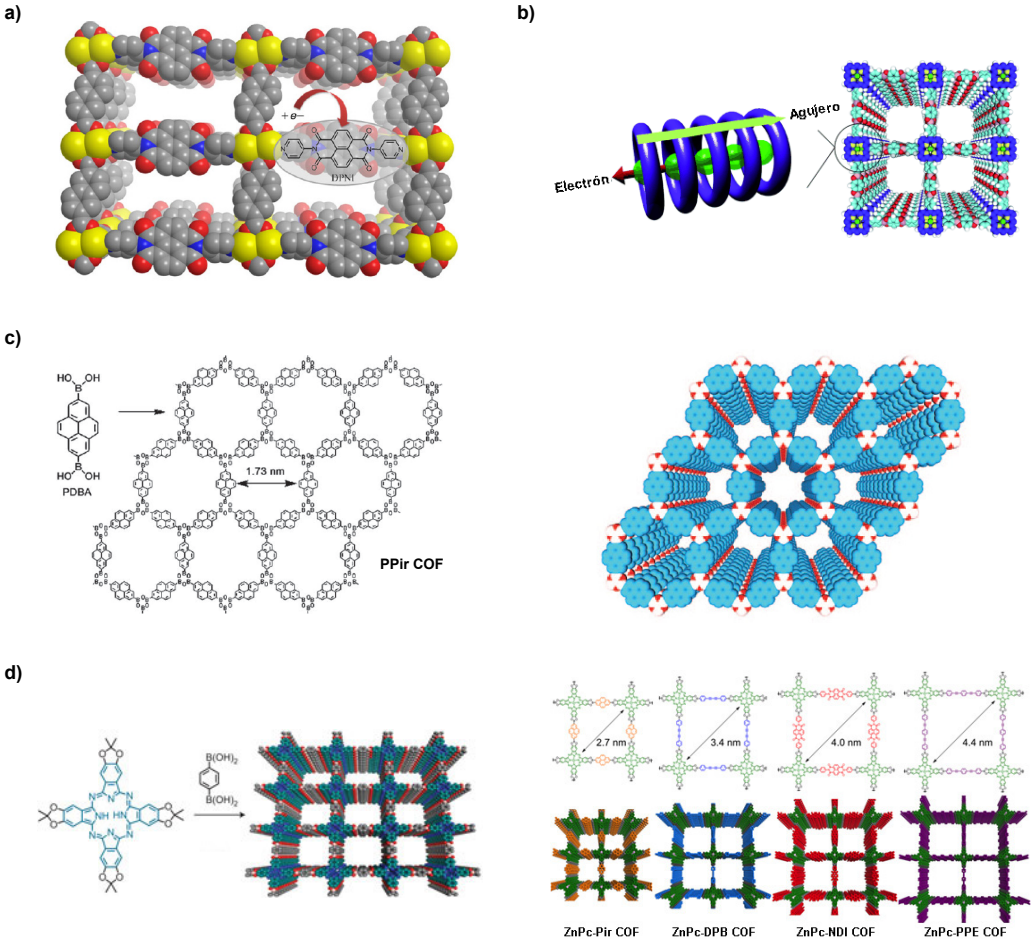


Figura 136. a) Estructura de un $[Zn_2(BPDC)_2(DPNI)]$ MOF, en el cual el ligando redox activo DPNI puede reversiblemente aceptar y liberar electrones. **b)** Representación esquemática de un dispositivo 2D Por COV que actúa como conductor ambipolar de electrones y huecos. **c)** Representación esquemática de la síntesis (*izquierda*) y de la estructura 2D cristalina (*derecha*) de un PPir COF fotoconductor. **d)** *Izquierda*, Metodología para la preparación de Pc COFs mediante catálisis con un ácido de Lewis. *Derecha*, Control del tamaño de poro en 2D ZnPc COFs mediante la introducción de diferentes conectores cromóforos [BPDC: bifenil-4,4'-dicarboxilato; DPNI: N,N'-di(4-piridil)-1,4,5,8-naftalenotetracarboxidiimida; Por: porfirina; PDBA: ácido pirenodiborónico; PPir: polipireno; Pc: ftalocianina; Pir: pireno; DPB: difenilbutadieno; NDI: naftalenodiimida; PPE: poli(*p*-fenilenetinileno)].

[541] a) Spitler, E. L.; Colson, J. W.; Uribe-Romo, F. J.; Woll, A. R.; Giovino, M. R.; Saldivar, A.; Dichtel, W. R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 2623-2627. b) Spitler, E. L.; Koo, B. T.; Novotney, J. L.; Colson, J. W.; Uribe-Romo, F. J.; Gutierrez, G. D.; Clancy, P.; Dichtel, W. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 19416-19421.

Como hemos mencionado anteriormente, uno de los factores que limitan la eficacia de las células orgánicas solares (OSCs) es la recombinación de carga, un proceso en el que las especies cargadas negativa- y positivamente se recombinan en la capa activa antes de que las cargas avancen hacia los electrodos. La adecuada organización nanométrica de los materiales de tipo p y n debe facilitar la movilidad de carga en las OSCs, previendo la recombinación. Es por este motivo por lo que durante los últimos años resultó crucial alejarse de la idea de que las propiedades de los materiales vienen determinadas exclusivamente por las de sus componentes moleculares, permitiendo así el estudio de las correspondientes organizaciones supramoleculares en mayor profundidad.[542] Como consecuencia de ello, numerosos grupos de investigación han focalizado sus esfuerzos en la construcción de eficientes materiales foto- y electroactivos mediante el empleo de estrategias no covalentes.[543] Teniendo en cuenta todas estas consideraciones, el grupo de Wasielewski ha podido desarrollar recientemente una novedosa clase de dispositivos electrónicos denominados materiales orgánicos fotovoltaicos de plantilla ordenada [TOPs (*template-ordered organic photovoltaics*)] (Figura 137). Dichos módulos ofrecen una perspectiva prometedora para lograr la captura y conversión de energía solar de manera altamente eficiente — una propiedad característica de los materiales cristalinos inorgánicos —, conservando además las ventajas del procesamiento en disolución propia de los materiales orgánicos fotovoltaicos [OPVs (*organic photovoltaics*). Las estructuras de los TOPs se obtienen esencialmente mediante el apilamiento molecular organizado de especies dadoras (D) y aceptoras (A) de electrones, las cuales se comportan como portadores (*carriers*) de huecos (*holes*) y electrones, respectivamente. Ambas especies pueden estar

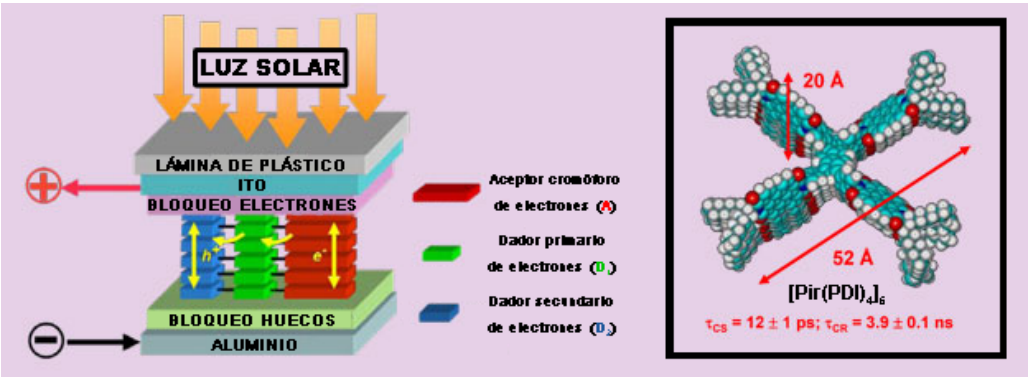


Figura 137. Representación esquemática de una célula solar orgánica fotovoltaica de plantilla ordenada (TOP) que incorpora como material activo tríadas autoensambladas dador/aceptor (D_2-D_1-A) y en la que se ilustra de manera completamente intuitiva el proceso de migración de carga bajo fotoexcitación. De manera resaltada se muestra la nanoestructura supramolecular **[Pir(PDI)$_4$]$_5$** — correspondiente al proceso de autoensamblaje de la unidad dador-aceptor monomérica [Pir(PDI)$_4$] — obtenida mediante estudios SAXS/WAXS en tolueno. Del mismo modo, también se indican los tiempos de vida correspondientes al proceso de separación de cargas (τ_{CS} = 12 ± 1 ps) y de recombinación de cargas (τ_{CR} = 3.9 ± 0.1 ns).

[542] Bullock, J. E.; Kelley, R. F.; Wasielewski, M. R. *PMSE Preprints* **2007**, *96*, 805-806.
[543] Para dispositivos fotovoltaicos obtenidos mediante estrategias no covalentes, ver: a) Martín, N.; Solladié, N.; Nierengarten, J.-F. *Electrochem. Soc. Interface* **2006**, *15*, 29-33. b) Pérez, E. M. *Pure Appl. Chem.* **2011**, *83*, 201-211. c) Bottari, G.; Suanzes, J. A.; Trukhina, O.; Torres, T. *J. Phys. Chem. Lett.* **2011**, *2*, 905-913. d) Bottari, G.; de la Torre, G.; Guldi, D. M.; Torres, T. *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 6768-6816. e) McClenaghan, N. D.; Grote, Z.; Darriet, K. ; Zimine, M.; Williams, R. M.; De Cola, L.; Bassani, D. M. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 807-810. f) Otten, M. B. J.; Schwartz, E.; de Witte, P. A. J.; Cornelissen, J. J. L. M.; Wienk, M. M.; Janssen, R. A. J.; Nolte, R. J. M.; Rowan, A. E. *PMSE Preprints* **2006**, 94, 743-744. g) Hernando, J.; de Witte, P. A. J.; van Dijk, E. M. H. P.; Korterik, J.;Nolte, R.J. M.; Rowan, A. E.; García-Parajó, M. F.; van Hulst N. F. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 4045-4049. h) Número especial: "Supramolecular approaches to organic electronics and nanotechnology". *Adv. Mater. 2006*, *18*, 1227-1329.

unidas covalentemente en forma de monómero (D-A), o pueden estar dispuestas en apilamientos separados de D y A. El ensamblaje de las unidades molde planas en el ánodo del dispositivo OPV[544] facilita la obtención de una plantilla de interacciones de apilamiento π para formar columnas paralelas que pueden actuar como soportes eficientes de deriva/difusión (*drift/diffusion*). Debido a que el ordenamiento es consecuencia de un fuerte apilamiento π, y que las plantillas interfaciales nuclean dicho apilamiento, se ha podido establecer — sobre la base de resultados previos realizados en numerosos grupos de investigación[543] — que los dispositivos TOPS dan lugar a procesos eficientes de generación de carga fotoinducida, transporte de carga y extracción por medio de electrodos. Así, por ejemplo, Wasielewski *et al.* han llevado a cabo la preparación de diferentes bloques de construcción dador/aceptor en los que se emplean unidades 3,4:9,10-bis(dicarboximida) de perileno (PDI) aceptoras de electrones, las cuales dan lugar a fuertes interacciones π–π que son responsables de promover el autoensamblaje en forma de estructuras supramoleculares autoordenadas.[335,545] Recientemente, también han podido llevar a cabo la unión covalente de cuatro unidades PDI a un núcleo central de pireno (Pir), el cual actúa como dador de electrones.[546] La molécula resultante ([Pir(PDI)$_4$]) se autoensambla de manera adecuada,[547] dando lugar a apilamientos en forma de columna ("columnares") de dadores y aceptores segregados que presentan una estrecha dispersidad (5 ± 1 monómeros) (Figura 137). Dichas estructuras supramoleculares ([Pir(PDI)$_4$]$_5$) fueron convenientemente corroboradas mediante estudios SAXS/WAXS en disolución. Finalmente, se pudo observar como la fotoexcitación selectiva de PDI dentro de Pir(PDI)$_4$]$_5$ resultó en una rápida transferencia electrónica desde el núcleo de pireno (Pir) a la especie ^{1}*PDI (τ_{CS} = 12 ± 1 ps; τ_{CR} = 3.9 ± 0.1 ns). De este modo, la utilización de TOPs ha de favorecer la preparación y optimización de nuevos biomateriales electrónicos, pudiendo así comprender fenómenos tan relevantes como la dinámica del excitón, la movilidad de los portadores, la distribución de carga y los fenómenos interfaciales.

Como hemos destacado con anterioridad, la **electrónica molecular**[548] permite la fabricación de dispositivos moleculares que pueden imitar convenientemente las funciones electrónicas existentes en la naturaleza (Figura 131).[514,515] Las moléculas tienen la ventaja de ser mucho más pequeñas (~ 10^6 veces) que los dispositivos modernos de silicio, ofreciendo así enormes posibilidades como componentes fundamentales de dispositivos computacionales. Dentro de este novedoso campo, las moléculas capaces de presentar un comportamiento de cable molecular están recibiendo una especial atención.[324] Cabe recordar que el término "cable molecular" describe un sistema orgánico u organometálico que facilita el transporte de carga intramolecular de un sitio a otro, normalmente bajo el control de un estímulo externo, eléctrico, electroquímico o fotónico.[324] Para introducir estos cables moleculares en dispositivos electrónicos es crucial el desarrollo de nuevos métodos de fabricación y técnicas que permitan

[544] Veinot, J. G. C.; Marks, T. J. *Acc. Chem. Res.* **2005**, *38*, 632-643.
[545] a) Rybtchinski, B.; Sinks, L. E.; Wasielewski, M. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 12268-12269. b) Rybtchinski, B.; Sinks, L. E.; Wasielewski, M. R. *J. Phys. Chem. A* **2004**, *108*, 7497-7505.
[546] Las unidades PDI y los tintes (*dyes*) relacionados imparten rendimientos impresionantes tanto a los FETs como a los OPVs. Dichos cromóforos presentan una alta estabilidad fotoquímica y unas propiedades ópticas/redox deseables. Además, sus múltiples derivados se sintetizan fácilmente. Para más información, ver: a) Jones, B. A.; Facchetti, A.; Wasielewski, M. R.; Marks, T. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 15259-15278. b) Breeze, A. J.; Salomon, A.; Ginley, D. S.; Gregg, B. A.; Tillmann, H.; Horhold, H. H. *Appl. Phys. Lett.* **2002**, *81*, 3085-3087.
[547] La coplanaridad que presenta Pir(PDI)$_4$ permite que se autoensamble en forma de estructuras bien definidas, en las cuales se observa como las moléculas se disponen en una configuración cofacial (agregado de tipo H).
[548] La **electrónica molecular** — a veces llamada **moletrónica** — es la rama de la ciencia que estudia el uso de moléculas orgánicas en la electrónica. Las principales ventajas que presenta frente a la electrónica tradicional basada en materiales inorgánicos como el silicio son la facilidad de fabricación, la maleabilidad, el bajo coste y la mayor escala de integración. Para más información, ver: a) Del Nero, J.; de Souza, F. M.; Capaz, R. B. *J. Comput. Theor. Nanos.* **2010**, *7*, 1-14. b) Roncali, J. *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 173-205. c) Tour, J. M. *Chem. Rev.* **1996**, *96*, 537-553.

conectar las moléculas de forma controlada en dispositivos híbridos orgánico/semiconductor. En este contexto, los sistemas moleculares de tipo D-B-A constituyen excelentes modelos para estudiar la estructura y el transporte de carga de diferentes sistemas empleados como cables moleculares. Desafortunadamente, los materiales D-B-A obtenidos covalentemente presentan ciertas limitaciones, como pueden ser su extremadamente compleja preparación y su alto coste. Es por ello que actualmente se emplea el ensamblaje molecular como una excelente herramienta para la preparación de materiales bien organizados. Durante los últimos años, se han descrito numerosos estudios empleando cables moleculares obtenidos mediante estrategias no covalentes, en los cuales se produce un transporte de carga fotoinducido entre unidades dadoras y aceptoras de electrones.[549] Cabe resaltar los trabajos realizados por el grupo de investigación de Anderson sobre polímeros orgánicos π-conjugados constituidos por Zn-porfirinas enlazadas en la posición *meso* a través de unidades butidiino (Figura 138).[550,551] La conformación de estos polímeros puede ser alterada no covalentemente mediante adición de ligandos bidentados — como por ejemplo, Bipy —, lo que conlleva la formación de ensamblajes de doble hebra de tipo escalera (*ladder*). Dichas nanoestructuras presentan una mayor longitud de conjugación, además de una conformación mucho más plana, lo que permite aumentar hasta 10 veces la mobilidad de los portadores de carga — en este caso particular, cargas positivas; de tipo centros catión-radical o huecos — a lo largo del cable molecular.

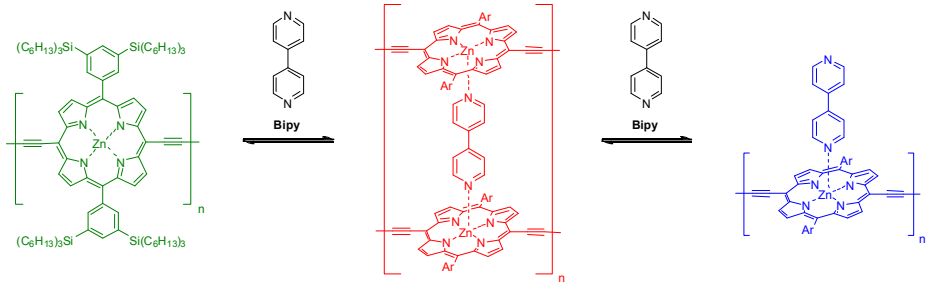


Figura 138. Formación de un complejo porfirínico polimérico de doble hebra 4,4'-bipiridilo tipo escalera mediante autoensamblaje supramolecular no covalente. El aumento de conductividad en el cable molecular resultante es consecuencia del aumento de planaridad y conjugación.

El diseño y desarrollo de dispositivos electrónicos basados en el ensamblaje no covalente de moléculas es un campo claramente multi- e interdisciplinar. Mientras que la habilidad de los químicos para sintetizar moléculas "a medida" es un requisito imprescindible, la interacción con otras disciplinas — como la física o la ingeniería — es fundamental para llegar a integrar los dispositivos moleculares en circuitos electrónicos. El potencial y las limitaciones de las moléculas para desarrollar funciones electrónicas están siendo todavía explorados, por lo que los avances en el campo de la electrónica molecular resultan ser continuos.

[549] a) Bassani, D. M. Nature *480*, 326-327. b) Maniam, S.; Cieslinski, M. M.; Lincoln, S. F.; Onagi, H.; Steel, P. J.; Willis, A. C.; Easton, C. J. *Org. Lett.* **2008**, *10*, 1885-1888. c) Li, C.; Numata, M.; Bae, A.-H.; Sakurai, K.; Shinkai, S. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 4548-4549.

[550] a) Grozema, F. C.; Houarner-Rassin, C.; Prins, P.; Siebbeles, L. D. A.; Anderson, H. L. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 13370-13371. b) Anderson, H. L. *Chem. Commun.* **1999**, *23*, 2323-2330.

[551] Estudios de transferencia electrónica fotoinducida mostraron como los polímeros porfirínicos descritos podían transferir carga a grandes distancias de manera eficiente. Para más información, ver: Winters, M. U.; Dahlstedt, E.; Blades, H. E.; Wilson, C. J.; Frampton, M. J.; Anderson, H. L.; Albinsson, B. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 4291-4297.

El grupo de investigación de Stoddart ha llevado a cabo el diseño, construcción ascendente (*"bottom-up"*), caracterización y funcionamiento de un sistema supramolecular capaz de mimetizar la actividad realizada por un cable macroscópico de extensión eléctrica (Figura 139).[552] Dicho sistema está constituido por tres componentes moleculares (una fuente de electrones gobernada por la luz, un cable y un drenaje de electrones) que se autoensamblan mediante dos uniones distintas de tipo clavija/enchufe (*plug/socket*); una primera conexión a través de enlaces de hidrógeno entre una unidad dibenzo[24]corona-8 (DB24C8) y un centro ión dialquilamonio, y una segunda conexión mediante interacciones π–π entre una unidad benzonafto[36]corona-10 (BN36C10; dador de electrones) y un ión 4,4'-bipiridinio (viológeno; aceptor de electrones). Ambas conexiones son reversibles y pueden establecerse de manera independiente. En la tríada supramolecular fuente-conector-drenaje se observa el flujo de electrones — resultado de la correspondiente transferencia de electrones fotoinducida — desde la fuente al drenaje, el cual puede ser convenientemente interrumpido mediante el desmontaje químico controlado de los distintos componentes moleculares.

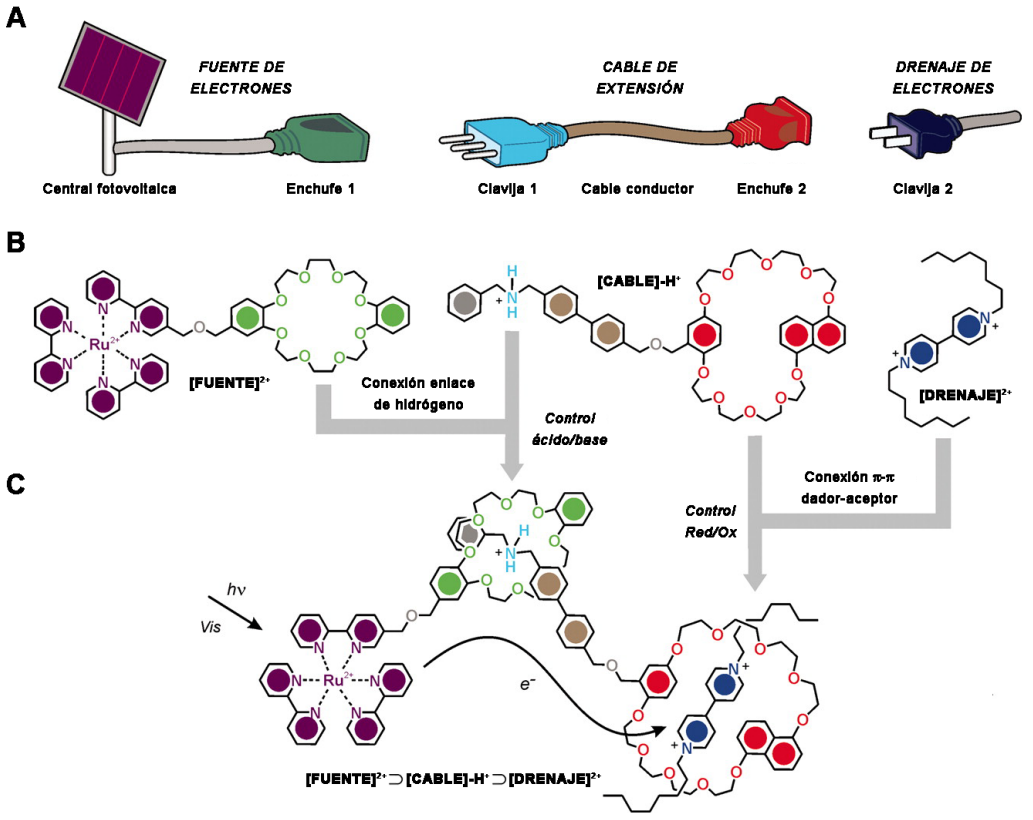


Figura 139. Representación esquemática de un cable macroscópico de extensión eléctrica (**A**) y sistema supramolecular capaz de mimetizar su funcionamiento (**B** y **C**). El sistema autoensamblado y totalmente conectado (tríada **[FUENTE]$^{2+}$** ⊃ **[CABLE]-H^{+}** ⊃ **[DRENAJE]$^{2+}$**) permite que los electrones generados por fotoexcitación visible de la unidad fuente constituida por Ru (**[FUENTE]$^{2+}$**) sean transferidos a la molécula **[DRENAJE]$^{2+}$**, con **[CABLE]-H^{+}** ejerciendo el papel de cable de extensión. El sistema puede ser encendido/apagado mediante dos procesos reversibles distintos de ensamblaje/desmontaje gobernados químicamente (control ácido/base y/o reducción/oxidación).

[552] Ferrer, B.; Rogez, G.; Credi, A.; Ballardini, R.; Gandolfi, M. T.; Balzani, V.; Liu, Y.; Tseng, H.-R.; Stoddart, J. F. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2006**, *103*, 18411-18416.

Finalmente, hemos de mencionar los sistemas de transferencia electrónica fotoinducida que emplean ácidos nucleicos — especialmente ADN — como espaciador no covalente.[553] Dentro de ellos, cabe destacar los estudios pioneros realizados por el grupo de investigación de Barton cimentados en la preparación de ensamblajes oligoméricos (dúplex de ADN constituido por 15 pares de bases) que contienen complejos metálicos de rutenio (unidades electrodadoras) y de rodio (unidades electroaceptoras), los cuales se intercalan adecuadamente en las bases contiguas a los extremos 5' de las hélices con constantes de afinidad (K_a) superiores a 10^6 M^{-1} (Figura 140).[554] De este modo, los heterociclos aromáticos apilados — no covalentemente a través de interacciones π–π — que se encuentran presentes en los correspondientes dúplex de ADN actúan como un medio eficiente para lograr el acoplamiento de dadores y aceptores de electrones a muy larga distancia (> 40 Å), promoviendo así procesos rápidos de transferencia electrónica fotoinducida ($K_{TE} \geq 10^9$ s^{-1}; $\beta \leq 0.2$ $Å^{-1}$)[555] a largo rango — en distancias comparables a los que se encuentran en los sistemas biológicos.[556] Los resultados obtenidos han servido como estímulo para el desarrollo de novedosos módulos artificiales foto- y electroactivos basados en ácidos nucleicos.[557]

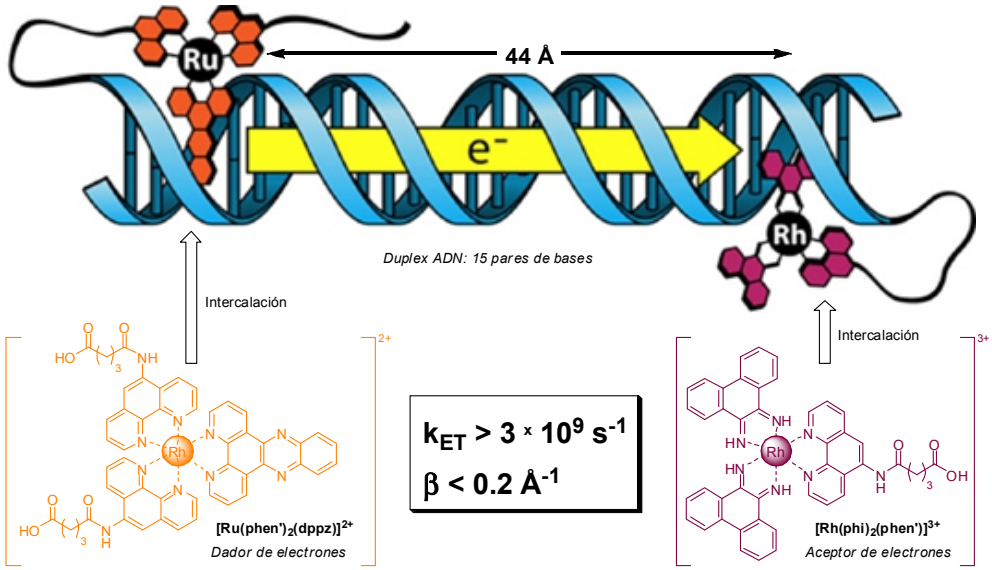


Figura 140. Representación esquemática de un oligonucleótido doblemente modificado empleado como sistema dador/aceptor de transferencia electrónica fotoinducida ($k_{ET} > 10^9$ s^{-1}). De manera resaltada se observa como la separación entre bases es característica de un dúplex de ADN (~ 3.4 Å) y que la distancia entre las unidades dadora y aceptora de electrones es superior a 40 Å. En la parte inferior se muestran las estructuras de los complejos electrodador $[Ru(phen')_2(dppz)]^{2+}$ y electroaceptor $[Ru(phi')_2(phen')]^{3+}$ que se intercalan en las bases del dúplex de ADN [*phen:* 1,10-fenantrolina; *dppz:* dipiridofenazina; *phi:* 9,10-fenantrenoquinona diimina].

[553] a) Siriwong, K.; Voityuk, A. A. *WIREs Comput. Mol. Sci.* **2012**, *en prensa* [doi: 10.1002/wcms.1102]. b) Barton, J. K.; Olmon, E. D.; Sontz, P. A. *Coordin. Chem. Rev.* **2011**, *255*, 619-634. b) Boussicault, F.; Robert, M. *Chem. Rev.* **2008**, 108, 2622-2645. c) Lewis, F. D. *Nucleic Acids Symp. Ser.* **2008**, *52*, 95-96. d) Giese, B. *Annu. Rev. Biochem.* **2002**, *71*, 51-70. e) Dekker, C.; Ratner, M. A. *Phys. World* **2001**, *14*, 29-33.
[554] Murphy, C. J.; Arkin, M. R.; Jenkins, Y.; Ghatlia, N. D.; Bossmann, S. H.; Turro, N. J.; Barton, J. K. *Science* **1993**, *262*, 1025-1029.
[555] El factor de atenuación β refleja la dependencia de la transferencia electrónica con la distancia. Cuanto menor sea el valor de β, mejor comportamiento como cable molecular tendrá el dispositivo y mayor será la transferencia electrónica.
[556] Moser, C. C.; Keske, J. M.; Warncke, K.; Farid, R. S.; Dutton, P. L. *Nature* **1992**, *355*, 796-802.
[557] a) Ito, T.; Hayashi, A.; Uchida, T.; Tanabe, K.; Yamada, H.; Nishimoto, S.-I. *Nucleic Acids Symp. Ser.* **2009**, *53*, 201-202. b) Tanaka, M.; Elias, B.; Barton, J. K. *J. Org. Chem.* **2010**, *75*, 2423-2428. c) Elias, B.; Genereux, J. C.; Barton, J. K. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 9067-9070.

La electrónica molecular es actualmente un área de investigación de creciente interés, especialmente si tenemos en cuenta que la industria microelectrónica inorgánica convencional está alcanzando el límite para la miniaturización de los componentes sólidos semiconductores. Una interesante perspectiva consiste en la preparación de dispositivos moleculares capaces de imitar las funciones electrónicas existentes e investigar el potencial de las moléculas para enriquecer y complementar las estrategias electrónicas empleadas. El entendimiento de los procesos de transferencia electrónica — especialmente de fenómenos tan importantes como la transferencia de electrones fotoinducida (PET) — que tienen lugar en dichos dispositivos orgánicos entre dos especies químicas foto- y electroactivas unidas a través de un espaciador (covalente o no covalente) es un concepto estimulante en el ámbito de la electrónica molecular.

16.3. TRANSFERENCIA DE ELECTRONES FOTOINDUCIDA (PET)

La transferencia electrónica fotoinducida (PET)[305,558] es uno de los procesos químicos más relevantes que existen debido a que ejerce un papel fundamental en muchos procesos biológicos esenciales, como sucede en la fotosíntesis de plantas y algunas bacterias (Figura 90 y 91).[478] Además, es frecuentemente responsable de la extinción (*quenching*) de la fluorescencia. Los procesos de PET están involucrados en numerosas reacciones fotoquímicas orgánicas, siendo un fenómeno primordial en sistemas artificiales — además de en la fotosíntesis — para lograr la conversión eficiente de la energía solar basada en la separación de cargas fotoinducida. Por otra parte, los experimentos de extinción de la fluorescencia proporcionan una información extremadamente relevante sobre los procesos de transferencia de electrones que se producen en dichos sistemas fotoartificiales. En el caso particular de las reacciones PET en sistemas dador-aceptor (D-A), la energía de excitación puede conducir eventualmente a un estado con separación de cargas ($D^{\bullet+}$-$A^{\bullet-}$) (Figura 141).[477]

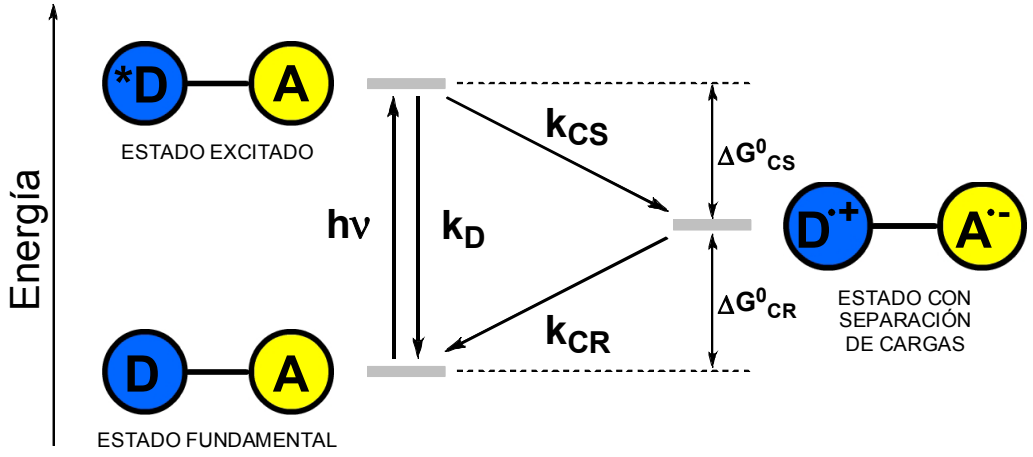


Figura 141. Diagrama energético que ilustra las posibles vías cinéticas en un proceso de separación de cargas fotoinducido entre un fragmento electrodador (D) y uno electroaceptor (A).

[558] a) May, V.; Kühn, O. *Charge and energy transfer dynamics in molecular systems [3rd edn]*; Wiley-VCH: Weinheim (Alemania), **2011**. b) Ortiz, A.; Insuasty, B.; Illescas, B. M.; Martín, N. *An. Quím.* **2008**, *104*, 270-275. c) Kavarnos, G. J. *Fundamentals of photoinduced electron transfer*; Wiley-VCH: Weinheim (Alemania), **1993**.

El primer paso implica una fotoexcitación local de la molécula electrodadora (D) o de la electroaceptora (A), generando así un estado excitado (*D-A). Cabe destacar que el proceso exergónico de separación de cargas (k_{CS} o k_{ET}) compite con el modo de decaimiento o desactivación al estado fundamental (k_D).[559] La importancia de estos procesos de separación de carga fotoinducidos radica en una transducción de energía lumínica a una energía química potencial útil, medida por el cambio de energía libre para la recombinación de carga (ΔG^0_{CR}).[559] Para que el estado con separación de cargas sea eficiente se deben cumplir tres requerimientos esenciales:[560]

- El rendimiento cuántico para el proceso de separación de cargas debe ser tan alto como sea posible ($k_{ET} >> k_D$).
- El tiempo de vida del estado con cargas separadas ($\tau_{CR} = 1/k_{CR}$) debe ser lo suficientemente largo como para poder llevar a cabo un trabajo químicamente útil; un tiempo de vida del orden de 1 μs garantiza su potencial aplicación fotovoltaica.
- El contenido energético del estado de separación de cargas debe ser lo más elevado posible, asegurando así un máximo de conversión de energía fotónica a energía potencial química. De esta forma, el valor absoluto $|\Delta G^0_{CS}|$ debe ser pequeño.

Los sistemas del tipo D-A — también denominados D-B-A, donde B representa un puente (*bridge*) constituido habitualmente por enlaces covalentes o interacciones débiles (no covalentes) — presentan un comportamiento característico basado en conceptos fundamentales de la teoría de transferencia electrónica (Figura 142).[477]

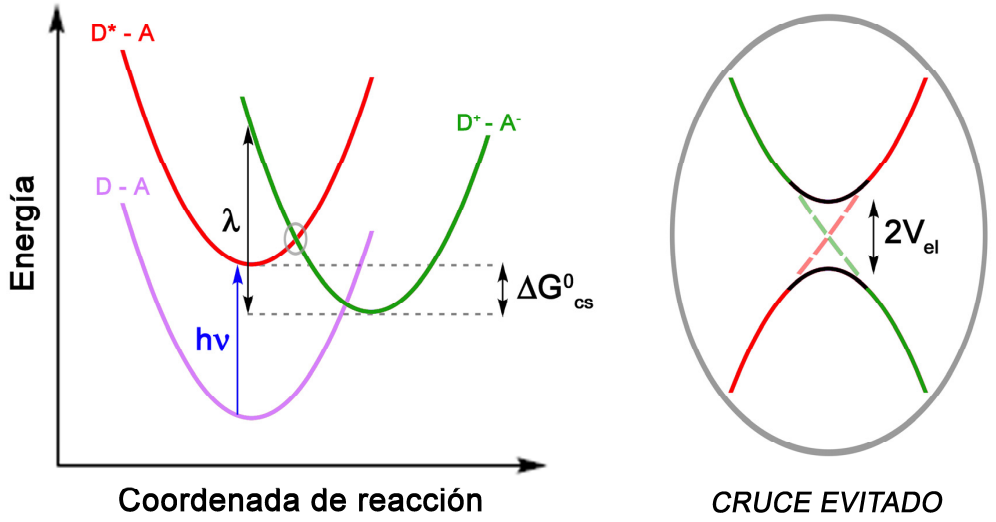


Figura 142. Diagrama energético correspondiente a un proceso de separación de carga resuelto sobre superficies diabáticas de energía potencial de reactivos (D-A) y productos (D^+-A^-). Las dos curvas diabáticas no se interceptan (*cruzamiento evitado*), aunque si interactúan para dar lugar a un cruzamiento permitido, cuya brecha de energía es el doble de la energía correspondiente al acoplamiento electrónico (V_{el})

[559] **ET**: transferencia electrónica (*electronic transfer*); **D**: decaimiento/desactivación al estado fundamental (*deactivation*); **CS**: separación de cargas (*charge separation*); **CR**: recombinación de carga (*charge recombination*).
[560] Jolliffe, K. A.; Langford, S. J.; Ranasinghe, M. G.; Shephard, M. J.; Paddon-Row, M. N. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 1238-1246.

La superficie de energía para un proceso de separación de cargas se representa convenientemente por una coordenada de reacción unidimensional, en la cual se describen los cambios en la geometría del sistema D-A (Figura 142). Dicho parámetro puede ser referido en términos de dos superficies diabáticas; una de ellas representa la configuración electrónica del reactivo (D-A), mientras que la otra simboliza la configuración electrónica del producto obtenido (D^+-A^-). En la región donde ambas superficies diabáticas se interceptan, las dos configuraciones se mezclan — permitidas por simetría —, dando lugar a un evidente cruzamiento.[561] La magnitud de dicho cruzamiento está determinada por $2V_{el}$, siendo V_{el} el término de acoplamiento electrónico entre los estados inicial y final, el cual se puede considerar una medida de la fuerza de intersección entre los orbitales de la molécula dadora (D) y aceptora (A). En el caso particular de procesos de transferencia electrónica a larga distancia, el valor de V_{el} resulta ser generalmente muy pequeño (< 1.5 kJ·mol-1) y la transferencia electrónica ocurre adiabáticamente.

La velocidad de transferencia electrónica (k_{ET}) — dentro del contexto de la teoría clásica de Marcus-Hush[562] — viene dada por la ecuación 7,[477,563]

$$k_{ET} = \frac{2\pi|V_{el}|^2}{h}\left[\frac{1}{4\pi\lambda k_B T}\right]^{1/2} \exp\left(\frac{-\{\Delta G^0_{CS} + \lambda\}^2}{4\lambda k_B T}\right) \qquad \text{(Ecuación 7)}$$

siendo λ la energía de reorganización — tanto en la esfera interna como en la externa —,[564] k_B la constante de Boltzmann (igual a 1.3806×10^{-23} $J \cdot K^{-1}$), T la temperatura (en K) y ΔG^0_{CS} el cambio total de la energía libre de Gibbs total para la reacción de transferencia electrónica. Una mejor comprensión de la transferencia electrónica requiere un conocimiento de cómo las magnitudes mencionadas afectan este proceso y su interacción con el medio.

En los sistemas dador-aceptor (D-A), la fotoexcitación de una molécula promueve un electrón desde un orbital enlazante o no enlazante de menor energía hasta un orbital antienlazante de mayor energía (Figura 143). La molécula en estado excitado muestra propiedades redox muy diferentes de las que exhibe en el estado fundamental. Dicha especie excitada adquiere un carácter más electrodador — posee un potencial de oxidación menos positivo —, debido a la presencia de un electrón desapareado en un orbital de alta energía. A su vez, la misma molécula también es un buen electroaceptor — posee un potencial de reducción menos negativo —, debido a la vacante en un orbital enlazante de baja energía. Como resultado de ello, las moléculas fotoexcitadas pueden generar fenómenos de transferencia electrónica con otras moléculas electroactivas en el estado fundamental que tengan un HOMO de más alta energía.[565]

---

[561] Frecuentemente, dos estados electrónicos de Born-Oppenheimer [A y B (en nuestro caso particular, D-A y D^+-A^-, respectivamente) cambian su orden de energía a medida que la geometría molecular (X) cambia continuamente a lo largo de un camino. Durante este proceso sus energías pueden llegar a ser iguales en algunos puntos (se dice que las superficies se cruzan; líneas discontinuas en la figura 142) o relativamente próximas (el cruce de superficies se evita; **cruce evitado**). Si los estados electrónicos son de la misma simetría, el cruce de superficies de superficies de energía de potencial se evita siempre en las especies diatómicas y raramente en las poliatómicas.

[562] La teoría de Marcus-Hush — basada en la ecuación de Arrhenius — sirve para explicar la tasa de transferencia electrónica en reacciones químicas, tanto de esfera externa — en las que dos especies químicas no están enlazadas directamente — como de esfera interna — en las que dos especies químicas están unidas por un puente químico.

[563] a) Hush, N. S. *Trans. Faraday Soc.* **1961***, 57*, 557-580. b) Marcus, R. A. *Discuss. Faraday Soc.* **1960***, 29*, 21-31. c) Marcus, R. A. *J. Chem. Phys.* **1956***, 116,* 979-989.

[564] La energía de reorganización se define como la energía que se requiere para "reorganizar" la estructura del sistema desde las coordenadas iniciales a las finales, sin cambiar el estado electrónico.

[565] Kavarnos, G. J. *Top. Curr. Chem.* **1991***, 156*, 21-58.

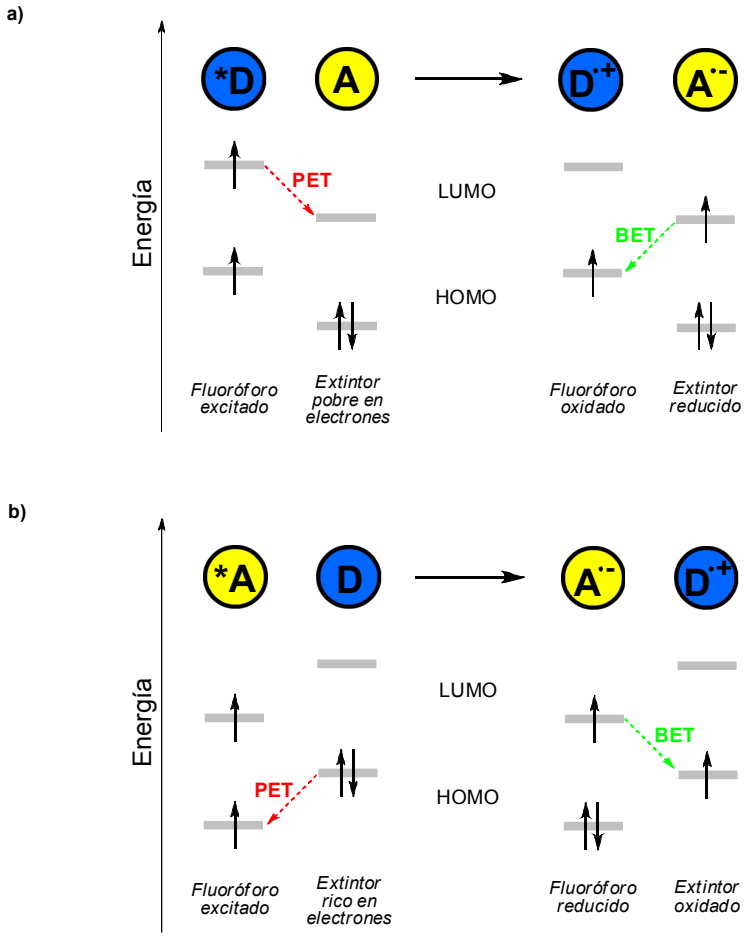


Figura 143. Generación de pares ión-radical mediante transferencia electrónica fotoinducida (PET). **a)** Transferencia de electrones oxidativa. **b)** Transferencia de electrones reductiva. También se indica para cada caso el proceso de retrotransferencia electrónica [BET (*back electron transfer*) — reacción térmica inversa del estado excitado de la transferencia electrónica —, que permite restaurar los niveles de oxidación originales (estado fundamental) de las moléculas aceptora (A) y dadora (D).

Los sistemas moleculares de tipo D-B-A constituyen excelentes modelos para estudiar la correlación entre la estructura y las propiedades de transporte de carga de distintas nanoestructuras supramoleculares. Sin embargo, su aplicación al estudio de los nanotubos ciclopeptídicos continúa siendo realmente escasa. Como hemos mencionado en capítulos anteriores de esta memoria doctoral, los grupos de investigación de Takeda,[129] Ghadiri[80,132] y Kimura[133] (Figura 28 y 29) han demostrado que el ordenamiento supramolecular resultante de las interacciones de enlace de hidrógeno que tienen lugar entre los distintos anillos ciclopeptídicos favorece la preparación y el desarrollo de novedosos biomateriales con alta conductividad electrónica. Desafortunadamente, los estudios se centraron primordialmente en el diseño y fabricación de dispositivos electrónicos y/o ópticos, por lo que no se ha llevado a cabo un análisis exhaustivo de los correspondientes sistemas artificiales sintetizados.

17. SISTEMAS α,γ-CICLOPEPTÍDICOS DE TRANSFERENCIA DE ELECTRONES

Dentro del campo de los nanobiomateriales, uno de los objetivos más activamente perseguido es el diseño apropiado de transferidores de electrones altamente eficientes y direccionales que actúen como miméticos de los sistemas fotosintéticos de plantas y bacterias.[276] En principio, los nanotubos ciclopeptídicos autoensamblantes que presenten una matriz adecuada de unidades foto- y electroactivas podrían lograr fácilmente dicho objetivo. De este modo, la organización estructural resultante del autoensamblaje ciclopeptídico permitiría una óptima proximidad espacial entre las unidades aceptoras y dadoras de electrones, conllevando así una eficiente transferencia electrónica. Basándonos en dichos principios, esperamos lograr resultados análogos mediante la construcción de ensamblajes sintéticos α,γ-ciclopeptídicos que sean capaces de formar selectivamente especies heterodiméricas. Es por ello que nos planteamos como objetivo principal la fabricación controlada de nanobiomateriales híbridos dador/aceptor heterodiméricos transferidores de electrones a través de la autoorganización de unidades α,γ-ciclopeptídicas.

17.1. DISEÑO Y SÍNTESIS

En el desarrollo de modelos fotosintéticos artificiales, los fullerenos — especialmente el [60]fullereno (Buckminsterfullereno, C_{60})[566] — están aportando excelentes resultados debido fundamentalmente a sus excepcionales propiedades foto- y electroquímicas.[567] Las características que convierten al C_{60} en un candidato ideal para llevar a cabo el estudio de procesos de transferencia electrónica fotoinducida con generación de estados con separación de cargas de tiempos de vida largos son las siguientes:

- La sencilla funcionalización que presenta la unidad de [60]fullereno, lo que permite llevar a cabo la introducción de manera covalente de todo tipo de grupos funcionales (Figura 144a).[568]
- La baja energía de reorganización (λ) que exhibe la unidad [60]fullerénica;[569] en el anión radical $C_{60}^{\bullet-}$ la carga se deslocaliza sobre la esfera de carbono tridimensional

[566] Kroto, H. W.; Heath, J. R.; O'Brien, S. C.; Curl, R. F.; Smalley, R. E. *Nature*, **1985**, *318*, 162-163.
[567] a) Guldi, D. M.; Illescas, B. M.; Atienza, C. M.; Wielopolski, M.; Martín, N. *Chem. Soc. Rev.* **2009**, *38*, 1587-1597. b) *Fullerenes: principles and applications [RSC Nanoscience and Nanotechnology]*; Eds. F. Langa, J.-F. Nierengarten; RSC Publishing: Cambridge (Reino Unido), **2007**. c) *Fullerenes: from synthesis to optoelectronic properties*; Eds. D. M. Guldi, N. Martín, N.; Kluwer Academic Publishers: Dordrecht (Holanda), **2002**. d) *Fullerenes: chemistry, physics, and technology*, Eds. K. M. Kadish, R. S. Ruoff; John Wiley & Sons, Inc.: New York (Estados Unidos), **2000**. e) Echegoyen, L.; Echegoyen, L. E. *Acc. Chem. Res.* **1998**, *31*, 593-601. f) Prato, M. *J. Mater. Chem.* **1997**, *7*, 1097-1109.
[568] Para reacciones de adición a C_{60}, ver: a) Zhang, G.; Liu, Y.; Liang, D.; Gan, L.; Li, Y. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 5293-5295. b) Filippone, S.; Izquierdo Barroso, M.; Martín-Domenech, A.; Osuna, S.; Solà, M.; Martín, N. *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 5198- 5206. c) Martín, N.; M. Altable, M.; Filippone, S.; Martín-Domenech, A.; Echegoyen, L.; Cardona, C. M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 110-114. d) Hirsch, A.; Brettreich. M. *Fullerenes: chemistry and reactions*; Wiley-VCH: Weinheim (Alemania), **2005**. e) Illescas, B. M.; Martín, N.; Seoane,C.; Ortí, E.; Viruela, P. M.; de la Hoz, A. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 7585-7591. f) Knight, B.; Martín, N.; Ohno, T.; Ortí, E.; Rovira, C.; Veciana, J.; Vidal-Gancedo, J.; Viruela, P.; Viruela, R.; Wudl, F. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 9871-9882. g) Maggini, M.; Scorrano, G.; Prato, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 9798-9799. h) Bingel, C. *Chem Ber.* **1993**, *126*, 1957-1959. i) Suzuki, T.; Li, Q.; Khemani, K. C.; Wudl, F.; Almarsson, O. *Science* **1991**, *254*. 1186-1188.
[569] Imahori, H.; Fukuzumi, S. *Adv. Funct. Mater.* **2004**, *14*, 525-536.

del C_{60} y la densidad de carga en cada carbono es muy baja, lo que contribuye a acelerar la separación de cargas y retardar la recombinación de las mismas.[570]

- La facilidad del C_{60} para aceptar 6 electrones (siendo la primera onda de reducción similar a la de benzo- y naftoquinonas) y la posibilidad de formar multianiones estables con aplicación en sistemas multicomponente (Figura 144b,c).[571]

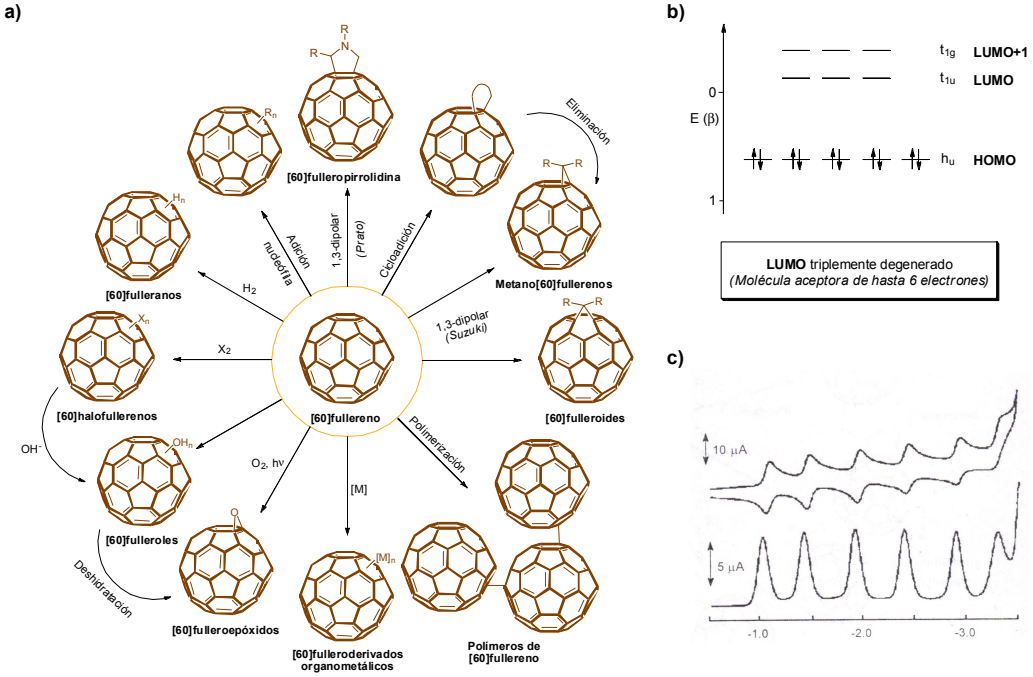


Figura 144. a) Reacciones de adición a C_{60}. **b)** Diagrama de orbitales moleculares de C_{60}, en el que se muestra como la unidad [60]fullereno posee un LUMO triplemente degenerado, lo que la convierte en una molécula con capacidad para aceptar hasta 6 electrones. **c)** Voltamperograma cíclico *(arriba)* y de pulso diferencial *(abajo)* de C_{60} en THF a -10 ºC, en el que se observan las seis ondas de reducción correspondientes a la formación de especies catión radical hasta hexaanión.

Todas estas características hacen del C_{60} un excelente candidato para llevar a cabo el análisis exhaustivo de los procesos de transferencia electrónica fotoinducida, tanto inter- como intramoleculares.[567c] De este modo, su utilización como unidad aceptora de electrones en la construcción de ensamblajes supramoleculares funcionales presenta una especial relevancia.[572]

[570] a) Imahori, H.; Tamaki, K.; Yamada, H.; Sakata, Y.; Nishimura, Y.; Yamazaki, I.; Fujitsuka, M.; Ito, O. *Carbon* **2000**, *38*, 1599-1605. b) Guldi, D. M.; Asmus, K.-D. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 5744-5745. c) Imahori, H.; Hagiwara, K.; Akiyama, T.; Akoi, M.; Taniguchi, S.; Okada, T.; Shirakawa, M.; Sakata, Y. *Chem. Phys. Lett.* **1996**, *263*, 545-550.

[571] a) Carano, M.; Da Ros, T.; Fanti, M.; Kordatos, K.; Marcaccio, M.; Paolucci, F.; Prato, M.; Roffia, S.; Zerbetto, F. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 7139-7144. b) Arias, F.; Xie, Q.; Wu, Y.; Lu, Q.; Wilson, R. R.; Echegoyen, L. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 6388-6394. c) Xie, Q.; Pérez-Cordero, E.; Echegoyen, L. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 3978-3980. d) Allemand, P. M.; Koch, A.; Wudl, F.; Rubin, Y.; Diederich, F.; Alvarez, M. M.; Anz, S. J.; Whetten, R. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 1050-1051. e) Haufler, R. E.; Conceicao, J.; Chibante, L. P. F.; Chai, Y.; Byrne, N. E.; Flanagan, S. ; Haley, M. M.; O'Brien, S. C.; Pan, C.; Xiao, Z.; Billups, W. W.; Ciufolini, M. A.; Hauge, R. H.; Margrave, J. L.; Wilson, L. J.; Curl, R. F.; Smalley, R. E. *J. Phys. Chem.* **1990**, *94*, 8634-8636.

[572] Para aplicaciones de C_{60}, ver: a) Bredas, J.-L.; Durrant, J. R. *Acc. Chem. Res.* **2009**, *42*, 1689-1690. b) Bakry, R.; Vallant, R. M.; Najam-ul-Haq, M.; Rainer, M.; Szabo, Z.; Huck, C. W.; Bonn, G. K. *Int. J. Nanomed.* **2007**, *2*, 639-649. c) Even, M.; Heinrich, B.; Guillon, D.; Guldi, D. M.; Prato, M.; Deschenax, R. *Chem. Eur. J.* **2001**, *7*, 2595-2604. d) Martín, N.; Sánchez, L.; Illescas, B.; Pérez, I. *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 2527-2548.

En cuanto a los fragmentos dadores de electrones, durante las últimas décadas se han descrito numerosos ejemplos empleando porfirinas,[573] carotenoides,[574] complejos de metales de transición,[575] derivados de anilina,[576] ftalocianinas,[577] sistemas π-conjugados[578] y tetratiafulvalenos[579] (Figura 145). Dentro de dichas unidades electrodadoras cabe destacar

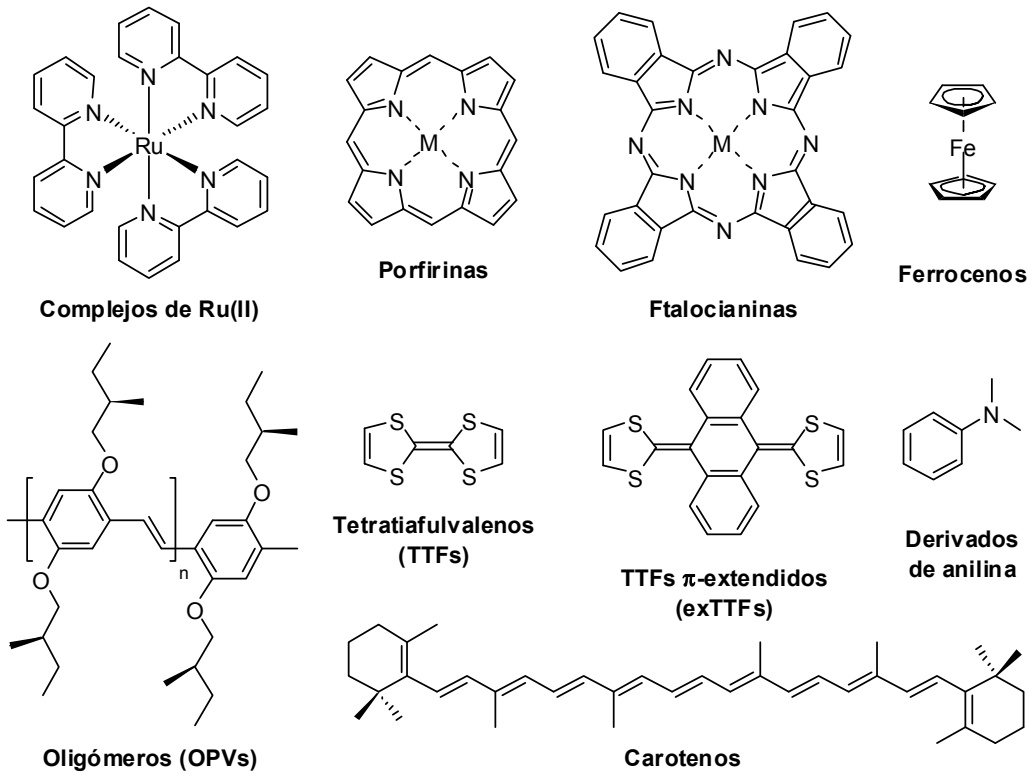


Figura 145. Unidades electrodadoras empleadas habitualmente para la construcción de díadas dador/aceptor (C_{60}).

[573] a) Sasabe, H.; Kihara, N.; Furush, Y.; Mizuno, K.; Ogawa, A.; Takata, T. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 3957-3960. b) Imahori, H. *J. Phys. Chem. B* **2004**, *108*, 6130-6141. c) Guldi, D. M. *Chem. Soc. Rev.* **2002**, *31*, 22-36. d) Guldi, D. M.; Luo, C.; Prato, M.; Troisi, A.; Zerbeto, F.; Scheloske, M.; Dietel, E.; Bauer, W.; Hirsch, A. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 9166-9167. e) Guldi, D. M.; Luo, C.; Da Ros, T.; Prato, M.; Dietel, E.; Hirsch, A. *Chem. Commun.* **2000**, *5*, 375-376. f) Nierengarten J.-F.; Schall, C.; Nicoud, J. F.; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 1934-1936.

[574] a) Smirnov, S.; Liddell, P. A.; Vlassiouk, I. V.; Teslja, A.; Kuciauskas, D.; Braun, C. L.; Moore, A. L.; Moore, T. A.; Gust, D. *J. Phys. Chem. A* **2003**, *107*, 7567-7573. b) Imahori, H.; Cardoso, S.; Tatman, D.; Lin, S.; Noss, L.; Seely, G. R.; Sereno, L.; de Silber, J. C.; Moore, T. A.; Gust, D. *Photochem. Photobiol.* **1995**, *62*, 1009-1014.

[575] a) Fujitsuka, M.; Tsuboya, N.; Hamasaki, R.; Ito, M.; Onodera, S.; Ito, O.; Yamamoto, Y. *J. Phys. Chem. A* **2003**, *107*, 1452-1458. b) Nierengarten, J.-F.; Armaroli, N.; Accorsi, G.; Rio, Y.; Eckert, J.-F. *Chem. Eur. J.* **2001**, *9*, 36-41. c) Langa, F.; de la Cruz, P.; Espildora, E.; González-Cortés, A.; de la Hoz, A.; López-Arza, V. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 8675-8684. d) Luo, C.; Guldi, D. M.; Maggini, M.; Mena, E.; Mondini, S.; Kotov, N. A.; Prato, M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 3905-3909. e) Armspach, D.; Constable, E. C.; Diederich, F.; Housecroft, C. E.; Nierengarten, J.-F. *Chem. Eur. J.* **1998**, *4*, 723-733. f) Guldi, D. M.; Maggini, M.; Scorrano, G.; Prato, M. *Res. Chem. Intermed.* **1997**, *23*, 561-573.

[576] Thomas, K. G.; Biju, V.; Guldi, D. M.; Kamat, P. V.; George, M. V. *J. Phys. Chem. B* **1999**, *103*, 8864-8869.

[577] a) Van Hal, P. A.; Meskers, S. C. J.; Janssen, R. A. J. *Appl. Phys. A.* **2004**, *79*, 41-46. b) Yamanaka, K.; Fujitsuka, M.; Araki, Y.; Ito, O.; Aoshima, T.; Fukushima, T.; Miyashi, T. *J. Phys. Chem. A* **2004**, *108*, 250-256. c) Loi, M. A.; Denk, P.; Hoppe, H.; Neugebauer, H.; Winder, C.; Meissner, D.; Brabec, C.; Saricifti, N. S.; Gouloumis, A.; Vázquez, P.; Torres, T. *J. Mater. Chem.* **2003**, *13*, 700-704. d) González-Rodríguez, D.; Torres, T.; Guldi, D. M.; Rivera, J.; Echegoyen, L. *Org. Lett.* **2002**, *4*, 335-338. d) Gouloumis, A.; Liu, S.-G.; Sastre, A.; Vázquez, P.; Echegoyen, L.; Torres, T. *Chem. Eur. J.* **2000**, *6*, 3600-3607.

[578] Segura, J. L..; Martín, N.; Guldi, D. M. *Chem. Soc. Rev.* **2005**, *34*, 31-47.

[579] a) S. González, S.; Martín, N.; Swartz, A.; Guldi, D. M. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 557-560. b) Martín, N.; Sánchez, L.; Guldi, D. M. *Chem. Commun.* **2000**, *1*, 113-114. c) Guldi, D. M.; González, S.; Martín, N.; Antón, A.; Garín, J.; Orduna, J. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 1978-1983. d) Martín, N.; Sánchez, L.; Herranz, M. A.; Guldi, D. M. *J. Phys. Chem. A* **2000**, *104*, 4648-4657. e) Llacay, J.; Veciana, J.; Vidal-Gancedo, J.; Bourdelande, J. L.; González-Moreno, R.; Rovira, C. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 5201-5210. f) Martín, N.; Pérez, I.; Sánchez, L.; Seoane, C. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 5690-5695.

especialmente el caso de las porfirinas,[580] las cuales representan un claro modelo de bloques sintéticos versátiles para la captura de la luz. Las extensas e intensas absorciones (fundamentalmente las transiciones π-π*) que presentan los derivados porfirínicos son idóneas para aumentar el rango de absorciones eficaces, logrando así un mejor aprovechamiento del espectro solar. Además, sus propiedades en el estado excitado pueden ser moduladas variando tanto el metal central como los sustituyentes en las posiciones periféricas β y meso.[581]

Durante los últimos años, numerosos grupos de investigación han empleado la unidad de tetratiafulvaleno (TTF) y sus derivados como bloques de construcción molecular en estructuras complejas para la preparación de materiales con propiedades no convencionales.[582]

El TTF es un sistema no aromático que posee 14 electrones π, en el que la oxidación al catión radical y al dicatión ocurre de forma secuencial y reversible a potenciales relativamente bajos ($E^1_{1/2}$ = 0.37 V; $E^2_{1/2}$ = 0.67 V; *vs* SCE en CH_2Cl_2) (Figura 146). Al contrario que el TTF neutro, el catión radical y el dicatión son especies termodinámicamente estables con carácter aromático en el sentido de Hückel, como resultado de los electrones π heteroaromáticos del catión 1,3-ditiolio resultante.

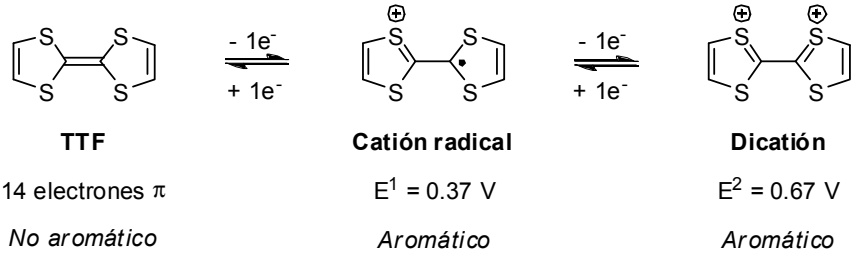


Figura 146. Oxidación secuencial y reversible del TTF.

Cabe destacar que la molécula de TTF neutra posee una estructura ligeramente desviada de la planaridad con simetría C_{2v} resultante del plegamiento de ambos anillos de ditiol a lo largo de sus ejes S•••S (Figura 147). El HOMO se localiza fundamentalmente en el doble enlace central, con una energía de -6.81 eV que pone de manifiesto la gran capacidad electrodadora del TTF.

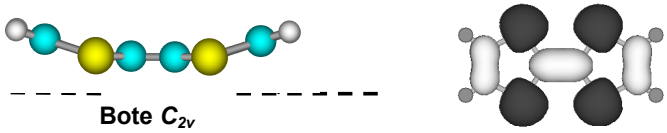
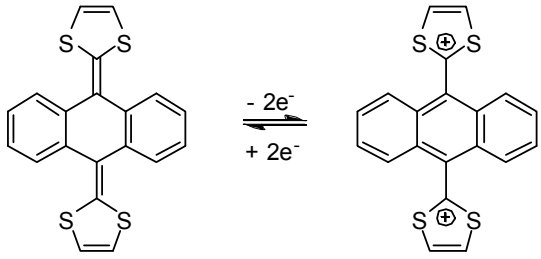


Figura 147. Estructura molecular y electrónica del TTF.

[580] Las porfirinas son estructuras presentes en la naturaleza que desempeñan un papel fundamental en el metabolismo de los seres vivos (Vitamina B_{12}, hemoglobina, clorofila,...). Para más información, ver: a) *The porphyrin handbook [Vol. 11-20]*: Eds. K. Kadish, K. M. Smith, R. Guilard; Academic Press: New York (Estados Unidos), **2003**. b) *The porphyrin handbook [Vol. 1-10]*: Eds. K. Kadish, K. M. Smith, R. Guilard; Academic Press: New York (Estados Unidos), **1999**.
[581] a) Imahori, H.; Tkachenko, N. V.: Vehmanen, V.; Tamaki, K.: Lemmetyinen, H.: Sakata, Y.; Fukuzumi, S. J. *Phys. Chem. A* **2001**, *105*, 1750-1756. b) Tkachenko, N. V.; Guenther, V.; Imahori, H.; Tamaki, K.; Sakata, Y.; Fukuzumi, S.; Lemmetyinen, H. *Chem. Phys. Lett.* **2000**, *326*, 344-350.
[582] Bendikov, M.; Wudl, F.; Perepichka, D. F.; *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 4891-4945.

Una forma de disminuir la repulsión coulómbica intramolecular en el estado dicatiónico consiste en la introducción de un espaciador de antraceno entre las unidades de 1,3-ditiol (Figura 148).[583] Así, el TTF π-extendido (exTTF) muestra en su voltamperograma cíclico una única onda de oxidación cuasi-reversible a E_{ox}= 0.45 V que involucra a dos electrones.



exTTF — 14 electrones π — *No aromático*

Dicatión — E = 0.45 V — *Aromático*

Figura 148. Oxidación del TTF π-extendido y formación del correspondiente dicatión.

Una de las características del TTF π-extendido que lo hace especialmente interesante para su estudio en procesos de transferencia electrónica fotoinducida es que la generación del correspondiente dicatión lleva asociada un aumento en la planaridad y aromaticidad del sistema tetratiafulvalénico, logrando así una adecuada estabilización de la especie cargada (Figura 149a). Del mismo modo, cabe destacar que la molécula de exTTF neutra presenta una

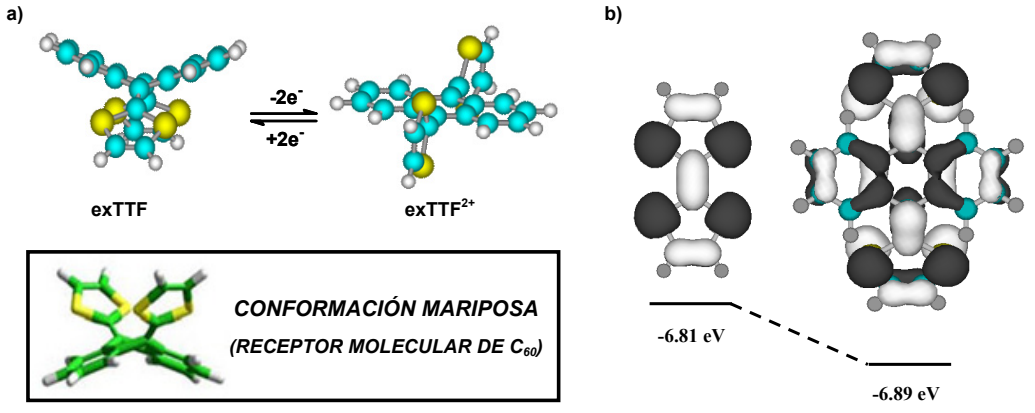


Figura 149. Estructura molecular y electrónica del TTF π-extendido (exTTF). **a)** Cambio de geometría que tiene lugar al producirse la oxidación del exTTF. De modo resaltado se muestra la conformación tipo mariposa que presenta la molécula de exTTF, la cual facilita su aplicación como receptor molecular de fullerenos. **b)** Estudio comparativo de energías entre las moléculas de TTF y exTTF, en el que se observa la mayor estabilización que se produce en el HOMO como consecuencia de la introducción del sistema π-conjugado antraceno entre las dos unidades de ditiol.

[583] a) Bryce, M. R.; Moore, A. J.; Hasan, M.; Ashwell, G. J.; Fraser, A. T.; Clegg, W.; Hursthouse, M. B.; Karaulov, A. I. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1990**, *29*, 1450-1452. b) Yamashita, Y.; Kobayashi, Y.; Miyashi, T. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1989**, *28*, 1052-1053.

conformación tipo mariposa (estructura cóncava), la cual permite su adecuada interacción con la superficie convexa característica de los fullerenos. Por otra parte, en la figura 149b se muestra la evolución de la estructura del TTF y el TTF π-extendido, resaltando la estabilización que tiene lugar en el HOMO — la energía de este nivel pasa de -6.81 a -6.89 eV — tras la introducción del sistema π-conjugado entre las dos unidades de 1,3-ditiol.

La superficie convexa de los fullerenos resulta estar particularmente bien adaptada para su reconocimiento molecular por parte de fragmentos conjugados cóncavos.[584] Como hemos observado anteriormente, la excelente complementariedad entre la cara cóncava aromática de los derivados π-extendidos de tetratiafulvaleno y la superficie exterior convexa de los fullerenos debe dar lugar a interacciones atractivas no covalentes. Durante la última década, el grupo de investigación de Martín ha desarrollado una serie de receptores moleculares electroactivos para fullerenos basados en unidades de exTTF (Figura 150).[585] Dichos anfitriones (*hosts*) se prepararon inicialmente empleando diseños sencillos tipo pinzas (*tweezers*),[586] mostrando constantes de unión del orden de log K_a = 3.5 en clorobenceno a temperatura ambiente.[587] La posterior modificación de dicho modelo tipo pinzas ha permitido la construcción de numerosas nanoestructuras autoensamblantes dador/receptor, tales como polímeros supramoleculares lineales[588] e hiperramificados[589] y/o grandes dendrímeros covalentes (hasta cuarta generación) capaces de asociar varias unidades de C_{60}.[590] Basándose

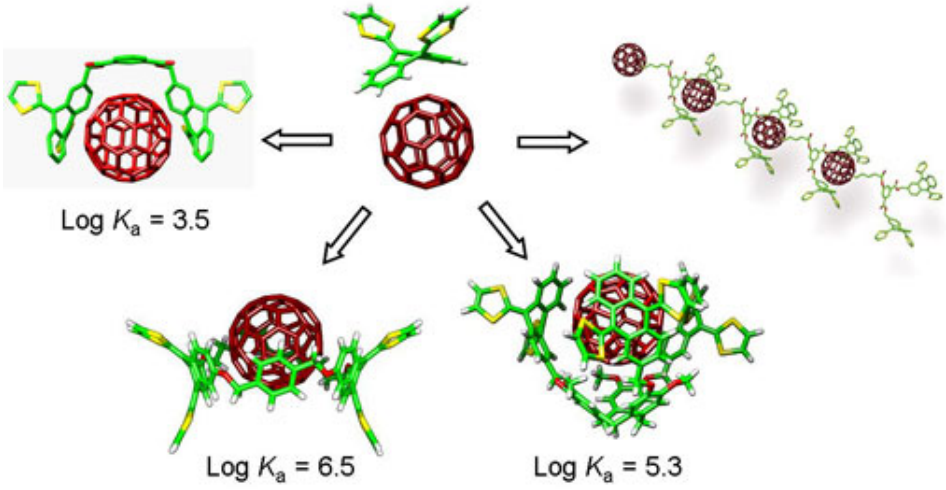


Figura 150. Receptores moleculares de C_{60} basados en exTTF, mostrando sus constantes de unión en clorobenceno a temperatura ambiente. También se incluye un polímero supramolecular lineal cabeza-cola (*derecha*) como ejemplo de arquitecturas autoensamblantes basadas en interacciones exTTF-fullereno.

[584] a) Pérez, E. M.; Martín, N. *Chem. Soc. Rev.* **2008**, *37*, 1512-1519. b) Kawase, T.; Kurata, H. *Chem. Rev.* **2006**, *106*, 5250-5273.
[585] a) Fernández, G.; Sánchez, L.; Martín, N. "Supramolecular receptors of fullerenes". En *Ideas in Chemistry and Molecular Sciences: Advances in Nanotechnology, Materials and Devices*; Ed. Bruno Pignataro; Wiley-VCH: Weinheim (Alemania), **2010**, 65-92. b) Pérez, E. M.; Illescas, B. M.; Herranz, M. A.; Martín, N. *New J. Chem.* **2009**, *33*, 228-234.
[586] Pérez, E. M.; Martín, N. *Pure Appl. Chem.* **2010**, *82*, 523-533.
[587] a) Gayathri, S. S.; Wielopolski, M.; Pérez, E. M.; Fernández, G.; Sánchez, L.; Viruela, R.; Ortí, E.; Guldi, D. M.; Martín, N. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 815-819. b) Pérez, E. M.; Capodilupo, A. L.; Fernández, G.; Sánchez, L.; Viruela, P. M.; Viruela, R.; Ortí, E.; Bietti, M.; Martín, N. *Chem. Commun.* **2008**, *38*, 4567-4569. c) Pérez, E. M.; Sánchez, L.; Fernández, G.; Martín, N. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 7172-7173.
[588] Fernández, G.; Pérez, E. M.; Sánchez, L.; Martín, N. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 1094-1097.
[589] Fernández, G.; Pérez, E. M.; Sánchez, L.; Martín, N. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 2410-2411.
[590] Fernández, G.; Sánchez, L.; Pérez, E. M.; Martín, N. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 10674-10683.

en el mismo motivo de reconocimiento, el grupo de Martín ha podido desarrollar recientemente algunos de los mejores receptores moleculares de fullerenos descritos hasta la fecha (Figura 150). Así, han preparado arquitecturas macrocíclicas decoradas con dos unidades de exTTF (constantes de unión a C_{60} a temperatura ambiente del orden de: log K_a = 6.5 en clorobenceno, y log K_a = 7.5 en benzonitrilo)[591] y nanoestructuras supramoleculares constituidas por tres unidades de exTTF covalentemente conectadas a una funcionalidad ciclotriveratrileno (CTV) que actúa como fragmento preorganizador (constantes de unión a C_{60} a temperatura ambiente y en clorobenceno del orden de log K_a = 5.3; constantes de unión a C_{70} a temperatura ambiente y en clorobenceno del orden de log K_a = 6.3).[592] Finalmente, cabe destacar que la utilización del principio de complementariedad cóncavo-convexo (C_{60}-exTTF) y la búsqueda de óptimos fragmentos electrodadores — que muestren buenas propiedades electrodadoras, que absorban luz eficientemente (preferiblemente en la región visible del espectro) y que se autoensamblen de forma controlada — ha permitido el diseño y síntesis de nuevas familias de receptores moleculares fullerénicos derivados de exTTF, entre las que destaca fundamentalmente la de los truxeno-tetratiafulvalenos (truxTTFs).[593,594]

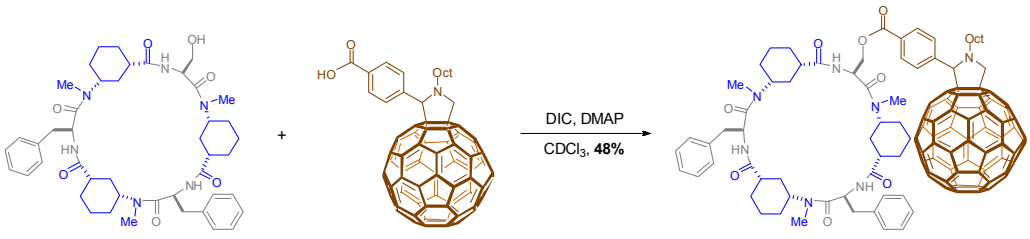
Como hemos mencionado con anterioridad, la utilización de unidades electrodadoras basadas en tetratiafulvalenos y de unidades electroaceptoras fullerénicas ha permitido sintetizar una gran colección de díadas y tríadas dador/aceptor unidas covalentemente.[507,513] Los estudios pioneros de Sessler[595] y Therien[596] demostraron que la comunicación electrónica (transferencia electrónica) a través de enlaces de hidrógeno era mucho más eficiente que la que tenía lugar en las redes de enlace σ o π. Es por ello que durante los últimos años ha adquirido especial relevancia la preparación de díadas y tríadas a través de interacciones moleculares débiles tales como enlaces de hidrógeno, interacciones π-π, complejaciones mediadas por metales y/o interacciones electrostáticas.[531,543,597] Todas ellas garantizan la organización de los sistemas dador y aceptor en arquitecturas predeterminadas de tamaño controlado, con elevada direccionalidad y selectividad. Además, otra ventaja que presenta esta metodología biomimética, es que las interacciones presentes son reversibles y — a diferencia de los enlaces covalentes — las energías de enlace dependen mucho del entorno químico y de la temperatura.[598]. Este hecho ha permitido la preparación de una gran colección de díadas supramoleculares dador/aceptor (TTF/C_{60}) termodinámicamente estables.[531] En estos sistemas se produce la formación de pares radicales que exhiben tiempos de vida en la escala de tiempos del nanosegundo, involucrando procesos de transferencia electrónica fotoinducida que ocurren principalmente mediante interacciones a través del espacio. De este modo, las estructuras resultantes pueden actuar como excelentes fotosistemas artificiales, dispositivos fotovoltaicos y/o módulos optoelectrónicos.

---

[591] Isla, H.; Gallego, M.; Pérez E. M.; Viruela, R.; Ortí, E.; Martín, N. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 1772-1773.
[592] Huerta, E.; Isla, H.; Pérez, E. M.; Bo, C.; Martín, N.; de Mendoza, J. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 5351-5353.
[593] El truxTTF está constituido por tres unidades ditiol conectadas a un centro truxeno. Para acomodar los dithioles, la funcionalidad truxeno rompe su estructura plana y adopta una geometría tipo esfera todo-*cis* con los tres anillos ditiol sobresaliendo hacia fuera. La configuración en forma de recipiente cóncavo adoptada por el núcleo de truxeno refleja perfectamente la superficie convexa de los fullerenos, lo que sugiere que las interacciones de van der Waals y las π-π cóncavo-convexo que tienen lugar entre ambas funcionalidades deben ser maximizadas.
[594] Las constantes de unión de truxTTF a C_{60} y C_{70} se determinaron mediante valoraciones en H^1 RMN, obteniendo valores de log Ka de 3.1 y 3.9, respectivamente. Para más información, ver: Canevet, D.; Gallego, M.; Isla, H.; de Juan, A.; Pérez, E. M.; Martín, N. *J. Am Chem. Soc.* **2011**, *133*, 3184-3190.
[595] Sessler, J. L.; Wang, B.; Harriman, A. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 10418-10419.
[596] De Rege, P. J. F.; Williams, S. A.; Therien, M. J. *Science* **1995**, *269*, 1409-1413.
[597] a) D'Souza; F.; Ito, O. *Chem. Commun.* **2009**, 4913-4928. b) Sánchez, L.; Maria Sierra, M.; Martín, N.; Myles, A. J.; Dale, T. J.; Rebek, J. Jr.; Seitz, W.; Guldi, D. M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 4637-4641.
[598] a) Guldi, D. M.; Martín, N. *J. Mater. Chem.* **2002**, *12,* 1978-1992. b) *Nanoparticles and Nanostructured Films*; Ed. J. H. Fendler; Wiley-VCH: Weinheim (Alemania), **1998**.

Teniendo en cuenta las consideraciones previas, nuestro objetivo fundamental fue llevar a cabo el estudio exhaustivo de sistemas supramoleculares regulados por procesos de homo- y heterodimerización que involucran unidades α,γ-ciclohexapeptídicas constituidas por funcionalidades fullereno C_{60} (FullPirr[599] o PCBA) y tetratiafulvaleno (TTF o exTTF).[600]

En primer lugar, se llevó a cabo la preparación del α,γ(Ach)-ciclohexaderivado *ciclo*{[*L*-Phe-*D*-^{Me}N-γ-Ach]$_2$-*L*-Ser(Fulleropirrolidina)-*D*-^{Me}N-γ-Ach-} (**44**) mediante acoplamiento del macrociclo desprotegido **38** con FullPirr-CO_2H (**43**)[601,602] en presencia de DIC/DMAP (Esquema 12). El ciclohexapéptido aceptor obtenido se autoensambla para dar lugar al



Esquema 12. Síntesis del α,γ-ciclohexapéptido *ciclo*{[*L*-Phe-*D*-^{Me}N-γ-Ach]$_2$-*L*-Ser(Fulleropirrolidina)-*D*-^{Me}N-γ-Ach-} (**44**).

correspondiente homodímero (**D$_{44}$**) en disolventes no polares con valores de K_a superiores a 10^5 M^{-1},[603] por lo que presenta un comportamiento similar al de los α,γ(Acp)- y α,γ(Ach)-ciclohexapéptidos mostrados con anterioridad. Además, la falta de simetría facilita que se puedan formar de nuevo tres homodímeros no equivalentes (isómeros rotacionales), los cuales se diferencian en las interacciones cruzadas que tienen lugar entre las cadenas laterales de las correspondientes subunidades monoméricas. Esta diferencia en la orientación relativa de las cadenas laterales es claramente responsable de la obtención de tres especies bien definidas; un homodímero eclipsado (**D [E]**) en el que los α-aminoácidos Ser(FullPirr) se enfrentan entre sí [Ser(FullPirr)/Ser(FullPirr), Phe_1/Phe_2 y Phe_2/Phe_1] y otros dos homodímeros alternados (**D [A]$_{cw}$** y **D [A]$_{ccw}$**) en el que los α-aminoácidos Ser(FullPirr) no se disponen uno frente a otro (Figura 151).[448] Desafortunadamente, la presencia de un centro estereogénico (*R* o *S*) en el derivado fullerénico **43** implica la cuatriplicidad en el número de las especies. De este modo, se observó como el espectro de ^{1}H RMN de **44** en disolventes no polares exhibía claramente doce conjuntos de señales que corresponden a cada uno de los doce homodímeros, reflejando así las interacciones de hidrógeno tipo lámina β (características de la formación de especies homodiméricas) que tienen lugar entre cada subunidad. Lógicamente, la relativa complejidad del equilibrio es consecuencia de la presencia de los doce

[599] **FullPirr**: Fulleropirrolidina ($^{Pirr}C_{60}$). Para más información, ver: a) Bianco, A.; Da Ros, T.; Prato, M.; Toniolo, C. *J. Pept. Sci.* **2001**, *7*, 208-219. b) Maggini, M; Scorrano, G; Prato, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 9798-9799.
[600] Brea, R. J.; Herranz, M. A.; Sánchez, L.; Castedo, L.; Seitz, W.; Guldi, D: M.; Martín, N.; Granja, J. R. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2007**, *104*, 5291-5294.
[601] Sustrato cedido amablemente por el grupo del Prof. Nazario Martín [Universidad Complutense de Madrid].
[602] Segura, M.; Sánchez, L.; de Mendoza, J.; Martín, N.; Guldi, D. M. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 15093-15100.
[603] El espectro de ^{1}H RMN del ciclohexapéptido **44** en disolventes no polares reflejó las características típicas de la formación de homodímeros (**D$_{44}$**), mostrando valores adecuados de constante de acoplamiento ($J_{NH,\ H\alpha}$) comprendidos entre 8.5-9.5 Hz y desplazamientos químicos (δ) de las señales de los NH en torno a 8.2-8.8 ppm. Cabe resaltar que el valor de la constante de asociación (K_a) para la formación del homodímero **D$_{44}$** debe ser superior a 10^5 M^{-1}, ya que las señales de los NH permanecen invariables, incluso a concentraciones por debajo de 0.1 mM, independientemente de si el disolvente contiene 30% MeOH o si las muestras son calentadas hasta 50º C. Del mismo modo, el espectro de FT-IR en $CHCl_3$ mostró las bandas características de una estructura tipo lámina plegada β antiparalela.

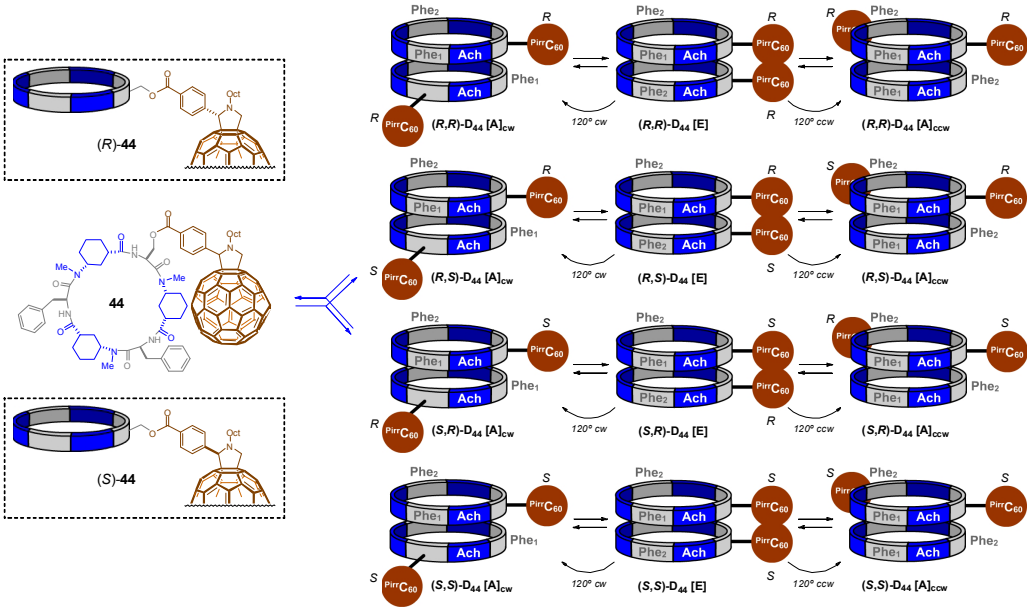
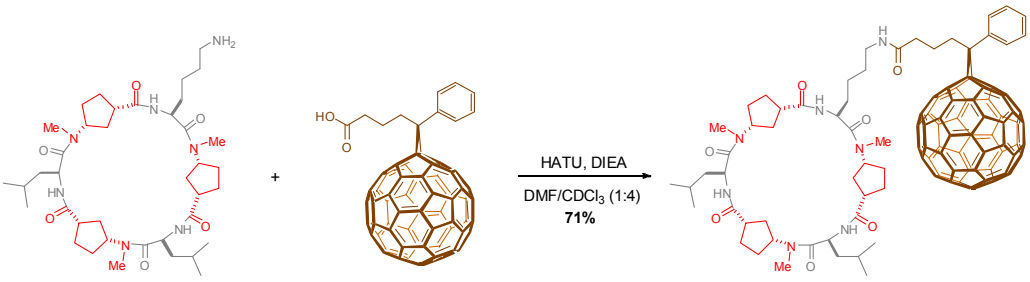


Figura 151. Homodimerización del α,γ(Ach)-ciclohexapéptido *ciclo*{[*L*-Phe-*D*-^{Me}N-γ-Ach]$_2$-*L*-Ser(Fulleropirrolidina)-*D*-^{Me}N-γ-Ach-} (**44**). El autoensamblaje molecular de dicho macrociclo da lugar a la formación de doce especies homodiméricas (diasteroisómeros rotacionales) que se diferencian en el apareamiento entre α-aminoácidos.

diastereoisómeros rotacionales posibles, los cuales están intercambiándose lentamente en la escala de tiempos del RMN. Así, la mezcla homodimérica resulta ser extremadamente compleja como para llevar a cabo su adecuada caracterización mediante espectroscopia de RMN. Es por ello que la utilización de sustratos [60]fullerénicos más sencillos — PCBA en vez de FullPirr — debe facilitar el estudio exhaustivo de los derivados α,γ-ciclohexapeptídicos empleados como aceptores de electrones. De la misma manera, la elección de una cadena lateral más larga — Lys en sustitución de Ser — evitaría cualquier posible problema de repulsiones estéricas entre unidades [60]fullerénicas al producirse el autoensamblaje peptídico.

Decidimos entonces llevar a cabo la preparación del α,γ(Acp)-ciclohexaderivado *ciclo*{[*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp]$_2$-*L*-Lys(PCBA)-*D*-^{Me}N-γ-Acp-} (**46**)[600] mediante acoplamiento del macrociclo desprotegido **41** con PCBA (**45**)[601,604] en presencia de HATU/DIEA (Esquema 13).



41 **PCBA (45)** **46**

Esquema 13. Síntesis del α,γ-ciclohexapéptido *ciclo*{[*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp]$_2$-*L*-Lys(PCBA)-*D*-^{Me}N-γ-Acp-} (**46**).

[604] Hummelen, J. C.; Knight, B. W.; LePeq, F.; Wudl, F.; Yao, J.; Wilkins, C. L. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 532-538.

El ciclohexapéptido aceptor obtenido se autoensambla para dar lugar al correspondiente homodímero (**D_{46}**) en disolventes no polares con valores de K_a superiores a 10^5 M^{-1},[605] por lo que presenta un comportamiento similar al de los α,γ(Acp)- y α,γ(Ach)-ciclohexapéptidos mostrados con anterioridad. De nuevo, la presencia de un eje de simetría C_1 conlleva la formación de tres especies homodiméricas no equivalentes (isómeros rotacionales); un homodímero eclipsado (**D_{46} [E]**) en el que los α-aminoácidos Lys(PCBA) se enfrentan entre sí [Lys(PCBA)/Lys(PCBA), Leu_1/Leu_2 y Leu_2/Leu_1] y otros dos homodímeros alternados (**D_{46} $[A]_{cw}$** y **D_{46} $[A]_{ccw}$**) en el que los α-aminoácidos Lys(PCBA) no se disponen uno frente a otro (Figura 152). El análisis exhaustivo de la mezcla homodimérica mostró que el derivado fullerénico **46** presenta una relación similar entre los tres diastereoisómeros rotacionales posibles (Tabla 11).

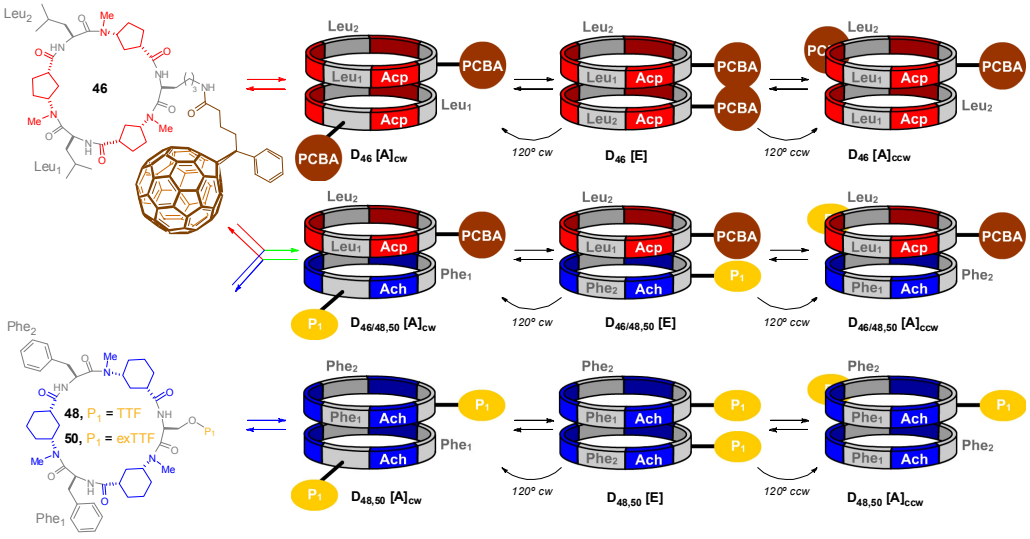


Figura 152. Homo- y heterodimerización de diversos α,γ(Acp)- (**46**) y α,γ(Ach)-ciclohexapéptidos (**48**, **50**). El autoensamblaje molecular de dichos macrociclos da lugar a la formación de tres especies homodiméricas que se diferencian en el apareamiento entre los α-aminoácidos que los componen. Así, en el dímero eclipsado los aminoácidos Ser(P_1) y/o Lys(PCBA) se enfrentan entre sí, mientras que en el caso de los dos dímeros alternados los residuos Ser(P_1) y/o Lys(PCBA) no se disponen uno frente a otro.

A continuación resolvimos complementar adecuadamente la información extraída de los α,γ-ciclopéptidos conteniendo [60]fullereno, para lo cual decidimos emplear una segunda unidad — en este caso particular el tetratiafulvaleno — que puede actuar como dadora de electrones en procesos de transferencia electrónica fotoinducida. La elección de la unidad de TTF como electrodadora se debió fundamentalmente a las óptimas características electrónicas que presenta.[582] Este hecho permite que ambas funcionalidades (C_{60} y TTF) constituyan un eficiente par de PET para el estudio de sistemas híbridos supramoleculares dador/aceptor constituidos por especies heterodiméricas.[507,513,531] Teniendo en cuenta dichas consideraciones,

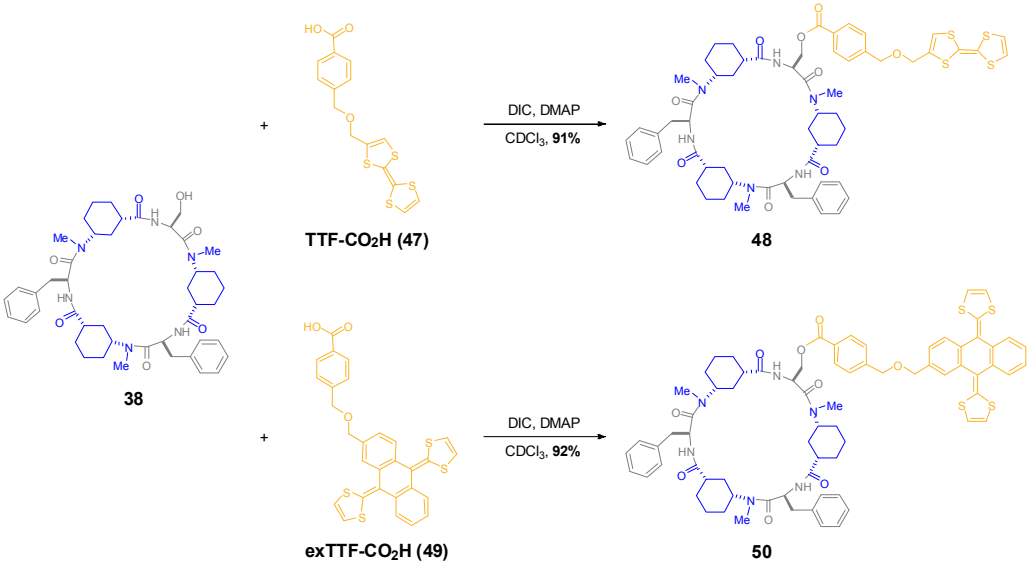
[605] El espectro de ^{1}H RMN del ciclohexapéptido **46** en disolventes no polares reflejó las características típicas de la formación de homodímeros (**D_{44}**), mostrando valores adecuados de constante de acoplamiento ($J_{NH,\ H\alpha}$) comprendidos entre 8.5-9.5 Hz y desplazamientos químicos (δ) de las señales de los NH en torno a 8.3-8.0 ppm. Cabe resaltar que el valor de la constante de asociación (K_a) para la formación del homodímero **D_{44}** debe ser superior a 10^5 M^{-1}, ya que las señales de los NH permanecen invariables, incluso a concentraciones por debajo de 0.1 mM, independientemente de si el disolvente contiene 30% MeOH o si las muestras son calentadas hasta 50º C. Del mismo modo, el espectro de FT-IR en $CHCl_3$ mostró las bandas características de una estructura tipo lámina plegada β antiparalela.

Tabla 11. Relaciones en $CDCl_3$ entre el isómero rotacional eclipsado (**D [E]**) y los alternados (**D [A]$_{cw}$** y **D [A]$_{ccw}$**) de diversas estructuras homo- y heterodiméricas basadas en α,γ(Acp)- y α,γ(Ach)-ciclohexapéptidos.

Compuesto	D [A]$_{cw}$: D [E] : D [A]$_{ccw}$[a]
D$_{46}$	1 : 1 : 1
D$_{48}$	1 : 1 : 1
D$_{50}$	1 : 1 : 1

[a] Relación determinada mediante espectroscopia de ^{1}H RMN

se llevó a cabo inicialmente la preparación del α,γ(Ach)-derivado complementario *ciclo*{[*L*-Phe-*D*-^{Me}N-γ-Ach]$_2$-*L*-Ser(TTF)-*D*-^{Me}N-γ-Ach-} (**48**)[600] mediante acoplamiento del macrociclo desprotegido **38** con TTF-CO_2H (**47**)[601,606] en presencia de DIC/DMAP (Esquema 14). Posteriormente, se sintetizó el α,γ(Ach)-derivado complementario *ciclo*{[*L*-Phe-*D*-^{Me}N-γ-Ach]$_2$-*L*-Ser(exTTF)-*D*-^{Me}N-γ-Ach-} (**50**)[600] mediante acoplamiento del macrociclo desprotegido **38** con exTTF-CO_2H (**49**)[601,607] en presencia de DIC/DMAP (Esquema 14). La introducción de la unidad tetrafulvalénica π-extendida (exTTF) debe permitir el incremento de la capacidad electrodadora de la unidad α,γ-cíclica, así como — tal y como habíamos mencionado con anterioridad (Figura 150) — el reconocimiento molecular de la superficie cóncava del [60]fullereno.[585,608]



Esquema 14. Síntesis de los α,γ-ciclohexapéptidos *ciclo*{[*L*-Phe-*D*-^{Me}N-γ-Ach]$_2$-*L*-Ser(TTF)-*D*-^{Me}N-γ-Ach-} (**48**) y *ciclo*{[*L*-Phe-*D*-^{Me}N-γ-Ach]$_2$-*L*-Ser(exTTF)-*D*-^{Me}N-γ-Ach-} (**50**).

[606] Kanibolotsky, A.; Roquet, S.; Cariou, M.; Leriche, P.; Turrin, C.-O.; de Bettignies, R.; Caminade, A. -M.; Majoral, J.-P.; Khodorkovsky, V.; Gorgues, A. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 2109-2112.
[607] Herranz, M. A.; Martín, N.; Campidelli, S.; Prato, M.; Brehm, G.; Guldi, D. M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 4478-4482.
[608] El reconocimiento molecular de C_{60} por parte de la unidad de exTTF debe conllevar el incremento de la constante de asociación del sistema heterodimérico.

Al igual que los α,γ(Acp)- y α,γ(Ach)-ciclohexapéptidos descritos con anterioridad, los macrociclos electrodadores obtenidos (**48** y **50**) se autoensamblan para dar lugar a los correspondientes homodímeros (**D_{48}** y **D_{50}**, respectivamente) en disolventes no polares con valores de K_a superiores a 10^5 M^{-1}.[609]. La ausencia de simetría conlleva nuevamente la obtención de tres homodímeros no equivalentes (isómeros rotacionales), los cuales se diferencian en las interacciones que se establecen entre las cadenas laterales de las correspondientes subunidades monoméricas. Así, podemos observar la formación de tres especies bien definidas; un homodímero eclipsado (**D [E]**) en el que los α-aminoácidos Ser(P_1) se enfrentan entre sí y otros dos homodímeros alternados (**D $[A]_{cw}$** y **D $[A]_{ccw}$**) en el que los α-aminoácidos Ser(P_1) no se disponen uno frente a otro (Figura 152). El análisis de las diferentes mezclas homodiméricas mostró que ambos ciclopéptidos presentan una relación equimolecular de los tres diastereoisómeros posibles (**D $[A]_{cw}$** : **D [E]** : **D $[A]_{ccw}$** ~ 1 : 1 : 1) (Tabla 11).

La combinación del α,γ(Acp)-ciclohexapéptido electroaceptor (**46**) con los diferentes α,γ(Ach)-cicloderivados electrodadores (**48**, **50**) permitió observar una vez más la formación preferencial de los correspondientes heterodímeros Acp/Ach **$D_{46/48}$** y **$D_{46/50}$** (Figura 152).[600] Para ello, se llevaron a cabo experimentos de adición controlada de los Ach-ciclohexaderivados sobre los Acp-derivados (o viceversa), lo que nos permitió observar la aparición mediante ^{1}H RMN de señales características de los heterodímeros resultantes. El análisis de las disoluciones obtenidas mostró que los heterodímeros se correspondían con la especie mayoritaria presente en el equilibrio, corroborando así la formación preferencial de las estructuras heterodiméricas. Además, se pudo determinar nuevamente mediante espectroscopia de ^{1}H RMN la presencia de tres diastereoisómeros rotacionales heterodiméricos — uno en disposición eclipsada (**D [E]**) y otros dos en disposiciones alternadas (**D $[A]_{cw}$** y **D $[A]_{ccw}$**). Desafortunadamente, la complejidad de las mezclas estudiadas impidió una determinación exacta de las proporciones relativas de cada isómero rotacional.

En primer lugar, se confirmó la formación selectiva de los heterodímeros **$D_{46/48}$** mediante adición de 1.00 equivalente de **48** a una disolución 2.00 mM de **46** en $CDCl_3$ (Figura 153). De este modo, se observó mediante espectroscopía de ^{1}H RMN la aparición de un nuevo grupo de señales características que no se correspondían con ninguno de los posibles homodímeros (**D_{46}** o **D_{48}**) y que probablemente pertenecían a la especie heterodimérica **$D_{46/48}$**. Estudios exhaustivos de dilución y temperatura mostraron que dichas señales permanecían inalteradas[610] — incluso en presencia de cantidades considerables de metanol[611] —, lo que viene a significar la alta afinidad que exhiben los ensamblajes heterodiméricos obtenidos ($K_a > 10^5$ M^{-1}).

---

[609] Los espectros de ^{1}H RMN de ambos ciclopéptidos (**48** y **50**) en disolventes no polares reflejaron las características típicas de la formación de homodímeros (**D_{48}** y **D_{50}**, respectivamente), mostrando valores adecuados de constante de acoplamiento ($J_{NH,\ H\alpha}$) comprendidos entre 8.5-9.5 Hz y desplazamientos químicos (δ) de las señales correspondientes a los NH en torno a 8.3-8.9 ppm. Cabe resaltar que el valor de la constante de asociación (K_a) para la formación de los diferentes homodímeros debe ser superior a 10^5 M^{-1}, ya que las señales de los NH permanecen invariables, incluso a concentraciones por debajo de 0.1 mM, independientemente de si el disolvente contiene 30% MeOH o si las muestras son calentadas hasta 50º C. Del mismo modo, los espectros de FT-IR en $CHCl_3$ mostraron las bandas características de una estructura tipo lámina plegada β antiparalela.

[610] Las señales características de la especie heterodimérica **$D_{46/48}$** permanecen invariables incluso a concentraciones por debajo de 0.5 mM y/o calentando hasta 50 ºC.

[611] La adición de diversas proporciones de MeOH (desde 10 hasta 50%) no mostró cambios significativos en los desplazamientos de las señales de **$D_{46/48}$**.

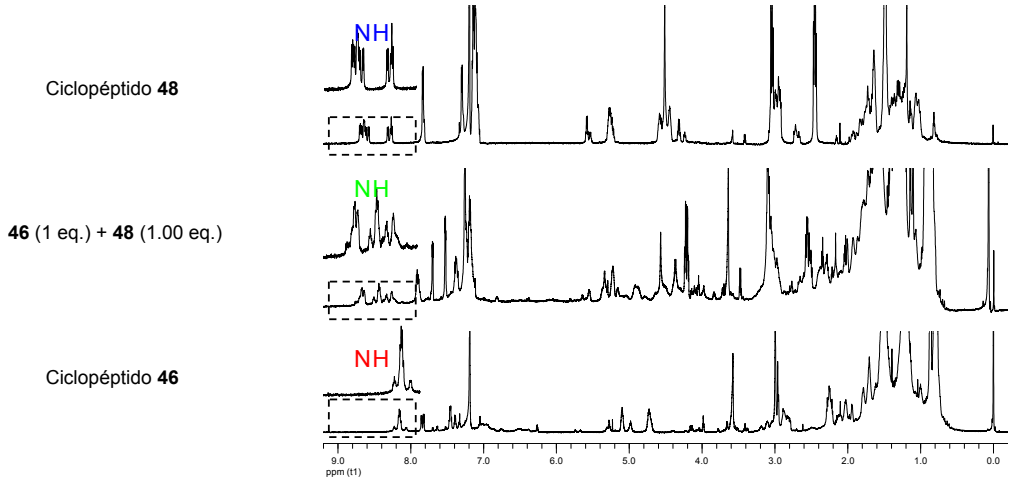


Figura 153. Espectros de ^{1}H RMN correspondientes a la formación del heterodímero $\mathbf{D_{46/48}}$ mediante adición de 1.00 equivalente de **48** a una disolución 2.33 mM de **46** (298 K, $CDCl_3$). Las señales en rojo corresponden al homodímero $\mathbf{D_{46}}$, las señales en azul corresponden al homodímero $\mathbf{D_{48}}$ y las señales en verde corresponden al heterodímero $\mathbf{D_{46/48}}$.

En segundo lugar, se corroboró la formación preferencial de los heterodímeros $\mathbf{D_{46/50}}$ mediante adición de 1.00 equivalente de **50** a una disolución 2.00 mM de **46** en $CDCl_3$ (Figura 154). Así, se pudo observar nuevamente mediante ^{1}H RMN la aparición de un grupo de señales que se correspondían a la especie heterodimérica $\mathbf{D_{46/50}}$. Al igual que en el sistema anteriormente mencionado (heterodímero $\mathbf{D_{46/48}}$), los estudios exhaustivos de dilución y temperatura mostraron que dichas señales permanecían inalteradas[612] — incluso en presencia de metanol[613] —, lo que viene a significar la alta afinidad que exhiben los ensamblajes heterodiméricos obtenidos ($K_a > 10^5$ M^{-1}). Cabe destacar que la extrema complejidad del espectro de ^{1}H RMN de $\mathbf{D_{46/50}}$ tampoco permitió la determinación exacta de las proporciones relativas de los diastereoisómeros rotacionales $\mathbf{D_{46/50}}$ **[E]**, $\mathbf{D_{46/50}}$ $\mathbf{[A]_{cw}}$ y $\mathbf{D_{46/50}}$ $\mathbf{[A]_{ccw}}$. Aún así, creemos que en este caso particular — al igual que sucede con el homodímero eclipsado $\mathbf{D_{38}}$ **[E]**, el cual se obtiene en un grado mayor (aproximadamente el doble) que los correspondientes homodímeros alternados $\mathbf{D_{38}[A]_{cw}}$ y $\mathbf{D_{38}}$ $\mathbf{[A]_{ccw}}$ debido fundamentalmente al establecimiento de enlaces de hidrógeno intramoleculares entre los grupos hidroxilo de las Ser orientadas convenientemente (Figura 112, Tabla 7) — las interacciones de van der Waals que tienen lugar entre las unidades dadora (exTTF) y aceptora (C_{60}) de electrones podrían facilitar la formación preferencial del isómero eclipsado $\mathbf{D_{46/50}}$ **[E]** respecto a los alternados $\mathbf{D_{46/50}}$ $\mathbf{[A]_{cw}}$ y $\mathbf{D_{46/50}}$ $\mathbf{[A]_{ccw}}$. De este modo, las interacciones estabilizantes no covalentes resultado del reconocimiento molecular cóncavo-convexo que se produce entre las funcionalidades exTTF y C_{60} permitirían la restricción conformacional de la estructura heterodimérica hacia la formación predominante de la especie foto- y electroactiva eclipsada $\mathbf{D_{46/50}}$ **[E]**, favoreciendo así la eficiencia de la transferencia de electrones fotoinducida a través del espacio (Figura 150).[584-594]

[612] Las señales características de la especie heterodimérica $\mathbf{D_{46/50}}$ permanecen invariables incluso a concentraciones por debajo de 0.5 mM y/o calentando hasta 50 ºC.
[613] La adición de diversas proporciones de MeOH (desde 10 hasta 50%) no mostró cambios significativos en los desplazamientos de las señales de $\mathbf{D_{46/50}}$.

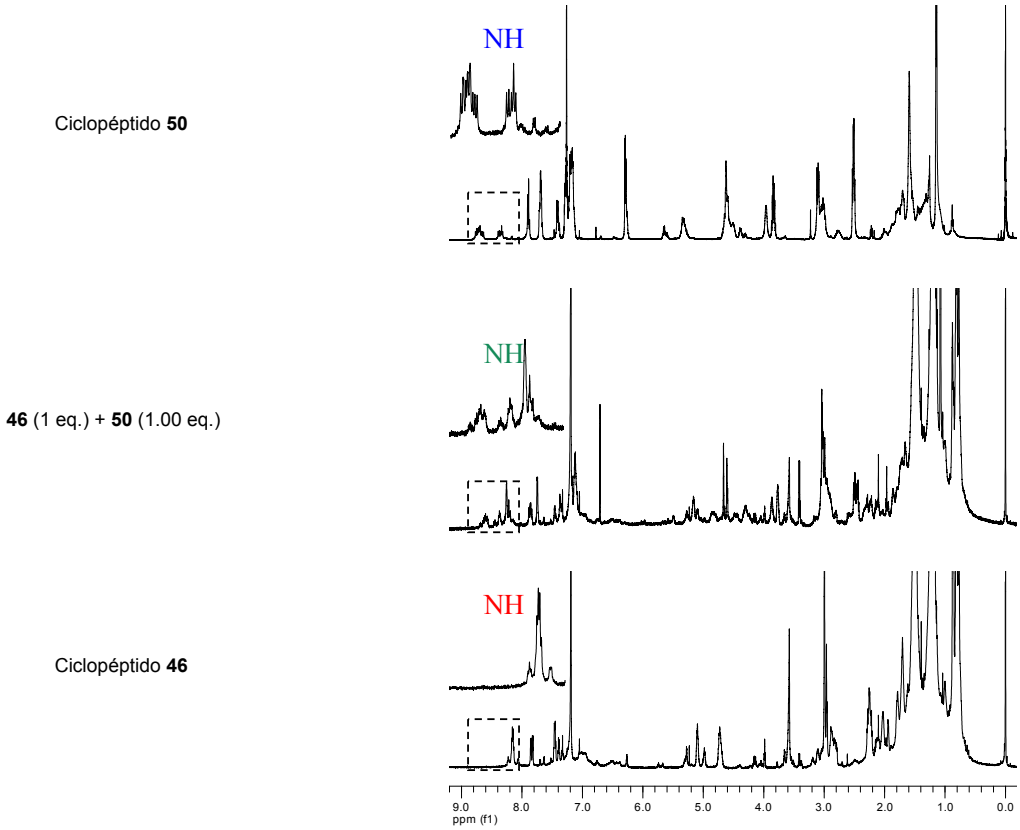


Figura 154. Espectros de ^{1}H RMN correspondientes a la formación del heterodímero $\mathbf{D_{46/50}}$ mediante adición de 1.00 equivalente de **50** a una disolución 2.00 mM de **46** (298 K, $CDCl_3$). Las señales en rojo corresponden al homodímero $\mathbf{D_{46}}$, las señales en azul corresponden al homodímero $\mathbf{D_{50}}$ y las señales en verde corresponden al heterodímero $\mathbf{D_{46/50}}$.

La apropiada funcionalización de las unidades α,γ-ciclopeptídicas con grupos electrónicos adecuados (componentes [60]fullerénicos y derivados tetratiafulvalénicos) ha permitido la construcción de una nueva clase de sistemas supramoleculares dador/aceptor termodinámicamente estables. La matriz heterodimérica α,γ-ciclopeptídica permite la orientación y aproximación de las unidades dadoras (TTF, exTTF) y aceptoras (C_{60}) de electrones, logrando así una organización espacial adecuada para llevar a cabo fenómenos de transferencia electrónica de manera altamente eficaz. El modelo de estudio diseñado debe ser especialmente útil en la construcción de ensamblajes captadores y/o convertidores de luz que puedan actuar como eficientes fotosistemas artificiales. De este modo, un profundo examen de los diferentes sistemas supramoleculares dador/aceptor preparados con anterioridad puede permitirnos vislumbrar sus posibles aplicaciones en el campo de la optoelectrónica, fotovoltaica y/o electrónica molecular.

La especial relevancia que adquieren los híbridos heterodiméricos aceptor/dador α,γ-ciclopeptídicos como sistemas de transferencia electrónica fotoinducida propició la profunda caracterización de sus propiedades. Dicha información puede ser proporcionada mediante estudios electroquímicos y fotofísicos de las díadas C_{60}/TTF (**$D_{46/48}$**) y C_{60}/exTTF (**$D_{46/50}$**) preparadas con anterioridad.[600]

17.2. ESTUDIOS ELECTROQUÍMICOS

La voltametría o voltamperometría es una de las técnicas electroquímicas más comúnmente empleada para caracterizar desde el punto de vista de su capacidad para ceder o aceptar electrones (punto de vista redox) los nuevos materiales que se sintetizan en los laboratorios.[614] Esta caracterización proporciona una importante información sobre las propiedades químicas, estructurales y electroquímicas de dichos compuestos, por lo que se ha convertido hoy en día en una herramienta usual en el estudio de nanomateriales. Dentro de las técnicas voltamperométricas, cabe destacar fundamentalmente la voltametría de barrido lineal [LSV (*linear sweep voltammetry*)],[615] la voltametría de pulso diferencial [DPV (*differential pulse voltammetry*)][616] y la voltametría cíclica [CV (*cyclic voltammetry*)].[617]

17.2.1. VOLTAMETRÍA CÍCLICA

Introducción

La voltametría cíclica es probablemente la técnica electroquímica más eficiente y versátil para el estudio de los mecanismos de las reacciones electródicas.[617] Constituye una extensión lógica de la voltamperometría de barrido lineal, realizándose una inversión en el sentido del barrido de potencial. La voltametría cíclica nos permite medir la corriente resultante variando de manera continua el potencial que se aplica a través de la interfase electrodo-disolución. La representación gráfica de este experimento proporciona curvas

[614] a) *Handbook of electrochemistry*; Ed. C. G. Zoski; Elsevier: Amsterdam (Holanda), **2007**. b) Bard, A. J.; Faulkner, L. R. *Electrochemical methods: fundamentals and applications [2nd edn]*; John Wiley & Sons, Inc.: New York (Estados Unidos), **2001**. c) *Laboratory techniques in electroanalytical chemistry [2nd edn]*; Eds. P. T. Kissinger, W. R. Heineman; Marcel Dekker: New York (Estados Unidos), **1996**.

[615] En la técnica de voltametría de barrido lineal (LSV) el potencial aplicado varía linealmente con el tiempo desde un potencial inicial (E_i) hasta un potencial final (E_f) a una velocidad constante (v). Para más información, ver: a) *Encyclopedia of electrochemistry*; Eds. A. J. Bard, M. Stratmann; Wiley-VCH: Weinheim (Alemania), **2011**. b) Bueno, P. R.; Gabrielli, C. "Electrochemistry, nanomaterials and nanostructures". En *Nanostructured materials for electrochemical energy production and storage*; Ed. E. R. Leite; Springer: New York (Estados Unidos), **2009**, 81-150. c) *Electroanalytical methods: guide to experiments and applications [2nd edn]*; Ed. F. Scholtz; Springer: Berlín (Alemania), **2005**.

[616] a) Metzger, R. M. *The physical chemist's toolbox*; John Wiley & Sons: New York (Estados Unidos), **2012**, 335-386. b) Carter, M. T.; Osteryoung, R. A. "Pulse voltammetry". En *Encyclopedia of analytical chemistry: applications, theory, and instrumentation*; Ed. R. A. Meyers; John Wiley & Sons: Chichester (Reino Unido), **2000**, 10010-10036. c) Wang, J. *Analytical electrochemistry [2nd edn]*; Wiley-VCH: New York (Estados Unidos), **2000**.

[617] a) Gileadi, E. *Physical electrochemistry: fundamentals, techniques and applications*; Wiley-VCH: Weinheim (Alemania), **2011**. b) Holze, R. *Experimental electrochemistry: a laboratory textbook*; Wiley-VCH: Weinheim (Alemania), **2009**. c) Compton, R. G.; Banks, C. E. *Understanding voltammetry*; World Scientific Publishing Co.: Singapur (Singapur), **2007**. d) Hamann, C. H.; Hamnett, A.; Vielstich, W. *Electrochemistry*; Wiley-VCH: Weinheim (Alemania), **1998**. e) Gosser, D. K. *Cyclic voltammetry: simulation and analysis of reaction* mechanisms; Wiley-VCH: New York (Estados Unidos), **1993**. f) Mabbott, G. A. *J. Chem. Ed.* **1983**, *60*, 697-701. g) Evans, D. H.; O'Connell, K. M.; Petersen, R. A.; Kelly, M. J. *J. Chem. Ed.* **1983**, *60*, 290-293.

intensidad (I)-potencial (E), en las cuales la corriente se representa en el eje de las ordenadas y el potencial en el de las abcisas. En esta técnica, el potencial aplicado se barre linealmente desde un valor inicial E_i hasta alcanzar un valor E_λ (potencial de inversión), en el que se invierte la dirección de barrido hasta alcanzar un potencial final E_f (Figura 155). Aunque el barrido de potencial frecuentemente se termina al final del primer ciclo (E_f), se puede continuar realizando ciclos sucesivos, lo que justifica la terminología de voltamperometría cíclica.

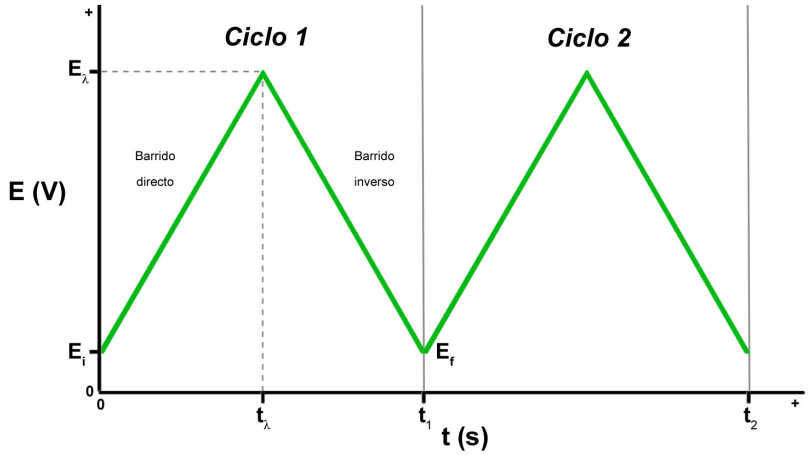


Figura 155. Señal de excitación potencial (E)-tiempo (t) triangular empleada en voltametría cíclica.

Los parámetros de interés en voltamperometría cíclica son las magnitudes de las corrientes de pico, I_{pa} e I_{pc},[618] o mejor aún, su relación I_{pa}/I_{pc}, y la separación entre los potenciales de pico E_{pa}-E_{pc}.[619]

El potencial intermedio entre los dos potenciales de pico en un sistema reversible es el valor del potencial formal del par redox (obviamente respecto al electrodo de referencia que se utilice), el cual se calcula empleando la ecuación 8,

$$E^{0'} = \frac{E_{pa} + E_{pc}}{2} \qquad \text{(Ecuación 8)}$$

En el caso de un sistema reversible, la separación entre el pico anódico y el pico catódico debe ser aproximadamente igual a 59/n, donde n es el número de electrones implicados en el proceso redox. En los sistemas cuasi-reversibles o irreversibles esta separación entre los potenciales de pico es mayor y depende de la velocidad de barrido. Incluso en un sistema completamente irreversible puede no observarse ningún pico en el barrido inverso.

La obtención de un voltamograma cíclico tiene lugar al medir la corriente que pasa por el electrodo de trabajo en una disolución sin agitar durante el barrido de potencial (Figura 156). Así, en el caso particular de un sistema reversible $R \Leftrightarrow O + ne^-$ (Figura 156, *izquierda*), se observa como al inicio del experimento la disolución contiene sólo la forma reducida del par

[618] I_{pa} = intensidad del pico anódico; I_{pc} = intensidad del pico catódico.
[619] E_{pa} = potencial del pico anódico; E_{pc} = potencial del pico catódico.

redox (R). Durante el barrido directo (barrido de potencial positivo) se alcanza un valor de potencial suficientemente positivo como para provocar la oxidación de R. Esta oxidación da lugar a una corriente anódica que aumenta rápidamente hasta que la concentración de R en la superficie del electrodo se aproxima a cero. La corriente decae a continuación a medida que se produce el agotamiento de R en las cercanías del electrodo debido a su conversión a la forma oxidada (O). Después de invertir la dirección del barrido de potencial (barrido inverso), la oxidación prosigue — como lo demuestra la corriente anódica — hasta que el potencial aplicado se hace suficientemente negativo como para causar la reducción de O acumulado. Dicha reducción viene señalada por la aparición de una corriente catódica. De nuevo, dicha corriente aumenta a medida que el potencial se hace menos positivo, hasta que la reducción de O provoca el agotamiento de esta especie en la región cercana al electrodo, produciéndose por tanto la aparición de un pico de corriente y su posterior disminución. En resumen, en el barrido directo se genera electroquímicamente O, como se demuestra por la corriente anódica, mientras que en el barrido inverso este O es reducido de nuevo a R, como lo demuestra la corriente catódica. De esta manera, la voltamperometría cíclica es capaz de generar rápidamente una nueva especie durante el barrido directo y a continuación probar su existencia en el barrido inverso. Este es un aspecto muy importante de la técnica que le confiere un gran poder de diagnóstico para el estudio de las reacciones electródicas.

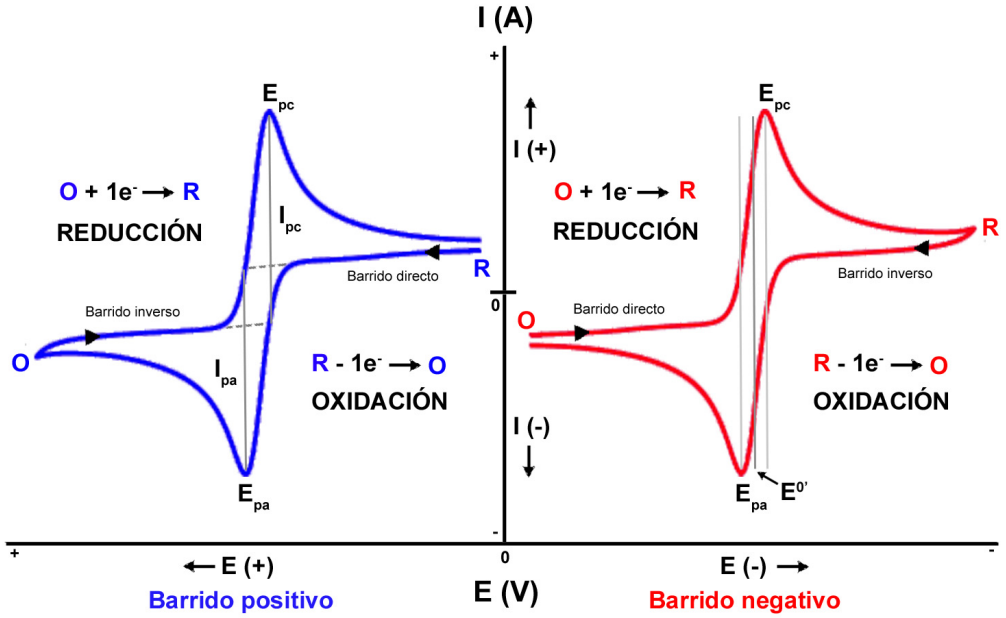


Figura 156. *Izquierda*, Voltamperograma cíclico para un sistema redox reversible descrito de la forma R ⇔ O + 1e⁻ al que se le aplica un barrido de potencial positivo. *Derecha*, Voltamperograma cíclico para un sistema redox reversible descrito de la forma O + 1e⁻ ⇔ R al que se le aplica un barrido de potencial negativo.

De este modo, se observa como para el caso particular de una reacción electroquímica reversible[620] — descrita de la forma general O + *n*e⁻ ⇔ R (definida como una reducción) —, la aplicación de un potencial E obliga a que las respectivas concentraciones de las especies

[620] Se refiere a una reacción tan rápida que el equilibrio es siempre reestablecido cuando se realizan cambios.

oxidada (O) y reducida (R) en la superficie del electrodo (c_O^0 y c_R^0, respectivamente) se encuentren en una relación de conformidad con la ecuación de Nernst (ecuación 9),[621]

$$E = E^{0'} - \frac{RT}{nF} \ln \frac{c_R^0}{c_O^0} \qquad \text{(Ecuación 9)}$$

siendo $E^{0'}$ el potencial formal del par redox, R la constante molar (o universal) de los gases (8.314 $J \cdot mol^{-1} \cdot K^{-1}$), T la temperatura absoluta (en K), n el número de electrones transferidos y F la constante de Faraday (9.648×10^4 $C \cdot mol^{-1}$). Cabe destacar que si el potencial aplicado al electrodo varía, la relación c_R^0/c_O^0 en la superficie también lo hará con el fin de satisfacer la ecuación 9. De esta forma, si el potencial se hace más negativo, la relación de concentraciones será mayor; la especie O es reducida a R. De manera inversa, si el potencial se hace más positivo, la relación c_R^0/c_O^0 será menor; la especie R es oxidada a O.

La situación es muy diferente si estamos ante la presencia de una reacción redox no reversible, si tienen lugar reacciones químicas acopladas al proceso redox o si se produce la adsorción de reactivos o productos. En realidad, son estas situaciones "no ideales" las que tienen un mayor interés químico y para las que las propiedades diagnósticas de la voltametría cíclica son especialmente adecuadas.

Hemos de señalar que en el caso de barridos a potenciales negativos es especialmente importante la ausencia de oxígeno en la disolución de medida, ya que su reducción enmascararía los posibles procesos redox de la muestra a estudiar.

La voltametría cíclica es una técnica cada vez más empleada como método de estudio de los estados redox, ya que permite barrer rápidamente un amplio intervalo de potenciales, tanto para especies oxidables como reducibles. Este hecho, junto con la escala de tiempo variable de la técnica y su aceptable sensibilidad hacen de ella una de las técnicas electroquímicas más versátiles de que se dispone.

Instrumentación

El desarrollo experimental de las técnicas voltamperométricas implica la utilización de lo que se denomina un montaje potenciostático de tres electrodos (Figura 157). En este montaje, la diferencia de potencial entre el electrodo de trabajo (electrodo en el cual se estudia la reacción electroquímica) y el electrodo de referencia es estabilizada automáticamente mediante un potenciostato. Además, se emplea un electrodo auxiliar o contraelectrodo con objeto de minimizar la caida óhmica. Por otro lado, esta técnica se enmarca dentro de lo que se denomina *técnicas en régimen de difusión pura*, ya que se realizan en disoluciones no agitadas, donde el modo predominante de transporte de masa se limita a la difusión.

[621] La ecuación de Nernst suele venir expresada de la forma general: $E = E^0 - [(RT / nF) \cdot \ln Q]$, siendo E^0 el potencial estándar del par redox y Q el cociente de reacción. El cociente Q equivale a la relación de actividades (a_R/a_O), por lo que se puede describir como $\gamma_R c_R / \gamma_O c_O$, siendo γ_R y γ_O los coeficientes de actividad de las especies reducida y oxidada, respectivamente. La conveniente sustitución de las actividades por concentraciones y la utilización del potencial formal del par redox — el cual se describe como $E^{0'} = E^0 - [(RT / nF) \ln(\gamma_R/\gamma_O)]$ — permite reescribir la ecuación de Nernst de una forma mucho más adecuada (ecuación 9). Para más información, ver: Brett, C. M. A.; Brett, A. M. *Electrochemistry: principles, methods, and applications*; Oxford University Press: New York (Estados Unidos), **1993**.

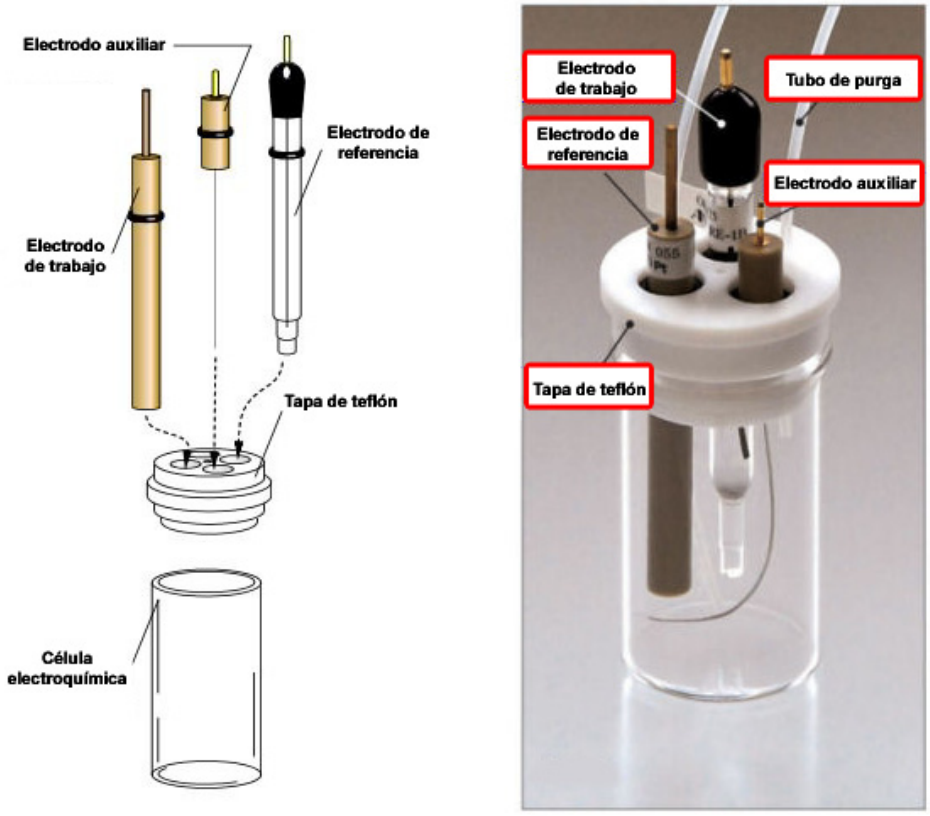


Figura 157. Montaje potenciostático de tres electrodos empleado para efectuar medidas de voltametría cíclica. De manera resaltada se señalan los electrodos de trabajo, de referencia y auxiliar (contraelectrodo), la célula electroquímica y el tubo de purga a través del cual tiene lugar la entrada de gases inertes (habitualmente N_2) para evitar la presencia de O_2 en la muestra.

Una célula electroquímica consta de al menos dos electrodos y un electrolito. El **electrodo de trabajo** es donde tiene lugar el proceso electroquímico que se está investigando. Suelen emplearse como electrodos de trabajo metales nobles o carbono. El segundo electrodo es el **electrodo de referencia**. Este es el electrodo cuyo potencial es lo suficientemente constante para ser tomado como el *standard* de referencia frente al cual se pueden medir los otros electrodos presentes en la célula. Los electrodos que se emplean normalmente como referencia son el de calomelanos [SCE (*standard calomelane electrode*)] y el de Ag/Ag^+. Por otra parte, el **contraelectrodo** o **electrodo auxiliar** sirve como fuente o sumidero de electrones, de forma que la corriente se puede hacer pasar desde el circuito externo a través de la célula. Suele utilizarse un conductor inerte como platino o grafito. Por último, el **electrolito** es el medio a través del cual puede tener lugar la transferencia de carga debido al movimiento de iones. Habitualmente, se trata de una disolución de una sal 0.1 M en el disolvente de medida.

El material más empleado para la construcción de las células electroquímicas es el pírex, debido a su transparencia e inercia química. El tamaño de la célula es variable y depende del volumen, coste y grado de dilución de la muestra a estudiar. Si se dispone de

suficiente muestra y el coste no es un problema, se pueden usar células de 25-50 cm^3. Con materiales muy costosos es preferible emplear células de 1 cm^3.

Finalmente, cabe indicar que las medidas electroquímicas se llevan a cabo mediante potenciostatos actualmente controlados por ordenador.

17.2.2. VOLTAMETRÍA DE PULSO DIFERENCIAL

Introducción

La voltametría de pulso diferencial (DPV)[616,622] se puede considerar como un derivado de la voltametría de barrido lineal (LSV), con una serie de pulsos de tensión normal superpuestos en el potencial de barrido lineal (Figura 158). De este modo, en DPV — a diferencia de en LSV — cada pulso de potencial es fijo y de pequeña amplitud (~10-100 mV), superponiéndose a un potencial de base que cambia lentamente. La corriente se mide en dos puntos para cada pulso; el primer punto (**P_1**), el cual se asocia al momento previo a la aplicación del pulso, y el segundo punto (**P_2**), correspondiente al final del pulso. Ambos puntos de muestreo se seleccionan para permitir el decaimiento de una corriente de carga no faradaica.[623] La diferencia entre las medidas de corriente en estos puntos se determina para cada pulso y se representa frente al potencial de base. En resumen, la corriente se mide

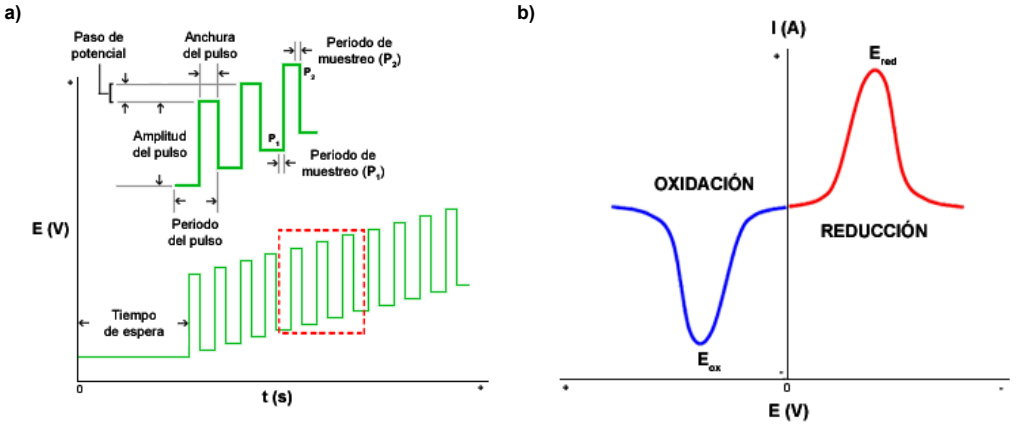


Figura 158. a) Señal de excitación potencial (E)-tiempo (t) empleada en voltametría diferencial de pulso. De manera resaltada se muestra el tipo de pulso empleado y sus características más relevantes. **b)** *Izquierda,* Voltamperograma diferencial de pulso correspondiente a una especie que experimenta un proceso de oxidación (en azul). *Derecha,* Voltamperograma diferencial de pulso correspondiente a una especie que sufre un proceso de reducción (en rojo).

[622] Esta técnica también se suele denominar como polarografía de pulso diferencial [DPP (*differential pulse polarography*)].

[623] Una corriente no faradaica — también denominada corriente capacitiva o de "doble capa" — es aquella que circula por una celda electroquímica y que carga/descarga la capacitancia de la doble capa eléctrica. Dicha corriente no implica ninguna reacción química (transferencia de carga); sólo causa acumulación (o eliminación) de cargas eléctricas en el electrodo y en la disolución electrolítica cerca del electrodo. Hemos de destacar que siempre hay alguna corriente no faradaica presente cuando se varía el potencial del electrodo. Por otra parte, dicha corriente es generalmente igual a cero cuando el potencial es constante. Finalmente, cabe señalar que la corriente capacitiva también puede observarse si la capacitancia del electrodo es modificada por alguna razón especial, como por ejemplo, el cambio de área o temperatura.

inmediatamente antes de cada cambio de potencial, y la diferencia de corriente se representa en función del potencial. Además, el efecto de la corriente de carga se puede disminuir mediante el adecuado muestreo de la corriente antes de que tenga lugar el cambio de potencial. De este modo, se obtienen representaciones características en forma de pico, en las cuales el máximo (reducción) o el mínimo (oxidación) corresponde al potencial $E_{1/2}$, y en las que la altura depende de la concentración. En el caso de las reacciones reversibles, se observa la presencia de picos simétricos, mientras que las reacciones irreversibles dan lugar a la obtención de picos asimétricos.

El potencial de pico (E_p) en un sistema reversible — descrito de la forma general $O + ne^- \Leftrightarrow R$ (definido como una reducción) — se calcula empleando la ecuación 10,

$$E_p = E_{1/2} - \left(\frac{\Delta E}{2}\right) \qquad \text{(Ecuación 10)}$$

siendo $E_{1/2}$ el potencial de media onda y ΔE la amplitud del pulso (altura del pulso). Del mismo modo, cabe destacar que el pico de corriente es proporcional a la concentración.

La importancia de las medidas voltamperométricas de pulso diferencial radica en su utilización en el estudio de las propiedades redox de cantidades extremadamente pequeñas de sustancias químicas, debido fundamentalmente a que se puede minimizar el efecto de la corriente de carga (discriminación contra las corrientes de fondo), logrando así una alta sensibilidad. Asimismo, la corriente de Faraday se extrae directamente, por lo que las reacciones de electrodo se pueden analizar con mayor precisión. Ambas características son claramente responsables de que dicha técnica presente límites de detección extremadamente sensibles (~10^{-8} M). Es por ello que, tradicionalmente, los metales en el rango de los ppm se determinan de manera eficiente mediante DPV.[624] Además, la voltamperometría de pulso diferencial permite examinar simultáneamente varios elementos, por lo que adquiere especial relevancia en el análisis de cristales/fundidos.[625]

Instrumentación

El sistema de medida suele ser el mismo que el que se emplea en voltametría cíclica (Figura 157). Hemos de considerar que en este caso particular el potencial entre el electrodo de trabajo y el electrodo de referencia se cambia como un pulso desde un potencial inicial a un potencial de nivel intermedio (potencial internivel), en el cual se mantiene durante aproximadamente 5-100 ms. Posteriormente, se varía hasta alcanzar el potencial final, el cual es diferente del potencial inicial. El pulso se repite, modificando el potencial final, y se mantiene una diferencia constante entre el potencial inicial y el potencial internivel. Finalmente, se muestrean los valores de las corrientes entre el electrodo de trabajo y el electrodo auxiliar antes y después del pulso, y sus diferencias se representan gráficamente frente al potencial.

[624] a) Guo, G.; Huang, Y.; Zhong, M.; Li, H.; Sun, Y.; Chen, H. *Int. J. Electrochem. Sci.* **2011**, *6*, 6525-6541. b) Sonthalia, P.; McGaw, E.; Show, Y.; Swain, G. M. *Anal. Chim. Acta* **2004**, *522*, 35-44. c) Ijeri, V. S.; Srivastava, A. K. *Anal. Sci.* **2001**, *17*, 605-608.

[625] a) Macfarlane, D. R.; Zhou, Z.; Newman, P. J. *J. Appl. Electrochem.* **2004**, *34*, 197-204. b) Yamashita, H.; Yamaguchi, S.; Nishimura, R.; Maekawa, T. *Anal. Sci.* **2001**, *17*, 45-50.

Las técnicas voltamperométricas, y en particular la voltamperometría cíclica, son una herramienta fundamental para la caracterización de nuevos materiales orgánicos. A partir de las medidas de los potenciales característicos de las respuestas obtenidas y de la determinación — en algún caso — del número de electrones implicado mediante culombimetría a potencial controlado se pueden extraer importantes consecuencias sobre la capacidad aceptora de estas moléculas. Es por ello que la aplicación de estas técnicas voltamperométricas a los sistemas α,γ-ciclopeptídicos descritos con anterioridad adquiere especial relevancia.[600]

17.2.3. MEDIDAS VOLTAMÉTRICAS DE SISTEMAS α,γ-CICLOPEPTÍDICOS

Condiciones

El estudio de las propiedades electroquímicas de los diferentes sistemas supramoleculares α,γ-cíclicos se llevó a cabo mediante voltametría cíclica y/o voltametría de pulso diferencial.[600,626] Para ello, se empleó un electrodo de trabajo de carbón vitrificado (GC), un electrodo de referencia $Ag/AgNO_3$ (Ag/Ag^+), un electrodo auxiliar de Pt y una disolución de TBA•ClO_4 (0.1 M) en una mezcla 4:1 de *o*-DCB/CH_3CN como electrolito de soporte. Todas las medidas han sido realizadas a temperatura ambiente (298 K), aplicando velocidades de barrido de 100 $mV \cdot s^{-1}$. Asimismo, se han utilizado como patrones de referencia: C_{60} (para todos los derivados fullerénicos); TTF, TTF-CO_2Me y TTF-CO_2H (**47**) (para todos los derivados tetratiafulvalénicos); y exTTF, exTTF-CO_2Me y exTT-CO_2H (**49**) (para todos los derivados tetratiafulvalénicos π-extendidos) (Tabla 12).

Resultados

Inicialmente, se llevó a cabo el estudio voltamperométrico de las nanoestructuras α,γ-ciclopeptídicas funcionalizadas con unidades C_{60}.[627,628] De este modo, se pudo observar que tanto el homodímero fulleropirrolidínico **D_{44}** — resultante del autoensamblaje supramolecular del hexapéptido *ciclo*{[*L*-Phe-*D*-^{Me}N-γ-Ach]$_2$-*L*-Ser(Fulleropirrolidina)-*D*-^{Me}N-γ-Ach-} (**44**) — como el homodímero metanofullerénico **D_{46}** — resultante del autoensamblaje supramolecular del hexapéptido *ciclo*{[*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp]$_2$-*L*-Lys(PCBA)-*D*-^{Me}N-γ-Acp-} (**46**) — presentaban tres

[626] Estudio realizado en el grupo del Prof. Nazario Martín [Universidad Complutense de Madrid] durante una estancia predoctoral.

[627] Para el estudio electroquímico de unidades [60]fulleropirrolidínicas, ver: a) Kharisov, B. I.; Kharissova, O. V.; Ortiz-Méndez, U. "Fulleropyrrolidines". En *Handbook of less-common nanostructures [Cap. 19]*; CRC Press: Boca Ratón (Estados Unidos), **2012**, 623-670. b) Mateo-Alonso, A.; Sooambar, C.; Prato, M. *Org. Biomol. Chem.* **2006**, *4*, 1629-1637. c) Martín, N.; Altable, M.; Filippone, S.; Martín-Domenech, A.; Güell, M.; Solà, M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 1439-1442. d) Armaroli, N.; Barigelletti, F.; Ceroni, P.; Eckert, J.-F.; Nierengarten, J.-F. *Int. J. Photoenergy* **2001**, *3*, 33-40. e) Eckert, J.-F.; Nicoud, J.-F.; Nierengarten, J.-F.; Liu, S.-G.; Echegoyen, L.; Barigelletti, F.; Armaroli, N.; Ouali, L.; Krasnikov, V.; Hadziioannou, G. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 7467-7479. f) Prato, M.; Maggini, M.; Giacometti, C.; Scorrano, G.; Sandona, G.; Farnia, G. *Tetrahedron* **1996**, *52*, 5221-5234.

[628] Para el estudio electroquímico de unidades metano[60]fullerénicas, ver: a) Segura, J. L.; Giacalone, F.; Gómex, R.; Martín, N.; Guldi, D. M.; Luo, C.; Swartz, A.; Riedel, I.; Chirvase, D.; Parisi, J.; Dyakonov, V.; Sariciftci, N. S.; Padinger, F. *Mat. Sci. Eng. C* **2005**, *25*, 835-842. b) Gómez, R.; Segura, J. L.; Martín, N. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 717-720. c) Riedel, I.; Martín, N.; Giacalone, F.; Segura, J. L.; Chirvase, D.; Parisi, J.; Dyakonov, V. *Thin Solid Films* **2004**, *451*, 43-47. d) Diekers, M.; Hirsch, A.; Luo, C.; Guldi, D. M.; Bauer, K.; Nickel, U. *Org. Lett.* **2000**, *2*, 2741-2744.

Tabla 12. Estudio de las datos electroquímicos obtenidos mediante voltametría de diversas disoluciones de sistemas de referencia, homodímeros y heterodímeros.

Compuesto	E^1_{ox} [a,b]	E^2_{ox}	E^1_{red}	E^2_{red}	E^3_{red}	E^4_{red}
C_{60}			-0.82	-1.23	-1.69	-2.15
TTF	+0.02	+0.38				
TTF-CO_2H (47)	+0.05	+0.41				
exTTF	+0.09					
exTTF-CO_2H (49)	+0.16					
D_{44}			-0.85	-1.27	-1.80	
D_{46}			-0.91	-1.29	-1.79	
D_{48}	+0.12	+0.50				
D_{50}	+0.17					
$D_{46/48}$	+0.14	+0.51	-0.84	-1.23	-1.73	-2.00
$D_{46/50}$	+0.22		-0.93	-1.30	-1.76	

[a] Los potenciales están expresados en V

[b] Solo se dan los picos de potencial catódico o anódico

ondas de reducción cuasi-reversibles correspondientes a un electrón, las cuales se identifican con la formación de las especies aniónicas [**D_{44}**: monoanión C_{60}^- (E^1_{red} = -0.85 V), dianión C_{60}^{2-} (E^2_{red} = -1.27 V), trianión C_{60}^{3-} (E^3_{red} = -1.80 V); **D_{46}**: monoanión C_{60}^- (E^1_{red} = -0.91 V)), dianión C_{60}^{2-} (E^2_{red} = -1.29 V), trianión C_{60}^{3-} (E^3_{red} = -1.79 V)] resultantes de las reducciones sucesivas del núcleo de [60]fullereno (Figura 159, Tabla 12).[629,630] Dichos picos de reducción se encuentran catódicamente desplazados (~ 30-110 mV) si se comparan con el patrón referencia de la molécula de C_{60} (E^1_{red} = -0.82 V, E^2_{red} = -1.23 V, E^3_{red} = -1.69 V) que ha sido previamente medido en idénticas condiciones experimentales.[629,630] Este desplazamiento — característico de la mayoría de 1,2-dihidrofullerenos[631] — se cree que es debido fundamentalmente al aumento de energía del LUMO de los derivados fullerénicos (FullPirr y PCBA) como consecuencia de la saturación de un doble enlace de la unidad de C_{60}.[567e]

[629] Echegoyen, L. E.; Herranz, M. A.; Echegoyen, L. "Fullerenes". En *Encyclopedia of Electrochemistry [Vol. 7]*; Eds. A. J. Bard, M. Stratmann, F. Scholz, C. J. Pickett; Wiley-VCH: Weinheim (Alemania), **2006**, 145-201.

[630] La reducción electroquímica de la molécula de C_{60} da como resultado la formación de una serie de aniones fullereno $[C_{60}]^{n-}$ (n = 1-6). De esta forma, se puede observar la presencia de diferentes etapas reversibles (cada una con un potencial característico) para un electrón: $C_{60} \Leftrightarrow [C_{60}]^- \Leftrightarrow [C_{60}]^{2-} \Leftrightarrow [C_{60}]^{3-} \Leftrightarrow [C_{60}]^{4-} \Leftrightarrow [C_{60}]^{5-} \Leftrightarrow [C_{60}]^{6-}$.

[631] Okamura, H.; Murata, Y.; Minoda, M.; Komatsu, K.; Miyamoto, T.; Wan, T. S. M. *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 8500-8502.

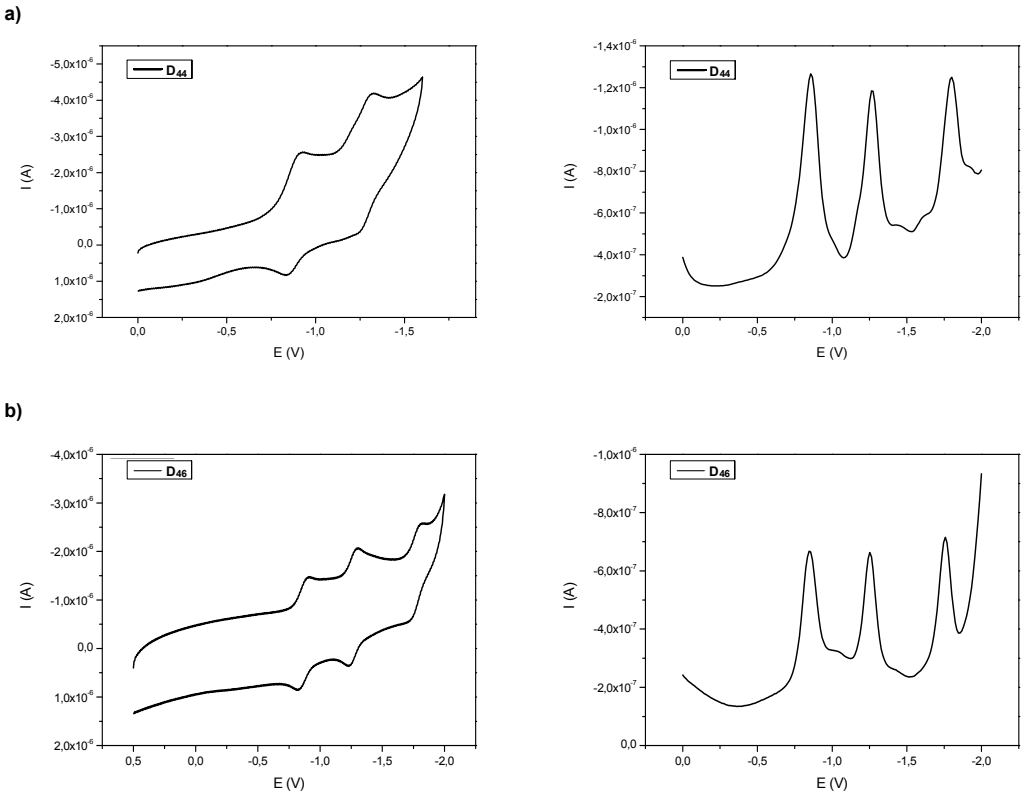


Figura 159. a) Voltamograma cíclico (*izquierda*) y de pulso diferencial (*derecha*) de una disolución del homodímero fulleropirrolidínico **D_{44}**, resultante del autoensamblaje supramolecular del hexapéptido ***ciclo*{[*L*-Phe-*D*-^{Me}N-γ-Ach]$_2$-*L*-Ser(Fulleropirrolidina)-*D*-^{Me}N-γ-Ach-}** (**44**). **b)** Voltamograma cíclico *(izquierda)* y de pulso diferencial *(derecha)* de una disolución del homodímero metanofullerénico **D_{46}**, resultante del autoensamblaje supramolecular del hexapéptido ***ciclo*{[*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp]$_2$-*L*-Lys(PCBA)-*D*-^{Me}N-γ-Acp-}** (**46**).

A continuación procedimos al estudio electroquímico de los nanoensamblajes α,γ-ciclopeptídicos funcionalizados con unidades (ex)TTFs. En primer lugar, se observó que el derivado homodimérico tetrafulvalénico **D_{48}** — resultante del autoensamblaje supramolecular del hexapéptido *ciclo*{[*L*-Phe-*D*-^{Me}N-γ-Ach]$_2$-*L*-Ser(TTF)-*D*-^{Me}N-γ-Ach-} (**48**) — presentaba dos ondas de oxidación cuasi-reversibles correspondientes a un electrón, las cuales se identifican con la formación de las especies catión radical [($TTF^{\bullet+}$); E^1_{ox} = +0.12 V] y dicatión [(TTF^{2+}); E^2_{ox} = +0.50 V] (Figura 160a, Tabla 12). Ambos picos se encuentran anódicamente desplazados (~ 100-120 mV) si se compara con el patrón referencia de la molécula de TTF (E^1_{ox} = +0.02 V; E^2_{ox} = +0.38 V), lo cual puede ser atribuido al efecto electrónico que ejerce la funcionalidad éster (grupo aceptor de electrones) que se encuentra unida a uno de los anillos de 1,3-ditiol del TTF.[632] En segundo lugar, se pudo observar que el derivado homodimérico tetratiafulvalénico π-extendido **D_{50}** — resultante del autoensamblaje supramolecular del hexapéptido *ciclo*{[*L*-Phe-*D*-^{Me}N-γ-Ach]$_2$-*L*-Ser(exTTF)-*D*-^{Me}N-γ-Ach-} (**50**) — presentaba una onda de oxidación cuasi-reversible que implica dos electrones, la cual se corresponde con la

[632] La presencia de la funcionalidad éster — la cual actúa como un grupo aceptor de electrones (EWG: *electron withdrawing group*) — provoca una ligera disminución en la capacidad dadora de la unidad de TTF. Este hecho es fundamentalmente consecuencia de la fuerte desactivación del grupo éster durante el proceso de oxidación.

formación de la especie dicatiónica [(exTTF^{2+}); E^1_{ox} = +0.17 V] (Figura 160b, Tabla 12).[633] De nuevo, el desplazamiento anódico (~ 80 mV) que experimenta dicho pico respecto al patrón de referencia exTTF (E^1_{ox} = +0.09 V) es atribuido al grupo éster que se encuentra unido a uno de los anillos ditiol del exTTF.

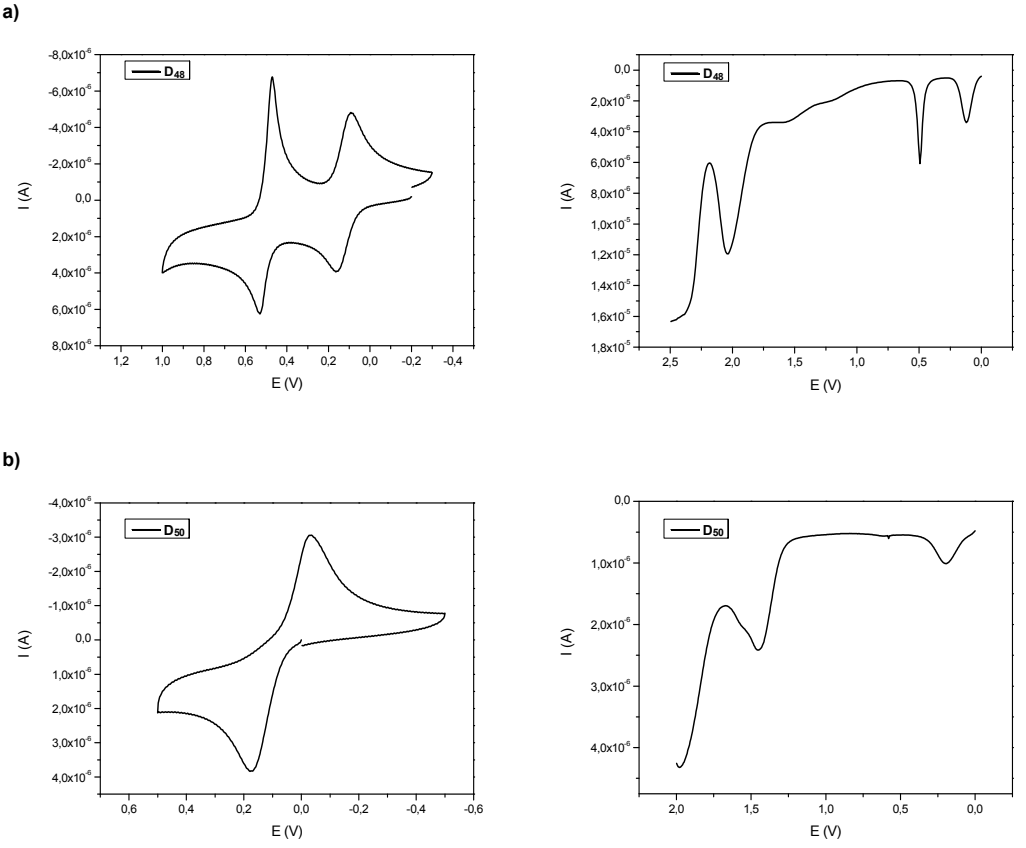


Figura 160. a) Voltamograma cíclico (*izquierda*) y de pulso diferencial (*derecha*) de una disolución del homodímero tetratiafulvalénico **D$_{48}$**, resultante del autoensamblaje supramolecular del hexapéptido ***ciclo*{[*L*-Phe-*D*-^{Me}N-γ-Ach]$_2$-*L*-Ser(TTF)-*D*-^{Me}N-γ-Ach-}** (**48**). **b)** Voltamograma cíclico *(izquierda)* y de pulso diferencial *(derecha)* de una disolución del homodímero tetratiafulvalénico π-extendido **D$_{50}$**, resultante del autoensamblaje supramolecular del hexapéptido ***ciclo*{[*L*-Phe-*D*-^{Me}N-γ-Ach]$_2$-*L*-Ser(exTTF)-*D*-^{Me}N-γ-Ach-}** (**50**).

El comportamiento de los grupos electroactivos presentes en los homodímeros α,γ-ciclohexapeptídicos (funcionalidades electroaceptoras FullPirr y PCBA para **D$_{44}$** y **D$_{46}$**, respectivamente; funcionalidades electrodadoras TTF y exTTF para **D$_{48}$** y **D$_{50}$**, respectivamente) se preserva en las correspondientes especies aceptor/dador heterodiméricas. Así, para el caso particular del heterodímero PCBA/TTF **D$_{46/48}$** se observó la aparición de seis ondas cuasi-reversibles (Figura 161, Tabla 12); cuatro ondas características de la reducción sucesiva

[633] Dicha onda reversible de oxidación es característica del sistema exTTF. Para más información, ver: a) Martín, N.; Ortí, E. "Quinonoid π-extended tetrathiafulvalenes (TTFs)". En *Handbook of advanced electronic and photonic materials and devices [Vol. 3]*; Ed. H. S. Nalwa; Academic Press: San Diego (Estados Unidos), **2001**, 245-265. b) Martín, N.; Sánchez, L.; Seoane, C.; Ortí, E.; Viruela, P.; Viruela, R. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 1268-1279.

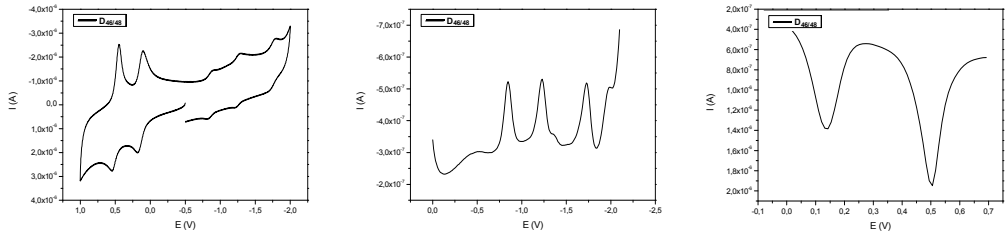


Figura 161. Voltamograma cíclico *(izquierda)* y de pulso diferencial (*medio*, zona comprendida desde -2.5 a 0 V; *derecha*, zona comprendida desde 0 a +0.7 V) de una disolución de heterodímero **$D_{46/48}$**.

de la unidad [60]fullereno para dar lugar a la formación de las distintas especies aniónicas [monoanión C_{60}^{-} (E^1_{red} = -0.84 V), dianión C_{60}^{2-} (E^2_{red} = -1.23 V), trianión C_{60}^{3-} (E^3_{red} = -1.73 V), tetraanión C_{60}^{4-} (E^4_{red} = -2.00 V)], y dos ondas características de la oxidación de la unidad de TTF para dar lugar a la formación de las especies catión radical [($TTF^{\bullet+}$); E^1_{ox} = +0.14 V] y dicatión [(TTF^{2+}); E^2_{ox} = +0.51 V]. Cabe destacar que los picos de oxidación presentan un pequeño desplazamiento anódico (~ 10-20 mV) respecto a los pares $TTF/TTF^{\bullet+}$ y $TTF^{\bullet+}/TTF^{2+}$ del ensamblaje homodimérico **D_{48}** (E^1_{ox} = +0.12 V; E^2_{ox} = +0.50 V). Este desplazamiento puede ser consecuencia del establecimiento de una interacción intramolecular electrónica débil entre las funcionalidades TTF y C_{60} en el estado fundamental. En el caso del heterodímero PCBA/exTTF **$D_{46/50}$** se pudo observar la aparición de cuatro ondas cuasi-reversibles (Figura 162, Tabla 12); tres ondas de reducción de C_{60} que resultan de la formación de las diferentes especies aniónicas [monoanión C_{60}^{-} (E^1_{red} = -0.93 V), dianión C_{60}^{2-} (E^2_{red} = -1.30 V), trianión C_{60}^{3-} (E^3_{red} = -1.76 V)], y una onda de oxidación correspondiente a la formación de la especie dicatiónica [($exTTF^{2+}$); E^1_{ox} = +0.22 V]. De nuevo, se observa un desplazamiento anódico (~ 50 mV) — mucho más acusado que en el caso del heterodímero **$D_{46/48}$** — respecto al par $exTTF/exTTF^{2+}$ del ensamblaje homodimérico **D_{50}** (E^1_{ox} = +0.17 V) (Figura 163, Tabla 12), lo que viene a significar nuevamente la presencia de una interacción electrónica débil que tiene lugar a través del espacio entre las funcionalidades exTTF y C_{60} — presentes en cada una de las subunidades α,γ-ciclohexapeptídicas — en el estado fundamental. La observación de un mayor desplazamiento en la ondas de oxidación respecto a las del heterodímero PCBA/TTF **$D_{46/48}$** (+50 mV *vs* +10-20 mV) debe ser consecuencia de la mayor capacidad electrodadora que presenta el grupo tetratiafulvaleno π-extendido, por lo que la transferencia electrónica ha de ser mucho más eficiente en el heterodímero PCBA/exTTF **$D_{46/50}$**.

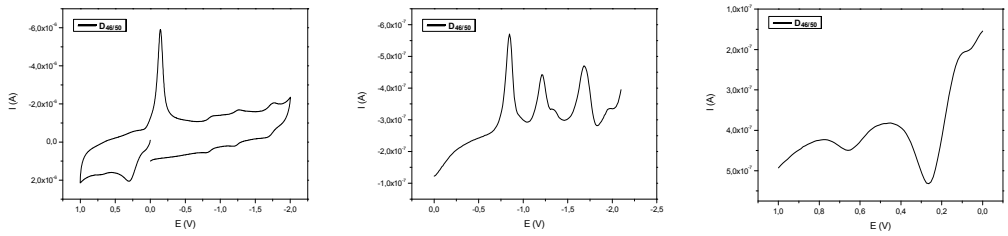


Figura 163. Voltamograma cíclico *(izquierda)* y de pulso diferencial (*medio*, zona comprendida desde -2.5 a 0 V; *derecha*, zona comprendida desde 0 a +1.0 V) de una disolución de heterodímero **$D_{46/50}$**.

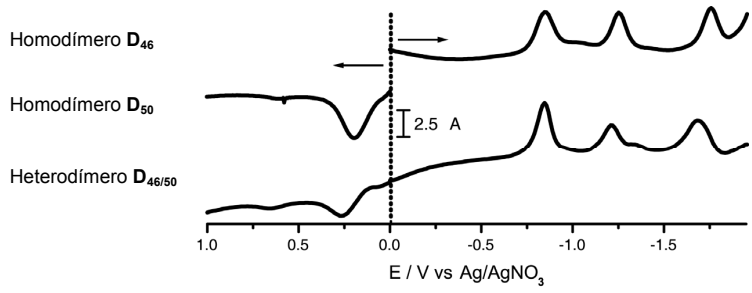


Figura 163. Voltamogramas de pulso diferencial de **D$_{46}$**, **D$_{50}$** y **D$_{46/50}$**. Dicha comparativa permite observar claramente un desplazamiento anódico (~ 50 mV) en la onda de oxidación del heterodímero **D$_{46/50}$** respecto al par exTTF/exTTF^{2+} del homodímero **D$_{50}$**.

La clara evidencia de una interacción dador/aceptor entre las unidades foto- y redox-activas presentes en las cadenas laterales de las especies heterodiméricas hizo que nos planteásemos llevar a cabo el estudio dinámico de los diferentes procesos electrónicos que tienen lugar en los sistemas α,γ-ciclohexapeptídicos homo- y heterodiméricos mediante la utilización de herramientas basadas en técnicas espectroscópicas de fluorescencia y de absorción transitoria.[600]

17.3. ESTUDIOS DE FLUORESCENCIA

Inicialmente se realizaron diferentes experimentos de fluorescencia en estado estacionario con las especies homo- (**D$_{46}$**, **D$_{48}$** y **D$_{50}$**) y heterodiméricas (**D$_{46/48}$** y **D$_{46/50}$**) previamente preparadas. De este modo, se pudieron probar distintos disolventes en los que la formación de los enlaces de hidrógeno tiene lugar habitualmente de forma adecuada, como pueden ser cloroformo, diclorometano, tetrahidrofurano, *o*-diclorobenceno o tolueno.[634] Los beneficios principales de esta variación de disolvente son el control sobre la brecha de energía libre para los procesos de transferencia de carga fotoinducida (PET). Así, en disolventes más polares,[635] prevalece una mejor solvatación de las entidades cargadas — tales como aniones radical fullereno ($C_{60}^{\bullet -}$) y cationes radical tetratiafulvaleno (TTF$^{\bullet +}$, exTTF$^{\bullet +}$) — y, posteriormente se disminuye la energía de los pares ion-radical relativa a la del estado fundamental singlete. Cabe destacar que los mejores resultados fueron obtenidos empleando disolventes clorados como disolvente, por lo que decidimos emplear fundamentalmente diclorometano y cloroformo como medio para la realización de nuestras medidas de fluorescencia.

Una vez optimizadas las condiciones de estudio, se procedió a la realización de relevantes experimentos de fluorescencia que nos permitiesen comprender mucho mejor los distintos fenómenos fotofísicos que tienen lugar en los sistemas supramoleculares α,γ-ciclopeptídicos diseñados.

[634] Los estudios en tolueno no fueron completamente satisfactorios, ya que el α,γ-ciclopéptido fullerénico **46** no es soluble en dicho disolvente.
[635] Los disolventes más polares amplifican la extinción de la fluorescencia del fullereno.

Las interacciones débiles tipo enlace de hidrógeno que se establecen entre cada una de las unidades α,γ-ciclopeptídicas que componen los ensamblajes heterodiméricos emergen como un medio eficaz para mantener las funcionalidades dadoras (TTF, exTTF) y aceptoras de electrones (C_{60}) en posiciones predeterminadas espacialmente, facilitando así su acoplamiento (*coupling*) electrónico de forma adecuada, lo que debe repercutir positivamente en el posterior fenómeno de transferencia de electrones fotoinducida. Es por ello que se hace necesario un estudio mucho más profundo sobre esta interacción entre grupos foto- y redox activos.

La combinación de las unidades α,γ-ciclopeptídicas constituidas por funcionalidades electroaceptoras C_{60} (**46**) y electrodadoras TTF (**48**) o exTTF (**50**) — para dar lugar a los correspondientes heterodímeros $\mathbf{D_{46/48}}$ y $\mathbf{D_{46/50}}$, respectivamente — permitió observar la presencia de fenómenos de transferencia electrónica fotoinducida (PET) mediante medidas de extinción (*quenching*) de la fluorescencia en estado estacionario (Figura 164). Así por ejemplo,

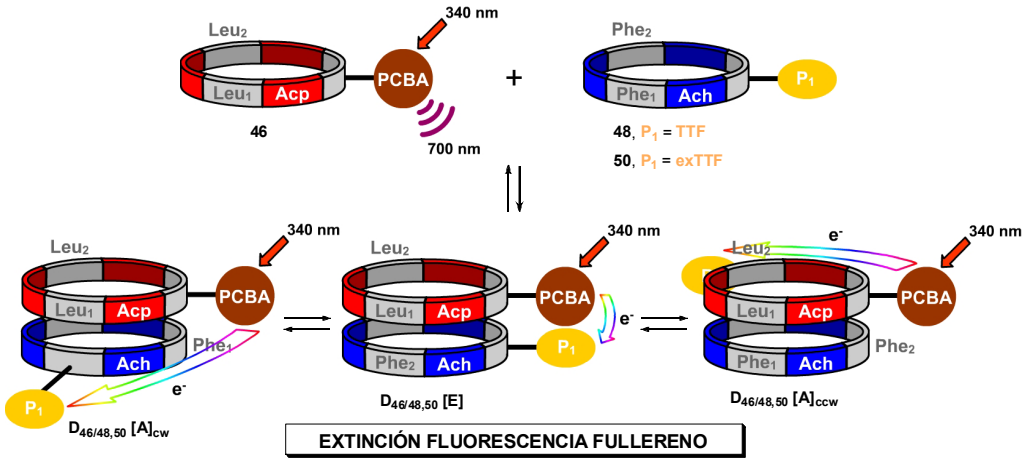


Figura 164. Formación preferencial de los heterodímero α,γ-ciclohexapeptídico $\mathbf{D_{46/48}}$ y $\mathbf{D_{46/50}}$. De manera resaltada se muestran los diferentes procesos intramoleculares de PET para cada uno de los confórmeros rotacionales.

en la figura 165 se recogen los espectros de emisión de fluorescencia de una disolución del macrociclo fullerénico **46** en CH_2Cl_2 obtenidos tras la adición de cantidades crecientes del derivado π-extendido tetrafulvalénico **50**.[636] De este modo, se observa como el pico de fluorescencia característico de la unidad [60]fullerénica situado a 700 nm se extingue (*quenching*) como consecuencia del proceso de heterodimerización. La desactivación de la fluorescencia en disolventes polares es atribuida a un proceso de transferencia electrónica intramolecular que desactiva el estado excitado (^{1}*C_{60}) y da lugar a un estado de separación de cargas ($C_{60}^{\bullet-}$ exTTF$^{\bullet+}$) con un tiempo de vida en la escala del subnanosegundo.[637,638]

[636] Cabe resaltar que el dador de electrones tetratiafulvalénico (TTF, exTTF) presenta una absorción mucho más débil en la región visible que el núcleo de fullereno (C_{60}), lo que provoca que, bajo fotoexcitación en el rango de 300-400 nm, se obtenga exclusivamente poblaciones de estado excitado singlete del [60]fullereno (< 95%).
[637] Para una disolución dada, se sabe que la intensidad de fluorescencia es proporcional a la intensidad de la luz de excitación y al coeficiente de extinción molar (ε). Dado que estos parámetros se mantuvieron constantes, es concebible atribuir la disminución de la intensidad de fluorescencia a la extinción reductora del estado excitado singlete del [60]fullereno por la unidad de tetratiafulvaleno (TTF, exTTF) a través de la transferencia de electrones.
[638] Williams, R. M.; Zwier, J. M.; Verhoeven, J. W. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 4093-4099.

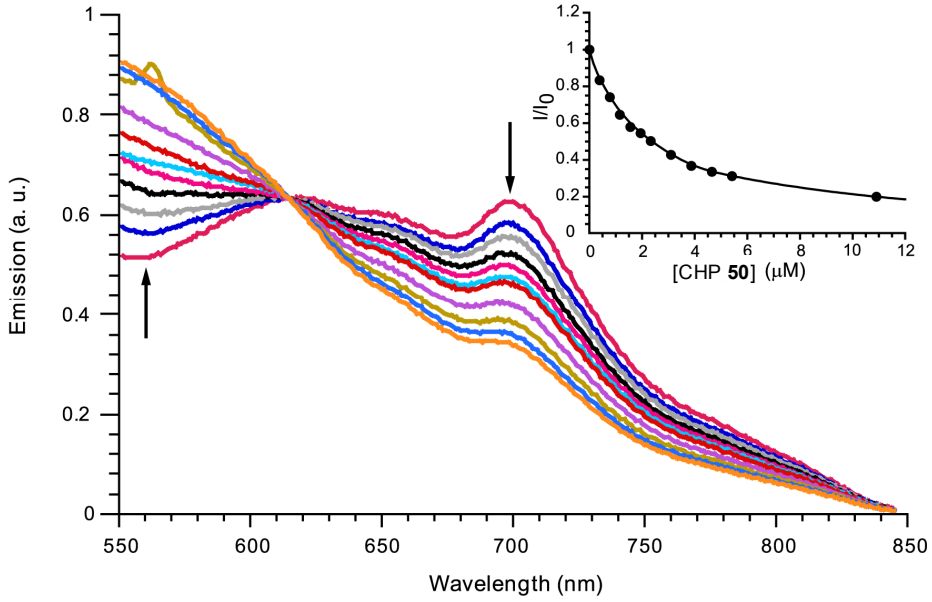


Figura 165. Cambios espectrales en la emisión de fluorescencia de una disolución 4.4 μM de ***ciclo*{[*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp]$_2$-*L*-Lys(PCBA)-*D*-^{Me}N-γ-Acp-} (46)** en CH_2Cl_2 (longitud de onda de excitación de 340 nm, T = 298 K) en presencia de diferentes equivalentes (desde 0 a 2.4 eq.) de ***ciclo*{[*L*-Phe-*D*-^{Me}N-γ-Ach]$_2$-*L*-Ser(exTTF)-*D*-^{Me}N-γ-Ach-} (50)**, corroborando la formación del correspondiente heterodímero **$D_{46/50}$**. La gráfica insertada en la parte superior derecha muestra la valoración (relación de I/I_0 frente a [**50**]) y el ajuste necesarios para el cálculo de K_a. Todos los espectros fueron normalizados para llevar a cabo la representación gráfica.

Hemos empleado la dependencia de la intensidad de fluorescencia con la concentración del α,γ-ciclohexapéptido **50** para proceder al cálculo de la constante de asociación correspondiente al proceso de heterodimerización que conduce a la formación de la especie **$D_{46/50}$**. En base a las mediciones realizadas, hemos podido determinar un valor de K_a en CH_2Cl_2 de 1.2×10^6 M^{-1} mediante análisis no lineal de ajuste por mínimos cuadrados (Figura 165, gráfica insertada) a la ecuación 11,[597b,639,640]

$$\frac{I_F}{I_A} = 1 - \frac{1}{2C_D}\left[\left(C_D + C_A + \frac{1}{K_a}\right) - \sqrt{\left(C_D + C_A + \frac{1}{K_a}\right)^2 - 4C_A C_D}\right] \quad \text{(Ecuación 11)}$$

siendo I_F la intensidad de emisión de fluorescencia observada, I_A la intensidad de emisión de fluorescencia del aceptor (C_{60}), C_D la concentración total de la especie dadora (TTF, exTTF), C_A la concentración total de la especie aceptora y K_a la constante de asociación.

Los resultados obtenidos para la especie heterodimérica **$D_{46/48}$** fueron análogos a los anteriores, mostrando de nuevo una disminución evidente en la banda de emisión del C_{60} correspondiente a un fenómeno de transferencia electrónica intramolecular fotoinducida.[636]

[639] Diploma de Wolfgang Seitz - "Photoinduzierter elektronentransfer in supramolekularen elektron-donor-akzeptor assoziaten" [*Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg*, **2006**].
[640] Normalmente, para ser más precisos, multiplicamos el término de la derecha por 1/3, ya que se supone que solo el isómero rotacional eclipsado (**D [E]**) conduce a procesos de transferencia electrónica fotoinducida, tal y como veremos a continuación.

Dicha extinción de la fluorescencia resulta ser menos acusada que en el caso del heterodímero **$D_{46/50}$**, debido fundamentalmente a que el TTF es peor dador de electrones que el exTTF, lo que implica que la transferencia de electrones también será menos eficiente. De nuevo, el ajuste por mínimos cuadrados a la ecuación 11 de las mediciones de fluorescencia efectuadas permitió determinar una constante de asociación en CH_2Cl_2 superior a 10^6 M^{-1}.

Los estudios de fluorescencia en estado estacionario nos han permitido corroborar la presencia de un mecanismo de transferencia electrónica a través del espacio (intramolecular), en el que los grupos dador y aceptor de electrones se encuentran situados de manera muy próxima el uno al otro.[641] Esta observación confirma al modelo heterodimérico α,γ-ciclopeptídico como responsable del fenómeno de transferencia electrónica fotoinducida, además de aportar una nueva evidencia de la gran estabilidad que presentan las especies heterodiméricas frente a las homodiméricas.

Decidimos a continuación llevar a cabo la caracterización completa de la dinámica de los procesos que tienen lugar en el equilibrio, empleando para ello técnicas de fluorescencia con resolución temporal (Figura 166, Tabla 13).[305,460] Así, la irradiación de diferentes disoluciones heterodiméricas α,γ-ciclohexapeptídicas (**$D_{46/48}$** y **$D_{46/50}$**) a la longitud de onda de

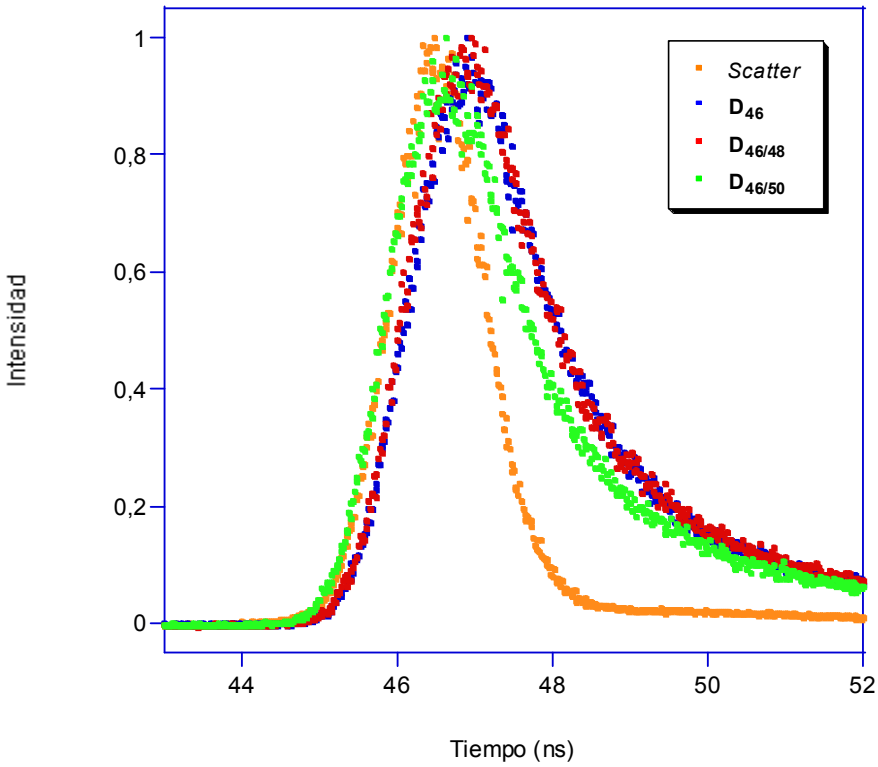


Figura 166. Estudio del decaimiento de la fluorescencia en $CHCl_3$ (25 ºC) de: **a)** una disolución (en azul) de ***ciclo*{[*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp]$_2$-*L*-Lys(PCBA)-*D*-^{Me}N-γ-Acp-} (46)** que se autoensambla para dar lugar al correspondiente homodímero **D_{46}**; **b)** una disolución (en rojo) de heterodímero ciclohexapeptídico **$D_{46/48}$**; **c)** una disolución (en verde) de heterodímero ciclohexapeptídico **$D_{46/50}$**. En naranja se muestra la dispersión (*scatter*) del equipo de medida.

[641] La estimación precisa de la mínima distancia entre las funcionalidades dador y aceptor resulta especialmente dificultosa debido a la alta flexibilidad que presenta cada componente.

Tabla 13. Tiempos de vida (τ_1 y τ_2) resultantes del análisis mediante decaimiento de la fluorescencia de diversas disoluciones de estructuras homo- y heterodiméricas en $CHCl_3$ (sombreado azul claro) y CH_2Cl_2 (sombreado rosa). R representa el error en el ajuste.

Compuesto	τ_1[a]	τ_2	R	τ_1	τ_2	R
D_{46}	1.320	0.200	1.011			
$D_{46/48}$	1.385	0.151	0.979	1.564	0.230	1.068
$D_{46/50}$	1.427	0.030	0.988			

[a] Los tiempos de vida están expresados en ns

excitación del fullereno (337 nm) permitió observar decaimientos de fluorescencia a la longitud de onda de emisión del fullereno (700 nm) que se ajustan a un modelo biexponencial con dos tiempos de vida diferentes de ~ 1.4 ns (τ_1 = 1.38 ns para el homodímero **$D_{46/48}$**; τ_1 = 1.43 ns para el heterodímero **$D_{46/50}$**) y < 0.2 ns (τ_2 = 0.15 ns para el homodímero **$D_{46/48}$**; τ_2 = 0.03 ns para el heterodímero **$D_{46/50}$**), los cuales se corresponden con dos procesos distintos que muestran una relación de poblaciones de ~ 2 : 1 (Figura 166, Tabla 13). El tiempo más largo se asignó a un proceso de cruce de sistemas (ISC) de tipo singlete-triplete (S→T) — el cual ocurre en una escala de tiempos similar al del homodímero **D_{46}** (τ_1 = 1.32 ns) —, mientras que el tiempo más corto se asocia al fenómeno de separación de cargas resultado de la transferencia de electrones. De esta forma, se pudo establecer que el proceso de transferencia electrónica fotoinducida debe de estar probablemente limitado a las especies heterodiméricas eclipsadas (**D [E]**), ya que los dos diastereoisómeros heterodiméricos alternados (**D $[A]_{cw}$** y **D $[A]_{ccw}$**) presentan distancias C60···(ex)TTF demasiado largas (> 15 Å) como para dar lugar al fenómeno de PET intrahíbrido (Figura 167).

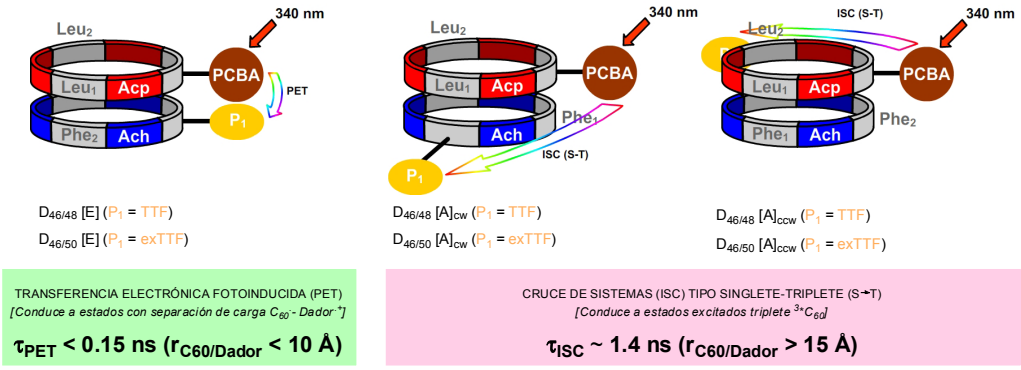


Figura 167. Procesos intramoleculares que tienen lugar en los heterodímeros dador/aceptor **$D_{46/50}$** y **$D_{48/50}$** entre una unidad electrodadora tetratiafulvalénica (TTF, exTTF) y otra electroaceptora C_{60}. Los isómeros rotacionales alternados (**D $[A]_{cw}$** y **D $[A]_{ccw}$**) dan lugar a transiciones no radiactivas de cruce de sistemas (ISC) de tipo singlete-triplete (S→T) que presentan tiempos de vida largos de ~ 1.4 ns, mientras que el fenómeno de separación de cargas resultado de la transferencia electrónica en el isómero rotacional eclipsado (**D [E]**) resulta ser mucho más rápido (< 0.15 ns).

Para confirmar el comportamiento fluorescente descrito previamente — al igual que las evidencias de interacciones dador/aceptor entre las cadenas laterales foto- y redox activas de los heterodímeros $\mathbf{D_{46/50}}$ y $\mathbf{D_{46/50}}$ — decidimos emplear técnicas espectroscópicas de absorción transitoria con las diferentes díadas dador/aceptor (C_{60}).[600] Este hecho debe permitirnos tanto el establecimiento de dinámicas intra- e intermoleculares — tales como las velocidades de recombinación de cargas — como la identificación del producto en constante evolución desde la desactivación inicial del fullereno, sugerido por los experimentos de fluorescencia realizados.

17.4. ESTUDIOS FOTOFÍSICOS

17.4.1. ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN TRANSITORIA

Introducción

La espectroscopia de absorción transitoria [TAS (*transient absorption spectroscopy*)] se considera una extensión de la espectroscopia de absorción.[642] En este caso, la absorbancia de una muestra — tanto para una longitud de onda particular como para un rango de longitudes de onda — se mide en función del tiempo, justo después de la excitación por un destello de luz. En un experimento típico, tanto la luz de excitación ["bomba" (*pump*)] como la luz empleada para medir la absorbancia [“sonda” (*probe*)] son generadas mediante un láser pulsado.[643]

La técnica de absorción transitoria permite estudiar un gran número de fenómenos fotofísicos, tales como las reacciones químicas fotoinducidas o las transferencias de energía de excitación. Además, juegan un papel fundamental en la caracterización de las especies que intervienen en los procesos de transferencia energética y/o electrónica.[642]

Instrumentación

Las medidas de absorción transitoria se llevan a cabo con pulsos de láser femtosegundo (fs) mediante una técnica bomba-sonda (*pump-probe*) que permite el estudio de reacciones de transferencia de electrones ultrarrápidas (Figura 168). El pulso de la bomba se encarga de poblar un estado electrónico térmicamente desocupado que puede actuar como dador de electrones, mientras que el pulso de la sonda se dirige a la muestra con un tiempo de retardo (*delay*) creciente con respecto al pulso de la bomba. La función de correlación cruzada obtenida contiene información relativa al decaimiento (descomposición) dependiente del tiempo de la población transitoria generada por el pulso de la bomba en la muestra. La absorción óptica del estado fundamental debe tener al menos un poco de solapamiento espectral con la absorción de los estados de los productos. El retardo variable de tiempo entre la bomba y el

[642] Para más información sobre espectroscopía de absorción transitoria, ver: a) Berera, R.; van Grondelle, R.; Kennis, J. T. M. *Photosynth. Res.* **2009**, *101*, 105-118. b) Foggi, P.; Bussotti, L.; Neuwahl, F. V. R. *Int. J. Photoenergy* **2001**, 3, 103-109.

[643] Si el proceso en estudio es lento, entonces el tiempo de resolución se puede obtener mediante la utilización de un haz de prueba continuo (no pulsado), mientras que si el proceso en estudio es muy rápido, se necesitan pulsos de láseres ultracortos (del orden de los ns y fs).

pulso de la sonda se consigue mediante una fase de posicionamiento lineal muy precisa que contiene un espejo (***etapa de retardo***). Al mover el espejo, se observa como cambia la longitud del camino que sigue la luz. De este modo, puesto que la velocidad de la luz es una constante, el tiempo de llegada del pulso a la muestra también varía.[644] La señal que finalmente se mide es la que corresponde al tiempo promedio de la amplitud del haz de sonda después de que haya pasado a través de la muestra. La luz transmitida se detecta con un fotodiodo lento. Además, se emplea un monocromador para separar la luz no deseada del pulso de la bomba. La interrupción de uno de los haces [mediante un ***cortador*** (*chopper*)] y la utilización de la técnica de bloqueo para la detección son factores esenciales a tener en cuenta para incrementar la sensibilidad de la medición. La información sobre la evolución temporal del estado excitado que nos interesa es recogida mediante la variación del solapamiento temporal entre la bomba y el pulso de la sonda a través de la etapa de retardo y la medición del tiempo promedio de transmisión de la muestra en cada posición del retardo. Así, finalmente se obtiene una representación del tiempo de retardo frente a la absorción/transmisión.

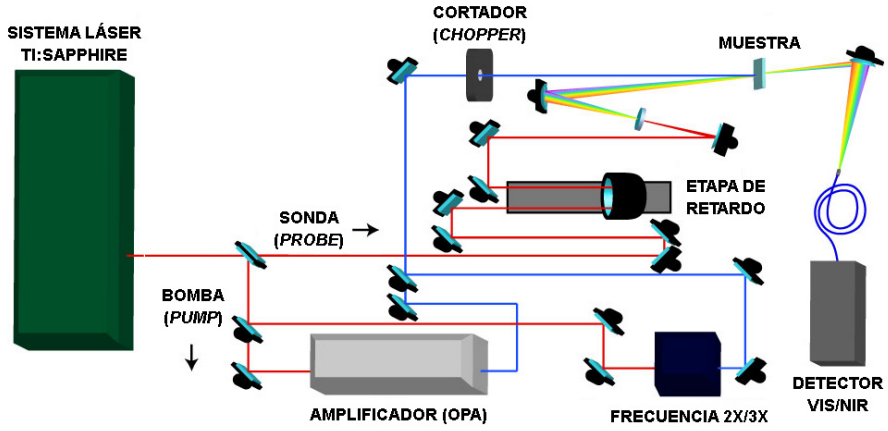


Figura 168. Representación esquemática de un sistema femtosegundo de absorción transitoria, en el que se ilustran sus componentes principales. Los pulsos de la bomba y de la sonda permiten medir la absorbancia de un sistema en el estado fundamental (Abs_{sonda}) y después de la excitación por la bomba ($Abs_{bomba+sonda}$) con tiempos de resolución por debajo de la escala del picosegundo.

Condiciones

El estudio de las propiedades fotofísicas de los diferentes sistemas supramoleculares α,γ-cíclicos se llevó a cabo mediante análisis femtosegundo y nanosegundo de absorción transitoria.[600,645] Para ello, se empleó un sistema láser Ti:Sapphire (Modelo CPA 2101, Clark-MXR Inc.). En el caso particular de los experimentos femtosegundo, la fotoexcitación se realizó a una longitud de onda de 387 nm empleando un pulso láser ultracorto de 150 fs. Por otra parte, las medidas nanosegundo conllevaron una fotoexcitación a 355 nm mediante un pulso láser adecuado del orden de los nanosegundos.

[644] Un desplazamiento del espejo igual a 1 micra (μ) genera un tiempo de retardo de 2 × 3.3fs (t = L / c; siendo L: longitud, c: velocidad de la luz).
[645] Estudio realizado en el grupo del Prof. Dirk M. Guldi [Universität Erlangen-Nürnberg] durante una estancia predoctoral.

Resultados

Hemos de mencionar que los estudios básicos realizados con diferentes muestras homo- y heterodiméricas α,γ-ciclohexapeptídicas mostraron resultados muy reveladores. Los datos obtenidos para el macrociclo fullerénico **D$_{46}$** y el derivado π-extendido tetrafulvalénico **D$_{50}$**, así como para el ensamblaje heterodimérico resultante de su adecuada combinación (**D$_{46/50}$**), mostraron de forma inequívoca la presencia de las señales características de cada una de las especies que se producen en disolución tras la fotoexcitación. Desafortunadamente, en el caso del derivado tetratiafulvalénico **D$_{48}$** y del heterodímero **D$_{46/48}$** no se pudo observar claramente los máximos de fluorescencia característicos de los fotoproductos que entran en juego.[646] Es por ello que decidimos centrar nuestros esfuerzos principales en el análisis espectroscópico de absorción transitoria del heterodímero dador/aceptor **D$_{46/50}$**, así como la de los correspondientes homodímeros **D$_{46}$** y **D$_{50}$**.[600]

Teniendo en cuenta estas consideraciones, se llevó a cabo inicialmente el estudio espectroscópico femtosegundo de absorción transitoria del homodímero metanofullerénico **D$_{46}$**. Para ello, se procedió a la fotoexcitación a 387 nm de la funcionalidad [60]fullerénica aceptora de electrones mediante aplicación de pulsos láser de 150 fs. De este modo, se pudo observar como el espectro obtenido para el homodímero **D$_{46}$** exhibía claramente un máximo característico de fluorescencia transitoria a ~ 900 nm — el cual se corresponde con el estado excitado singlete del [60]fullereno (^{1}*C$_{60}$) de +1.76 eV —, el cual evoluciona a través de un cruce de sistemas (transición S→T lenta; ~ 10^8 s^{-1}) para dar lugar a otro máximo transitorio a 720 nm— correspondiente con el estado excitado triplete del [60]fullereno (^{3}*C$_{60}$) de larga vida y sensible al oxígeno (Figura 169 y 170).

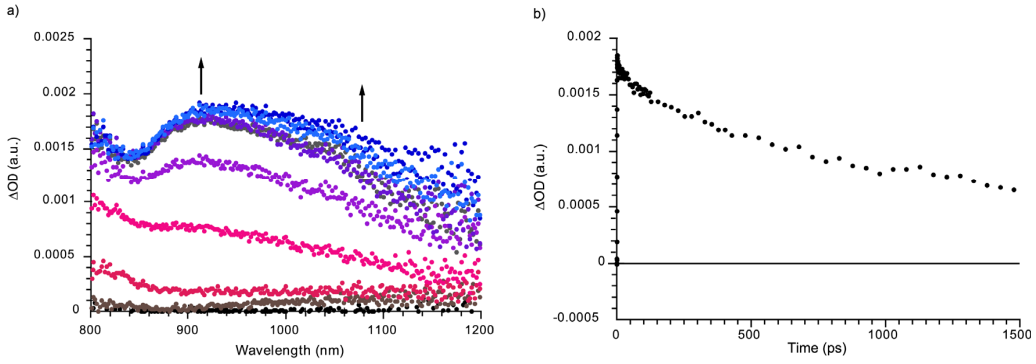


Figura 169. a) Espectros de absorción diferencial (zona del visible) obtenidos mediante fotólisis *flash* con resolución temporal de femtosegundo (longitud de onda de excitación de 387 nm, T = 298 K) de una disolución del homodímero **D$_{46}$** en CH_2Cl_2 saturado de nitrógeno con varios tiempos de espera comprendidos entre 0 y 5 ps. Las flechas indican la evolución de los cambios diferenciales. **b)** Perfiles de tiempo de absorción de los espectros mostrados anteriorrmente [Figura 169a] a 900 nm, en donde se observa la formación y decaimiento del fullereno fotoexcitado.

[646] En el caso del homodímero **D$_{48}$** — y especialmente del heterodímero **D$_{46/48}$** —, la visualización de las señales características resulta extremadamente compleja. Sin embargo, tanto el homodímero **D$_{50}$** como el heterodímero **D$_{46/50}$** permiten visualizar sus picos característicos de forma clara, lo que facilita la caracterización de cada señal de forma precisa. Este hecho puede ser debido al mayor carácter dador que presenta presenta el derivado π-extendido fullerénico (exTTF) frente al tetratiafulvaleno sencillo (TTF), lo que lo hace más propicio para su utilización en sistemas supramoleculares dador/aceptor de transferencia electrónica fotoinducida.

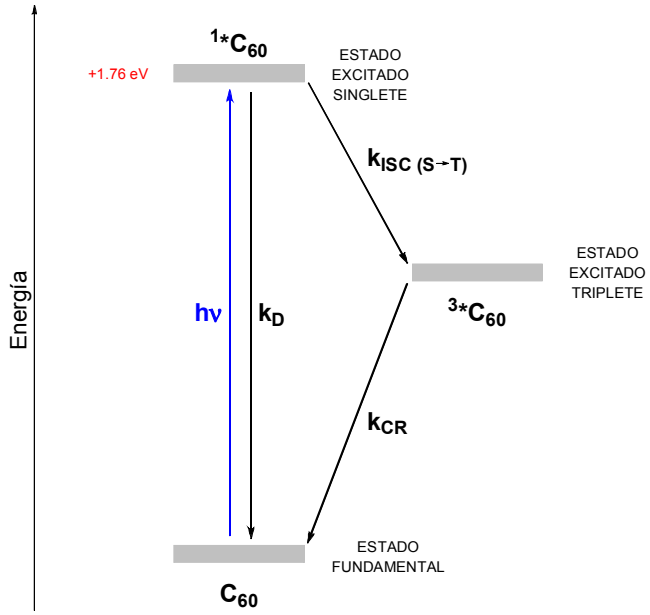


Figura 170. Diagrama energético que ilustra las posibles vías cinéticas de desactivación de las especies resultantes de la fotoexcitación a 387 nm del homodímero **D$_{46}$**.

A continuación procedimos al estudio espectroscópico femtosegundo de absorción transitoria del homodímero π-extendido tetrafulvalénico **D$_{50}$**. La fotoexcitación a 387 nm de la funcionalidad exTTF dadora de electrones mediante aplicación de pulsos láser de 150 fs no permitió observar ningún proceso considerable de separación de cargas (Figura 171 y 172). Además, se pudo comprobar que cualquier transferencia de electrones eficiente está prohibida por el corto tiempo de vida (~ 0.86 ps) de las especies transitorias que presentan un pico espectral situado a 605 nm.

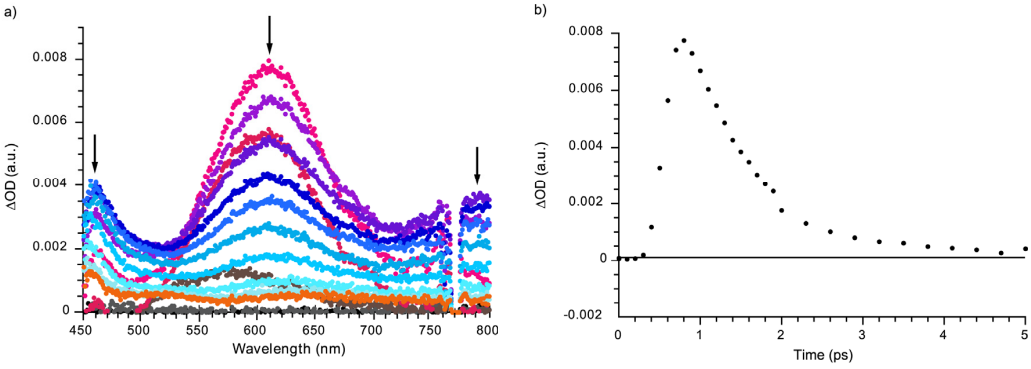


Figura 171. a) Espectros de absorción diferencial (zona del visible) obtenidos mediante fotólisis *flash* con resolución temporal de femtosegundo (longitud de onda de excitación de 387 nm, T = 298 K) de una disolución del homodímero **D$_{50}$** en CH_2Cl_2 saturado de nitrógeno con varios tiempos de espera comprendidos entre 0 y 5 ps. Las flechas indican la evolución de los cambios diferenciales. **b)** Perfiles de tiempo de absorción de los espectros mostrados anteriormente [Figura 171a] a 605 nm, en donde se observa la formación y decaimiento del exTTF fotoexcitado.

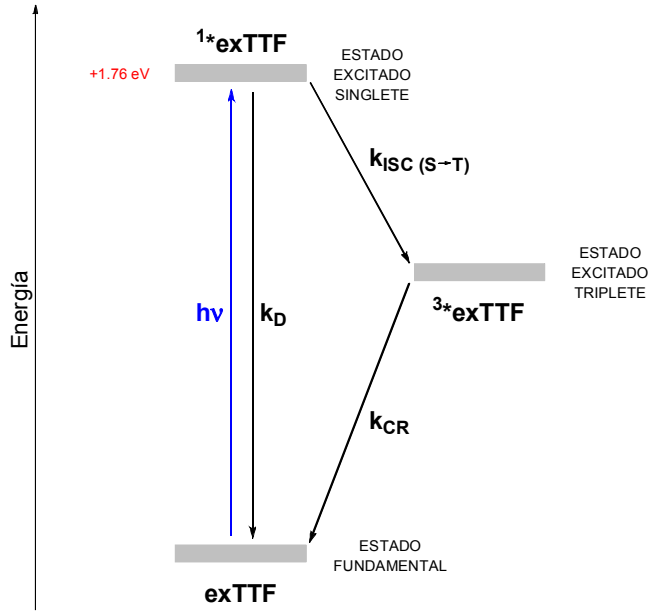


Figura 172. Diagrama energético que ilustra las posibles vías cinéticas de desactivación de las especies resultantes de la fotoexcitación a 387 nm del homodímero **D_{50}**.

Finalmente se llevó a cabo el estudio espectroscópico femtosegundo de absorción transitoria del heterodímero aceptor/dador PCBA/exTTF **$D_{46/50}$**. Para ello, se procedió de nuevo a la fotoexcitación a 387 nm de la funcionalidad [60]fullerénica aceptora de electrones mediante aplicación de pulsos láser de 150 fs. De este modo, se pudo observar inicialmente como el espectro obtenido para la especie heterodimérica **$D_{46/50}$** exhibía claramente un máximo característico de fluorescencia transitoria a ~ 900 nm — correspondiente con el estado excitado singlete del [60]fullereno (^{1}*C_{60}). Dicho estado decae muy rápidamente (~ 0.055 ns), dando lugar a la formación de un estado de par ión-radical ($C_{60}^{\bullet-}$ exTTF$^{\bullet+}$). (Figura 173 y 174). Así,

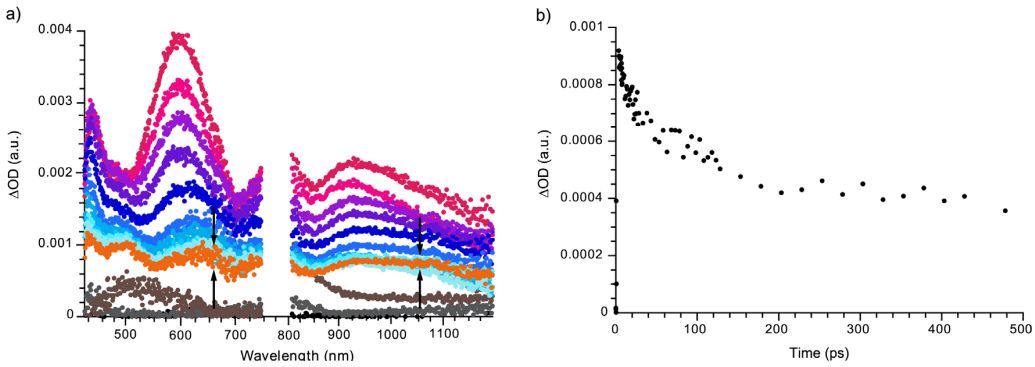


Figura 173. a) Espectros de absorción diferencial [zona del visible y del infrarrojo cercano (NIR)] obtenidos mediante fotólisis *flash* con resolución temporal de femtosegundo (longitud de onda de excitación de 387 nm, T = 298 K) de una disolución 5.0 μM del heterodímero **$D_{46/50}$** en CH_2Cl_2 saturado de nitrógeno con varios tiempos de espera comprendidos entre 0 y 200 ps. Las flechas indican las características del estado del par ión-radical. **b)** Perfiles de tiempo de absorción de los espectros mostrados anteriormente [Figura 173a] a 550 nm, en donde se observa el proceso de separación de cargas intramolecular.

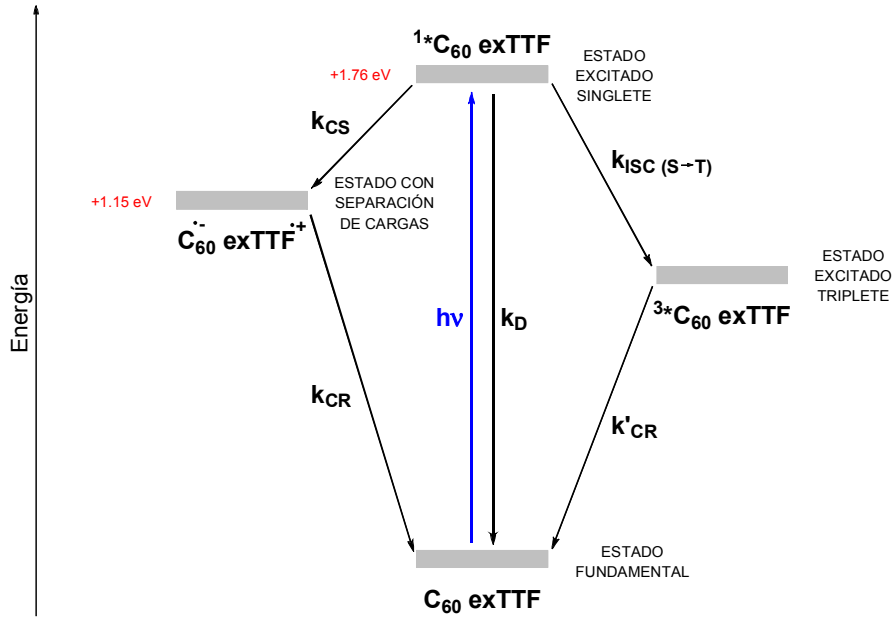


Figura 174. Diagrama energético que ilustra las posibles vías cinéticas de desactivación de las especies resultantes de la fotoexcitación a 387 nm del heterodímero **D$_{46/50}$**.

se comprobó que las características espectrales observadas a 680 y 1.040 nm se asemejaban a las "huellas dactilares" (*fingerprints*) de la especie exTTF oxidada mediante un electrón (exTTF$^{\bullet+}$) y de la especie [60]fullereno reducida mediante un electrón ($C_{60}^{\bullet-}$), respectivamente.[579b,647] Además, hemos de destacar que en la escala de tiempo de hasta 1600 ps no se observó ningún decaimiento notable de las señales características del estado de par ión-radical, por lo que se excluye así la presencia de un proceso rápido de recombinación de cargas intrahíbrido. De hecho, la separación de carga causada por la fotoexcitación de la unidad de exTTF en el heterodímero **D$_{46/50}$** — al igual que ocurría en el caso del homodímero **D$_{50}$** — es insignificante/despreciable, mientras que cualquier transferencia de electrones eficiente va a estar prohibida como consecuencia del corto tiempo de vida (~ 0.86 ps) de las especies transitorias que presentan un pico espectral a 605 nm.

El proceso de separación de carga mostrado anteriormente se encuentra presumiblemente limitado al diastereoisómero heterodimérico en disposición eclipsada **D$_{46/50}$ [E]** (Figura 167 y 175), ya que las distancias entre las unidades exTTF y C_{60} en los isómeros alternados **D$_{46/50}$ [A]$_{cw}$** y **D$_{46/50}$ [A]$_{ccw}$** ($r_{exTTF/C60}$ > 15 Å) resultan ser demasiado grandes como para promover una reacción de transferencia electrónica intrahíbrido (Figura 167). Sin embargo, los isómeros alternados dan lugar de manera eficiente a procesos singlete-triplete ($S_n \rightarrow T_n$)[648] en una escala de tiempos similar a la del homodímero **D$_{46}$** (τ = 1.4 ns). Esta hipótesis está firmemente respaldada por las medidas de tiempos de vida de la especie

[647] a) Sánchez, L.; Sierra, M.; Martín, N.; Guldi, D. M.; Wienk, M. M.; Janssen, R. A. J. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 1691-1694. b) Giacalone ,G.; Segura, J. L.; Martín, N.; Guldi, D. M. *J. Am. Chem. Soc.***2004**, *126*, 5340-5341. c) Díaz, M. C.; Herranz, M. A.; Illescas, B. M.; Martıín, N.; Godbert, N.; Bryce, M. R.; Luo, C.; Swartz, A.; Anderson, G.; Guldi, D. M. *J. Org. Chem.* **2003**, 68, 7711-7721.

[648] Los procesos de conversión singlete-triplete ($S_n \rightarrow T_m$) se corresponden con las transiciones no radiactivas desde estados singletes a estados tripletes. Dichos fenómenos pertenecen al grupo de los cruces de sistemas (ISC).

heterodimérica **$D_{46/50}$** obtenidas previamente mediante estudios de decaimiento de la fluorescencia, las cuales mostraron una relación aproximadamente 1 : 2 de dos procesos con tiempos de vida de < 0.1 y ~ 1.5 ns, respectivamente (Figura 166, Tabla 13).

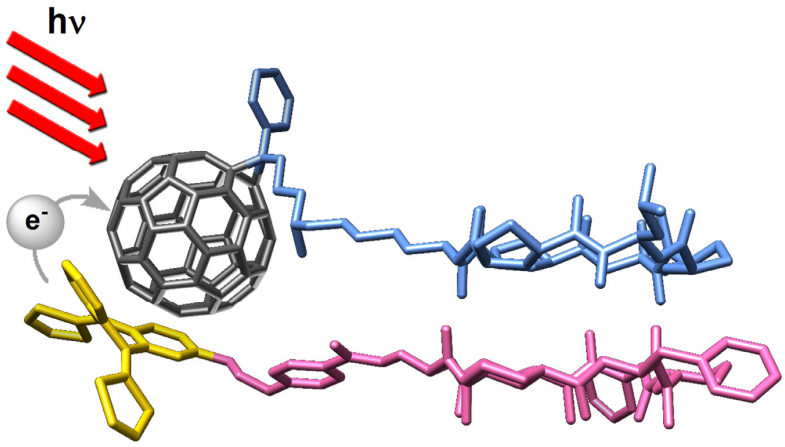


Figura 175. Modelo molecular del heterodímero α,γ-ciclohexapeptídico **$D_{46/50}$ [E]**, en el que se muestra la transferencia electrónica fotoinducida facilitada por la proximidad que existe entre las unidades de dador (exTTF) y aceptor (C_{60}).

La formación de dos fotoproductos distintos — uno correspondiente al isómero en disposición eclipsada (**$D_{46/50}$ [E]**) y otro correspondiente a los isómeros en disposición alternada (**$D_{46/50}$ [A]**)[649] — se corroboró mediante experimentos de espectroscopía de absorción transitoria realizados en la escala de tiempos del nanosegundo, en la cual se pudo investigar de manera exhaustiva el proceso de recombinación de carga consecuencia de la fotoexcitación del heterodímero **$D_{46/50}$** a una longitud de onda de 355 nm (Figura 176). Los espectros de absorción transitoria obtenidos mostraron señales características a aproximadamente 360 y 720 nm que son atribuibles al estado excitado triplete del fullereno (^{3}*C_{60}) — el cual

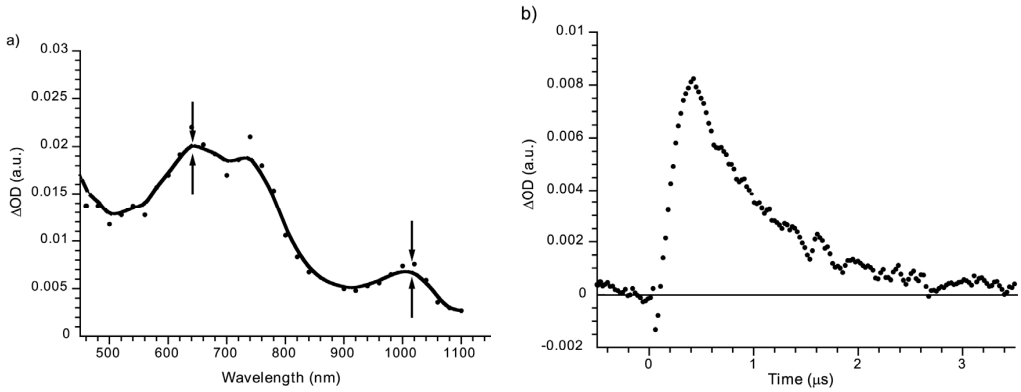


Figura 176. a) Espectro de absorción diferencial [zona del visible y del infrarrojo cercano (NIR)] obtenido mediante fotólisis *flash* con resolución temporal de nanosegundo (longitud de onda de excitación de 355 nm, T = 298 K) de una disolución 5.0 μM del heterodímero **$D_{46/50}$** en CH_2Cl_2 saturado de nitrógeno con tiempo de espera de 50 ns. Las flechas indican las características del estado del par ión-radical. **b)** Perfiles de tiempo de absorción del espectro mostrados anteriormente [Figura 176a] a 1040 nm, en donde se observa el proceso de recombinación de cargas.

[649] Tanto el diastereoisómero **$D_{46/50}$ $[A]_{cw}$** como el **$D_{46/50}$ $[A]_{ccw}$**.

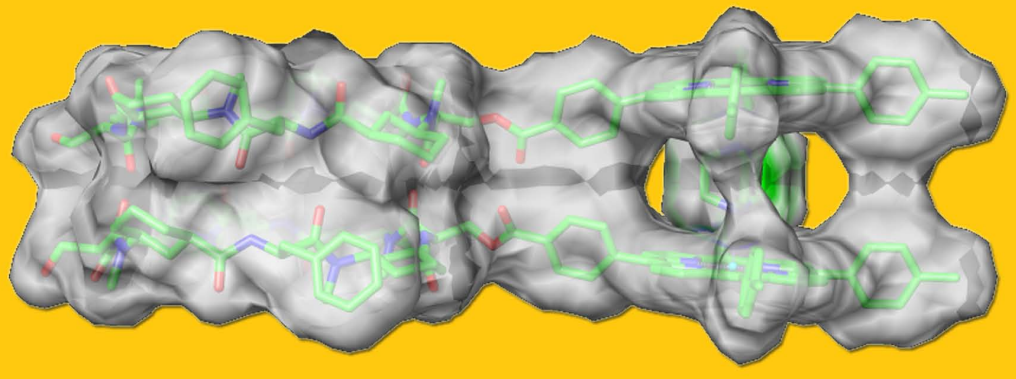
presumiblemente corresponde a los isómeros rotacionales heterodiméricos en disposición alternada **$D_{46/50}$ [A]$_{cw}$** y **$D_{46/50}$ [A]$_{ccw}$** — , y picos espectrales a 660 y 1.040 nm que se atribuyen a las especies exTTF$^{\bullet+}$ y $C_{60}^{\bullet-}$, respectivamente (Figura 176a).[650] Los perfiles de decaimiento (desintegración) de estos espectros implican tiempos de vida de 25 μs para el estado triplete (que decae al estado fundamental singlete) y 0.86 μs para el estado de pares de iones radicales (Figura 176b).

En resumen, hemos preparado una nueva clase de nanohíbridos bioinspirados (**$D_{46/48}$** y **$D_{46/50}$**) constituidos por una unidad α,γ-ciclopeptídica que contienen funcionalidades dadoras (TTF o exTTF) conectadas mediante un sistema de enlaces de hidrógeno tipo lámina β a otras unidades α,γ-ciclopeptídicas que presentan una funcionalidad fotoactiva aceptora de electrones (C_{60}). En el caso particular del híbrido π-extendido tetratiafulvalénico (**$D_{46/50}$**), se observó como la fotoexcitación de los cromóforos de fullereno a su estado excitado singlete de 1.76 eV es seguida — en una de las tres formas de **$D_{46/50}$**; concretamente en el isómero rotacional eclipsado **$D_{46/50}$ [E]** — por una proceso de separación de cargas que genera un estado de par ión-radical de +1,15 eV. En promedio, este estado perdura durante al menos 1.5 μs, lo que es comparable al rendimiento de otros híbridos no covalentes basados en C_{60} (en los cuales la transferencia de electrones se produce básicamente a través de interacciones a través del espacio),[527,528,597,651] y es superior al de los típicos conjugados covalentes C_{60}-exTTF.[647c,579b,629] La estructura del correspondiente heterodímero **$D_{46/50}$** debe permitir su extensión hacia la formación de una batería nanotubular a lo largo de la cual se dispongan de forma alternada, así como su utilización en el diseño de interruptores (*switchers*) moleculares basados en el control dinámico de interconversión entre el isómero electroactivo eclipsado **$D_{46/50}$ [E]** y los isómeros inactivos alternados **$D_{46/50}$ [A]$_{cw}$** y **$D_{46/50}$ [A]$_{ccw}$**.

Los estudios exhaustivos llevados a cabo sobre sistemas supramoleculares dador/aceptor α,γ-ciclopeptídicos ponen de manifiesto la importancia que adquiere el modelo dimérico en los diferentes fenómenos que pueden tener lugar tras la fotoexcitación. De esta forma, se observó como la preorganización estructural inducida por el ensamblaje heterodimérico es claramente responsable de la proximidad espacial que tiene lugar entre la unidad dadora (TTF, exTTF) y la aceptora (C_{60}) de electrones, favoreciendo así procesos de transferencia electrónica fotoinducida altamente eficientes.

La presencia de varios diastereoisómeros rotacionales hace que la eficiencia de la transferencia electrónica sea menor, ya que simplemente tenemos una especie electroactiva en la que puede tener lugar dicho proceso (**D [E]**) frente a dos especies inactivas en la que el fenómeno está geométricamente impedido (**D [A]$_{cw}$ y D [A]$_{ccw}$**). Es por ello que es necesario desarrollar novedosas estrategias que permitan la construcción de estructuras nanopeptídicas diméricas rígidas restringidas conformacionalmente, las cuales deben de favorecer la obtención exclusivamente del isómero foto- y electroactivo eclipsado.

[650] Tal y como hemos visto con anterioridad, las especies exTTF$^{\bullet+}$ y $C_{60}^{\bullet-}$ son características del proceso de separación de cargas que tiene lugar en el isómero rotacional heterodimérico en disposición eclipsada **$D_{46/50}$ [E]**.
[651] Guldi, D. M.; Rahman, G. M. A.; Ehli, C.; Sgobba, V. *Chem. Soc. Rev.* **2006**, *35*, 471-487.



α,γ-CICLOPÉPTIDOS: RESTRICCIÓN CONFORMACIONAL

En la siguiente sección de esta memoria decidimos abordar la preparación de estructuras nanopeptídicas diméricas rígidas restringidas conformacionalmente mediante la unión covalente entre subunidades y/o la coordinación con metales. De este modo, podemos disponer fácilmente de motivos sintéticos de pequeño tamaño con estructura bien definida, los cuales son capaces de realizar funciones similares a las de las complejas proteínas naturales.

La eficiencia y exquisitez exhibida por la naturaleza ha supuesto siempre un gran reto para la comunidad científica. Durante los últimos años, han sido múltiples los esfuerzos realizados en diversos campos por alcanzar un completo y profundo entendimiento del funcionamiento de los sistemas naturales con el objetivo de diseñar moléculas mucho más sencillas que posean un comportamiento análogo en su actividad.[652] Así, la diversidad estructural y funcional que caracteriza a las proteínas naturales ha servido de inspiración para el diseño *de novo* de sistemas artificiales.[653]

18. DISEÑO *DE NOVO*

La cuestión de cómo la secuencia de aminoácidos de una proteína especifica su estructura tridimensional adquiere una gran importancia. Las proteínas son tan largas y complejas que es difícil diferenciar en su secuencia los rasgos de interés que contribuyen a su estabilidad estructural y a su función. Una aproximación a este problema es el diseño *de novo* de proteínas modelo, mucho más simples que sus patrones naturales, y que ya contienen suficiente información en sus secuencias como para especificar una función dada (por ejemplo, el plegamiento en disolución acuosa y/o en membranas o la formación de canales iónicos).[653] Los motivos peptídicos diseñados proporcionan sistemas sencillos para comprender la estructura y función de las proteínas encontradas en la naturaleza. Así, un aspecto importante a tener en cuenta en el diseño de las correspondientes secuencias es el tamaño mínimo que requiere un polipéptido para adquirir la arquitectura compacta, plegada y organizada característica de las proteínas naturales.

El diseño de motivos polipeptídicos con el menor número posible de aminoácidos, estables, plegados y caracterizados estructuralmente ha sido el foco de búsqueda en muchos laboratorios en las últimas décadas.[654] La utilización de motivos secundarios peptídicos de conformación fija — tales como hélices α y láminas β — es una de las estrategias más efectivas en la construcción de sistemas peptídicos que puedan imitar tanto las propiedades estructurales como funcionales de las proteínas naturales.[655] Cabe destacar la importancia que

[652] a) Boyle, A. L.; Woolfson, D. K. *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 4295-4306. b) Masica, D. L.; Schrier, S. B.; Specht, E. A.; Gray, J. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 12252-12262. c) Hecht, M. H.; Das, A.; Go, A.; Bradley, L. H.; Wei, Y. *Protein Sci.* **2004**, *13*, 1711-1723. d) Penning, T. M. *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 2027-2046. e) Baltzner, L.; Nilsson, J. *Curr. Opin. Biotech.* **2001**, *12*, 366-360. f) Motherwell, W. B.; Bingham, M. J.; Six, Y. *Tetrahedron* **2001**, *57*, 4663-4686. g) Douglas, K. T. *Curr. Opin. Biotech.* **1992**, *3*, 370-377.

[653] *Protein engineering and design*; Eds. S. J. Park, J. R. Cochran; CRC Press: Florida (Estados Unidos), **2010**.

[654] a) Fung, S.-Y.; Yang, H.; Sadatmousavi, P.; Sheng, Y.; Mamo, T.; Nazarian, R.; Chen, P. *Adv. Funct. Mater.* **2011**, *21*, 2456-2464. b) Qiu, F.; Chen, Y.; Tang, C.; Zhou, Q.; Wang, C.; Shi, Y. K.; Zhao, X. *Macromol. Biosci.* **2008**, *10*, 1053-1059. c) Miyanishi, H.; Takahashi, T.; Mihara, H. *Bioconjug. Chem.* **2004**, *15*, 694-698. d) Villain, M.; Jackson, P. L.; Manion, M. K.; Dong, W.-Y.; Su, Z.; Fassinai, G.; Johnson, T. M.; Sakai, T. T.; Krishna, N. R.; Blalock, J. E. *J. Biol. Chem.* **2000**, *274*, 2676-2685.

[655] a) Domingues, H.; Cregut, D.; Sebald, W.; Oschkinat, H.; Serrano, L. *Nat. Struct. Biol.* **1999**, *6*, 652-656. b) Starovasnik, M. A.; Braisted, A. C.; Wells, J. A. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1997**, *94*, 10080-10085. c) Braisted, A. C.; Wells, J. A. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1996**, *93*, 5688-5692. d) Nord, K.; Nilsson, J.; Nilsson, B.; Uhlen, M.; Nygren, P. A. *Protein Eng.* **1995**, *8*, 601-608.

presenta en el diseño *de novo* de proteínas el empleo de motivos estructurales terciarios constituidos por las diferentes asociaciones de hélices α [dobles hélices α (*coiled coils*), asociaciones de tres o más helices (*bundles*),…], debido a que proporcionan un mayor entendimiento de los factores determinantes que gobiernan la estructural helicoidal y su estabilidad.[656] Uno de los autores que mejor maneja este tipo de estrategia molecular es DeGrado, que ya a partir de finales de la década de los ochenta propuso varios diseños para proteínas α helicoidales teniendo en cuenta el tipo de interacciones que las estabilizaban (Figura 177).[657,658] Pero sin duda alguna, sus trabajos más relevantes se han basado en proponer el diseño de un motivo estructural típico de las proteínas: el enrollamiento α helicoidal.[659] De este modo, en colaboración con Eisenberg, fue capaz de diseñar una proteína formada por cuatro hélices enrolladas, sobre la cual efectuó posteriormente numerosos estudios con el objetivo de lograr la caracterización de sus propiedades estructurales.[660,661]

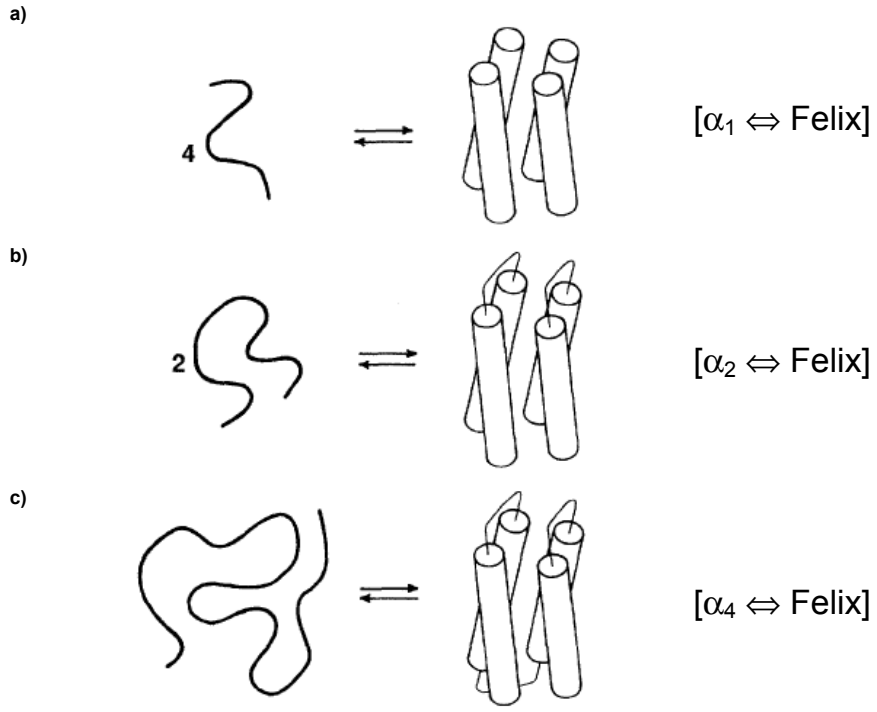


Figura 177. Representación esquemática de la aproximación incremental desarrollada por DeGrado para el diseño de una proteína constituida por la asociación de cuatro hélices [*four-helix bundle* (Felix)]. **a)** Péptido de 16 residuos (α_1) que da lugar a la asociación de cuatro hélices (formación de tetrámeros). Debido a que las hélices individuales no están unidas covalentemente unas a otras, el ensamblaje de las mismas es mediado en su totalidad por interacciones no covalentes. **b)** Péptido de 35 residuos (α_2) que dimeriza para dar lugar a la asociación de cuatro hélices. Dicho polipéptido contiene dos unidades de α_1 unidas covalentemente mediante un lazo interhelicoidal. **c)** Proteína de 74 residuos α_4 que da lugar a la asociación de cuatro hélices mediante plegamiento intramolecular.

[656] a) Kamtekar, S.; Schiffer, J. M.; Xiong, H.; Babik, J. M.; Hecht, M. H. *Science* **1993**, *262*, 1680-1685. b) Hecht, M. H.; Richardson, J. S.; Richardson, D. C.; Ogden, R. C. **1990**, *249*, 884-891.
[657] Regan, L.; DeGrado, W. F. *Science* **1988**, *241*, 976-978.
[658] DeGrado, W. F.; Wasserman, Z. R.; Lear, J. D. *Science* **1989**, *243*, 622-628.
[659] Lovejoy, B.; Choe, S. ; Cascio, D.; McRorie, D. K.; DeGrado, W. F.; Eisenberg, D. *Science* **1993**, *259*, 1288-1293.
[660] Ho, S. P.; DeGrado, W. F. *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 6751-6758.
[661] Osterhout, J. J., Jr.; Handel, T.; Na, G.; Toudmaje, A.; Long, R. C.; Connolly, P.; Hoch, J. C.; Johnson, W. C., Jr.; Live, D.; DeGrado, W. F. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 331-337.

El grupo de investigación de DeGrado también ha sido capaz de preparar una variedad de proteínas funcionalmente interesantes que enlazan cofactores activos redox, ADN y metales de transición.[662] Esto ha servido de base a otros autores para diseñar pequeñas proteínas que presentan una hélice α capaz de reconocer el ADN con gran afinidad y especificidad. Así, el grupo de Schepartz ha sido pionero en el diseño *de novo* de proteínas bien plegadas de muy pequeñas dimensiones (***proteínas miniatura***)[663] que inhiben o promueven interacciones proteína-proteína con niveles excepcionales de especificidad. Hemos de destacar los resultados obtenidos con p007 — la primera proteína miniatura diseñada —, la cual es capaz de reconocer ADN con una extraordinaria afinidad y selectividad.[664] Esta estrategia implica que los residuos de la región básica del factor de transcripción GCN4 — correspondiente a la familia de las proteínas bZIP — que contactan con el ADN se diseccionen del contexto de la proteína nativa y se sitúen adecuadamente en la cara expuesta al disolvente de una hélice α, la cual se encuentra estabilizada mediante interacciones hidrofóbicas en la cara opuesta con una hélice de poliprolina tipo II (Figura 178). La proteína miniatura así obtenida se une en condiciones fisiológicas al ADN en el rango de concentración nanomolar, exhibiendo una mayor especificidad de secuencia que la proteína natural bZIP. Posteriormente, el grupo de Shin demostró que la especificidad en el reconocimiento de ADN puede lograrse mediante colocación juiciosa de los residuos implicados en la interacción con el ADN en una hélice α de polialaninas.[665] Ambos estudios han servido como base para la preparación de numerosas proteínas miniatura que reconozcan una amplia gama de objetivos (*targets*) ADN y proteína.[666]

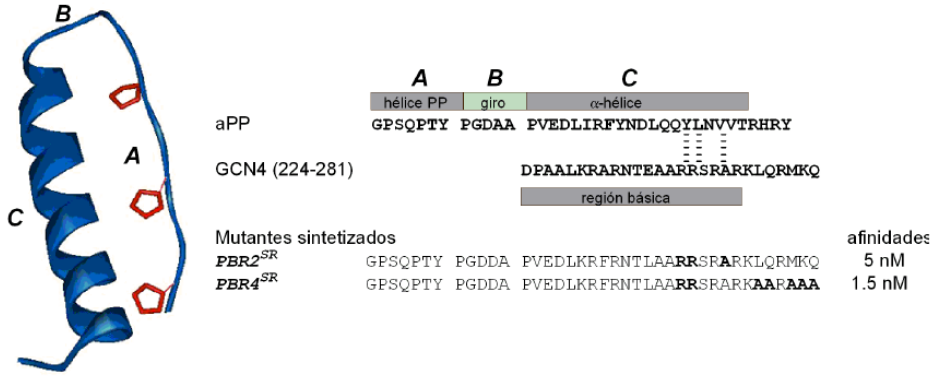


Figura 178. *Izquierda*, Representación de la estructura terciaria adoptada por la miniproteína aPP, constituida por una hélice α (**C**) unida a una hélice de poliprolinas (**A**) mediante una secuencia giro de cinco aminoácidos (**B**). *Derecha,* Comparativa entre las secuencias de la miniproteína diseñada aPP y el segmento básico de la proteína GCN4. Las líneas discontinuas sirven para indicar los residuos conflictivos (posiciones ocupadas a la vez por residuos fundamentales para el plegamiento adecuado de la miniproteína aPP y residuos de la GCN4 que contactan con el ADN). En la parte inferior se muestran las secuencias de distintos mutantes sintetizados junto con sus afinidades por el ADN [aPP: polipéptido aviar pancreático (*avian pancreatic polipeptide*)].

---

[662] a) O'Neil, K. T.; Shuman, J. D.; Ampe, C.; DeGrado W. F. *Biochemistry*. **1991**, *30*, 9030-9034. b) Handel, T.; DeGrado, W. F. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 6710-6711.

[663] Estos motivos se denominan proteínas miniaturas debido a que frecuentemente se pliegan cooperativamente (proteínas) y a que contienen menos de 40 aminoácidos (miniatura).

[664] a) Chin, J. W.; Schepartz, A. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 2929-2930. b) Chin, J. W.; Schepartz, A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 3806-3809. c) Zondlo, N. J.; Schepartz, A. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 6938-6939.

[665] Lajmi, A. R.; Lovrencic, M. E.; Wallace, T. R.; Thomlinson, R. R.; Shin, J. A. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 5638 5639.

[666] a) Daniels, D. S.; Schepartz, A. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 14578-14579. b) Gemperli, A. C.; Rutledge, S. E.; Maranda, A.; Schepartz, A. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 1596-1597. c) Montclare, J. K. Schepartz, A.; *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 3416-3417.

Aunque el diseño de proteínas ha tenido significantes progresos en los últimos tiempos,[667] la mayoría de los motivos diseñados son o relativamente largos (> 60 residuos) o multiméricos, y muchos de ellos requieren puentes disulfuro o coordinación con metales para lograr su estabilización. El tamaño y estado de agregación de algunos de estos motivos ha complicado el análisis estructural detallado. Además, el uso de enlaces disulfuro y de metales catiónicos debe limitar enormemente la versatilidad de estas construcciones para la futura elaboración de polipéptidos funcionales. Es por ello que se requieren nuevas estrategias que permitan llevar a cabo el diseño y preparación de sistemas polipeptídicos que sean capaces de mimetizar de forma eficiente las características estructurales y funcionales de las proteínas naturales. Teniendo en cuenta estas consideraciones, el grupo de investigación de Imperiali ha tenido como principal objetivo en los últimos años la construcción de motivos polipeptídicos pequeños (< 30 residuos), estables, solubles, monoméricos, basados en sistemas naturales y que se plieguen en ausencia de sitios de enlace cruzado, como disulfuros o centros de unión a metal.[668,669] El motivo ββα, ejemplificado por el dominio de *zinc finger*, representa un objetivo de diseño ideal. Los péptidos de *zinc finger* naturales son pequeños; unidades independientes de plegado que incorporan residuos hidrofóbicos y que adoptan estructuras definidas solo en la presencia de cationes metálicos específicos. Teniendo en cuenta estas consideraciones, el grupo de Imperiali logró demostrar que la arquitectura ββα de *zinc fingers* puede ser reproducida en un polipéptido de 23 residuos en ausencia de iones metálicos (BBA1, motivo ββα independiente de metal) mediante procesos de diseño interactivo (Figura 179).[670] Un paso importante del diseño final es la incorporación de un giro β de tipo II añadido a una horquilla β en formación. De este modo, la utilización de apropiados elementos estructurales de

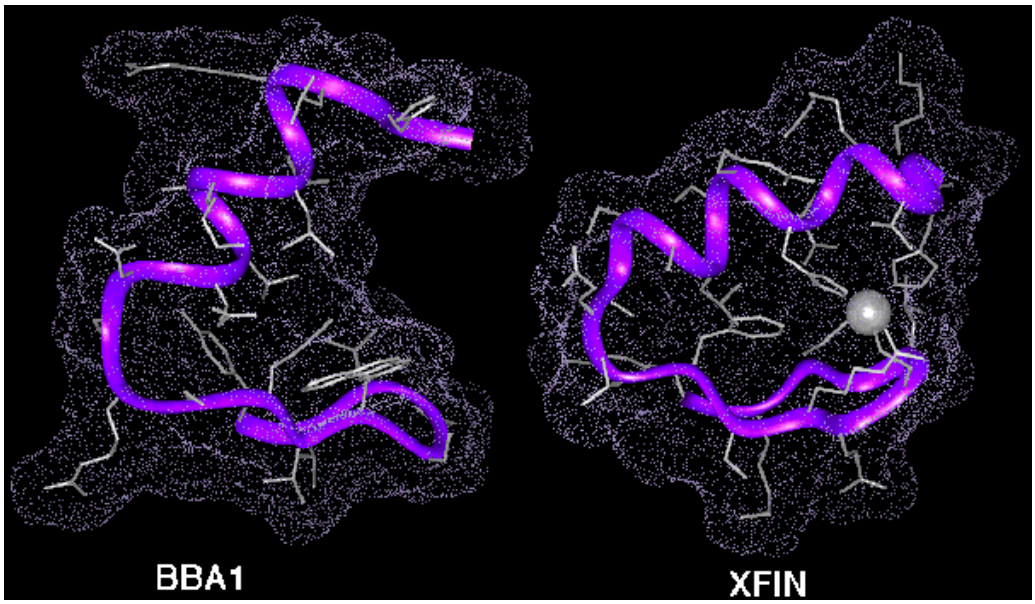


Figura 179. Modelos moleculares que muestran como la arquitectura ββα de un zinc finger natural (por ejemplo, XFIN) puede ser reproducida en un polipéptido de 23 residuos (BBA1) en ausencia de iones metálicos.

[667] Raleigh, D. P.; Betz, S. F.; DeGrado, W. F. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 7558-7559.
[668] Imperiali, B.; Kapoor, T. M. *Tetrahedron* **1993**, *49*, 3501-3510.
[669] Habitualmente, las estructuras de dominios pequeños que ocurren en las proteínas generalmente requieren enlaces disulfuro o coordinación a metales para lograr su estabilización.
[670] Struthers, M. D.; Cheng, R. P.; Imperiali, B. *Science* **1996**, *271*, 342-345.

nucleación compensa la estabilidad originalmente ofrecida por los enlaces cruzados. Finalmente, cabe destacar que la disponibilidad de esta estructura tiene implicaciones en el desarrollo de polipéptidos funcionales.

La importancia del diseño *de novo* radica en la construcción de proteínas activas y estructuralmente estables con el menor número posible de aminoácidos, lo que se consigue a partir del diseño de motivos estructurales pequeños que contienen la información adecuada. Tal y como hemos visto con anterioridad, los minidominios presentes en las proteínas generalmente requieren de enlaces disulfuro o coordinación a metales para estabilizarse. Esta última estrategia permite llevar a cabo el apropiado diseño estructural y funcional de los motivos polipeptídicos. Los iones metálicos juegan un papel clave en plegamiento de proteínas, reacciones enzimáticas y procesos de transferencia electrónica. La geometría metálica adquirida y la estructura de la proteína resultan fundamentales para entender el plegamiento, estabilidad y cambios conformacionales de metaloproteínas, las cuales ayudan a catalizar algunas de las reacciones biológicas más difíciles. Dichas estructuras varían su reactividad empleando distintos iones metálicos con estados redox específicos, diferentes ligandos y/o disposiciones geométricas y un entorno de proteína particular. En las últimas décadas, ha habido un interés creciente en el rediseño de los sitios de unión de metal presentes en las proteínas, así como en la introducción de metales en proteínas/péptidos plegados. En particular, el diseño de novo de metaloproteínas artificiales ha contribuido significativamente a la comprensión de los principios fundamentales de la química y la biología que gobiernan el plegamiento de proteínas,[671] al mismo tiempo que nos permite sentar las bases para el desarrollo de novedosos catalizadores[672] y biosensores.[673] Así, numerosos grupos de investigación han llevado a cabo estudios exhaustivos sobre el diseño de metalopéptidos y metaloproteínas, en donde se comprobó como los motivos estructurales de pequeño tamaño son estabilizados de manera adecuada por coordinación con iones metálicos (Figura 180).[662b,674]

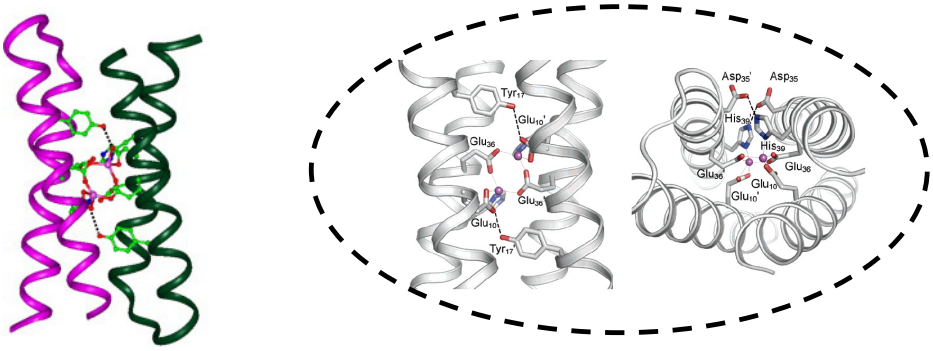


Figura 180. Representación de la estructura secundaria de la metaloproteína di-Zn(II)-DF1, en la que se observa como el centro dimetálico se sitúa en el núcleo de la asociación de cuatro hélices (Felix) DF1. De forma resaltada se muestra el medio de coordinación del centro dimetálico (vista lateral y superior).[674a]

[671] a) Kaplan, J.; DeGrado, W. F. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2004**, *101*, 11566-11570. b) Baltzer, L.; Nilsson, H.; Nilsson, J. *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 3153-3163.
[672] a) Allert, M.; Baltzer, L. *ChemBioChem* **2003**, *4*, 306-318. b)Andersson, L. K.; Dolphin, G. T.; Baltzer, L. *ChemBioChem.* **2002**, *3*, 741-751.
[673] a) Dwyer, M. A.; Looger, L. L.; Hellinga, H. W. *Science* **2004**, *304*, 1967-1971. b) Looger, L. L.; Dwyer, M. A.; Smith, J. J.; Hellinga, H. W. *Nature* **2003**, *423*, 185-190.
[674] a) Geremia, S.; Di Costanzo, L.; Randaccio, L.; Engel, D. E.; Lombardi, A.; Nastri, F.; DeGrado, W. F. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 17266-17276. b) Gochin, M.; Guy, R. K.; Case, M. A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 5325-5328. c) Ghadiri, M. R.; Case, M. A. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1993**, *32*, 1594-1597. d) Pessi, A.; Bianchi, E.; Crameri, A.; Venturini, S.; Tramontano, A.; Sollazo, M. *Nature* **1993**, *362*, 367-369.

En resumen, el principal objetivo del diseño *de novo* de polipéptidos es la preparación de motivos sintéticos de pequeño tamaño con estructura secundaria y terciaria bien definida, los cuales pueden llevar a cabo funciones análogas a la de los complejos proteicos naturales. En el caso de péptidos pequeños, generalmente se requiere de restricción conformacional mediante el establecimiento de uniones covalente (tales como enlaces disulfuro) o coordinación a metales, lo cual en algunos casos puede conseguirse a través de la introducción de aminoácidos no naturales.

19. RESTRICCIÓN CONFORMACIONAL PEPTÍDICA

19.1. INTRODUCCIÓN

La restricción conformacional de la estructura peptídica puede aportar información sobre su conformación bioactiva.[675] Las aplicaciones de los péptidos como drogas son a menudo impedidas por la escasa biodisponibilidad que presentan, debido a su solubilidad en agua y a la biodegradación. Puede lograrse una solución parcial para estas desventajas, a la vez que se retiene la actividad biológica del péptido, mediante la introducción de aminoácidos modificados o usando péptidos miméticos. [676] Así por ejemplo, el grupo de Gibney ha llevado a cabo la incorporación del aminoácido no natural *L*-penicilamina (Pen) — análogo de cisteína con mayor impedimento estérico — en sistemas peptídicos sencillos, proporcionando así esferas de coordinación asimétricas similares a las encontradas comúnmente en metaloproteínas naturales (Figura 181).[677]

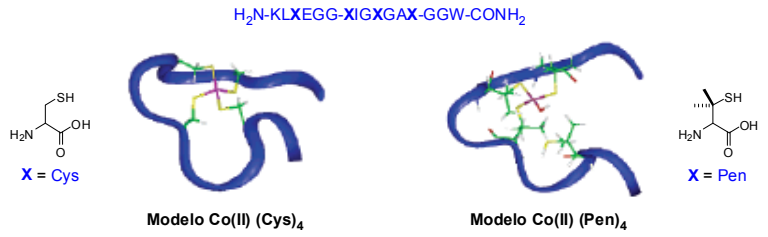


Figura 181. Sitios de unión a Co(II) en sistemas peptídicos naturales (X = Cys) y no naturales (X = Pen).

Como hemos visto con anterioridad, la estabilización de hélices α puede tener lugar a través de la incorporación de uniones covalentes o no covalentes entre las cadenas laterales de los distintos aminoácidos que constituyen dicha estructura secundaria.[678] Estos ejemplos

[675] a) Neidigh, J. W.; Fesinmeyer, R. M.; Andersen, N. H. *Nat. Struct. Biol.* **2002**, *9*, 425-430. b) Handel, T. M.; Williams, S. A.; DeGrado, W. F. *Science* **1993**, *259*, 1288-1293. c) Michael, S. F.; Kilfoil, V.; Schimdt, M. H.; Amann, B. T.; Berg, J. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A* **1992**, *89*, 4796-4800.
[676] a) Bilgiçer, B.; Kumar, K. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2004**, *101*, 15324-15329. b) Nowick, J. S.; Chung, D. M.; Maitra, K.; Maitra, S.; Stigers, K. D.; Sun, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 7654-7661. c) Rajashankar, K. R.; Ramakumar, S.; Jain, R. M.; Chauhan, V. S. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 10129-10130. d) Imperiali, B.; Prins, T. J.; Fisher, S. L. *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 1613-1616. e) Fauchére, J. -L.; Thurieau, C. *Adv. Drug. Res.* **1992**, *23*, 127-159. f) Roberts, D. C.; Vellaccio, F. "Unusual α-amino acids in peptide synthesis". En *The peptides [Vol. 5]*; Eds. E. Gross, J. Meienhofer; Academic Press: New York (Estados Unidos), **1983**, 341-449.
[677] Petros, A. K.; Shaner, S. E.; Costello, A. L.; Tierney, D. L.; Gibney, B. R. *Inorg. Chem.* **2004**, *43*, 4793-4795.
[678] Yu, C.; Taylor, J. W. *Bioorgan. Med. Chem.* **1999**, 161-175.

incluyen puentes salinos,[679] amidas,[680] enlaces disulfuro,[681] interacciones hidrofóbicas[682] y coordinación a metales entre aminoácidos naturales[683] y no naturales,[684] mediante el establecimiento de uniones entre residuos *i* e *i+4* o también *i* e *i+7*. Cabe destacar los estudios realizados por el grupo de investigación de Fairlie basados en el diseño de péptidos cortos (< 15 aminoácidos) que por lo general están desestructurados en ausencia de medios hidrofóbicos (Figura 182).[685] Así, se pudo observar como el tratamiento con el complejo $[Pd(en)]^{2+}$ a 300 K inducía helicidad (capacidad para la formación de hélices) en minipéptidos no estructurados de 5, 10- y 15 residuos. De este modo, se puede comprobar como los macrociclos obtenidos actuaban como moldes en la nucleación de hélices α. Esta observación fue similar a la que presentan los polipéptidos que normalmente se asocian con el sitio de unión activo de Zn(II) de la termolisina.[686] Finalmente, pudieron demostrar la formación de un módulo macrocíclico de 22 miembros en los metalopentapéptidos estudiados (habitualmente Ac-HAAAH-NH_2) mediante coordinación metálica específica al nitrógeno imidazólico N1 (imidazol-N1) de únicamente los pares [*i*, *i+4*] de los residuos de histidina (Figura 182). Además, este péptido presenta gran flexibilidad molecular en disolución, permitiendo así la conversión de péptidos no estructurados en hélices de macrociclos.[687]

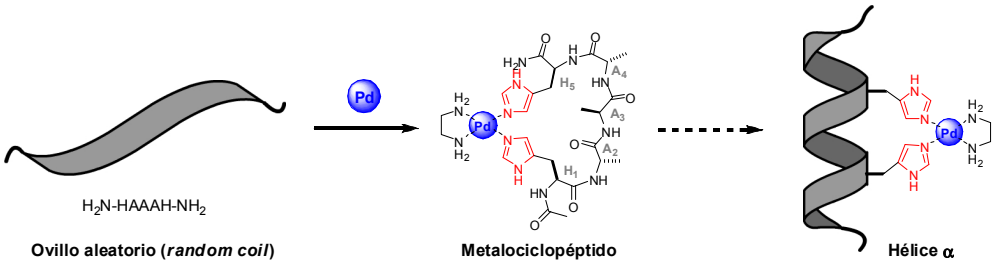


Figura 182. Restricción conformacional de pentapéptidos Ac-HAAAH-NH_2. El tratamiento con complejos de paladio(II) permite la estabilización de hélices a través de la formación de metalociclopentapéptidos [A: Alanina; H: histidina].

El problema más importante en el desarrollo de novedosos sistemas artificiales funcionales reside en la disponibilidad de nuevos patrones estructurales bien definidos que puedan ser modificados de manera adecuada mediante la introducción de determinadas funcionalidades. Es por ello que las estrategias metodológicas planteadas para llevar a cabo la preparación de los correspondientes motivos estructurales adquieren una especial relevancia.

---

[679] Mayne, L.; Englader, S. W.; Qiu, R.; Yang, J.; Gong, Y.; Spek, E. J.; Kallenbach, N. R. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 10643-10645.

[680] a) Bracken, C.; Gulyás, J.; Taylor, J. W., Baum, J. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 6431-6432. b) Ösapay, G.; Taylor, J. W. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 6966-6973. c) Chorev, M.; Roubini, E.; McKee, R. L.; Gibbons, S. W.; Goldman, M. E.; Caulfield, M. P.; Rosenblatt, M. *Biochemistry* **1991**, *30*, 5968-5974.

[681] Jackson, D. Y.; King, D. S.; Chmielewsi, J.; Singh, S.; Schultz, P. G. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 9391-9392.

[682] Albert, J. S.; Hamilton, A. D. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *34*, 984-990.

[683] Ghadiri, M. R.; Fernholz A. K. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**,*112*, 9633-9635.

[684] Rossi, P.; Felluga, F.; Tecilla, P.; Formaggio, F.; Crisma, M.; Toniolo, C. Scrimin, P. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 6948-6949.

[685] Kelso, M. J.; Hoang H. N.;Oliver, W.;Sokolenko, N.; March, D. R.;Appleton, T. G.; Fairlie ,D. P. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2003**, *42*, 421-424. b) Kelso, M. J.; Hoang, H. N.; Appleton, T. G.; Fairlie, D. P. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122,* 10488-10489.

[686] La termolisina es una enzima metaloproteinasa termoestable neutra que cataliza específicamente la hidrólisis del enlace peptídico que contiene aminoácidos hidrófobos. Cabe destacar que la termolisina requiere de un ión de zinc para desarrollar su actividad enzimática y de cuatro iones de calcio para lograr su estabilidad estructural. Para más información, ver: Inouye, K.; Kusano, M.; Hashida, Y.; Minoda, M.; Yasukawa, K. *Biotechnol Annu Rev.* **2007**,*13*, 43-64.

[687] a) Kelso, M. J.; Beyer, R. L; Hoang, H. N.; Lakdawala, A. M.; Snyder, J. P.; Oliver, W. V.; Robertson, T. A.; Appleton, T. G.; Fairlie, D. P. *J. Am. Chem. Soc* **2004**, *126*, 4828-4842.

19.2. ESTRATEGIAS PARA LA OBTENCIÓN DE MOTIVOS ESTRUCTURALES DEFINIDOS

Como hemos visto con anterioridad, durante las últimas décadas han sido numerosos los grupos de investigación que han centrado sus estudios en el diseño de estructuras polipéptidicas plegadas estables.[654,658,688] Como regla general, dichos motivos estructurales han de ser preferentemente pequeños, solubles, robustos, fácilmente modificables y producidos de forma efectiva a gran escala mediante síntesis química o métodos de expresión de bajo coste. Desafortunadamente, la elección de secuencias peptídicas pequeñas presenta el inconveniente de la ausencia de una única estructura fija.[689] Es por ello que se han desarrollado numerosas estrategias con el objetivo fundamental de conferir una mayor rigidez y disminuir el número de conformaciones posibles en disolución, pudiendo así disponer de motivos peptídicos sintéticos con estructura bien definida. De esta forma, se ha observado que el control de la estructura de las moléculas polipeptídicas — necesario para el diseño de novedosas miniproteínas funcionales — se puede llevar a cabo fundamentalmente mediante la introducción de uniones covalentes (tales como puentes disulfuro)[690] y/o de sitios de unión a metales,[670,691] la utilización de residuos no naturales[240-243] o la modificación del esqueleto peptídico.[692]

19.2.1. UNIONES COVALENTES

La restricción conformacional de motivos estructurales sintéticos puede lograrse de manera sencilla mediante la unión covalente entre residuos pertenecientes al propio motivo.[693] Cabe destacar los notables progresos realizados en la estabilización de hélices α a través de la incorporación de uniones covalentes entre las cadenas laterales de los distintos aminoácidos que constituyen dicha estructura secundaria.[694] Estos ejemplos incluyen la formación de enlaces amida[680] o disulfuro[681] mediante el establecimiento de uniones entre residuos *i* e *i+4* o también *i* e *i+7* (Figura 183a). Especialmente relevantes han sido los estudios de Grubbs basados en la preparación de una gran colección de péptidos cíclicos helicoidales, en los cuales se ha empleado la ciclación por metátesis (*ring-closing metathesis*; RCM) para llevar a cabo la estabilización de la hélice a través de la formación de enlaces carbono-carbono entre las cadenas laterales de los residuos *i* e *i+4* (Figura 183b).[695]

---

[688] a) Ruana, L.; Zhanga, H.; Luoa, H.; Liua, J.; Tanga, F.; Shib, Y.-K.; Zhaoa, X. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2009**, *106*, 5105-5110. b) Goodsell, D. S.; Olson, A. J. *Trends Biochem. Sci.* **1993**, *18*, 65-68.

[689] La alta flexibilidad conformacional que presentan los péptidos de secuencia corta en disolución es responsable de la ausencia de una disposición constante y determinada de los grupos funcionales.

[690] a) Kuroda, Y. *Protein Eng.* **1995**, *8*, 97-101. b) Quinn, T. P.; Tweedy, N. B.; Williams, R. W.; Richardson, J. S.; Richardson, D. C. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1994**, *91*, 8747-8751. c) Yan, Y. B.; Erickson, B. W. *Protein Sci.* **1994**, *3*, 1069-1073.

[691] a) Jabre, N. D.; Respondek, T.; Ulku, S. A.; Korostelova, N.; Kodanko, J. J. *J. Org. Chem.* **2010**, *75*, 650-659. b) Lieberman, M.; Sasaki, T. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 1470-1471.

[692] a) Monfregola, L.; Leone, M.; Calce, E.; De Luca, S. *Org. Lett.* **2012**, *14*, 1664-1667. b) Demmer, O.; Dijkgraaf, I.; Schottelius, M.; Wester, H.-J.; Kessler, H. *Org. Lett.* **2008**, *10*, 2015-2018.

[693] a) Afonso, A.; Feliu, L.; Planas, M. *Tetrahedron* **2011**, *67*, 2238-2245. b) Walensky, L. D.; Pitter, K.; Morash, J.; Oh, K. J.; Barbuto, S.; Fisher, J.; Smith, E.; Verdine, G. L.; Korsmeyer, S. J. *Mol. Cell* **2006**, *24*, 199-210. c) Lloyd-Williams, P.; Giralt, E. *Chem. Soc. Rev.* **2001**, *30*, 145-157.

[694] a) Barthe, P.; Rochette, S.; Vita, C. Roumestand, C. *Protein Sci.* **2000**, *9*, 942-945. b) Yu, C.; Taylor, J. W. *Bioorgan. Med. Chem.* **1999**, *7*, 161-175.

[695] Blackwell, H. E.; Grubbs, R. H. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 3281-3283.

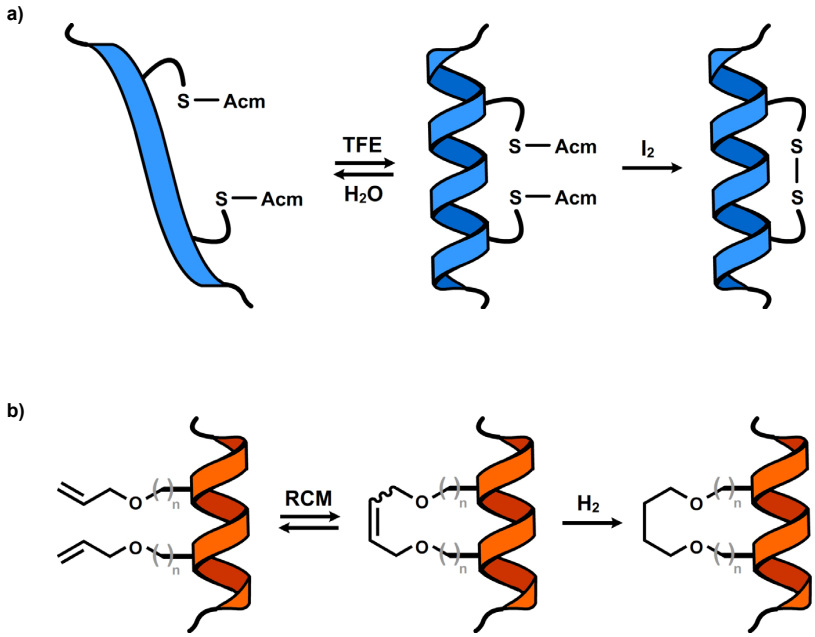


Figura 183. Estabilización de hélices α mediante uniones covalentes. **a)** Formación de enlace disulfuro (S-S) entre residuos *i* e *i+7*. **b)** Formación de enlace carbono-carbono (C-C) entre cadenas laterales de residuos *i* e *i+4* mediante ciclación por metátesis (RCM).

El establecimiento de uniones covalentes permite llevar a cabo de forma efectiva la restricción conformacional de la estructura polipeptídica, lo que puede llegar a ser de gran aplicación en el diseño de librerías peptídicas conformacionalmente homogéneas.

19.2.2. SITIOS DE COORDINACIÓN CON METALES

Los procesos de autoensamblaje asistidos por iones metálicos han servido como base para el diseño de nuevas proteínas funcionales topológicamente predeterminadas. Así, Ghadiri *et al.* han podido llevar a cabo la preparación de metaloproteínas artificiales bien definidas mediante la coordinación de iones metálicos a funcionalidades bipiridina (Bipy o Bpy) situadas en los extremos amino de ciertas cadenas polipeptídicas (Figura 184).[674c,696] Dicha complejación promueve la asociación de tres unidades peptídicas, dando lugar a una especie intermedia inicialmente desordenada. La gran densidad peptídica y el incremento de la molaridad efectiva (EM) de las funcionalidades hidrofóbicas en la especie intermedia favorece la asociación de forma paralela de las tres hélices. La conformación resultante permite que los residuos de histidina situados en los extremos C-terminal de las cadenas polipeptídicas se orienten adecuadamente, originando un nuevo centro de coordinación metálica, y convirtiéndola así en una heterometaloproteína sintética con capacidad para complejar Cu(II) de manera eficiente.

[696] Ghadiri, M. R.; Soares, C.; Choi, C. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 4000-4002.

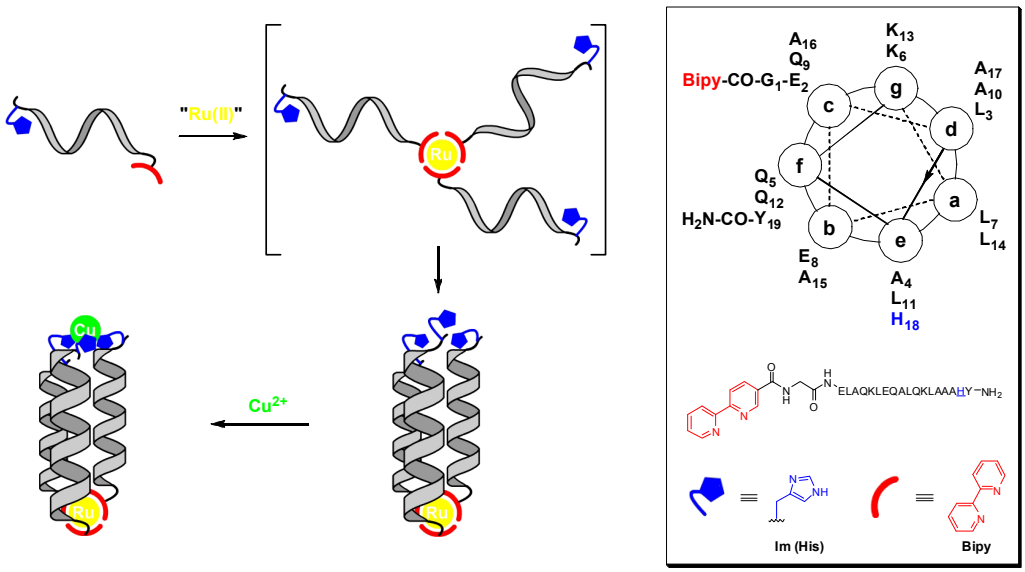


Figura 184. Representación esquemática de la preparación de una metaloproteína artificial. Inicialmente, se muestra el autoensamblaje de tres hélices α promovido por la coordinación de Ru(II) a unidades Bipy situadas en los extremos amino. La conformación resultante permite que los residuos de His de las diferentes cadenas polipeptídicas se sitúen próximas, dando lugar a un nuevo sitio de coordinación de Cu(II). De manera resaltada se muestra la secuencia del polipéptido, así como el correspondiente diagrama de rueda helicoidal, en el que se observa claramente la estructura anfifílica de la subunidad peptídica. Del mismo modo, se indican los grupos funcionales que promueven la coordinación de iones metálicos [el anillo de imidazol (Im) de la histidina (His o H) para Cu(II), y la bipiridina (Bipy) para Ru(II)].

Los sitios de coordinación a metales juegan un papel fundamental en el desarrollo de sistemas peptídicos rígidos, los cuales presentan un total control regioisomérico. Además, la alta afinidad que exhiben pone de manifiesto su utilización como sensores metálicos, biocatalizadores y/o reguladores de equilibrios (sistemas alostéricos).

19.2.3. RESIDUOS NO NATURALES

En los últimos años, diversos autores han descrito la restricción conformacional de la estructura peptídica a través de la introducción de aminoácidos modificados en una secuencia primaria diseñada, aportando así una gran información sobre su conformación bioactiva.[687,692,697] Tal y como hemos mencionado con anterioridad, los recientes avances realizados en el área de la síntesis *de novo* de proteínas han descrito la incorporación de centros de enlace a cationes metálicos dentro de polipéptidos como la base para el ensamblaje de nuevas estructuras tridimensionales con estructura, propiedades y funciones bien definidas.[683,698] Desafortunadamente, el número y diversidad de las uniones naturales que ocurren entre los aminoácidos y el metal es limitado, particularmente cuando se compara con la gran variedad de ligandos sintéticos, los cuales son disponibles para la complejación selectiva de iones

[697] a) LeTiran, A.; Stables, J. P.; Kohn, H. *Bioorg. Med. Chem.* **2001**, *9*, 2693-2708. b) Chin, T. M.; Berndt, K. D.; Yang, N. C. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 2279-2280.
[698] a) Rabanal, F.; DeGrado, W. F.; Dutton, P.L. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 473-474. b) Regan, L. *Trends Biochem. Sci.* **1995**, *20*, 280-285. c) Regan, L.; Clarke, N. D. *Biochemistry* **1990**, *29*, 10878-10883.

metálicos en medio acuoso.[699] Teniendo en cuenta estas consideraciones, el grupo de investigación de Imperiali ha desarrollado los primeros ejemplos de una nueva clase de aminoácidos de coordinación a metales que incluyen poderosos ligandos bidentados (tales como 2,2'-bipiridina y 1,10-fenantrolina) como constituyentes fundamentales de sus cadenas laterales (Figura 185).[676d,700,701] La disponibilidad de dichos aminoácidos no naturales permite la introducción de manera sencilla y accesible de sitios de unión a metales en secuencias polipeptídicas.[702] Este hecho es especialmente relevante en el diseño *de novo* de metaloproteínas, en las cuales la programación correcta de la geometría de coordinación del centro metálico y la orientación del metal con respecto a la cadena polipeptídica adquieren vital importancia para su funcionamiento.

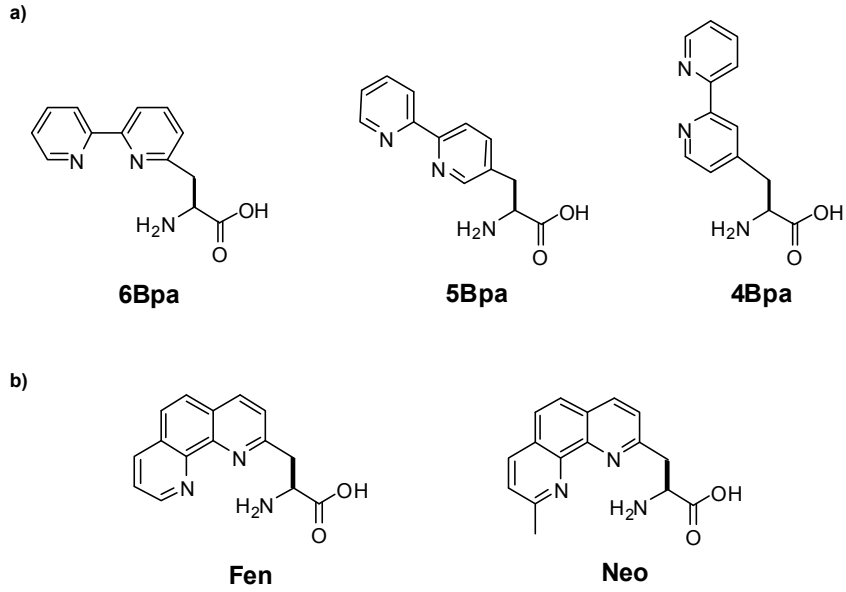


Figura 185. Estructuras de diversos aminoácidos no naturales con capacidad para actuar como ligandos de coordinación metálica. a) Aminoácidos que incorporan unidades de 2,2'-bipiridina. b) Aminoácidos que incorporan unidades de 1,10-fenantrolina.

El grupo de investigación de Imperiali también ha llevado a cabo estudios sobre la capacidad de modular la afinidad de pequeños péptidos para la coordinación a metales a través de la incorporación de los α-aminoácidos no naturales multidentados, observando la preorganización estructural que se producía en el propio péptido (Figura 186).[701a] Esto indicaba que el control de la afinidad de unión al catión metálico, la preferencia y la estequeometría debían ser logrados mediante el uso de una gran variedad de aminoácidos naturales y no naturales (incorporados en la estructura polipeptídica) que se coordinan al metal.

[699] Hancock, R. D.; Martell, A. E. *Chem. Rev.* **1989**, *89*, 1875-1914.
[700] Para aminoácidos no naturales conteniendo ligandos bipiridina en sus cadenas laterales, ver: a) Imperiali, B.; Fisher, S. L. *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 757-759. c) Imperiali, B.; Fisher, S. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 8527-8528.
[701] Para aminoácidos no naturales conteniendo ligandos fenantrolina en sus cadenas laterales, ver: a) Cheng, R. P.; Fisher, S. L.; Imperiali, B. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 11349-11356. b) Struhers, M. D.; Cheng, R. P.; Imperiali, B. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 3073-3081.
[702] a) Albrecht, M.; Patrick Stortz, P.; Nolting, R. Synthesis **2003**, *9*, 1307-1320. b) Imperiali, B.; Sinha Roy, R.; Walkup, G. K.; Wang, L. "Unnatural amino acids for the design of functional proteins: biomimetic catalysis using coenzyme amino acids". En *Molecular design and bioorganic catalysis*; Eds. C. Wilcox, A. D. Hamilton; Kluwer Academic Publishers: Dordrecht (Holanda), **1996**, 35-52.



Figura 186. Representación esquemática que muestra la coordinación a un metal de una secuencia polipeptídica que contiene dos 6Bpa. De esta forma se pone de manifiesto como se puede conseguir el control de la estructura mediante la introducción de aminoácidos no naturales.

Alternativamente, el control de la estructura se puede conseguir por modificación de un polipéptido con diversos residuos no naturales. Así por ejemplo — tal y como habíamos visto en capítulos anteriores — Nowick *et al.* han puesto de manifiesto la utilización de Hao (mimético de una hebra β tripeptídica) como molde para llevar a cabo la formación de láminas β artificiales capaces de formar dímeros de estructura bien definida (Figura 72 y 187).[240-243] La incorporación de dicho peptidomimético a una secuencia polipeptídica permite la obtención de estructuras diméricas tipo lámina β que pueden funcionar como antagonistas, con capacidad para inhibir (bloquear) interacciones entre proteínas.

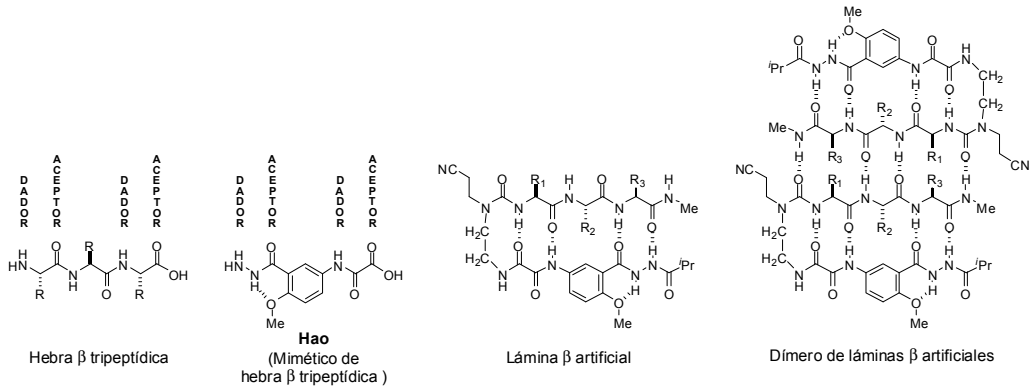


Figura 187. El aminoácido no natural Hao reproduce adecuadamente el patrón de funcionalidades necesarias para establecer enlaces de hidrógeno con láminas β, por lo que se considera un excelente mimético de tripéptidos caracterizados por formar láminas β. La incorporación de dicho residuo no natural a una secuencia polipeptídica permite la obtención de láminas β artificiales capaces de formar dímeros con estructura bien definida.

19.2.4. MODIFICACIÓN DEL ESQUELETO PEPTÍDICO

Entre las modificaciones del esqueleto peptídico que pueden influir en la conformación estructural de la secuencia peptídica, resulta particularmente interesante la N-alquilación.[703] La alquilación del nitrógeno del grupo amida reduce la diferencia de energía entre las formas *cis* y

[703] a) Miller, S. C.; Scanlan, T. S. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 2690-2691. b) Reichwein J. F.; Liskamp, M. J. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 1243-1246. c) Miller, S. C.; Scanlan, T. S. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 2301-2302. d) Fukuyama, T.; Cheung, M.; Jow, C.; Hidai, Y.; Kan, T. *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 5831-5834. e) Szardenings, A. K.; Burkoth, T. S.; Look, G. C.; Campbell, D. A. *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 6720-6722. f) Mitsunobu, O. *Synthesis* **1981**, 1-28.

trans desde 10.9 kJ/mol para aminoácidos convencionales, hasta aproximadamente 2.1 kJ/mol para los N-alquilados.[704] De este modo, se observa como la N-modificación de aminoácidos conlleva fundamentalmente una disminución drástica en la flexibilidad conformacional, pudiendo dar lugar así a la formación de relevantes motivos estructurales. Tanto los péptidos naturales como los de diseño son conocidos por formar giros β en la región de algunos residuos de aminoácidos N-alquilados.[705] Otros efectos asociados con la presencia de aminoácidos N-alquilados son la formación de hélices α levógiras, la rotura del enlace de hidrógeno y el aumento del efecto hidrófobo. Dichos residuos también comportan un incremento de la estabilidad metabólica,[706] lo que hace que tengan una gran utilidad en el desarrollo de drogas. Adicionalmente, el grupo alquílico puede ser usado para incorporar funciones que permitan la coordinación con metales, las modificaciones covalentes, o el seguimiento del progreso de diseño. Así por ejemplo, la introducción del grupo etanotiol en el nitrógeno α (N_α) de un residuo de glicina (Gly) proporciona la funcionalización requerida para su empleo como sustituto de la cisteína (Cys) en la estrategia de ligación química nativa de fragmentos peptídicos desprotegidos (Figura 188).[707] De esta forma, la incorporación de dicho residuo no natural N-alquilado al extremo N-terminal de uno de los dos fragmentos peptídicos permite generar una especie con un esqueleto de estructura peptidomimética en el lugar de ligación (N-α-etanotiolamida). Además de permitir la generalización de la estrategia de ligación química nativa, la utilización del residuo de N-α-(etanotiol)glicina — reemplazando a cisteínas que participen en enlaces disulfuro — puede dar lugar a la formación de un nuevo tipo de estructura peptídica con puentes disulfuro no naturales.[708]

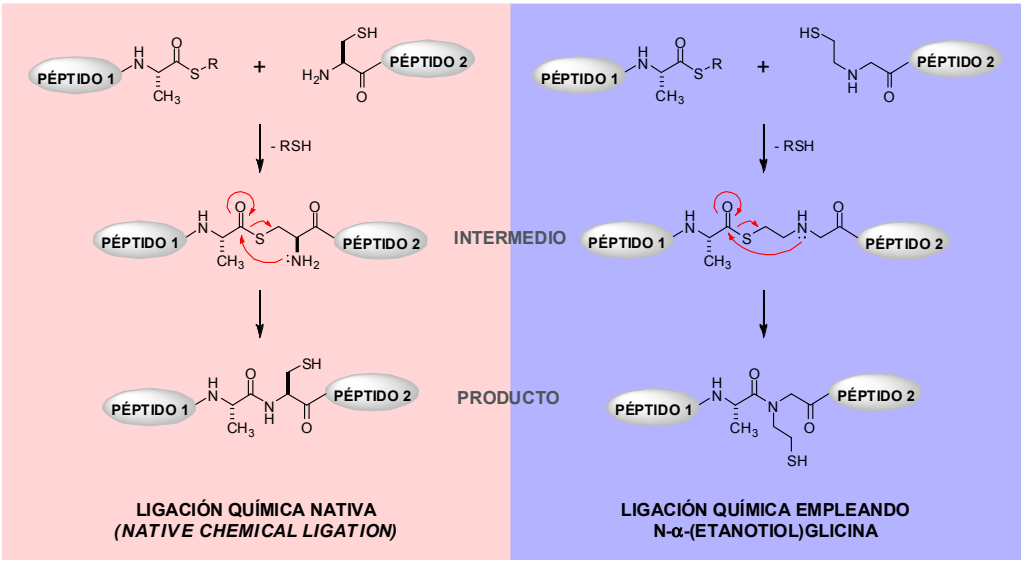


Figura 188. *Izquierda*, Ligación química nativa. *Derecha*, Ligación empleando N-α-(etanotiol)glicina como grupo funcional auxiliar.

[704] Stewart, D. E.; Sarkar, A.; Wampler, J. E. *J. Mol. Biol.* **1990**, *214*, 253-260.
[705] a) Bram, W.; Kallen, J.; Mikol, V.; Walkinshaw, M. D.; Wertlrich, K. *FASEB* **1995**, *9*, 63-72. b) Steward, D. E.; Sarkar, A.; Warplur, J. *J. Mol. Biol.* **1990**, *214*, 253-260.
[706] Schmidt, R.; Kalman, A.; Chung, N. N.; Lemieux, C.; Horvath, C.; Schiller, P. *Int. J. Pept. Protein Res.* **1995**, *46*, 47-55.
[707] Canne, L. E.; Bark, S. J.; Kent, S. B. H. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 5891-5896.
[708] Bark, S. J.; Kent, S. B. H. *FEBS Lett.* **1999**, *460*, 67-76.

La aplicación de las estrategias mencionadas con anterioridad al estudio de los α,γ-ciclopéptidos ha de permitirnos la preparación de una nueva clase de estructuras diméricas rígidas bien definidas que pueden emplearse de manera eficiente en la construcción de sistemas artificiales funcionales.

20. α,γ-CICLOPÉPTIDOS: RESTRICCIÓN CONFORMACIONAL MEDIANTE UNIONES COVALENTES

Tal y como hemos mencionado con anterioridad, las aplicaciones de los péptidos como drogas son frecuentemente impedidas por la escasa biodisponibilidad que presentan, debido tanto a su solubilidad en agua como a su biodegradación. Puede lograrse una solución parcial para estas desventajas, a la vez que se retiene la actividad biológica del péptido, mediante la introducción de aminoácidos modificados y/o la utilización de péptidos miméticos.[676] Así por ejemplo, el uso de péptidos simples en sensores requiere la incorporación de sitios de unión a metal de alta afinidad en péptidos con estructuras definidas. Los aminoácidos no estándar también se pueden utilizar para integrar funcionalidad adicional y/o permitir el control (*monitoring*) del rendimiento.[708,709] Además, la incorporación de α-aminoácidos no proteinogénicos permite mejorar las propiedades médicas de numerosos péptidos y drogas péptidomiméticas.[676d,e] Finalmente, cabe destacar que algunos aminoácidos no naturales son por sí mismos biológicamente activos,[710] mientras que otros pueden actuar como organocatalizadores en síntesis química.[711] Todos estos hechos son responsables de que exista en la actualidad un especial interés químico en el desarrollo de nuevas vías de síntesis de α-aminoácidos no proteinogénicos enantioméricamente puros.[712] A pesar de que se pueden obtener por un gran número de métodos — incluyendo biotransformación, uso de auxiliares quirales o catálisis asimétrica —, sigue habiendo una continua necesidad por la búsqueda de procedimientos suaves que sean compatibles con una amplia gama de funcionalidades y que estén bien adaptados para la síntesis de bibliotecas. Dentro de dichos métodos, tal vez el más poderoso es la modificación de equivalentes aminoacídicos disponibles — tales como radicales (aniónicos y catiónicos) de alanina y homoalanina o equivalentes de tipo bishomoalanina — a través de reacciones de acoplamiento mediadas por metales de transición.[713] Hemos de señalar que resulta particularmente interesante la utilización de acoplamientos cruzados catalizados por Pd(0), debido fundamentalmente a la selectividad y compatibilidad que presentan con una amplia variedad de grupos funcionales. Teniendo en cuenta estos hechos — y considerando

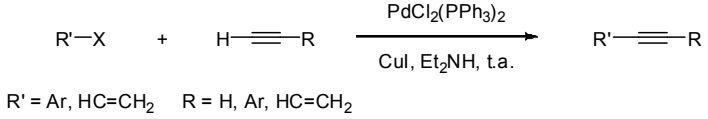
[709] a) Enander, K.; Dolphin, G. T.; Baltzer, L. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 4464-4465. b) Gochin, M.; Guy, R. K.; Case, M. A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 5325-5328. c) Duhamel, J.; Kanagalingam, S.; O'Brien, T. J.; Ingratta, M. W. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 12810-12822.
[710] a) Esposito, A.; Piras, P. P.; Ramazzotti, D.; Taddei, M. *Org. Lett.* **2001**, *3*, 3273-3275. b) Barrett, G. C.; Elmore, D. T. *Amino acids and peptides*; University Press: Cambridge (Reino Unido), **1998**.
[711] a) Seayad, J.; List, B. *Org. Biomol. Chem.* **2005**, *3*, 719-724. b) Dalko, P. I.; Moisan, L. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 5138-5175.
[712] a) Ryan, S. J.; Zhang, Y.; Kennan, A. J. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 4765-4767. b) Belokon, Y. N.; Bespalova, N. B.; Churkina, T. D.; Císarova, I.; Ezernitskaya, M. G.; Haratyunyan, S. R.; Hrdina, R.; Kagan, H. B.; Kocovsky, P.; Kochetkov, K. A.; Larionov, O. V.; Lyssenko, K. A.; North, M.; Polásek, M.; Peregudov, A. S.; Prisyazhnyuk, V. V.; Vyskocil, S. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125* 12860-12871. c) Cativiela, C.; Díaz-de-Villegas, M. D. *Tetrahedron: Asymmetry* **2000**, *11*, 645-732.
[713] *Metal-catalyzed cross-coupling reactions [Vol. 2]*; Eds. A. de Meijere, F. Diederich; Wiley-VCH: Weinheim (Alemania), **2004**.

que la reacción de Suzuki[714,715] tiene el enorme inconveniente de requerir la preparación previa del organoborano adecuado —, hemos decidido emplear reacciones de tipo Sonogashira para llevar a cabo la etapa crucial de acoplamiento cruzado.[716,717]

Debido a la importancia que tiene la introducción en los péptidos de residuos no naturales que puedan tener la capacidad de coordinarse a cationes metálicos, nuestro grupo de investigación ha estado desarrollando durante los últimos años la modificación de aminoácidos y péptidos mediante la introducción de ligandos adecuados en el esqueleto peptídico a través de una reacción de Sonogashira en medio acuoso catalizada por Pd(0).[718,719]

20.1. REACCIÓN DE ACOPLAMIENTO DE SONOGASHIRA

La reacción de Sonogashira[716] — una variante de la Stephens-Castro[720] — es un método bien establecido y ampliamente utilizado que permite el acoplamiento catalizado por paladio de alquinos terminales con haluros de arilo (Ar-X) o vinilo a temperatura ambiente o superiores (Esquema 15).[717] Con este procedimiento, se consigue sintetizar convenientemente acetilenos bajo condiciones suaves, en presencia de un catalizador de paladio y un cocatalizador (CuI), ambos solubles en el medio de reacción. Habitualmente, se emplea una fuente homogénea de paladio [como por ejemplo $PdCl_2(PPh_3)_2$, $Pd(PPh_3)_4$ o $Pd(dba)_4$], ioduro de cobre(I) y una amina que actúa a la vez como base y disolvente (Et_3N, Et_2NH, $^iPr_2EtN$,…), aunque también es posible utilizar disolventes orgánicos anhidros (DMF, CH_3CN, DMSO, tolueno,…). Cabe destacar que la utilización de cantidades catalíticas de CuI como activante del alquino terminal permite llevar a cabo la reacción de acoplamiento de forma efectiva a temperatura ambiente, así como evita reacciones secundarias que experimentan los acetilenos terminales en su ausencia (tales como inserción y/o formación de eninos).[721] Aunque los efectos beneficiosos del uso de la sal de cobre(I) como cocatalizador en las reacciones de

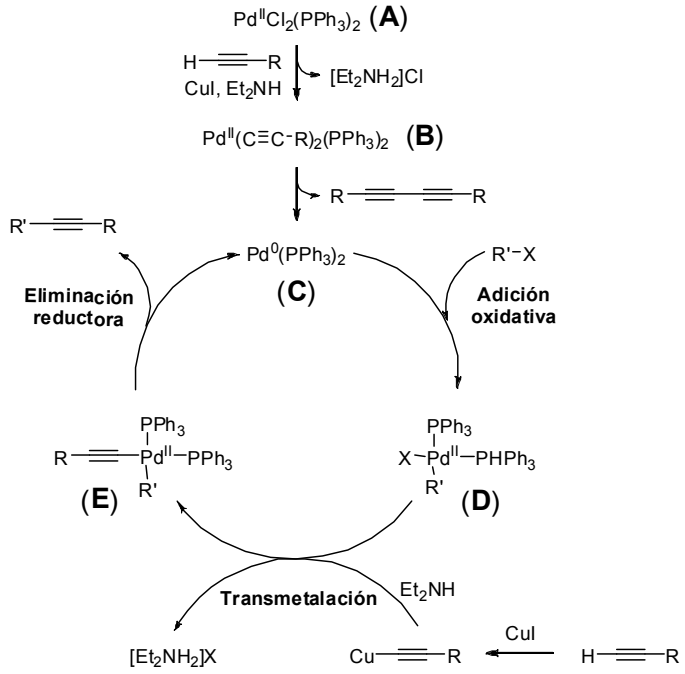


Esquema 15. Reacción de acoplamiento de Sonogashira.

[714] Miyaura, N.; Yamada, K.; Suzuki, A. *Tetrahedron Lett.* **1979**, *20*, 3437-3440.
[715] Para reacciones de Suzuki, ver: a) Miyaura, N. *Top. Curr. Chem.* **2002**, *219*, 11-59. b) Collier, P. N.; Campell, A. D.; Patel, I.; Raynham, T. M.; Taylor, R. J. K. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 1802-1815. c) Suzuki,A. *J. Organomet. Chem.* **1999**, *576*, 147-168.
[716] Sonogashira, K.; Tohda, Y.; Haginara, N. *Tetrahedron Lett.* **1975**, *50*, 4467-4470.
[717] Para reacciones de Sonogashira, ver: a) Tykwinski, R. R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 1566-1568. b) Negishi, E.; Anastasia, L. *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 1979-2017. c) Sonogashira, K. "Alkynes synthesis" En *Handbook of organopalladium chemistry for organic synthesis*; Ed. E. Negishi; Wiley: New York (Estados Unidos), **2002**, 493-529.
[718] López-Deber, M. P.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Org. Lett.* **2001**, *3*, 2823-2826.
[719] Tesis Doctoral de María Pilar López Deber - "Diseño *de novo* de enzimas: I. Diseño, síntesis y caracterización de una ligasa peptídica regulada por secuencias específicas de ácidos nucleicos peptídicos (PNA). II. Modificación del esqueleto peptídico mediante reacciones catalizadas por paladio en agua" [*Universidad de Santiago de Compostela*, **2002**].
[720] La reacción de Stephens-Castro permite el acoplamiento entre un acetiluro cuproso y un haluro de arilo. Aunque es un procedimiento muy útil para la síntesis de acetilenos, presenta ciertas limitaciones debido a que la preparación de acetiluros cuprosos es complicada y las condiciones de reacción empleadas son violentas. Para más información, ver: Stephens, R. D.;Castro, C. E. *J. Org. Chem.* **1963**, *28*, 3313-3315.
[721] a) Trost, B. M.; Sorum, M. T.; Chan, C.; Harms, A. E.; Ruhter, G. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 698-708. b) Nuss, J. M.; Levine, B. H.; Rennels, R. A.; Heravi, M. M. *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 5243-5246. c) Burns, B.; Grigg, R.; Sridharan, V.; Worakum, T. *Tetrahedron Lett.* **1988**, *29*, 4325-4328.

acoplamiento cruzado alquino-arilo han sido suficientemente demostradas,[722] los avances realizados durante los últimos años sugieren el uso de catalizadores que no requieran del aditivo de cobre.[723]

El mecanismo propuesto para la reacción de Sonogashira consta de tres pasos fundamentales (Esquema 16). En primer lugar se produce la **adición oxidativa** del haluro sp^2 al catalizador de Pd(0) — especie obtenida a partir del catalizador inicial de Pd(II), el cual se reduce en las condiciones de reacción mediante la dimerización de alquinos — para formar un nuevo complejo de Pd(II), en el que se ha insertado el correspondiente haluro. A continuación se produce una **transmetalación** (alquinilación del intermedio de haluro de organopaladio) para dar lugar a otro complejo de Pd(II), el cual presenta los dos fragmentos que queremos acoplar (la funcionalidad sp^2 y el alquino *sp*). Finalmente, el ciclo catalítico se completa mediante una **eliminación reductora** del alquino disustituido, la cual da lugar al producto de acoplamiento cruzado y a la recuperación del catalizador de Pd(0).



Esquema 16. Mecanismo originalmente propuesto por Sonogashira para el acoplamiento cruzado arilo/vinilo-alquino catalizado por paladio. Inicialmente, a partir del dicloruro de bis(trifenilfosfina)paladio(II) [**A**, $PdCl_2(PPh_3)_2$] se forma el complejo (trifenilfosfina)dialquinilpaladio(II) [**B**, $Pd(C{\equiv}C\text{-}R)_2(PPh_3)_2$], el cual genera la correspondiente especie catalítica bis(trifenilfosfina)paladio(0) [**C**, $Pd(PPh_3)_2$, "Pd(0)"] a través de la eliminación reductora del 1,4-di(aril/vinil)butadiino (dímero). La subsecuente ***adición oxidativa*** del haluro arílico/vinílico a la especie catalítica **C** generada en el medio de reacción dio lugar al aducto [**D**, $Pd(X)(R')(PPh_3)_2$], el cual fue alquinilado (***transmetalación***) para dar lugar al derivado aril/vinilalquinilo de paladio(II) [**E**, $Pd(C{\equiv}C\text{-}R)(R')(PPh_3)_2$]. Este complejo regenera fácilmente el catalizador original (**C**) mediante la **eliminación reductora** del producto de sustitución, la cual da lugar al producto de acoplamiento cruzado arilo/vinilo-alquino (R'-C≡C-R). Cabe señalar que la utilización de Pd/C como fuente heterogénea de paladio permitiría la generación *in situ* de la especie catalítica de Pd(0), evitando así la síntesis tediosa y cara de $PdCl_2(PPh_3)_2$.

[722] a) Rossi, R.; Carpita, A.; Bellina, F. *Org. Prep. Proced. Int.* **1995**, *27*, 127-160. b) Farina, V.; Kapadia, S.; Krishnan, B.; Wang, C.; Liebeskind, L. S. *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 5905-5911.

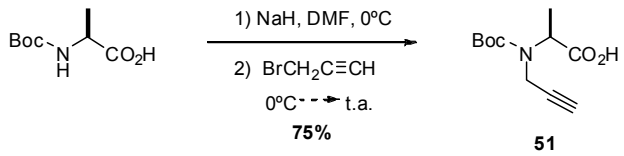
[723] a) Soheili, A.; Albaneze-Walker, J.; Murry, J. A.; Dormer, P. G.; Hughes, D. L. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 4191-4194. b) Fukuyama, T.; Shinmen, M.; Nishitani, S.; Ryu, I. *Org. Lett.* **2002**, *4*, 1691-1694. c) Bugamin, N. A.; Sukhomlinova, L. I.; Luzikova, E. V.; Tolstaya, T. P.; Beletskaya, I. P. *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 897-900. d) Nguefack, J. P.; Bolitt, V.; Sinou, D. *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 5227-5530. e) Genet, J. P.; Blart, E.; Savignac, M. *Synlett* **1992**, 715-717.

La modificación de α-aminoácidos que incorporen sustratos acetilénicos en su estructura — tales como N-alquinil o C_α-alquinil-α-aminoácidos — mediante reacciones de acoplamiento de Sonogashira debe permitir la introducción de diversos ligandos que puedan unirse a metales de forma eficiente, facilitando así el control de la estructura peptídica.

20.2. SÍNTESIS DE N-(ω-ARIL)-α-AMINOÁCIDOS

20.2.1. SÍNTESIS DE *L*-N-BOC-PROPARGILALANINA

El primer paso de la síntesis de aminoácidos N-modificados requiere la introducción del grupo funcional propargilo en el N_α del aminoácido natural precursor. Para ello, hemos empleado una pequeña variante del método directo descrito por el grupo de Benoiton,[724] debido a su sencillez, a la ausencia de racemización y a su adecuación a la estrategia de síntesis. De esta forma, se observó como el tratamiento de *L*-N-Boc-Ala-OH con hidruro sódico y bromuro de propargilo en DMF a 0 ºC daba lugar a la formación de la correspondiente *L*-N-Boc-N-propargilalanina (**51**) con un rendimiento del 75% (Esquema 17).[718,725]



Esquema 17. Síntesis de *L*-N-Boc-N-propargilalanina (**51**).

Una vez obtenido el aminoácido N-propargilado, se procedió a su funcionalización con distintos anillos (hetero)aromáticos mediante reacciones de acoplamiento de Sonogashira.

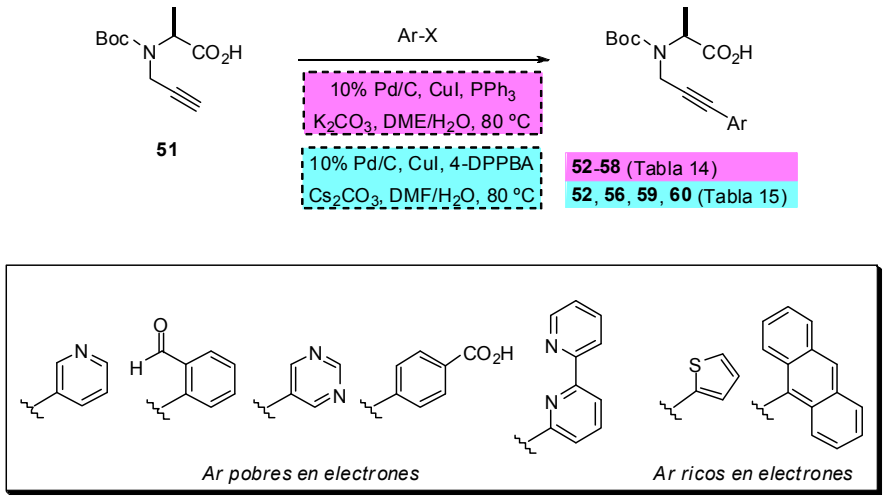
20.2.2. ACOPLAMIENTO DE SONOGASHIRA DE *L*-N-BOC-PROPARGILALANINA CON HALOARILOS DE DISTINTA NATURALEZA ELECTRÓNICA

Los estudios previos realizados por nuestro grupo de investigación permitieron observar las limitaciones que presentaba la reacción de Sonogashira cuando se empleaban α-aminoácidos N-propargilados (Esquema 18). Así, todas las pruebas realizadas sobre *L*-N-Boc-N-propargilalanina (**51**) usando condiciones convencionales no condujeron al producto de acoplamiento cruzado esperado. Después de un extenso estudio de la reacción

[724] a) Cheung, S. T.; Benoiton, N. L. *Can. J. Chem.* **1977**, *55*, 906-921. b) McDermott, J. R.; Benoiton, N. L. *Can. J. Chem.* **1973**, *51*, 1915-1919.

[725] Las condiciones clásicas de Benoiton (NaH y bromuro de propargilo en THF) conducían fundamentalmente al éster propargílico de la *L*-N-Boc-alanina, produciéndose una racemización bastante importante. La alquilación de *L*-N-Boc-Ala-OH en DMF — aunque también puede dar lugar a pequeñas trazas del éster propargílico y del producto dipropargilado — resulta ser más conveniente, ya que se obtiene el α-aminoácido N-propargilado **51** de forma mayoritaria. Además, la síntesis de aminoácidos y péptidos en DMF presenta una especial relevancia.

de Sonogashira empleando diferentes disolventes, ligandos, bases y otros aditivos, se pudo observar como la utilización de Pd/C como fuente heterogénea de paladio y una mezcla de DME/H_2O (1:1) como disolvente en presencia de CuI, K_2CO_3 y PPh_3 daba lugar de manera satisfactoria al acoplamiento cruzado con numerosos halo(hetero)arilos de distinta naturaleza electrónica, obteniéndose rendimientos de moderados a altos (96-45%) (Esquema 18, sombreado fucsia) (Tabla 14, *entradas 1-6*).[718,719,726] Estas condiciones suaves resultaron ser especialmente atractivas, ya que la utilización de Pd/C permite una fácil recuperación y reciclaje del paladio, además de causar poca contaminación del producto.[727] Del mismo modo, las reacciones en medio acuoso resultan muy interesantes desde el punto de vista ambiental y económico.[728] Desafortunadamente, las condiciones expuestas presentaron ciertas limitaciones. Así, los ensayos de acoplamiento de 6-bromo-2,2'-bipiridina,[729,730] con el aminoácido N-propargilado **51** en las mismas condiciones experimentales descritas con anterioridad no condujeron a la formación apreciable del correspondiente producto **56**, recuperándose intactas las sustancias de partida (Tabla 14, *entrada 5*). Probablemente, la escasa solubilidad de la bromopiridina en DME/H_2O es responsable fundamental de la falta de reactividad.[731]



Esquema 18. Síntesis de *L*-N-Boc-N-(ω-arilpropargil)glicina mediante reacciones de acoplamiento de *L*-N-Boc-N-propargilalanina (**51**) con diversos haluros (hetero)arilo (Ar-X). En sombreado fucsia, se indican las condiciones de reacción optimizadas previamente en nuestro grupo de investigación. En sombreado turquesa, se muestran las condiciones de reacción optimizadas durante el transcurso de esta Tesis Doctoral [Ar: arilo].

[726] Para protocolos de acoplamiento cruzado heteroaril-alquino empleando Pd/C como catalizador heterogéneo, PPh_3 como fosfina — en lugar del costoso y sensible $Pd(PPh_3)_4$ — y una base inorgánica en una mezcla de DME/H_2O, ver: a) Bleicher, L. S.; Cosford, N. D. P.; Herbaut, A.; McCallum, J. S.; McDonald, I. A. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 1109-1118. b) Marck, G.; Villiger, A.; Buchecker, R. *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 3277-3280. c) De la Rosa, M.; Velarde, E.; Guzmán, A. *Synth. Commun.* **1990**, *20*, 2059-2064.

[727] Gala, D.; Stamford, A.; Jenkins, J.; Kugelman, M. *Org. Process Res. Dev.* **1997**, *1*, 163-164.

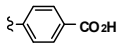
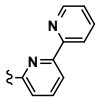
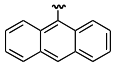
[728] a) Shaughnessy, K. H.; DeVasher, R. B. *Curr. Org. Chem.* **2005**, *9*, 585-609. b) *Aqueous-phase organometallic catalysis [2nd edn];* Eds B. Cornils, W. A. Herrmann; Wiley-VCH: Weinheim (Alemania), **2004**. c) *Organic synthesis in water*; P. A. Grieco; Academic Press: Dordrecht (Holanda), **1997**. d) *Organic reactions in aqueous media*; Eds. C.-J. Li, T.-H. Chan; Wiley: New York (Estados Unidos), **1997**. e) Bumagin, N. A.; Sukhomlinova, L. I.; Luzikova, E. V.; Tolstaya, T. P.; Beletskaya, I. P. *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 897-900.

[729] La síntesis de la 6-bromo.2,2'-bipiridina se llevó a cabo a partir de la 2,2'-bipiridina comercial mediante una ruta que consta de tres pasos; formación de la sal de yodo de la N-metil-bipiridina, oxidación a la 1-metil-2,2'-bipiridin-6-ona y brotación selectiva. Para más información, ver: a) Case, F. H. *J. Org. Chem.* **1966**, *31*, 2398-2400. b) Westheimer, F. H.; Benfey, O. T. *J. Am. Chem. Soc.* **1956**, *78*, 5309-5311.

[730] Proyecto Fin de Carrera de Roberto J. Brea Fernández - "Síntesis de aminoácidos no naturales modificados por reacciones de paladio" [*Universidad de Santiago de Compostela*, **2001**].

[731] Hemos de indicar que los experimentos de acoplamiento realizados en otros disolventes (EtOH, CH_3CN,…) — en los cuales la bromopiridina era más soluble — tampoco condujeron al producto de acoplamiento **56** esperado.

Tabla 14. Reacciones de acoplamiento de *L*-N-Boc-N-propargilalanina (**51**) con diversos haluros (hetero)arilo de diversa naturaleza. Las reacciones han sido realizadas mediante tratamiento de Ar-X (1.1 mmol) con **51** (1.0 mmol) a 80 ºC en 20 mL de mezcla DMF/H_2O (1:1), empleando 10% Pd/C (0.03 mmol), CuI (0.08 mmol), K_2CO_3 (2.5 mmol) y ligando PPh_3 (0.1 mmol).

Entrada	X	Ar	Producto (%)[a]
1	Br		**52** (74)
2	Br		**53** (96)
3	Br		**54** (62)
4	Br		**55** (45)
5	Br		**56** (nd[b])
6	Br		**57** (60)
7	Br		**58** (81)

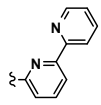
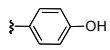
[a]Rendimientos aislados.

[b]No detectable en el crudo de reacción mediante ^{1}H RMN.

Estas limitaciones nos sirvieron como estímulo para llevar a cabo una profunda revisión de los parámetros de reacción. La utilización de Cs_2CO_3 como base, 4-DPPBA[732] como ligando y DMF como codisolvente, así como el aumento de concentración (0.1 M) para favorecer el acoplamiento entre los dos sustratos, ha permitido la optimización de nuestra metodología (Esquema 18, sombreado turquesa).[730] De esta forma, se procedió a continuación al estudio de las condiciones optimizadas de acoplamiento de Sonogashira de *L*-N-Boc-N-propargilalanina (**51**) con distintos haloarilos. De este modo, se pudo observar inicialmente como los rendimientos se incrementaban considerablemente. Así, el acoplamiento de **51** con bromuros derivados de anillos deficientes en electrones— entre los que destacan los derivados de piridina — conduce a excelentes rendimientos (86%) (Tabla 15, *entrada 1*). En el caso particular de la 6-bromo-2,2'-bipiridina,[729,730] el aumento de solubilidad aportado por la DMF ha permitido la obtención del producto de acoplamiento cruzado **56** con un rendimiento moderado (45%) (Tabla 15, *entrada 2*). Las condiciones optimizadas también dieron lugar a la reacción de Sonogashira de **51** con ioduros de anillos aromáticos ricos en electrones — los cuales se caracterizan por poseer una menor reactividad — con rendimientos excelentes (93-89%) (Tabla 15, *entradas 3 y 4*). Finalmente, cabe destacar que los altos rendimientos obtenidos son independientes de si se emplean bromuros o yoduros de arilo.

[732] **4-DPPBA:** ácido 4-difenilfosfinobenzoico.

Tabla 15. Reacciones de acoplamiento de *L*-N-Boc-N-propargilalanina (**51**) con diversos haluros (hetero)arilo de diversa naturaleza. Las reacciones han sido realizadas mediante tratamiento de Ar-X (1.1 mmol) con **51** (1.0 mmol) a 80 ºC en 10 mL de mezcla DMF/H_2O (1:1), empleando 10% Pd/C (0.05 mmol), CuI (0.2 mmol), Cs_2CO_3 (2.5 mmol) y ligando 4-DPPBA (0.2 mmol).

Entrada	X	Ar	Producto (%)[a]
1	Br		**52** (86)
2	Br		**56** (45)
3	I		**59** (89)
4	I		**60** (93)

[a]Rendimientos aislados.

En definitiva, hemos conseguido poner a punto las condiciones de reacción para el acoplamiento efectivo de halo(hetero)arilos de diferente naturaleza electrónica con el alquino terminal de la *L*-N-Boc-N-propargilalanina (**51**) mediante reacciones catalizadas por paladio, obteniéndose los correspondientes N-arilpropargilaminoácidos con excelentes rendimientos.

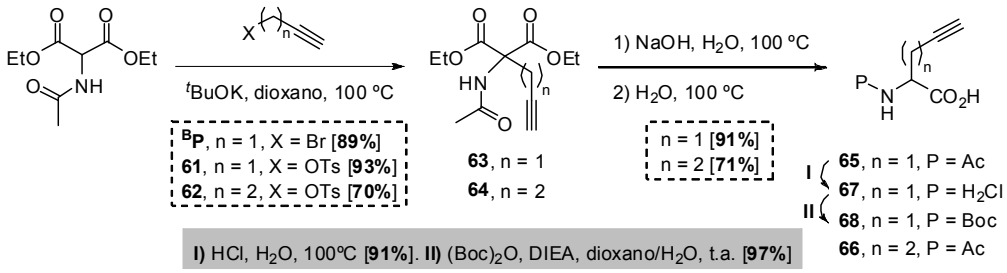
La aplicación de la metodología sintética previamente optimizada al estudio de α-aminoácidos que presentan funcionalidades alquino terminal en sus cadenas laterales debería permitir la preparación efectiva de una gran colección de aminoácidos modificados (arilfuncionalizados) de especial interés.[733,734]

20.3. SÍNTESIS DE C_α-(ω-ARIL)-α-AMINOÁCIDOS

20.3.1. SÍNTESIS DE PROPARGIL- Y HOMOPROPARGILGLICINAS

En primer lugar se llevó a cabo la síntesis de los α-aminoácidos propargil- (Pra) y homopropargilglicina (^{H}Pra) (Esquema 19). Inicialmente, planeamos su obtención mediante la alquilación directa del éster metílico de N-Boc-Gly con bromuro propargílico u homopropargílico en presencia de LDA. Desafortunadamente, todos los intentos resultaron infructuosos, por lo que nos planteamos la utilización de métodos convencionales de alquilación directa de malonatos. Cabe destacar que — contrariamente a los métodos reportados[735] — el tratamiento

[733] Brea, R. J.; López-Deber, M. P.; Castedo, L.; Granja, J. R. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 7870-7873.
[734] Tesina de Roberto J. Brea Fernández - "Estudio de la reacción de Sonogashira en agua para la modificación de aminoácidos y péptidos" [*Universidad de Santiago de Compostela*, **2002**].
[735] a) Baldwin, J. E.; Bradley, M.; Abbott, S. D.; Adlington, R. M. *Tetrahedron* **1991**, *47*, 5309-5328. b) Van Hest, J. C. M.; Kiick, K. L.; Tirrell, D. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *122*, 1282-1288. c) Leukart, O.; Caviezel, M.; Eberle, A.; Escher, E.; Tun-Kyi, A.; Schwyzer, R. *Helv. Chim. Acta* **1976**, *59*, 2181-2183.



Esquema 19. Síntesis de propargil- (**65**, **67** y **68**) y homopropargilglicinas (**66**).

de dietilacetamidomalonato con derivados alquinílicos tosilados en THF o DMF no condujo a los correspondientes productos de alquilación (Tabla 16, *entradas 1* y *2*). Del mismo modo, el empleo de las combinaciones base/disolvente NaH/DMF o Na/EtOH (condiciones de Coulter)[736] tampoco facilitó la formación de los malonatos alquilados deseados (Tabla 16, *entradas 3 y 4*). Tras la realización de numerosos ensayos de reacción empleando varios disolventes (THF, dioxano, DMF), bases (NaH, EtONa, LDA, ^{t}BuOK) y derivados alquinílicos (bromuros, ioduros, tosilatos, triflatos), se pudo observar como las condiciones de alquilación optimizadas hacen uso de la combinación ^{t}BuOK/dioxano (Tabla 16, *entradas 5 y 6*). Así, el tratamiento de dietilacetamidomalonato con los correspondientes derivados alquinílicos [bromuro de propargilo (**^{B}P**) o 1-(4-metil-bencenosulfonato) de 2-butino (**61**)[733,737,738] para propargilderivados; 1-(4-metilbencenosulfonato) de 3-butino (**62**)[733,737,738] para homopropargilderivados] en dioxano y empleando ^{t}BuOK como base, dio lugar a los malonatos deseados [malonatos propargilado (**63**) y homopropargilado (**64**)] con rendimientos razonables (93-70%) (Esquema 19).

Tabla 16. Reacciones de alquilación de dietilacetamidomalonato con distintos derivados propargílicos para dar lugar al correspondiente malonato propargilado **63**.

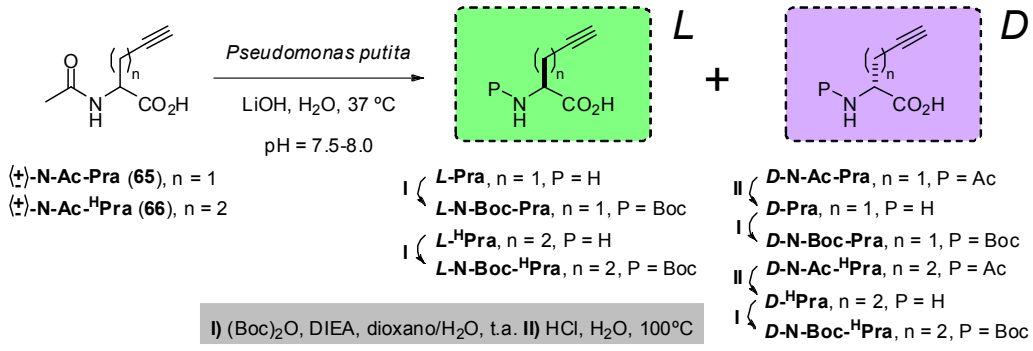
Entrada	Derivado propargílico	Base	Disolvente	Rendimiento
1	**61**	^{t}BuOK	THF	nd[b]
2	**61**	^{t}BuOK	DMF	nd[b]
3	**61**	Na	EtOH	nd[b]
4	**61**	NaH	DMF	nd[b]
5	**^{B}P**	^{t}BuOK	Dioxano	**63** (89)
6	**61**	^{t}BuOK	Dioxano	**63** (93)

[a]No detectable en el crudo de reacción mediante ^{1}H RMN.

[736] Coulter, A. W.; Talalay, P. *J. Biol. Chem.* **1968**, *243*, 3238-3247.
[737] Los derivados alquinílicos tosilados se prepararon por tratamiento de los correspondientes alcoholes (alcohol propargílico para **61**; 3-butin-1-ol para **62**) con cloruro de tosilo en Et_2O, empleando KOH como base.
[738] Para otros métodos de preparación de los derivados alquinílicos tosilados, ver: Van Hest, J. C. M.; Kiick, K. L.; Tirrell, D. A. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 1282-1288.

La hidrólisis básica de los compuestos **63** y **64** por tratamiento con NaOH en medio acuoso, seguido por descarboxilación en H_2O, condujo finalmente a los correspondientes N-Ac-C_α-alquinil-α-aminoácidos **65** (N-Ac-Pra) y **66** (N-Ac-^{H}Pra) con rendimientos elevados (91% y 71%, respectivamente) (Esquema 19). En el caso particular del derivado propargilado N-acetilado **65**, el cambio de grupo protector se logró eficazmente mediante hidrólisis ácida con HCl en medio acuoso (*desacetilación*) — dando lugar al hidrocloruro del ácido *DL*-2-aminopent-4-inoico (**67**)[739,740] — y posterior tratamiento con Boc_2O y DIEA en agua/dioxanos (*N-protección*), proporcionando así la N-Boc-propargilglicina (**68**, N-Boc-Pra) (Esquema 19).

Hemos de señalar que la estabilidad que presenta el grupo acetilo (Ac) en las condiciones suaves de Sonogashira previamente desarrolladas, debe permitir el empleo de los correspondientes N-Ac-C_α-alquinil-α-aminoácidos **65** y **66** en el estudio del acoplamiento cruzado alquino-arilo. Además, la hidrólisis enantioselectiva de dichos N-Ac-derivados empleando la aminopeptidasa *Pseudomonas putita* (Acilasa I) dio lugar a la obtención de los correspondientes *L*- y *D*-C_α-alquinil-α-aminoácidos (Pra y/o ^{H}Pra) enantioméricamente puros (ee > 99%)[741] (Esquema 20).[742] La posterior N-protección por tratamiento con Boc_2O y DIEA en agua/dioxanos permite aislar los *L*- y *D*-N-Boc-aminoácidos de forma enantiopura, los cuales presentan un especial interés en síntesis peptídica, ya que facilitan la incorporación de la funcionalidad alquino terminal de manera extremadamente sencilla.



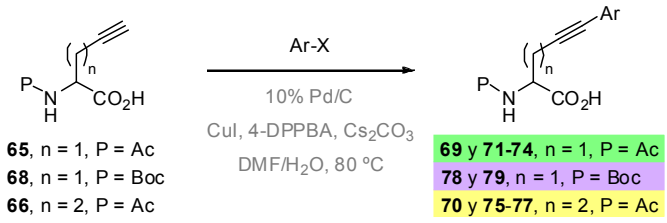
Esquema 20. Síntesis de *L*- y *D*-α-aminoácidos enantioméricamente puros mediante hidrólisis enantioselectiva de N-Ac-C_α-alquinil-α-aminoácidos, empleando para ello la aminopeptidasa *Pseudomonas putita* (Acilasa I).

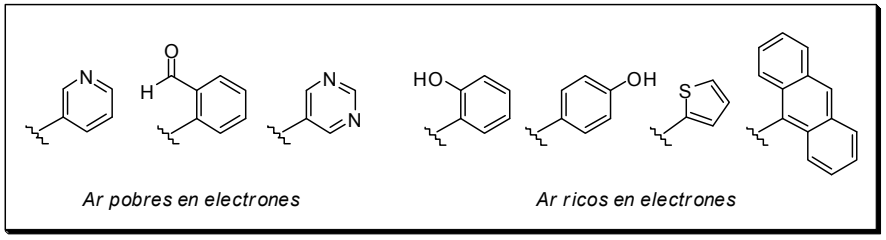
Una vez sintetizados los diferentes derivados de propargil- y homopropargilglicina, se procedió a su funcionalización con distintos anillos (hetero)aromáticos mediante reacciones de acoplamiento de Sonogashira catalizadas por Pd(0) en medio acuoso.[733,734]

[739] El hidrocloruro **67** también puede ser obtenido directamente mediante la descarboxilación en medio acuoso ácido (HCl, H_2O) del intermedio diácido obtenido tras la hidrólisis básica del malonato **63**.
[740] La purificación del hidrocloruro **67** mediante cromatografía de intercambio iónico — para eliminar la presencia de numerosas sales — permite aislar el α-aminoácido propargilglicina (Pra), el cual presenta una gran importancia biológica. Para más información, ver: Hatanaka, S.; Furukawa, J.; Aoki, T.; Akatsuka, H.; Nagasawa, E. *Mycoscience* **1994**, *35*, 391-394.
[741] La determinación formal de la pureza enantiomérica se llevó a cabo mediante el test de Marfey, de forma análoga a la realizada para el *L*-Boc-γ-Acp-OH (**14**) (Esquema 4).
[742] Para hidrólisis enantioselectiva empleando *Pseudomonas putita*, ver: a) Wolf, L. B.; Tjen, K. C. M. F.; Rutjes, F. P. J. T.; Hiemstra, H.; Schoemaker, H. E. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 5081-5084. b) Chenault, H. K.; Dahmer, J.; Whitesides, G. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 6354-6364.

20.3.2. ACOPLAMIENTO DE SONOGASHIRA DE PROPARGIL- Y HOMOPROPARGILGLICINAS CON HALOARILOS DE DISTINTA NATURALEZA ELECTRÓNICA

El estudio y optimización de las condiciones de la reacción de acoplamiento de Sonogashira de las propargil- (**65** y **68**) y homopropargilglicinas (**66**) se llevó a cabo con el haloarilo 3-bromopiridina, al ser éste el anillo que conducía a mejores rendimientos en las condiciones encontradas hasta el momento (Esquema 21, Tabla 17). De esta forma, se obtuvieron numerosos resultados de dicha reacción con distintos disolventes, ligandos, bases y otros aditivos. Inicialmente, se pudo observar como las propargil- (**65** y **68**) y homo propargilglicinas (**66**) — tal y como sucedía en el caso de *L*-N-Boc-N-propargilalanina (**51**) — no dieron lugar a los correspondientes productos de acoplamiento cruzado con 3-bromopiridina bajo condiciones convencionales de Sonogashira (Tabla 17, *entradas 1-5*). Parece ser que la utilización de otras fuentes de Pd(0) diferentes al Pd/C no son compatibles con la sustancia de partida, conduciendo mayoritariamente a una mezcla compleja de productos secundarios y de descomposición de los α-aminoácidos. Afortunadamente, al igual que sucedía con los análogos N-propargilados,[718] la utilización de Pd/C como catalizador permitió el acoplamiento del ácido *DL*-N-acetil-2-aminohex-5-inoico (**66**) con el correspondiente derivado piridínico bromado con rendimientos moderados (58%), empleando además PPh_3, Cs_2CO_3 y DME/H_2O (Tabla 17, *entrada 6*). De nuevo, el reemplazo de la combinación fosfina/disolvente PPh_3/DME por 4-DPPBA/DMF provocó el aumento del rendimiento hasta el 86% (Tabla 17, *entrada 7*).[743,744]

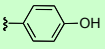
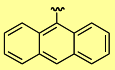
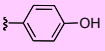




Esquema 21. Síntesis de C_α-(ω-arilalquinil)-α-aminoácidos mediante reacciones de acoplamiento de propargil- (**65** y **68**) y homopropargilglicinas (**66**) con diversos haluros (hetero)arilo (Ar-X). En gris se indican las condiciones de reacción optimizadas. De manera resaltada se muestran los distintos anillos acoplados, clasificados según su naturaleza electrónica [Ar: arilo].

[743] Para importancia del disolvente en la eficiencia catalítica de Pd/C, ver: Felpin, F.-X.; Vo-Thanh, G.; Villiéras, J.; Lebreton, J. *Tetrahedron: Asymmetry* **2001**, *12*, 1121-1124.
[744] Recientemente se ha demostrado que las velocidades de reacción de los sistemas de disolvente DMA/H_2O son comparables a las de las reacciones homogéneas análogas. Para más información, ver: Novák, Z.; Szabó, A.; Répási, J.; Kotschy, A. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 3327-3329.

Tabla 17. Reacciones de acoplamiento de propargil- (**65** y **68**) (sombreado verde claro y rosa claro, respectivamente) y homopropargilglicinas (**66**) (sombreado amarillo claro) con diversos haluros (hetero)arilo de diversa naturaleza.

Entrada	P	n	Catalizador	Ligando	Disolvente	X	Ar	Producto (%)[a]
1	Ac	1	$PdCl_2(Ph_3P)_2$[b]		Et_3N	Br		**69** (nd[c])
2	Ac	2	$PdCl_2(Ph_3P)_2$[b]		Et_3N	Br		**70** (nd[c])
3	Ac	2	$PdCl_2(Ph_3P)_2$[b]		DMF	Br		**70** (nd[c])
4	Ac	2	$PdCl_2(Ph_3P)_2$[b]		THF	Br		**70** (nd[c])
5	Ac	2	$Pd(Ph_3P)_4$[b]		CH_3CN	Br		**70** (nd[c])
6	Ac	2	10% Pd/C[d]	Ph_3P	DME/H_2O	Br		**70** (58)
7	Ac	2	10% Pd/C[d]	4-DPPBA	DMF/H_2O	Br		**70** (86)
8	Ac	1	10% Pd/C[d]	4-DPPBA	DMF/H_2O	Br		**69** (96)
9	Ac	1	10% Pd/C[d]	4-DPPBA	DMF/H_2O	Br		**71** (88)
10	Ac	1	10% Pd/C[d]	4-DPPBA	DMF/H_2O	Br		**72** (94)
11	Ac	1	10% Pd/C[d]	4-DPPBA	DMF/H_2O	I		**73** (92)
12	Ac	1	10% Pd/C[d]	4-DPPBA	DMF/H_2O	I		**74** (93)
13	Ac	2	10% Pd/C[d]	4-DPPBA	DMF/H_2O	Br		**75** (82)
14	Ac	2	10% Pd/C[d]	4-DPPBA	DMF/H_2O	I		**76** (90)
15	Ac	2	10% Pd/C[d]	4-DPPBA	DMF/H_2O	Br		**77** (87)
16	Boc	1	10% Pd/C[d]	4-DPPBA	DMF/H_2O	Br		**78** (93)
17	Boc	1	10% Pd/C[d]	4-DPPBA	DMF/H_2O	I		**79** (91)

[a]Rendimientos aislados. [b]Reacciones de 3-bromopiridina (1.1 mmol) con **65** o **66** (1.0 mmol) a 80 ºC en 10 mL de disolvente, empleando 5% catalizador de Pd, 7.5% CuI y Et_3N (0.6 mL). [c]No detectable en el crudo de reacción mediante espectroscopia ^1H RMN. [d]Reacciones de Ar-X (1.1 mmol) con **65**, **66** o **68** (1.0 mmol) a 80 ºC en 9 mL de mezcla de disolvente, empleando 10% Pd/C (0.05 mmol), CuI (0.2 mmol), Cs_2CO_3 (2.5 mmol) y ligando (0.2 mmol).

Una vez observado los excelentes resultados obtenidos para la reacción de Sonogashira del ácido *DL*-N-acetil-2-aminohex-5-inoico (**66**) con la 3-bromopiridina, se decidió explorar a continuación el alcance y generalidad de la metodología sintética desarrollada, para lo cual fue necesario el empleo de diversos haloarilos de distinto tamaño y naturaleza electrónica (Esquema 21, Tabla 17). De este modo, se pudo observar inicialmente como los α-aminoácidos C_α-propargilados (**65** y **68**) y C_α-homopropargilados (**66**) se acoplaban con bromuros derivados de anillos deficientes en electrones— entre los que destacan los derivados de piridina y los bencenos sustituidos — generalmente con buenos rendimientos (96-82%) (Tabla 17, *entradas 7, 8, 10, 13 y 16*). Sorprendentemente, los haluros (derivados bromados o iodados) de anillos aromáticos ricos en electrones — los cuales se caracterizan por poseer una menor reactividad — también dieron lugar a la reacción de acoplamiento cruzado de Sonogashira con glicinas propargiladas (**65** y **68**) y homopropargiladas (**66**) de manera satisfactoria, con rendimientos análogos a los del caso anterior (93-87%) (Tabla 17, *entradas 9, 11, 12, 14, 15 y 17*). Entre todos ellos, cabe destacar los altos rendimientos obtenidos con los bromoderivados de tiofeno (88%) y antraceno (87%) (Tabla 17, *entradas 9 y 15*), especialmente si se comparan con otros anillos de igual naturaleza electrónica. También resultaron especialmente interesantes los resultados logrados con 2-iodofenol (90%) (Tabla 17, *entrada 11*), ya que nos han permitido vislumbrar la utilización de las condiciones de acoplamiento optimizadas en sistemas análogos al anterior, como puede ser el caso de los derivados de iodotirosinas.[734] Finalmente, cabe destacar que los altos rendimientos obtenidos son independientes de si se emplean bromuros o yoduros de arilo, así como si el grupo protector del extremo N-terminal del aminoácido es Ac o Boc.

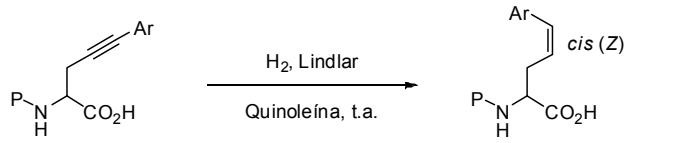
En definitiva, hemos conseguido poner a punto las condiciones experimentales para el acoplamiento efectivo de haloarilos de diferente naturaleza electrónica con el alquino terminal de distintos N- y C_α-(homo)propargil-α-aminoácidos. Dichos derivados pueden ser sometidos a condiciones reductoras, disponiendo así de una gran colección de α-aminoácidos modificados de especial interés. Para ello, decidimos llevar a cabo la reducción del triple enlace — el cual ha sido necesario para la introducción selectiva de anillos aromáticos — de los α-aminoácidos ω-arilalquinilados preparados con anterioridad.

20.3.3. REDUCCIÓN DE C_α-(ω-ARILALQUINIL)-α-AMINOÁCIDOS

La hidrogenación del triple enlace — tanto parcial como total — debe conducir a la obtención de los correspondientes arilalquenil- y arilalquilderivados. Hemos de señalar que los estudios previos de hidrogenación llevados a cabo sobre los sustratos N-arilpropargilados resultaron ser plenamente satisfactorios,[718] por lo que decidimos basar nuestra estrategia en la utilización de condiciones de reacción similares para lograr la hidrogenación de los α-aminoácidos Cα-ω-arilalquinilados previamente sintetizados.[733] De este modo, podríamos obtener una gran colección de residuos C_α-arilfuncionalizados de diferente flexibilidad y geometría de coordinación, los cuales podrían presentar aplicaciones relevantes como sitios de unión a metales.

Semi-hidrogenación del triple enlace

Los primeros ensayos de reducción parcial del triple enlace se realizaron sobre la *DL*-N-Boc-(3-piridil)propargilglicina (**78**), al ser éste uno de los compuestos habitualmente utilizado en la optimización de la reacción de acoplamiento de Sonogashira (Esquema 22). Así, el tratamiento de **78** con catalizador de Lindlar[745] y quinoleína[746] en metanol bajo atmósfera de hidrógeno (H_2) condujo al correspondiente *cis*-arilalquenilderivado **80** (isómero *Z*)[747] con un rendimiento del 82%. A continuación, se emplearon las mismas condiciones de reacción para lograr la semi-hidrogenación de *DL*-N-Boc-(4-fenol)propargilglicina (**79**), obteniéndose el derivado *cis*-dehidrobishomotirosina **81** con un rendimiento del 86% (Esquema 22). Finalmente, se pudo observar como la reducción parcial del triple enlace de los compuestos análogos N-acetilados (ácidos *DL*-N-acetil-(3'-aril)-2-aminopent-4-inoicos **69** y **74**, respectivamente) dio lugar a los correspondientes *cis*-arilalquenil-α-aminoácidos (**82** y **83**, respectivamente) con rendimientos superiores al 75% (Esquema 22).



78, P = Boc, Ar = 3-py
79, P = Boc, Ar = 4-ph
69, P = Ac, Ar = 3-py
74, P = Ac, Ar = 4-ph

80, P = Boc, Ar = 3-py [**82%**]
81, P = Boc, Ar = 4-ph [**86%**]
82, P = Ac, Ar = 3-py [**77%**]
83, P = Ac, Ar = 4-ph [**81%**]

Esquema 22. Síntesis de C_α-(ω-aril-*cis*-alquenil)-α-aminoácidos mediante semi-hidrogenación catalítica (reducción parcial del triple enlace) [3-py: 3-piridina; 4-f: 4-fenol].

Hidrogenación del triple enlace

Al igual que en el caso anterior, las primeras pruebas de reducción total del triple enlace se llevaron a cabo sobre la *DL*-N-Boc-(3-piridil)propargilglicina (**78**), al ser éste uno de los compuestos frecuentemente empleado en la optimización de la reacción de acoplamiento cruzado (Esquema 23). De esta forma, el tratamiento del aminoácido C_α-(ω-arilalquinilado) **78** con 10% Pd/C en 5% AcOH/MeOH bajo atmósfera de hidrógeno (H_2) condujo al piridilderivado reducido **84** con un rendimiento del 98%. Hemos de indicar que el medio ácido parece influir positivamente en el rendimiento de la reacción de hidrogenación, probablemente gracias al

[745] El catalizador de Lindlar es un catalizador heterogéneo con gran área superficial formado por paladio precipitado en carbonato de calcio y tratado con acetato de plomo(II), lo que permite la desactivación de algunas posiciones del paladio. Habitualmente, la proporción de Pd en el catalizador es de 5-10% p/p. El catalizador de Lindlar es frecuentemente utilizado para la hidrogenación estereoselectiva de alquinos, pudiendo obtener así alquenos *Z* de forma eficiente. Para más información, ver: a) Garcia-Mota, M; Gómez-Díaz, J; Novell-Leruth, G.; Vargas-Fuentes, C.; Bellarosa, L.; Bridier, B.; Pérez-Ramírez, J.; López, N. *Theor. Chem. Acc.* **2010**, *128*, 663-673. b) Roberts, S. M.; Poignant, G. *Catalysts for fine chemical synthesis - Hydrolysis, oxidation and reduction [Vol. 1]*; Eds. S. M. Roberts, I. V. Kozhevnikov; E. Derouane; John Wiley & Sons: Chichester (Reino Unido), **2002**. c) Overman, L. E.; Brown, M. J.; McCann, S. F. *Org. Synth. Coll.* **1993**, *8*, 609. d) Lindlar, H. *Helv. Chim. Acta* **1952**, *35*, 446-450.

[746] El envenenamiento del catalizador con quinoleína mejora su selectividad, previniendo así la formación de alcanos.

[747] La reducción con el catalizador de Lindlar presenta estereoselectividad, transcurriendo mediante una adición *sin* para dar lugar al alqueno *cis* (alqueno *Z*).

incremento de solubilidad que aporta al aminoácido, así como a la protonación del nitrógeno del anillo de piridina que evita cualquier tipo de reacciones secundarias (tales como, por ejemplo, el envenenamiento del catalizador). Así, en ausencia de medio ácido, no se observó el producto resultante de la reducción del triple enlace, recuperándose exclusivamente de manera intacta el derivado alquinilado **78**. A continuación, se emplearon las condiciones de hidrogenación previamente optimizadas para llevar a cabo la reducción del α-aminoácido *DL*-N-Boc-(4-fenol)propargilglicina (**79**), dando lugar al correspondiente análogo de bishomotirosina **85** con un rendimiento del 96% (Esquema 23). En cuanto a los derivados N-acetilados, el tratamiento de los ácidos *DL*-N-acetil-(3'-aril)-2-aminopent-4-inoicos **69** y **74** en las mismas condiciones experimentales condujo a los correspondientes productos reducidos (**86** y **87**, respectivamente) con rendimientos elevados (superiores al 85%) (Esquema 23).



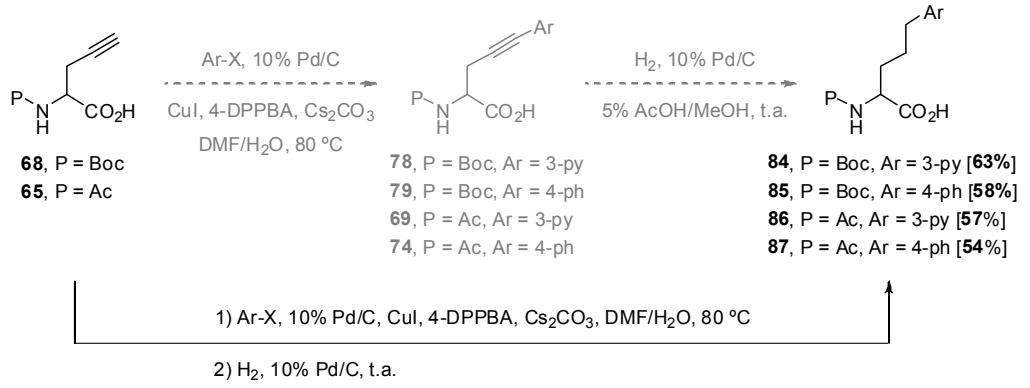
78, P = Boc, Ar = 3-py
79, P = Boc, Ar = 4-ph
69, P = Ac, Ar = 3-py
74, P = Ac, Ar = 4-ph

84, P = Boc, Ar = 3-py [**98%**]
85, P = Boc, Ar = 4-ph [**96%**]
86, P = Ac, Ar = 3-py [**87%**]
87, P = Ac, Ar = 4-ph [**85%**]

Esquema 23. Síntesis de C_α-(ω-arilalquil)-α-aminoácidos mediante hidrogenación catalítica (reducción total del triple enlace) [3-py: 3-piridina; 4-ph: 4-fenol].

20.3.4. ACOPLAMIENTO DE SONOGASHIRA SEGUIDO DE HIDROGENACIÓN (*ONE-POT*)

Tal y como se puede observar, las etapas de acoplamiento de heteroanillos aromáticos (reacción de Sonogashira) y reducción del triple enlace (hidrogenación) requieren la utilización del catalizador de Pd(0). De esta forma, nos hemos planteado la posibilidad de realizar ambos pasos de reacción en una única etapa (*one-pot*), sin aislar así el (arilpropargil)aminoácido intermedio (Esquema 24).[733] Así, el calentamiento a 80 ºC durante 8 horas de una mezcla constituida por un C_α-(ω-propargil)-α-aminoácido (**68**, para el N-Boc derivado; **65** para el N-Ac derivado), 3-bromopiridina, 10% Pd/C, CuI y Cs_2CO_3 en DMF/H_2O, seguido de agitación a temperatura ambiente bajo atmósfera saturada de hidrógeno (H_2), condujo directamente — sin llegar a aislarse los intermedios 3-piridilpropargilados (**78** y **69**, respectivamente) — a los correspondientes derivados 3-piridilalquilados **84** y **86** con un rendimiento de 63% y 57%, respectivamente. En el caso de los fenolderivados — obtenidos empleando 4-iodofenol como haluro de harilo —, los resultados logrados fueron similares, ofreciendo rendimientos moderados (50-60%) (Esquema 24). De este modo, aunque con un rendimiento global más bajo, hemos podido demostrar que es posible realizar el acoplamiento cruzado alquino-arilo y la hidrogenación catalítica en una única etapa. Finalmente, cabe destacar que este procedimiento *one-pot* conlleva que la hidrogenación requiera mayores tiempos de reacción y la adición de más catalizador.



Esquema 24. Síntesis en una única etapa (*one-pot*) de C_α-(ω-arilalquil)-α-aminoácidos mediante acoplamiento cruzado de Sonogashira seguido de hidrogenación catalítica [3-py: 3-piridina; 4-ph: 4-fenol].

Todos los arilalquinil-, arilalquenil- y arilalquil-α-aminoácidos previamente obtenidos podrían emplearse como unidades básicas de construcción en síntesis peptídica — en fase sólida o en disolución — para la preparación de sensores metálicos y/o enzimas sintéticos (metaloenzimas). De este modo, la gran variedad de heteroanillos introducidos con éxito, así como la movilidad y flexibilidad que presentan los residuos aminoacídicos — en especial los arilalquilderivados, ya que incorporan una cadena lateral alquílica —, permitirá su complejación con metales de diferente naturaleza y geometría de coordinación. Además, cabe resaltar que los aminoácidos funcionalizados con múltiples anillos aromáticos fusionados — tales como antraceno y pireno[748,749] — podrían emplearse en el marcaje fluorescente de polímeros naturales y sintéticos, así como en la detección de biomoléculas mediante métodos de transferencia de energía (FRET).[750]

Hemos de destacar que los α-aminoácidos C_α-funcionalizados retendrían todas las propiedades de enlace de hidrógeno requeridas para la formación de estructuras secundarias habituales (hélices α, láminas β,…) por parte de polipéptidos que los contengan. Del mismo modo, deberían complementar las propiedades de motivos polipeptídicos que incorporen los aminoácidos N-modificados previamente sintetizados.[751] Teniendo en cuenta todas estas consideraciones, nos planteamos a continuación la incorporación de C_α-alquinil-α-aminoácidos en distintas secuencias α,γ-ciclopeptídicas, pudiendo así llevar a cabo el control de la correspondiente estructura dimérica.

[748] Los aminoácidos C_α-pirenilfuncionalizados se pueden obtener mediante reacciones de acoplamiento de Sonogashira de los residuos aminoacídicos alquino terminal con 1-bromopireno, empleando para ello las condiciones experimentales previamente optimizadas.

[749] Pérez-Alvite, M. J.; Mosquera, M.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Amino Acids* **2011**, *41*, 621-628.

[750] En el caso particular de los arilalquinil-α-aminoácidos, la conjugación extendida del alquino con el anillo aromático le otorga especiales características espectrales.

[751] Los aminoácidos N-modificados influyen de manera notoria en los polipéptidos que los contienen, debido a que: i) adoptan una conformación extendida y aseguran la adopción de una conformación similar por parte de sus vecinos N-terminales [Para más información, ver: Stewart, D. E.; Sarkar, A.; Wampler, J. E. *J. Mol. Biol.* **1990**, *214*, 253-260]; ii) promocionan la formación de giros β [Para más información, ver: a) Braun, W.; Kallen, J.; Mikol, V.; Walkinshaw, M. D.; Wuthrich, K. *FASEB J.* **1995**, *9*, 63-72. b) Fusetani, N.; Matsunaga, S. *Chem. Re*V. **1993**, *93*, 1793-1806]; iii) promocionan la formación de estructuras α-helicoidales levógiras [Para más información, ver: Manavalan, P.; Momany, F. A. *Biopolymers* **1980**, *19*, 1943-1973].

20.4. ESTRUCTURAS DIMÉRICAS COVALENTES BASADAS EN α,γ-CICLOPÉPTIDOS

La aplicación de la metodología descrita con anterioridad al estudio de los nanotubos peptídicos debe conllevar la preparación eficiente de estructuras diméricas rígidas unidas covalentemente con alta estabilidad. Para ello, resultará necesario llevar a cabo inicialmente la síntesis de diferentes α,γ-ciclopéptidos autoensamblantes que contengan en su esqueleto residuos de propargilglicina (Pra), los cuales suministrarán la funcionalidad acetilénica terminal necesaria para dar lugar a la reacción de Sonogashira. El tratamiento de la unidad ciclopeptídica con dihaluros (hetero)aromáticos debería permitir la formación de homo- y heterodímeros unidos covalentemente, provocando a su vez la restricción conformacional de la estructura peptídica.

20.4.1. ESTRUCTURAS HOMODIMÉRICAS COVALENTES: INTERACCIÓN α–α

En primer lugar, se decidió llevar a cabo la restricción conformacional de las estructuras diméricas supramoleculares resultantes de las interacciones entre los α-aminoácidos (interacción α–α). Dicha restricción puede lograrse fácilmente mediante el establecimiento de uniones covalentes entre las subunidades ciclopeptídicas. De este modo, podríamos obtener estructuras rígidas homo- y heterodiméricas covalentes, las cuales deben exhibir una gran estabilidad. Teniendo en cuenta estos principios, fue necesario inicialmente la preparación del ciclohexapéptido *ciclo*{[*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp]$_2$-*L*-Pra-*D*-^{Me}N-γ-Acp-} (**88**), el cual se sintetizó a partir de *D*-Boc-^{Me}N-γ-Ach-OFm empleando la metodología descrita anteriormente (Esquema 7 y 8). Cabe resaltar que dicho macrociclo se autoensambla para dar lugar al correspondiente homodímero $\mathbf{D_{88}}$ en disolventes no polares con valores de K_a superiores a 10^5 M^{-1},[752] por lo que presentan un comportamiento similar al de los α,γ(Acp)- y α,γ(Ach)-ciclohexapéptidos mostrados con anterioridad. De nuevo, la ausencia de simetría favorece que se puedan formar tres homodímeros no equivalentes (isómeros rotacionales), los cuales se diferencian en las interacciones cruzadas que tienen lugar entre las cadenas laterales de las correspondientes subunidades monoméricas. Esta diferencia en la orientación relativa de las cadenas laterales es claramente responsable de la obtención de tres especies bien definidas; un homodímero eclipsado ($\mathbf{D_{88}}$ **[E]**) en el que los α-aminoácidos Pra se enfrentan entre sí [Pra/Pra, Leu$_1$/Leu$_2$ y Leu$_2$/Leu$_1$] y otros dos homodímeros alternados ($\mathbf{D_{88}}$ $\mathbf{[A]_{cw}}$ y $\mathbf{D_{88}}$ $\mathbf{[A]_{ccw}}$) en el que los α-aminoácidos Pra no se disponen uno frente a otro (Figura 189).[448] De este modo, se pudo observar como los espectros de ^{1}H RMN en disolventes no polares del macrociclo **88** exhibían claramente tres conjuntos de señales que corresponden a cada uno de los tres homodímeros, reflejando así las interacciones de hidrógeno tipo lámina β (características de la formación de

[752] El espectro de ^{1}H RMN del ciclopéptido **88** en disolventes no polares reflejó las características típicas de la formación de homodímeros ($\mathbf{D_{88}}$), mostrando valores adecuados de constante de acoplamiento ($J_{NH,\ H\alpha}$) comprendidos entre 8.5-9.5 Hz y desplazamientos químicos (δ) de las señales correspondientes a los NH en torno a 8.0-9.0 ppm. Cabe resaltar que el valor de la constante de asociación (K_a) para la formación del correspondiente homodímero debe ser superior a 10^5 M^{-1}, ya que las señales de los NH permanecen invariables, incluso a concentraciones por debajo de 0.1 mM, independientemente de si el disolvente contiene 30% MeOH o si las muestras son calentadas hasta 50º C. Del mismo modo, los espectros de FT-IR en $CHCl_3$ mostraron las bandas características de una estructura tipo lámina plegada β antiparalela.

especies homodiméricas) que tienen lugar entre cada subunidad. Evidentemente, la relativa complejidad del equilibrio es consecuencia de la presencia de los tres isómeros rotacionales posibles, los cuales están intercambiándose lentamente en la escala de tiempos del RMN. El análisis exhaustivo de la mezcla homodimérica mostró que el derivado **88** presenta una relación similar entre los tres isómeros rotacionales (**D_{88} [A]$_{cw}$** : **D_{88} [E]** : **D_{88} [A]$_{ccw}$** ~ 1 : 1 : 1).

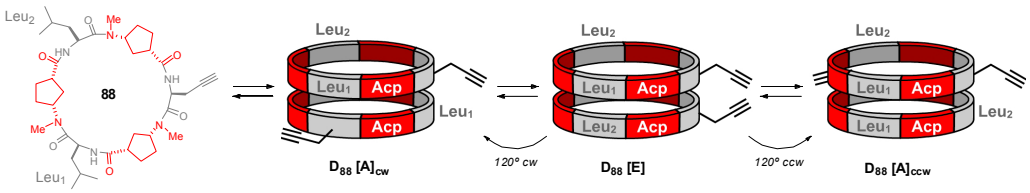
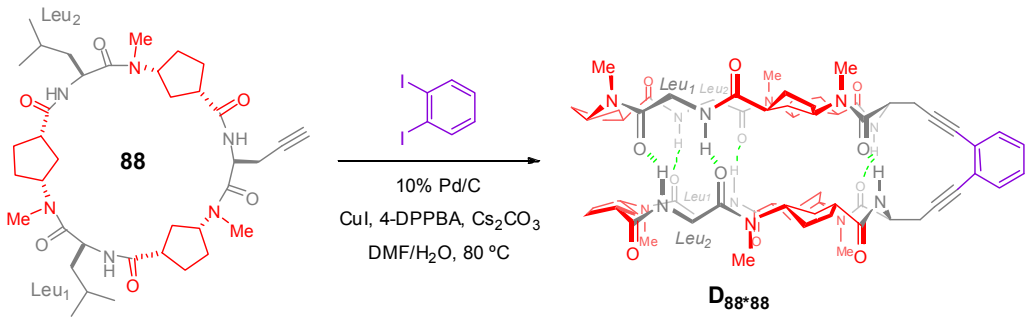


Figura 189. Representación esquemática del proceso de homodimerización del α,γ(Acp)-ciclohexapéptido *ciclo*{[*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp]$_2$-*L*-Pra-*D*-^{Me}N-γ-Acp-} (**88**). El autoensamblaje molecular del macrociclo **88** da lugar a la formación de tres especies homodiméricas que se diferencian en el apareamiento entre los α-aminoácidos que los componen. Así, en el dímero eclipsado los aminoácidos Pra se enfrentan entre sí, mientras que en el caso de los dos dímeros alternados los residuos Pra no se disponen uno frente a otro.

Una vez sintetizado nuestro modelo peptídico de estudio, decidimos afrontar el estudio de la reacción de acoplamiento de Sonogashira catalizada por paladio en medio acuoso de la unidad α.γ-ciclopeptídica **88** con dihaluros (hetero)aromáticos, lo que debería de permitir la formación de los correspondientes homodímeros unidos covalentemente, provocando a su vez la restricción conformacional de la estructura peptídica. Así por ejemplo, los ensayos de acoplamiento de 1,2-diiodobenceno con el macrociclo **88** en las mismas condiciones experimentales de acoplamiento cruzado descritas con anterioridad condujeron a la formación del correspondiente homodímero Acp-Acp **D_{88*88}**, el cual resulta de la unión covalente de dos subunidades α,γ(Acp)-ciclopeptídicas **88** mediante un conector de benceno (Esquema 25). Cabe resaltar que la geometría *orto* preestablecida por el 1,2-diiodobenceno debe ser la óptima para llevar a cabo la unión covalente entre subunidades sin alterar el proceso de autoensamblaje, pudiendo así obtener de manera adecuada la correspondiente estructura homodimérica conformacionalmente restringida. Desafortunadamente, los rendimientos de la reacción de acoplamiento fueron bajos (inferiores a 20% para todos los casos testados),



Esquema 25. Síntesis de la estructura homodimérica covalente **D_{88*88}** mediante acoplamiento cruzado del ciclohexapéptido *ciclo*{[*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp]$_2$-*L*-Pra-*D*-^{Me}N-γ-Acp-} (**88**) con 1,2-diiodobenceno.

impidiendo en gran manera la caracterización completa de la estructuras resultantes. Probablemente, los resultados obtenidos son consecuencia de la escasa solubilidad que presenta el ciclohexapéptido **88** — el cual exhibe residuos aminoacídicos γ-Acp, Pra y Leu considerablemente hidrófobos — en DMF/H_2O.

El diseño y síntesis de nuevos motivos α,γ-ciclopéptidos más solubles debe permitir superar las limitaciones surgidas en el procedimiento de acoplamiento. Además, contribuiría al estudio exhaustivo de la formación de los correspondientes homodímeros covalentes mediante la reacción de Sonogashira. Las estructuras peptídicas rígidas resultantes podrían ser empleadas como miméticos de giros β, así como sensores, sistemas de inclusión y/o receptores moleculares.

20.4.2. ESTRUCTURAS HOMODIMÉRICAS COVALENTES: INTERACCIÓN γ–γ

Decidimos a continuación estudiar las estructuras diméricas covalentes resultantes de la interacción que tiene lugar a través de las caras γ,[753] la cual debería ser menos estable que la interacción α–α previamente estudiada (10^2 M^{-1} *vs* 10^5 M^{-1}). Los problemas de plegamiento que presentan las secuencias α,γ(Acp)-ciclopeptídicas que dan lugar a interacciones γ-γ hacen que nos planteemos la utilización de α,γ(Ach)-derivados como modelo de estudio. Así, decidimos preparar en primer lugar el ciclohexapéptido *ciclo*{[*D*-γ-Ach-*L*-^{Me}N-Ala-]$_2$-*D*-γ-Ach-*L*-Pra-} (**89**), el cual se sintetizó de forma análoga a la de los anteriores macrociclos (Esquema 7 y 8), partiendo esta vez de *L*-Boc-^{Me}N-Ala-OFm y *L*-Boc-Pra-OFm.[754] Cabe destacar que la ciclación del hexapéptido lineal Boc-{[*D*-γ-Ach-*L*-^{Me}N-Ala]$_2$-*D*-γ-Ach-*L*-Pra-}-OFm — la cual transcurre a través del extremo C-terminal del aminoácido Pra — conduce a mucho mejores resultados que la ciclación del hexapéptido lineal Boc-{*D*-γ-Ach-*L*-Pra-[*D*-γ-Ach-*L*-^{Me}N-Ala]$_2$-}-OFm — la cual transcurre a través del extremo C-terminal del aminoácido ^{Me}NAla. Ambas secuencias ciclopeptídicas conducen al producto deseado (**89**), aunque parece probable que los efectos geométricos y estéricos contribuyen a que la síntesis a través de la primera sea más eficiente.

Los estudios de ^{1}H RMN en $CDCl_3$ a 298 K mostraron un espectro mucho más complicado de lo esperado, debido fundamentalmente al ensanchamiento de las señales, lo cual debe ser resultado del extremadamente rápido proceso de intercambio químico que existe en disolución (Figura 190). El análisis posterior a baja temperatura (253 K) permitió un estudio mucho más exhaustivo del comportamiento del ciclooctapéptido **89** (Figura 190). Sorprendentemente, se comprobó que el intercambio de un residuo N-metilado por uno no metilado — tres residuos N-metilados y otros tres no metilados para los sistemas γ–γ estudiados previamente,[755] frente a dos residuos N-metilados y cuatro no metilados para el ciclopéptido **89** — permite la obtención de estructuras diméricas de interacción γ-γ con estabilidades del mismo orden que las correspondientes α-α. De este modo, se pudo observar como el macrociclo **89** se autoensambla para dar lugar al correspondiente homodímero $\mathbf{D_{89}}$ en

[753] Nos referimos a las interacciones enlace de hidrógeno entre los γ-aminoácidos (interacción γ–γ).
[754] La síntesis también podría ser llevada a cabo a partir de *L*-Boc-^{Me}N-Ala-OFm y del hidrocloruro de *L*-Pra-OMe. Hemos de destacar que la presencia del grupo metílico conlleva que la preparación del ciclopéptido sea mucho más tediosa, fundamentalmente debido a que la desprotección de dicho grupo con LiOH.H_2O no resulta tan sencilla y eficiente como en el caso de los análogos (9*H*-fluoren-9-il)-metilados.
[755] Ciclohexapéptidos de fórmula general *ciclo*[*L*-^{Me}N-α-Aa-*D*-γ-Ach]$_3$.

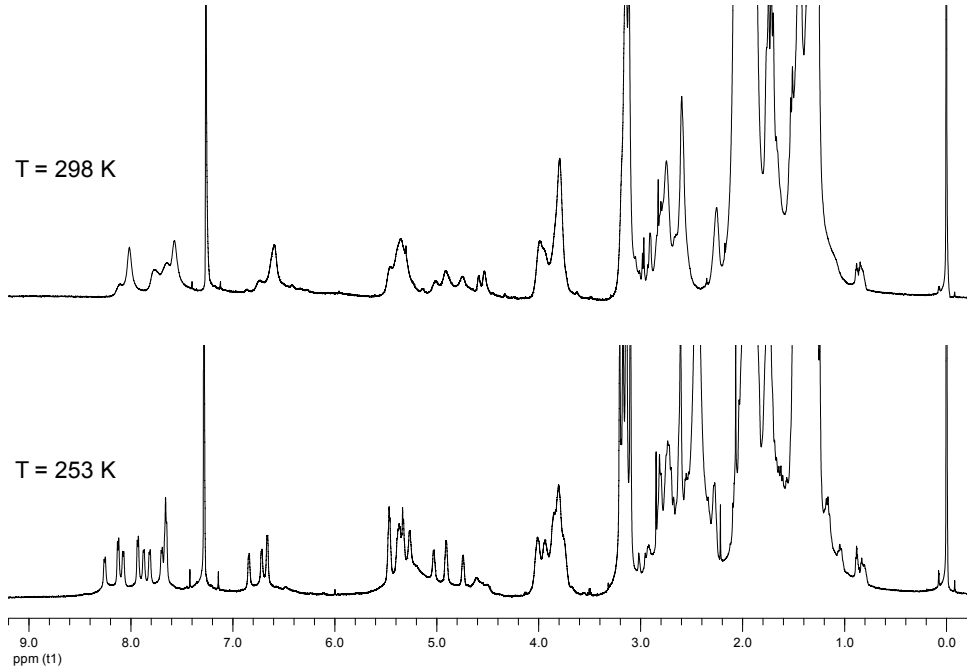


Figura 190. Espectros de ^{1}H RMN en $CDCl_3$ a distintas temperaturas (298 y 253 K) correspondientes al ciclohexapéptido *ciclo*{[*D*-γ-Ach-*L*-^{Me}N-Ala-]$_2$-*D*-γ-Ach-*L*-Pra-} (**89**),

disolventes no polares con valores de K_a superiores a 10^5 M^{-1}.[756] Nuevamente, la presencia de un eje de simetría C_1 conlleva la formación de tres homodímeros no equivalentes (isómeros rotacionales); un homodímero eclipsado (**D_{89} [E]**) en el que los α-aminoácidos Pra se enfrentan entre sí [Pra/Pra, ^{Me}NAla$_1$/^{Me}NAla$_2$ y ^{Me}NAla$_2$/^{Me}NAla$_1$] y otros dos homodímeros alternados (**D_{88} [A]$_{cw}$** y **D_{88} [A]$_{ccw}$**) en el que los α-aminoácidos Pra no se disponen uno frente a otro (Figura 191).[448] De este modo, se observó como los espectros de ^{1}H RMN en disolventes no polares del ciclohexapéptido **89** exhibían claramente tres conjuntos de señales que corresponden a cada uno de los tres homodímeros, reflejando así las interacciones de hidrógeno tipo lámina β (características de la formación de especies homodiméricas) que tienen lugar entre cada subunidad. Una vez más, la relativa complejidad del equilibrio es consecuencia de la presencia de los tres diastereoisómeros rotacionales posibles, los cuales están intercambiándose lentamente en la escala de tiempos del RMN. El análisis de la mezcla homodimérica mostró que el derivado **89** presenta una ligera selectividad hacia la formación de la especie eclipsada frente a las alternadas (**D_{88} [A]$_{cw}$** : **D_{88} [E]** : **D_{88} [A]$_{ccw}$** ~ 1 : 1.3 : 1). Creemos que la formación preferencial del regioisómero **D_{88} [E]** podría ser debida al posible establecimiento de interacciones intramoleculares estabilizantes entre los residuos de Pra.

[756] El espectro de ^{1}H RMN del ciclopéptido **89** en disolventes no polares reflejó las características típicas de la formación de homodímeros (**D_{89}**), mostrando valores adecuados de constante de acoplamiento ($J_{NH,\ H\alpha}$) comprendidos entre 8.0-9.0 Hz y desplazamientos químicos (δ) de las señales correspondientes a los NH en torno a 7.5-9.0 ppm. Cabe resaltar que el valor de la constante de asociación (K_a) para la formación del correspondiente homodímero debe ser superior a 10^5 M^{-1}, ya que las señales de los NH permanecen invariables, incluso a concentraciones por debajo de 0.1 mM, independientemente de si el disolvente contiene 30% MeOH o si las muestras son calentadas hasta 50º C. Del mismo modo, los espectros de FT-IR en $CHCl_3$ mostraron las bandas características de una estructura tipo lámina plegada β antiparalela.

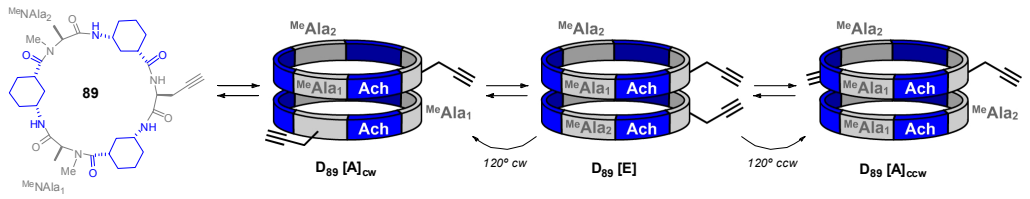
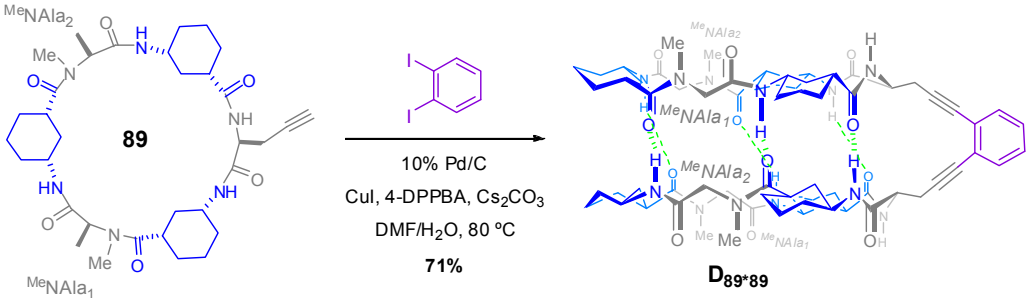


Figura 191. Representación esquemática del proceso de homodimerización del α,γ(Ach)-ciclohexapéptido *ciclo*{[*D*-γ-Ach-*L*-^{Me}N-Ala-]$_2$-*D*-γ-Ach-*L*-Pra-} (**89**). El autoensamblaje molecular del macrociclo **89** da lugar a la formación de tres especies homodiméricas que se diferencian en el apareamiento entre los α-aminoácidos que los componen. Así, en el dímero eclipsado los aminoácidos Pra se enfrentan entre sí, mientras que en el caso de los dos dímeros alternados los residuos Pra no se disponen uno frente a otro.

Finalmente, decidimos afrontar el análisis de la reacción de acoplamiento de la unidad α.γ-ciclopeptídica **89** con 1,2-diiodobenceno, empleando las condiciones experimentales puestas a punto a lo largo de este capítulo.[757] Al igual que en el caso de la interacción α–α, los ensayos de acoplamiento condujeron a la formación del correspondiente homodímero Ach-Ach **D$_{89*89}$**, el cual resulta de la unión covalente de dos subunidades α,γ(Ach)-ciclopeptídicas **89** mediante un conector de benceno (Esquema 26). Una vez más, la geometría *orto* que presenta



Esquema 26. Síntesis de la estructura homodimérica covalente **D$_{89*89}$** mediante acoplamiento cruzado del ciclohexapéptido *ciclo*{[*D*-γ-Ach-*L*-^{Me}N-Ala-]$_2$-*D*-γ-Ach-*L*-Pra-} (**89**) con 1,2-diiodobenceno.

el dihaluro aromático debe permitir la formación de las correspondientes estructuras homodiméricas covalentes, sin alterar de ningún modo el proceso de autoensamblaje. De esta manera, se podría lograr fácilmente la restricción conformacional de la estructura peptídica, pudiendo establecer así un control regioisomérico efectivo. Afortunadamente, la alta solubilidad que presenta en medio acuoso el ciclohexapéptido **89** — especialmente cuando se compara con el Ach-derivado **88** — ha permitido incrementar considerablemente los rendimientos de la reacción de acoplamiento cruzado alquino-arilo. Así, se considera que dichos rendimientos son relativamente buenos (superiores a 65% para todos los casos testados), lo que va a facilitar enormemente la caracterización completa del correspondiente homodímer. Desgraciadamente, los estudios iniciales únicamente han permitido aislar la estructura homodimérica covalente **D$_{89*89}$** en muy pequeña escala (del orden de 1-2 mg), por lo que solo se ha logrado su

[757] La utilización de condiciones de reacción distintas a las optimizadas no dio lugar a los productos de acoplamiento esperados.

caracterización mediante espectrometría de masas (Figura 192). Futuros estudios de optimización y escalado de la reacción de acoplamiento favorecerán la obtención de suficiente muestra como para realizar el estudio de su estructura mediante espectrocopia de ^{1}H RMN.

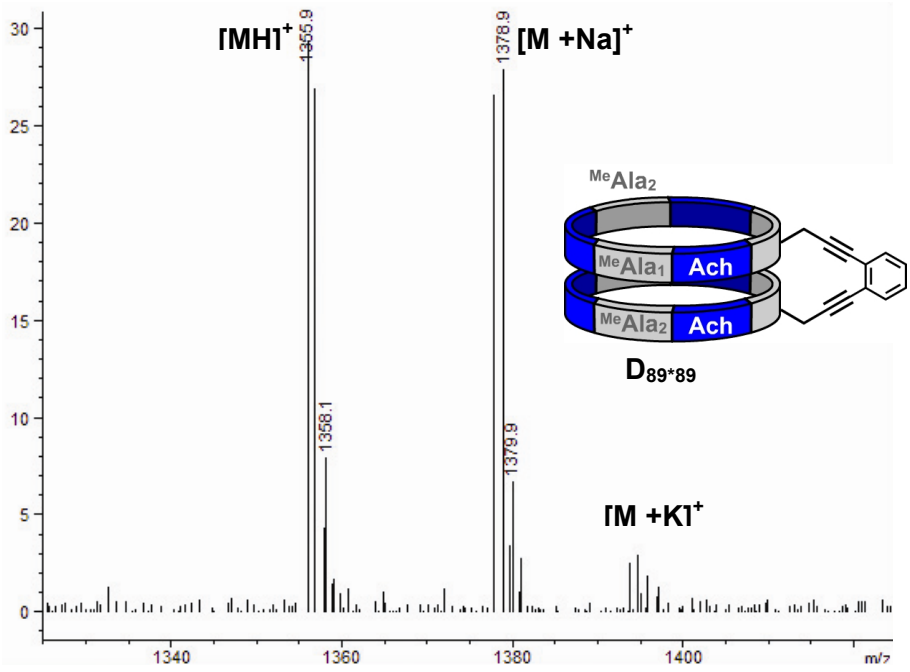


Figura 192. Espectro de masas ESI de la estructura homodimérica covalente **D_{89*89}**.

En resumen, hemos desarrollado una nueva y versátil metodología para la preparación de N- y C_α-(ω-arilalquinil)-α-aminoácidos y péptidos basada en reacciones de Sonogashira en medio acuoso catalizadas por Pd(0). Para ello, se pusieron a punto inicialmente las condiciones para lograr el acoplamiento efectivo de haloarilos de diferente naturaleza electrónica — tanto pobres como ricos en electrones — con la funcionalidad alquino terminal de distintos N- y C-α-(homo)propargilaminoácidos mediante la utilización de Pd/C, CuI, Cs_2CO_3 y 4-DPPBA en una mezcla DMF/H_2O, obteniéndose los esperados aril(homo)propargilaminoácidos con rendimientos de moderados a altos. La posterior hidrogenación del triple enlace — tanto parcial como total — condujo a la obtención de los correspondientes arilalquenil- y arilalquilderivados.

La metodología sintética descrita con anterioridad puede ser ampliamente aplicada al ensamblaje de péptidos modificados que son de interés farmacológico. Además, puede ser utilizada tanto en la fabricación de sensores de iones (aniones o cationes) metálicos o como herramienta para adoptar conformaciones predefinidas en la complejación con diferentes metales. Asimismo, las condiciones experimentales previamente optimizadas han sido empleadas de manera satisfactoria en distintas secuencias α,γ-ciclopeptídicas, permitiendo así la preparación de estructuras diméricas rígidas unidas covalentemente. Desafortunadamente, las limitaciones sintéticas y de caracterización presentadas hacen que nos planteemos otras alternativas más eficaces para lograr la restricción conformacional de los correspondientes ensamblajes diméricos.

21. α,γ-CICLOPÉPTIDOS: RESTRICCIÓN CONFORMACIONAL MEDIANTE COORDINACIÓN METÁLICA

Los péptidos y las proteínas son elementos importantes en la naturaleza y — más recientemente — en la biotecnología, ya que pueden ser sintetizados en secuencias casi infinitas. Del mismo modo, cabe resaltar que pueden adoptar estructuras secundarias y terciarias bien definidas, lo que permite su autoensamblaje de manera eficaz en forma de nanoestructuras funcionales multimoleculares.[758] Tal y como hemos mencionado en el apartado anterior, durante los últimos años ha sido preparada una amplia colección de aminoácidos no naturales con el objetivo de ampliar el rango de funciones y estructuras que se pueden lograr, permitiendo así un control mucho más preciso de las propiedades de estos biomateriales.[759] En particular, se han preparado numerosos aminoácidos sintéticos que pueden utilizar coordinación metal-ligando como una interacción de unión adicional para superar las limitaciones planteadas por el uso exclusivo de interacciones enlace de hidrógeno e hidrofóbicas como fuerzas para mantener acopladas las diferentes unidades de ensamblaje peptídico.[760] Este motivo de unión adicional se aprovecha de las características bien conocidas que presenta el enlace de coordinación. Así por ejemplo, su gran fortaleza y reversibilidad, junto con su direccionalidad bien definida, permiten llevar a cabo un control más exhaustivo sobre la estructura tridimensional y la estabilidad del ensamblaje final. La introducción de residuos coordinantes metal-ligando — tales como metaloporfirinas (M-Por) — en secuencias α,γ-ciclopeptídicas diseñadas con tal propósito debería facilitar el control regioisomérico de los ensamblajes supramoleculares resultantes, permitiendo así la preparación de una nueva clase de estructuras rígidas restringidas conformacionalmente de gran estabilidad termodinámica.

21.1. DISEÑO Y SÍNTESIS

Los estudios teóricos y experimentales realizados en oligopéptidos cíclicos que contienen residuos γ-aminoacídicos (γ-Aca) en su esqueleto — tanto para modelos diméricos como para ensamblajes nanotubulares — revelaron que los correspondientes procesos de autoensamblaje eran resultado de la formación de motivos de gran estabilidad termodinámica tipo lámina β conectados a través de enlaces de hidrógeno intermoleculares.[190,192,193] Del mismo modo, se observó como cualquier monómero de fórmula general *ciclo*[*L*-α-Aa-*D*-γ-Aca]$_n$ poseía un eje de simetría C_n (Figura 193). Por consiguiente, el proceso de autoensamblaje del monómero cíclico debería producir una mezcla de *n* dímeros regioisoméricos no equivalentes. Así, cada dímero resultante debe presentar una relación diferente para el cruzamiento en parejas entre los componentes aminoacídicos de los monómeros cíclicos.[146a]

---

[758] a) Yang, Y.; Khoe, U.; Wang, X.; Horii, A.; Yokoi, H.; Zhang, S. *Nano Today* **2009**, *4*, 193-210. b) Hamley, I. W.; Castelletto, V. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 4442-4455. c) Woolfson, D. N.; Ryadnov, M. G. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2006**, *10*, 559-567.

[759] a) Zuend, S. J.; Coughlin, M. P.; Lalonde, M. P.; Jacobsen, E. N. *Nature* **2009**, *461*, 968-970. b) Groeger, H.; Dietz, F. R. "Biocatalytic synthesis of natural and non-natural alpha amino acids". En *Wiley Encyclopedia of Chemical Biology [Vol. 1]*; Ed. T. P. Begley; John Wiley & Sons: New York (Estados Unidos), **2009**, 191-204. c) Krebs, A.; Ludwig, V.; Pfizer, J.; Duerner, G.; Goebel, M. W. *Chem. Eur. J.* **2004**, *10*, 544-553.

[760] a) Radford, R. J.; Tezcan, F. A. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 9136-9137. b) Tsurkan, M. V.; Ogawa, M. Y.; *Inorg. Chem.* **2007**, *46*, 6849-6851. c) Kelso, M. J.; Beyer, R. L.; Hoangt, H. N.; Lakdawala, A. S.; Snyder, J. P.; Oliver, W. V.; Robertson, T. A.; Appleton, T. G.; Fairlie, D. P. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 4828-4842.

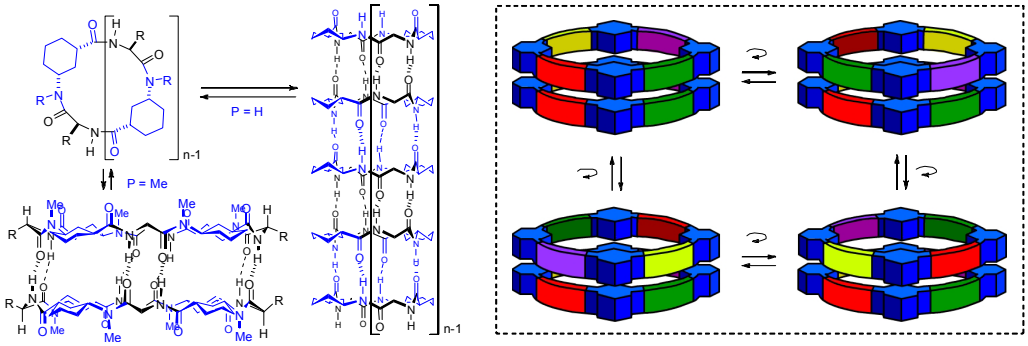


Figura 193. Representación del modelo de formación de nanotubos mediante el autoensamblaje de varias unidades idénticas de un α,γ-ciclopéptido de fórmula general *ciclo*[*L*-α-Aa-*D*-γ-Ach]$_n$ (*n* = 2 para el tetrapéptido; *n* = 3 para el hexapéptido; y así sucesivamente). Del mismo modo, también se observa la representación molecular del ensamblaje dimérico obtenido a partir de un ciclooctapéptido (*n* = 4) con eje de simetría C_4. De forma resaltada se muestran los cuatro posibles dímeros no equivalentes (regioisómeros) resultantes del autoensamblaje de un α,γ-ciclooctapéptido que carece de eje de simetría.

La existencia de interacciones cruzadas más favorables entre las cadenas laterales de los monómeros en uno de los dímeros debería inducir la formación predominante de dicho sistema en la mezcla de disolución. Los trabajos previos dirigidos hacia la búsqueda de interacciones entre pares de cadenas laterales que puedan controlar la formación selectiva de un solo dímero presentaron un éxito limitado. De esta manera, se pudo observar como los hexapéptidos cíclicos de tipo *ciclo*{[*L*-Phe-*D*-^{Me}N-γ-Ach]$_2$-*L*-Ser-*D*-^{Me}N-γ-Ach-} (**38**)[146a] — en el cual la unidad de Ser se introdujo con la expectativa de que las interacciones adicionales de enlace de hidrógeno que se establecen entre los grupos hidroxilo de los residuos de serina pertenecientes a monómeros cíclicos diferentes pudiesen favorecer la formación predominante de uno de los dímeros regioisoméricos posibles — mostraron una reducida preferencia por el homodímero en el que las unidades de Ser están enfrentadas (**D_{38} [E]**) (Figura 112, Tabla 7).[445]

Teniendo en cuenta las consideraciones previas, nuestro objetivo fundamental fue llevar a cabo el estudio de nuevos ciclopéptidos que permitiesen un control mucho más preciso sobre la disposición relativa de los monómeros en el proceso de autoensamblaje dimérico, favoreciendo así la formación preferencial de exclusivamente un regioisómero.[761] Para ello fue necesario inicialmente la preparación del α,γ(Ach)-derivado *ciclo*{[*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach-*D*-Ser(Bn)-*L*-^{Me}N-γ-Ach-]$_2$-} (**90**),[148] el cual se sintetizó a partir de *L*-Boc-^{Me}N-γ-Ach-OFm[762] empleando la metodología descrita anteriormente (Esquema 7 y 8). El macrociclo resultante se trató con hidrógeno en presencia de 10% Pd/C, para dar lugar al correspondiente derivado *ciclo*{[*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach-*D*-Ser-*L*-^{Me}N-γ-Ach-]$_2$-} (**91**).[148] En principio, dicho ciclooctapéptido desprotegido podría formar dos interacciones adicionales de enlace de hidrógeno entre las cuatro cadenas laterales de Ser de los monómeros adyacentes en el dímero **D_{91} [E]** (Figura 194). De este modo, esperábamos inicialmente que el α,γ-ciclooctapéptido **91** — el cual exhibe un eje de simetría C_2, como consecuencia de la presencia de dos unidades de Phe y otras dos unidades de Ser en cada monómero — diese lugar a la formación casi exclusiva del

[761] Hernández-Eguía, L. P.; Brea, R. J.; Castedo, L.; Ballester, P.; Granja, J. R. *Chem. Eur. J.* **2011**, *17*, 1220-1229.
[762] La preparación de *L*-Boc-^{Me}N-γ-Ach-OFm se llevó a cabo de forma análoga a la del derivado ciclopentánico, partiendo esta vez de H_2N-γ-Ach-OH.

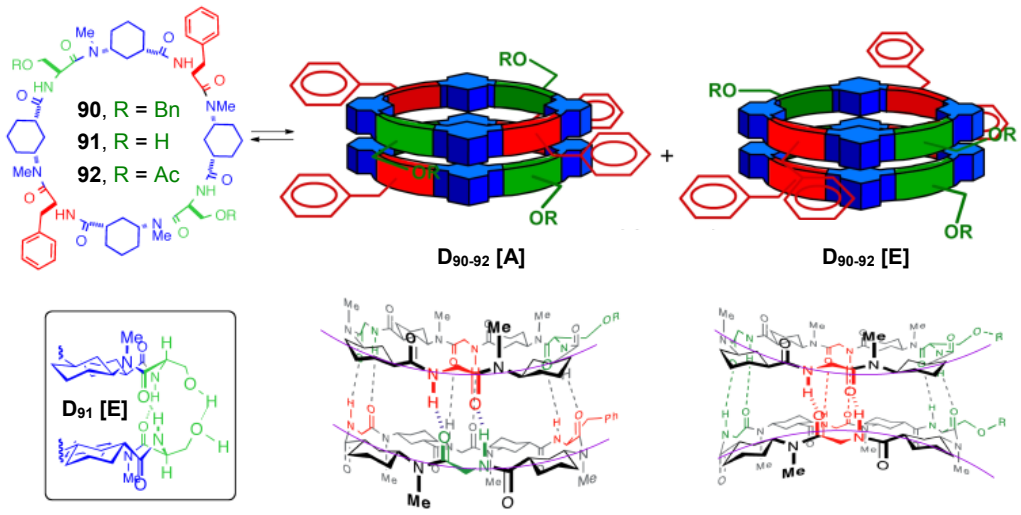


Figura 194. Equilibrio en disolución de diversos α,γ-ciclooctapéptidos (**90**-**92**) para dar lugar a los correspondientes dímeros no equivalentes (regioisómeros). La disposición alternada de residuos homólogos proporciona la geometría de unión más favorable para los correspondientes ensamblajes diméricos (**$D_{90\text{-}92}$ [A]**) [Relación **D_{90} [A]** : **D_{90} [E]** = 14 : 1]. La disposición eclipsada de los monómeros en el dímero **D_{91} [E]**, en el cual — tal y como se observa de forma resaltada — es en principio posible establecer dos interacciones de enlace de hidrógeno entre los grupos hidroxilo de las cadenas laterales de Ser, resulta ser energéticamente menos favorable.

dímero regioisomérico con disposición eclipsada (**D_{91} [E]**) — en el que las cadenas laterales de aminoácidos idénticos se enfrentan entre sí (Phe/Phe y Ser/Ser) —, ya que dicho ensamblaje debería estar favorecido por la formación de los correspondientes enlaces de hidrógeno adicionales entre las dos cadenas laterales de los residuos de Ser presentes en los monómeros. Sin embargo, los resultados fueron realmente decepcionantes. En nuestro caso particular, se observó como el macrociclo **91** dio lugar a la formación predominante del dímero regioisomérico alternativo con disposición alternada (**D_{91} [A]**), en el que las cadenas de Phe y Ser se enfrentan entre sí (Phe/Ser) (Figura 194). Hemos atribuido dicho comportamiento inesperado a una combinación de efectos conformacionales experimentados por el esqueleto ciclopeptídico cuando se encuentran presentes los residuos de Ser y a la falta de coincidencia en el tamaño (*size mismatch*). Hemos de mencionar que el aminoácido Ser — en comparación con Phe — presenta una baja tendencia a estar involucrado en la formación de láminas β.[763] En nuestro caso particular, es altamente probable que la correspondiente secuencia peptídica induzca una ligera distorsión en la conformación óptima plana de la unidad α,γ-cíclica, la cual es necesaria para maximizar las interacciones de enlace de hidrógeno en el motivo lámina β del dímero. De este modo, el ensamblaje dimérico en disposición alternada — en el que se enfrentan los residuos pequeños de Ser con los residuos grandes de Phe — se caracteriza por poseer una complementariedad adicional entre las formas de la conformación "curvada" (*buckled conformation*)[764] adoptada por los monómeros, especialmente cuando se compara con la del regioisómero alternativo con disposición eclipsada (Figura 194). Así, la disposición

[763] a) Muñoz, V.; Serrano, L. *Proteins* **1994**, *20*, 301-311. b) Chou, P. Y.; Fasman, G. D. *Biochemistry* **1974**, *13*, 211-222.
[764] Las conformaciones "curvadas" (*buckled conformations*) son estructuras ligeramente plegadas que se caracterizan por poseer una convexidad/concavidad característica.

alternada permite un mejor ajuste de las interacciones intermoleculares de enlace de hidrógeno.[765] Todos estos efectos se traducen en una menor energía para el dímero regioisomérico alternado en comparación con el eclipsado.[765] Esta interpretación está firmemente apoyada por el hecho de que la relación entre los ensamblajes diméricos alternado y eclipsado no varía por la introducción de diferentes grupos protectores en las cadenas laterales de los residuos de Ser — tales como bencilo (α,g-ciclooctapéptido **90**)[148] o acetato (α,g-ciclooctapéptido **92**)[148,766] —, ya que dichos grupos funcionales no deben modificar de ningún modo la conformación "curvada" adoptada por el péptido cíclico.

Basándonos en los resultados obtenidos, decidimos utilizar un enfoque alternativo para controlar la disposición relativa de los monómeros en el ensamblaje dimérico.[761] De este modo, pensamos que dicho control no tendría que estar fundamentado únicamente en interacciones directas establecidas entre las cadenas laterales de los residuos de aminoácidos, sino que podríamos emplear un componente externo capaz de formar una interacción ditópica con sitios de unión eficientes covalentemente conectados a las cadenas laterales. Teniendo en cuenta los estudios realizados por el grupo de investigación de Ballester,[767] hemos considerado la utilización de Zn-porfirinas como posibles unidades de unión para la funcionalización de los correspondientes agregados diméricos. El motivo tipo complejo sándwich 1:2 DABCO:porfirina — resultante de la intercalación del ligando ditópico nitrogenado DABCO[768] entre las dos unidades de porfirina metaladas — ha sido utilizado en numerosas ocasiones para llevar a cabo el ensamblaje de dímeros Zn-porfirina que presentan espaciadores covalentes en complejos intramoleculares cofaciales.[769] De esta forma, se planificó a continuación la funcionalización covalente del monómero ciclopeptídico con una o dos unidades de Zn-porfirina. El proceso de dimerización resultante del establecimiento de enlaces de hidrógeno entre monómeros debería inducir la formación cuantitativa de agregados supramoleculares bis- y tetraporfirínicos, respectivamente. Además, esperamos poder inducir una orientación cofacial de las unidades Zn-porfirínicas en el dímero mediante coordinación ditópica de una molécula de DABCO. Cabe resaltar que la formación de motivos sándwich en sistemas supramoleculares oligoporfirínicos requiere que se disponga de unas características geométricas apropiadas.[767] Estudios sencillos de modelización molecular han demostrado que la formación del complejo sándwich era geométricamente posible. Así, asumiendo que la disposición alternada de unidades de porfirina es energéticamente más favorable en el dímero libre, la adición de un equivalente de DABCO debería inducir la formación de la disposición

[765] La ligera curvatura presente en la unidad α,γ-ciclopeptídica **91** provoca que los dímeros resultantes $\mathbf{D_{91}}$ **[E]** y $\mathbf{D_{91}}$ **[A]** formen enlaces de hidrógeno de diferente longitud. De este modo, el regioisómero eclipsado presenta unos enlaces de hidrógeno $NH_{Phe}\cdots O{=}C_{Phe}$ (Phe···Phe) ligeramente más cortos que los $NH_{Ser}\cdots O{=}C_{Ser}$ (Ser···Ser). Esta interpretación está de acuerdo con los desapantallamientos químicos (δ) observados mediante espectroscopia ^{1}H RMN para los protones amida, en donde se puede ver como las señales de NH_{Ser} (δ = 8.14 ppm) resultan ser las más apantalladas, por lo que se corresponden con un enlace de hidrógeno de mayor longitud (menor fortaleza). En cuanto a los NH_{Phe}, las señales de desplazamiento químico se localizaron a 8.65 ppm. Por otra parte, en el regioisómero alternado las dos subunidades α,γ-ciclopeptídicas acomodan mejor sus enlaces de hidrógeno, lo que provoca que las señales NH_{Ser} y NH_{Phe} aparezcan ahora mucho más próximas y desapantalladas (8.96 y 8.49 ppm, respectivamente). En resumen, se pudo observar como el protón de la amida de los residuos de Phe del dímero alternado (mayoritario) se encuentra ligeramente más apantallado que el del dímero eclipsado (minoritario). Este hecho se compensa con una mayor interacción del NH de la Ser (NH_{Ser}) con el carbonilo de la Phe ($O{=}C_{Phe}$), favoreciendo así la formación predominante del ensamblaje dimérico en disposición eclipsada (regioisómero de menor energía). Finalmente, cabe recordar que cuanto menor sea la longitud del enlace de hidrógeno, mayor será su fortaleza.

[766] El ciclooctapéptido *ciclo*{[*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach-*D*-Ser(Ac)-*L*-^{Me}N-γ-Ach-]$_2$-} (**92**) se obtuvo por tratamiento de **91** con Ac_2O/DMAP/Et_3N (*acetilación*).

[767] Ballester, P.; Costa, A.; Castilla, A. M.; Deya, P. M.; Frontera, A.; Gomila, R. M.; Hunter, C. A. *Chem. Eur. J.* **2005**, *11*, 2196-2206.

[768] **DABCO:** 1,4-diazabiciclo[2.2.2]octano.

[769] a) Osswald, P.; You, C. C.; Stepanenko, V.; Wurthner, F. *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 2386-2390. b) Hunter, C. A.; Meah, M. N.; Sanders, J. K. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 5773-5780.

cofacial (eclipsada) alternativa de los monómeros por coordinación ditópica con dos unidades de Zn-porfirina adyacentes (Figura 195). De esta forma, se podría lograr el control de la disposición relativa de los monómeros del ensamblaje dimérico mediante la utilización de un disparador (*trigger*) molecular externo.

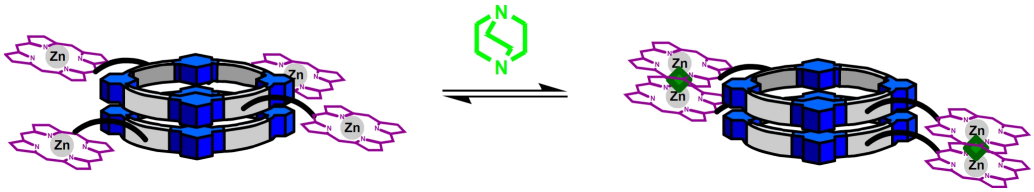
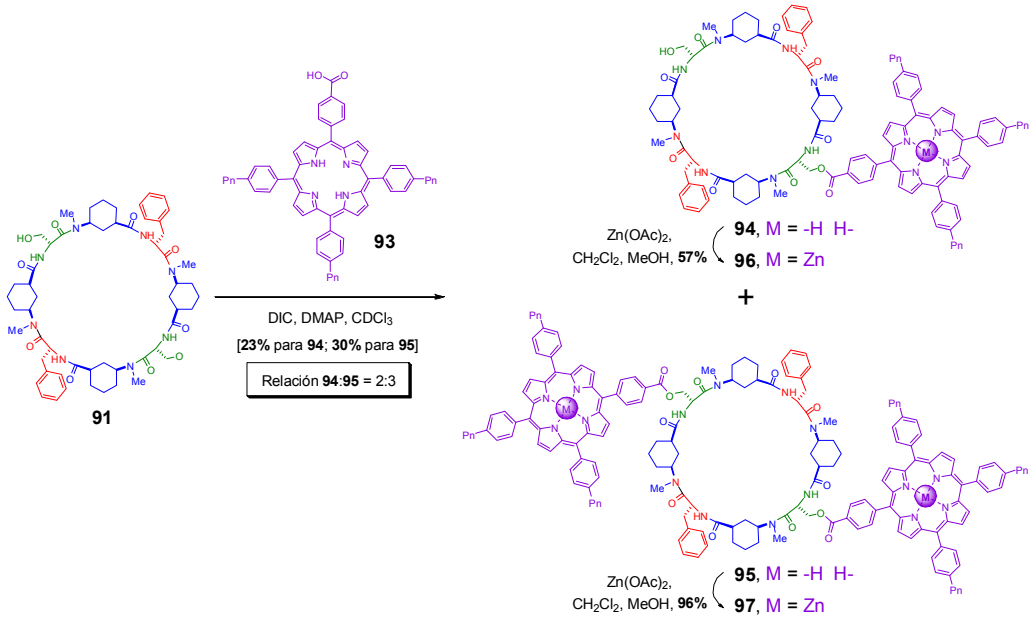


Figura 195. Representación esquemática de un sistema conformacional de rotación inducido por DABCO basado en α,γ-ciclooctapéptidos conteniendo porfirinas. La coordinación de moléculas de DABCO (una por cada dos unidades de porfirina) permite la formación del correspondiente complejo sándwich, induciendo así el cambio de disposición desde alternada a eclipsada.

Con el fin de evaluar la viabilidad de nuestra propuesta, decidimos diseñar y sintetizar distintos α,γ-ciclooctapéptidos porfirínicos derivados de **91** (Esquema 27).[761] Así, el tratamiento del correspondiente α,γ-ciclooctapéptido **91** con 1.5 equivalentes de porfirina **93**[770,771] en



Esquema 27. Síntesis de α,γ-ciclooctapéptidos mono- y bisporfirínicos libres {*ciclo*[*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach-*D*-Ser(Por)-*L*-^{Me}N-γ-Ach-*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach-*D*-Ser-*L*-^{Me}N-γ-Ach-] (**94**) y *ciclo*{[*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach-*D*-Ser(Por)-*L*-^{Me}N-γ-Ach-]$_2$-} (**95**), respectivamente} y metalados {(*ciclo*[*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach-*D*-Ser(Por-Zn)-*L*-^{Me}N-γ-Ach-*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach-*D*-Ser-*L*-^{Me}N-γ-Ach-] (**96**) y *ciclo*{[*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach-*D*-Ser(Por-Zn)-*L*-^{Me}N-γ-Ach-]$_2$-} (**97**), respectivamente} [Pn = pentilo].

[770] Sustrato cedido amablemente por el grupo del Prof. Pau Ballester [*Institut Català d'Investigació Química (ICIQ)*].
[771] a) Forneli, A.; Planells, M.; Sarmentero, M. A.; Martínez-Ferrero, E.; O'Regan, B. C.; Ballester, P.; Palomares, E. *J. Mater. Chem.* **2008**, *18*, 1652-1658. b) Planells, M.; Forneli, A.; Martínez-Ferrero, E.; Sánchez-Diaz, A.; Sarmentero, M. A.; Ballester, P.; Palomares, E.; O'Regan, B. C. *Applied Physics Letters* **2008**, *92*, 153506/1-153506/3. c) Para metodología sintética de porfirinas base libre no simétricas, ver: Lindsey, J. S; Hsu, H. C.; Shreiman, I. C.; Kearney, P. C.; Marguerettaz, A. M. *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 827-836.

presencia de DIC/DMAP proporcionó una mezcla de los conjugados ciclopéptido-porfirina *ciclo*[*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach-*D*-Ser(Por)-*L*-^{Me}N-γ-Ach-*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach-*D*-Ser-*L*-^{Me}N-γ-Ach-] (**94**) (monoporfirina; contiene una unidad porfirina)[761] y *ciclo*{[*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach-*D*-Ser(Por)-*L*-^{Me}N-γ-Ach-]$_2$-} (**95**) (bisporfirina; contiene dos unidades porfirina)[761] en una relación 2:3. La posterior purificación cromatográfica permitió obtener cada uno de los compuestos de forma aislada. Cabe destacar que los espectros de ^{1}H RMN de ambos derivados ciclopeptídicos porfirínicos en $CDCl_3$ resultaron ser extremadamente complejos. Sin embargo, la formación de agregados diméricos supramoleculares en disolución se puede deducir a partir de los cambios experimentados a campo bajo por los protones NH del componente ciclopeptídico, los cuales resuenan a un desplazamiento químico (δ) en torno a 9.0-8.2 ppm, así como por la extensión de otras señales de protón. Teniendo en cuenta los resultados previos obtenidos con sustratos más simples (Figura 194),[148] hemos supuesto la presencia de cuatro estructuras diméricas no equivalentes en disolución para el caso del derivado α,γ-ciclopeptídico monoporfirínico **94** (Figura 196). Los ciclooctapéptidos de esta clase presentan tres tipos de residuos de diferente

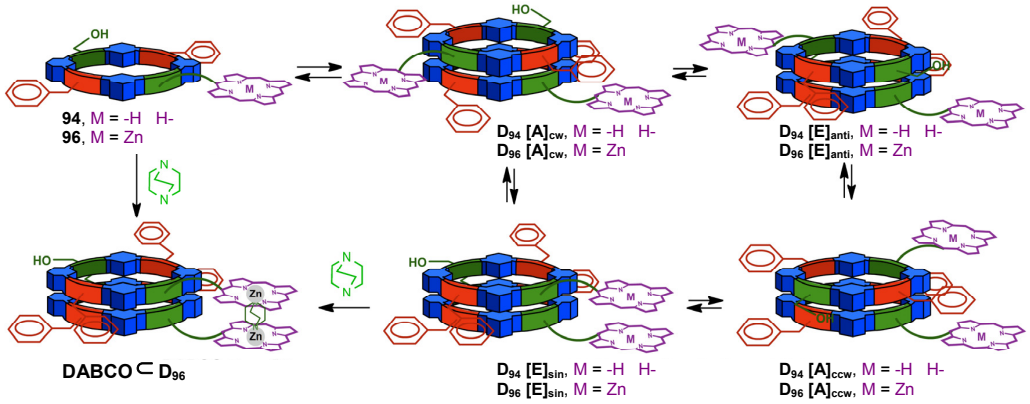


Figura 196. Equilibrio dimérico de los α,γ-ciclooctapéptidos monoporfirínicos libre (**94**) y metalado (**96**), en el que se muestra la formación — para cada caso — de cuatro ensamblajes diméricos no equivalentes (regioisómeros); dos dímeros en disposición alternada (**D$_{94}$ [A]$_{cw}$** y **D$_{94}$ [A]$_{ccw}$** para **94**; **D$_{96}$ [A]$_{cw}$** y **D$_{96}$ [A]$_{ccw}$** para **96**) y otro dos dímeros en disposición eclipsada (**D$_{94}$ [E]$_{anti}$** y **D$_{94}$ [E]$_{sin}$** para **94**; **D$_{96}$ [E]$_{anti}$** y **D$_{96}$ [E]$_{sin}$** para **96**). Cabe destacar que únicamente el sistema Zn-metalado *sin*-eclipsado **D$_{96}$ [E]$_{sin}$** puede coordinar ligandos diamina — como por ejemplo, DABCO — para dar lugar al complejo 1:1 sándwich **DABCO⊂D$_{96}$**.

tamaño; un residuo grande (*large*; L = porfirina), dos residuos medianos (*medium*; M = Phe) y un residuo pequeño (*small*; S = Ser), por lo que se espera que formen cuatro estructuras regioisoméricas bajo dimerización (Figura 197). Estos cuatro regioisómeros se pueden clasificar en dos grupos principales en función de la orientación relativa que adquiere la línea diagonal imaginaria trazada entre los dos carbonos C_α de los residuos de Phe (M) de cada monómero. De esta forma, nos referimos a isómeros eclipsados (**D [E]**) cuando las lineas resultantes son paralelas, mientras que hacemos mención de isómeros alternados (**D [A]**) cuando las lineas obtenidas son perpendiculares.[448] Además, en cada conjunto hay dos regioisómeros posibles en función de la orientación relativa de los sustituyentes de porfirina (L) de cada monómero. Por lo tanto, en referencia a los dos regioisómeros en disposición paralela, hemos designado como *sin* (**D [E]**$_{sin}$) al regiodímero que presenta las dos unidades de porfirina enfrentadas entre sí (Por/Por), mientras que hemos denominado como *anti* (**D [E]**$_{anti}$) al

regiodímero que dispone cada unidad de porfirina enfrentada a un residuo de serina (Por/Ser).[772] Finalmente, en cuanto a los dos regioisómeros en disposición perpendicular, hemos decidido nombrarlos como *cw* (*clockwise*; en sentido de las agujas del reloj) o *ccw* (*counter-clockwise*; en sentido contrario a las agujas del reloj) dependiendo del sentido del giro más corto necesario para enfrentar las dos unidades de porfirina con independencia de la cara desde la que son visualizados.[448]

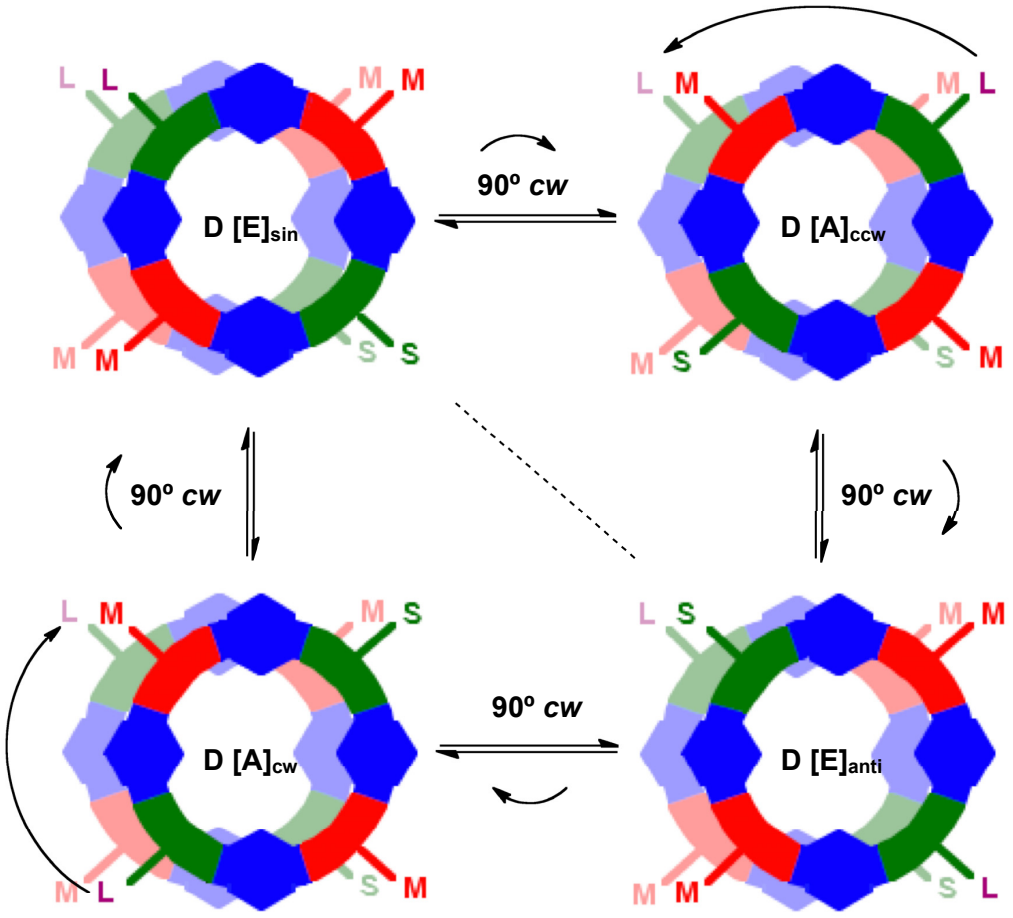


Figura 197. Vista superior de la representación esquemática de los cuatro dímeros no equivalentes (regioisómeros) derivados de **94** y **96** [S: *small* (Ser); M: *medium* (Phe); L: *large* (Por y/o Por-Zn)]. Además, se puede observar la nomenclatura propuesta para cada uno de los sistemas

Teniendo en cuenta los resultados previos obtenidos para los α,γ-ciclooctapéptidos **90**, **91** y **92**, podemos proponer que en el caso de las disoluciones de **96** y **97** las proporciones de los dímeros regioisoméricos deberían ser similares. Este hecho es consecuencia de la imposibilidad de medir experimentalmente la relación de los dímeros en disolución mediante experimentos de ^{1}H RMN, debido fundamentalmente a la complejidad de los espectros. Por consiguiente, simplemente hemos asumido que el dímero regioisomérico que se encuentra como componente minoritario de la mezcla se corresponde al ensamblaje que presenta una

[772] La nomenclatura *sin* hace referencia a una disposición sin-coplanar (conformación eclipsada de las porfirinas), mientras que la *anti* hace referencia a una disposición anti-coplanar (conformación alternada de las porfirinas).

disposición relativa *sin*-eclipsada (**D_{94} [E]$_{sin}$**) (Figura 196). Por analogía con las observaciones anteriormente realizadas con **90**, **91** y **92**, podemos considerar que dicho regioisómero se debe encontrar en una relación aproximada de 1:20 con respecto a los otros isómeros rotacionales. Sin embargo, la importancia de este dímero regioisomérico minoritario es vital, ya que presenta una disposición apropiada de las unidades de porfirina (pre-organización), la cual es necesaria para la formación de un complejo sándwich con DABCO. Por otra parte, el proceso de dimerización de **95** — el cual presenta únicamente dos residuos de diferente tamaño; dos unidades de porfirina (L) y dos unidades de Phe (M) — debe producir exclusivamente dos dímeros regioisómeros; el isómero en disposición eclipsada (**D_{95} [E]**) y el isómero en disposición alternada (**D_{95} [A]**) (Figura 198). Una vez más, hemos asignado tentativamente que el isómero minoritario presente en disolución se debería corresponder con el ensamblaje dimérico que exhibe una disposición eclipsada (**D_{95} [E]**), mientras que el isómero mayoritario debe corresponder al dímero con disposición alternada (**D_{95} [A]**). Lógicamente, este dímero mayoritario se caracteriza por no poseer interacciones π–π potencialmente favorables entre las extensas superficies aromáticas de los sustituyentes porfirínicos.

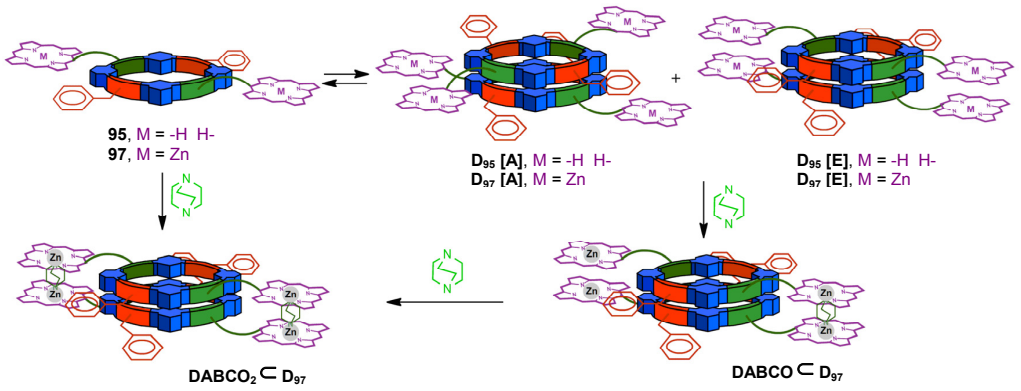


Figura 198. Equilibrio dimérico de los α,γ-ciclooctapéptidos bisporfirínicos libre (**95**) y metalado (**97**), en el que se muestra la formación — para cada caso — de dos ensamblajes diméricos no equivalentes (regioisómeros); un dímero en disposición alternada (**D_{95} [A]** y **D_{97} [A]**, respectivamente) y otro dímero en disposición eclipsada (**D_{95} [A]** y **D_{97} [A]**, respectivamente). Cabe destacar que únicamente el sistema Zn-metalado eclipsado puede coordinar DABCO para dar lugar al complejo 2:1 sándwich doble **DABCO$_2$ ⊂ D_{97}** a través de las especies monocoordinadas **DABCO ⊂ D_{97}**.

La metalación de los α,γ-ciclopéptidos sustituidos con porfirinas se llevó a cabo por tratamiento de las correspondientes bases libres **94** y **95** con exceso de acetato de Zn(II) (20 equiv.) en una mezcla de CH_2Cl_2/MeOH (Esquema 27). Los macrociclos porfirínicos Zn-metalados *ciclo*[*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach-*D*-Ser(Por-Zn)-*L*-^{Me}N-γ-Ach-*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach-*D*-Ser-*L*-^{Me}N-γ-Ach-] (**96**)[761] y *ciclo*{[*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach-*D*-Ser(Por-Zn)-*L*-^{Me}N-γ-Ach-]$_2$-} (**97**)[761] se aislaron con un rendimiento casi cuantitativo tras la posterior purificación en una columna de alúmina neutra. La pureza de los compuestos metalados obtenidos se evaluó mediante cromatografía de permeación en gel (GPC)[773] (Figura 199). De este modo, se observó la

[773] La cromatografía de permeación en gel (GPC) es un tipo de cromatografía de exclusión por tamaño (SEC), por lo que separa los analitos en base al tamaño. Dicha técnica es empleada frecuentemente para el análisis de polímeros. Para más información, ver: a) Mori, S.; Barth, H. G. *Size exclusion chromatography*; Springer: Heidelberg (Alemania), **2010**. b) Striegel, A.; Yau, W. W.; Kirkland, J.; Bly, D. D. *Modern size-exclusion liquid chromatography: practice of gel permeation and gel filtration chromatography [2nd edn]*; John Wiley & Sons: New Jersey (Estados Unidos), **2009**.

presencia de un solo pico cromatográfico para ambos compuestos. En el caso del derivado **97**, el pico presentaba un tiempo de retención (T_r) menor que el de **96** (6.948 min *vs* 9.264 min). Este hallazgo suele encontrarse en especies moleculares con un peso molecular más alto. Cabe destacar que los ciclopéptidos empleados como "andamios" (*scaffolds*) para llevar a cabo el anclaje de las correspondientes unidades de porfirina presentan una fuerte tendencia a dimerizar en disolventes orgánicos de baja polaridad ($K_d \sim 10^8$ M^{-1}).[171] De esta forma, los picos cromatográficos obtenidos mediante análisis de GPC de los compuestos metalados probablemente corresponden — como consecuencia de la utilización de tolueno como eluyente — a la mezcla de regioisómeros diméricos.

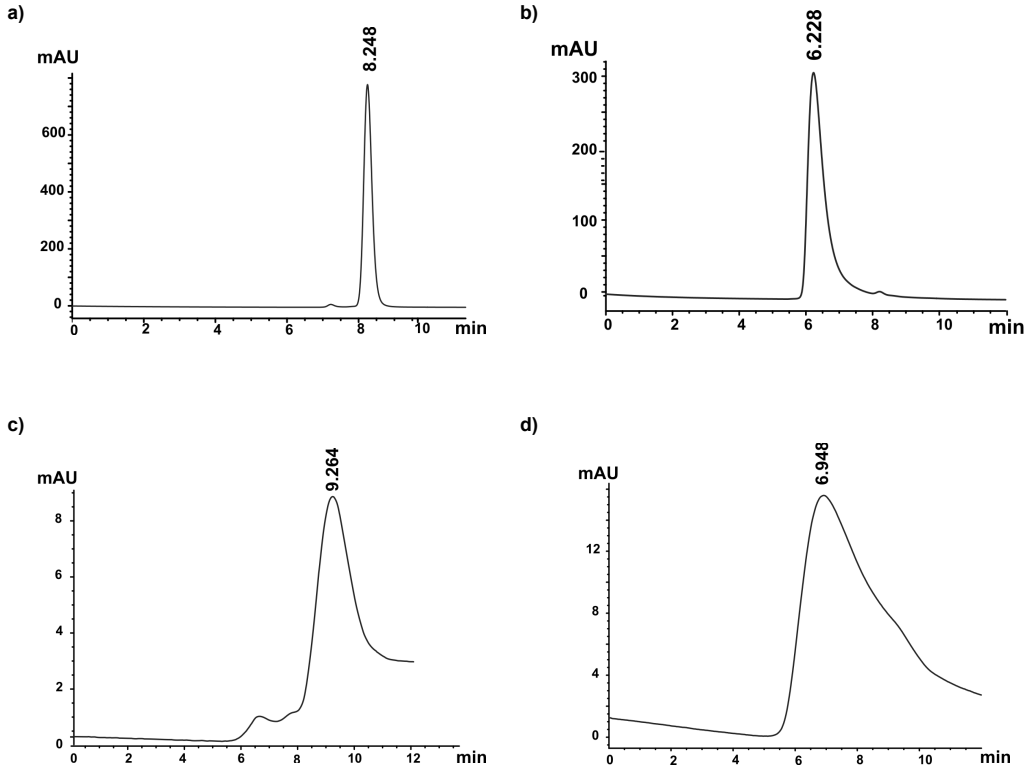


Figura 199. Análisis de cromatografía de permeación en gel (GPC) de diversas disoluciones de α,γ-ciclooctapéptidos porfirínicos en tolueno. **a)** Cromatograma GPC del α,γ-ciclooctapéptido base libre monoporfirínico **94** [T_r = 8.248 min]. **b)** Cromatograma GPC del α,γ-ciclooctapéptido base libre bisporfirínico **95** [T_r = 6.228 min]. **c)** Cromatograma GPC del α,γ-ciclooctapéptido monoporfirínico Zn-metalado **96** [T_r = 9.264 min]. **d)** Cromatograma GPC del α,γ-ciclooctapéptido bisporfirínico Zn-metalado **97** [T_r = 6.948 min].

Decidimos a continuación llevar a cabo la coordinación de DABCO a los receptores α,γ-ciclopeptídicos oligoporfirínicos,[774] lo que nos ha de permitir el control regioisomérico de los ensamblajes diméricos.[761,775]

[774] Cabe destacar que los α,γ-ciclopéptidos porfirínicos libres (**94** y **95**) y metalados (**96** y **97**) — los cuales dan lugar a los correspondientes receptores diméricos — también han sido caracterizados adecuadamente mediante MALDI.
[775] Tesis Doctoral de Laura Patricia Hernández Eguía - "Supramolecular chemistry of bis-porphyrins" [*Institut Català d'Investigació Química (ICIQ)* y *Universitat Rovira y Virgili*, **2010**].

21.2. ESTUDIOS DE COORDINACIÓN

El proceso de coordinación metálica del ligando divalente nitrogenado DABCO a los dos derivados ciclopeptídicos Zn-porfirínicos previamente obtenidos (**D_{96}** y **D_{97}**) (Figura 200 y Figura 201, respectivamente) para dar lugar a la formación de los correspondientes complejos

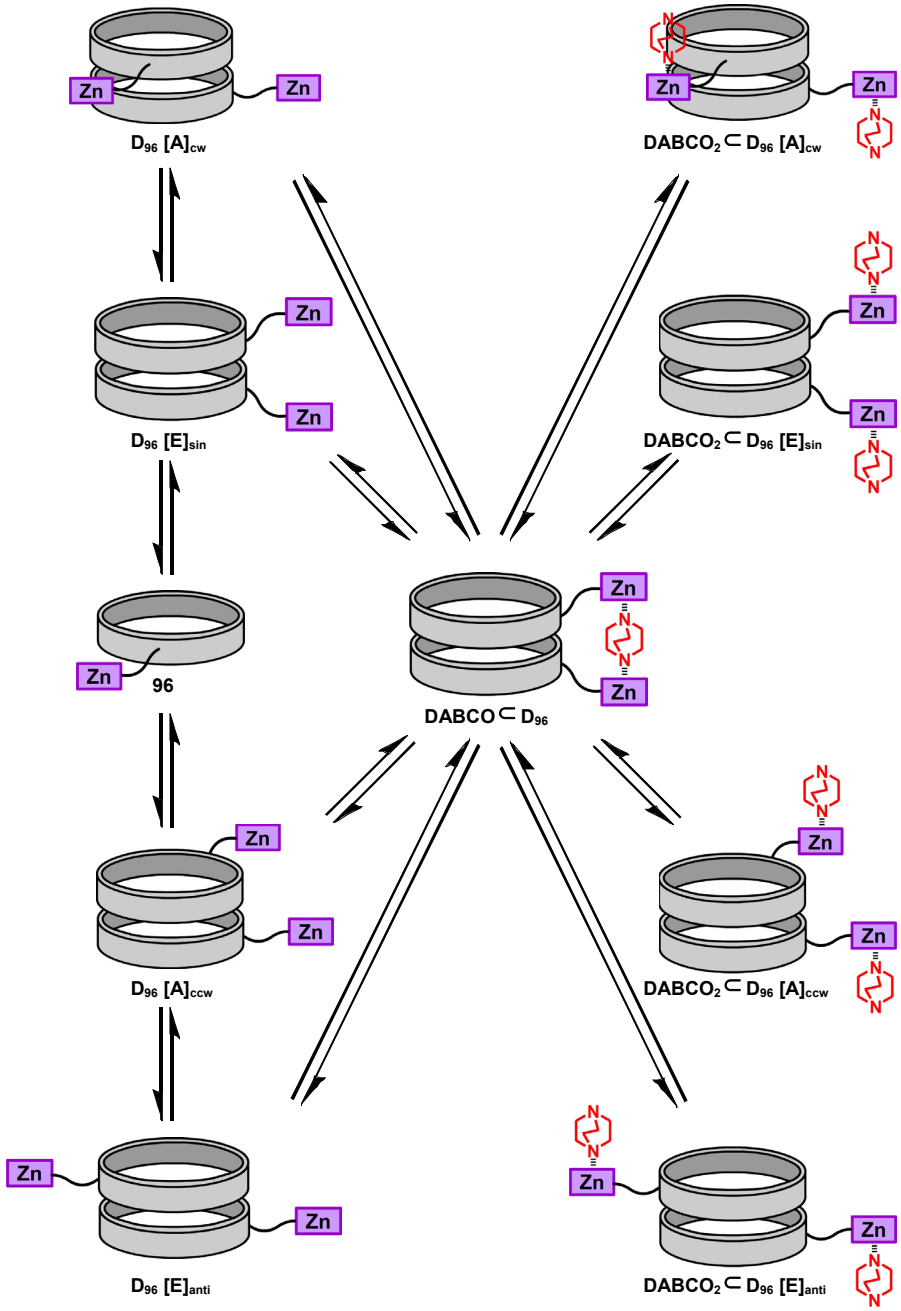


Figura 200. Representación esquemática de los posibles equilibrios y especies involucradas en la coordinación de DABCO al receptor bisporfirínico **D_{96}** (homodímero resultante del autoensamblaje del α,γ-cicloocta péptido **96**).

intramoleculares restringidos conformacionalmente se evaluó fundamentalmente mediante la realización de diferentes valoraciones UV-Vis, así como a través de la utilización de técnicas espectroscópicas de ^{1}H RMN y CD.[761,775]

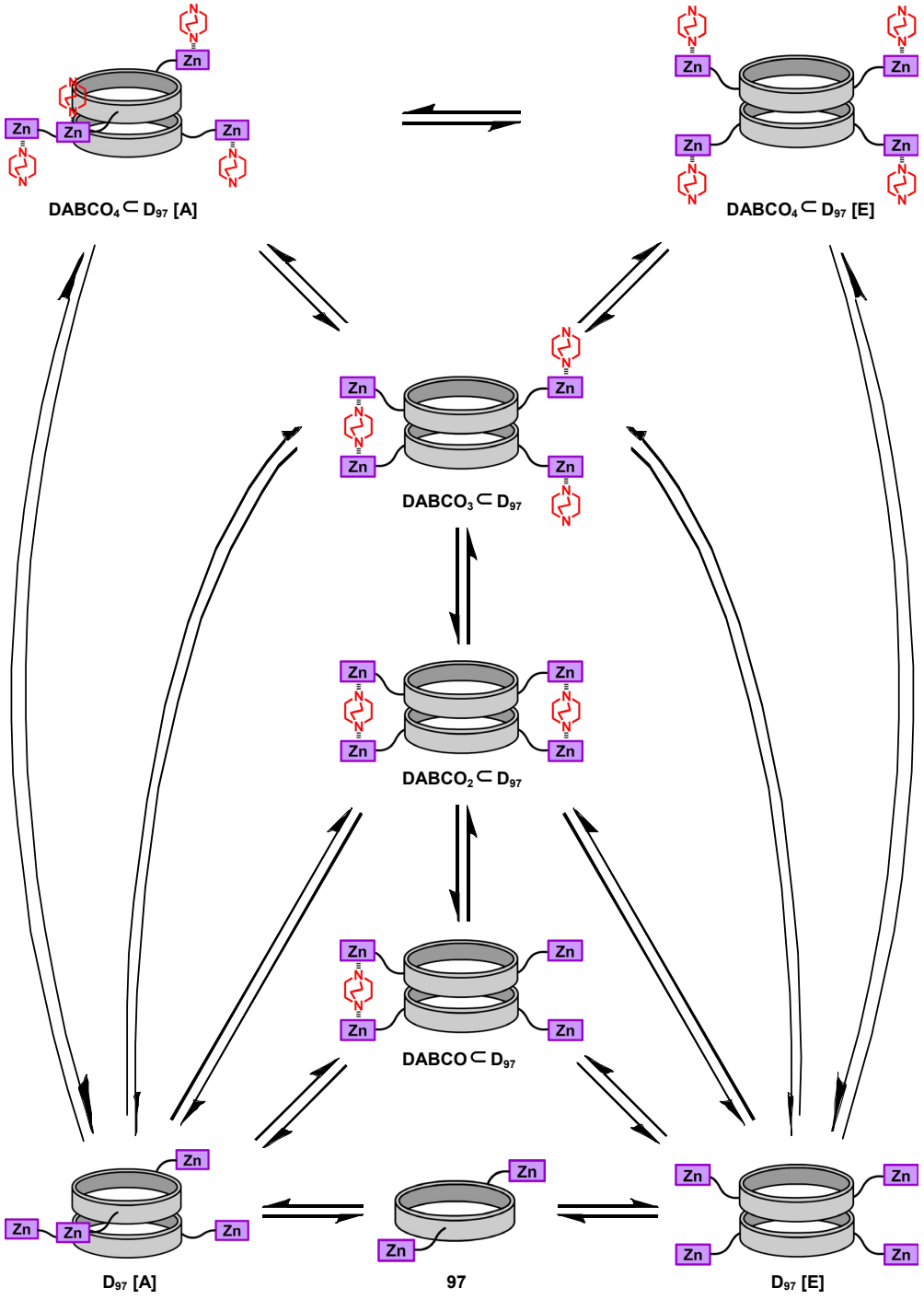


Figura 201. Representación esquemática de los posibles equilibrios y especies involucradas en la coordinación de DABCO al receptor tetraporfirínico **D_{97}** (homodímero resultante del autoensamblaje del α,γ-ciclooctapéptido **97**)

21.2.1. VALORACIONES UV-VIS

Inicialmente, se procedió al estudio de la coordinación de DABCO a $\mathbf{D_{96}}$ y $\mathbf{D_{97}}$ mediante valoraciones UV-Vis en disolución de cloroformo. Hemos de resaltar que la concentración se mantuvo constante a 10^6 M^{-1} a lo largo de todo el experimento.

Con el objetivo de simplificar el análisis de los datos de la valoración UV-Vis y observando la elevada tendencia a la dimerización que presenta en disolventes orgánicos no polares (tales como cloroformo y/o diclorometano) el esqueleto ciclopeptídico de los monómeros de porfirina utilizados en este estudio, hemos considerado que los ensamblajes diméricos $\mathbf{D_{96}}$ y $\mathbf{D_{97}}$ se deben formar cuantitativamente en disolución. Así, los análisis matemáticos de los datos experimentales de valoración se realizaron considerando que la concentración total del receptor activo — en este caso particular, las pinzas (*tweezers*) supramoleculares $\mathbf{D_{96}}$ y $\mathbf{D_{97}}$ — es la mitad de la concentración de los α,γ-ciclooctapéptidos **96** y **97**. Estudios sencillos de modelado molecular mostraron que ambos receptores ($\mathbf{D_{96}}$ y $\mathbf{D_{97}}$) pueden adoptar conformaciones en las que las unidades de porfirina (dos o cuatro, respectivamente) están dispuestas cofacialmente (Figura 202).[776] Las distancias calculadas de

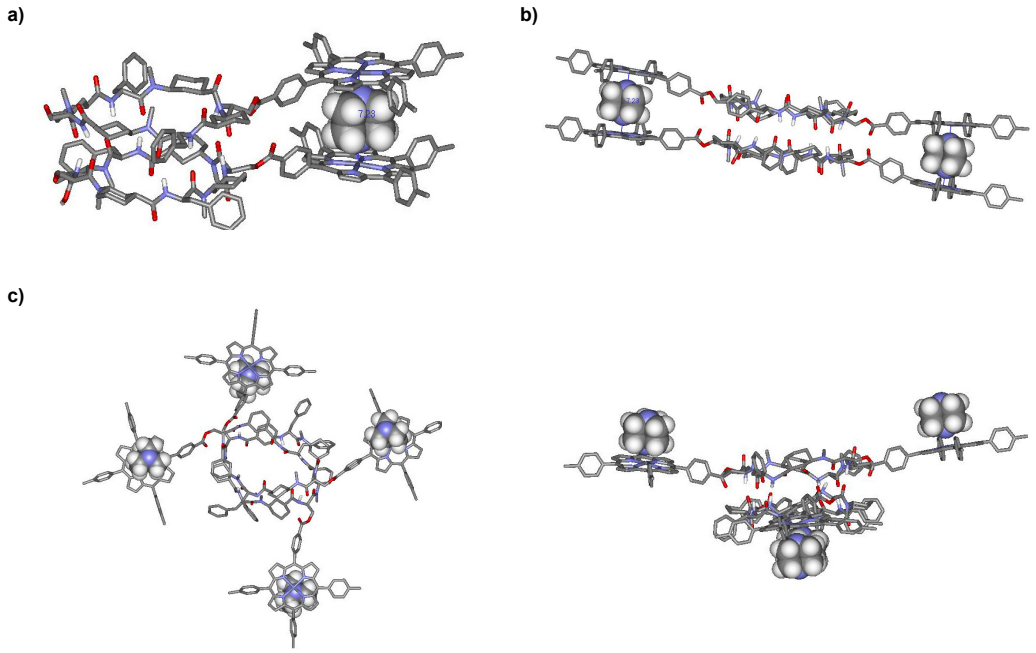


Figura 202. a) Estructura minimizada empleando CAChe del complejo 1:1 **DABCO⊂ $\mathbf{D_{96}}$**, en el que se intercala una molécula de DABCO entre los dos anillos de porfirina del homodímero resultante del autoensamblaje peptídico de **96**. La distancia calculada entre las porfirinas es 7.23 Å. **b)** Estructura minimizada empleando CAChe del complejo 2:1 tipo sándwich **$\mathbf{DABCO_2}$⊂ $\mathbf{D_{97}}$**, revelando una distancia calculada entre las porfirinas de 7.23 Å. **c)** Vista superior (*izquierda*) y lateral (*derecha*) de la estructura minimizada empleando CAChe correspondiente a la especie con mayor estequiometría (**$\mathbf{DABCO_4}$⊂ $\mathbf{D_{97}}$**) para el homodímero resultante del autoensamblaje peptídico de **97** [Las moléculas de DABCO se representan como modelos de relleno espacial (modelo CPK), mientras que los ciclopéptidos lo hacen en forma de varillas sólidas (modelo *capped-stick*)].

[776] El modelado molecular y la minimización de las estructuras ha sido realizado empleando el paquete informático CAChe [*CAChe WorkSystem*, version 6.1.12.33; Fujitsu Limited (USA), **2004**].

las organizaciones cofaciales — obtenidas a partir de las estructuras minimizadas[776] — parecen ser adecuadas para la coordinación ditópica de DABCO. En el caso del receptor dimérico $\mathbf{D_{96}}$, la interacción ditópica con DABCO proporciona un complejo 1:1 tipo sándwich ($\mathbf{DABCO \subset D_{96}}$), en el cual una molécula de DABCO se intercala entre dos anillos de porfirina (Figura 203). Análogamente, se pudo observar como el receptor $\mathbf{D_{97}}$ sirve como molde eficaz para llevar a cabo la formación de un complejo sándwich doble ($\mathbf{DABCO_2 \subset D_{97}}$) de manera geométricamente plausible.

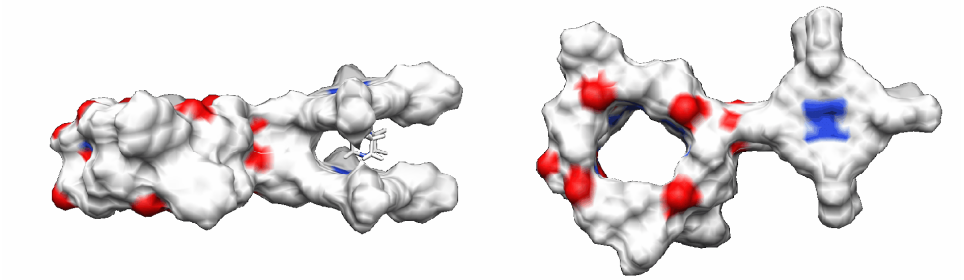


Figura 203. Vista lateral (*izquierda*) y superior (*derecha*) de la estructura minimizada mediante CAChe del complejo sándwich $\mathbf{DABCO \subset D_{96}}$, en el que se observa la intercalación de una molécula de DABCO entre los dos anillos de porfirina, provocando así la restricción conformacional del sistema supramolecular [El dímero tipo pinza se representa como modelo de superficie de hidrofobicidad, mientras que la molécula de DABCO lo hace en forma de varillas]

Los resultados previos obtenidos por el grupo de investigación de Ballester en receptores Zn-bisporfirínicos con espaciadores covalentes evidenciaron la formación inicial de complejos cofaciales 1:1 tipo sándwich con DABCO (Figura 204a).[767,777] A pesar de que los

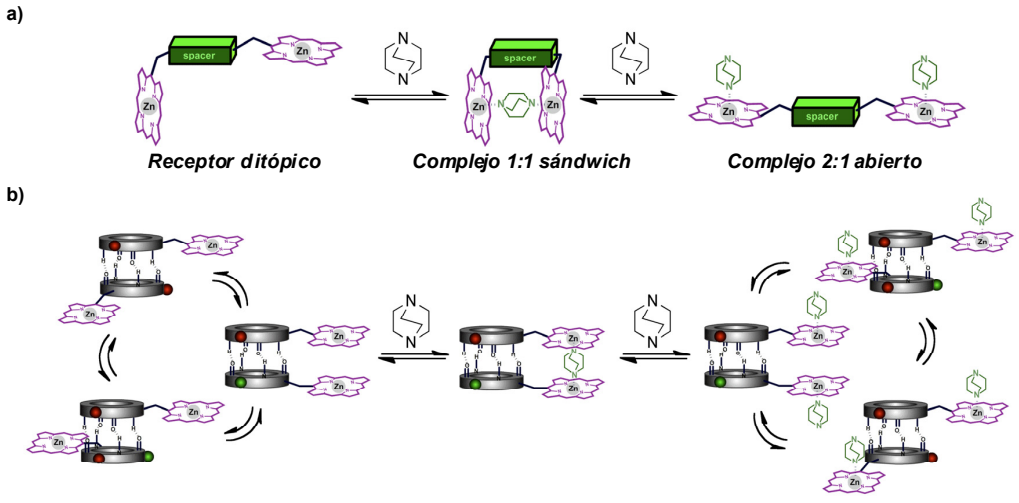


Figura 204. Representación esquemática del proceso de unión para la coordinación de DABCO con bisporfirinas capaces de adoptar una disposición cofacial. **a)** Bisporfirinas que contienen un espaciador covalente. **b)** Bisporfirinas que presentan un espaciador supramolecular que emplea interacciones de enlace de hidrógeno. En este último caso, la adición de sólo un equivalente de DABCO conlleva el bloqueo del proceso de interconversión de los componentes del receptor supramolecular. El uso de exceso de ligando libera nuevamente la conversión interdimérica.

[777] Etxebarría, J.; Vidal-Ferrán, A.; Ballester, P. *Chem. Commun.* **2008**, *45*, 5939-5941.

correspondientes complejos son muy estables termodinámicamente, se pudo observar su apertura en presencia de exceso de DABCO, dando lugar así a especies monocoordinadas a DABCO de mayor estequiometría. En nuestro caso particular, debemos esperar un comportamiento de complejación similar para los receptores α,γ-ciclopeptídicos bis- y tetraporfirínicos tipo pinza (**D_{96}** y **D_{97}**), proporcionando complejos abiertos de alta estequiometría y permitiendo así que el sistema supramolecular se equilibre de nuevo a través de la conversión interdimérica (Figura 204b).

Los espectros UV-vis obtenidos durante la valoración de los receptores tipo pinza **D_{96}** y **D_{97}** con DABCO son similares, lo que indica que los dos sistemas experimentan procesos de unión relacionados (Figura 205). En ambos casos, la adición inicial de DABCO conduce a un aumento significativo en la intensidad de las bandas de Soret,[521d,778] mientras que el máximo de absorción a 427 nm se mantiene prácticamente inalterado (desplazamiento inferior a 1 nm). El cambio en la intensidad de la banda es una consecuencia directa de la reducción del ancho de banda media (*half-bandwidth*) de las bandas iniciales de absorción centradas a 426.0 y 426.1 nm para **D_{96}** y **D_{97}**, respectivamente (ancho de banda media de 9 y 8 nm,

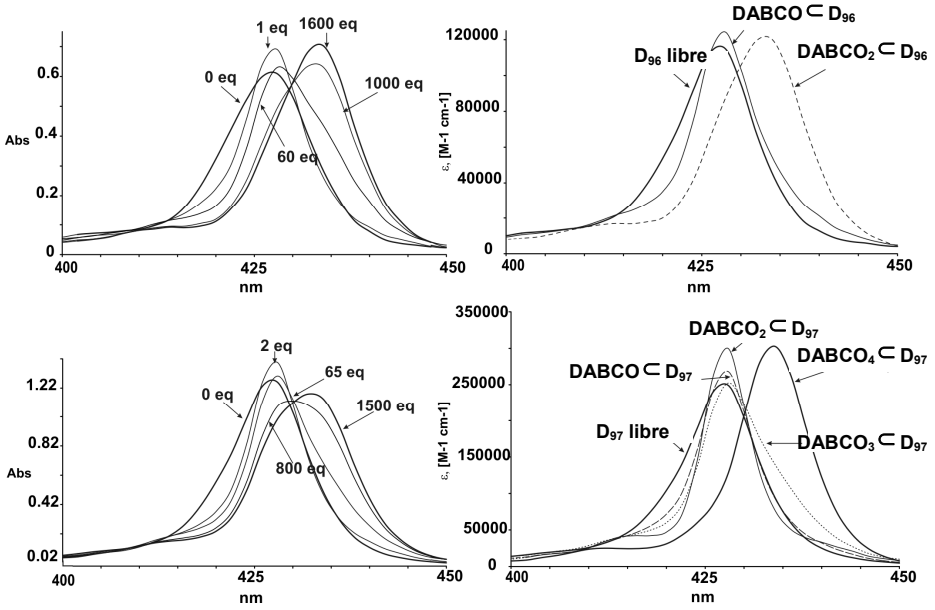


Figura 205. *Izquierda,* Espectros seleccionados correspondientes a las valoraciones UV-Vis de **D_{96}** (*arriba-izquierda*) y **D_{97}** (*abajo-izquierda*) con DABCO, en los que se muestra la región de la banda de Soret [Número de equivalentes añadidos para **D_{96}**: 0, 1, 60, 1000 y 1600; Número de equivalentes añadidos para **D_{97}**: 0, 2, 65, 800 y 1500]. *Derecha*, Espectros UV-Vis calculados de las especies resultantes de la coordinación entre **D_{96}** y DABCO [receptor libre **D_{96}**, complejo 1:1 sándwich **DABCO⊂D_{86}** y complejo 2:1 abierto **$DABCO_2$⊂D_{96}**] (*arriba-derecha*), y de las especies resultantes de la coordinación entre **D_{97}** y DABCO [receptor libre **D_{97}**, complejo 1:1 sándwich **DABCO⊂D_{97}**, complejo 2:1 sándwich **$DABCO_2$⊂D_{97}**, complejo 3:1 parcialmente abierto **$DABCO_3$⊂D_{97}** y complejo 4:1 totalmente abierto **$DABCO_4$⊂D_{97}**] (*abajo-derecha*).

[778] La banda de Soret (o banda B) es un pico intenso (máxima absorción; ε elevado) en la región de longitud de onda azul del espectro visible (420-470 nm). Dicha banda se emplea habitualmente para describir la absorción de pigmentos que contienen funcionalidades hemo — tales como los citocromos —, aunque su utilización es también frecuente en las porfirinas. Así, el espectro electrónico de absorción de una porfirina típica consiste en una fuerte transición al segundo estado excitado ($S_0 \rightarrow S_2$) en torno a 400 nm (banda de Soret o banda B) y una transición débil para el primer estado excitado ($S_0 \rightarrow S_1$) en torno a 550 nm (banda Q). Ambas bandas surgen de transiciones $\pi-\pi^*$ y pueden explicarse considerando los cuatro orbitales frontera (HOMO y LUMO) según el modelo de Gouterman. Para más información, ver: a) Milgrom, L. R. *The colours of life: an introduction to the chemistry of porphyrins and related compounds*; Oxford University Press: Oxford (Reino Unido), **1997**. b) Soret, J. L. *C. R. Hebd. Acad. Sci.* **1883**, *97*, 1269-1270.

respectivamente). Los espectros de absorción electrónica proporcionan información relevante sobre la orientación relativa entre los cromóforos Zn-porfirina en los estados libre y enlazado de los receptores multiporfirínicos. Típicamente, los receptores tipo pinza Zn-bisporfirínicos experimentan un desplazamiento espectral de 5 nm hacia el rojo (hacia la derecha del espectro visible), el cual es característico de la formación de un complejo sándwich con DABCO. Este desplazamiento de 5 nm es debido a la existencia de un acoplamiento excitón entre las transiciones Zn-porfirina de los cromóforos dispuestos cofacialmente en el complejo sándwich. En el caso que nos ocupa, el desplazamiento mínimo observado para la banda de Soret correspondiente a la unión inicial de DABCO indica que el acoplamiento excitón entre las transiciones de porfirina ya está presente en el estado libre de los receptores. Sin embargo, la observación de mayores anchos de banda media para el caso de los estados libres de los ensamblajes diméricos $\mathbf{D_{96}}$ o $\mathbf{D_{97}}$ que para el de los complejos formados inicialmente permite intuir la existencia de conformaciones dispuestas no cofacialmente de los cromóforos en los estados libres. Cabe destacar que la unión ditópica de DABCO debe conllevar la restricción conformacional de los receptores hacia exclusivamente aquellos ensamblajes diméricos en las que las unidades de porfirina se dispongan coplanarmente y acopladas excitónicamente, produciendo así una reducción concomitante de los anchos de banda media.

La adición de más DABCO conlleva el decrecimiento de la intensidad de la banda de absorción localizada a 427 nm, así como un incremento en su ancho de banda media (Figura 205). A altas concentraciones de DABCO, se puede observar la aparición de una nueva banda de absorción situada a 432 nm (Figura 205). Es conocido que el compuesto monoporfirina muestra una absorción de Soret a 431 nm cuando se encuentra axialmente coordinado a DABCO. Teniendo en cuenta dichas consideraciones, los resultados obtenidos sugieren que existen al menos dos estados de equilibrio consecutivos involucrados en la complejación de DABCO por los receptores tipo pinza de Zn-porfirina; la ***formación*** de un complejo sándwich seguido de su ***destrucción*** en presencia de cantidades crecientes de DABCO para proporcionar especies monocoordinadas a DABCO. Desafortunadamente, experimentos adicionales de ESI y DOSY realizados no resultaron ser exitosos para estudiar la formación de los diferentes complejos de coordinación, lo cual es debido fundamentalmente a la reducida estabilidad cinética que presentan dichos complejos y a las limitaciones experimentales de ambas técnicas.

En primer lugar se analizaron los datos de UV-Vis de la valoración resultante de la complejación de DABCO con el ensamblaje α,γ-ciclopeptídico dimérico bisporfirínico $\mathbf{D_{96}}$ (Figura 205, *arriba-izquierda*), empleando para ello el paquete informático SPECFIT[779] y considerando un modelo de unión que involucra tres estados coloreados estequiométricos de las pinzas autoensambladas de bisporfirina; receptor libre $\mathbf{D_{96}}$, complejo 1:1 sándwich $\mathbf{DABCO \subset D_{96}}$ y complejo 2:1 abierto $\mathbf{DABCO_2 \subset D_{96}}$ (Figura 205). Hemos de destacar que no se ha tenido en cuenta la formación de complejos sándwich interdiméricos debido a consideraciones termodinámicas relacionadas con su valor estimado de constante de estabilidad (10^{10} M^{-2}) en relación con la determinada para el complejo sándwich intradimérico (2×10^7 M^{-1}). Aún así, decidimos llevar a cabo un estudio pormenorizado de los perfiles de especiación simulados para receptores bisporfirina capaces de formar complejos sándwich intra- e interdiméricos con ligandos nitrogenados ditópicos (Figura 206). Continuando con el

[779] a) *SPECFIT*, version 3.0.40, from Spectra Software Associates, Marlborough, MA (USA), **2007**. b) Gampp, H.; Maeder, M.; Meyer, C. J.; Zuberbühler, A. D. *Talanta* **1986**, *33*, 943-951. c) Gampp, H.; Maeder, M.; Meyer, C. J.; Zuberbühler, A. D. *Talanta* **1985**, *32*, 95-101.

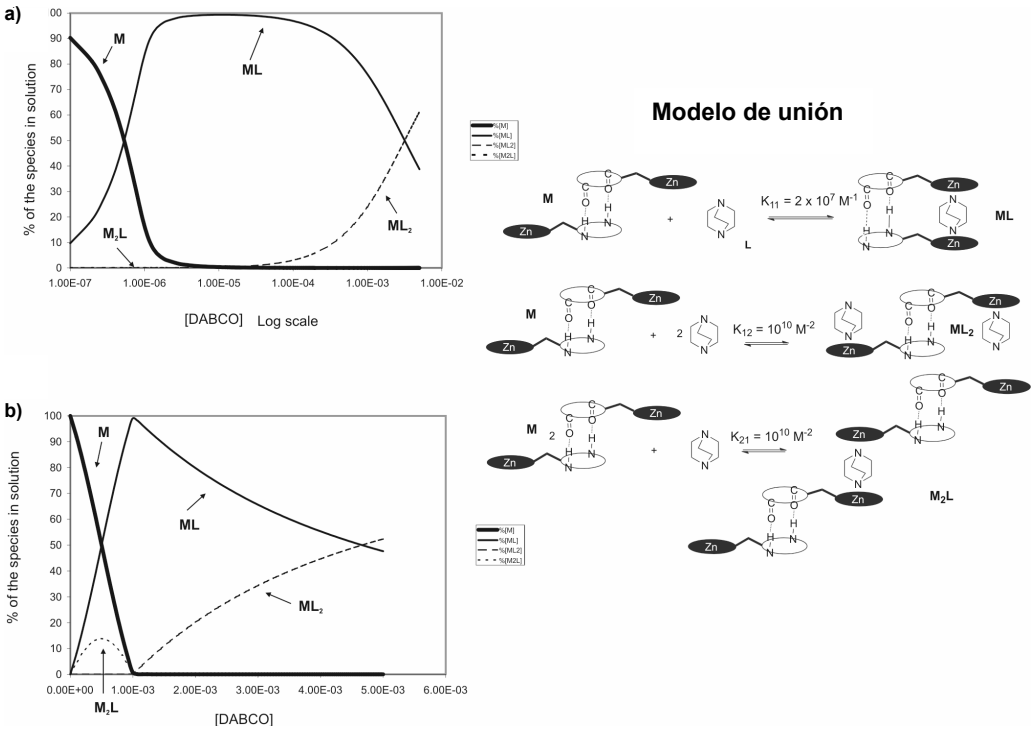


Figura 206. *Izquierda*, Perfiles de especiación simulados correspondientes a las valoraciones de una bisporfirina M capaz de formar complejos sándwich intra- e interdiméricos con un ligando ditópico nitrogenado L (DABCO) en **a)** concentración micromolar (μM) de M, y **b)** concentración milimolar (mM) de M. La concentración de M se mantiene constante durante toda la valoración, mientras que la concentración de L se incrementa gradualmente. *Derecha*, Representación esquemática del modelo de unión empleado para la simulación de los perfiles de especiación, en la cual se indican los valores de las constantes de estabilidad utilizados. El complejo M_2L (sandwich interdimérico) es siempre la especie minoritaria obtenida en disolución. En el régimen milimolar, dicha especie se forma a una concentración máxima de 5×10^{-5} M, por lo que resulta ser indetectable mediante ^{1}H-RMN.

análisis de los datos obtenidos previamente, se pudo estimar estadísticamente que el valor de la constante de estabilidad del complejo 2:1 abierto era de $K_{21} = 4K_m^2$, el cual se mantuvo fijo durante el procedimiento de ajuste (log K_{21} = 10.5). El valor de la constante microscópica de unión (K_m)[780] se deriva de los estudios previos realizados por el grupo de investigación de Ballester relativos a la coordinación de DABCO a Zn-porfirinas sencillas.[767] El ajuste mostró una constante de estabilidad calculada para el complejo 1:1 sándwich de $K_{11} = 2.2 \times 10^7$ M^{-1}. En la figura 205 (*arriba-derecha*) se muestran los espectros calculados de UV-Vis (escala épsilon) del receptor libre **D_{96}** y de los correspondiente complejos formados entre dicho receptor **D_{96}** y DABCO, los cuales han sido obtenidos mediante el procedimiento de ajuste. Del mismo modo, en la figura 205 (*arriba*) también se representa el ajuste de los datos de valoración al modelo teórico de unión mencionado previamente a una longitud de onda seleccionada. Los espectros calculados muestran las características esperadas para los complejos con las geometrías asignadas; una banda Soret situada a 427 nm para los complejos tipo sándwich con DABCO y a 432 nm para los complejos abiertos. En cuanto a los anchos de banda media, los resultados

[780] La constante microscópica de unión (K_m) se define como la constante teórica de unión específica a un sitio, bajo el supuesto de que se pudiese distinguir de los demás sitios. De esta forma, la K_m refleja el equilibrio que sería medido si solo se pudiese unir un ligando. Para más información, ver: Di Cera, E. *Thermodynamic theory of site-specific binding processes in biological macromolecules*; Cambridge University Press: Cambridge (Reino Unido), **1995**.

obtenidos también son consistentes con nuestras expectativas. Cabe destacar que se obtuvo un ajuste extraordinariamente bueno de los datos experimentales de valoración a las correspondientes curvas teóricas (Figura 207). Del mismo modo, hemos de indicar que la

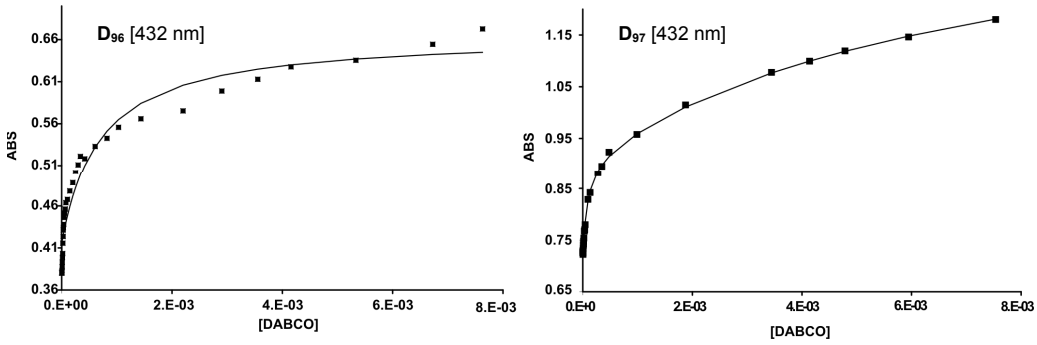


Figura 207. Ajustes de los datos experimentales de las valoraciones UV-Vis (*puntos* ▪) — obtenidos a longitud de onda seleccionada de 432 nm — a la curva teórica (*línea sólida* —) de los modelos de unión propuestos con anterioridad para los sistemas diméricos **D96** (*izquierda*) y **D97** (*derecha*).

constante de estabilidad del complejo sándwich y la ecuación 12,

$$K_{11} = 2K_m{}^2 EM \qquad \text{(Ecuación 12)}$$

se emplearon para estimar un valor de molaridad efectiva (EM) igual a 0.001 M. Este valor se encuentra dentro del rango esperado reportado para sistemas relacionados, aunque la magnitud obtenida es una clara indicación de que tanto la complementariedad entre el receptor anfitrión (*host*) y el ligando invitado (*guest*) como la preorganización del sistema están lejos de ser óptimas.[781]

Antes de proceder con el análisis matemático de los datos experimentales obtenidos en la valoración del receptor dimérico Zn-tetraporfirínico **D97** con DABCO, se realizó una simulación de la especiación esperada para dicha valoración (Figura 208). De este modo, se

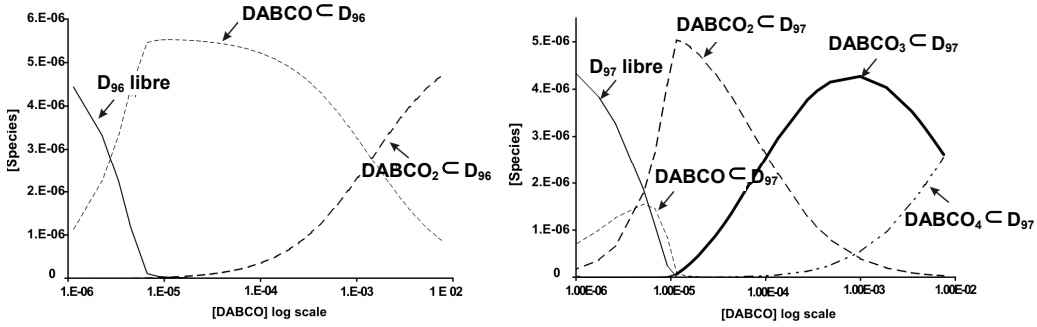


Figura 208. Perfiles de especiación derivados de las valoraciones UV-Vis de **D96** (*izquierda*) y **D97** (*derecha*) con DABCO, en los que cada curva corresponde a una especie diferente.

[781] Anderson, H. L.; Anderson, S.; Sanders, J. K. M. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1995**, *18*, 2231-2245.

pudo desarrollar un modelo teórico de unión teniendo en cuenta que el ensamblaje tetraporfirínico **D_{97}** puede estar implicado en cinco estados estequiométricos diferentes; receptor libre **D_{97}**, complejo 1:1 sándwich **DABCO⊂ D_{97}**, complejo 2:1 sándwich **$DABCO_2$⊂ D_{97}** , complejo 3:1 parcialmente abierto **$DABCO_3$⊂ D_{97}** y complejo 4:1 totalmente abierto **$DABCO_4$⊂ D_{97}** (Figura 198). Las constantes de estabilidad para todos los complejos se estimaron estadísticamente usando las siguientes ecuaciones:

$$K_{11} = 8K_m^{\,2}EM \qquad \text{(Ecuación 13)}$$

$$K_{21} = 8K_m^{\,4}EM^{\,2} \qquad \text{(Ecuación 14)}$$

$$K_{31} = 32K_m^{\,4}EM \qquad \text{(Ecuación 15)}$$

$$K_{41} = 32K_m^{\,4} \qquad \text{(Ecuación 16)}$$

Hemos considerado una molaridad efectiva (EM) igual a 1×10^3 M^{-1} — valor calculado previamente para el receptor homodimérico **D_{96}** — para todos los complejos sándwiches, además de una constante microscópica de unión (K_m) de DABCO con las Zn-porfirinas de 8.9×10^4 M^{-1}. De este modo, se pudieron calcular de manera adecuada los valores logarítmicos (log) para las constantes de estabilidad ($\log K_{11} = 7.5$; $\log K_{21} = 14.7$; $\log K_{31} = 18.3$; $\log K_{41} = 21.3$). La simulación reveló que todas las especies deberían ser consideradas en el modelo teórico de unión si sus constantes de estabilidad se corresponden con valores estimados estadísticamente. Basándonos en dichos principios, se procedió a continuación al ajuste de los datos experimentales de valoración al modelo teórico de unión, teniendo en cuenta que el ensamblaje dimérico **D_{97}** está implicado en la formación de cinco especies diferentes (Figura 209). Con el fin de reducir el número de variables durante el procedimiento de ajuste, decidimos fijar los valores de las constantes de estabilidad para los complejos 1:1

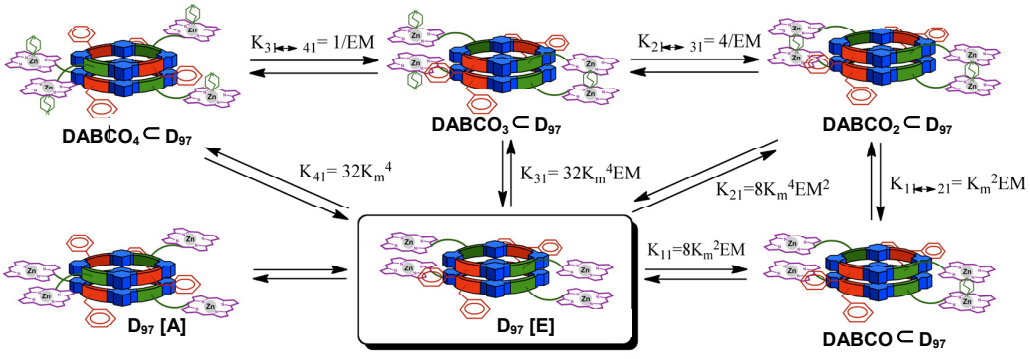


Figura 209. Representación esquemática de los posibles equilibrios involucrados en la unión de DABCO al dímero Zn-tetraporfirínico **D_{97}**. EMs son las molaridades efectivas correspondientes a la interacción intramolecular necesaria para la ciclación. Además, se muestran las constantes totales de estabilidad K_{21}, K_{31} y K_{41}, así como las constantes graduales de equilibrio K_{11}, $K_{11\Leftrightarrow 21}$, $K_{21\Leftrightarrow 31}$ y $K_{31\Leftrightarrow 41}$. Dichos parámetros se relacionan con la constante microscópica de unión (K_m), con EM y con los factores de corrección estadística. Finalmente, cabe destacar que el factor de cooperatividad del ligando (αL) y el factor de cooperatividad de la porfirina (αP) se considera que son iguales a 1.

y 4:1 a los estimados estadísticamente. De esta forma, el procedimiento de ajuste permitió calcular las constantes de estabilidad para los complejos 2:1 (K_{21} = 1.26 × 10^{15} M^{-2}) y 3:1 (K_{31} = 1.26 × 10^{19} M^{-3}), cuyos valores están en concordancia con los estimados estadísticamente. Los espectros UV-Vis calculados para las diferentes especies muestran las características espectroscópicas esperadas para sus correspondientes geometrías y estequiometrías (Figura 205). La constante de estabilidad determinada para el complejo K_{21} se puede traducir a un EM^2 igual a 2.51 × 10^{-6} M — empleando para ello la ecuación 14 —, lo que permite obtener así un valor medio de EM igual a 0.0016 para cada uno de los sitios de unión. La concordancia obtenida entre el valor de EM calculado para la bisporfirina **D_{96}** y para los dos sitios de unión de la Zn-tetrapofirina **D_{97}** pone de manifiesto que la formación del complejo 2:1 sándwich doble no muestra evidencias de una cooperatividad altamente positiva.[782] Para evaluar mucho mejor el factor de cooperatividad (α)[783] de los dos procesos ditópicos de unión de DABCO con **D_{97}**, se procedió a la determinaron de los valores de constantes microscópicas de unión de cada uno de los eventos, empleando para ello las ecuaciones:

$$K_{11} = 2K_{m1} \qquad \text{(Ecuación 17)}$$

$$K_{11 \Leftrightarrow 21} = \frac{K_{21}}{K_{11}} = \frac{K_{m2}}{2} \qquad \text{(Ecuación 18)}$$

La relación entre las constantes microscópicas de unión y la constante termodinámica de unión — también conocida como corrección estadística — está dictada simplemente por la degeneración de los estados cuando los reactivos se transforman en productos (contribución entrópica). La relación de constantes microscópicas de unión proporcionó un valor de factor de cooperatividad del receptor tetraporfirínico **D_{97}** igual a 4.8 (αP moderadamente positivo),[784] lo que pone de manifiesto que dicha tetraporfirina se une al segundo equivalente de DABCO con un aumento de cinco veces sobre el primero, mostrando así una moderada unión cooperativa.

21.2.2. ESPECTROSCOPIA DE ^{1}H RMN

Con el fin de obtener una mayor comprensión de las características estructurales de los complejos formados a través de la interacción de DABCO con las pinzas ciclopeptídicas porfirínicas **D_{96}** y **D_{97}**, se procedió a continuación a estudiar sus procesos de complejación utilizando espectroscopia de ^{1}H RMN. De este modo, se pudo observar inicialmente como a concentraciones milimolares, la adición de 0.3 equivalentes de DABCO a una disolución de cloroformo que contiene **D_{96}** condujo a la aparición de una señal resonante singlete a δ = -5.0 ppm (Figura 210). Esta señal es característica de los protones de metileno de una molécula de DABCO coordinada a dos unidades de porfirina en un complejo tipo sándwich, tal

[782] a) Veling, N.; Thomassen, P. J.; Thordarson, P.; Elemans, J. A. A. W.; Nolte, R. J. M.; Rowan, A. E. *Tetrahedron* **2008**, *64*, 8535-8542. b) Hunter, C. A.; Tomas, S. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 8975-8979. c) Ballester, P.; Oliva, A. I.; Costa, A.; Deya, P. M.; Frontera, A.; Gomila, R. M.; Hunter, C. A. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 5560-5569.

[783] El factor de cooperatividad (α) es una medida termodinámica de la fuerza y dirección del cambio alostérico en afinidad por un sitio de unión cuando el otro está ocupado. Para más información, ver: Goodrich, J. A.; Kugel, J. F. *Binding and kinetics for molecular biologists*; Cold Spring Harbor Laboratory Press: New York (Estados Unidos), **2007**.

[784] En nuestro caso particular, el factor de cooperatividad de la porfirina (αP) viene determinado por la relación de constantes microscópicas de unión ($\alpha P = K_{m1}/K_{m2}$).

y como esperábamos para el caso del complejo 1:1 **DABCO⊂ D_{96}**. La adición de más de 0.3 equivalentes de DABCO conlleva que la señal situada a δ = -5.0 ppm se vuelva mucho más ancha, y que finalmente desaparezca cuando tengamos 1.0 equivalente de DABCO presente en disolución. El ensanchamiento de esta señal es consecuencia del intercambio químico con moléculas libres de DABCO o con moléculas de DABCO axialmente monocoordinadas a la porfirina en el complejo abierto 2:1 **$DABCO_2$⊂ D_{96}**. La velocidad de intercambio es proporcional a la concentración de DABCO libre y de complejo **$DABCO_2$⊂ D_{96}**, lo que sugiere la presencia de un proceso bimolecular en el cual una molécula de DABCO desplaza a otra desde el átomo de zinc de manera concertada.

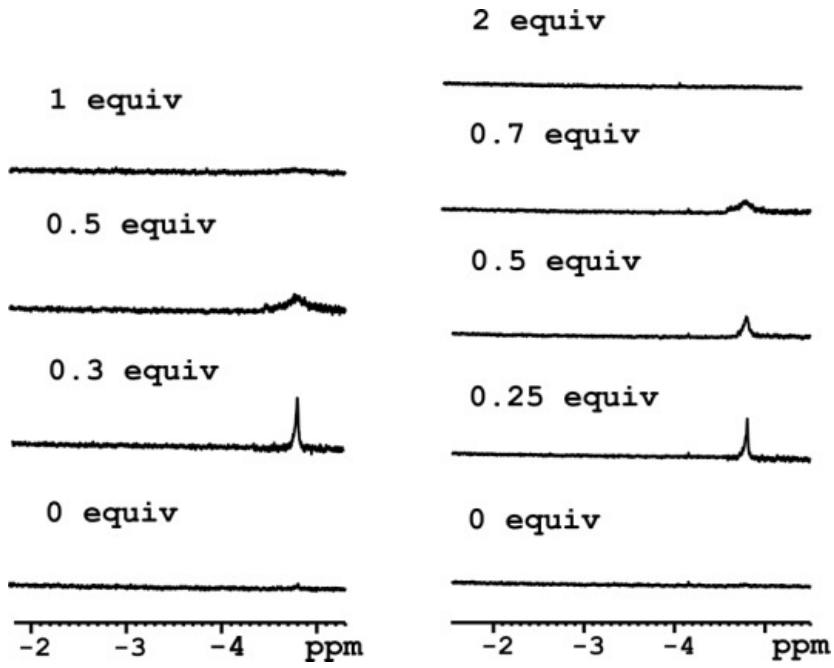


Figura 210. Espectros de ^{1}H RMN en $CDCl_3$ y a 298 K correspondientes a la valoración de **D_{96}** (*izquierda*) y **D_{97}** (*derecha*) con DABCO (los espectros han sido ampliados desde -1.5 a -5.5 ppm para su mejor visualización).

La interacción de DABCO con el receptor Zn-tetraporfirínico **D_{97}** también fue investigada mediante espectroscopia de ^{1}H RMN. De nuevo, la adición inicial del ligando diamina permitió observar la aparición de una señal singlete a δ = -5.0 ppm, la cual es indicativa de la formación de complejos sándwiches del tipo **DABCO⊂ D_{97}** y **$DABCO_2$⊂ D_{97}**. Tal y como esperábamos, la señal de protón mostró un comportamiento dinámico análogo al descrito para el ensamblaje dimérico **D_{96}**. La adición sucesiva de DABCO condujo al ensanchamiento de la señal, la cual desapareció finalmente en presencia de aproximadamente 2.0 equivalentes de DABCO (Figura 210).

La repetición del experimento de valoración a 253 K permitió detectar una notable simplificación en los espectros de ^{1}H RMN de las señales de **D_{97}** hasta la adición de 0.5 equivalentes de DABCO (Figura 211). La adición posterior de DABCO hasta 1.0 equivalente no produjo ningún cambio considerable en el espectro de ^{1}H RMN.

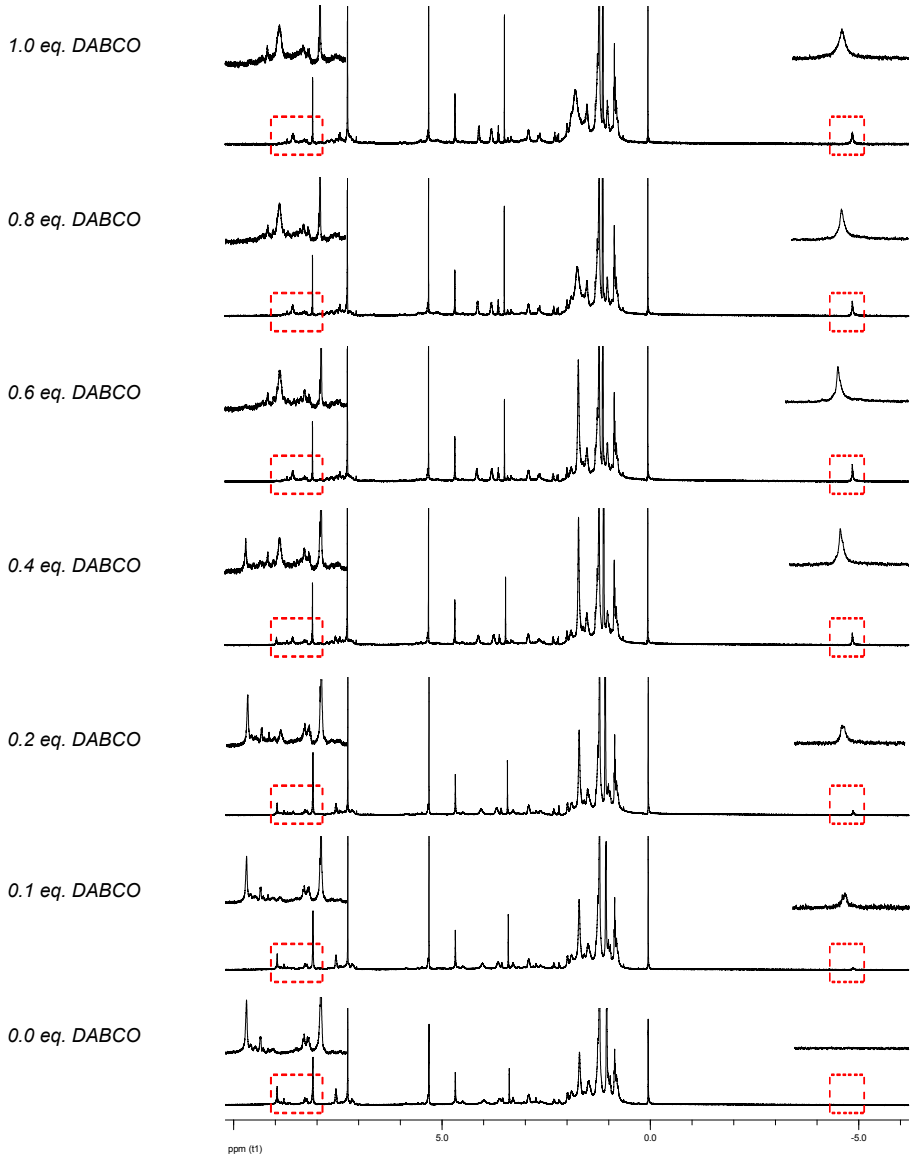


Figura 211. Espectros de ^{1}H RMN en $CDCl_3$ y a 253 K correspondientes a la valoración de $\mathbf{D_{97}}$ con DABCO (los espectros han sido ampliados para su mejor visualización).

Considerando conjuntamente las observaciones obtenidas con anterioridad, podemos sugerir que las señales de protón de los complejos 1:1 (**DABCO**$\subset \mathbf{D_{97}}$) y 2:1 (**DABCO**$_2\subset \mathbf{D_{97}}$) resultado de la coordinación del ligando divalente DABCO al receptor Zn-tetraporfirínico $\mathbf{D_{97}}$ deben ser muy similares. De este modo, no es sorprendente que ambas especies posean una disposición eclipsada de las unidades de porfirina. Este hecho también sugiere que la concentración de $\mathbf{D_{97}}$ libre en presencia de 0.5 equivalentes de DABCO está cerca del límite de detección del espectrómetro. En este sentido, un perfil simulado de especiación cuando se añaden 0.5 equivalentes de DABCO nos ha permitido asignar una concentración de $\mathbf{D_{97}}$ libre inferior a 3×10^{-4} M, lo cual está en completo acuerdo con las observaciones obtenidas.

21.2.3. ESPECTROSCOPIA DE CD

La posible modificación de la quiralidad inducida desde el esqueleto α,γ-ciclopeptídico a las unidades de Zn-bisporfirina de los receptores diméricos tipo pinza (**D_{96}** y **D_{97}**) bajo condiciones de unión al ligando divalente DABCO, así como la probable existencia de acoplamiento de excitón entre dichas unidades metaloporfirínicas en los correspondientes complejos sándwiches, ha provocado que decidamos evaluar las interacciones de DABCO con cada uno de los receptores mediante espectroscopia de CD.[777,785]

Los receptores libres **D_{96}** y **D_{97}** presentan espectros de CD silenciosos a concentraciones micromolares (Figura 212). La adición sucesiva de DABCO a una disolución de las pinzas autoensambladas **D_{96}** en $CDCl_3$ no produjo ningún cambio significativo en el espectro de CD del receptor libre. Estas observaciones sugieren que la inducción de quiralidad desde el esqueleto ciclopeptídico quiral a los cromóforos porfirina es casi insignificante, tanto en el estado libre de los receptores como en el complejo sándwich **DABCO⊂ D_{96}**. En contraste, la adición inicial de DABCO a una disolución de **D_{97}** en $CDCl_3$ condujo a la aparición y acrecentamiento gradual de un efecto Cotton bisignado (*bisignate*) positivo en la banda de Soret de la porfirina (Figura 212).[786] Sin embargo, al aumentar la concentración de DABCO,

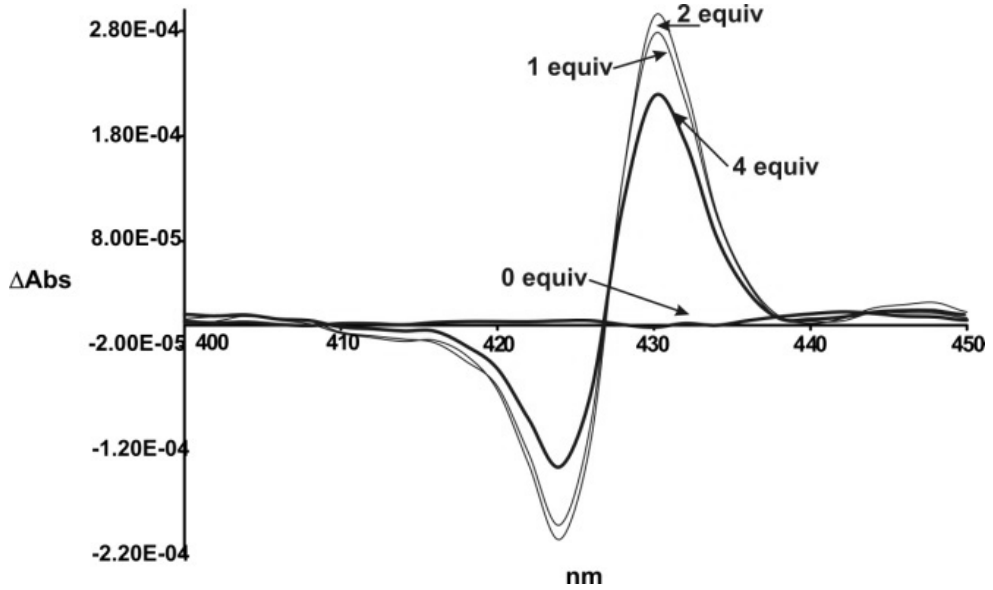


Figura 212. Espectros de CD de una disolución 2.5 μM de **D_{97}** en $CHCl_3$ en presencia de diferentes equivalentes (desde 0 hasta 4 eq.) de DABCO.

[785] a) Borovkov, V. V.; Hembury, G. A.; Inoue, Y. *Acc. Chem. Res.* **2004**, *37*, 449-459. b) Huang, X. F.; Nakanishi, K.; Berova, N. *Chirality* **2000**, *12*, 237-255.

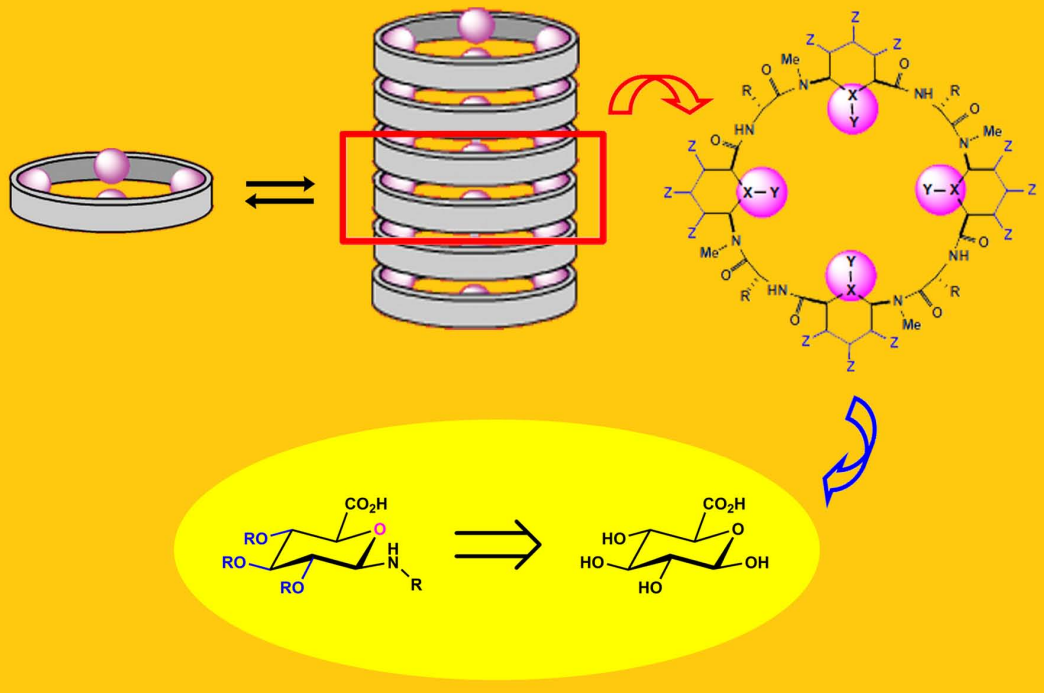
[786] El efecto Cotton es la manifestación del fenómeno de interacción de la luz polarizada con la materia quiral. Cabe destacar que una curva de efecto Cotton positivo es aquella en la que el pico tiene lugar a mayor longitud de onda que un valle (la rotación óptica experimenta en primer lugar un aumento cuando disminuye la longitud de onda), mientras que una curva de efecto Cotton negativo es aquella en la que el pico está situado a menor longitud de onda que el valle (la rotación óptica experimenta en primer lugar un descenso cuando disminuye la longitud de onda). Por otra parte, el término bisignado (*bisignate*) hace referencia a un tipo de curva espectral de CD. Mientras que las curvas de CD típicas presentan un solo pico, algunas gráficas espectrales de datos de CD exhiben un patrón de curva dividida (*split curve*) con dos picos, la cual se denomina como curva bisignada. Para más información, ver: Gillard, R. D. "The Cotton effect in coordination compounds". En *Progress in Inorganic Chemistry* [Vol. 7]; Ed F. A. Cotton; John Wiley & Sons: New Jersey (Estados Unidos), **2007**, 215-276.

los valores de absorbancia de la muestra comenzaron a disminuir. Este resultado implica la existencia de un acoplamiento excitón en los complejos tipo sándwich formados inicialmente por la interacción de **D_{97}** y DABCO. La aparición de un par (*couplet*) de CD positivo debe atribuirse probablemente a la formación del complejo **$DABCO_2 \subset D_{97}$**, en el que las restricciones conformacionales introducidas por las dos porfirinas sándwiches son capaces de transmitir la quiralidad del esqueleto peptídico a los cromóforos, mientras que la disminución en la intensidad de la absorbancia puede estar asociada con la destrucción del complejo sándwich doble (**$DABCO_2 \subset D_{97}$**) y con la formación de los complejos abiertos **$DABCO_3 \subset D_{97}$** y/o **$DABCO_4 \subset D_{97}$**, para los cuales prevemos espectros de CD silenciosos similares a los de los receptores libres. Cabe resaltar que esperamos que en el complejo **$DABCO_2 \subset D_{97}$** la disposición cofacial y la corta distancia existente entre los centros de los dipolos eléctricos interactuantes de las porfirinas den lugar a dos estados de energía de tipo excitón — homoacoplamientos de mayor energía [$B_\perp(+)$ y $B_\parallel(+)$] y homoacoplamientos de menor energía [$B_\perp(-)$ y $B_\parallel(-)$] —, los cuales se encuentran bien separados en los espectros de dicroísmo circular. Además, de acuerdo con el método de CD de quiralidad del excitón, la quiralidad positiva observada para el primer efecto Cotton del complejo putativo **$DABCO_2 \subset D_{97}$** debe ser producido por el acoplamiento en el sentido de las agujas del reloj (*cw*) de las transiciones $B_\parallel(-)$, el cual a su vez corresponde a un giro quiral hacia la derecha (dextrógiro) de las unidades de porfirina.

En resumen, hemos llevado a cabo el estudio exhaustivo de la complejación de los receptores autoensamblados tipo pinza bis- y tetraporfirínicos **D_{96}** y **D_{97}** con el ligando ditópico DABCO mediante espectroscopia UV-Vis y ^{1}H NMR, así como con experimentos de valoración de CD. De este modo, hemos podido demostrar que ambos receptores son capaces de formar complejos sándwiches con DABCO. Bajo estricto control estequiométrico, se comprobó como la bisporfirina **D_{96}** forma un complejo intramolecular simple 1:1 **$DABCO \subset D_{96}$**, mientras que la tetraporfirina **D_{97}** da lugar al correspondiente complejo intramolecular sándwich 2:1 **$DABCO_2 \subset D_{97}$** con total control regioisomérico. La formación del complejo sándwich intramolecular **$DABCO_2 \subset D_{97}$** muestra una evidencia de unión cooperativa moderada para los dos sitios de unión ditópica. Los complejos sándwiches intramoleculares se abren en presencia de un exceso de ligando para formar los correspondientes complejos abiertos **$DABCO_2 \subset D_{96}$** y **$DABCO_4 \subset D_{97}$**, en los que las moléculas de DABCO se monocoordinan axialmente a las unidades de porfirina. La destrucción del complejo sándwich intramolecular **$DABCO_2 \subset D_{97}$** debe ocurrir a través de las especies intermedias **$DABCO_3 \subset D_{97}$**, en las que uno de los sitios de unión es responsable de formar un complejo sándwich con DABCO, mientras que el otro sitio de unión se encuentra ya abierto con dos moléculas de DABCO axialmente monocoordinadas a las unidades de porfirina. En conclusión, la coordinación de DABCO (ligando nitrogenado ditópico) a las pinzas α,γ-ciclopeptídicas oligoporfirínicas permite lograr el control regioisomérico de los ensamblajes diméricos resultantes. Finalmente, hemos de destacar que la conveniente introducción de cromóforos adicionales en el esqueleto α,γ-ciclopeptídico debe conllevar que los correspondientes ensamblajes puedan presentar potenciales aplicaciones como interruptores (*switchers*) de transferencia energética y/o electrónica inducidos por la luz y regulados mediante coordinación a DABCO, poniendo de manifiesto así su relevancia en el diseño de eficientes sensores y máquinas moleculares.

En definitiva, las estrategias descritas con anterioridad han permitido la preparación de estructuras nanopeptídicas diméricas rígidas restringidas conformacionalmente mediante la unión covalente entre subunidades y/o la coordinación con metales. Dichas estrategias permiten disponer de manera sencilla de motivos sintéticos de pequeño tamaño con estructura bien definida, los cuales son capaces de realizar funciones similares a las de las complejas proteínas naturales.

La adecuada elección de las cadenas laterales de los α-aminoácidos que componen la secuencia α,γ(Aca)-ciclopeptídica permite modular apropiadamente las características de la superficie externa de la estructura nanotubular resultante del proceso de autoensamblaje, lo que va a repercutir tanto en sus propiedades y aplicaciones como en su control regioisomérico. En cuanto a su superficie interna, cabe recordar que los α,γ(Aca)-nanotubos presentan cierto carácter hidrofóbico en su cavidad interior, probablemente como consecuencia del efecto que ejercen los grupos metilenos que se orientan hacia el lumen. La conveniente funcionalización de dicha superficie debe permitir la modificación de las cavidades internas de los nanotubos, facilitando así el diseño de novedosas estructuras tubulares con potenciales aplicaciones en el campo del transporte selectivo y/o el reconocimiento molecular.



α,γ-CICLOPÉPTIDOS: FUNCIONALIZACIÓN DE LA CAVIDAD INTERNA

El último objetivo que decidimos abordar en esta memoria de Tesis Doctoral conllevaba la funcionalización de la cavidad interna de los nanotubos α,γ-ciclopeptídicos, para lo cual fue necesario la introducción de γ-glicosaminoácidos (γ-AAas) en dicha secuencia ciclopeptídica.

Los α,γ(Aca)-nanotubos presentan cierto carácter hidrofóbico en su cavidad interna, probablemente como consecuencia del efecto que ejercen los metilenos que se orientan hacia el lumen. Por consiguiente, tanto la introducción de grupos funcionales en el carbono C2 del anillo cicloalcánico como la sustitución de dicho grupo metileno por un heteroátomo, deberían permitir la funcionalización de la superficie interna de dichos nanotubos. Esta capacidad para modificar convenientemente las cavidades internas de los nanotubos debe favorecer el diseño de novedosas estructuras tubulares con relevantes aplicaciones, como puede ser el transporte selectivo de iones y/o moléculas o el desarrollo de receptores moleculares. Teniendo en cuenta estas consideraciones, nos hemos propuesto llevar a cabo el diseño, síntesis y estudio de una nueva clase de nanoestructuras formadas por unidades ciclopeptídicas constituidas por γ-aminoácidos derivados de azúcares. Cabe destacar que la introducción en la unidad ciclopeptídica de dichos γ-glicosaminoácidos ha de permitir modificar tanto las características del interior del nanotubo como las de su superficie externa.

22. GLICOSAMINOÁCIDOS (AAas)

Los hidratos de carbono y los aminoácidos constituyen dos clases importantes de bloques de construcción (*building blocks*) utilizados por la naturaleza para construir su vasto repertorio de biomoléculas. Mientras que los carbohidratos presentes en los nucleótidos, glicopéptidos y glicolípidos desempeñan papeles muy importantes en varios procesos biológicos — especialmente en procesos de reconocimiento célula-célula —, las proteínas derivadas de aminoácidos realizan innumerables funciones celulares. La hibridación de estos dos importantes bloques de construcción naturales da lugar a una nueva clase realmente útil de "andamios" (*scaffolds*) peptidomiméticos, denominados habitualmente como glicosaminoácidos o azucaraminoácidos [AAas o SAAs (*Sugar Amino Acids*)] (Figura 213).[787,788]

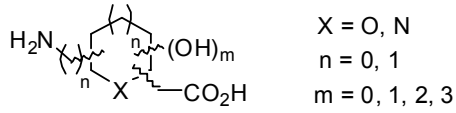


Figura 213. Estructura general de AAas furánicos (n = 0; anillos de 5 miembros) y piránicos (n = 1; anillos de 6 miembros). Dichos residuos son resultado de la hibridación de diferentes carbohidratos y aminoácidos.

[787] El término glicosaminoácido o azucaraminoácido (AAA) se emplea frecuentemente para clasificar a estos híbridos carbohidrato/aminoácido desde el punto de vista funcional, aunque a lo largo de los últimos años se han propuesto numerosos términos para designar compuestos derivados de AAAs. Entre ellos, destacan los híbridos sacárido-péptido, glicótidos, peptidosacáridos, sacaropéptidos, carbohidratos enlazados por amida, tetrahidrofurno(pirano) aminoácidos y carbopeptoides.

[788] Para revisiones de azucaraminoácidos (AAAs), ver: a) Risseuw, M. D. P.; Overhand, M.; Fleet, G. W. J.; Simone, M. I. *Tetrahedron Asymmetry* **2007**, *18*, 2001-2010. b) Chakraborty, T. K.; Srinivasu, P.; Tapadar, S.; Mohan, B. K. *J. Chem. Sci.* **2004**, *116*, 187-207. c) Graf von Roedern, E.; Born, M. A.; Stöckle, M.; Kessler, H. "Synthesis of peptides with sugar amino acids". En *Houben-Weyl: methods of organic chemistry [Vol. E 22c] - Synthesis of peptides and peptidomimetics*; Eds. M. Goodman, A. Felix, L. Moroder, C. Toniolo; Georg Thieme Verlag: Stuttgart (Alemania), **2003**, 807-821.

Los azucaraminoácidos se pueden encontrar extensamente en la naturaleza como elementos de construcción fundamentales (Figura 214).[789] Dichos compuestos se localizan predominantemente en la pared celular de las bacterias y como subunidades de oligosacáridos específicos. El más prominente y abundante ejemplo es el ácido siálico,[790] el cual se encuentra habitualmente en la periferia de glicoproteínas. Esta familia de AAas naturales está constituida por *N*- y *O*-acilderivados de ácido neuramínico. Finalmente, hemos de indicar que los AAas también son componentes básicos de antibióticos (tales como siastatina B y ezomicina A).[791,792]

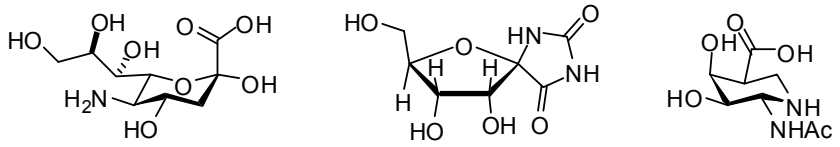


Figura 214. Ejemplos de AAas naturales.

La síntesis artificial de AAas se realiza convenientemente en pocas etapas a partir de monosacáridos comercialmente disponibles o fácilmente accesibles (tales como glucosa, glucosamina, galactosa,…).[793] La funcionalidad amino del azucaraminoácido puede ser introducida en forma de equivalente azida, cianuro o nitrometano, seguida de reducción. La funcionalidad carboxilo se incorpora directamente como CO_2 — o como un cianuro hidrolizable — mediante una reacción de Wittig y posterior oxidación u oxidación selectiva de un alcohol primario. De esta forma, se han preparado una gran colección de AAas que representan α-, β-, γ- y δ-aminoácidos, así como numerosos otros que son considerados como isópteros dipeptídicos o miméticos. Cabe resaltar que los AAas suelen contener anillos de 3, 4, 5 y 6 miembros; lógicamente los derivados furánicos (5 miembros) y piránicos (6 miembros) resultan particularmente atractivos (Figura 213).

Durante los últimos años, los glicosaminoácidos han surgido como plantillas/moldes (*templates*) versátiles empleadas ampliamente como matrices conformacionalmente restringidas en muchos estudios peptidomiméticos, así como una clase importante de monómeros sintéticos que conducen a diseño *de novo* de librerías oligoméricas.[794] La utilización de glicosaminoácidos (AAas) como unidades fundamentales presenta grandes ventajas:

- Los anillos rígidos de furano o pirano de estos moleculas los hace candidatos ideales como soportes no peptídicos en peptidomiméticos, a los cuales se pueden incorporar fácilmente a través de sus extremos carboxilo y amino mediante métodos de síntesis de péptidos en disolución o en fase sólida.

[789] a) Gervay-Hague, J.; Weathers, T. M. *Pyranosyl sugar amino acid conjugates: their biological origins, synthetic preparations, and structural characterization*; Dekker: New York (Estados Unidos), **2001**. b) Lohof, E.; Burkhart, F.; Born, M. A.; Planker, E.; Kessler, H. En *Advances in amino acid mimetics and peptidomimetics*; Ed. A. Abell; JAI Press Inc.: Stanford (Estados Unidos), **1999**, 263-292.
[790] Varki, A.; Schauer, R. "Sialic acids". En *Essentials of glycobiology* [2nd edn]; Eds. A. Varki, R. D. Cummings, J. D. Esko, H. H. Freeze, P. Stanley, C. R. Bertozzi, G. W. Hart, M. E. Etzler; Cold Spring Harbor Laboratory Press: New York (Estados Unidos), **2009**, 199-217.
[791] Para siastatina B, ver: Umezawa, H.; Aoyagi, T.; Komiyama, H.; Hamada, M.; Takeuchi, T. *J. Antibiot.* **1974**, *27*, 963-969.
[792] Para ezomicina A, ver: Sakata, K.; Sakurai, A.; Tamura, S. *Tetrahedron Lett.* **1974**, *16*, 1533-1536.
[793] Para la primera síntesis de AAAs, ver: Heyns, K.; Paulsen, H. *Chem. Ber.* **1955**, *88*, 188-195.
[794] a) Schweizer, F. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 230-253. b) Gruner, S. A. W.; Locardi, E.; Lohof, E.; Kessler, H. *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 491-514.

- Al mismo tiempo, permiten explotar eficientemente la diversidad estructural de moléculas de carbohidrato. La presencia en estas moléculas de cinco o seis centros quirales puede dar lugar a un gran número de posibles isómeros. Dichos isómeros pueden ser utilizados para crear bibliotecas combinatorias de AAas basadas en esqueletos moleculares predispuestos a plegarse en estructuras ordenadas arquitectónicamente atractivas, las cuales pueden tener también propiedades interesantes. Cabe destacar que la diferencia en el tamaño del anillo (furano o pirano; 5 miembros *vs* 6 miembros) permite la modificación de las conformaciones de los péptidos y carbohidratos.
- Los grupos hidroxilo protegidos/desprotegidos de los anillos de azúcar también pueden influir en la naturaleza hidrófoba/hidrófila de tales conjuntos moleculares.

Como consecuencia de estas ventajas, los glicosaminoácidos presentan grandes aplicaciones como bloques de construcción multifuncional en el desarrollo de una gran variedad de moléculas de diseño.[795] Dichos bloques de construcción se ensamblan racionalmente para crear moléculas con estructuras bien definidas y propiedades especialmente útiles. Esta nueva aproximación debe de contribuir valiosamente — junto con los métodos convencionales — a enriquecer nuestro arsenal de moléculas bioactivas, pudiendo así combatir de forma efectiva el creciente número de enfermedades que amenazan la vida humana. Además, los conceptos anteriores también pueden encontrar aplicaciones útiles en el desarrollo de nuevos materiales.

23. DISEÑO Y APLICACIONES DE ESTRUCTURAS CONSTITUIDAS POR GLICOSAMINOÁCIDOS

Tal y como hemos mencionado con anterioridad, los azucaraminoácidos están compuestos por anillos de distinto tamaño, lo que repercute en su flexibilidad. De este modo, se encuentran conformacionalmente restringidos, por lo se emplean frecuentemente como aminoácidos constreñidos o miméticos de giros/ciclopéptidos (Figura 215). Así, se pudo observar como ciertos oligómeros de AAas eran capaces de adoptar estructuras secundarias estables.[796] Recientemente, se ha demostrado que los AAas pueden no solo servir como glicomiméticos, sino también como isósteros[797] peptídicos conformacionalmente restringidos.[798] Probablemente, la presencia de los anillos furano y/o pirano induzca la formación de estructuras tipo giro cuando los glicosaminoácidos se incorporan al esqueleto peptídico lineal o cíclico. Además, la presencia de grupos funcionales amino y carboxílico les otorga una especial relevancia en la construcción de matrices peptidomiméticas.

[795] a) Chakraborty, T. K.; Srinivasu, P.; Tapadar, S.; Mohan, B. K. *Glycoconjugate J.* **2005**, *22*, 83-93. b) Chakraborty, T. K.; Ghosh, S.; Jayaprakash, S. *Curr. Med. Chem.* **2002**, *9*, 421-435.
[796] a) Suhara, Y.; Yamaguchi, Y.; Collins, B.; Schnaar, R.; Yanagishita, M.; Hildreth, J. E. K.; Shimada, I.; Ichikawa, Y. *Bioorg. Med. Chem.* **2002**, *10*, 1999-2013. b) Brittain, D. E. A.; Watterson, M. P.; Claridge, T. D. W.; Smith, M. D.; Fleet, G. W. J. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **2000**, *21*, 3666-3679.
[797] Se denominan **isósteros** a todas aquellas moleculas o iones con el mismo número de átomos y/o el mismo número de electrones de valencia.
[798] a) El Oualid, F.; Bruining, L.; Leroy, I. M.; Cohen, L. H.; van Boom, J. H.; van der Marel, G. A.; Overkleeft, H. S.; Overhand, M. *Helv. Chem. Acta* **2002**, *85*, 3455-3472. b) Gruner, S. A. W.; Kéri, G.; Schwab, R.; Venatianer, A.; Kessler, H. *Org. Lett.* **2001**, *3*, 3723-3725.

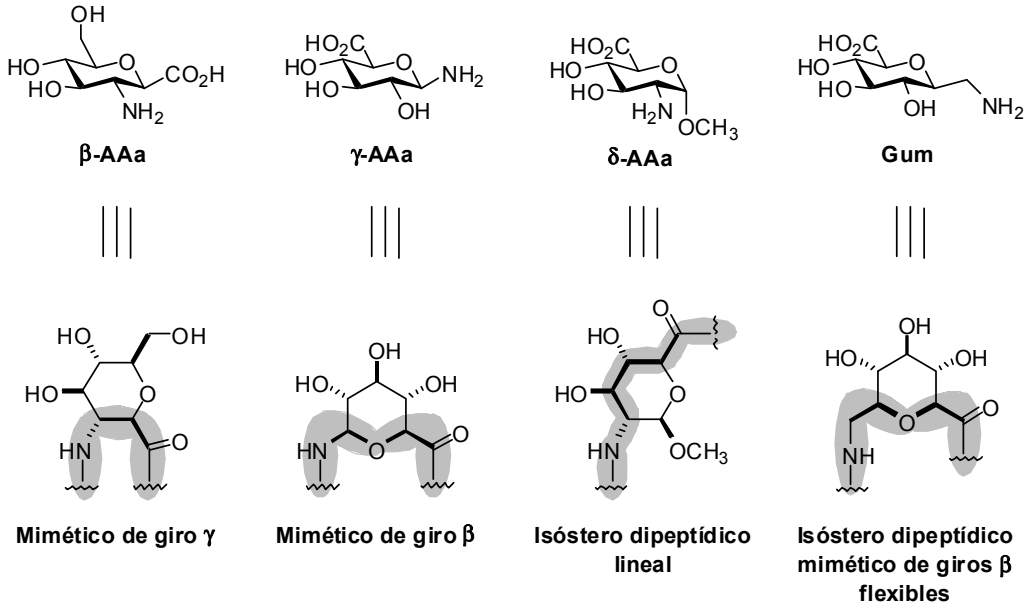


Figura 215. Ejemplos de algunos azucaraminoácidos (AAas) y su utilización estructural. En la parte superior se representan los AAas en su conformación $^4C_1$, mientras que en la parte inferior se muestran sus respectivos papeles estructurales. Así por ejemplo, los β-AAas pueden mimetizar un giro γ cuando se incorporan en un péptido, mientras que los γ-AAas pueden imitar los giros β. Finalmente, hemos de indicar que el δ-AAa Gum se corresponde con un ácido C-glicosilglucurónico [Gum: metilamina del ácido glucurónico].

La información resultante de la influencia conformacional de los azucaraminoácidos en los péptidos puede ser empleada para llevar a cabo la construcción de secuencias biológicamente activas, con giros inducidos por AAas o diferentes constricciones.

23.1. SOPORTES GLICOSAMINOACÍDICOS

Los glicosaminoácidos se comportan como ideales soportes peptidomiméticos, ya que pueden funcionar como farmacóforos estructurales dependiendo de sus sustituyentes, así como de sus grupos funcionales amino y carboxilo.[799] Hemos de destacar los esfuerzos realizados por el grupo de investigación de Smith en el diseño de un inhibidor de la ribonucleótido reductasa de mamífero [mRR (*mammalian ribonucleotide reductase*)] basado en la conformación del heptapéptido N-Ac-FTLDADF, empleando para ello un esqueleto AAa piranoide (Figura 216) que permite imitar un giro β presente en el precursor peptídico.[800] El mimético tetrahidropirano resultante inhibe mRR, aunque con valores considerablemente inferiores a los del heptapéptido N-Ac-FTLDADF (K_i ~ 400-500 μM para el inhibidor basado en AAas *vs* K_i ~ 15-20 μM para el heptapéptido).

[799] Graf von Roedern, E.; Kessler, H. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 667-669.
[800] Smith, A. B., III; Sasho, S.; Barwis, B. A.; Sprengeler, P.; Barbosa, J.; Hirschmann, R.; Cooperman, B. S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, *8*, 3133-3136.

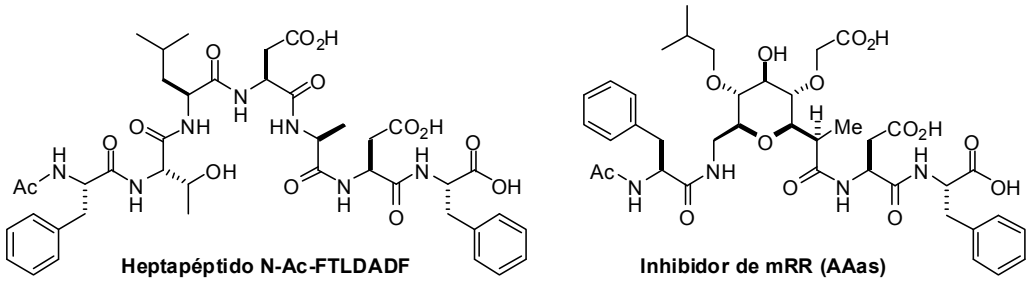


Figura 216. Estructura de un inhibidor de ribonucleótido reductasa de mamífero (mRR) basado en AAas, en el que se observa como el azucaraminoácido piranoide permite mimetizar un giro β presente en la estructura del heptapéptido precursor N-Ac-FTLDADF.

23.2. MIMÉTICOS DE CARBOHIDRATOS

Los AAas también se emplean frecuentemente como análogos de bloques de construcción de biopolímeros, pudiendo imitar así las estructuras oligo- y polisacáridas a través de la formación de enlaces amida.[801] Cabe destacar que el ensamblaje de las bibliotecas de polisacáridos sintéticos en disolución o en fase sólida es extremadamente complicado, incluso a pesar de los progresos recientes realizados empleando técnicas químicas y enzimáticas.[802] Considerando la química bien establecida de muchos péptidos, numerosos grupos de investigación han podido llevar a cabo la preparación de homooligómeros de AAas y secuencias híbridas que contienen aminoácidos naturales (Aas), carbohidratos y AAas. Los oligómeros resultantes representan candidatos útiles para drogas, ya que pueden superar los problemas asociados con oligosacáridos y bibliotecas de péptidos, tales como la susceptibilidad hacia glicosidasas debido a la alteración del esqueleto peptídico, y la resistencia a muchas proteasas como consecuencia de su parecido con los carbohidratos.

23.2.1. OLIGÓMEROS LINEALES

Los oligómeros lineales de AAas han surgido como una alternativa eficaz para la construcción de módulos artificiales con funciones específicas.[794b,] Dichos oligómeros pueden sintetizarse tanto en disolución como en fase sólida, ofreciendo una manera sencilla de construir miméticos de oligosacáridos[803] y oligonucleótidos (comúnmente denominados como GNAs)[804] a través de uniones de tipo enlace amida. Dentro de estos, destacan especialmente los oligómeros sulfatados sintetizados por el grupo de investigación de Ichikawa,[805] los cuales

[801] a) Kirshenbaum, K.; Zuckermann, R. N.; Dill, K. A. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **1999**, *9*, 530-535. b) Soth, M. J.; Nowick, J. S. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **1997**, *1*, 120-129.
[802] a) Seeberger, P. H. *Solid support oligosaccharide synthesis and combinatorial carbohydrate libraries*; Wiley: New York (Estados Unidos), **2001**. b) Seeberger, P. H.; Haase, W.-C. *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 4349-4394.
[803] Nicolaou, K. C.; Flörke, H.; Egan, M. G.; Barth, T.; Estévez, V. A. *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 1775-1778.
[804] a) Goodnow, R. A. J.; Tam, S.; Pruess, D. L.; McComas, W. W. *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 3199-3202. b) Goodnow, R. A. J.; Richou, A.-R.; Tam, S. *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 3195-3198.
[805] a) Suhara, Y.; Ichikawa, M.; Hildreth, J. E. K.; Ichikawa, Y. *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 2549-2552. b) Suhara, Y.; Hildreth, J. E. K.; Ichikawa, Y. *Tetrahedron Lett.***1996**, *37*, 1575-1578.

pueden imitar y reemplazar de manera eficiente los polisacáridos sulfatados naturales (tales como sulfato de dextrano y heparina),[806] superando así la pobre absorción, inestabilidad y actividad anticoagulante que presentan sus precursores (Figura 217).

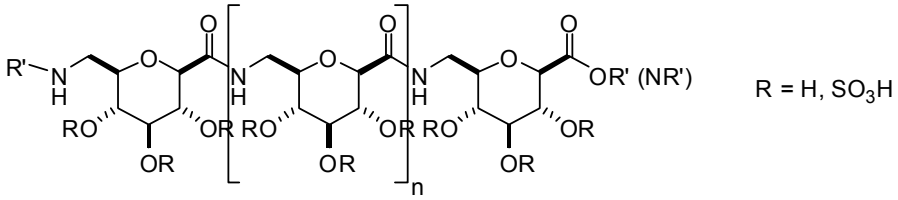


Figura 217. Estructura general de un oligómero lineal empleado como mimético de polisacáridos sulfatados.

23.2.2. OLIGÓMEROS CÍCLICOS

Los compuestos cíclicos que contienen AAas pueden ser utilizados para lograr la modificación de ciclopéptidos cíclicos, proporcionando así una matriz adecuada para proteínas sintéticas ensambladas mediante plantilla [TASPs (*template-assembled synthetic proteins*).[807,808] El empleo de anillos de azúcar presenta claras ventajas sobre el uso de aminoácidos convencionales, incluyendo hidrofilicidad e introducción de lipofilicidad mediante la incorporación de AAas protegidos.[794b]. Hemos de señalar que la manera más fácil de presentar grupos funcionales para la unión de elementos miméticos de proteínas es el uso de aminoácidos convencionales. Con el fin de explorar el diseño, síntesis y conformación de los correspondientes sistemas anulares, el grupo de investigación de Kessler ha llevado a cabo la construcción de una nueva colección de oligómeros cíclicos constituidos por la alternancia de AAas (normalmente Gum) y un *L*- o *D*-aminoácido (Gly, Ala, Phe, Lys) (Figura 218). Así por ejemplo, se ha podido observar como los anillos tetraméricos podían imitar el comportamiento estructural de ciclohexapéptidos análogos.[809,810] Recientemente, también se ha demostrado la

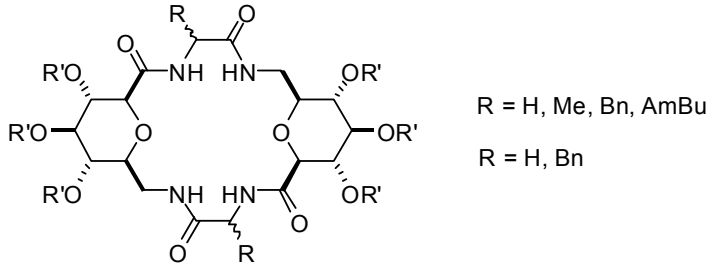


Figura 218. Estructura general de oligómero cíclicos constituidos por AAas, los cuales pueden emplearse como receptores moleculares.

[806] El sulfato de dextrano y la heparina son bien conocidos inhibidores de VIH.
[807] a) Tuchscherer, G.; Grell, D.; Mathieu, M.; Mutter. M. *J. Peptide Res.* **1999**, *54*, 185-194. b) Tuchscherer, G. *Tedrahedron Lett.* **1993**, *34*, 8419-8422.
[808] La modificación del esqueleto o de las cadenas laterales de agentes ciclopeptídicos mediante la incorporación de AAAs permiten incrementar la actividad farmacológica.
[809] Stöckle, M.; Voll, G.; Günther, R.; Lohof, E.; Locardi, E.; Gruner, S.; Kessler, H. *Org. Lett.* **2002**, *4*, 2501-2504.
[810] van Well, R. M.; Overkleeft, H. S.; Overhand, M.; Vang Carstenen, E.; van der Marel, G. A.; van Boom, J. H. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 9331-9335.

utilización de homooligómeros cíclicos de AAas como novedosos receptores artificiales de tipo ciclodextrina.[811] Esta idea se basa en la suposición de que las unidades cíclicas constituidas por restos de carbohidratos y grupos funcionales aminoacídicos deben conducir a sistemas que presentan una gran especificidad de reconocimiento y catálisis. De este modo, los oligómeros cíclicos que contienen AAas en su estructura se caracterizan por ser moléculas altamente potenciales en química de reconocimiento molecular anfitrión-huesped (host-guest).[794b]

23.3. PEPTIDOMIMÉTICOS BASADOS EN CARBOHIDRATOS

23.3.1. MIMÉTICOS DE GIROS

Los AAas pueden adoptar estructuras secundarias helicoidales o giros robustos, pudiendo así actuar como miméticos de hélices o láminas β (Figura 215).[796] Adicionalmente, se emplean como sustitutos para aminoácidos sencillos o como isópteros dipeptídicos. Cabe indicar que si se utilizan en el reemplazo de residuos hidrofóbicos, los azúcares pueden ser también funcionalizados con cadenas laterales hidrofóbicas (como por ejemplo, Bn). Sin embargo, si se reemplazan por residuos hidrofílicos o si fuese necesario aumentar la solubilidad, los grupos hidroxilo de los azúcares deberían estar desprotegidos o funcionalizados con residuos hidrofílicos. Teniendo en cuenta estas consideraciones, el grupo de Kessler llevó a cabo el estudio de la influencia conformacional que ejercen un gran número de AAas en diferentes modelos peptídicos, así como en péptidos activos biológicamente.[794b,812] Así, pudieron establecer que las estructuras secundarias resultantes (giros o hélices) son inducidas y estabilizadas fundamentalmente por el efecto que genera la incorporación del AAa en el esqueleto peptídico.

23.3.2. PÉPTIDOS ACTIVOS BIOLÓGICAMENTE

En las últimas décadas, numerosos grupos de investigación han centrado su atención en la síntesis y evaluación conformacional y/o biológica relativa a péptidos bioactivos. De esta forma, se pudo observar como los AAas se emplean como miméticos de giros y restricciones locales, pero también para incrementar farmacocinéticas,[813] introducir marcadores radioactivos para imagen[814] o llevar a cabo la glicosilación de un péptido.[815] Hemos de señalar que los receptores de opioides, integrinas y somatostatina han sido algunos de los objetivos farmacológicamente más investigados. En este sentido, cabe destacar los trabajos realizados por el grupo de investigación de Kessler en el diseño y preparación de una gran variedad de análogos de somatostatina, los cuales están originariamente basados en la secuencia

[811] Locardi, E.; Stöckle, M.; Gruner, S.; Kessler, H. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 8189-8196.
[812] Lohof, E.; Planker, E.; Mang, C.; Burkart, F.; Dechantsreiter, M. A.; Haubner, R.; Wester, H.-J.; Schwaiger, M.; Hözemann,G.; Goodman, S. L.; Kessler, H. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **2000**, *39*, 2761-2764.
[813] Haubner, R.; Wester, H.-J.; Burkhart, F.; Senekowitsch-Schmidtke, R.; Goodman, S. L.; Kessler, H.; Schwaiger, M. *J.Nucl. Med.* **2001**, *42*, 326-336.
[814] Haubner, R.; Wester, H.-J.; Weber, W. A.; Mang, C.; Ziegler, S. I.; Goodman, S. L.; Senekowitsch-Schmidtke, R.; Kessler, H.; Schwaiger, M. *Cancer Res.* **2001**, *61*, 1781-1785.
[815] Drouillat, B.; Kellam, B.; Dekany, G.; Starr, M. S.; Toth, I. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1997**, *7*, 2247-2250.

ciclo[(AAa)-*L*-Phe-*D*-Trp-*L*-Lys-*L*-Thr-].[798b,799,816] De este modo, pudieron demostrar la inhibición de la liberación de la hormona de crecimiento [GH (*growth hormone*)], como consecuencia de la actividad antiproliferativa y apoptótica que presentan. Posteriormente, han podido observar como ciertos AAas conteniendo análogos de somatoestatina cíclicos exhiben actividades similares frente a carcinomas hepatoma resistentes a multidrogas.[798b] Este hallazgo resulta especialmente interesante, sobre todo si consideramos que la resistencia a la quimioterapia ha llegado a ser un enorme problema en terapia de cáncer.

23.4. NANOTUBOS CICLOGLICOSAMINOPEPTÍDICOS

Durante los últimos años, numerosos grupos de investigación han estado trabajando activamente en la introducción de AAas en estructuras nanotubulares ciclopeptídicas.[817] Hemos de destacar los trabajos realizados por el grupo de investigación de Kimura, los cuales se basan en la utilización de ciclopéptidos autoensamblantes constituidos por β-AAas (Figura 219).[818,819] Dichas unidades cíclicas se autoensamblan en forma de agregados moleculares en forma de columna (*columnares*), dando lugar así a una nueva familia de nanotubos peptídicos. Estudios posteriores permitieron mostrar tanto la síntesis y conformación de novedosos tri-β-péptidos cíclicos solubles en agua constituidos por unidades azúcar, como la construcción de un doble ensamblaje compuesto por lectinas[820] y el ensamblaje columnar del tri-β-péptido cíclico.[821] De esta forma, los ensamblajes ciclopeptídicos son cubiertos por las lectinas, debido a la asociación específica que presentan dichas proteínas con la superficie de la nanoestructura tubular. Como resultado de esta asociación, se pueden obtener nanotubos proteicos con un diámetro de pocos nanómetros de longitud, los cuales deben de presentar numerosas aplicaciones.

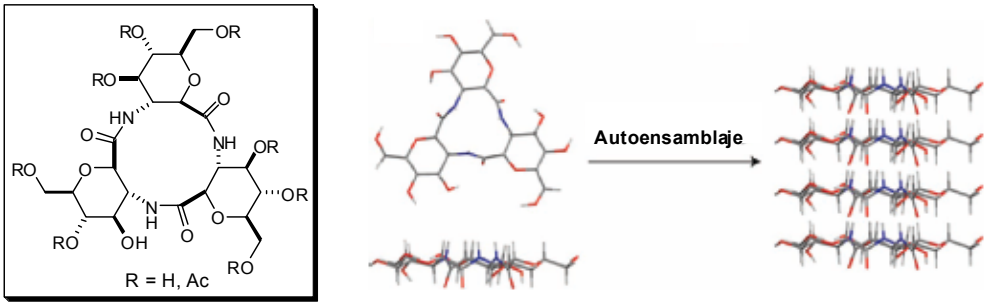


Figura 219. Nanotubos ciclo-tri-β-peptídicos constituidos por β-AAas.

[816] Graf von Roedern, E.; Lohof, E.; Hessler, G.; Hoffmann, M.; Kessler, H. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 10156-10167.
[817] a) Chapman, R.; Danial, M.; Koh, M. L.; Jolliffe, K. A.; Perrier, S. *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41*, 6023-6041. b) Jagannadh, B.; Reddy, M. S.; Rao, C. L.; Prabhakar, A.; Jagadeesh, B.; Chandrasekharl, S. *Chem. Commun.* **2006**, *46*, 4847-4849.
[818] a) Fujimura, F.; Hirata, T.; Morita, T.; Kimura, S.; Horikawa, Y.; Sugiyama, J. *Biomacromolecules*, **2006**, *7*, 2394-2400.
[819] Para ciclohexa-β-péptidos constituidos por ácido β-glucosamino, ver: a) Hirata, T.; Fujimura, F.; Kimura, S. *Chem. Commun.* **2007**, *10*, 1023-1025. b) Hirata, T.; Fujimura, F.; Horikawa, Y.; Sugiyama, J.; Morita, T.; Kimura, S. *Biopolymers*. **2007**, *88*, 150-156.
[820] Las lectinas son proteínas bien conocidas por unirse específicamente a azúcares. La afinidad será mayor cuando los azúcares formen agregados (*clusters*).
[821] Fujimura, F.; Horikawa, Y.; Morita, T.; Sugiyama, J.; Kimura, S. *Biomacromolecules* **2007**, 8, 611-616.

La incorporación de los β-AAas en la secuencia ciclopeptídica permite modular las características y propiedades de la superficie externa del nanotubo resultante, pero no admite la funcionalización de su cavidad interna. Es por ello que durante los últimos años se han realizado numerosos esfuerzos en la construcción de unidades cíclicas que contengan novedosos residuos γ-AAas. Hemos de mencionar los trabajos realizados por nuestro grupo de investigación hacia la incorporación de unidades fundamentales γ-glicosaminoacídicas en la secuencia ciclopeptídica, los cuales permiten el autoensamblaje eficaz en forma de estructuras diméricas (Figura 220).[822] Para ello, se preparó inicialmente un nuevo γ-azucaraminoácido cíclico [ácido 4-amino-3-hidroxitetrahidrofurano-2-carboxílico (γ-Ahf)] con grupos protectores apropiados para su utilización en métodos sintéticos tanto en disolución como en fase sólida. Cabe resaltar que la introducción de dicho γ-AAa en la secuencia peptídica dio lugar a la formación de los correspondientes dímeros, en los que tanto las propiedades de las cavidades internas como la estructura dimérica son moduladas por el grupo hidroxilo del γ-Ahf. Este grupo hidroxilo — como consecuencia fundamental de la conformación plana que adopta la unidad cíclica y de la orientación ecuatorial que presenta — se dispone hacia el interior de la nanoestructura supramolecular, dirigiendo así el proceso de autoensamblaje molecular. De este modo, esta funcionalización ciclopeptídica debe permitir la preparación de nanotubos con gran selectividad como canales iónicos, catalizadores, receptores y contenedores moleculares.

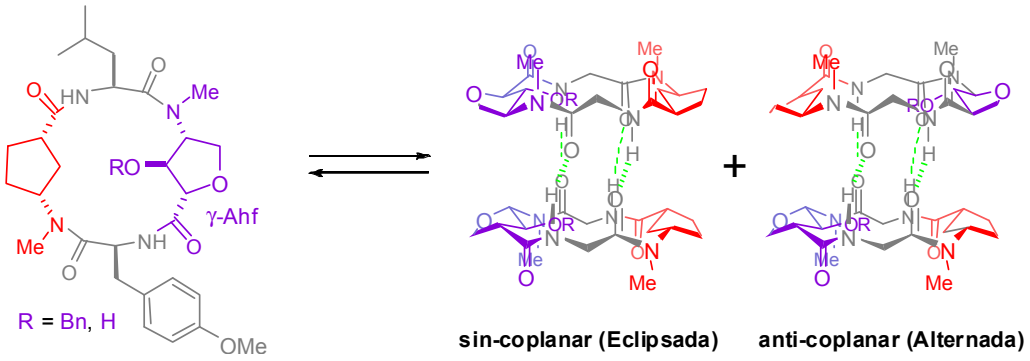


Figura 220. Estructuras homodiméricas resultantes del autoensamblaje de α,γ-ciclotetrapéptidos constituidos por γ-Ahf. Dicho γ-azucaraminoácido permite tanto la funcionalización de la superficie externa como de la cavidad interna (a través del grupo hidroxilo que apunta hacia el interior de la nanoestructura).

Los glicosaminoácidos están emergiendo rápidamente como una importante clase de matrices moleculares multifuncionales que pueden dar lugar a una amplia gama de aplicaciones. Además de ser empleados en sistemas peptidomiméticos como plantillas rígidas capaces de inducir estructuras secundarias en péptidos, los diversos grupos funcionales que presentan cada uno de estos glicosaminoderivados — especialmente sus extremos amino y carboxilo — son claramente responsables de su utilización como adaptadores para métodos sintéticos en fase sólida que ofrezcan posibilidades de generar bibliotecas de moléculas polifacéticas que puedan emular diversidades de biopolímeros. Adicionalmente, se espera que la preparación de oligómeros cíclicos — los cuales pueden ser moldeados para construir cavidades predispuestas de dimensiones precisas — proporcione herramientas útiles como

[822] Reiriz, C.; Amorín, M.; García-Fandiño, R.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Org. Biomol. Chem.* **2009**, *7*, 4358-4361.

nuevos receptores sintéticos para estudiar el reconocimiento molecular de diversos procesos. Cabe destacar que las propiedades no proteinogénicas de los AAas conllevará la preparación de compuestos fisiológicamente más estables. La utilización óptima de las diversidades moleculares de los glicosaminoácidos, así como la eficiencia y velocidad de la química en fase sólida, debe conducir al desarrollo de cada vez más moléculas bioactivas. Del mismo modo, la incorporación de AAas en secuencias α,γ-ciclopeptídicas debe modificar las características de la cavidad interna y de la superficie externa de las correspondientes nanoestructuras, las cuales pueden presentar potenciales aplicaciones, como puede ser el transporte selectivo de iones o el desarrollo de novedosos dispositivos de reconocimiento molecular.

24. α,γ(AgI)-CICLOPÉPTIDOS

Tal y como hemos mencionado con anterioridad, durante los últimos años han sido preparados una gran variedad de aminoazúcares (AAas) con el objetivo de construir miméticos de oligosacáridos que presenten aplicaciones potenciales en diseño de drogas.[794b,823 824] Dentro de ellos, resulta particularmente interesante el glicoderivado ácido 1-aminoglucurónico (γ-AgI). Aunque el γ-AgI ha sido utilizado anteriormente en el diseño de giros β,[825] prevemos que la introducción de este aminoácido en una secuencia α,γ-ciclopeptídica debería ayudar a adoptar la conformación plana necesaria para la interacción de tipo lámina β (Figura 221). Además, el oxígeno hemiaminal de este residuo se proyectaría hacia el interior del ensamblaje

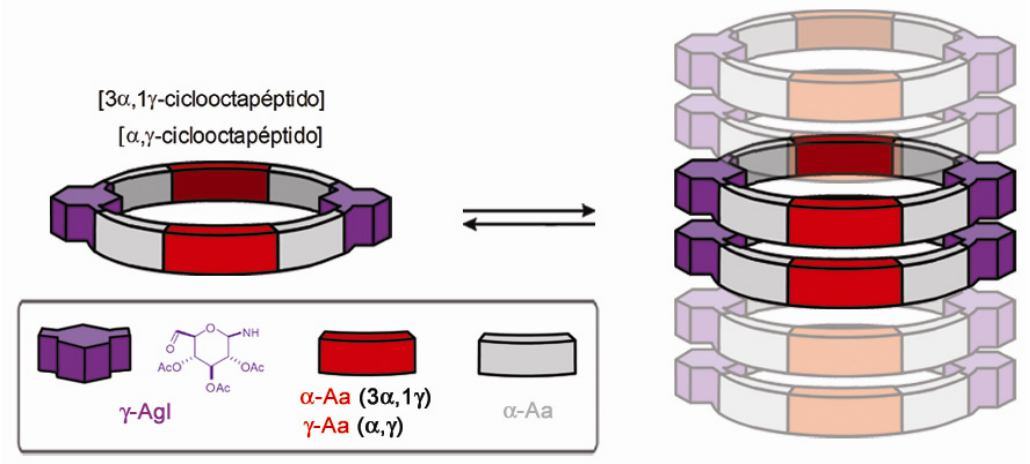


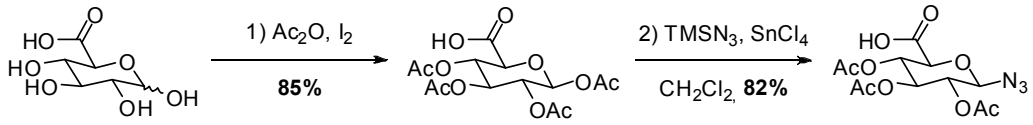
Figura 221. Modelo propuesto para el autoensamblaje de diferentes ciclooctapéptidos constituidos por unidades γ-AgI. La introducción del azucaraminoácido γ-AgI en secuencias ciclopeptídicas que presentan distintos motivos estructurales (unidades 3α,1γ- y/o α,γ-cíclicas) debe permitir la funcionalización de las cavidades internas de las nanoestructuras supramolecualres resultantes.

[823] a) Risseeuw, M. D. P.; Overhand, M.; Fleet, G. W. J.; Simone, M. I. *Tetrahedron: Assymetry* **2007**, *18*, 2001-2010. b) Schweizer, F. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 230-253.
[824] a) Jimenez-Blanco, J. L.; Ortega-Caballero, F.; Ortiz-Mellet, C.; García-Fernández, J. M. *Beilstein J. Org. Chem.* **2010**, *6*, 1-18. b) Gruner, S. A. W.; Truffault, V.; Voll, G.; Locardi, E.; Stöckle, M.; Kessler, H. *Chem. Eur. J.* **2002**, *8*, 4365-4376. c) Smith, M. D.; Fleet, G. W. J. *J. Pept. Sci.* **1999**, *5*, 425-441; d) Chakraborty, T. K.; Srinivasu, P.; Tapadar, S.; Mohan, B. K. *Glycoconjugate J.* **2005**, *22*, 83-93.
[825] von Roedern, E. G.; Lohof, E.; Hessler, G.; Hoffmann, M.; Kessler, H. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 10156-10167.

nanotubular, modificando así las propiedades de la cavidad interna, mientras que los grupos hidroxilo en C2, C3 y C4 — en este caso particular denominados como C_δ, C_ε y C_ϕ respectivamente — se orientarían hacia la superficie exterior del nanotubo. De esta forma, el aminoácido γ-Agl nos permitiría aumentar la solubilidad del ciclopéptido resultante, así como diseñar nuevas estructuras nanotubulares que presenten aplicaciones extremadamente relevantes (Figura 221).[826]

24.1. SÍNTESIS DE PRECURSORES DEL ÁCIDO 1-AMINO-GLUCURÓNICO (γ-Agl)

Teniendo en cuenta las consideraciones previas, decidimos llevar a cabo en primer lugar la preparación de distintos precursores de γ-Agl, los cuales nos permitirían acceder al desarrollo de una nueva colección de γ-aminoácidos. Así, nos planteamos inicialmente la síntesis del ácido 2,3,4-tri-*O*-acetil-1-azido-1-desoxi-β-*D*-glucopiranurónico [*D*-N_3-γ-Agl-OH, (**98**)][827] a partir del ácido *D*-glucurónico (**99**) mediante un proceso que consta de dos etapas (Esquema 28).[826a,828] El primer paso de la síntesis consistió en la protección de los grupos hidroxilo del carbohidrato **99** por tratamiento con anhídrido acético en presencia de I_2, dando lugar al correspondiente ácido 2,3,4-tri-*O*-acetil-1-azido-1-desoxi-β-*D*-glucopiranurónico (**100**) con un rendimiento del 85%. Cabe resaltar que las condiciones experimentales empleadas generaron exclusivamente el glicosaminoácido que presenta una configuración β en su carbono anomérico (anómero β). Posteriormente, el derivado completamente *O*-acetilado **100** se hizo reaccionar con trimetilsililazida en presencia de tetracloruro de estaño, obteniéndose el ácido 1-azidotriacetil-β-*D*-glucurónico **98** con un rendimiento del 82%. Hemos de indicar que la introducción de la funcionalidad azida se realiza sin inversión de configuración, lo que implica que se mantiene el carbono anomérico β. Dicha configuración es necesaria para obtener el isómero apropiado de γ-Agl, el cual — tras su posterior incorporación al esqueleto ciclopeptídico —debe permitir la adopción de la conformación plana necesaria para lograr el autoensamblaje eficiente de los nanotubos.



Esquema 28. Síntesis del ácido 2,3,4-tri-*O*-acetil-1-azido-1-desoxi-β-*D*-glucopiranurónico [*D*-N_3-γ-Agl-OH, (**98**)] a partir de ácido *D*-glucurónico (**99**).

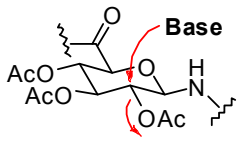
Una vez sintetizado el azucaraminoácido *D*-N_3-γ-Agl-OH (**98**), se procedió a su incorporación en la secuencia α,γ-ciclopeptídica.

[826] a) Malkinson, J. P.; Falconer, R. A.; Toth, I. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 5249–5252. b) Györgydeák, Z.; Thiem, J. *Carbohydr. Res.* **1995**, *268*, 85-92.
[827] Denominado habitualmente como ácido 1-azidotriacetil-β-*D*-glucurónico.
[828] Kellam, B.; Drouillat, B.; Dekany, G.; Starr, M. S.; Toth, I. *Int. J. Pharm.* **1998**, *161*, 55-64.

24.2. SÍNTESIS DE α,γ(AgI)-CICLOPÉPTIDOS

24.2.1. 3α,1γ(AgI)-CICLOOCTAPÉPTIDOS

Nuestro primer objetivo fue llevar a cabo la preparación de nanoestructuras diméricas basadas en motivos estructurales α,γ-ciclooctapeptídicos constituidos por unidades glicosaminoacídicas de γ-AgI (Figura 221). Para ello, se llevó a cabo la síntesis de *ciclo*{[*L*-Ser(Bn)-*D*-^{Me}N-Ala-*D*-γ-AgI-*D*-^{Me}N-Ala]$_2$-} (**101**), empleando una estrategia similar a la descrita para los ciclopéptidos anteriores (Esquema 7 y 8). Desafortunadamente, la utilización de la metodología sintética Boc/Fm empleada previamente no condujo a los resultados esperados, obteniéndose mezclas complejas de innumerables epímeros arrastrados a lo largo de la síntesis peptídica. Este hecho es consecuencia fundamental de la eliminación de un grupo acetilo observada bajo condiciones de hidrólisis utilizadas con los grupos protectores usados con anterioridad (fluorenilmetilo, metilo,…) (Esquema 29). Este hallazgo propició el

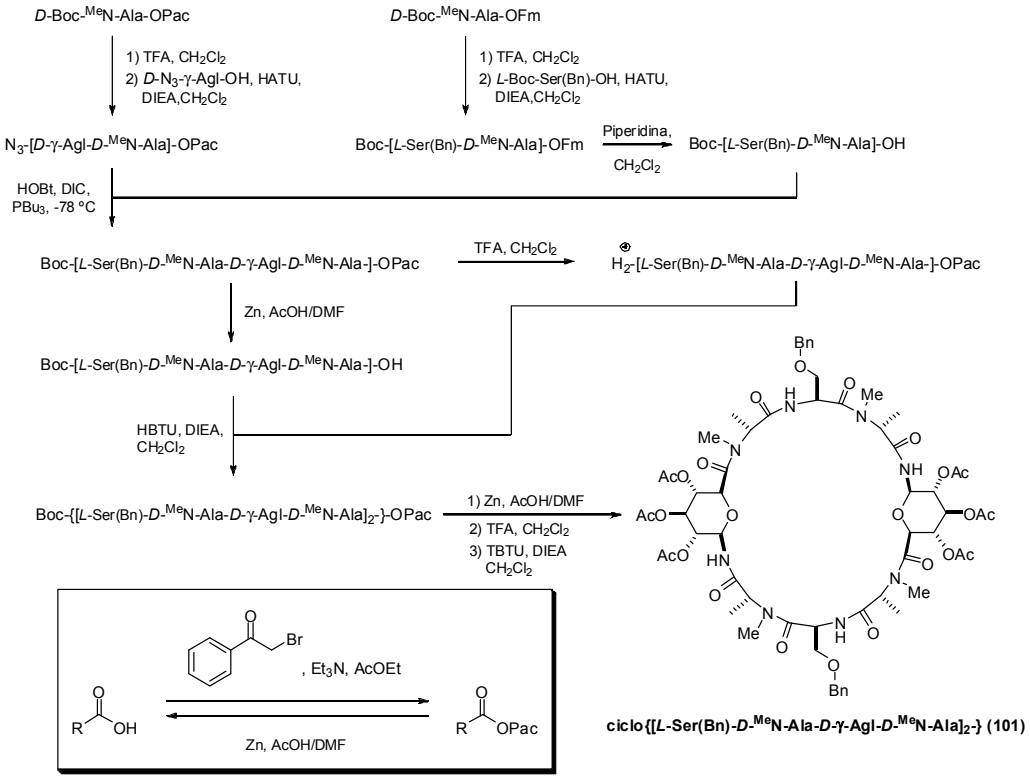


Desacetilación

Esquema 29. Eliminación de un grupo acetilo del derivado γ-AgI por tratamiento con medio básico.

empleo del grupo fenacilo (Pac) para lograr la protección del extremo C-terminal (Esquema 30). Cabe resaltar que la etapa clave de nuestra ruta sintética fue la obtención del tetrapéptido Boc-[*L*-Ser(Bn)-*D*-^{Me}N-Ala-*D*-γ-AgI-*D*-^{Me}N-Ala-]-OPac mediante una ligación de Staudinger[829,830] entre los dipéptidos N_3-[*D*-*g*-AgI-*D*-^{Me}N-Ala]-OPac (azidoderivado glicosaminoacídico) y Boc-[*L*-Ser(Bn)-*D*-MeN-Ala]-OH (carboxilderivado) (Esquema 30).[826a,831] Lógicamente, para prevenir la isomerización *cis/trans* del intermedio hemiaminal resultante de la reducción con la fosfina, es necesario atrapar *in situ* el hemiaminal resultante con el ester activo del carboxilderivado.[826a,830] El estudio exhaustivo de diferentes condiciones de reacción empleando varios agentes reductores (PMe_3, PPH_3, PBu_3), agentes de acoplamiento (HOBt/DIC, HATU, HBTU) y temperaturas (-78 ºC, -50º C, 0ºC, t.a.), permitió llevar a cabo la optimización de la reacción de acoplamiento. Así, se observó como la utilización de HOBt/DIC en presencia de PBu_3 daba lugar a la formación del correspondiente derivado tetrapeptídico con rendimientos adecuados (82%). De este modo, siguiendo la metodología sintética Boc/Pac planteada, se pudo preparar finalmente el 3α,1γ(AgI)-ciclooctapéptido **101**, partiendo para ello de los aminoácidos previamente sintetizados *D*-N_3-γ-AgI-OH (**98**) y Boc-*D*-^{Me}N-Ala-OPac. Es de destacar los buenos rendimientos (44%) obtenidos en la etapa de ciclación, la cual resultó ser especialmente rápida, a pesar de que estábamos formando un macrociclo de 28 miembros.

[829] Para reacción de Staudinger, ver: Staudinger, H.; Meyer, J. *Helv. Chim. Acta* **1919**,2, 635-646.
[830] Para ligación de Staudinger, ver: Saxon, E.; Bertozzi, C. R. *Science* **2000**, *287*,2007-2010.
[831] a) Temelkooff, D. P.; Smith, C. R.; Kibler, D. A.; McKee, S.; Duncan, S. J.; Zeller, M.; Hunsen, M.; Norris, P. *Carbohydr. Res.* **2006**, *341*, 1645–1656. b) Knauer, S.; Kranke, B.; Krause, L.; Kunz, H. *Curr. Org. Chem.* **2004**, *8*, 1739-1761.



Esquema 30. Estrategia sintética empleada para la preparación del 3α,1γ(Agl)-ciclooctapéptido *ciclo*{[*L*-Ser(Bn)-*D*-^{Me}N-Ala-*D*-γ-Agl-*D*-^{Me}N-Ala]$_2$-} (**101**). De forma resaltada se muestran las condiciones necesarias para la protección/desprotección de ácidos carboxílicos con fenacilo (Pac).

El 3α,1γ(Agl)-ciclooctapéptido **101** presenta un eje de simetría C_2, pero las características estructurales que le otorga el motivo 3α,1γ provocarían que solo tuviese lugar la formación — mediante el establecimiento de las correspondientes interacciones a través de la cara α,γ — de la correspondiente estructura dimérica $\mathbf{D_{101}}$. Este dímero se caracterizaría por no disponer los α-aminoácidos N-metilados uno frente a otro, pero si lo harían los residuos no metilados [^{Me}Ala$_1$/^{Me}Ala$_2$, ^{Me}Ala$_2$/^{Me}Ala$_1$, γ-Agl/γ-Agl y Ser(Bn)/Ser(Bn)] (Figura 222).

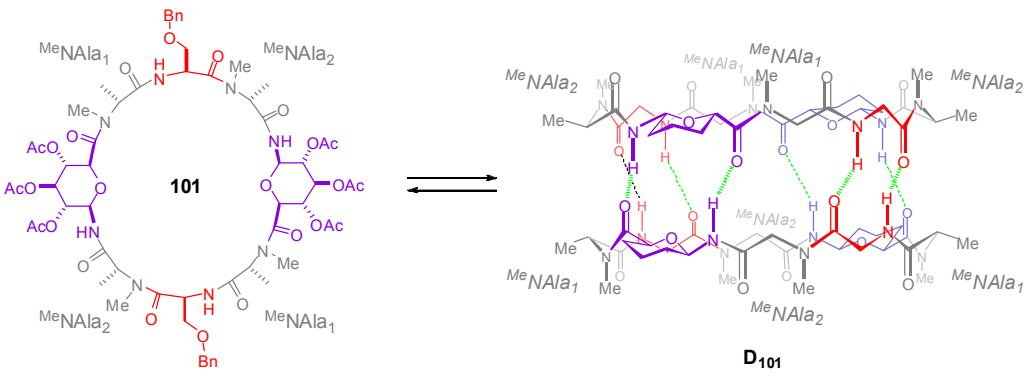


Figura 222. Modelo del proceso de autoensamblaje dimérico propuesto para el 3α,1γ(Agl)-ciclooctapéptido **101** (las cadenas laterales de Ser y los grupos OAc de γ-Agl han sido omitidos en el dímero para su mejor visualización).

Los estudios de ^{1}H RMN del ciclooctapéptido **101** en $CDCl_3$ a 298 K mostraron un espectro mucho más complejo de lo esperado (Figura 223).[832] Cabe destacar que las dos funcionalidades amida (NH_{Agl} y NH_{Ser}) se encuentran ligeramente desapantalladas y a similar campo magnético (en forma de señales anchas), no apreciándose diferencias considerables entre ellos. Este hecho puede ser debido a la presencia de una estructura completamente diferente a la del dímero esperado **D_{101}**. Probablemente, en condiciones polares el anillo

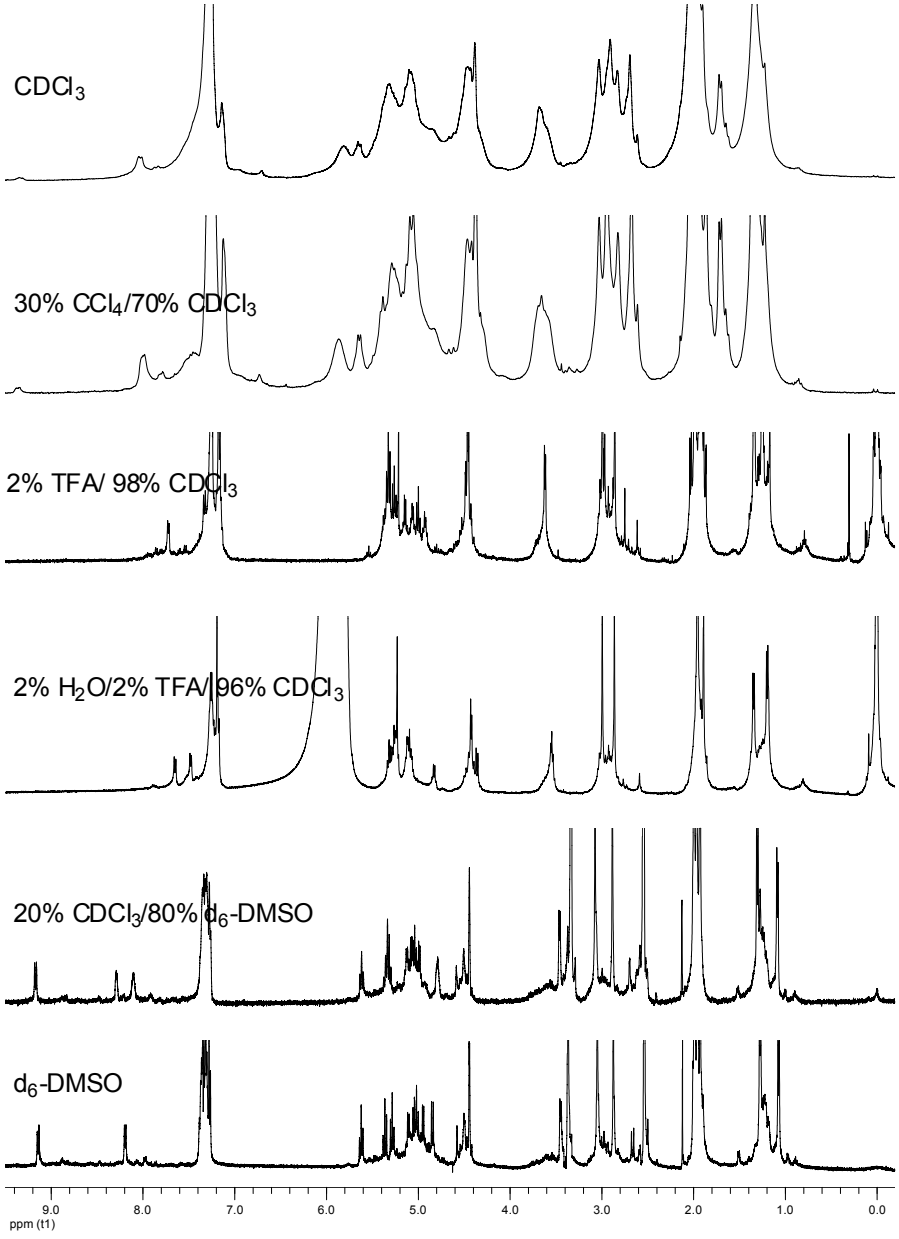


Figura 223. Espectros de ^{1}H RMN del 3α,1γ(Agl)-ciclooctapéptido *ciclo*{[*L*-Ser(Bn)-*D*-^{Me}N-Ala-*D*-γ-Agl-*D*-^{Me}N-Ala]$_2$-} (**101**) en distintos disolventes.

[832] Tal y como habíamos mencionado, el motivo estructural 3α,1γ elegido para el ciclooctapéptido **101** nos hacía presagiar la formación de únicamente una especie homodimérica (**D_{101}**), la cual resulta del autoensamblaje a través de las caras α,γ.

ciclopeptídico se dispone de forma plegada para satisfacer el establecimiento de enlaces de hidrógeno. Adicionalmente, hemos de indicar que la variación de concentración y/o temperatura no condujo a cambios considerables en el espectro; únicamente se pudo observar un ligero desapantallamiento de las señales de NH, así como la aparición de alguna que otra señal nueva, cuando trabajamos a temperaturas inferiores a 225 K (Figura 224). Este hecho puede ser consecuencia del "congelamiento" de un proceso de equilibrio conformacional.

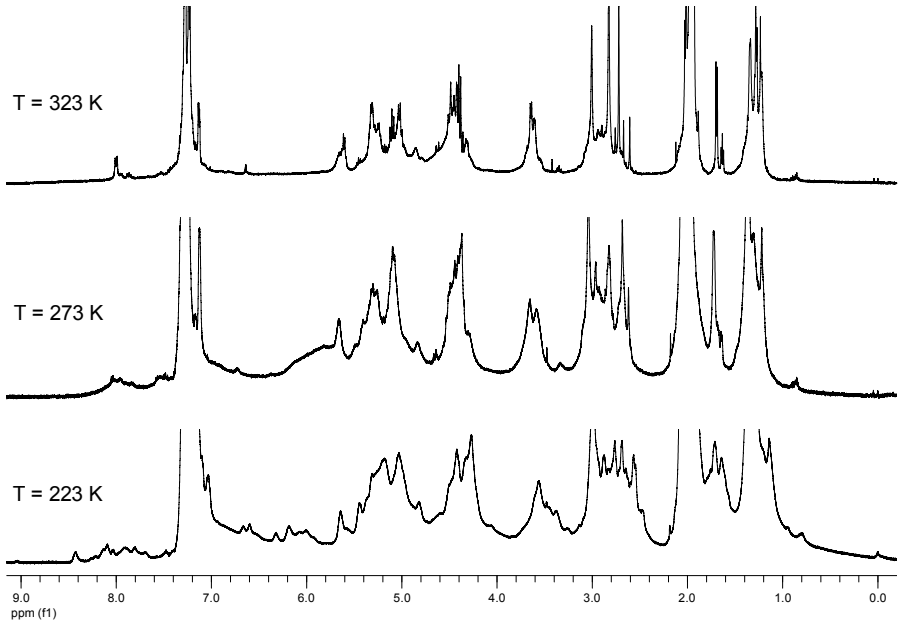


Figura 224. Espectros de ^{1}H RMN de una disolución 28.24 mM del 3α,1γ(AgI)-ciclooctapéptido *ciclo*{[*L*-Ser(Bn)-*D*-^{Me}N-Ala-*D*-γ-AgI-*D*-^{Me}N-Ala]$_2$-} (**101**) en $CDCl_3$ a diferentes temperaturas.

Con el objetivo de buscar unas condiciones adecuadas para la formación de la ansiada estructura dimérica $\mathbf{D_{101}}$, decidimos abordar un estudio exhaustivo de disolventes (Figura 223). Así, la adición inicial de CCl_4 sobre la disolución anterior de **101** en $CDCl_3$ provocó un ligero desapantallamiento en las señales, como consecuencia de la disminución de la polaridad del medio. De nuevo, el espectro resultó ser extremadamente complejo como consecuencia del plegamiento de la secuencia ciclopeptídica (Figura 223). Sorprendentemente, la realización de los espectros en mezclas de TFA (porcentajes inferiores al 2%) y $CDCl_3$ permitió observar un cambio considerable en el espectro, el cual está asociado a un refinamiento en las señales (Figura 223). La adición de pequeños porcentajes de H_2O (2%) contribuye aún más a la apreciación de dichos cambios (Figura 223). Este hecho debe ser consecuencia de la protonación del sistema (en especial del oxígeno hemiaminal) en medio ácido, lo que favorece la resolución espectral. Además, el aumento de definición en las señales de los protones del azúcar nos lleva a deducir que se encuentran en un medio completamente distinto al anterior. Así, se pudo observar que los NH se disponían en torno a 7.70-7.40 ppm, presentando valores de constantes de acoplamiento $J_{NH\ H\alpha}$ superiores a 8.5 Hz, lo que se ajusta a una disposición *trans* del enlace amida, especialmente apropiada para la adopción de la conformación plana necesaria para el proceso de autoensamblaje ciclopeptídico. De este modo, parece ser que

estas condiciones son adecuadas para la obtención de la correspondiente estructura dimérica **D_{101}**. La variación de temperatura de una disolución de 101 en las condiciones previamente optimizadas (2%H_2O/2%TFA en $CDCl_3$) condujo a ciertos cambios apreciables (Figura 225). Así, al descender la temperatura se observa un ligero desapantallamiento de las señales de NH. Desafortunadamente, el calentamiento excesivo de la mezcla de estudio provoca la hidrólisis ácida del ciclopéptido de estudio, dando lugar finalmente a su total descomposición. Finalmente, se llevó a cabo el estudio exhaustivo de los espectros bidimensionales, mostrando la presencia de ciertos cruzamientos que solo podrían darse en plegamientos complejos.

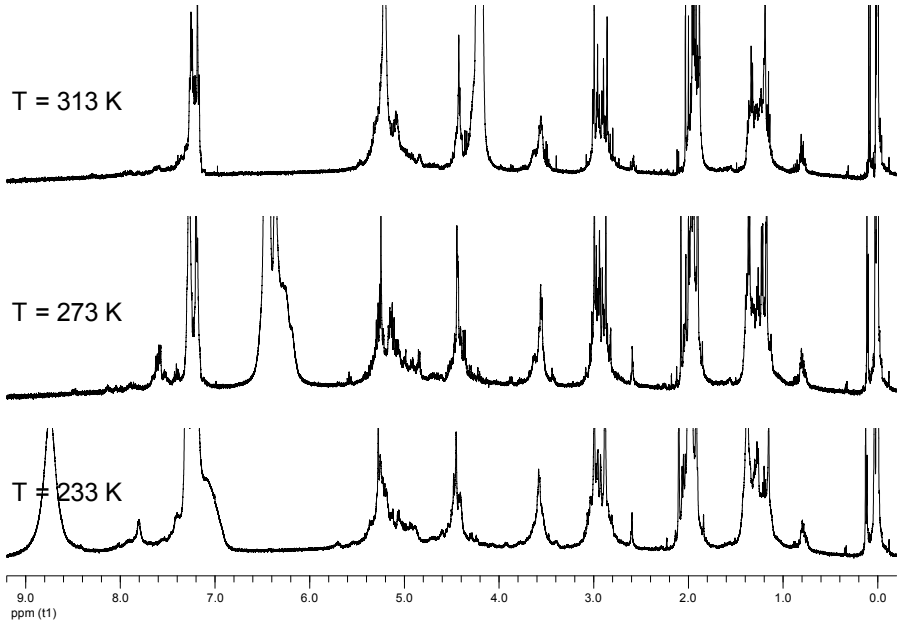


Figura 225. Espectros de ^{1}H RMN de una disolución 18.91 mM del 3α,1γ(AgI)-ciclooctapéptido *ciclo*{[*L*-Ser(Bn)-*D*-^{Me}N-Ala-*D*-γ-AgI-*D*-^{Me}N-Ala]$_2$-} (**101**) en 2% H_2O/2% TFA/96% $CDCl_3$ a diferentes temperaturas.

En disolventes altamente polares — tales como DMSO o mezclas $CDCl_3$/DMSO —, se observa un cambio drástico en la estructura del ciclopéptido, produciéndose un desapantallamiento enorme en las señales de NH, las cuales se desplazan hasta valores superiores a 9.0 (para el caso de NH_{AgI}) y 8.0 (para el caso de NH_{Ser}) ppm (Figura 223). Los estudios bidimensionales adicionales realizados parecen indicar que en d_6-DMSO los ciclopéptidos no forman enlaces de hidrógeno intermoleculares, por lo que las señales de ^{1}H RMN corresponden exclusivamente a las unidades monoméricas aisladas. Además, en dicho disolvente se pudo observar espectros con señales afiladas y bien resueltas, las cuales son consistentes con las conformaciones predominantes de simetría C_2 esperadas para **101**. Finalmente, cabe destacar que los valores observados de constantes de acoplamiento $J_{NH,H\alpha}$ fueron superiores a 8.5 Hz, un valor característico para péptidos que adoptan una conformación todo *trans* con un esqueleto plano en forma de anillo.

Resulta particularmente interesante observar como la unidad ciclopeptídica se comporta de diferente manera según el medio en el que se localice, pudiendo adoptar diferentes conformaciones estructurales (giros, plegamientos, e incluso dímeros) según la

polaridad con la que trabajemos (Figura 226). Dichas estructuras secundarias pueden presentar importantes aplicaciones, sobre todo si consideramos que a partir de una única secuencia se pueden obtener varias conformaciones únicamente variando el medio en el que está presente el derivado azucaraminoacídico.



Figura 226. Posibles motivos estructurales adoptados por 3α,1γ-ciclooctapéptidos constituidos por γ-Agl, según la polaridad del medio en que se encuentren. De este modo, se pone de manifiesto la gran influencia que ejerce la unidad γ-glicosaminoacídica en el esqueleto ciclopeptídico.

Los reiterados intentos de cristalización del ciclooctapéptido **101** resultaron infructuosos. De este modo, resulta muy complicado dilucidar claramente la estructura que adopta la unidad ciclopeptídica. Es por ello que decidimos preparar otros derivados ciclopeptídicos que presenten motivos estructurales más adecuados para lograr la conformación plana, y con ello la formación de las correspondientes estructuras diméricas.

24.2.2. α,γ(Agl)-CICLOOCTAPÉPTIDOS

Decidimos a continuación explorar el estudio de las estructuras resultantes del autoensamblaje de ciclopéptidos que presenten el motivo estructural habitual de alternancia de α- y γ-aminoácidos (Figura 221). Para ello, nos planteamos en primer lugar la preparación del α,γ-ciclooctapéptido *ciclo*{[*D*-Leu-*L*-^{Me}N-γ-Acp-*D*-Ser(Bn)-*D*-γ-Agl]$_2$-} (**102**), el cual se sintetizó empleando una metodología Boc/Pac similar a la del macrociclo **101**, partiendo esta vez del derivado fenacilprotegido *D*-N$_3$-γ-Agl-OPac (**103**)[833] (Esquema 28). Este derivado α,γ(Acp,Agl)-ciclopeptídico es particularmente interesante, ya que los γ-aminoácidos introducidos son de diferentes tipos (dos residuos γ-Acp y otros dos γ-Agl), lo que va a repercutir en sus características estructurales. Además, la presencia de un eje de simetría C_2 conllevaría la formación — mediante el establecimiento de las correspondientes interacciones enlace de hidrógeno α–α — de dos regioisómeros diméricos bien definidos; un homodímero en disposición *sin*-coplanar o eclipsada (**D$_{102\ [sin]}$** o **D$_{102}$ [E]**) en el que los γ-aminoácidos idénticos se empaquetan uno sobre otro, mientras que los α-aminoácidos idénticos no se disponen

[833] El derivado γ-glicosaminoacídico *D*-N$_3$-γ-Agl-OPac (**103**) se sintetizó mediante tratamiento del correspondiente ácido carboxílico *D*-N$_3$-γ-Agl-OH (**98**) con 2-bromoacetofenona/Et$_3$N en AcOEt (*protección con fenacilo*).

enfrentados entre sí [Acp/Acp y Agl/Agl y Leu/Ser(Bn)], y otro homodímero en disposición anti-coplanar o alternada (**$D_{102\ [anti]}$** o **D_{102} [A]**) en el que los γ-aminoácidos distintos se empaquetan el uno sobre el otro, mientras que los α-aminoácidos idénticos se enfrentan entre sí [Acp/Agl, Leu/Leu y Ser(Bn)/Ser(Bn)] (Figura 227). Este hecho también nos debe permitir evaluar si el empaquetamiento entre anillos ciclopentilos y piránicos (empaquetamiento Acp/Agl en **$D_{102\ [anti]}$**) es más favorable que los empaquetamientos ciclopentilo/ciclopentilo y piranosa/piranosa (empaquetamiento Acp/Acp y Agl/Agl, respectivamente, en **$D_{102\ [sin]}$**), lo que favorecería la formación selectiva del dímero alternado **$D_{102\ [anti]}$**.

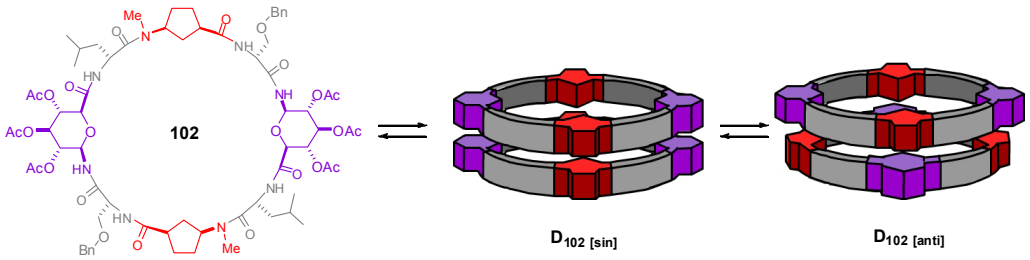


Figura 227. Modelo del proceso de autoensamblaje propuesto para el ciclooctapéptido híbrido Acp/Agl **102**, en el que se muestra los dos estereoisómeros diméricos posibles **$D_{102\ [sin]}$ y $D_{102\ [anti]}$** (las cadenas laterales se han omitido en las estructuras diméricas para su mejor visualización).

Los estudios de ^{1}H RMN en $CDCl_3$ a 298 K mostraron de nuevo un espectro mucho más complicado de lo esperado (Figura 228).[834] El análisis correspondiente permitió observar el gran número de señales presentes en el espectro, especialmente en la zona característica de los NH. Al igual que en el caso del macrociclo **31** (interacción γ–γ) descrito previamente, este hecho sugiere que el ciclooctapéptido **102** también está involucrado en un equilibrio complejo, en el que coexisten varias formas plegadas (conformaciones mayoritarias) con la estructura dimérica **D_{102}** esperada (conformación muy minoritaria).

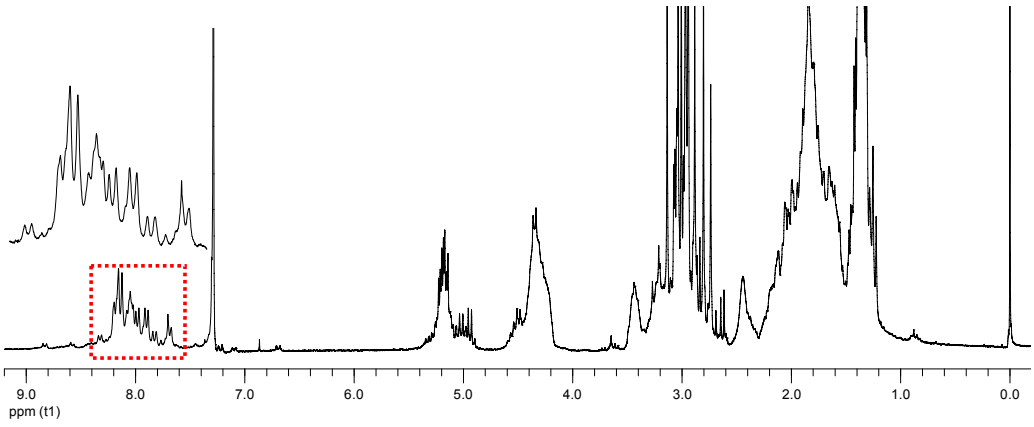


Figura 228. Espectro de ^{1}H RMN del α,γ(Acp,Agl)-ciclooctapéptido *ciclo*{[*D*-Leu-*L*-^{Me}N-γ-Acp-*D*-Ser(Bn)-*D*-γ-Agl]$_2$-} (**102**) a 298 K en $CDCl_3$, en el que se aprecia su complejidad (la zona correspondiente a las señales de NH ha sido ampliada desde 8.4 a 7.6 ppm para su mejor visualización).

[834] La presencia de un eje de simetría C_2 en el ciclooctapéptido **102** nos hacía presagiar la formación de únicamente dos especies (**D_{102}[E]** y **D_{102} [A]**).

Los resultados anteriores son similares a los obtenidos en el caso del α,γ-ciclooctapéptido **31** (Figura 61), sugiriendo así que la unidad cíclica no adquiere la conformación plana necesaria para dar lugar al correspondiente homodímero. Probablemente, la introducción del residuo azucaraminoacídico (γ-Agl) favorece la formación de un giro β, dando lugar a las correspondientes estructuras plegadas. Tal y como hemos mencionado con anterioridad, dichos giros se obtienen como consecuencia del establecimiento de enlaces de hidrógeno intramolecular a nivel del esqueleto del propio γ-azucaraminoácido (Figura 215).

En resumen, el empleo de unidades ácido 1-aminoglucurónico (γ-Agl) en la construcción de α,γ-ciclopeptidos debe permitir la funcionalización adecuada de las correspondientes estructuras supramoleculares nanotubulares. Desafortunadamente, los estudios iniciales realizados sobre secuencias ciclopeptídicas con motivos estructurales no apropiados dieron lugar fundamentalmente a la formación de estructuras plegadas. El plegamiento de los correspondientes macrociclos vendría determinado fundamentalmente por la formación de giros tipo β, los cuales se obtienen como consecuencia del establecimiento de enlaces de hidrógeno intramolecular a nivel del esqueleto del propio γ-Agl. De este modo, se pone de manifiesto la fuerte influencia que ejerce el residuo g-azucaraminoacídico sobre la estructura peptídica. Probablemente, la utilización de secuencias ciclopeptídicas que presenten menor flexibilidad estructural deben hacer posible que la unidad cíclica adopte la conformación plana requerida para el proceso de autoensamblaje molecular.[835,836]

[835] Recientemente, la construcción de γ-ciclooctaciclopéptidos (alternancia entre γ-aminoácidos Acp, Ach y Agl) ha permitido la obtención de las correspondientes estructuras diméricas mediante interacciones de tipo lámina β antiparalela. Para más información, ver: Guerra, A.; Brea, R. J.; Amorín, M.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Org. Biomol. Chem.* **2012**, *10*, 8762-8766.

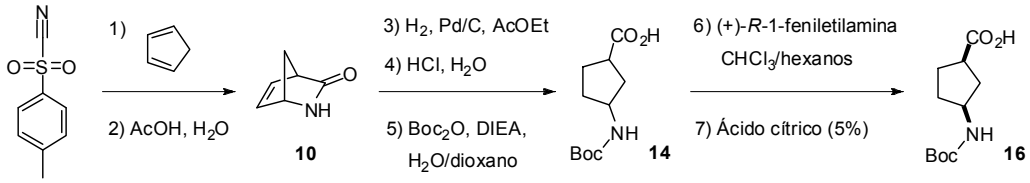
[836] Para nanotubos y dímeros resultantes del autoensamblaje de γ-ciclotetrapéptidos mediante una interacción de tipo lámina β paralela, ver: Li, L.; Zhan, H.; Duan, P.; Liao, J.; Quan, J.; Hu, Y.; Chen, Z.; Zhu, J.; Liu, M.; Wu, Y.-D.; Deng, J. *Adv. Funct. Mater.* **2012**, *22*, 2881-3094.



CONCLUSIONES

El objetivo fundamental de esta memoria de Tesis Doctoral consistió en el diseño, síntesis y aplicación de una nueva clase de sistemas supramoleculares homo- y heterodiméricos selectivos y eficientes basados en α,γ-ciclopéptidos.

Los excelentes resultados previamente cosechados por nuestro grupo de investigación con la preparación de nanotubos α,γ(Ach)-ciclopeptídicos,[143] así como la importancia que adquieren los γ-Aca en el establecimiento de la conformación plana necesaria para el proceso de autoensamblaje ciclopeptídico, nos animaron a seguir explorando dicha familia de compuestos cicloalcánicos. Es por ello que inicialmente se llevó a cabo la síntesis enantioméricamente pura (>97% ee) de los N-Boc derivados del ácido *cis*-3-aminociclopentanocarboxílico (γ-Acp) (Esquema 31).[167]



Esquema 31. Síntesis del enantiómero *L*-Boc-γ-Acp-OH (**16**).

La utilización de γ-Acp como componente fundamental en la construcción de α,γ-ciclopéptidos permitió la síntesis de una gran colección de anillos de distinto tamaño (16, 24, 32, 40, 48 y 64 miembros). Los correspondientes macrociclos precursores de nanotubos peptídicos permitieron el entendimiento de las bases termodinámicas y moleculares que componen el proceso de autoensamblaje, trabajando para ello con modelos diméricos sencillos, los cuales favorecieron el análisis de los dos posibles tipos de interacciones presentes: α–α y γ–γ (Figura 229).

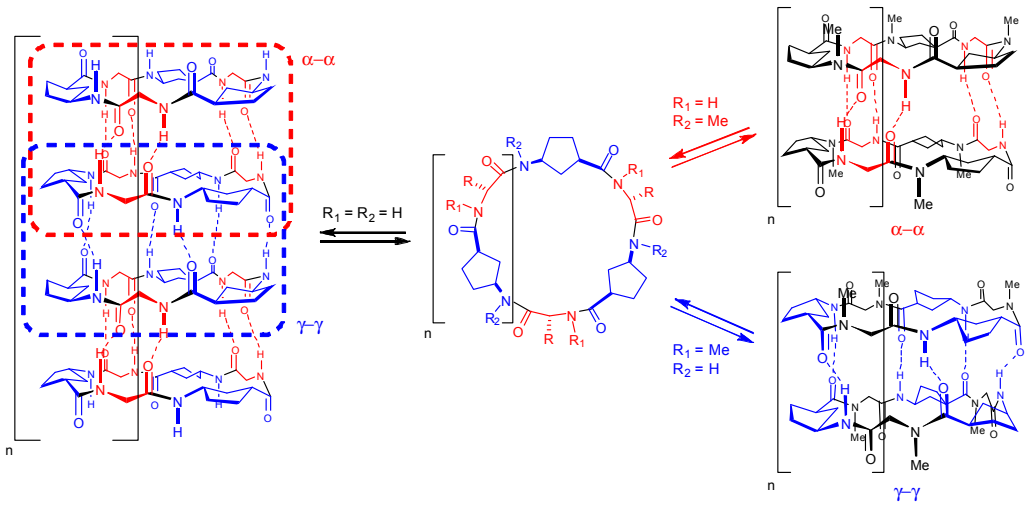


Figura 229. *Izquierda,* Nanotubo ciclopeptídico resultante del autoensamblaje molecular de *ciclo*[(*L*-γ-Acp-*D*-α-Aa)$_n$-], en la que se resalta los dos tipos de interacciones presentes. *Derecha,* Modelos diméricos N-metilados correspondientes a la interacción α–α (en rojo) y γ–γ (en azul) para el caso de unidades α,γ(Acp)-ciclopeptídicas.

El estudio de las estructuras autoensamblantes resultantes de la interacción α–α se llevó a cabo empleando unidades α,γ-cíclicas que presentaban todos sus γ-aminoácidos N-metilados (Figura 229). Cabe destacar que la unidad ciclopentánica γ-Acp, al igual que su análogo ciclohexánico γ-Ach, induce la planaridad del anillo peptídico, favoreciendo así el autoensamblaje molecular de manera eficiente. De este modo, se observó como los ciclopéptidos constituidos por 6,[167] 8,[171,173] 10,[173] 12[173] y 16 residuos homodimerizaban con elevadas constantes de asociación ($K_a > 10^5$ M^{-1}) (Figura 230). En cuanto a las unidades ciclotetrapeptídicas,[175] los valores obtenidos fueron muy inferiores (K_a = 47 M^{-1}), como consecuencia de las fuertes restricciones geométricas que presentan. Finalmente, hemos de resaltar que todos los homodímeros obtenidos fueron convenientemente caracterizados mediante espectroscopia de RMN y FT-IR. Adicionalmente, se logró la elucidación completa de las estructuras homodiméricas más representativas — aquellas derivadas de unidades α,γ-ciclohexa- y/o α,γ-ciclooctapeptídicas — mediante análisis de difracción de rayos X.

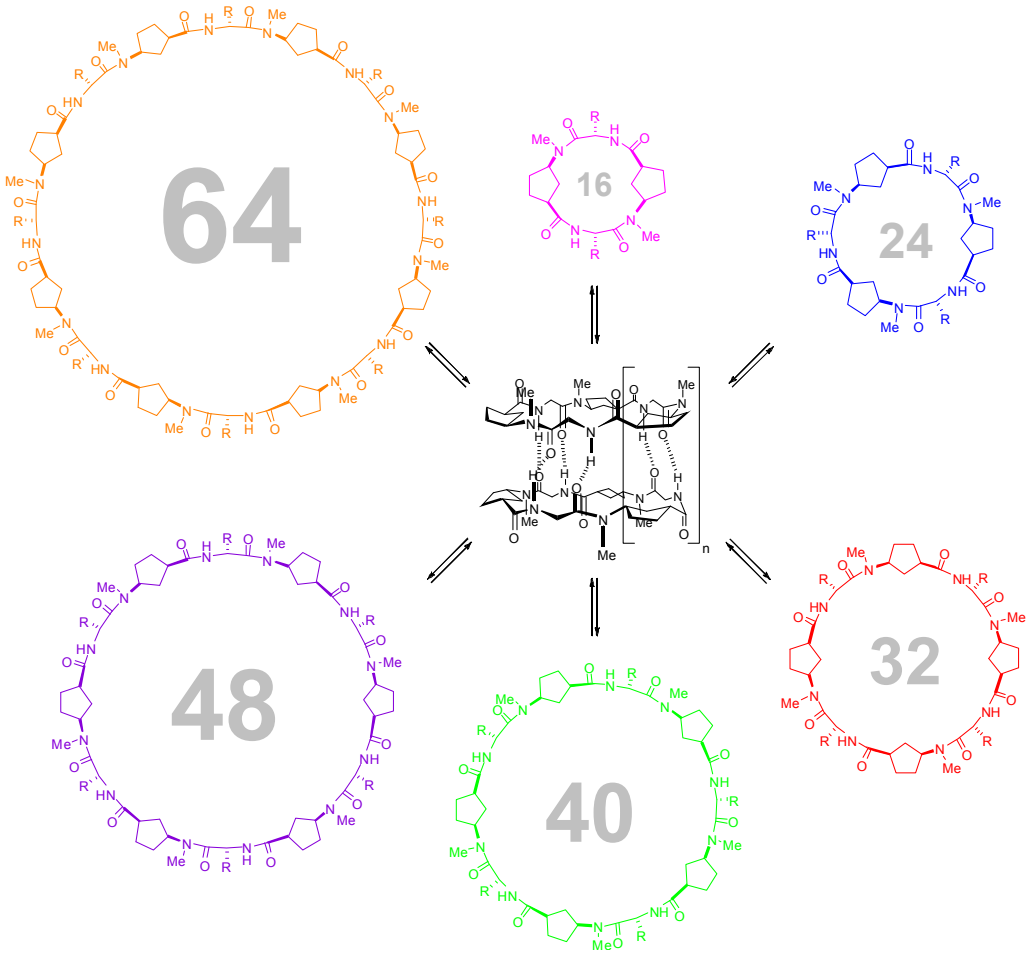


Figura 230. Representación esquemática del proceso de autoensamblaje homodimérico para distintos anillos α,γ-ciclopeptídicos de fórmula general *ciclo*[(*D*-α-Aa-*L*-^{Me}N-γ-Acp)$_n$-] (n = 0, 1, 2, 3, 4, 6) y diferente tamaño (16, 24, 32, 40, 48 y 64 miembros).

Las estructuras resultantes de la interacción γ–γ se estudiaron empleando unidades α,γ-cíclicas que poseían todos sus α-aminoácidos N-metilados (Figura 229). Así, se observó como los ciclopéptidos constituidos por 6 y 8 residuos aminoacídicos no conducen a la formación de los homodímeros esperados, sino que conllevan preferentemente la obtención de estructuras plegadas (Figura 231). El plegamiento de los correspondientes macrociclos viene dado fundamentalmente por la formación de giros tipo γ, los cuales se obtienen como consecuencia del establecimiento de enlaces de hidrógeno intramolecular a nivel del esqueleto del propio γ-Acp. La no N-protección del γ-Acp aumenta en gran manera su flexibilidad, permitiendo así que el aminoácido se disponga de forma que satisfaga las posibilidades de establecer enlaces de hidrógeno intramoleculares entre su NH y su C=O, favoreciendo así la obtención de las conformaciones plegadas. Cabe resaltar que las estructuras plegadas resultantes fueron convenientemente caracterizadas mediante técnicas de RMN, FT-IR y difracción de rayos X.

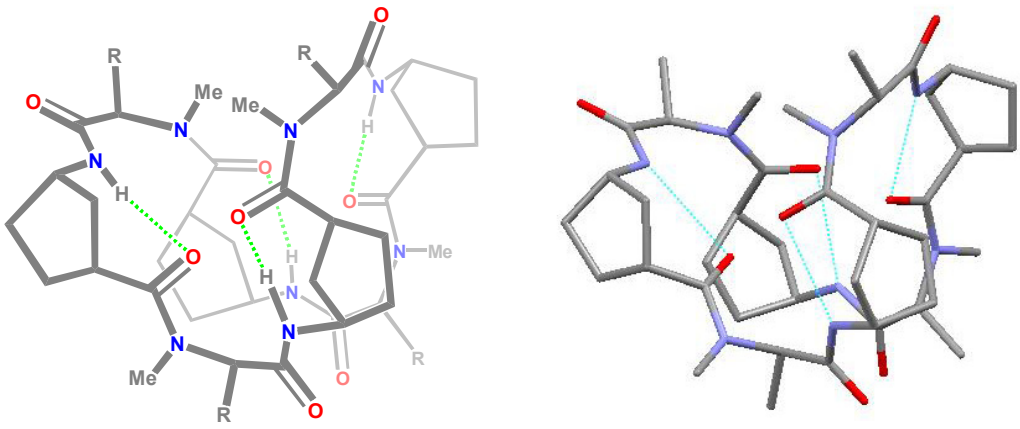


Figura 231. *Izquierda,* Representación esquemática de la conformación plegada que adquieren las unidades α,γ-ciclooctapeptídicas de fórmula general *ciclo*[(*L*-γ-Acp-*D*-α-^{Me}N-Aa)$_4$-]. *Derecha,* Estructura plegada **P$_{31}$** resultante de la cristalización del ciclooctapéptido *ciclo*[(*L*-γ-Acp-*D*-^{Me}N-Ala)$_4$-] (**31**).

Estudios computacionales de dimerización llevados a cabo en nuestro grupo de investigación han permitido el análisis exhaustivo de cada una de las interacciones (α–α y γ–γ), adquiriendo resultados que se ajustan a los obtenidos experimentalmente.[190] De este modo, se pone de manifiesto la mayor relevancia de la interacción α–α, ya que conduce a la formación de estructuras homodiméricas estables de gran interés.

La combinación de una unidad α,γ(Acp)-ciclopeptídica con otra derivada de γ-Ach permitió la preparación selectiva de una nueva clase de estructuras heterodiméricas, las cuales resultaron ser más estables que los correspondientes homodímeros (Figura 232).[167,171] La formación preferencial de las especies heterodiméricas es consecuencia fundamentalmente de las interacciones enlace de hidrógeno que se establecen a nivel de esqueleto peptídico, siendo independiente de las cadenas laterales empleadas. Cabe destacar que todos los heterodímeros obtenidos fueron convenientemente caracterizados mediante espectroscopia de RMN y FT-IR, así como mediante análisis de difracción de rayos X.

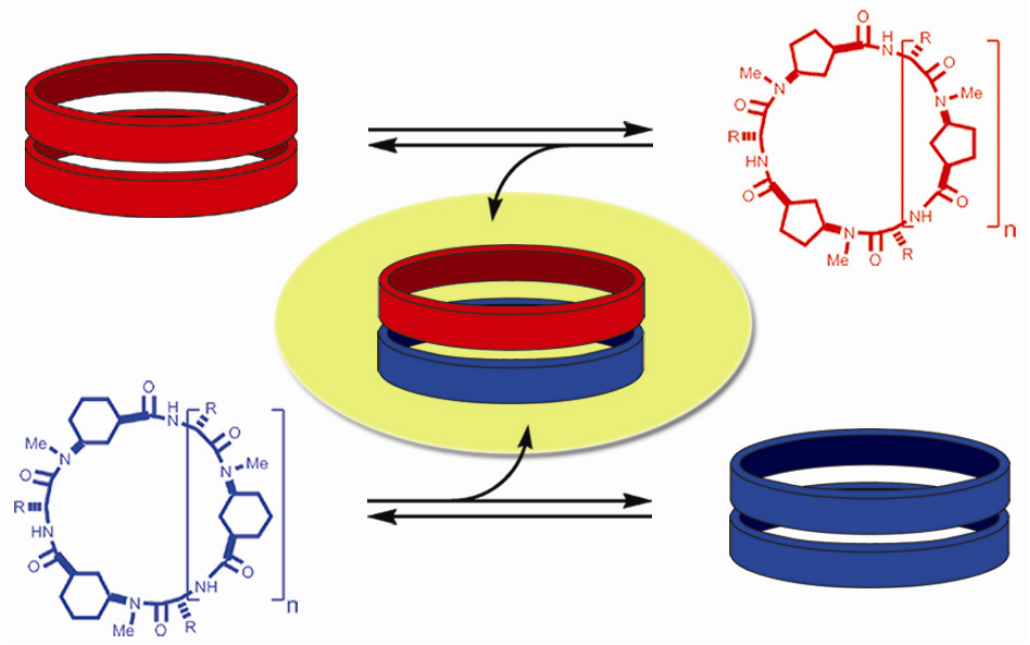


Figura 232. Formación selectiva de heterodímeros hexa- (n = 1) y octapeptídicos (n = 2) mediante la combinación de unidades cíclicas de α,γ(Acp) y α,γ(Ach).

La modificación de la superficie externa de los α,γ-nanotubos peptídicos mediante la conveniente introducción de diversas funcionalidades permitió el desarrollo de nuevas aplicaciones. De este modo, se llevó a cabo la preparación de novedosos híbridos supramoleculares estables termodinámicamente constituidos por ciclopéptidos adecuadamente derivatizados con grupos aceptores (dapoxilo, C_{60}) y dadores (pireno, TTF). Dichas unidades se conectan selectivamente mediante interacciones enlace de hidrógeno provenientes del autoensamblaje ciclopeptídico, favoreciendo así el correspondiente proceso de transferencia energética y/o electrónica a través del espacio. Teniendo en cuenta estas consideraciones, se llevó a cabo inicialmente el diseño, construcción y caracterización de una nueva clase de red supramolecular multicomponente constituida por unidades α,γ-ciclohexapeptídicas fluorescentes derivadas de Pir y Dap (Figura 233a).[445] El estudio detallado de la dinámica de los procesos mediante técnicas de fluorescencia permitió determinar la constante de asociación del proceso de homodimerización ($K_a = 2.1 \times 10^6\ M^{-1}$). Además, la formación preferencial de las especies heterodiméricas conllevó la obtención de sistemas Pir/Dap de transferencia de energía por fluorescencia de resonancia (FRET) altamente eficientes. Por otra parte, también se llevó a cabo la preparación y el estudio fisicoquímico de una especie supramolecular heterodimérica C_{60}/exTTF de transferencia electrónica fotoinducida (Figura 233b).[600] La fotoexcitación de las funcionalidades fullereno a su correspondiente estado excitado (1.76 eV) fue seguida por un proceso de separación de cargas que generó un estado par ion-radical (1.15 eV), el cual presenta un tiempo de vida de aproximadamente 1.5 μs, siendo superior al de los típicos conjugados C_{60}/exTTF unidos covalentemente. De este modo, se observa como estos nuevos sistemas supramoleculares dador/aceptor adquieren gran importancia debido a

sus posibles aplicaciones como fotosistemas artificiales, biosensores, dispositivos ópticos y/o interruptores moleculares.

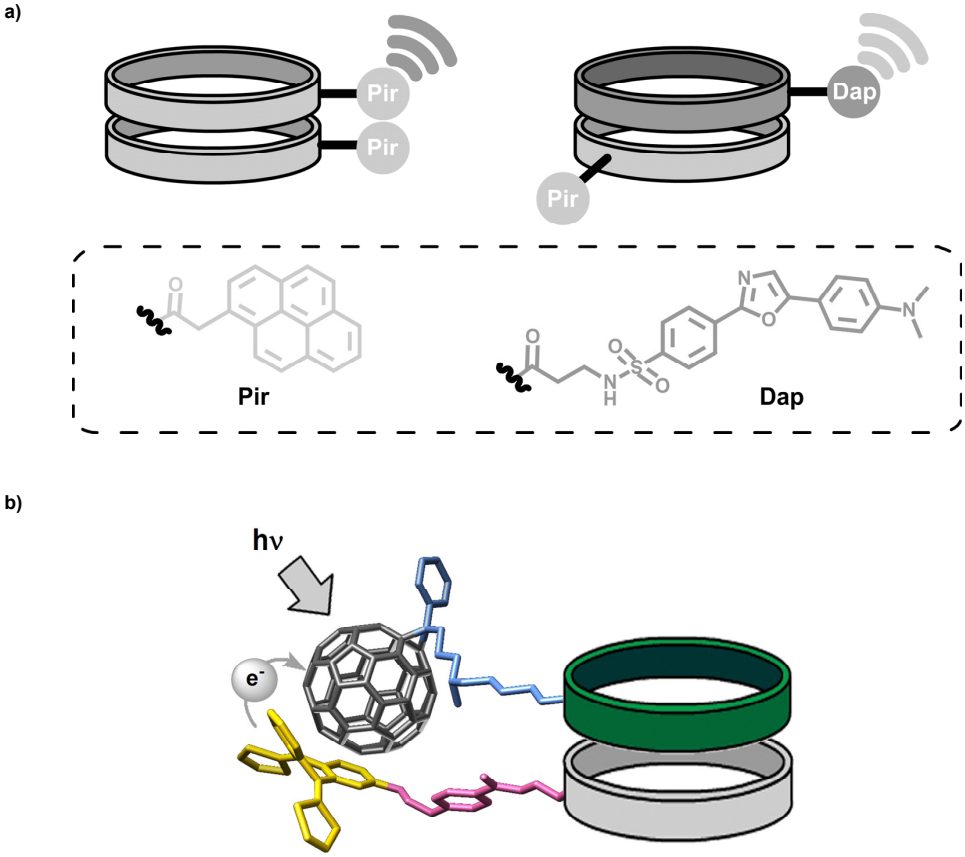


Figura 233. a) Biosensores homo- y heterodimérico constituidos por unidades α,γ-ciclopeptídicas convenientemente funcionalizadas con grupos fluoróforos. **b)** Sistema supramolecular nanohíbrido dador/aceptor de transferencia electrónica basado en el autoensamblaje de α,γ-ciclopéptidos.

El siguiente aspecto que decidimos abordar fue el desarrollo de una nueva estrategia para la preparación de aminoácidos y péptidos basado en una reacción de Sonogashira en medio acuoso catalizada por Pd(0). Para ello, se pusieron a punto inicialmente las condiciones para llevar a cabo el acoplamiento efectivo de una gran colección de haloarilos de diferente naturaleza electrónica — tanto pobres como ricos en electrones — con la funcionalidad alquino terminal de distintos N- y C-α-(homo)propargilaminoácidos mediante la utilización de Pd/C, CuI, Cs_2CO_3 y 4-DPPBA en una mezcla DMF/H_2O, obteniéndose los correspondientes aril(homo)propargilaminoácidos con rendimientos de moderados a altos (Figura 234a).[733] La posterior hidrogenación del triple enlace — tanto parcial como total — condujo a la obtención de los correspondientes arilalquenil- y arilalquilderivados. Finalmente, hemos de resaltar que la aplicación de la metodología de Sonogashira en medio acuoso al estudio de los nanotubos α,γ-ciclopeptídicos permitió la preparación de una nueva clase de estructuras diméricas rígidas unidas covalentemente (Figura 234b).

a)

b)

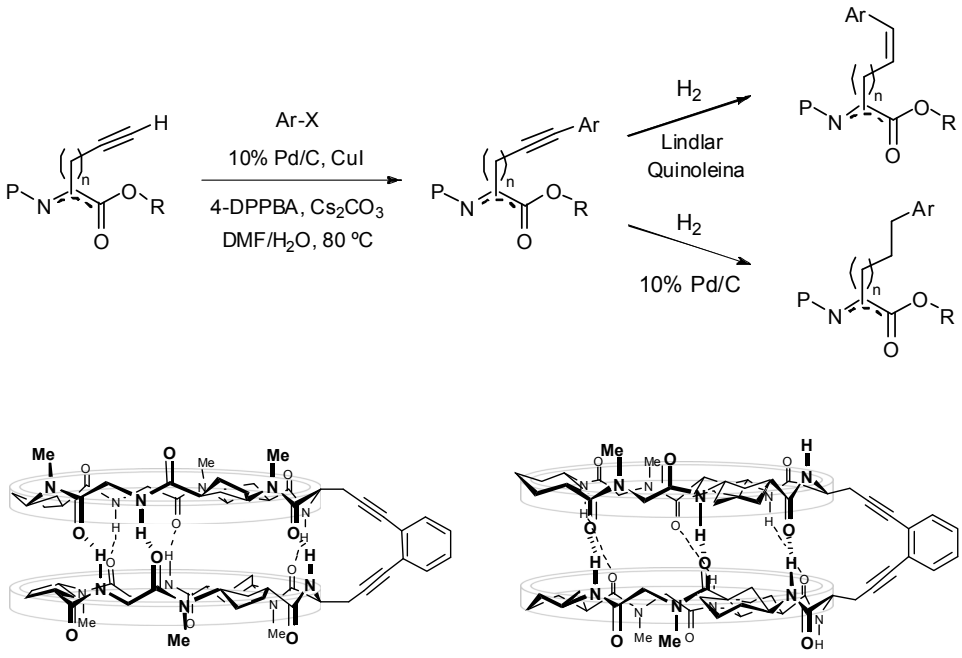


Figura 234. a) Metodología sintética empleada para llevar a cabo la derivatización eficiente de aminoácidos y péptidos. **b)** Estructuras homodiméricas rígidas unidas covalentemente mediante una reacción de Sonogashira en medio acuoso catalizada por Pd(0).

De manera alternativa, se logró la restricción conformacional de los motivos diméricos mediante la formación de complejos sándwiches intramoleculares resultantes de la coordinación metálica que tiene lugar entre subunidades α,γ-ciclopeptídicas Zn-porfirínicas y el ligando divalente DABCO (Figura 235).[761] Para ello, se llevó a cabo inicialmente el diseño y síntesis de diversos α,γ-ciclooctapéptidos funcionalizados en su periferia con una y/o dos unidades de Zn-porfirina. En disolventes orgánicos no polares, los macrociclos se autoensamblan cuantitativamente para dar lugar a nanoestructuras bis- o tetra-Zn-porfirínicas que pueden actuar como pinzas (*tweezers*) moleculares. Sin embargo, dicho proceso de autoensamblaje no es regioselectivo, por lo que proporciona una mezcla de regioisómeros diferentes que están involucrados en procesos de intercambio químico. Estudios exhaustivos de espectroscopia ^{1}H RMN permitieron observar que los regioisómeros que disponen las unidades de Zn-porfirina de forma eclipsada son las especies menos abundantes en la mezcla de disolución. Cabe resaltar que la coordinación de ligandos nitrogenados ditópicos — en particular, DABCO — a los receptores α,γ-ciclopeptídicos oligoporfirínicos constituye una manera eficiente para llevar a cabo el control regioisomérico de los ensamblajes diméricos formados en disolución. Por lo tanto, DABCO funciona como un disparador (*trigger*) molecular externo; así, cuando se utiliza bajo estricto control estequiométrico con respecto a las unidades de Zn-porfirina, provoca la formación exclusiva de los ensamblajes diméricos que presentan una disposición cofacial de las unidades Zn-porfirinas a través de la formación de complejos tipo sándwich. El uso de exceso de DABCO conlleva la ruptura de los complejos sándwiches, proporcionando dímeros abiertos de alta estequiometría — con las moléculas de DABCO axialmente monocoordinadas a las unidades de Zn-porfirina — probablemente como una

mezcla regioisomérica. En el caso particular de las pinzas de Zn-tetraporfirina, la coordinación ditópica de DABCO en los dos sitios de unión mostró un factor de cooperatividad moderadamente positivo ($\alpha P = 4.8$). La conveniente introducción de cromóforos adicionales en el esqueleto ciclopeptídico comporta que los correspondientes ensamblajes puedan presentar potenciales aplicaciones como interruptores (*switchers*) de transferencia energética y/o electrónica inducidos por la luz y regulados mediante coordinación a DABCO, poniendo de manifiesto así su relevancia en el diseño de máquinas moleculares y sensores.

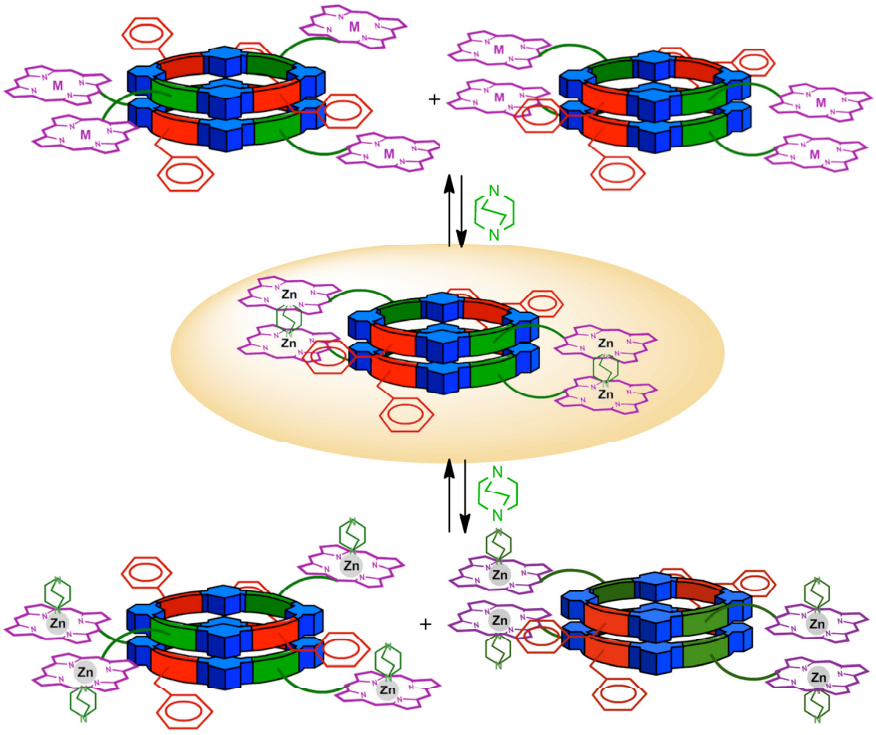
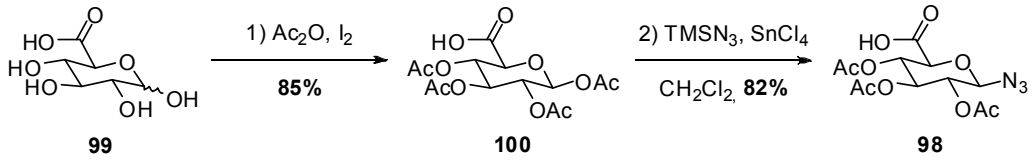


Figura 235. Rotación conformacional inducida por DABCO en sistemas supramoleculares homodiméricos constituidos por α,γ-ciclooctapéptidos conteniendo porfirinas.

En último lugar, hemos llevado a cabo la funcionalización de la cavidad interna de los nanotubos mediante la introducción de γ-glicosaminoácidos en la secuencia ciclopeptídica. Dicha funcionalización debe ser factible mediante la introducción de grupos funcionales en el carbono C2 del anillo cicloalcánico, o bien mediante la sustitución de dicho grupo metileno por un heteroátomo. Es por ello que inicialmente se llevó a cabo la síntesis del ácido 2,3,4-tri-*O*-acetil-1-azido-1-desoxi-β-*D*-glucopiranurónico [*D*-N_3-γ-AgI-OH (**98**)] (Esquema 32). La



Esquema 32. Síntesis del glicosaminoácido *D*-N_3-γ-AgI-OH (**98**).

incorporación de dicho γ-AAa a la secuencia cíclica permitió comprobar la influencia que ejercía sobre el esqueleto peptídico. De este modo, se pudo observar inicialmente como los ciclooctapéptidos que presentan motivos estructurales 3α,1γ no parecen conducir a la formación preferente de los homodímeros esperados, sino que probablemente dan lugar a la obtención de estructuras plegadas (Figura 236). El plegamiento de los correspondientes macrociclos vendría determinado fundamentalmente por la formación de giros tipo β, los cuales se obtienen como consecuencia del establecimiento de enlaces de hidrógeno intramolecular a nivel del esqueleto del propio γ-AgI. Resulta particularmente interesante observar como la unidad ciclopeptídica se comporta de diferente manera según el medio en el que se localice, pudiendo adoptar diferentes conformaciones estructurales (giros, plegamientos, e incluso dímeros) según la polaridad con la que trabajemos. Todas estas estructuras secundarias resultan especialmente relevantes debido a sus potenciales aplicaciones. Por otra parte, en el caso de ciclooctapéptidos basados en la estricta alternancia de α- y γ-aminoácidos, se pudo observar claramente que no conducían a la formación de los homodímeros esperados, sino que daban lugar a la obtención preferencial de estructuras plegadas. Futuros estudios empleando novedosos γ-glicosaminoácidos y secuencias ciclopeptídicas apropiadas deberán permitir la modificar tanto las características del interior del nanotubo como las de su superficie externa, sin alterar de ninguna manera el correspondiente proceso de autoensamblaje molecular. Probablemente, la utilización de secuencias ciclopeptídicas que presenten menor flexibilidad estructural debe hacer posible que la unidad cíclica adopte la conformación plana requerida para el proceso de autoensamblaje molecular. La capacidad para modificar convenientemente las cavidades internas de los nanotubos debe favorecer el diseño de novedosas estructuras tubulares con potenciales aplicaciones, como puede ser el transporte selectivo de iones o el desarrollo de novedosos dispositivos de reconocimiento molecular.

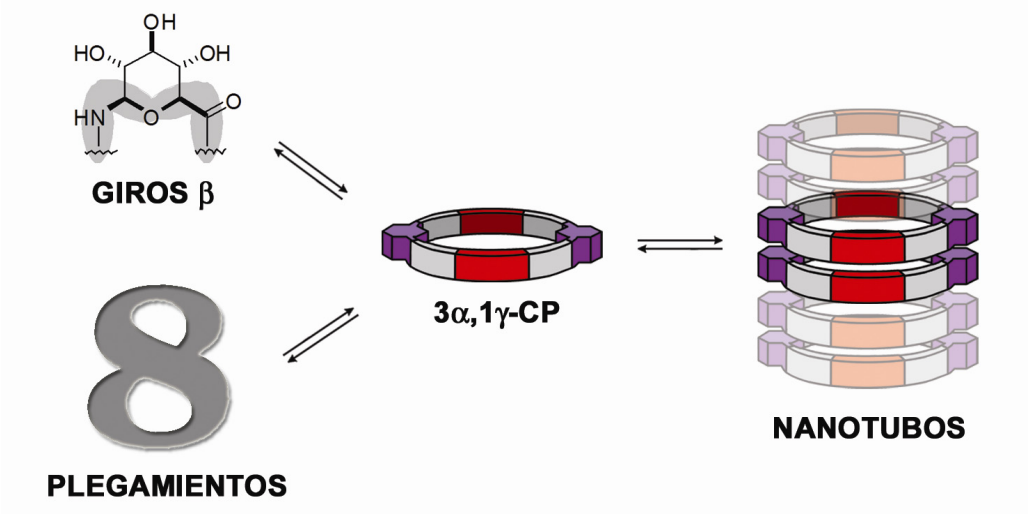


Figura 236. Posibles motivos estructurales adoptados por 3α,1γ-ciclooctapéptidos constituidos por γ-AgI, según la polaridad del medio en que se encuentren. De este modo, se pone de manifiesto la gran influencia que ejerce la unidad γ-glicosaminoacídica en el esqueleto ciclopeptídico.

En resumen, la investigación recogida en esta memoria doctoral consistió fundamentalmente en el desarrollo de una estrategia metodológica para llevar a cabo el control de la arquitectura molecular de una nueva clase de α,γ-ciclopéptidos. Las estructuras homo- y heterodiméricas resultantes del proceso de autoensamblaje de dichas unidades α,γ-cíclicas se emplearon para la preparación de sistemas supramoleculares selectivos y eficientes que pueden ser utilizados en diferentes campos, como la medicina, farmacología, biología y ciencia de materiales. La estrategia general desarrollada en esta memoria doctoral ha permitido

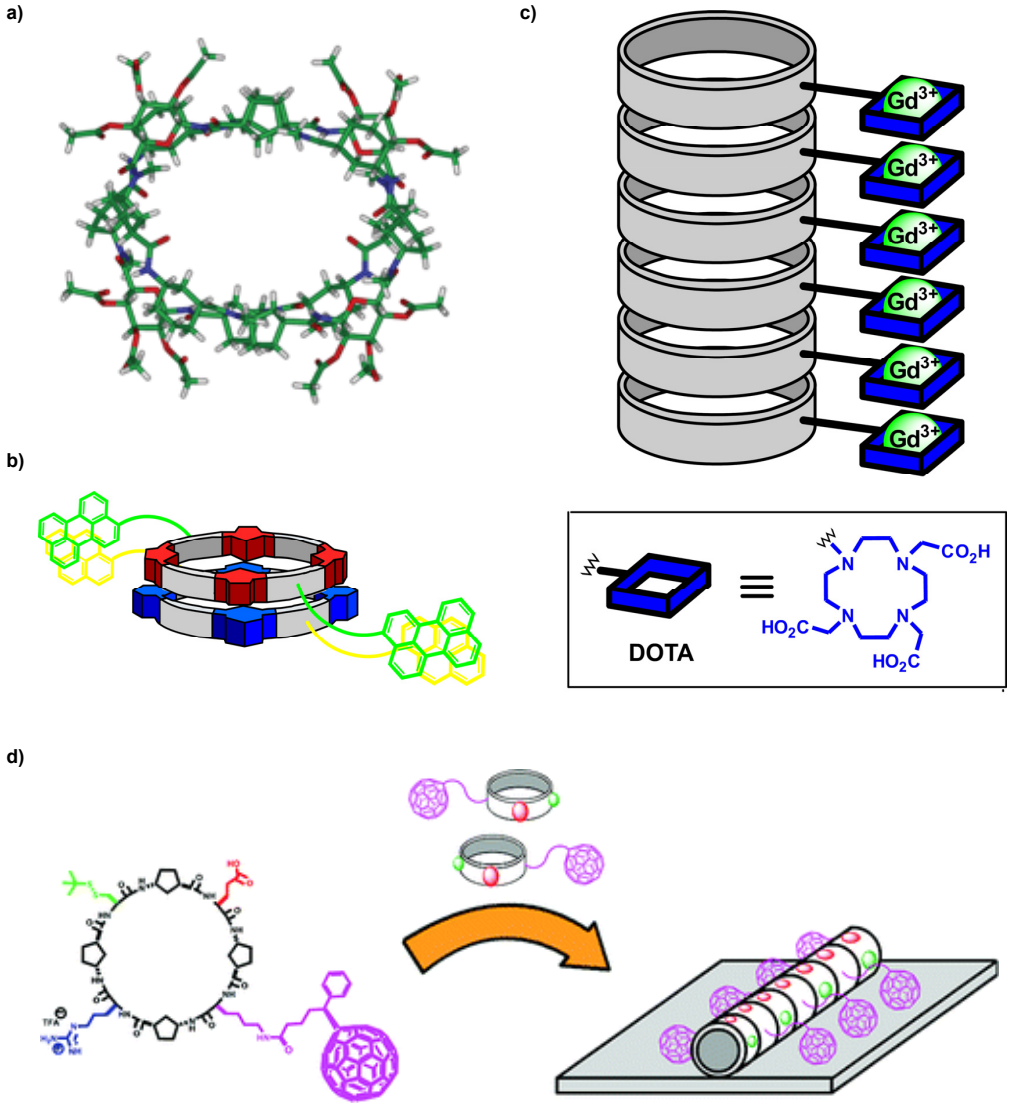


Figura 237. a) Receptores moleculares γ-ciclopeptídicos constituidos por γ-glicosaminoácidos. **b)** Biosensores heterodiméricos Pir/Per constituidos por unidades α,γ-cicloctapeptídicas. **c)** Estructuras nanotubulares α,γ-ciclopeptídicas marcadas magnéticamente con iones Gd^{3+}, las cuales presentan importantes aplicaciones como agentes de contraste para imagen por resonancia magnética (IRM). **d)** Preparación de estructuras supramoleculares con alta capacidad electrónica constituidas por α,γ-cicloctapéptidos conteniendo fullerenos.

recientemente la preparación de novedosas estructuras autoensamblantes con aplicaciones potenciales en áreas tan diversas como inclusión y separación molecular, catálisis, almacén de gases, quimioterapia, motores moleculares, azúcares.[835] sensores,[171] agentes de contraste,[837] electrónica,[193] y transporte transmembranoso (Figura 237). Este hecho permite vislumbrar aún si cabe más la especial relevancia que pueden adquirir esta nueva clase de nanoensamblajes α,γ-ciclopeptídicos, poniendo de manifiesto el interés emergente que día a día despiertan en todo el ámbito científico.

[837] Brea Fernández, R. J.; Ballesteros García, P.; Granja Guillán, J. R.; Pérez Mayoral, E.; Castedo Expósito, L.; Soler Padrós, J.; Reiriz Armental, C. "Ciclopéptidos marcados magnéticamente con complejos de lantánidos", Universidad de Santiago de Compostela y Universidad Nacional de Educación a Distancia, *Número de patente:* ES 2354320 A1, *Número de solicitud:* P200801885, España, **2008**.



PARTE EXPERIMENTAL

25. MATERIALES Y MÉTODOS

25.1. GENERAL

Todas las reacciones, salvo que se especifique lo contrario, se llevaron a cabo en atmósfera de argón (Ar) desoxigenado y seco (Argón L-50), y utilizando agitación magnética.

El material de vidrio empleado se secó mediante previo calentamiento en estufa a 150 ºC durante 4 h. Las reacciones a alta temperatura se llevaron a cabo en placas calefactoras *IKA RCT Basic*, utilizando baños de silicona provistos de termómetros de contacto *IKA ETS-D4*, mientras que para las reacciones a baja temperatura se emplearon baños de CO_2/Acetona o baños enfriados con una sonda de refrigeración *Cryocool-Immersion Cooler CC-8011* de *Neslab*, provisto de controlador de temperatura. Todas las temperaturas indicadas se refieren al baño externo.

Los N-Boc aminoácidos y los agentes de acoplamiento HATU, HBTU, TBTU y HOBt fueron proporcionados por Novabiochem, Applied Biosystems y/o Bachem. La lactama de Vince fue suministrada por Lonza. El ácido 1-pirenoacético y los reactivos EDC.HCl, DIC y DMAP fueron proporcionados por Aldrich. El éster succinimídico del ácido dapoxilo® 3-sulfonamidopropiónico fue suministrado por Molecular Probes. La enzima Acilasa I fue proporcionada por Sigma-Aldrich. La resina de intercambio Dowex AG® 50W-X8 (H^+) fue suministrada por Bio-Rad. La resina lipofílica Sephadex® LH20 fue proporcionada por Sigma-Aldrich. Los disolventes deuterados $CDCl_3$, CD_3OD, CD_3OH, D_2O y d_6-DMSO fueron suministrados por Merck. El *tert*-butóxido potásico, el 1,4-diazabiciclo[2.2.2]octano (DABCO) y el 1-azabiciclo[2.2.2]octano (Quinuclidina) se sublimaron por calentamiento a vacío. El resto de reactivos obtenidos comercialmente fueron utilizados directamente sin ningún tipo de purificación adicional, a menos que se indique lo contrario.

Los disolventes empleados se purificaron según las indicaciones de Brown[1] o Perrin,[2] y se secaron inmediatamente antes de su uso por calentamiento a reflujo en atmósfera inerte, seguido de destilación utilizando un agente desecante adecuado. Los disolventes más comunes se secaron de la siguiente forma: THF (Na/Benzofenona), MeOH (Mg/I_2), CH_2Cl_2 (P_2O_5), Dioxano (Na) y CH_3CN (CaH_2). La DMF se destiló de CaH_2 y se almacenó sobre tamices moleculares de 4 Å. La DIEA se destiló en primer lugar de ninhidrina, y a continuación de CaH_2, almacenándose sobre tamices moleculares. La Et_3N, por su parte, se destiló únicamente de CaH_2.

El agua destilada se obtuvo mediante la utilización de un equipo *Millipore Elix™ 3*, mientras que el agua milliQ® se logró mediante la utilización de un aparato *Millipore Milli-Q RG*.

Las jeringas utilizadas fueron de plástico (Discardit) y de teflón (Hamilton), con agujas Llorach-Luer. Las adiciones de disoluciones y disolventes se llevaron a cabo vía jeringa o cánula. Las adiciones lentas fueron realizadas empleando una jeringa automática *Harvard Apparatus Pump 11*.

---

[1] Brown, H. C. *Organic Synthesis Via Boranes*; John Wiley & Sons: New York (Estados Unidos), **1975.**
[2] Perrin, D. D.; Armarego, W. I. F. *Purification of Laboratory Chemicals*; Pergamon Press: New York (Estados Unidos), **1988**.

La eliminación de los disolventes a presión reducida se llevó a cabo en un rotavapor *Büchi R-200* y el secado de las disoluciones procedentes de la elaboración de las diversas reacciones se realizó con Na_2SO_4 anhidro.

Las muestras se liofilizaron utilizando un equipo *Thermosavant Modulyo D*.

25.2. SÍNTESIS PEPTÍDICA

Los correspondientes dipéptidos, tetrapéptidos, hexapéptidos, octapéptidos, decapéptidos, dodecapéptidos y hexadecapéptidos se prepararon usando protocolos estándar de síntesis peptídica en disolución. El tratamiento de los correspondientes derivados lineales no protegidos con TBTU y DIEA en condiciones de alta dilución (0.2-5 mM) permitió la formación de los ciclopéptidos deseados con buenos rendimientos.

25.3. CROMATOGRAFÍA

Las mezclas de los disolventes para las cromatografías se indican en relaciones v/v. Como eluyente se utilizó la mezcla indicada en cada procedimiento.

25.3.1. CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA

Para cromatografía analítica en capa fina se utilizaron placas de gel de sílice 60 F_{254} y de óxido de aluminio 60 F_{254} neutro de Merck. Como reveladores se usaron luz UV (onda larga: 365 nm; onda corta: 254 nm), disolución de Ce/Mo (200 mg NH_4NO_3 + 9.6 g de molibdato amónico + 11.2 mL H_2SO_4 + 200 mL H_2O), disolución de *p*-anisaldehido (2% de *p*-anisaldehido + 1% AcOH + 3.4% H_2SO_4 + EtOH del 95%), ácido fosfomolíbdico (5% en EtOH) y ninhidrina (2% en EtOH). Los disolventes empleados (AcOEt, CH_2Cl_2, hexanos y MeOH) son de calidad síntesis.

Para cromatografía preparativa en capa fina se utilizaron placas de 1 mm de gel de sílice 60 F_{254} de Merck. Los disolventes empleados (CH_2Cl_2 y MeOH) son de calidad síntesis.

25.3.2. CROMATOGRAFÍA EN COLUMNA

Para cromatografía en columna se empleó gel de sílice 60 SDS 230-400 mesh de Merck.[3] Los disolventes empleados (AcOEt, CH_2Cl_2, hexanos y MeOH) son de calidad síntesis.

[3] Para cromatografía rápida (*flash*) en columna, ver: Still, W. C.; Kahn, M.; Mitra, A. *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 2923-2925.

25.3.3. CROMATOGRAFÍA DE INTERCAMBIO IÓNICO

Para cromatografía de intercambio iónico se empleó una resina Dowex AG® 50W-X8 [Cambiador de cationes sulfónicos (H^+), 50-100 mesh]. Los disolventes empleados son de calidad síntesis (NH_3) y milliQ® (H_2O).

25.3.4. CROMATOGRAFÍA DE EXCLUSIÓN POR TAMAÑO

Para cromatografía de exclusión por tamaño se utilizó una resina lipofílica Sephadex® LH20. El disolvente empleado ($CHCl_3$) es de calidad HPLC.

25.3.5. CROMATOGRAFÍA DE PERMEACIÓN EN GEL (GPC)

Las inyecciones analíticas por GPC se llevaron a cabo en una columna Waters Styragel® HR1 Toluene (7.8 x 300 mm).

La purificación por GPC se llevó a cabo en una columna Waters Ultrastyragel® (19 x 300 mm).

El disolvente empleado (Tolueno) es de calidad HPLC.

25.3.6. HPLC

- **Fase Reversa**

El sistema de HPLC empleado en fase reversa consta de un cromatógrafo *Agilent 1100 Series* dotado con un detector multionda. Del mismo modo, también se empleó un sistema de HPLC constituido por un cromatógrafo *Hewlett Packard Serie 1100* provisto de detector de diodos. Los disolventes empleados son de calidad HPLC (CH_3CN) y milliQ® (H_2O).

Las inyecciones analíticas por HPLC en fase reversa se llevaron a cabo en una columna LiChrocart® 250-4 con gradientes *Disolvente A*/*Disolvente B* entre 95:5 y 5:95 (*Disolvente A*: H_2O con 0.1% TFA; *Disolvente B*: CH_3CN con 0.1% TFA).

La purificación por HPLC en fase reversa se llevó a cabo en una columna Zorbax C18 con gradientes *Disolvente A*/*Disolvente B* entre 95:5 y 5:95.

- **Fase Normal**

El equipo de HPLC empleado para fase normal está formado por un sistema *Merck Hitachi D-7000* dotado de un detector de ultravioleta *L-7400*. Los disolventes empleados (MeOH y CH_2Cl_2) son de calidad HPLC.

Las inyecciones analíticas por HPLC en fase normal se realizaron en una columna Phenomenex® Luna Silica con gradientes CH_2Cl_2/MeOH entre 100 y 85:15.

La purificación por HPLC en fase normal se llevó a cabo en una columna Phenomenex® Maxsil-10 con gradientes CH_2Cl_2/MeOH entre 100 y 85:15.

25.3.7. HPLC-MASAS

El sistema de HPLC-MASAS empleado en fase reversa consta de un cromatógrafo *Agilent 1100 Series* dotado con un detector multionda acoplado a un espectrómetro de masas cuadrupolo mediante una fuente de ionización electrospray. Los disolventes empleados son de calidad HPLC (CH_3CN) y milliQ® (H_2O).

Las inyecciones directas (sin columna) por HPLC-MASAS se llevaron a cabo de manera isocrática empleando una mezcla 1:1 de *Disolvente A*/*Disolvente B* (*Disolvente A*: H_2O con 0.1% TFA; *Disolvente B*: CH_3CN con 0.1% TFA).

Las inyecciones analíticas por HPLC-MASAS se llevaron a cabo en una columna LiChrocart® 250-4 con gradientes *Disolvente A*/*Disolvente B* entre 95:5 y 5:95.

25.4. DETERMINACIÓN ESTRUCTURAL

25.4.1. ESPECTROSCOPIA DE RMN

Los espectros de ^{1}H RMN se registraron en los espectrómetros *Bruker WM-250* (250.13 MHz), *Varian Mercury-300* (300.13 MHz), *Bruker AMX-500* (500.13 MHz) y *Varian Inova-750* (750.13 MHz). Los desplazamientos químicos están dados en partes por millón (ppm, δ) respecto a la señal de TMS, que es lo que se emplea como referencia interna. Las multiplicidades de las señales se designaron en base a su apariencia como singlete (s), doblete (d), triplete (t) o cuadruplete (c). En los casos en los que la multiplicidad no estaba clara, se designaron las señales como multiplete (m) o singlete ancho (s ancho). Las constantes de acoplamiento (*J*) vienen expresadas en Hz.

Los espectros de ^{13}C RMN se registraron en los espectrómetros *Bruker WM-250* (62.90 MHz), *Varian Mercury-300* (75.48 MHz) y *Bruker AMX-500* (125.77 MHz). Las resonancias de los carbonos fueron asignadas mediante la realización de espectros DEPT obtenidos con un ángulo de fase θ de 135º.

Las señales de los espectros de ^{1}H RMN de los α,γ-ciclopéptidos fueron asignadas a partir de los correspondientes experimentos bidimensionales 2D COSY (2QF-COSY), TOCSY, NOESY y ROESY adquiridos a la concentración y temperatura indicada. Los tiempos de mezcla (~250 ms o 400 ms) no fueron optimizados. Los espectros fueron típicamente registrados empleando secuencias de pulsos estándar de *Bruker* en aparatos de 500 MHz, siendo referenciados respecto a las resonancias residuales de protón en $CDCl_3$ (a 7.26 ppm).

25.4.2. ESPECTROMETRÍA DE MASAS

Los espectros de impacto electrónico (IE) se registraron en un espectrómetro de masas *Hewlett-Packard HP5988A*. Los espectros de ionización química (IQ) se obtuvieron en un aparato *Finnigan TraceMS*. Los espectros de masas de FAB se realizaron en un espectrómetro *Micromass Autospec*, empleando disulfuro, glicerol o tioglicerol como matriz. Los espectros de electrospray (ESI) se registraron en un espectrómetro de masas *Bruker BIOTOF II*. Los espectros de MALDI-TOF se llevaron a cabo en un espectrómetro *Bruker Autoflex*, empleando ácido α-ciano-4-hidroxicinámico (HCCA) o 1,8,9-trihidroxiantraceno (DITHRANOL) como matriz.

25.4.3. DIFRACCIÓN DE RAYOS X

Los datos cristalográficos se adquirieron a baja temperatura (120 K) en un difractómetro *Bruker Smart X1000*, empleando radiación Mo Kα y un monocromador de grafito. Todos los cálculos se realizaron en un PC compatible con IBM utilizando los programas COLLECT,[4] HKL Denzo and Scalepack,[5] SORTAV,[6] SHELX-97,[7] WinGx,[8] SIR2002,[9] ORTEP3,[10] PLATON (SQUEEZE)[11] y PARST.[12]

25.4.4. ESPECTROSCOPIA DE FT-IR

Las medidas de FT-IR fueron llevadas a cabo en un espectrofotómetro *Jasco FT/IR-400*, empleando celdillas de NaCl que contienen disoluciones 5-10 mM en $CHCl_3$. En el caso en que los compuestos no fueron solubles en $CHCl_3$, se realizaron las medidas depositando las muestras sobre pastillas de CaF_2.

---

[4] Nonius BV, **1997-2000**.
[5] Otwinowski, Z.; Minor, W. "Processing of X-ray Diffraction Data Collected in Oscillation Mode". En *Methods in Enzymology [Volume 276: Macromolecular Crystallography, Part A]*; Eds. Carter, C.W. Jr.; Sweet, R. M.; Academic Press: New York (Estados Unidos), **1997**; 307-326.
[6] Blessing, R. H. *Acta Cryst.* **1995**, A51, 33-38.
[7] Sheldrick, G. M. [Institute für Anorganische Chemie – Universität Göttingen; Göttingen (Alemania)].
[8] Farrugia, L. J. *J. Appl. Cryst.* **1999**, *32*, 837-838.
[9] Burla, M. C.; Camalli, M.; Carrozzini, B.; Cascarano, G. L.; Giacovazzo, C.; Polidori, G.; Spagna, R. *J. Appl. Cryst.* **2003**, *36*, 1103.
[10] Farrugia, L. J. *J. Appl. Cryst.* **1997**, 30, 565.
[11] Spek, A. L. [Universiteit Utrecht; Utrecht (Holanda), **2001**].
[12] Nardelli, M. *J. Appl. Cryst.* **1995**, *28*, 659.

25.4.5. MEDIDAS TERMODINÁMICAS

El cálculo de las variables termodinámicas de los procesos de autoensamblaje se llevó a cabo mediante medidas de los desplazamientos correspondientes a los NH de los α-aminoácidos a diferentes temperaturas y diferentes concentraciones, empleando una ecuación de regresión de tipo no lineal, que correlaciona los desplazamientos de los NH con la constante de asociación para un proceso en equilibrio entre monómero y dímero (modelo de LaPlanche).[13] La expresión matemática de dicha ecuación es la siguiente: $\delta_{obs} = \delta_{dim} + (\delta_{mon} - \delta_{dim})\cdot[-1 + (1 + 8K_aC)^{1/2}] / (4K_aC)$, donde C se corresponde con la concentración de cada experimento, mientras que K_a, δ_{mon} y δ_{dim} son valores calculados a partir de los datos observados (δ_{obs}). Para cada una de las condiciones estudiadas se calcularon los correspondientes valores de K_a a diferentes temperaturas. La correlación entre el $\log K_a$ y el inverso de la T (conocido como *representaciones de Van't Hoff*) nos permite obtener una recta a partir de la cual se relaciona la variación de entalpía (ΔH) con la pendiente y la variación de entropía (ΔS) con la ordenada en el origen.

25.4.6. MEDIDAS DE FLUORESCENCIA

Las medidas de fluorescencia se llevaron a cabo en un espectrofluorómetro *SPEX FluoroMax-3*, empleando celdillas de NaCl. Los tiempos de vida de fluorescencia se obtuvieron en un aparato *Edinburgh Instruments CD900 Single Photon Counting (SPC)* y/o en un espectrómetro *Laser Strope Fluorescence Lifetime (Photon Technology International)*.

25.4.7. MEDIDAS ELECTROQUÍMICAS

Las medidas electroquímicas se registraron mediante voltametría cíclica y/o voltametría de pulso diferencial en un equipo *Autolab PGStat 30*, empleando un electrodo de trabajo de carbón vitrificado (GC), un electrodo de referencia $Ag/AgNO_3$, un electrodo auxiliar de Pt y una disolución de $TBA{\bullet}ClO_4$ (0.1 M) en una mezcla 4:1 de *o*-DCB/CH_3CN como electrolito de soporte. Dichas medidas se llevaron a cabo en colaboración con el grupo del Prof. Nazario Martín [Universidad Complutense de Madrid].

25.4.8. MEDIDAS FOTOFÍSICAS

Los estudios femtosegundo de absorción de trasientos se llevaron a cabo empleando un sistema láser Ti:Sapphire (Modelo CPA 2101, Clark-MXR Inc.). Las medidas se llevaron a cabo en colaboración con el grupo del Prof. Dirk M. Guldi [Universität Erlangen-Nürnberg].

[13] LaPlanche, L. A.; Thompson, H. B.; Rogers, M. T. *J. Phys. Chem.* **1965**, *69*, 1482-1488.

25.4.9. OTROS

Las medidas de UV/Vis se realizaron en un espectrofotómetro *Cary 100 Bio UV/Visible*, empleando celdillas de NaCl.

Las rotaciones ópticas se midieron en un polarímetro digital *Jasco DIP-370*, empleando una cubeta de 5 cm.

Los espectros de dicroísmo circular (DC) se obtuvieron en un aparato *Chirascan HP Compaq PC*.

Las medidas de análisis elemental se realizaron en un aparato *Thermo Finnigan* modelo *Flash 1112*.

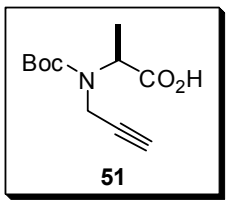
Los puntos de fusión se determinaron en un aparato *Sanyo* modelo *Gallenkamp*.

Las medidas de pH se realizaron empleando un pHmetro *inoLab*.

26. PROCEDIMIENTOS EXPERIMENTALES

26.1. α-AMINOÁCIDOS

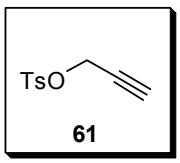
26.1.1. SÍNTESIS DE *L*-N-BOC-N-PROPARGILALANINA



51

***L*-N-Boc-N-propargilalanina (51).**[14,15] Sobre una disolución de *L*-Boc-Ala-OH (1.00 g, 5.30 mmol) en DMF seca (12 mL) previamente enfriada a 0 ºC se añadió NaH [(60% en aceite mineral), 0.63 g, 15.90 mmol] y la suspensión obtenida se agitó a esta temperatura durante 30 min. Posteriormente se adicionó bromuro de propargilo (0.56 mL, 6.31 mmol) y la mezcla resultante se agitó a ta durante 3 h. A continuación se enfrió nuevamente a 0 ºC y se añadió NaH (0.11 g, 2.65 mmol), se agitó durante 30 min a esta temperatura y se adicionó bromuro de propargilo (0.24 mL, 2.65 mmol). La mezcla resultante se agitó a ta durante 24 h. Transcurrido ese tiempo, se acidificó a pH 3 con HCl (10%), se extrajo con Et_2O (3 × 50 mL) y la disolución obtenida se lavó con NaCl [(dis. sat.), 3 × 100 mL]. Las fases orgánicas combinadas se secaron con Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (5-10% AcOEt en hexanos con 0.5% AcOH), obteniéndose 0.75 g de **51** [75%, R_f = 0.51 (10% MeOH en CH_2Cl_2 con 1% AcOH), aceite ligeramente amarillo]. **^{1}H RMN** ($CDCl_3$, 300.13 MHz, δ): 9.66 (s ancho, 1H), 4.67 (s ancho, 0.5H), 4.28 (s ancho, 0.5H), 4.10-3.85 (m, 2H), 2.21 (s, 1H), 1.52 (d, *J* = 7.2 Hz, 3H), 1.36 (s, 9H). **^{13}C RMN** ($CDCl_3$, 75.48 MHz, δ): 178.5 (CO), 155.0 y 154.8 (CO), 81.8 (C), 80.5 y 79.8 (C), 72.3 y 71.5 (CH), 55.1 y 54.4 (CH), 36.2 y 35.2 (CH_2), 28.6 (CH_3), 16.2 y 15.7 (CH_3). **EM (IE)** [m/z (%)]: 227 ($[M]^+$, 42), 190 (9), 172 (70), 146 (25), 128 ($[M - Boc]^+$, 100), 82 (38). **EMAR (IE) calculado** para $C_{11}H_{17}NO_4$ ($[M]^+$) 227.11576, **encontrado** 227.11563.

26.1.2. SÍNTESIS DE *DL*-N-BOC-PROPARGILGLICINA

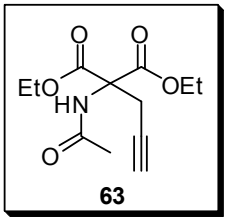


61

1-(4-metilbencenosulfonato) de 2-butino (61).[16,17] Sobre una disolución de alcohol propargílico (1.04 mL, 17.84 mmol) en Et_2O (40 mL) se añadió cloruro de tosilo (5.10 g, 26.76 mmol) a 0 ºC. La disolución resultante se agitó durante 15 min. A continuación se añadió KOH (3.00 g, 53.52 mmol) y la mezcla obtenida se agitó a ta durante 24 h. La suspensión resultante se lavó con HCl [(5%), 3 × 20 mL], se secó con Na_2SO_4, se filtró y se concentró a vacío. El crudo se purificó mediante cromatografía en columna (5-10% AcOEt en hexanos), obteniéndose 3.71 g de **61** [99%, R_f = 0.43 (20% AcOEt en hexanos), aceite incoloro]. **^{1}H RMN** ($CDCl_3$,

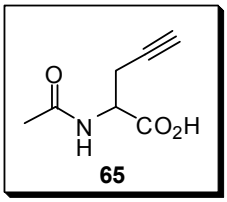
[14] Tesis Doctoral de María Pilar López Deber - "Diseño de novo de enzimas: I. Diseño, síntesis y caracterización de una ligasa peptídica regulada por secuencias específicas de Ácidos Nucleicos Peptídicos (PNA) II. Modificación del esqueleto peptídico mediante reacciones catalizadas por Paladio en agua" [*Universidad de Santiago de Compostela*, **2002**].
[15] López-Deber, M. P.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Org. Lett.* **2001**, *3*, 2823-2826.
[16] Brea, R. J.; López-Deber, M. P.; Castedo, L.; Granja, J. R. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 7870-7873.
[17] Para otros métodos de preparación, ver: Van Hest, J. C. M.; Kiick, K. L.; Tirrell, D. A. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 1282-1288.

250.13 MHz, δ): 7.75 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.31 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 4.64 (d, *J* = 2.5 Hz, 2H), 2.49 (t, *J* = 2.5 Hz, 1H), 2.40 (s, 3H). **^{13}C RMN** ($CDCl_3$, 62.90 MHz, δ): 145.1 (C), 132.4 (C), 129.7 (CH), 127.8 (CH), 77.3 (C), 75.1 (CH), 57.2 (CH_2), 21.4 (CH_3). **EM (IQ)** [m/z (%)]: 211 ($[MH]^+$, 67), 155 (100), 130 (82), 91 (76). **EMAR (IQ) calculado** para $C_{10}H_{11}O_3S$ ($[MH]^+$) 211.042891, **encontrado** 211.043147.



63

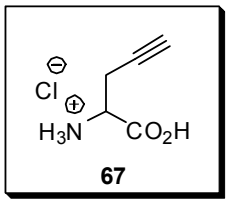
Dietil-α-acetamido-α-propargilmalonato (63).[16-18] Sobre una disolución de dietilacetamidomalonato (1.05 g, 4.75 mmol) en dioxano (30 mL) previamente enfriada a 0 ºC se añadió *tert*-butóxido potásico (0.59 g, 5.23 mmol). La suspensión resultante se agitó vigorosamente a 60 ºC durante 2 h. Transcurrido ese tiempo, se adicionó lentamente bromuro de propargilo (0.53 mL, 4.75 mmol), y la mezcla obtenida se calentó a reflujo durante 48 h. La suspensión resultante se filtró a vacío, y el residuo se lavó con Et_2O (3 × 10 mL). El filtrado se concentró a vacío proporcionando un aceite amarillo que se purificó mediante cromatografía en columna (10-30% AcOEt en hexanos), obteniéndose 1.08 g de **63** [89%, R_f = 0.54 (40% AcOEt en hexanos), cristales blancos]. **^{1}H RMN** ($CDCl_3$, 250.13 MHz, δ): 6.97 (s, 1H), 4.17 (dc, J_1 = 1.1 Hz, J_2 = 7.1 Hz, 4H), 3.17 (d, *J* = 2.6 Hz, 2H), 1.97 (s, 3H), 1.92 (t, *J* = 2.6 Hz, 1H), 1.17 (t, J = 7.1 Hz, 6H). **^{13}C RMN** ($CDCl_3$, 62.90 MHz, δ): 169.7 (CO), 166.9 (CO), 78.6 (C), 71.8 (CH), 65.6 (C), 63.2 (CH_2), 24.1 (CH_2), 23.2 (CH_3), 14.3 (CH_3). **EM (IQ)** [m/z (%)]: 256 ($[MH]^+$, 81), 214 (100), 182 (76), 140 (87). **EMAR (IQ) calculado** para $C_{12}H_{18}NO_5$ ($[MH]^+$) 256.118498, **encontrado** 256.118463.



65

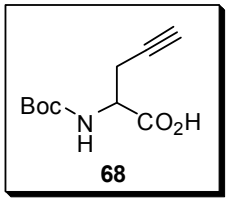
Ácido *DL*-N-acetil-2-aminopent-4-inoico (65).[16,17] Dietil-α-acetamido-α-propargilmalonato [(**63**), 5.00 g, 19.58 mmol] se disolvió en 10% NaOH (40 mL) y la mezcla se calentó a reflujo durante 5 h. La disolución resultante se enfrió a ta, se acidificó a pH 2 con HCl 6 M y se concentró a vacío, obteniéndose un sólido amarillo, el cual se disolvió en H_2O (80 mL). La disolución obtenida se calentó a reflujo durante 5 h y se filtró a través de una capa de carbón activo sobre Celita. El filtrado resultante se acidificó a pH 3 con HCl (10%) y se extrajo con AcOEt (5 × 100 mL). Las fases orgánicas combinadas se secaron con Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a vacío, obteniéndose 2.78 g de **65** [91%, R_f = 0.66 (70% MeOH en CH_2Cl_2 con 0.5% AcOH)]. **^{1}H RMN** (CD_3OD, 250.13 MHz, δ): 4.54 (t, *J* = 6.1 Hz, 1H), 2.70 (m, 2H), 2.37 (t, *J* = 2.6 Hz, 1H), 2.01 (s, 3H). **^{13}C RMN** (CD_3OD, 62.90 MHz, δ): 173.4 (CO), 173.3 (CO), 80.1 (C), 72.2 (CH), 52.7 (CH), 22.4 (CH_2), 22.4 (CH_3). **EM (IQ**) [m/z (%)]: 156 ($[MH]^+$, 86), 114 (100), 86 (48). **EMAR (IQ) calculado** para $C_7H_{10}NO_3$ ($[MH]^+$) 156.066068, **encontrado** 156.066316.

[18] Para otros métodos de preparación, ver: a) Baldwin, J. E.; Bradley, M.; Abbott, S. D.; Adlington, R. M.; *Tetrahedron* **1991**, *47*, 5309-5328. b) Leukart, O.; Caviezel, M.; Eberle, A.; Escher, E.; Tun-Kyi, A.; Schwyzer, R. *Helv. Chim. Acta* **1976**, *59*, 2181-2183. c) Coulter, A. W.; Talalay, P. *J. Biol. Chem.* **1968**, *243*, 3238-3247.



67

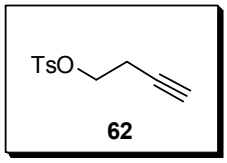
Hidrocloruro del ácido *DL*-2-aminopent-4-inoico (67).[16] Una disolución de ácido *DL*-N-acetil-2-aminopent-4-inoico [(**65**), 1.00 g, 6.45 mmol] en 20 mL de HCl 2 N se calentó a reflujo durante 2 h. La mezcla resultante se enfrió a ta y se concentró a vacío, obteniéndose un residuo amarillo, el cual se trató con La adición de acetona dio lugar a un precipitado blanco que se filtró a vacío, obteniéndose 0.89 g de **67** [91%, R_f = 0.52 (70% MeOH en CH_2Cl_2 con 1% AcOH), sólido blanco]. **^{1}H RMN** (D_2O, 250.13 MHz, δ): 3.43 (t, *J* = 5.5 Hz, 1H), 2.52 (d, *J* = 4.8 Hz, 1H), 2.30 (s, 1H). **EM (IQ)** [m/z (%)]: 114 ([MH]$^+$, 58), 74 (26), 68 (59). **EMAR (IQ) calculado** para $C_5H_8NO_2$ ([MH]$^+$) 114.055504, **encontrado** 114.055674.



68

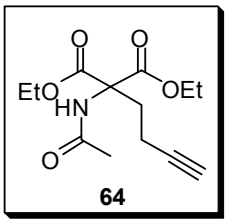
***DL*-N-Boc-propargilglicina (68).**[16] Sobre una disolución de hidrocloruro del ácido *DL*-2-aminopent-4-inoico [(**67**), 400 mg, 2.65 mmol] en H_2O (10 mL) y dioxano (10 mL) se añadió Boc_2O (868 mg, 3.98 mmol) y DIEA (1.39 mL, 7.97 mmol). Después de 3 h agitando a ta, la disolución resultante se acidificó a pH 3 con HCl (10%) y se extrajo con CH_2Cl_2 (3 × 25 mL). Las fases orgánicas combinadas se secaron con Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a vacío, proporcionando un aceite amarillo que se purificó mediante cromatografía en columna (0-3% MeOH en CH_2Cl_2), obteniéndose 547 mg de **68** [97%, R_f = 0.73 (70% MeOH en CH_2Cl_2 con 1% AcOH), espuma blanca]. **^{1}H RMN** ($CDCl_3$, 250.13 MHz, δ): 10.53 (s ancho, 1H), 6.52 (d, *J* = 6.3 Hz, 0.25H), 5.41 (d, *J* = 8.3 Hz, 0.75H), 4.68-4.15 (m, 1H), 2.77 (m, 2H), 2.07 (t, *J* = 2.5 Hz, 1H), 1.45 (s, 9H). **^{13}C RMN** ($CDCl_3$, 62.90 MHz, δ): 175.2 (CO), 155.4 (CO), 80.6 (C), 78.3 (C), 71.9 (CH), 51.7 (CH), 28.2 (CH_3), 22.5 (CH_2). **EM (IQ)** [m/z (%)]: 214 ([MH]$^+$, 65), 158 (100), 142 (38), 114 ([MH -Boc]$^+$, 91). **EMAR (IQ) calculado** para $C_{10}H_{16}NO_4$ ([MH]$^+$) 214.107933, **encontrado** 214.107925.

26.1.3. SÍNTESIS DE ÁCIDO *DL*-N-ACETIL-2-AMINOHEX-5-INOICO



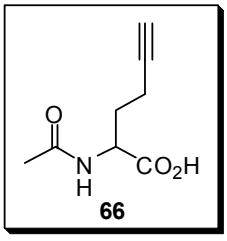
62

1-(4-metilbencenosulfonato) de 3-butino (62).[16,17] Sobre una disolución de 3-butin-1-ol (3.24 mL, 42.80 mmol) en Et_2O (100 mL) se añadió cloruro de tosilo (12.24 g, 64.20 mmol) a 0 ºC. La disolución resultante se agitó durante 15 min. Transcurrido ese tiempo se añadió KOH (7.20 g, 128.40 mmol) y la mezcla obtenida se agitó a ta durante 24 h. La suspensión resultante se lavó con HCl [(5%), 3 × 25 mL], se secó con Na_2SO_4, se filtró y se concentró a vacío. El crudo se purificó mediante cromatografía en columna (5-15% AcOEt en hexanos), obteniéndose 9.52 g de **62** [99%, R_f = 0.51 (20% AcOEt en hexanos), aceite incoloro]. **^{1}H RMN** ($CDCl_3$, 250.13 MHz, δ): 7.76 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.32 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 4.06 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H), 2.51 (dt, J_1 = 6.9 Hz, J_2 = 2.6 Hz, 2H), 2.41 (s, 3H), 1.95 (t, *J* = 2.7 Hz, 1H). **^{13}C RMN** ($CDCl_3$, 62.90 MHz, δ): 144.9 (C), 132.5 (C), 129.7 (CH), 127.7 (CH), 78.3 (C), 70.7 (CH), 67.4 (CH_2), 21.4 (CH_3), 19.2 (CH_2). **EM (IQ)** [m/z (%)]: 225 ([MH]$^+$, 100), 173 (32), 155 (66), 139 (23). **EMAR (IQ) calculado** para $C_{11}H_{13}O_3S$ ([MH]$^+$) 225.058541, **encontrado** 225.058691.



64

Dietil-α-acetamido-α-homopropargilmalonato (64).[16-18] Sobre una disolución de dietilacetamidomalonato (6.33 g, 28.54 mmol) en dioxano (128 mL) previamente enfriada a 0º C se añadió *tert*-butóxido potásico (3.52 g, 31.39 mmol). La suspensión resultante se agitó vigorosamente a 60 ºC durante 2 h. A continuación, se adicionó lentamente 1-(4-metilbenceno-sulfonato) de 3-butino [(**62**), 6.40 g, 28.54 mmol], y la mezcla obtenida se calentó a reflujo durante 48 h. La suspensión resultante se filtró a vacío, y el residuo se lavó con Et_2O (3 × 50 mL). El filtrado se concentró a vacío proporcionando un aceite amarillo que se purificó mediante cromatografía en columna (10-20% AcOEt en hexanos), obteniéndose 5.40 g de **64** [70%, R_f = 0.58 (40% AcOEt en hexanos), cristales ligeramente amarillos]. **^{1}H RMN** ($CDCl_3$, 250.13 MHz, δ): 6.82 (s, 1H), 4.19 (dc, J_1 = 2.7 Hz, J_2 = 7.1 Hz, 4H), 2.57 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 2.10 (dt, J_1 = 2.6 Hz, J_2 = 7.3 Hz, 2H), 2.01 (s, 3H), 1.90 (t, J = 2.6 Hz, 1H), 1.21 (t, J = 7.1 Hz, 6H). **^{13}C RMN** ($CDCl_3$, 62.90 MHz, δ): 169.2 (CO), 167.6 (CO), 82.5 (C), 68.9 (CH), 65.6 (C), 62.6 (CH_2), 30.7 (CH_2), 22.9 (CH_3), 13.8 (CH_3), 13.2 (CH_2). **EM (IQ)** [m/z (%)]: 270 ($[MH]^+$, 100), 228 (42), 154 (27). **EMAR (IQ) calculado** para $C_{13}H_{20}NO_5$ ($[MH]^+$) 270.134148, **encontrado** 270.134373. **P_f** : 55-59 ºC.



66

Ácido *DL*-N-acetil-2-aminohex-5-inoico (66).[16,17] Dietil-α-acetamido-α-homopropargilmalonato [(**64**), 3.00 g, 11.14 mmol] se disolvió en 10% NaOH (30 mL) y la mezcla se calentó a reflujo durante 5 h. La disolución resultante se enfrió, se acidificó a pH 2 con HCl 6 M y se concentró a vacío, obteniéndose un sólido amarillo, el cual se disolvió en H_2O (45 mL). La disolución obtenida se calentó a reflujo durante 5 h y se filtró a través de una capa de carbón activo sobre Celita. El filtrado resultante se acidificó a pH 3 con HCl (10%) y se extrajo con AcOEt (5 × 100 mL). Las fases orgánicas combinadas se secaron con Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a vacío. El crudo se cristalizó de $CHCl_3$/hexanos (1:1), obteniéndose 1.33 g de **66** [71%, R_f = 0.72 (70% MeOH en CH_2Cl_2 con 0.5% AcOH), cristales blancos]. **^{1}H RMN** (d_6-DMSO, 250.13 MHz, δ): 12.63 (s ancho, 1H), 8.13 (d, J = 7.3 Hz, 1H), 4.23 (dd, J_1 = 8.8 Hz, J_2 = 12.3 Hz, 1H), 2.81 (s, 1H), 2.21 (m, 2H), 1.84 (s, 3H), 1.72 (m, 2H). **^{13}C RMN** (d_6-DMSO, 62.90 MHz, δ): 173.7 (CO), 169.4 (CO), 83.2 (C), 71.8 (CH), 50.9 (CH), 30.2 (CH_2), 22.3 (CH_3), 14.8 (CH_2). **EM (IQ)** [m/z (%)]: 170 ($[MH]^+$, 100), 128 (96). **EMAR (IQ) calculado** para $C_8H_{12}NO_3$ ($[MH]^+$) 170.081718, **encontrado** 170.081476. **P_f**: 127-130 ºC.

26.1.4. RESOLUCIÓN ENZIMÁTICA DE LOS (HOMO)PROPARGILDERIVADOS

Preparación de *L*- y *D*-propargilglicina. ***Procedimiento general para resoluciones cinéticas*.**[16,19] Una disolución de la mezcla racémica ácido *DL*-N-acetil-2-aminopent-4-inoico [(**65**), 1.00 g, 6.45 mmol] en H_2O destilada (70 mL) se trató con suficiente LiOH como para conseguir un pH 7.5-8.0. A continuación se añadió Acilasa I (5.2 mg; 8.3 U de enzima por mmol de acil *L*-aminoácido) y la mezcla resultante se incubó a 37 ºC durante 24 h. Transcurrido ese tiempo, la disolución obtenida se ajustó a pH 5.0 con HCl (10%) y se filtró a través de una capa

[19] Chenault, H. K.; Dahmer, J.; Whitesides, G. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 6354-6364.

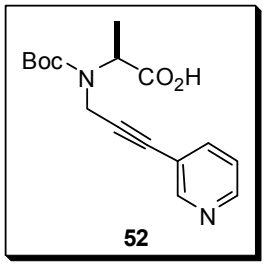
de carbón activo. El filtrado se acidificó a pH 1.5 con HCl (10%) y se extrajo con AcOEt (5 × 25 mL). La fase acuosa se concentró a vacío hasta un volumen aproximado de 1 mL, y entonces se introdujo en una columna de intercambio iónico de tipo Dowex-50 (H^+), lavando con agua hasta alcanzar el pH neutro y eluyendo a continuación con NH_3 [ac., (10%)]. La disolución resultante se concentró a presión reducida y el residuo obtenido se trató con acetona, dando lugar a 259 mg de *L*-propargilglicina (*L*-Pra), cuyas propiedades espectroscópicas y físicas coinciden con las previamente documentadas [71%, R_f = 0.47 (70% MeOH en CH_2Cl_2), ee > 99%, sólido blanco].[19]

Por otra parte, la fase orgánica se secó con Na_2SO_4, se filtró y se concentró a vacío, obteniéndose la correspondiente *D*-N-acetil-propargiglicina en forma de sólido blanco, la cual se hidrolizó mediante calentamiento a reflujo en HCl (10%) durante 2 h. La *D*-propargilglicina (*D*-Pra) se aisló de la mezcla de hidrólisis mediante cromatografía de intercambio catiónico, de la misma forma que se mostró para el caso del *L*-derivado, obteniéndose 196 mg [54%, R_f = 0.47 (70% MeOH en CH_2Cl_2), ee > 99%, sólido blanco].

Las purezas enantioméricas de los aminoácidos se determinaron mediante el test de Marfey.[20] *L*-propargilglicina (1 mg) se disolvió en H_2O (100 μL) y se trató con una disolución de la amida de 1-fluoro-2-4-dinitrofenil-5-*L*-alanina (2 mg) en acetona (200 μL). La mezcla resultante se trató con $NaHCO_3$ (1 M, 40 μL) y se calentó a 40 ºC durante 1 h. Transcurrido ese tiempo, la disolución se enfrió a ta y se trató con HCl (2 M, 20 μL). Finalmente, la mezcla obtenida se inyectó en el HPLC (columna C18, 10-40% B en 45 min) y los excesos enantioméricos se estimaron mediante relación de áreas de los picos correspondientes con los *D*- y *L*-diastereoisómeros.

Preparación de *L*- y *D*-homopropargilglicina. Se sintetizaron empleando el procedimiento descrito para *L*- y *D*-propargilglicina a partir de ácido *DL*-N-acetil-2-aminohex-5-inoico [(**66**), 1.00 g, 5.92 mmol], obteniéndose 296 mg de *L*-homopropargilglicina (*L*-^{H}Pra) [79%, R_f = 0.52 (70% MeOH en CH_2Cl_2), ee > 99%, sólido blanco] y 218 mg de *D*-homopropargilglicina (*D*-^{H}Pra) [58%, R_f = 0.52 (70% MeOH en CH_2Cl_2), ee > 99%, sólido blanco].

26.1.5. SÍNTESIS DE *L*-N-BOC-N-(HETERO)ARILPROPARGILALANINAS

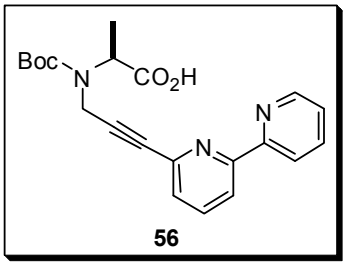


52

L*-N-Boc-N-[3-(3'-piridil)prop-2-inil]alanina (52).**[14-16] ***Procedimiento general de acoplamiento de Sonogashira. Una disolución de Cs_2CO_3 (1.79 g, 5.51 mmol) y 4-DPPBA (0.14 g, 0.44 mmol) en una mezcla 1:1 de DMF/H_2O (22 mL) se agitó y desoxigenó a ta durante 15 min. A continuación, se añadió CuI (0.084 g, 0.44 mmol), 10% Pd/C (0.12 g, 0.11 mmol) y 3-bromopiridina (0.23 mL, 2.42 mmol), y la suspensión obtenida se agitó y desoxigenó a ta durante 30 min. Transcurrido ese tiempo, se añadió *L*-N-Boc-N-propargilalanina [(**51**), 0.50 g, 2.20 mmol], y la mezcla resultante se calentó a 80 ºC durante 4 h. Posteriormente, se filtró a través de Celita, el residuo se lavó con MeOH (3 × 5 mL), y el filtrado obtenido se concentró a vacío. El crudo se purificó mediante

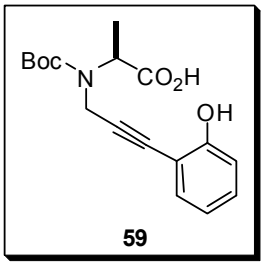
[20] Marfey, P. *Carlsberg Res. Commun.* **1984**, *49*, 591-596.

cromatografía en columna (0-2% MeOH en CH_2Cl_2 con 1% AcOH), obteniéndose 0.58 g de **52** [86%, R_f = 0.45 (5% MeOH en CH_2Cl_2 con 1% AcOH), aceite incoloro]. **^{1}H RMN** ($CDCl_3$, 250.13 MHz, δ): 10.42 (s ancho, 1H), 8.57 (s, 1H), 8.46 (d, *J* = 3.4 Hz, 1H), 7.67 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.20 (dd, J_1 = 3.4 Hz, J_2 = 7.7 Hz, 1H), 4.78 (s ancho, 0.5H), 4.38-4.03 (m, 2.5H), 1.52 (d, *J* = 7.2 Hz, 3H), 1.40 (s, 9H). **^{13}C RMN** ($CDCl_3$, 62.90 MHz, δ): 175.9 (CO), 155.1 (CO), 151.3 (CH), 147.5 (CH), 140.0 (CH), 123.9 (CH), 121.5 (C), 90.7 y 90.1 (C), 81.7 (C), 80.7 y 79.4 (C), 55.4 y 54.2 (CH), 36.5 y 35.7 (CH_2), 28.7 (CH_3), 16.8 y 15.8 (CH_3). **EM (IE)** [m/z (%)]: 305 ([M]$^+$, 2), 247 (41), 231 ([M -Boc]$^+$, 11), 203 (28). **EMAR (IE) calculado** para $C_{16}H_{20}N_2O_4$ ([M]$^+$) 304.142307, **encontrado** 304.142035.



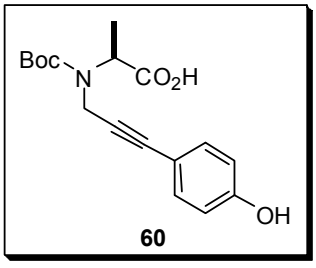
56

***L*-N-Boc-N-[3-(2'-bipiridil)prop-2-inil]alanina (56).**[16] El compuesto señalado se sintetizó empleando el procedimiento general descrito para **52** a partir de **51** (50 mg, 220 μmol), obteniéndose 37 mg de dicho compuesto [45%, R_f = 0.51 (5% MeOH en CH_2Cl_2 con 1% AcOH), sólido blanco]. **^{1}H RMN** ($CDCl_3$, 250.13 MHz, δ): 10.97 (s ancho, 1H), 8.92-8.39 (m, 2H), 8.17 (d, J = 6.21 Hz, 1H), 7.89-7.06 (m, 4H), 5.05-4.00 (m, 3H), 1.60 (d, *J* = 7.2 Hz, 3H), 1.46 (s, 9H). **EM (IQ**) [m/z (%)]: 382 ([MH]$^+$, 47), 327 (32), 281 ([MH -Boc]$^+$, 100). **EMAR (IQ) calculado** para $C_{21}H_{24}N_3O_4$ ([MH]$^+$) 382.176680, **encontrado** 382.176723.



59

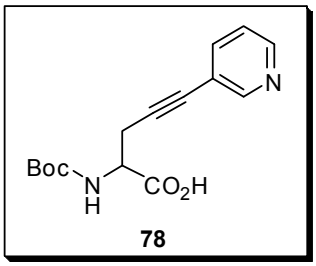
***L*-N-Boc-N-[3-(2'-fenol)prop-2-inil]alanina (59).**[16] El compuesto señalado se sintetizó empleando el procedimiento general descrito para **52** a partir de **51** (50 mg, 220 μmol), obteniéndose 62 mg de dicho compuesto [89%, R_f = 0.61 (50% AcOEt en CH_2Cl_2), aceite amarillo]. **EM (IQ**) [m/z (%)]: 320 ([MH]$^+$, 8), 265 (15), 219 ([MH -Boc]$^+$, 29), 133 (100). **EMAR (IQ) calculado** para $C_{17}H_{22}NO_5$ ([MH]$^+$) 320.360281, **encontrado** 320.361003.



60

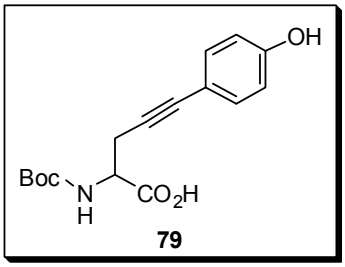
***L*-N-Boc-N-[3-(4'-fenol)prop-2-inil]alanina (60).**[16] El compuesto señalado se sintetizó empleando el procedimiento general descrito para **52** a partir de **51** (50 mg, 220 μmol), obteniéndose 65 mg de dicho compuesto [93%, R_f = 0.57 (50% AcOEt en CH_2Cl_2), aceite amarillo]. **EM (IQ**) [m/z (%)]: 320 ([MH]$^+$, 16), 264 (32), 220 ([MH -Boc]$^+$, 49), 133 (81). **EMAR (IQ) calculado** para $C_{17}H_{22}NO_5$ ([MH]$^+$) 320.360281, **encontrado** 320.360116.

26.1.6. SÍNTESIS DE *DL*-N-BOC-(HETERO)ARILPROPARGILGLICINAS



78

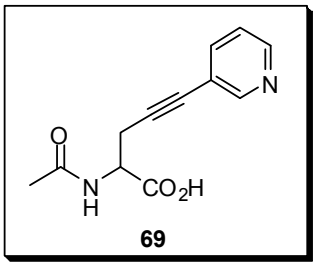
***DL*-N-Boc-(3-piridil)propargilglicina (78).**[16] El compuesto señalado se sintetizó empleando el procedimiento general descrito para **52** a partir de *DL*-N-Boc-propargilglicina [(**68**), 200 mg, 952 μmol], obteniéndose 253 mg de dicho compuesto [93%, R_f = 0.52 (10% MeOH en CH_2Cl_2 con 1% AcOH), espuma amarilla]. **^{1}H RMN** (MeOD, 250.13 MHz, δ): 9.65-8.02 (m, 2H), 8.01-7.18 (m, 2H), 4.39 (m, 1H), 3.00 (m, 2H), 1.45 (s, 9H). **^{13}C RMN** (CD_3OD, 62.90 MHz, δ): 175.7 (CO), 157.5 (CO), 152.3 (CH), 148.5 (CH), 140.7 (CH), 124.9 (CH), 122.4 (C), 91.3 (C), 79.7 (C), 49.9 (CH), 28.7 (CH_3), 24.3 (CH_2). **EM (ESI)** [m/z (%)]: 291 ($[MH]^+$, 44), 235 (100). **EMAR (ESI) calculado** para $C_{15}H_{19}N_2O_4$ ($[MH]^+$) 291.1345, **encontrado** 291.1351.



79

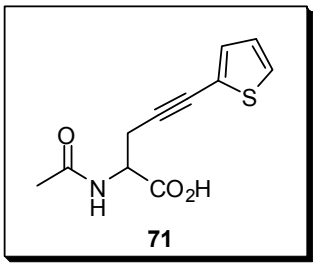
***DL*-N-Boc-(4-fenol)propargilglicina (79).**[16] El compuesto señalado se sintetizó empleando el procedimiento general descrito para **52** a partir de **68** (150 mg, 714 μmol), obteniéndose 195 mg de dicho compuesto [91%, R_f = 0.58 (10% MeOH en CH_2Cl_2 con 1% AcOH), aceite marrón]. **EM (ESI)** [m/z (%)]: 306 ($[MH]^+$, 4), 251 (100), 205 ($[MH - Boc]^+$, 18). **EMAR (ESI) calculado** para $C_{16}H_{20}NO_5$ ($[MH]^+$) 306.1341, **encontrado** 306.1348.

26.1.7. SÍNTESIS DE ÁCIDOS *DL*-N-ACETIL-(HETERO)ARIL-2-AMINOPENT-4-INOICOS



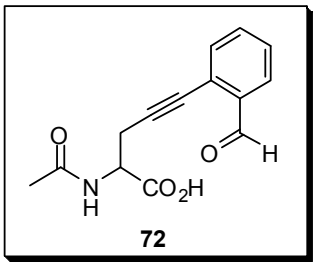
69

Ácido *DL*-N-acetil-(3'-piridil)-2-aminopent-4-inoico (69).[16] El compuesto señalado se sintetizó empleando el procedimiento general descrito para **52** a partir de ácido *DL*-N-acetil-2-aminopent-4-inoico [(**65**), 150 mg, 968 μmol], obteniéndose 215 mg de dicho compuesto [96%, R_f = 0.61 (50% MeOH en CH_2Cl_2 con 1% AcOH), espuma amarilla]. **^{1}H RMN** (CD_3OD, 250.13 MHz, δ): 8.62-8.30 (m, 2H), 7.79 (dd, J_1 = 1.6 Hz, J_2 = 7.9 Hz, 1H), 7.34 (dd, J_1 = 4.9 Hz, J_2 = 7.8 Hz, 1H), 4.46 (t, J = 5.7 Hz, 1H), 2.93 (dd, J_1 = 5.8 Hz, J_2 = 8.4 Hz, 2H), 1.99 (s, 3H). **^{13}C RMN** (CD_3OD, 62.90 MHz, δ): 179.4 (CO), 172.8 (CO), 152.6 (CH), 148.6 (CH), 140.7 (CH), 124.9 (CH), 123.0 (C), 92.1 (C), 79.3 (C), 50.0 (CH), 24.3 (CH_2), 22.9 (CH_3). **EM (IQ)** [m/z (%)]: 233 ($[MH]^+$, 7), 215 (17), 174 (61). **EMAR (IQ) calculado** para $C_{12}H_{13}N_2O_3$ ($[MH]^+$) 233.092617, **encontrado** 233.092474.



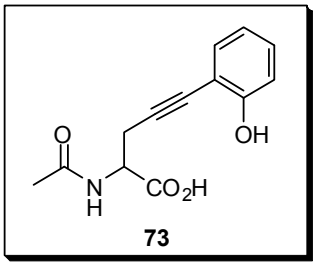
71

Ácido *DL*-N-acetil-(2'-tiofenil)-2-aminopent-4-inoico (71).[16] El compuesto señalado se sintetizó empleando el procedimiento general descrito para **52** a partir de **65** (50 mg, 322 μmol), obteniéndose 67 mg de dicho compuesto [88%, R_f = 0.79 (50% MeOH en CH_2Cl_2 con 1% AcOH), aceite amarillo]. **^{1}H RMN** (MeOD, 250.13 MHz, δ): 7.35 (m, 1H), 7.07 (m, 1H), 6.89 (m, 1H), 4.55 (m, 1H), 2.71 (m, 2H), 2.01 (s, 3H). **^{13}C RMN** (MeOD, 62.90 MHz, δ): 173.4 (CO), 173.3 (CO), 131.1 (CH), 128.9 (CH), 128.5 (CH), 122.7 (C), 92.1 (C), 77.7 (C), 52.6 (CH), 24.6 (CH_3), 22.4 (CH_3). **EM (IQ)** [m/z (%)]: 238 ([MH]$^+$, 9), 220 (23), 183 (46). **EMAR (IQ) calculado** para $C_{11}H_{12}NO_3S$ ([MH]$^+$) 238.053795, **encontrado** 238.053664.



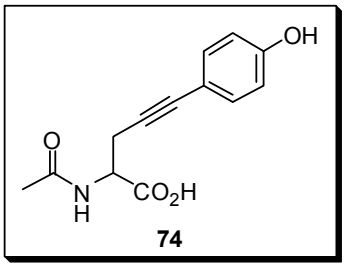
72

Ácido *DL*-N-acetil-(2'-fenilaldehido)-2-aminopent-4-inoico (72).[16] El compuesto señalado se sintetizó empleando el procedimiento general descrito para **52** a partir de **65** (50 mg, 322 μmol), obteniéndose 78 mg de dicho compuesto [94%, R_f = 0.50 (50% MeOH en CH_2Cl_2 con 1% AcOH), espuma naranja]. **^{1}H RMN** (CD_3OD, 250.13 MHz, δ): 10.42 (s, 1H), 7.52 (m, 1H), 7.44-7.10 (m, 3H), 4.56 (t, *J* = 5.8 Hz, 1H), 2.98 (m, 2H), 2.02 (s, 3H). **^{13}C RMN** (CD_3OD, 62.90 MHz, δ): 193.7 (CO), 173.1 (CO), 173.0 (CO), 140.7 (C), 133.2 (CH), 129.5 (CH), 128.8 (CH), 127.5 (CH), 123.6 (C), 92.0 (C), 81.0 (C), 49.9 (CH), 24.2 (CH_2), 22.8 (CH_3). **EM (IQ)** [m/z (%)]: 260 ([MH]$^+$, 7), 204 (28). **EMAR (IQ) calculado** para $C_{14}H_{14}NO_4$ ([MH]$^+$) 260.092281, **encontrado** 260.092734.



73

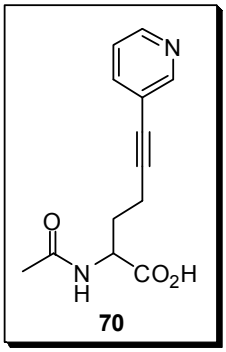
Ácido *DL*-N-acetil-(2'-fenol)-2-aminopent-4-inoico (73).[16] El compuesto señalado se sintetizó empleando el procedimiento general descrito para **52** a partir de **65** (50 mg, 322 μmol), obteniéndose 73 mg de dicho compuesto [92%, R_f = 0.65 (50% MeOH en CH_2Cl_2 con 1% AcOH), aceite amarillo]. **^{1}H RMN** (CD_3OD, 250.13 MHz, δ): 7.41 (dd, J_1 = 2.1 Hz, J_2 = 6.5 Hz, 1H), 7.33 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 7.20-7.04 (m, 2H), 6.51 (s, 1H), 4.75 (dd, J_1 = 4.1 Hz, J_2 = 7.4 Hz, 1H), 3.43-3.06 (m, 2H), 1.89 (s, 3H). **^{13}C RMN** (CD_3OD, 62.90 MHz, δ): 175.6 (CO), 173.2 (CO), 156.2 (C), 130.1 (C), 127.7 (CH), 124.6 (CH), 123.6 (CH), 121.5 (CH), 102.9 (C), 78.8 (C), 49.9 (CH), 31.8 (CH_2), 22.5 (CH_3). **EM (IQ)** [m/z (%)]: 248 ([MH]$^+$, 66), 206 (82), 188 (59), 160 (88), 131 (59). **EMAR (IQ) calculado** para $C_{13}H_{14}NO_4$ ([MH]$^+$) 248.092283, **encontrado** 248.092419.



74

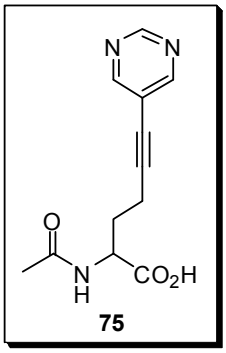
Ácido *DL*-N-acetil-(4'-fenol)-2-aminopent-4-inoico (74).[16] El compuesto señalado se sintetizó empleando el procedimiento general descrito para **52** a partir de **65** (100 mg, 645 μmol), obteniéndose 147 mg de dicho compuesto [93%, R_f = 0.63 (50% MeOH en CH_2Cl_2 con 1% AcOH), aceite amarillo]. **EM (IQ)** [m/z (%)]: 248 ($[MH]^+$, 24), 193 (69), 133 (78). **EMAR (IQ) calculado** para $C_{13}H_{14}NO_4$ ($[MH]^+$) 248.092283, **encontrado** 248.091962.

26.1.8. SÍNTESIS DE ÁCIDOS *DL*-N-ACETIL-(HETERO)ARIL-2-AMINOHEX-5-INOICOS



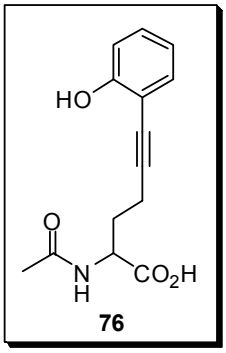
70

Ácido *DL*-N-acetil-(3'-piridil)-2-aminohex-5-inoico (70).[16] El compuesto señalado se sintetizó empleando el procedimiento general descrito para **52** a partir de ácido *DL*-N-acetil-2-aminohex-5-inoico [(**66**), 55 mg, 325 μmol], obteniéndose 68 mg de dicho compuesto [86%, R_f = 0.68 (70% MeOH en CH_2Cl_2 con 1% AcOH), sólido amarillo]. **^{1}H RMN** (CD_3OD, 250.13 MHz, δ): 8.47 (dd, J_1 = 7.0 Hz, J_2 = 18.7 Hz, 2H), 7.81 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 7.36 (dd, J_1 = 5.0 Hz, J_2 = 7.4 Hz, 1H), 4.42 (m, 1H), 2.54 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 2.19 (m, 2H), 2.00 (s, 3H). **^{13}C RMN** (CD_3OD, 62.90 MHz, δ): 179.0 (CO), 173.1 (CO), 152.5 (CH), 148.5 (CH), 140.6 (CH), 124.9 (CH), 123.0 (C), 94.7 (C), 78.2 (C), 49.3 (CH), 32.6 (CH_2), 22.9 (CH_3), 17.1 (CH_2). **EM (FAB)** [m/z (%)]: 247 ($[MH]^+$, 7), 223 (12), 207 (11), 131 (5), 115 (15). **EMAR (FAB) calculado** para $C_{13}H_{15}N_2O_3$ ($[MH]^+$) 247.108268, **encontrado** 247.108988.



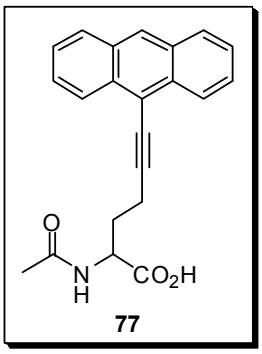
75

Ácido *DL*-N-acetil-(5'-pirimidil)-2-aminohex-5-inoico (75).[16] El compuesto señalado se sintetizó empleando el procedimiento general descrito para **52** a partir de **66** (50 mg, 296 μmol), obteniéndose 59 mg de dicho compuesto [82%, R_f = 0.59 (70% MeOH en CH_2Cl_2 con 1% AcOH), sólido blanco]. **EM (IQ**) [m/z (%)]: 248 ($[MH]^+$, 12), 205 (72), 189 (27), 160 (91). **EMAR (IQ) calculado** para $C_{12}H_{14}N_3O_3$ ($[MH]^+$) 248.103522, **encontrado** 248.104134.



76

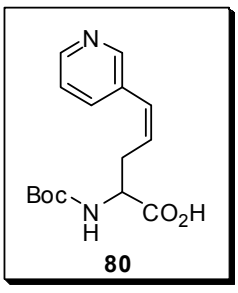
Ácido *DL*-N-acetil-(2'-fenol)-2-aminohex-5-inoico (76).[16] El compuesto señalado se sintetizó empleando el procedimiento general descrito para **52** a partir de **66** (50 mg, 296 μmol), obteniéndose 69 mg de dicho compuesto [90%, R_f = 0.73 (70% MeOH en CH_2Cl_2 con 1% AcOH), aceite marrón]. **^{1}H RMN** (CD_3OD, 250.13 MHz, δ): 7.43 (m, 1H), 7.33 (m, 1H), 7.12 (ddd, J_1 = 1.6 Hz, J_2 = 4.7 Hz, J_3 = 6.5 Hz, 2H), 6.52 (d, J = 0.8 Hz, 1H), 4.39 (dd, J_1 = 4.7 Hz, J_2 = 9.0 Hz, 1H), 2.88-2.79 (m, 2H), 2.36-1.97 (m, 2H), 1.94 (s, 3H). **EM (IQ)** [m/z (%)]: 262 ($[MH]^+$, 27), 207 (46), 147 (79). **EMAR (IQ) calculado** para $C_{14}H_{16}NO_4$ ($[MH]^+$) 262.107932, **encontrado** 262.107963.



77

Ácido *DL*-N-acetil-(9'-antracenil)-2-aminohex-5-inoico (77).[16] El compuesto señalado se sintetizó empleando el procedimiento general descrito para **52** a partir de **66** (50 mg, 296 μmol), obteniéndose 88 mg de dicho compuesto [87%, R_f = 0.76 (70% MeOH en CH_2Cl_2 con 1% AcOH), sólido amarillo]. **^{1}H RMN** (DMSO-d_6, 250.13 MHz, δ): 12.66 (s ancho, 1H), 8.71 (s, 1H), 8.40 (d, J = 8.9 Hz, 2H), 8.18-8.12 (m, 3H), 7.75-7.55 (m, 4H), 4.26 (ddd, J_1 = 4.7 Hz, J_2 = 7.9 Hz, J_3 = 9.4 Hz, 1H), 2.23 (dt, J_1 = 2.5 Hz, J_2 = 7.1 Hz, J_3 = 7.3 Hz, 2H), 2.00-1.65 (m, 5H). **^{13}C RMN** (DMSO-d_6, 62.90 MHz, δ): 173.4 (CO), 169.5 (CO), 131.7 (C), 129.8 (C), 128.8 (CH), 128.0 (CH), 127.5 (CH), 126.6 (CH), 125.9 (CH), 120.9 (C), 96.0 (C), 80.2 (C), 50.9 (CH), 29.0 (CH_2), 22.3 (CH_3), 12.9 (CH_2). **EM (IQ)** [m/z (%)]: 346 ($[MH]^+$, 6), 287 (32), 258 (36), 229 (65). **EMAR (IQ) calculado** para $C_{22}H_{20}NO_3$ ($[MH]^+$) 346.144327, **encontrado** 346.144682.

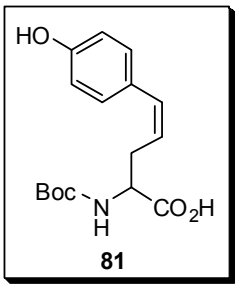
26.1.9. SEMI-HIDROGENACIÓN DE AMINOÁCIDOS (HETERO)ARILPROPARGILADOS



80

Ácido *DL-(Z)*-N-Boc-(3'-piridil)-2-aminopent-4-enoico (80).[16] Sobre una disolución de **78** (60 mg, 0.21 mmol) y quinoleina (50 μL, 0.42 mmol) en MeOH (2 mL) se añadió catalizador de Lindlar (50 mg), y la suspensión se agitó a ta bajo atmósfera de H_2 durante 8 h. Una vez eliminado el H_2, la mezcla resultante se filtró a través de Celita, y el residuo se lavó con MeOH (2 × 250 μL). Sobre el filtrado obtenido se añadió más cantidad de catalizador de Lindlar (100 mg), y la suspensión resultante se agitó a ta bajo atmósfera de H_2 durante 3 h. Una vez eliminado el H_2, se filtró a través de Celita lavando con MeOH (2 × 500 μL) y se concentró a vacío. El crudo se purificó mediante cromatografía en columna (0-8% MeOH en CH_2Cl_2 con 0.5% AcOH), dando lugar a 49 mg de **80** en forma de espuma marrón [82%, R_f = 0.20 (5% MeOH en CH_2Cl_2 con 1% AcOH)]. **^{1}H RMN** ($CDCl_3$, 250.13 MHz, δ): 8.82-8.23 (m, 2H), 7.68 (d, J = 7.7 Hz, 1H), 7.34 (m, 1H), 6.46 (d, J = 11.6 Hz, 1H), 5.92 (ddd, J_1 = 7.2 Hz, J_2 = 9.8 Hz, J_3 = 11.7 Hz, 1H), 5.59 (s ancho, 1H), 4.40 (m, 1H), 2.82 (m, 2H), 1.42 (s, 9H). **^{13}C RMN** ($CDCl_3$, 62.90 MHz, δ): 175.2 (CO), 155.5 (CO), 147.5 (CH), 145.5 (CH), 137.7 (CH),

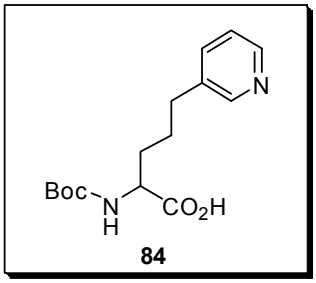
133.8 (C), 130.8 (CH), 127.0 (CH), 123.9 (CH), 79.6 (C), 53.7 (CH), 29.7 (CH_2), 28.3 (CH_3). **EM (ESI**) [m/z (%)]: 293 ($[MH]^+$, 100), 316 ($[M+Na]^+$, 72), 332 ($[M+K]^+$, 8). **EMAR (ESI) calculado** para $C_{15}H_{21}N_2O_4$ ($[MH]^+$) 293.1496, **encontrado** 293.1484.



81

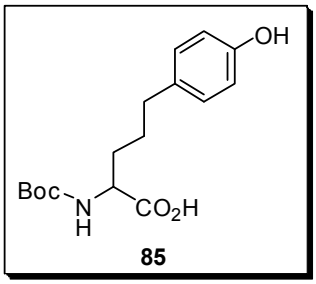
Ácido *DL-(Z)*-N-Boc-(4'-fenol)-2-aminopent-4-enoico (81).[16] El compuesto señalado se sintetizó empleando un procedimiento similar al descrito para **80** a partir de **79** (50 mg, 164 μmol), obteniéndose 43 mg de dicho compuesto [86%, R_f = 0.50 (10% MeOH en CH_2Cl_2 con 1% AcOH), aceite marrón]. **EM (ESI**) [m/z (%)]: 308 ($[MH]^+$, 100), 331 ($[M+Na]^+$, 32). **EMAR (ESI) calculado** para $C_{16}H_{22}NO_5$ ($[MH]^+$) 308.1498, **encontrado** 308.1422.

26.1.10. HIDROGENACIÓN DE AMINOÁCIDOS (HETERO)ARILPROPARGILADOS



84

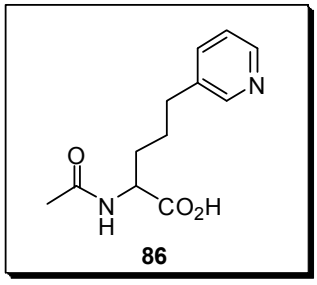
Ácido *DL*-N-Boc-(3'-piridil)-2-aminopentanoico (84).[16] Sobre una disolución de **78** (50 mg, 0.17 mmol) en MeOH (2 mL) se añadió 10% Pd/C (37 mg, 0.03 mmol), y la suspensión se agitó a ta bajo atmósfera de H_2 durante 2 h. Una vez eliminado el H_2, la mezcla resultante se filtró a través de Celita, y el residuo se lavó con MeOH (3 × 2 mL). El filtrado obtenido se concentró a presión reducida, dando lugar a 50 mg de **84** en forma de espuma blanca [98%, R_f = 0.54 (10% MeOH en CH_2Cl_2 con 1% AcOH)]. **^{1}H RMN** ($CDCl_3$, 250.13 MHz, δ): 10.71 (s ancho, 1H), 9.53-7.35 (m, 4H), 5.53 (m, 1H), 4.38 (m, 1H), 3.71 (m, 1H), 3.41-2.47 (m, 3H), 1.77 (m, 2H), 1.43 (s, 9H). **^{13}C RMN** (MeOD, 62.90 MHz, δ): 175.5 (CO), 157.3 (CO), 149.6 (CH), 148.1 (CH), 137.9 (C), 136.7 (CH), 124.5 (CH), 79.7 (C), 49.9 (CH), 34.9 (CH_2), 30.7 (CH_2), 28.7 (CH_3), 25.2 (CH_2). **EM (ESI**) [m/z (%)]: 295 ($[MH]^+$, 100). **EMAR (ESI) calculado** para $C_{15}H_{23}N_2O_4$ ($[MH]^+$) 295.1652, **encontrado** 295.1656.



85

Ácido *DL*-N-Boc-(4'-fenol)-2-aminopentanoico (85).[16] El compuesto señalado se sintetizó empleando un procedimiento similar al descrito para **84** a partir de **79** (50 mg, 164 μmol), obteniéndose 48 mg de dicho compuesto [96%, R_f = 0.56 (10% MeOH en CH_2Cl_2 con 1% AcOH), aceite marrón]. **EM (ESI**) [m/z (%)]: 310 ($[MH]^+$, 100), 332 ($[M+Na]^+$, 47), 349 ($[M+K]^+$, 8). **EMAR (ESI) calculado** para $C_{16}H_{24}NO_5$ ($[MH]^+$) 310.1654, **encontrado** 310.1643.

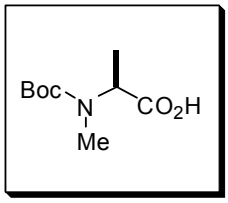
26.1.11. ACOPLAMIENTO DE SONOGASHIRA SEGUIDO DE HIDROGENACIÓN (*ONE-POT*)



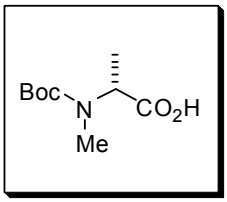
86

Ácido *DL*-N-Acetil-(3'-piridil)-2-aminopentanoico (86).[16] ***Procedimiento general de acoplamiento de Sonogashira e hidrogenación en una única etapa (one-pot).*** Una disolución de Cs_2CO_3 (262 mg, 805 μmol) y 4-DPPBA (20 mg, 64 μmol) en una mezcla 1:1 de DMF/H_2O (3 mL) se agitó y desoxigenó a ta durante 15 min. A continuación, se añadió CuI (12 mg, 64 μmol), 10% Pd/C (17 mg, 16 μmol) y 3-bromopiridina (34 μL, 354 μmol), y la suspensión obtenida se agitó y desoxigenó a ta durante 30 min. Transcurrido ese tiempo, se añadió ácido *DL*-N-acetil-2-aminopent-4-inoico [(**65**), 50 mg, 322 μmol], y la mezcla resultante se calentó a 80 ºC durante 5 h. Posteriormente, se agitó a ta bajo atmósfera de H_2 durante 8 h. Una vez eliminado el H_2, la mezcla resultante se filtró a través de Celita lavando con MeOH (3 × 1 mL), y el filtrado obtenido se concentró a vacío. El crudo se purificó mediante cromatografía en columna (0-5% MeOH en CH_2Cl_2 con 1% AcOH), obteniéndose 66 mg de **86** [87%, R_f = 0.66 (50% MeOH en CH_2Cl_2 con 1% AcOH), espuma amarilla]. **EM (IQ)** [m/z (%)]: 237 ($[MH]^+$, 12), 211 (22), 169 (52). **EMAR (IQ) calculado** para $C_{12}H_{17}N_2O_3$ ($[MH]^+$) 237.123921, **encontrado** 237.124724.

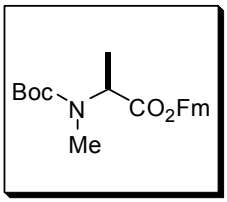
26.1.12.OTROS α-AMINOÁCIDOS



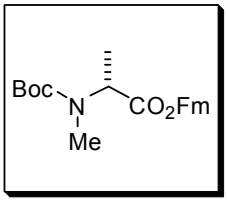
***L*-N-Boc-N-Metil-alanina [*L*-Boc-^{Me}N-Ala-OH].** Sobre una disolución de *L*-Boc-Ala-OH (5.00 g, 26.43 mmol) en THF (100 mL) previamente enfriada a 0 ºC se añadió NaH [(60% en aceite mineral), 3.17 g, 79.29 mmol] y la suspensión obtenida se agitó a esta temperatura durante 1 h. A continuación se adicionó yodometano (4.93 mL, 79.29 mmol) y la mezcla resultante se agitó a ta durante 8 h. Transcurrido ese tiempo, se adicionó H_2O (20 mL), se eliminó el THF a presión reducida y se lavó la fase acuosa con Et_2O (3 × 50 mL). La disolución acuosa resultante se acidificó a pH 3 con HCl (10%) y se extrajo con CH_2Cl_2 (3 × 50 mL). Las fases orgánicas combinadas se secaron con Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a vacío. El crudo se cristalizó de Et_2O/hexanos (1:3) dando lugar a 4.17 g de *L*-Boc-^{Me}N-Ala-OH [78%, R_f = 0.42 (5% MeOH en CH_2Cl_2 con 1% AcOH), cristales incoloros]. **^{1}H RMN** ($CDCl_3$, 250.13 MHz, δ): 10.94 (s ancho, 1H), 4.84 y 4.44 (m, 1H, $H\alpha_{Ala}$), 2.84 (d, *J* = 11.3 Hz, 3H), 1.44 (d, *J* = 2.7 Hz, 9H), 1.40 (s, 3H). **^{13}C RMN** ($CDCl_3$, 62.90 MHz, δ): 178.0 (CO_2H), 156.2 (CO), 80.5 (C), 54.9 y 53.5 (CH), 31.3 y 30.6 (NCH_3), 28.3 (CH_3), 15.0 y 14.6 (CH_3). **EM (IQ)** [m/z (%)]: 204 ($[MH]^+$, 70), 148 (85), 104 ($[MH -Boc]^+$, 100). **EMAR (IQ) calculado** para $C_9H_{18}NO_4$ ($[MH]^+$) 204.123583, **encontrado** 204.123516.



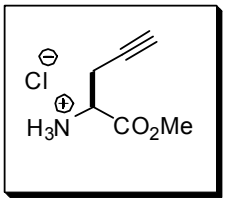
***D*-N-Boc-N-Metil-alanina [*D*-Boc-^{Me}N-Ala-OH].** El compuesto señalado se sintetizó de forma análoga a su enantiómero *L*-Boc-^{Me}N-Ala-OH a partir de *D*-Boc-Ala-OH (10.00 g, 52.85 mmol), obteniéndose 10.39 g de dicho compuesto [97%, R_f = 0.40 (5% MeOH en CH_2Cl_2 con 1% AcOH), cristales incoloros]. **EM (IQ)** [m/z (%)]: 204 ([MH]$^+$, 54), 148 (78), 104 ([MH -Boc]$^+$, 100). **EMAR (IQ) calculado** para $C_9H_{18}NO_4$ ([MH]$^+$) 204.123583, **encontrado** 204.123539.



Éster (*9H*-fluoren-9-il)-metílico de *L*-N-Boc-N-Metil-alanina [*L*-Boc-^{Me}N-Ala-OFm]. A una disolución de *L*-Boc-^{Me}N-Ala-OH (3.00 g, 14.76 mmol) en CH_2Cl_2 (150 mL) se le añadió DCC (4.57 g, 22.14 mmol), HOBt (3.00 g, 22.14 mmol), 9-fluorenilmetanol (3.48 g, 17.72 mmol) y DMAP (2.70 mg, 22.14 mmol). Después de 2 h agitando a ta, la mezcla resultante se filtró a vacío y la disolución obtenida se lavó con HCl [(5%), 3 × 25 mL], NH_4Cl [(dis. sat.), 1 × 20 mL] y $NaHCO_3$ [(dis. sat.), 2 × 20 mL]. Las fases orgánicas combinadas se secaron con Na_2SO_4, se concentraron a presión reducida y el crudo resultante se purificó por cromatografía en columna (8-10% AcOEt en hexanos), obteniéndose 5.46 g de *L*-Boc-^{Me}N-Ala-OFm [97%, R_f = 0.85 (50% AcOEt en hexanos), aceite amarillo]. **^{1}H RMN** ($CDCl_3$, 250.13 MHz, δ): 7.75 (d, *J* = 7.4 Hz, 2H), 7.57 (d, *J* = 6.3 Hz, 2H), 7.47-7.23 (m, 4H), 4.95 y 4.46 (m, 1H, Hα_{Ala}), 4.61-4.32 (m, 2H), 4.19 (t, *J* = 6.8 Hz, 1H), 2.82 (s, 3H), 1.46 (d, *J* = 5.1 Hz, 9H), 1.35 (s, 3H). **^{13}C RMN** ($CDCl_3$, 62.90 MHz, δ): 172.2 (CO), 155.8 (CO), 143.5 (C), 141.2 (C), 127.7 (CH), 127.0 (CH), 124.9 (CH), 120.0 (CH), 80.0 (C), 66.7 (CH_2) 54.9 y 53.3 (CH), 46.8 (CH), 30.8 y 30.2 (NCH_3), 28.3 (CH_3), 15.1 y 14.6 (CH_3). **EM (IQ)** [m/z (%)]: 382 ([MH]$^+$, 4), 326 (7), 282 ([MH -Boc]$^+$, 56), 178 (100). **EMAR (IQ) calculado** para $C_{23}H_{28}NO_4$ ([MH]$^+$) 382.201834, **encontrado** 382.201456.

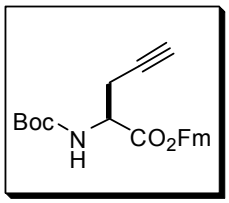


Éster (*9H*-fluoren-9-il)-metílico de *D*-N-Boc-N-Metil-alanina [*D*-Boc-^{Me}N-Ala-OFm]. El compuesto señalado se sintetizó de forma análoga a su enantiómero *L*-Boc-^{Me}N-Ala-OFm a partir de *D*-Boc-^{Me}N-Ala-OH (3.00 g, 14.76 mmol), obteniéndose 3.53 g de dicho compuesto [94%, R_f = 0.82 (50% AcOEt en hexanos), aceite amarillo]. **EM (IQ)** [m/z (%)]: 382 ([MH]$^+$, 43), 326 (33), 282 ([MH -Boc]$^+$, 93), 178 (100). **EMAR (IQ) calculado** para $C_{23}H_{28}NO_4$ ([MH]$^+$) 382.201834, **encontrado** 382.201770.

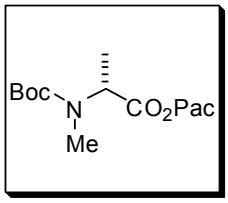


Hidrocloruro del éster metílico de *L*-propargilglicina. Sobre una disolución de *L*-propargilglicina [(***L*-Pra**), 175 mg, 1.55 mmol] en MeOH (15 mL) se añadió lentamente cloruro de tionilo (135 μL, 1.86 mmol) a 0 ºC, y la disolución resultante se agitó a ta durante 2 h. A continuación, la mezcla se calentó a reflujo durante 3 h. Transcurrido ese tiempo se concentró a vacío, obteniéndose un aceite marronáceo que se trató con acetona (5 mL), observándose la formación de un precipitado blanco que se filtró a vacío, dando lugar a 179 mg del hidrocloruro deseado [71%, R_f = 0.84 (20% MeOH en CH_2Cl_2), sólido blanco]. **^{1}H RMN** ($CDCl_3$, 250.13 MHz, δ): 3.69 (s, 3H), 3.60 (m, 1H), 2.58 (m, 2H), 2.01 (t, *J* = 2.6 Hz, 1H), 1.87 (s ancho, 2H). **^{13}C RMN** ($CDCl_3$, 62.90 MHz, δ): 174.1 (CO),

79.4 (C), 71.2 (CH), 53.0 (CH), 52.2 ($O\underline{C}H_3$), 29.5 y 24.7 (CH_2). **EM (IQ)** [m/z (%)]: 128 ([MH -HCl]$^+$, 82), 110 (100), 92 (8). **EMAR (IQ) calculado** para $C_6H_{10}NO_2$ ([MH -HCl]$^+$) 128.0712, **encontrado** 128.0736.



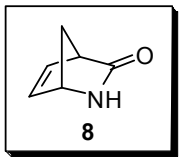
Éster (*9H*-fluoren-9-il)-metílico de *L*-N-Boc-propargilglicina [*L*-Boc-Pra-OFm]. A una disolución de *L*-Boc-Pra-OH (200 mg, 938 μmol) en CH_2Cl_2 (10 mL) se le añadió EDC.HCl (299 mg, 1.41 mmol), HOBt (190 mg, 1.41 mmol), 9-fluorenilmetanol (221 mg, 1.13 mmol) y DMAP (172 mg, 1.41 mmol). Después de 2 h agitando a ta, la mezcla resultante se lavó con HCl [(10%), 3 × 20 mL], NH_4Cl [(dis. sat.), 1 × 20 mL] y $NaHCO_3$ [(dis. sat.), 2 × 20 mL]. Las fases orgánicas combinadas se secaron con Na_2SO_4, se concentraron a presión reducida y el crudo resultante se purificó por cromatografía en columna (8-10% AcOEt en hexanos), obteniéndose 316 mg de *L*-Boc-Pra-OFm [86%, R_f = 0.63 (20% AcOEt en hexanos), sólido blanco cristalino]. **^{1}H RMN** ($CDCl_3$, 300.13 MHz, δ): 7.76 (d, *J* = 7.4 Hz, 2H), 7.60 (d, *J* = 7.4 Hz, 2H), 7.53-7.26 (m, 4H), 5.35 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, NH), 4.66-4.30 (m, 3H), 4.23 (t, *J* = 6.8 Hz, 1H), 2.71 (m, 2H), 2.01 (t, *J* = 2.5 Hz, 1H), 1.46 (s, 9H). **^{13}C RMN** ($CDCl_3$, 75.40 MHz, δ): 170.6 (CO), 155.0 (CO), 143.4 y 143.3 (C), 141.2 (C), 127.8 (CH), 127.1 (CH), 125.0 y 124.9 (CH), 120.0 (CH), 80.2 (C), 78.4 (C), 71.8 (CH), 67.5 (CH_2), 51.9 (CH), 46.7 (CH), 28.3 (CH_3), 22.7 (CH_2). **EM (IQ**) [m/z (%)]: 392 ([MH]$^+$, 36), 337 (17), 382 ([MH -Boc]$^+$, 100). **EMAR (IQ) calculado** para $C_{24}H_{26}NO_4$ ([MH]$^+$) 392.186184, **encontrado** 392.185312.



Éster fenacílico de *D*-N-Boc-N-Metil-alanina [*D*-Boc-^{Me}N-Ala-OPac]. A una disolución de *D*-Boc-^{Me}N-Ala-OH (500 mg, 2.46 mmol) en AcOEt (5 mL) se le añadió lentamente (gota a gota) Et_3N (340 μL, 2.46 mmol) a 0 ºC y se dejó agitando durante 5 min. A continuación se añadió 2-bromoacetofenona (499 mg, 2.46 mmol) y la mezcla resultante se agitó a 0 ºC durante 3 h. La suspensión se filtró a vacío y la disolución obtenida se concentró a presión reducida. El crudo se disolvió en AcOEt (5 mL) y se lavó con HCl [(5%), 3 × 5 mL], $NaHCO_3$ [(dis. sat.), 2 × 5 mL] y NaCl [(dis. sat.), 2 × 5 mL]. La fase orgánica se secó con Na_2SO_4, se filtró y se concentró a vacío, dando lugar a un aceite amarillo que se cristalizó de Et_2O/hexanos (1:3), obteniéndose 762 mg de *D*-Boc-^{Me}N-Ala-OPac [97%, R_f = 0.74 (5% MeOH en CH_2Cl_2), cristales blancos]. **^{1}H RMN** ($CDCl_3$, 250.13 MHz, δ): 7.87 (d, *J* = 7.4 Hz, 2H), 7.69-7.28 (m, 3H), 5.34 (m, 2H), 4.99 y 4.72 (m, 1H), 2.88 (s, 3H, NCH_3), 1.48 (d, J = 7.4 Hz, 3H), 1.44 (s, 9H). **^{13}C RMN** ($CDCl_3$, 62.90 MHz, δ): 191.7 y 191.4 (CO), 171.8 (CO), 155.9 (CO), 134.0 (C), 133.8 (CH), 128.8 (CH), 127.6 (CH), 80.1 y 80.0 (C), 66.2 (CH_2), 54.6 y 53.2 (CH), 30.5 y 30.4 (CH_3), 28.2 (CH_3), 15.2 y 14.8 (CH_3). **EM (IQ)** [m/z (%)]: 322 ([MH]$^+$, 68), 266 (79), 222 ([MH -Boc]$^+$, 96), 158 (70). **EMAR (IQ) calculado** para $C_{17}H_{24}NO_5$ ([MH]$^+$) 322.165448, **encontrado** 322.165354.

26.2. γ-AMINOÁCIDOS

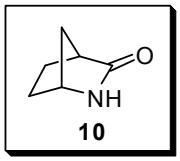
26.2.1. SÍNTESIS DE DERIVADOS DEL ÁCIDO 3-AMINOCICLOPENTANO-CARBOXÍLICO



8

2-Azabiciclo[2.2.1]hept-5-en-3-ona [Lactama de Vince, (8)].[21,22] Una disolución de cianuro de tosilo (3.56 g, 19.6 mmol) en ciclopentadieno (45 mL, 544.6 mmol) se agitó a 0 ºC durante 45 min. Transcurrido ese tiempo, se concentró a sequedad, y el residuo resultante se lavó con Et_2O (2 × 5 mL), obteniéndose el tosil-derivado **9** en forma de sólido blanco, el cual se secó a vacío y se utilizó directamente en la siguiente etapa de reacción sin ningún tipo alguno de purificación adicional [R_f = 0.55 (1% AcOEt/hexanos); 3 desarrollos]. **^{1}H RMN** ($CDCl_3$, 250.13 MHz, δ): 7.68 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 7.29 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 6.70 (m, 2H), 5.30 (s, 1H), 4.31 (s, 1H), 2.36 (s, 3H), 2.14 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 1.97 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H).

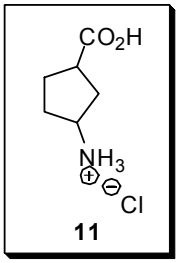
Una disolución de 3-tosil-2-azabiciclo[2.2.1]hepta-2,5-dieno [(**9**), 4.84 g, 19.6 mmol] en AcOH (18 mL) se agitó a ta durante 30 min. Transcurrido ese tiempo, se vertió sobre una mezcla de agua-hielo, observándose la formación de un sólido amarillento, el cual se eliminó mediante filtración, lavando con H_2O (2 × 5 mL). El filtrado resultante se basificó hasta pH 7 con NaOH (30%) y se extrajo con CH_2Cl_2 (4 × 50 mL). Las fases orgánicas combinadas se secaron con Na_2SO_4, filtraron y concentraron a vacío, obteniéndose la lactama deseada **8** como un sólido marronáceo [1.77 g, 83%, R_f = 0.54 (50% AcOEt/hexanos); 2 desarrollos]. **^{1}H RMN** ($CDCl_3$, 250.13 MHz, δ): 6.87 (s ancho, 1H, NH), 6.81 (dd, J_1 = 1.9 Hz, J_2 = 5.3 Hz, 1H), 6.66 (ddd, J_1 = 1.4 Hz, J_2 = 3.3 Hz, J_3 = 5.0 Hz, 1H), 4.36 (td, J_1 = 1.7 Hz, J_2 = 3.4 Hz, 1H), 3.20 (m, 1H), 2.38 (td, J_1 = 1.5 Hz, J_2 = 7.6 Hz, 1H), 2.21 (ddd, J_1 = 1.5 Hz, J_2 = 3.1 Hz, J_3 = 7.8 Hz, 1H). **^{13}C RMN** ($CDCl_3$, 62.90 MHz, δ): 185.5 (CO), 141.0 (CH), 137.7 (CH), 60.3 (CH_2), 59.0 (CH), 53.0 (CH). **EM (IQ)** [m/z (%)]: 149 ($[M+K]^+$, 4), 134 ($[M+Na]^+$, 10), 110 ($[MH]^+$, 42), 94 (18), 67 (100). **EMAR (IQ) calculado** para C_6H_8NO ($[MH]^+$) 110.060589, **encontrado** 110.060451.



10

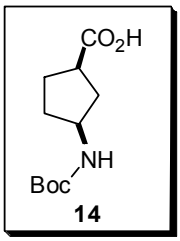
2-Azabiciclo[2.2.1]heptan-3-ona (10).[21,22] A una disolución de 2-aza-biciclo[2.2.1]hept-5-en-3-ona [(**Lactama de Vince**), 25.00 g, 229.36 mmol) en AcOEt (1 L) se le añadió 10% Pd/C (7.32 g, 6.88 mmol), y la mezcla resultante se agitó bajo atmósfera de H_2 durante 24 h. Tras eliminar el hidrógeno, se filtró a través de Celita, se lavó el sólido con AcOEt (3 × 25 mL) y se concentró el filtrado a vacío, obteniéndose 2-azabiciclo[2.2.1]heptan-3-ona [25.20 g, 99%, R_f = 0.20 (AcOEt), sólido blanco]. **^{1}H RMN** ($CDCl_3$, 250.13 MHz, δ): 7.08 (s ancho, 1H), 3.72 (m, 1H), 2.53 (m, 1H), 1.85-1.11 (m, 6H). **^{13}C RMN** ($CDCl_3$, 62.90 MHz, δ): 181.2 (CO), 54.8 (CH), 44.6 (CH), 40.9 (CH_2), 29.6 (CH_2), 23.1 (CH_2). **EM (IQ)** [m/z (%)]: 112 ($[MH]^+$, 100), 94 (4), 84 (2). **EMAR (IQ) calculado** para $C_6H_{10}NO$ ($[MH]^+$) 112.076242, **encontrado** 112.076433.

[21] Jagt, J. C.; van Leusen, A. M. *J. Org. Chem.* **1974**, *39*, 564-566.
[22] Brea, R. J.; Amorín, M.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2005**, *44*, 5710-5713.



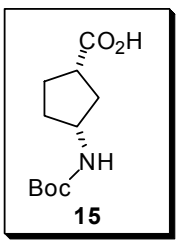
11

Hidrocloruro del ácido *cis*-3-aminociclopentanocarboxílico (11).[21,22] Una disolución de 2-azabiciclo[2.2.1]heptan-3-ona [(**10**), 10.50 g, 94.60 mmol] en 500 mL de HCl (10%) se agitó a ta durante 48 h. Transcurrido ese tiempo, la mezcla se concentró a vacío, y el residuo blanco resultante se trató con acetona, dando lugar a un precipitado blanco que se filtró a vacío, obteniéndose 14.61 g de **11** [93%, R_f = 0.32 (MeOH), sólido blanco]. **^{1}H RMN** (D_2O, 250.13 MHz, δ): 3.70 (m, 1H), 2.95 (p, *J* = 8.0 Hz, 1H), 2.35 (m, 1H) 2.21-1.63 (m, 5H). **^{13}C RMN** (D_2O, 62.90 MHz, δ): 180.1 (CO_2H), 51.8 (CH), 42.6 (CH), 34.0 (CH_2), 30.2 (CH_2), 28.0 (CH_2). **EM (IQ)** [m/z (%)]: 130 ([MH -HCl]$^+$, 93), 112 (100), 95 (11), 84 (15). **EMAR (IQ) calculado** para $C_6H_{12}NO_2$ ([MH -HCl]$^+$) 130.086804, **encontrado** 130.087036.



14

Ácido (*1R,3S*)-3-amino-N-*t*-butiloxicarbonilciclopentanocarboxílico [*L*-Boc-γ-Acp-OH, (14)].[22] Sobre una disolución de hidrocloruro del ácido *cis*-3-aminociclopentanocarboxílico [(**11**), 14.50 g, 87.61 mmol] en H_2O (300 mL) y dioxano (300 mL) se añadió Boc_2O (28.65 g, 131.42 mmol) y DIEA (45.91 mL, 262.84 mmol). Después de 3 h agitando a ta, la disolución resultante se acidificó a pH 3 con HCl (10%) y se extrajo con CH_2Cl_2 (3 × 100 mL). Las fases orgánicas combinadas se secaron con Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a vacío, proporcionando un aceite amarillo que se cristalizó de $CHCl_3$/hexanos (1:1), obteniéndose 13.38 g, y 3.91 g en una segunda cristalización. La mezcla racémica resultante de ácido *cis*-Boc-3-aminociclopentanocarboxílico (**12**) se resolvió por cristalización de $CHCl_3$/hexanos (1:1) en presencia de (+)-*R*-1-fenilletilamina (0.7-1 eq.). Los cristales obtenidos se filtraron a vacío y se lavaron con hexanos. La sal aislada se disolvió en $CHCl_3$ (250 mL). La fase orgánica resultante se lavó con ácido cítrico [(5%), 3 × 100 mL], se secó con Na_2SO_4, se filtró y se concentró a vacío, obteniéndose el correspondiente *L*-aminoácido en forma de precipitado blanco [El proceso de cocristalización se repitió durante 2-3 veces para mejorar la pureza enantiomérica]. El sólido blanco resultante se cristalizó de una mezcla $CHCl_3$/hexanos (1:1) para dar 6.23 g de *L*-Boc-γ-Acp-OH [86%, R_f = 0.82 (MeOH), cristales blancos]. **^{1}H RMN** ($CDCl_3$, 250.13 MHz, δ): 6.34 y 5.03 (m, 1H), 4.15-3.73 (m, 1H), 2.81 (m, 1H), 2.18 (m, 1H), 2.05-1.50 (m, 5H), 1.39 (s, 9H). **^{13}C RMN** ($CDCl_3$, 62.90 MHz, δ): 181.7 (CO_2H), 155.4 (CO), 79.2 (C), 51.9 (CH), 41.7 (CH), 36.0 (CH_2), 33.0 (CH_2), 28.3 (CH_3), 27.9 (CH_2). **EM (IQ)** [m/z (%)]: 230 ([MH]$^+$, 42), 174 (89), 156 (66), 130 ([MH -Boc]$^+$, 100), 112 (74), 95 (10), 84 (11). **EMAR (IQ) calculado** para $C_{11}H_{20}NO_4$ ([MH]$^+$) 230.139233, **encontrado** 230.140269. **$[\alpha]_D$** = -16.8 (c = 1.0, MeOH).

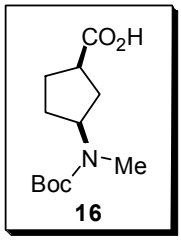


15

Ácido (*1S,3R*)-3-amino-N-*t*-butiloxicarbonilciclopentanocarboxílico [*D*-Boc-γ-Acp-OH, (15)]. El compuesto señalado se sintetizó de forma análoga a su enantiómero *L*-Boc-γ-Acp-OH a partir de la mezcla racémica de Boc-γ-Acp-OH (6.77 g, 29.56 mmol), por tratamiento con (-)-*S*-1-fenil-etilamina (0.7-1 eq.) en $CHCl_3$/hexanos (1:1), obteniéndose 2.41 g de dicho compuesto [71%, R_f = 0.42 (5% MeOH en CH_2Cl_2 con 1% AcOH), cristales blancos]. **EM (IQ)** [m/z (%)]: 230 ([MH]$^+$, 61), 174 (87), 156 (62), 130

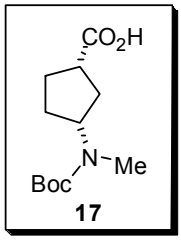
([MH -Boc]$^+$, 100), 112 (57). **EMAR (IQ) calculado** para $C_{11}H_{20}NO_4$ ([MH]$^+$) 230.139233, **encontrado** 230.139534. **$[\alpha]_D$** = +16.9 (c = 1.0, MeOH).

Determinación formal de la pureza enantiomérica de los Boc-γ-Acp-OH. Las purezas enantioméricas de los aminoácidos se determinaron mediante el test de Marfey.[20] Ácido (*1R,3S*)-3-amino-N-*t*-Butiloxicarbonilciclopentanocarboxílico (1 mg) se disolvió en H_2O (100 μL) y se trató con una disolución de la amida de 1-fluoro-2-4-dinitrofenil-5-*L*-alanina (2 mg) en acetona (200 μL). La mezcla resultante se trató con $NaHCO_3$ (1 M, 40 μL) y se calentó a 40 ºC durante 1 h. Transcurrido ese tiempo, la disolución se enfrió a ta y se trató con HCl (2 M, 20 μL). Finalmente, la mezcla obtenida se inyectó en el HPLC (columna C18, 20-40% B en 45 min) y los excesos enantioméricos se estimaron mediante relación de áreas de los picos correspondientes con los *D*- y *L*-diastereoisómeros.



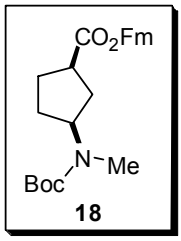
16

Ácido (*1R,3S*)-3-amino-N-*t*-butiloxicarbonil-N-metilciclopentanocarboxílico [*L*-Boc-^{Me}N-γ-Acp-OH, (16)].[22] Sobre una disolución enfriada a 0 ºC de *L*-Boc-γ-Acp-OH (750 mg, 3.27 mmol) en THF (25 mL) se añadió NaH [(60% en aceite mineral), 393 mg, 9.82 mmol] y la suspensión obtenida se agitó a esta temperatura durante 30 min. A continuación se adicionó yodometano (612 μL, 9.82 mmol) y la mezcla resultante se agitó a ta durante 8 h. Transcurrido ese tiempo, se adicionó H_2O (5 mL), se eliminó el THF a presión reducida y se lavó la fase acuosa con Et_2O (3 × 20 mL). La disolución resultante se acidificó a pH 3 con HCl (10%) y se extrajo con CH_2Cl_2 (3 × 25 mL). Las fases orgánicas combinadas se secaron con Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a vacío. El crudo se cristalizó de Et_2O/hexanos dando lugar a *L*-Boc-^{Me}N-γ-Acp-OH en forma de cristales incoloros [0.78 g, 98%, R_f = 0.43 (5% MeOH en CH_2Cl_2)]. **^{1}H RMN** ($CDCl_3$, 250.13 MHz, δ): 4.53 (m, 1H), 2.82 (m, 1H), 2.76 (s, 3H), 2.18-1.57 (m, 6H), 1.46 (s, 9H). **^{13}C RMN** ($CDCl_3$, 62.90 MHz, δ): 181.2 (CO), 155.8 (CO), 79.6 (C), 55.8 (CH), 41.2 (CH), 31.7 (CH_2), 28.3 (CH_3), 28.2 (CH_3), 27.3 (CH_2), 27.2 (CH_2). **EM (IQ)** [m/z (%)]: 244 ([MH]$^+$, 3), 188 (36), 170 (30), 144 ([MH -Boc]$^+$, 100), 126 (85), 112 (9). **EMAR (IQ) calculado** para $C_{12}H_{22}NO_4$ ([MH]$^+$) 244.154883, **encontrado** 244.155279.



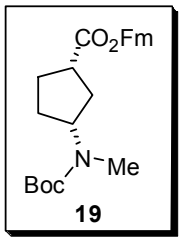
17

Ácido (*1S,3R*)-3-amino-N-*t*-butiloxicarbonil-N-metilciclopentanocarboxílico [*D*-Boc-^{Me}N-γ-Acp-OH, (17)]. El compuesto señalado se sintetizó de forma análoga a su enantiómero *L*-Boc-^{Me}N-γ-Acp-OH a partir de *D*-Boc-γ-Acp-OH (1.00 g, 4.37 mmol), obteniéndose 1.02 g de dicho compuesto [96%, R_f = 0.44 (5% MeOH en CH_2Cl_2 con 1% AcOH), cristales incoloros]. **EM (IQ)** [m/z (%)]: 244 ([MH]$^+$, 8), 188 (37), 170 (32), 144 ([MH -Boc]$^+$, 100), 126 (79), 112 (11). **EMAR (IQ) calculado** para $C_{12}H_{22}NO_4$ ([MH]$^+$) 244.154883, **encontrado** 244.155339.



18

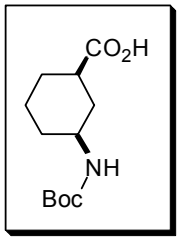
(9*H*-fluoren-9-il)-metil (*1R,3S*)-3-amino-N-*t*-butiloxicarbonil-N-metilciclopentanocarboxilato [*L*-Boc-^{Me}N-γ-Acp-OFm, (18)].[22] A una disolución de *L*-Boc-^{Me}N-γ-Acp-OH (600 mg, 2.47 mmol) en CH_2Cl_2 (25 mL) se le añadió EDC.HCl (710 mg, 3.70 mmol), HOBt (500 mg, 3.70 mmol), 9-fluorenilmetanol (580 mg, 2.96 mmol) y DMAP (405 mg, 3.70 mmol). Después de 2 h agitando a ta, la mezcla resultante se lavó con HCl [(10%), 3 × 20 mL], NH_4Cl [(dis. sat.), 1 × 20 mL] y $NaHCO_3$ [(dis. sat.), 2 × 20 mL]. Las fases orgánicas combinadas se secaron con Na_2SO_4, se concentraron a presión reducida y el crudo resultante se purificó por cromatografía en columna (8-12% AcOEt/hexanos), obteniéndose 960 mg de **18** [92%, R_f = 0.87 (50% AcOEt/hexanos), espuma blanca]. **^{1}H RMN** ($CDCl_3$, 250.13 MHz, δ): 7.77 (d, *J* = 7.4 Hz, 2H), 7.61 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 7.48-7.27 (m, 4H), 4.47 (m, 2H), 4.31-3.99 (m, 2H), 2.77 (m, 1H), 2.69 (s, 3H), 2.13-1.64 (m, 6H), 1.47 (s, 9H). **^{13}C RMN** ($CDCl_3$, 62.90 MHz, δ): 174.7 (CO), 154.9 (CO), 143.1 (C), 140.6 (C), 127.0 (CH), 126.3 (CH), 124.2 (CH), 119.3 (CH), 78.5 (C), 65.1 (CH_2), 55.1 (CH), 46.3 (CH), 40.7 (CH), 31.0 (CH_2), 27.8 (CH_3), 27.6 (CH_3), 26.7 (CH_2), 26.6 (CH_2). **EM (IQ)** [m/z (%)]: 422 ($[MH]^+$, 22), 350 (24), 322 ($[MH\ -Boc]^+$, 100), 178 (62), 126 (39). **EMAR (IQ) calculado** para $C_{26}H_{32}NO_4$ ($[MH]^+$) 422.233134, **encontrado** 422.233733.



19

(9*H*-fluoren-9-il)-metil (*1S,3R*)-3-amino-N-*t*-butiloxicarbonil-N-metilciclopentanocarboxilato [*D*-Boc-^{Me}N-γ-Acp-OFm, (19)]. El compuesto señalado se sintetizó de forma análoga a su enantiómero *L*-Boc-^{Me}N-γ-Acp-OFm a partir de *D*-Boc-^{Me}N-γ-Acp-OH (1.00 g, 4.12 mmol), obteniéndose 1.64 g de dicho compuesto [95%, R_f = 0.81 (50% AcOEt en hexanos), sólido blanco cristalino]. **EM (IQ)** [m/z (%)]: 422 ($[MH]^+$, 19), 350 (20), 322 ($[MH\ -Boc]^+$, 100), 178 (66), 143 (36), 126 (37). **EMAR (IQ) calculado** para $C_{26}H_{32}NO_4$ ($[MH]^+$) 422.233134, **encontrado** 422.231899.

26.2.2. SÍNTESIS DE DERIVADOS DEL ÁCIDO 3-AMINOCICLOHEXANOCARBOXÍLICO

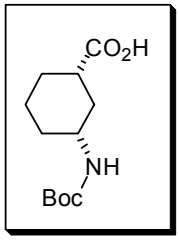


Ácido (*1R,3S*)-3-amino-N-*t*-butiloxicarbonilciclohexanocarboxílico [*L*-Boc-γ-Ach-OH].[23] Sobre una disolución de ácido *cis*-3-aminociclohexanocarboxílico[24] (4.00 g, 27.98 mmol) en H_2O (25 mL) y dioxano (25 mL) se añadió Boc_2O (7.00 g, 32.00 mmol) y DIEA (14.70 mL, 84.00 mmol). Después de 3 h agitando a ta, la disolución resultante se acidificó a pH 3 con HCl (10%) y se extrajo con CH_2Cl_2 (3 × 50 mL). Las fases orgánicas combinadas se secaron con Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a vacío, proporcionando un aceite amarillo que se cristalizó de CH_2Cl_2/hexanos (2:1), obteniéndose 3.92 g. La mezcla racémica resultante de ácido *cis*-Boc-3-aminociclohexanocarboxílico se resolvió por cristalización de $CHCl_3$/hexanos (1:1) en presencia de (+)-*R*-1-feniletilamina (0.7-1 eq.). Los cristales obtenidos se filtraron a vacío y se lavaron

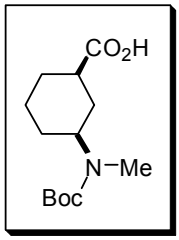
[23] Tesis Doctoral de Manuel Amorín López - "Diseño, síntesis y estudio de α,γ-nanotubos peptídicos" [*Universidad de Santiago de Compostela*, **2005**].
[24] Allan, R. D.; Johnston, G. A.; Twitchin, B. *Aust. J. Chem.* **1981**, *34*, 2231-2236.

repetidamente con hexanos. La sal aislada se disolvió en $CHCl_3$ (250 mL). La fase orgánica resultante se lavó con ácido cítrico [(5%), 3 × 100 mL], se secó con Na_2SO_4, se filtró y se concentró a vacío, obteniéndose el correspondiente *L*-aminoácido en forma de precipitado blanco [El proceso de cocristalización se repitió durante 2-3 veces para mejorar la pureza enantiomérica]. El sólido blanco resultante se cristalizó de una mezcla $CHCl_3$/hexanos (1:1) para dar 1.57 g de *L*-Boc-γ-Ach-OH [78%, R_f = 0.45 (5% MeOH en CH_2Cl_2 con 1% AcOH), cristales blancos]. **^{1}H RMN** ($CDCl_3$, 250.13 MHz, δ): 5.56 (m, 1H, NH), 4.47 (m, 1H, $H\gamma_{Ach}$), 3.44 (m, 1H, $H\alpha_{Ach}$), 2.40-0.90 (m, 8H, CH_{2Ach}), 1.42 (s, 9H). **^{13}C RMN** (CD_3OD, 62.90 MHz, δ): 178.7 (CO_2H), 157.6 (CO), 79.8 (C), 50.2 (CH), 43.5 (CH), 36.5 (CH_2), 33.4 (CH_2), 29.4 (CH_2), 28.9 (CH_3), 25.4 (CH_2). **EM (FAB$^+$)** [m/z (%)]: 244 ($[MH]^+$, 66), 188 (94), 144 ($[MH -Boc]^+$, 100), 112 (74), 95 (10), 84 (11). **EMAR (FAB$^+$) calculado** para $C_{12}H_{22}NO_4$ ($[MH]^+$) 244.1549, **encontrado** 244.1556. **Análisis Elemental** [$C_{12}H_{22}NO_4$], **calculado**: C = 58.99%, H = 8.68%, N = 5.73%; **encontrado**: C = 58.13%, H = 9.03%, N = 5.75%. **$[\alpha]_D$** = -50.5 (c = 1.0, MeOH).

Determinación formal de la pureza enantiomérica de los Boc-γ-Ach-OH. Las purezas enantioméricas de los aminoácidos se determinaron mediante el test de Marfey.[20] Ácido (*1R,3S*)-3-amino-N-*t*-Butiloxicarbonilciclohexanocarboxílico (1 mg) se disolvió en H_2O (100 μL) y se trató con una disolución de la amida de 1-fluoro-2-4-dinitrofenil-5-*L*-alanina (2 mg) en acetona (200 μL). La mezcla resultante se trató con $NaHCO_3$ (1 M, 40 μL) y se calentó a 40 ºC durante 1 h. Transcurrido ese tiempo, la disolución se enfrió a ta y se trató con HCl (2 M, 20 μL). Finalmente, la mezcla obtenida se inyectó en el HPLC (columna C18, 20-40% B en 45 min) y los excesos enantioméricos se estimaron mediante relación de áreas de los picos correspondientes con los *D*- y *L*-diastereoisómeros.

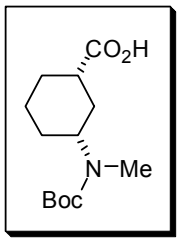


Ácido (*1S,3R*)-3-amino-N-*t*-Butiloxicarbonilciclohexanocarboxílico [*D*-Boc-γ-Ach-OH].[23] El compuesto señalado se sintetizó de forma análoga a su enantiómero *L*-Boc-γ-Ach-OH a partir de la mezcla racémica de Boc-γ-Ach-OH (2.00 g, 13.99 mmol), por tratamiento con (-)-*S*-1-fenil-etilamina (0.7-1 eq.) en $CHCl_3$/hexanos (1:1), obteniéndose 0.82 g de dicho compuesto [82%, R_f = 0.45 (5% MeOH en CH_2Cl_2 con 1% AcOH), cristales blancos]. **EM (FAB$^+$)** [m/z (%)]: 244 ($[MH]^+$, 72), 188 (89), 144 ($[MH -Boc]^+$, 100), 112 (57), 95 (12), 84 (9). **EMAR (FAB$^+$) calculado** para $C_{12}H_{22}NO_4$ ($[MH]^+$) 244.1549, **encontrado** 244.1539. **$[\alpha]_D$** = +50.1 (c = 1.0, MeOH).

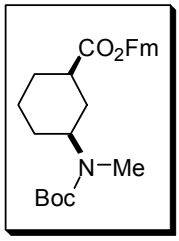


Ácido (*1R,3S*)-3-amino-N-*t*-butiloxicarbonil-N-metilciclohexanocarboxílico [*L*-Boc-^{Me}N-γ-Ach-OH].[23] Sobre una disolución de *L*-Boc-γ-Ach-OH (1.38 g, 5.68 mmol) en THF (60 mL) enfriada a 0 ºC se añadió NaH [(60% en aceite mineral), 0.68 g, 17.04 mmol] y la suspensión obtenida se agitó a esta temperatura durante 30 min. A continuación se adicionó yodometano (1.06 mL, 17.04 mmol) y la mezcla resultante se agitó a ta durante 8 h. Transcurrido ese tiempo, se adicionó H_2O (15 mL), se eliminó el THF a presión reducida y se lavó la fase acuosa con Et_2O (3 × 50 mL). La disolución resultante se acidificó a pH 3 con HCl (10%) y se extrajo con CH_2Cl_2 (3 × 25 mL). Las fases orgánicas

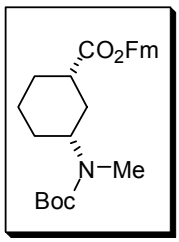
combinadas se secaron con Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a vacío. El crudo se cristalizó de Et_2O/hexanos dando lugar a *L*-Boc-^{Me}N-γ-Ach-OH en forma de cristales incoloros [1.29 g, 89%, R_f = 0.53 (5% MeOH en CH_2Cl_2 con 0.1% AcOH)]. **^{1}H RMN** ($CDCl_3$, 250.13 MHz, δ): 4.01 y 3.77 (m, 1H), 2.69 (s, 3H), 2.42 (m, 1H), 2.07-1.12 (m, 8H), 1.42 (s, 9H). **^{13}C RMN** ($CDCl_3$, 62.90 MHz, δ): 180.5 (CO_2H), 155.6 (CO), 79.6 (C), 54.0 (CH), 42.4 (CH), 31.9 (CH_2), 29.1 (CH_2), 28.4 (CH_3), 28.2 (CH_3), 28.0 (CH_2), 24.4 (CH_2). **EM (FAB$^+$)** [m/z (%)]: 515 ($[MH]^{2+}$, 6), 258 ($[MH]^+$, 78), 158 ([MH -Boc]$^+$, 100). **EMAR (FAB$^+$) calculado** para $C_{13}H_{24}NO_4$ ($[MH]^+$) 258.1705, **encontrado** 258.1704.



Ácido (*1S,3R*)-3-amino-N-*t*-butiloxicarbonil-N-metilciclohexanocarboxílico [*D*-Boc-^{Me}N-γ-Ach-OH].[23] El compuesto señalado se sintetizó de forma análoga a su enantiómero *L*-Boc-^{Me}N-γ-Ach-OH a partir de *D*-Boc-γ-Ach-OH (4.40 g, 18.11 mmol), obteniéndose 4.37 g de dicho compuesto [94%, R_f = 0.55 (5% MeOH en CH_2Cl_2 con 1% AcOH), cristales incoloros]. **EM (ESI)** [m/z (%)]: 296 ($[MH]^+$, 48), 280 ($[MH]^+$, 42), 258 ($[MH]^+$, 5), 172 (60), 158 ([MH -Boc]$^+$, 100). **EMAR (ESI) calculado** para $C_{13}H_{24}NO_4$ ($[MH]^+$) 258.1705, **encontrado** 258.1712.



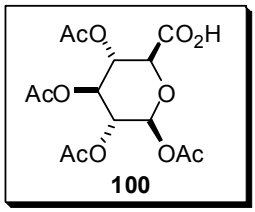
(9*H*-fluoren-9-il)-metil (*1R,3S*)-3-amino-N-*t*-Butiloxicarbonil-N-metilciclohexanocarboxilato [*L*-Boc-^{Me}N-γ-Ach-OFm].[23] A una disolución de *L*-Boc-^{Me}N-γ-Ach-OH (100 mg, 0.39 mmol) en CH_2Cl_2 (10 mL) se le añadió EDC.HCl (112 mg, 0.58 mmol), HOBt (79 mg, 0.58 mmol), 9-fluorenilmetanol (92 mg, 0.46 mmol) y DMAP (71 mg, 0.58 mmol). Después de 2 h agitando a ta, la mezcla resultante se lavó con HCl [(10%), 3 × 10 mL], NH_4Cl [(dis. sat.), 1 × 10 mL] y $NaHCO_3$ [(dis. sat.), 2 × 10 mL]. Las fases orgánicas combinadas se secaron con Na_2SO_4, se concentraron a presión reducida y el crudo resultante se purificó por cromatografía en columna (8-12% AcOEt/hexanos), obteniéndose 144 mg de *L*-Boc-^{Me}N-γ-Ach-OFm [85%, R_f = 0.87 (50% AcOEt/hexanos), espuma blanca]. **^{1}H RMN** ($CDCl_3$, 250.13 MHz, δ): 7.70 (d, *J* = 7.2 Hz, 2H), 7.53 (d, *J* = 7.2 Hz, 2H), 7.38-7.21 (m, 4H), 4.36 (d, *J* = 6.5 Hz, 2H), 4.14 (t, *J* = 6.7 Hz, 1H), 3.99 y 3.74 (m, 1H), 2.67 (s, 3H), 2.43 (m, 1H), 2.13-1.16 (m, 8H), 1.42 (s, 9H). **^{13}C RMN** ($CDCl_3$, 62.90 MHz, δ): 174.9 (CO), 155.5 (CO), 143.7 (C), 141.3 (C), 127.7 (CH), 126.8 (CH), 124.4 (CH), 119.9 (CH), 79.3 (C), 66.6 (CH_2), 52.7 (CH), 46.9 (CH), 42.7 (CH), 32.2 (CH_2), 29.2 (CH_2), 28.4 (CH_3), 28.2 (CH_3), 28.1 (CH_2), 24.5 (CH_2). **EM (FAB$^+$)** [m/z (%)]: 436 ($[MH]^+$, 7), 380 (12), 336 ([MH -Boc]$^+$, 100), 304 (34), 287 (6). **EMAR (FAB$^+$) calculado** para $C_{27}H_{34}NO_4$ ($[MH]^+$) 436.24878, **encontrado** 436.24997.



(9*H*-fluoren-9-il)-metil (*1S,3R*)-3-amino-N-*t*-Butiloxicarbonil-N-metilciclohexanocarboxilato [*D*-Boc-^{Me}N-γ-Acp-OFm].[23] El compuesto seña-lado se sintetizó de forma análoga a su enantiómero *L*-Boc-^{Me}N-γ-Ach-OFm a partir de *D*-Boc-^{Me}N-γ-Ach-OH (4.37 g, 17.00 mmol), obteniéndose 7.13 g de dicho compuesto [96%, R_f = 0.89 (50% AcOEt en hexanos), sólido blanco]. **EM (FAB$^+$)** [m/z (%)]: 436 ($[MH]^+$, 14), 380 (23), 336 ([MH -Boc]$^+$, 100), 304

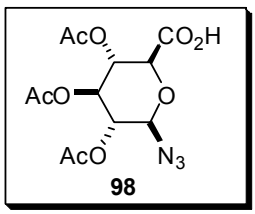
(45), 287 (11). **EMAR (FAB$^+$) calculado** para $C_{27}H_{34}NO_4$ ([MH]$^+$) 436.2488, **encontrado** 436.2492.

26.2.3. SÍNTESIS DE DERIVADOS DEL ÁCIDO 2,3,4-TRI-*O*-ACETIL-1-AZIDO-1-DESOXI-β-*D*-GLUCOPIRANURÓNICO



100

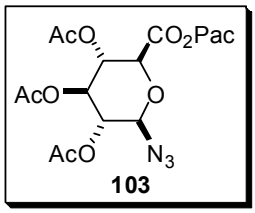
Ácido 1,2,3,4-Tetra-*O*-acetil-β-*D*-glucopiranurónico (100).[25] Una suspensión de ácido *D*-glucurónico [(**99**), 4.00 g, 20.60 mmol] en anhídrido acético (50 mL) enfriada a 0 ºC se trató con I_2 (0.28 g, 1.11 mmol; *adición lenta en porciones*), y la mezcla resultante se agitó a 0º C durante 2 h, y 1 h adicional a ta. La disolución obtenida se enfrió a 0 ºC, se añadió lentamente (gota a gota) MeOH (20 mL) y se dejó agitando a ta durante 18 h. La mezcla resultante se concentró a vacío y el crudo se disolvió en CH_2Cl_2 (70 mL). La disolución se lavó con $Na_2S_2O_3$ [(1M), 3 × 50 mL], se secó con Na_2SO_4, se filtró y se concentró a vacío. El residuo blanco obtenido se disolvió en 150 mL de Et_2O/$CHCl_3$/hexanos (1:1:1) y la disolución resultante se concentró a vacío, proporcionando una espuma blanca que se disolvió en Et_2O, se filtró y se lavó repetidamente con Et_2O, dando lugar al azúcar deseado en forma de un polvo fino blanco, el cual se cristalizó de Et_2O/hexanos (1:1) o de $CHCl_3$/hexanos (1:3), obteniéndose 6.37 g de **100** [85%, R_f = 0.64 (MeOH), cristales blancos]. **^{1}H RMN** ($CDCl_3$, 250.13 MHz, δ): 7.84 (s ancho, 1H), 5.77 (t, *J* = 7.3 Hz, 1H), 5.39-5.20 (m, 2H), 5.13 (m, 1H), 4.21 (m, 1H), 2.11 (s, 3H), 2.04 (s, 3H), 2.03 (s, 3H), 2.02 (s, 3H). **^{13}C RMN** ($CDCl_3$, 62.90 MHz, δ): 170.0 (CO_2H), 169.9 (CO), 169.8 (CO), 169.3 (CO), 168.9 (CO), 91.2 (CH), 72.3 (CH), 71.7 (CH), 70.0 (CH), 68.5 (CH), 20.7 y 20.5 (CH_3). **EM (FAB$^+$)** [m/z (%)]: 385 ([M +Na]$^+$, 8), 363 ([MH]$^+$, 1), 317 (20), 303 (40). **EMAR (FAB$^+$) calculado** para $C_{14}H_{18}O_{11}Na$ ([M +Na]$^+$) 385.074681, **encontrado** 385.075401.



98

Ácido 2,3,4-Tri-*O*-acetil-1-azido-1-desoxi-β-*D*-glucopiranurónico [*D*-N_3-γ-AgI-OH, (98)].[25] Sobre una disolución de ácido 1,2,3,4-tetra-*O*-acetil-β-*D*-glucopiranurónico [(**99**), 1.00 g, 2.76 mmol] en CH_2Cl_2 (20 mL) se añadió sucesivamente trimetilsilil azida (0.96 mL, 6.91 mmol) y tetracloruro de estaño [(1M), 1.38 mL, 1.38 mmol). La mezcla resultante se agitó a ta bajo Ar durante 18 h. A continuación se añadió CH_2Cl_2 (15 mL) y la disolución obtenida se lavó con $Na_2S_2O_3$ [(1M), 3 × 15 mL]. La fase orgánica se secó con Na_2SO_4, se filtró y se concentró a vacío, dando lugar a un residuo blanco. Posteriormente se adicionó Et_2O (20 mL) y la disolución resultante se concentró a vacío, obteniéndose 0.78 g de **98** [82%, R_f = 0.59 (10%MeOH en CH_2Cl_2 con 1% AcOH), espuma blanca]. **^{1}H RMN** ($CDCl_3$, 250.13 MHz, δ): 8.50 (s ancho, 1H), 5.27-5.17 (m, 2H), 4.91 (t, *J* = 8.6 Hz, 1H), 4.70 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 4.13 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H), 2.02 (s, 3H), 1.99 (s, 3H), 1.97 (s, 3H). **^{13}C RMN** ($CDCl_3$, 62.90 MHz, δ): 170.0 (CO_2H), 169.8 (CO), 169.7 (CO), 169.4 (CO), 72.5 (CH), 71.8 (CH), 70.1 (CH), 68.5 (CH), 68.2 (CH), 20.5 (CH_3). **EM (FAB$^+$)** [m/z (%)]: 368 ([M +Na]$^+$, 8), 346 ([MH]$^+$, 4). **EMAR (FAB$^+$) calculado** para $C_{12}H_{15}O_9Na$ ([M +Na]$^+$) 368.070599, **encontrado** 368.070900.

[25] Malkinson, J. P.; Falconer, R. A.; Toth, I. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 5249-5252.

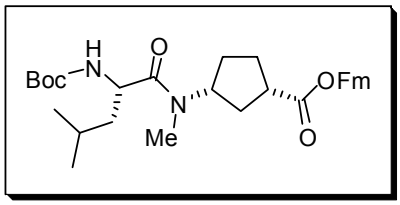


103

Fenacil 2,3,4-Tri-*O*-acetil-1-azido-1-desoxi-β-*D*-glucopiranuronato [*D*-N_3-γ-AgI-OPac, (103)]. A una disolución de *D*-N_3-γ-AgI-OH [(**98**), 1.00 g, 2.74 mmol] en AcOEt (5 mL) se le añadió lentamente (gota a gota) Et_3N (380 μL, 2.74 mmol) a 0 ºC y se dejó agitando durante 5 min. Posteriormente se añadió 2-bromoacetofenona (556 mg, 2.74 mmol) y la mezcla resultante se agitó a 0 ºC durante 3 h. La suspensión se filtró a vacío y la disolución obtenida se concentró a presión reducida. El crudo se disolvió en AcOEt (10 mL) y se lavó con HCl [(5%), 3 × 10 mL]. La fase orgánica se secó con Na_2SO_4, se filtró y se concentró a vacío, dando lugar a un residuo que se lavó con Et_2O (2 × 5 mL), obteniéndose 1.13 g de *D*-N_3-γ-AgI-OPac [85%, R_f = 0.84 (5% MeOH en CH_2Cl_2), sólido blanco]. **^{1}H RMN** ($CDCl_3$, 250.13 MHz, δ): 7.90 (d, *J* = 7.6 Hz, 2H), 7.78-7.39 (m, 3H), 5.43 (s, 2H), 5.39-5.23 (m, 2H), 5.01 (t, *J* = 8.7 Hz, 1H), 4.78 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 4.37 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 2.11 (s, 3H), 2.09 (s, 3H), 2.04 (s, 3H). **^{13}C RMN** ($CDCl_3$, 62.90 MHz, δ): 190.2 (CO), 170.0 (CO), 169.5 (CO), 169.1 (CO), 165.6 (CO), 134.1 (CH), 133.7 (C), 128.9 (CH), 127.7 (CH), 88.2 (CH), 74.2 (CH), 72.0 (CH), 70.3 (CH), 68.9 (CH), 67.2 (CH_2), 20.5 (CH_3). **EM (ESI)** [m/z (%)]: 503 ([M +K]$^+$, 1), 486 ([M +Na]$^+$, 24). **EMAR (ESI) calculado** para $C_{20}H_{21}N_3O_{10}Na$ ([M +Na]$^+$) 486.1119, **encontrado** 486.1104.

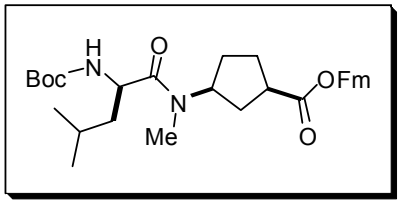
26.3. DIPÉPTIDOS

26.3.1. DIPÉPTIDOS DERIVADOS DEL ÁCIDO 3-AMINOCICLOPENTANO-CARBOXÍLICO

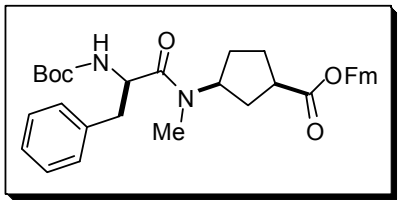


Boc-[*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp]-OFm. Una disolución de Boc-*D*-^{Me}N-γ-Acp-OFm (600 mg, 1.42 mmol) en 14 mL de TFA/CH_2Cl_2 (1:1) se agitó a ta durante 15 min. A continuación se concentró a sequedad en el rotavapor y el residuo obtenido se secó a alto vacío durante 3 h. La sal de TFA resultante se disolvió en CH_2Cl_2 (7 mL) y se añadió sucesivamente *L*-Boc-Leu-OH.H_2O (362 mg, 1.57 mmol), HATU (596 mg, 1.57 mmol) y DIEA (996 μL, 5.70 mmol). Después de 1 h agitando a ta, la mezcla resultante se lavó con HCl [(5%), 3 × 10 mL] y $NaHCO_3$ [(dis. sat.), 2 × 10 mL]. Las fases orgánicas combinadas se secaron con Na_2SO_4 y se concentraron a vacío, proporcionando un aceite amarillo que se purificó mediante cromatografía en columna (15-25% AcOEt en hexanos), obteniéndose 737 mg del dipéptido deseado [97%, R_f = 0.66 (50% AcOEt en hexanos), espuma blanca]. **^{1}H RMN** ($CDCl_3$, 250.13 MHz, δ): 7.67 (d, *J* = 7.3 Hz, 2H), 7.50 (d, *J* = 7.3 Hz, 2H), 7.27 (td, J_1 = 7.4 Hz, J_2 = 22.2 Hz, 4H), 5.24 (m, 1H), 4.85 (m, 1H), 4.70-4.30 (m, 3H), 4.12 (m, 1H), 2.76 (s, 3H), 2.64 (m, 1H), 2.08-1.05 (m, 18H), 0.88 (ddd, J_1 = 5.1 Hz, J_2 = 7.7 Hz, J_3 = 10.2 Hz, 6H). **^{13}C RMN** ($CDCl_3$, 62.90 MHz, δ): 175.5 (CO), 173.2 (CO), 155.5 (CO), 143.5 (C), 141.2 (C), 127.7 (CH), 127.0 (CH), 124.7 (CH), 119.9 (CH), 79.3 (C), 65.8 (CH_2), 57.2 (CH), 53.9 (CH), 49.2 (CH), 46.9 (CH), 42.7 (CH_2), 41.5 (CH), 30.9 (CH_2), 29.0 (CH_3), 28.3 (CH_3), 27.5 (CH_2), 27.0 (CH_2), 23.4 (CH_3), 21.7 (CH_3). **EM (FAB$^+$)** [m/z (%)]: 535

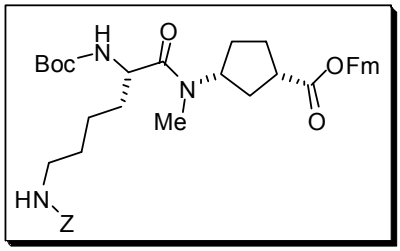
([MH]$^+$, 65), 479 (34), 435 ([MH -Boc]$^+$, 47). **EMAR (FAB$^+$) calculado** para $C_{32}H_{43}N_2O_5$ ([MH]$^+$) 535.317198, **encontrado** 535.316831.



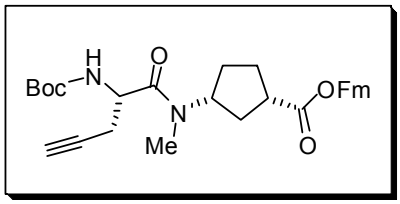
Boc-[*D*-Leu-*L*-^{Me}N-γ-Acp]-OFm. El compuesto señalado se sintetizó de forma análoga a Boc-[*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp]-OFm a partir de Boc-*L*-^{Me}N-γ-Acp-OFm (775 mg, 1.84 mmol), obteniéndose 897 mg de dicho compuesto [91%, R_f = 0.66 (50% AcOEt en hexanos), espuma blanca]. **EM (FAB$^+$)** [m/z (%)]: 535 ([MH]$^+$, 17), 479 (8), 435 ([MH -Boc]$^+$, 7). **EMAR (FAB$^+$) calculado** para $C_{32}H_{43}N_2O_5$ ([MH]$^+$) 535.317198, **encontrado** 535.318447.



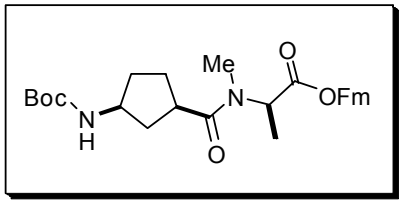
Boc-[*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Acp]-OFm. El compuesto señalado se sintetizó empleando el procedimiento descrito para Boc-[*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp]-OFm a partir de Boc-*L*-^{Me}N-γ-Acp-OFm (250 mg, 594 μmol), obteniéndose 329 mg de dicho compuesto [98%, R_f = 0.40 (30% AcOEt en hexanos), espuma blanca]. **^{1}H RMN** ($CDCl_3$, 250.13 MHz, δ): 7.65 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H), 7.46 (d, *J* = 7.2 Hz, 2H), 7.36-7.02 (m, 9H), 5.41 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 4.75 (m, 1H), 4.38 (m, 2H), 4.17-3.74 (m, 2H), 2.87 (m, 2H), 2.73-2.19 (m, 4H), 2.15-0.83 (m, 15 H). **^{13}C RMN** ($CDCl_3$, 62.90 MHz, δ): 175.4 (CO), 171.8 (CO), 154.9 (CO), 143.5 (C), 141.2 (C), 136.3 (C), 129.3 (CH), 128.3 (CH), 127.6 (CH), 126.9 (CH), 126.7 (CH), 124.7 (CH), 119.8 (CH), 79.5 (C), 65.7 (CH_2), 53.7 (CH), 51.9 (CH), 46.8 (CH), 41.2 (CH), 40.3 (CH_2), 30.8 (CH_2), 28.7 (CH_3), 28.2 (CH_3), 27.8 (CH_2), 26.6 (CH_2). **EM (FAB$^+$)** [m/z (%)]: 569 ([MH]$^+$, 33), 513 (14), 469 ([MH -Boc]$^+$, 37). **EMAR (FAB$^+$) calculado** para $C_{35}H_{41}N_2O_5$ ([MH]$^+$) 569.301548, **encontrado** 569.301296.



Boc-[*L*-Lys(Z)-*D*-^{Me}N-γ-Acp]-OFm. El compuesto señalado se sintetizó empleando el procedimiento descrito para Boc-[*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp]-OFm a partir de Boc-*D*-^{Me}N-γ-Acp-OFm (250 mg, 590 μmol), obteniéndose 389 mg de dicho compuesto [96%, R_f = 0.51 (50% AcOEt en hexanos), espuma blanca]. **^{1}H RMN** ($CDCl_3$, 250.13 MHz, δ): 7.65 (d, *J* = 7.3 Hz, 2H), 7.47 (d, *J* = 7.3 Hz, 2H), 7.35-7.12 (m, 9H), 5.47 (t, *J* = 9.0 Hz, 1H), 5.21 (m, 1H), 4.97 (s, 2H), 4.81 (m, 1H), 4.61-4.28 (m, 3H), 4.08 (t, *J* = 6.1 Hz, 1H), 3.22-2.89 (m, 2H), 2.83-2.31 (m, 4H), 2.00-1.17 (m, 21H). **^{13}C RMN** ($CDCl_3$, 62.90 MHz, δ): 175.3 (CO), 172.2 (CO), 156.3 (CO), 155.4 (CO), 143.3 (C), 141.1 (C), 136.4 (C), 128.2 (CH), 127.8 (CH), 127.7 (CH), 127.5 (CH), 126.8 (CH), 124.5 (CH), 119.7 (CH), 79.2 (C), 66.1 (CH_2), 65.6 (CH_2), 57.1 y 53.8 (CH), 50.2 (CH), 46.7 (CH), 41.3 y 38.3 (CH), 40.4 (CH_2), 32.7 (CH_2), 31.7 (CH_2), 30.7 (CH_2), 29.0 (CH_3), 28.1 (CH_3), 27.3 (CH_2), 26.9 (CH_2), 22.0 (CH_2). **EM (FAB$^+$)** [m/z (%)]: 706 ([M +Na]$^+$, 9), 684 ([MH]$^+$, 50), 584 ([MH -Boc]$^+$, 66). **EMAR (FAB$^+$) calculado** para $C_{40}H_{50}N_3O_7$ ([MH]$^+$) 684.364877, **encontrado** 684.365090.

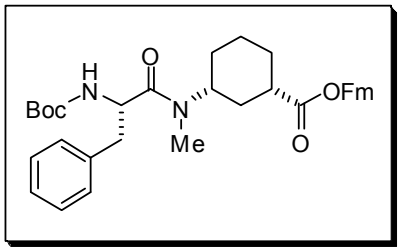


Boc-[*L*-Pra-*D*-^{Me}N-γ-Acp]-OFm. El compuesto señalado se sintetizó empleando el procedimiento descrito para Boc-[*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp]-OFm a partir de Boc-*D*-^{Me}N-γ-Acp-OFm (90 mg, 213 μmol), obteniéndose 106 mg de dicho compuesto [96%, R_f = 0.54 (50% AcOEt en hexanos), espuma blanca]. **^{1}H RMN** ($CDCl_3$, 250.13 MHz, δ): 7.76 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H), 7.58 (d, *J* = 7.3 Hz, 2H), 7.47-7.24 (m, 4H), 5.50 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 4.95 y 4.35 (m, 1H), 4.81 (td, J_1 = 14.7 Hz, J_2 = 7.3 Hz, 1H), 4.52 (m, 2H), 4.20 (t, *J* = 6.1 Hz, 1H), 2.90 (s, 3H), 2.82 (m, 1H), 2.58 (m, 2H), 2.04 (m, 1H), 2.00 (t, *J* = 2.5 Hz, 1H), 1.93-1.49 (m, 5H), 1.44 (s, 9H). **^{13}C RMN** ($CDCl_3$, 62.90 MHz, δ): 175.5 (CO), 170.7 (CO), 154.9 (CO), 143.6 (C), 141.3 (C), 127.7 (CH), 127.0 (CH), 124.7 (CH), 119.9 (CH), 79.8 (C), 77.2 (C), 70.7 (CH), 65.8 (CH_2), 57.8 (CH), 54.2 (CH), 49.0 y 47.4 (CH), 41.6 (CH), 32.1 (CH_2), 30.9 (CH_2), 29.6 (CH_3), 28.2 (CH_3), 27.2 (CH_2), 23.4 (CH_2). **EM (FAB$^+$)** [m/z (%)]: 535 ([MH]$^+$, 65), 479 (34), 435 ([MH -Boc]$^+$, 47). **EM (ESI)** [m/z (%)]: 539 ([M +Na]$^+$, 100), 517 ([MH]$^+$, 84). **EMAR (ESI) calculado** para $C_{31}H_{37}N_2O_5$ ([MH]$^+$) 517.2697, **encontrado** 517.2697.



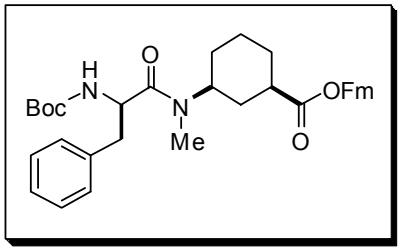
Boc-[*L*-γ-Acp-*D*-^{Me}N-Ala]-OFm. El compuesto señalado se sintetizó empleando el procedimiento descrito para Boc-[*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp]-OFm a partir de Boc-*D*-^{Me}N-Ala-OFm (600 mg, 1.31 mmol), obteniéndose 632 mg de dicho compuesto [98%, R_f = 0.61 (50% AcOEt en hexanos), espuma blanca]. **^{1}H RMN** ($CDCl_3$, 250.13 MHz, δ): 7.75 (d, *J* = 7.4 Hz, 2H), 7.56 (t, *J* = 6.2 Hz, 2H), 7.48-7.27 (m, 4H), 5.51 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 5.17 (c, *J* = 7.4 Hz, 1H), 4.56 (dd, J_1 = 5.9 Hz, J_2 = 4.0 Hz, 2H), 4.19 (t, *J* = 5.9 Hz, 1H), 4.08 (m, 1H), 2.96 (m, 1H), 2.69 (s, 3H), 2.17-1.52 (m, 6H), 1.42 (s, 9H), 1.29 (d, *J* = 7.3 Hz, 3H). **^{13}C RMN** ($CDCl_3$, 62.90 MHz, δ): 176.8 (CO), 171.6 (CO), 155.4 (CO), 143.5 (C), 141.5 (C), 127.7 (CH), 127.1 (CH), 124.7 (CH), 119.9 (CH), 78.7 (C), 66.1 (CH_2), 52.4 (CH), 52.1 (CH), 46.9 (CH), 39.4 (CH), 35.8 (CH_2), 33.8 (CH_2), 31.3 (CH_3), 28.4 (CH_3), 27.9 (CH_2), 14.3 (CH_3). **EM (ESI)** [m/z (%)]: 515 ([M +Na]$^+$, 18), 493 ([MH]$^+$, 100), 437 (52), 393 ([MH -Boc]$^+$, 66). **EMAR (ESI) calculado** para $C_{29}H_{37}N_2O_5$ ([MH]$^+$) 493.2702, **encontrado** 493.2727.

26.3.2. DIPÉPTIDOS DERIVADOS DEL ÁCIDO 3-AMINOCICLOHEXANO-CARBOXÍLICO

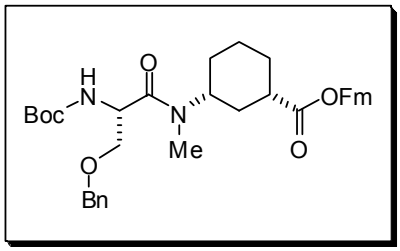


Boc-[*L*-Phe-*D*-^{Me}N-γ-Ach]-OFm. Una disolución de Boc-*D*-^{Me}N-γ-Ach-OFm (500 mg, 1.15 mmol) en 12 mL de TFA/CH_2Cl_2 (1:1) se agitó a ta durante 15 min. A continuación se concentró a sequedad en el rotavapor y el residuo obtenido se secó a alto vacío durante 3 h. La sal de TFA resultante se disolvió en CH_2Cl_2 (6 mL) y se añadió sucesivamente *L*-Boc-Phe-OH (335 mg,

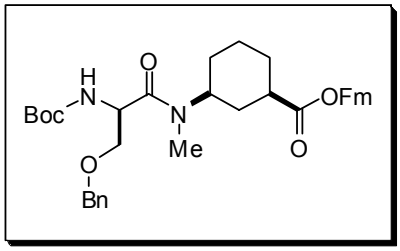
1.26 mmol), HATU (481 mg, 1.26 mmol) y DIEA (802 μL, 4.60 mmol). Después de 1 h agitando a ta, la mezcla resultante se lavó con HCl [(5%), 3 × 20 mL] y $NaHCO_3$ [(dis. sat.), 2 × 20 mL]. Las fases orgánicas combinadas se secaron con Na_2SO_4 y se concentraron a vacío, proporcionando un aceite amarillo que se purificó mediante cromatografía en columna (15-25% AcOEt en hexanos), obteniéndose 566 mg del dipéptido deseado [84%, R_f = 0.63 (50% AcOEt en hexanos), espuma blanca]. **^{1}H RMN** ($CDCl_3$, 250.13 MHz, δ): 7.76 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H), 7.57 (t, *J* = 7.0 Hz, 2H), 7.41-7.16 (m, 9H), 5.43 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 4.79 (m, 1H), 4.56-4.32 (m, 3H), 4.18 (m, 1H), 3.25 (m, 1H), 2.96 (m, 2H), 2.70 y 2.44 (s, 3H), 1.91-0.83 (m,8H), 1.42 (s, 9H). **^{13}C RMN** ($CDCl_3$, 62.90 MHz, δ): 174.4 (CO), 171.1 (CO), 154.8 (CO), 143.4 (C), 141.1 (C), 136.2 (C), 129.3 (CH), 128.9 (CH), 127.6 (CH), 126.9 (CH), 126.3 (CH), 124.3 (CH), 119.8 (CH), 79.3 (C), 65.6 (CH_2), 54.9 (CH), 51.7 (CH), 46.8 (CH), 42.4 (CH), 40.4 (CH_2), 31.8 (CH_2), 29.5 (CH_2), 28.8 (CH_3), 27.2 (CH_3), 27.8 (CH_2), 24.0 (CH_2). **EM (FAB$^+$)** [m/z (%)]: 583 ($[MH]^+$, 22), 483 ($[MH -Boc]^+$, 100). **EMAR (FAB$^+$) calculado** para $C_{36}H_{43}N_2O_5$ ($[MH]^+$) 583.3172, **encontrado** 583.3191.



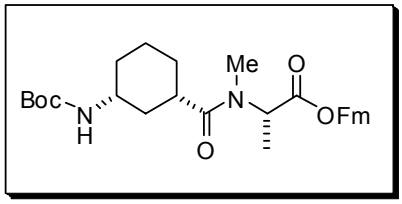
Boc-[*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach]-OFm. El compuesto señalado se sintetizó de forma análoga a Boc-[*L*-Phe-*D*-^{Me}N-γ-Ach]-OFm a partir de Boc-*L*-^{Me}N-γ-Ach-OFm (500 mg, 1.15 mmol), obteniéndose 598 mg de dicho compuesto [89%, R_f = 0.69 (50% AcOEt en hexanos), espuma blanca]. **EM (ESI)** [m/z (%)]: 605 ($[M +Na]^+$, 100), 583 ($[MH]^+$, 8), 483 ($[MH -Boc]^+$, 46). **EMAR (ESI) calculado** para $C_{36}H_{43}N_2O_5$ ($[MH]^+$) 583.3172, **encontrado** 583.3166.



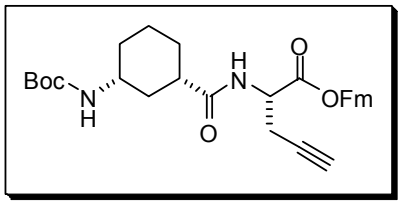
Boc-[*L*-Ser(Bn)-*D*-^{Me}N-γ-Ach]-OFm. El compuesto señalado se sintetizó empleando el procedimiento descrito para Boc-[*L*-Phe-*D*-^{Me}N-γ-Ach]-OFm a partir de Boc-*D*-^{Me}N-γ-Ach-OFm (500 mg, 1.15 mmol), obteniéndose 633 mg de dicho compuesto [90%, R_f = 0.71 (50% AcOEt en hexanos), espuma blanca]. **^{1}H RMN** ($CDCl_3$, 250.13 MHz, δ): 7.71 (d, *J* = 7.3 Hz, 2H), 7.54 (d, *J* = 7.1 Hz, 2H), 7.39-7.18 (m, 9H), 5.51 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 4.85 (m, 1H), 4.51-4.31 (m, 4H), 4.23 (t, *J* = 6.3 Hz, 1H), 3.80 (m, 1H), 3.57 (m, 2H), 2.86 y 2.78 (s, 3H), 2.47 (m, 1H), 2.16-0.85 (m, 8H), 1.42 (s, 9H). **^{13}C RMN** ($CDCl_3$, 62.90 MHz, δ): 174.5 (CO), 170.2 (CO), 154.9 (CO), 143.5 (C), 141.1 (C), 136.3 (C), 128.1 (CH), 128.0 (CH), 127.6 (CH), 127.3 (CH), 126.8 (CH), 124.4 (CH), 119.7 (CH), 79.5 (C), 73.1 (CH_2), 71.1 (CH_2), 65.6 (CH_2), 54.7 (CH), 51.6 (CH), 46.7 (CH), 42.2 (CH), 32.2 (CH_2), 29.5 (CH_2), 29.4 (CH_3), 28.2 (CH_3), 27.6 (CH_2), 24.1 (CH_2). **EM (FAB$^+$)** [m/z (%)]: 613 ($[MH]^+$, 48), 513 ($[MH -Boc]^+$, 100). **EMAR (FAB$^+$) calculado** para $C_{37}H_{45}N_2O_5$ ($[MH]^+$) 613.32776, **encontrado** 613.32607.



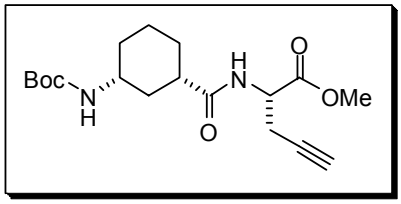
Boc-[*D*-Ser(Bn)-*L*-^{Me}N-γ-Ach]-OFm. El compuesto señalado se sintetizó de forma análoga a Boc-[*L*-Ser(Bn)-*L*-^{Me}N-γ-Ach]-OFm a partir de Boc-*L*-^{Me}N-γ-Ach-OFm (500 mg, 1.15 mmol), obteniéndose 653 mg de dicho compuesto [93%, R_f = 0.74 (50% AcOEt en hexanos), espuma blanca]. **EM (ESI)** [m/z (%)]: 635 ([M +Na]$^+$, 100), 613 ([MH]$^+$, 9), 513 ([MH -Boc]$^+$, 36). **EMAR (ESI) calculado** para $C_{37}H_{45}N_2O_5$ ([MH]$^+$) 613.3278, **encontrado** 613.3272.



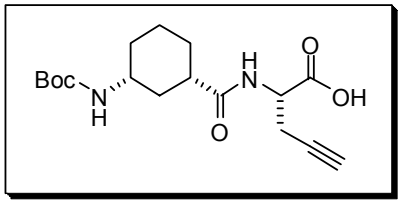
Boc-[*D*-γ-Ach-*L*-^{Me}N-Ala]-OFm. El compuesto señalado se sintetizó empleando el procedimiento descrito para Boc-[*L*-Phe-*D*-^{Me}N-γ-Ach]-OFm a partir de Boc-*L*-^{Me}N-Ala-OFm (600 mg, 1.57 mmol), obteniéndose 763 mg de dicho compuesto [96%, R_f = 0.63 (50% AcOEt en hexanos), espuma blanca]. **^{1}H RMN** ($CDCl_3$, 250.13 MHz, δ): 7.76 (d, *J* = 7.1 Hz, 2H), 7.55 (t, *J* = 7.1 Hz, 2H), 7.45-7.26 (m, 4H), 5.17 (c, *J* = 7.3 Hz, 1H), 4.65-4.41 (m, 3H), 4.17 (t, *J* = 5.8 Hz, 1H), 3.50 (m, 1H), 2.67 (s, 3H), 2.47 (m, 1H), 2.01-1.52 (m, 4H), 1.45 (s, 9H), 1.26 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 1.39-0.96 (m, 4H). **^{13}C RMN** ($CDCl_3$, 62.90 MHz, δ): 174.8 (CO), 171.7 (CO), 155.1 (CO), 143.6 y 143.4 (C), 141.4 y 141.2 (C), 127.8 (CH), 127.1 y 127.0 (CH), 124.8 y 124.7 (CH), 119.9 (CH), 79.1 (C), 66.1 (CH_2), 52.1 (CH), 48.9 (CH), 46.9 (CH), 39.7 (CH), 35.4 (CH_2), 33.0 (CH_2), 31.1 (NCH_3), 28.4 (CH_3), 28.0 (CH_2), 24.3 (CH_2), 14.3 (CH_3). **EM (FAB$^+$)** [m/z (%)]: 1013 ([2MH]$^+$, 6), 529 ([M +Na]$^+$, 6), 507 ([MH]$^+$, 25), 407 ([MH -Boc]$^+$, 100). **EMAR (FAB$^+$) calculado** para $C_{30}H_{39}N_2O_5$ ([MH]$^+$) 507.285898, **encontrado** 507.285979.



Boc-[*D*-γ-Ach-*L*-Pra]-OFm. El compuesto señalado se sintetizó empleando el procedimiento descrito para Boc-[*L*-Phe-*D*-^{Me}N-γ-Ach]-OFm a partir del aminoácido Boc-*L*-Pra-OFm (175 mg, 447 μmol), obteniéndose 217 mg de dicho compuesto [94%, R_f = 0.77 (50% AcOEt en hexanos), sólido amarillento]. **^{1}H RMN** ($CDCl_3$, 300.13 MHz, δ): 7.76 (d, *J* = 7.3 Hz, 2H), 7.57 (dd, J_1 = 7.2 Hz, J_2 = 3.4 Hz, 2H), 7.45-7.27 (m, 4H), 6.24 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H, NH), 4.73 (td, J_1 = 7.9 Hz, J_2 = 4.8 Hz, 1H), 4.63-4.44 (m, 3H), 4.23 (t, *J* = 6.4 Hz, 1H), 3.48 (m, 1H), 2.80 (m, 1H), 2.69 (ddd, J_1 = 7.2 Hz, J_2 = 4.8 Hz, J_3 = 2.6 Hz, 2H), 2.37-1.73 (m, 6H), 1.96 (t, *J* = 2.6 Hz, 1H), 1.43 (s, 9H), 1.39-1.29 (m, 2H). **^{13}C RMN** ($CDCl_3$, 75.40 MHz, δ): 174.4 (CO), 170.2 (CO), 155.1 (CO), 143.3 (C), 141.3 y 141.2 (C), 127.9 (CH), 127.2 y 127.1 (CH), 124.8 (CH), 120.0 (CH), 79.2 (C), 78.2 (C), 71.8 (CH), 67.4 (CH_2), 50.4 (CH), 46.7 (CH), 44.1 (CH), 38.6 (CH), 35.8 (CH_2), 32.7 (CH_2), 28.6 (CH_2), 28.4 (CH_3), 24.2 (CH_2), 22.2 (CH_2). **EM (FAB$^+$)** [m/z (%)]: 1033 ([2MH]$^+$, 4), 539 ([M +Na]$^+$, 5), 517 ([MH]$^+$, 9), 407 ([MH -Boc]$^+$, 100). **EMAR (FAB$^+$) calculado** para $C_{31}H_{37}N_2O_5$ ([MH]$^+$) 517.270248, **encontrado** 517.268785.

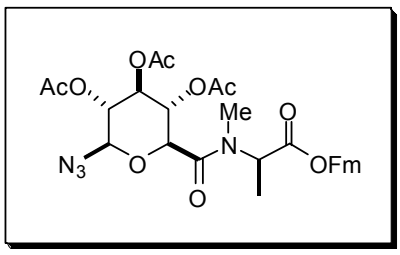


Boc-[*D*-γ-Ach-*L*-Pra]-OMe. Sobre una disolución de hidrocloruro del éster metílico de *L*-propargilglicina (75 mg, 0.59 mmol) en CH_2Cl_2 (12 mL) se añadió sucesivamente *D*-Boc-γ-Ach-OH (143 mg, 0.59 mmol), HATU (247 mg, 0.65 mmol) y DIEA (412 μL, 2.36 mmol). Después de 1 h agitando a ta, la mezcla resultante se lavó con HCl [(5%), 3 × 10 mL] y $NaHCO_3$ [(dis. sat.), 2 × 10 mL]. Las fases orgánicas combinadas se secaron con Na_2SO_4 y se concentraron a vacío, proporcionando un sólido amarillo que se purificó mediante cromatografía en columna (30-85% AcOEt en hexanos), obteniéndose 128 mg del dipéptido deseado [62%, R_f = 0.62 (10% MeOH en CH_2Cl_2), sólido amarillento]. **^{1}H RMN** ($CDCl_3$, 300.13 MHz, δ): 6.42 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H, NH), 4.66 (td, J_1 = 7.9 Hz, J_2 = 4.8 Hz, 1H), 4.58 (d, *J* = 7.0 Hz, 1H, NH), 3.72 (s, 3H), 3.42 (m, 1H), 2.74 (m, 1H), 2.69 (dd, J_1 = 4.3 Hz, J_2 = 2.5 Hz, 2H), 2.42-2.01 (m, 2H), 1.98 (t, *J* = 2.5 Hz, 1H), 1.95-1.67 (m, 4H), 1.37 (s, 9H), 1.29-1.11 (m, 2H). **^{13}C RMN** ($CDCl_3$, 75.40 MHz, δ): 174.6 (CO), 170.7 (CO), 155.3 (CO), 79.4 (C), 78.1 (C), 71.7 (CH), 53.2 (CH_3), 50.8 (CH), 44.4 (CH), 39.1 (CH), 36.3 (CH_2), 33.1 (CH_2), 30.0 (CH_2), 28.8 (CH_3), 24.7 (CH_2), 22.7 (CH_2). **EM (FAB$^+$)** [m/z (%)]: 375 ([M +Na]$^+$, 7), 353 ([MH]$^+$, 27), 253 ([MH -Boc]$^+$, 100). **EMAR (FAB$^+$) calculado** para $C_{18}H_{29}N_2O_5$ ([MH]$^+$) 353.2076, **encontrado** 353.2098.



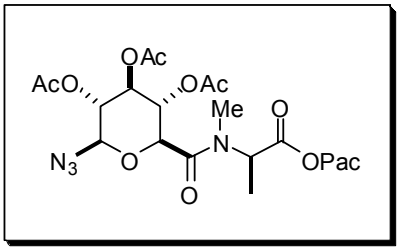
Boc-[*D*-γ-Ach-*L*-Pra]-OH. Sobre una disolución de Boc-[*D*-γ-Ach-*L*-Pra]-OMe (100 mg, 0.28 mmol) en una mezcla 3:1 MeOH/H_2O (4 mL) se añadió LiOH.H_2O (60 mg, 1.42 mmol) a 0 ºC, y la disolución resultante se agitó durante 3 h. Transcurrido ese tiempo, se diluyó adicionando H_2O (4 mL) y se lavó con CH_2Cl_2 (3 × 5 mL). A continuación se acidificó a pH 3 con HCl (10%) y se extrajo con CH_2Cl_2 (3 × 10 mL). Las fases orgánicas combinadas se secaron con Na_2SO_4 y se concentraron a vacío, proporcionando 96 mg de Boc-[*D*-γ-Ach-*L*-Pra-]-OH en forma de espuma blanca [100%, R_f = 0.24 (10% MeOH en CH_2Cl_2)]. **EM (FAB$^+$)** [m/z (%)]: 678 ([2MH]$^+$, 3), 361 ([M +Na]$^+$, 4), 339 ([MH]$^+$, 17), 238 ([MH -Boc]$^+$, 100). **EMAR (FAB$^+$) calculado** para $C_{17}H_{27}N_2O_5$ ([MH]$^+$) 339.192003, **encontrado** 339.192036.

26.3.3. DIPÉPTIDOS DERIVADOS DEL ÁCIDO 2,3,4-TRI-*O*-ACETIL-1-AZIDO-1-DESOXI-β-*D*-GLUCOPIRANURÓNICO

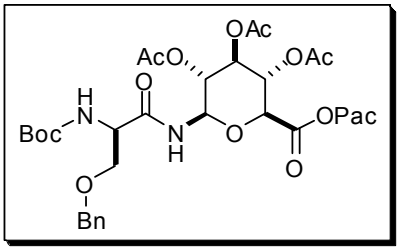


N_3-[*D*-γ-Agl-*D*-^{Me}N-Ala]-OFm. Una disolución de Boc-*D*-^{Me}N-Ala-OFm (602 mg, 1.58 mmol) en 20 mL de TFA/CH_2Cl_2 (1:1) se agitó a ta durante 15 min. A continuación se concentró a sequedad en el rotavapor y el residuo obtenido se secó a alto vacío durante 3 h. La sal de TFA resultante se disolvió en CH_2Cl_2 (10 mL) y se añadió sucesivamente N_3-*D*-γ-Agl-OH (600 mg, 1.74 mmol), HATU (721 mg, 1.90 mmol) y DIEA (1.1 mL, 6.32 mmol). Después de 1 h agitando

a ta, la mezcla resultante se lavó con HCl [(5%), 3 × 15 mL]. Las fases orgánicas combinadas se secaron con Na_2SO_4 y se concentraron a vacío, proporcionando un aceite amarillo que se purificó mediante cromatografía en columna (15-30% AcOEt en hexanos), obteniéndose 879 mg del dipéptido deseado [92%, R_f = 0.59 (50% AcOEt en hexanos), espuma blanca]. **^{1}H RMN** ($CDCl_3$, 250.13 MHz, δ): 7.76 (d, *J* = 7.1 Hz, 2H), 7.57 (d, *J* = 7.2 Hz, 2H), 7.48-7.29 (m, 4H), 5.74-4.88 (m, 4H), 5.84-4.01 (m, 5H), 3.08-2.55 (s, 3H), 2.11 (s, 3H), 2.04 (s, 3H), 1.94 (s, 3H), 1.36 (dd, J_1 = 7.2 Hz, J_2 = 2.0 Hz, 3H). **EM (FAB$^+$)** [m/z (%)]: 631 ([M +Na]$^+$, 11), 609 ([MH]$^+$, 59), 566 (30). **EMAR (FAB$^+$) calculado** para $C_{30}H_{33}N_4O_{10}$ ([MH]$^+$) 609.219669, **encontrado** 609.219585.



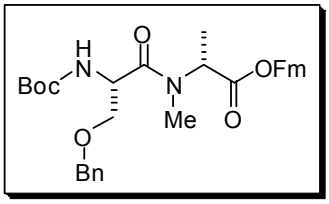
N_3-[*D*-γ-Agl-*D*-^{Me}N-Ala]-OPac. El compuesto señalado se sintetizó empleando el procedimiento descrito para N_3-[*D*-γ-Agl-*D*-^{Me}N-Ala]-OFm a partir de Boc-*D*-^{Me}N-Ala-OPac (700 mg, 2.18 mmol) y N_3-*D*-γ-Agl-OH (752 mg, 2.18 mmol), obteniéndose 1.09 g de dicho compuesto [91%, R_f = 0.32 (40% AcOEt en hexanos), espuma blanca]. **^{1}H RMN** ($CDCl_3$, 250.13 MHz, δ): 7.88 (d, *J* = 7.1 Hz, 2H), 7.69-7.40 (m, 3H), 5.73-4.82 (m, 6H), 4.71 (dd, J_1 = 18.4 Hz, J_2 = 8.8 Hz, 1H), 4.44 (dd, J_1 = 17.1 Hz, J_2 = 9.7 Hz, 1H), 3.23-2.75 (s, 3H), 2.07 (s, 3H), 2.01 (s, 3H), 1.97 (s, 3H), 1.61-1.45 (m, 3H). **EM (FAB$^+$)** [m/z (%)]: 571 ([M +Na]$^+$, 5), 549 ([MH]$^+$, 15), 506 (25). **EMAR (FAB$^+$) calculado** para $C_{24}H_{29}N_4O_{11}$ ([MH]$^+$) 549.183283, **encontrado** 549.183472.



Boc-[*D*-Ser(Bn)-*D*-γ-Agl]-OPac. ***Procedimiento general del acoplamiento de Staudinger.*** Sobre una disolución de Boc-*D*-Ser(Bn)-OH (351 mg, 1.19 mmol) en THF (10 mL) previamente enfriada a 0 ºC se añadió sucesivamente HOBt (175 mg, 1.30 mmol) y DIC (203 μL, 1.30 mmol). La mezcla resultante se agitó a 0 ºC durante 10 min. Transcurrido ese tiempo se añadió N_3-*D*-γ-Agl-OPac (500 mg, 1.08 mmol), y la disolución obtenida se enfrió a -78 ºC. A continuación se adicionó lentamente PBu_3 (269 μL, 1.08 mmol) y la mezcla resultante se agitó a -78 ºC y bajo Ar durante 5 h. La disolución obtenida se concentró a vacío, dando lugar a un aceite amarillo que se disolvió en CH_2Cl_2 (25 mL) y se lavó con HCl [(5%), 3 × 15 mL]. Las fases orgánicas combinadas se secaron con Na_2SO_4 y se concentraron a vacío, proporcionando un aceite amarillo que se purificó mediante cromatografía en columna (0-3% MeOH en CH_2Cl_2), obteniéndose 685 mg del dipéptido deseado [89%, R_f = 0.41 (5% MeOH en CH_2Cl_2), espuma blanca]. **^{1}H RMN** ($CDCl_3$, 250.13 MHz, δ): 7.88 (d, *J* = 7.2 Hz, 2H), 7.61 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H), 7.48 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H), 7.41-7.19 (m, 5H), 6.45 (d, *J* = 3.6 Hz, 1H), 5.65-5.22 (m, 4H), 5.41 (s, 2H), 4.88 (m, 1H), 4.54 (s, 2H), 4.43 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 3.99-3.53 (m, 2H), 2.11 (s, 3H), 2.04 (s, 3H), 1.99 (s, 3H) 1.44 (s, 9H). **^{13}C RMN** ($CDCl_3$, 62.90 MHz, δ): 190.3 (CO), 170.0 (CO), 169.6 (CO), 169.2 (CO), 165.9 (CO), 165.8 (CO), 155.5 (CO), 134.0 (CH), 133.7 (C), 128.8 (CH), 128.5 (CH), 127.9 (CH), 127.7 (CH), 127.6 (CH), 127.5 (CH), 94.3 (CH), 77.2 (C), 74.2 (CH), 73.3 (CH_2), 72.4 (CH), 69.4 (CH), 69.0 (CH), 67.1 (CH_2), 67.0 (CH_2), 52.8 (CH), 28.2 (CH_3), 20.6 (CH_3), 20.5 (CH_3), 20.4 (CH_3). **EM (ESI)** [m/z (%)]: 753 ([M +K]$^+$, 4),

737 ([M +Na]$^+$, 8), 715 ([MH]$^+$, 22), 615 ([MH -Boc]$^+$, 100). **EMAR (ESI) calculado** para $C_{35}H_{42}N_2O_{14}Na$ ([M +Na]$^+$) 737.2534, **encontrado** 737.2528.

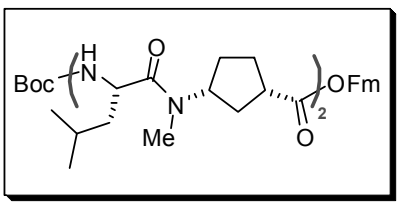
26.3.4. OTROS DIPÉPTIDOS



Boc-[*L*-Ser(Bn)-*D*-^{Me}N-Ala]-OFm. Una disolución de Boc-*D*-^{Me}N-Ala-OFm (1.00 g, 2.62 mmol) en 34 mL de TFA/CH_2Cl_2 (1:1) se agitó a ta durante 15 min. A continuación se concentró a sequedad en el rotavapor y el residuo obtenido se secó a alto vacío durante 3 h. La sal de TFA resultante se disolvió en CH_2Cl_2 (25 mL) y se añadió sucesivamente Boc-*L*-Ser(Bn)-OH (0.93 g, 3.14 mmol), HATU (1.20 g, 3.14 mmol) y DIEA (1.83 mL, 10.48 mmol). Después de 1 h agitando a ta, la mezcla resultante se lavó con HCl [(5%), 3 × 15 mL] y $NaHCO_3$ [(dis. sat.), 2 × 15 mL]. Las fases orgánicas combinadas se secaron con Na_2SO_4 y se concentraron a vacío, proporcionando un aceite amarillo que se purificó mediante cromatografía en columna (15-30% AcOEt en hexanos), obteniéndose 1.29 g del dipéptido deseado [88%, R_f = 0.66 (50% AcOEt en hexanos), espuma blanca]. **^{1}H RMN** ($CDCl_3$, 250.13 MHz, δ): 7.72 (d, *J* = 7.1 Hz, 2H), 7.52 (t, *J* = 6.4 Hz, 2H), 7.40-7.17 (m, 9H), 5.52 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 5.26 (m, 1H), 4.87 (m, 1H), 4.52-4.35 (m, 4H), 4.15 (t, *J* = 6.4 Hz, 1H), 3.11 (m, 2H), 2.81 (s, 3H), 1.42 (s, 9H), 1.25 (d, *J* = 7.2 Hz, 3H). **^{13}C RMN** ($CDCl_3$, 62.90 MHz, δ): 171.1 (CO), 170.9 (CO), 154.9 (CO), 143.4 (C), 141.2 (C), 137.6 (C), 128.2 (CH), 128.1 (CH), 127.8 (CH), 127.3 (CH), 126.8 (CH), 124.5 (CH), 119.9 (CH), 79.6 (C), 73.1 (CH_2), 70.9 (CH_2), 66.7 (CH_2), 55.0 (CH), 50.1 (CH), 46.7 (CH), 31.3 (CH_3), 28.2 (CH_3), 14.1 (CH_3). **EM (FAB$^+$)** [m/z (%)]: 1117 ([2MH]$^+$, 10), 581 ([M +Na]$^+$, 20), 559 ([MH]$^+$, 100), 459 ([MH -Boc]$^+$, 36). **EMAR (FAB$^+$) calculado** para $C_{33}H_{39}N_2O_6$ ([MH]$^+$) 559.280812, **encontrado** 559.281385.

26.4. TETRAPÉPTIDOS

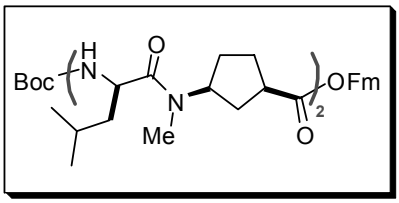
26.4.1. TETRAPÉPTIDOS DERIVADOS DEL ÁCIDO 3-AMINOCICLOPENTANO-CARBOXÍLICO



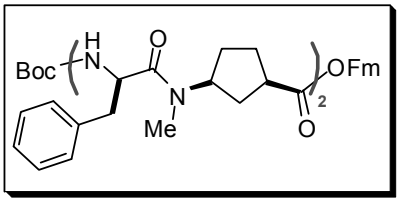
Boc-[(*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp)$_2$-]-OFm. Una disolución del dipéptido Boc-[*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp]-OFm (400 mg, 0.75 mmol) en 10 mL de piperidina/CH_2Cl_2 (1:4) se agitó a ta durante 20 min. A continuación se concentró a vacío y el residuo obtenido se disolvió en CH_2Cl_2 (10 mL). La disolución se lavó con HCl [(5%), 3 × 5 mL], se secó con Na_2SO_4, se filtró y se concentró a sequedad, dando Boc-[*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp]-OH que se usó directamente sin ningún tipo alguno de purificación adicional.

Una disolución de Boc-[*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp]-OFm (400 mg, 0.75 mmol) en 8 mL de TFA/CH_2Cl_2 (1:1) se agitó a ta durante 15 min. A continuación se concentró a sequedad en el rotavapor y el residuo obtenido se secó a alto vacío durante 3 h. La sal de TFA resultante se

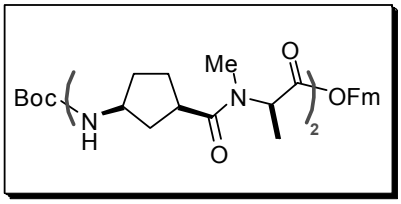
disolvió en CH_2Cl_2 (4 mL) y se añadió sucesivamente Boc-[*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp]-OH, HATU (313 mg, 0.82 mmol) y DIEA (523 μL, 3.00 mmol). Después de 1 h agitando a ta, la mezcla resultante se lavó con HCl [(5%), 3 × 3 mL] y $NaHCO_3$ [(dis. sat.), 2 × 3 mL]. Las fases orgánicas combinadas se secaron con Na_2SO_4 y se concentraron a vacío, proporcionando un aceite amarillo que se purificó mediante cromatografía en columna (0-3% MeOH en CH_2Cl_2), obteniéndose 548 mg de Boc-[(*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp)$_2$-]-OFm [95%, R_f = 0.28 (3% MeOH en CH_2Cl_2), espuma blanca]. **EM (FAB$^+$)** [m/z (%)]: 795 ([M +Na]$^+$, 9), 773 ([MH]$^+$, 47), 673 ([MH -Boc]$^+$, 5), 560 (10), 452 (12). **EMAR (FAB$^+$) calculado** para $C_{45}H_{65}N_4O_7$ ([MH]$^+$) 773.485326, **encontrado** 773.485598.



Boc-[(*D*-Leu-*L*-^{Me}N-γ-Acp)$_2$-]-OFm. El compuesto señalado se sintetizó de forma análoga a Boc-[(*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp)$_2$-]-OFm a partir de Boc-[*D*-Leu-*L*-^{Me}N-γ-Acp]-OFm (225 mg, 421 μmol), obteniéndose 270 mg de dicho compuesto [83%, R_f = 0.28 (3% MeOH en CH_2Cl_2), espuma blanca]. **EM (FAB$^+$)** [m/z (%)]: 773 ([MH]$^+$, 100), 673 ([MH -Boc]$^+$, 14), 560 (22), 452 (48). **EMAR (FAB$^+$) calculado** para $C_{45}H_{65}N_4O_7$ ([MH]$^+$) 773.485326, **encontrado** 773.485750.

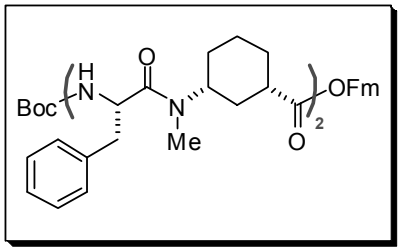


Boc-[(*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Acp)$_2$-]-OFm. El compuesto señalado se sintetizó empleando el procedimiento descrito para Boc-[(*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp)$_2$-]-OFm a partir de Boc-[*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Acp]-OFm (110 mg, 194 μmol), obteniéndose 153 mg de dicho compuesto [94%, R_f = 0.32 (3% MeOH en CH_2Cl_2), espuma blanca]. **EM (FAB$^+$)** [m/z (%)]: 841 ([MH]$^+$, 100), 741 ([MH -Boc]$^+$, 36), 594 (52), 520 (60), 420 (90). **EMAR (FAB$^+$) calculado** para $C_{51}H_{61}N_4O_7$ ([MH]$^+$) 841.454026, **encontrado** 841.453716.



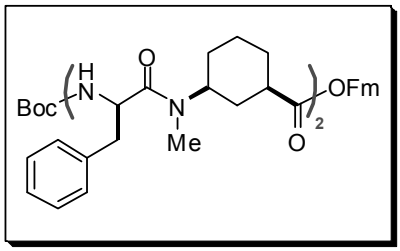
Boc-[(*L*-γ-Acp-*D*-^{Me}N-Ala)$_2$-]-OFm. El compuesto señalado se sintetizó empleando el procedimiento descrito para Boc-[(*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp)$_2$-]-OFm a partir de Boc-[*L*-γ-Acp-*D*-^{Me}N-Ala]-OFm (200 mg, 406 μmol), obteniéndose 265 mg de dicho compuesto [95%, R_f = 0.38 (3% MeOH en CH_2Cl_2), espuma blanca]. **EM (ESI)** [m/z (%)]: 711 ([M +Na]$^+$, 12), 689 ([MH]$^+$, 100), 589 ([MH -Boc]$^+$, 7). **EMAR (ESI) calculado** para $C_{39}H_{53}N_4O_7$ ([MH]$^+$) 689.3914, **encontrado** 689.3922.

26.4.2. TETRAPÉPTIDOS DERIVADOS DEL ÁCIDO 3-AMINOCICLOHEXANO-CARBOXÍLICO

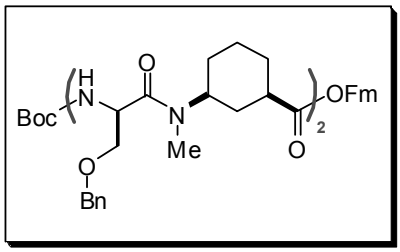


Boc-[(*L*-Phe-*D*-^{Me}N-γ-Ach)$_2$-]-OFm. Una disolución del dipéptido Boc-[*L*-Phe-*D*-^{Me}N-γ-Ach]-OFm (500 mg, 0.86 mmol) en 10 mL de piperidina/CH_2Cl_2 (1:4) se agitó a ta durante 20 min. A continuación se concentró a vacío y el residuo obtenido se disolvió en CH_2Cl_2 (10 mL). La disolución se lavó con HCl [(5%), 3 × 5 mL], se secó con Na_2SO_4, se filtró y se concentró a sequedad, dando Boc-[*L*-Phe-*D*-^{Me}N-γ-Ach-]-OH que se usó directamente sin ningún tipo alguno de purificación adicional.

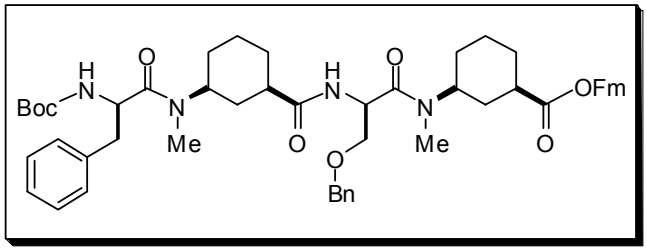
Una disolución de Boc-[*L*-Phe-*D*-^{Me}N-γ-Ach]-OFm (500 mg, 0.86 mmol) en 10 mL de TFA/CH_2Cl_2 (1:1) se agitó a ta durante 15 min. A continuación se concentró a sequedad en el rotavapor y el residuo obtenido se secó a alto vacío durante 3 h. La sal de TFA resultante se disolvió en CH_2Cl_2 (5 mL) y se añadió sucesivamente Boc-[*L*-Phe-*D*-^{Me}N-γ-Ach]-OH, HATU (360 mg, 0.95 mmol) y DIEA (601 μL, 3.44 mmol). Después de 1 h agitando a ta, la mezcla resultante se lavó con HCl [(5%), 3 × 3 mL] y $NaHCO_3$ [(dis. sat.), 2 × 3 mL]. Las fases orgánicas combinadas se secaron con Na_2SO_4 y se concentraron a vacío, proporcionando un aceite amarillo que se purificó mediante cromatografía en columna (0-3% MeOH en CH_2Cl_2), obteniéndose 694 mg de Boc-[(*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp)$_2$-]-OFm [93%, R_f = 0.29 (3% MeOH en CH_2Cl_2), espuma blanca]. **EM (FAB$^+$)** [m/z (%)]: 869 ([MH]$^+$, 18), 769 ([MH -Boc]$^+$, 100). **EMAR (FAB$^+$) calculado** para $C_{53}H_{65}N_4O_7$ ([MH]$^+$) 869.485326, **encontrado** 869.485449.



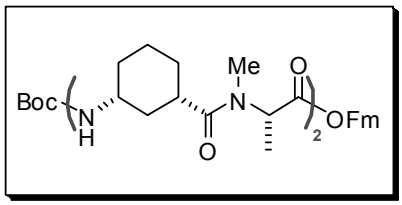
Boc-[(*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach)$_2$-]-OFm. El compuesto señalado se sintetizó de forma análoga a Boc-[(*L*-Phe-*D*-^{Me}N-γ-Ach)$_2$-]-OFm a partir de Boc-[*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach]-OFm (280 mg, 481 μmol), obteniéndose 380 mg de dicho compuesto [91%, R_f = 0.32 (3% MeOH en CH_2Cl_2), espuma blanca]. **EM (FAB$^+$)** [m/z (%)]: 869 ([MH]$^+$, 10), 769 ([MH -Boc]$^+$, 100). **EMAR (FAB$^+$) calculado** para $C_{53}H_{65}N_4O_7$ ([MH]$^+$) 869.48532, **encontrado** 869.48466.



Boc-{[*D*-Ser(Bn)-*L*-^{Me}N-γ-Ach]$_2$-}-OFm. El compuesto señalado se sintetizó empleando el procedimiento descrito para Boc-[(*L*-Phe-*D*-^{Me}N-γ-Ach)$_2$-]-OFm a partir de Boc-[*D*-Ser(Bn)-*L*-^{Me}N-γ-Ach]-OFm (563 mg, 968 μmol), obteniéndose 609 mg de dicho compuesto [73%, R_f = 0.56 (10% MeOH en CH_2Cl_2), espuma blanca]. **EM (FAB$^+$)** [m/z (%)]: 929 ([MH]$^+$, 54), 829 ([MH -Boc]$^+$, 100). **EMAR (FAB$^+$) calculado** para $C_{55}H_{69}N_4O_9$ ([MH]$^+$) 929.50646, **encontrado** 929.50596.

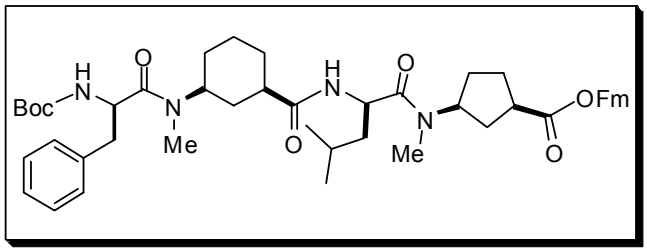


Boc-[*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach-*D*-Ser(Bn)-*L*-^{Me}N-γ-Ach]-OFm. El compuesto señalado se sintetizó empleando el procedimiento descrito para Boc-[(*L*-Phe-*D*-^{Me}N-γ-Ach)$_2$-]-OFm a partir de los dipéptidos Boc-[*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach]-OFm (300 mg, 515 μmol) y Boc-[*D*-Ser(Bn)-*L*-^{Me}N-γ-Ach]-OFm (315 mg, 515 μmol), obteniéndose 437 mg de dicho compuesto [94%, R_f = 0.26 (3% MeOH en CH_2Cl_2), espuma amarillenta]. **EM (ESI)** [m/z (%)]: 921 ([M +Na]$^+$, 89), 899 ([MH]$^+$, 100), 799 ([MH -Boc]$^+$, 58). **EMAR (ESI) calculado** para $C_{54}H_{67}N_4O_8$ ([MH]$^+$) 899.4959, **encontrado** 899.4953.



Boc-[(*D*-γ-Ach-*L*-^{Me}N-Ala)$_2$-]-OFm. El compuesto señalado se sintetizó empleando el procedimiento descrito para Boc-[(*L*-Phe-*D*-^{Me}N-γ-Ach)$_2$-]-OFm a partir de Boc-[*D*-γ-Ach-*L*-^{Me}N-Ala]-OFm (375 mg, 741 μmol), obteniéndose 516 mg de dicho compuesto [97%, R_f = 0.59 (10% MeOH en CH_2Cl_2), espuma blanca]. **EM (FAB$^+$)** [m/z (%)]: 739 ([M +Na]$^+$, 10), 717 ([MH]$^+$, 78), 617 ([MH -Boc]$^+$, 62), 492 (9). **EMAR (FAB$^+$) calculado** para $C_{41}H_{57}N_4O_7$ ([MH]$^+$) 717.422726, **encontrado** 717.421665.

26.4.3. TETRAPÉPTIDOS HÍBRIDOS Acp/Ach

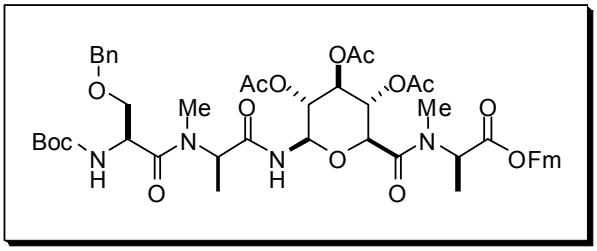


Boc-[*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach-*D*-Leu-*L*-^{Me}N-γ-Acp]-OFm. Una disolución del dipéptido Boc-[*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach]-OFm (44 mg, 75 μmol) en 1 mL de piperidina/CH_2Cl_2 (1:4) se agitó a ta durante 20 min. A continuación se concentró a vacío y el residuo obtenido se disolvió en CH_2Cl_2 (5 mL). La disolución se lavó con HCl [(5%), 3 × 3 mL], se secó con Na_2SO_4, se filtró y se concentró a sequedad, dando Boc-[*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach]-OH que se usó directamente sin ningún tipo alguno de purificación adicional.

Una disolución de Boc-[*D*-Leu-*L*-^{Me}N-γ-Acp]-OFm (40 mg, 75 μmol) en 1 mL de TFA/CH_2Cl_2 (1:1) se agitó a ta durante 15 min. A continuación se concentró a sequedad en el rotavapor y el residuo obtenido se secó a alto vacío durante 3 h. La sal de TFA resultante se disolvió en CH_2Cl_2 (2 mL) y se añadió sucesivamente Boc-[*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach]-OH, HBTU (31 mg, 82 μmol) y DIEA (52 μL, 300 μmol). Después de 1 h agitando a ta, la mezcla resultante se lavó con HCl [(5%), 3 × 3 mL] y $NaHCO_3$ [(dis. sat.), 2 × 3 mL]. Las fases orgánicas combinadas se secaron con Na_2SO_4 y se concentraron a vacío, proporcionando un aceite amarillo que se purificó mediante cromatografía en columna (0-3% MeOH en CH_2Cl_2), obteniéndose 61 mg de Boc-[*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach-*D*-Leu-*L*-^{Me}N-γ-Acp]-OFm [99%, R_f = 0.29

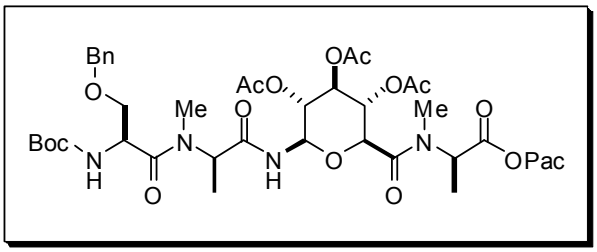
(3% MeOH en CH_2Cl_2), espuma blanca]. **EM (MALDI-TOF)** [m/z (%)]: 843 ([M +Na]$^+$, 4), 761 (16), 743 ([M +Na -Boc]$^+$, 100), 596 (29). **EMAR (MALDI-TOF) calculado** para $C_{49}H_{64}N_4O_7Na$ ([M +Na]$^+$) 843.4667, **encontrado** 843.4701.

26.4.4. TETRAPÉPTIDOS DERIVADOS DEL ÁCIDO 2,3,4-TRI-*O*-ACETIL-1-AZIDO-1-DESOXI-β-*D*-GLUCOPIRANURÓNICO

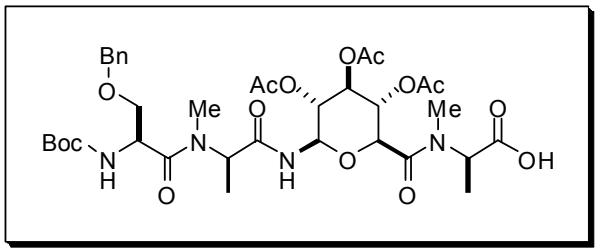


Boc-[*L*-Ser(Bn)-*D*-^{Me}N-Ala-*D*-γ-Agl-*D*-^{Me}N-Ala]-OFm. Una disolución del dipéptido Boc-[*L*-Ser(Bn)-*D*-^{Me}N-Ala]-OFm (450 mg, 0.81 mmol) en 10 mL de piperidina/CH_2Cl_2 (1:4) se agitó a ta durante 20 min. A continuación se concentró a vacío y el residuo obtenido se disolvió en CH_2Cl_2 (10 mL). La disolución se lavó con HCl [(5%), 3 × 5 mL], se secó con Na_2SO_4, se filtró y se concentró a sequedad, dando Boc-[*L*-Ser(Bn)-*D*-^{Me}N-Ala]-OH que se usó directamente sin ningún tipo alguno de purificación adicional.

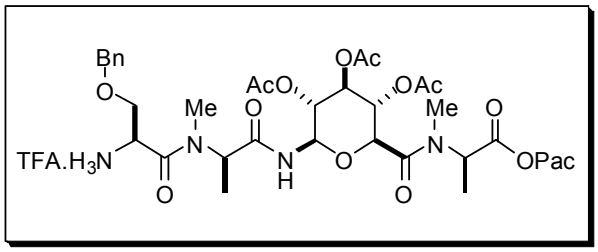
Sobre una disolución de Boc-[*L*-Ser(Bn)-*D*-^{Me}N-Ala]-OH en THF (10 mL) previamente enfriada a 0 ºC se añadió sucesivamente HOBt (131 mg, 0.97 mmol) y DIC (151 μL, 0.97 mmol). La mezcla resultante se agitó a 0 ºC durante 10 min. Transcurrido ese tiempo se añadió N_3-[*D*-γ-Agl-*D*-^{Me}N-Ala]-OFm (490 mg, 0.81 mmol), y la disolución obtenida se enfrió a -78 ºC. A continuación se adicionó lentamente PBu_3 (201 μL, 0.81 mmol) y la mezcla resultante se agitó a -78 ºC y bajo Ar durante 8 h. La disolución obtenida se concentró a vacío, dando lugar a un aceite amarillo. El residuo se disolvió en CH_2Cl_2 (25 mL) y se lavó con HCl [(5%), 3 × 15 mL]. Las fases orgánicas combinadas se secaron con Na_2SO_4 y se concentraron a vacío, proporcionando un aceite amarillo que se purificó mediante cromatografía en columna (40-60% AcOEt en hexanos), obteniéndose 586 mg del tetrapéptido deseado [77%, R_f = 0.29 (3% MeOH en CH_2Cl_2), espuma amarillenta]. **EM (FAB$^+$)** [m/z (%)]: 967 ([M +Na]$^+$, 12), 945 ([MH]$^+$, 9), 845 ([MH -Boc]$^+$, 100), 566 (9), 363 (34). **EMAR (FAB$^+$) calculado** para $C_{49}H_{61}N_4O_{15}$ ([MH]$^+$) 945.413343, **encontrado** 945.414079.



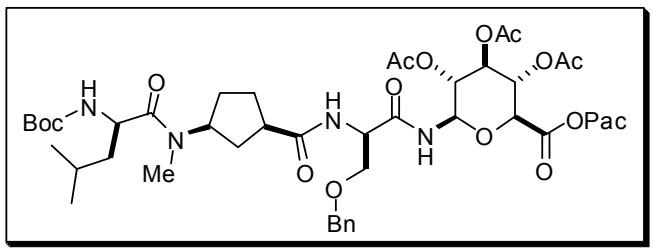
Boc-[*L*-Ser(Bn)-*D*-^{Me}N-Ala-*D*-γ-Agl-*D*-^{Me}N-Ala]-OPac. El compuesto señalado se sintetizó empleando el procedimiento descrito para el tetrapéptido Boc-[*L*-Ser(Bn)-*D*-^{Me}N-Ala-*D*-γ-Agl-*D*-^{Me}N-Ala]-OFm a partir de Boc-[*L*-Ser(Bn)-*D*-^{Me}N-Ala]-OFm (600 mg, 1.08 mmol) y N_3-[*D*-γ-Agl-*D*-^{Me}N-Ala]-OPac (589 mg, 1.08 mmol), obteniéndose 537 mg de dicho compuesto [82%, R_f = 0.29 (5% MeOH en CH_2Cl_2), espuma blanca]. **EM (FAB$^+$)** [m/z (%)]: 907 ([M +Na]$^+$, 19), 885 ([MH]$^+$, 12), 785 ([MH -Boc]$^+$, 100). **EMAR (FAB$^+$) calculado** para $C_{43}H_{57}N_4O_{16}$ ([MH]$^+$) 885.376958, **encontrado** 885.375336.



Boc-[*L*-Ser(Bn)-*D*-^{Me}N-Ala-*D*-γ-Agl-*D*-^{Me}N-Ala]-OH. Sobre una disolución del tetrapéptido Boc-[*L*-Ser(Bn)-*D*-^{Me}N-Ala-*D*-γ-Agl-*D*-^{Me}N-Ala]-OPac (50 mg, 56 μmol) en 1 mL de AcOH/DMF (1:1) se añadió Zn (110 mg, 1.68 mmol). La suspensión resultante se agitó a ta bajo Ar durante 8 h. Posteriormente, la mezcla obtenida se filtró a través de Celita, se lavó el sólido con MeOH (3 × 1 mL), y el filtrado obtenido se concentró a vacío. A continuación se añadió Et_2O (3 mL) y se concentró a vacío, obteniéndose un precipitado blanco. El residuo resultante se disolvió en HCl [(5%), 3 mL] y se extrajo con CH_2Cl_2 (3 × 5 mL). Las fases orgánicas combinadas se secaron con Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a sequedad. El residuo obtenido se purificó por HPLC en fase reversa, y los extractos acuosos combinados se concentraron y liofilizaron, obteniéndose 38.0 mg de Boc-[*L*-Ser(Bn)-*D*-^{Me}N-Ala-*D*-γ-Agl-*D*-^{Me}N-Ala]-OH como un sólido blanco [88%, T_r = 22 min (Columna Zorbax C18, 40-70% *Disolvente B en Disolvente A*, 30 min)]. **EM (FAB$^+$)** [m/z (%)]: 789 ([M +Na]$^+$, 16), 767 ([MH]$^+$, 17), 667 ([MH -Boc]$^+$, 100). **EMAR (FAB$^+$) calculado** para $C_{35}H_{51}N_4O_{15}$ ([MH]$^+$) 767.335093, **encontrado** 767.334526.



TFA.H_3N-[*L*-Ser(Bn)-*D*-^{Me}N-Ala-*D*-γ-Agl-*D*-^{Me}N-Ala]-OPac. Una disolución de Boc-[*L*-Ser(Bn)-*D*-^{Me}N-Ala-*D*-γ-Agl-*D*-^{Me}N-Ala]-OPac (50 mg, 56 μmol) en 600 μL de TFA/CH_2Cl_2 (1:1) se agitó a ta durante 15 min. A continuación se concentró a sequedad en el rotavapor y el residuo obtenido se secó a alto vacío durante 3 h. El residuo obtenido se purificó por HPLC en fase reversa, y los extractos acuosos combinados se concentraron y liofilizaron, obteniéndose 46.0 mg de TFA.H_3N-[*L*-Ser(Bn)-*D*-^{Me}N-Ala-*D*-γ-Agl-*D*-^{Me}N-Ala]-OPac en forma de sólido espumoso amarillento [92%, T_r = 26 min (Columna Zorbax C18, 30-70% *Disolvente B en Disolvente A*, 30 min)]. **EM (FAB$^+$)** [m/z (%)]: 807 ([M +Na]$^+$, 6), 785 ([MH]$^+$, 100). **EMAR (FAB$^+$) calculado** para $C_{38}H_{49}N_4O_{14}$ ([MH]$^+$) 785.324528, **encontrado** 785.324545.



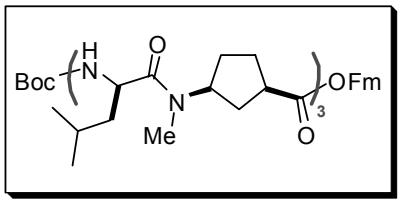
Boc-[*D*-Leu-*L*-^{Me}N-γ-Acp-*D*-Ser(Bn)-*D*-γ-Agl]-OPac. Una disolución del dipéptido Boc-[*D*-Leu-*L*-^{Me}N-γ-Acp-]-OFm (150 mg, 0.28 mmol) en 2.5 mL de piperidina/CH_2Cl_2 (1:4) se agitó a ta durante 20 min. A continuación se concentró a vacío y el residuo obtenido se disolvió en CH_2Cl_2 (10 mL). La disolución se lavó con HCl [(5%), 3 × 5 mL], se secó con Na_2SO_4, se filtró y se concentró a

sequedad, dando Boc-[*D*-Leu-*L*-^{Me}N-γ-Acp-]-OH que se usó directamente sin ningún tipo alguno de purificación adicional.

Una disolución de Boc-[*D*-Ser(Bn)-*D*-γ-Agl]-OPac (200 mg, 0.28 mmol) en 3 mL de TFA/CH_2Cl_2 (1:1) se agitó a ta durante 15 min. A continuación se concentró a sequedad en el rotavapor y el residuo obtenido se secó a alto vacío durante 3 h. La sal de TFA resultante se disolvió en CH_2Cl_2 (3 mL) y se añadió sucesivamente Boc-[*D*-Leu-*L*-^{Me}N-γ-Acp-]-OH, HATU (117 mg, 0.31 mmol) y DIEA (196 μL, 1.12 mmol). Después de 1 h agitando a ta, la mezcla resultante se lavó con HCl [(5%), 3 × 3 mL]. Las fases orgánicas combinadas se secaron con Na_2SO_4 y se concentraron a vacío, proporcionando un aceite amarillo que se purificó mediante cromatografía en columna (0-5% MeOH en CH_2Cl_2), obteniéndose 251 mg del tetrapéptido deseado [94%, R_f = 0.49 (5% MeOH en CH_2Cl_2), espuma blanca]. **EM (ESI)** [m/z (%)]: 975 ([M +Na]$^+$, 100), 953 ([MH]$^+$, 84), 853 ([MH -Boc]$^+$, 7). **EMAR (ESI) calculado** para $C_{48}H_{64}N_4O_{16}Na$ ([M +Na]$^+$) 975.4215, **encontrado** 975.4210.

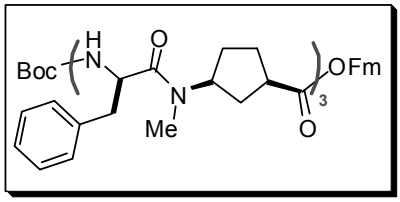
26.5. HEXAPÉPTIDOS

26.5.1. HEXAPÉPTIDOS DERIVADOS DEL ÁCIDO 3-AMINOCICLOPENTANO-CARBOXÍLICO

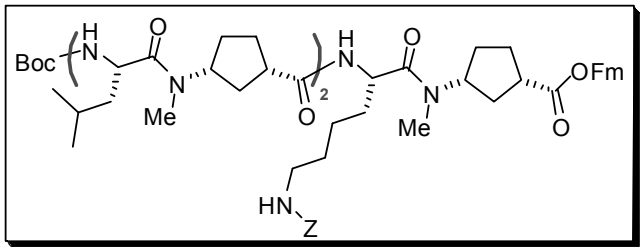


Boc-[(*D*-Leu-*L*-^{Me}N-γ-Acp)$_3$-]-OFm. Una disolución del tetrapéptido Boc-[(*D*-Leu-*L*-^{Me}N-γ-Acp)$_2$-]-OFm (40 mg, 52 μmol) en 500 μL de piperidina/CH_2Cl_2 (1:4) se agitó a ta durante 20 min. A continuación se concentró a vacío y el residuo obtenido se disolvió en CH_2Cl_2 (5 mL). La disolución se lavó con HCl [(5%), 3 × 3 mL], se secó con Na_2SO_4, se filtró y se concentró a sequedad, dando el tetrapéptido Boc-[(*D*-Leu-*L*-^{Me}N-γ-Acp)$_2$-]-OH que se usó directamente sin ningún tipo alguno de purificación adicional.

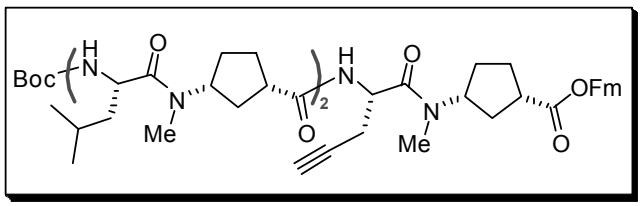
Una disolución de Boc-[*D*-Leu-*L*-^{Me}N-γ-Acp]-OFm (28 mg, 52 μmol) en 500 μL de TFA/CH_2Cl_2 (1:1) se agitó a ta durante 15 min. A continuación se concentró a sequedad en el rotavapor y el residuo obtenido se secó a alto vacío durante 3 h. La sal de TFA resultante se disolvió en CH_2Cl_2 (500 μL) y se añadió sucesivamente Boc-[(*D*-Leu-*L*-^{Me}N-γ-Acp)$_2$-]-OH, HBTU (22 mg, 57 μmol) y DIEA (36 μL, 207 μmol). Después de 1 h agitando a ta, la mezcla resultante se lavó con HCl [(5%), 3 × 1 mL] y $NaHCO_3$ [(dis. sat.), 2 × 1 mL]. Las fases orgánicas combinadas se secaron con Na_2SO_4 y se concentraron a vacío, proporcionando un aceite amarillo que se purificó mediante cromatografía en columna (0-5% MeOH en CH_2Cl_2), obteniéndose 45 mg de Boc-[(*D*-Leu-*L*-^{Me}N-γ-Acp)$_3$-]-OFm [87%, R_f = 0.51 (10% MeOH en CH_2Cl_2), espuma blanca]. **EM (FAB$^+$)** [m/z (%)]: 1011 ([MH]$^+$, 36), 911 ([MH -Boc]$^+$, 13), 798 (6), 560 (100), 452 (11). **EMAR (FAB$^+$) calculado** para $C_{58}H_{87}N_6O_9$ ([MH]$^+$) 1011.653454, **encontrado** 1011.654554.



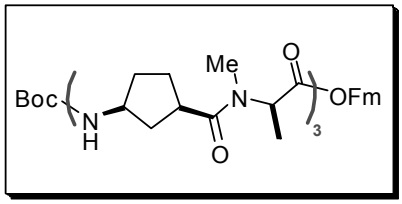
Boc-[(*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Acp)$_3$-]-OFm. El compuesto señalado se sintetizó empleando el procedimiento descrito para Boc-[(*D*-Leu-*L*-^{Me}N-γ-Acp)$_3$-]-OFm a partir de Boc-[(*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Acp)$_2$-]-OFm (148 mg, 481 μmol) y Boc-[*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Acp-]-OFm (100 mg, 176 μmol), obteniéndose 186 mg de dicho compuesto [95%, R_f = 0.53 (10% MeOH en CH_2Cl_2), espuma blanca]. **EM (FAB$^+$)** [m/z (%)]: 1113 ([MH]$^+$, 13), 1013 ([MH -Boc]$^+$, 3), 594 (14). **EMAR (FAB$^+$) calculado** para $C_{67}H_{81}N_6O_9$ ([MH]$^+$) 1113.606504, **encontrado** 1113.606564.



Boc-{[*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp]$_2$-*L*-Lys(Z)-*D*-^{Me}N-γ-Acp-}-OFm. El compuesto señalado se sintetizó empleando el procedimiento descrito para el hexapéptido Boc-[(*D*-Leu-*L*-^{Me}N-γ-Acp)$_3$-]-OFm a partir de Boc-[*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp-]$_2$-OFm (282 mg, 370 μmol) y Boc-[*L*-Lys(Z)-*D*-^{Me}N-γ-Acp]-OFm (250 mg, 370 μmol), obteniéndose 411 mg de dicho compuesto [97%, R_f = 0.49 (10% MeOH en CH_2Cl_2), espuma blanca]. **EM (FAB$^+$)** [m/z (%)]: 1182 ([M +Na]$^+$, 3), 1160 ([MH]$^+$, 4), 1060 ([MH -Boc]$^+$, 6), 709 (40). **EMAR (FAB$^+$) calculado** para $C_{66}H_{94}N_7O_{11}$ ([MH]$^+$) 1160.701133, **encontrado** 1160.701127.

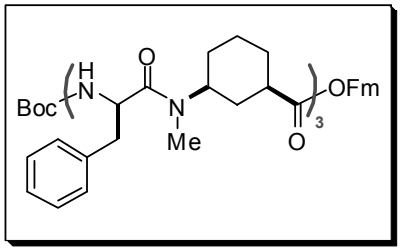


Boc-{[*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp]$_2$-*L*-Pra-*D*-^{Me}N-γ-Acp-}-OFm. El compuesto señalado se sintetizó empleando el procedimiento descrito para el hexapéptido Boc-[(*D*-Leu-*L*-^{Me}N-γ-Acp)$_3$-]-OFm a partir de Boc-[*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp-]$_2$-OFm (100 mg, 129 μmol) y Boc-[*L*-Pra-*D*-^{Me}N-γ-Acp]-OFm (67 mg, 129 μmol), obteniéndose 120 mg de dicho compuesto [94%, R_f = 0.37 (5% MeOH en CH_2Cl_2), espuma blanca]. **EM (ESI)** [m/z (%)]: 1015 ([M +Na]$^+$, 56), 993 ([MH]$^+$, 100), 515 (44). **EMAR (ESI) calculado** para $C_{57}H_{81}N_6O_9$ ([MH]$^+$) 993.6060, **encontrado** 993.6021.



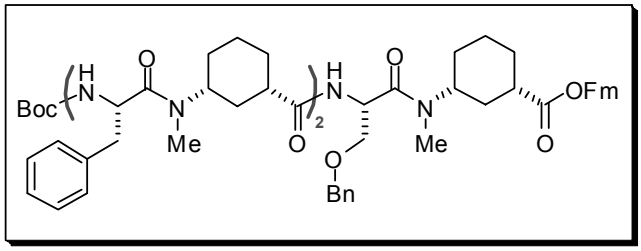
Boc-[(*L*-γ-Acp-*D*-^{Me}N-Ala)$_3$-]-OFm. El compuesto señalado se sintetizó empleando el procedimiento descrito para Boc-[(*D*-Leu-*L*-^{Me}N-γ-Acp)$_3$-]-OFm a partir de Boc-[*L*-γ-Acp-*D*-^{Me}N-Ala]$_2$-OFm (125 mg, 181 μmol) y Boc-[*L*-γ-Acp-*D*-^{Me}N-Ala]-OFm (89 mg, 181 μmol), obteniéndose 133 mg de dicho compuesto [83%, R_f = 0.47 (10% MeOH en CH_2Cl_2), espuma blanca]. **EM (ESI)** [m/z (%)]: 907 ([M +Na]$^+$, 100), 885 ([MH]$^+$, 40), 785 ([MH -Boc]$^+$, 12). **EMAR (ESI) calculado** para $C_{49}H_{68}N_6O_9Na$ ([M +Na]$^+$) 907.4945, **encontrado** 907.4952.

26.5.2. HEXAPÉPTIDOS DERIVADOS DEL ÁCIDO 3-AMINOCICLOHEXANO-CARBOXÍLICO

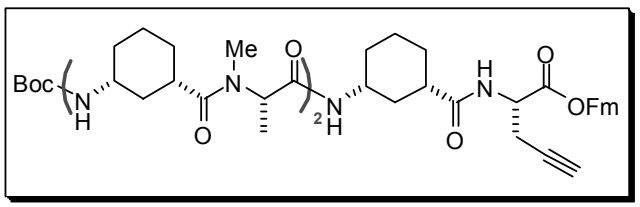


Boc-[(*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach)$_3$-]-OFm. Una disolución del tetrapéptido Boc-[(*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach)$_2$-]-OFm (236 mg, 272 μmol) en 3 mL de piperidina/CH_2Cl_2 (1:4) se agitó a ta durante 20 min. A continuación se concentró a vacío y el residuo obtenido se disolvió en CH_2Cl_2 (10 mL). La disolución se lavó con HCl [(5%), 3 × 5 mL], se secó con Na_2SO_4, se filtró y se concentró a sequedad, dando Boc-[(*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach)$_2$-]-OH que se usó directamente sin ningún tipo alguno de purificación adicional.

Una disolución de Boc-[*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach]-OFm (158 mg, 272 μmol) en 3 mL de TFA/CH_2Cl_2 (1:1) se agitó a ta durante 15 min. A continuación se concentró a sequedad en el rotavapor y el residuo obtenido se secó a alto vacío durante 3 h. La sal de TFA resultante se disolvió en CH_2Cl_2 (3 mL) y se añadió sucesivamente Boc-[(*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach)$_2$-]-OH, HATU (114 mg, 299 μmol) y DIEA (190 μL, 1.09 mmol). Después de 1 h agitando a ta, la mezcla resultante se lavó con HCl [(5%), 3 × 2 mL] y $NaHCO_3$ [(dis. sat.), 2 × 2 mL]. Las fases orgánicas combinadas se secaron con Na_2SO_4 y se concentraron a vacío, proporcionando un aceite amarillo que se purificó mediante cromatografía en columna (0-5% MeOH en CH_2Cl_2), obteniéndose 250 mg de Boc-[(*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach)$_3$-]-OFm [88%, R_f = 0.53 (10% MeOH en CH_2Cl_2), espuma blanca]. **EM (FAB$^+$)** [m/z (%)]: 1155 ([MH]$^+$, 38), 1055 ([MH -Boc]$^+$, 100). **EMAR (FAB$^+$) calculado** para $C_{70}H_{87}N_6O_9$ ([MH]$^+$) 1155.65262, **encontrado** 1155.65273.

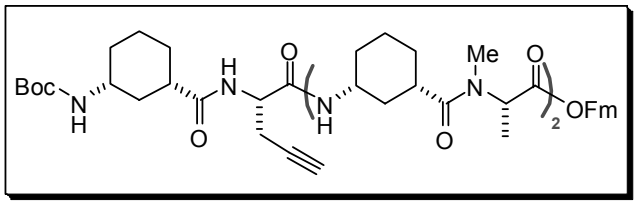


Boc-{[*L*-Phe-*D*-^{Me}N-γ-Ach]$_2$-*L*-Ser(Bn)-*D*-^{Me}N-γ-Ach-}-OFm. El compuesto señalado se sintetizó empleando el procedimiento descrito para Boc-[(*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach)$_3$-]-OFm a partir del tetrapéptido Boc-[(*L*-Phe-*D*-^{Me}N-γ-Ach)$_2$-]-OFm (500 mg, 576 μmol) y del dipéptido Boc-[*L*-Ser(Bn)-*D*-^{Me}N-γ-Ach]-OFm (353 mg, 576 μmol), obteniéndose 587 mg de dicho compuesto [86%, R_f = 0.66 (10% MeOH en CH_2Cl_2), espuma blanca]. **EM (FAB$^+$)** [m/z (%)]: 1186 ([MH]$^+$, 8), 1086 ([MH -Boc]$^+$, 100). **EMAR (FAB$^+$) calculado** para $C_{71}H_{89}N_6O_{10}$ ([MH]$^+$) 1185.66766, **encontrado** 1185.66618.



Boc-{[*D*-γ-Ach-*L*-^{Me}N-Ala]$_2$-*D*-γ-Ach-*L*-Pra-}-OFm. El compuesto señalado se sintetizó empleando el procedimiento descrito para el hexapéptido Boc-[(*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach)$_3$-]-OFm a partir del tetrapéptido Boc-[*D*-γ-Ach-*L*-^{Me}N-Ala]$_2$-OFm (153 mg, 213 μmol) y del dipéptido Boc-[*D*-γ-Ach-

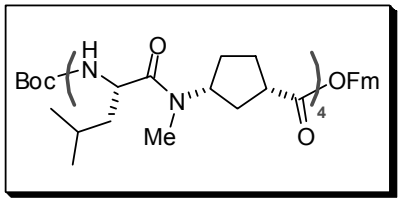
L-Pra]-OFm (110 mg, 213 μmol), obteniéndose 193 mg de dicho compuesto [97%, R_f = 0.68 (10% MeOH en CH_2Cl_2), espuma blanca]. **EM (FAB$^+$)** [m/z (%)]: 959 ([M +Na]$^+$, 2), 937 ([MH]$^+$, 13), 837 ([MH -Boc]$^+$, 13). **EMAR (FAB$^+$) calculado** para $C_{53}H_{73}N_6O_9$ ([MH]$^+$) 937.543904, **encontrado** 937.543115.



Boc-{*D*-γ-Ach-*L*-Pra-[*D*-γ-Ach-*L*-^{Me}N-Ala]$_2$-}-OFm. Una disolución de Boc-[*D*-γ-Ach-*L*-^{Me}N-Ala]$_2$-OFm (203 mg, 0.28 mmol) en 3 mL de TFA/CH_2Cl_2 (1:1) se agitó a ta durante 15 min. A continuación se concentró a sequedad en el rotavapor y el residuo obtenido se secó a alto vacío durante 3 h. La sal de TFA resultante se disolvió en CH_2Cl_2 (6 mL) y se añadió sucesivamente Boc-[*D*-γ-Ach-*L*-Pra-]-OH (96 mg, 0.28 mmol), HATU (119 mg, 0.31 mmol) y DIEA (198 μL, 1.14 mmol). Después de 1 h agitando a ta, la mezcla resultante se lavó con HCl [(5%), 3 × 5 mL] y $NaHCO_3$ [(dis. sat.), 2 × 5 mL]. Las fases orgánicas combinadas se secaron con Na_2SO_4 y se concentraron a vacío, proporcionando un aceite amarillo que se purificó mediante cromatografía en columna (0-5% MeOH en CH_2Cl_2), obteniéndose 254 mg del hexapéptido deseado [96%, R_f = 0.67 (10% MeOH en CH_2Cl_2), espuma blanca]. **EM (FAB$^+$)** [m/z (%)]: 959 ([M +Na]$^+$, 4), 937 ([MH]$^+$, 24), 837 ([MH -Boc]$^+$, 24). **EMAR (FAB$^+$) calculado** para $C_{53}H_{73}N_6O_9$ ([MH]$^+$) 937.543904, **encontrado** 937.543186.

26.6. OCTAPÉPTIDOS

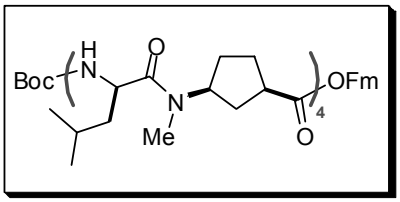
26.6.1. OCTAPÉPTIDOS DERIVADOS DEL ÁCIDO 3-AMINOCICLOPENTANO-CARBOXÍLICO



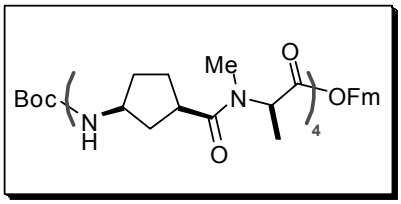
Boc-[(*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp)$_4$-]-OFm. Una disolución del tetrapéptido Boc-[(*D*-Leu-*L*-^{Me}N-γ-Acp)$_2$-]-OFm (600 mg, 777 μmol) en 10 mL de piperidina/CH_2Cl_2 (1:4) se agitó a ta durante 20 min. A continuación se concentró a vacío y el residuo obtenido se disolvió en CH_2Cl_2 (10 mL). La disolución se lavó con HCl [(5%), 3 × 5 mL], se secó con Na_2SO_4, se filtró y se concentró a sequedad, dando el tetrapéptido Boc-[(*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp)$_2$-]-OH que se usó directamente sin ningún tipo alguno de purificación adicional.

Una disolución de Boc-[(*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp)$_2$-]-OFm (600 mg, 777 μmol) en 8 mL de TFA/CH_2Cl_2 (1:1) se agitó a ta durante 15 min. A continuación se concentró a sequedad en el rotavapor y el residuo obtenido se secó a alto vacío durante 3 h. La sal de TFA resultante se disolvió en CH_2Cl_2 (8 mL) y se añadió sucesivamente Boc-[(*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp)$_2$-]-OH, HATU (325 mg, 855 μmol) y DIEA (543 μL, 3.11 mmol). Después de 1 h agitando a ta, la mezcla resultante se lavó con HCl [(5%), 3 × 5 mL] y $NaHCO_3$ [(dis. sat.), 2 × 1 mL]. Las fases orgánicas combinadas se secaron con Na_2SO_4 y se concentraron a vacío, proporcionando un

aceite amarillo que se purificó mediante cromatografía en columna (0-5% MeOH en CH_2Cl_2), obteniéndose 912 mg de Boc-[(*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp)$_4$-]-OFm [94%, R_f = 0.26 (5% MeOH en CH_2Cl_2), espuma blanca]. **EM (FAB$^+$)** [m/z (%)]: 1288 ([M +K]$^+$, 4), 1271 ([M +Na]$^+$, 12), 1249 ([MH]$^+$, 28). **EMAR (MALDI-TOF) calculado** para $C_{71}H_{108}N_8O_{11}Na$ ([M +Na]$^+$) 1271.8035, **encontrado** 1271.8057.

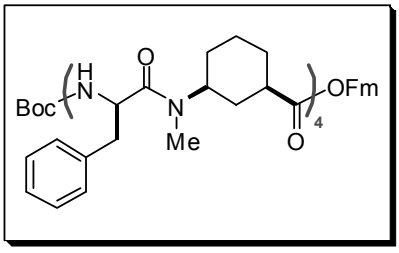


Boc-[(*D*-Leu-*L*-^{Me}N-γ-Acp)$_4$-]-OFm. El compuesto señalado se sintetizó de forma análoga a Boc-[(*D*-Leu-*L*-^{Me}N-γ-Acp)$_4$-]-OFm a partir de Boc-[(*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp)$_2$-]-OFm (35 mg, 45 μmol), obteniéndose 24 mg de dicho compuesto [43%, R_f = 0.56 (5% MeOH en CH_2Cl_2), espuma blanca]. **EM (ESI)** [m/z (%)]: 1271 ([M +Na]$^+$, 100), 1249 ([MH]$^+$, 32). **EMAR (ESI) calculado** para $C_{71}H_{108}N_8O_{11}Na$ ([M +Na]$^+$) 1271.8035, **encontrado** 1271.8066.



Boc-[(*L*-γ-Acp-*D*-^{Me}N-Ala)$_4$-]-OFm. El compuesto señalado se sintetizó empleando el procedimiento descrito para Boc-[(*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp)$_4$-]-OFm a partir de Boc-[(*L*-γ-Acp-*D*-^{Me}N-Ala)$_2$-]-OFm (50 mg, 73 μmol), obteniéndose 75 mg de dicho compuesto [96%, R_f = 0.51 (5% MeOH en CH_2Cl_2), espuma blanca]. **EM (ESI)** [m/z (%)]: 1104 ([M +Na]$^+$, 100), 1081 ([MH]$^+$, 7). **EMAR (ESI) calculado** para $C_{59}H_{84}N_8O_{11}Na$ ([M +Na]$^+$) 1103.6157, **encontrado** 1103.6152.

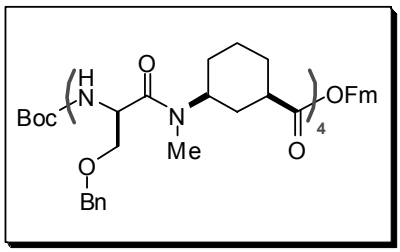
26.6.2. OCTAPÉPTIDOS DERIVADOS DEL ÁCIDO 3-AMINOCICLOHEXANO-CARBOXÍLICO



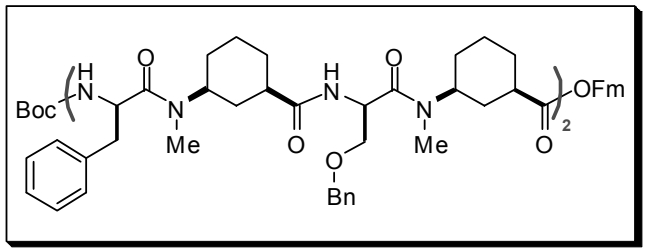
Boc-[(*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach)$_4$-]-OFm. Una disolución del tetrapéptido Boc-[(*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach)$_2$-]-OFm (174 mg, 200 μmol) en 2 mL de piperidina/CH_2Cl_2 (1:4) se agitó a ta durante 20 min. A continuación se concentró a vacío y el residuo obtenido se disolvió en CH_2Cl_2 (5 mL). La disolución se lavó con HCl [(5%), 3 × 3 mL], se secó con Na_2SO_4, se filtró y se concentró a sequedad, dando Boc-[(*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach)$_2$-]-OH que se usó directamente sin ningún tipo alguno de purificación adicional.

Una disolución de Boc-[(*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach)$_2$-]-OFm (174 mg, 200 μmol) en 2 mL de TFA/CH_2Cl_2 (1:1) se agitó a ta durante 15 min. A continuación se concentró a sequedad en el rotavapor y el residuo obtenido se secó a alto vacío durante 3 h. La sal de TFA resultante se disolvió en CH_2Cl_2 (2 mL) y se añadió sucesivamente Boc-[(*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach)$_2$-]-OH, HATU (84 mg, 220 μmol) y DIEA (140 μL, 800 μmol). Después de 1 h agitando a ta, la mezcla resultante se lavó con HCl [(5%), 3 × 1 mL] y $NaHCO_3$ [(dis. sat.), 2 × 1 mL]. Las fases

orgánicas combinadas se secaron con Na_2SO_4 y se concentraron a vacío, proporcionando un aceite amarillo que se purificó mediante cromatografía en columna (0-5% MeOH en CH_2Cl_2), obteniéndose 201 mg de Boc-[(*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach)$_4$-]-OFm [73%, R_f = 0.58 (10% MeOH en CH_2Cl_2), espuma blanca]. **EM (FAB$^+$)** [m/z (%)]: 1479 ([M +K]$^+$, 12), 1463 ([M +Na]$^+$, 100), 1441 ([MH]$^+$, 14). **EMAR (MALDI-TOF) calculado** para $C_{87}H_{108}N_8O_{11}Na$ ([M +Na]$^+$) 1463.8035, **encontrado** 1463.8024.

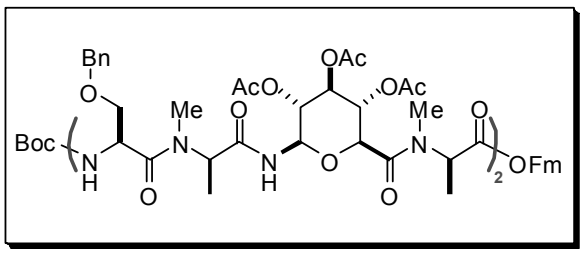


Boc-{[*D*-Ser(Bn)-*L*-^{Me}N-γ-Ach]$_4$-}-OFm. El compuesto señalado se sintetizó empleando el procedimiento descrito para Boc-[(*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach)$_4$-]-OFm a partir de Boc-{[*D*-Ser(Bn)-*L*-^{Me}N-γ-Ach]$_2$-}-OFm (241 mg, 224 μmol), obteniéndose 183 mg de dicho compuesto [52%, R_f = 0.46 (5% MeOH en CH_2Cl_2), espuma blanca]. **EM (FAB$^+$)** [m/z (%)]: 1562 ([MH]$^+$, 20), 1462 ([MH -Boc]$^+$, 100). **EMAR (FAB$^+$) calculado** para $C_{91}H_{117}N_8O_{15}$ ([MH]$^+$) 1561.86384, **encontrado** 1561.86563.



Boc-{[*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach-*D*-Ser(Bn)-*L*-^{Me}N-γ-Ach]$_2$-}-OFm. El compuesto señalado se sintetizó empleando un procedimiento similar al descrito anteriormente para el octapéptido Boc-[(*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach)$_4$-]-OFm a partir del tetrapéptido Boc-[*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach-*D*-Ser(Bn)-*L*-^{Me}N-γ-Ach]-OFm (175 mg, 195 μmol), obteniéndose 267 mg de dicho compuesto [91%, R_f = 0.34 (5% MeOH en CH_2Cl_2), espuma amarillenta]. **EM (ESI)** [m/z (%)]: 1523 ([M +Na]$^+$, 57), 1501 ([MH]$^+$, 100). **EMAR (ESI) calculado** para $C_{89}H_{113}N_8O_{13}$ ([MH]$^+$) 1501.8400, **encontrado** 1501.86563.

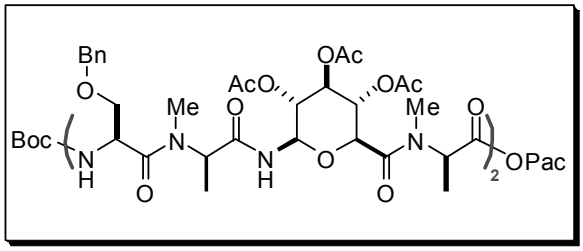
26.6.3. OCTAPÉPTIDOS DERIVADOS DEL ÁCIDO 2,3,4-TRI-*O*-ACETIL-1-AZIDO-1-DESOXI-β-*D*-GLUCOPIRANURÓNICO



Boc-{[*L*-Ser(Bn)-*D*-^{Me}N-Ala-*D*-γ-Agl-*D*-^{Me}N-Ala]$_2$-}-OFm. Una disolución del tetrapéptido Boc-[*L*-Ser(Bn)-*D*-^{Me}N-Ala-*D*-γ-Agl-*D*-^{Me}N-Ala]-OFm (200 mg, 211 μmol) en 2.5 mL de piperidina/CH_2Cl_2 (1:4) se agitó a ta durante 20 min. A continuación se concentró a vacío y el residuo obtenido se disolvió en CH_2Cl_2 (5 mL). La disolución se lavó con HCl [(5%), 3 × 3 mL], se secó con Na_2SO_4, se filtró y se concentró a sequedad, dando el tetrapéptido

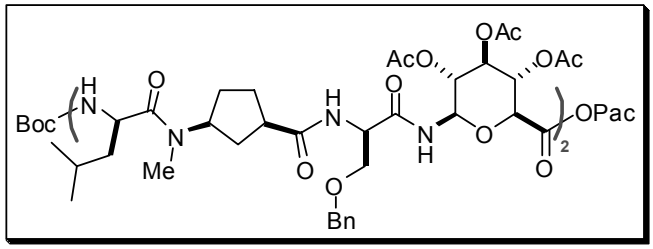
Boc-[*L*-Ser(Bn)-*D*-^{Me}N-Ala-*D*-γ-Agl-*D*-^{Me}N-Ala]-OH que se usó directamente sin ningún tipo alguno de purificación adicional.

Una disolución de Boc-[*L*-Ser(Bn)-*D*-^{Me}N-Ala-*D*-γ-Agl-*D*-^{Me}N-Ala]-OFm (200 mg, 211 μmol) en 2 mL de TFA/CH_2Cl_2 (1:1) se agitó a ta durante 15 min. A continuación se concentró a sequedad en el rotavapor y el residuo obtenido se secó a alto vacío durante 3 h. La sal de TFA resultante se disolvió en CH_2Cl_2 (2 mL) y se añadió sucesivamente Boc-[*L*-Ser(Bn)-*D*-^{Me}N-Ala-*D*-γ-Agl-*D*-^{Me}N-Ala]-OH, HBTU (96 mg, 253 μmol) y DIEA (150 μL, 844 μmol). Después de 1 h agitando a ta, la mezcla resultante se lavó con HCl [(5%), 3 × 2 mL]. Las fases orgánicas combinadas se secaron con Na_2SO_4 y se concentraron a vacío, proporcionando un aceite amarillo que se purificó mediante cromatografía en columna (0-3% MeOH en CH_2Cl_2), obteniéndose 272 mg del octapéptido deseado [81%, R_f = 0.58 (5% MeOH en CH_2Cl_2), espuma blanca]. **EM (FAB$^+$)** [m/z (%)]: 1615 ([M +Na]$^+$, 7), 1593 ([MH]$^+$, 4), 1107 (15), 1011 (8). **EMAR (FAB$^+$) calculado** para $C_{79}H_{101}N_8O_{27}$ ([MH]$^+$) 1593.677616, **encontrado** 1593.679194.



Boc-{[*L*-Ser(Bn)-*D*-^{Me}N-Ala-*D*-γ-Agl-*D*-^{Me}N-Ala]$_2$-}-OPac. Sobre una disolución del tetrapéptido Boc-[*L*-Ser(Bn)-*D*-^{Me}N-Ala-*D*-γ-Agl-*D*-^{Me}N-Ala]-OPac (50 mg, 56 μmol) en 1 mL de AcOH/DMF (1:1) se añadió Zn (110 mg, 1.68 mmol). La suspensión resultante se agitó a ta bajo Ar durante 8 h. Transcurrido ese tiempo, la mezcla obtenida se filtró a través de Celita lavando con MeOH (3 × 1 mL), y el filtrado obtenido se concentró a vacío. A continuación se añadió Et_2O (3 mL) y se concentró a vacío, obteniéndose un precipitado blanco. El residuo resultante se disolvió en HCl [(5%), 3 mL] y se extrajo con CH_2Cl_2 (3 × 5 mL). Las fases orgánicas combinadas se secaron con Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a sequedad, dando Boc-[*L*-Ser(Bn)-*D*-^{Me}N-Ala-*D*-γ-Agl-*D*-^{Me}N-Ala]-OH que se usó directamente sin ningún tipo alguno de purificación adicional.

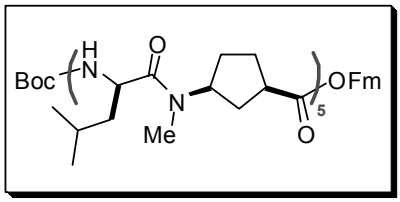
Una disolución de Boc-[*L*-Ser(Bn)-*D*-^{Me}N-Ala-*D*-γ-Agl-*D*-^{Me}N-Ala]-OPac (50 mg, 56 μmol) en 600 μL de TFA/CH_2Cl_2 (1:1) se agitó a ta durante 15 min. A continuación se concentró a sequedad en el rotavapor y el residuo obtenido se secó a alto vacío durante 3 h. La sal de TFA resultante se disolvió en CH_2Cl_2 (500 μL) y se añadió sucesivamente Boc-[*L*-Ser(Bn)-*D*-^{Me}N-Ala-*D*-γ-Agl-*D*-^{Me}N-Ala]-OH, HATU (21 mg, 62 μmol) y DIEA (39 μL, 224 μmol). Después de 1 h agitando a ta, la mezcla resultante se lavó con HCl [(5%), 3 × 1 mL]. Las fases orgánicas combinadas se secaron con Na_2SO_4 y se concentraron a vacío, proporcionando un aceite amarillo que se purificó mediante cromatografía en columna (0-5% MeOH en CH_2Cl_2), obteniéndose 67 mg del octapéptido deseado [78%, R_f = 0.56 (5% MeOH en CH_2Cl_2), espuma blanca]. **EM (FAB$^+$)** [m/z (%)]: 1571 ([M +K]$^+$, 2), 1555 ([M +Na]$^+$, 16), 1533 ([MH]$^+$, 6), 1011 (7), 608 (6). **EMAR (FAB$^+$) calculado** para $C_{73}H_{97}N_8O_{28}$ ([MH]$^+$) 1533.641231, **encontrado** 1533.642634.



Boc-{[*D*-Leu-*L*-^{Me}N-γ-Acp-*D*-Ser(Bn)-*D*-γ-Agl]$_2$-}-OPac. El compuesto señalado se sintetizó empleando un procedimiento similar al descrito para Boc-{[*L*-Ser(Bn)-*D*-^{Me}N-Ala-*D*-γ-Agl-*D*-^{Me}N-Ala]$_2$-}-OPac a partir de Boc-[*D*-Leu-*L*-^{Me}N-γ-Acp-*D*-Ser(Bn)-*D*-γ-Agl]-OPac (40 mg, 42 μmol), obteniéndose 51.2 mg de dicho compuesto [73%, R_f = 0.28 (5% MeOH en CH_2Cl_2), espuma blanca]. **EM (ESI)** [m/z (%)]: 1691 ([M +Na]$^+$, 21), 1569 ([M -Boc]$^+$, 100). **EMAR (MALDI-TOF) calculado** para $C_{83}H_{112}N_8O_{28}Na$ ([M +Na]$^+$) 1691.7484, **encontrado** 1691.7478.

26.7. DECAPÉPTIDOS

26.7.1. DECAPÉPTIDOS DERIVADOS DEL ÁCIDO 3-AMINOCICLOPENTANO-CARBOXÍLICO

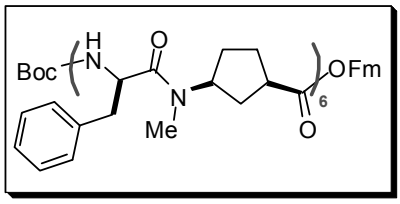


Boc-[(*D*-Leu-*L*-^{Me}N-γ-Acp)$_5$-]-OFm. Una disolución del hexapéptido Boc-[(*D*-Leu-*L*-^{Me}N-γ-Acp)$_3$-]-OFm (25 mg, 25 μmol) en 250 μL de piperidina/CH_2Cl_2 (1:4) se agitó a ta durante 20 min. A continuación se concentró a vacío y el residuo obtenido se disolvió en CH_2Cl_2 (5 mL). La disolución se lavó con HCl [(5%), 3 × 3 mL], se secó con Na_2SO_4, se filtró y se concentró a sequedad, dando el hexapéptido Boc-[(*D*-Leu-*L*-^{Me}N-γ-Acp)$_3$-]-OH que se usó directamente sin ningún tipo alguno de purificación adicional.

Una disolución de Boc-[(*D*-Leu-*L*-^{Me}N-γ-Acp)$_2$-]-OFm (19 mg, 25 μmol) en 250 μL de TFA/CH_2Cl_2 (1:1) se agitó a ta durante 15 min. A continuación se concentró a sequedad en el rotavapor y el residuo obtenido se secó a alto vacío durante 3 h. La sal de TFA resultante se disolvió en CH_2Cl_2 (250 μL) y se añadió sucesivamente Boc-[(*D*-Leu-*L*-^{Me}N-γ-Acp)$_3$-]-OH, HATU (10 mg, 27 μmol) y DIEA (17 μL, 99 μmol). Después de 1 h agitando a ta, la mezcla resultante se lavó con HCl [(5%), 3 × 1 mL] y $NaHCO_3$ [(dis. sat.), 2 × 1 mL]. Las fases orgánicas combinadas se secaron con Na_2SO_4 y se concentraron a vacío, proporcionando un aceite amarillo que se purificó mediante cromatografía en columna (0-5% MeOH en CH_2Cl_2), obteniéndose 27 mg de Boc-[(*D*-Leu-*L*-^{Me}N-γ-Acp)$_5$-]-OFm [73%, R_f = 0.47 (10% MeOH en CH_2Cl_2), espuma blanca]. **EM (FAB$^+$)** [m/z (%)]: 1510 ([M +Na]$^+$, 8), 1487 ([MH]$^+$, 8), 1387 ([MH -Boc]$^+$, 24), 1036 (33), 798 (23), 560 (14). **EMAR (MALDI-TOF) calculado** para $C_{84}H_{130}N_{10}O_{13}Na$ ([M +Na]$^+$) 1509.971105, **encontrado** 1509.969013.

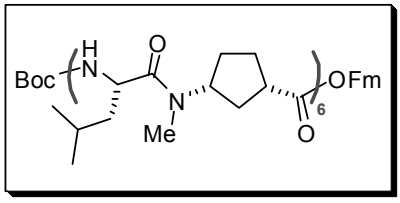
26.8. DODECAPÉPTIDOS

26.8.1. DODECAPÉPTIDOS DERIVADOS DEL ÁCIDO 3-AMINOCICLOPENTANO-CARBOXÍLICO



Boc-[(*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Acp)$_6$-]-OFm. Una disolución del hexapéptido Boc-[(*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Acp)$_3$-]-OFm (40 mg, 36 μmol) en 500 μL de piperidina/CH_2Cl_2 (1:4) se agitó a ta durante 20 min. A continuación se concentró a vacío y el residuo obtenido se disolvió en CH_2Cl_2 (10 mL). La disolución se lavó con HCl [(5%), 3 × 5 mL], se secó con Na_2SO_4, se filtró y se concentró a sequedad, dando el hexapéptido Boc-[(*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Acp)$_3$-]-OH que se usó directamente sin ningún tipo alguno de purificación adicional.

Una disolución de Boc-[(*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Acp)$_3$-]-OFm (40 mg, 36 μmol) en 500 μL de TFA/CH_2Cl_2 (1:1) se agitó a ta durante 15 min. A continuación se concentró a sequedad en el rotavapor y el residuo obtenido se secó a alto vacío durante 3 h. La sal de TFA resultante se disolvió en CH_2Cl_2 (500 μL) y se añadió sucesivamente Boc-[(*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Acp)$_3$-]-OH, HATU (15 mg, 40 μmol) y DIEA (25 μL, 144 μmol). Después de 1 h agitando a ta, la mezcla se lavó con HCl [(5%), 3 × 1 mL] y $NaHCO_3$ [(dis. sat.), 2 × 1 mL]. Las fases orgánicas se secaron y se concentraron, proporcionando un aceite amarillo que se purificó mediante cromatografía en columna (0-5% MeOH en CH_2Cl_2), obteniéndose 64 mg de Boc-[(*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Acp)$_6$-]-OFm [93%, R_f = 0.42 (10% MeOH en CH_2Cl_2), espuma amarillenta]. **EM (MALDI-TOF)** [m/z (%)]: 1952 ([M +Na]$^+$, 18), 1871 (100), 1853 (78). **EMAR (MALDI-TOF) calculado** para $C_{115}H_{140}N_{12}O_{15}Na$ ([M +Na]$^+$) 1952.0453, **encontrado** 1952.0364.

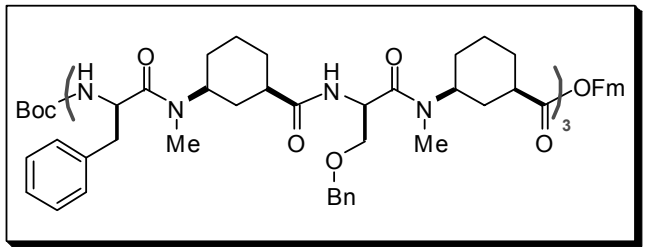


Boc-[(*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp)$_6$-]-OFm. Una disolución del tetrapéptido Boc-[(*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp)$_2$-]-OFm (155 mg, 200 μmol) en 2 mL de piperidina/CH_2Cl_2 (1:4) se agitó a ta durante 20 min. A continuación se concentró a vacío y el residuo obtenido se disolvió en CH_2Cl_2 (10 mL). La disolución se lavó con HCl [(5%), 3 × 5 mL], se secó con Na_2SO_4, se filtró y se concentró a sequedad, dando Boc-[(*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp)$_2$-]-OH que se usó directamente sin ningún tipo alguno de purificación adicional.

Una disolución de Boc-[(*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp)$_4$-]-OFm (250 mg, 200 μmol) en 2 mL de TFA/CH_2Cl_2 (1:1) se agitó a ta durante 15 min. A continuación se concentró a sequedad en el rotavapor y el residuo obtenido se secó a alto vacío durante 3 h. La sal de TFA resultante se disolvió en CH_2Cl_2 (1 mL) y se añadió sucesivamente Boc-[(*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp)$_2$-]-OH, HATU (84 mg, 220 μmol) y DIEA (140 μL, 801 μmol). Después de 1 h agitando a ta, la mezcla se lavó con HCl [(5%), 3 × 1 mL] y $NaHCO_3$ [(dis. sat.), 2 × 1 mL]. Las fases orgánicas se secaron y se concentraron, proporcionando un aceite amarillo que se purificó mediante cromatografía en columna (0-7% MeOH en CH_2Cl_2), obteniéndose 312 mg de Boc-[(*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp)$_6$-]-OFm [90%, R_f = 0.48 (10% MeOH en CH_2Cl_2), espuma amarillenta]. **EM (ESI)** [m/z (%)]: 883

([M +K]$^{2+}$, 36), 875 ([M +Na]$^{2+}$, 82), 864 ([MH]$^{2+}$, 47). **EMAR (ESI) calculado** para $C_{97}H_{153}N_{12}O_{15}Na$ ([M +Na]$^{2+}$) 874.5738, **encontrado** 874.5733.

26.8.2. DODECAPÉPTIDOS DERIVADOS DEL ÁCIDO 3-AMINOCICLOHEXANO-CARBOXÍLICO

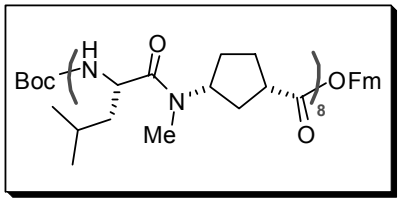


Boc-{[*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach-*D*-Ser(Bn)-*L*-^{Me}N-γ-Ach-]$_3$-}-OFm. Una disolución del tetrapéptido lineal protegido Boc-[*D*-Phe-*D*-^{Me}N-γ-Ach-*D*-Ser(Bn)-*D*-^{Me}N-γ-Ach-]-OFm (24 mg, 27 μmol) en 250 μL de piperidina/CH_2Cl_2 (1:4) se agitó a ta durante 20 min. A continuación se concentró a vacío y el residuo obtenido se disolvió en CH_2Cl_2 (2 mL). La disolución se lavó con HCl [(5%), 3 × 1 mL], se secó con Na_2SO_4, se filtró y se concentró a sequedad, dando el tetrapéptido Boc-[*D*-Phe-*D*-^{Me}N-γ-Ach-*D*-Ser(Bn)-*D*-^{Me}N-γ-Ach-]-OH que se usó directamente sin ningún tipo alguno de purificación adicional.

Una disolución de Boc-{[*D*-Phe-*D*-^{Me}N-γ-Ach-*D*-Ser(Bn)-*D*-^{Me}N-γ-Ach]$_2$-}-OFm (40 mg, 27 μmol) en 300 μL de TFA/CH_2Cl_2 (1:1) se agitó a ta durante 15 min. A continuación se concentró a sequedad en el rotavapor y el residuo obtenido se secó a alto vacío durante 3 h. La sal de TFA resultante se disolvió en CH_2Cl_2 (300 μL) y se añadió sucesivamente Boc-[*D*-Phe-*D*-^{Me}N-γ-Ach-*D*-Ser(Bn)-*D*-^{Me}N-γ-Ach-]-OH, HATU (11 mg, 29 μmol) y DIEA (19 μL, 107 μmol). Después de 1 h agitando a ta, la mezcla se lavó con HCl [(5%), 3 × 1 mL] y $NaHCO_3$ [(dis. sat.), 2 × 1 mL]. Las fases orgánicas se secaron y se concentraron, proporcionando un aceite amarillo que se purificó mediante cromatografía en columna (0-7% MeOH en CH_2Cl_2), obteniéndose 54 mg de Boc-{[*D*-Phe-*D*-^{Me}N-γ-Ach-*D*-Ser(Bn)-*D*-^{Me}N-γ-Ach]$_3$-}-OFm [96%, R_f = 0.31 (5% MeOH en CH_2Cl_2), espuma amarillenta]. **EM (ESI)** [m/z (%)]: 2127 ([M +Na]$^+$, 3), 2105 ([MH]$^+$, 6), 1072 ([M +K]$^{2+}$, 100), 1063 ([M +Na]$^{2+}$, 57), 1052 ([MH]$^{2+}$, 49). **EMAR (ESI) calculado** para $C_{124}H_{160}N_{12}O_{18}$ ([MH]$^{2+}$) 1052.5987, **encontrado** 1052.5981.

26.9. HEXADECAPÉPTIDOS

26.9.1. HEXADECAPÉPTIDOS DERIVADOS DEL ÁCIDO 3-AMINOCICLO-PENTANOCARBOXÍLICO



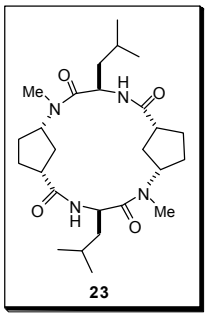
Boc-[(*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp)$_8$-]-OFm. Una disolución del octapéptido Boc-[(*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp)$_4$-]-OFm (100 mg, 80 μmol) en 1 mL de piperidina/CH_2Cl_2 (1:4) se agitó a ta durante 20 min. A continuación se concentró a vacío y el residuo obtenido se disolvió en CH_2Cl_2 (10 mL). La disolución se lavó con HCl [(5%), 3 × 5 mL], se secó

con Na_2SO_4, se filtró y se concentró a sequedad, dando Boc-[(*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp)$_4$-]-OH que se usó directamente sin ningún tipo alguno de purificación adicional.

Una disolución de Boc-[(*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp)$_4$-]-OFm (100 mg, 80 μmol) en 1 mL de TFA/CH_2Cl_2 (1:1) se agitó a ta durante 15 min. A continuación se concentró a sequedad en el rotavapor y el residuo obtenido se secó a alto vacío durante 3 h. La sal de TFA resultante se disolvió en CH_2Cl_2 (1 mL) y se añadió sucesivamente Boc-[(*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp)$_4$-]-OH, HATU (34 mg, 88 μmol) y DIEA (56 μL, 321 μmol). Después de 1 h agitando a ta, la mezcla resultante se lavó con HCl [(5%), 3 × 1 mL] y $NaHCO_3$ [(dis. sat.), 2 × 1 mL]. Las fases orgánicas combinadas se secaron con Na_2SO_4 y se concentraron a vacío, proporcionando un aceite amarillo que se purificó mediante cromatografía en columna (0-10% MeOH en CH_2Cl_2), obteniéndose 157 mg de Boc-[(*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp)$_8$-]-OFm [89%, R_f = 0.54 (10% MeOH en CH_2Cl_2), espuma amarillenta]. **EM (ESI)** [m/z (%)]: 2225 ([M +Na]$^+$, 8), 1121 ([M +K]$^{2+}$, 100), 1112 ([M +Na]$^{2+}$, 47), 1101 ([MH]$^{2+}$, 3). **EMAR (ESI) calculado** para $C_{123}H_{196}N_{16}O_{19}Na$ ([M +Na]$^+$) 2224.4760, **encontrado** 2224.4755.

26.10. CICLOTETRAPÉPTIDOS

26.10.1. CICLOTETRAPÉPTIDOS DERIVADOS DEL ÁCIDO 3-AMINOCICLOPENTANOCARBOXÍLICO



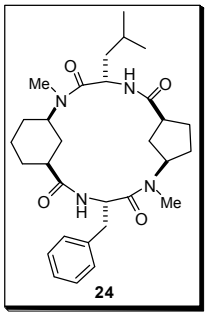
23

***ciclo*[(*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp)$_2$-] (23).**[26,27] Una disolución de Boc-[(*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp)$_2$-]-OFm (40.0 mg, 51.8 μmol) en 500 μL de piperidina/CH_2Cl_2 (1:4) se agitó a ta durante 20 min. A continuación se concentró a vacío y el residuo obtenido se disolvió en CH_2Cl_2 (10 mL). La disolución se lavó con HCl [(5%), 3 × 5 mL], se secó con Na_2SO_4, se filtró y se concentró a vacío. El crudo se disolvió en 500 μL de TFA/CH_2Cl_2 (1:1) y se agitó a ta durante 15 min. A continuación se concentró a sequedad en el rotavapor y el residuo resultante se secó a alto vacío durante 3 h, empleándose directamente sin ninguna otra purificación adicional. El péptido lineal se disolvió en CH_2Cl_2 (260 mL) y se añadió TBTU (20.0 mg, 62.2 μmol), seguido (gota a gota) de DIEA (36 μL, 207.2 μmol) [1 eq. de TBTU (16.6 mg, 51.8 μmol) y 4 eq. de DIEA (36 μL, 207.2 μmol) fueron adicionalmente añadidos cuando se observó sustancia de partida por HPLC, y la mezcla resultante se agitó a ta durante 3 h para completar la reacción]. Después de 12 h, el disolvente se eliminó a presión reducida, y el crudo se purificó por HPLC, obteniéndose 14.0 mg de **23** en forma de sólido blanco [56%, T_r = 26 min (Columna Semipreparativa Phenomenex Maxsil-10, 0-10% MeOH en CH_2Cl_2, 30 min)]. **^{1}H RMN** ($CDCl_3$, 500.13 MHz, δ): 6.83 (d, *J* = 9.4 Hz, 2H, NH_{Leu}), 5.05 (td, J_1 = 7.2 Hz, J_2 = 14.3 Hz, 2H, $H\alpha_{Leu}$), 4.47 (m, 2H, $H\gamma_{Acp}$), 3.03 (s, 6H, $NCH_{3\ Acp}$), 2.85 (ddd, J_1 = 4.6 Hz, J_2 = 9.1 Hz, J_3 = 17.7 Hz, 2H, $H\alpha_{Acp}$), 2.62 (m, 2H, C-H_{Acp}), 2.35 (m, 2H, C-H_{Acp}), 2.09 (m, 2H, C-H_{Acp}), 1.84 (dt, J_1 = 7.9 Hz, J_2 = 14.1 Hz, 2H, C-H_{Acp}), 1.68 (tt, J_1 = 8.1 Hz, J_2 = 15.9 Hz, 2H, C-H_{Acp}), 1.63-1.52 (m, 6H, CH_{Leu} + $CH_{2\ Leu}$), 1.34 (td, J_1 = 4.7 Hz, J_2 = 14.3 Hz, 2H, C-H_{Acp}), 0.93

[26] Amorín, M.; Brea, R. J.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Heterocycles* **2006***, 67, 575-583.*
[27] Amorín, M.; Brea, R. J.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 4681-4684.

(dd, J_1 = 6.5 Hz, J_2 = 6.9 Hz, 12H, $CH_{3\,Leu}$). **^{13}C RMN** ($CDCl_3$, 125.77 MHz, δ): 176.1 (CO), 173.8 (CO), 55.6 (CH), 47.8 (CH), 42.0 (CH), 40.9 (CH_2), 40.3 (CH_2), 31.1 (NCH_3), 28.2 (CH_2), 26.2 (CH_2), 24.9 (CH), 23.0 (CH_3), 22.3 (CH_3). **FT-IR** (293 K, $CHCl_3$): 3419, 3302 (amida A), 3042, 3008, 2958, 1668, 1623 (amida I), 1538 (amida II_{II}) cm^{-1}. **EM (ESI)** [m/z (%)]: 479 ([M +Na]$^+$, 66), 477 ([MH]$^+$, 100). **EMAR (ESI) calculado** para $C_{26}H_{45}N_4O_4$ ([MH]$^+$) 477.3441, **encontrado** 477.3435.

26.10.2.CICLOTETRAPÉPTIDOS HÍBRIDOS Acp/Ach

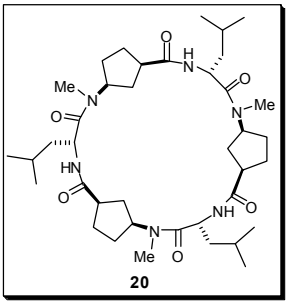


24

***ciclo*[*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach-*D*-Leu-*L*-^{Me}N-γ-Acp-] (24).**[27] Una disolución de Boc-[*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach-*D*-Leu-*L*-^{Me}N-γ-Acp]-OFm (61.0 mg, 74.4 μmol) en 1 mL de piperidina/CH_2Cl_2 (1:4) se agitó a ta durante 20 min. A continuación se concentró a vacío y el residuo obtenido se disolvió en CH_2Cl_2 (10 mL). La disolución se lavó con HCl [(5%), 3 × 5 mL], se secó con Na_2SO_4, se filtró y se concentró a vacío. El crudo se disolvió en 1 mL de TFA/CH_2Cl_2 (1:1) y se agitó a ta durante 15 min. A continuación se concentró a sequedad en el rotavapor y el residuo resultante se secó a alto vacío durante 3 h, empleándose directamente sin ninguna otra purificación adicional. El péptido lineal se disolvió en CH_2Cl_2 (370 mL) y se añadió TBTU (29 mg, 89.3 μmol), seguido (gota a gota) de DIEA (52 μL, 297.6 μmol) [1 eq. de TBTU (24 mg, 74.4 μmol) y 4 eq. de DIEA (52 μL, 297.6 μmol) fueron adicionalmente añadidos cuando se observó sustancia de partida por HPLC, y la mezcla resultante se agitó a ta durante 3 h para completar la reacción]. Después de 12 h, el disolvente se eliminó a presión reducida, y el crudo se purificó por HPLC, obteniéndose 24.8 mg de **24** en forma de sólido blanco [64%, T_r = 24 min (Columna Semipreparativa Phenomenex Maxsil-10, 0-10% MeOH en CH_2Cl_2, 30 min)]. **^{1}H RMN** ($CDCl_3$, 500.13 MHz, δ): 7.28-7.15 (m, 5H, Ar-H_{Phe}), 7.06 (d, J = 9.6 Hz, 1H, NH_{Leu}), 6.97 (d, J = 9.1 Hz, 1H, NH_{Phe}), 5.03 (dt, J_1 = 9.6 Hz, J_2 = 6.1 Hz, 1H, Hα_{Phe}), 4.98 (dt, J_1 = 9.6 Hz, J_2 = 7.1 Hz, 1H, Hα_{Leu}), 4.75 (m, 1H, Hγ_{Acp}), 4.29 (m, 1H, Hγ_{Ach}), 3.10 (dd, J_1 = 12.9 Hz, J_2 = 10.1 Hz, 1H, CH_2 β_{Phe}), 3.01-2.77 (m, 3H, CH_2 β_{Phe} + Hα_{Acp} + Hα_{Ach}), 2.88 (s, 3H, $NCH_{3\,Acp}$), 2.62 (s, 3H, $NCH_{3\,Ach}$), 2.45 (m, 1H), 2.31-2.20 (m, 2H), 2.11 (m, 1H), 1.93-1.80 (m, 2H), 1.76-1.42 (m, 6H), 1.37-1.18 (m, 4H), 1.02 (m, 1H), 0.92 (d, J = 6.4 Hz, 3H, $CH_{3\,Leu}$), 0.89 (d, J = 6.4 Hz, 3H, CH_{3Leu}). **^{13}C RMN** ($CDCl_3$, 62.90 MHz, δ): 177.3 (CO), 175.6 (CO), 173.9 (CO), 172.8 (CO), 136. 4 (C), 129.0 (CH), 128.5 (CH), 126.9 (CH), 55.3 (CH), 52.8 (CH), 51.1 (CH), 47.7 (CH), 44.1 (CH), 42.3 (CH), 40.6 (CH_2), 38.7 (CH_2), 37.7 (CH_2), 36.4 (CH_2), 30.4 (NCH_3), 29.3 (NCH_3), 28.6 (CH_2), 28.3 (CH_2), 27.2 (CH_2), 25.5 (CH_2), 24.8 (CH), 23.9 (CH_2), 22.8 (CH_3), 22.6 (CH_3). **EM (MALDI-TOF)** [m/z (%)]: 563 ([M +K]$^+$, 36), 547 ([M +Na]$^+$, 100), 525 ([MH]$^+$, 71). **EMAR (MALDI-TOF) calculado** para $C_{30}H_{44}N_4O_4Na$ ([M +Na]$^+$) 547.32548, **encontrado** 547.32754.

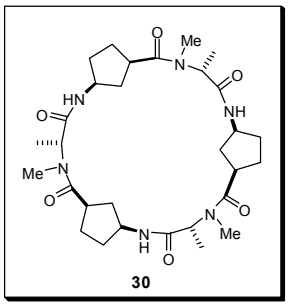
26.11. CICLOHEXAPÉPTIDOS

26.11.1. CICLOHEXAPÉPTIDOS DERIVADOS DEL ÁCIDO 3-AMINOCICLOPENTANOCARBOXÍLICO



20

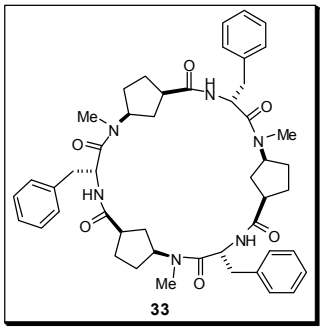
***ciclo*[(*D*-Leu-*L*-^{Me}N-γ-Acp)$_3$-] (20).**[22] Una disolución de Boc-[(*D*-Leu-*L*-^{Me}N-γ-Acp)$_3$-]-OFm (45 mg, 45 μmol) en 500 μL de piperidina/CH_2Cl_2 (1:4) se agitó a ta durante 20 min. A continuación se concentró a vacío y el residuo obtenido se disolvió en CH_2Cl_2 (5 mL). La disolución se lavó con HCl [(5%), 3 × 3 mL], se secó con Na_2SO_4, se filtró y se concentró a vacío. El crudo se disolvió en 500 μL de TFA/CH_2Cl_2 (1:1) y se agitó a ta durante 15 min. A continuación se concentró a sequedad en el rotavapor y el residuo resultante se secó a alto vacío durante 3 h, utilizándose directamente sin ninguna otra purificación adicional. El péptido lineal se disolvió en CH_2Cl_2 (45 mL) y se añadió TBTU (17 mg, 54 μmol), seguido (gota a gota) de DIEA (32 μL, 178 μmol) [1 eq. de TBTU (14 mg, 45 μmol) y 4 eq. de DIEA (32 μL, 178 μmol) fueron adicionalmente añadidos cuando se observó sustancia de partida por HPLC, y la mezcla resultante se agitó a ta durante 3 h para completar la reacción]. Después de 12 h, el disolvente se eliminó a presión reducida, y el crudo se purificó por HPLC, obteniéndose 19 mg de **20** en forma de sólido blanco [60%]. **^{1}H RMN** ($CDCl_3$, 500.13 MHz, δ): 8.23 (d, J = 9.4 Hz, 3H, NH_{Leu}), 5.18 (td, J_1 = 6.9 Hz, J_2 = 13.8 Hz, 3H, $H\alpha_{Leu}$), 4.80 (cd, J_1 = 8.2 Hz, J_2 = 16.3 Hz, 3H, $H\gamma_{Acp}$), 3.07 (s, 9H, $NCH_{3\ Acp}$), 2.94 (cd, J_1 = 7.6 Hz, J_2 = 15.4 Hz, 3H, $H\alpha_{Acp}$), 2.29 (m, 3H, C2-H_{Acp}), 2.10 (m, 3H, C2-H_{Acp}), 1.93-1.50 (m, 21H, 6 × $CH_{2\ Acp}$ + 3 × CH_{Leu} + 3 × $CH_{2\ Leu}$), 0.93 (t, J = 6.0 Hz, 18H, $CH_{3\ Leu}$). **^{13}C RMN** ($CDCl_3$, 125.77 MHz, δ): 175.2 (CO), 173.4 (CO), 54.8 (CH), 47.0 (CH), 42.5 (CH), 42.4 (CH_2), 35.7 (CH_2), 29.9 (NCH_3), 29.7 (CH_2), 27.3 (CH_2), 24.8 (CH), 23.0 (CH_3), 22.5 (CH_3). **FT-IR** (293 K, $CHCl_3$): 3587, 3304 (amida A), 3030, 2928, 1661, 1626 (amida I), 1534 (amida II_{II}) cm^{-1}. **EM (FAB$^+$)** [m/z (%)]: 1429 ([2MH]$^+$, 3), 737 ([M +Na]$^+$, 3), 715 ([MH]$^+$, 100), 477 (6). **EMAR (FAB$^+$) calculado** para $C_{39}H_{67}N_6O_6$ ([MH]$^+$) 715.512210, **encontrado** 715.511861.



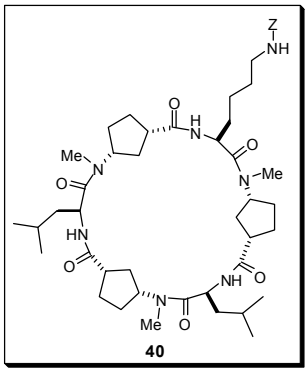
30

***ciclo*[(*L*-γ-Acp-*D*-^{Me}N-Ala)$_3$-] (30).** El compuesto señalado se sintetizó empleando el procedimiento descrito para **20** a partir de Boc-[(*L*-γ-Acp-*D*-^{Me}N-Ala)$_3$-]-OFm (40 mg, 45 μmol) para dar, después de su purificación por HPLC, 18 mg de dicho compuesto en forma de sólido blanco [69%, T_r = 16 min (Columna Semipreparativa Phenomenex Maxsil-10, 5-15% MeOH en CH_2Cl_2, 30 min)]. **^{1}H RMN** ($CDCl_3$, 500.13 MHz, δ): 8.05-7.30 (dobletes solapados, NH_{Acp}), 5.25-4.85 (multipletes solapados, $H\alpha_{Ala}$), 4.63-4.20 (multipletes solapados, $H\gamma_{Acp}$), 3.35-3.07 (multipletes solapados, $H\alpha_{Acp}$), 3.05-2.99 (singletes solapados, $NCH_{3\ Ala}$), 2.54-1.53 (multipletes solapados, $CH_{2\ Acp}$), 1.42-1.24 (dobletes solapados $CH_{3\ Ala}$). **EM (ESI)** [m/z (%)]: 627 ([M +K]$^+$,

8), 611 ([M +Na]$^+$, 44), 589 ([MH]$^+$, 100). **EMAR (ESI) calculado** para $C_{30}H_{49}N_6O_6$ ([MH]$^+$) 589.3714, **encontrado** 589.3744.



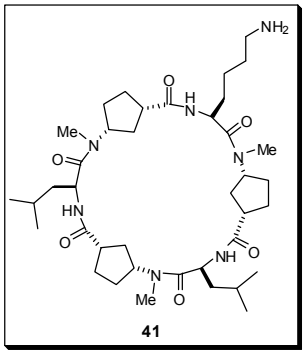
***ciclo*[(*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Acp)$_3$-] (33).**[22] El compuesto señalado se sintetizó empleando el procedimiento descrito para **20** a partir de Boc-[(*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Acp)$_3$-]-OFm (80 mg, 72 μmol) para dar, después de su purificación por HPLC, 45 mg de dicho compuesto en forma de sólido blanco [77%, T_r = 14 min (Columna Semipreparativa Phenomenex Maxsil-10, 5-15% MeOH en CH_2Cl_2, 30 min)]. **^{1}H RMN** ($CDCl_3$, 750.13 MHz, δ): 8.56 (d, *J* = 9.2 Hz, 3H, NH_{Phe}), 7.22 (m, 15H, Ar-H_{Phe}), 5.32 (dt, J_1 = 6.4 Hz, J_2 = 9.3 Hz, 3H, Hα$_{Phe}$), 4.77 (td, J_1 = 8.5 Hz, J_2 = 17.0 Hz, 3H, Hγ$_{Acp}$), 3.14 (dd, J_1 = 9.3 Hz, J_2 = 13.1 Hz, 6H, CH_2 β$_{Phe}$), 3.06 (dd, J_1 = 6.1 Hz, J_2 = 13.1 Hz, 3H, Hα$_{Acp}$), 2.66 (s, 9H, $NCH_{3\ Acp}$), 2.34 (m, 3H, C2-H_{Acp}), 2.01 (td, J_1 = 8.0 Hz, J_2 = 17.3 Hz, 3H, C-H_{Acp}), 1.74 (dt, J_1 = 7.6 Hz, J_2 = 14.0 Hz, 3H, C-H_{Acp}), 1.61 (m, 3H, C-H_{Acp}), 1.47 (dd, J_1 = 10.9 Hz, J_2 = 23.6 Hz, 3H, C-H_{Acp}). **^{13}C RMN** ($CDCl_3$, 75.47 MHz, δ): 174.9 (CO), 172.4 (CO), 136.8 (C), 129.1 (CH), 128.3 (CH), 126.8 (CH), 54.5 (CH), 50.3 (CH), 42.7 (CH), 40.0 (CH_2), 36.1 (CH_2), 29.7 (CH_3), 26.9 (CH_2), 26.8 (CH_2). **FT-IR** (293 K, $CHCl_3$): 3303 (amida A), 3007, 1664, 1625 (amida I), 1530 (amida II$_{II}$) cm^{-1}. **EM (MALDI-TOF)** [m/z]: 839 ([M +Na]$^+$), 817 ([MH]$^+$). **EMAR (MALDI-TOF) calculado** para $C_{48}H_{61}N_6O_6$ ([MH]$^+$) 817.465260, **encontrado** 817.464710.



***ciclo*{[*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp]$_2$-*L*-Lys(Z)-*D*-^{Me}N-γ-Acp-} (40).**[28,29] El compuesto señalado se sintetizó empleando el procedimiento descrito para **20** a partir de Boc-{[*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp]$_2$-*L*-Lys(Z)-*D*-^{Me}N-γ-Acp-}-OFm (400 mg, 350 μmol) para dar, después de su purificación por HPLC, 160 mg de dicho compuesto en forma de espuma blanca [54%, T_r = 16 min (Columna Semipreparativa Phenomenex Maxsil-10, 5-15% MeOH en CH_2Cl_2, 30 min)]. **^{1}H RMN** ($CDCl_3$, 500.13 MHz, δ): 8.31-8.11 (dobletes solapados, 3H, NH), 7.41-7.27 (m, 5H, Ar-H_Z), 5.25-4.98 (m, 3.4H, 2 × Hα$_{Leu}$ + Hα$_{Lys}$ + 0.4 × NH), 5.07 (s, 2H, $CH_{2\ Z}$), 4.96-4.64 (m, 3.6H, 3 × Hγ$_{Acp}$ + 0.6 × NH), 3.25-3.10 (m, 2H, C$\underline{H}_2$NH), 3.09-3.00 (singletes solapados, 9H, $NCH_{3\ Acp}$), 2.99-2.87 (m, 3H, Hα$_{Acp}$), 2.30 (m, 3H, C-H_{Acp}), 2.09 (m, 3H, C-H_{Acp}), 1.96-1.18 (m, 24H, 12 × C-H_{Acp} + 2 × $CH_{2\ Leu}$ + 2 × CH_{Leu} + 3 × $CH_{2\ Lys}$), 1.04-0.85 (m, 12H, $CH_{3\ Leu}$). **^{13}C RMN** ($CDCl_3$, 125.77 MHz, δ): 175.3 (CO), 173.5 (CO), 156.3 (CO), 136.6 (C), 128.5 (CH), 128.1 (CH), 128.0 (CH), 66.7 (CH_2), 54.7 (CH), 48.2 (CH), 46.9 (CH), 42.4 (CH_2), 42.3 (CH), 40.9 (CH_2), 35.8 (CH_2), 33.1 (CH_2), 29.8 (NCH_3), 29.3 (CH_2), 27.2 (CH_2), 24.8 (CH), 23.1 (CH_3), 22.8 (CH_2), 22.6 (CH_2), 22.4 (CH_3). **FT-IR** (293 K, $CHCl_3$): 3303 (amida A), 3005, 2960, 1662, 1626 (amida I), 1529 (amida II$_{II}$) cm^{-1}. **EM (MALDI-TOF)** [m/z (%)]: 902 ([M +K]$^+$, 10), 886

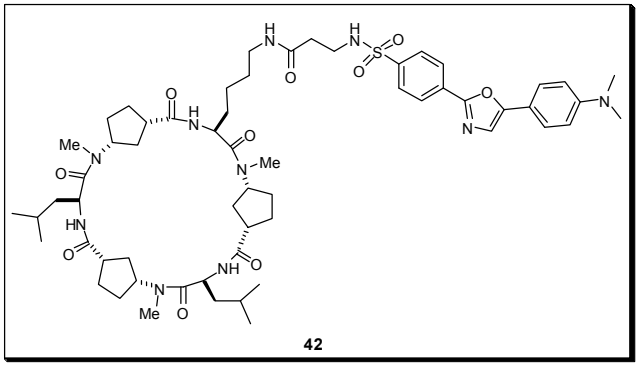
[28] Brea, R. J.; Vázquez, M. E.; Mosquera, M.; Castedo, L.; Granja, J. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 1653-1657.
[29] Brea, R. J.; Herranz, M. A.; Sánchez, L.; Castedo, L.; Seitz, W.; Guldi, D: M.; Martín, N.; Granja, J. R. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2007**, *104*, 5291-5294.

([M +Na]$^+$, 40), 864 ([MH]$^+$, 100). **EMAR (MALDI-TOF) calculado** para $C_{47}H_{74}N_7O_8$ ([MH]$^+$) 864.5593, **encontrado** 864.5578.



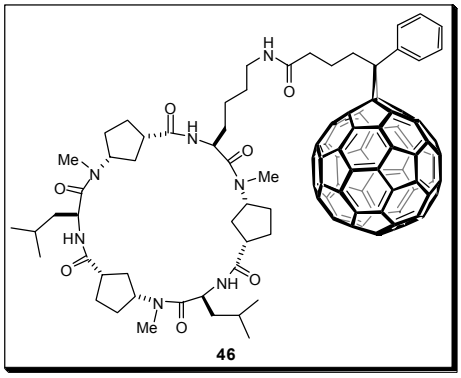
41

***ciclo*{[*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp]$_2$-*L*-Lys-*D*-^{Me}N-γ-Acp-} (41).**[28,29] Sobre una disolución de *ciclo*{[*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp]$_2$-*L*-Lys(Z)-*D*-^{Me}N-γ-Acp-} [(**40**), 80 mg, 93 μmol] en EtOH (1 mL) se añadió 10% Pd/C (20 mg, 19 μmol), y la suspensión se agitó a ta bajo atmósfera de H_2 durante 8 h. Tras eliminar el H_2, la mezcla resultante se filtró a través de Celita lavando con EtOH (2 × 1 mL). El filtrado obtenido se concentró a presión reducida, dando lugar a 62 mg de **41** en forma de sólido blanco [91%]. **^{1}H RMN** (d_6-DMSO, 500.13 MHz, δ): 8.28-8.12 (dobletes solapados, 3H, NH), 7.61 (s ancho, 2H, NH_2), 4.91-4.52 (m, 6H, 2 × Hα_{Leu} + Hα_{Lys} + 3 × Hγ_{Acp}), 2.92-2.82 (singletes solapados, 9H, $NCH_{3\ Acp}$), 2.78-2.69 (m, 2H, C$\underline{H}_2$NH$_2$), 2.67-2.57 (m, 3H, Hα_{Acp}), 1.98-1.11 (m, 30H, 9 × $CH_{2\ Acp}$ + 2 × $CH_{2\ Leu}$ + 2 × CH_{Leu} + 3 × $CH_{2\ Lys}$), 0.91-0.81 (m, 12H, $CH_{3\ Leu}$). **EM (MALDI-TOF)** [m/z (%)]: 751 ([M +Na]$^+$, 45), 729 ([MH]$^+$, 100). **EMAR (MALDI-TOF) calculado** para $C_{39}H_{67}N_7O_6$ ([MH]$^+$) 729.5147, **encontrado** 729.5100.



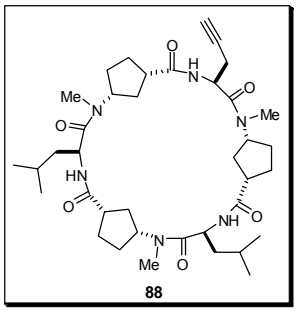
42

***ciclo*{[*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp]$_2$-*L*-Lys(Dapoxilo)-*D*-^{Me}N-γ-Acp-} (42).**[28] Una disolución de *ciclo*{[*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp]$_2$-*L*-Lys-*D*-^{Me}N-γ-Acp-} [(**41**), 5.0 mg, 6.9 μmol] en DMF (100 μL) se agitó y sonicó a ta durante 10 min, y entonces se añadió DIEA (4.8 μL, 27.4 μmol). A continuación se adicionó una disolución del éster succinimídico del ácido dapoxilo® 3-sulfonamidopropiónico (3.5 mg, 6.9 μmol) en $CDCl_3$ (400 μL), y la mezcla resultante se agitó a ta durante 1 h. Transcurrido ese tiempo, la disolución obtenida se concentró a presión reducida. El residuo se disolvió en $CHCl_3$ (2 mL), se lavó con HCl (5%) y $NaHCO_3$ (dis. sat.), se secó con Na_2SO_4 y se concentró a vacío. El crudo resultante se purificó mediante cromatografía preparativa de capa fina (5% MeOH en CH_2Cl_2; dos veces), dando lugar a 6.0 mg de **42** en forma de sólido amarillo [78%, R_f = 0.15 (10% MeOH en CH_2Cl_2)]. **^{1}H RMN** ($CDCl_3$, 750.13 MHz, δ): 8.22-8.07 (dobletes solapados, 3H, NH), 7.89 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H, Ar-H$_{Dap}$), 7.64 (m, 1H, Ar-H$_{Dap}$), 7.53 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, Ar-H$_{Dap}$), 7.46 (m, 1H, Ar-H$_{Dap}$), 7.05 (s, 1H, Ar-H$_{Dap}$), 6.70 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, Ar-H$_{Dap}$), 5.34-5.23 (m, 7H, 2 × Hα_{Leu} + Hα_{Lys} + CH_2 + 2 × NH), 5.16-4.97 (m, 3H, Hγ_{Acp}), 4.74 (m, 2H, C$\underline{H}_2$NH), 2.99-2.95 (singletes solapados, 9H, $NCH_{3\ Acp}$), 2.99 (singletes solapados, 6H, $NCH_{3\ Dap}$), 3.25-3.13 (m, 3H, Hα_{Acp}), 2.54 (m, 2H, CH_2), 2.03-1.02 (m, 30H, 9 × $CH_{2\ Acp}$ + 2 × $CH_{2\ Leu}$ + 2 × CH_{Leu} + 3 × $CH_{2\ Lys}$), 0.90-0.69 (m, 12H, $CH_{3\ Leu}$). **EM (MALDI-TOF)** [m/z (%)]: 1165 ([M +K]$^+$, 39), 1149 ([M +Na]$^+$, 16), 1127 ([MH]$^+$, 31), 1012 (100). **EMAR (MALDI-TOF) calculado** para $C_{59}H_{87}N_{10}O_{10}S$ ([MH]$^+$) 1127.6322, **encontrado** 1127.6331.



46

***ciclo*{[*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp]$_2$-*L*-Lys(PCBA)-*D*-^{Me}N-γ-Acp-} (46).**[29] Una disolución de PCBA[30,31] [(**45**), 12.3 mg, 13.7 μmol] en $CDCl_3$ (800 μL) se agitó y sonicó a ta durante 15 min, y posteriormente se añadió sucesivamente HATU (5.7 mg, 15.1 μmol) y DIEA (9.6 μL, 54.9 μmol). La suspensión obtenida se agitó a ta durante 10 min. A continuación se adicionó una disolución de *ciclo*{[*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp]$_2$-*L*-Lys-*D*-^{Me}N-γ-Acp-} [(**41**), 10.0 mg, 13.7 μmol] en DMF (200 μL), y la mezcla resultante se agitó a ta durante 1 h. Transcurrido ese tiempo, la disolución obtenida se concentró a presión reducida. El residuo se disolvió en $CHCl_3$ (2 mL), se lavó con HCl (5%) y $NaHCO_3$ (dis. sat.), se secó con Na_2SO_4 y se concentró a vacío. El crudo se purificó mediante cromatografía preparativa de capa fina (5% MeOH en CH_2Cl_2) y cromatografía por exclusión de tamaño ($CHCl_3$), dando lugar a 15.6 mg de **46** en forma de sólido marrón [71%, R_f = 0.26 (5% MeOH en CH_2Cl_2)]. **^{1}H RMN** ($CDCl_3$, 750.13 MHz, δ): 8.29-8.02 (dobletes solapados, 3H, NH), 7.90-7.78 (dobletes solapados, 2H, Ar-H), 7.51-7.29 (m, 3H, Ar-H), 5.34-5.23 (m, 1H, NH), 5.14-5.05 (m, 2H, $H\alpha_{Leu}$), 5.02-4.93 (m, 1H, $H\alpha_{Lys}$), 4.78-4.65 (m, 3H, $H\gamma_{Acp}$), 3.61-3.54 (m, 2H, $C\underline{H}_2NH$), 3.17-2.73 (m, 14H, 3 × $NCH_{3\ Acp}$ + 3 × $H\alpha_{Acp}$ + $CH_{2\ PCBA}$), 2.36-0.94 (m, 34H, 9 × $CH_{2\ Acp}$ + 2 × $CH_{2\ Leu}$ + 2 × CH_{Leu} + 3 × $CH_{2\ Lys}$ + 2 × $CH_{2\ PCBA}$), 0.91-0.72 (m, 12H, $CH_{3\ Leu}$). **FT-IR** (293 K, $CHCl_3$): 3303 (amida A), 3007, 2927, 1660, 1625 (amida I), 1531 (amida II_{II}) cm^{-1}. **EM (MALDI-TOF)** [m/z (%)]: 1647 ($[M+K]^+$, 13), 1630 ($[M+Na]^+$, 76), 1608 ($[MH]^+$, 100). **EMAR (MALDI-TOF) calculado** para $C_{110}H_{78}N_7O_7$ ($[MH]^+$) 1608.5957, **encontrado** 1608.5936.



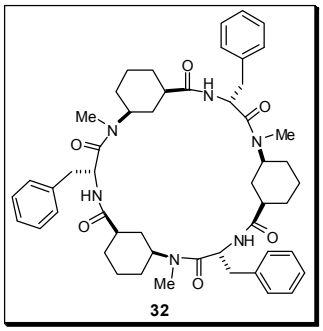
88

***ciclo*{[*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp]$_2$-*L*-Pra-*D*-^{Me}N-γ-Acp-} (88).** El compuesto señalado se sintetizó empleando el procedimiento descrito para **20** a partir de Boc-{[*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp]$_2$-*L*-Pra-*D*-^{Me}N-γ-Acp-}-OFm (100 mg, 101 μmol) para dar, después de su purificación por HPLC, 53 mg de dicho compuesto en forma de sólido blanco [76%, T_r = 13 min (Columna Semipreparativa Phenomenex Maxsil-10, 5-15% MeOH en CH_2Cl_2, 30 min)]. **^{1}H RMN** ($CDCl_3$, 500.13 MHz, δ): 8.47-8.02 (dobletes solapados, 3H, NH), 5.41-5.31 (m, 1H, $H\alpha_{Pra}$), 5.25-5.10 (m, 2H, $H\alpha_{Leu}$), 4.94-4.71 (m, 3H, $H\gamma_{Acp}$), 3.15-3.04 (singletes solapados, 9H, $NCH_{3\ Acp}$), 2.99-2.86 (m, 3H, $H\alpha_{Acp}$), 2.78-2.47 (m, 2H, $CH_{2\ Pra}$), 2.38-2.21 (m, 3H, C-H_{Acp}), 2.19-2.03 (m, 3H, C-H_{Acp}), 1.97 (s, 1H, C-H_{Pra}), 1.93-1.45 (m, 18H, 12 × C-H_{Acp} + 2 × $CH_{2\ Leu}$ + 2 × CH_{Leu}), 1.05-0.86 (m, 12H, $CH_{3\ Leu}$). **^{13}C RMN** ($CDCl_3$, 125.77 MHz, δ): 175.2 (CO), 175.1 (CO), 173.5 (CO), 173.4 (CO), 171.4 (CO), 171.3 (CO), 79.5 (C), 70.3 (CH), 54.7 (CH), 47.6 (CH), 47.0 (CH), 46.9 (CH), 42.6 (CH_2), 42.5 (CH), 42.3 (CH_2), 35.9 (CH_2), 30.3 (NCH_3), 29.9 (NCH_3), 27.5 (CH_2), 27.2 (CH_2), 27.0 (CH_2), 24.8 (CH), 23.1 (CH_3), 22.4 (CH_3). **EM (FAB^+)** [m/z (%)]: 719 ($[M+Na]^+$, 19), 697

[30] Hummelen, J. C.; Knight, B. W.; LePeq, F.; Wudl, F.; Yao, J.; Wilkins, C. L. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 532-538.
[31] Sustrato cedido amablemente por el grupo del Prof. Nazario Martín [Universidad Complutense de Madrid].

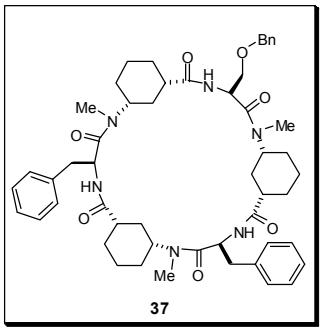
([MH]$^+$, 100). **EMAR (FAB$^+$) calculado** para $C_{38}H_{60}N_6O_6Na$ ([M +Na]$^+$) 719.4463, **encontrado** 719.4467.

26.11.2. CICLOHEXAPÉPTIDOS DERIVADOS DEL ÁCIDO 3-AMINOCICLOHEXANOCARBOXÍLICO



32

***ciclo*[(*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach)$_3$-] (32).**[32,33] Una disolución de Boc-[(*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach)$_3$-]-OFm (159 mg, 181 μmol) en 2 mL de piperidina/CH_2Cl_2 (1:4) se agitó a ta durante 20 min. A continuación se concentró a vacío y el residuo obtenido se disolvió en CH_2Cl_2 (5 mL). La disolución se lavó con HCl [(5%), 3 × 3 mL], se secó con Na_2SO_4, se filtró y se concentró a vacío. El crudo se disolvió en 2 mL de TFA/CH_2Cl_2 (1:1) y se agitó a ta durante 15 min. A continuación se concentró a sequedad en el rotavapor y el residuo resultante se secó a alto vacío durante 3 h, utilizándose directamente sin ninguna otra purificación adicional. El péptido lineal se disolvió en CH_2Cl_2 (181 mL) y se añadió TBTU (64 mg, 199 μmol), seguido (gota a gota) de DIEA (126 μL, 724 μmol) [1 eq. de TBTU (58 mg, 181 μmol) y 4 eq. de DIEA (126 μL, 724 μmol) fueron adicionalmente añadidos cuando se observó sustancia de partida por HPLC, y la mezcla resultante se agitó a ta durante 3 h para completar la reacción]. Después de 12 h, el disolvente se eliminó a presión reducida, y el crudo se purificó por HPLC, obteniéndose 111 mg de **32** en forma de sólido blanco [77%]. **^{1}H RMN** ($CDCl_3$, 250.13 MHz, δ): 8.73 (d, *J* = 9.2 Hz, 3H, NH_{Phe}), 7.19 (m, 15H, Ar-H_{Phe}), 5.32 (c, *J* = 6.0 Hz, 3H, Hα$_{Phe}$), 4.56 (s ancho, 3 H, Hγ$_{Ach}$), 3.20-3.01 (m, 9H, 3 × CH_2β$_{Phe}$ + 3 × Hα$_{Ach}$), 2.50 (s, 9H, $NCH_{3\ Ach}$), 1.93-1.20 (m, 24H, $CH_{2\ Ach}$). **^{13}C RMN** ($CDCl_3$, 62.90 MHz, δ): 175.4 (CO), 171.7 (CO), 136.5 (C), 129.3 (CH), 128.3 (CH), 126.9 (CH), 51.3 (CH), 49.5 (CH), 43.1 (CH), 40.5 (CH_2), 32.2 (CH_2), 28.7 (NCH_3), 28.6 (CH_2), 28.2 (CH_2), 24.8 (CH_2). **FT-IR** (293 K, $CHCl_3$): 3303 (amida A), 2930, 2860, 1665, 1625 (amida I), 1527 (amida II$_{II}$) cm^{-1}. **EM (FAB$^+$)** [m/z (%)]: 1718 ([2MH]$^+$, 13), 859 ([MH]$^+$, 100). **EMAR (FAB$^+$) calculado** para $C_{51}H_{67}N_6O_6$ ([MH]$^+$) 859.512213, **encontrado** 859.510204.

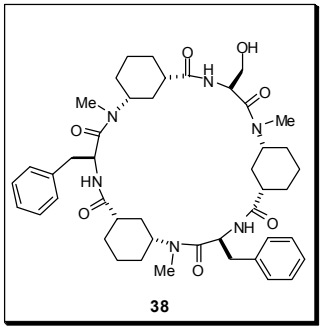


37

***ciclo*{[*L*-Phe-*D*-^{Me}N-γ-Ach]$_2$-*L*-Ser(Bn)-*D*-^{Me}N-γ-Ach-} (37).**[33] El compuesto señalado se sintetizó empleando el procedimiento descrito para **32** a partir del hexapéptido Boc-{*L*-Ser(Bn)-*D*-^{Me}N-γ-Ach-[*L*-Phe-*D*-^{Me}N-γ-Ach]$_2$-}-OFm (188 mg, 210 μmol) para dar, después de su purificación por HPLC, 125 mg de dicho compuesto [68%, sólido blanco]. **^{1}H RMN** ($CDCl_3$, 250.13 MHz, δ): 8.79-8.24 (dobletes solapados, *J* = 9.2 Hz, 3H, NH), 7.20 (m, 15H, 2 × Ar-H_{Phe} + Ar-H_{Bn}), 5.48-5.21 (m, 3H, 2 × Hα$_{Phe}$ + Hα$_{Ser}$), 4.70-4.24 (m, 5H, 3 × Hγ$_{Ach}$ + $CH_{2\ Bn}$), 3.77-3.63 (m, 2H, CH_2 β$_{Ser}$), 3.15-3.01 (m, 4H, 2 × CH_2 β$_{Phe}$), 2.88-2.78 (m, 3H, Hα$_{Ach}$), 2.51 (s,

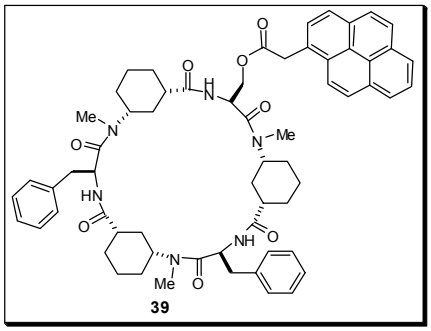
[32] Amorín, M.; Castedo, L.; Granja, J. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 2844-2845.
[33] Amorín, M.; Villaverde, V.; Castedo, L.; Granja, J. R. *J. Drug. Delivery Sci. Technol.* **2005**, *15*, 87-92.

9H, $NCH_{3\ Ach}$), 2.06-1.03 (m, 24H, $CH_{2\ Ach}$). **FT-IR** (293 K, $CHCl_3$): 3303 (amida A), 2934, 2863, 1664, 1627 (amida I), 1529 cm^{-1} (amida II_{II}). **EM (FAB$^+$)** [m/z (%)]: 1778 ($[2MH]^+$, 12), 889 ($[MH]^+$, 100). **EMAR (FAB$^+$) calculado** para $C_{52}H_{69}N_6O_7$ ($[MH]^+$) 889.52277, **encontrado** 889.52190.



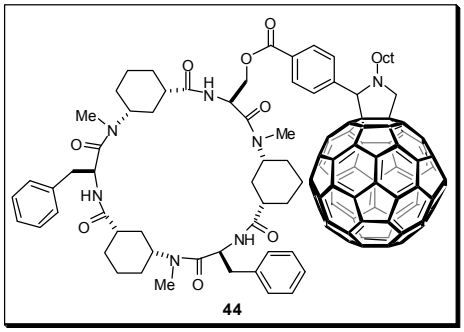
38

***ciclo*{[*L*-Phe-*D*-^{Me}N-γ-Ach]$_2$-*L*-Ser-*D*-^{Me}N-γ-Ach-} (38).**[33] Sobre una disolución de *ciclo*{[*L*-Phe-*D*-^{Me}N-γ-Ach]$_2$-*L*-Ser(Bn)-*D*-^{Me}N-γ-Ach-} [(**37**), 40 mg, 45 μmol] en EtOH (1 mL) se añadió 10% Pd/C (10 mg, 9 μmol), y la suspensión se agitó a ta bajo atmósfera de H_2 durante 8 h. Tras eliminar el H_2, la mezcla resultante se filtró a través de Celita lavando con EtOH (2 × 1 mL). El filtrado obtenido se concentró a presión reducida, dando lugar a 36 mg de **38** en forma de sólido blanco [99%]. **^{1}H RMN** ($CDCl_3$, 750.13 MHz, δ): 8.81-8.59 (m, 2H, NH), 8.36 (d, *J* = 8.5 Hz, 0.25H, NH_{Phe}), 8.31 (d, *J* = 8.7 Hz, 0.25H, NH_{Phe}), 7.92 (d, *J* = 8.1 Hz, 0.5H, NH_{Ser}), 7.20 (m, 10H, Ar-H_{Phe}), 5.33 (m, 2.5H, 2 × Hα_{Phe} + 0.5 × Hα_{Ser}), 5.12 (s, 0.5H, Hα_{Ser}), 4.57 (m, 3H, Hγ_{Ach}), 3.90 y 3.75 (s, 2H, CH_2 β_{Ser}), 3.11-2.92 (m, 7H, 2 × CH_2 β_{Phe} + 3 × Hα_{Ach}), 2.52, 2.48 (s, 9H, $NCH_{3\ Ach}$), 2.09-0.98 (m, 24H, $CH_{2\ Ach}$). **FT-IR** (293 K, $CHCl_3$): 3303 (amida A), 2928, 2857, 1661, 1624 (amida I), 1525 cm^{-1} (amida II_{II}). **EM (FAB$^+$)** [m/z (%)]: 799 ($[MH]^+$, 100). **EMAR (FAB$^+$) calculado** para $C_{45}H_{63}N_6O_7$ ($[MH]^+$) 799.47582, **encontrado** 799.47647.

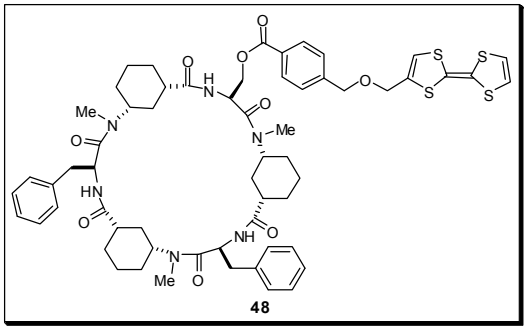


39

***ciclo*{[*L*-Phe-*D*-^{Me}N-γ-Ach]$_2$-*L*-Ser(1-Pirenoacetil)-*D*-^{Me}N-γ-Ach-} (39).**[28] Una disolución de ácido 1-pirenoacético (1.6 mg, 6.3 μmol) en $CDCl_3$ (250 μL) se agitó y sonicó a ta durante 10 min. A continuación se añadió sucesivamente DIC (1.5 μL, 9.4 μmol), *ciclo*{[*L*-Phe-*D*-^{Me}N-γ-Ach]$_2$-*L*-Ser-*D*-^{Me}N-γ-Ach-} [(**38**), 5.0 mg, 6.3 μmol] y DMAP (1.2 mg, 9.4 μmol), y la mezcla resultante se agitó a ta durante 1 h. Transcurrido ese tiempo, la disolución obtenida se lavó con HCl (5%) y $NaHCO_3$ (dis. sat.), se secó con Na_2SO_4, y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por HPLC, dando lugar a 5.2 mg de **39** en forma de sólido amarillo [80%, T_r = 27 min (Columna Semipreparativa Phenomenex Maxsil-10, 0-10% MeOH en CH_2Cl_2, 30 min)]. **^{1}H RMN** ($CDCl_3$, 500.13 MHz, δ): 8.63-8.51 (dobletes solapados, 2H, NH), 8.30-7.75 (m, 10H, 9 × Ar-H_{Pir} + NH), 7.24-7.07 (m, 10H, Ar-H_{Phe}), 5.45-5.14 (m, 3H, 2 × Hα_{Phe} + Hα_{Ser}), 4.62-3.93 (m, 7H, 3 × Hγ_{Ach} + $CH_{2\ Pir}$ + CH_2 β_{Ser}), 3.21-2.78 (m, 7H, 2 × CH_2 β_{Phe} + 3 × Hα_{Ach}), 2.65-2.38 (singletes solapados, 9H, $NCH_{3\ Ach}$), 1.92-0.68 (m, 24H, $CH_{2\ Ach}$). **EM (MALDI-TOF)** [m/z (%)]: 1079 ($[M+K]^+$, 31), 1063 ($[M+Na]^+$, 100), 1041 ($[MH]^+$, 9). **EMAR (MALDI-TOF) calculado** para $C_{63}H_{72}N_6NaO_8$ ($[M+Na]^+$) 1063.5304, **encontrado** 1063.5277.



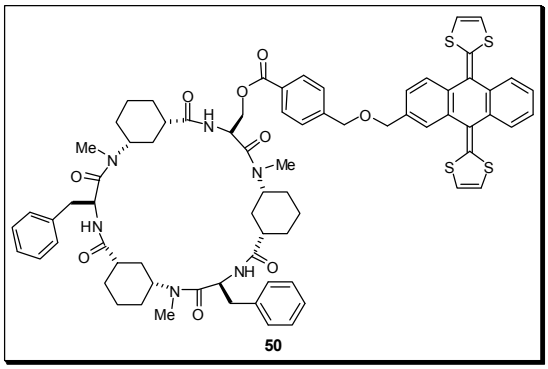
***ciclo*{[*L*-Phe-*D*-^{Me}N-γ-Ach]$_2$-*L*-Ser(Fulleropirrolidina)-*D*-^{Me}N-γ-Ach-} (44).** Una disolución de Fulleropirrolidina-CO_2H[31,34] [(**43**), 12.5 mg, 12.5 μmol] en $CDCl_3$ (800 μL) se agitó y sonicó a ta durante 15 min, y entonces se añadió sucesivamente DIC (2.9 μL, 18.8 μmol), *ciclo*{[*L*-Phe-*D*-^{Me}N-γ-Ach]$_2$-*L*-Ser-*D*-^{Me}N-γ-Ach-}[33] [(**38**),10.0 mg, 12.5 μmol] y DMAP (2.3 mg, 18.8 μmol). La mezcla resultante se agitó a ta durante 2 h. Transcurrido ese tiempo, la disolución obtenida se lavó con HCl [(5%), 2 × 1 mL], NH_4Cl [(dis. sat.), 2 × 1 mL] y $NaHCO_3$ [(dis. sat.), 2 × 1 mL], se secó con Na_2SO_4, se filtró y se concentró a vacío. El crudo se purificó mediante cromatografía en columna (0-5% MeOH en CH_2Cl_2) y HPLC, dando lugar a 10.6 mg de **44** en forma de sólido marrón [48%, R_f = 0.37 (5% MeOH en CH_2Cl_2), T_r = 27 min (Columna Semipreparativa Phenomenex Maxsil-10, 2-8% MeOH en CH_2Cl_2, 30 min)]. **^{1}H RMN** ($CDCl_3$, 500.13 MHz, δ): 8.83-8.56 (dobletes solapados, 2H, NH), 8.44-8.22 (dobletes solapados, 1H, NH), 8.16-7.75 (m, 4H, Ar-H), 7.25-7.08 (m, 10H, Ar-H_{Phe}), 5.73-5.46 (m, 1H, Hα_{Ser}), 5.42-5.16 (m, 5H, Hα_{Phe} + CH_2 β_{Ser}), 5.14-5.05 (m, 1H, N-CH), 4.79-4.38 (m, 5H, 3 × Hγ_{Ach} + N-CH_2), 3.23-2.90 (m, 11H, 2 × CH_2 β_{Phe} + $NCH_{3\ Ach}$ + 2 × Hα_{Ach} + N-$CH_{2\ Oct}$), 2.81-2.62 (m, 1H, Hα_{Ach}), 2.60-2.36 (m, 8H, 2 × $NCH_{3\ Ach}$ + $CH_{2\ Oct}$), 2.01-0.97 (m, 37H, $CH_{2\ Ach}$ + 5 × $CH_{2\ Oct}$ + $CH_{3\ Oct}$). **EM (MALDI-TOF)** [m/z (%)]: 1775 ($[M]^+$, 29), 1055 (100).



***ciclo*{[*L*-Phe-*D*-^{Me}N-γ-Ach]$_2$-*L*-Ser(TTF)-*D*-^{Me}N-γ-Ach-} (48).** Una disolución de TTF-CO_2H[31,35] [(**47**), 6.9 mg, 18.8 μmol] en $CDCl_3$ (1 mL) se agitó y sonicó a ta durante 10 min. A continuación se añadió sucesivamente DIC (4.4 μL, 28.2 μmol), *ciclo*{[*L*-Phe-*D*-^{Me}N-γ-Ach]$_2$-*L*-Ser-*D*-^{Me}N-γ-Ach-}[33] [(**38**), 15.0 mg, 18.8 μmol] y DMAP (3.5 mg, 28.2 μmol), y la mezcla resultante se agitó a ta durante 2 h. Transcurrido ese tiempo, la disolución obtenida se lavó con HCl (5%) y $NaHCO_3$ (dis. sat.), se secó con Na_2SO_4, y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por HPLC, dando lugar a 19.6 mg de **48** en forma de sólido amarillo [91%, T_r = 13 min (Columna Semipreparativa Phenomenex Maxsil-10, 5-15% MeOH en CH_2Cl_2, 30 min)]. **^{1}H RMN** ($CDCl_3$, 500.13 MHz, δ): 8.87-8.60 (dobletes solapados, 2H, NH), 8.45-8.29 (dobletes solapados, 1H, NH), 7.90 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H, Ar-H), 7.36 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, Ar-H), 7.25-7.11 (m, 10H, Ar-H_{Phe}), 6.32 (s, 2H, C-H_{TTF}), 6.21 (s, 1H, C-H_{TTF}), 5.72-5.54 (m, 1H, Hα_{Ser}), 5.47-5.22 (m, 2H, Hα_{Phe}), 4.71-4.34 (m, 7H, CH_2 β_{Ser} + OCH_2 + 3 × Hγ_{Ach}), 4.28 (s, 2H, OCH_2), 3.31-2.90 (m, 9H, 2 × CH_2 β_{Phe} + $NCH_{3\ Ach}$ + 2 × Hα_{Ach}), 2.86-2.68 (m, 1H, Hα_{Ach}), 2.60-2.46 (m, 6H, 2 × $NCH_{3\ Ach}$), 2.08-1.20 (m, 24H, $CH_{2\ Ach}$). **FT-IR** (293 K, $CHCl_3$): 3307 (amida A), 2955, 2929, 1668, 1626

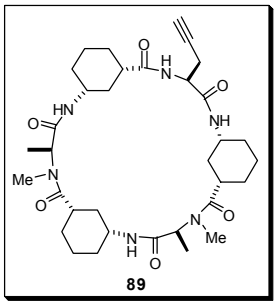
[34] Segura, M.; Sánchez, L.; de Mendoza, J.; Martín, N.; Guldi, D. M. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 15093-15100.
[35] Kanibolotsky, A.; Roquet, S.; Cariou, M.; Leriche, P.; Turrin, C.-O.; de Bettignies, R.; Caminade, A. -M.; Majoral, J.-P.; Khodorkovsky, V.; Gorgues, A. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 2109-2112.

(amida I), 1534 (amida II_{II}) cm^{-1}. **EM (MALDI-TOF)** [m/z (%)]: 1187 ($[M+K]^+$, 8), 1172 ($[M+Na]^+$, 55), 1148 ($[MH]^+$, 100). **EMAR (MALDI-TOF) calculado** para $C_{60}H_{73}N_6O_9S_4$ ($[MH]^+$) 1148.4238, **encontrado** 1148.4276.



50

***ciclo*{[*L*-Phe-*D*-^{Me}N-γ-Ach]$_2$-*L*-Ser(exTTF)-*D*-^{Me}N-γ-Ach-} (50).**[29] Una disolución de exTTF-CO_2H[31,36] [(**49**), 6.8 mg, 12.5 μmol] en $CDCl_3$ (500 μL) se agitó a ta durante 10 min. A continuación se añadió sucesivamente DIC (2.9 μL, 18.8 μmol), *ciclo*{[*L*-Phe-*D*-^{Me}N-γ-Ach]$_2$-*L*-Ser-*D*-^{Me}N-γ-Ach-} [(**38**), 10.0 mg, 12.5 μmol] y DMAP (2.3 mg, 18.8 μmol), y la mezcla resultante se agitó a ta durante 2 h. Transcurrido ese tiempo, la disolución obtenida se lavó con HCl (5%) y $NaHCO_3$ (dis. sat.), se secó con Na_2SO_4, y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por HPLC, dando lugar a 15.2 mg de **50** en forma de sólido naranja [92%, T_r = 26 min (Columna Semipreparativa Phenomenex Maxsil-10, 0-10% MeOH en CH_2Cl_2, 30 min)]. **^{1}H RMN** ($CDCl_3$, 500.13 MHz, δ): 8.80-8.61 (dobletes solapados, 2H, NH), 8.41-8.30 (dobletes solapados, 1H, NH), 7.94-7.85 (m, 2H, Ar-H), 7.74-7.64 (m, 4H, Ar-H_{exTTF}), 7.45-7.36 (m, 2H, Ar-H), 7.34-7.26 (m, 3H, Ar-H_{exTTF}), 7.24-7.09 (m, 10H, Ar-H_{Phe}), 6.32-6.22 (m, 4H, C-H_{exTTF}), 5.70-5.55 (m, 1H, $H\alpha_{Ser}$), 5.41-5.23 (m, 2H, $H\alpha_{Phe}$), 4.76-4.25 (m, 9H, CH_2 β_{Ser} + 2 × OCH_2 + 3 × $H\gamma_{Ach}$), 3.16-2.92 (m, 9H, 2 × CH_2 β_{Phe} + $NCH_{3\ Ach}$ + 2 × $H\alpha_{Ach}$), 2.86-2.67 (m, 1H, $H\alpha_{Ach}$), 2.58-2.44 (m, 6H, 2 × $NCH_{3\ Ach}$), 2.08-1.18 (m, 24H, $CH_{2\ Ach}$). **EM (MALDI-TOF)** [m/z (%)]: 1346 ($[M+Na]^+$, 2), 1324 ($[MH]^+$, 11). **EMAR (MALDI-TOF) calculado** para $C_{74}H_{80}N_6O_9S_4$ ($[MH]^+$) 1324.4864, **encontrado** 1324.4822.



89

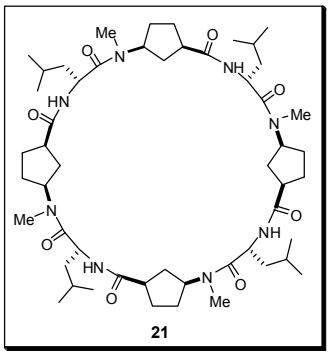
***ciclo*{[*D*-γ-Ach-*L*-^{Me}N-Ala-]$_2$-*D*-γ-Ach-*L*-Pra-} (89).** El compuesto señalado se sintetizó empleando el procedimiento descrito para **32** a partir de Boc-{[*D*-γ-Ach-*L*-^{Me}N-Ala-]$_2$-*D*-γ-Ach-*L*-Pra-}-OFm (75.0 mg, 80.1 μmol) para dar, después de su purificación por HPLC, 43 mg de **89** en forma de sólido blanco [84%, T_r = 16 min (Columna Semipreparativa Zorbax C18, 10-90% *Disolvente B en Disolvente A*, 30 min)]. **^{1}H RMN** ($CDCl_3$, 750.13 MHz, δ): 8.26 (d, *J* = 8.4 Hz, 0.3H, NH_{Ach}), 8.13 (d, *J* = 8.9 Hz, 0.4H, NH_{Ach}), 8.07 (d, *J* = 7.8 Hz, 0.3H, NH_{Ach}), 7.93 (d, *J* = 8.1 Hz, 0.4H, NH_{Ach}), 7.87 (d, *J* = 7.5 Hz, 0.3H, NH_{Ach}), 7.81 (d, *J* = 7.6 Hz, 0.3H, NH_{Ach}), 7.70 (d, *J* = 8.1 Hz, 0.3H, NH_{Ach}), 7.68-7.63 (dobletes solapados, 0.7H, NH_{Ach}), 6.84 (d, *J* = 6.5 Hz, 0.3H, NH_{Pra}), 6.72 (d, *J* = 5.8 Hz, 0.3H, NH_{Pra}), 6.66 (d, *J* = 5.3 Hz, 0.4H, NH_{Pra}), 5.51-5.43 (m, 0.7H, $H\alpha_{Ala}$), 5.26 (m, 0.9H, $H\alpha_{Ala}$), 5.26 (m, 0.4H, $H\alpha_{Ala}$), 5.01 (m, 0.3H, $H\alpha_{Pra}$), 4.90 (m, 0.4H, $H\alpha_{Pra}$), 4.74 (m, 0.3H, $H\alpha_{Pra}$), 4.10-3.69 (m, 3H, $H\gamma_{Ach}$), 3.23-3.08 (singletes solapados, 6H, $NCH_{3\ Ach}$), 2.87-2.66 (m, 3H, $H\alpha_{Ach}$), 2.65-2.52 (m, 2H, $CH_{2\ Pra}$), 2.41-1.19 (m, 30H, $CH_{2\ Ach}$ + $CH_{3\ Ala}$), 2.07 (s, 1H,

[36] Herranz, M. A.; Martín, N.; Campidelli, S.; Prato, M.; Brehm, G.; Guldi, D. M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 4478-4482.

C-H_{Pra}). **EM (MALDI-TOF)** [m/z (%)]: 679 ([M +K]$^+$, 87), 663 ([M +Na]$^+$, 100), 641 ([MH]$^+$, 4). **EMAR (MALDI-TOF) calculado** para $C_{34}H_{52}N_6O_6Na$ ([M +Na]$^+$) 663.3841, **encontrado** 663.3812.

26.12. CICLOOCTAPÉPTIDOS

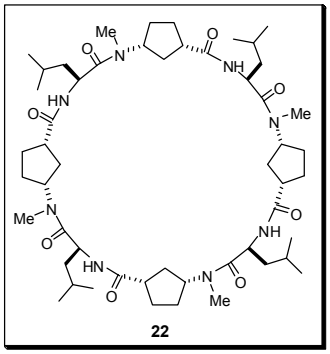
26.12.1. CICLOOCTAPÉPTIDOS DERIVADOS DEL ÁCIDO 3-AMINOCICLOPENTANOCARBOXÍLICO



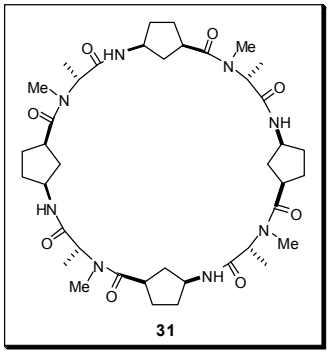
21

***ciclo*[(*D*-Leu-*L*-^{Me}N-γ-Acp)$_4$-] (21).**[37] Una disolución de Boc-[(*D*-Leu-*L*-^{Me}N-γ-Acp)$_4$-]-OFm (22.0 mg, 17.6 μmol) en 250 μL de piperidina/CH_2Cl_2 (1:4) se agitó a ta durante 20 min. A continuación se concentró a vacío y el residuo obtenido se disolvió en CH_2Cl_2 (5 mL). La disolución se lavó con HCl [(5%), 3 × 3 mL], se secó con Na_2SO_4, se filtró y se concentró a vacío. El crudo se disolvió en 200 μL de TFA/CH_2Cl_2 (1:1) y se agitó a ta durante 15 min. A continuación se concentró a sequedad en el rotavapor y el residuo resultante se secó a alto vacío durante 3 h, utilizándose directamente sin ninguna otra purificación adicional. El péptido lineal se disolvió en CH_2Cl_2 (17.6 mL) y se añadió TBTU (6.0 mg, 19.4 μmol), seguido (gota a gota) de DIEA (12 μL, 70.4 μmol) [1 eq. de TBTU (5.6 mg, 17.6 μmol) y 4 eq. de DIEA (12 μL, 70.4 μmol) fueron adicionalmente añadidos cuando se observó sustancia de partida por HPLC, y la mezcla resultante se agitó a ta durante 3 h para completar la reacción]. Después de 12 h, el disolvente se eliminó a presión reducida, y el crudo se purificó por HPLC, obteniéndose 4.3 mg de **21** en forma de sólido blanco [27%, T_r = 16 min (Columna Semipreparativa Phenomenex Maxsil-10, 5-15% MeOH en CH_2Cl_2, 30 min)]. **^{1}H RMN** ($CDCl_3$, 500.13 MHz, δ): 8.33 (d, J = 9.5 Hz, 4H, NH_{Leu}), 5.16 (m, 4H, $H\alpha_{Leu}$), 4.84 (m, 4H, $H\gamma_{Acp}$), 3.06 (m, 4H, $H\alpha_{Acp}$), 3.03 (s, 12H, $NCH_{3\ Acp}$), 2.09-1.14 (m, 36H, 3 × $CH_{2\ Acp}$ + $CH_{2\ Leu}$ + CH_{Leu}), 0.94 (dd, J_1 = 17.7 Hz, J_2 = 6.3 Hz, 24H, $CH_{3\ Leu}$). **^{13}C RMN** ($CDCl_3$, 125.77 MHz, δ): 174.9 (CO), 173.4 (CO), 54.6 (CH), 46.8 (CH), 43.3 (CH), 42.2 (CH_2), 32.8 (CH_2), 29.4 (NCH_3), 27.9 (CH_2), 26.9 (CH_2), 24.7 (CH), 23.4 (CH_3), 22.2 (CH_3). **FT-IR** (293 K, $CHCl_3$): 3309 (amida A), 3003, 2959, 1665, 1626 (amida I), 1536 (amida II_{II}) cm^{-1}. **EM (MALDI-TOF)** [m/z (%)]: 993 ([M +K]$^+$, 7), 975 ([M +Na]$^+$, 100), 953 ([MH]$^+$, 34). **EMAR (MALDI-TOF) calculado** para $C_{52}H_{88}N_8O_8Na$ ([M +Na]$^+$) 975.6617, **encontrado** 975.6573.

[37] Brea, R. J.; Pérez-Alvite, M. J.; Panciera, M.; Mosquera, M.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Chem. Asian J.* **2011**, *6* , 110-121.



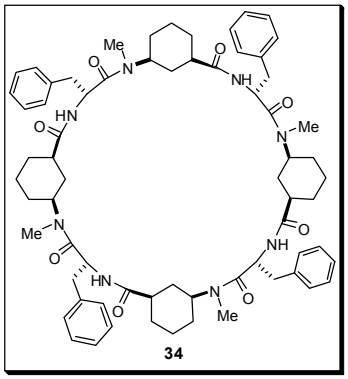
***ciclo*[(*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp)$_4$-] (22).**[38] Una disolución de Boc-[(*D*-Leu-*L*-^{Me}N-γ-Acp)$_2$-]-OFm (50.0 mg, 64.8 μmol) en 1.25 mL de piperidina/CH_2Cl_2 (1:4) se agitó a ta durante 20 min. A continuación se concentró a vacío y el residuo obtenido se disolvió en CH_2Cl_2 (10 mL). La disolución se lavó con HCl [(5%), 3 × 5 mL], se secó con Na_2SO_4, se filtró y se concentró a vacío. El crudo se disolvió en 1 mL de TFA/CH_2Cl_2 (1:1) y se agitó a ta durante 15 min. A continuación se concentró a sequedad en el rotavapor y el residuo resultante se secó a alto vacío durante 3 h, utilizándose directamente sin ninguna otra purificación adicional. El péptido lineal se disolvió en CH_2Cl_2 (13.0 mL) y se añadió TBTU (25.0 mg, 77.7 μmol), seguido (gota a gota) de DIEA (46 μL, 259.1 μmol) [1 eq. de TBTU (20.8 mg, 64.8 μmol) y 4 eq. de DIEA (46 μL, 259.1 μmol) fueron adicionalmente añadidos cuando se observó sustancia de partida por HPLC, y la mezcla resultante se agitó a ta durante 3 h para completar la reacción]. Después de 12 h, el disolvente se eliminó a presión reducida, y el crudo se purificó por HPLC, obteniéndose 12.4 mg de **22** en forma de sólido blanco [40%, T_r = 16 min (Columna Semipreparativa Phenomenex Maxsil-10, 5-15% MeOH en CH_2Cl_2, 30 min)]. **FT-IR** (293 K, $CHCl_3$): 3307 (amida A), 3004, 2960, 1664, 1627 (amida I), 1540 (amida II_{II}) cm^{-1}. **EM (FAB$^+$)** [m/z (%)]: 953 ([MH]$^+$, 25), 477 (8). **EMAR (FAB$^+$) calculado** para $C_{52}H_{89}N_8O_8$ ([MH]$^+$) 953.680338, **encontrado** 953.680045.



***ciclo*[(*L*-γ-Acp-*D*-^{Me}N-Ala)$_4$-] (31).** El compuesto señalado se sintetizó empleando el procedimiento descrito para **21** a partir de Boc-[(*L*-γ-Acp-*D*-^{Me}N-Ala)$_4$-]-OFm (70 mg, 65 μmol) para dar, después de su purificación por HPLC, 43 mg de dicho compuesto en forma de sólido blanco [85%, T_r = 19 min (Columna Semipreparativa Phenomenex Maxsil-10, 5-15% MeOH en CH_2Cl_2, 30 min)]. **^{1}H RMN** ($CDCl_3$, 500.13 MHz, δ): 8.40-7.55 (dobletes solapados, NH_{Acp}), 5.19-4.84 (multipletes solapados, $H\alpha_{Ala}$), 4.52-4.12 (multipletes solapados, $H\gamma_{Acp}$), 3.43-3.08 (multipletes solapados, $H\alpha_{Acp}$), 3.06-2.51 (singletes solapados, $NCH_{3\ Ala}$), 2.34-1.44 (multipletes solapados, $CH_{2\ Acp}$), 1.42-1.16 (dobletes solapados $CH_{3\ Ala}$). **EM (ESI)** [m/z (%)]: 807 ([M +Na]$^+$, 9), 785 ([MH]$^+$, 100). **EMAR (ESI) calculado** para $C_{40}H_{65}N_8O_8$ ([MH]$^+$) 785.4925, **encontrado** 785.4947.

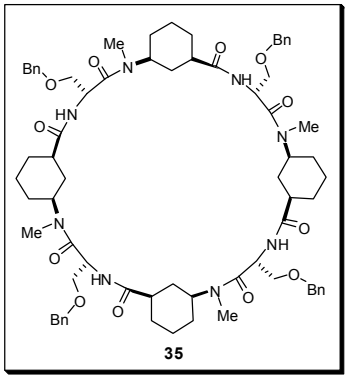
[38] Brea, R. J.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Chem. Commun.* **2007**, *31*, 3267-3269.

26.12.2. CICLOOCTAPÉPTIDOS DERIVADOS DEL ÁCIDO 3-AMINOCICLOHEXANOCARBOXÍLICO



34

***ciclo*[(*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach)$_4$-] (34).**[39] Una disolución de Boc-[(*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach)$_4$-]-OFm (201 mg, 140 μmol) en 1.5 mL de piperidina/CH_2Cl_2 (1:4) se agitó a ta durante 20 min. A continuación se concentró a vacío y el residuo obtenido se disolvió en CH_2Cl_2 (5 mL). La disolución se lavó con HCl [(5%), 3 × 3 mL], se secó con Na_2SO_4, se filtró y se concentró a vacío. El crudo se disolvió en 1.5 mL de TFA/CH_2Cl_2 (1:1) y se agitó a ta durante 15 min. A continuación se concentró a sequedad en el rotavapor y el residuo resultante se secó a alto vacío durante 3 h, utilizándose directamente sin ninguna otra purificación adicional. El péptido lineal se disolvió en CH_2Cl_2 (140 mL) y se añadió TBTU (54 mg, 168 μmol), seguido (gota a gota) de DIEA (98 μL, 560 μmol) [1 eq. de TBTU (45 mg, 140 μmol) y 4 eq. de DIEA (98 μL, 560 μmol) fueron adicionalmente añadidos cuando se observó sustancia de partida por HPLC, y la mezcla resultante se agitó a ta durante 3 h para completar la reacción]. Después de 12 h, el disolvente se eliminó a presión reducida, y el crudo se purificó por HPLC, obteniéndose 112 mg de **34** en forma de sólido blanco [70%]. **^{1}H RMN** ($CDCl_3$, 300.13 MHz, δ): 8.57 (d, *J* = 8.6 Hz, 4H, NH_{Phe}), 7.17 (m, 20H, Ar-H_{Phe}), 5.30 (dd, *J* = 5.7 Hz, 4H, Hα_{Phe}), 4.45 (s ancho, 4H, Hγ_{Ach}), 3.00-2.71 (m, 12H, CH_2 β_{Phe} + Hα_{Ach}), 2.64 (s, 3H, $NCH_{3\ Ach}$), 1.82-1.04 (m, 8H, $CH_{2\ Ach}$). **^{13}C RMN** ($CDCl_3$, 75.40 MHz, δ): 175.1 (CO), 171.3 (CO), 136.5 (C), 129.6 (CH), 128.2 (CH), 126.8 (CH), 51.4 (CH), 49.9 (CH), 43.3 (CH), 40.4 (CH_2), 30.8 (CH_2), 30.1 (CH_2), 29.5 (NCH_3), 28.5 (CH_2), 24.7 (CH_2). **FT-IR** (293 K, $CHCl_3$): 3312 (amida A), 2935, 2864, 1660, 1623 (amida I), 1525 (amida II_{II}) cm^{-1}. **EM (FAB$^+$)** [m/z (%)]: 1145 ($[MH]^+$, 100). **EMAR (FAB$^+$) calculado** para $C_{68}H_{89}N_8O_8$ ($[MH]^+$) 1145.68034, **encontrado** 1145.68176.

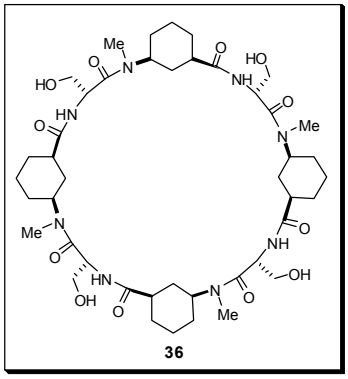


35

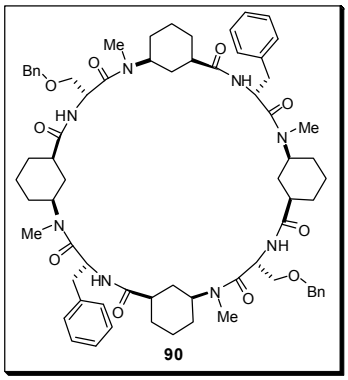
***ciclo*{[*D*-Ser(Bn)-*L*-^{Me}N-γ-Ach]$_4$-} (35).**[37] El compuesto señalado se sintetizó empleando el procedimiento descrito para **34** a partir de Boc-{[*D*-Ser(Bn)-*L*-^{Me}N-γ-Ach]$_4$-}-OFm (99 mg, 78 μmol) para dar, después de su purificación por HPLC, 50 mg de dicho compuesto en forma de sólido blanco [50%]. **^{1}H RMN** ($CDCl_3$, 250.13 MHz, δ): 8.41 (d, *J* = 8.4 Hz, 4H, NH_{Ser}), 7.32-7.10 (m, 20H, Ar-H_{Bn}), 5.39 (dd, *J* = 21.8 Hz, 4H, Hα_{Ser}), 4.54 (m, 4H, Hγ_{Ach}), 4.37 (dobletes solapados, *J* = 8.0 Hz, 8H, $CH_{2\ Bn}$), 3.61-3.42 (m, 8H, CH_2 β_{Ser}), 3.04 (s, 12H, $NCH_{3\ Ach}$), 2.84 (m, 4H, Hα_{Ach}) 1.92-1.21 (m, 32H, CH_{2Ach}). **^{13}C RMN** ($CDCl_3$, 62.90 MHz, δ): 175.4 (CO), 170.6 (CO), 137.9 (C), 128.2 (CH), 127.5 (CH), 127.1 (CH), 73.1 (CH_2), 71.4 (CH_2), 51.7 (CH), 47.9 (CH), 43.2 (CH), 31.1 (CH_2), 29.9 (NCH_3), 29.8 (CH_2), 28.7 (CH_2), 24.6 (CH_2). **FT-IR** (293 K, $CHCl_3$): 3309 (amida A), 2936, 2863, 1660, 1628 (amida I), 1524 (amida II_{II}) cm^{-1}.

[39] Amorín, M.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Chem. Eur. J.* **2005**, *11*, 6543-6551.

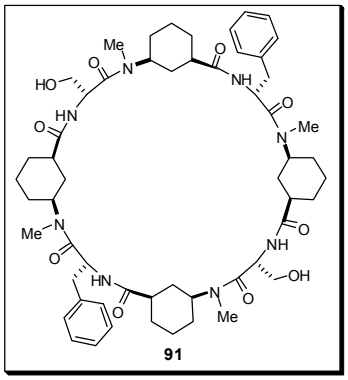
EM (FAB$^+$) [m/z (%)]: 1265 ([MH]$^+$, 100). **EMAR (FAB$^+$) calculado** para $C_{72}H_{96}N_8O_{12}$ ([MH]$^+$) 1265.72260, **encontrado** 1265.72583.



***ciclo*[(*D*-Ser-*L*-^{Me}N-γ-Ach)$_4$-] (36).**[37] Sobre una disolución de *ciclo*{[*D*-Ser(Bn)-*L*-^{Me}N-γ-Ach]$_4$-} [(**35**), 50 mg, 40 μmol] en EtOH (1.5 mL) se añadió 10% Pd/C (12 mg, 11 μmol), y la suspensión se agitó a ta bajo atmósfera de H_2 durante 8 h. Una vez eliminado el H_2, la mezcla resultante se filtró a través de Celita lavando con EtOH (2 × 1 mL). El filtrado obtenido se concentró a presión reducida, dando lugar a 36 mg de **36** en forma de sólido blanco [99%]. **^{1}H RMN** (d_6-DMSO, 250.13 MHz, δ): 8.14-7.87 (m, 4H, NH_{Ser}), 4.71 (m, 4H, $H\alpha_{Ser}$), 4.27 (m, 4H, $H\gamma_{Ach}$), 3.40 (m, 8H, CH_2 β_{Ser}), 2.88 (m, 4H, $H\alpha_{Ach}$), 2.86 (s, 12H, $NCH_{3\ Ach}$), 1.72-1.22 (m, 32H, $CH_{2\ Ach}$). **^{13}C RMN** ($CDCl_3$, 62.90 MHz, δ): 174.0 (CO), 169.8 (CO), 61.8 (CH_2), 51.2 (CH), 42.7 (CH), 39.7 (CH), 31.3 (CH_2), 29.1 (NCH_3), 29.0 (CH_2), 28.5 (CH_2), 24.3 (CH_2). **FT-IR** (293 K, CaF_2): 3310 (amida A), 2933, 2864, 1661, 1621 (amida I), 1541 (amida II_{II}) cm^{-1}. **EM (FAB$^+$)** [m/z (%)]: 905 ([MH]$^+$, 100). **EMAR (FAB$^+$) calculado** para $C_{44}H_{73}N_8O_{12}$ ([MH]$^+$) 905.53480, **encontrado** 905.53476.



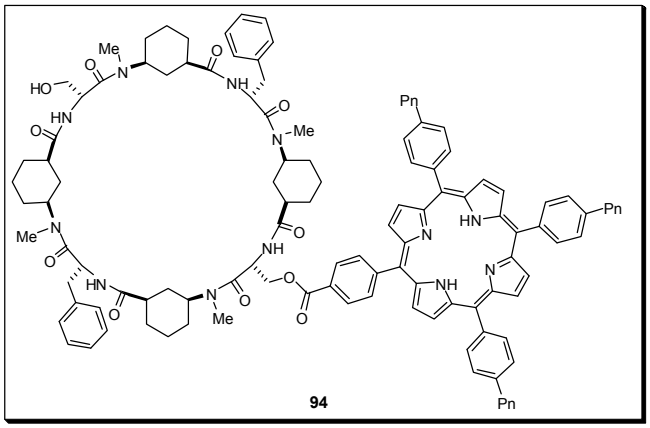
***ciclo*{[*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach-*D*-Ser(Bn)-*L*-^{Me}N-γ-Ach-]$_2$-} (90).**[39] El compuesto señalado se sintetizó empleando el procedimiento descrito para **34** a partir de Boc-{[*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach-*D*-Ser(Bn)-*L*-^{Me}N-γ-Ach-]$_2$-}-OFm (100 mg, 67 μmol) para dar, después de su purificación por HPLC, 73 mg de dicho compuesto en forma de sólido blanco [92%, T_r = 16 min (Columna Semipreparativa Phenomenex Maxsil-10, 5-15% MeOH en CH_2Cl_2, 30 min)]. **^{1}H RMN** ($CDCl_3$, 750.00 MHz, δ): 8.59 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H, NH_{Ser} **D_{90} [A]**), 8.52 (dobletes solapados, *J* = 9.4 Hz, 2.14H, NH_{Phe} **D_{90} [E]** + NH_{Phe} **D_{90} [A]**), 8.29 (d, *J* = 8.4 Hz, 0.14H, NH_{Ser} **D_{90} [E]**), 7.23-7.06 (m, 21.4H, Ar-H_{Phe} + Ar-H_{Bn}), 5.35-5.29 (m, 2.14H, $H\alpha_{Ser}$), 5.22-5.14 (m, 2.14H, $H\alpha_{Phe}$), 4.52-4.37 (m, 4.28H, $H\gamma_{Ach}$), 4.32 (d, *J* = 3.3 Hz, 4.28H, CH_{2Bn}), 3.61-3.54 (m, 2.14H, $CH_2\beta_{Ser}$), 3.50-3.45 (m, 2.14H, $CH_2\beta_{Ser}$), 3.19-2.93 (m, 6.42H, $H\alpha_{Ach}$ + $CH_2\beta_{Phe}$), 2.91 (s, 6.42H, $NC\underline{H}_3$), 2.85-2.77 (m, 2.14H, $CH_2\beta_{Phe}$), 2.74 (s, 6.42H, $NC\underline{H}_3$), 2.45-2.35 (m, 4.28H, CH_{2Ach}), 1.92-0.91 (29.96H, CH_{2Ach}). **^{13}C RMN** ($CDCl_3$, 75.40 MHz, δ): 175.9 (CO), 174.5 (CO), 171.5 (CO), 169.9 (CO), 137.6 (C), 137.2 (C), 127.8 (CH), 127.2 (CH), 126.5 (CH), 125.4 (CH), 73.2 (CH_2), 71.6 (CH_2), 51.9 (CH), 51.0 (CH), 49.8 (CH), 48.5 (CH), 44.2 (CH), 42.4 (CH), 38.9 (CH_2), 31.8 (CH_2), 31.0 (CH_2), 30.3 (CH_3), 29.9 (CH_3), 29.6 (CH_3), 28.7 (CH_2), 28.4 (CH_2), 24.6 (CH_2). **FT-IR** (293 K, $CHCl_3$): 3311 (amida A), 2934, 2861, 1660, 1625 (amida I), 1523 (amida II_{II}) cm^{-1}. **EM (ESI)** [m/z (%)]: 1227 ([M +Na]$^+$, 46) 1205 ([MH]$^+$, 100). **EMAR (ESI) calculado** para $C_{70}H_{93}N_8O_{10}$ ([MH]$^+$) 1205.7015, **encontrado** 1205.7009.



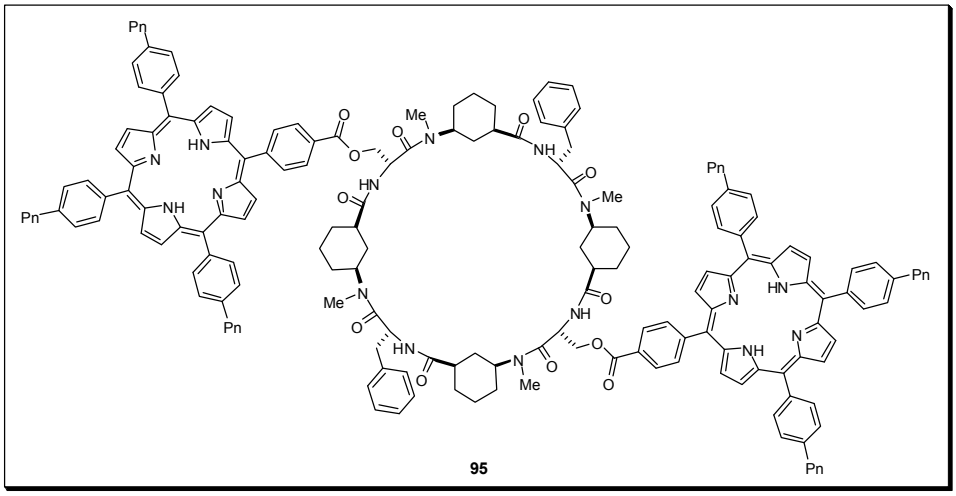
***ciclo*{[*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach-*D*-Ser-*L*-^{Me}N-γ-Ach-]$_2$-} (91).**[39] El compuesto señalado se sintetizó empleando el procedimiento descrito para **36** a partir de *ciclo*{[*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach-*D*-Ser(Bn)-*L*-^{Me}N-γ-Ach-]$_2$-} [(**90**), 50 mg, 41 μmol] para dar 40 mg de dicho compuesto en forma de sólido blanco [94%]. **^{1}H RMN** ($CDCl_3$, 750.00 MHz, δ): 8.96 (s, 2H, NH_{Ser} **D_{91} [A]**), 8.65 (s ancho, 0.32H, NH_{Phe} **D_{91} [E]**), 8.49 (d, *J* = 9.8 Hz, 2H, NH_{Phe} **D_{91} [A]**), 8.14 (br s, 0.32H, NH_{Ser} **D_{91} [E]**), 7.24-7.08 (m, 11.6H, Ar-H_{Phe}), 5.31-5.24 (m, 2.32H, Hα_{Ser}), 5.22-5.16 (m, 2.32H, Hα_{Phe}), 4.52-4.45 (m, 4.64H, Hγ_{Ach}), 3.89-3.81 (m, 2.32H, $CH_2\beta_{Ser}$), 3.76-3.69 (m, 2.32H, $CH_2\beta_{Ser}$), 3.32-3.25 (m, 4.64H, Hα_{Ach}), 3.09-3.01 (m, 9.28H, $NC\underline{H}_3$ + $CH_2\beta_{Phe}$), 2.97-2.90 (m, 2.32H, $CH_2\beta_{Phe}$), 2.80 (s, 6.96H, $NC\underline{H}_3$), 2.45-2.39 (m, 4.64H, CH_{2Ach}), 1.92-1.03 (m, 34.8H, CH_{2Ach} + OH_{Ser}). **^{13}C RMN** ($CDCl_3$, 75.40 MHz, δ): 177.9 (CO), 174.2 (CO), 171.8 y 171.6 (CO), 168.6 y 168.6 (CO), 136.8 y 136.8 (C), 129.8 (CH), 128.2 (CH), 126.7 (CH), 67.0 (CH_2), 53.3 (CH), 52.2 (CH), 51.2 (CH), 50.0 (CH), 44.4 (CH), 42.5 (CH), 39.3 (CH_2), 32.2 y 32.1 (CH_2), 30.8 (CH_2), 29.9 y 29.8 (CH_3), 29.1, 28.7 y 28.6 (CH_2), 24.7 (CH_2). **FT-IR** (293 K, $CHCl_3$): 3317 (amida A), 2935, 2863, 1660, 1620 (amida I), 1524 (amida II_{II}) cm^{-1}. **EM (FAB$^+$)** [m/z (%)]: 1025 ($[MH]^+$, 100). **EMAR (FAB$^+$) calculado** para $C_{56}H_{81}N_8O_{10}$ ($[MH]^+$) 1025.60757, **encontrado** 1025.60908.

ciclo*[*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach-*D*-Ser(Por)-*L*-^{Me}N-γ-Ach-*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach-*D*-Ser-*L*-^{Me}N-γ-Ach-] (94)** y ***ciclo*{[*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach-*D*-Ser(Por)-*L*-^{Me}N-γ-Ach-]$_2$-} (95).** ***Procedimiento general para la doble preparación de derivados ciclopeptídicos mono- y bisporfirina libre.[40] Una disolución de 5-(4-carboxifenil)-10,15,20-tris(4-pentilfenil)porfirina[41,42] [(**93**) ,33.9 mg, 39.1 μmol] en $CDCl_3$ (2 mL) se agitó y sonicó a ta durante 10 min, y entonces se añadió sucesivamente DIC (9.2 μL, 58.6 μmol), *ciclo*{[*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach-*D*-Ser-*L*-^{Me}N-γ-Ach-]$_2$-} [(**91**), 20.0 mg, 19.5 μmol] y DMAP (7.2 mg, 58.6 μmol). La suspension resultante se agitó a ta durante 2 h. Transcurrido ese tiempo, la disolución obtenida se lavó con HCl (5%) y $NaHCO_3$ (dis. sat.), se secó con Na_2SO_4 y se concentró a vacío. El crudo resultante se purificó mediante cromatografía preparativa de capa fina (5% MeOH en CH_2Cl_2) y cromatografía por exclusión de tamaño ($CHCl_3$), dando lugar a 8.3 mg de **94** [23%, T_r = 8.248 min (Columna Analítica Waters Styragel® HR1 Toluene, 100% Tolueno), R_f = 0.46 (5% MeOH en CH_2Cl_2), sólido granate] y 16.2 mg de **95** [30%, T_r = 6.228 min (Columna Analítica Waters Styragel® HR1 Toluene, 100% Tolueno), R_f = 0.51 (5% MeOH en CH_2Cl_2), sólido granate]. Relación **94** : **95** ~ 2 : 3.

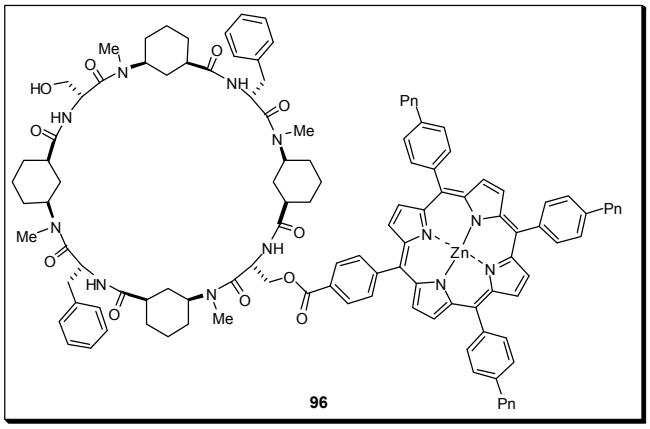
[40] Hernández-Eguía, L. P.; Brea, R. J.; Castedo, L.; Ballester, P.; Granja, J. R. *Chem. Eur. J.* **2011**, *17*, 1220-1229.
[41] Sustrato cedido amablemente por el grupo del Prof. Pau Ballester [Instituto Catalán de Investigación Química].
[42] a) Forneli, A.; Planells, M.; Sarmentero, M. A.; Martínez-Ferrero, E.; O'Regan, B. C.; Ballester, P.; Palomares, E. *J. Mater. Chem.* **2008**, *18*, 1652-1658. b) Planells, M.; Forneli, A.; Martínez-Ferrero, E.; Sánchez-Diaz, A.; Sarmentero, M. A.; Ballester, P.; Palomares, E.; O'Regan, B. C. *Applied Physics Letters* **2008**, *92*, 153506/1-153506/3.



***ciclo*[*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach-*D*-Ser(Por)-*L*-^{Me}N-γ-Ach-*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach-*D*-Ser-*L*-^{Me}N-γ-Ach-] (94).**[40] **^{1}H RMN** ($CDCl_3$, 500.13 MHz, δ): 8.80-8.10 (m, 8.56H, NH_{Ser} + NH_{Phe}), 8.80 (s ancho, 12.84H, Ar-H_{Por}), 8.63 (d, *J* = 4.3 Hz, 4.28H, Ar-H_{Por}), 8.24 (d, *J* = 7.0 Hz, 4.28H, Ar-H_{Por}), 8.15 (d, *J* = 6.8 Hz, 4.28H, Ar-H_{Por}), 8.04 (d, *J* = 7.9 Hz, 12.84H, Ar-H_{Por}), 7.49 (d, *J* = 6.9 Hz, 12.84H, Ar-H_{Por}), 7.15-7.03 (m, 21.4H, Ar-H_{Phe}), 5.78-5.08 (m, 8.56H, Hα_{Ser} + Hα_{Phe}), 4.77-4.28 (m, 8.56H, Hγ_{Ach}), 3.86-3.49 (m, 8.56H, $CH_2\beta_{Ser}$), 3.35-2.34 (m, 64.2H, Hα_{Ach} + NC$\underline{H}_3$ + $CH_2\beta_{Phe}$ + CH_{2Por} + CH_{2Ach}), 2.05-0.71 (m, 119.84H, CH_{2Ach} + CH_{2Por} + CH_{3Por} + OH_{Ser}), -2.84 (s ancho, 4.28H, NH_{Por}). **EM (MALDI-TOF)** [m/z (%)]: 1898 ([M +Na]$^+$, 10), 1876 ([MH]$^+$, 100). **EMAR (MALDI-TOF) calculado** para $C_{116}H_{139}N_{12}O_{11}$ ([MH]$^+$) 1876.07, **encontrado** 1876.28.

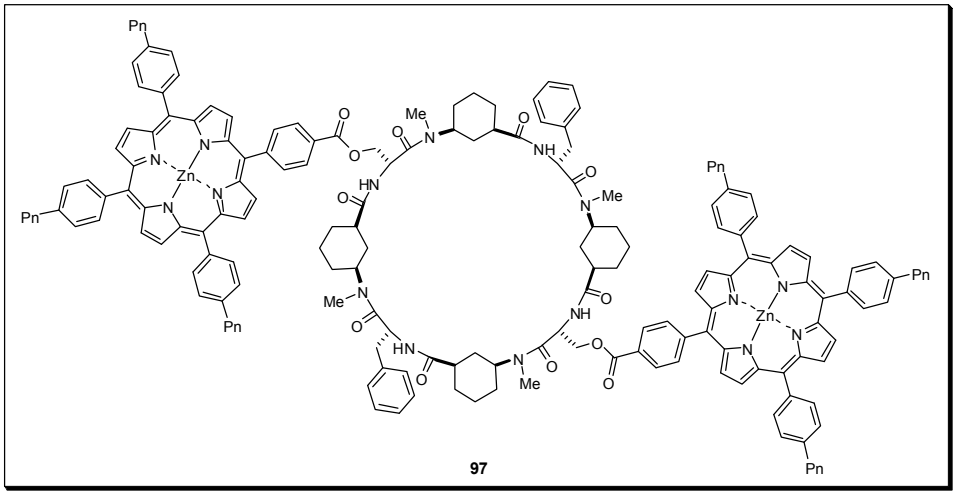


***ciclo*{[*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach-*D*-Ser(Por)-*L*-^{Me}N-γ-Ach-]$_2$-} (95).**[40] **^{1}H RMN** ($CDCl_3$, 500.13 MHz, δ): 8.80-8.10 (m, 4.28H, NH_{Ser} + NH_{Phe}), 8.80 (s ancho, 12.84H, Ar-H_{Por}), 8.63 (d, *J* = 9.8 Hz, 4.28H, Ar-H_{Por}), 8.24 (d, *J* = 7.9 Hz, 4.28H, Ar-H_{Por}), 8.14 (d, *J* = 7.4 Hz, 4.28H, Ar-H_{Por}), 8.04 (d, *J* = 7.6 Hz, 12.84H, Ar-H_{Por}), 7.49 (d, *J* = 7.2 Hz, 12.84H, Ar-H_{Por}), 7.14-7.03 (m, 10.7H, Ar-H_{Phe}), 5.83-5.08 (m, 4.28H, Hα_{Ser} + Hα_{Phe}), 4.71-4.26 (m, 4.28H, Hγ_{Ach}), 3.61-3.52 (m, 4.28H, $CH_2\beta_{Ser}$), 3.31-2.33 (m, 38.52H, Hα_{Ach} + NC$\underline{H}_3$ + $CH_2\beta_{Phe}$ + CH_{2Por} + CH_{2Ach}), 2.01-0.71 (m, 87.74H, CH_{2Ach} + CH_{2Por} + CH_{3Por}), -2.84 (s ancho, 4.28H, NH_{Por}). **EM (MALDI-TOF)** [m/z (%)]: 2726 ([MH]$^+$, 100). **EMAR (MALDI-TOF) calculado** para $C_{176}H_{197}N_{16}O_{12}$ ([MH]$^+$) 2726.53, **encontrado** 2726.57.



96

***ciclo*[*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach-*D*-Ser(Por-Zn)-*L*-^{Me}N-γ-Ach-*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach-*D*-Ser-*L*-^{Me}N-γ-Ach-] (96).**[40] El derivado ciclopeptídico monoporfirina libre [(**94**), 10.0 mg, 5.3 μmol] se disolvió en 8 mL de CH_2Cl_2/CH_3OH (3:1). A continuación se añadió $Zn(OAc)_2$ (9.8 mg, 53.3 μmol) y la mezcla de reacción se agitó a ta y protegida de la luz durante toda la noche. Transcurrido ese tiempo, la disolución obtenida se concentró a sequedad en el rotavapor y el residuo resultante se purificó mediante cromatografía en columna de óxido de alúmina neutro (CH_2Cl_2; 10% THF en CH_2Cl_2 como eluyente), dando lugar a 5.9 mg de **96** en forma de sólido violeta [57%, T_r = 9.264 min (Columna Analítica Waters Styragel® HR1 Toluene, 100% Tolueno), R_f = 0.04 (50% CH_2Cl_2 en hexanos)]. **^{1}H RMN** ($CDCl_3$, 500.13 MHz, δ): 8.85-8.10 (m, 8.56H, NH_{Ser} + NH_{Phe}), 8.82 (s ancho, 12.84H, Ar-H_{Por}), 8.73-8.10 (m, 12.84H, Ar-H_{Por}), 8.02 (d, *J* = 6.6 Hz, 12.84H, Ar-H_{Por}), 7.46 (m, 12.84H, Ar-H_{Por}), 7.15-7.03 (m, 21.4H, Ar-H_{Phe}), 5.87-5.12 (m, 8.56H, Hα_{Ser} + Hα_{Phe}), 4.56-4.27 (m, 8.56H, Hγ_{Ach}), 3.61-3.53 (m, 8.56H, $CH_2\beta_{Ser}$), 3.17-2.36 (m, 64.2H, Hα_{Ach} + $NC\underline{H}_3$ + $CH_2\beta_{Phe}$ + CH_{2Por} + CH_{2Ach}), 2.04-0.72 (m, 119.84H, CH_{2Ach} + CH_{2Por} + CH_{3Por} + OH_{Ser}). **EM (MALDI-TOF)** [m/z (%)]: 1959 ($[M+Na]^+$, 12), 1937 ($[MH]^+$, 100). **EMAR (MALDI-TOF) calculado** para $C_{116}H_{137}N_{12}O_{11}Zn$ ($[MH]^+$) 1937.98, **encontrado** 1937.69.

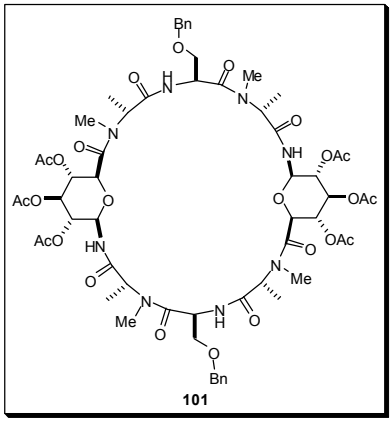


97

***ciclo*{[*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach-*D*-Ser(Por-Zn)-*L*-^{Me}N-γ-Ach-]$_2$-} (97).**[40] El derivado ciclopeptídico bisporfirina libre [(**95**), 4.0 mg, 1.5 μmol] se disolvió en 4 mL de CH_2Cl_2/CH_3OH (3:1). A continuación se añadió $Zn(OAc)_2$ (5.4 mg, 30.0 μmol) y la mezcla de reacción se agitó a ta y protegida de la luz durante toda la noche. Transcurrido ese tiempo, la disolución obtenida se concentró a sequedad en el rotavapor y el residuo resultante se purificó mediante cromatografía en columna de óxido de alúmina neutro (CH_2Cl_2; 10% THF en CH_2Cl_2 como

eluyente), dando lugar a 4.0 mg de **97** en forma de sólido violeta [96%, T_r = 6.948 min (Columna Analítica Waters Styragel® HR1 Toluene, 100% Tolueno), R_f = 0.06 (50% CH_2Cl_2 en hexanos)]. **^{1}H RMN** ($CDCl_3$, 500.13 MHz, δ): 8.90-8.10 (m, 4.28H, NH_{Ser} + NH_{Phe}), 8.88 (s ancho, 12.84H, Ar-H_{Por}), 8.71 (d, *J* = 9.8 Hz, 4.28H, Ar-H_{Por}), 8.23 (d, *J* = 7.9 Hz, 4.28H, Ar-H_{Por}), 8.16 (d, *J* = 7.4 Hz, 4.28H, Ar-H_{Por}), 8.04 (d, *J* = 6.7 Hz, 12.84H, Ar-H_{Por}), 7.48 (d, *J* = 7.6 Hz, 12.84H, Ar-H_{Por}), 7.16-7.05 (m, 10.7H, Ar-H_{Phe}), 5.81-5.13 (m, 4.28H, Hα_{Ser} + Hα_{Phe}), 4.70-4.25 (m, 4.28H, Hγ_{Ach}), 3.83-3.71 (m, 4.28H, $CH_2\beta_{Ser}$), 3.33-2.34 (m, 38.52H, Hα_{Ach} + $NC\underline{H}_3$ + $CH_2\beta_{Phe}$ + CH_{2Por} + CH_{2Ach}), 2.05-0.72 (m, 87.74H, CH_{2Ach} + CH_{2Por} + CH_{3Por}). **EM (MALDI-TOF)** [m/z (%)]: 2872 ([M +Na]$^+$, 81), 2850 ([MH]$^+$, 100). **EMAR (MALDI-TOF) calculado** para $C_{176}H_{193}N_{16}O_{12}Zn_2$ ([MH]$^+$) 2850.36, **found** 2850.56.

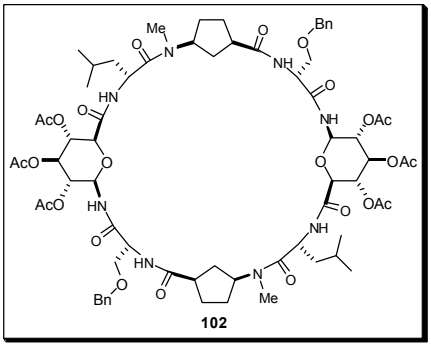
26.12.3. CICLOOCTAPÉPTIDOS DERIVADOS DEL ÁCIDO 2,3,4-TRI-*O*-ACETIL-1-AZIDO-1-DESOXI-β-*D*-GLUCOPIRANURÓNICO



101

***ciclo*{[*L*-Ser(Bn)-*D*-^{Me}N-Ala-*D*-γ-Agl-*D*-^{Me}N-Ala]$_2$-} (101).** Sobre una disolución de Boc-{[*L*-Ser(Bn)-*D*-^{Me}N-Ala-*D*-γ-Agl-*D*-^{Me}N-Ala]$_2$-}-OPac (50.0 mg, 32.6 μmol en 600 μL de AcOH/DMF (1:1) se añadió Zn (43.0 mg, 653 μmol). La suspensión resultante se agitó a ta bajo Ar durante 8 h. Transcurrido ese tiempo, la mezcla obtenida se filtró a través de Celita lavando con MeOH (3 × 1 mL), y el filtrado obtenido se concentró a vacío. A continuación se añadió Et_2O (3 mL) y se concentró a vacío, obteniéndose un precipitado blanco. El residuo resultante se disolvió en HCl [(5%), 3 mL] y se extrajo con CH_2Cl_2 (3 × 5 mL). Las fases orgánicas combinadas se secaron con Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a sequedad, dando Boc-{[*L*-Ser(Bn)-*D*-^{Me}N-Ala-*D*-γ-Agl-*D*-^{Me}N-Ala]$_2$-}-OH que se usó directamente sin ningún tipo alguno de purificación adicional. El crudo resultante se disolvió en 400 μL de TFA/CH_2Cl_2 (1:1) y se agitó a ta durante 15 min. A continuación se concentró a sequedad en el rotavapor y el residuo resultante se secó a alto vacío durante 3 h, empleándose directamente sin ninguna otra purificación adicional. El péptido lineal se disolvió en CH_2Cl_2 (32.6 mL) y se añadió TBTU (12 mg, 35.9 μmol), seguido (gota a gota) de DIEA (23 μL, 130.4 μmol) [1 eq. de TBTU (10 mg, 32.6 μmol) y 4 eq. de DIEA (23 μL, 130.4 μmol) fueron adicionalmente añadidos cuando se observó sustancia de partida por HPLC, y la mezcla resultante se agitó a ta durante 3 h para completar la reacción]. Después de 12 h, el disolvente se eliminó a presión reducida, y el crudo se purificó por HPLC, obteniéndose 18.3 mg de **101** en forma de sólido blanco [44%, T_r = 29 min (Columna Semipreparativa Zorbax C18, 40-70% *Disolvente B* en *Disolvente A*, 30 min)]. **^{1}H RMN** (2% H_2O/2% TFA/96% $CDCl_3$, 500.13 MHz, δ): 7.66 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H, NH_{Agl}), 7.43 (d, *J* = 7.7 Hz, 2H, NH_{Ser}), 7.31-7.12 (m, 10H, Ar-H_{Bn}), 5.33 (t, *J* = 9.8 Hz, 2H, H_{Agl}), 5.29-5.19 (m, 4H, H_{Agl}), 5.17-5.03 (m, 6H, 2 × Hα_{Ala} + 2 × Hα_{Ser} + 2 × H_{Agl}), 4.85 (m, 2H, Hα_{Ala}), 4.50-4.38 (m, 4H, $CH_{2\ Bn}$), 4.35 (d, *J* = 9.6 Hz, 2H, H_{Agl}), 3.62-3.48 (m, 4H, $CH_2\ \beta_{Ser}$), 3.00 (s, 6H, $NCH_{3\ Ala}$), 2.86 (s, 6H, $NCH_{3\ Ala}$), 1.96 (s, 6H, $CH_{3\ OAc}$), 1.95 (s, 6H, $CH_{3\ OAc}$), 1.89 (s, 6H, $CH_{3\ OAc}$), 1.34 (d, *J* = 7.7 Hz, 6H, $CH_{3\ Ala}$), 1.19 (d, *J* = 9.2 Hz, 6H, $CH_{3\ Ala}$). **^{1}H RMN** (d_6-DMSO,

500.13 MHz, δ): 9.14 (d, *J* = 9.8 Hz, 2H, NH_{AgI}), 8.19 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H, NH_{Ser}), 7.40-7.24 (m, 10H, Ar-H_{Bn}), 5.62 (t, *J* = 9.3 Hz, 2H, H_{AgI}), 5.36 (t, *J* = 9.6 Hz, 2H, H_{AgI}), 5.28 (t, *J* = 9.6 Hz, 2H, H_{AgI}), 5.13-5.08 (m, 2H, $H\alpha_{Ser}$), 5.07-4.99 (m, 4H, 2 × $H\alpha_{Ala}$ + 2 × H_{AgI}), 4.97-4.92 (m, 2H, $H\alpha_{Ala}$), 4.85 (d, *J* = 9.4 Hz, 2H, H_{AgI}), 4.46-4.42 (m, 4H, $CH_{2\ Bn}$), 3.47-3.41 (m, 4H, CH_2 β_{Ser}), 3.05 (s, 6H, $NCH_{3\ Ala}$), 2.87 (s, 6H, $NCH_{3\ Ala}$), 2.00 (s, 6H, $CH_{3\ OAc}$), 1.96 (s, 6H, $CH_{3\ OAc}$), 1.93 (s, 6H, $CH_{3\ OAc}$), 1.28 (d, *J* = 7.1 Hz, 6H, $CH_{3\ Ala}$), 1.07 (d, *J* = 6.8 Hz, 6H, $CH_{3\ Ala}$). **EM (MALDI-TOF)** [m/z (%)]: 1335 ($[M+K]^+$, 62), 1319 ($[M+Na]^+$, 100), 1297 ($[MH]^+$, 21).

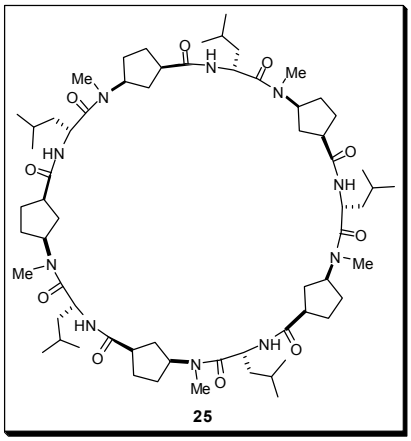


102

***ciclo*{[*D*-Leu-*L*-^{Me}N-γ-Acp-*D*-Ser(Bn)-*D*-γ-AgI]$_2$-} (102).** El compuesto señalado se sintetizó empleando el procedimiento descrito para **101** a partir del tetrapéptido Boc-{[*D*-Leu-*L*-^{Me}N-γ-Acp-*D*-Ser(Bn)-*D*-γ-AgI]$_2$-}-OPac (15.0 mg, 9.0 μmol) para dar, después de su purificación por HPLC, 7.9 mg de dicho compuesto en forma de sólido blanco [61%, T_r = 26 min (Columna Semipreparativa Phenomenex Maxsil-10, 5-15% MeOH en CH_2Cl_2, 30 min)]. **^{1}H RMN** ($CDCl_3$, 500.13 MHz, δ): 8.40-7.60 (dobletes solapados, $NH\alpha_{Ser}$ + $NH\alpha_{Leu}$ + NH_{AgI}), 7.34-7.26 (multipletes solapados, Ar-H_{Bn}), 5.43-4.84 (multipletes solapados, $H\alpha_{Ser}$ + $H\alpha_{Leu}$ + H_{AgI}), 4.66-4.11 (multipletes solapados, $H\gamma_{Acp}$+ H_{AgI} + $CH_{2\ Bn}$), 3.56-3.16 (multipletes solapados, CH_2 β_{Ser} + $H\alpha_{Acp}$), 3.14-2.70 (singletes solapados, $NCH_{3\ Acp}$), 2.55-1.26 (multipletes solapados, $CH_{2\ Acp}$ + $CH_{2\ Leu}$ + CH_{Leu} + $CH_{3\ Leu}$), 1.98-1.81 (singletes solapados, $CH_{3\ OAc}$). **EM (MALDI-TOF)** [m/z (%)]: 1433 ($[MH]^+$, 100). **EMAR (MALDI-TOF) calculado** para $C_{70}H_{97}N_8O_{24}$ ($[MH]^+$) 1433.6610, **encontrado** 1433.6581.

26.13. CICLODECAPÉPTIDOS

26.13.1. CICLODECAPÉPTIDOS DERIVADOS DEL ÁCIDO 3-AMINOCICLO-PENTANOCARBOXÍLICO

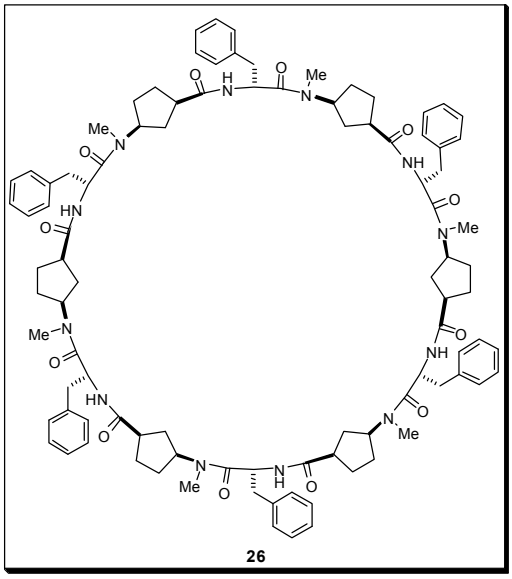


25

***ciclo*[(*D*-Leu-*L*-^{Me}N-γ-Acp)$_5$-] (25).**[38] Una disolución de Boc-[(*D*-Leu-*L*-^{Me}N-γ-Acp)$_5$-]-OFm (26.8 mg, 18.0 μmol) en 250 μL de piperidina/CH_2Cl_2 (1:4) se agitó a ta durante 20 min. A continuación se concentró a vacío y el residuo obtenido se disolvió en CH_2Cl_2 (5 mL). La disolución se lavó con HCl [(5%), 3 × 3 mL], se secó con Na_2SO_4, se filtró y se concentró a vacío. El crudo se disolvió en 200 μL de TFA/CH_2Cl_2 (1:1) y se agitó a ta durante 15 min. A continuación se concentró a sequedad en el rotavapor y el residuo resultante se secó a alto vacío durante 3 h, utilizándose directamente sin ninguna otra purificación adicional. El péptido lineal se disolvió en CH_2Cl_2 (18 mL) y se añadió TBTU (6.4 mg, 19.8 μmol), seguido (gota a gota) de DIEA (13 μL, 72.2 μmol) [1 eq. de TBTU (5.8 mg, 18.0 μmol) y 4 eq. de DIEA (13 μL, 72.2 μmol) fueron adicionalmente añadidos cuando se observó sustancia de partida por HPLC, y la mezcla resultante se agitó a ta durante 3 h para completar la reacción]. Después de 12 h, el disolvente se eliminó a presión reducida, y el crudo se purificó por HPLC, obteniéndose 9.4 mg de **25** en forma de sólido blanco [44%, T_r = 18 min (Columna Semipreparativa Phenomenex Maxsil-10, 8-15% MeOH en CH_2Cl_2, 30 min)]. **^{1}H RMN** ($CDCl_3$, 500.13 MHz, δ): 8.42 (d, *J* = 9.1 Hz, 5H, NH_{Leu}), 5.20 (dt, J_1 = 3.7 Hz, J_2 = 9.3 Hz, 5H, $H\alpha_{Leu}$), 4.92 (m, 5H, $H\gamma_{Acp}$), 3.18 (dt, J_1 = 9.1 Hz, J_2 = 15.0 Hz, 5H, $H\alpha_{Acp}$), 3.02 (s, 15H, $NCH_{3\ Acp}$), 1.99 (m, 10H, 10 × C-H_{Acp}), 1.87-1.67 (m, 20H, 20 × C-H_{Acp}), 1.61 (dd, J_1 = 7.4 Hz, J_2 = 18.4 Hz, 5H, CH_{Leu}), 1.51 (ddd, J_1 = 3.8 Hz, J_2 = 9.8 Hz, J_3 = 13.4 Hz, 5H, 2.5 × $CH_{2\ Leu}$), 1.36 (ddd, J_1 = 3.7 Hz, J_2 = 9.6 Hz, J_3 = 13.2 Hz, 5H, 2.5 × $CH_{2\ Leu}$), 0.95 (dd, J_1 = 6.4 Hz, J_2 = 43.9 Hz, 30H, $CH_{3\ Leu}$). **^{13}C RMN** ($CDCl_3$, 125.77 MHz, δ): 174.9 (CO), 173.3 (CO), 54.2 (CH), 46.8 (CH), 43.9 (CH_2), 42.2 (CH), 31.5 (CH_2), 29.1 (NCH_3), 28.3 (CH_2), 26.2 (CH_2), 24.6 (CH), 23.7 (CH_3), 22.1 (CH_3). **FT-IR** (293 K, $CHCl_3$): 3313 (amida A), 3019, 2961, 1665, 1627 (amida I), 1534 (amida II_{II}) cm^{-1}. **EM (MALDI-TOF)** [m/z (%)]: 1229 ([M +K]$^+$, 14), 1213 ([M +Na]$^+$, 100), 1191 ([MH]$^+$, 4). **EMAR (MALDI-TOF) calculado** para $C_{65}H_{110}N_{10}O_{10}Na$ ([M +Na]$^+$) 1213.8304, **encontrado** 1213.8336.

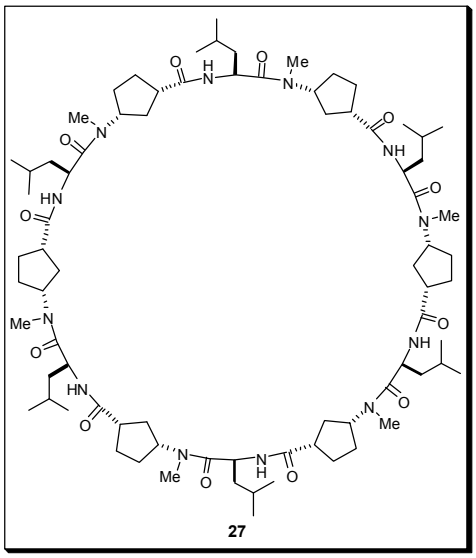
26.14. CICLODODECAPÉPTIDOS

26.14.1. CICLODODECAPÉPTIDOS DERIVADOS DEL ÁCIDO 3-AMINOCICLOPENTANOCARBOXÍLICO



26

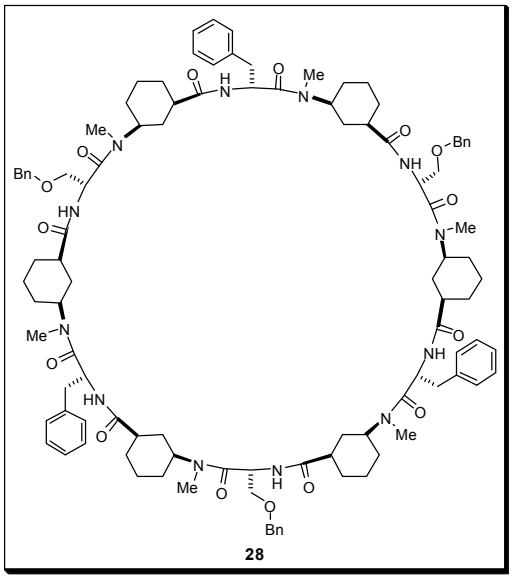
***ciclo*[(*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Acp)$_6$-] (26).**[38] Una disolución del dodecapéptido lineal protegido Boc-[(*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Acp)$_6$-]-OFm (40.0 mg, 20.8 μmol) en 250 μL de piperidina/CH_2Cl_2 (1:4) se agitó a ta durante 20 min. A continuación se concentró a vacío y el residuo obtenido se disolvió en CH_2Cl_2 (5 mL). La disolución se lavó con HCl [(5%), 3 × 3 mL], se secó con Na_2SO_4, se filtró y se concentró a vacío. El crudo se disolvió en 200 μL de TFA/CH_2Cl_2 (1:1) y se agitó a ta durante 15 min. A continuación se concentró a sequedad en el rotavapor y el residuo resultante se secó a alto vacío durante 3 h, utilizándose directamente sin ninguna otra purificación adicional. El péptido lineal se disolvió en CH_2Cl_2 (20.8 mL) y se añadió TBTU (8.0 mg, 25.0 μmol), seguido (gota a gota) de DIEA (15 μL, 83.2 μmol) [1 eq. de TBTU (6.7 mg, 20.8 μmol) y 4 eq. de DIEA (15 μL, 83.2 μmol) fueron adicionalmente añadidos cuando se observó sustancia de partida por HPLC, y la mezcla resultante se agitó a ta durante 3 h para completar la reacción]. Después de 12 h, el disolvente se eliminó a presión reducida, y el crudo se purificó por HPLC, obteniéndose 25.4 mg de **26** en forma de sólido blanco [75%, T_r = 22 min (Columna Semipreparativa Phenomenex Maxsil-10, 5-15% MeOH en CH_2Cl_2, 30 min)]. **^{1}H RMN** ($CDCl_3$, 500.13 MHz, δ): 8.61 (d, *J* = 8.9 Hz, 6H, NH_{Phe}), 7.22 (m, 30H, Ar-H_{Phe}), 5.36 (dd, J_1 = 8.4 Hz, J_2 = 15.5 Hz, 1H, Hα_{Phe}), 4.78 (m, 6H, Hγ_{Acp}), 3.11 (dd, J_1 = 8.9 Hz, J_2 = 17.0 Hz, 6H, Hα_{Acp}), 2.94 (m, 12H, CH_2 β_{Phe}), 2.57 (s, 18H, $NCH_{3\ Acp}$), 1.93 (c, *J* = 11.9 Hz, 12H, 12 × C-H_{Acp}), 1.78-1.48 (m, 18H, 18 × C-H_{Acp}), 1.24 (m, 6H, CH_{Acp}). **^{13}C RMN** ($CDCl_3$, 125.77 MHz, δ): 174.6 (CO), 172.1 (CO), 136.2 (C), 129.5 (CH), 128.4 (CH), 127.0 (CH), 54.6 (CH), 49.9 (CH), 42.0 (CH), 41.1 (CH_2), 30.8 (CH_2), 29.0 (CH_3), 28.1 (CH_2), 26.3 (CH_2). **FT-IR** (293 K, $CHCl_3$): 3315 (amida A), 3008, 2967, 1665, 1623 (amida I), 1525 (amida II_{II}) cm^{-1}. **EM (MALDI-TOF)** [m/z (%)]:1673 ([M +K]$^+$, 14), 1656 ([M +Na]$^+$, 100), 1634 ([MH]$^+$, 4). **EMAR (MALDI-TOF) calculado** para $C_{96}H_{120}N_{12}O_{12}Na$ ([M +Na]$^+$) 1655.9041, **encontrado** 1655.9057.



27

***ciclo*[(*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp)$_6$-] (27).** El compuesto señalado se sintetizó empleando el procedimiento descrito para **26** a partir de Boc-[(*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp)$_6$-]-OFm (300 mg, 174 μmol) para dar, después de su purificación por HPLC, 210.7 mg de dicho compuesto en forma de sólido blanco [85%, T_r = 21 min (Columna Semipreparativa Phenomenex Maxsil-10, 5-15% MeOH en CH_2Cl_2, 30 min)]. **^{1}H RMN** ($CDCl_3$, 500.13 MHz, δ): 8.32 (d, J = 9.1 Hz, 6H, NH_{Leu}), 5.17 (dt, J_1 = 3.9 Hz, J_2 = 9.5 Hz, 6H, $H\alpha_{Leu}$), 4.84 (m, 6H, $H\gamma_{Acp}$), 3.17 (m, 6H, $H\alpha_{Acp}$), 2.95 (s, 18H, $NCH_{3\ Acp}$), 2.13-1.12 (m, 54H, $CH_{2\ Acp}$ + CH_{Leu} + $CH_{2\ Leu}$), 0.88 (dd, J_1 = 6.5 Hz, J_2 = 48.6 Hz, 36H, $CH_{3\ Leu}$). **^{13}C RMN** ($CDCl_3$, 125.77 MHz, δ): 174.8 (CO), 173.3 (CO), 54.3 (CH), 46.8 (CH), 44.1 (CH_2), 42.1 (CH), 30.6 (CH_2), 29.1 (NCH_3), 28.6 (CH_2), 26.4 (CH_2), 24.5 (CH), 23.7 (CH_3), 22.2 (CH_3). **EM (ESI)** [m/z (%)]: 1451 ([M +Na]$^+$, 5), 1430 ([MH]$^+$, 2), 734 ([M +K]$^{2+}$, 100), 726 ([M +Na]$^{2+}$, 73), 715 ([MH]$^{2+}$, 40). **EMAR (ESI) calculado** para $C_{78}H_{133}N_{12}O_{12}$ ([MH]$^+$) 1430.0166, **encontrado** 1430.0160.

26.14.2. CICLODODECAPÉPTIDOS DERIVADOS DEL ÁCIDO 3-AMINOCICLO-HEXANOCARBOXÍLICO



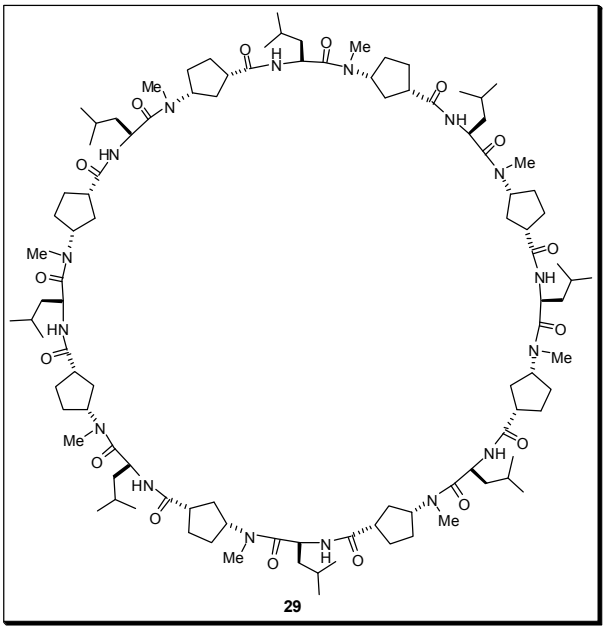
28

***ciclo*{[*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach-*D*-Ser(Bn)-*L*-^{Me}N-γ-Ach-]$_3$-} (28).** Una disolución de dodecapéptido Boc-{[*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach-*D*-Ser(Bn)-*L*-^{Me}N-γ-Ach-]$_3$-}-OFm (40.0 mg, 19.0 μmol) en 250 μL de piperidina/CH_2Cl_2 (1:4) se agitó a ta durante 20 min. A continuación se concentró a vacío y el residuo obtenido se disolvió en CH_2Cl_2 (3 mL). La disolución se lavó con HCl [(5%), 3 × 1 mL], se secó con Na_2SO_4, se filtró y se concentró a vacío. El crudo se disolvió en 200 μL de TFA/CH_2Cl_2 (1:1) y se agitó a ta durante 15 min. A continuación se concentró a sequedad en el rotavapor y el residuo resultante se secó a alto vacío durante 3 h, utilizándose directamente sin ninguna otra purificación adicional. El péptido lineal se disolvió en CH_2Cl_2 (19.0 mL) y se añadió TBTU (7.3 mg, 22.8 μmol), seguido (gota a gota) de DIEA (13 μL, 76.1 μmol) [1 eq. de TBTU (6.1 mg, 19.0 μmol) y 4 eq. de DIEA (13 μL, 76.1 μmol) fueron adicionalmente añadidos cuando se observó sustancia de partida por HPLC, y la mezcla resultante se agitó a ta durante 3 h para

completar la reacción]. Después de 12 h, el disolvente se eliminó a presión reducida, y el crudo se purificó por HPLC, obteniéndose 17.8 mg de **28** en forma de sólido blanco [52%, T_r = 17 min (Columna Semipreparativa Phenomenex Maxsil-10, 5-15% MeOH en CH_2Cl_2, 30 min)]. **EM (ESI)** [m/z (%)]: 1809 ($[MH]^+$, 14), 904 ($[MH]^{2+}$, 100). **EMAR (ESI) calculado** para $C_{105}H_{140}N_{12}O_{15}$ ($[MH]^{2+}$) 904.5281, **encontrado** 904.5275.

26.15. CICLOHEXADECAPÉPTIDOS

26.15.1. CICLOHEXADECAPÉPTIDOS DERIVADOS DEL ÁCIDO 3-AMINOCICLOPENTANOCARBOXÍLICO



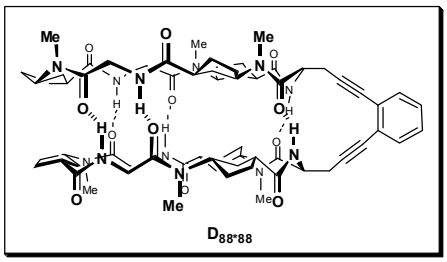
29

***ciclo*[(*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp)$_8$-] (29).** Una disolución de Boc-[(*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp)$_8$-]-OFm (140.0 mg, 63.6 μmol) en 1 mL de piperidina/CH_2Cl_2 (1:4) se agitó a ta durante 20 min. A continuación se concentró a vacío y el residuo obtenido se disolvió en CH_2Cl_2 (5 mL). La disolución se lavó con HCl [(5%), 3 × 3 mL], se secó con Na_2SO_4, se filtró y se concentró a vacío. El crudo se disolvió en 1 mL de TFA/CH_2Cl_2 (1:1) y se agitó a ta durante 15 min. A continuación se concentró a sequedad en el rotavapor y el residuo resultante se secó a alto vacío durante 3 h, utilizándose directamente sin ninguna otra purificación adicional. El péptido lineal se disolvió en CH_2Cl_2 (63.6 mL) y se añadió TBTU (24.5 mg, 76.4 μmol), seguido (gota a gota) de DIEA (44 μL, 254.5 μmol) [1 eq. de TBTU (20.4 mg, 63.6 μmol) y 4 eq. de DIEA (44 μL, 254.5 μmol) fueron adicionalmente añadidos cuando se observó sustancia de partida por HPLC, y la mezcla resultante se agitó a ta durante 3 h para completar la reacción]. Después de 12 h, el disolvente se eliminó a presión reducida, y el crudo se purificó por HPLC, obteniéndose 79.3 mg de **29** en forma de sólido blanco [65%, T_r = 25 min (Columna Semipreparativa Phenomenex Maxsil-10, 5-15% MeOH en CH_2Cl_2, 30 min)]. **^{1}H RMN** ($CDCl_3$, 500.13 MHz, δ): 8.26 (d, J = 9.0 Hz, 8H, NH_{Leu}), 5.05 (dt, J_1 = 4.9 Hz, J_2 = 9.0 Hz, 8H, $H\alpha_{Leu}$), 4.81 (m, 8H, $H\gamma_{Acp}$), 2.97 (m, 8H, $H\alpha_{Acp}$), 2.93 (s, 24H, $NCH_{3\ Acp}$), 1.98-1.22 (m, 72H, CH_{2Acp} + CH_{Leu} + CH_{2Leu}), 0.86 (dd, J_1 = 6.5 Hz, J_2 = 30.1 Hz, 48H, $CH_{3\ Leu}$). **^{13}C RMN** ($CDCl_3$, 125.77 MHz, δ): 174.8 (CO), 173.4 (CO), 54.3 (CH), 47.1 (CH), 43.2 (CH_2), 41.8 (CH), 31.8 (CH_2), 29.1 (NCH_3), 27.3 (CH_2), 26.7 (CH_2), 24.6 (CH), 23.5 (CH_3), 22.3 (CH_3). **EM (ESI)** [m/z (%)]: 973 ($[M+K]^{2+}$, 35), 965 ($[M+Na]^{2+}$, 80), 954 ($[MH]^{2+}$, 59), 649

([M +K]$^{3+}$, 49), 644 ([M +Na]$^{3+}$, 58), 636 ([MH]$^{3+}$, 36). **EMAR (ESI) calculado** para $C_{104}H_{177}N_{16}O_{16}Na$ ([M +Na]$^{2+}$) 964.6713, **encontrado** 964.6708.

26.16. DÍMEROS COVALENTES

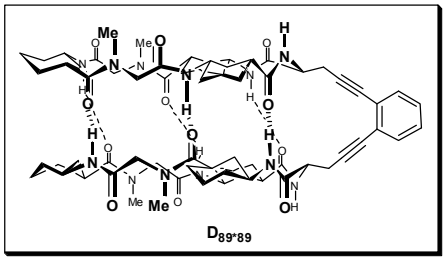
26.16.1. DÍMEROS COVALENTES DERIVADOS DEL ÁCIDO 3-AMINOCICLOPENTANOCARBOXÍLICO



D_{88*88}

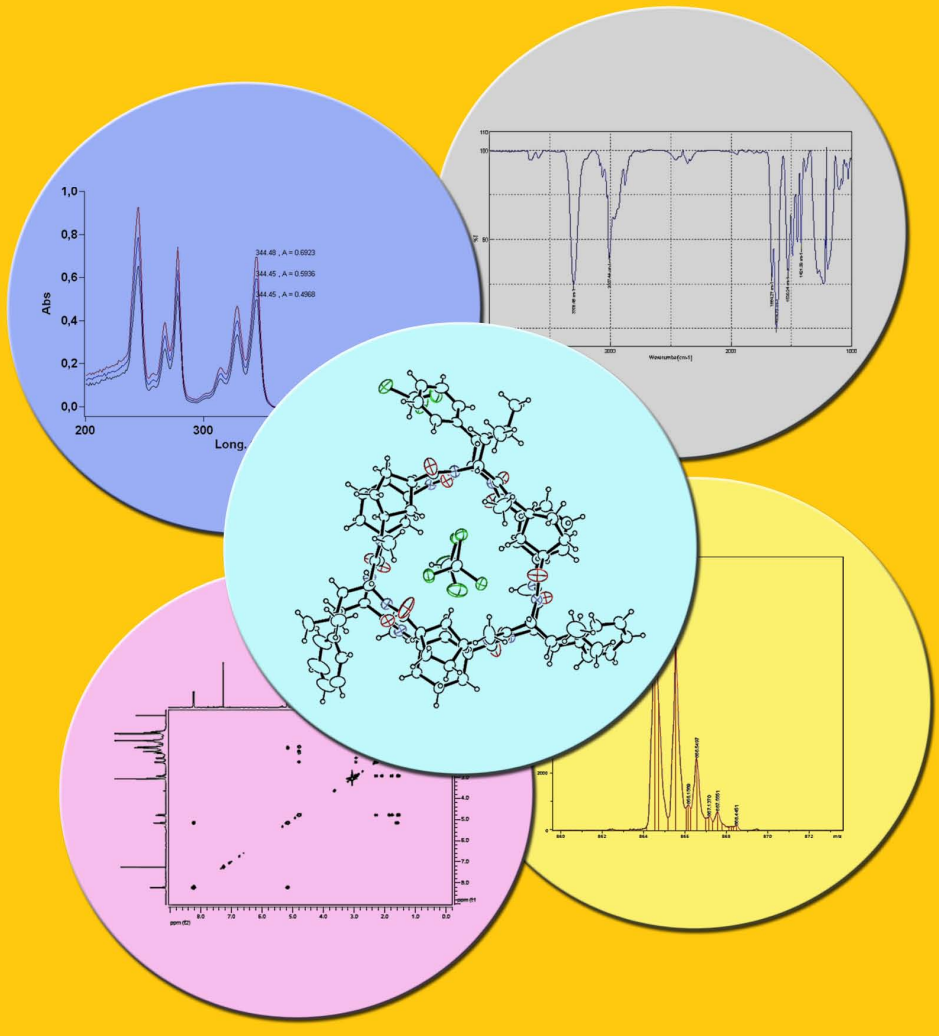
Dímero covalente Acp-Acp (D_{88*88}). Una disolución de Cs_2CO_3 (5.6 mg, 17.1 μmol) y 4-DPPBA (0.4 mg, 1.4 μmol) en una mezcla 1:1 de DMF/H_2O (500 μL) se agitó y desoxigenó a ta durante 15 min. A continuación, se añadió CuI (0.3 mg, 1.4 μmol), 10% Pd/C (0.4 mg, 0.3 μmol) y 1,2-diiodobenceno (0.9 μL, 6.84 μmol), y la suspensión obtenida se agitó y desoxigenó a ta durante 30 min. Transcurrido ese tiempo, se añadió *ciclo*{[*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp]$_2$-*L*-Pra-*D*-^{Me}N-γ-Acp-} [(**88**), 10.0 mg, 14.4 μmol], y la mezcla resultante se calentó a 80 ºC durante 4 h. Posteriormente, se filtró a través de Celita lavando con MeOH (3 × 5 mL), y el filtrado obtenido se concentró a vacío. El crudo se purificó mediante HPLC, obteniéndose 1.8 mg de $\mathbf{D_{88*88}}$ [18%, T_r = 26 min (Columna Semipreparativa Zorbax C18, 15-95% *Disolvente B* en *Disolvente A*, 30 min), sólido blanco]. **EM (ESI)** [m/z (%)]: 1505 ([M +K]$^+$, 2), 1489 ([M +Na]$^+$, 26), 1467 ([MH]$^+$, 19).

26.16.2. DÍMEROS COVALENTES DERIVADOS DEL ÁCIDO 3-AMINOCICLOHEXANOCARBOXÍLICO



D_{89*89}

Dímero covalente Ach-Ach (D_{89*89}). Una disolución de Cs_2CO_3 (1.3 mg, 3.9 μmol) y 4-DPPBA (0.1 mg, 0.3 μmol) en una mezcla 1:1 de DMF/H_2O (100 μL) se agitó y desoxigenó a ta durante 15 min. A continuación, se añadió CuI (0.06 mg, 0.3 μmol), 10% Pd/C (0.08 mg, 0.08 μmol) y 1,2-diiodo-benceno (0.2 μL, 1.6 μmol), y la suspensión obtenida se agitó y desoxigenó a ta durante 30 min. Transcurrido ese tiempo, se añadió *ciclo*{[*D*-γ-Ach-*L*-^{Me}N-Ala-]$_2$-*D*-γ-Ach-*L*-Pra-} [(**89**), 2.0 mg, 3.1 μmol], y la mezcla resultante se calentó a 80 ºC durante 4 h. Posteriormente, se filtró a través de Celita lavando con MeOH (3 × 5 mL), y el filtrado obtenido se concentró a vacío. El crudo se purificó mediante HPLC, obteniéndose 1.5 mg de $\mathbf{D_{89*89}}$ [71%, T_r = 23 min (Columna Semipreparativa Zorbax C18, 15-95% *Disolvente B* en *Disolvente A*, 30 min), sólido blanco]. **EM (ESI)** [m/z (%)]: 1393 ([M +K]$^+$, 3), 1377 ([M +Na]$^+$, 26), 1355 ([MH]$^+$, 29). **EMAR (ESI) calculado** para $C_{74}H_{106}N_{12}O_{12}Na$ ([M +Na]$^+$) 1377.7951, **encontrado** 1377.7274.


Abs
1,0
0,8
0,6
0,4
0,2
0,0
200
300
Long.
344.48 , A = 0.6923
344.45 , A = 0.5936
344.45 , A = 0.4968

ANEXOS

27. ESPECTROS DE RMN

27.1. GENERAL

Los espectros de ^{1}H RMN se registraron en los espectrómetros *Bruker WM-250* (250.13 MHz), *Varian Mercury-300* (300.13 MHz), *Bruker AMX-500* (500.13 MHz) y *Varian Inova-750* (750.13 MHz). Los desplazamientos químicos están dados en partes por millón (ppm, δ) respecto a la señal de TMS, que es lo que se emplea como referencia interna. Las multiplicidades de las señales se designaron en base a su apariencia como singlete (s), doblete (d), triplete (t) o cuadruplete (c). En los casos en los que la multiplicidad no estaba clara, se designaron las señales como multiplete (m) o singlete ancho (s ancho). Las constantes de acoplamiento (*J*) vienen expresadas en Hz. Todas los espectros, salvo que se especifique lo contrario, se llevaron a cabo a 25 ºC.

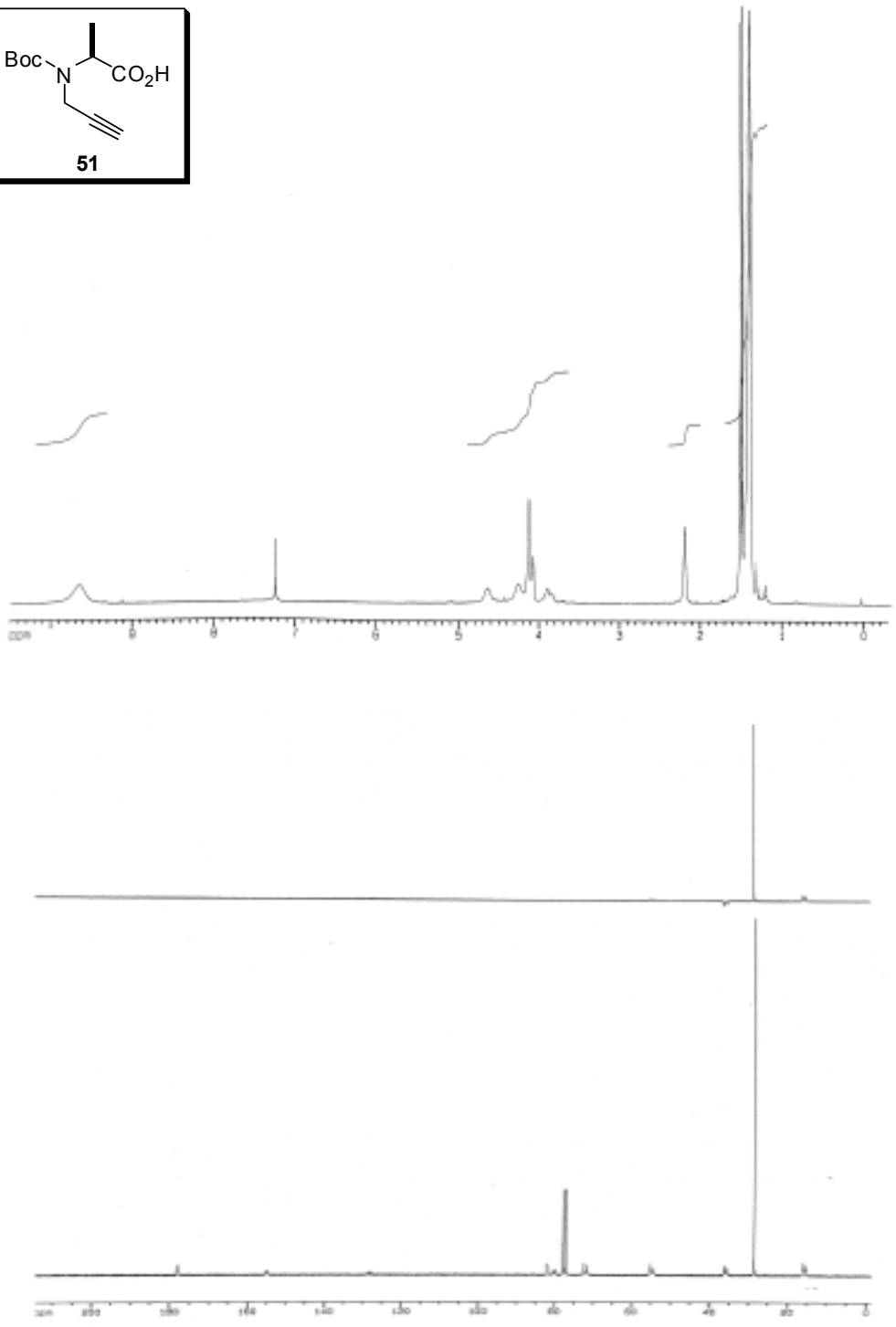
Los espectros de ^{13}C RMN se registraron en los espectrómetros *Bruker WM-250* (62.90 MHz), *Varian Mercury-300* (75.48 MHz) y *Bruker AMX-500* (125.77 MHz). Las resonancias de los carbonos fueron asignadas mediante la realización de espectros DEPT *[Distortionless Enhancement by Polarization Transfer]* obtenidos con un ángulo de fase θ de 135º.

Las señales de los espectros de ^{1}H RMN de los α,γ-ciclopéptidos fueron asignadas a partir de los correspondientes experimentos bidimensionales 2D COSY (2QF-COSY), TOCSY, NOESY y ROESY adquiridos a la concentración y temperatura indicada. Los tiempos de mezcla (~250 ms o 400 ms) no fueron optimizados. Los espectros fueron típicamente registrados empleando secuencias de pulsos estándar de *Bruker* en aparatos de 500 MHz, siendo referenciados respecto a las resonancias residuales de protón en $CDCl_3$ (a 7.26 ppm).

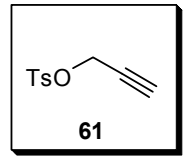
27.2. α-AMINOÁCIDOS

27.2.1. SÍNTESIS DE N-BOC-N-PROPARGILALANINA

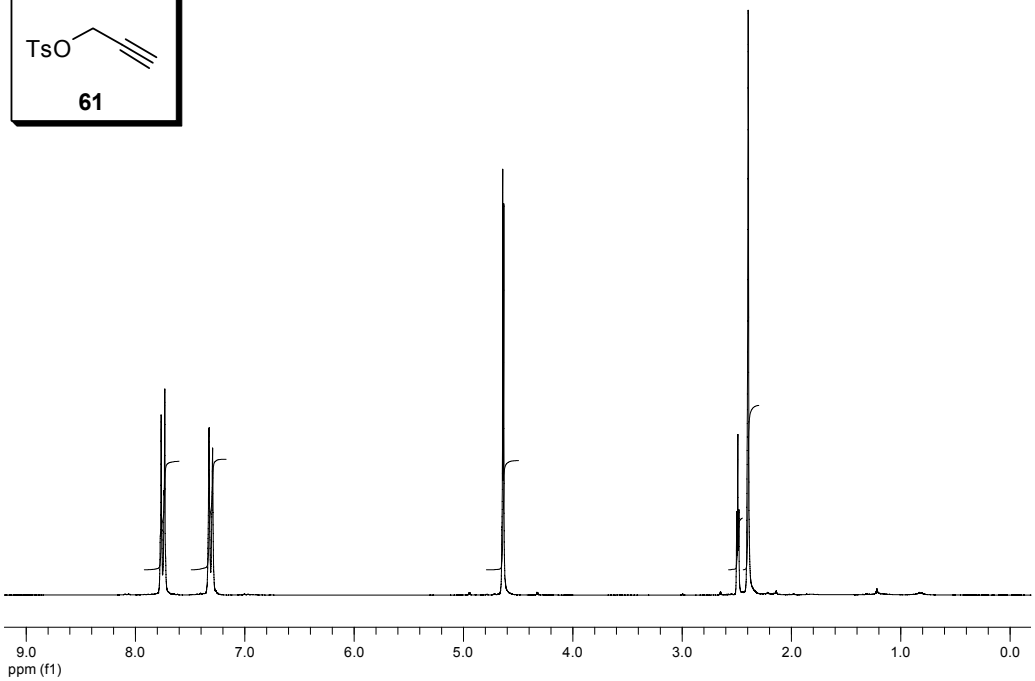
51

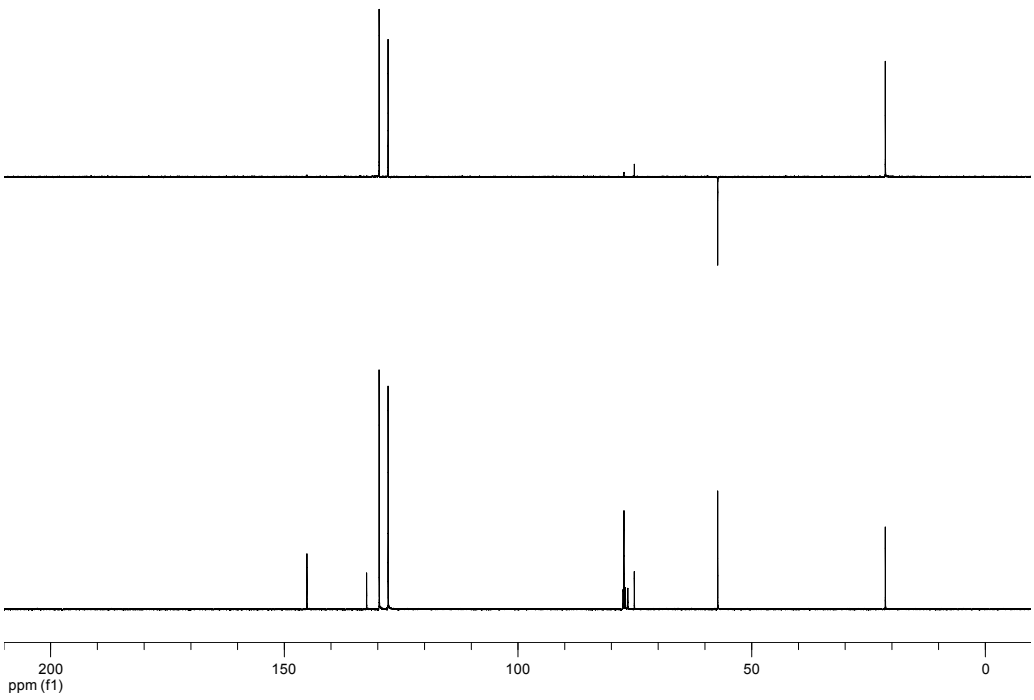


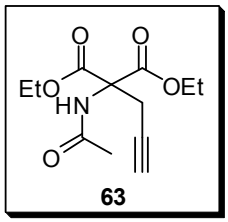
27.2.2. SÍNTESIS DE N-BOC-PROPARGILGLICINA



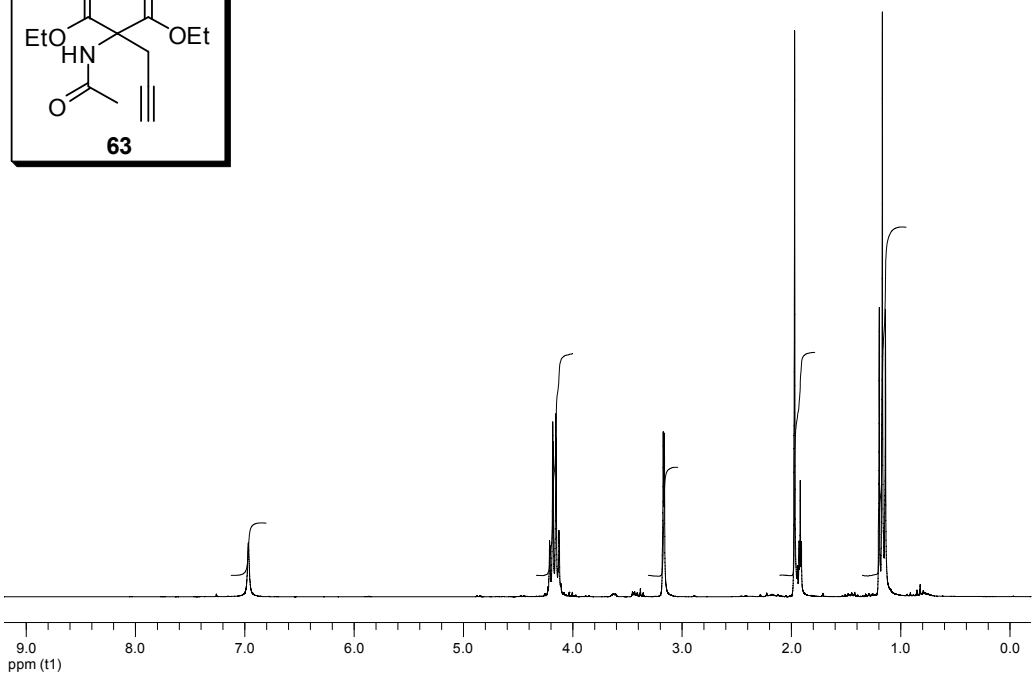
61

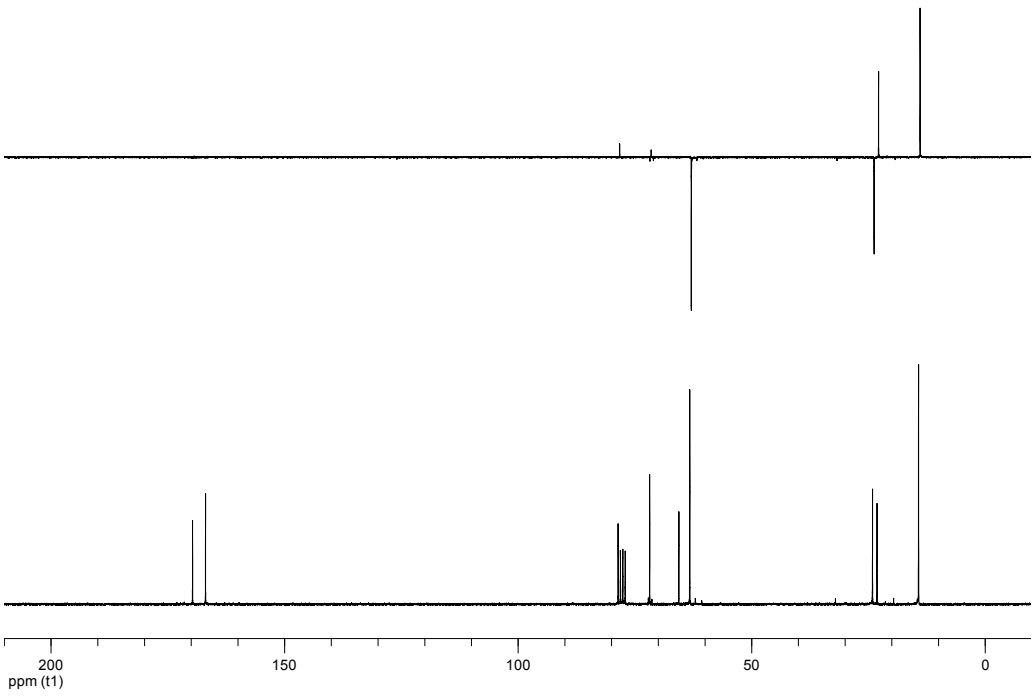


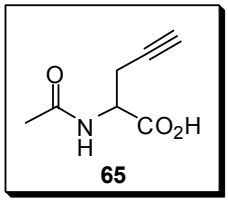



O
O
EtO
OEt
HN
O

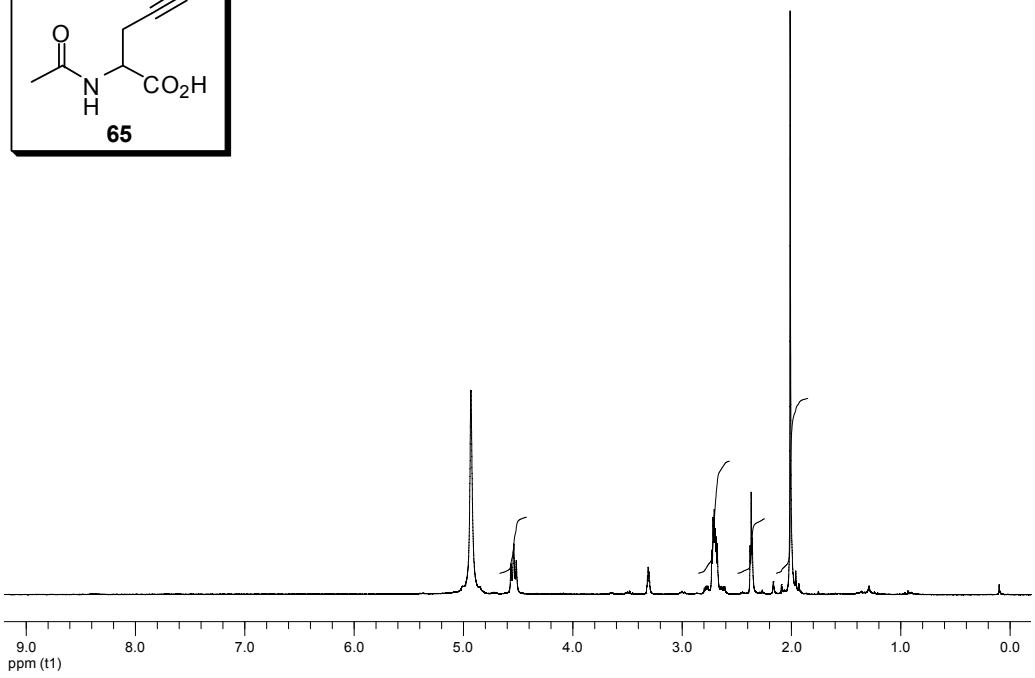
63

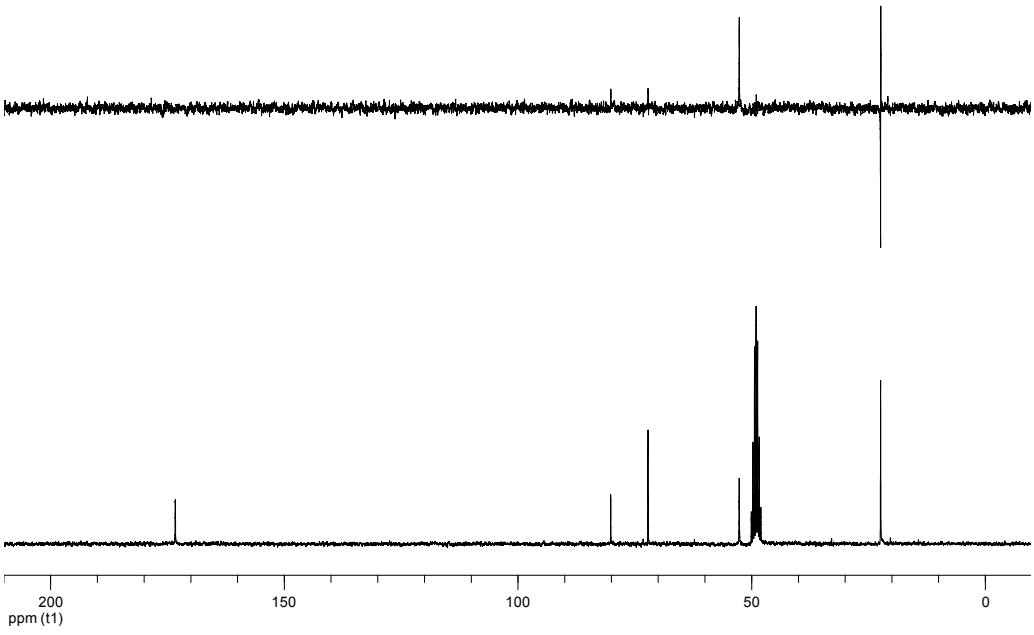

9.0
8.0
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
ppm (t1)

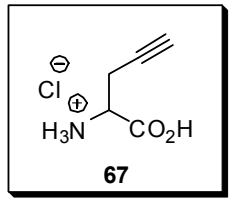

200
150
100
50
0
ppm (t1)



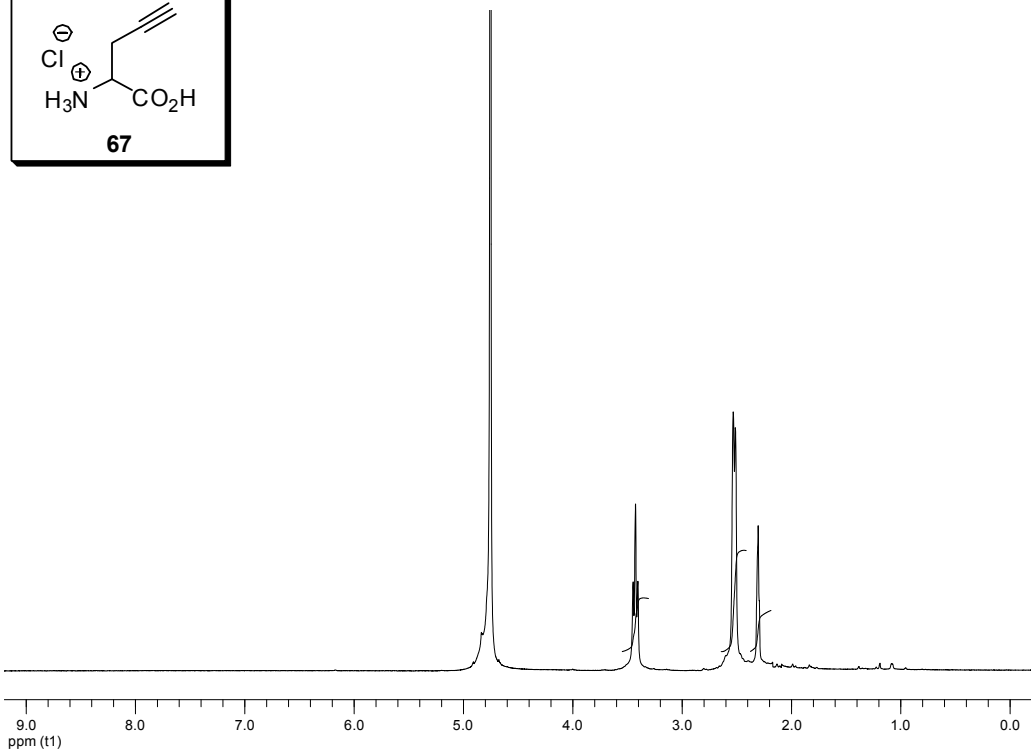
65

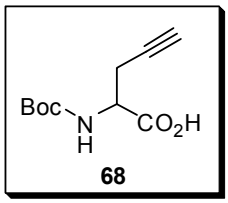




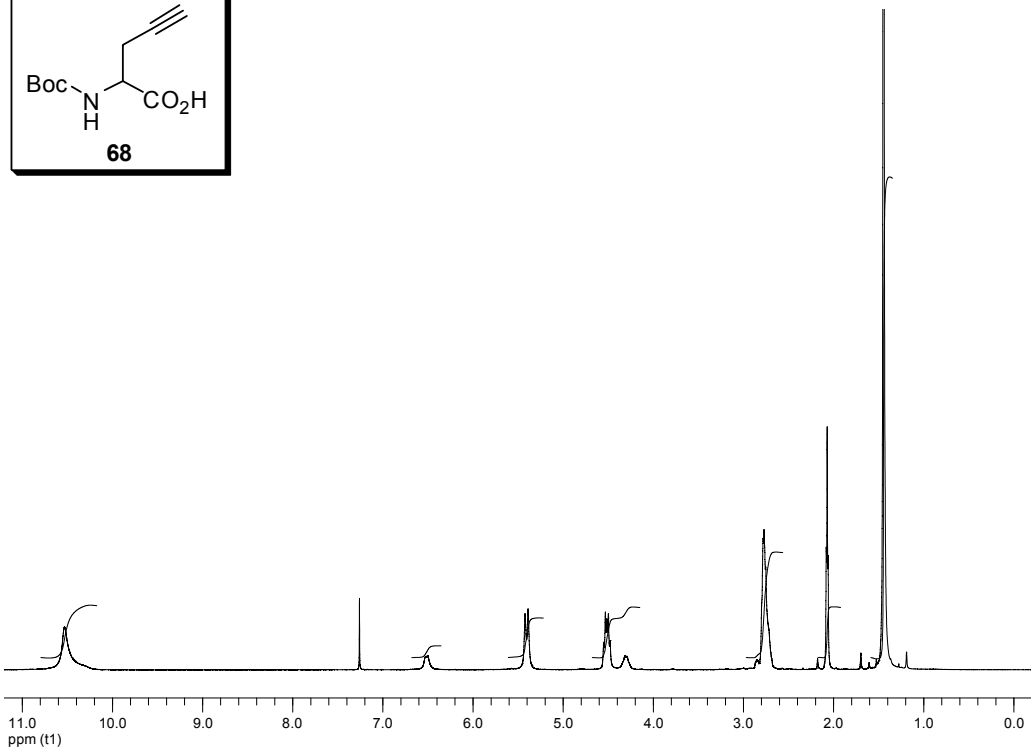


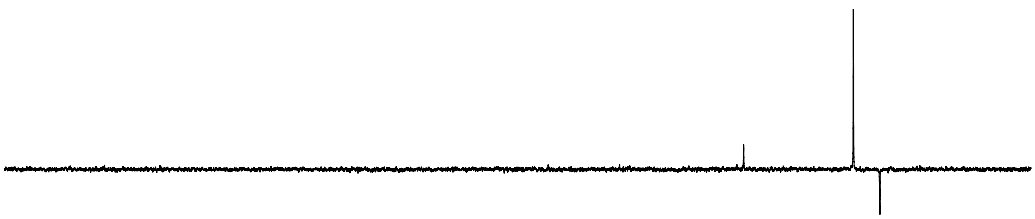
67

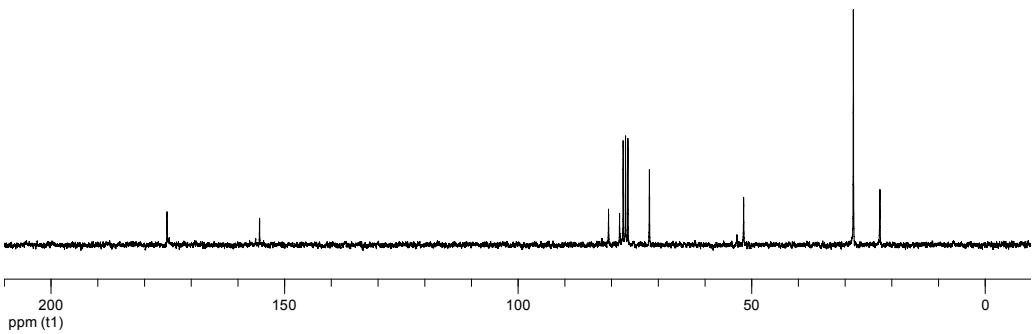



Boc
N
H
CO2H

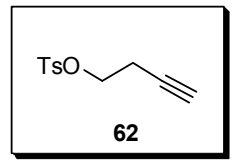
68


11.0
10.0
9.0
8.0
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
ppm (t1)

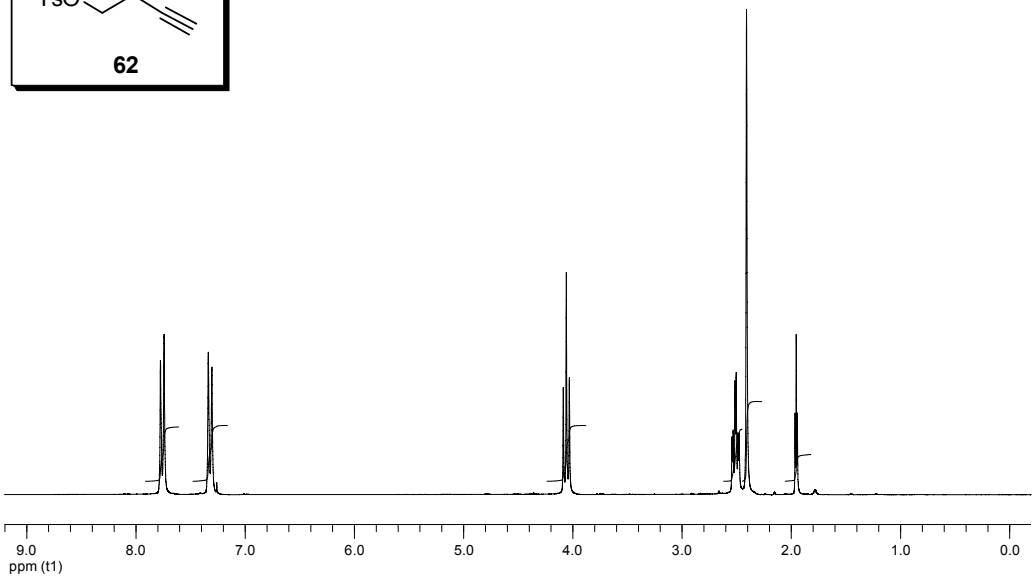


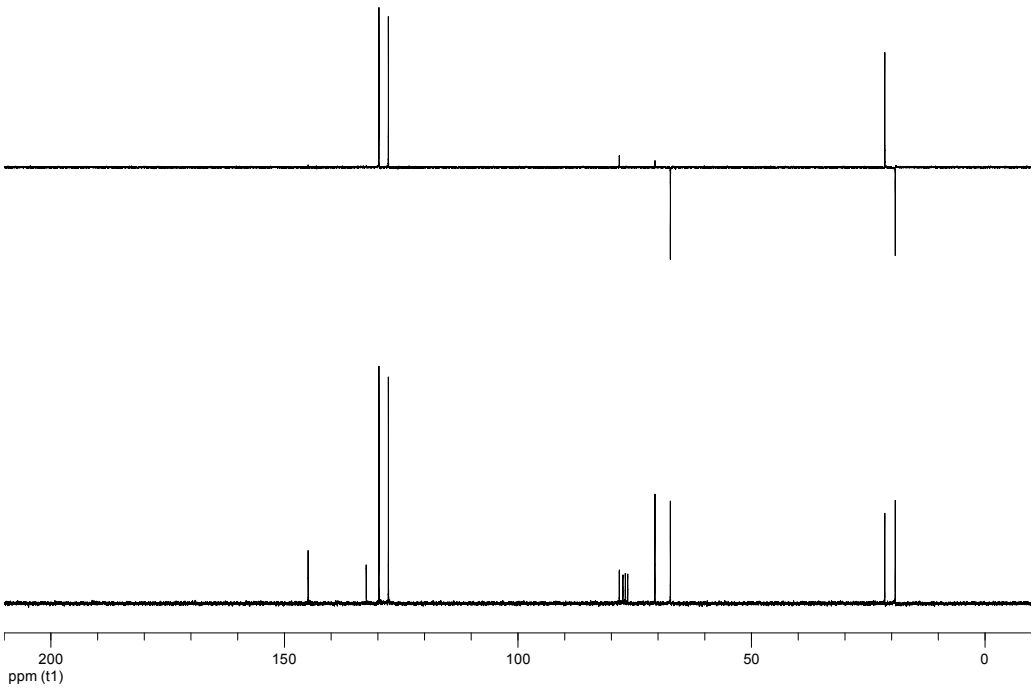

200
150
100
50
0
ppm (t1)

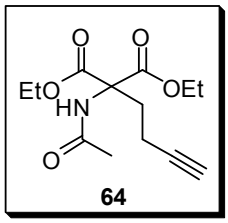
27.2.3. SÍNTESIS DE ÁCIDO N-ACETIL-*DL*-2-AMINOHEX-5-INOICO



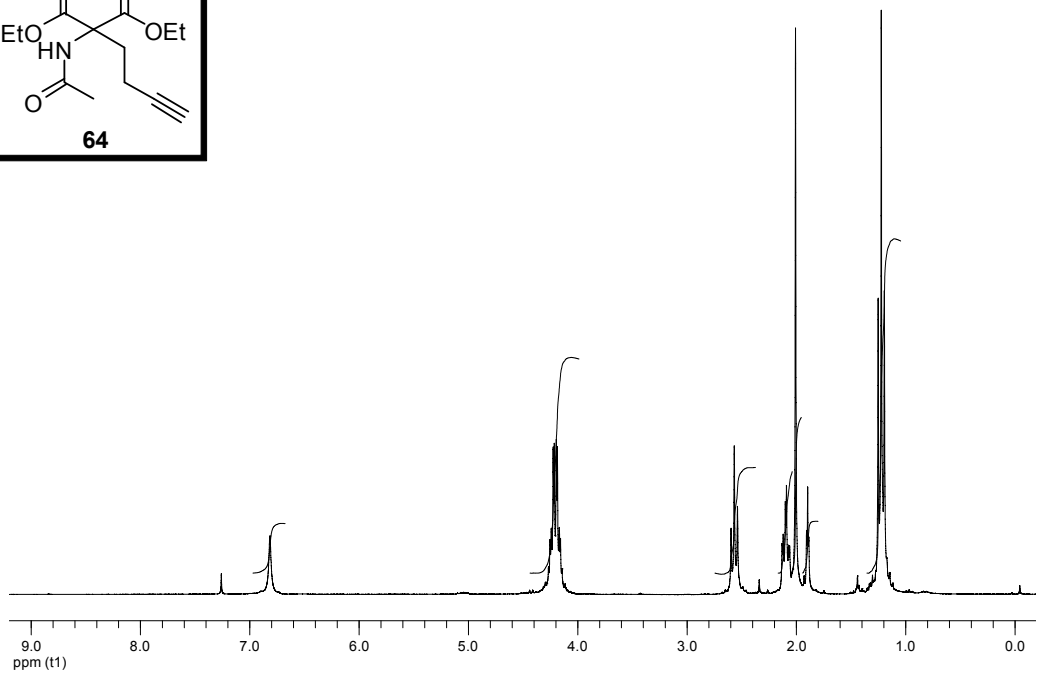
62

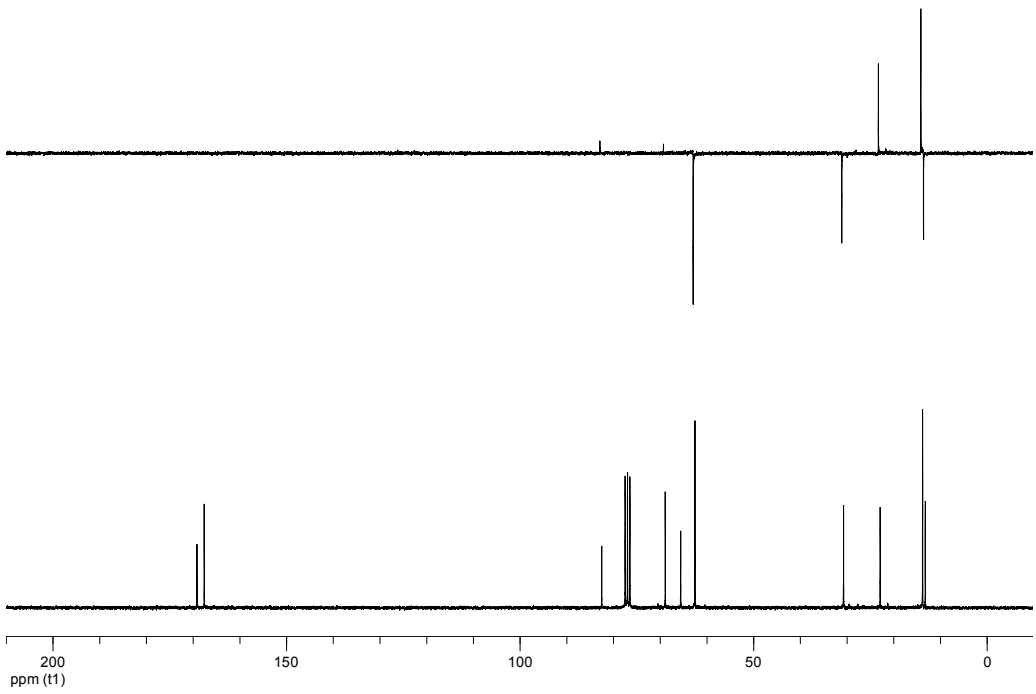


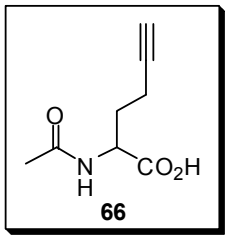



O
O
EtO
OEt
HN
O

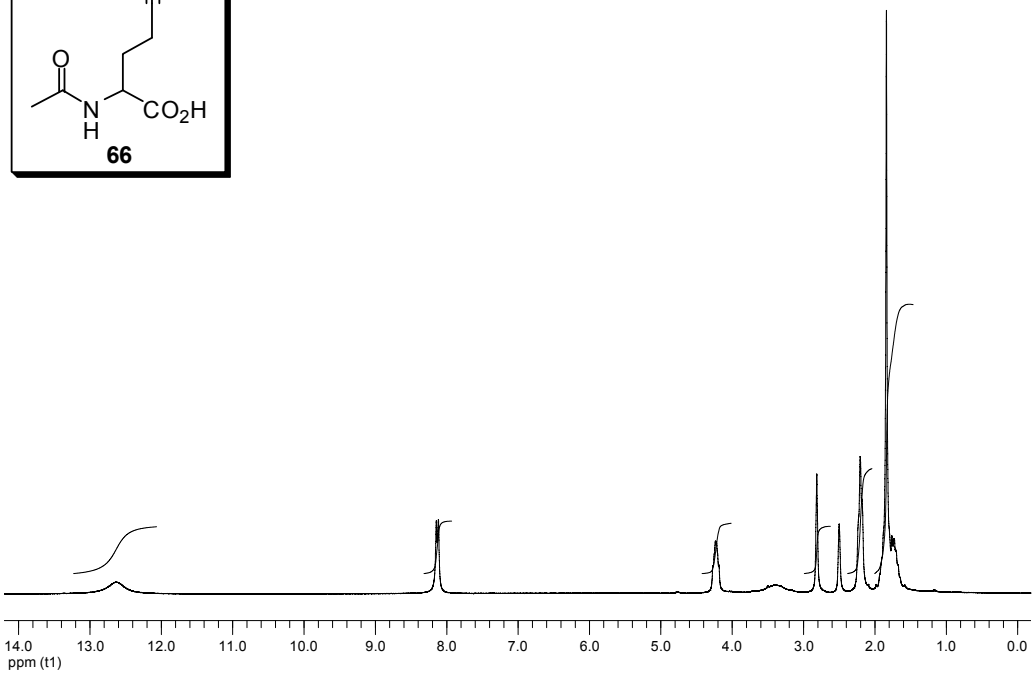
64

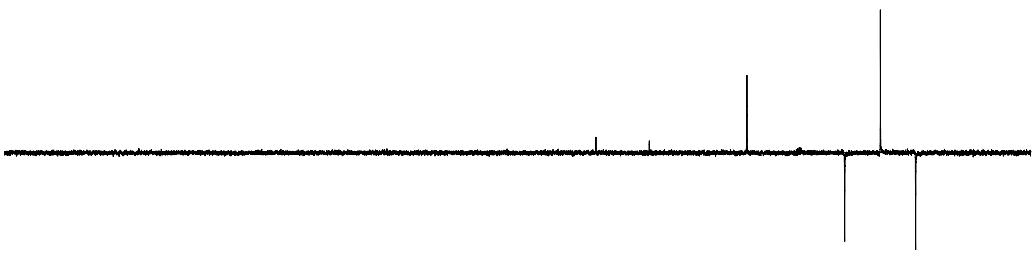

9.0
8.0
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
ppm (t1)

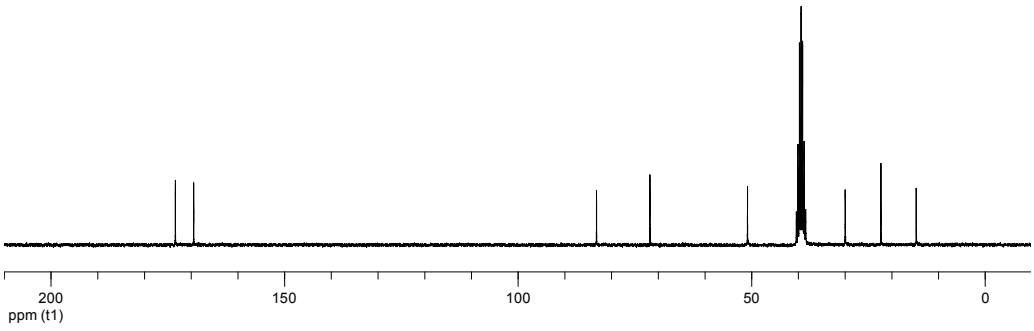

200
150
100
50
0
ppm (t1)


O
N
H
CO_2H

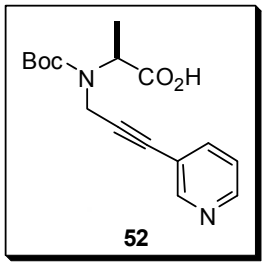
66


14.0
13.0
12.0
11.0
10.0
9.0
8.0
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
ppm (t1)

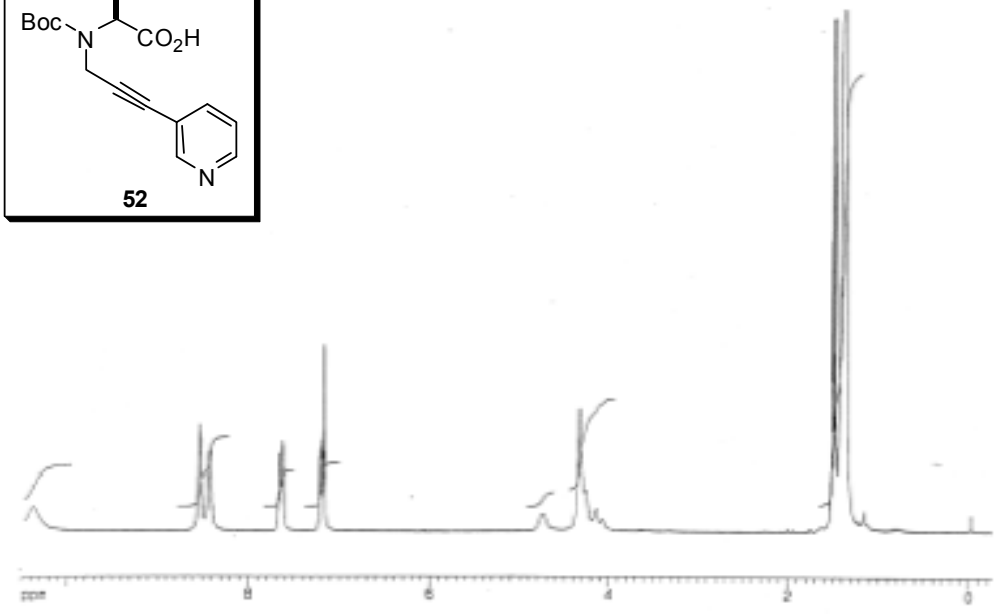


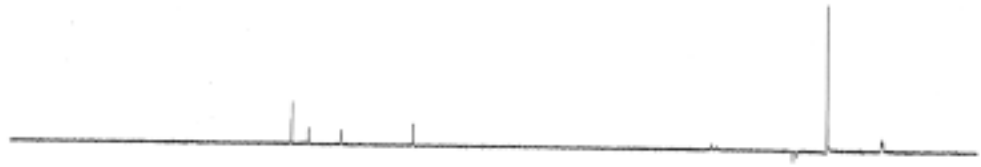

200
150
100
50
0
ppm (t1)

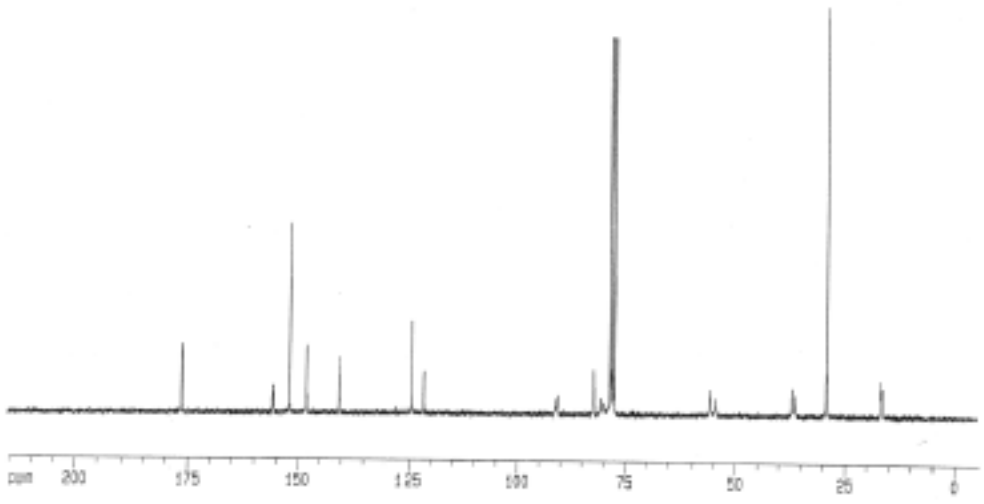
27.2.4. SÍNTESIS DE N-BOC-N-(HETERO)ARILPROPARGILALANINAS

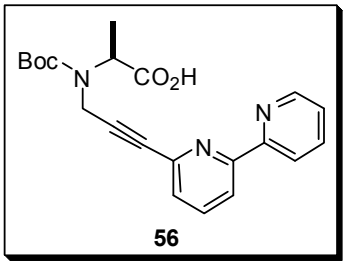


52

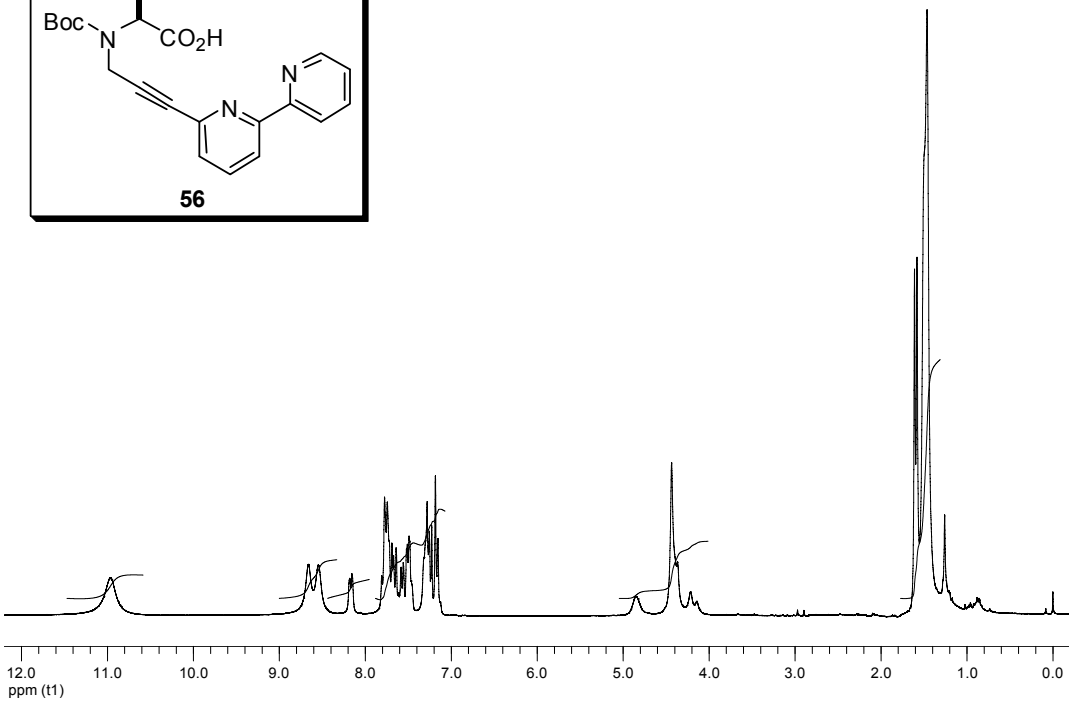






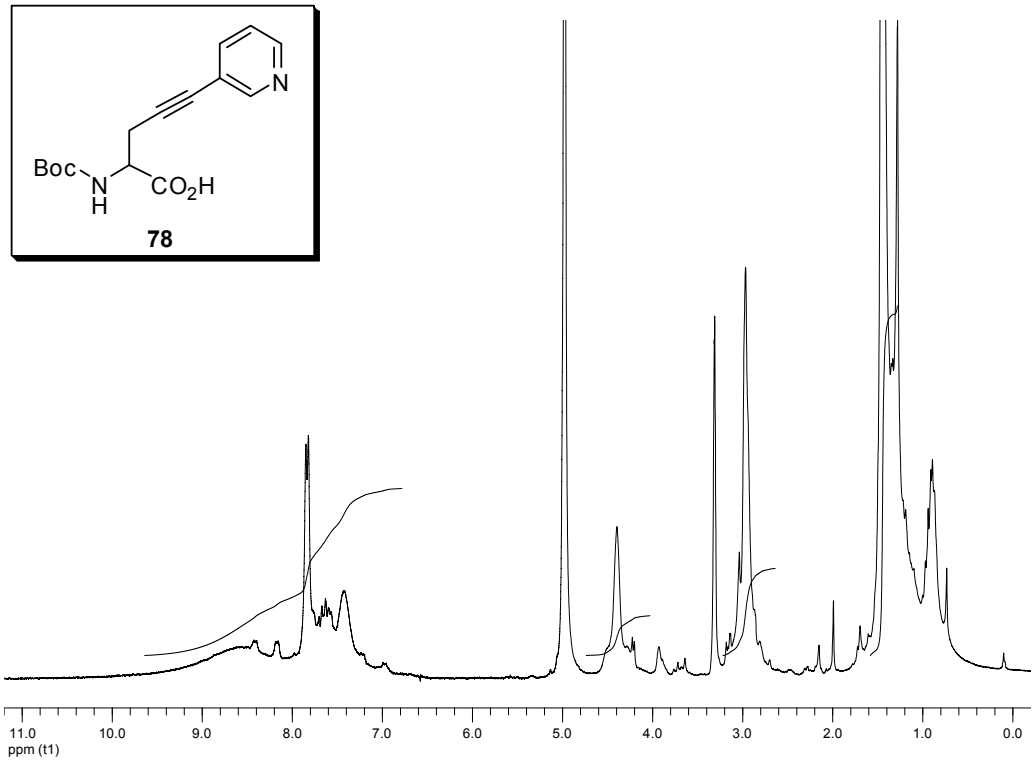


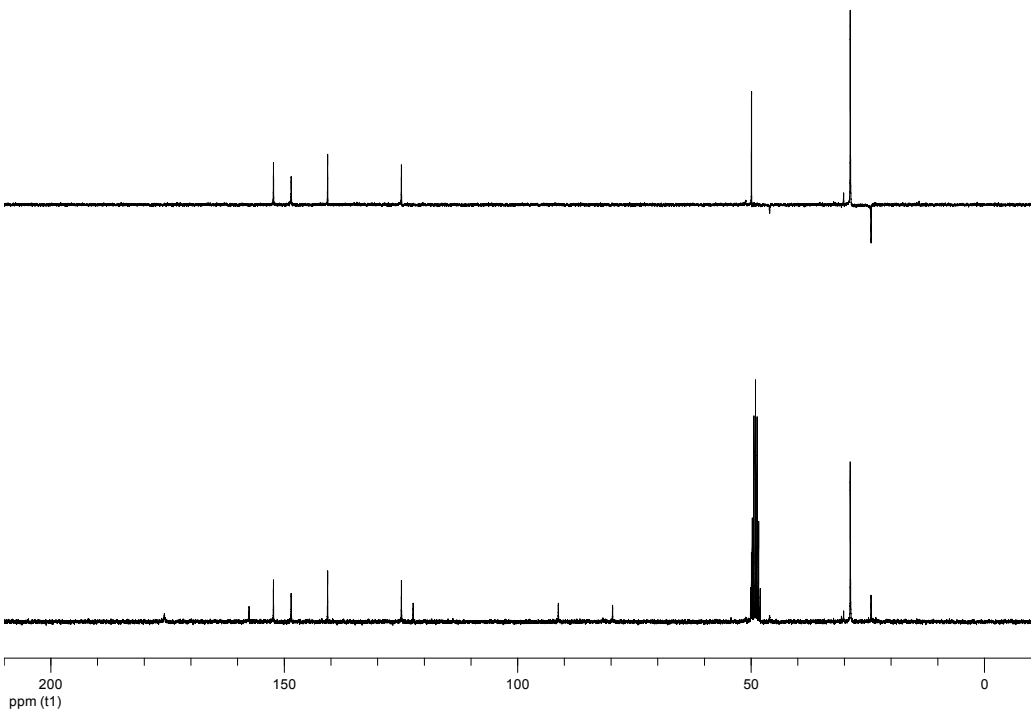
56



27.2.5. SÍNTESIS DE N-BOC-(HETERO)ARILPROPARGILGLICINAS

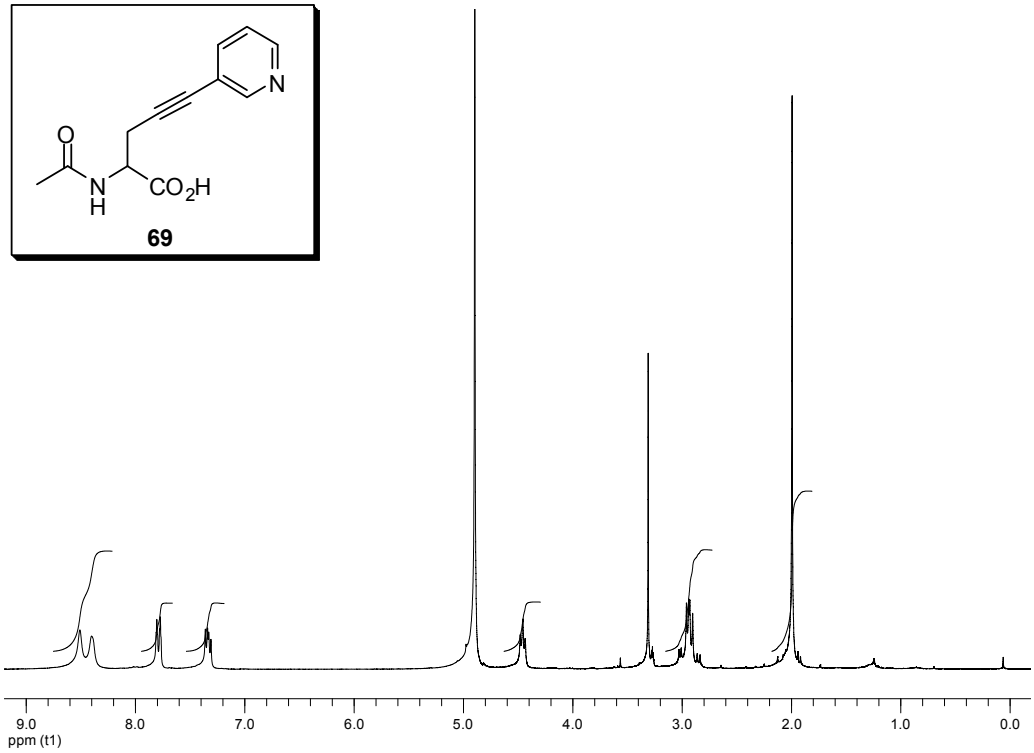
78

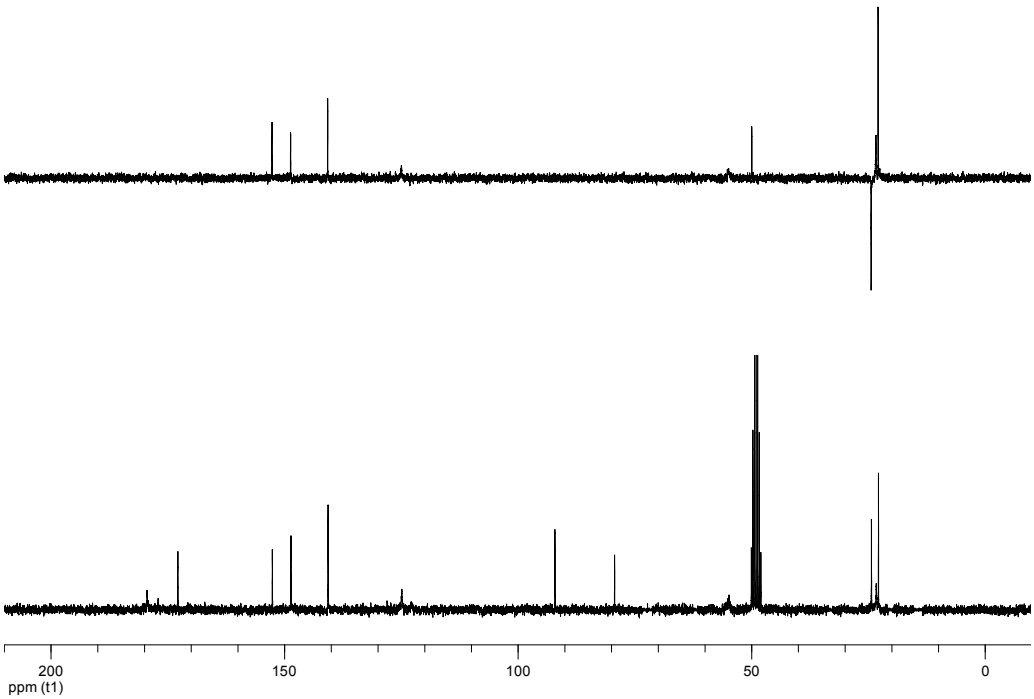


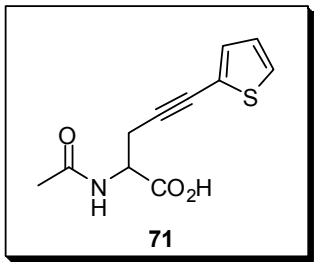


27.2.6. SÍNTESIS DE ÁCIDOS N-ACETIL-*DL*-(HETERO)ARIL-2-AMINOPENT-4-INOICOS

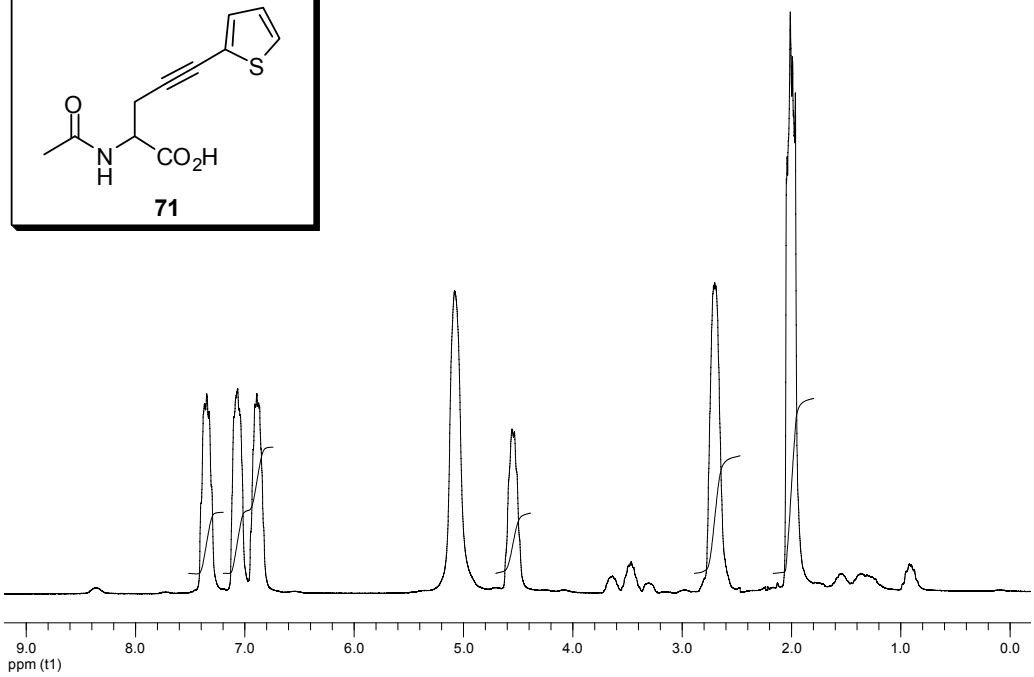
69

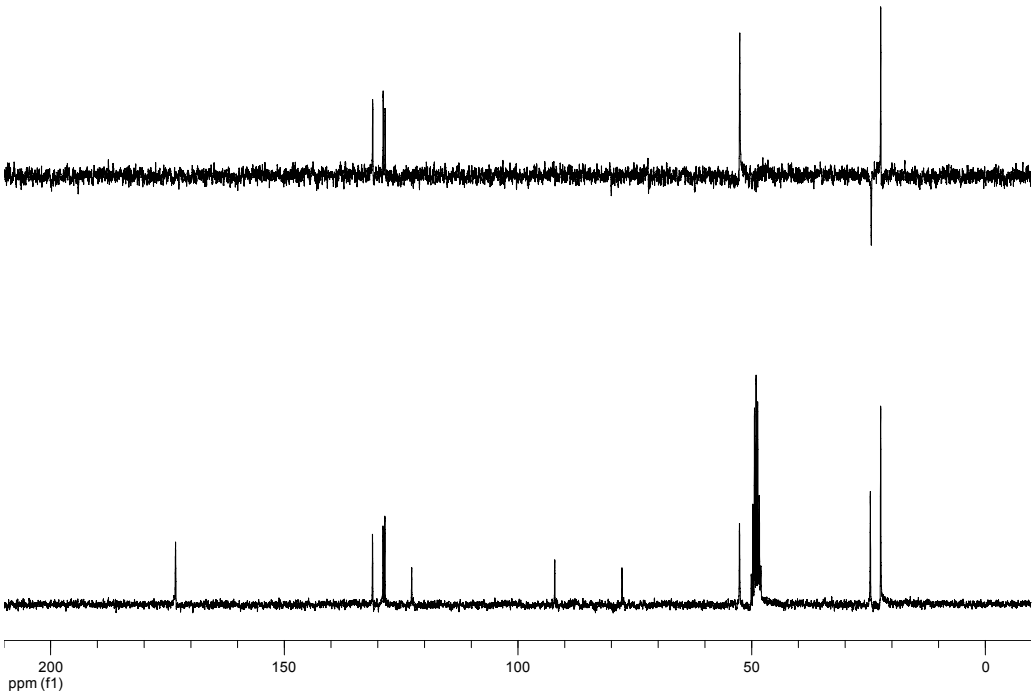





O
N
H
CO2H
S

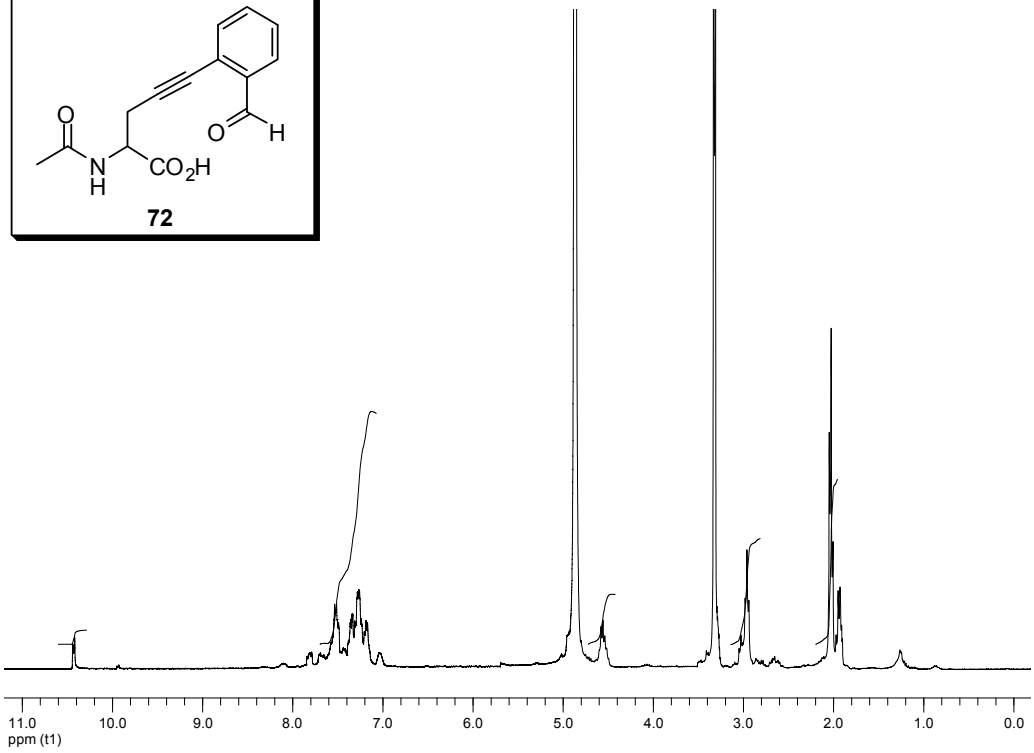
71

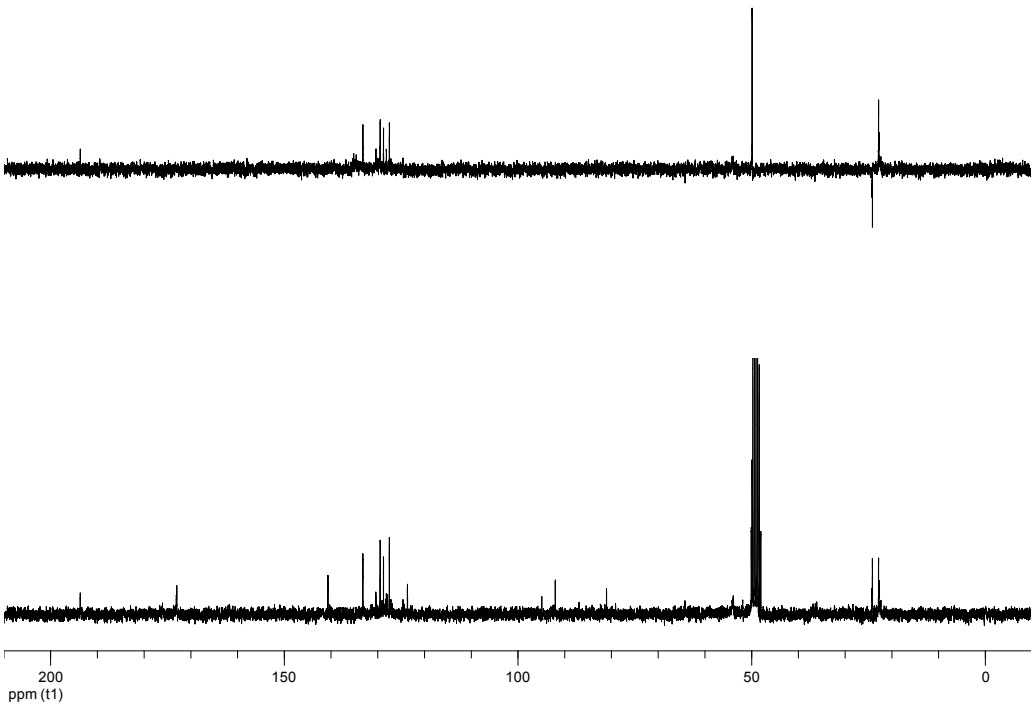

9.0
8.0
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
ppm (t1)

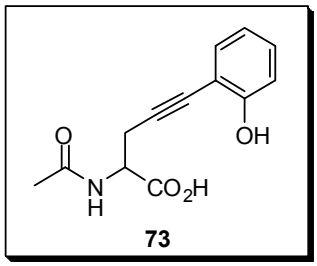

200
150
100
50
0
ppm (f1)

O
O
H
N
H
CO2H

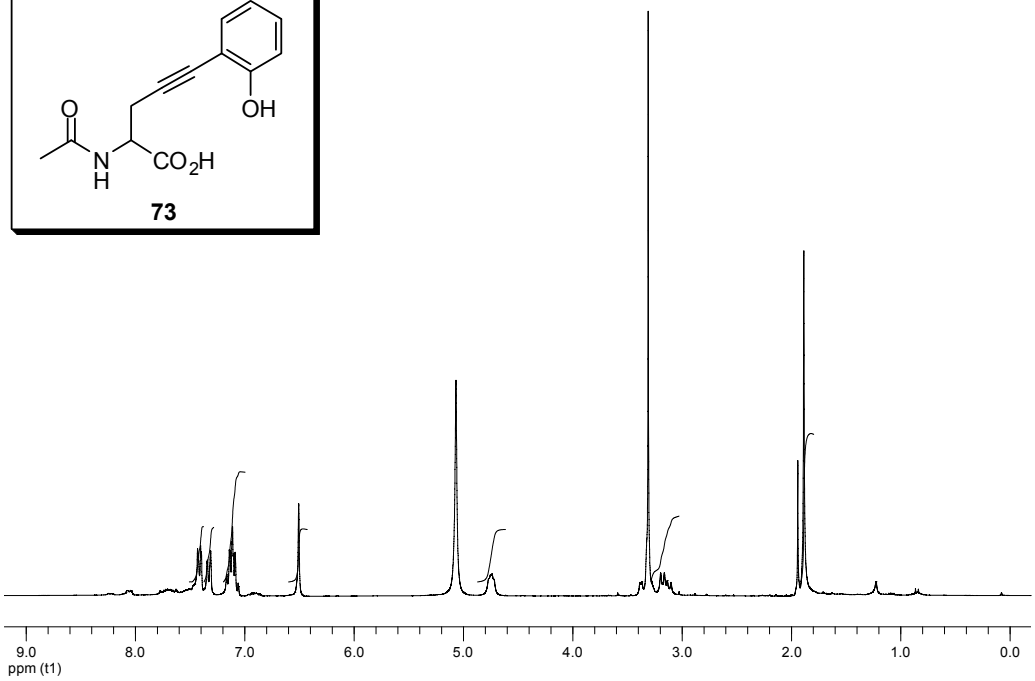
72

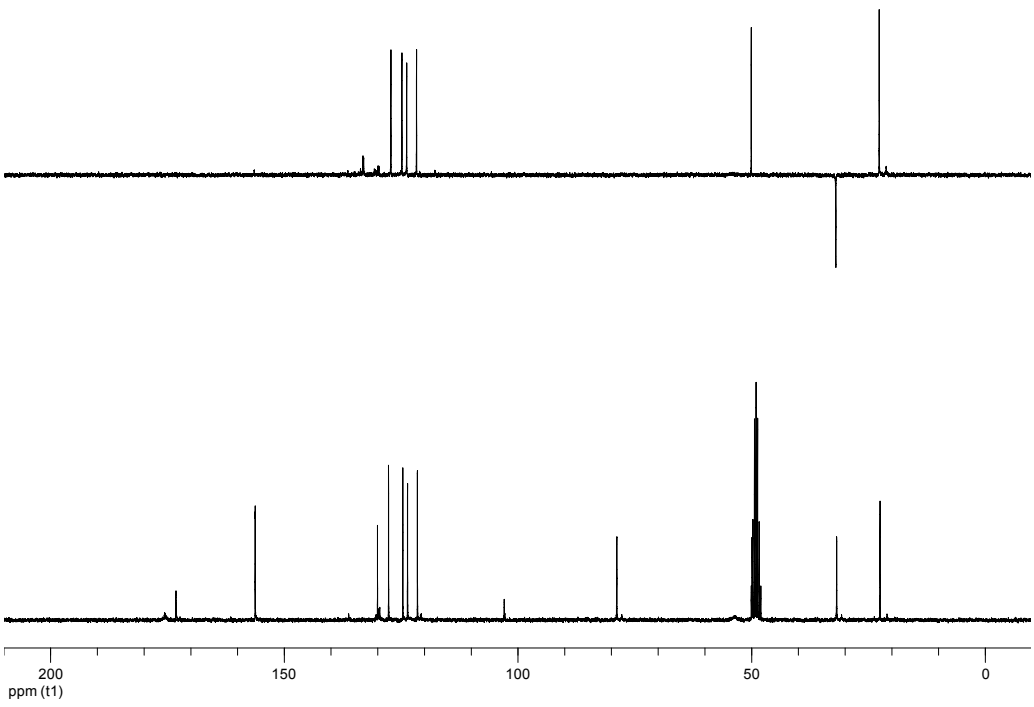

11.0
10.0
9.0
8.0
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
ppm (t1)


200
150
100
50
0
ppm (t1)


O
OH
N
H
CO2H

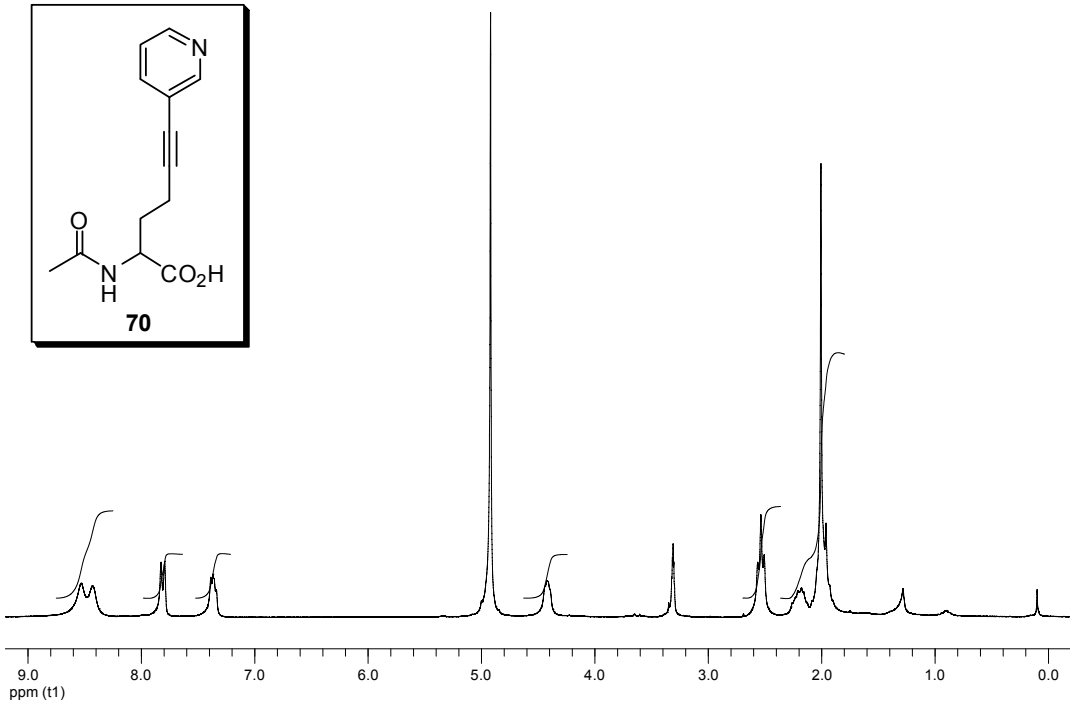
73

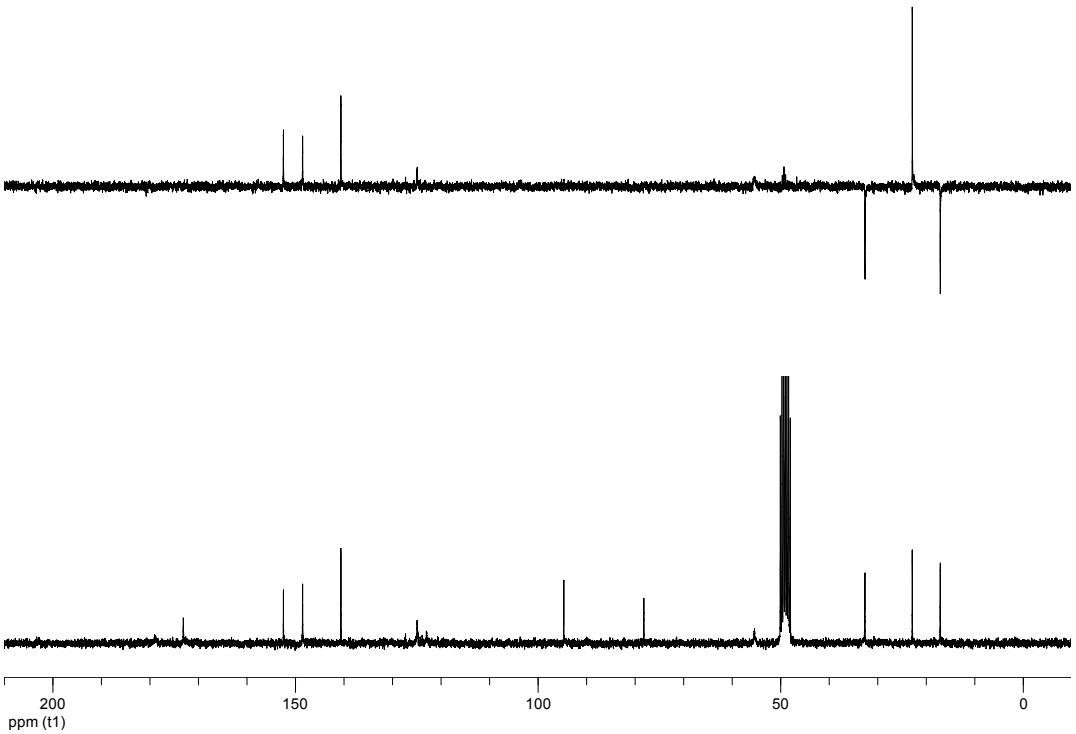

9.0
8.0
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
ppm (t1)

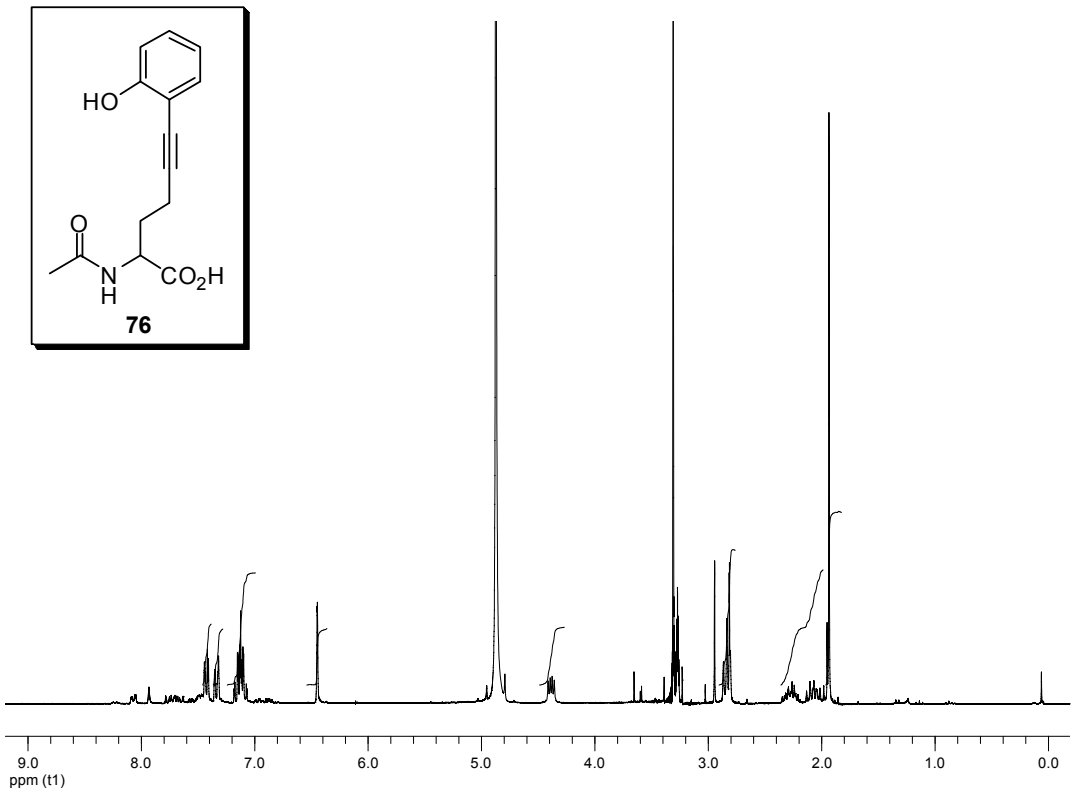

200
150
100
50
0
ppm (t1)

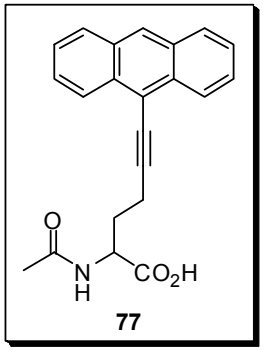
27.2.7. SÍNTESIS DE ÁCIDOS N-ACETIL-*DL*-(HETERO)ARIL-2-AMINOHEX-5-INOICOS

70

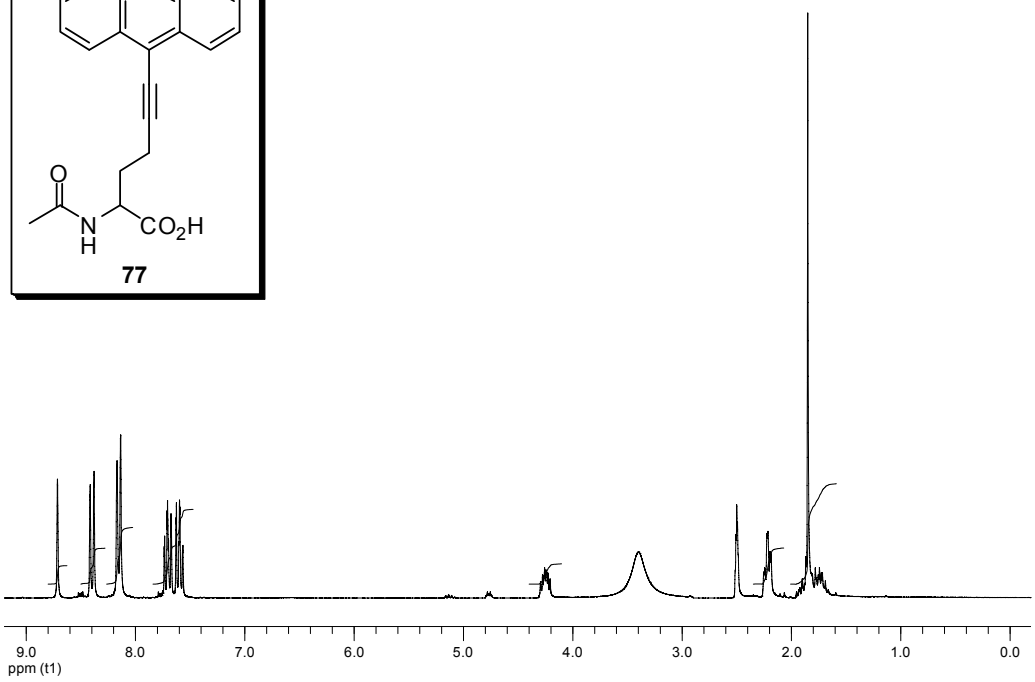


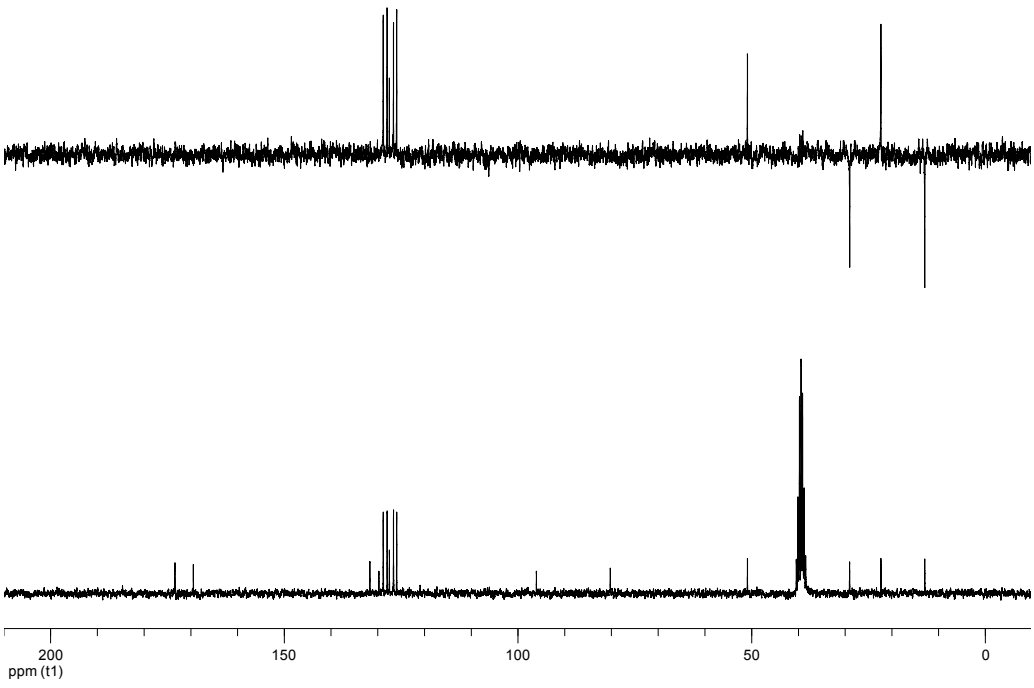



HO
O
N
H
CO2H
76
9.0
8.0
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
ppm (t1)

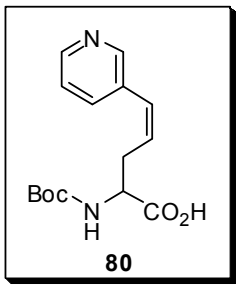


77

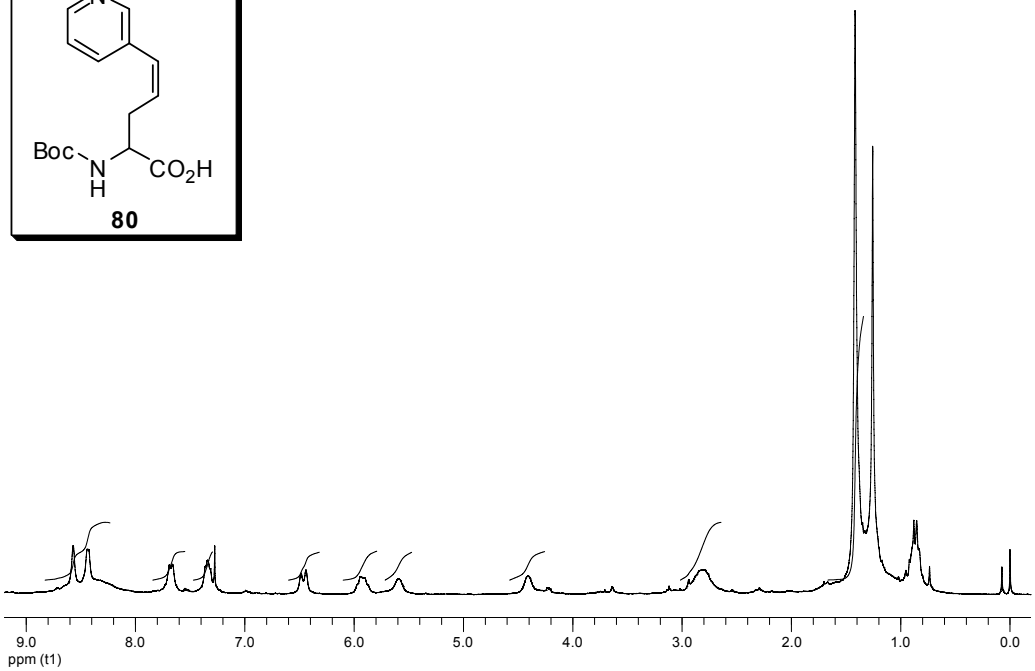


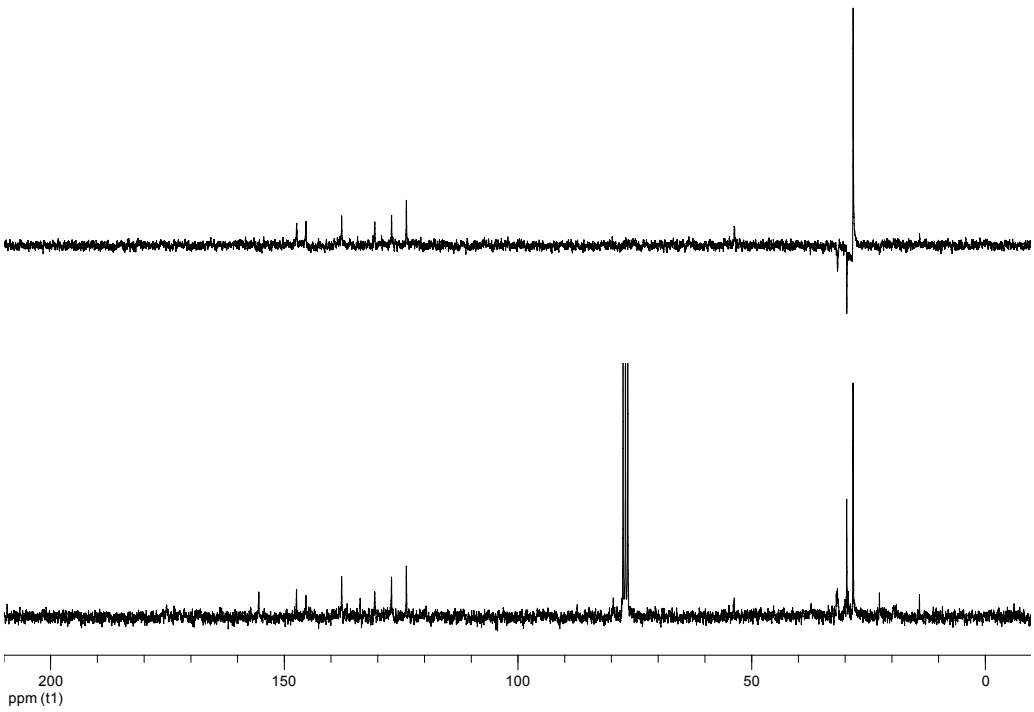


27.2.8. SEMI-HIDROGENACIÓN DE AMINOÁCIDOS (HETERO)ARILPROPARGILADOS

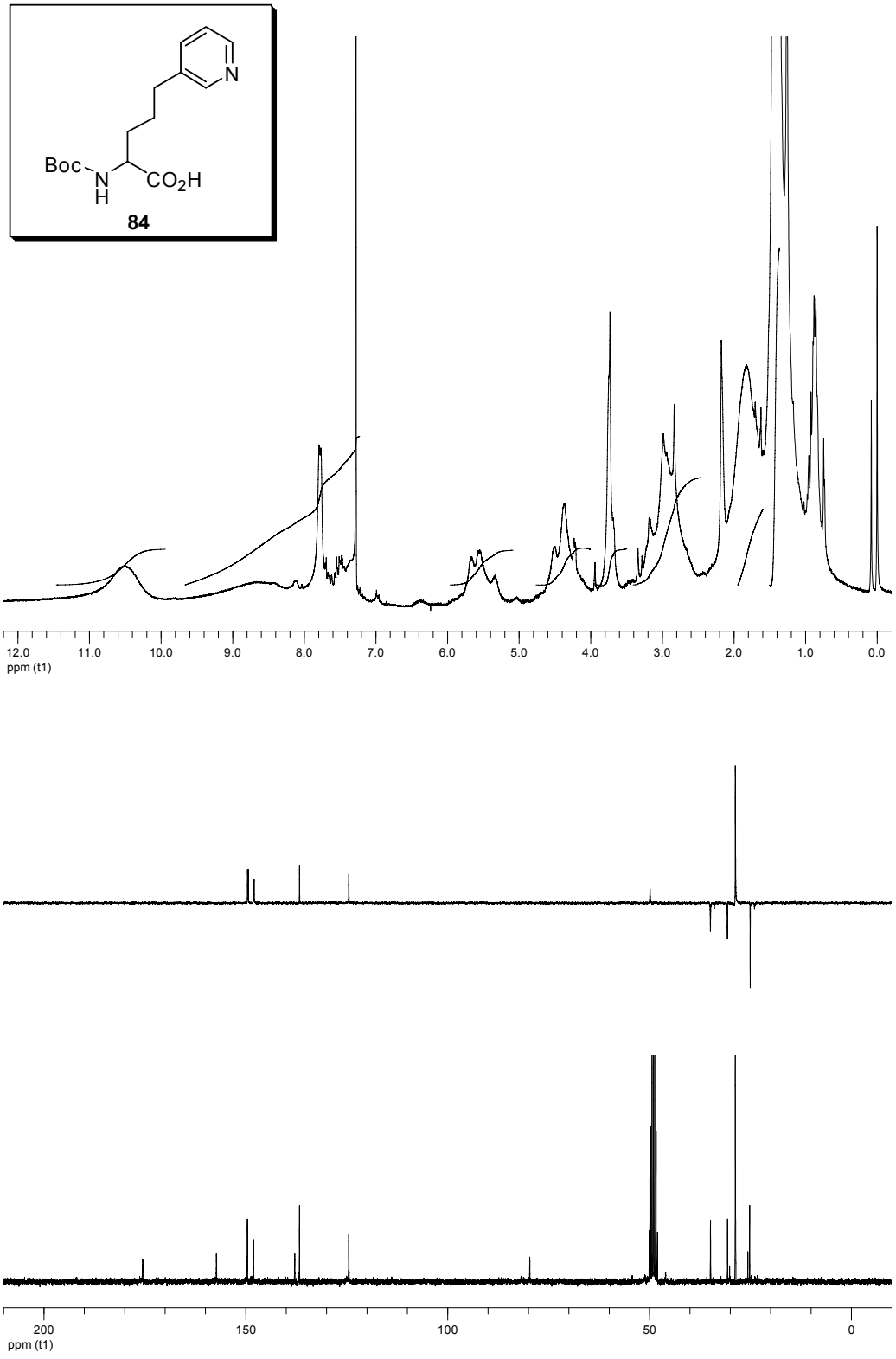


80

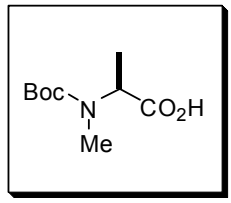


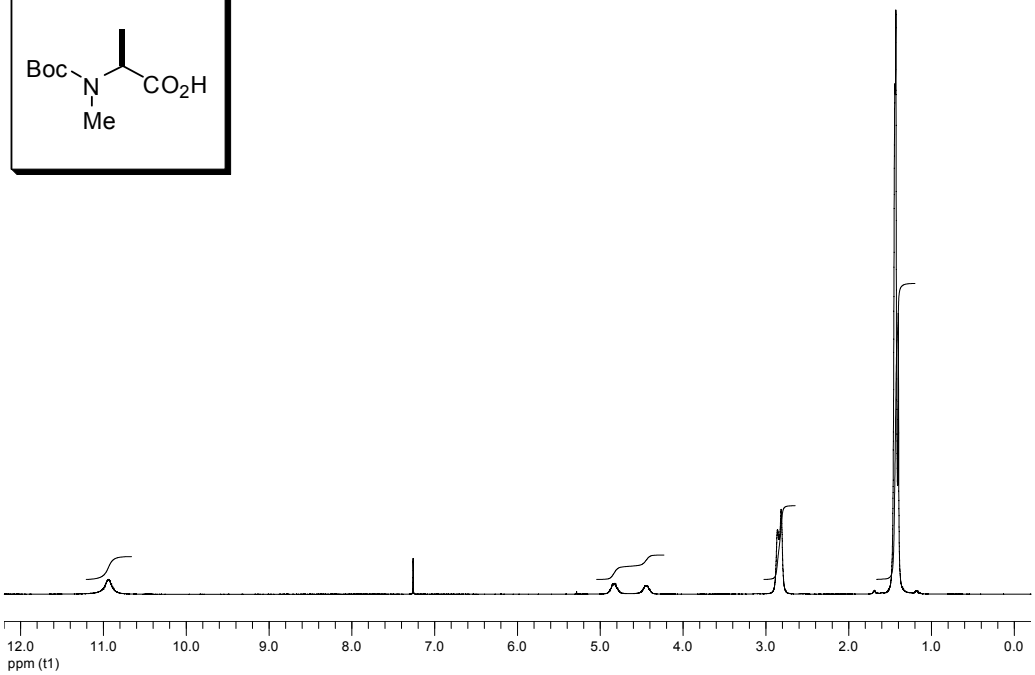


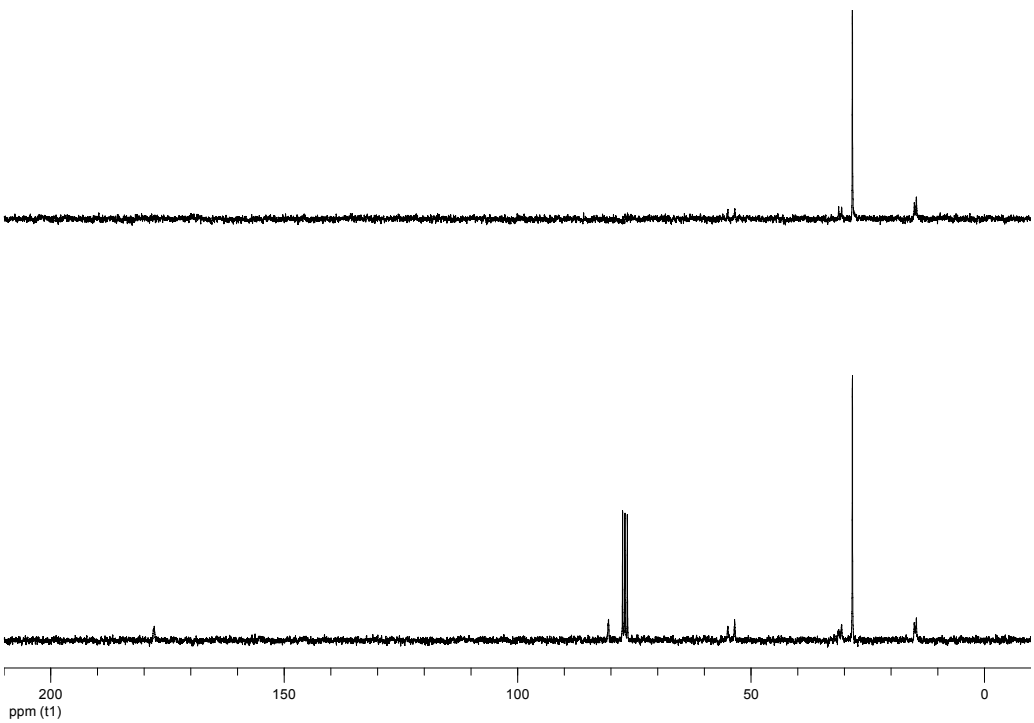
27.2.9. HIDROGENACIÓN DE AMINOÁCIDOS (HETERO)ARILPROPARGILADOS

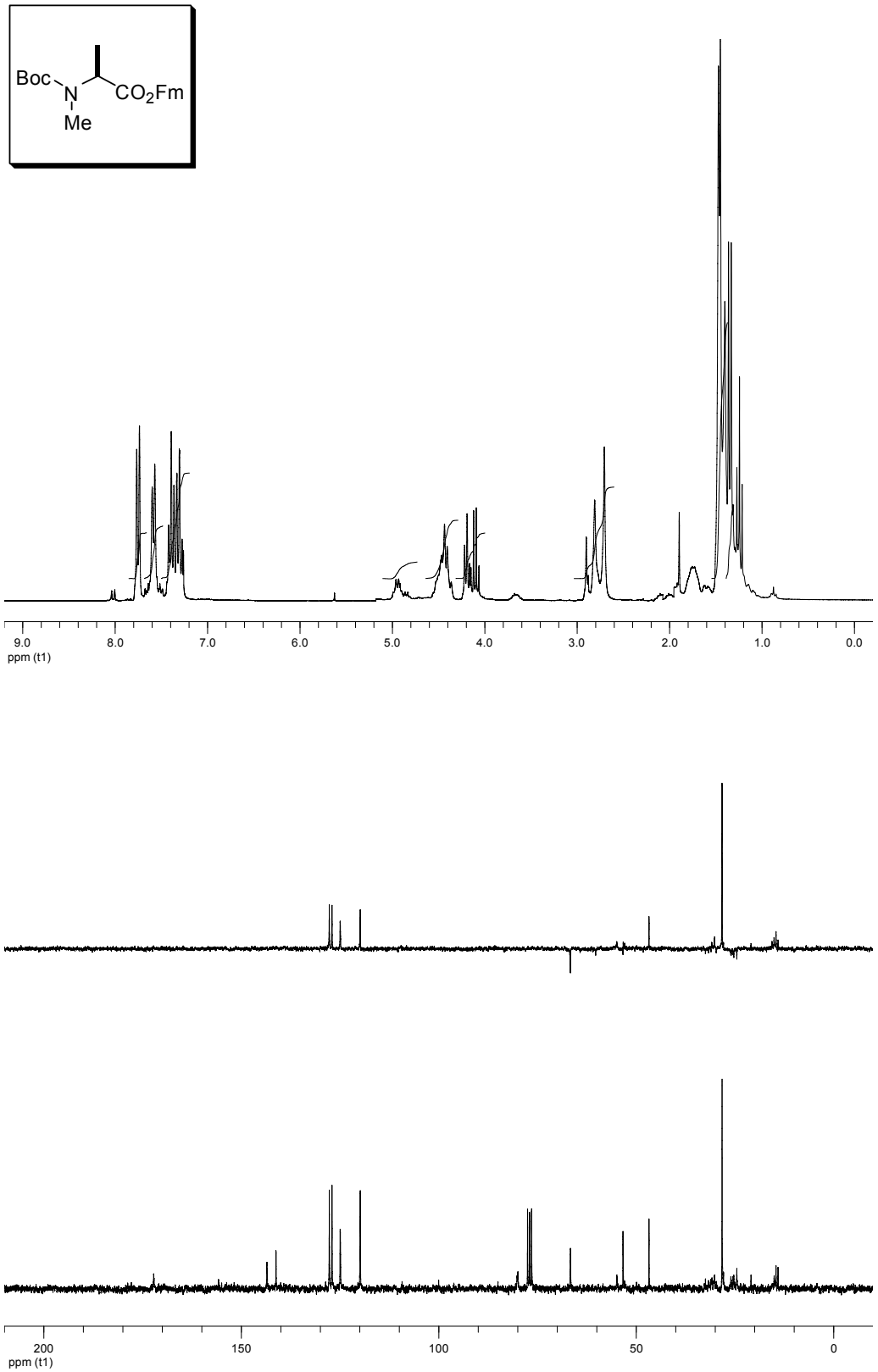


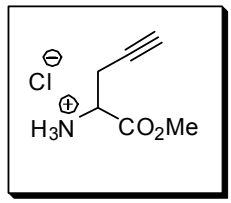
27.2.10. OTROS α-AMINOÁCIDOS

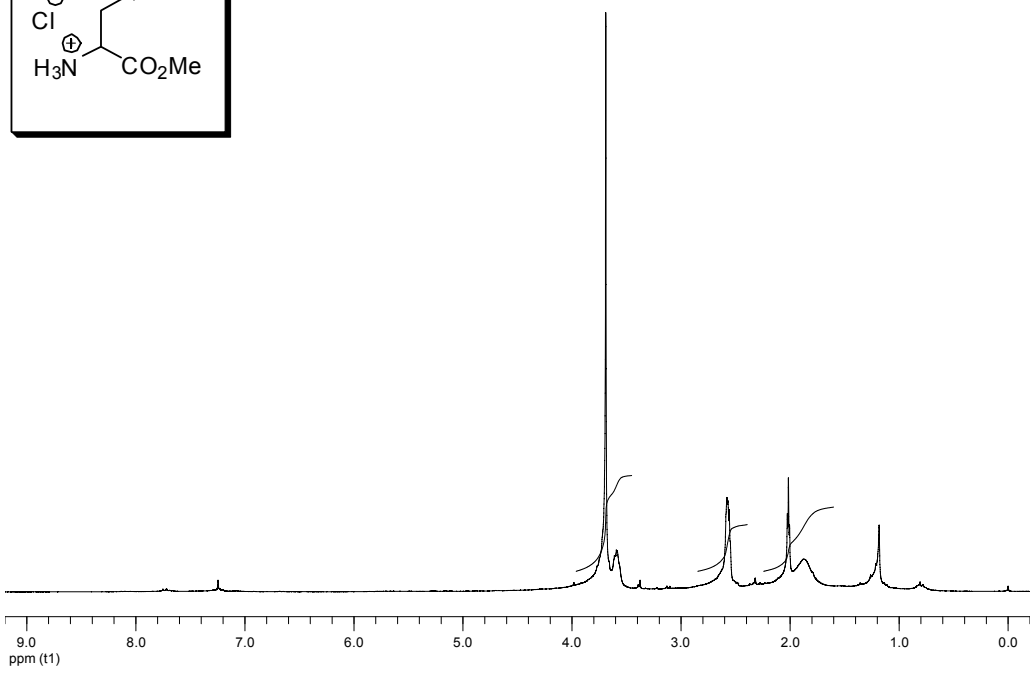


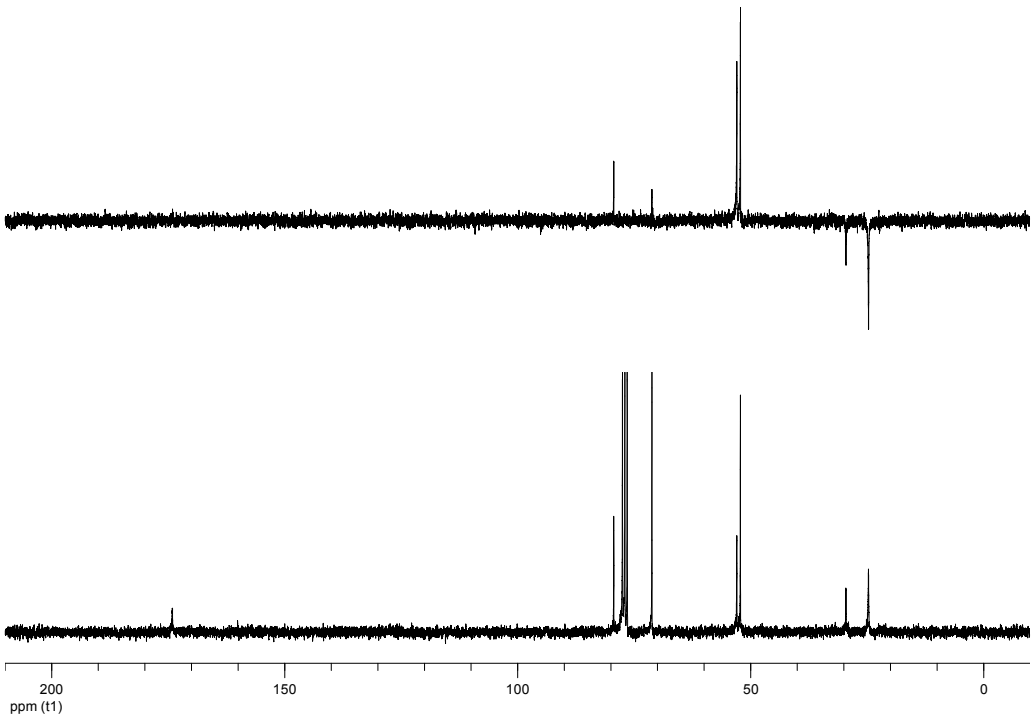


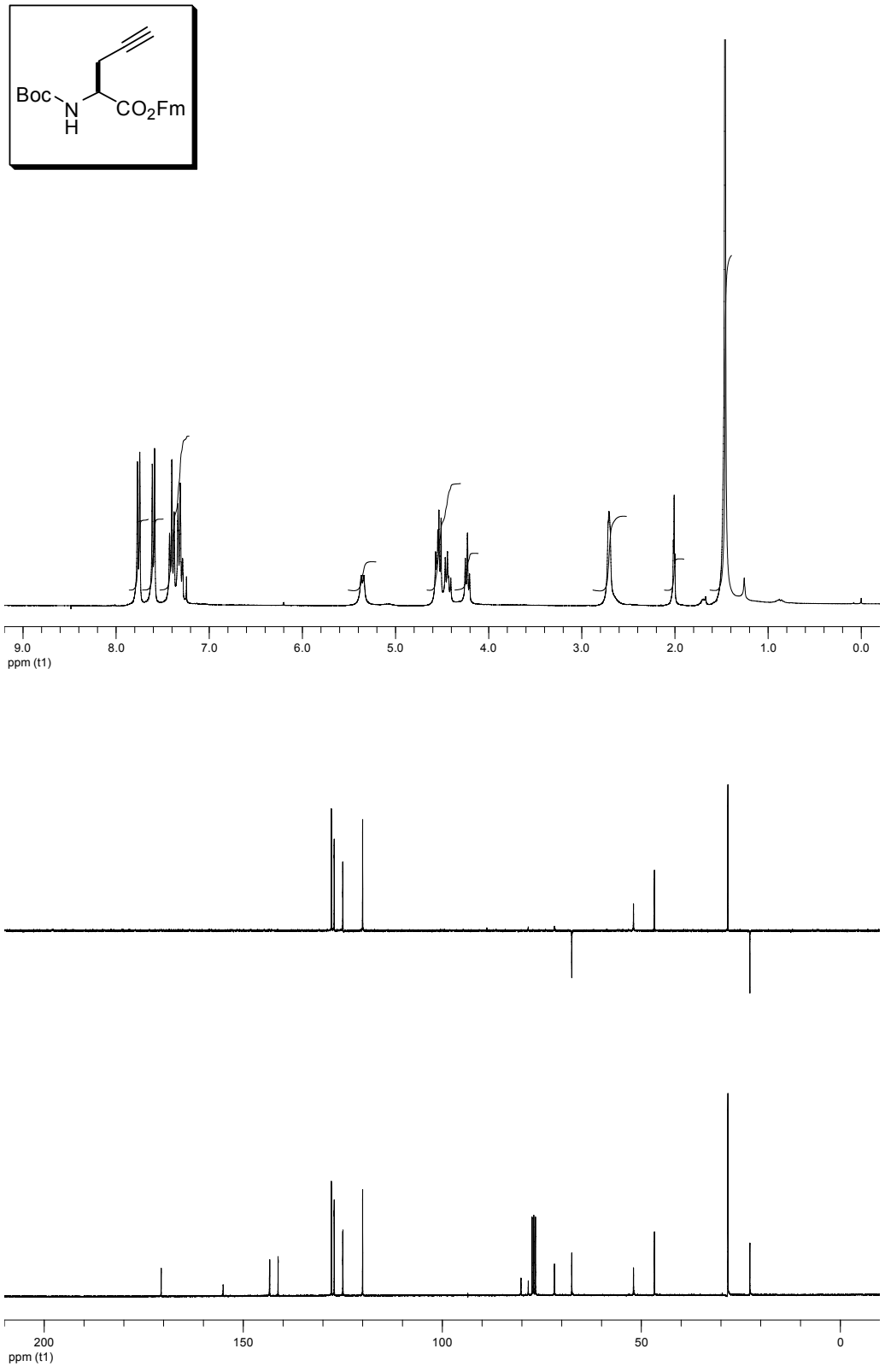


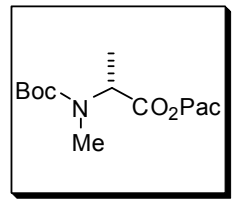

Boc
N
Me
CO2Fm
9.0
8.0
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
ppm (t1)
200
150
100
50
0
ppm (t1)

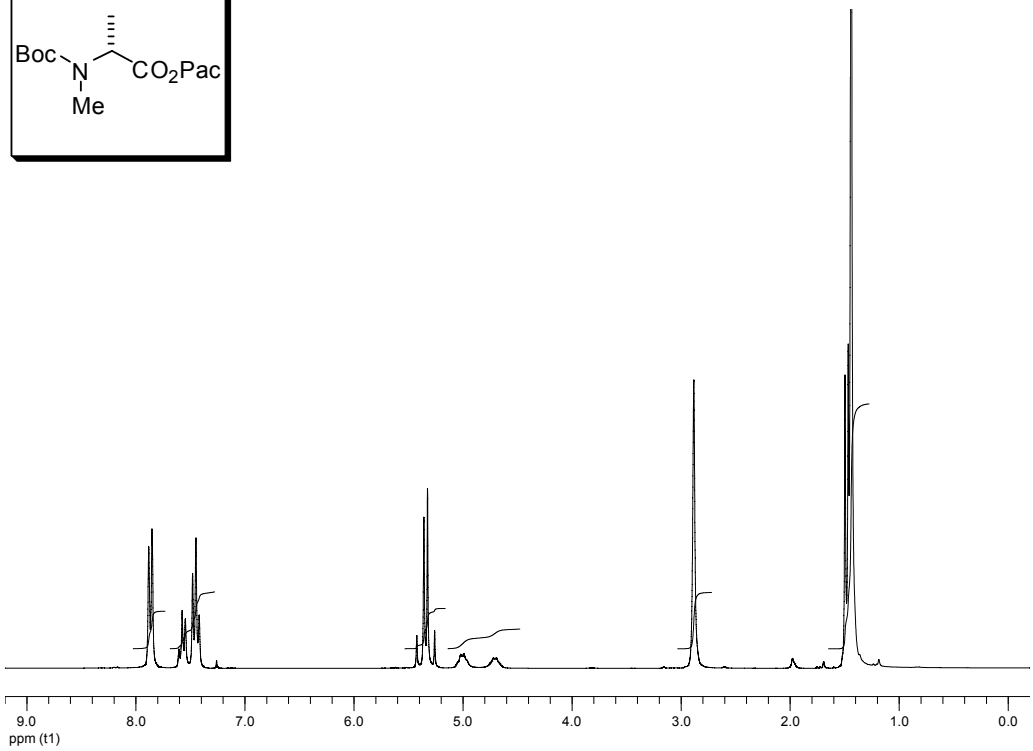

Cl
H3N
CO2Me

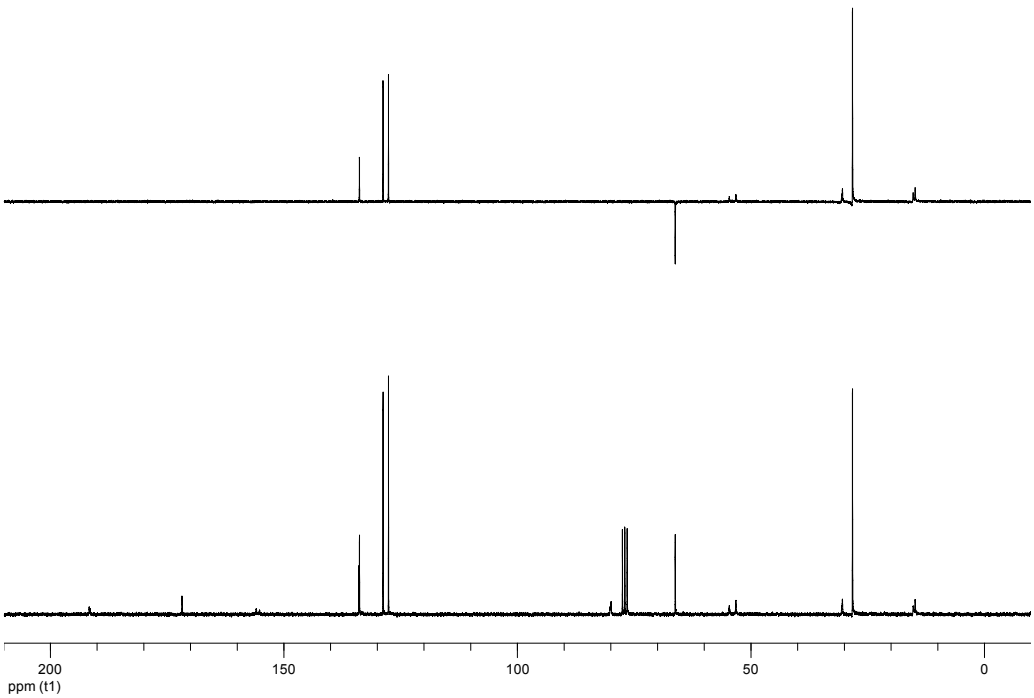

9.0
8.0
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
ppm (t1)


200
150
100
50
0
ppm (t1)


Boc
N
H
CO2Fm
9.0
8.0
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
ppm (t1)
200
150
100
50
0
ppm (t1)

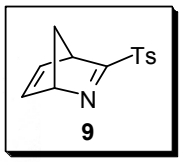

Boc
N
Me
CO2Pac


9.0
8.0
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
ppm (t1)

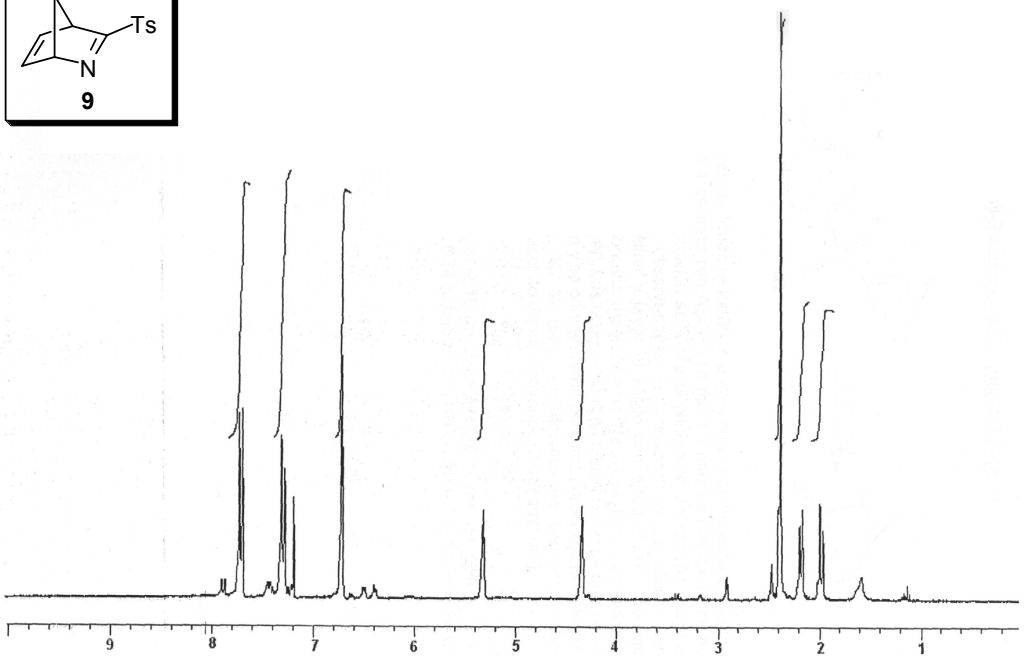

200
150
100
50
0
ppm (t1)

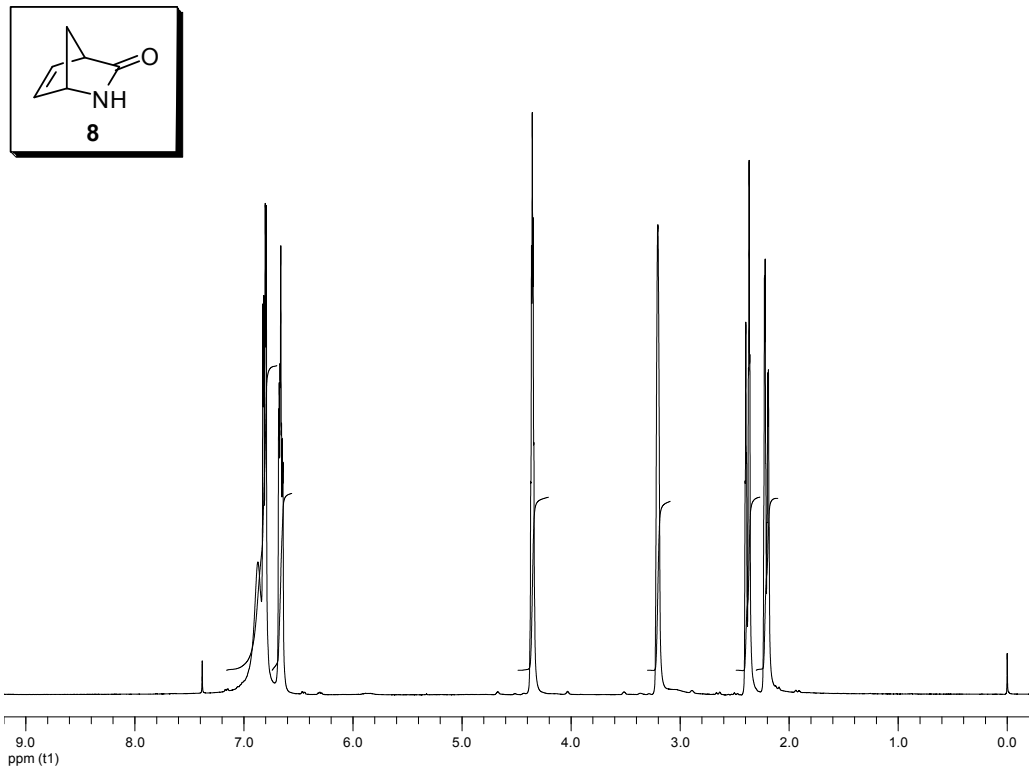
27.3. γ-AMINOÁCIDOS

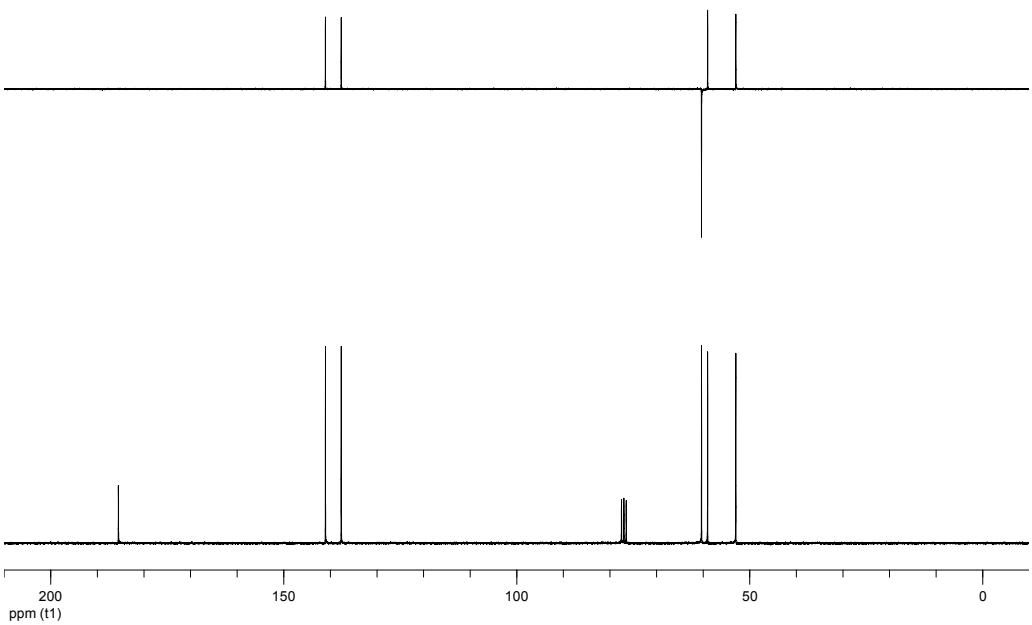
27.3.1. SÍNTESIS DE DERIVADOS DEL ÁCIDO 3-AMINOCICLOPENTANO-CARBOXÍLICO

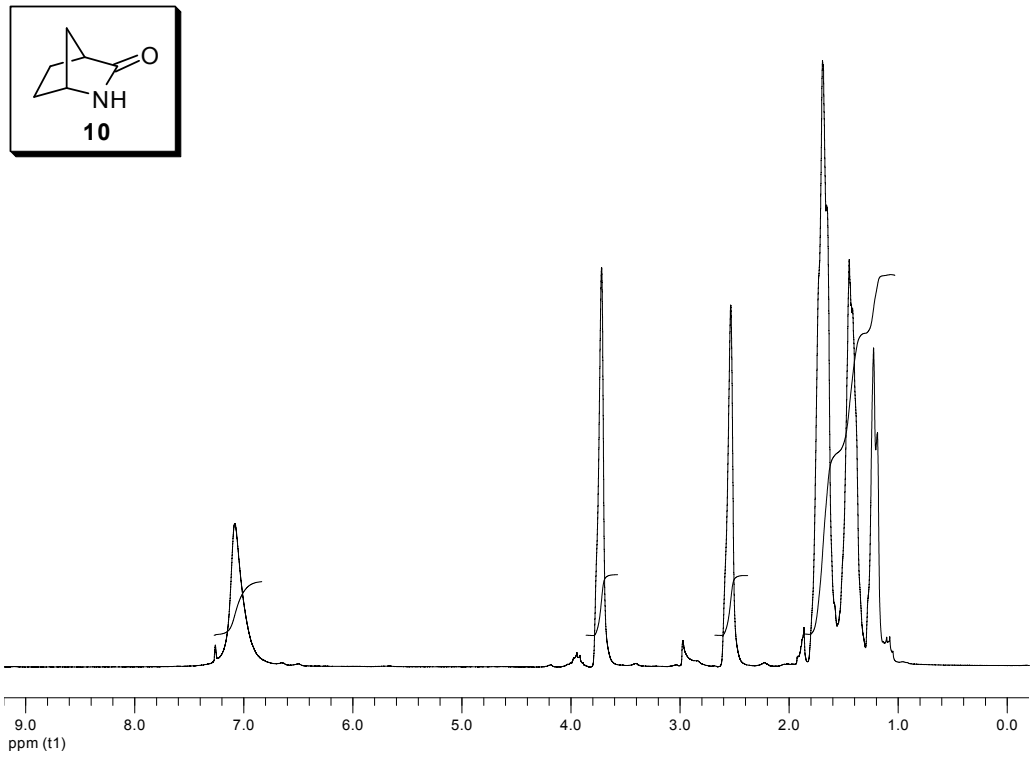


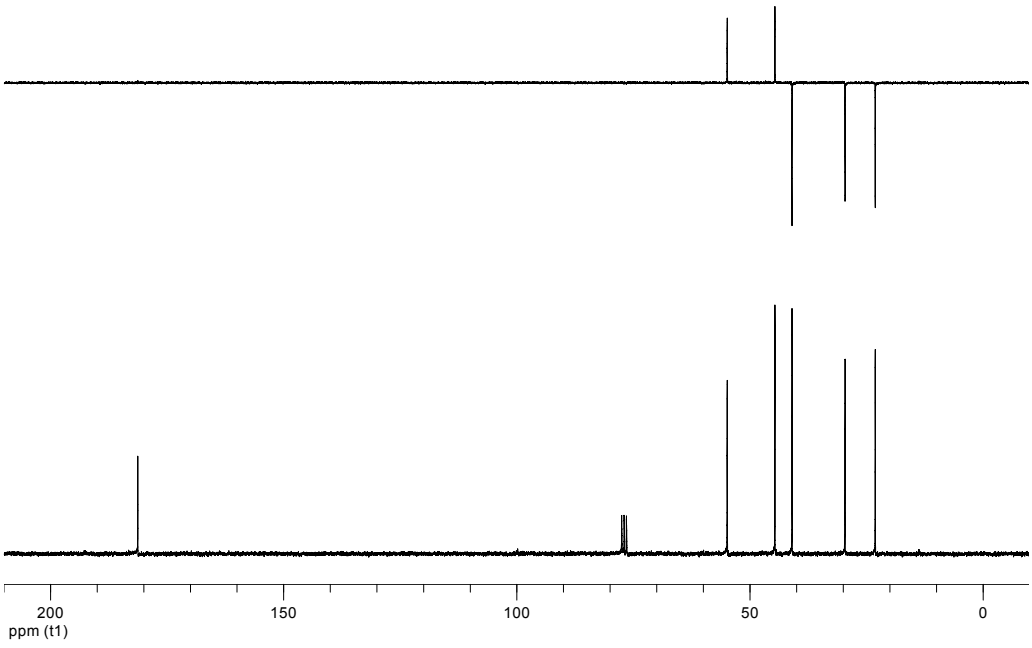
9

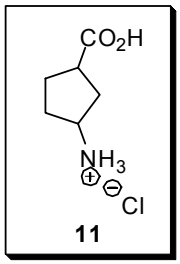



O
NH
8
9.0
8.0
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
ppm (t1)

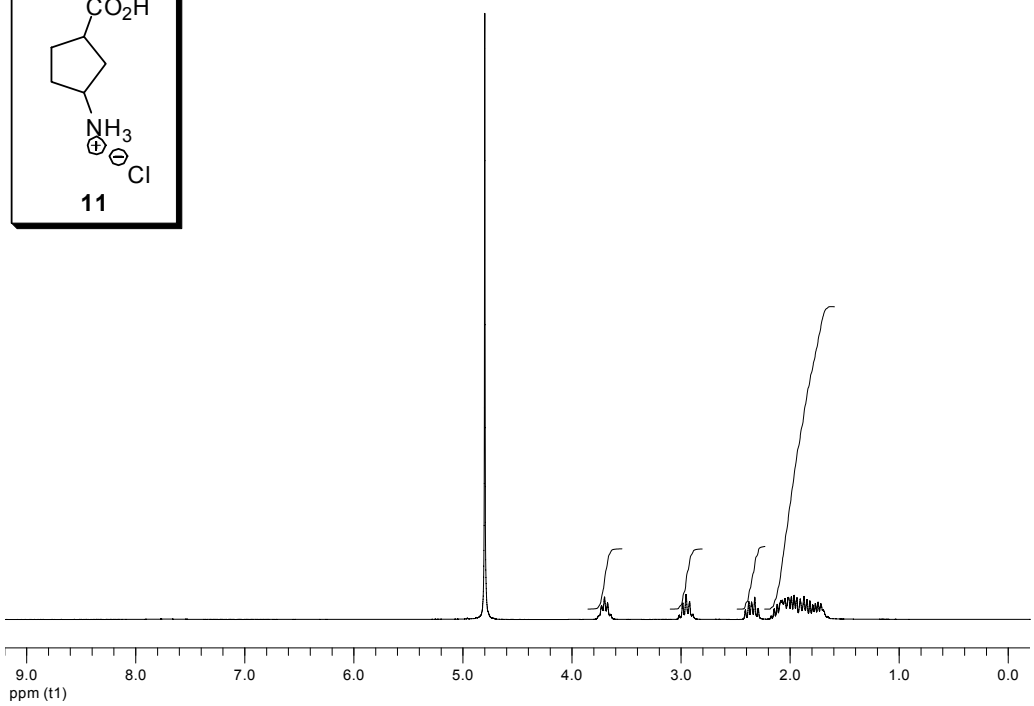

200
150
100
50
0
ppm (t1)

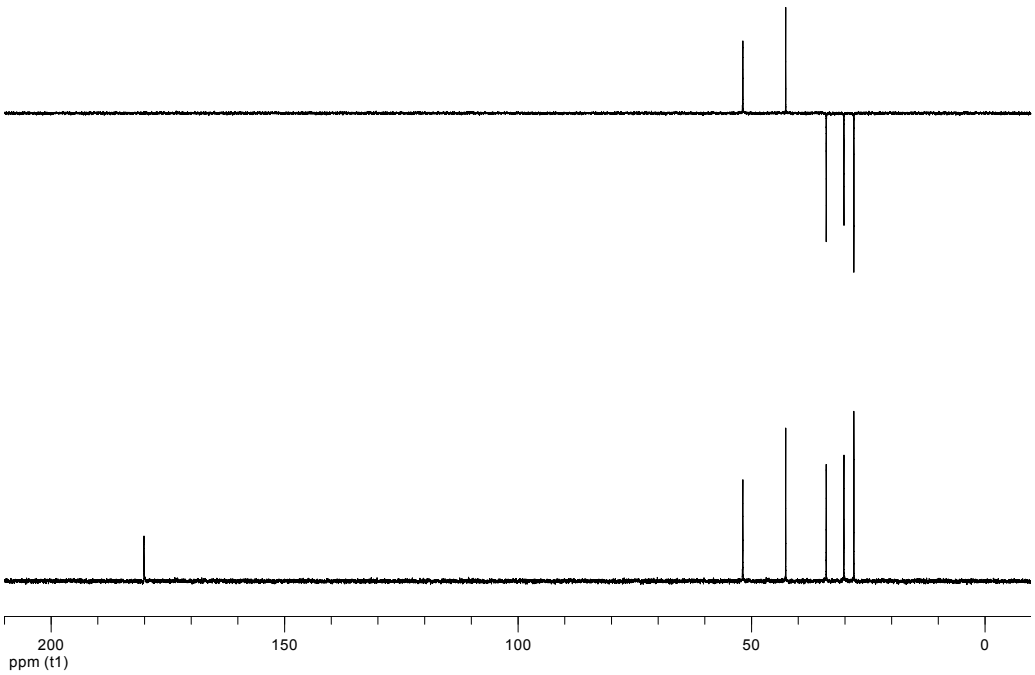

O
NH
10
9.0
8.0
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
ppm (t1)


200
150
100
50
0
ppm (t1)


CO2H
NH3
Cl

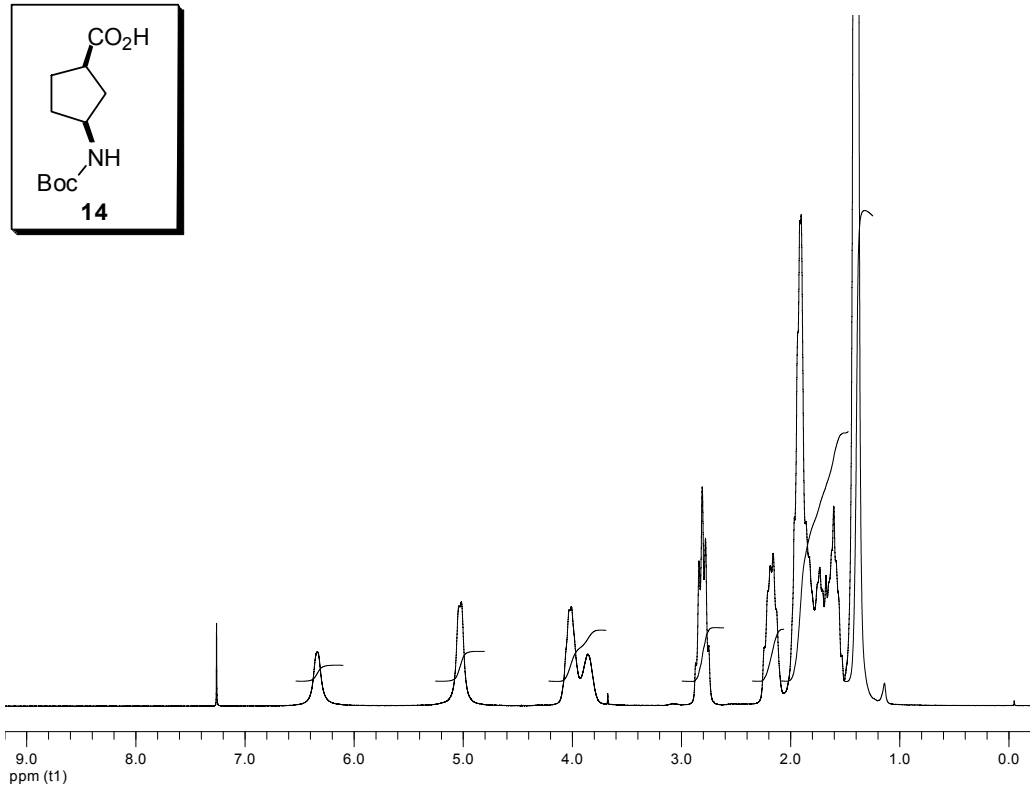
11

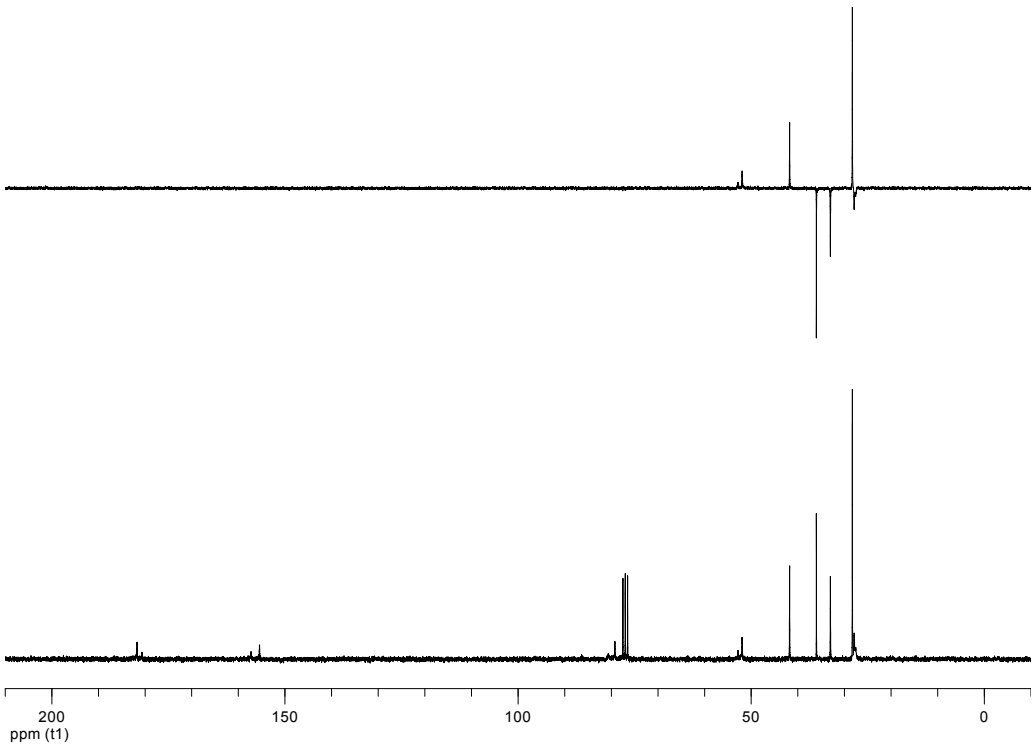

9.0
8.0
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
ppm (t1)


200
150
100
50
0
ppm (t1)

CO2H
NH
Boc

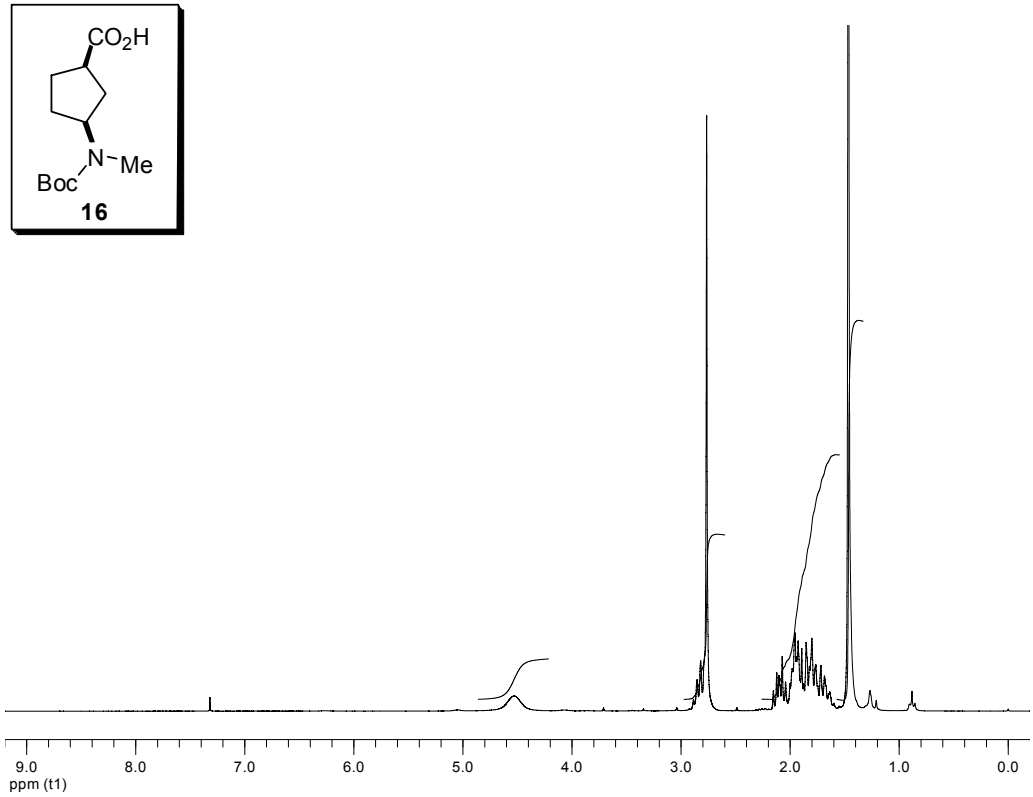
14

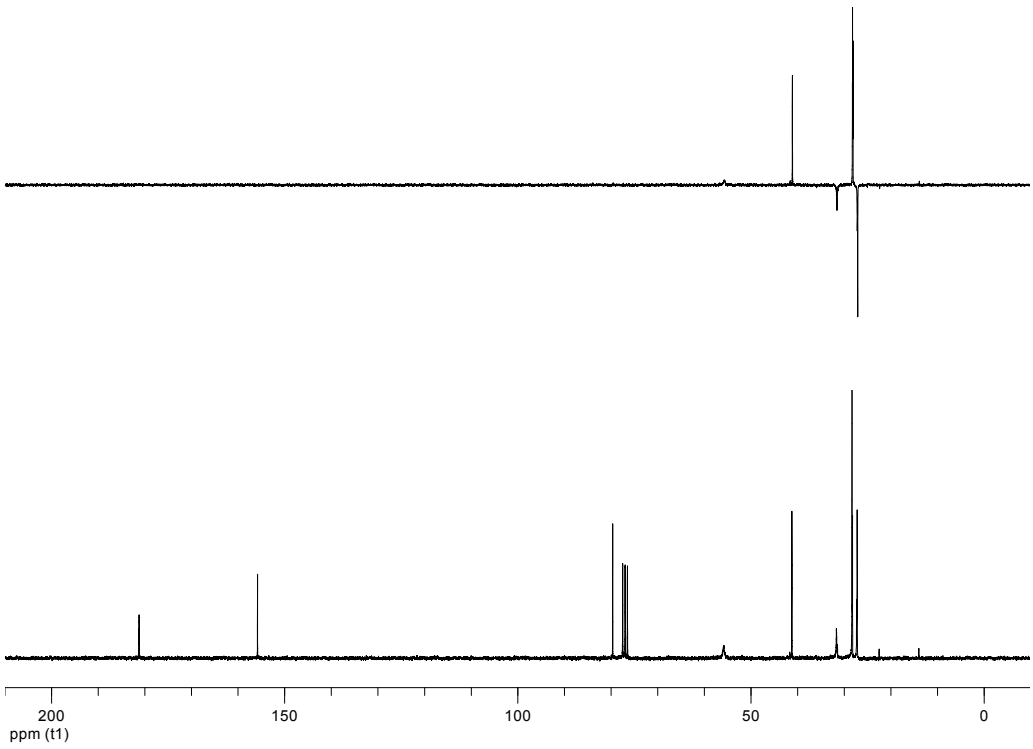

9.0
8.0
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
ppm (t1)


200
150
100
50
0
ppm (t1)

CO2H
N
Me
Boc

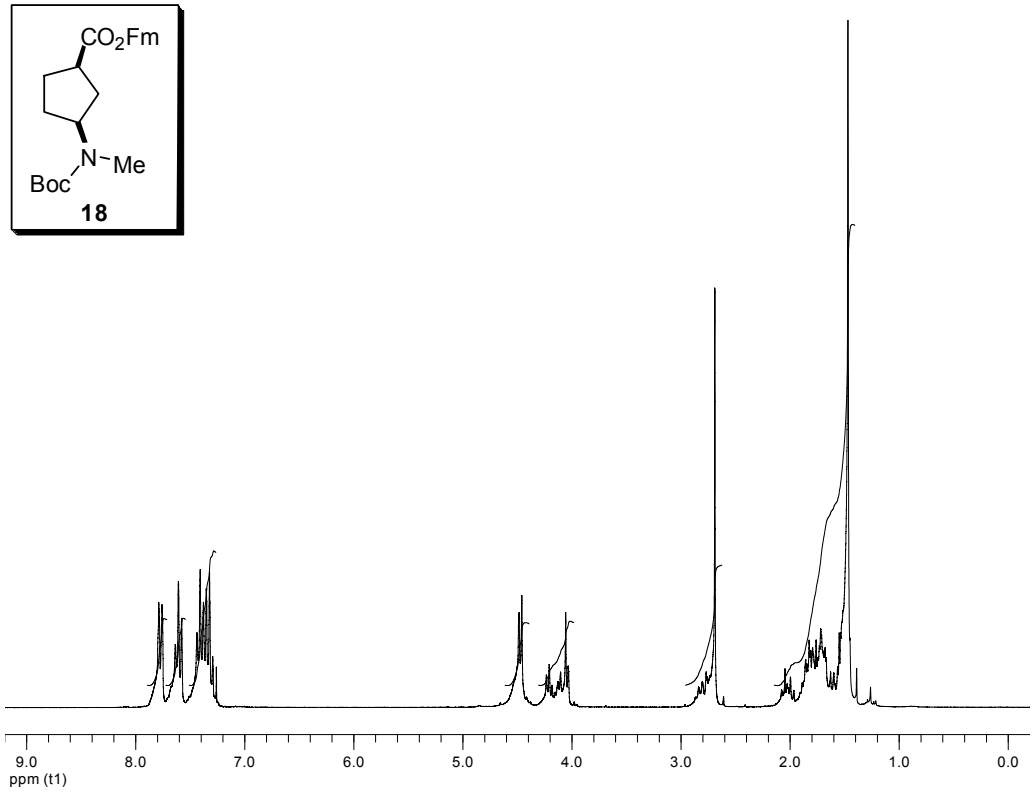
16

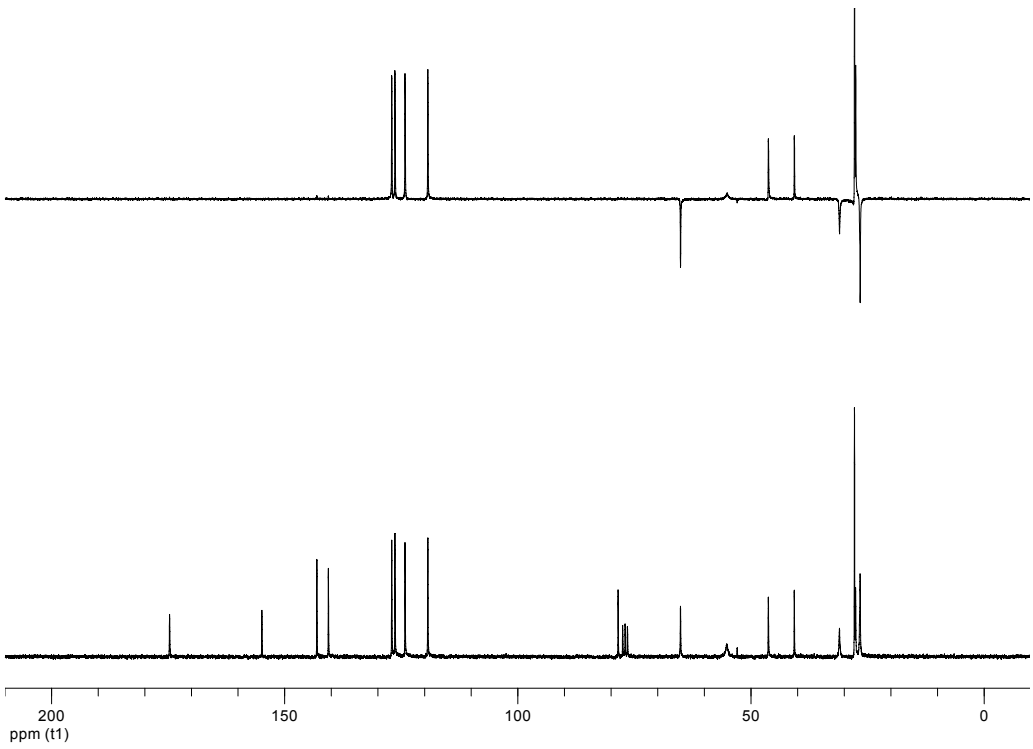

9.0
8.0
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
ppm (t1)


200
150
100
50
0
ppm (t1)

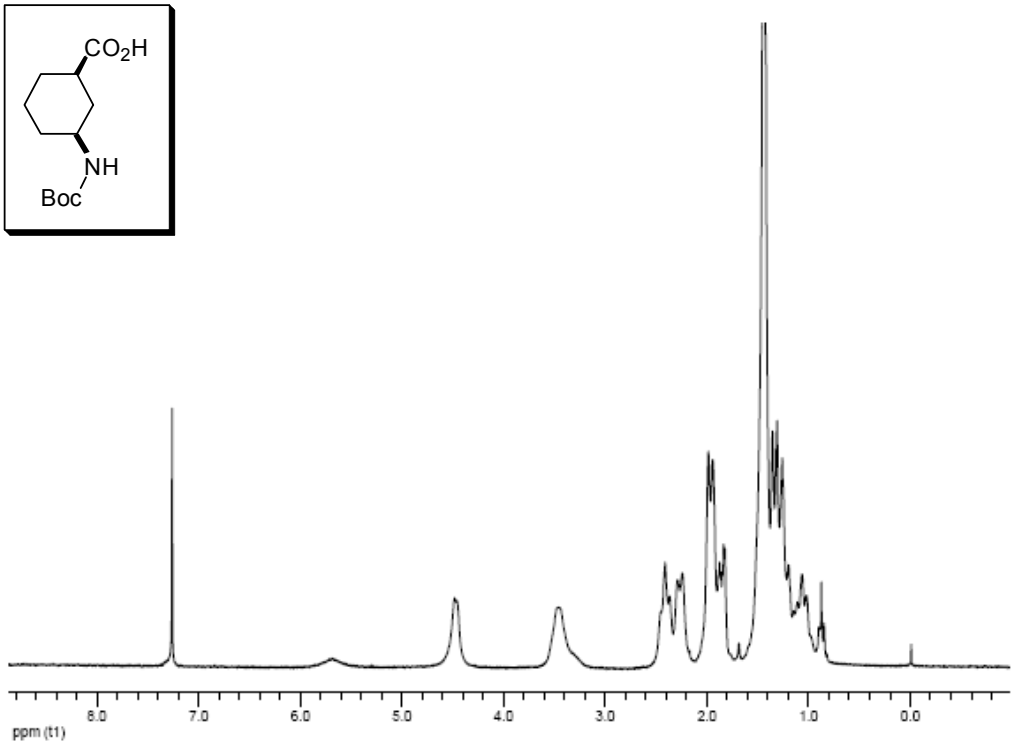
CO2Fm
N
Me
Boc

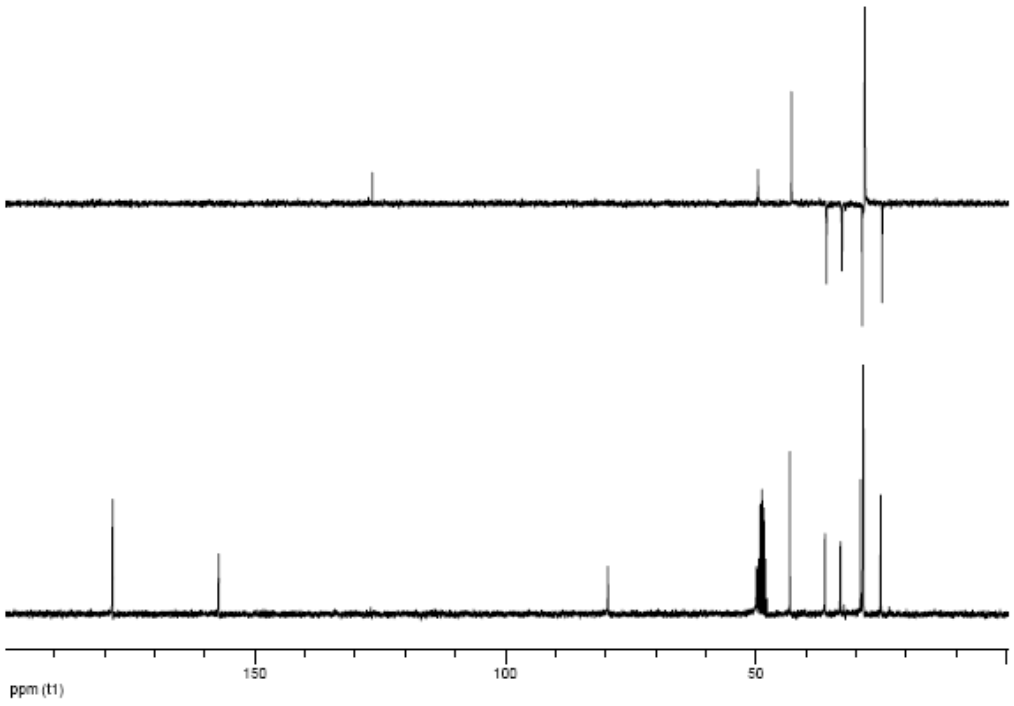
18

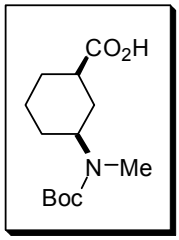

9.0
8.0
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
ppm (t1)

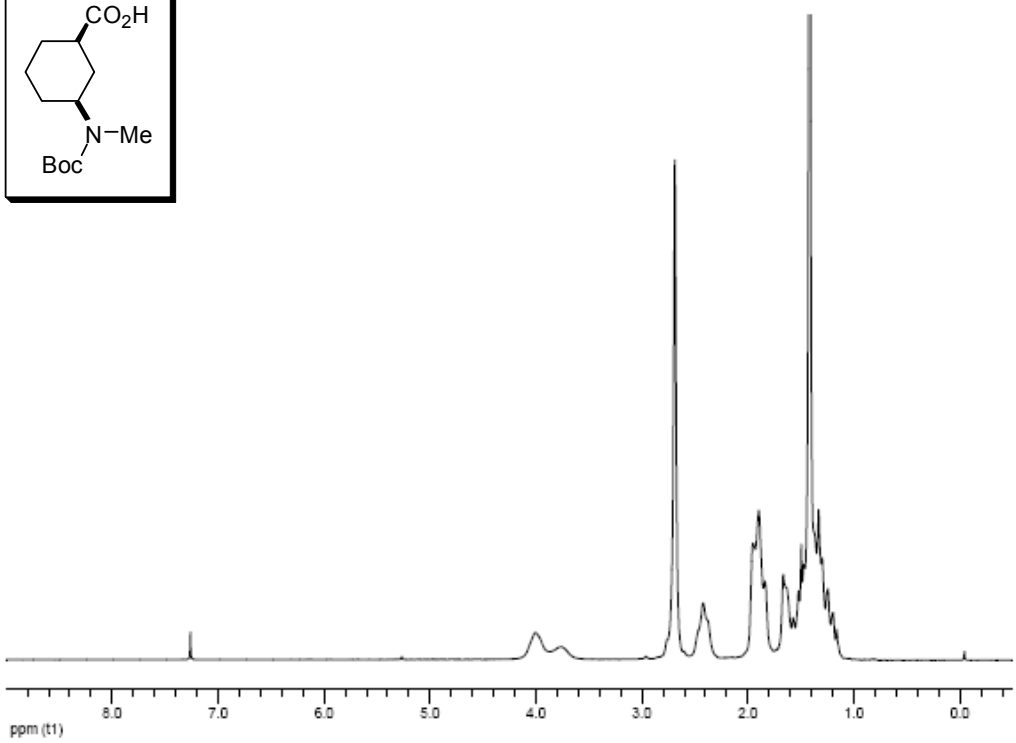

200
150
100
50
0
ppm (t1)

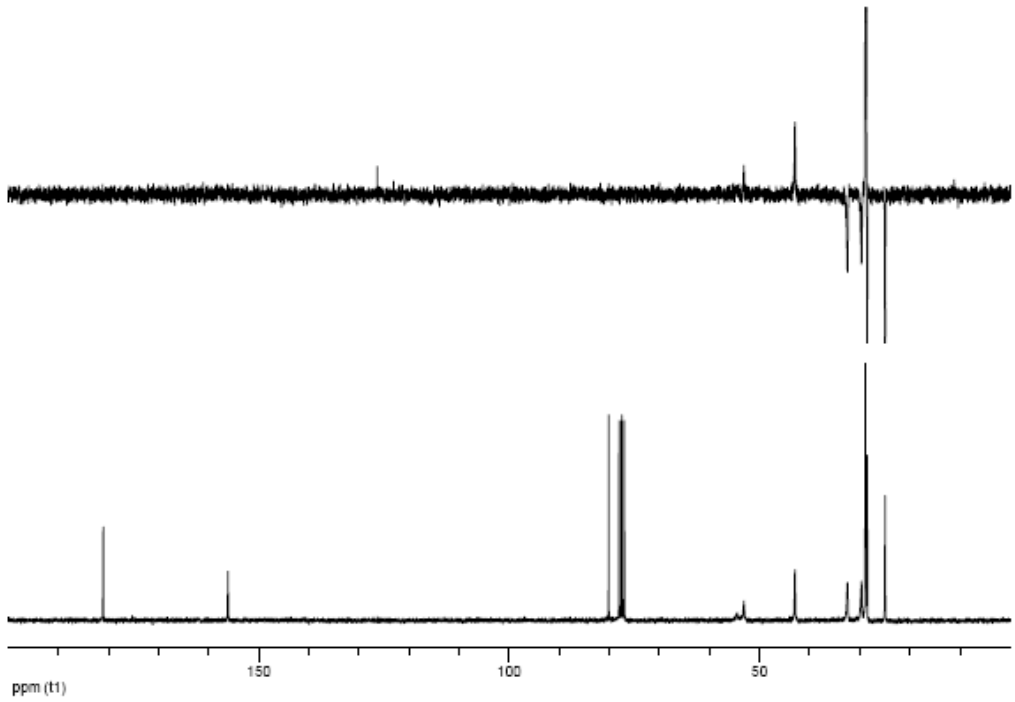
27.3.2. SÍNTESIS DE DERIVADOS DEL ÁCIDO 3-AMINOCICLOHEXANO-CARBOXÍLICO

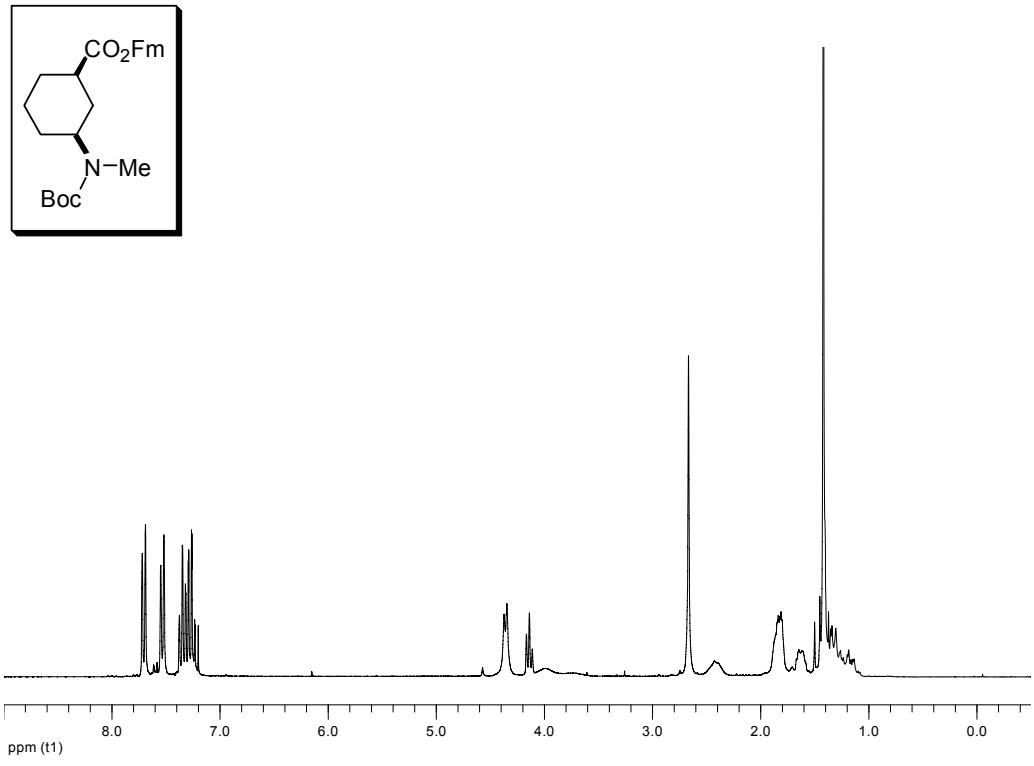


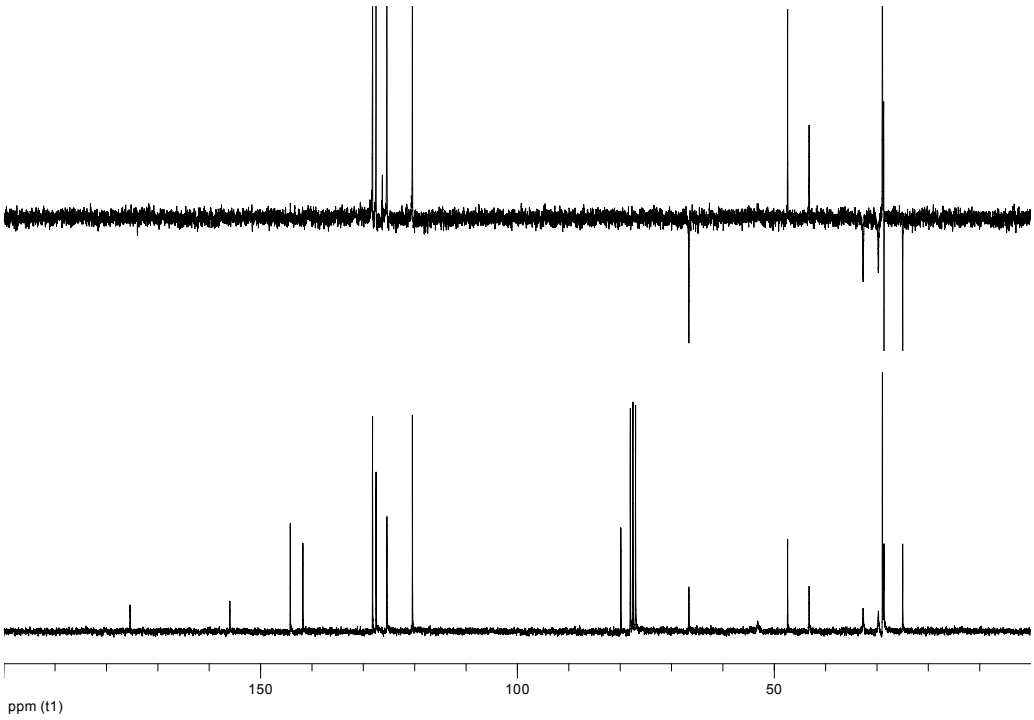



CO2H
N−Me
Boc

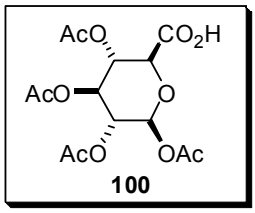

8.0
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
ppm (t1)


150
100
50
ppm (t1)

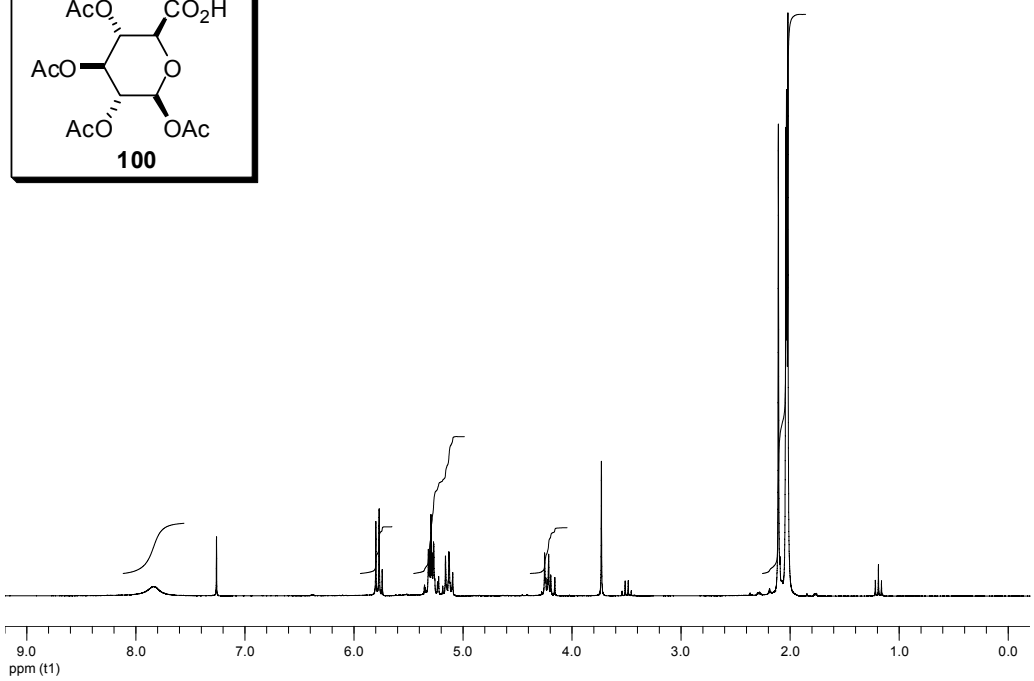

CO2Fm
N−Me
Boc
8.0
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
ppm (t1)

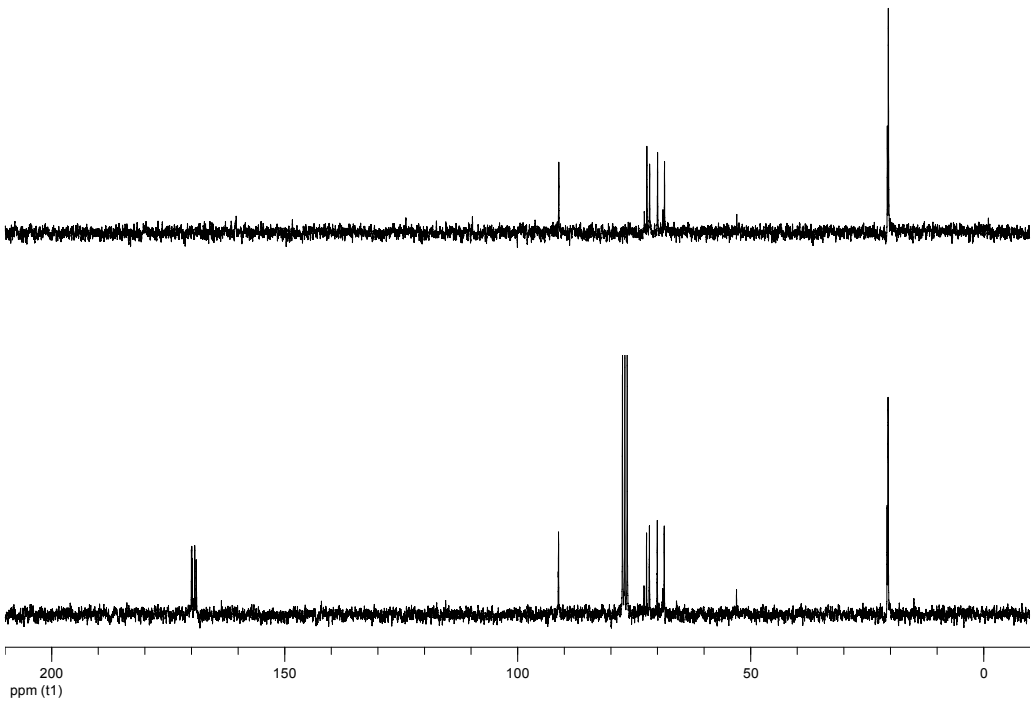

150
100
50
ppm (t1)

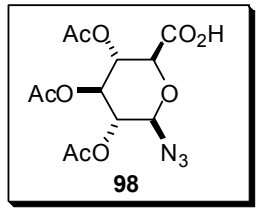
27.3.3. SÍNTESIS DE DERIVADOS DEL ÁCIDO 2,3,4-TRI-*O*-ACETIL-1-AZIDO-1-DESOXI-β-*D*-GLUCOPIRANURÓNICO



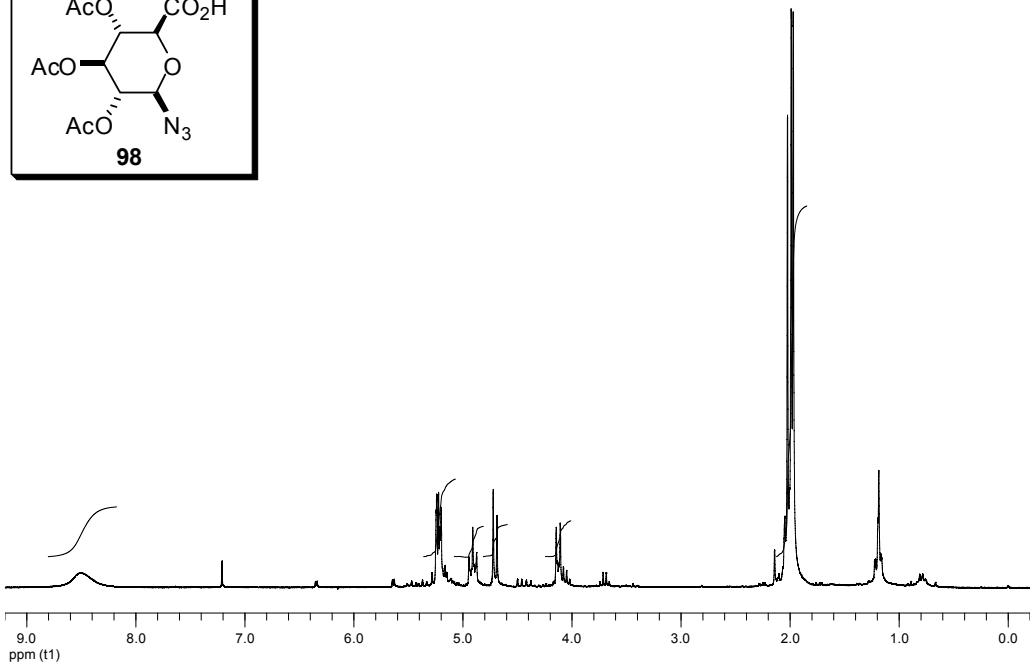
100

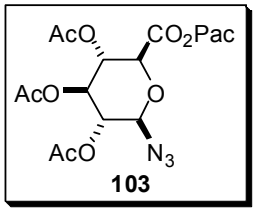




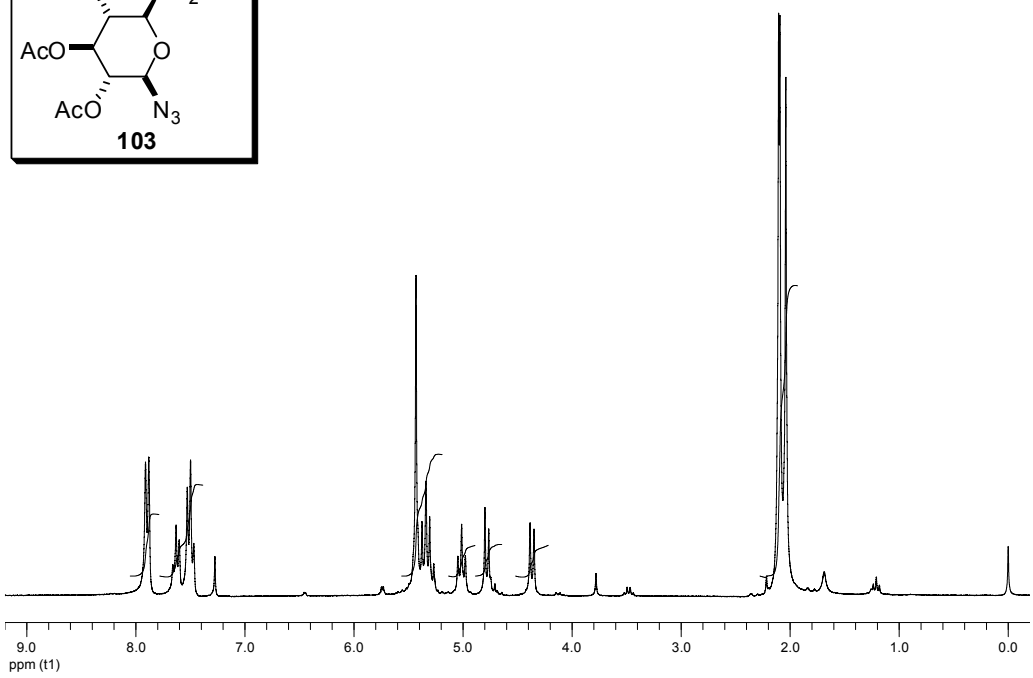


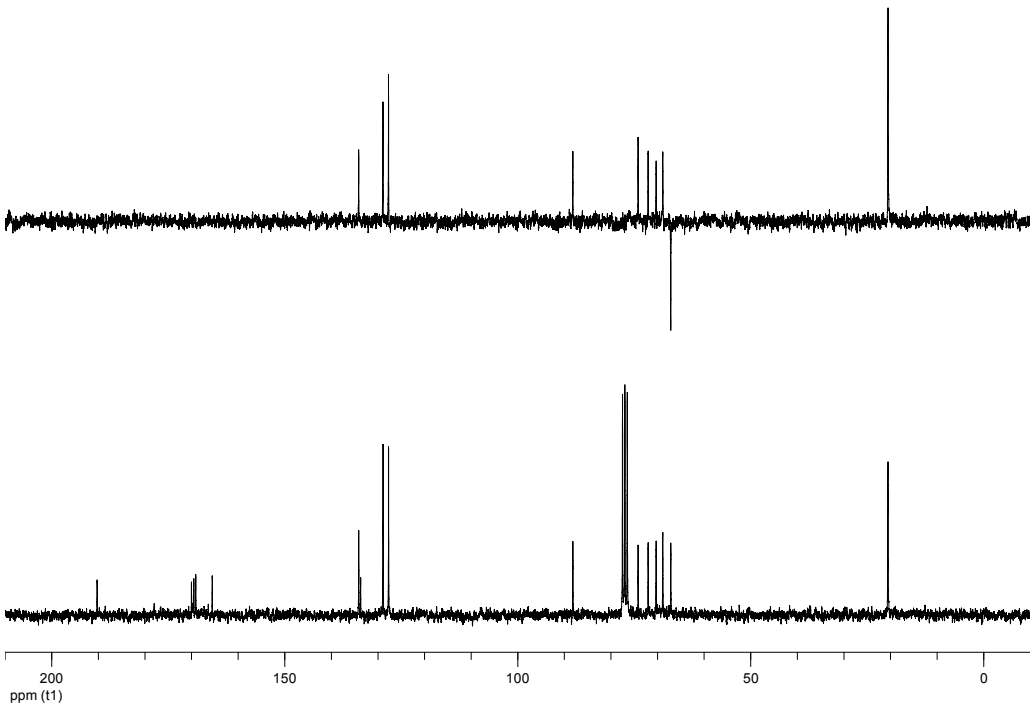
98




AcO
CO2Pac
AcO
O
AcO
N3

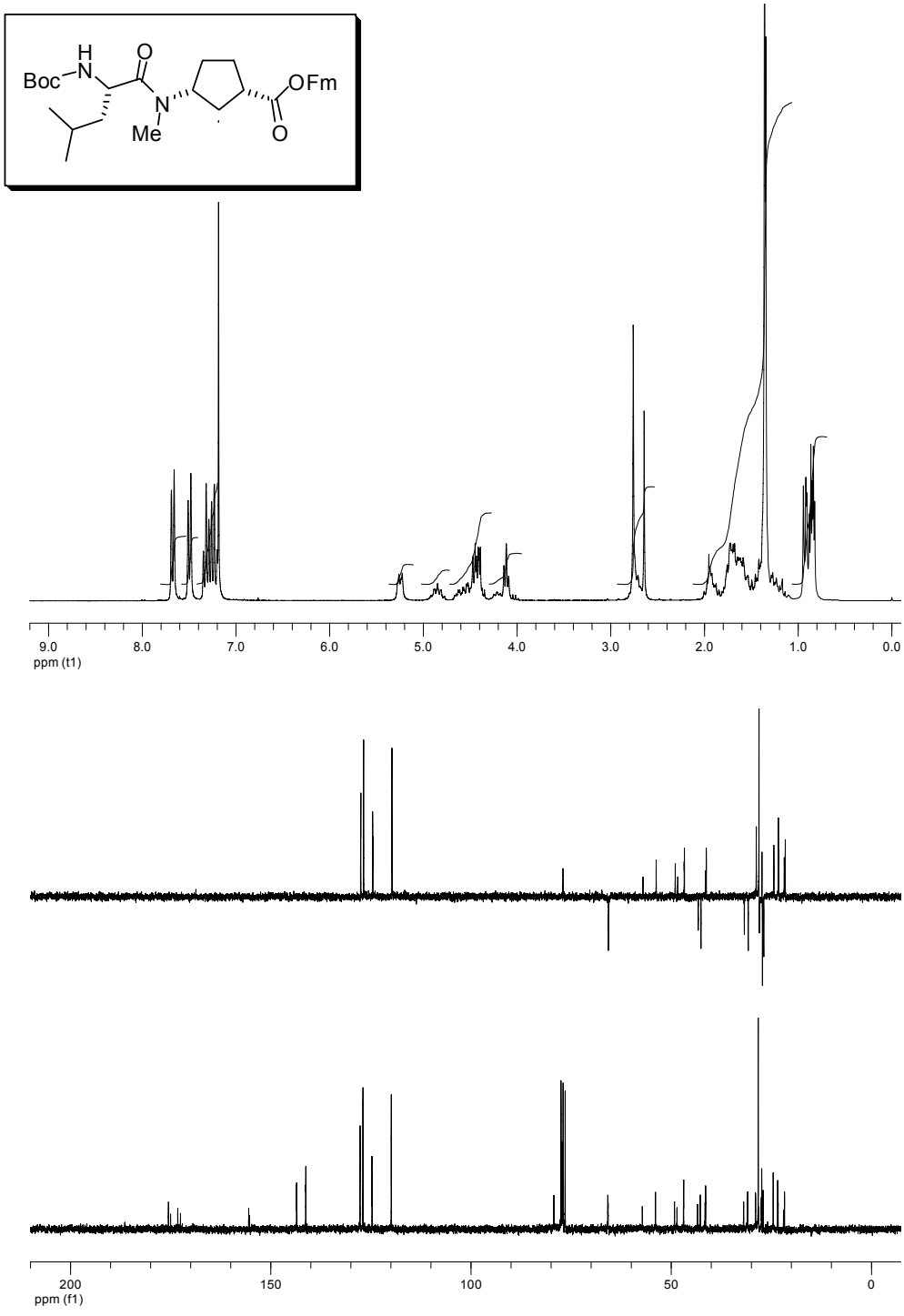
103


9.0
8.0
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
ppm (t1)

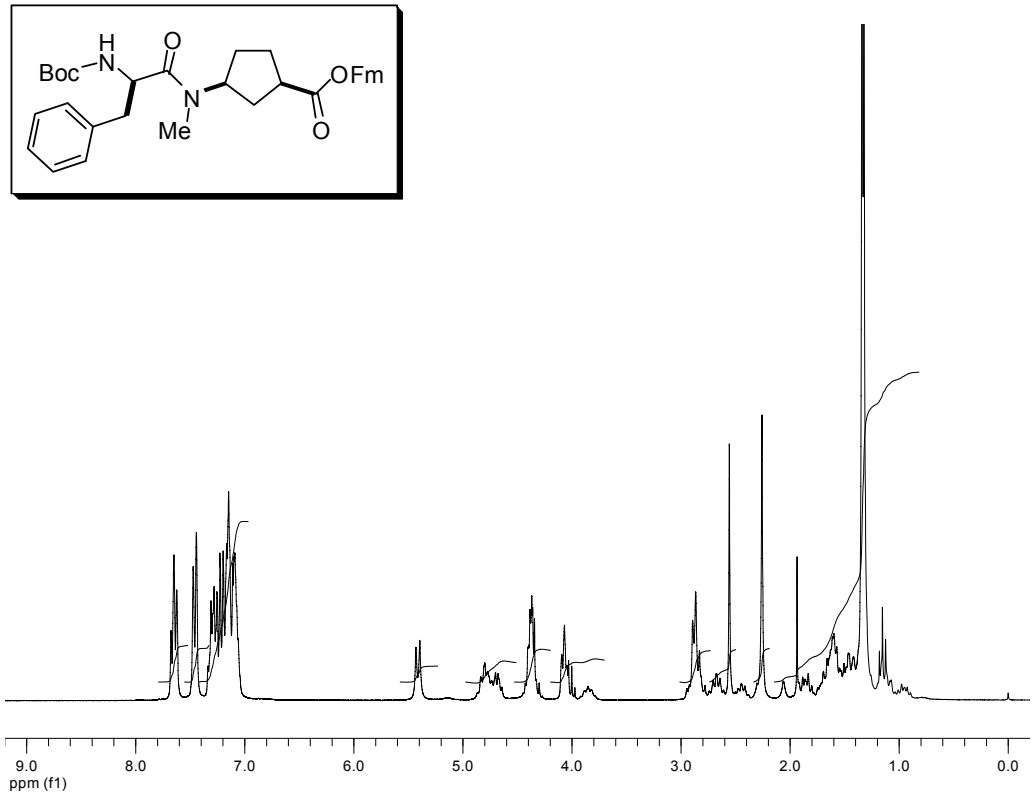

200
150
100
50
0
ppm (t1)

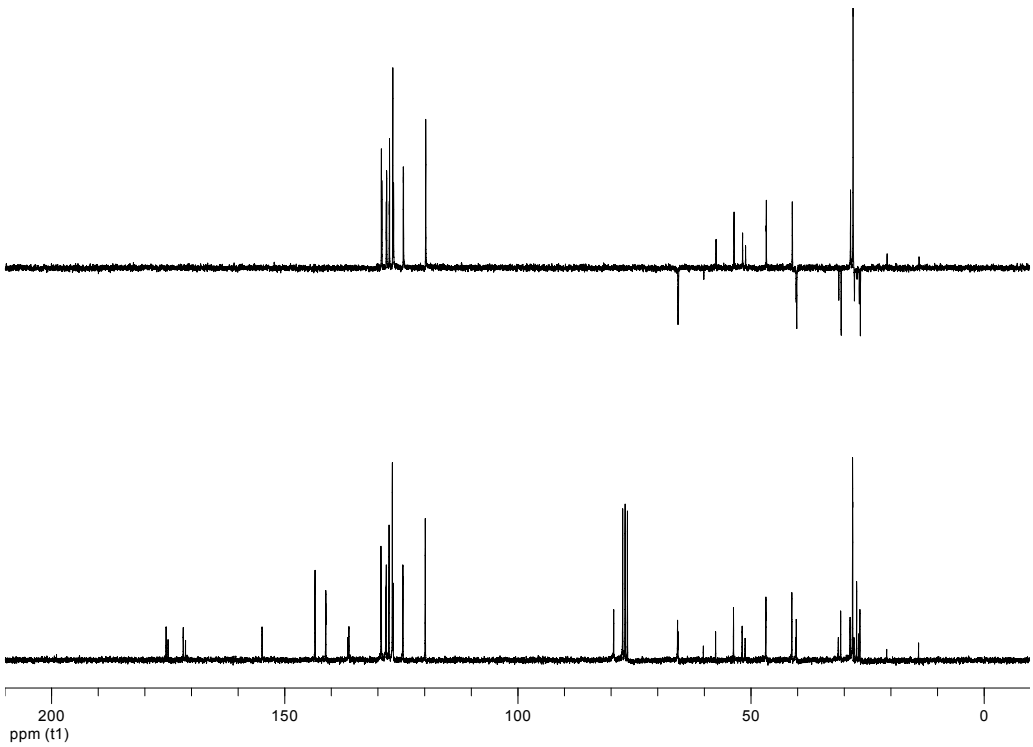
27.4. DIPÉPTIDOS

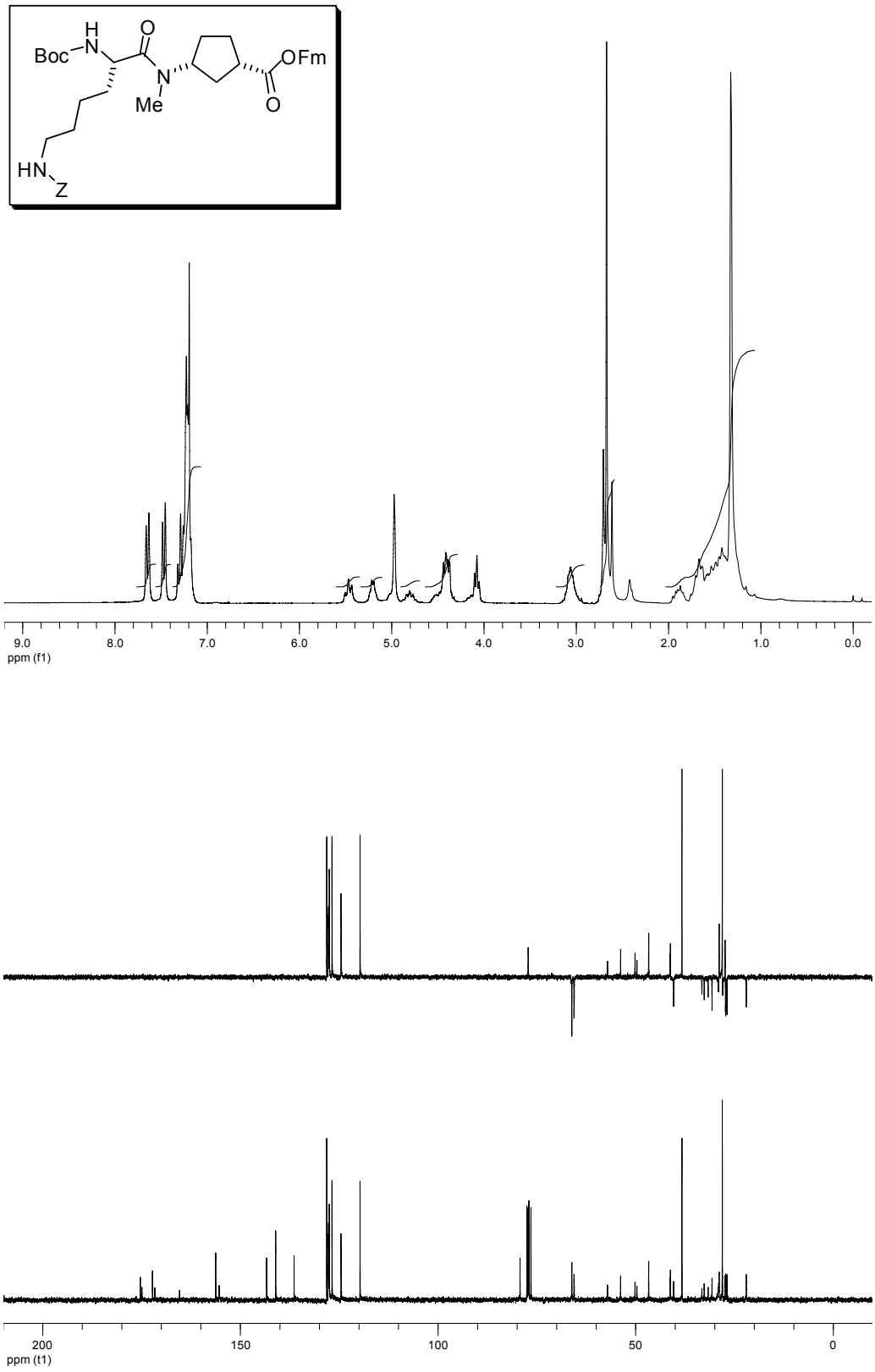
27.4.1. DIPÉPTIDOS DERIVADOS DEL ÁCIDO 3-AMINOCICLOPENTANO-CARBOXÍLICO

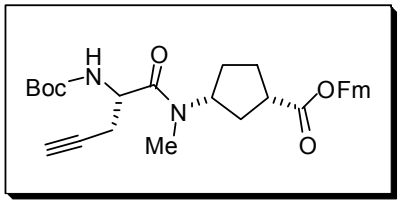


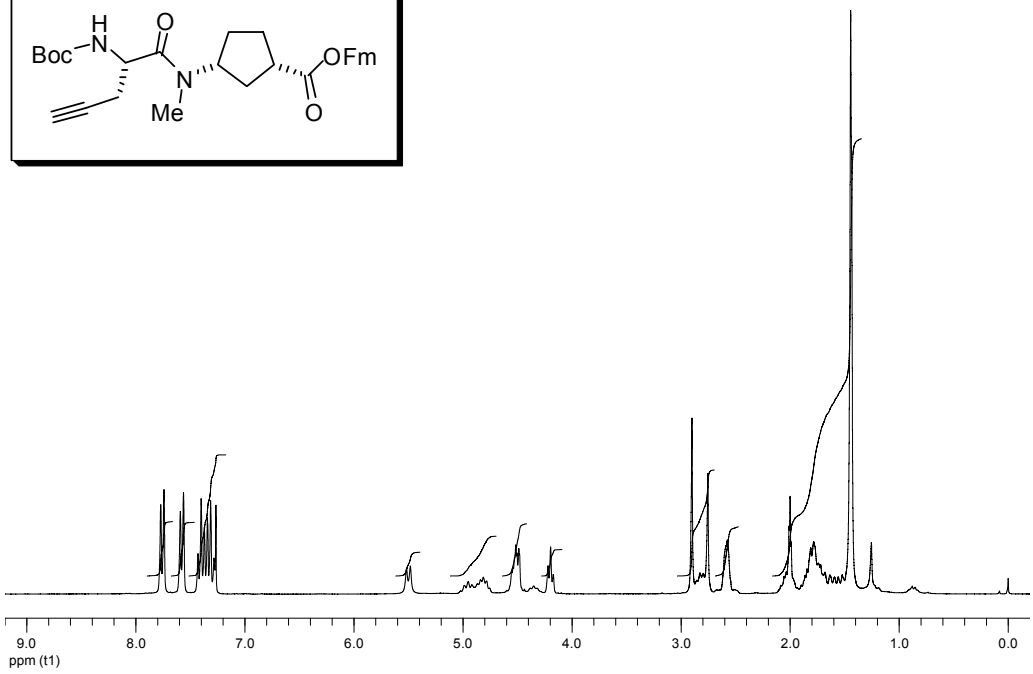
H
N
Boc
O
N
Me
OFm
O

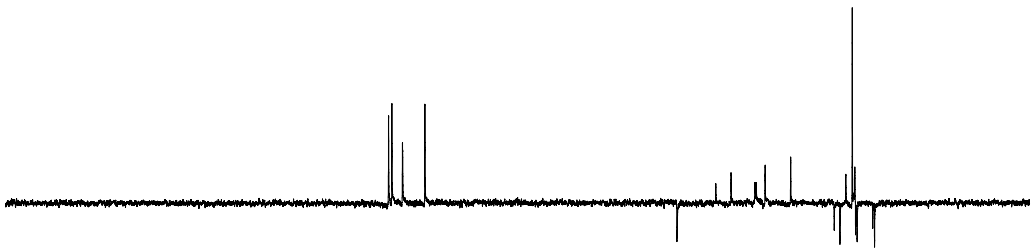

9.0
8.0
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
ppm (f1)

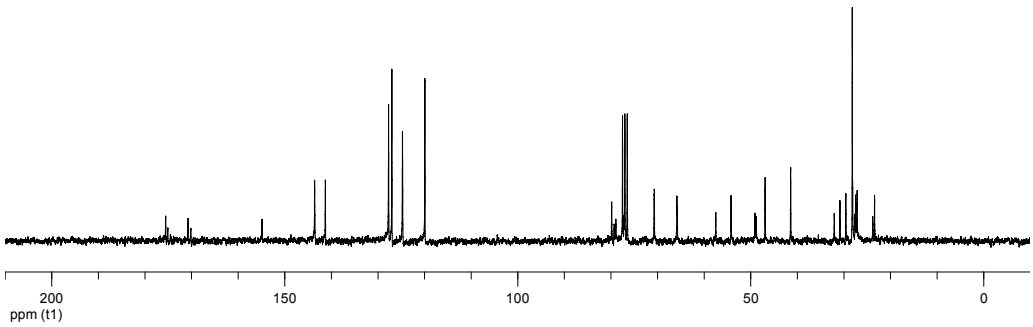

200
150
100
50
0
ppm (t1)

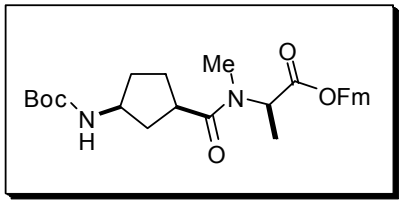

Boc
H
N
O
N
Me
OFm
O
HN
Z
9.0
8.0
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
ppm (f1)
200
150
100
50
0
ppm (t1)

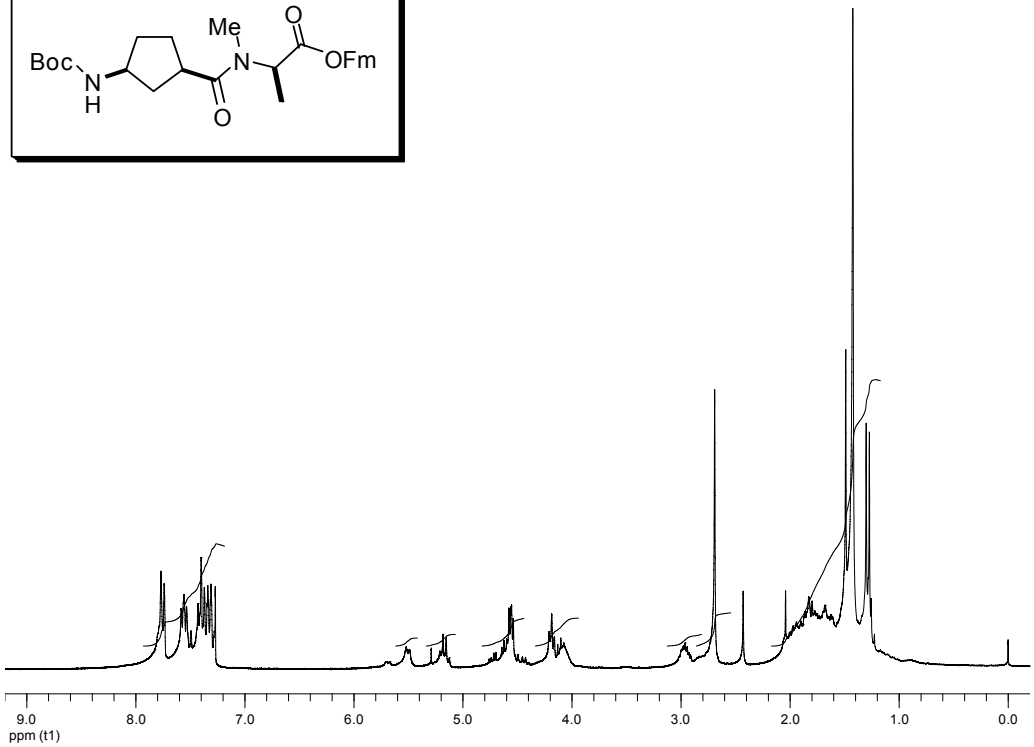

H
N
Boc
O
N
Me
OFm
O

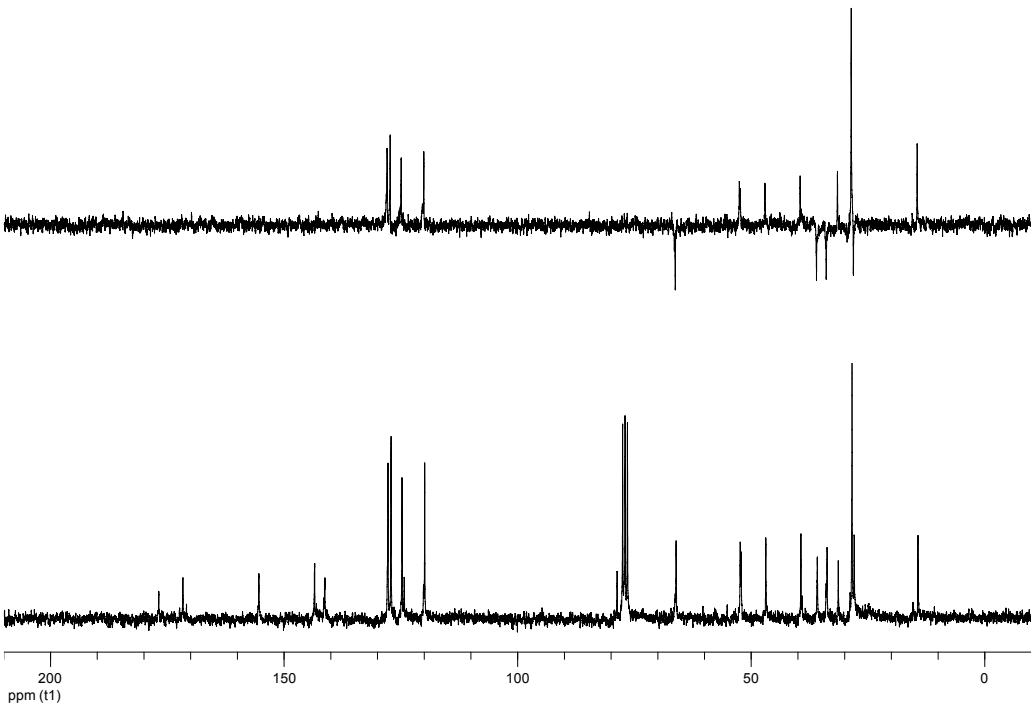

9.0
8.0
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
ppm (t1)



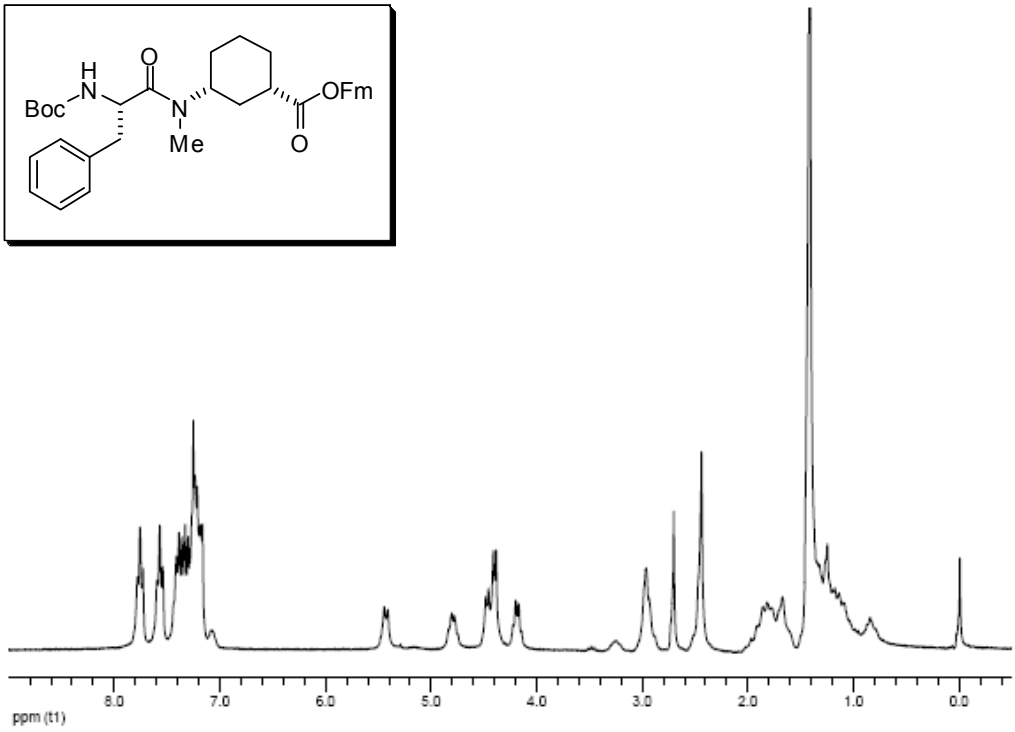

200
150
100
50
0
ppm (t1)

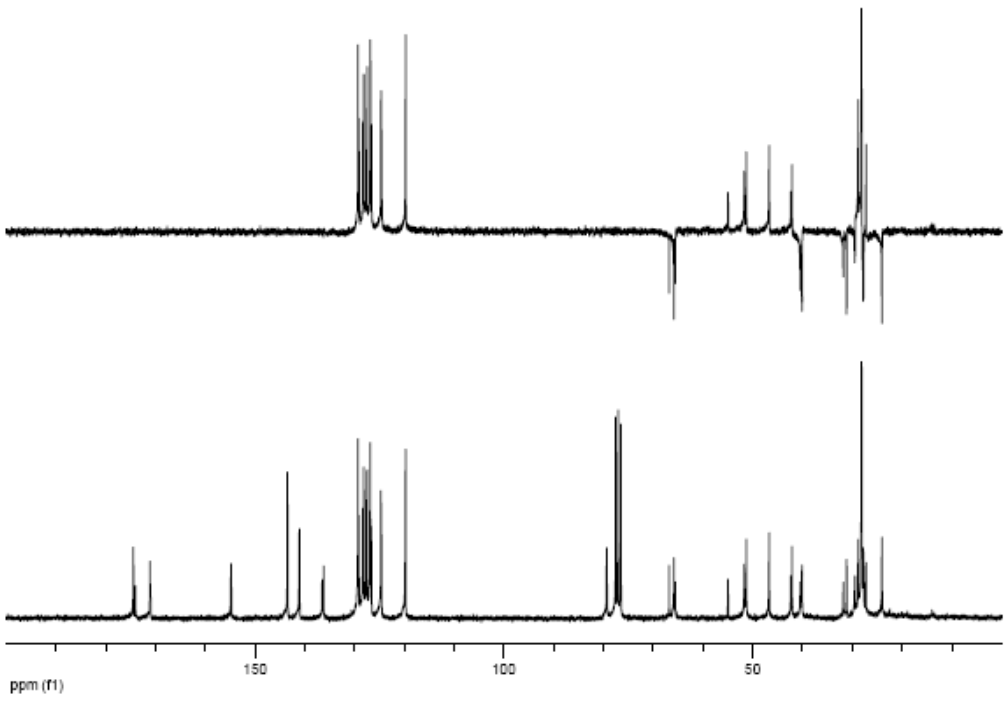

Me
O
Boc
N
H
N
OFm
O

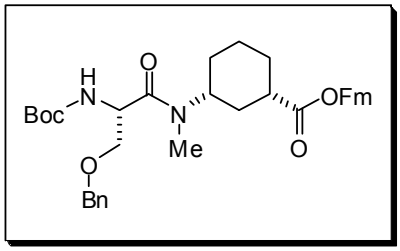

9.0
8.0
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
ppm (t1)

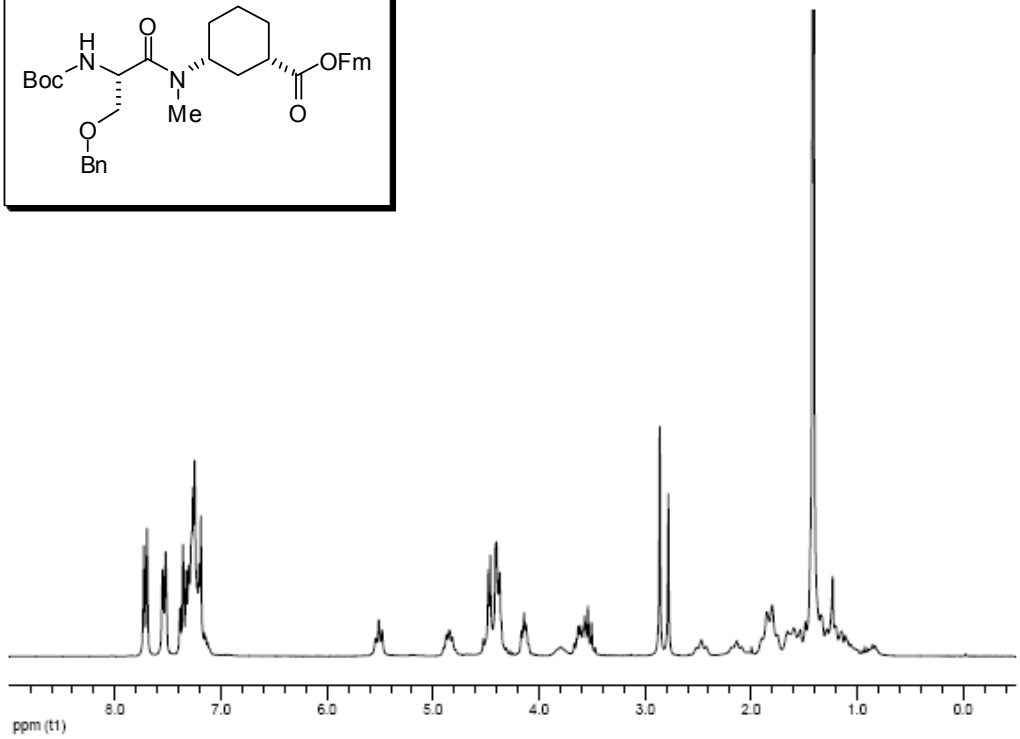

200
150
100
50
0
ppm (t1)

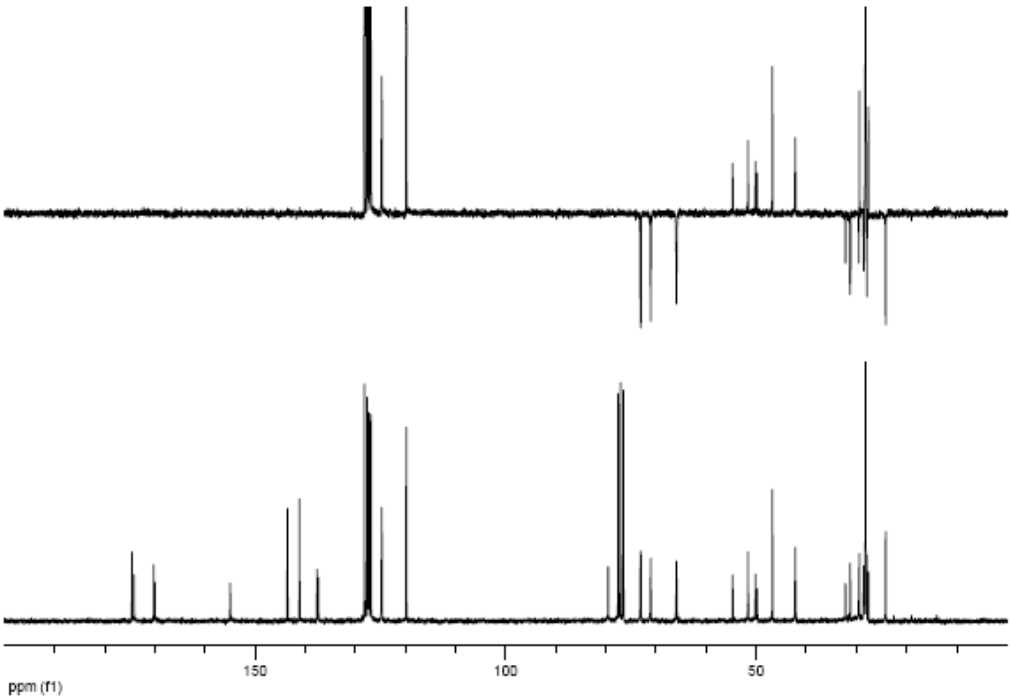
27.4.2. DIPÉPTIDOS DERIVADOS DEL ÁCIDO 3-AMINOCICLOHEXANO-CARBOXÍLICO

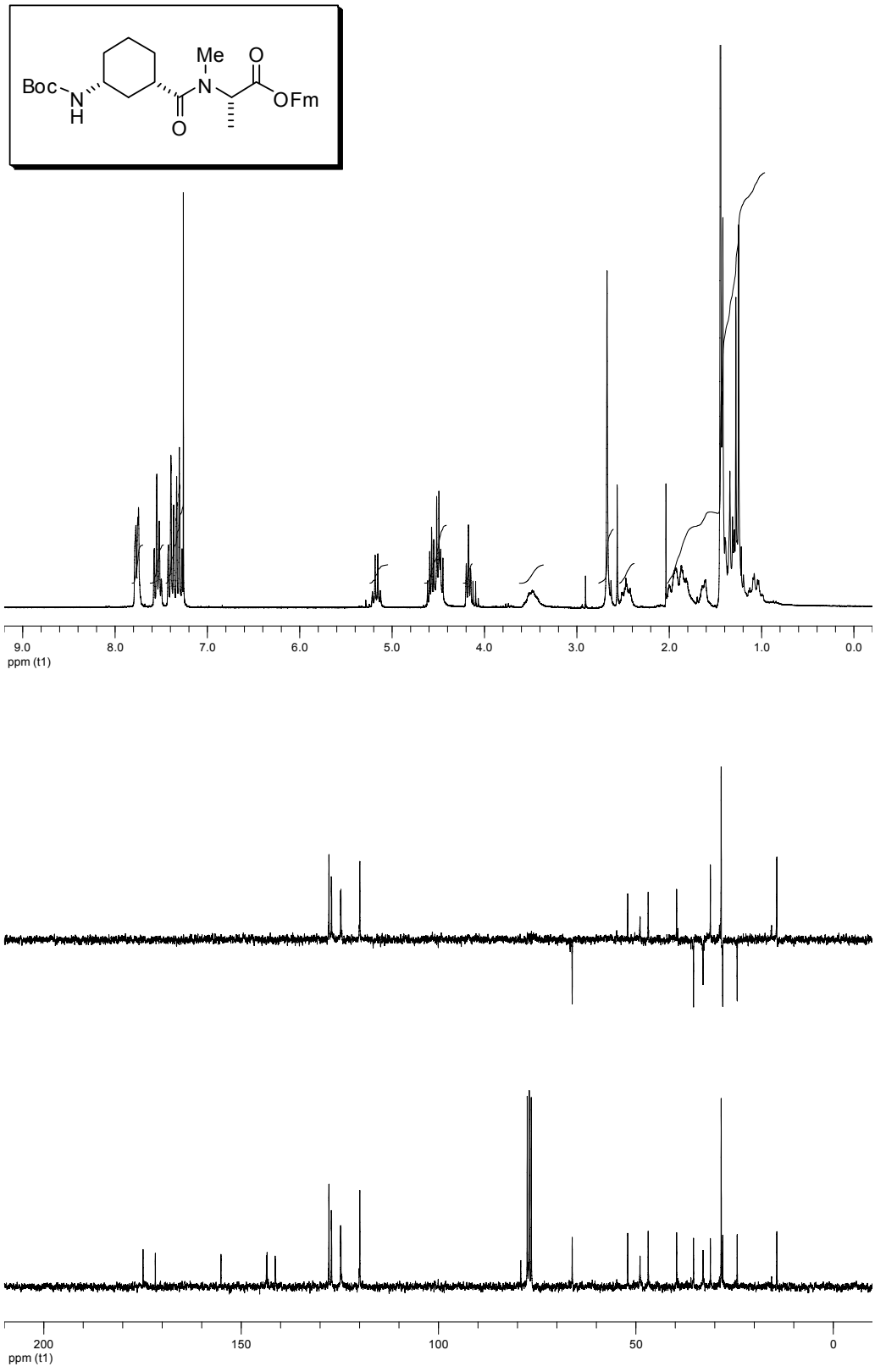


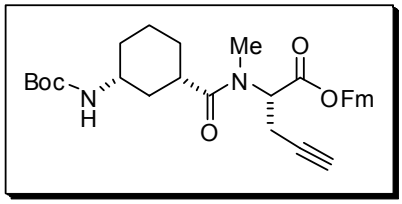


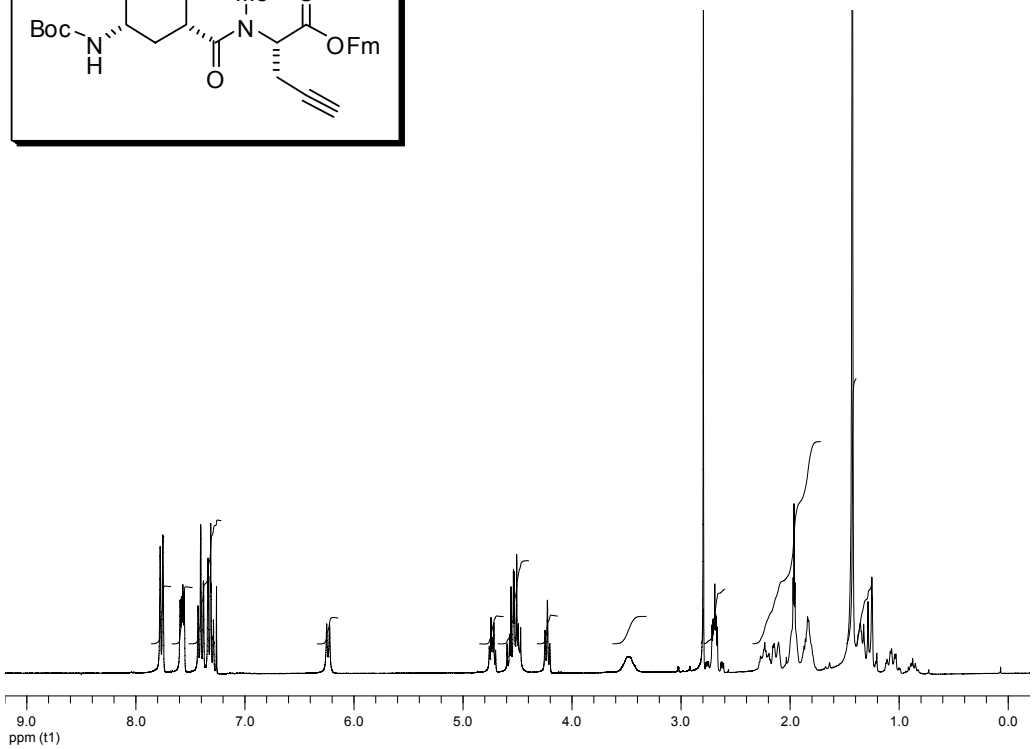

H
N
O
Boc
N
OFm
Me
O
O
Bn

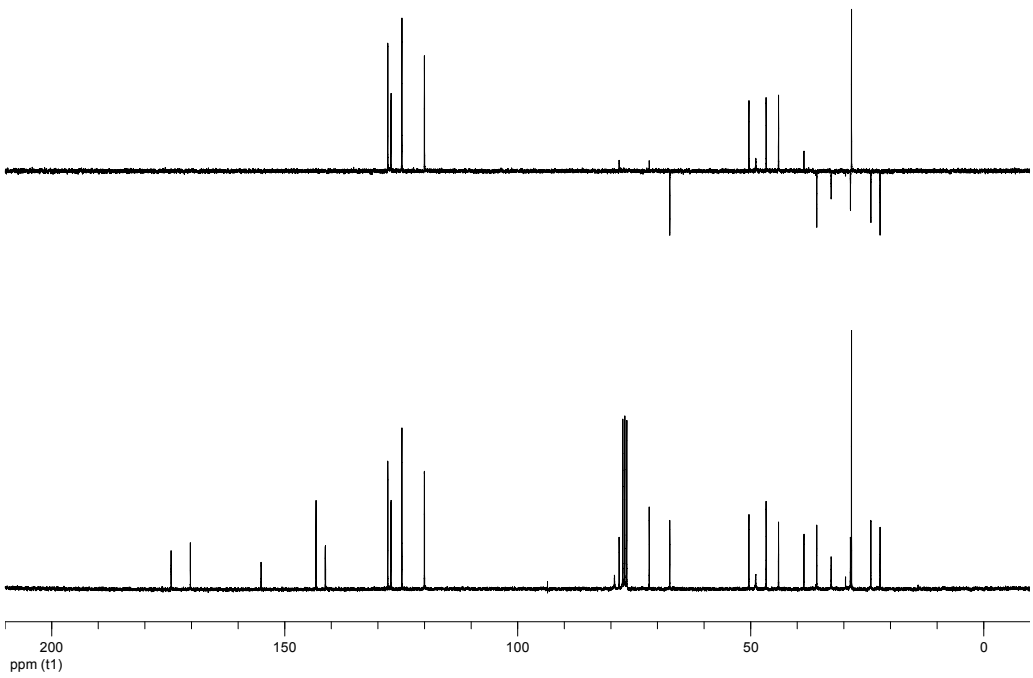

8.0
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
ppm (t1)

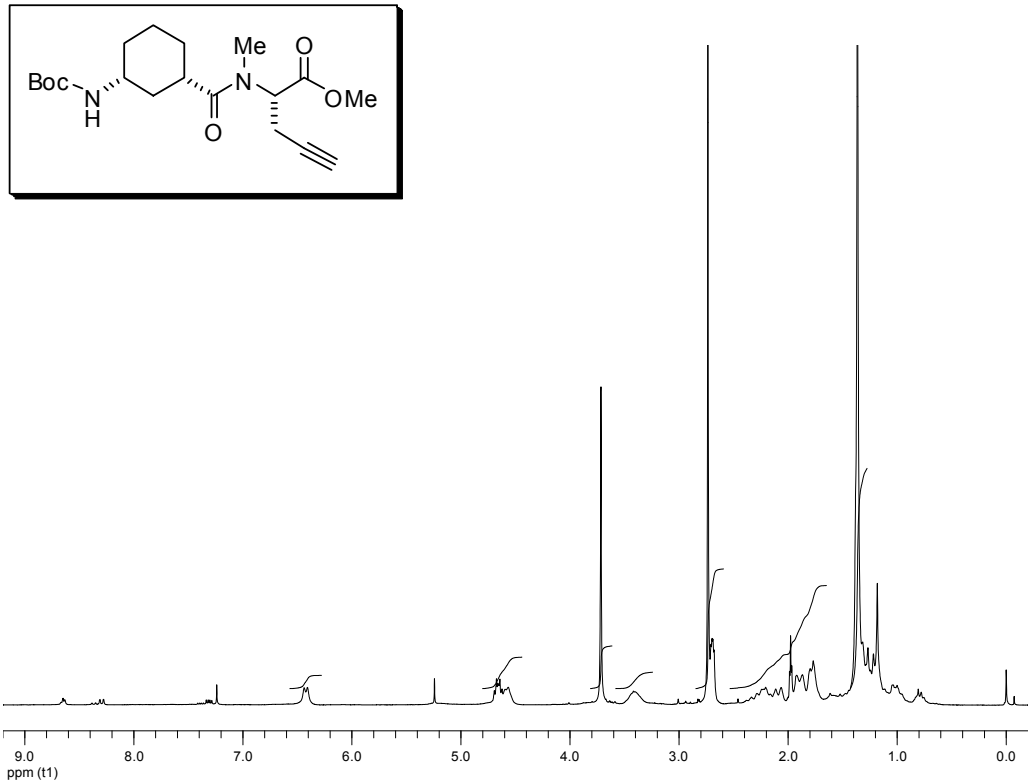

150
100
50
ppm (f1)


Boc
N
H
Me
N
O
O
OFm
9.0
8.0
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
ppm (t1)
200
150
100
50
0
ppm (t1)

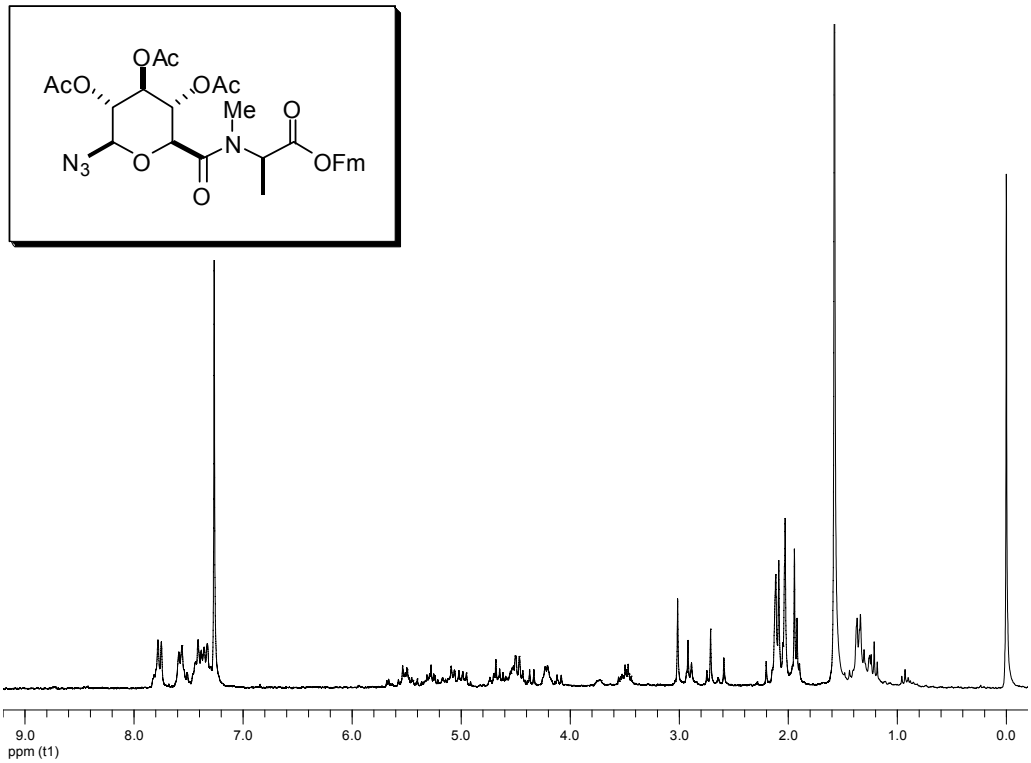

Me
O
Boc
N
H
N
OFm
O

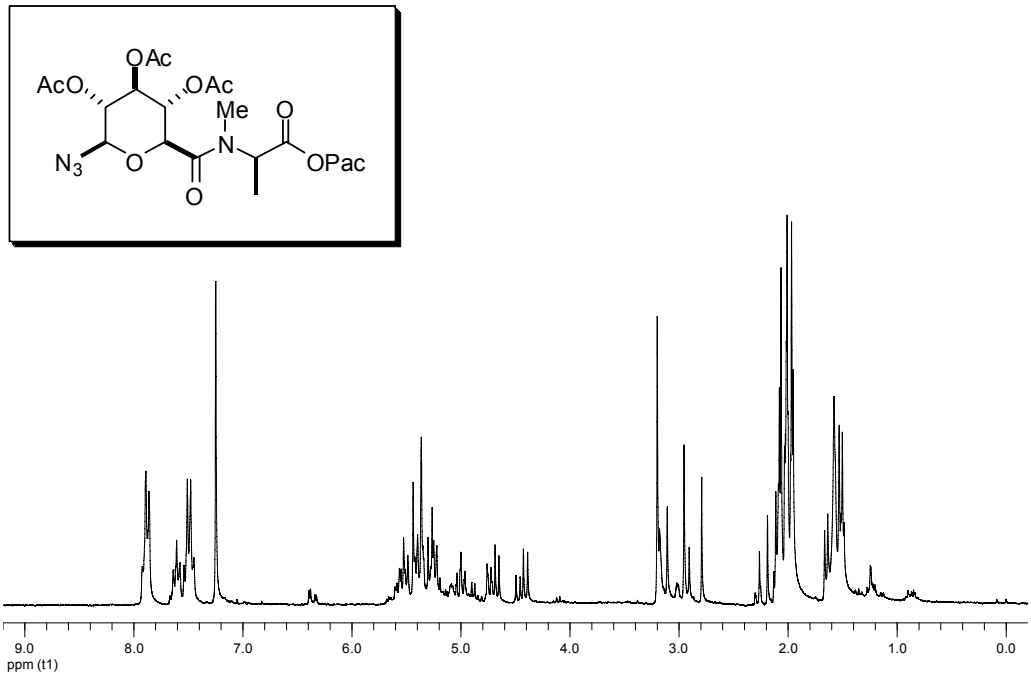

9.0
8.0
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
ppm (t1)

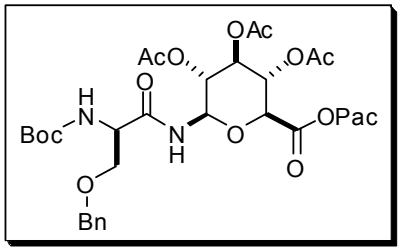

200
150
100
50
0
ppm (t1)

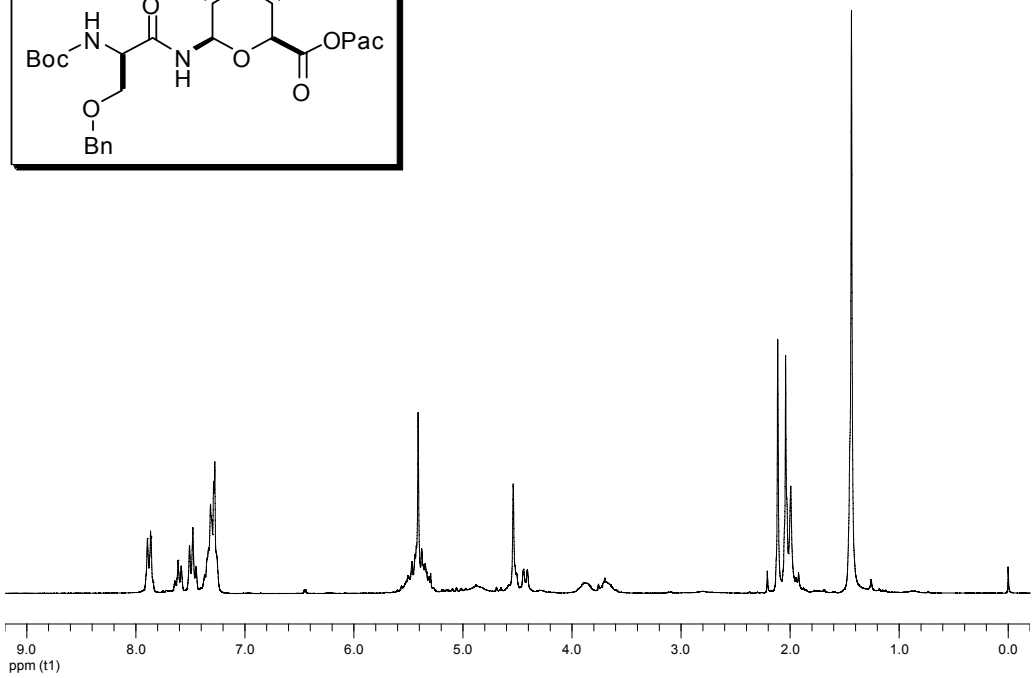

Boc
N
H
Me
N
O
O
OMe
9.0
8.0
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
ppm (t1)

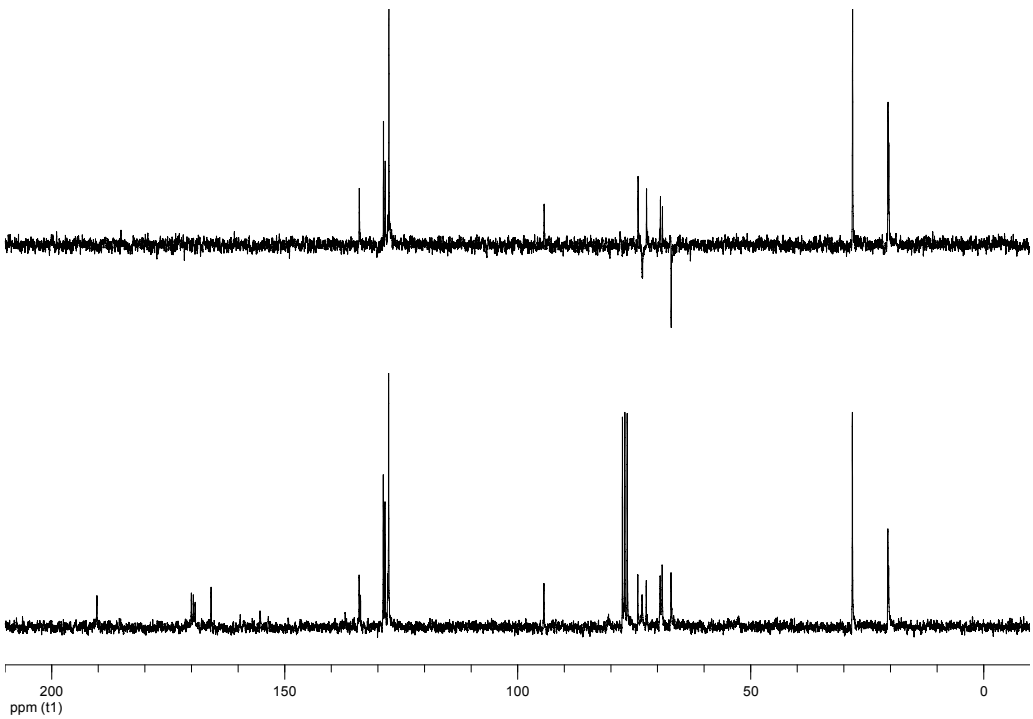
27.4.3. DIPÉPTIDOS DERIVADOS DEL ÁCIDO 2,3,4-TRI-*O*-ACETIL-1-AZIDO-1-DESOXI-β-*D*-GLUCOPIRANURÓNICO



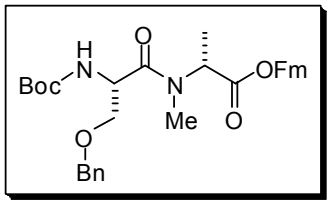


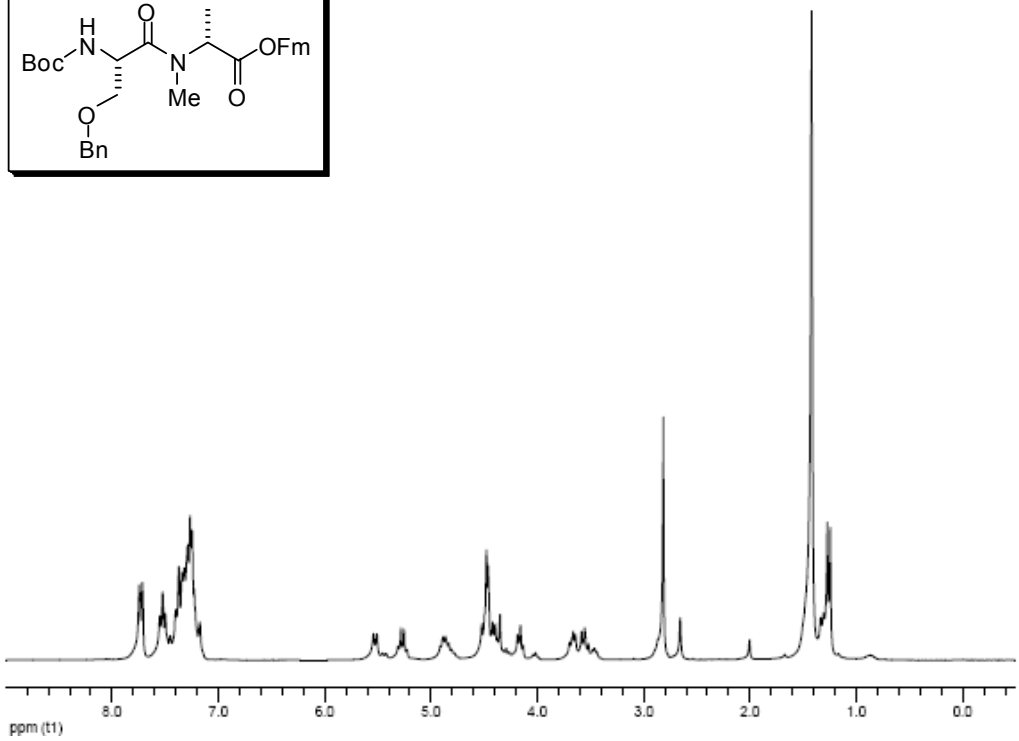

OAc
AcO
OAc
H
N
O
Boc
N
H
O
OPac
O
O
Bn

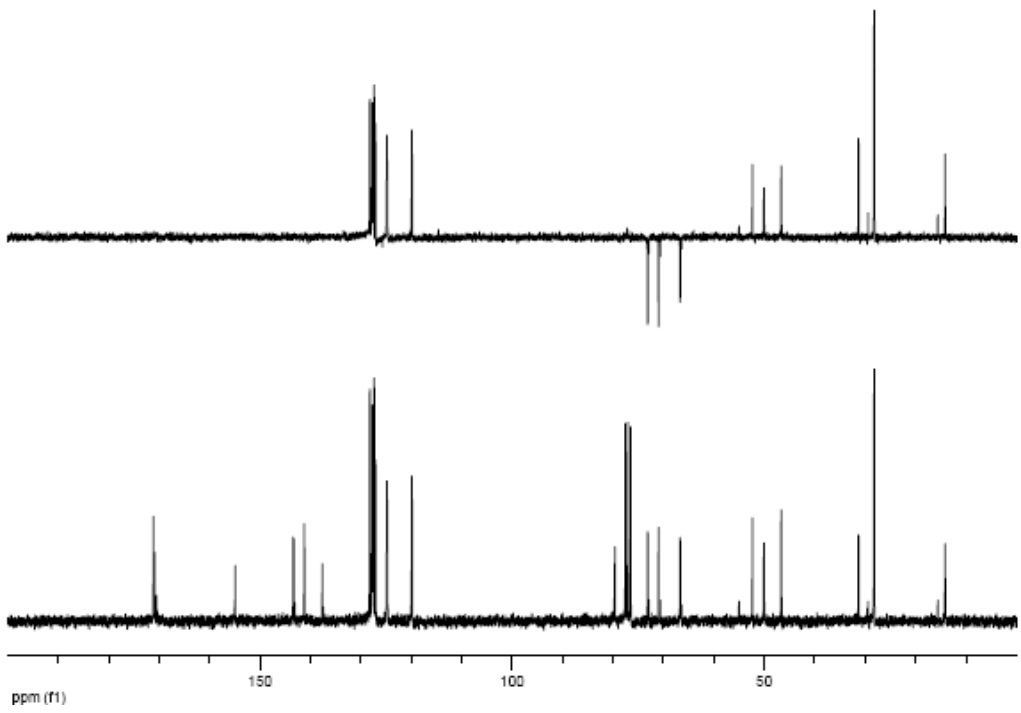

9.0
8.0
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
ppm (t1)


200
150
100
50
0
ppm (t1)

27.4.4. OTROS DIPÉPTIDOS

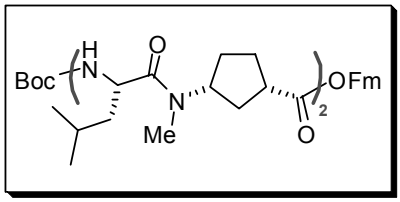


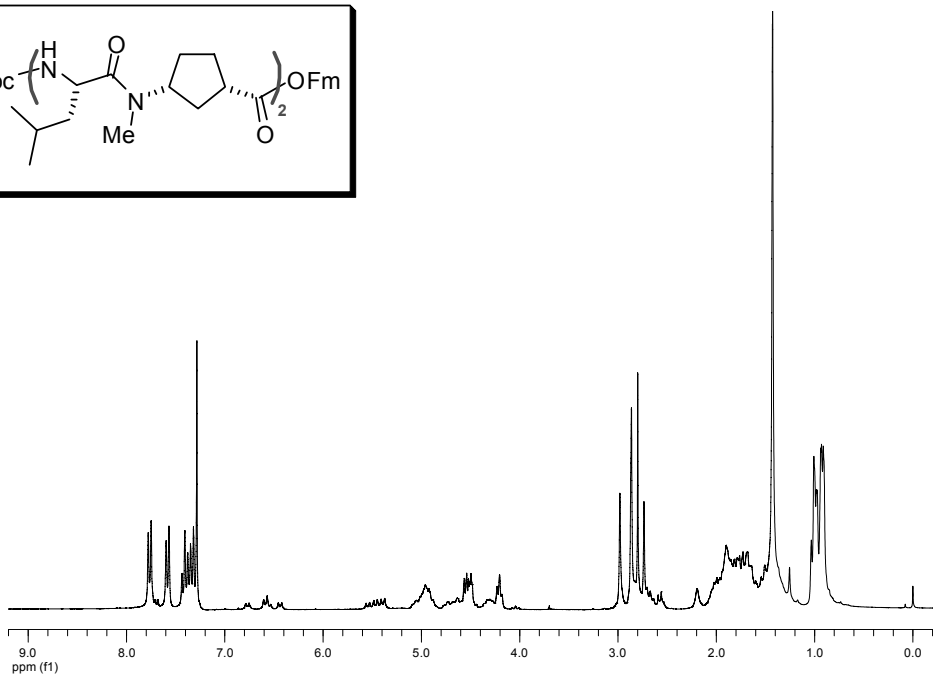


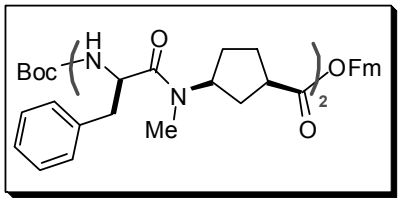


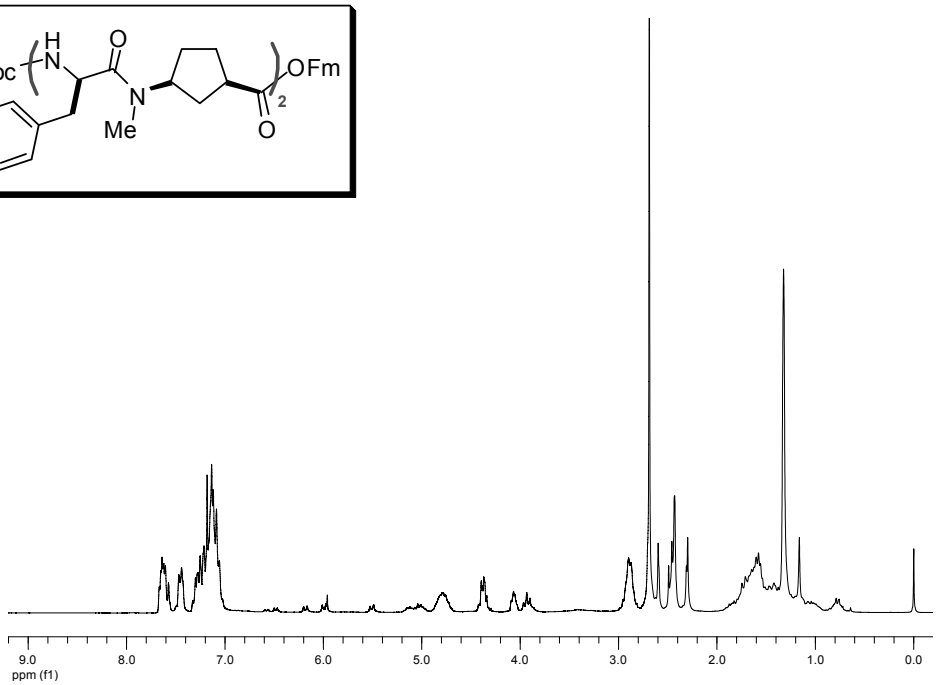
27.5. TETRAPÉPTIDOS

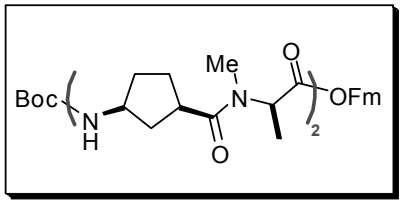
27.5.1. TETRAPÉPTIDOS DERIVADOS DEL ÁCIDO 3-AMINOCICLOPENTANO-CARBOXÍLICO

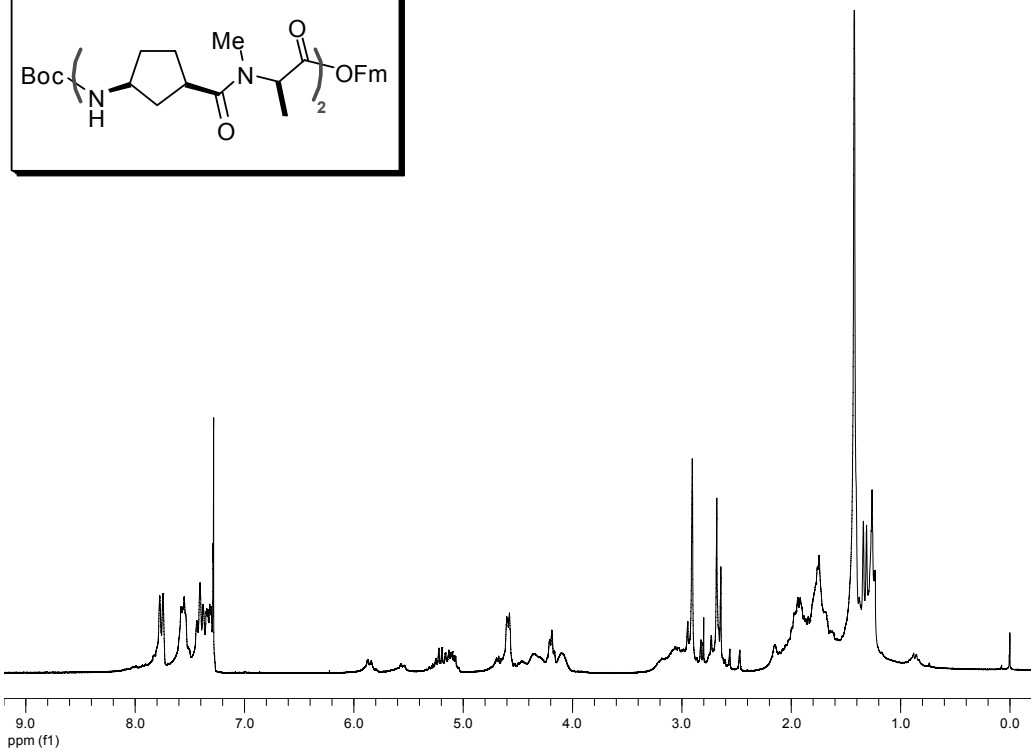


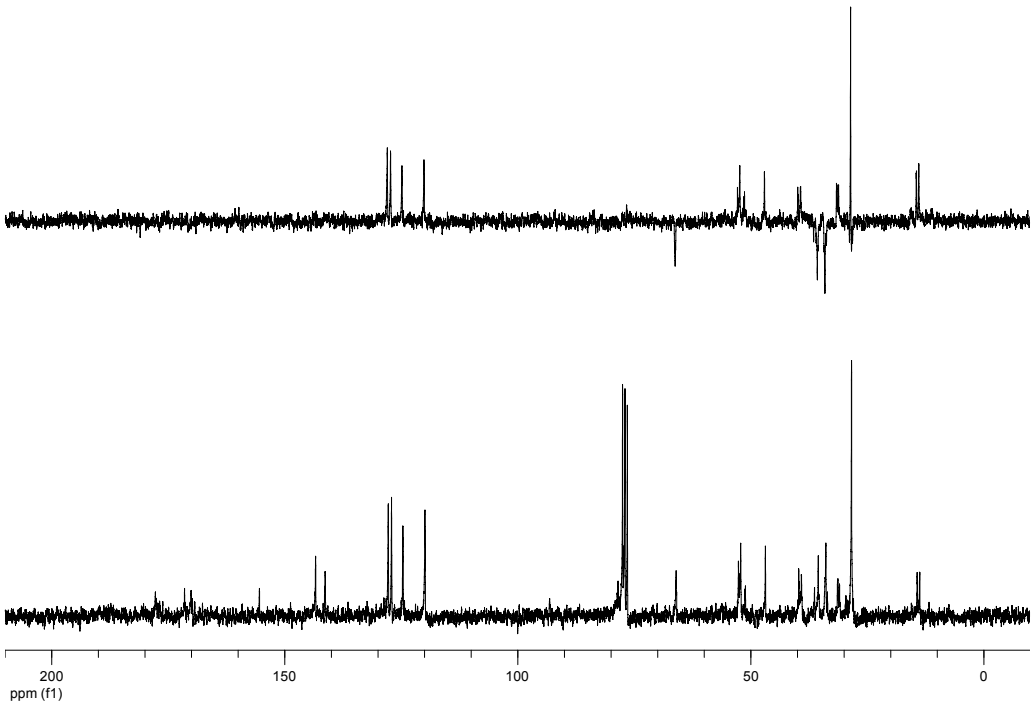




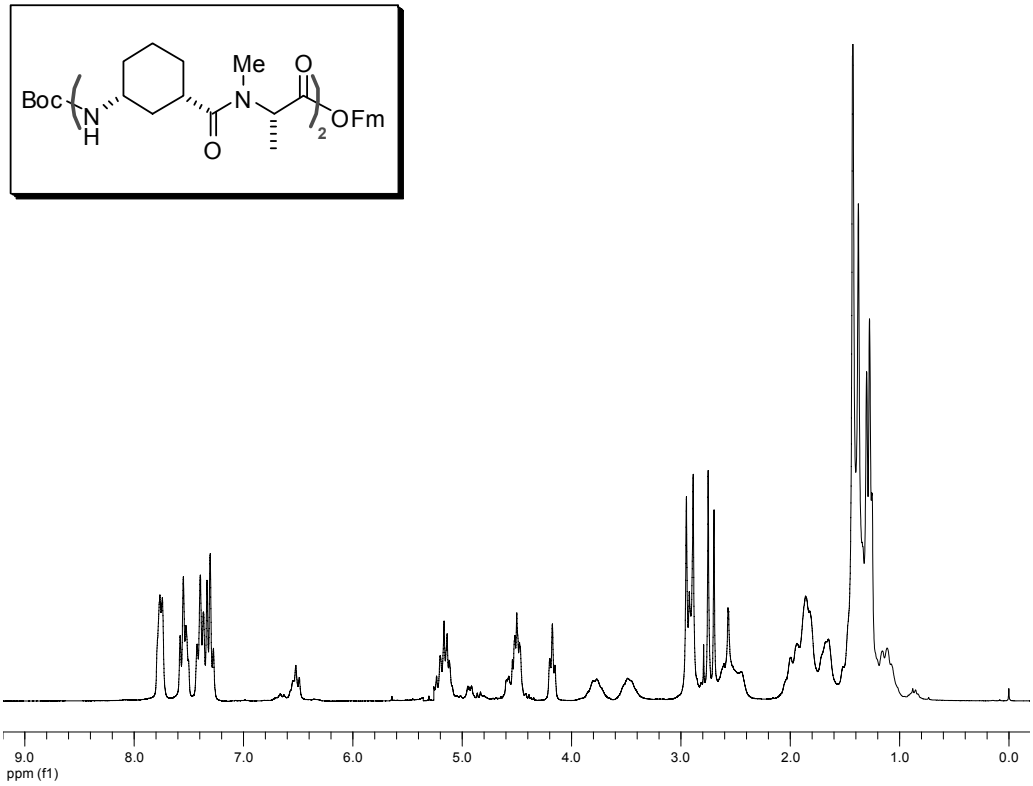



Boc
N
H
Me
N
O
O
OFm
2
O

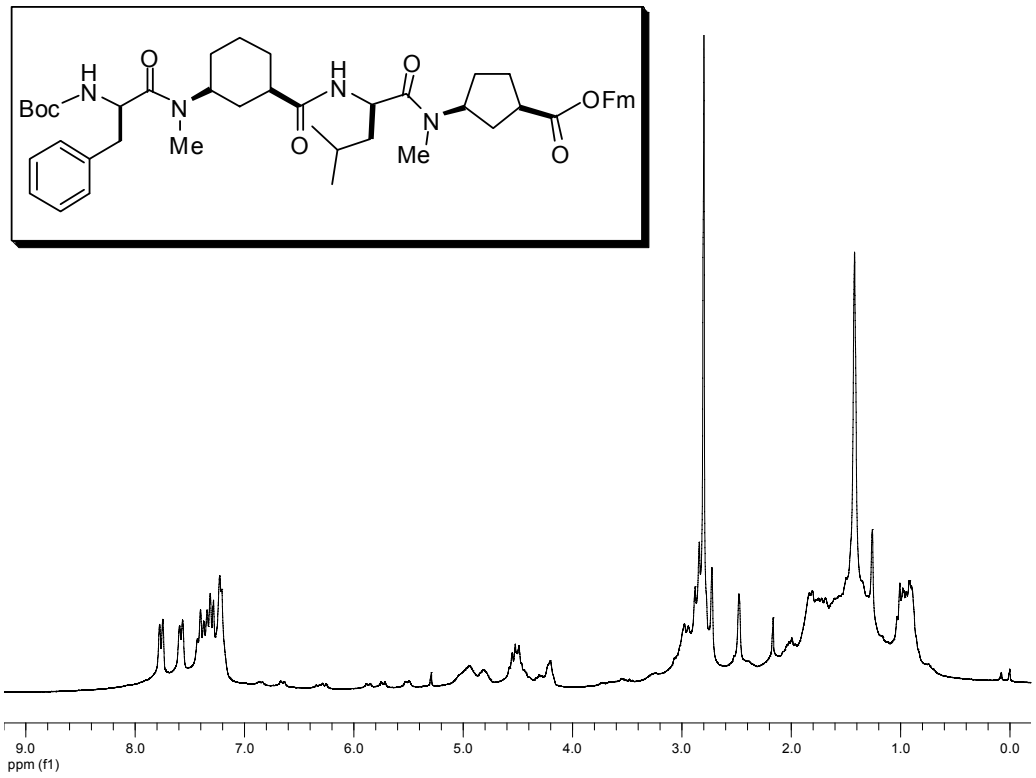

9.0
8.0
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
ppm (f1)


200
150
100
50
0
ppm (f1)

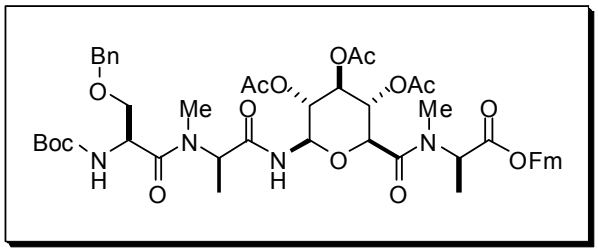
27.5.2. TETRAPÉPTIDOS DERIVADOS DEL ÁCIDO 3-AMINOCICLOHEXANO-CARBOXÍLICO

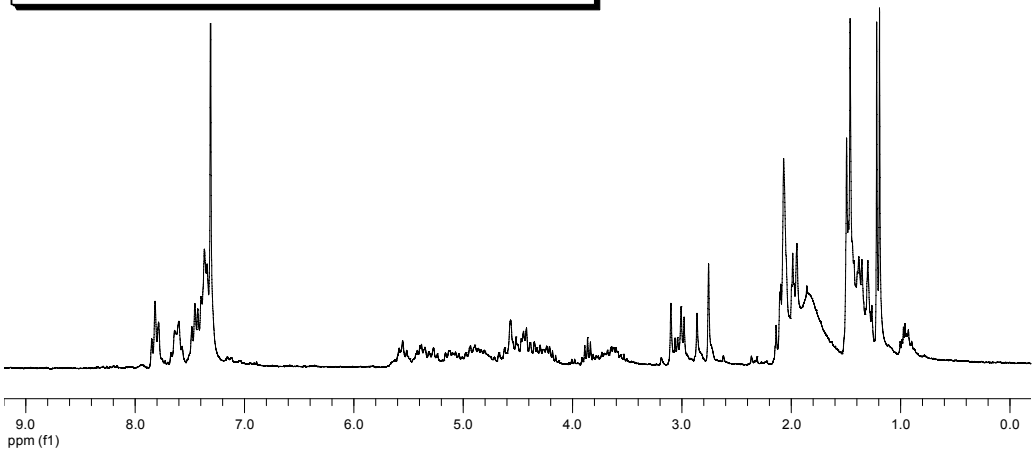


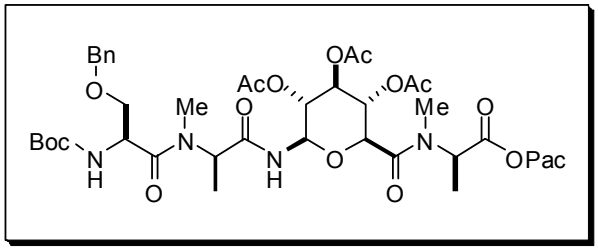
27.5.3. TETRAPÉPTIDOS HÍBRIDOS Acp/Ach

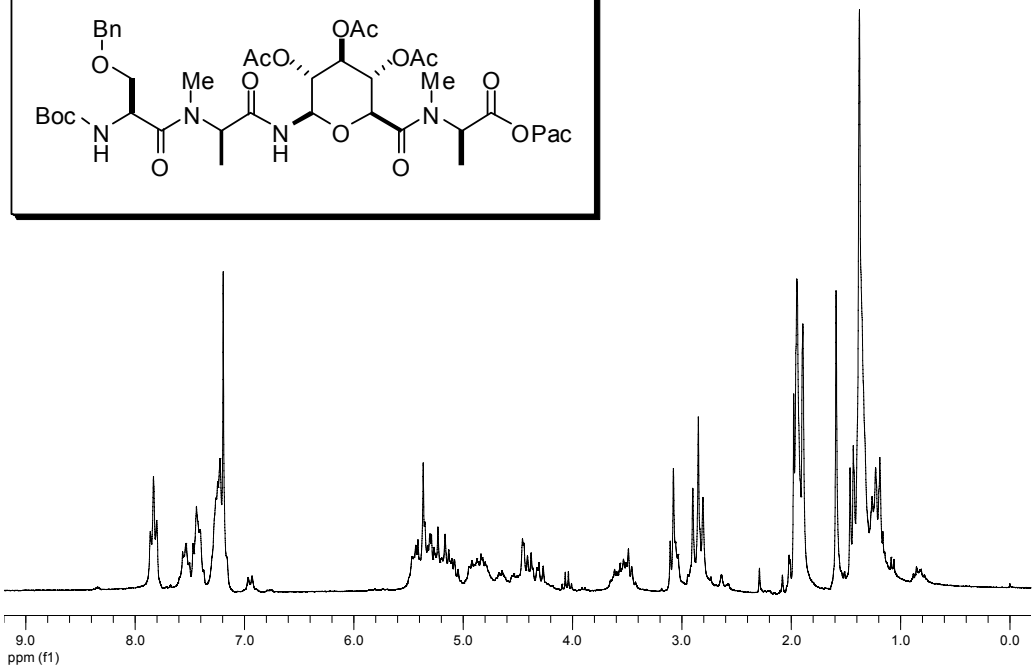


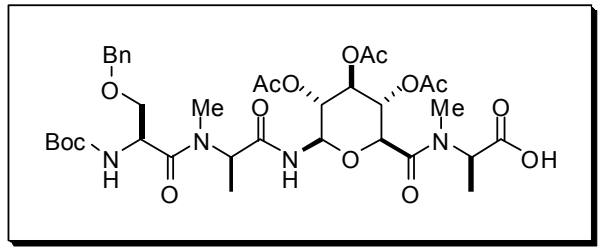
27.5.4. TETRAPÉPTIDOS DERIVADOS DEL ÁCIDO 2,3,4-TRI-*O*-ACETIL-1-AZIDO-1-DESOXI-β-*D*-GLUCOPIRANURÓNICO

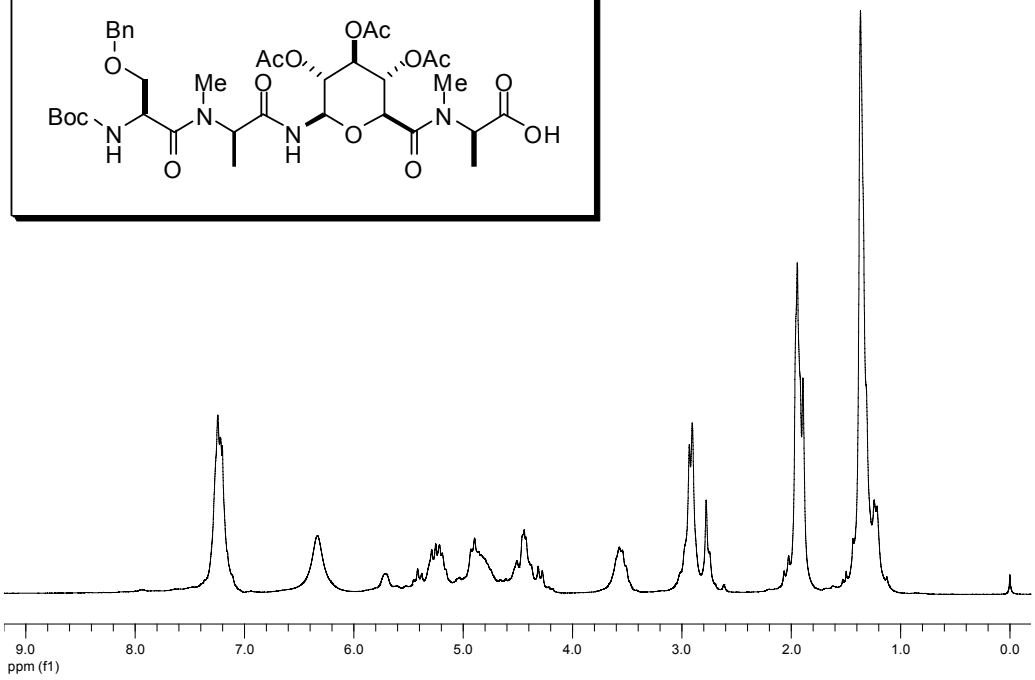


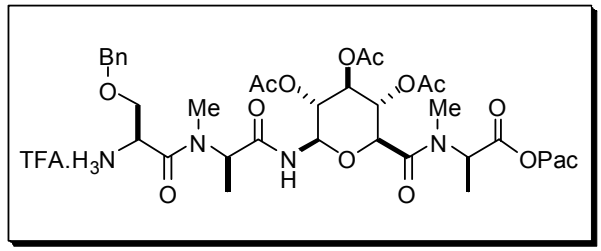


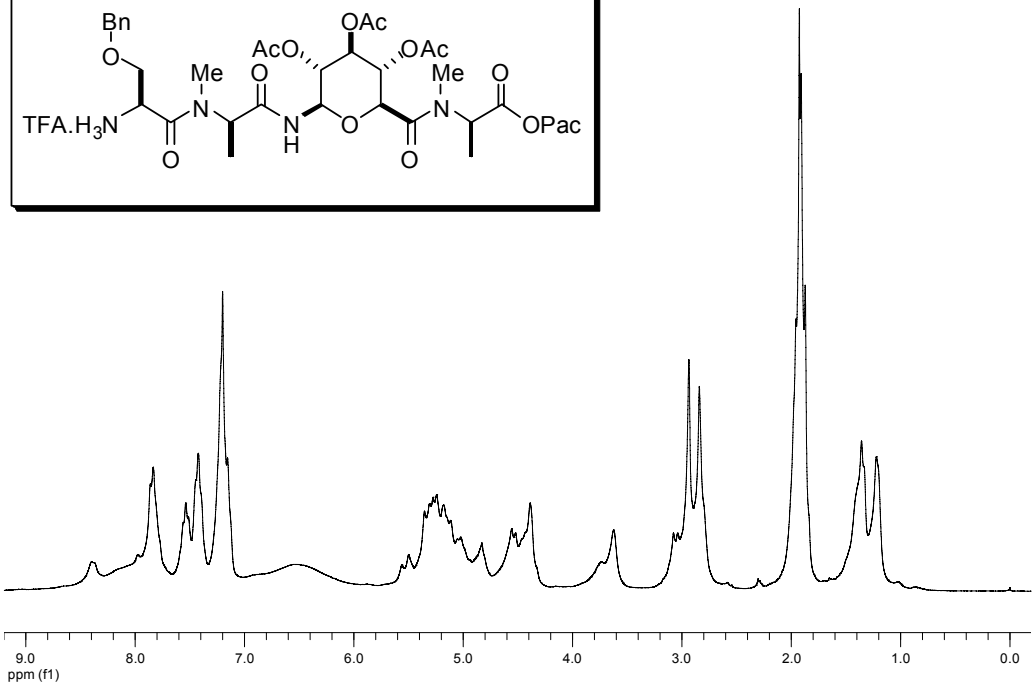


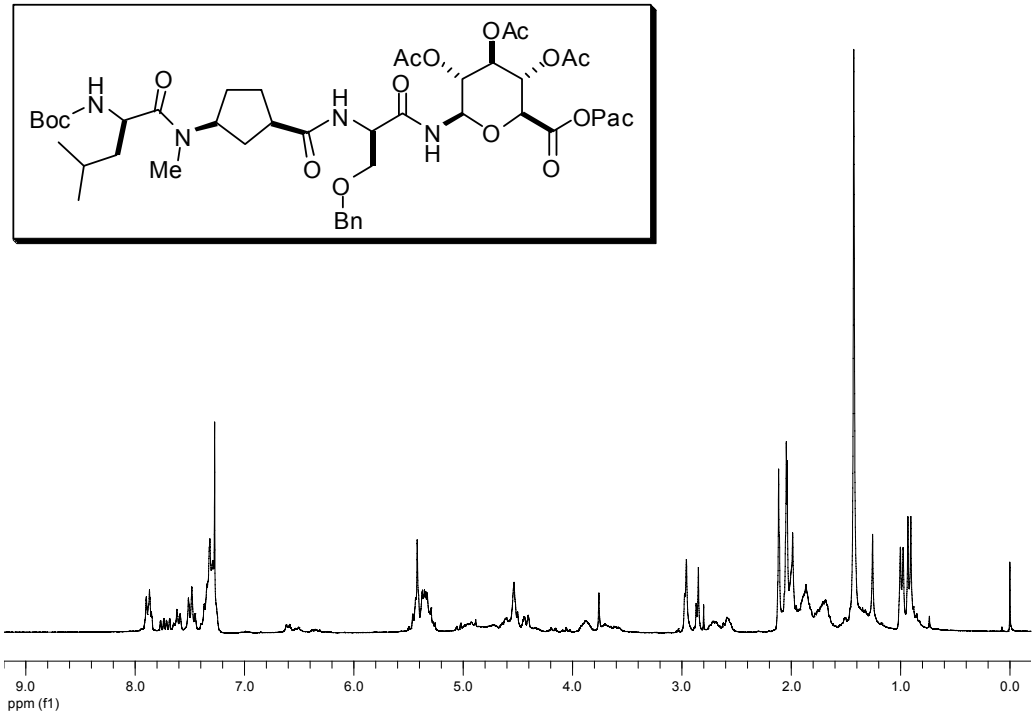



Bn
O
Boc
N
H
O
Me
N
O
AcO
OAc
OAc
O
N
H
O
Me
N
O
O
OH


9.0
8.0
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
ppm (f1)

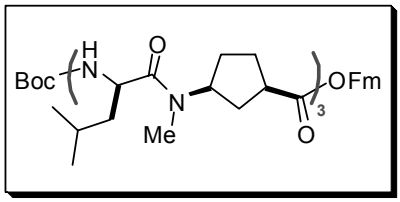

Bn
O
TFA.H3N
O
Me
N
O
AcO
OAc
OAc
O
N
H
O
Me
N
O
OPac

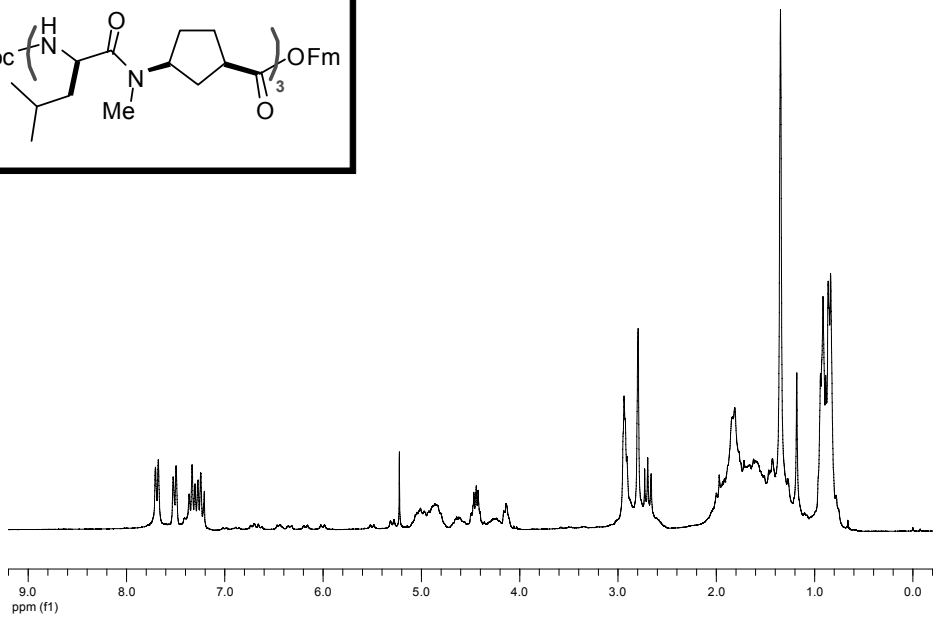

9.0
8.0
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
ppm (f1)

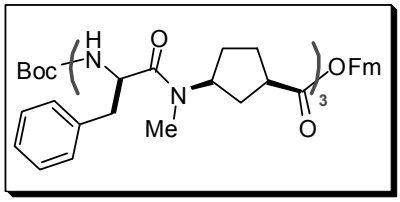

OAc
AcO
OAc
Boc
H
N
O
N
Me
H
N
O
O
N
H
O
OPac
O
O
Bn
9.0
8.0
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
ppm (f1)

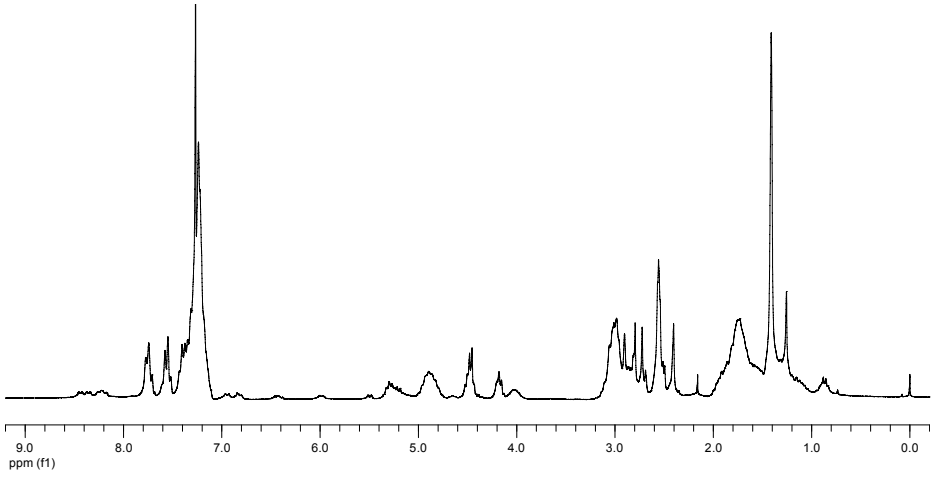
27.6. HEXAPÉPTIDOS

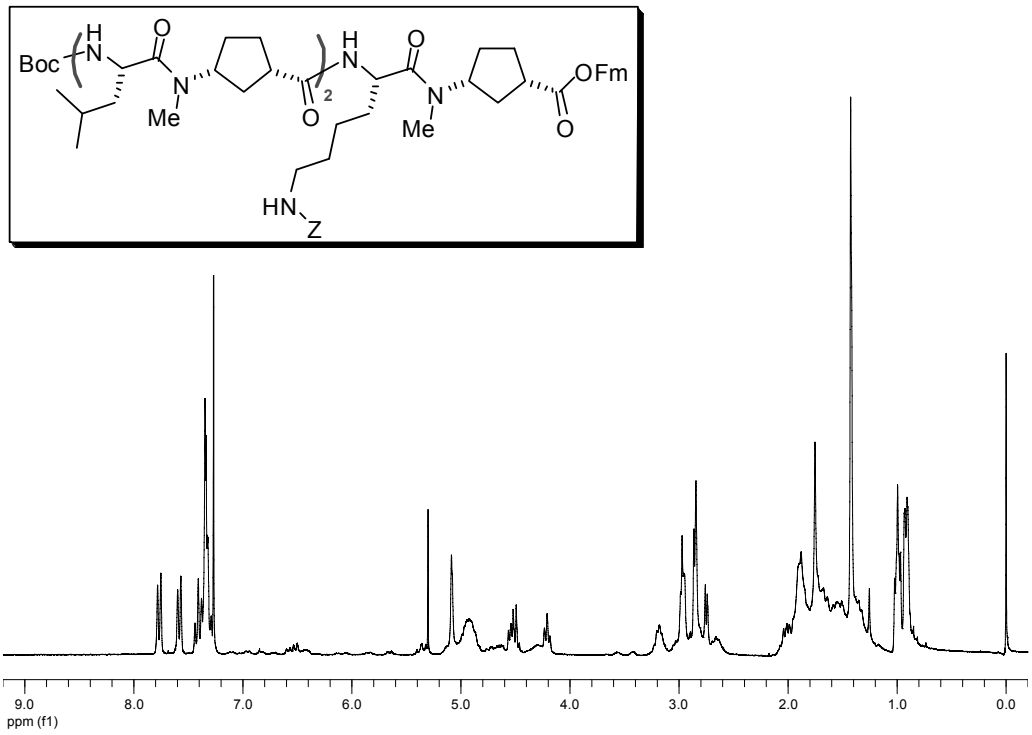
27.6.1. HEXAPÉPTIDOS DERIVADOS DEL ÁCIDO 3-AMINOCICLOPENTANO-CARBOXÍLICO

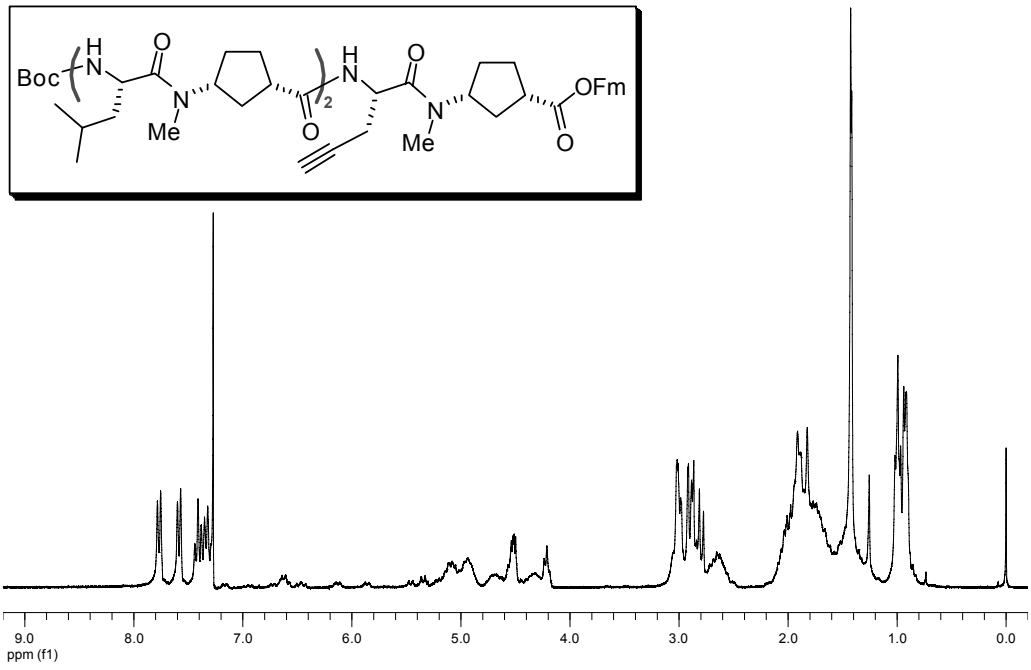


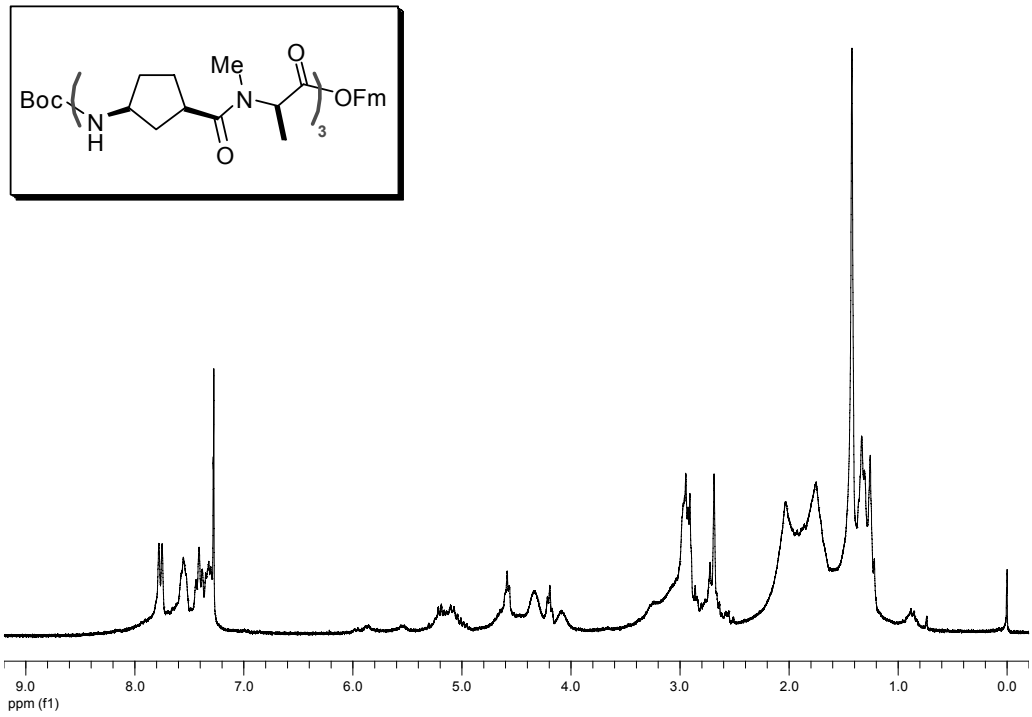




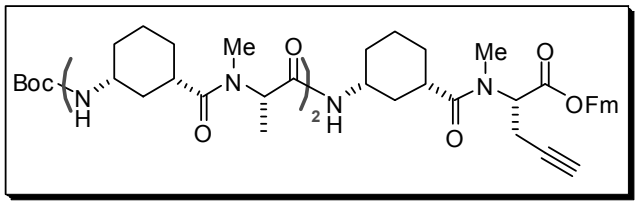


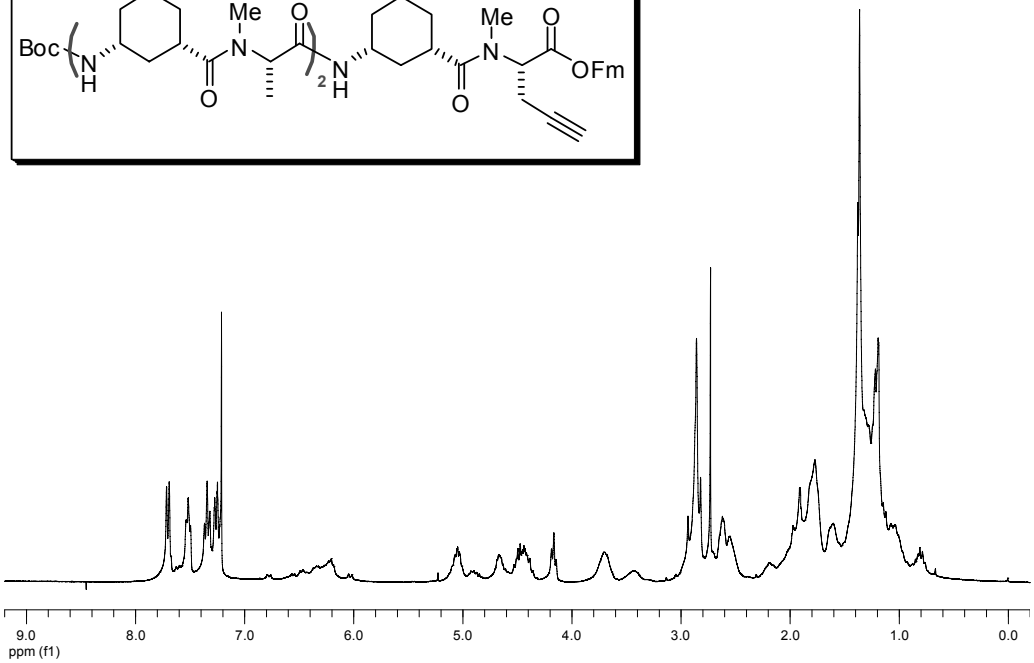

Boc
H
N
O
N
Me
O
2
H
N
O
N
Me
OFm
O
HN
Z
9.0
8.0
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
ppm (f1)

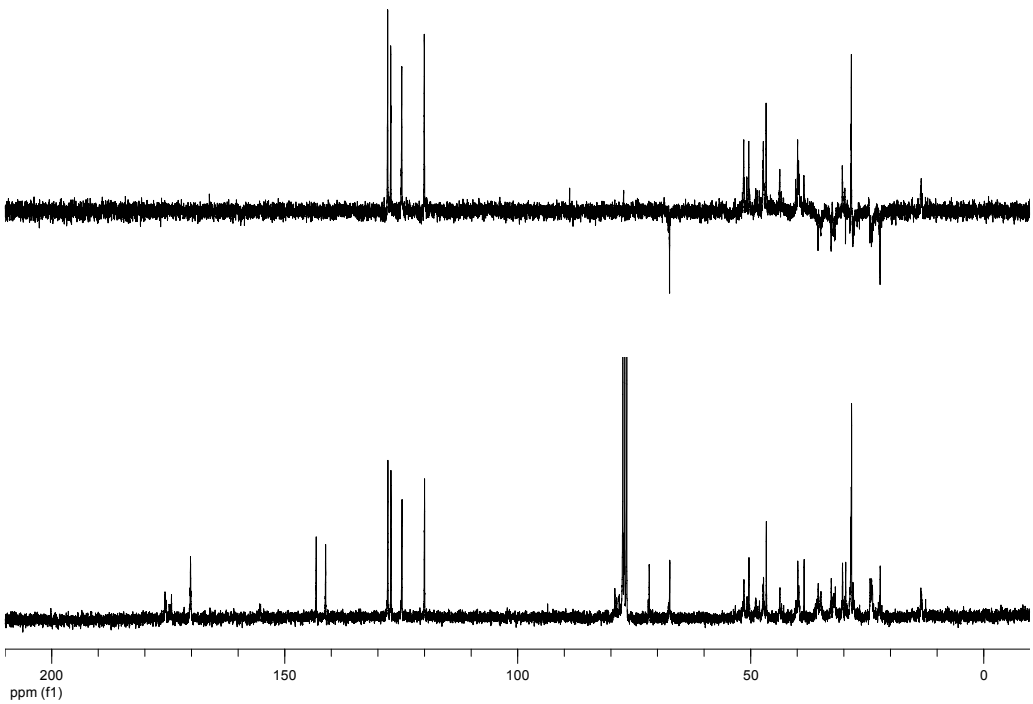

Boc
H
N
O
N
Me
O
2
H
N
O
N
Me
OFm
O
9.0
8.0
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
ppm (f1)

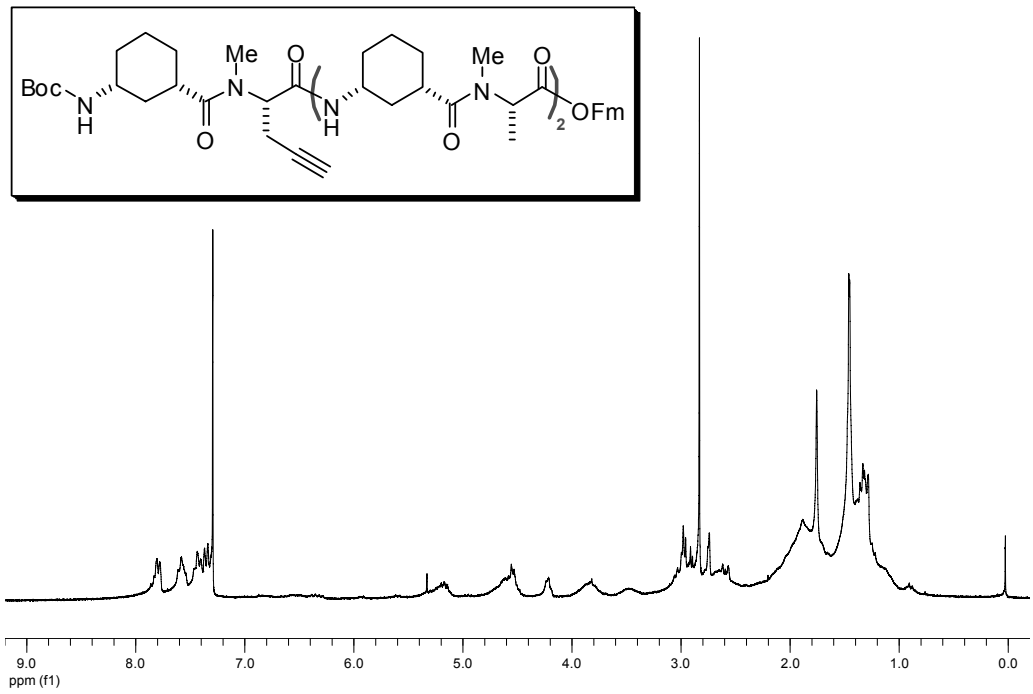

Boc
N
H
Me
N
O
O
OFm
3
9.0
8.0
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
ppm (f1)

27.6.2. HEXAPÉPTIDOS DERIVADOS DEL ÁCIDO 3-AMINOCICLOHEXANO-CARBOXÍLICO



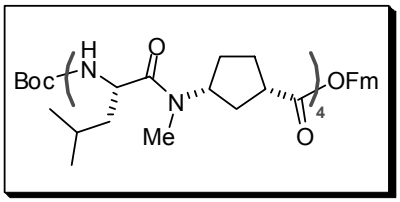


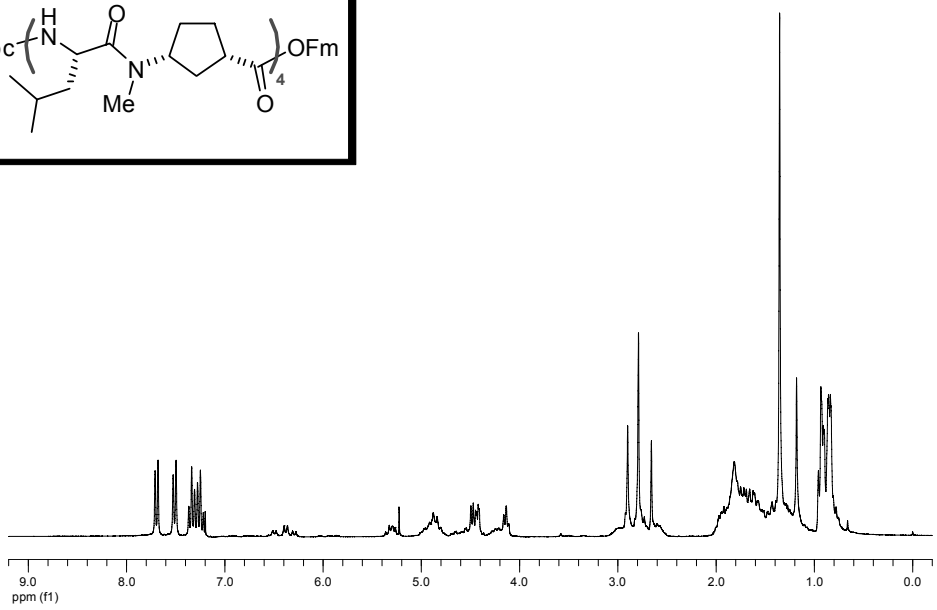


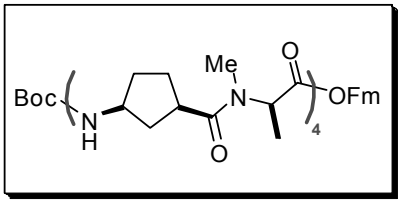

Boc
N
H
Me
N
O
O
N
H
Me
N
O
O
2
OFm
9.0
8.0
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
ppm (f1)

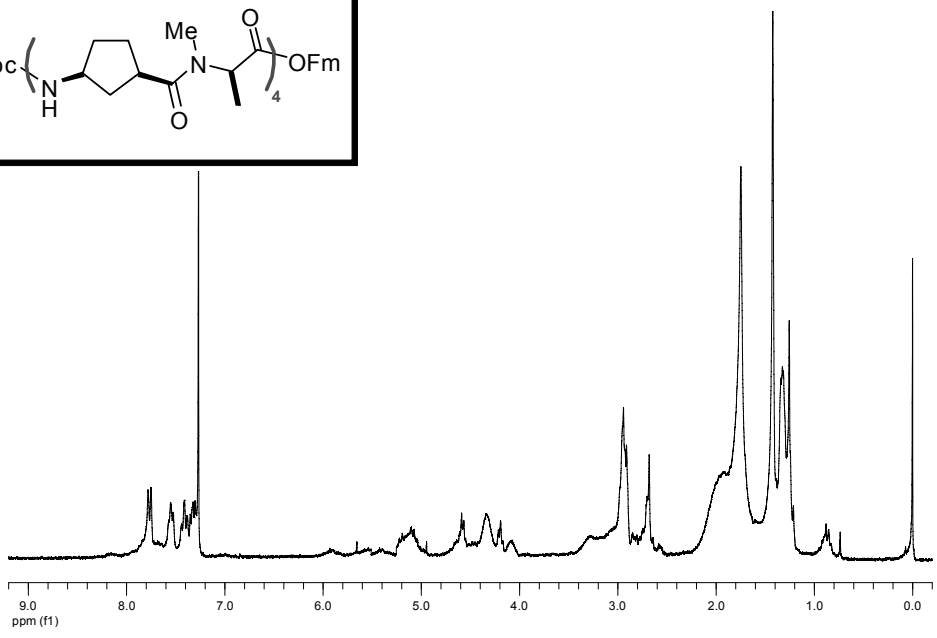
27.7. OCTAPÉPTIDOS

27.7.1. OCTAPÉPTIDOS DERIVADOS DEL ÁCIDO 3-AMINOCICLOPENTANO-CARBOXÍLICO

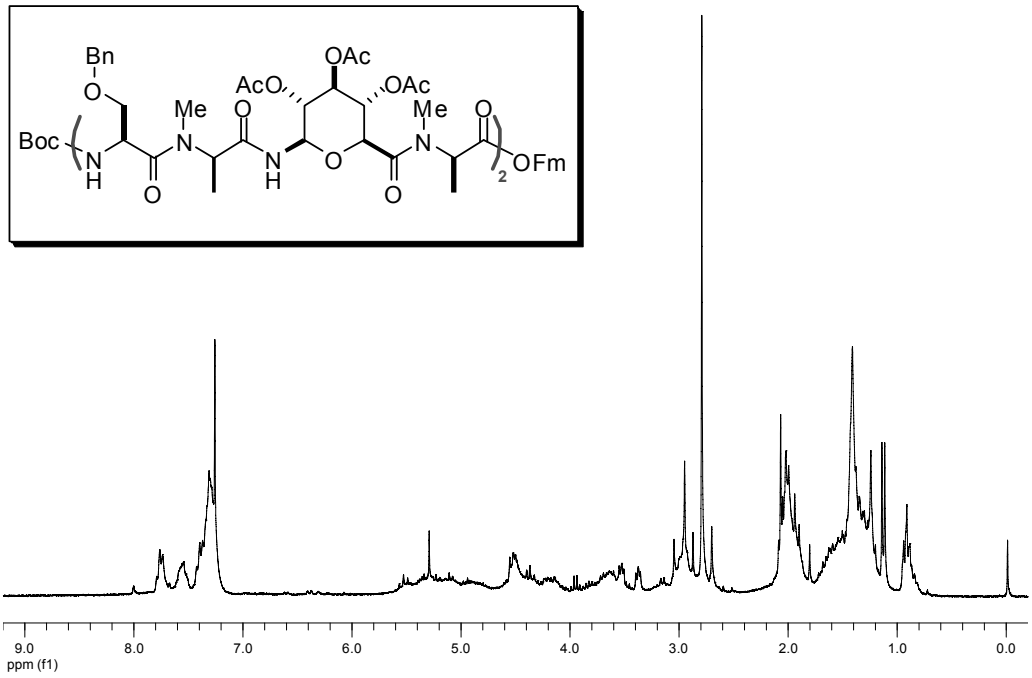


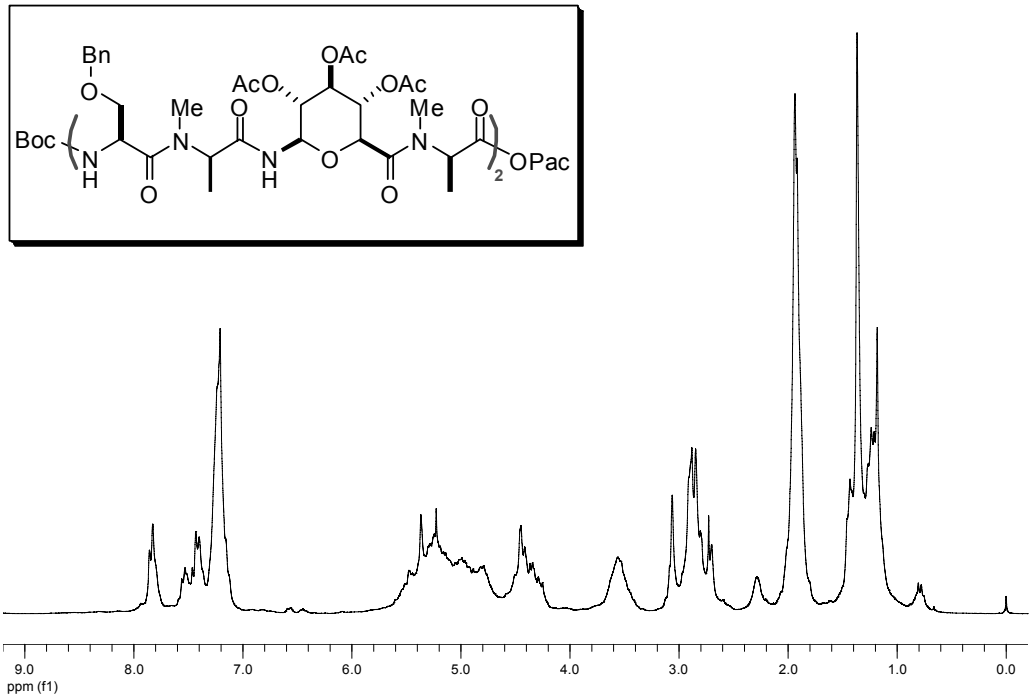


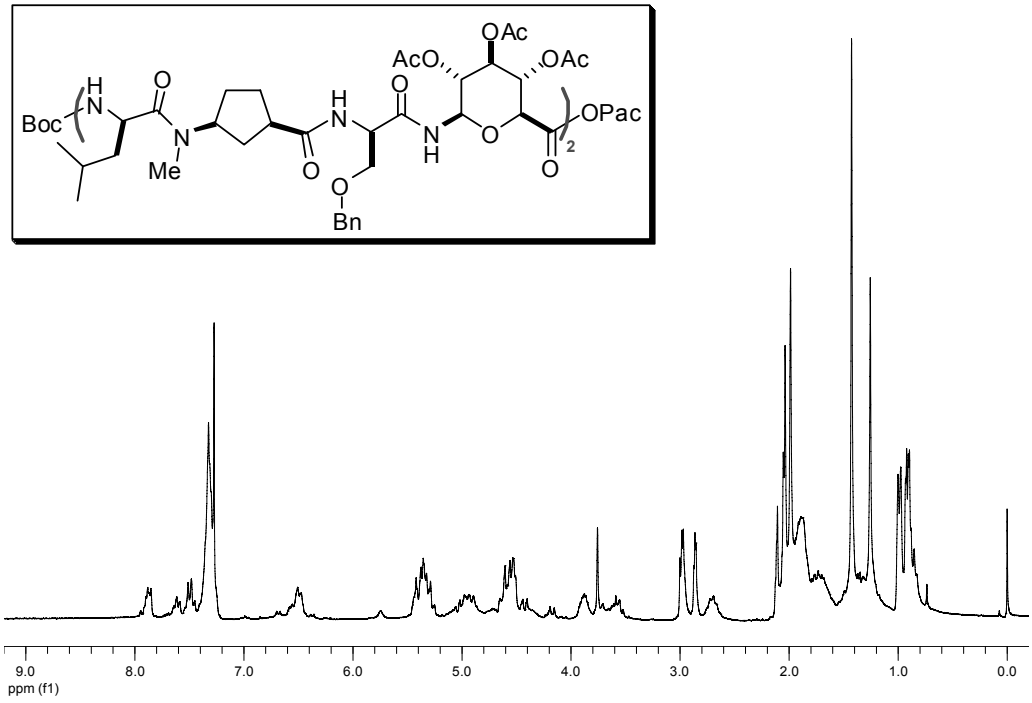




27.7.2. OCTAPÉPTIDOS DERIVADOS DEL ÁCIDO 2,3,4-TRI-*O*-ACETIL-1-AZIDO-1-DESOXI-β-*D*-GLUCOPIRANURÓNICO

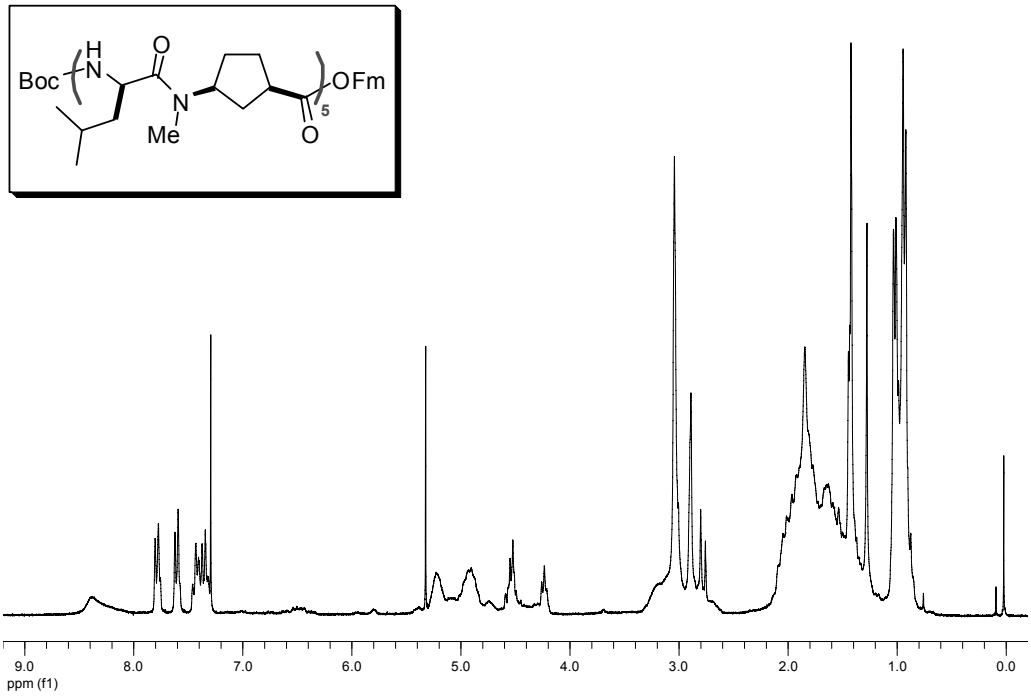





OAc
AcO
OAc
OPac
Boc
N
H
O
N
Me
O
H
N
O
N
H
O
O
O
Bn
2
9.0
8.0
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
ppm (f1)

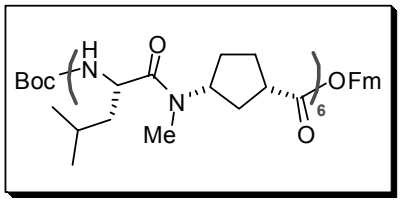
27.8. DECAPÉPTIDOS

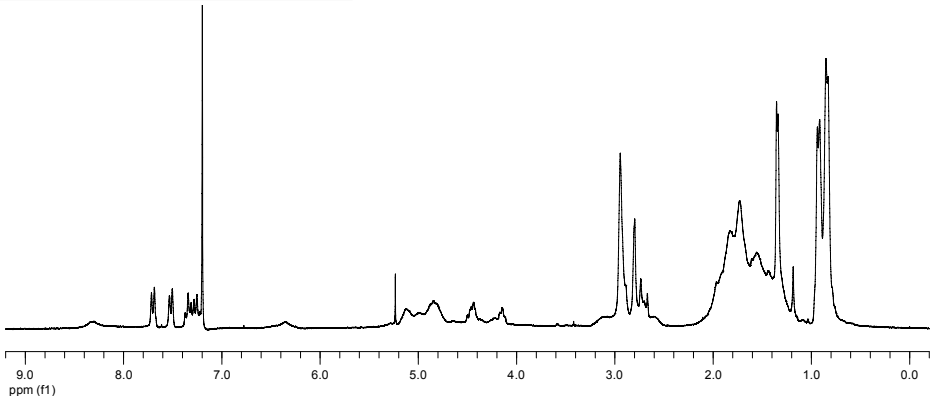
27.8.1. DECAPÉPTIDOS DERIVADOS DEL ÁCIDO 3-AMINOCICLOPENTANO-CARBOXÍLICO

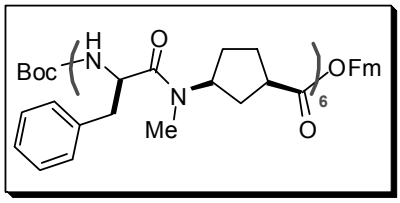


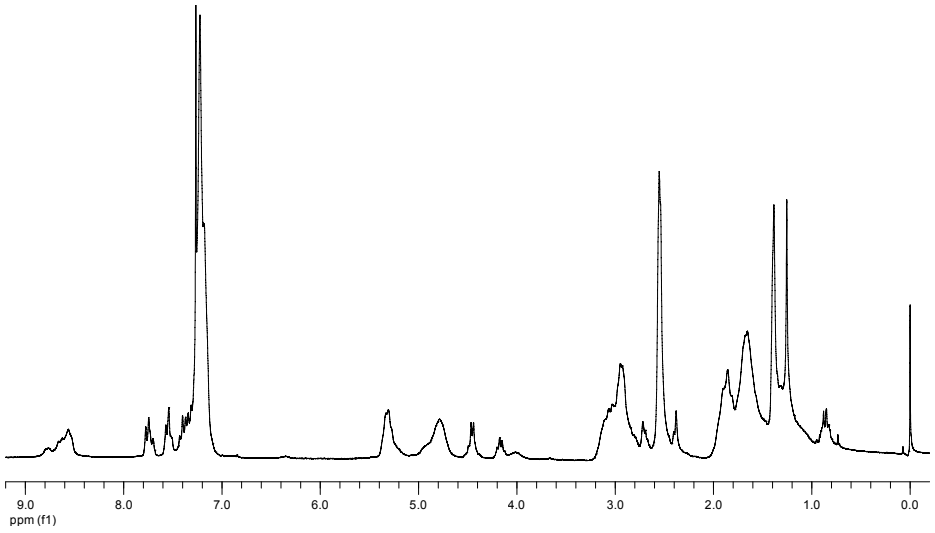
27.9. DODECAPÉPTIDOS

27.9.1. DODECAPÉPTIDOS DERIVADOS DEL ÁCIDO 3-AMINOCICLOPENTANO-CARBOXÍLICO

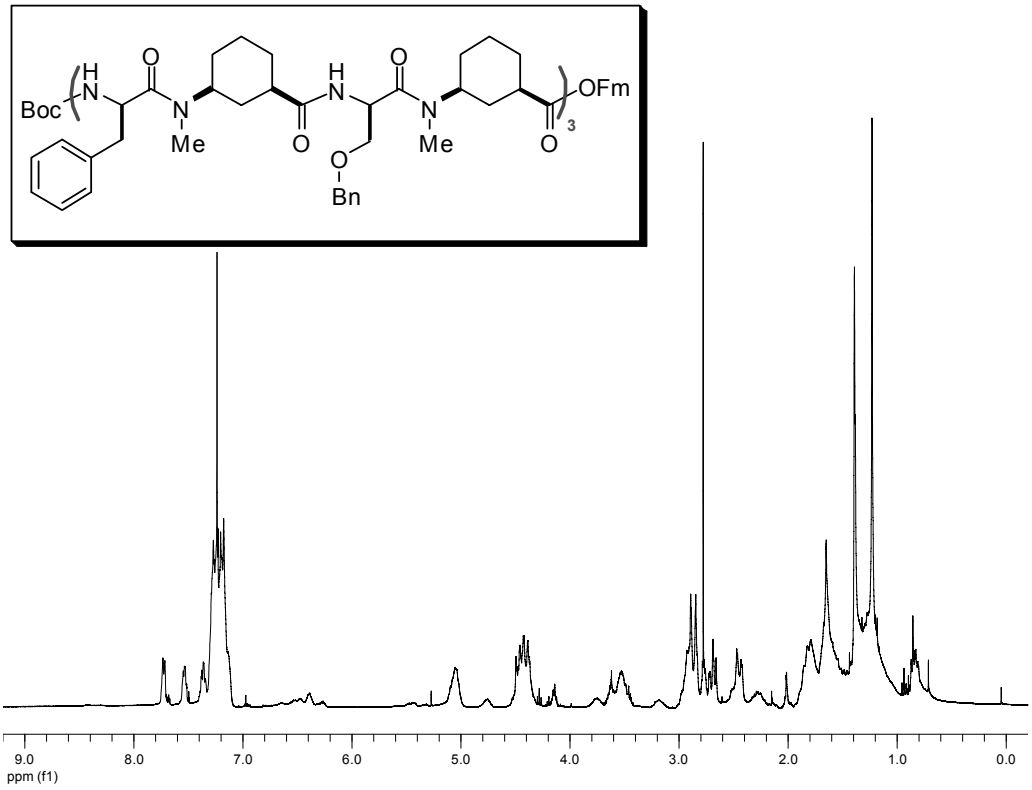






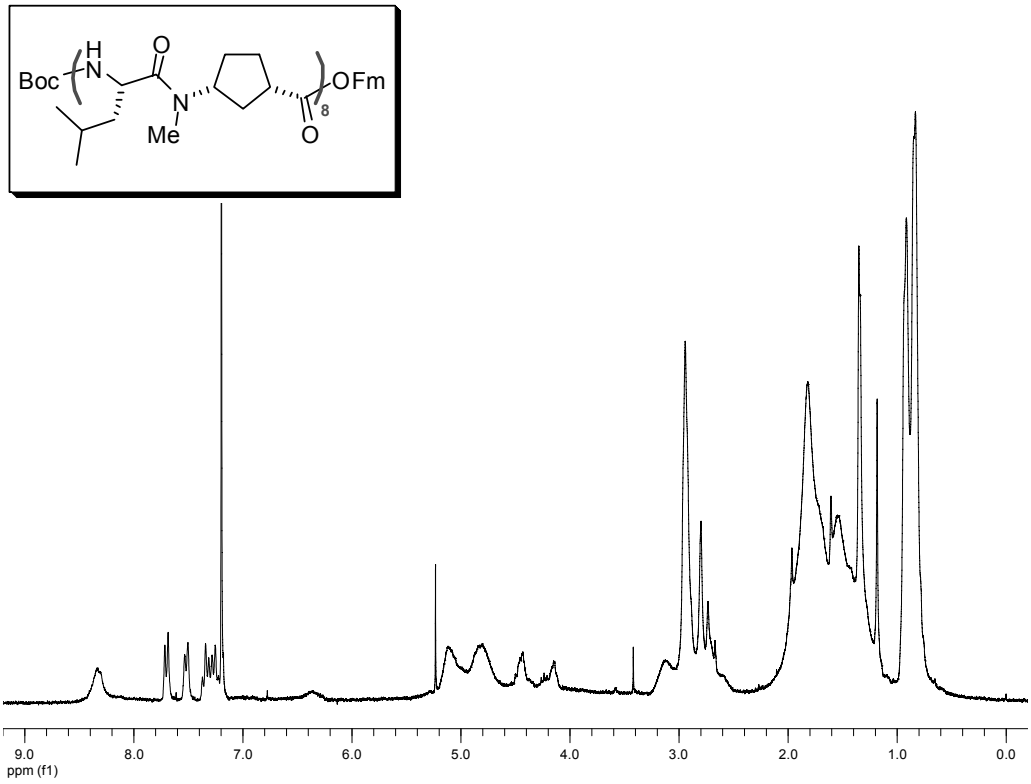


27.9.2. DODECAPÉPTIDOS DERIVADOS DEL ÁCIDO 3-AMINOCICLOHEXANO-CARBOXÍLICO



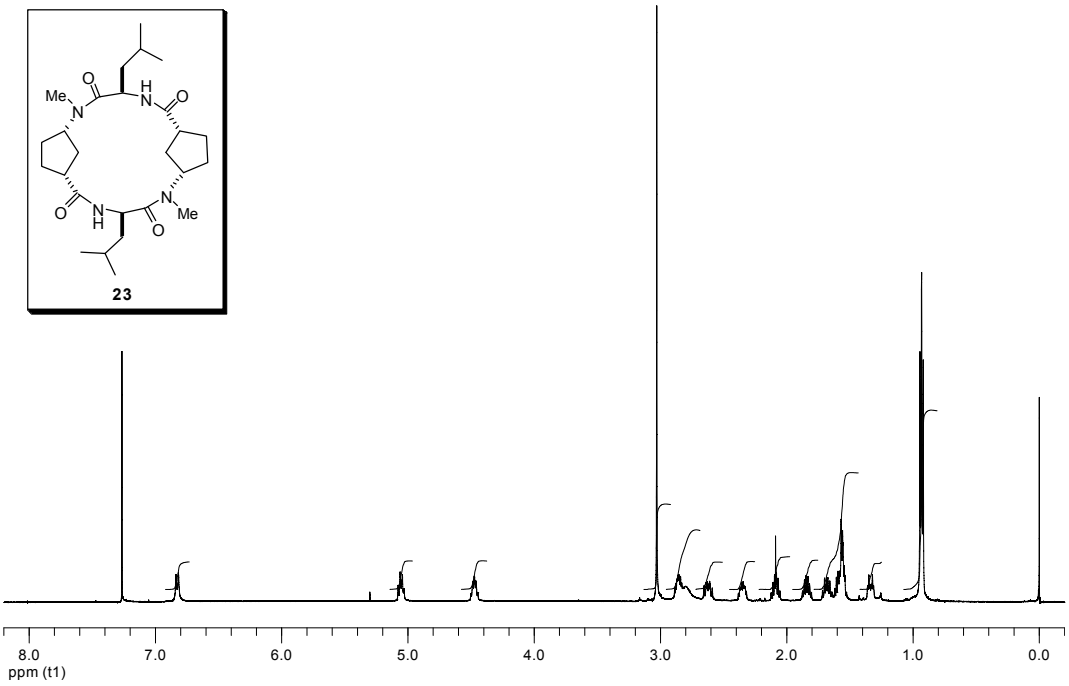
27.10. HEXADECAPÉPTIDOS

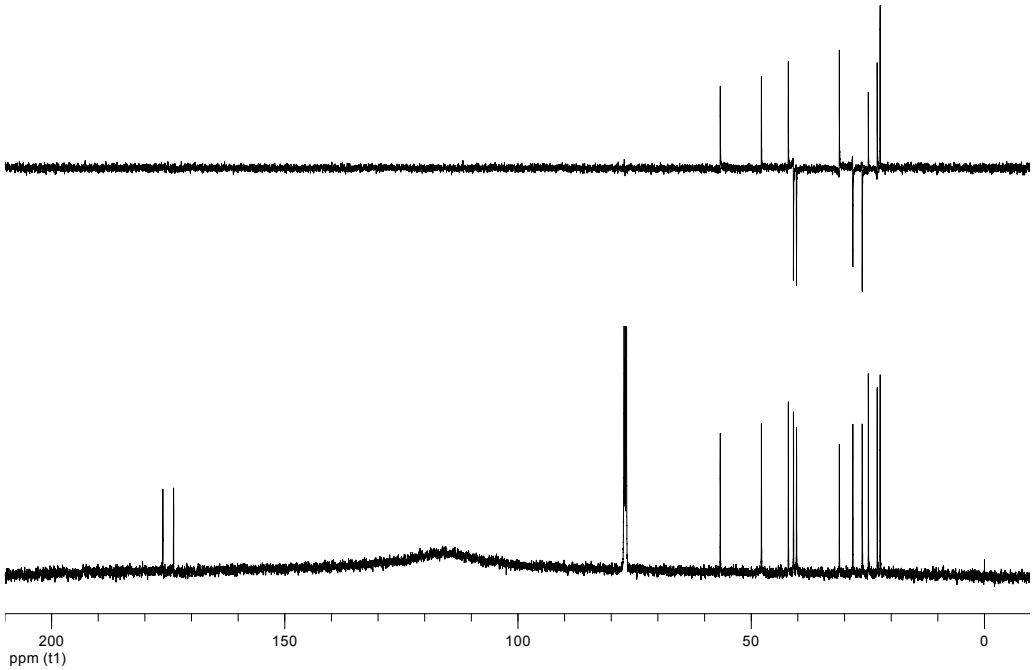
27.10.1. HEXADECAPÉPTIDOS DERIVADOS DEL ÁCIDO 3-AMINOCICLO-PENTANOCARBOXÍLICO



27.11. CICLOTETRAPÉPTIDOS

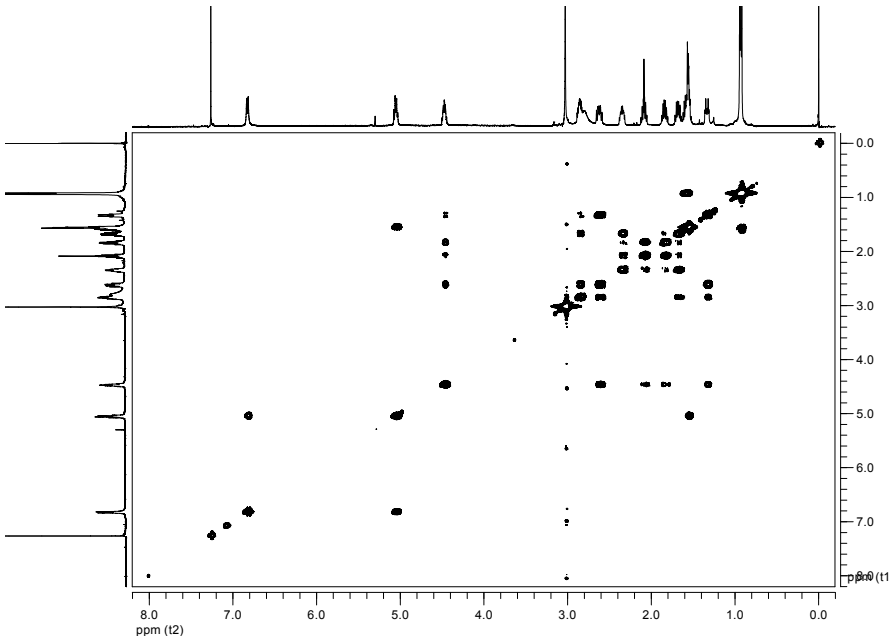
27.11.1. CICLOTETRAPÉPTIDOS DERIVADOS DEL ÁCIDO 3-AMINOCICLOPENTANOCARBOXÍLICO



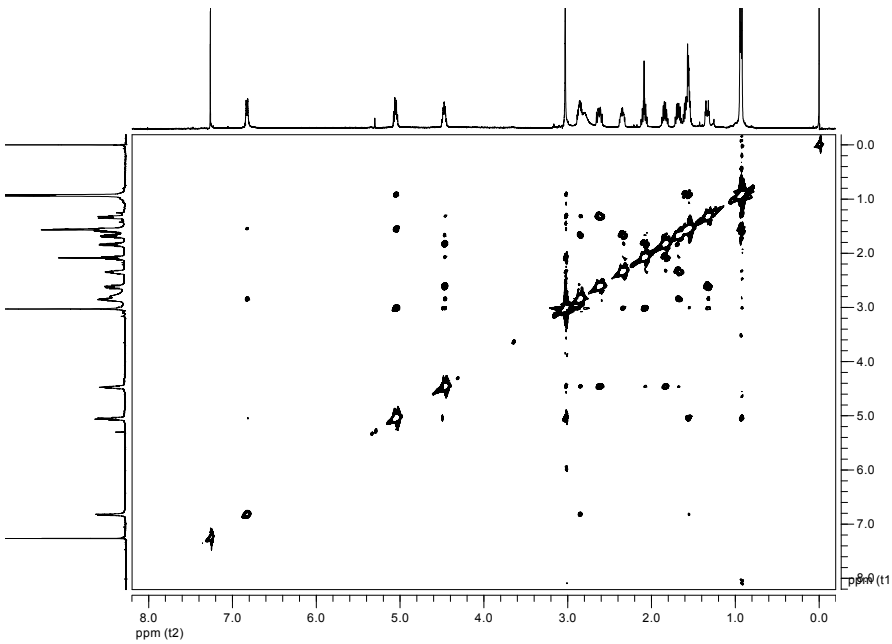


***ciclo*[(*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp)$_2$-] (23)**

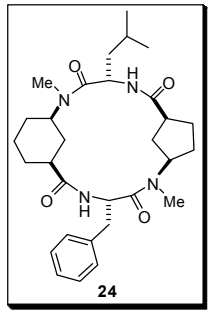
1) COSY [20.02 mM, $CDCl_3$, 298 K (25 ºC), 500.13 MHz]



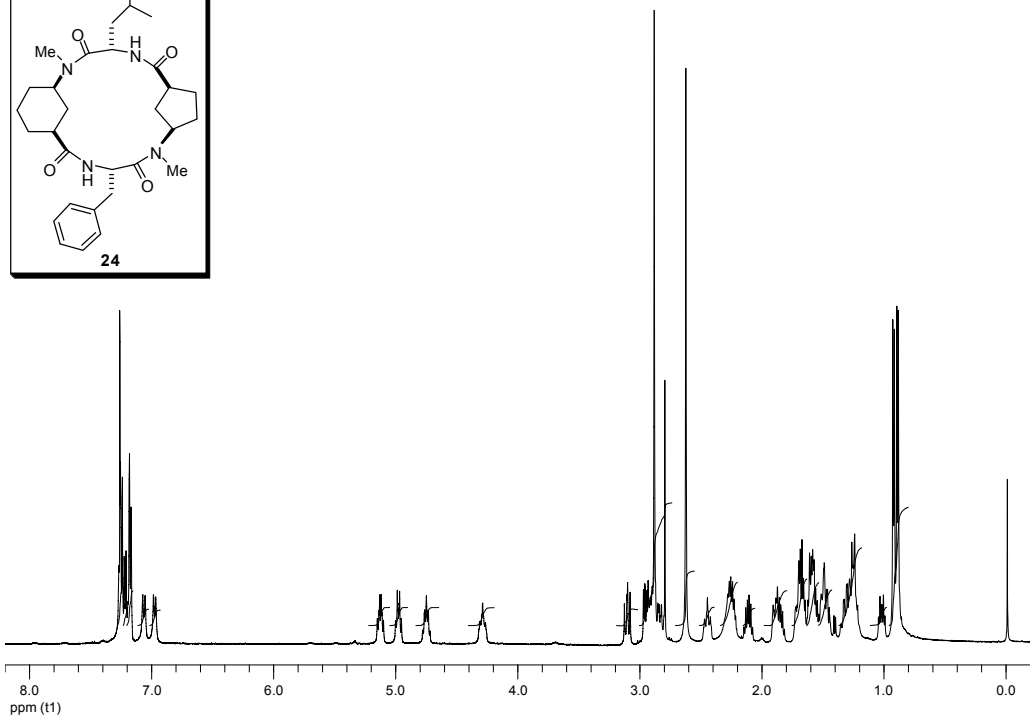
2) ROESY [20.02 mM, $CDCl_3$, 298 K (25 ºC), 500.13 MHz]

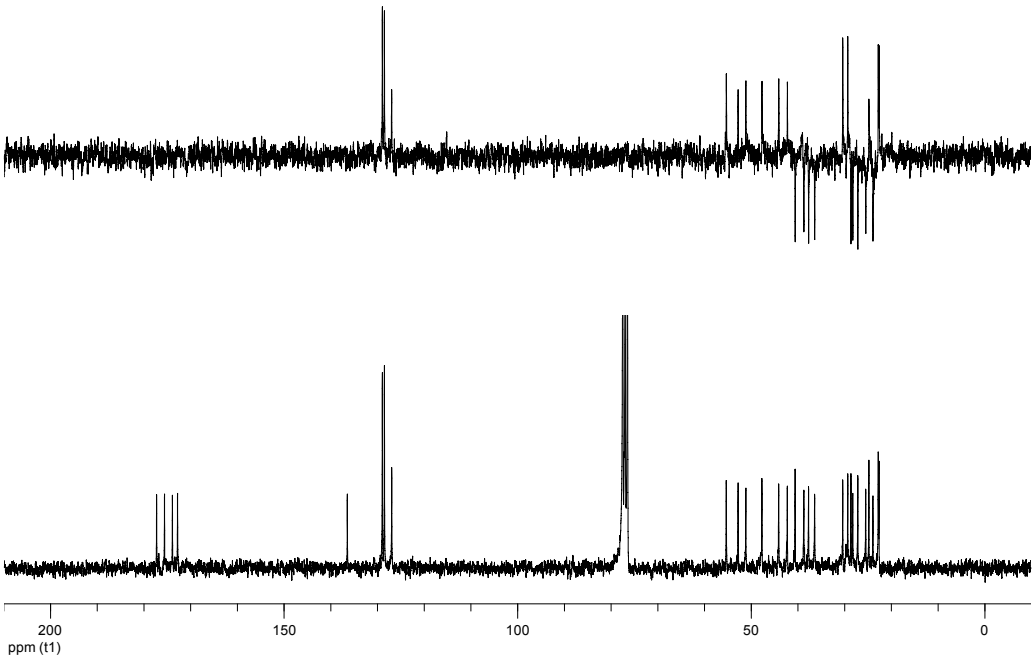


27.11.2. CICLOTETRAPÉPTIDOS HÍBRIDOS Acp/Ach



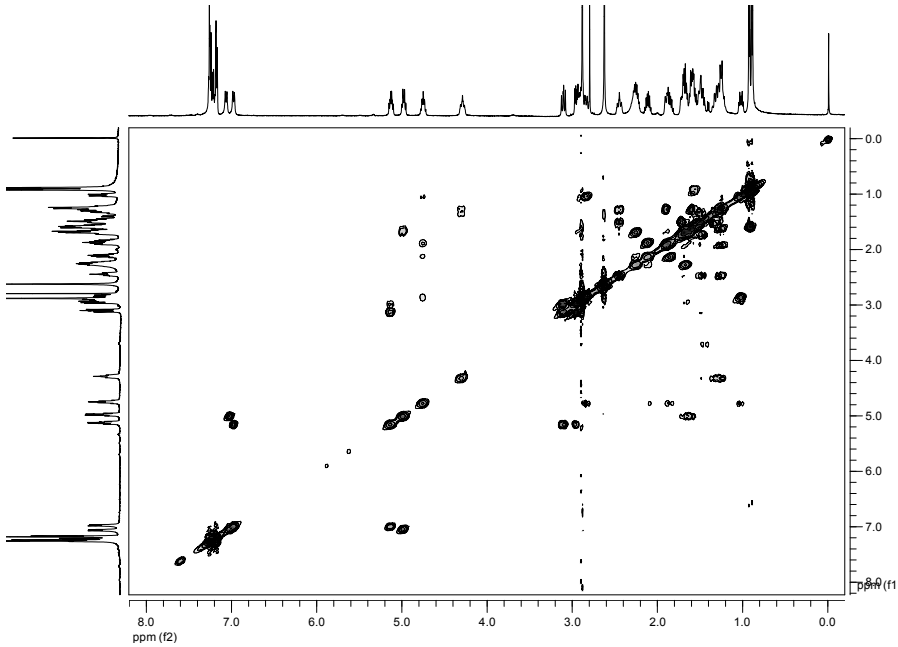
24





***ciclo*[*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach-*D*-Leu-*L*-^{Me}N-γ-Acp-] (24)**

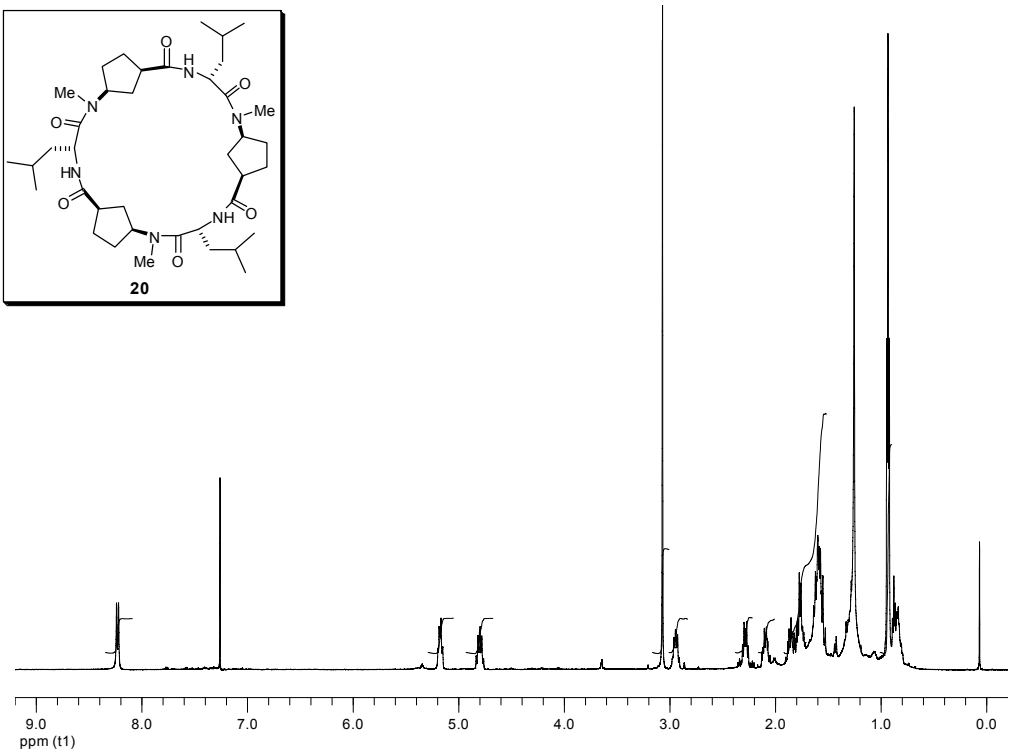
1) COSY [43.43 mM, $CDCl_3$, 298 K (25 ºC), 500.13 MHz]



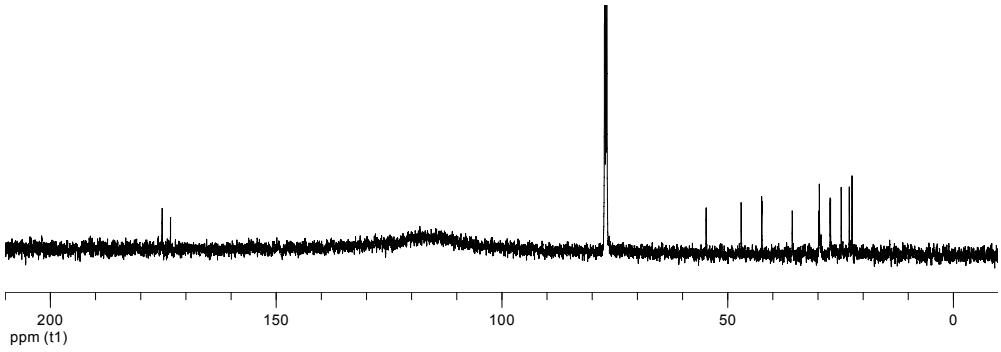
27.12. CICLOHEXAPÉPTIDOS

27.12.1. CICLOHEXAPÉPTIDOS DERIVADOS DEL ÁCIDO 3-AMINOCICLOPENTANOCARBOXÍLICO

20

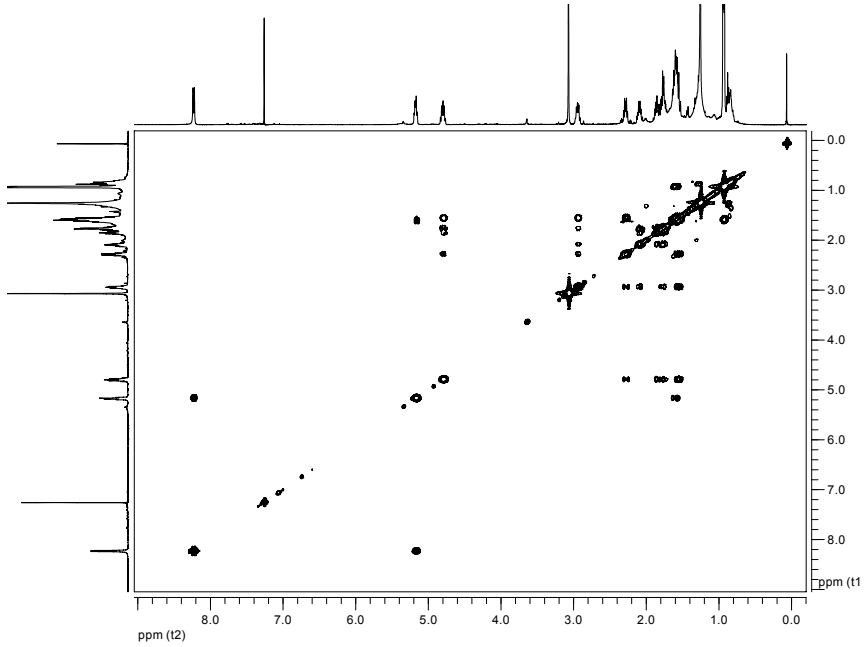




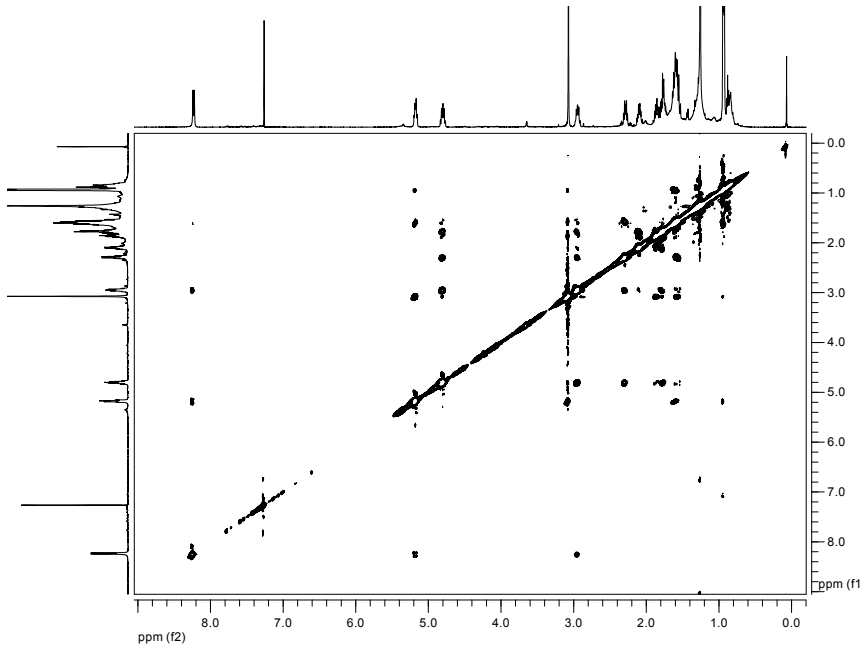


***ciclo*[(*D*-Leu-*L*-^{Me}N-γ-Acp)$_3$-] (20)**

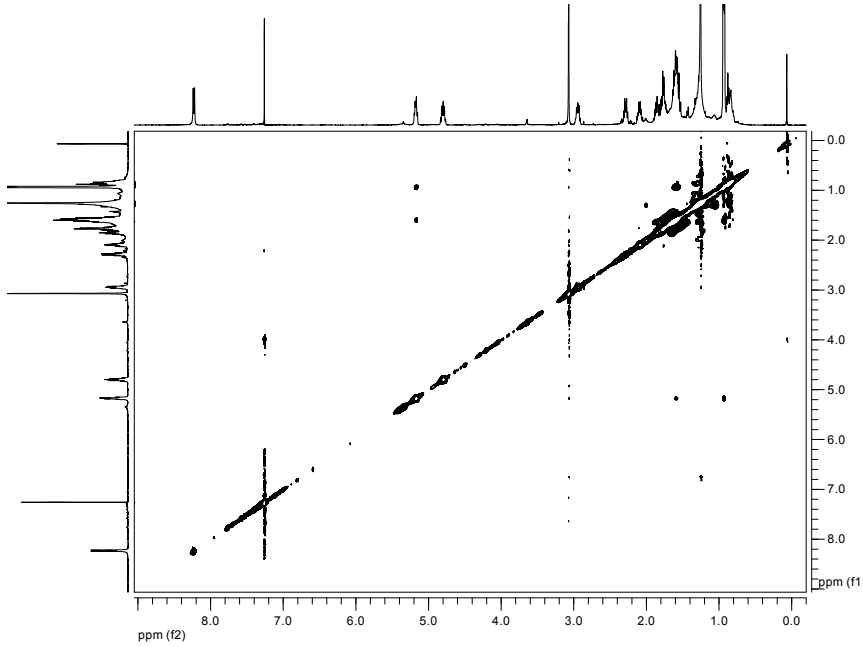
1) COSY [14.01 mM, $CDCl_3$, 298 K (25 º C), 500.13 MHz]

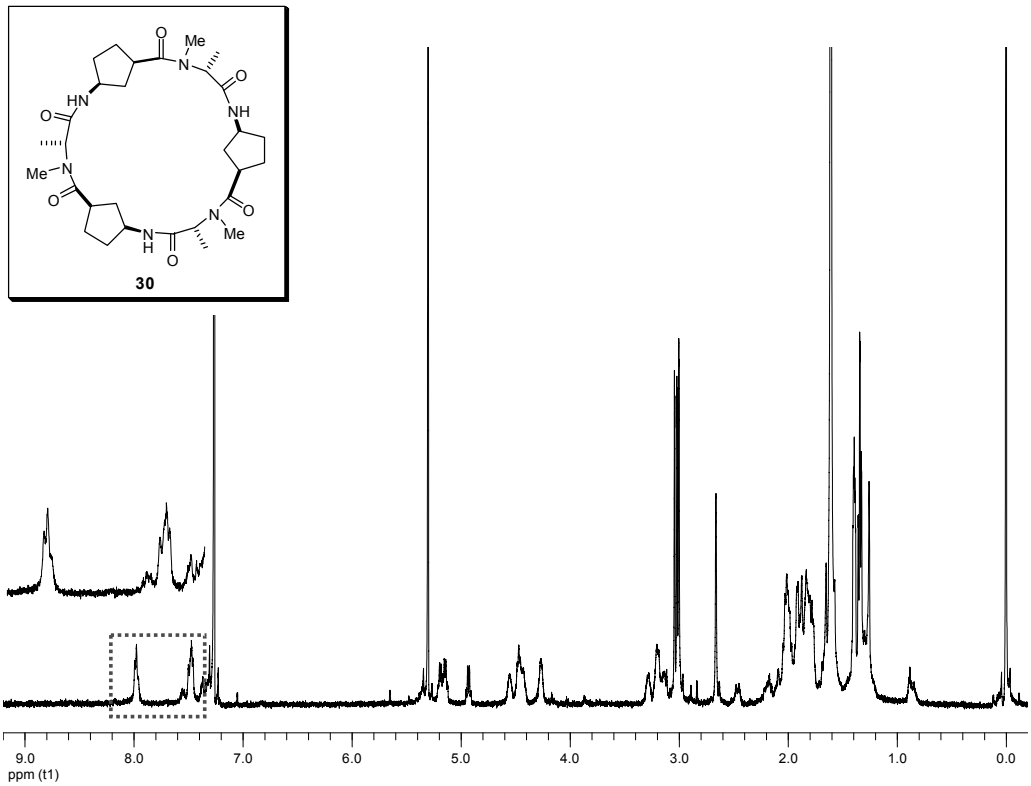


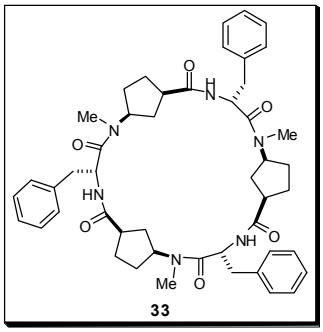
2) ROESY [14.01 mM, $CDCl_3$, 298 K (25 º C), 500.13 MHz]



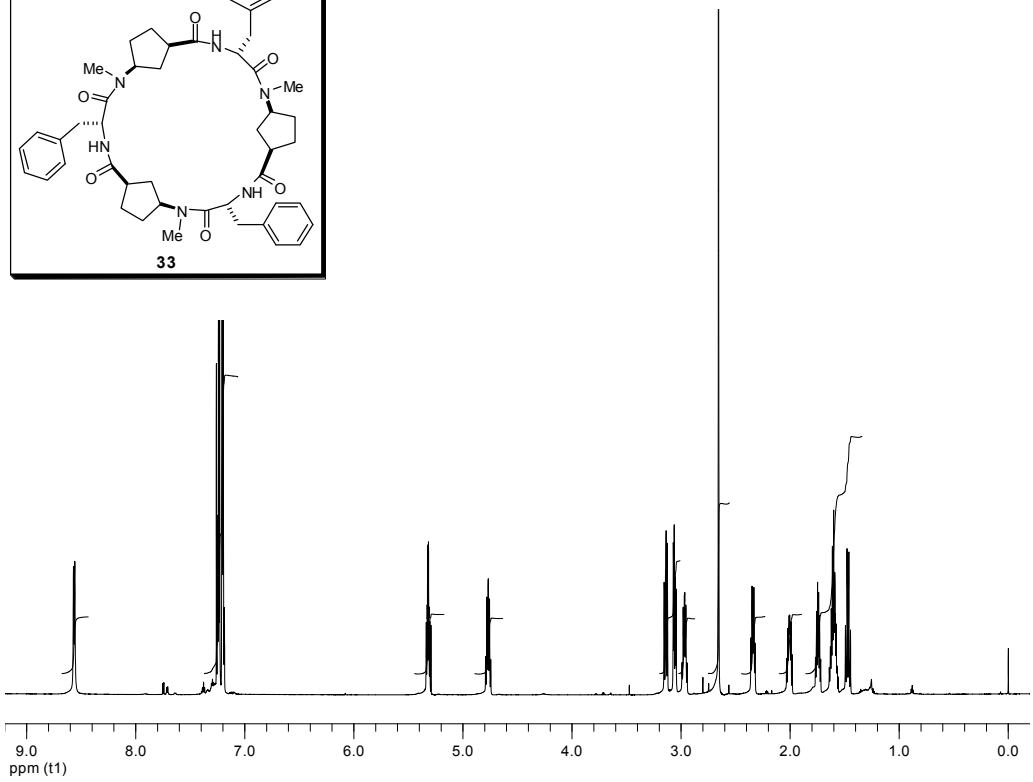
3) NOESY [14.01 mM, $CDCl_3$, 298 K (25 º C), 500.13 MHz]

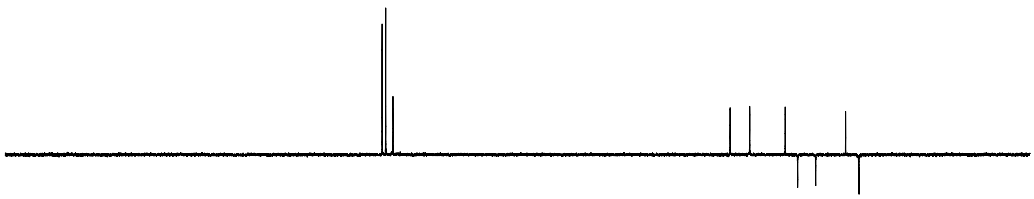


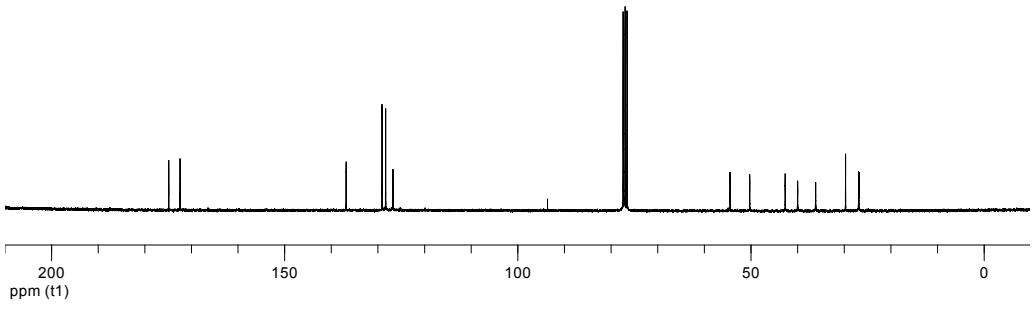

Me
N
O
NH
O
N
Me
O
N
H
O
HN
O
Me
N
O
30
9.0
8.0
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
ppm (t1)


Me
N
O
HN
O
O
H
N
O
N
Me
O
NH
O
N
Me
O

33

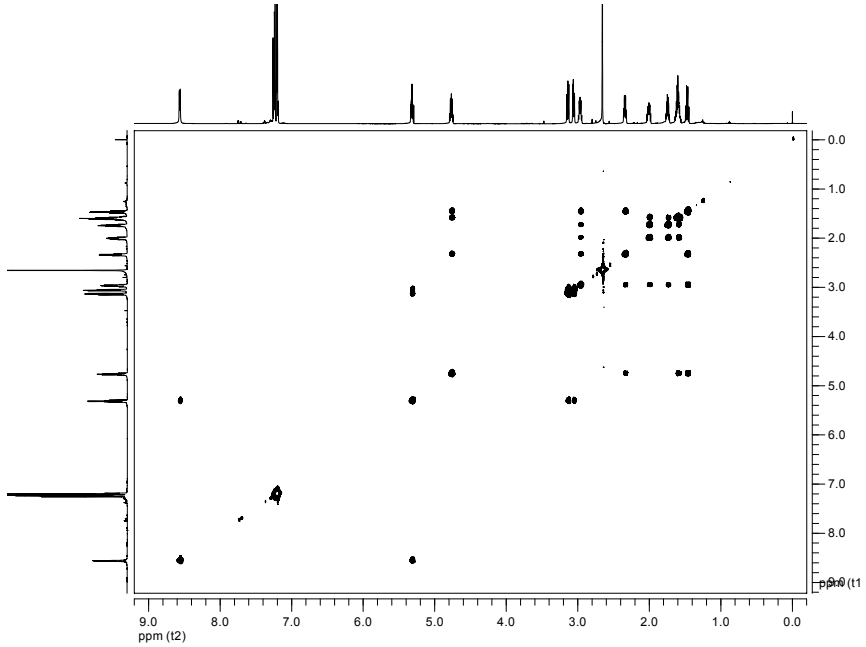

9.0
8.0
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
ppm (t1)



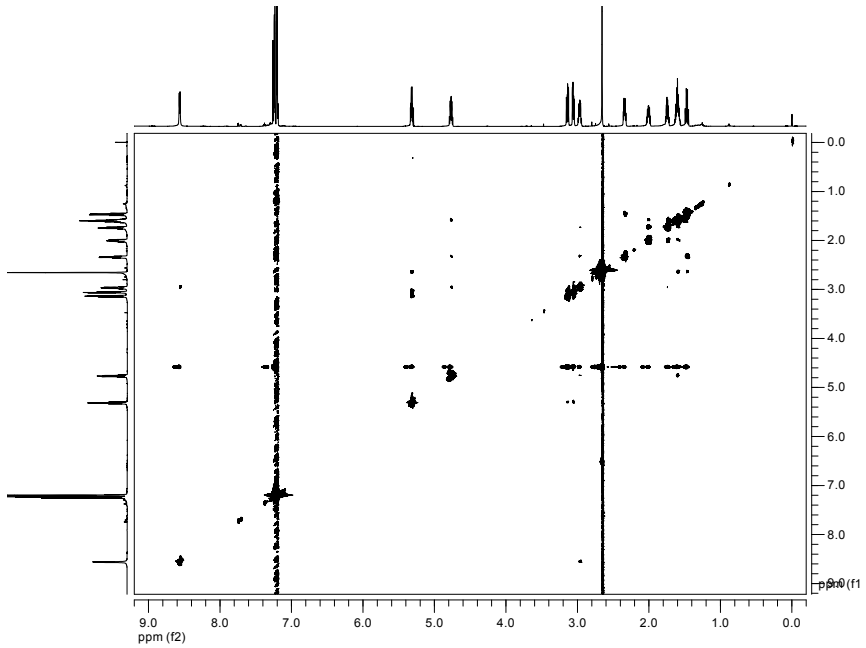

200
150
100
50
0
ppm (t1)

***ciclo*[(*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Acp)$_3$-] (33)**

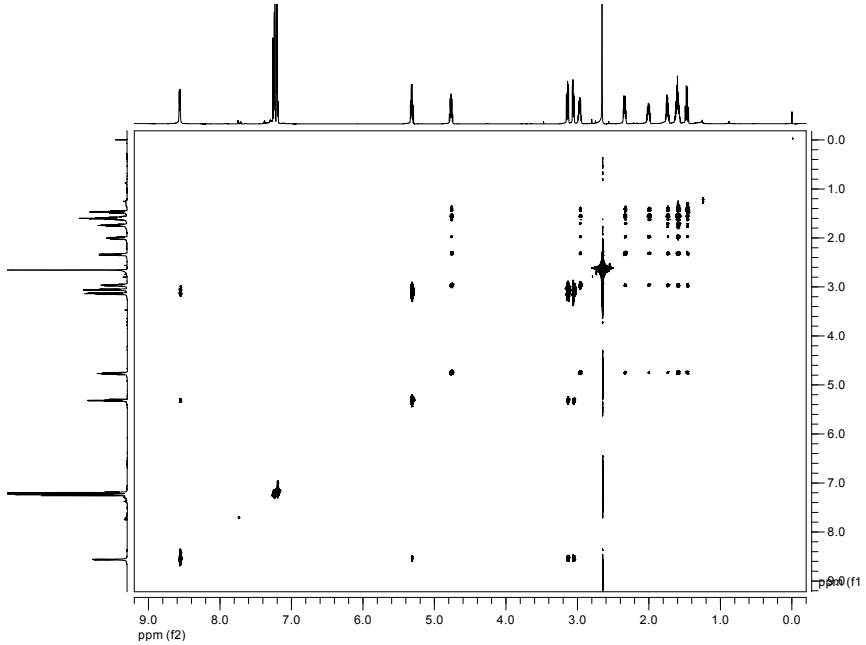
1) COSY [46.57 mM, $CDCl_3$, 298 K (25 º C), 750.13 MHz]

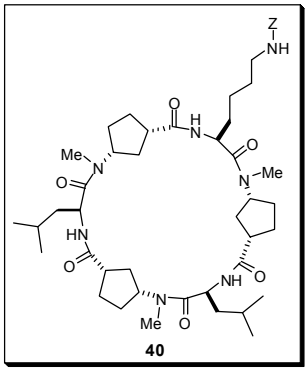


2) NOESY [46.57 mM, $CDCl_3$, 298 K (25 º C), 750.13 MHz]

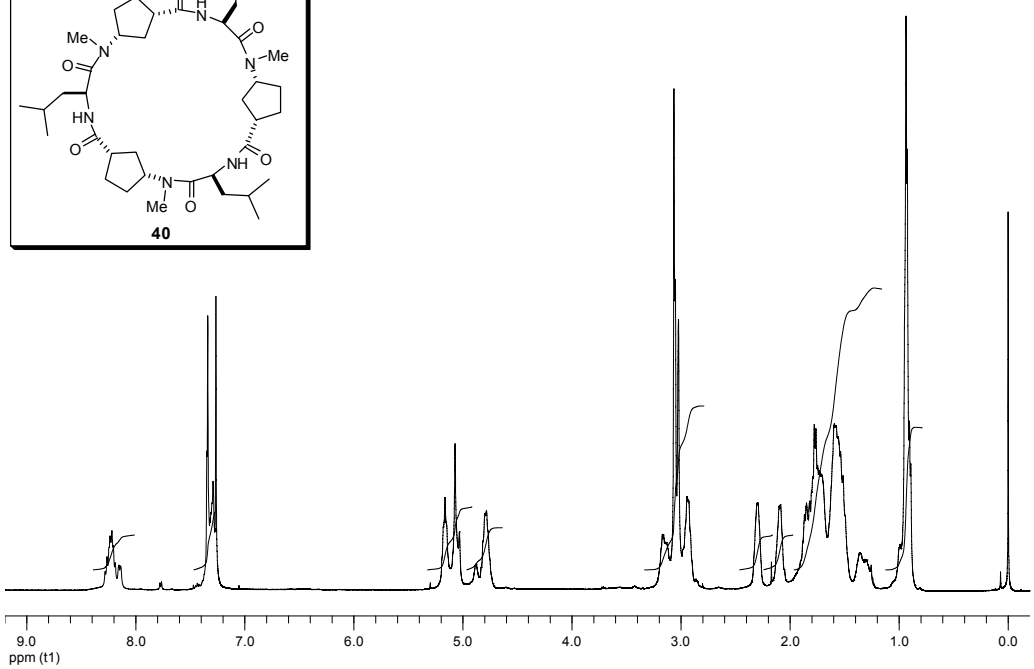


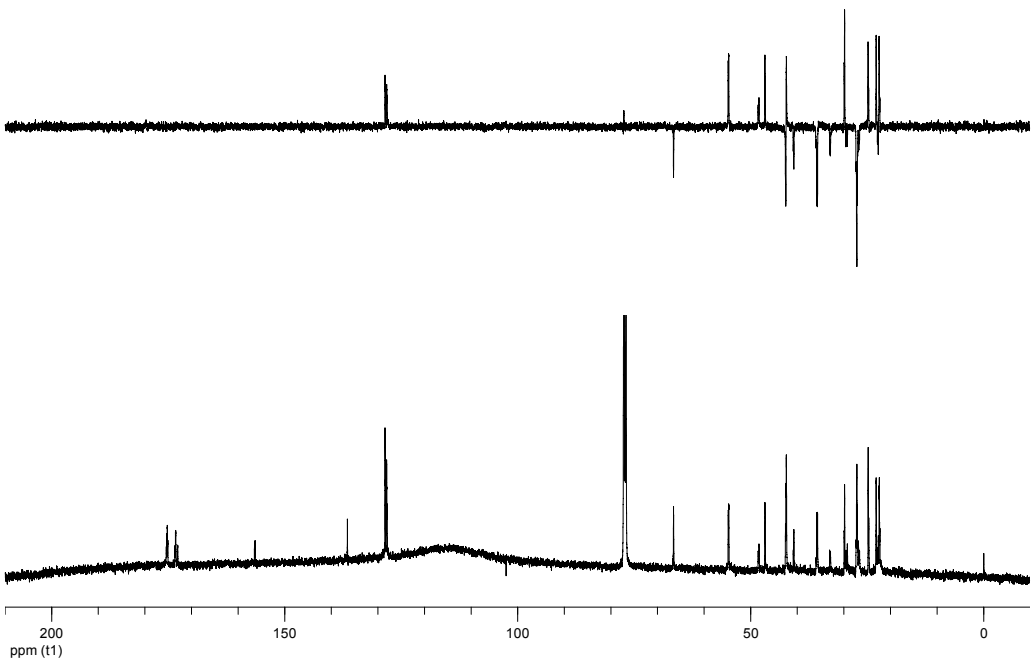
3) TOCSY [46.57 mM, $CDCl_3$, 298 K (25 º C), 750.13 MHz]




Z
NH
O
H
N
O
N
Me
Me
N
O
HN
O
NH
O
N
Me
O

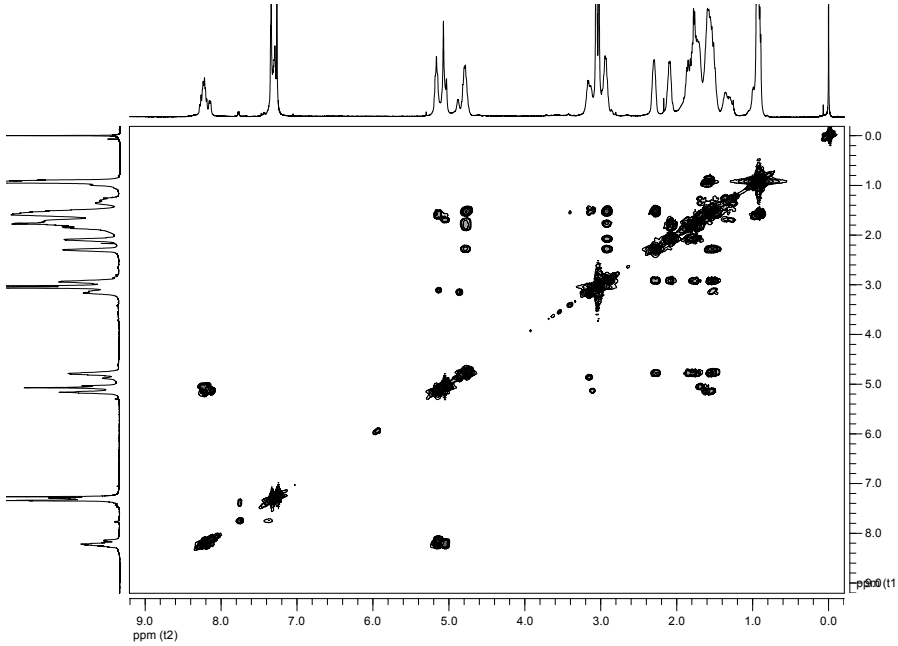
40


9.0
8.0
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
ppm (t1)

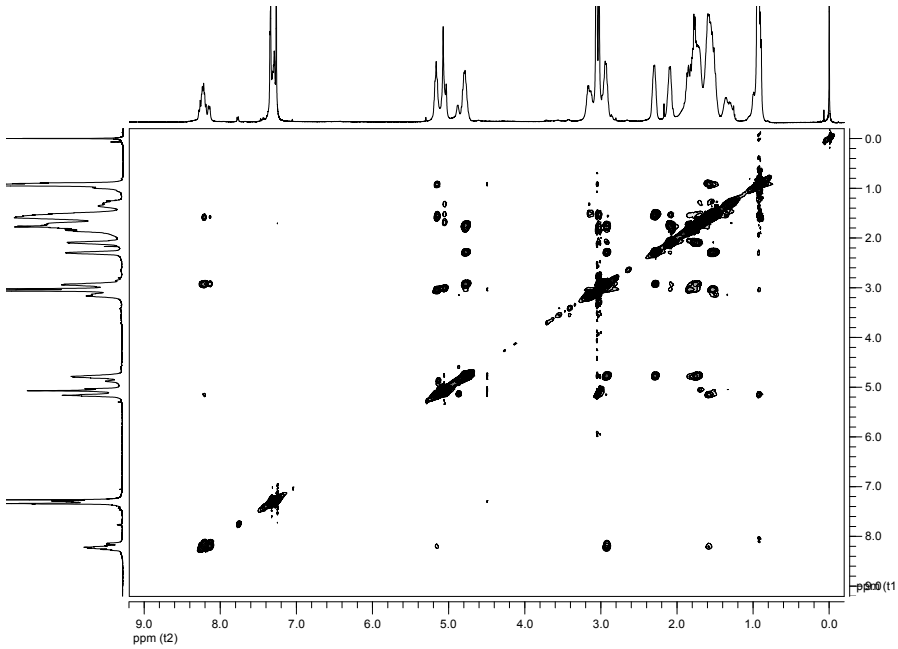

200
150
100
50
0
ppm (t1)

***ciclo*{[*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp]$_2$-*L*-Lys(Z)-*D*-^{Me}N-γ-Acp-} (40)**

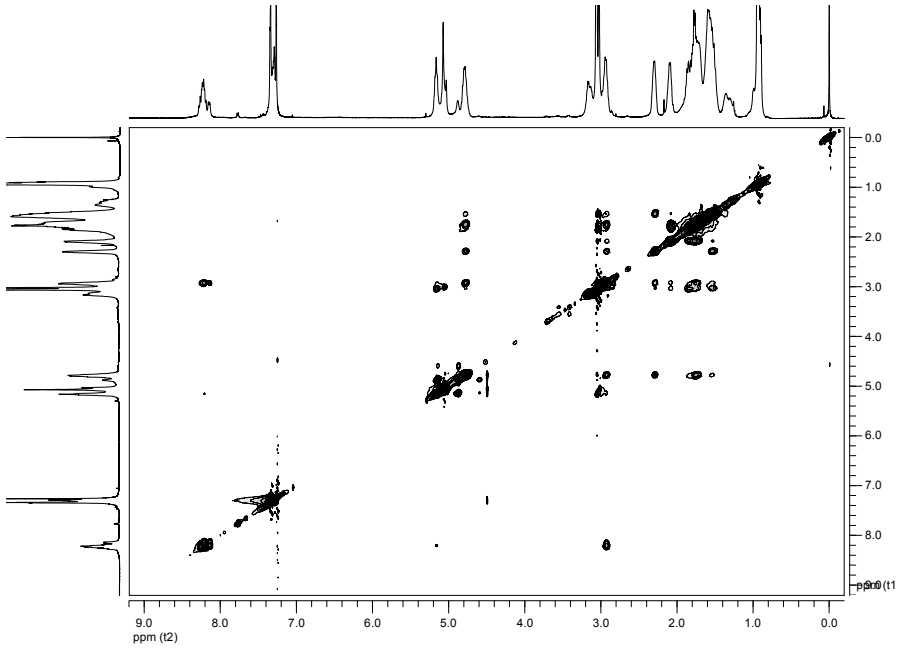
1) COSY [34.76 mM, $CDCl_3$, 298 K (25 ºC), 500.13 MHz]



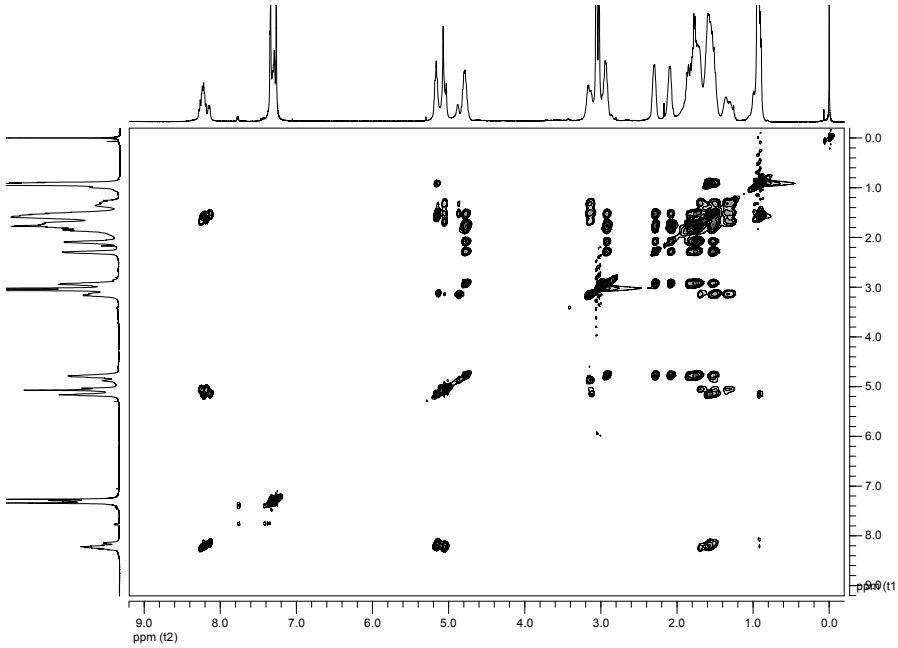
2) ROESY [34.76 mM, $CDCl_3$, 298 K (25 ºC), 500.13 MHz]

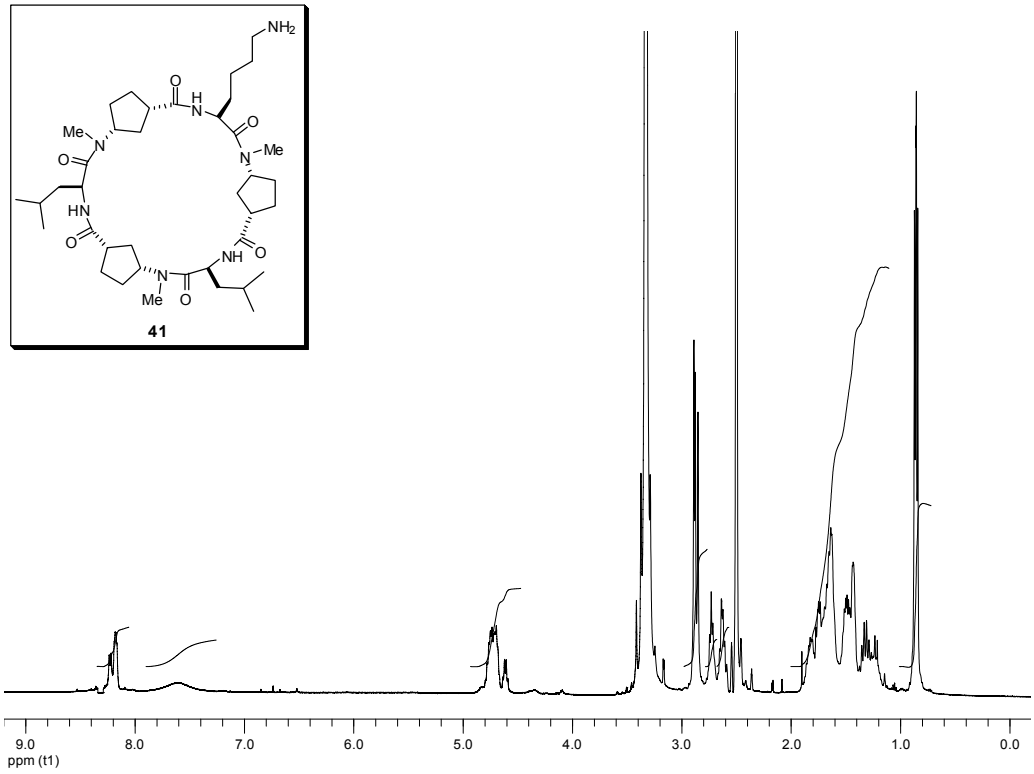


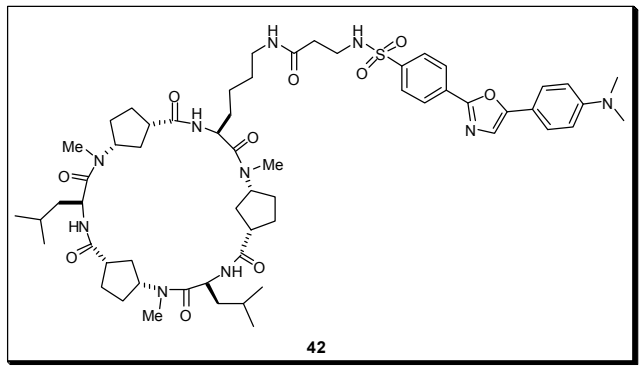
3) NOESY [34.76 mM, $CDCl_3$, 298 K (25 ºC), 500.13 MHz]



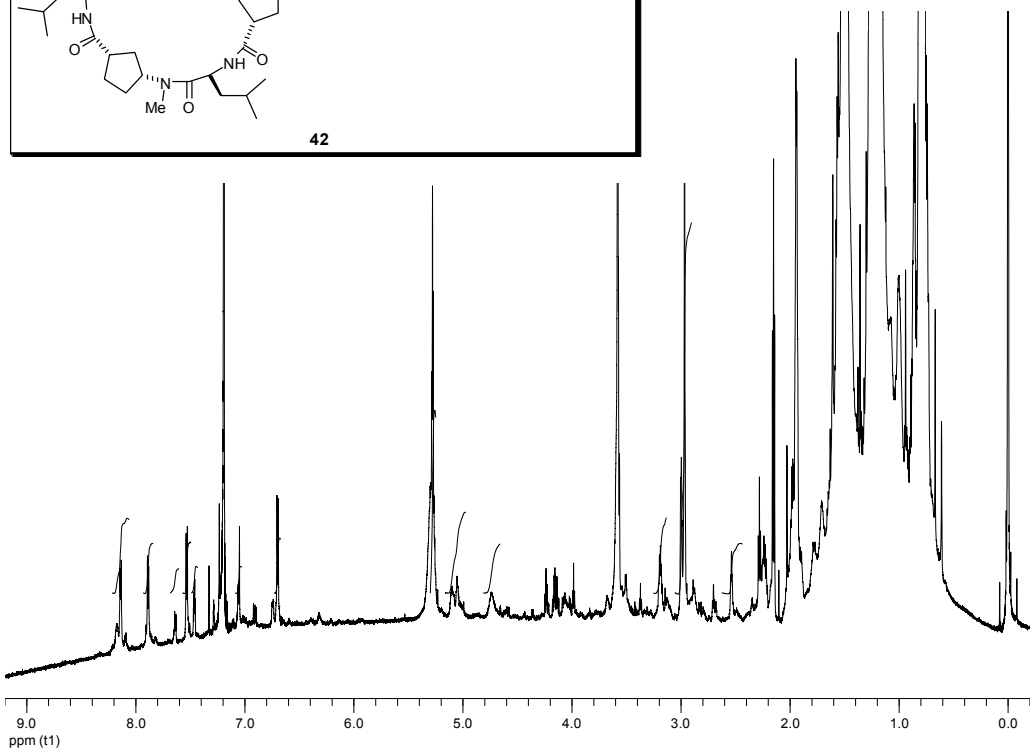
4) TOCSY [34.76 mM, $CDCl_3$, 298 K (25 ºC), 500.13 MHz]




NH2
O
H
N
O
N
Me
Me
N
O
HN
O
NH
O
N
Me
O
41
9.0
8.0
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
ppm (t1)

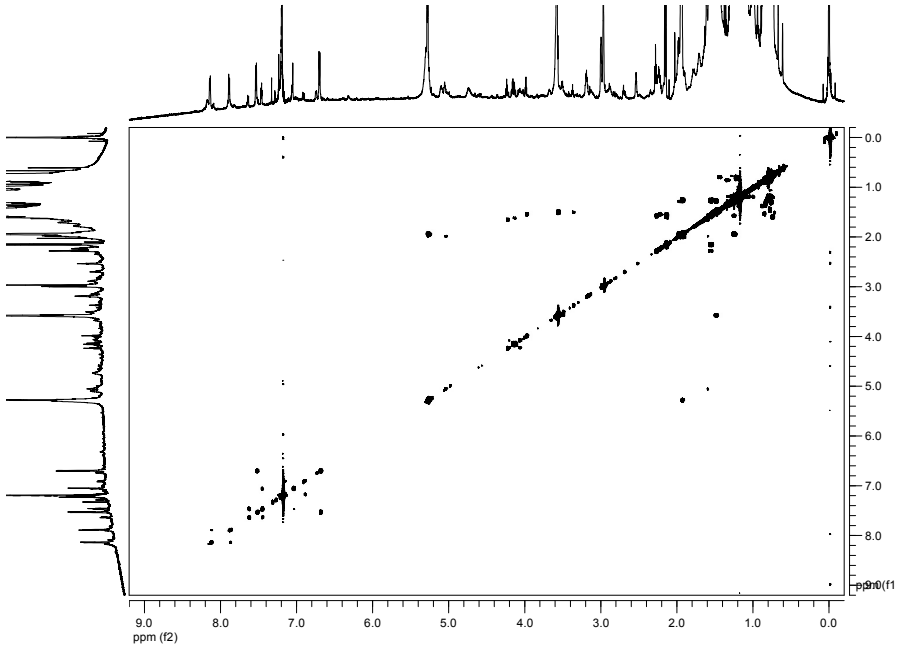


42

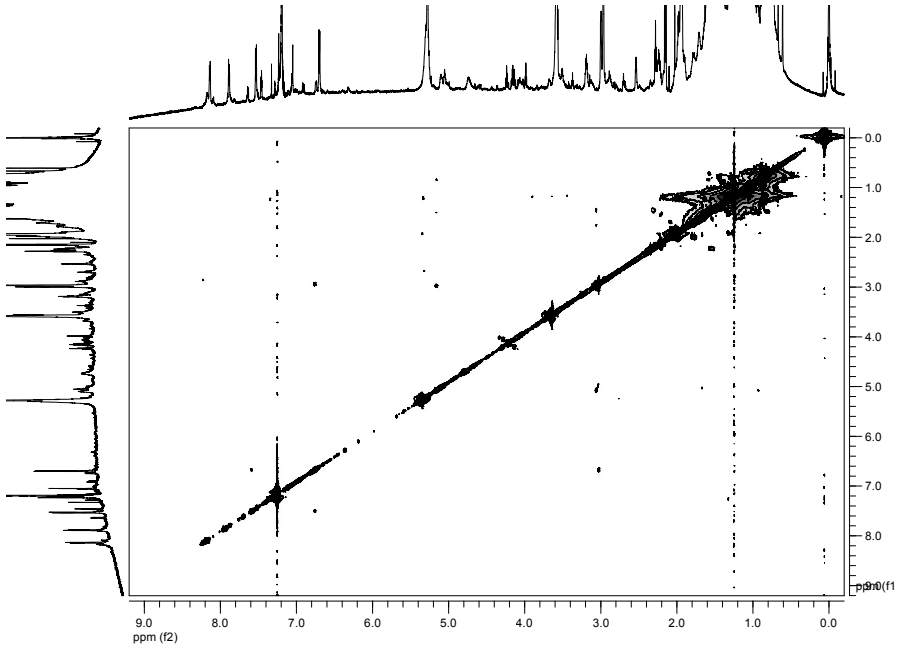


***ciclo*{[*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp]$_2$-*L*-Lys(Dapoxilo)-*D*-^{Me}N-γ-Acp-} (42)**

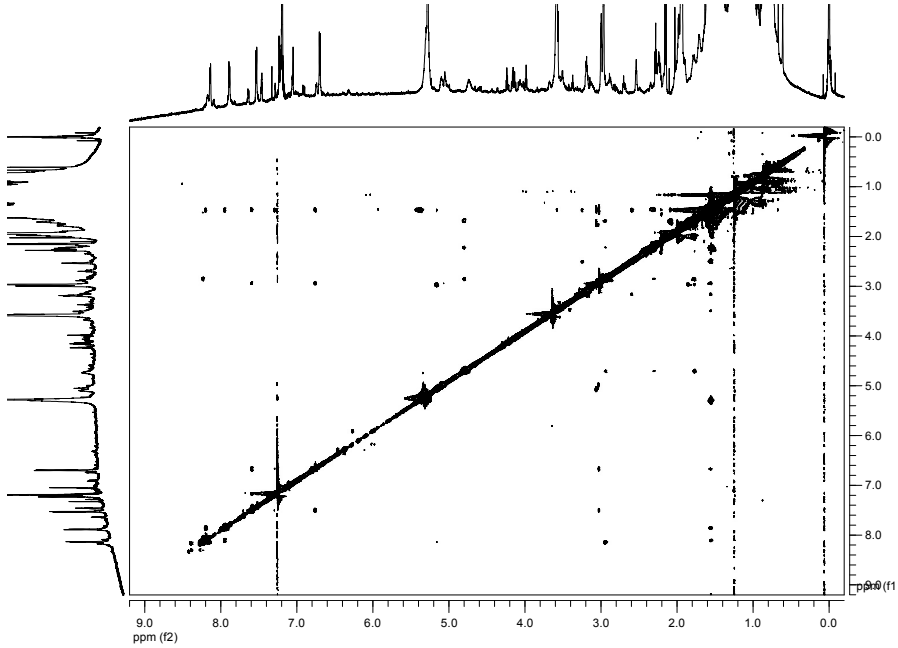
1) COSY [5.51 mM, $CDCl_3$, 298 K (25 ºC), 750.13 MHz]



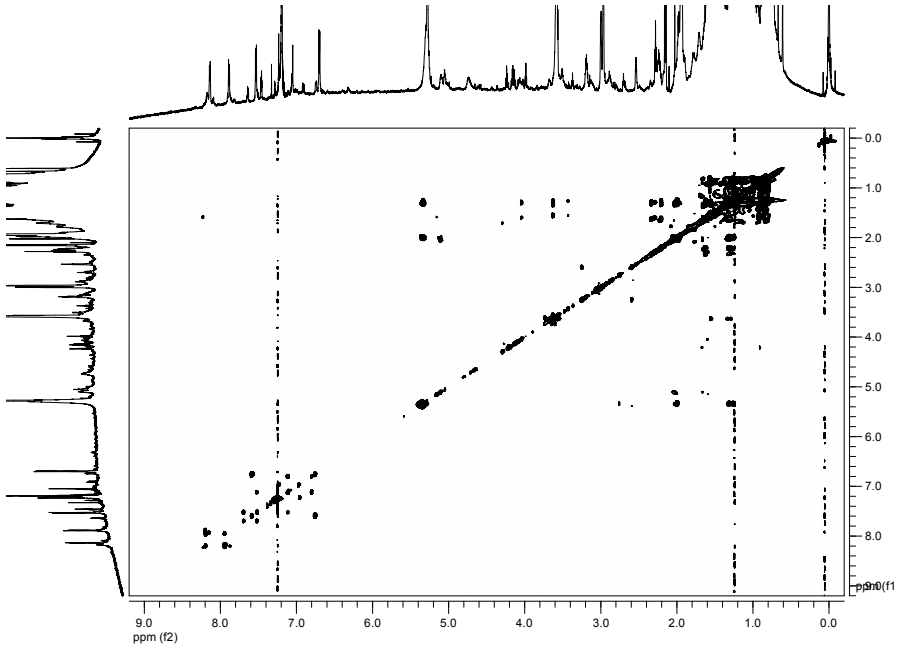
2) ROESY [5.51 mM, $CDCl_3$, 298 K (25 ºC), 750.13 MHz]

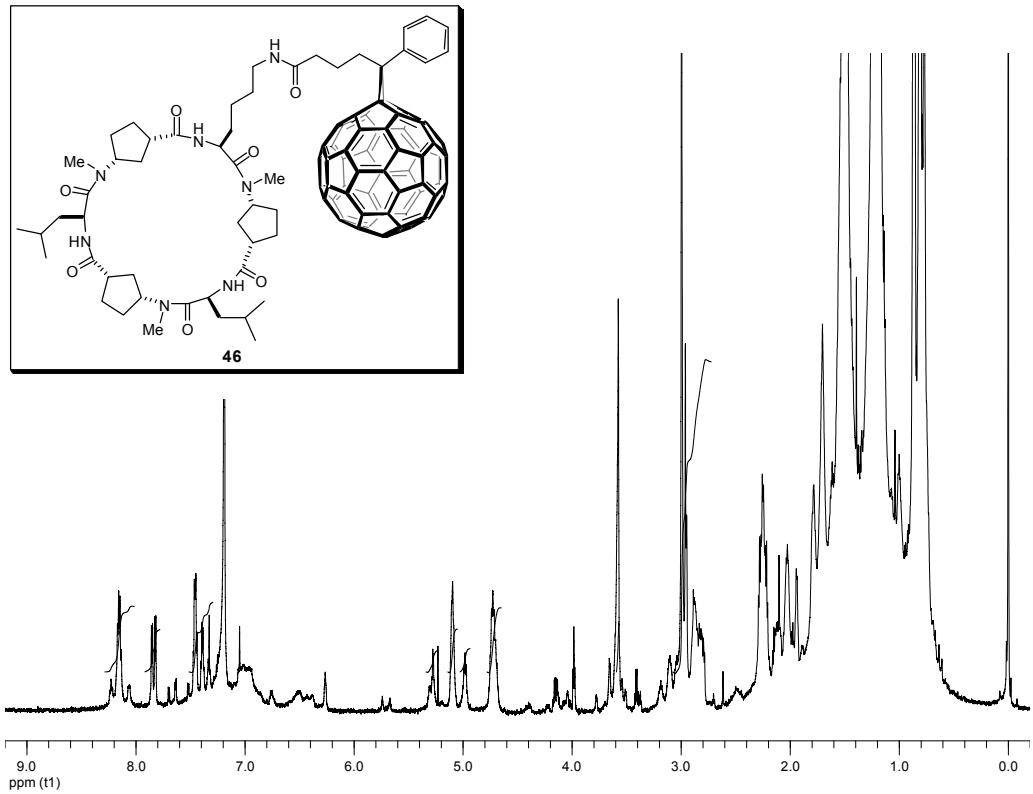


3) NOESY [5.51 mM, $CDCl_3$, 298 K (25 ºC), 750.13 MHz]



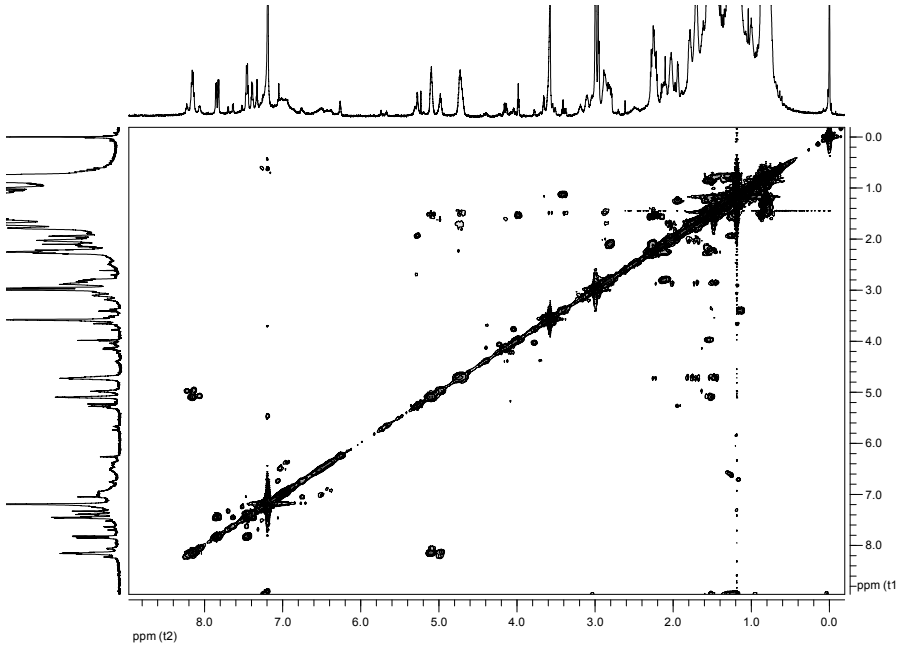
4) TOCSY [5.51 mM, $CDCl_3$, 298 K (25 ºC), 750.13 MHz]



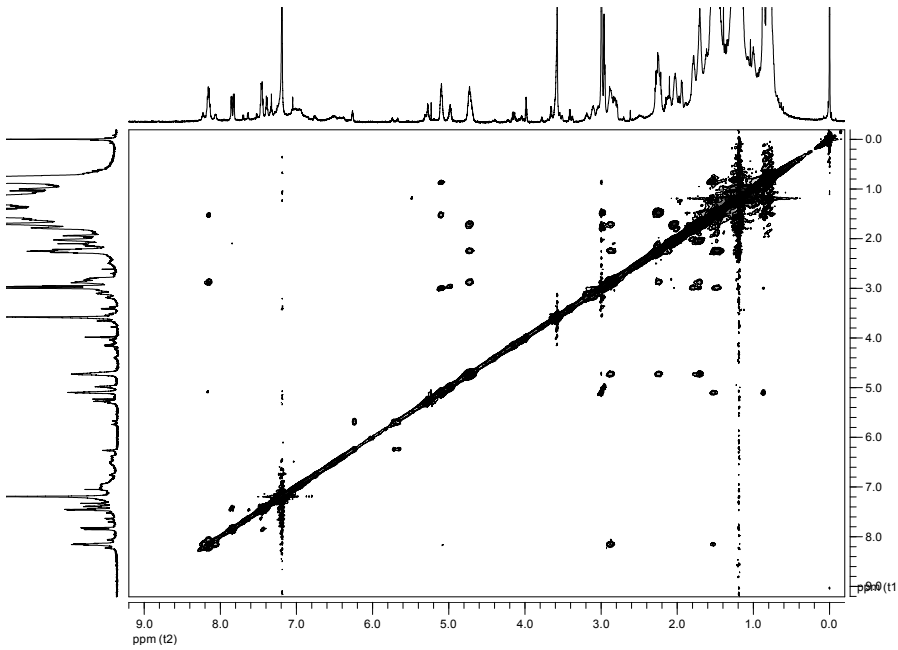

46
9.0
8.0
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
ppm (t1)

***ciclo*{[*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp]$_2$-*L*-Lys(PCBA)-*D*-^{Me}N-γ-Acp-} (46)**

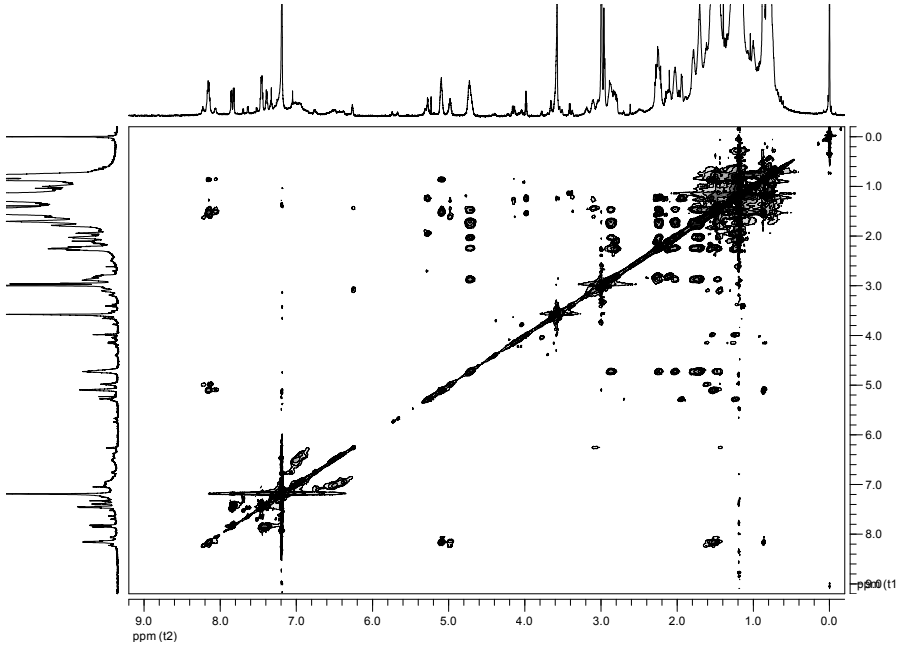
1) COSY [2.33 mM, $CDCl_3$, 298 K (25 ºC), 750.13 MHz]



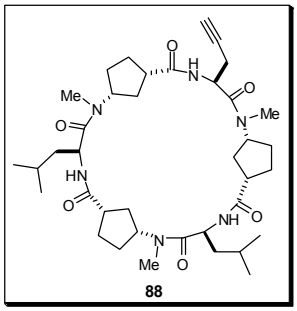
2) ROESY [2.33 mM, $CDCl_3$, 298 K (25 ºC), 750.13 MHz]

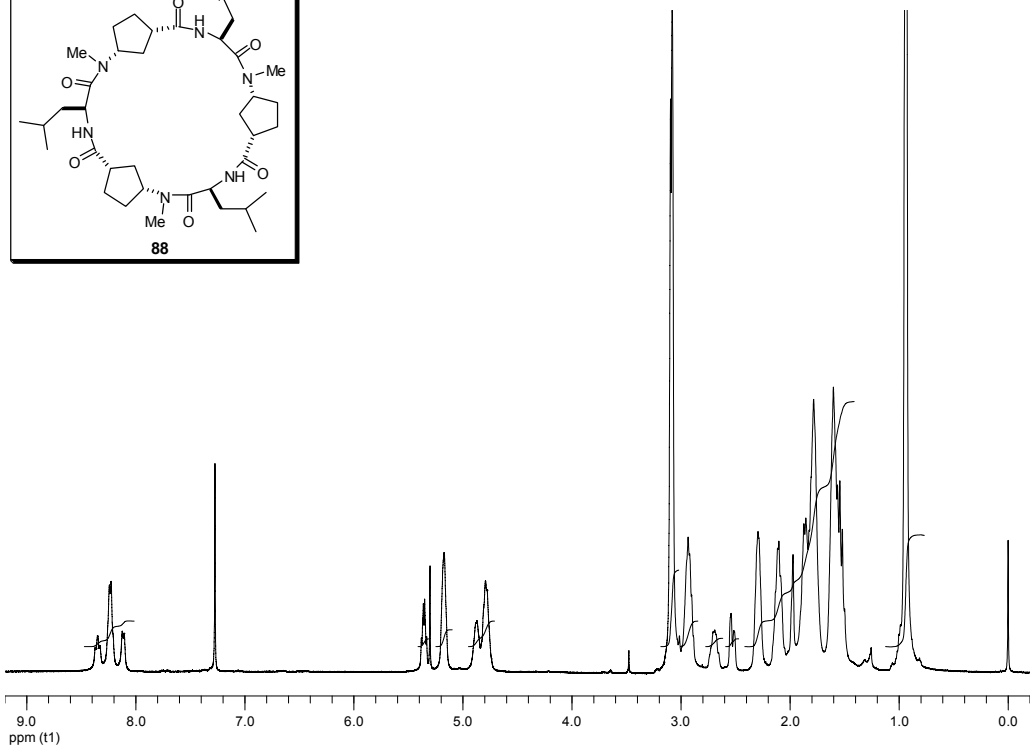


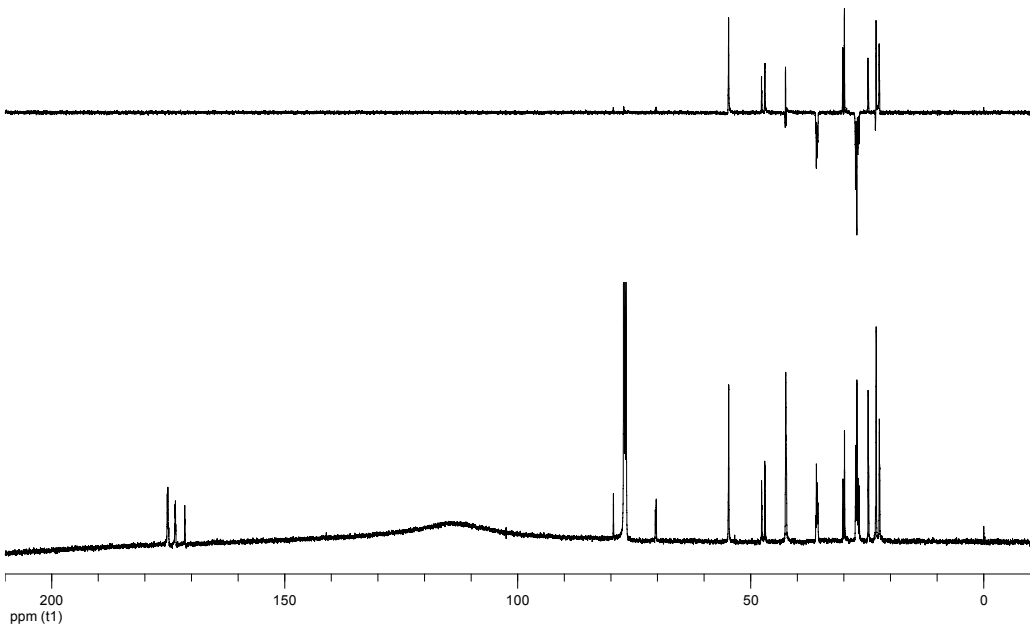
3) TOCSY [2.33 mM, $CDCl_3$, 298 K (25 ºC), 750.13 MHz]



***ciclo*{[*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp]$_2$-*L*-Pra-*D*-^{Me}N-γ-Acp-} (88)**

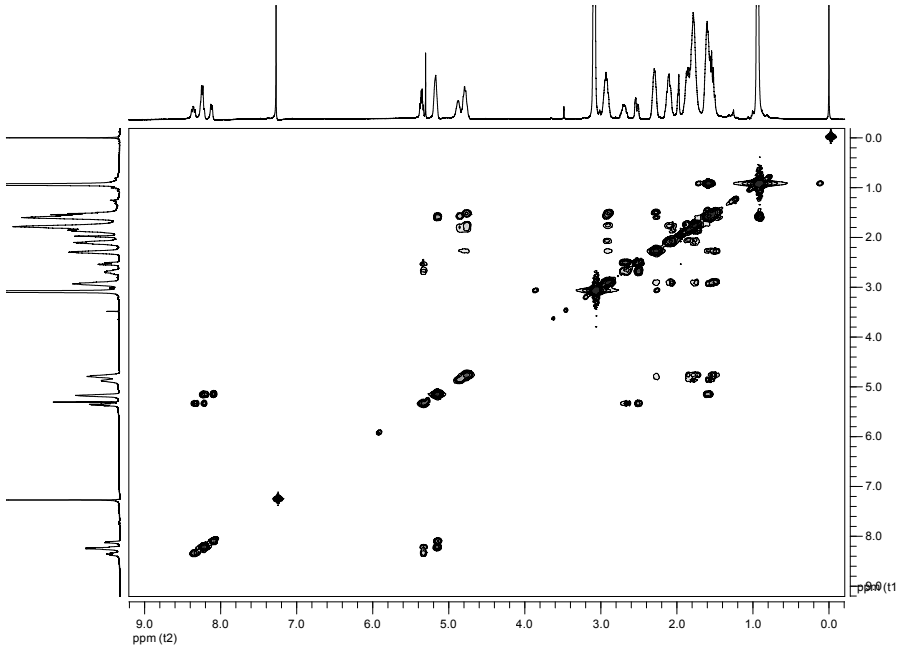




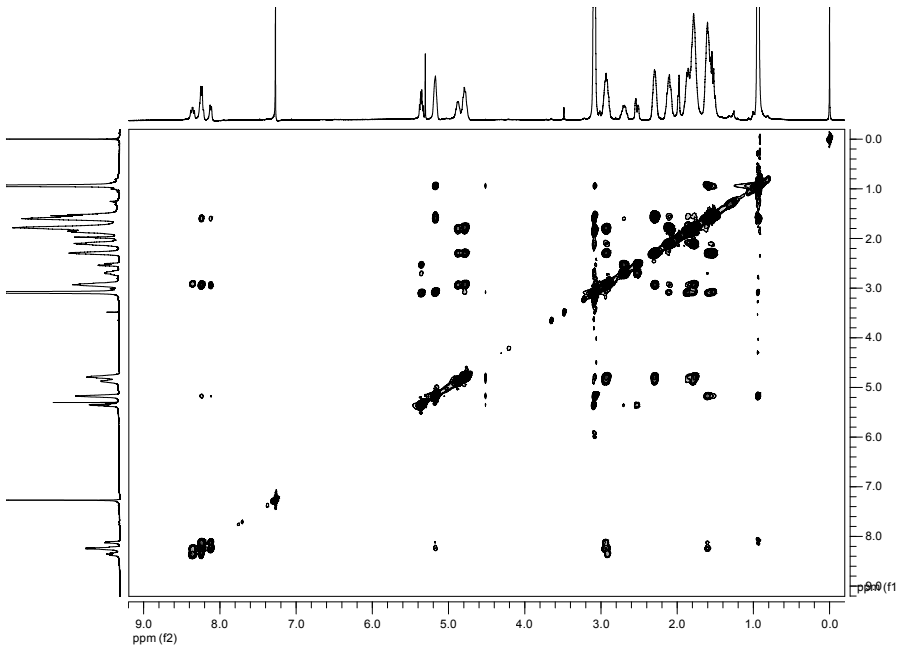


***ciclo*{[*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp]$_2$-*L*-Pra-*D*-^{Me}N-γ-Acp-} (88)**

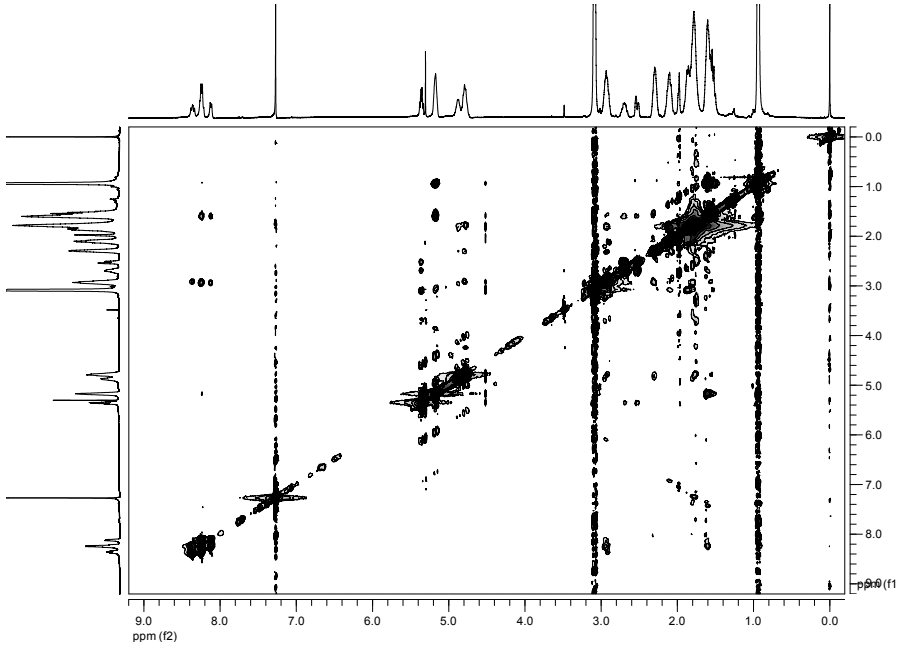
1) COSY [48.37 mM, $CDCl_3$, 298 K (25 ºC), 500.13 MHz]



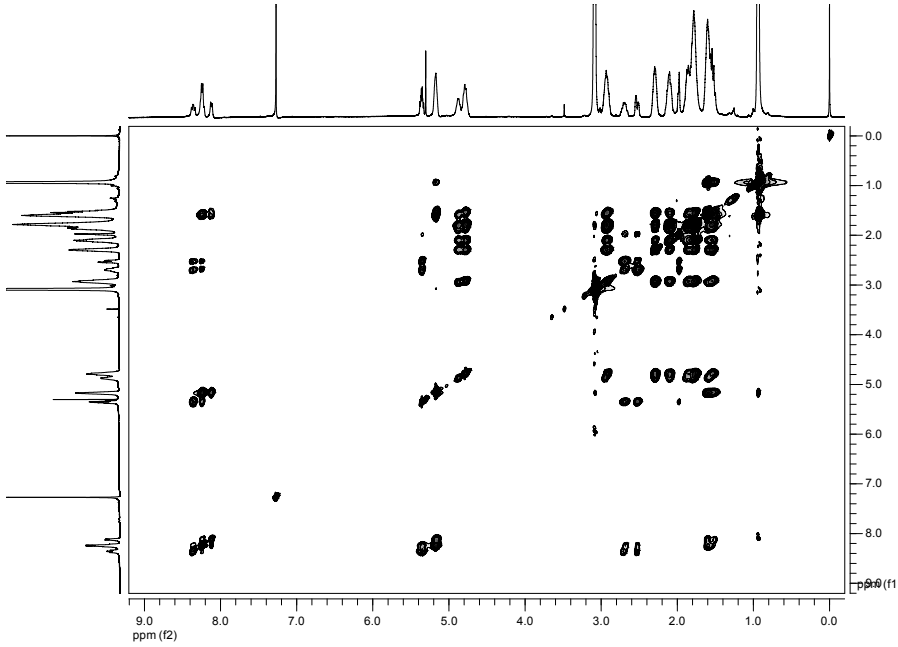
2) ROESY [48.37 mM, $CDCl_3$, 298 K (25 ºC), 500.13 MHz]



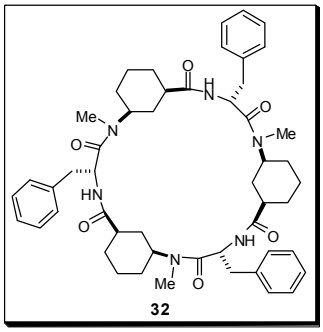
3) NOESY [48.37 mM, $CDCl_3$, 298 K (25 ºC), 500.13 MHz]



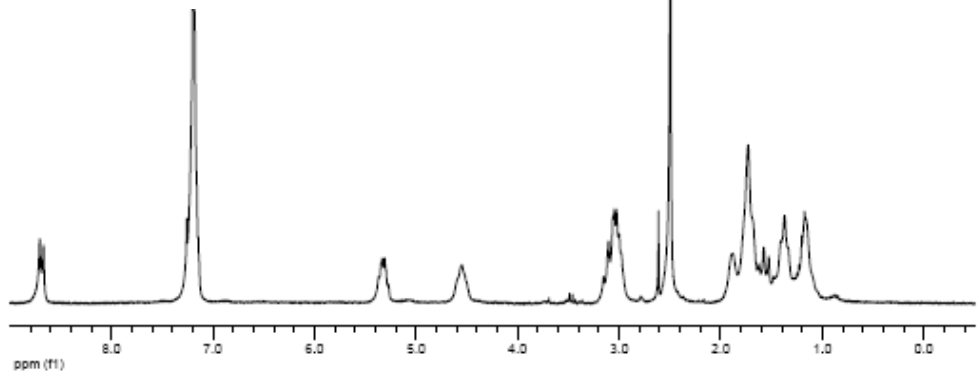
4) TOCSY [48.37 mM, $CDCl_3$, 298 K (25 ºC), 500.13 MHz]

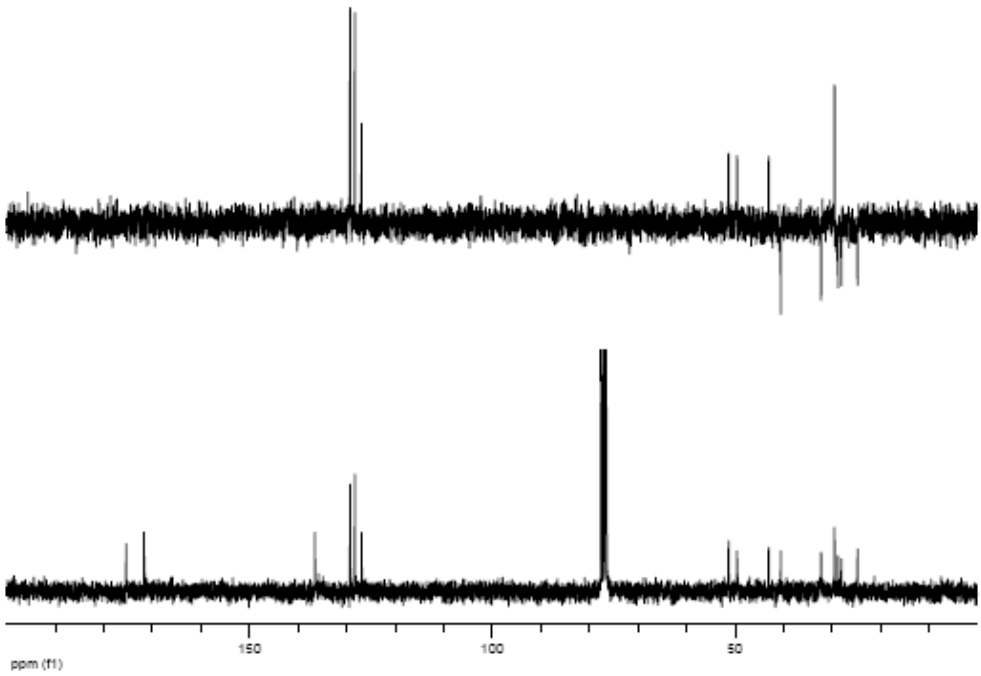


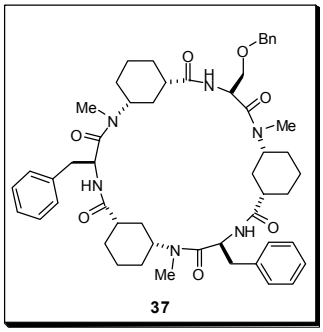
27.12.2. CICLOHEXAPÉPTIDOS DERIVADOS DEL ÁCIDO 3-AMINOCICLO-HEXANOCARBOXÍLICO



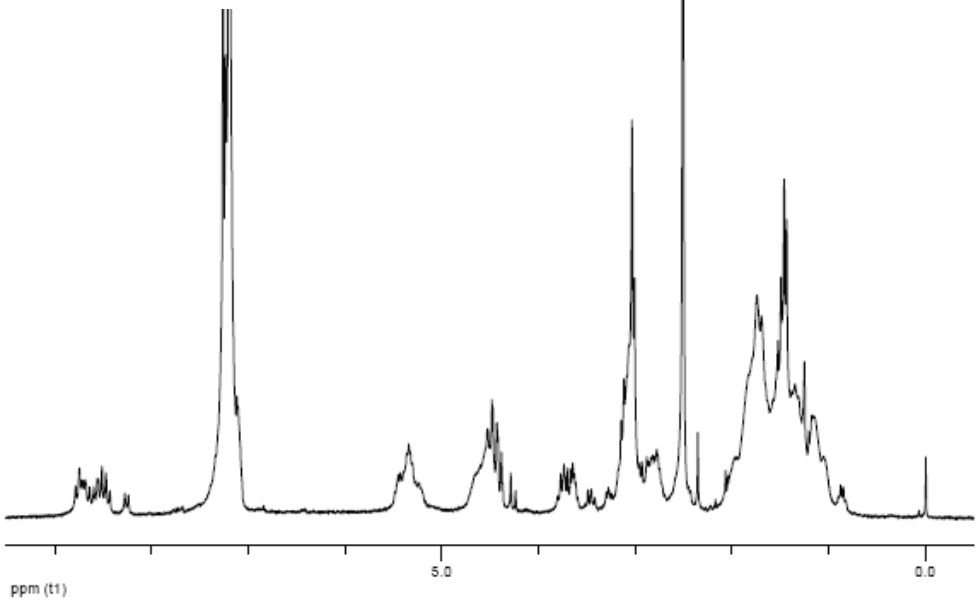
32

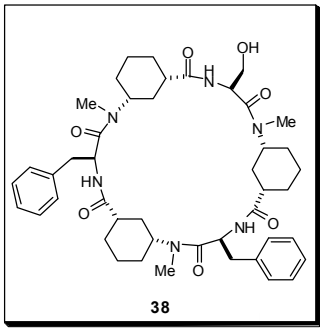




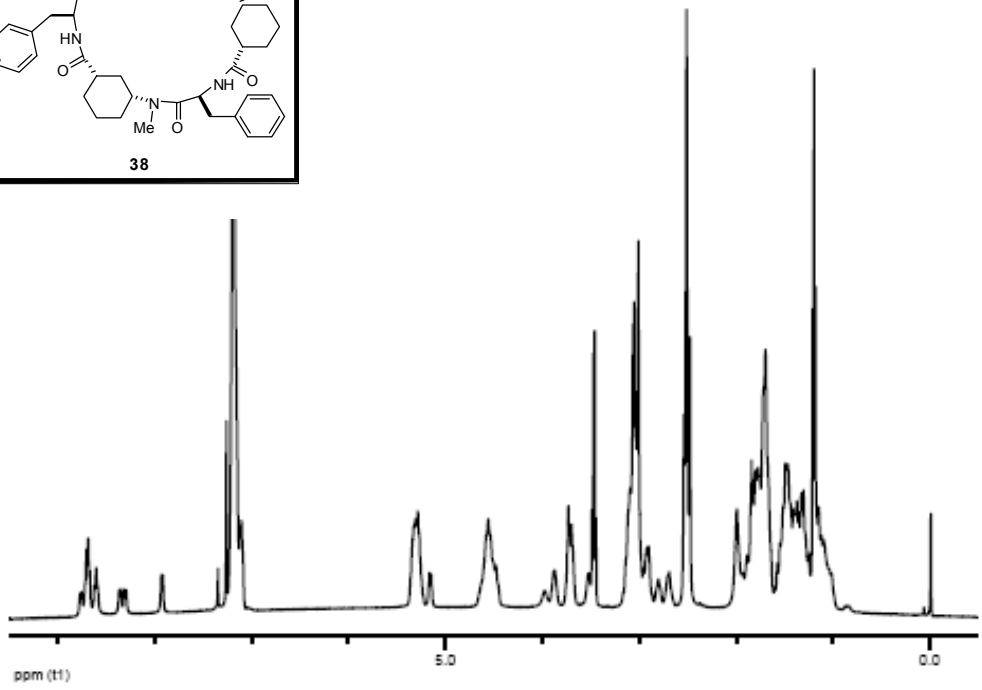


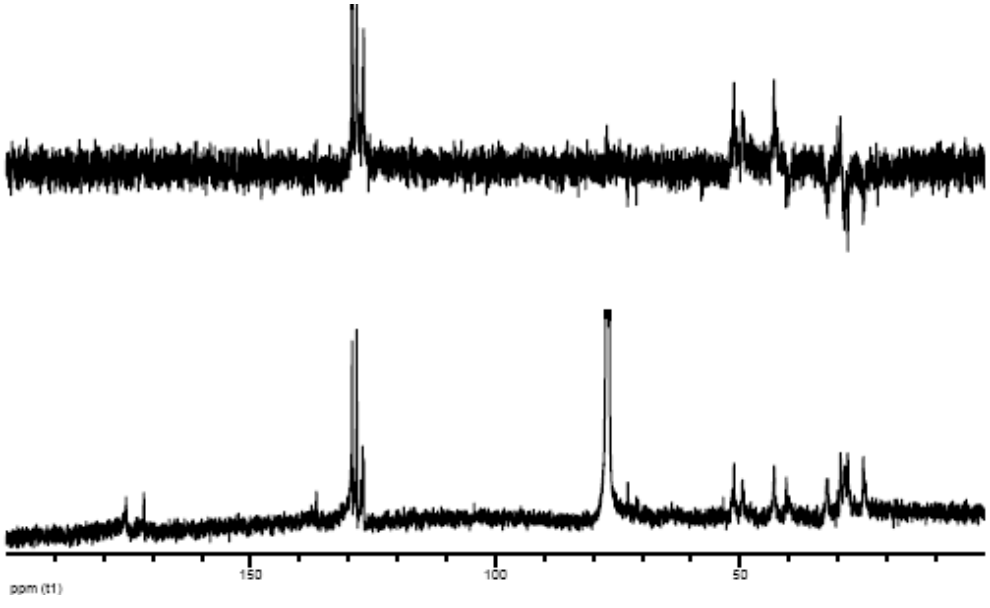
37





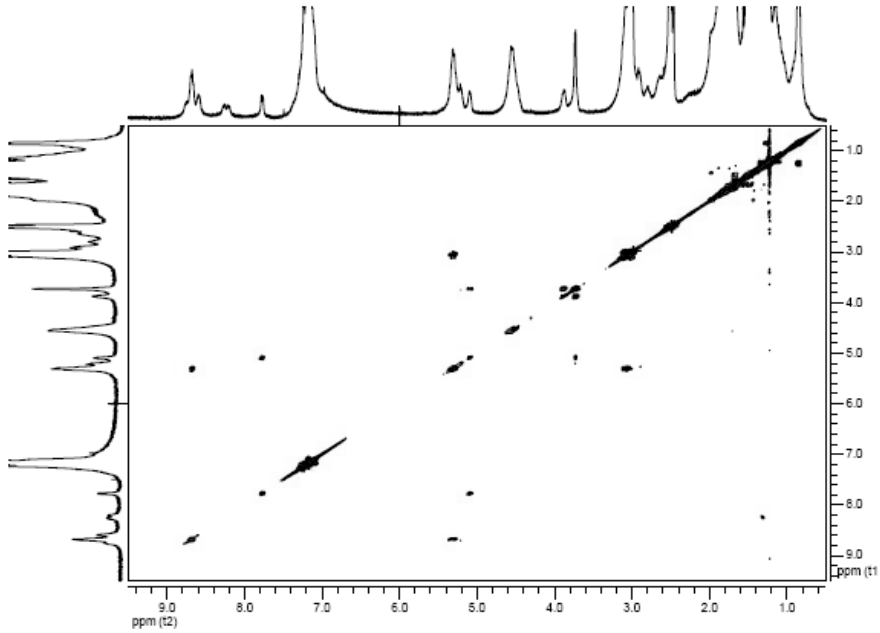
38



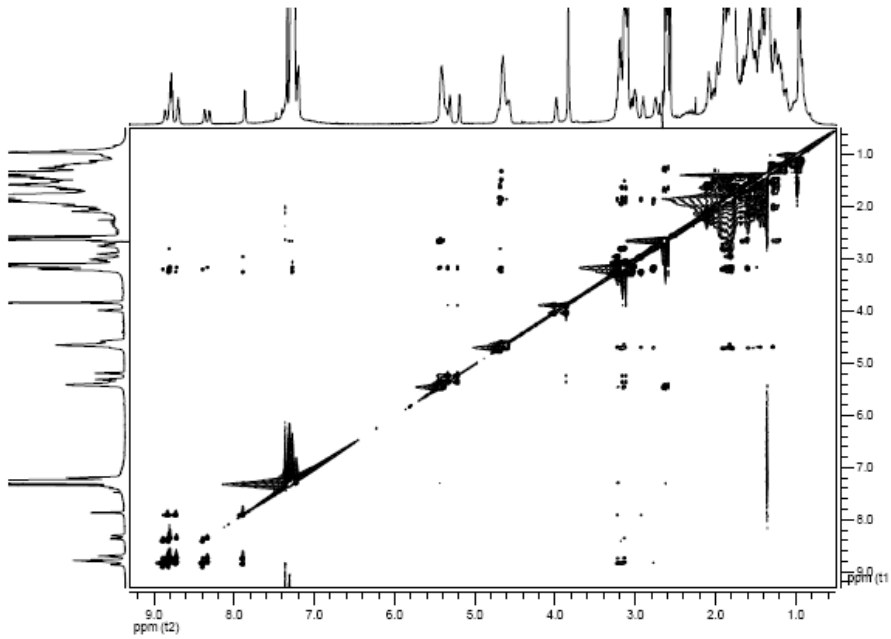


***ciclo*{[*L*-Phe-*D*-^{Me}N-γ-Ach]$_2$-*L*-Ser-*D*-^{Me}N-γ-Ach-} (38)**

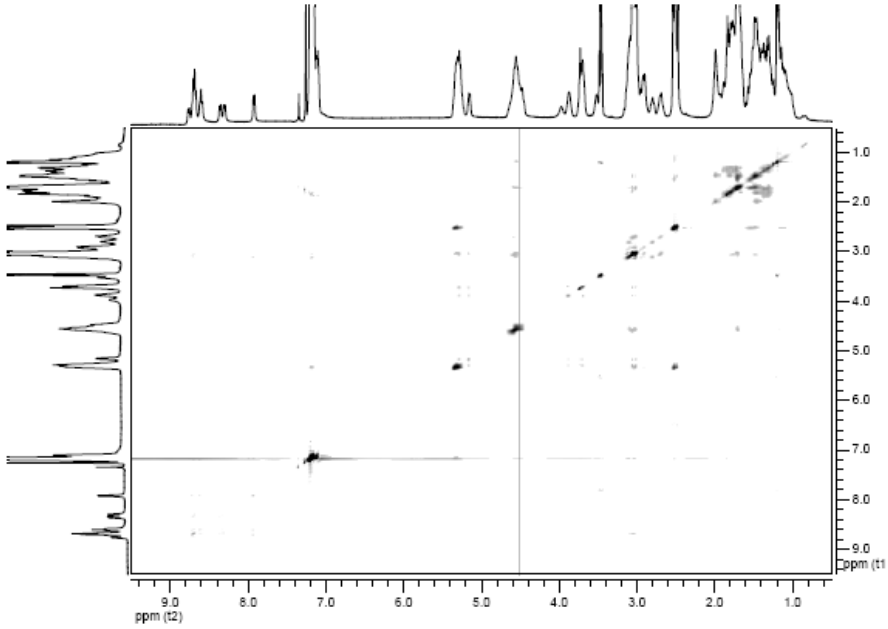
1) COSY [16.73 mM, $CDCl_3$, 298 K (25 ºC), 500.13 MHz]

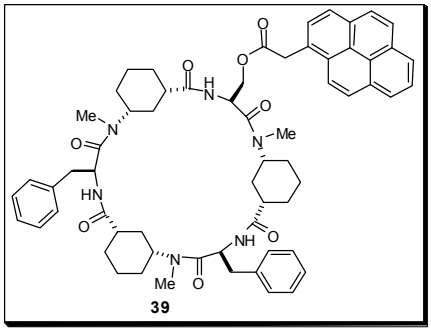


2) NOESY [16.73 mM, $CDCl_3$, 298 K (25 ºC), 500.13 MHz]

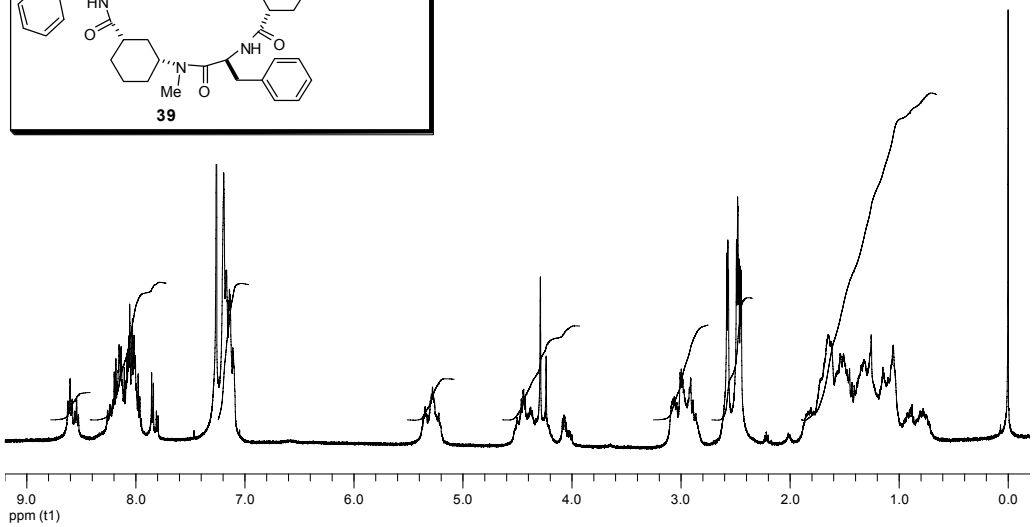


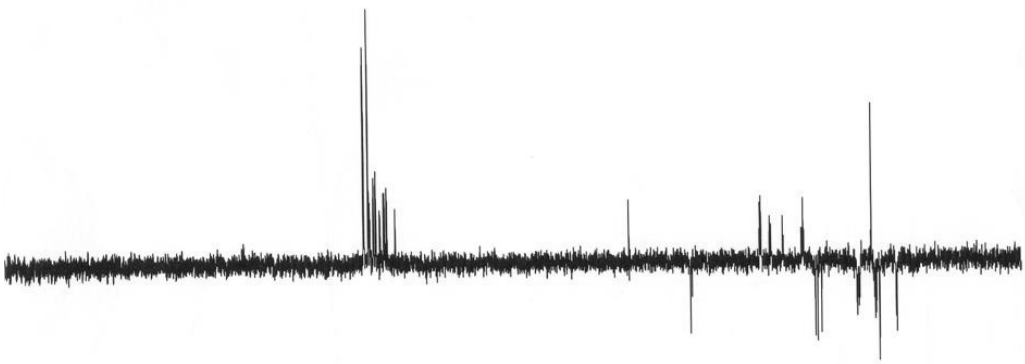
3) ROESY [16.73 mM, $CDCl_3$, 298 K (25 ºC), 500.13 MHz]

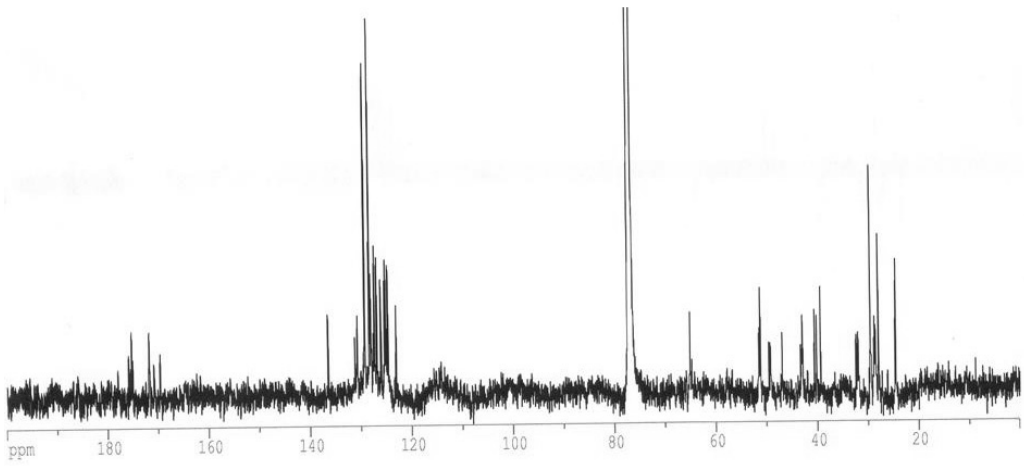



Me
N
O
HN
O
N
Me
O
O
H
N
O
O
N
Me
O
O
NH
O
O
N
Me
O

39

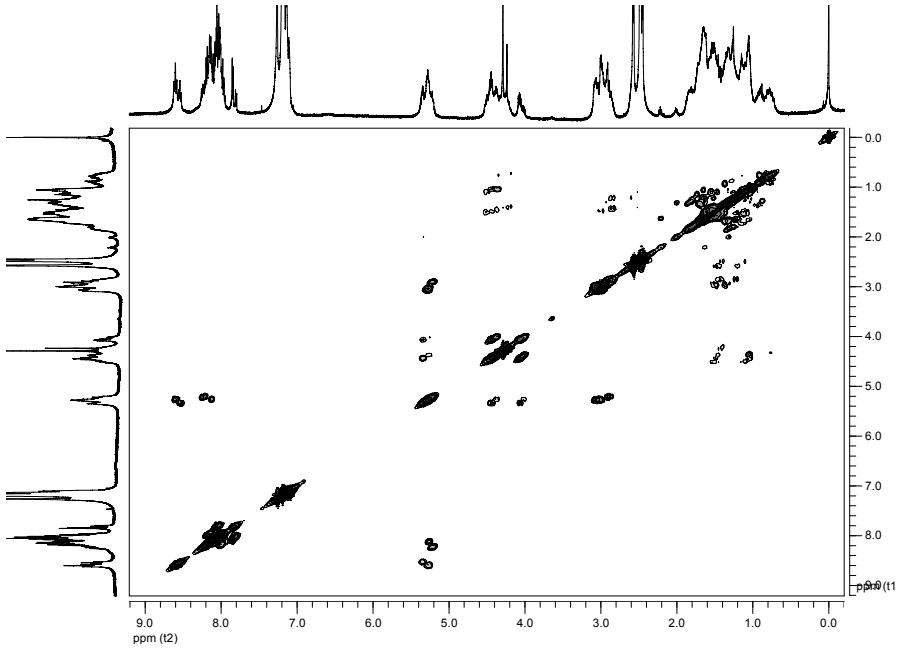

9.0
8.0
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
ppm (t1)



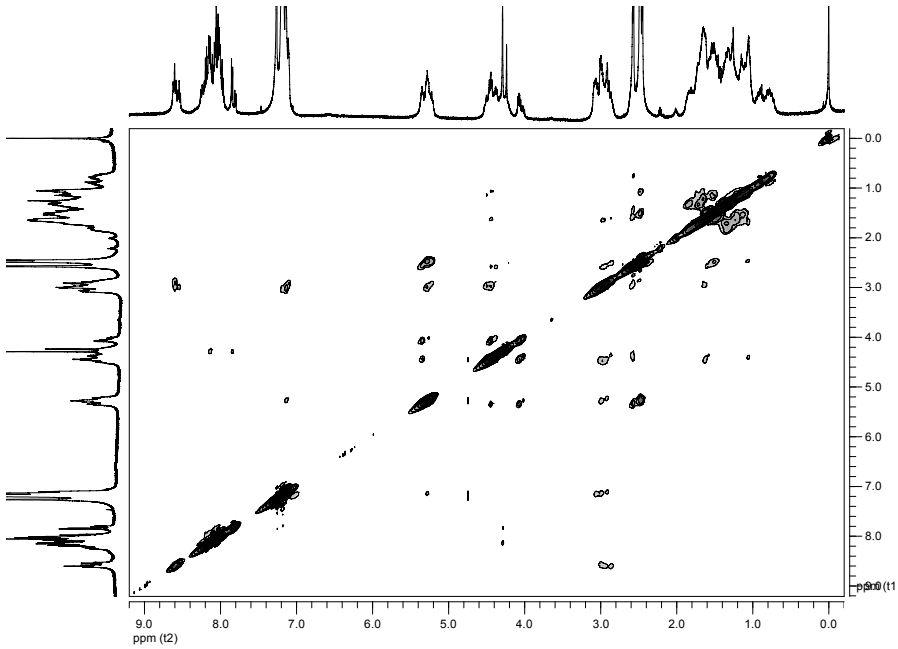

ppm
180
160
140
120
100
80
60
40
20

***ciclo*{[*L*-Phe-*D*-^{Me}N-γ-Ach]$_2$-*L*-Ser(1-Pirenoacetil)-*D*-^{Me}N-γ-Ach-} (39)**

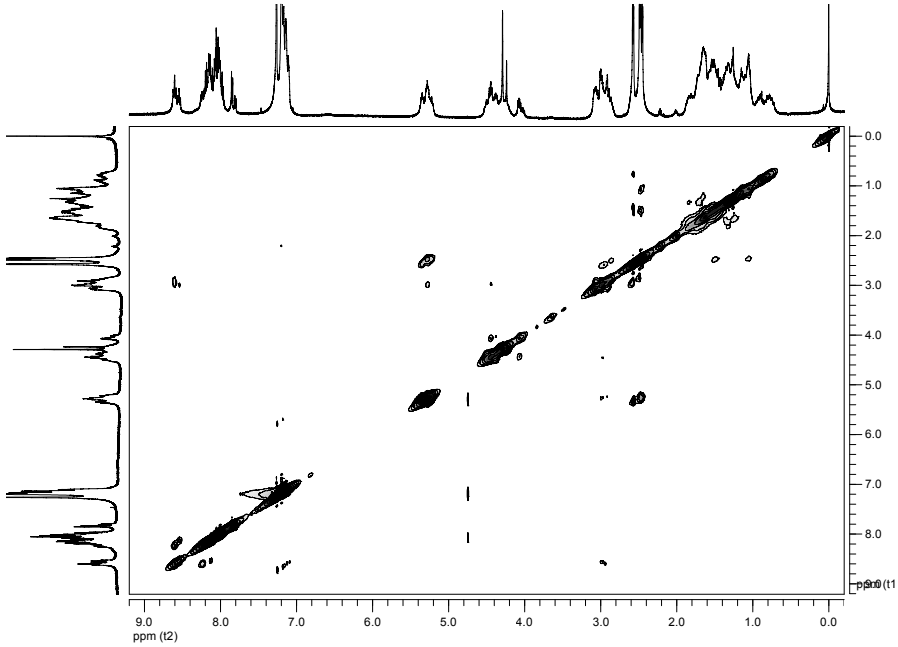
1) COSY [10.00 mM, $CDCl_3$, 298 K (25 ºC), 500.13 MHz]



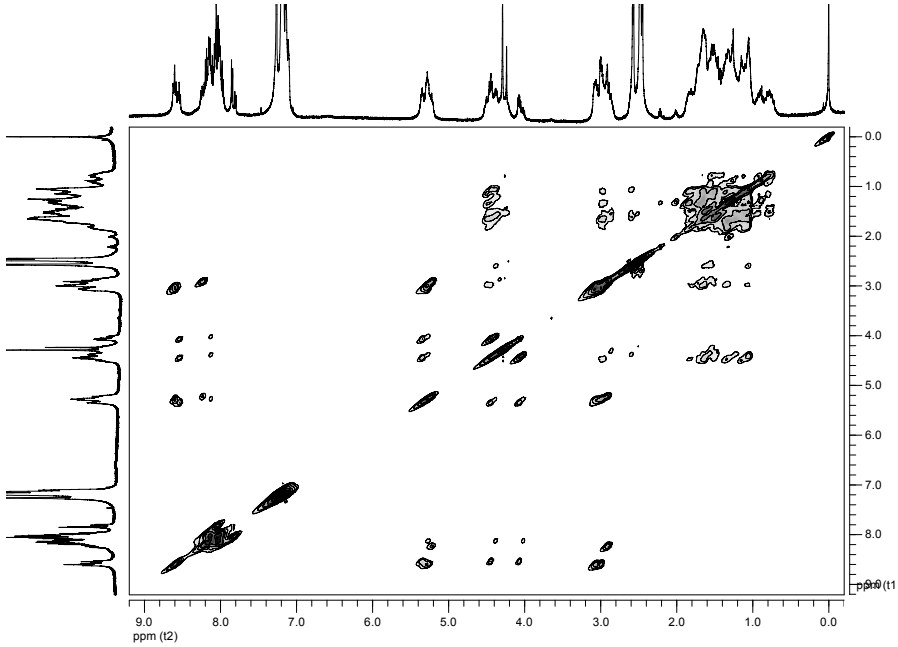
2) ROESY [10.00 mM, $CDCl_3$, 298 K (25 ºC), 500.13 MHz]

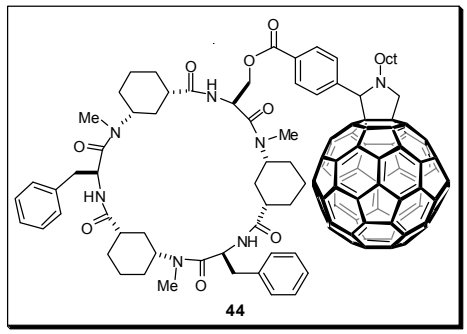


3) NOESY [10.00 mM, $CDCl_3$, 298 K (25 ºC), 500.13 MHz]



4) TOCSY [10.00 mM, $CDCl_3$, 298 K (25 ºC), 500.13 MHz]





44

T = 298 K

T = 273 K

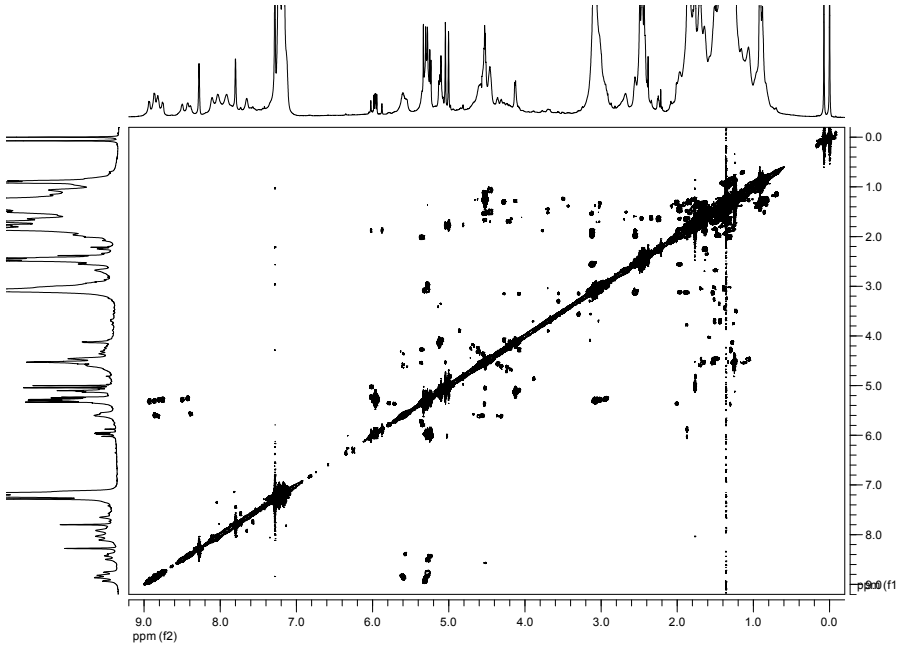
T = 263 K

T = 253 K

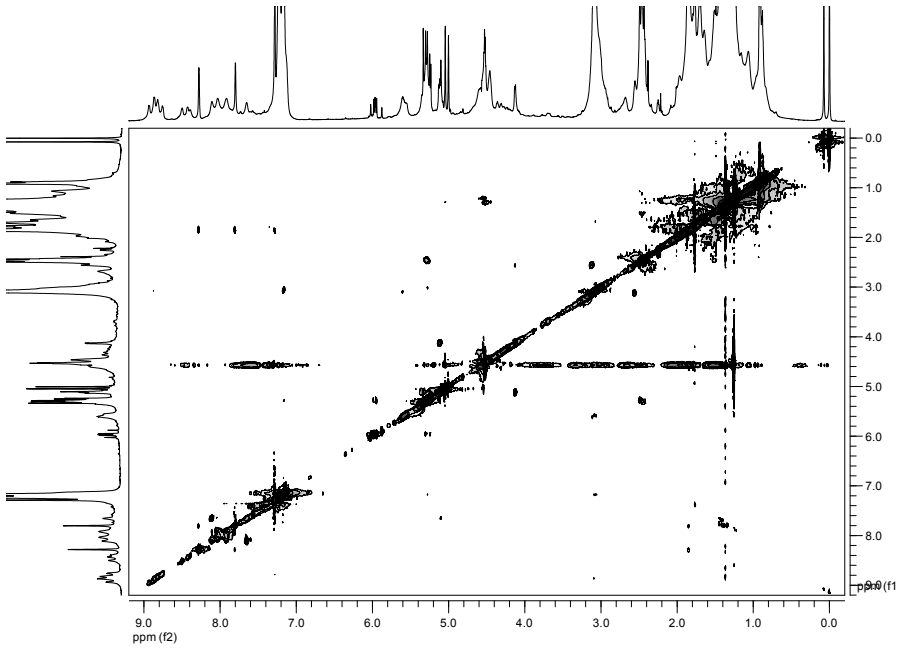
9.0 8.0 7.0 6.0 5.0 4.0 3.0 2.0 1.0 0.0
ppm (t1)

***ciclo*{[*L*-Phe-*D*-^{Me}N-γ-Ach]$_2$-*L*-Ser(Fulleropirrolidina)-*D*-^{Me}N-γ-Ach-} (44)**

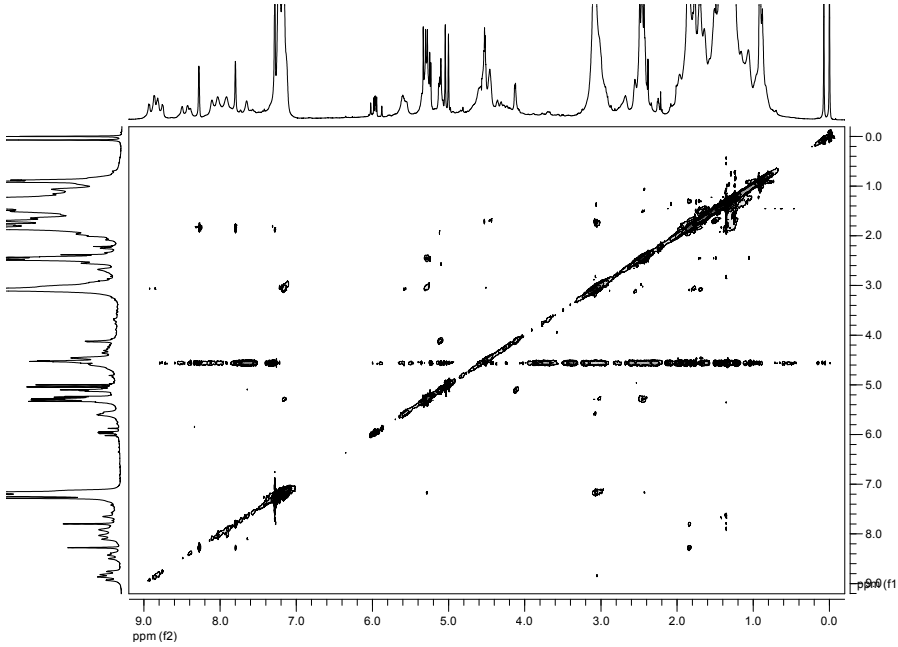
1) COSY [8.83 mM, $CDCl_3$, 253 K (-20 ºC), 500.13 MHz]



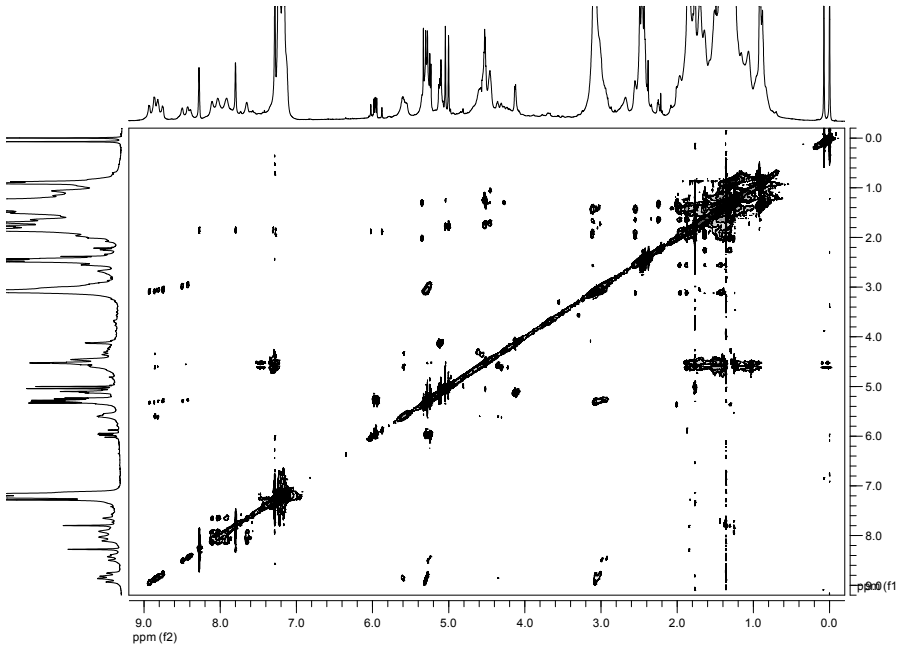
2) ROESY [8.83 mM, $CDCl_3$, 253 K (-20 ºC), 500.13 MHz]

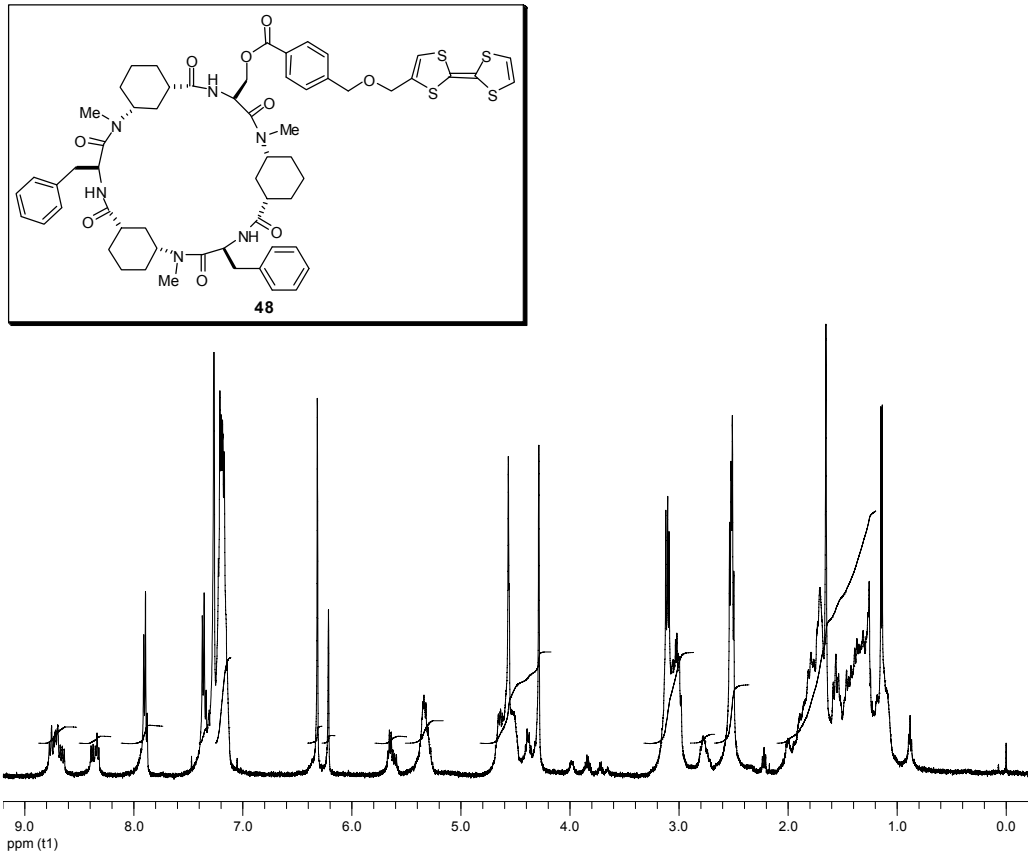


3) NOESY [8.83 mM, $CDCl_3$, 253 K (-20 ºC), 500.13 MHz]



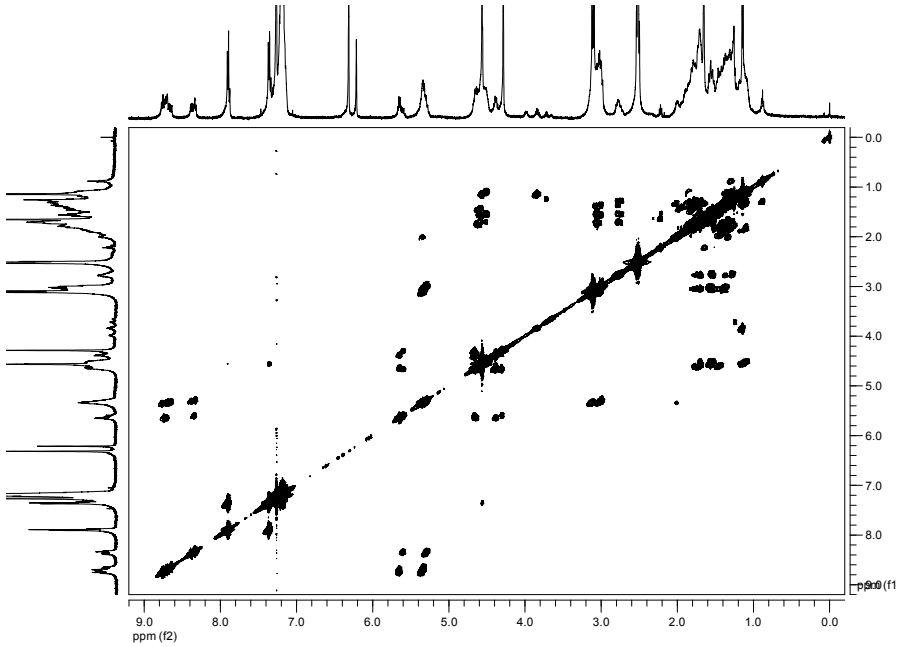
4) TOCSY [8.83 mM, $CDCl_3$, 253 K (-20 ºC), 500.13 MHz]



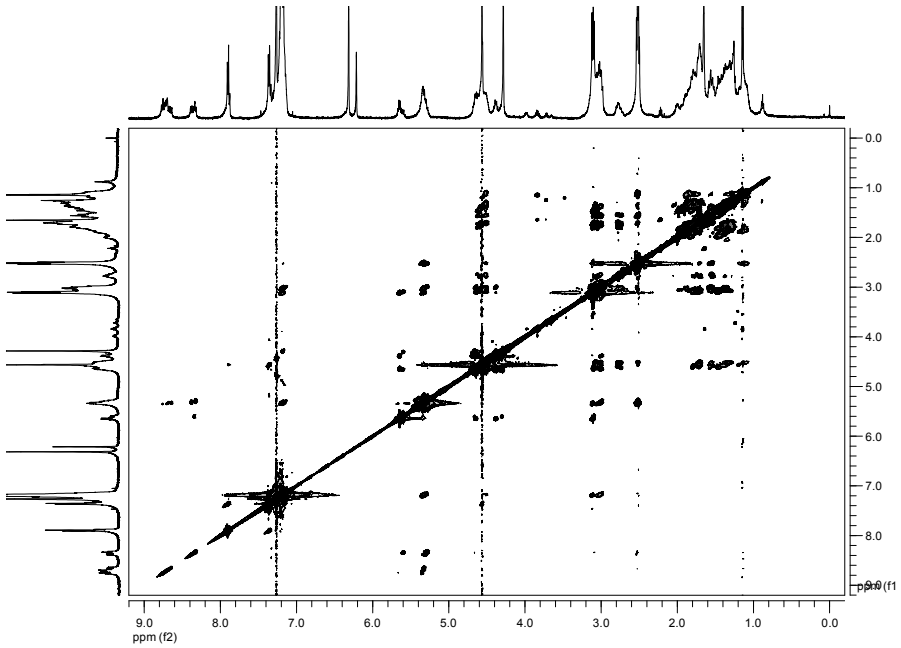

Me
N
O
HN
O
N
Me
O
H
N
O
O
O
N
Me
S
S
S
S
O
O
NH
O
N
Me
O
48
9.0
8.0
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
ppm (t1)

***ciclo*{[*L*-Phe-*D*-^{Me}N-γ-Ach]$_2$-*L*-Ser(TTF)-*D*-^{Me}N-γ-Ach-} (48)**

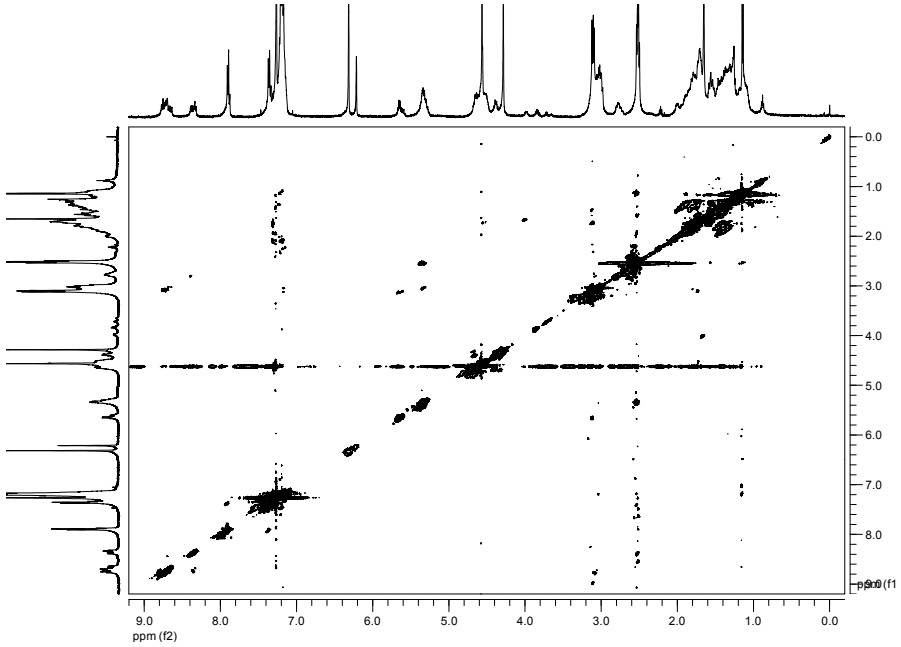
1) COSY [18.64 mM, $CDCl_3$, 298 K (25 ºC), 500.13 MHz]



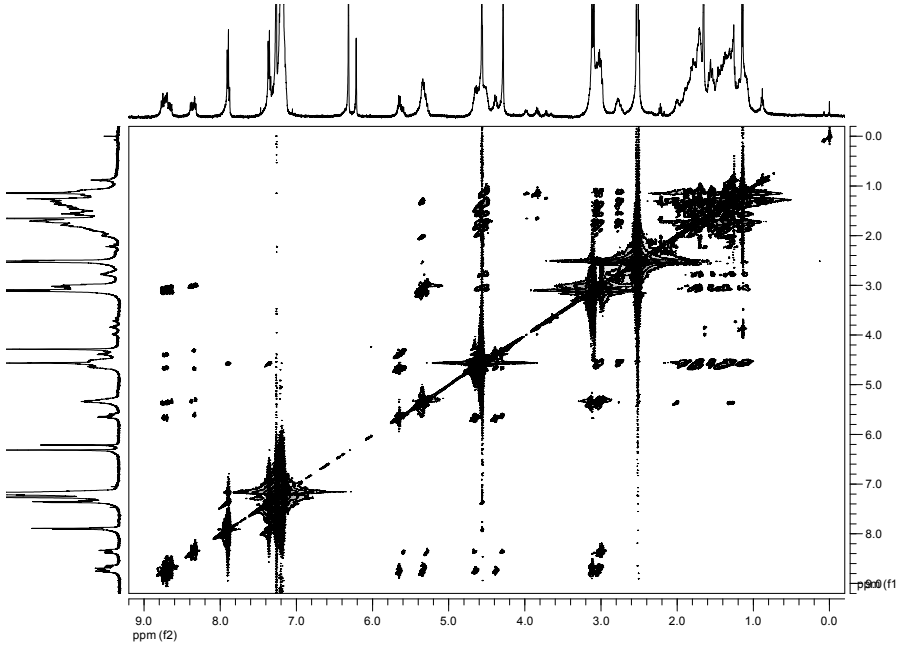
2) ROESY [18.64 mM, $CDCl_3$, 298 K (25 ºC), 500.13 MHz]

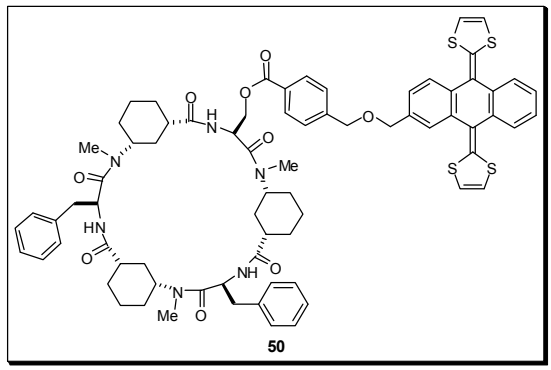


3) NOESY [18.64 mM, $CDCl_3$, 298 K (25 ºC), 500.13 MHz]

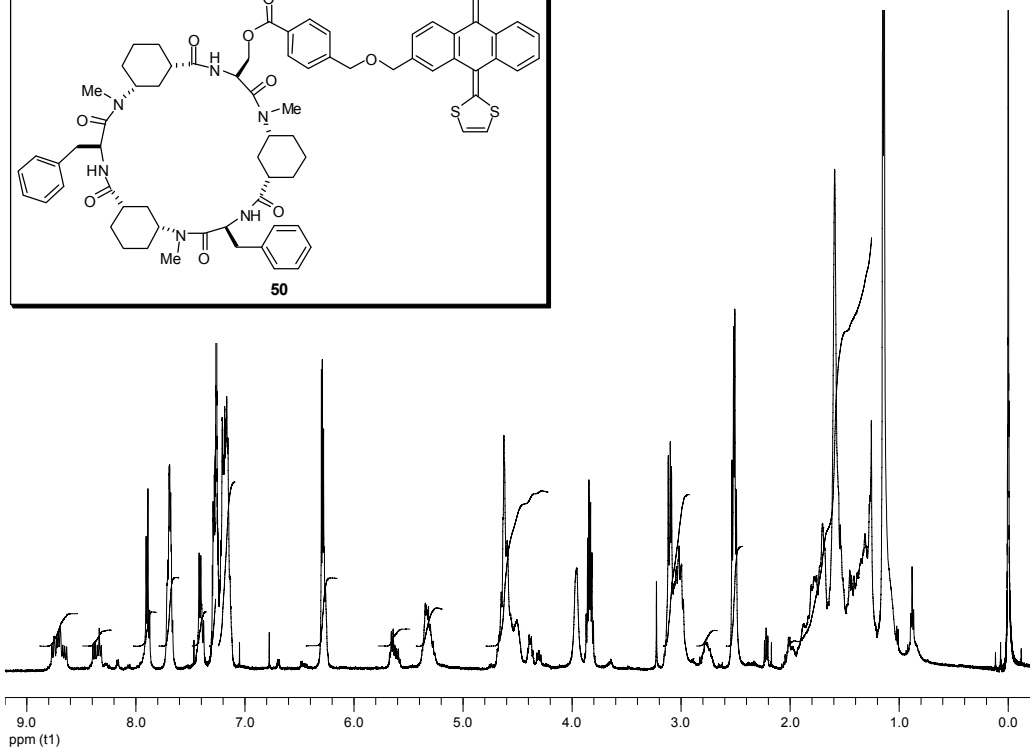


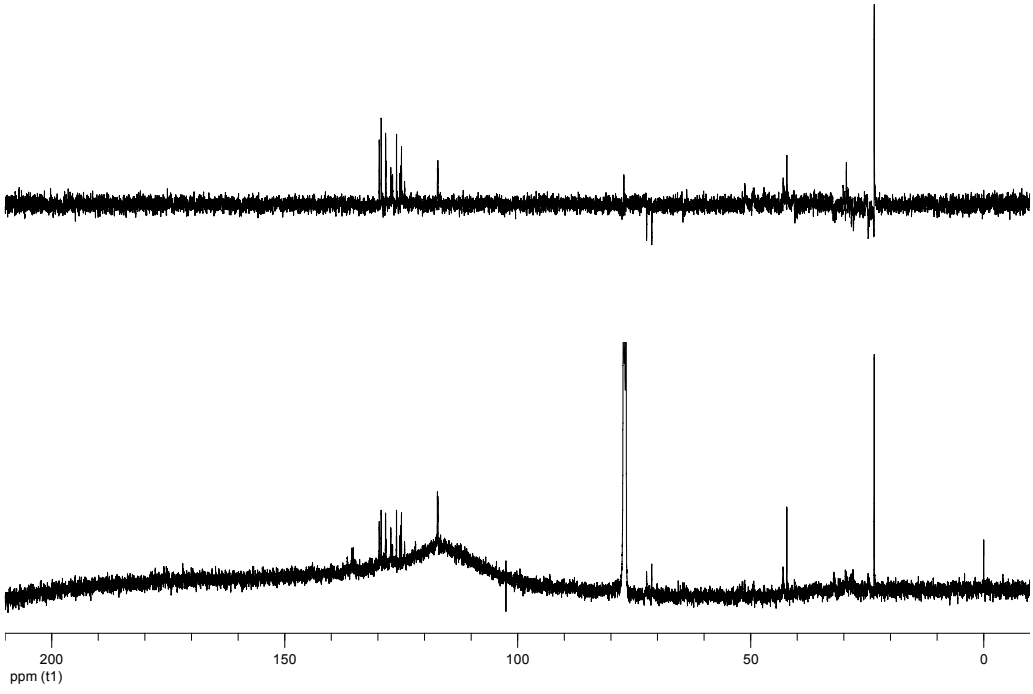
4) TOCSY [18.64 mM, $CDCl_3$, 298 K (25 ºC), 500.13 MHz]




S
S
S
S
O
O
O
H
N
O
N
Me
Me
N
O
HN
O
NH
O
N
Me
O

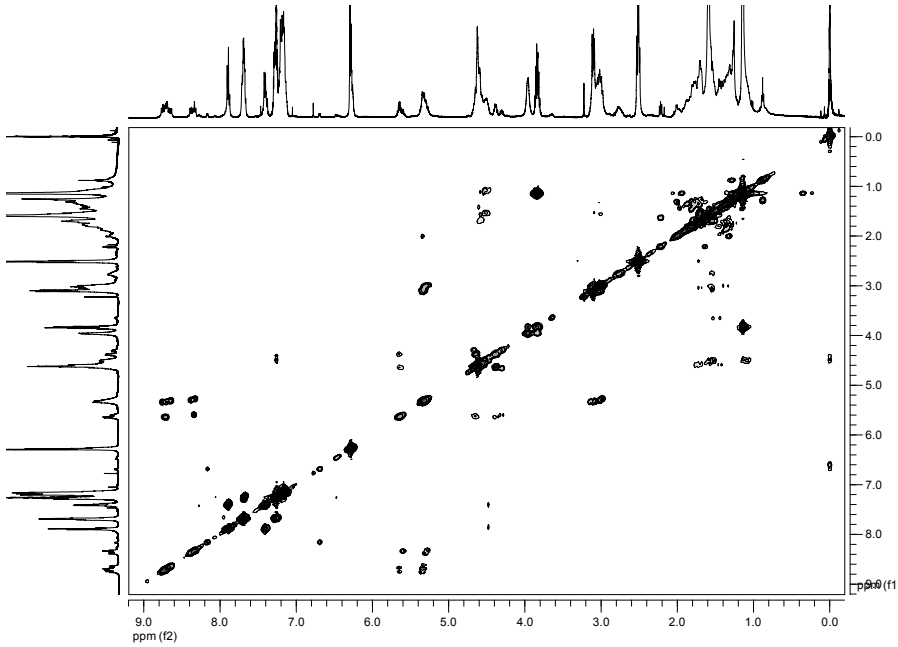
50


9.0
8.0
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
ppm (t1)

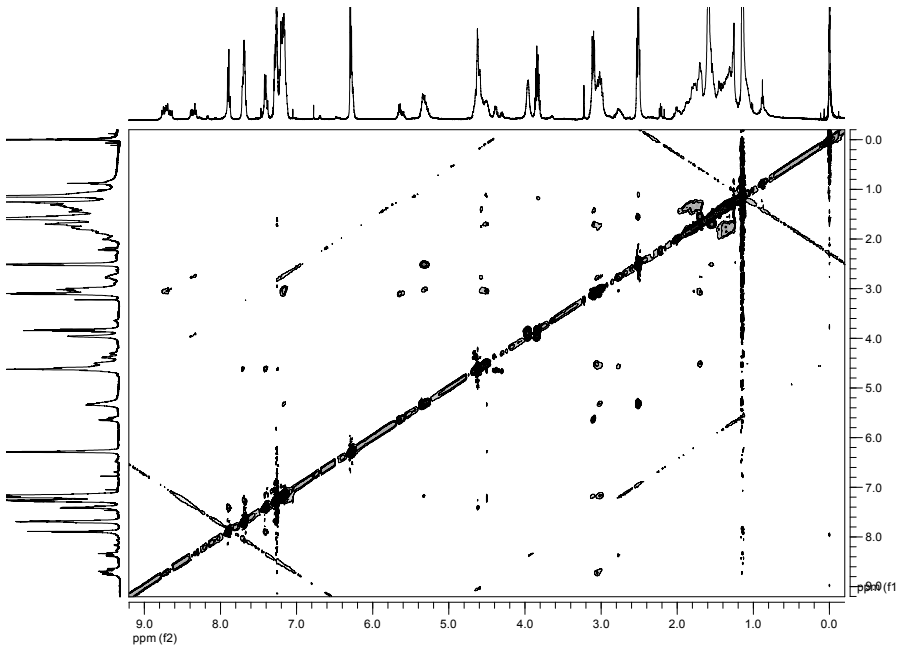

200
150
100
50
0
ppm (t1)

***ciclo*{[*L*-Phe-*D*-^{Me}N-γ-Ach]$_2$-*L*-Ser(exTTF)-*D*-^{Me}N-γ-Ach-} (50)**

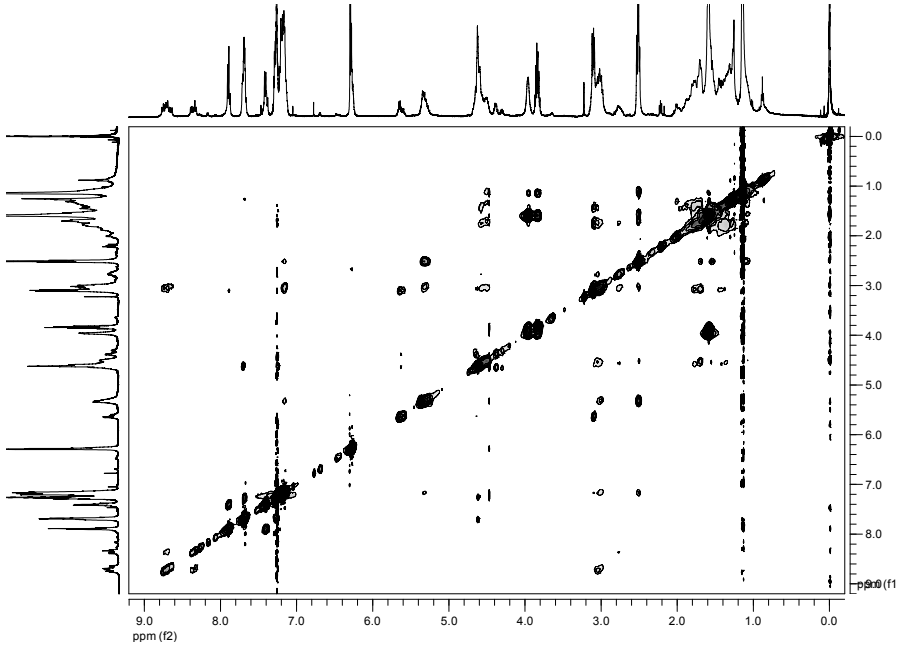
1) COSY [5.74 mM, $CDCl_3$, 298 K (25 ºC), 500.13 MHz]



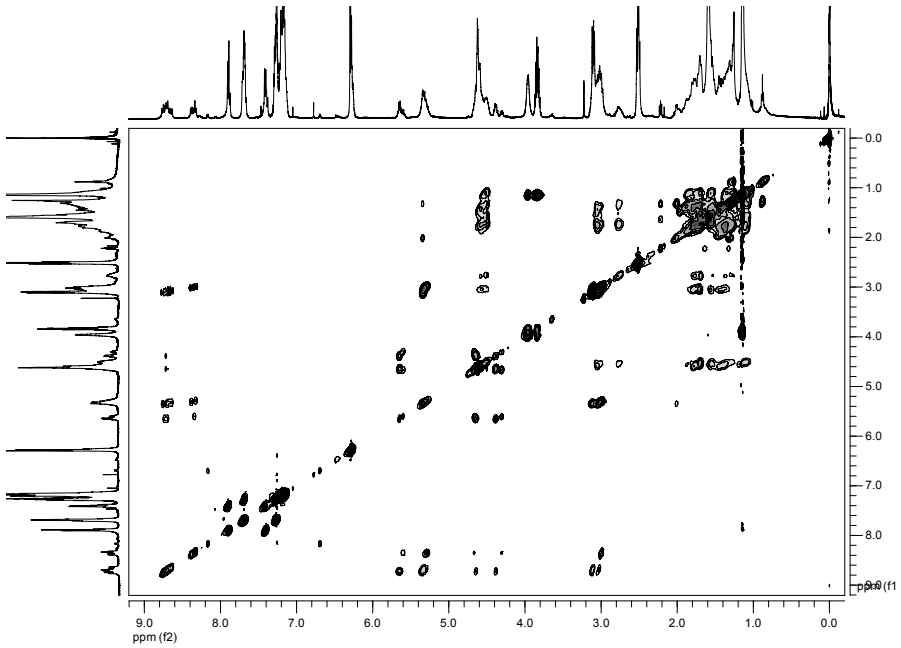
2) ROESY [5.74 mM, $CDCl_3$, 298 K (25 ºC), 500.13 MHz]

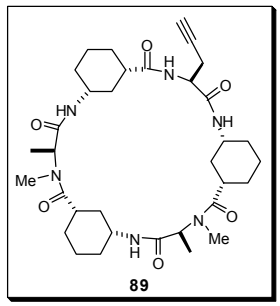


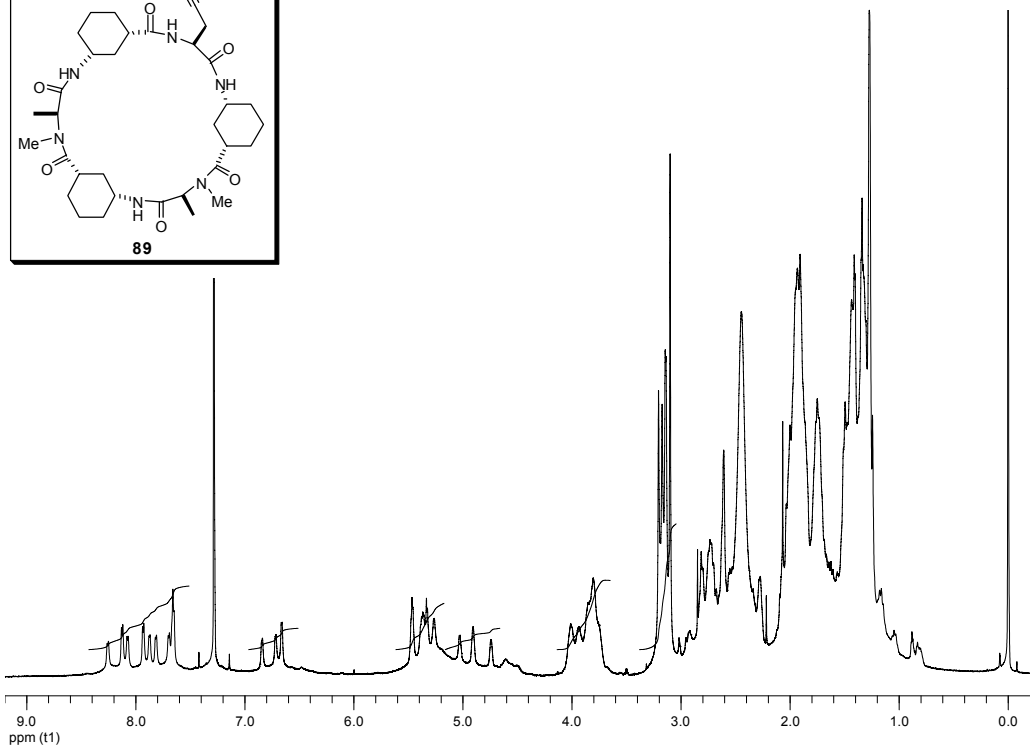
3) NOESY [5.74 mM, $CDCl_3$, 298 K (25 ºC), 500.13 MHz]

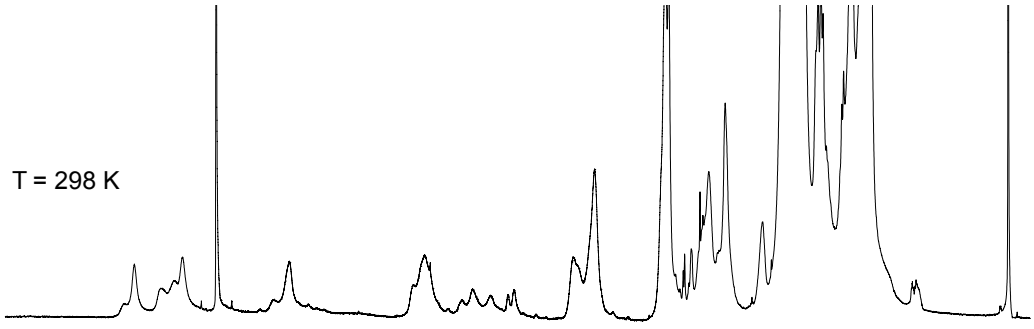


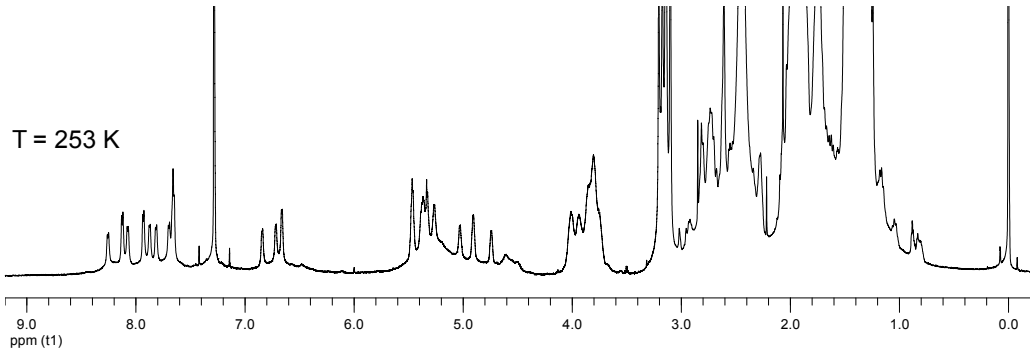
4) TOCSY [5.74 mM, $CDCl_3$, 298 K (25 ºC), 500.13 MHz]




89

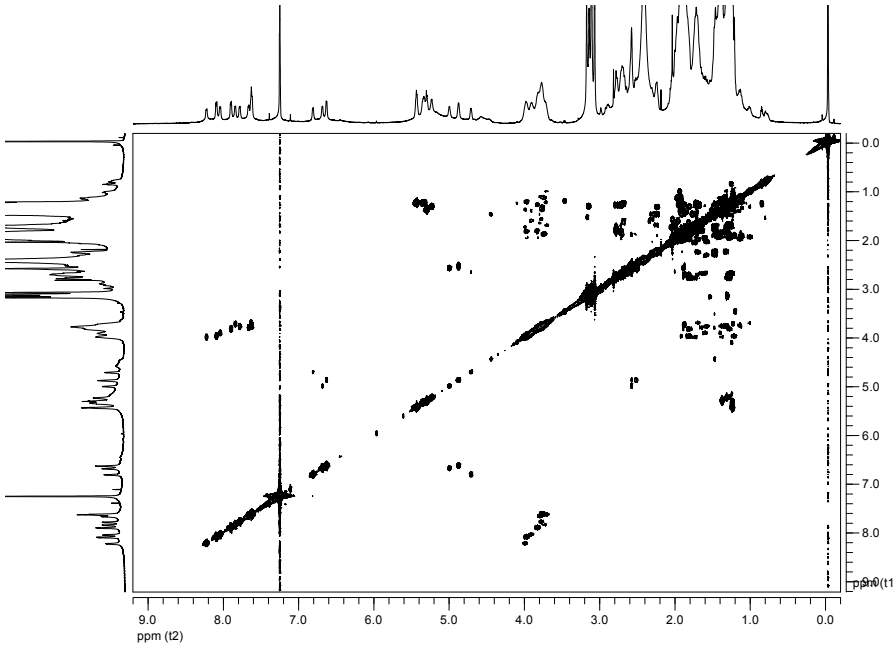

9.0
8.0
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
ppm (t1)


T = 298 K

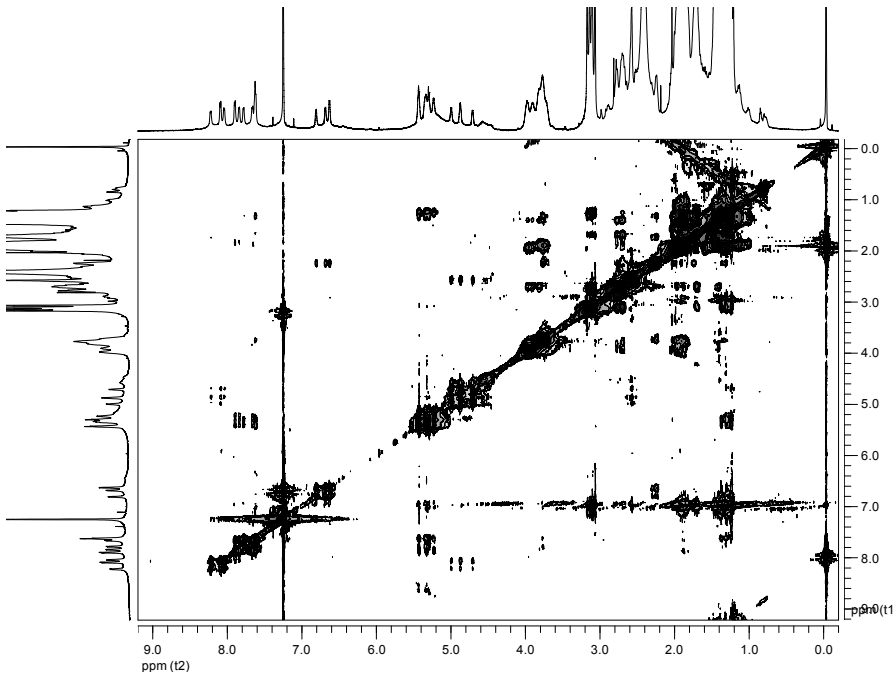

T = 253 K
9.0
8.0
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
ppm (t1)

***ciclo*{[*D*-γ-Ach-*L*-^{Me}N-Ala-]$_2$-*D*-γ-Ach-*L*-Pra-} (89)**

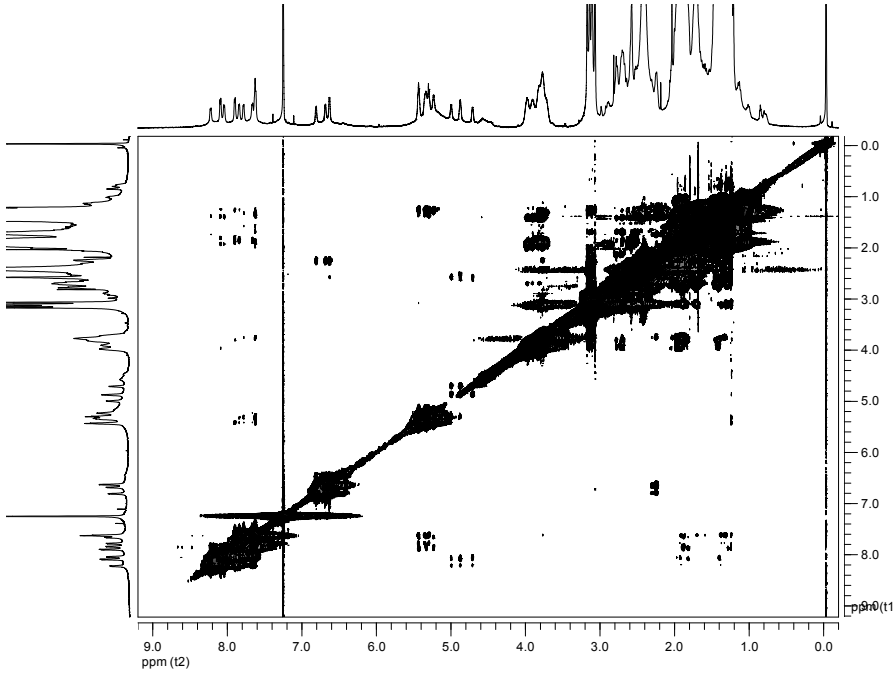
1) COSY [15.62 mM, $CDCl_3$, 253 K (-20 ºC), 500.13 MHz]



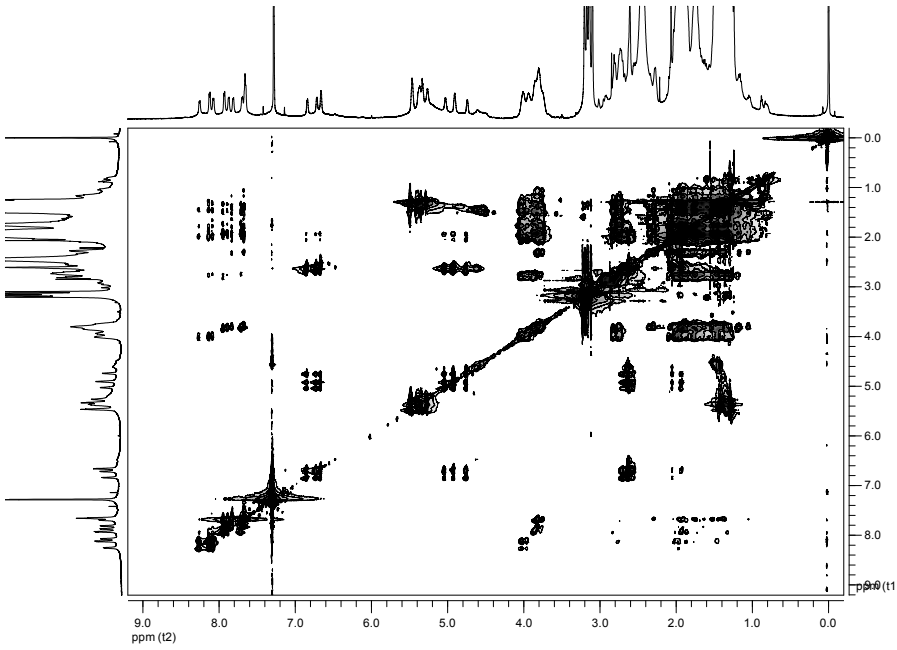
2) ROESY [15.62 mM, $CDCl_3$, 253 K (-20 ºC), 500.13 MHz]



3) NOESY [15.62 mM, $CDCl_3$, 253 K (-20 ºC), 500.13 MHz]

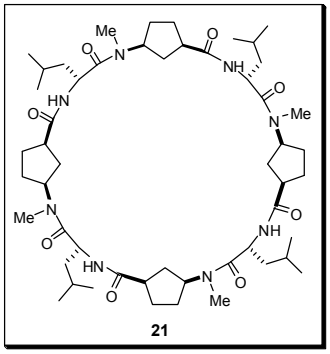


4) TOCSY [15.62 mM, $CDCl_3$, 253 K (-20 ºC), 500.13 MHz]

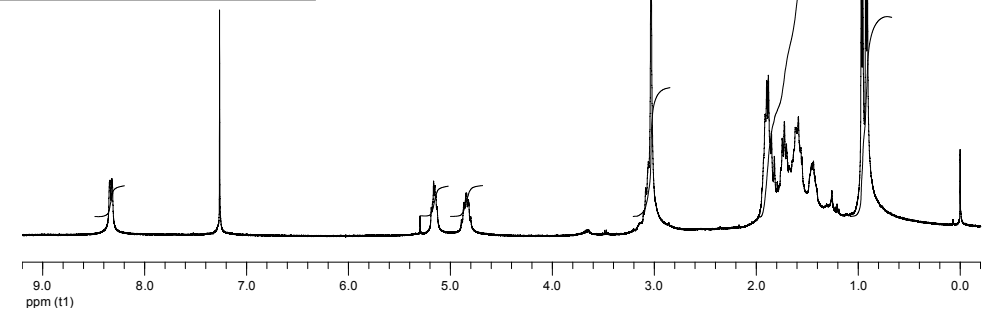


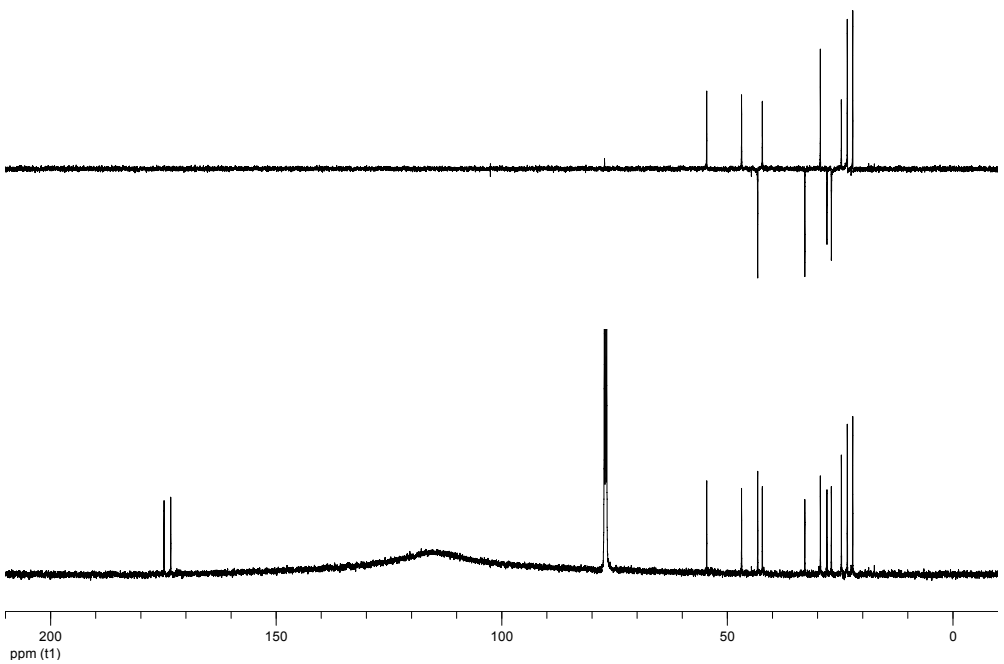
27.13. CICLOOCTAPÉPTIDOS

27.13.1. CICLOOCTAPÉPTIDOS DERIVADOS DEL ÁCIDO 3-AMINOCICLOPENTANOCARBOXÍLICO



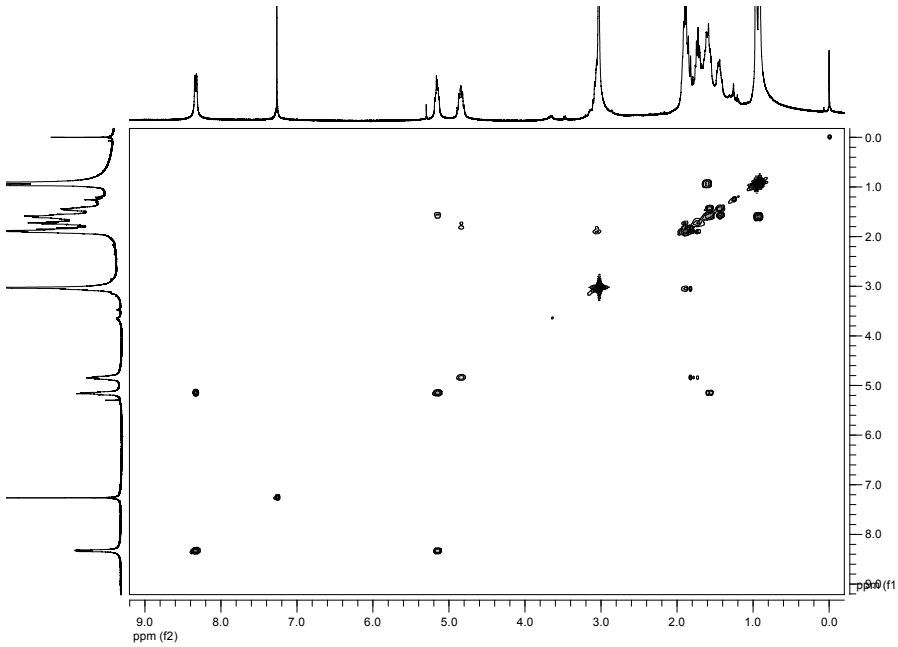
21



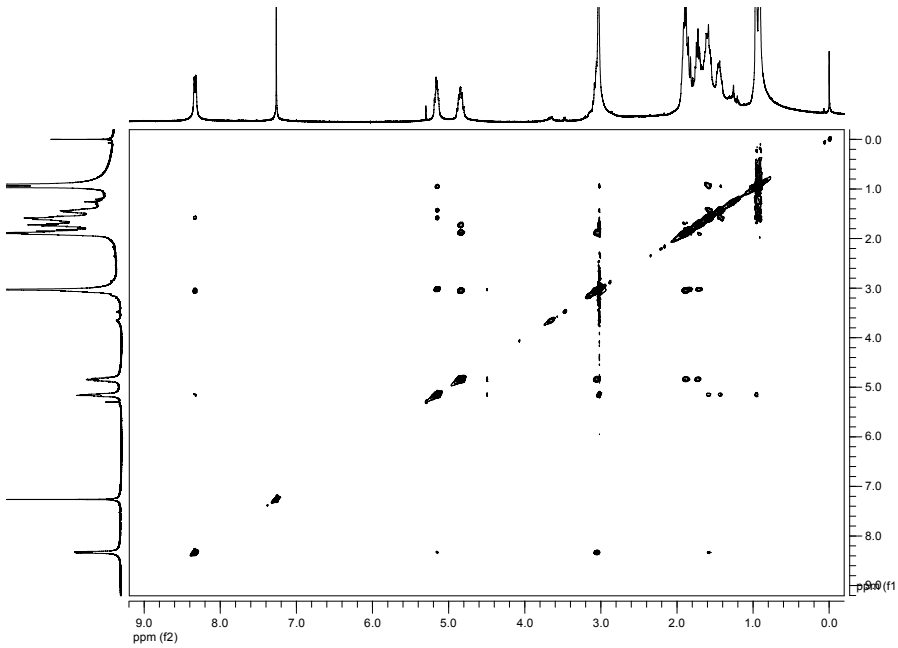


***ciclo*[(*D*-Leu-*L*-^{Me}N-γ-Acp)$_4$-] (21)**

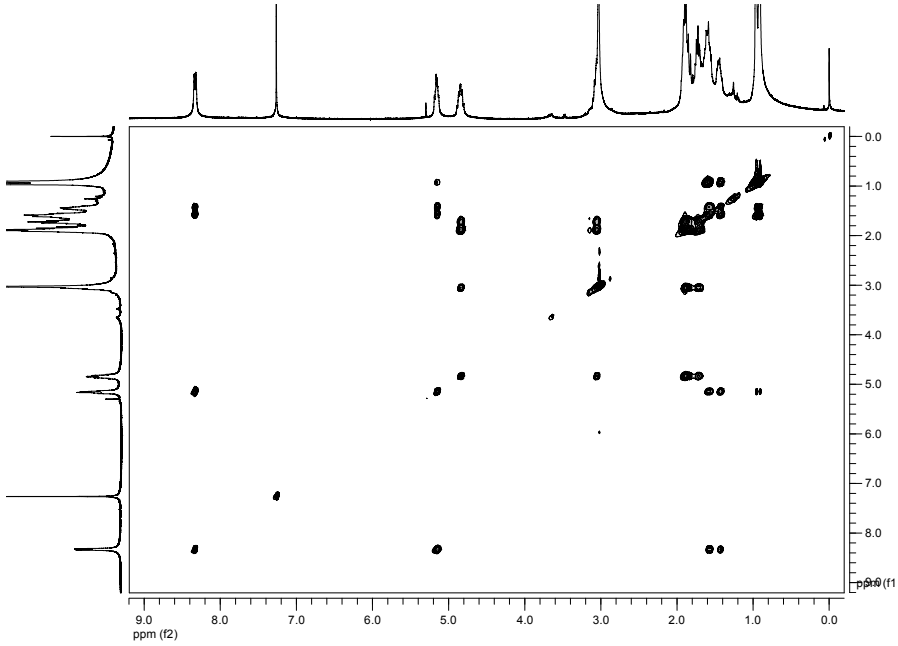
1) COSY [10.02 mM, $CDCl_3$, 298 K (25 ºC), 500.13 MHz]

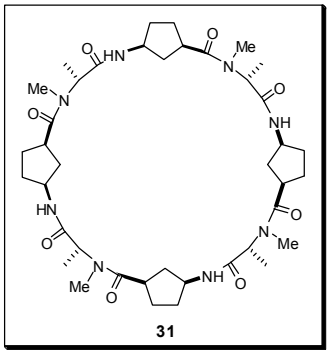


2) ROESY [10.02 mM, $CDCl_3$, 298 K (25 ºC), 500.13 MHz]

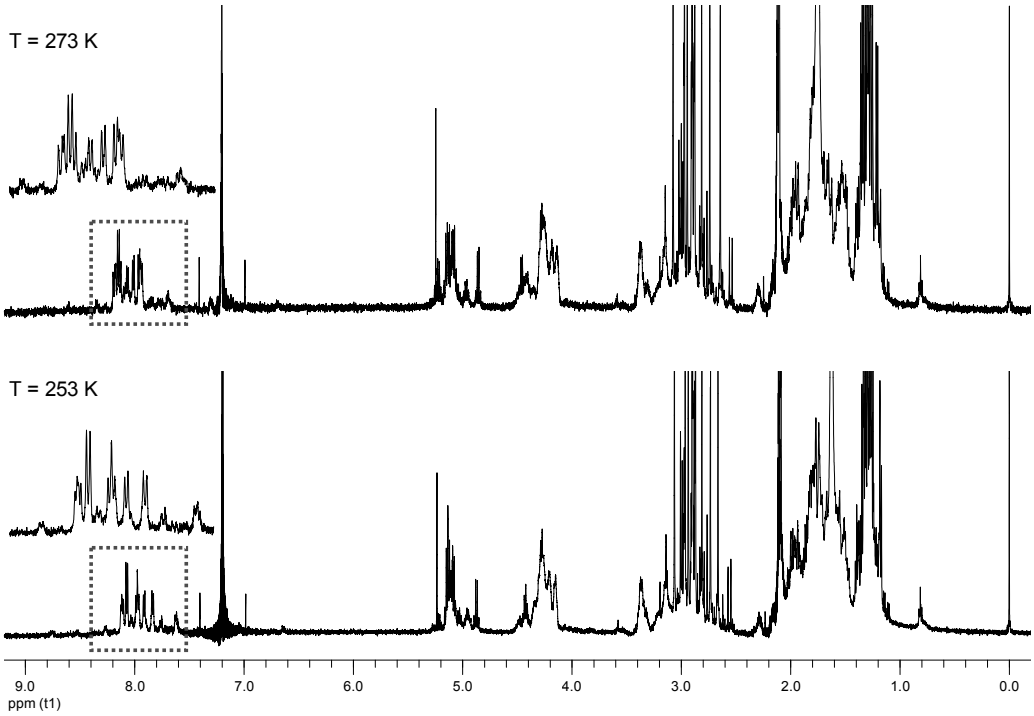


3) TOCSY [10.02 mM, $CDCl_3$, 298 K (25 ºC), 500.13 MHz]

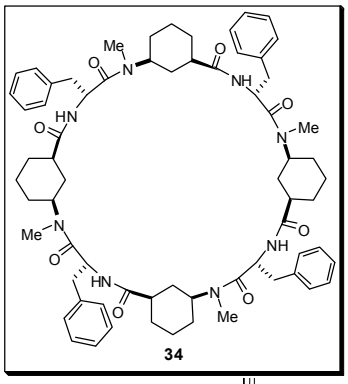



O
HN
O
N
Me
Me
N
O
O
NH
HN
O
O
N
Me
N
Me
O
NH
O

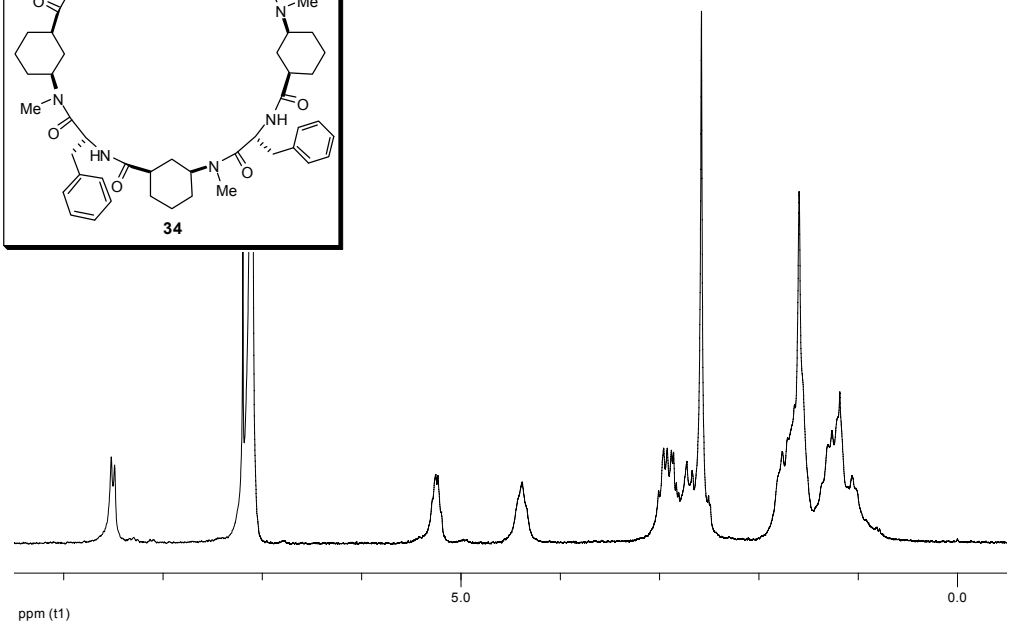
31

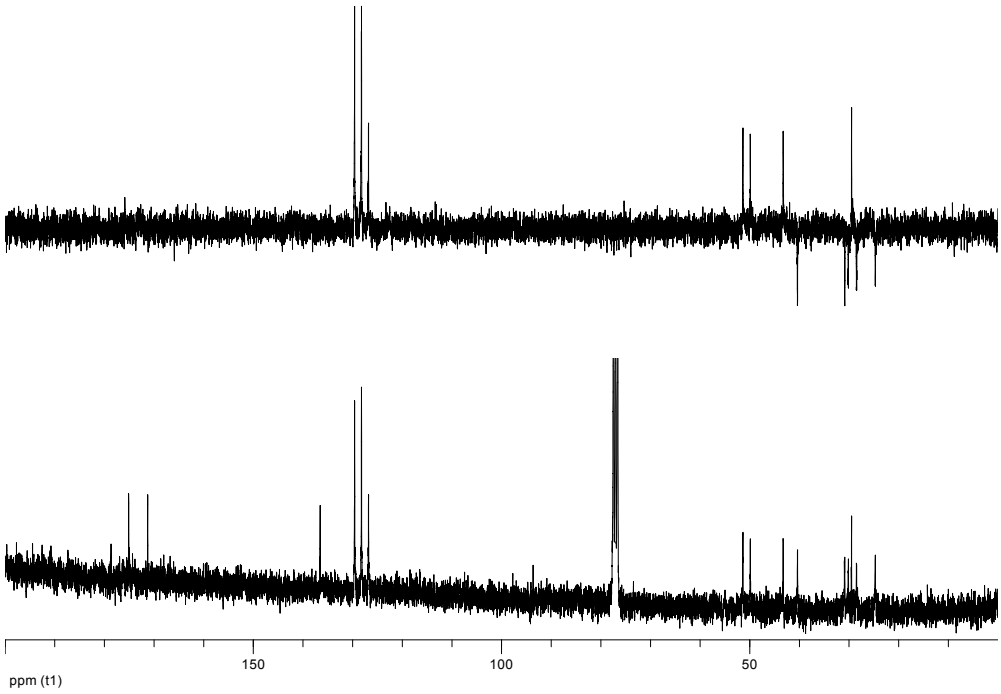

T = 273 K
T = 253 K
9.0
8.0
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
ppm (t1)

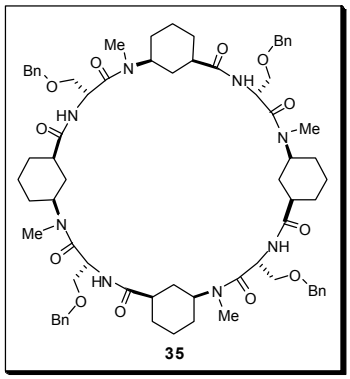
27.13.2. CICLOOCTAPÉPTIDOS DERIVADOS DEL ÁCIDO 3-AMINOCICLOHEXANOCARBOXÍLICO



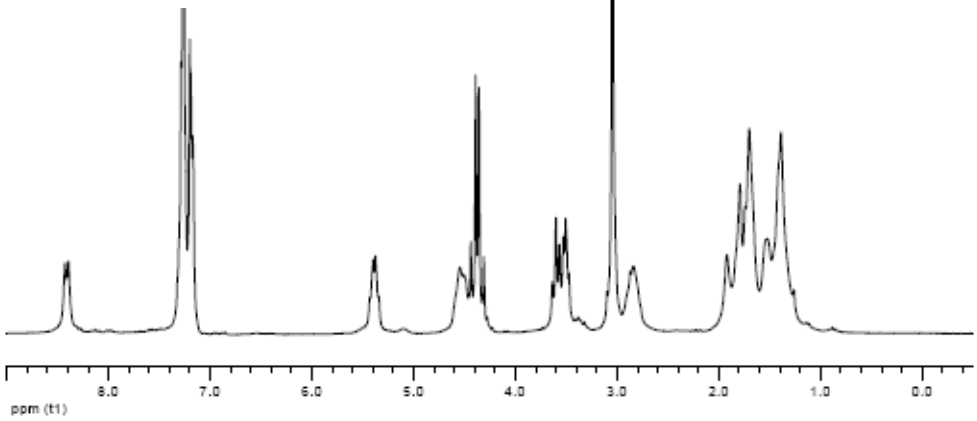
34

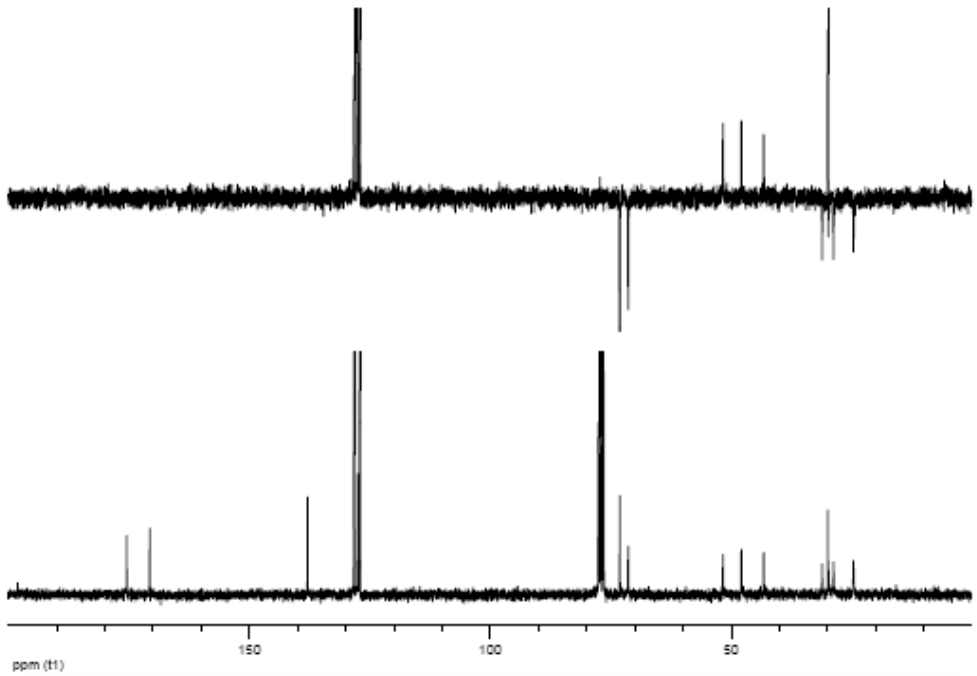


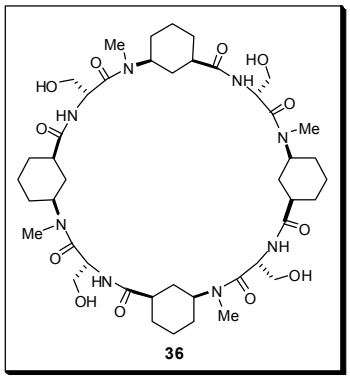



Me
Bn
O
N
O
NH
O
Bn
HN
O
N
Me
Me
N
O
NH
O
HN
O
N
O
Me
O
Bn
Bn

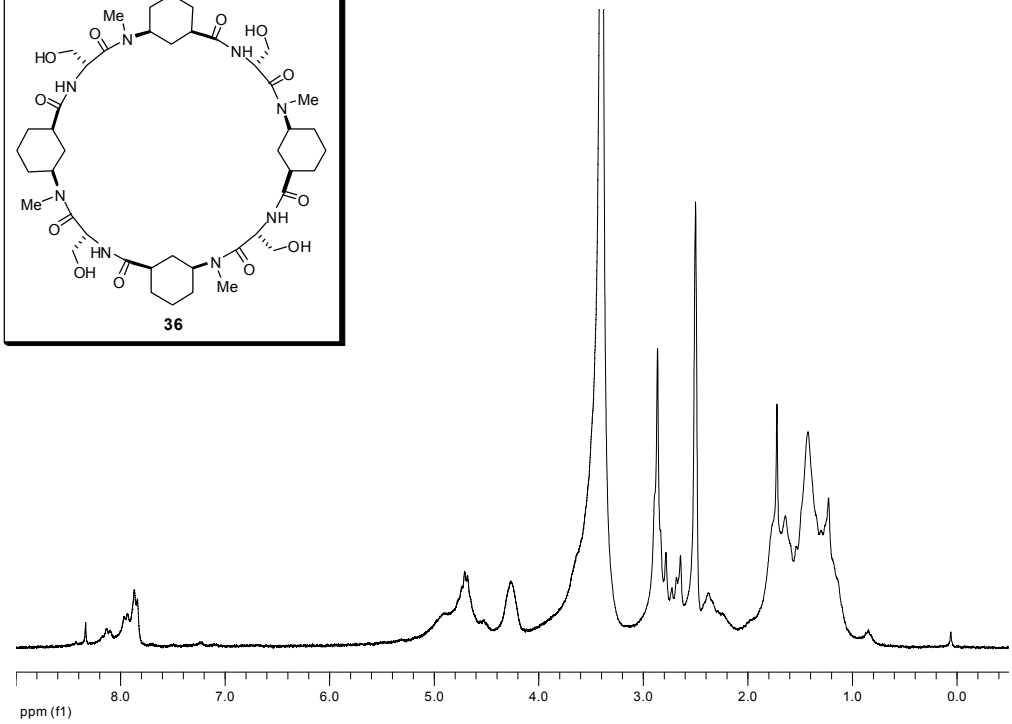
35

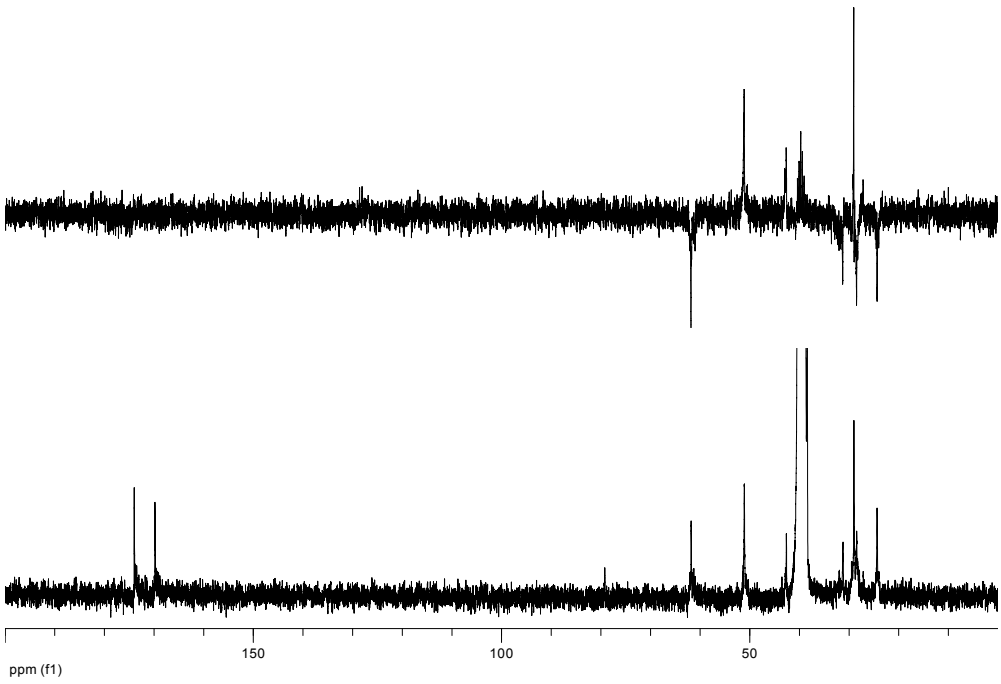

8.0
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
ppm (t1)

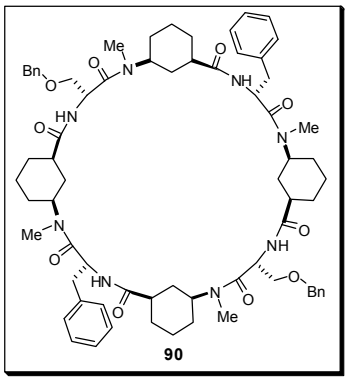

150
100
50
ppm (t1)


Me
O
N
O
HO
HN
O
HO
NH
O
N
Me
Me
N
O
HN
OH
O
N
Me
O
NH
OH
O

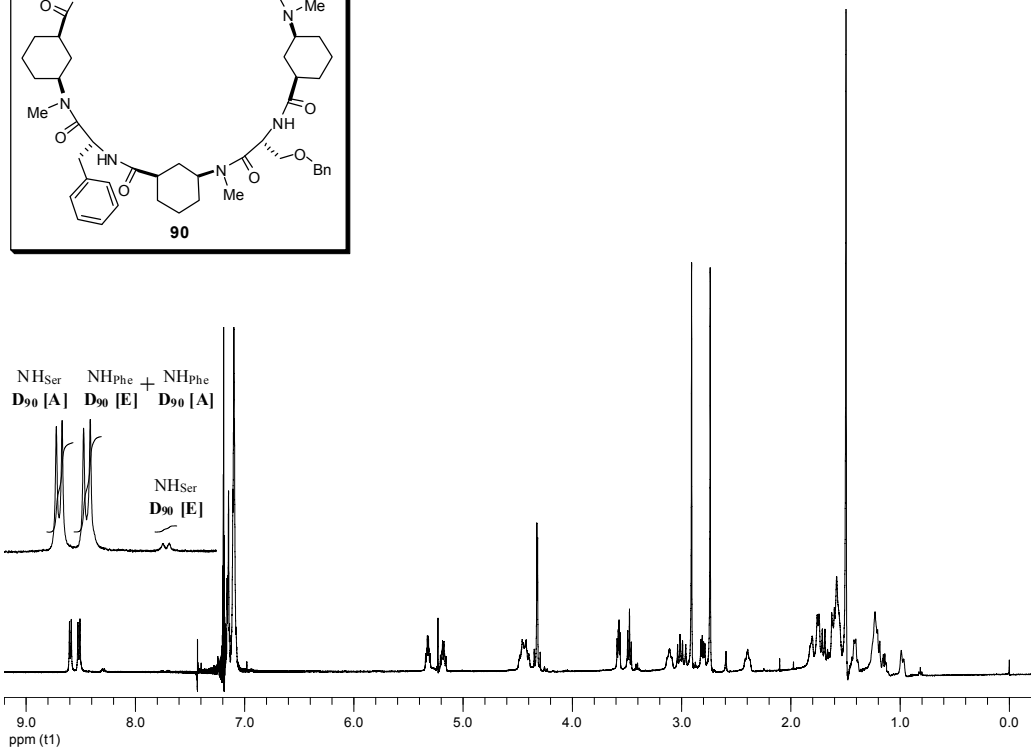
36

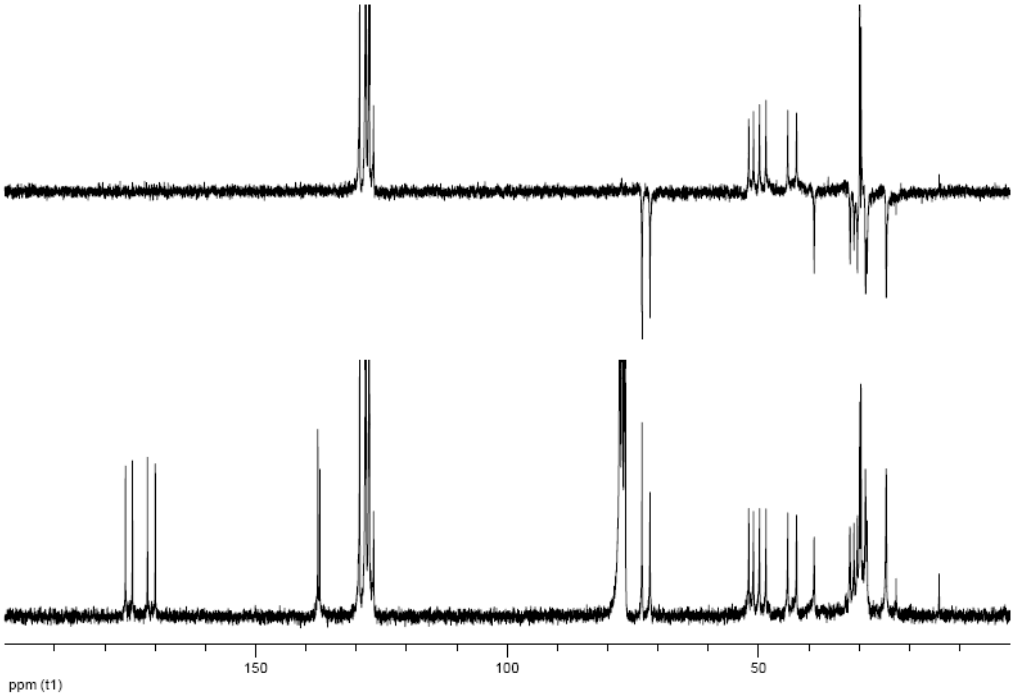

8.0
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
ppm (f1)


150
100
50
ppm (f1)


Me
Bn
O
N
O
NH
HN
O
O
N
Me
Me
N
O
NH
HN
O
N
O
Me
O
Bn

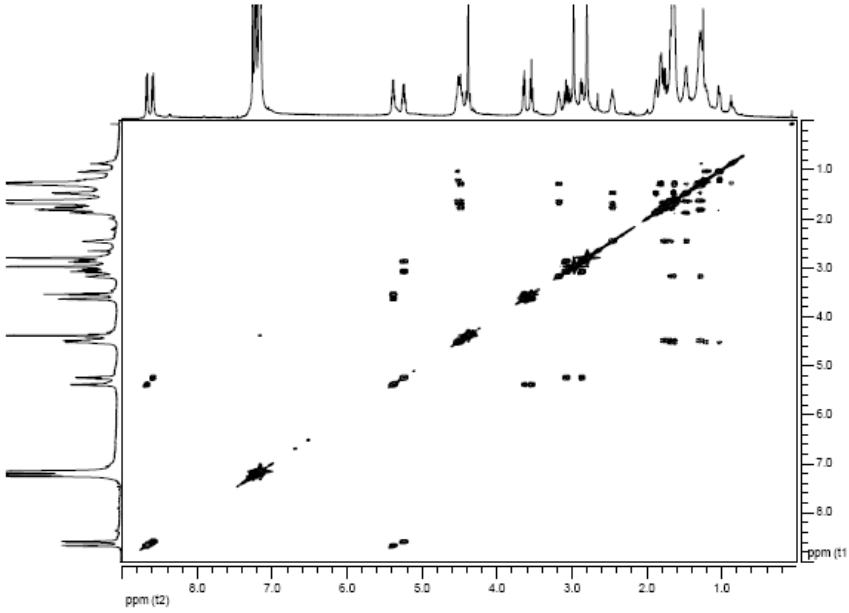
90


NHSer
D90 [A]
NHPhe
D90 [E]
+
NHPhe
D90 [A]
NHSer
D90 [E]
9.0
8.0
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
ppm (t1)

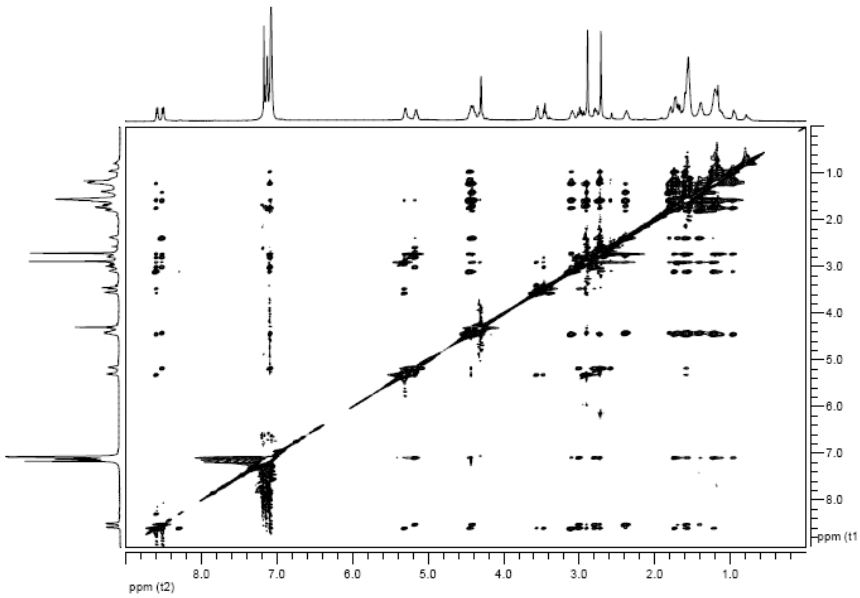

150
100
50
ppm (t1)

***ciclo*{[*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach-*D*-Ser(Bn)-*L*-^{Me}N-γ-Ach-]$_2$-} (90)**

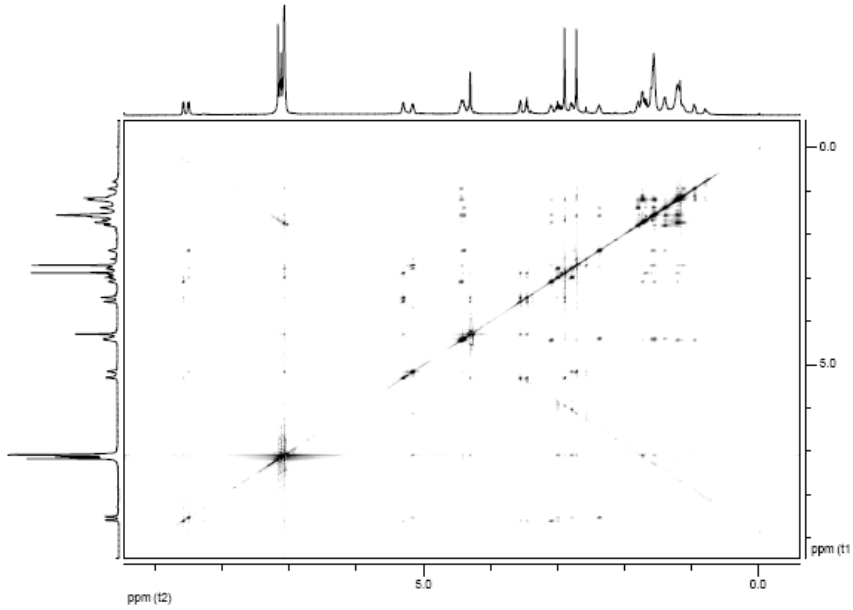
1) COSY [14.10 mM, $CDCl_3$, 298 K (25 ºC), 750.00 MHz]

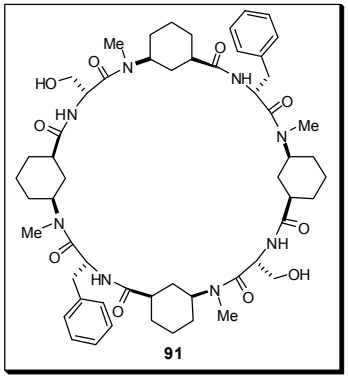


2) NOESY [14.10 mM, $CDCl_3$, 298 K (25 ºC), 750.00 MHz]

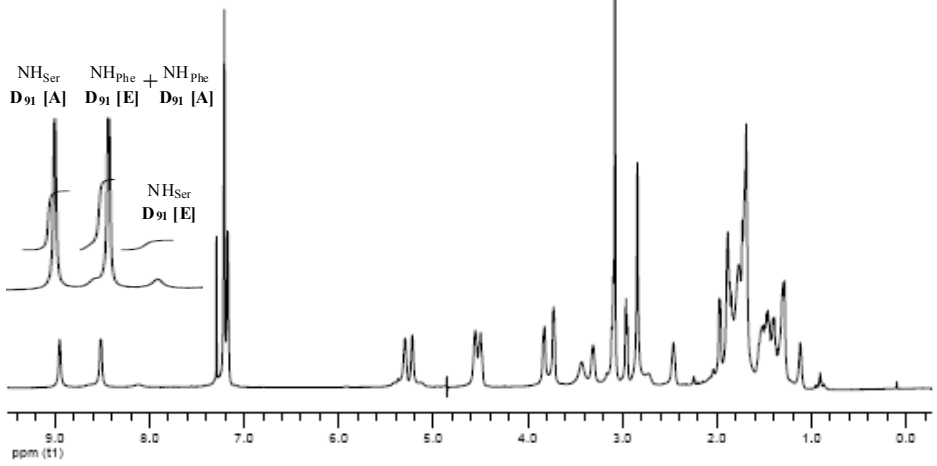


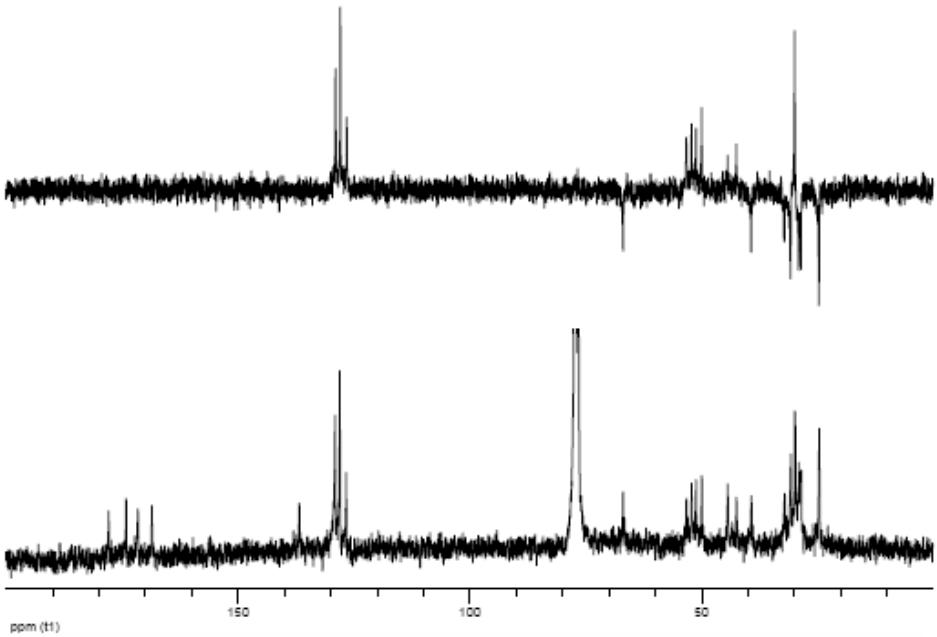
3) ROESY [14.10 mM, $CDCl_3$, 298 K (25 ºC), 750.00 MHz]




Me
O
N
O
NH
HO
HN
O
O
N
Me
Me
N
O
O
NH
HN
OH
O
N
O
Me

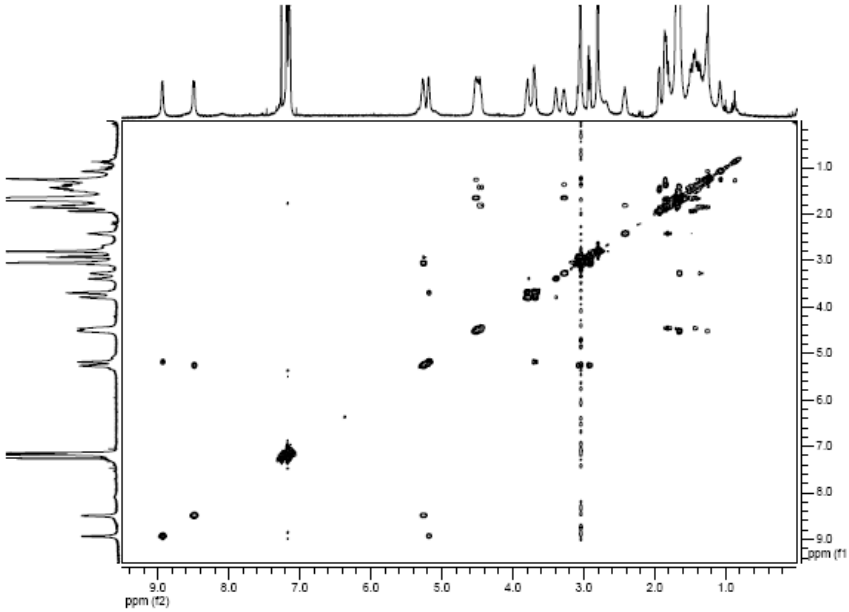
91


NH$_{Ser}$
D$_{91}$ [A]
NH$_{Phe}$
D$_{91}$ [E]
+ NH$_{Phe}$
D$_{91}$ [A]
NH$_{Ser}$
D$_{91}$ [E]
9.0
8.0
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
ppm (t1)

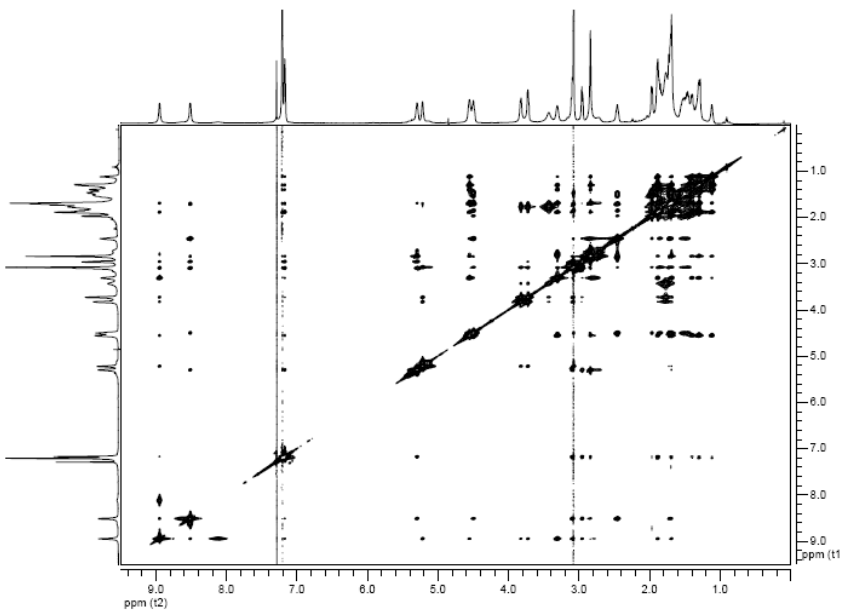

150
100
50
ppm (t1)

***ciclo*{[*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach-*D*-Ser-*L*-^{Me}N-γ-Ach-]$_2$-} (91)**

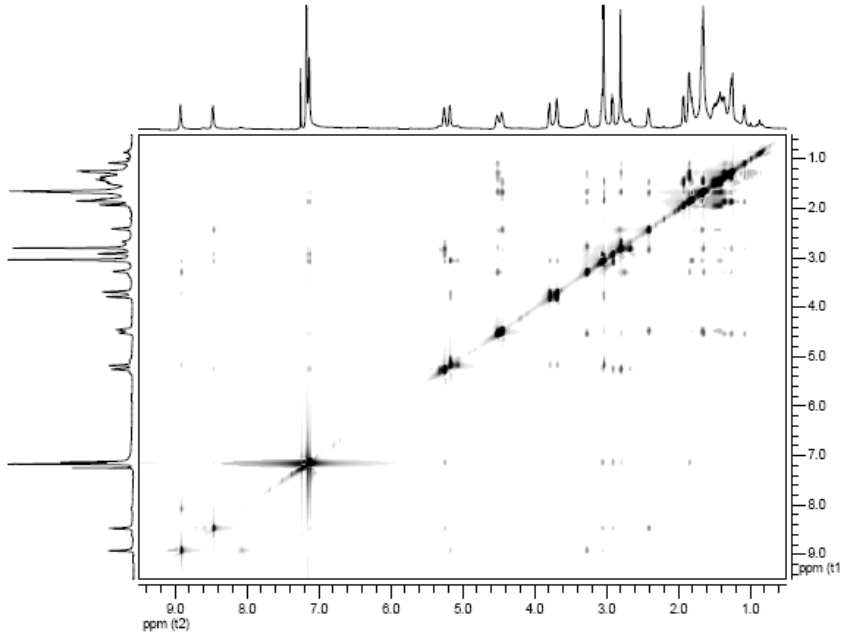
1) COSY [11.32 mM, $CDCl_3$, 298 K (25 ºC), 750.00 MHz]

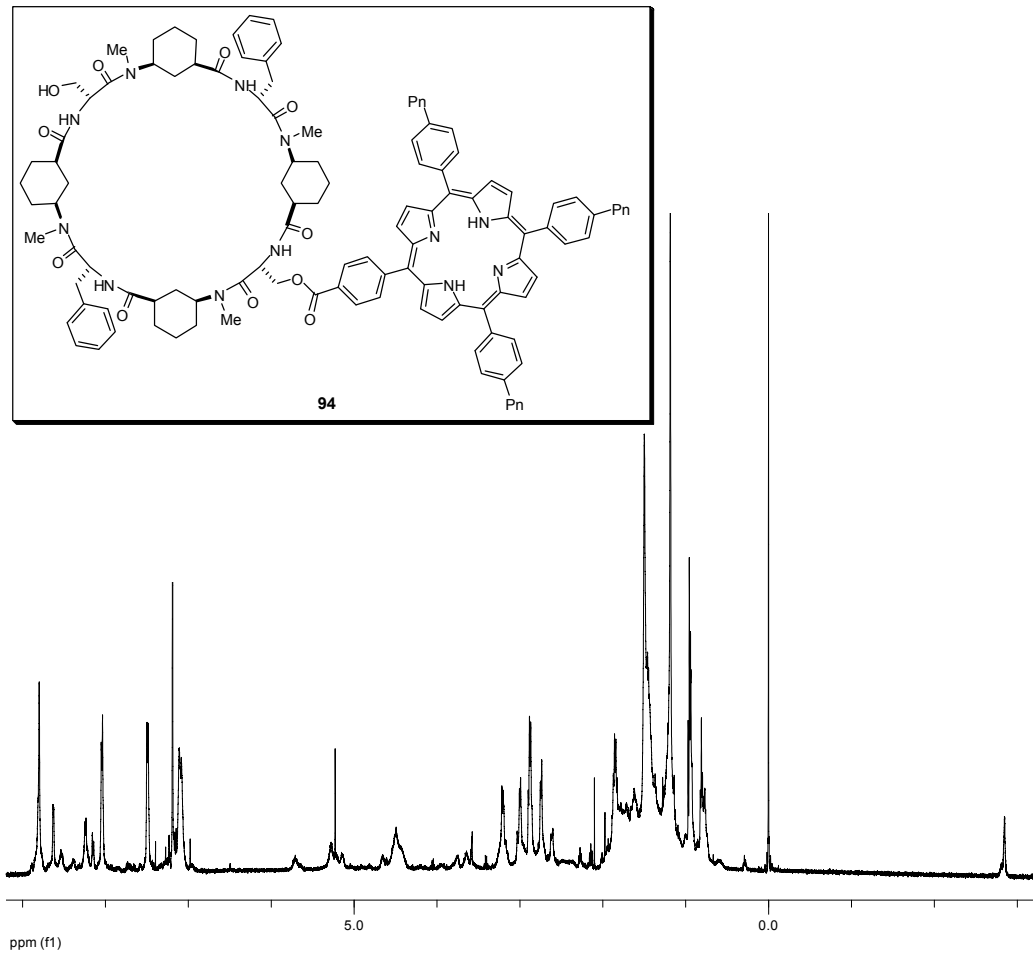


2) NOESY [11.32 mM, $CDCl_3$, 298 K (25 ºC), 750.00 MHz]



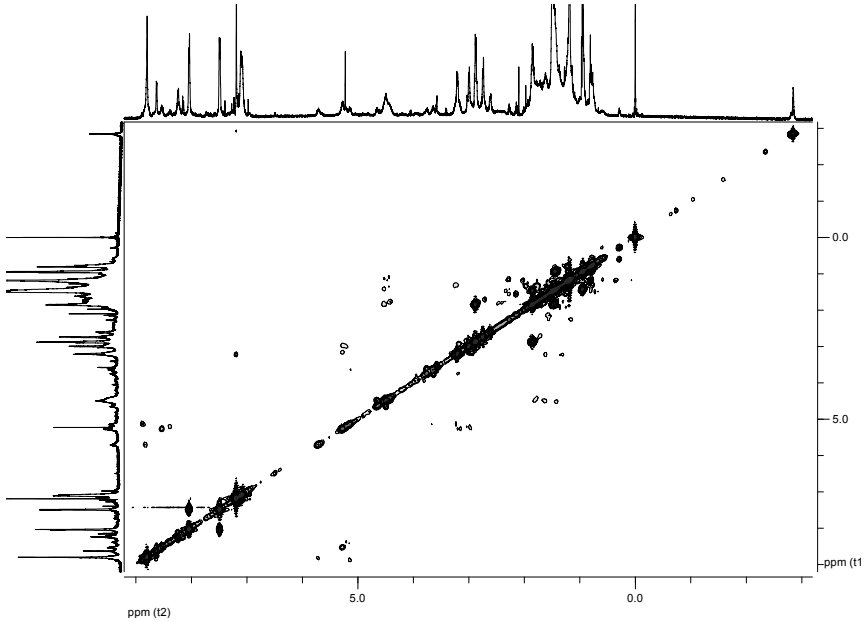
3) ROESY [11.32 mM, $CDCl_3$, 298 K (25 ºC), 750.00 MHz]



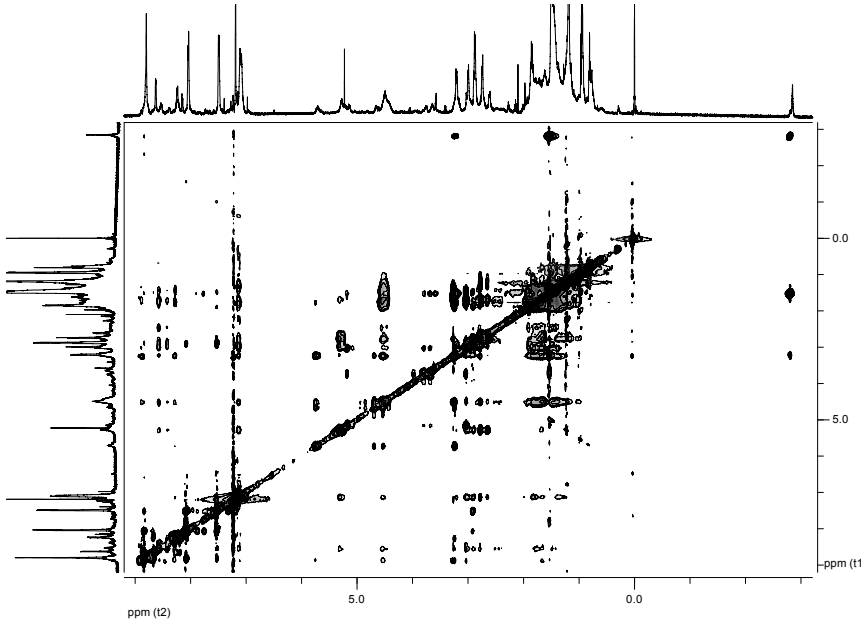

Me
O
N
O
NH
HO
O
HN
N
Me
O
HN
O
N
Me
O
NH
HN
O
N
O
Me
O
O
O
Pn
HN
Pn
N
N
NH
Pn
94
5.0
0.0
ppm (f1)

***ciclo*[*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach-*D*-Ser(Por)-*L*-^{Me}N-γ-Ach-*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach-*D*-Ser-*L*-^{Me}N-γ-Ach-] (94)**

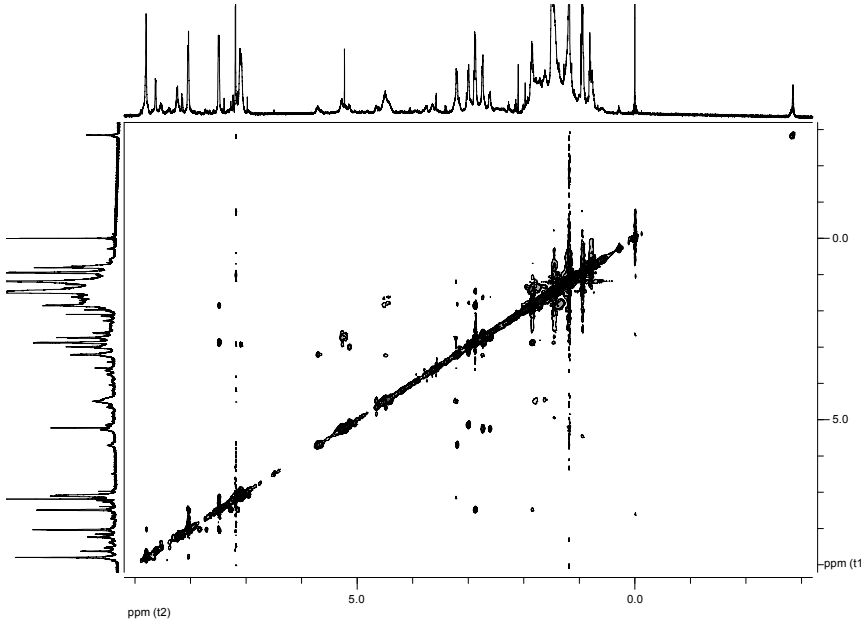
1) COSY [7.28 mM, $CDCl_3$, 298 K (25 ºC), 500.13 MHz]



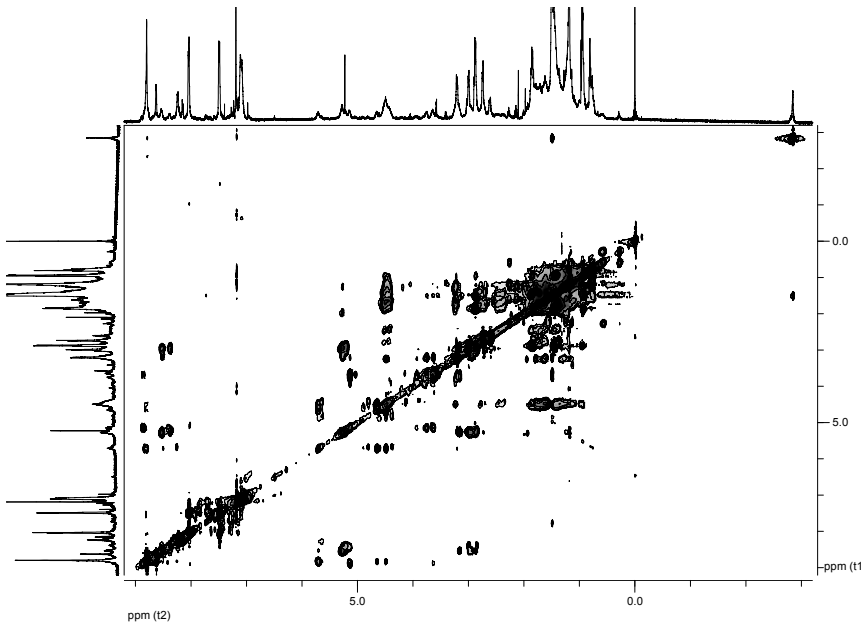
2) NOESY [7.28 mM, $CDCl_3$, 298 K (25 ºC), 500.13 MHz]

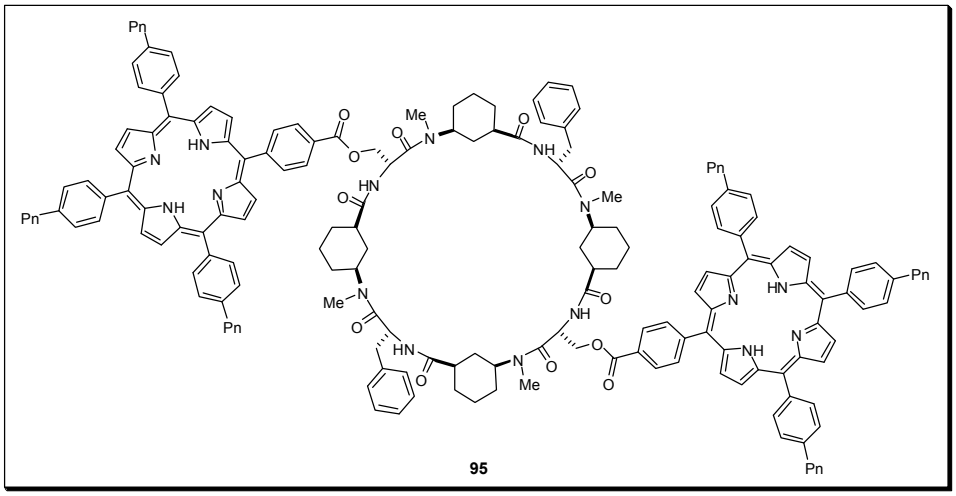


3) ROESY [7.28 mM, $CDCl_3$, 298 K (25 ºC), 500.13 MHz]

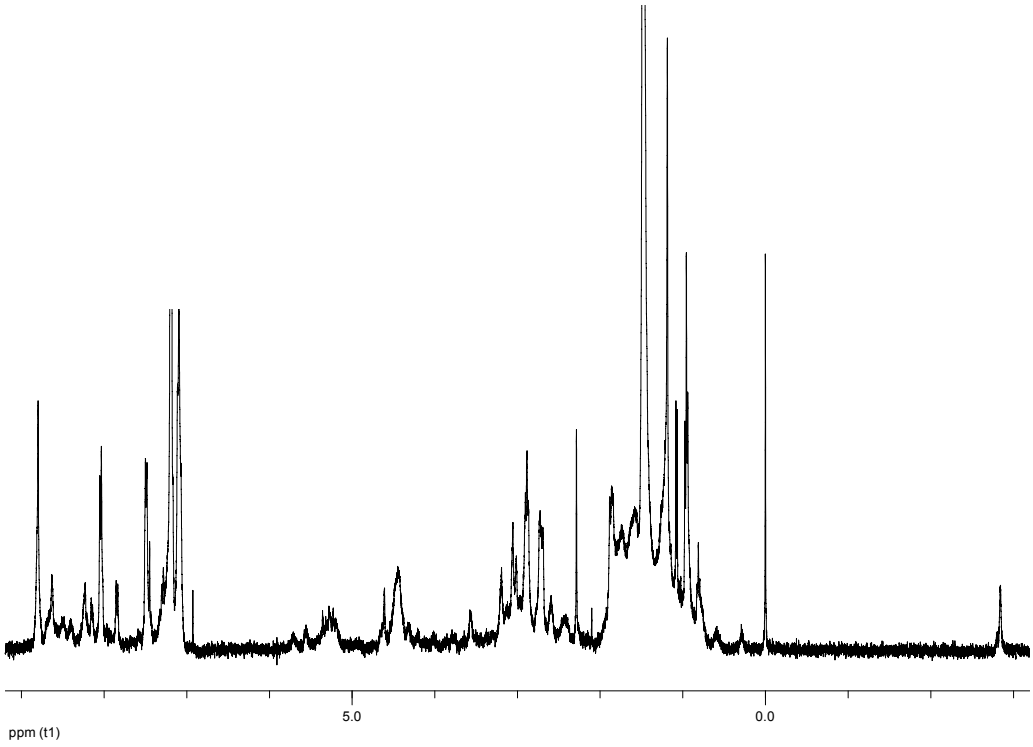


4) TOCSY [7.28 mM, $CDCl_3$, 298 K (25 ºC), 500.13 MHz]



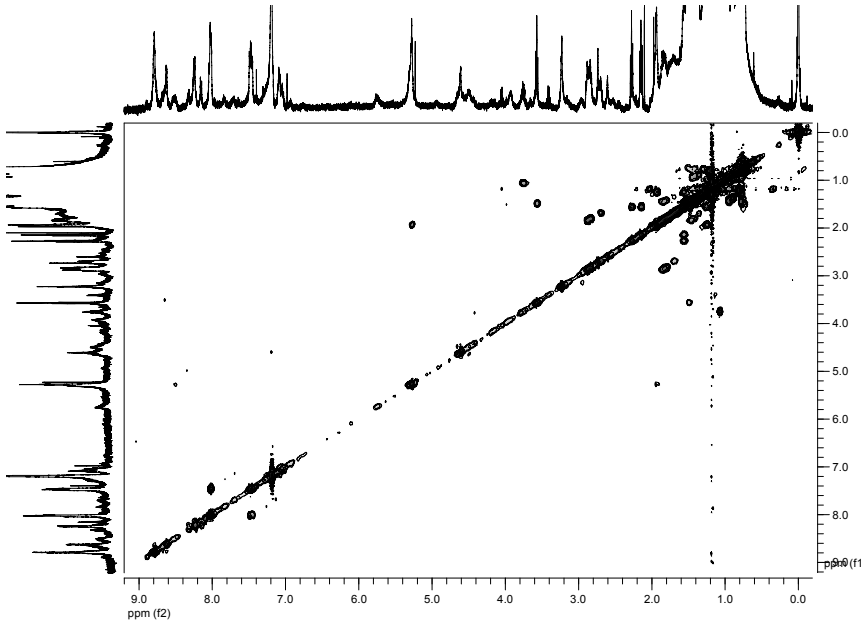

Pn
HN
N
NH
N
Pn
Pn
O
O
O
Me
N
O
NH
O
N
Me
HN
O
O
N
Me
O
NH
HN
O
O
N
Me
O
O
Pn
N
HN
Pn
N
NH
N
Pn
Pn

95

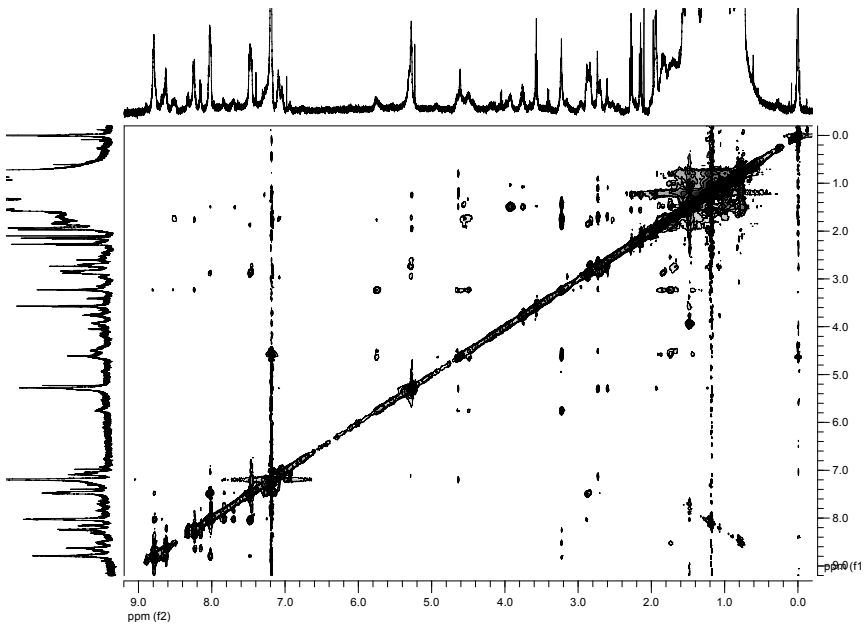

5.0
0.0
ppm (t1)

***ciclo*{[*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach-*D*-Ser(Por)-*L*-^{Me}N-γ-Ach-]$_2$-} (95)**

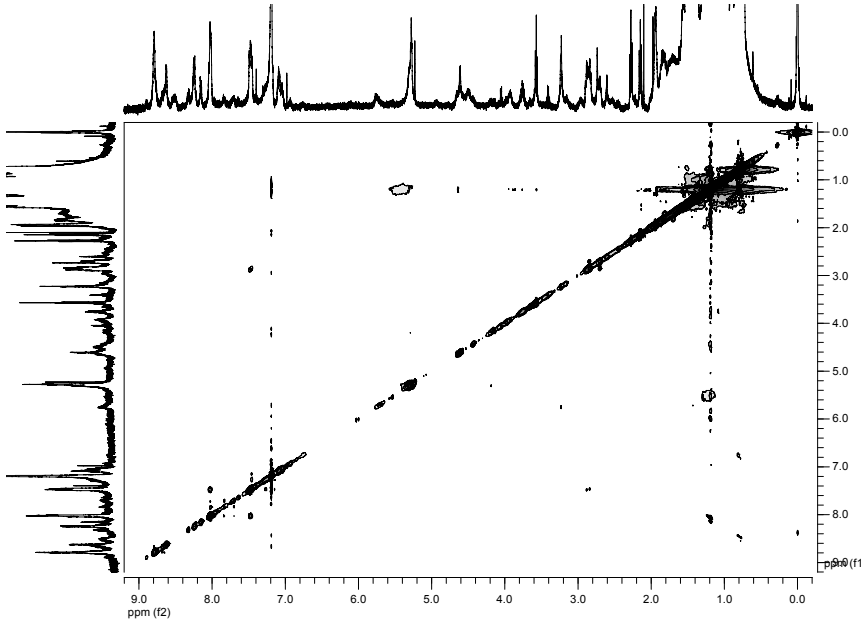
1) COSY [10.16 mM, $CDCl_3$, 298 K (25 ºC), 500.13 MHz]



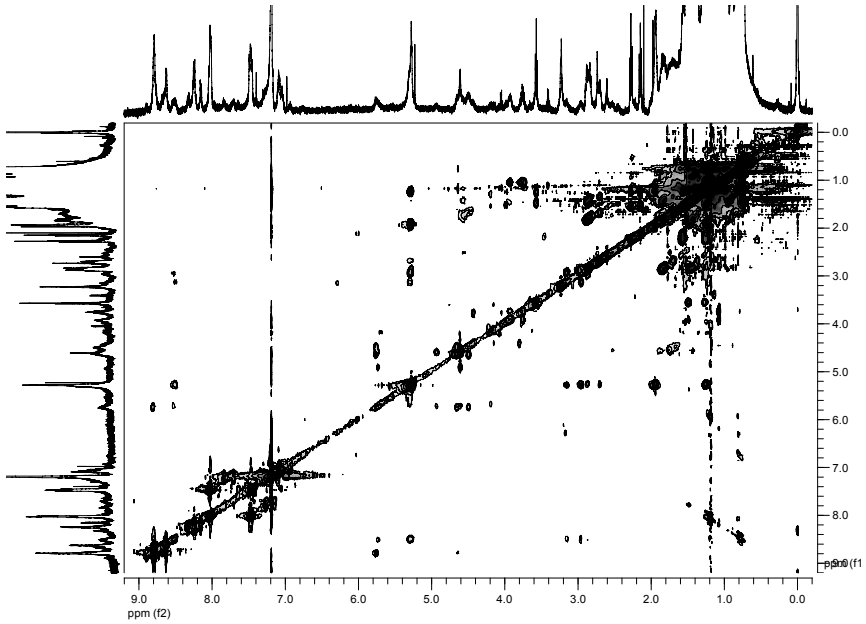
2) NOESY [10.16 mM, $CDCl_3$, 298 K (25 ºC), 500.13 MHz]

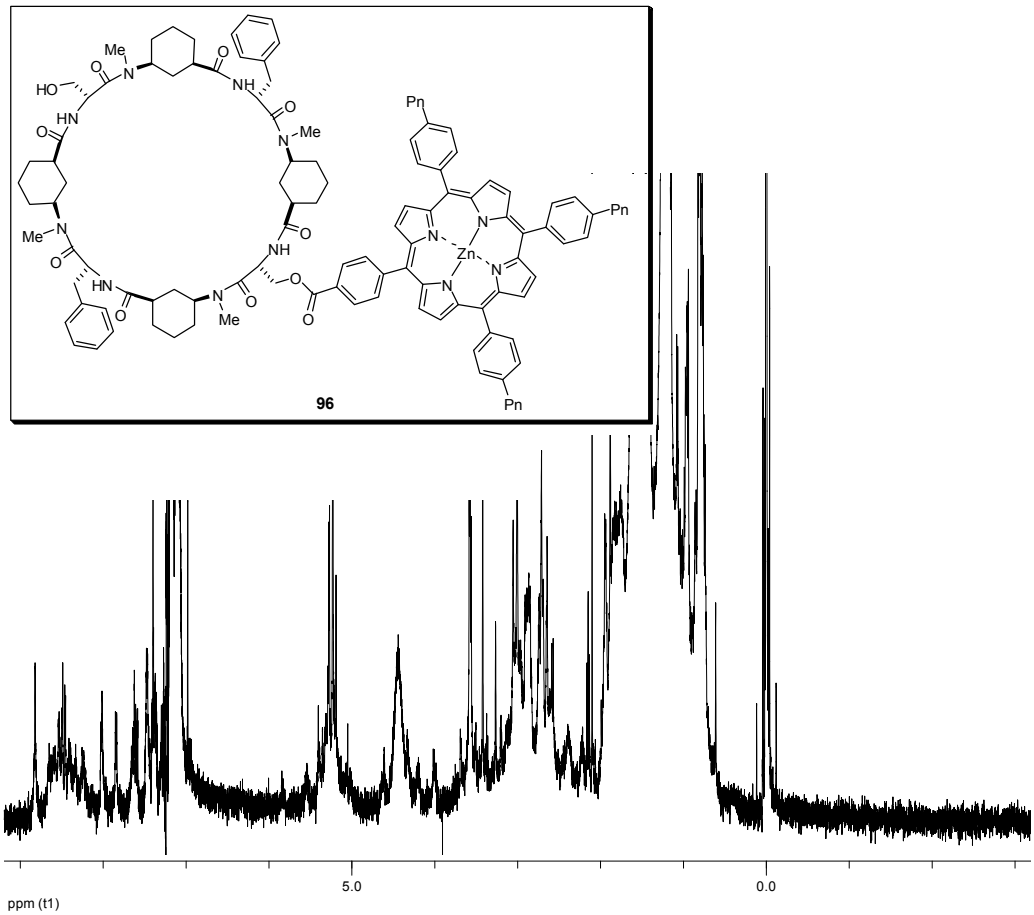


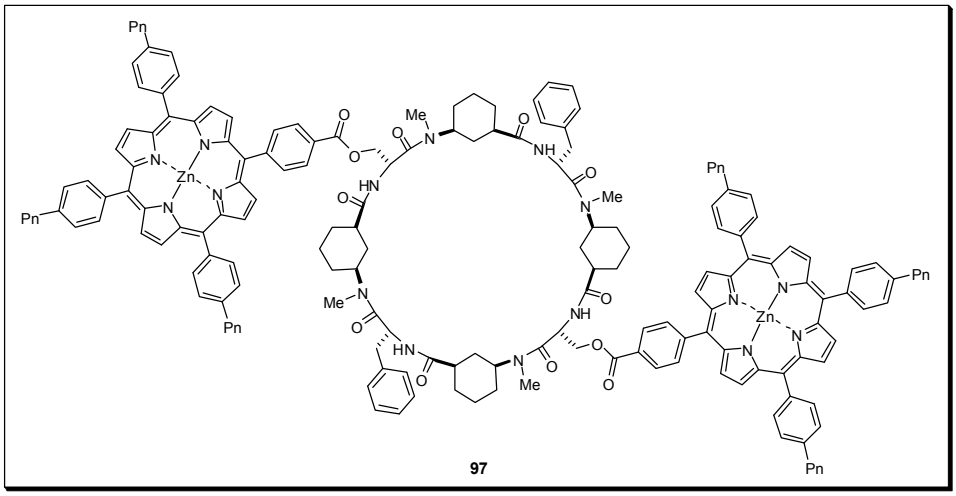
3) ROESY [10.16 mM, $CDCl_3$, 298 K (25 ºC), 500.13 MHz]



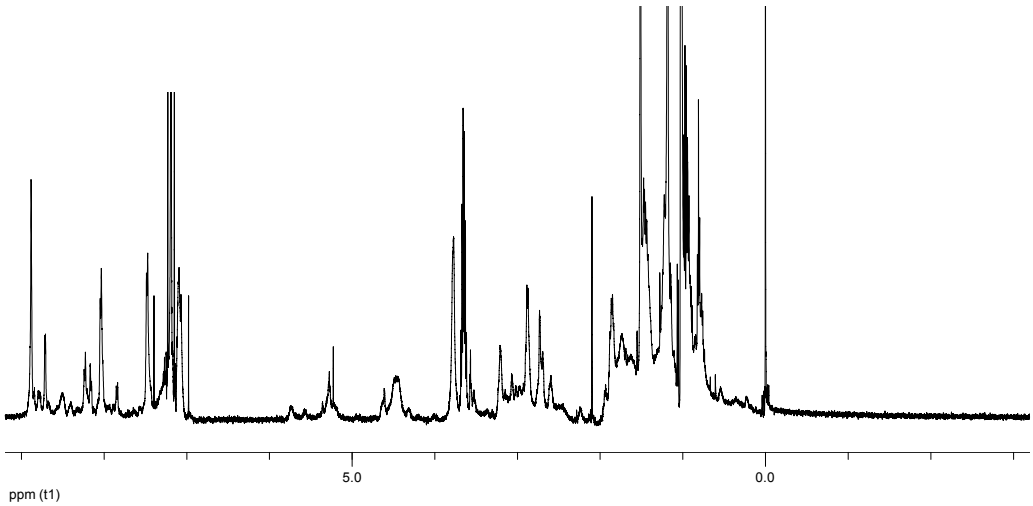
4) TOCSY [10.16 mM, $CDCl_3$, 298 K (25 ºC), 500.13 MHz]



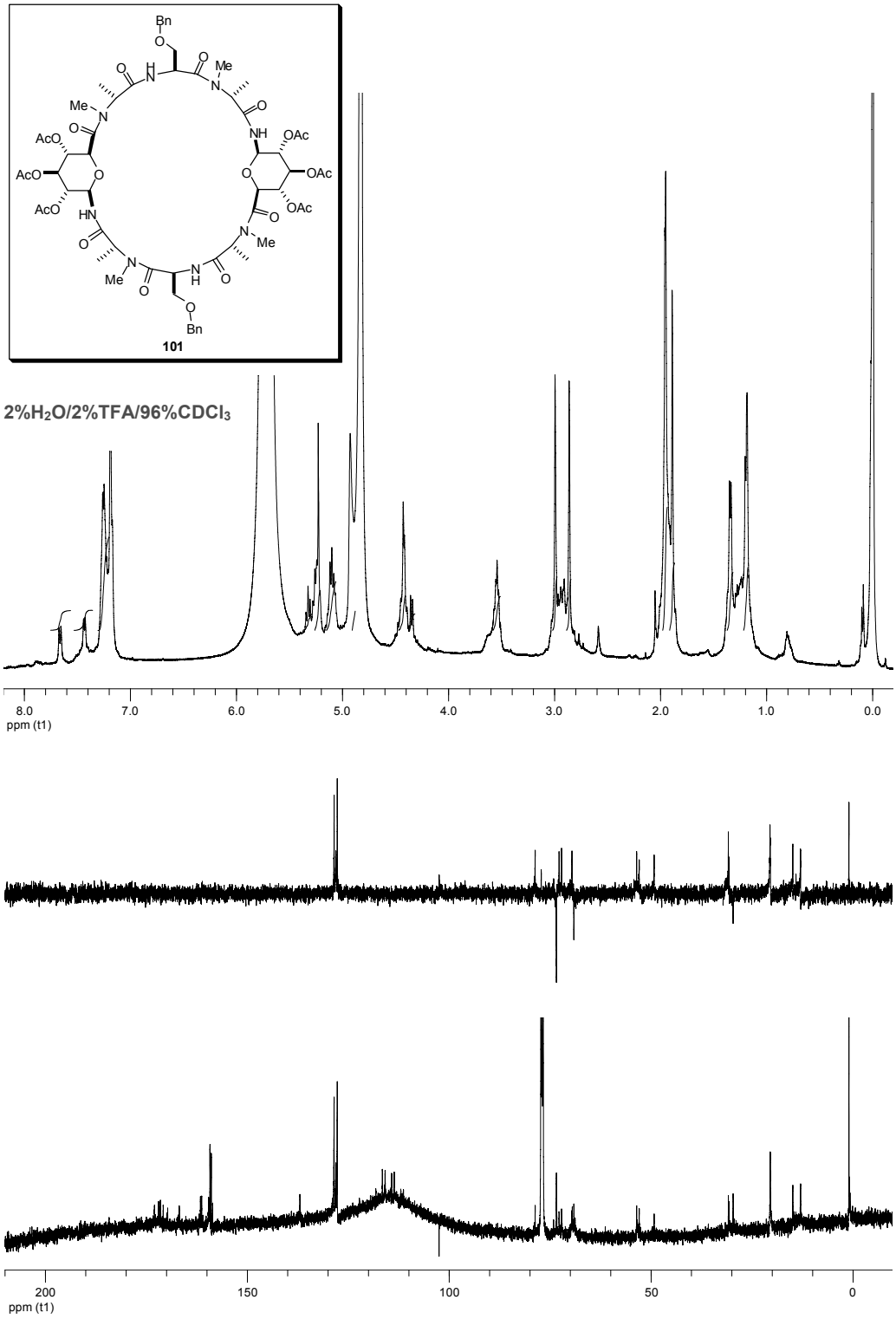

Me
O
N
HO
NH
O
HN
O
N
Me
Pn
Pn
Me
N
O
NH
O
HN
N
Zn
N
N
N
O
O
O
Me
O
Pn
96
5.0
0.0
ppm (t1)



97

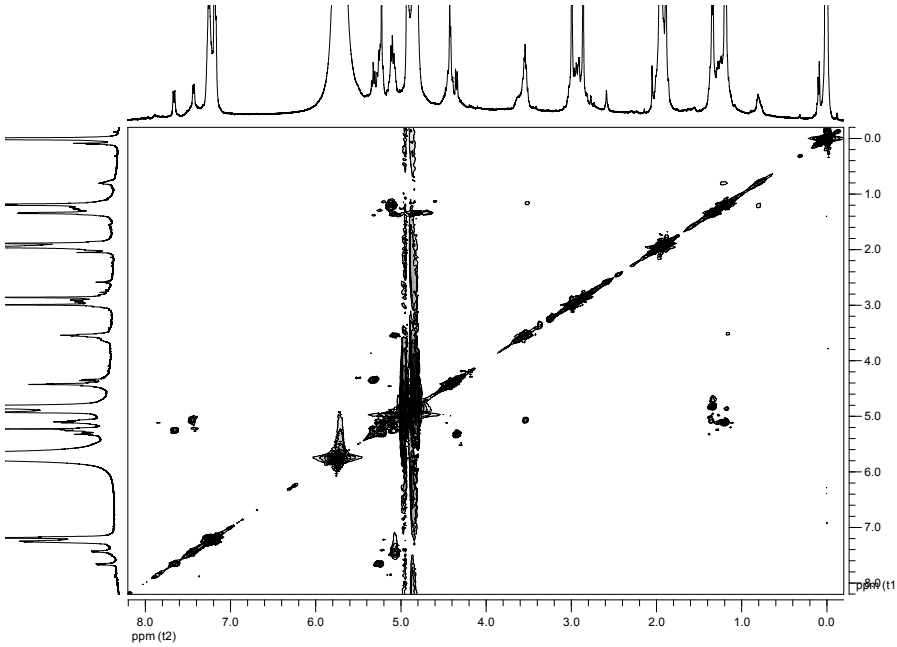


27.13.3. CICLOOCTAPÉPTIDOS DERIVADOS DEL ÁCIDO 2,3,4-TRI-*O*-ACETIL-1-AZIDO-1-DESOXI-β-*D*-GLUCOPIRANURÓNICO

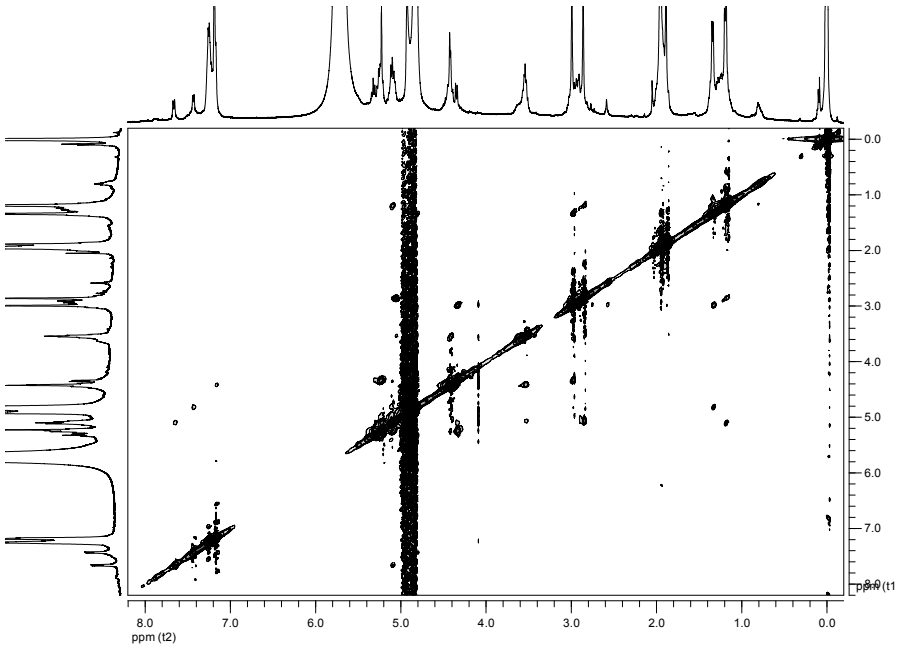


***ciclo*{[*L*-Ser(Bn)-*D*-^{Me}N-Ala-*D*-γ-Agl-*D*-^{Me}N-Ala]$_2$-} (101)**

1) COSY [18.91 mM, 2%H_2O/2% TFA/96% $CDCl_3$, 298 K (25 ºC), 500.13 MHz]



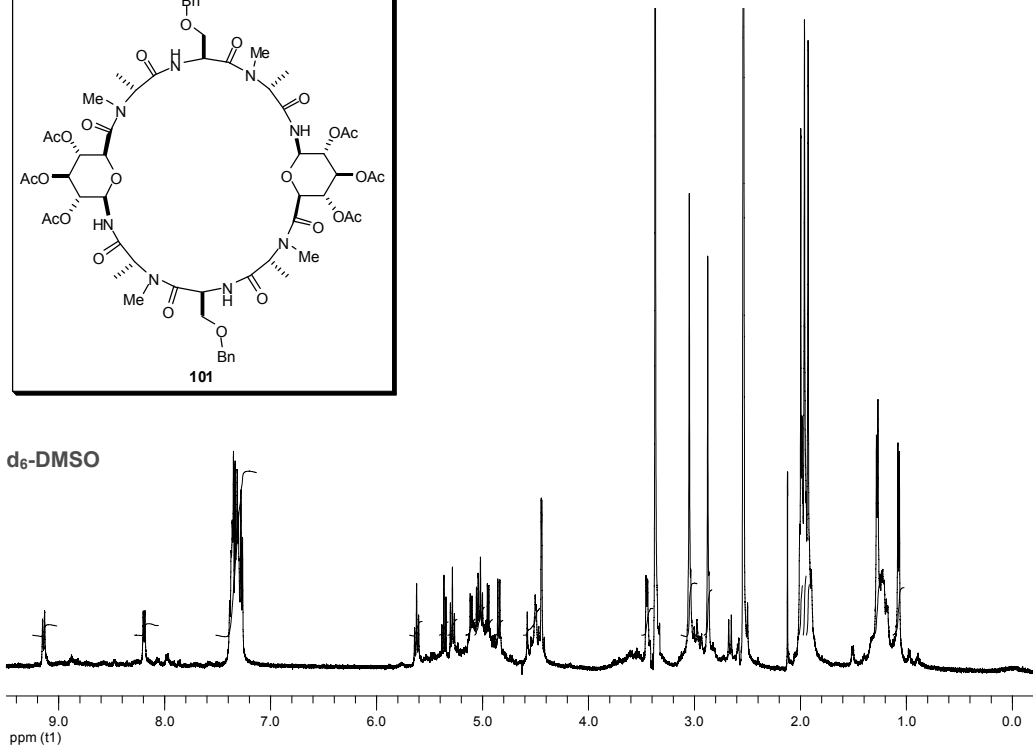
2) ROESY [18.91 mM, 2%H_2O/2% TFA/96% $CDCl_3$, 298 K (25 ºC), 500.13 MHz]



Bn
O
H
N
O
O
Me
N
Me
N
O
NH
OAc
AcO
AcO
O
OAc
AcO
OAc
HN
O
N
Me
O
N
Me
O
N
H
O
O
Bn

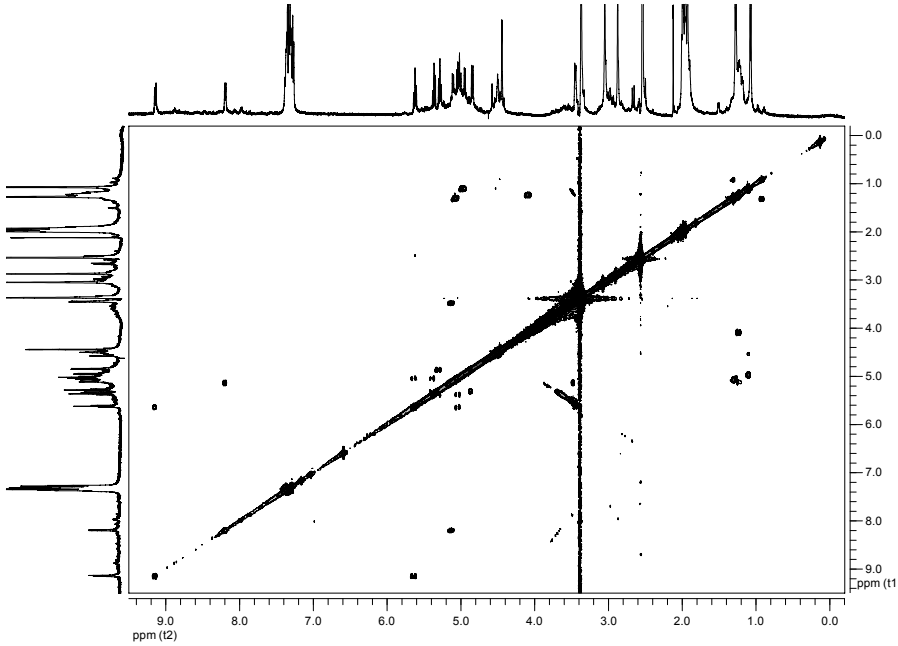
101

d_6-DMSO

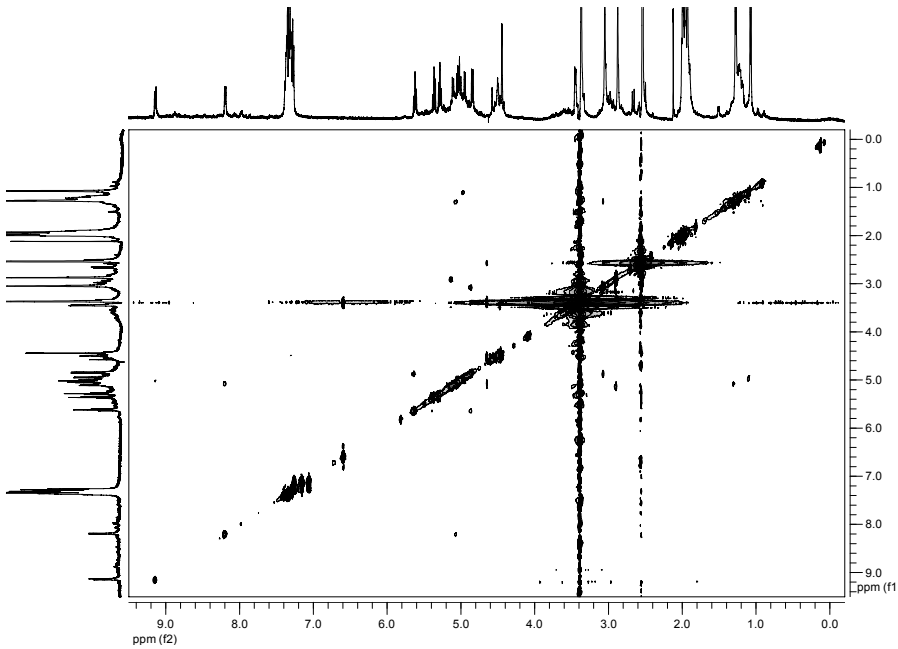

9.0
8.0
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
ppm (t1)

***ciclo*{[*L*-Ser(Bn)-*D*-^{Me}N-Ala-*D*-γ-Agl-*D*-^{Me}N-Ala]$_2$-} (101)**

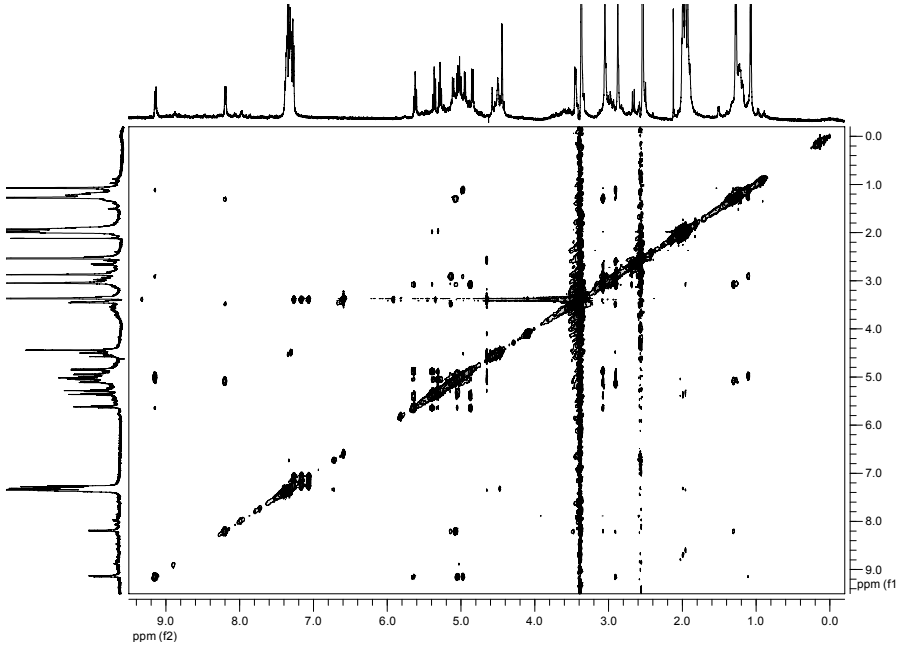
1) COSY [14.69 mM, d_6-DMSO, 298 K (25 ºC), 500.13 MHz]



2) ROESY [14.69 mM, d_6-DMSO, 298 K (25 ºC), 500.13 MHz]

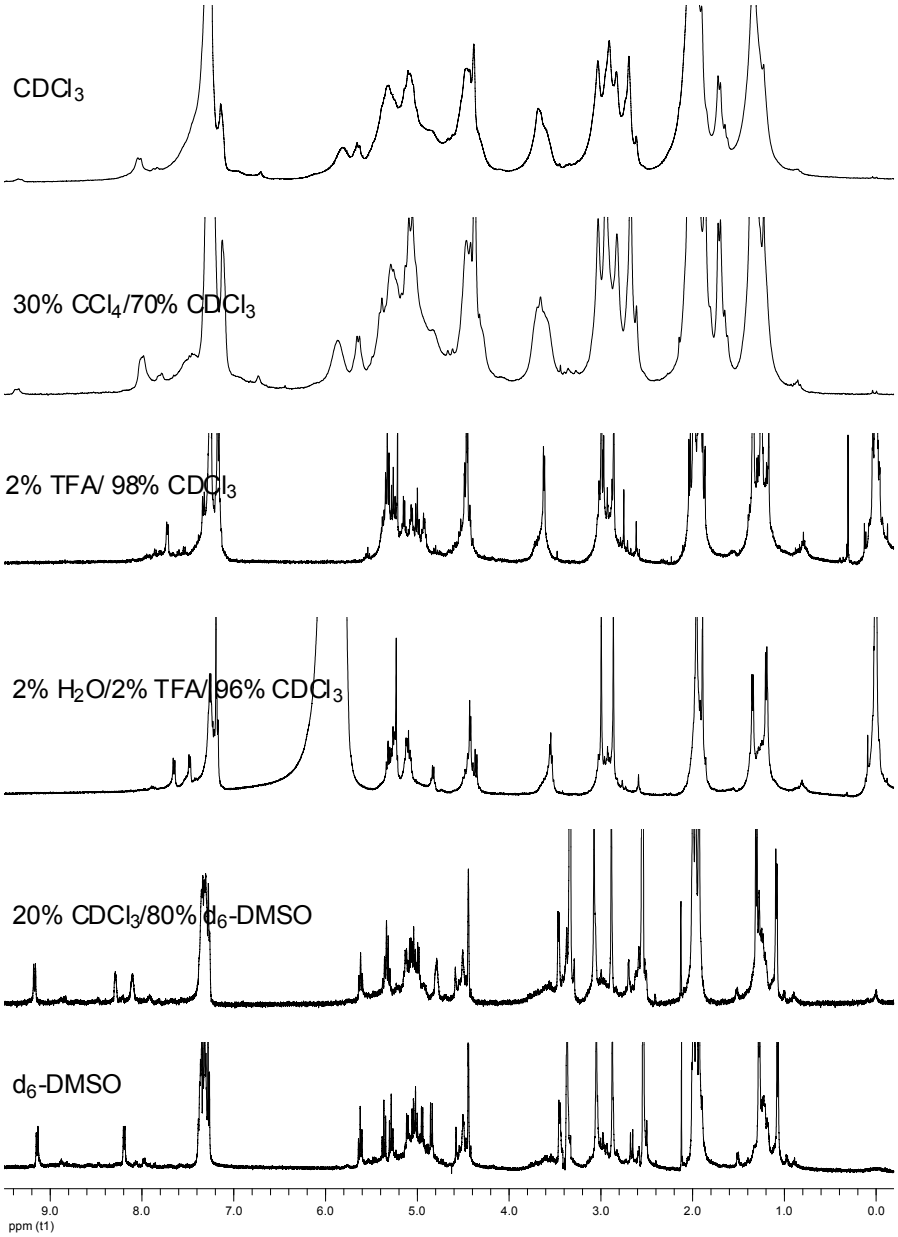


3) NOESY [14.69 mM, d_6-DMSO, 298 K (25 ºC), 500.13 MHz]

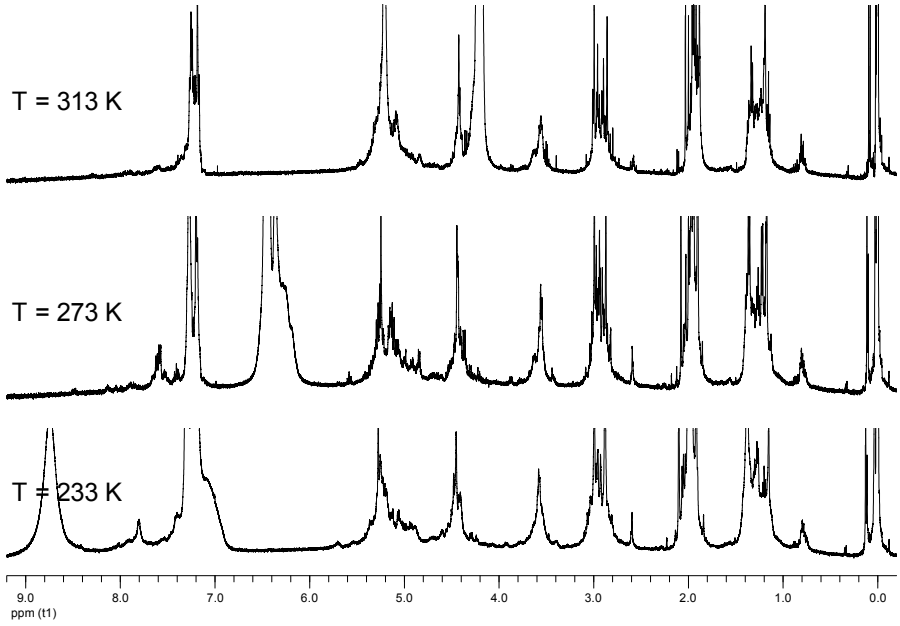


***ciclo*{[*L*-Ser(Bn)-*D*-^{Me}N-Ala-*D*-γ-Agl-*D*-^{Me}N-Ala]$_2$-} (101)**

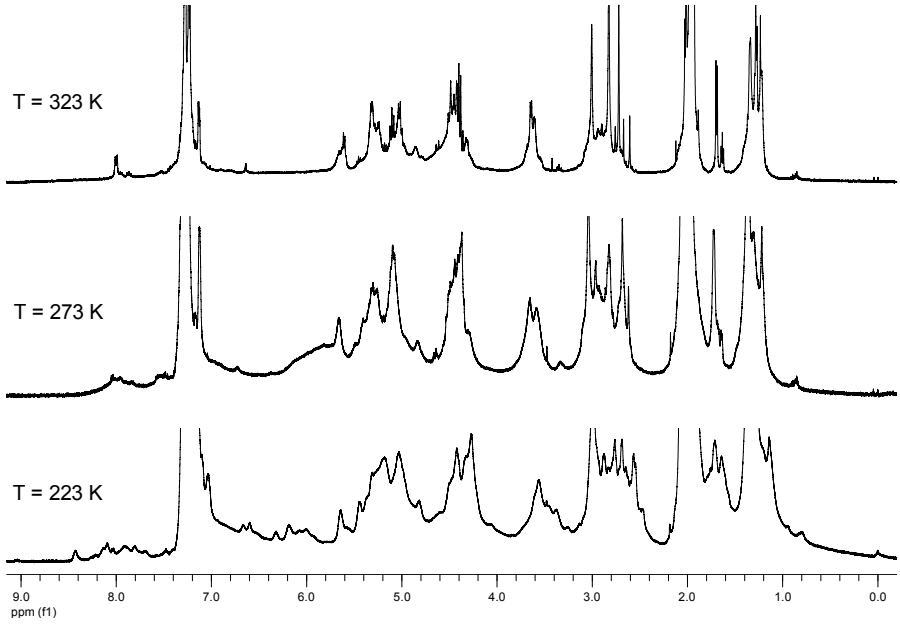
1) Variación de disolvente [298 K (25 ºC), 500.13 MHz]



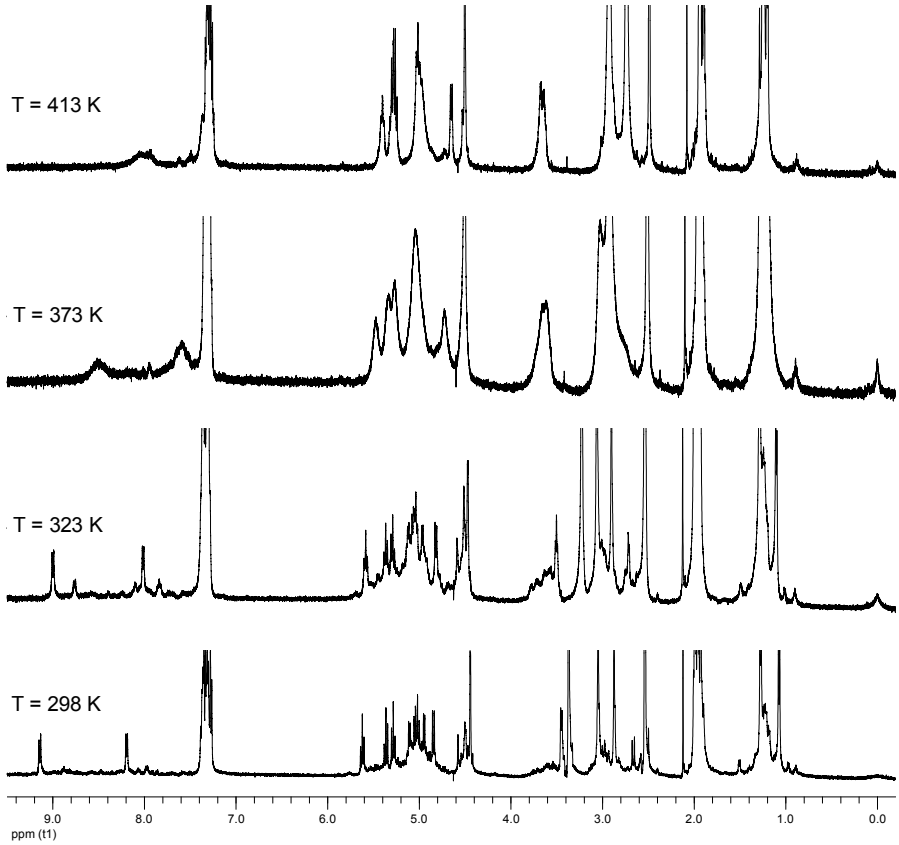
2) Variación de temperatura [18.91 mM, 2%H_2O/2% TFA/96% $CDCl_3$, 500.13 MHz]

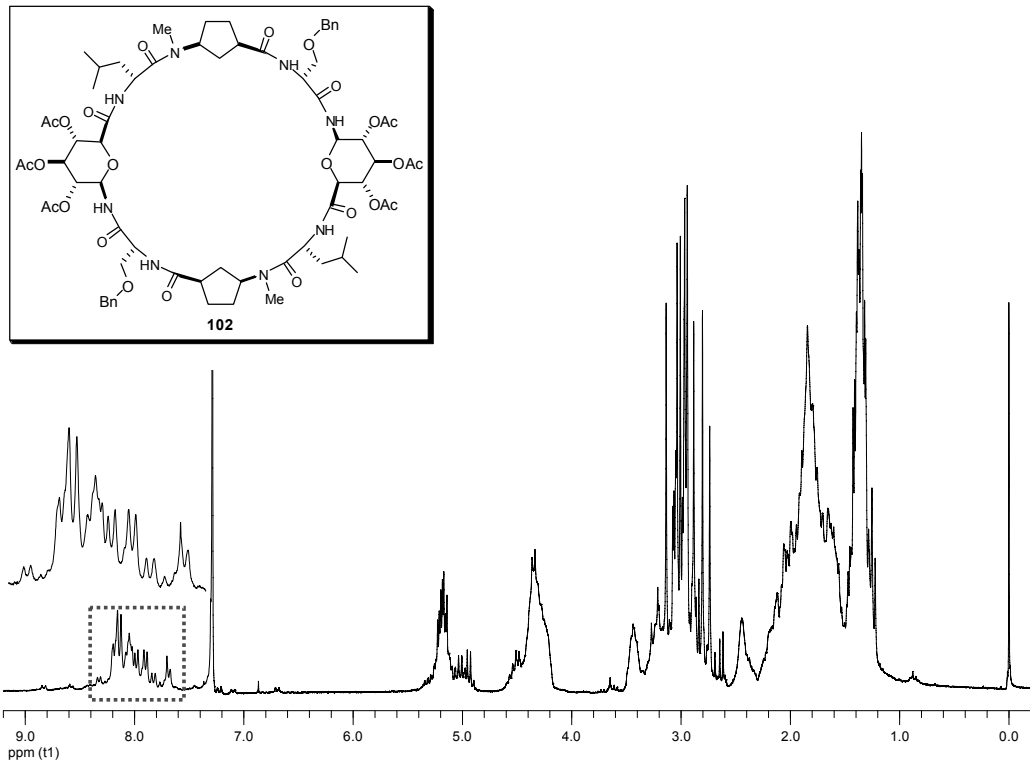


3) Variación de temperatura [28.24 mM, $CDCl_3$, 500.13 MHz]



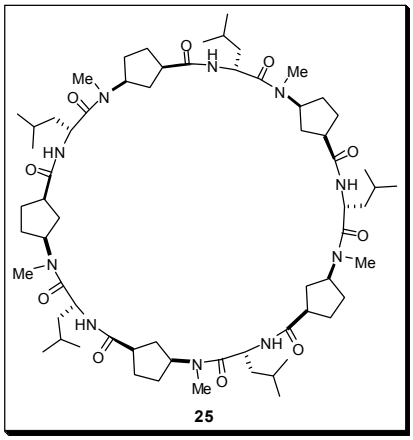
4) Variación de temperatura [14.69 mM, d_6-DMSO, 500.13 MHz]



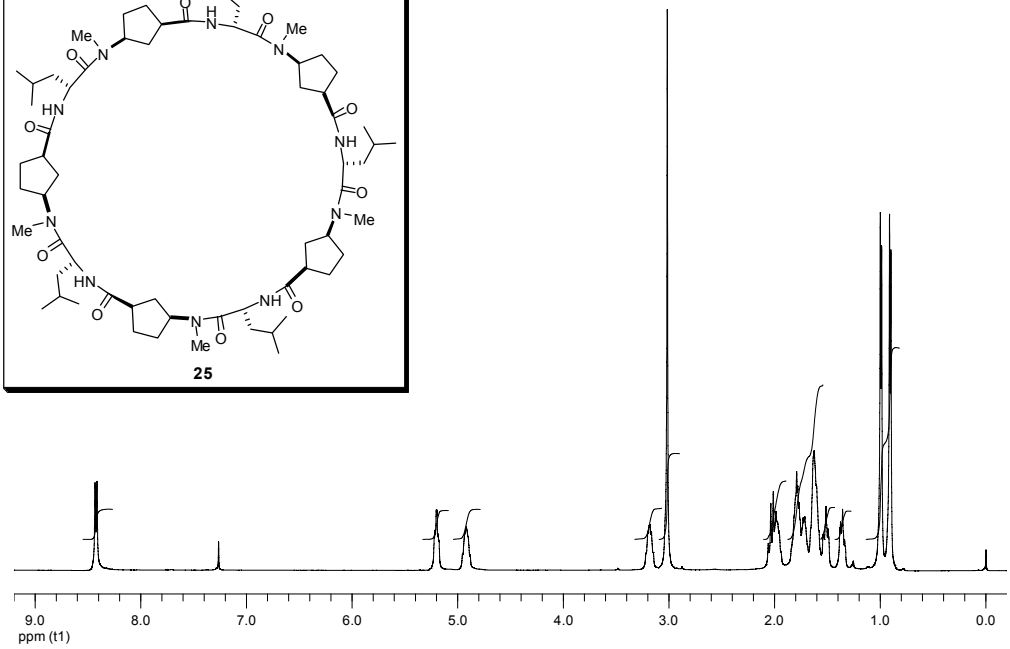

Me
N
O
Bn
O
NH
HN
AcO
OAc
AcO
O
OAc
AcO
HN
OAc
NH
HN
N
Me
Bn
102
9.0
8.0
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
ppm (t1)

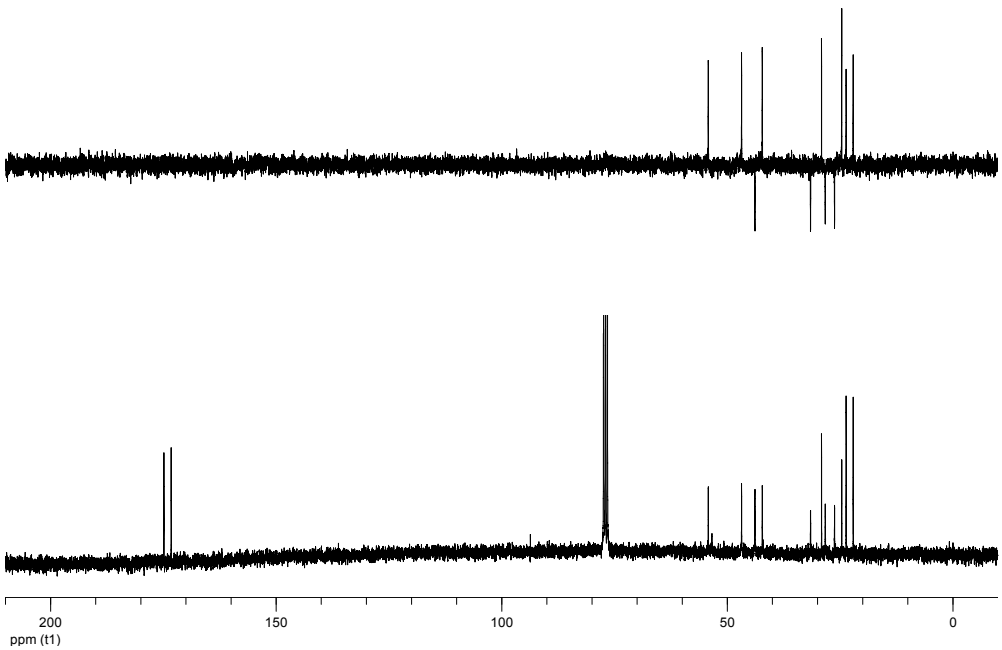
27.14. CICLODECAPÉPTIDOS

27.14.1. CICLODECAPÉPTIDOS DERIVADOS DEL ÁCIDO 3-AMINOCICLOPENTANOCARBOXÍLICO



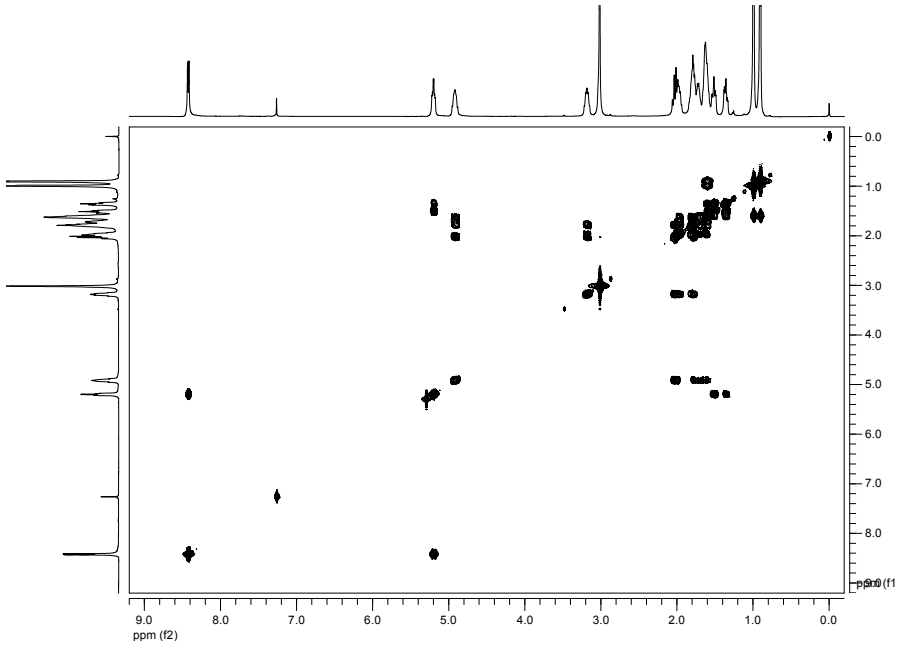
25



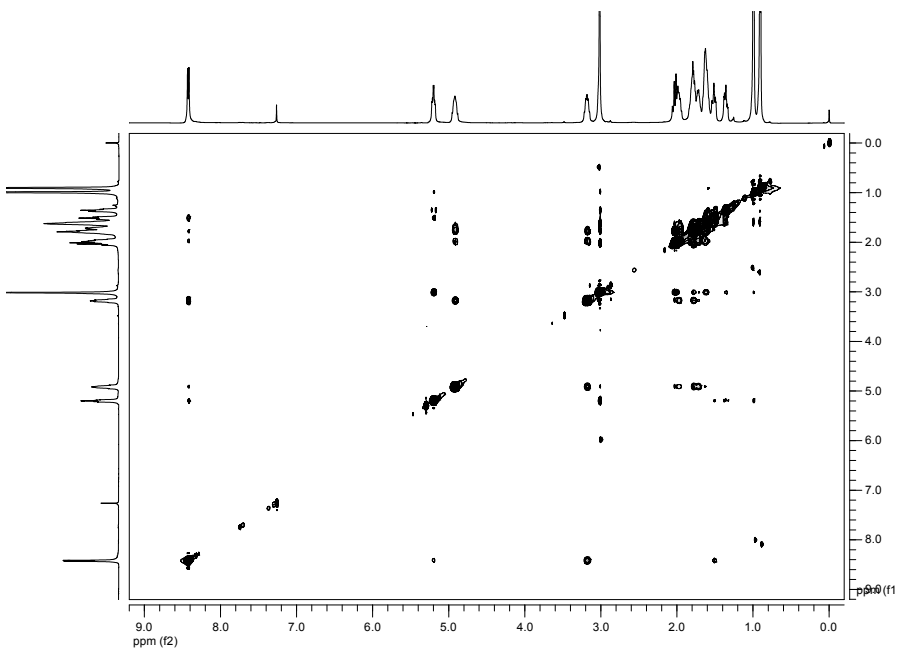


***ciclo*[(*D*-Leu-*L*-^{Me}N-γ-Acp)$_5$-] (25)**

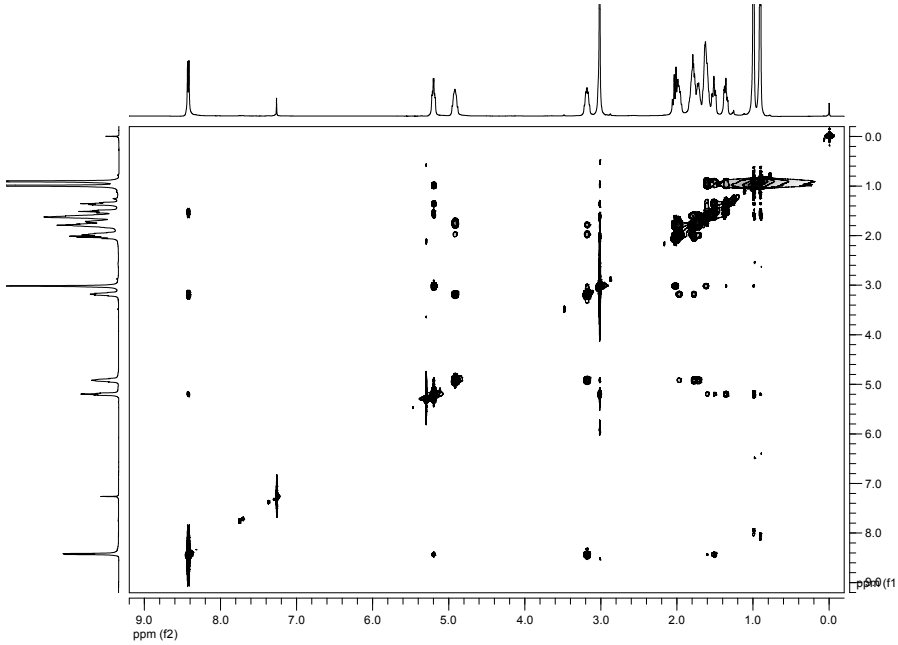
1) COSY [13.17 mM, $CDCl_3$, 298 K (25 ºC), 500.13 MHz]



2) NOESY [13.17 mM, $CDCl_3$, 298 K (25 ºC), 500.13 MHz]

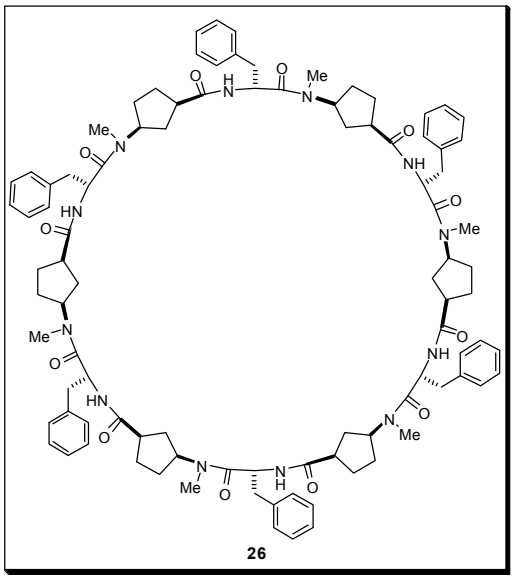


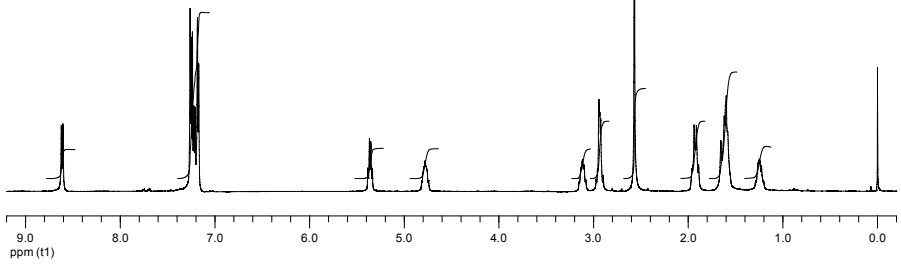
3) ROESY [13.17 mM, $CDCl_3$, 298 K (25 ºC), 500.13 MHz]

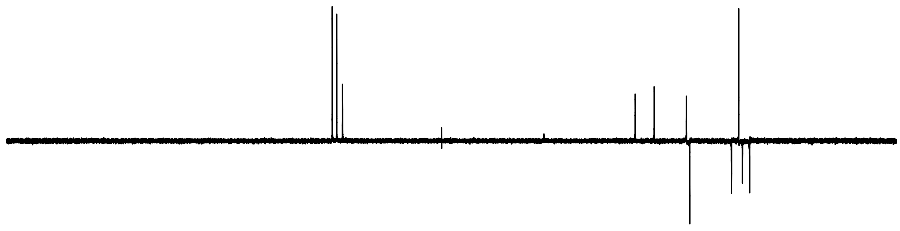


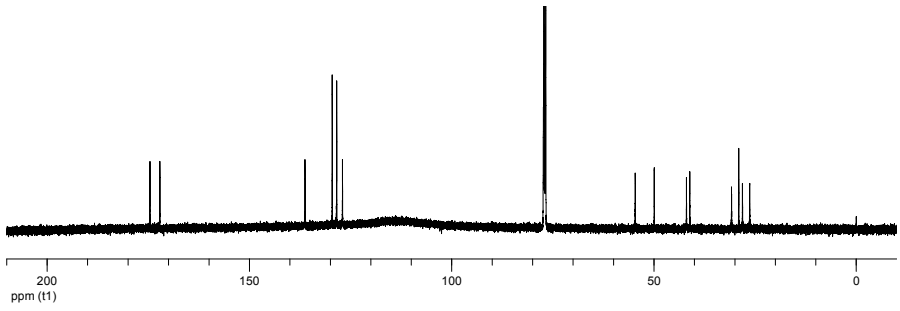
27.15. CICLODODECAPÉPTIDOS

27.15.1. CICLODODECAPÉPTIDOS DERIVADOS DEL ÁCIDO 3-AMINOCICLOPENTANOCARBOXÍLICO



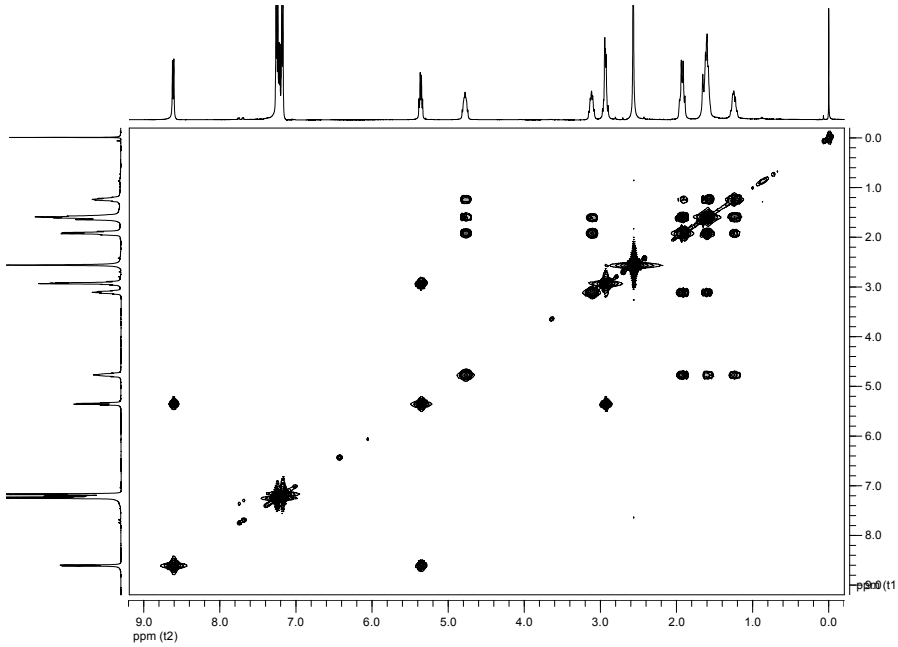




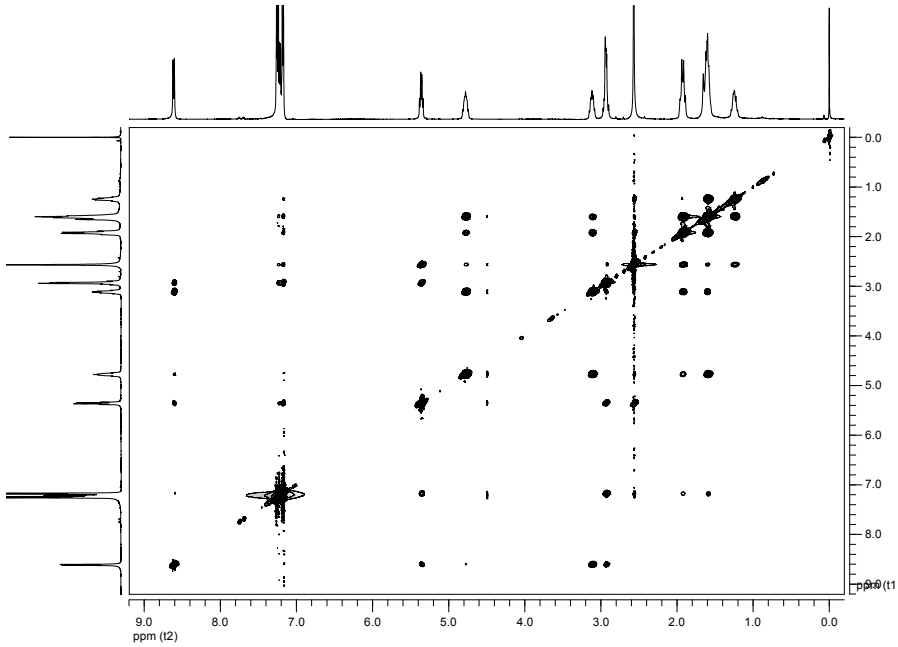


***ciclo*[(*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Acp)$_6$-] (26)**

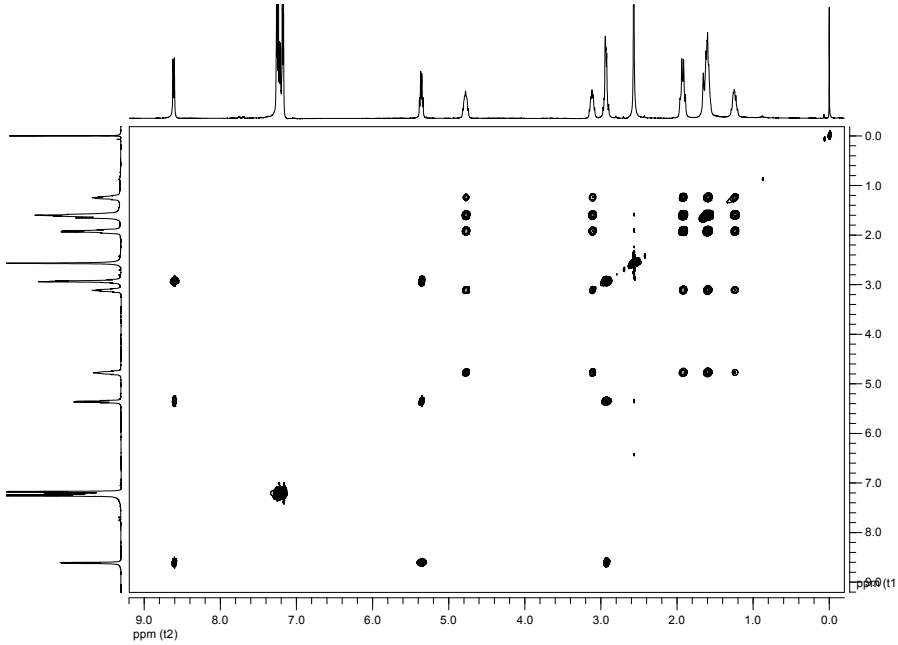
1) COSY [15.32 mM, $CDCl_3$, 298 K (25 ºC), 500.13 MHz]

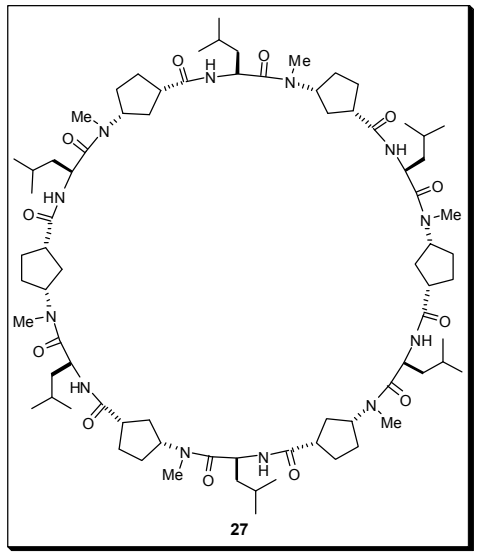


2) ROESY [15.32 mM, $CDCl_3$, 298 K (25 ºC), 500.13 MHz]

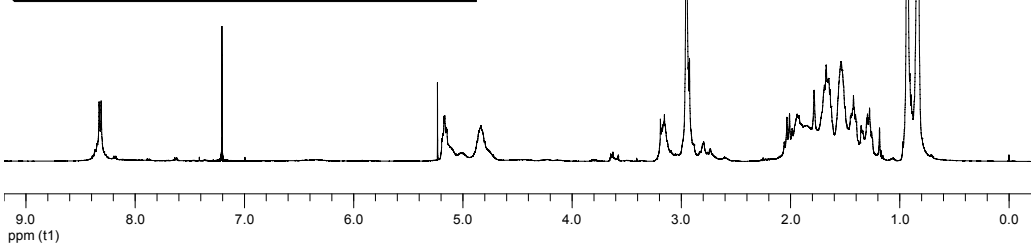


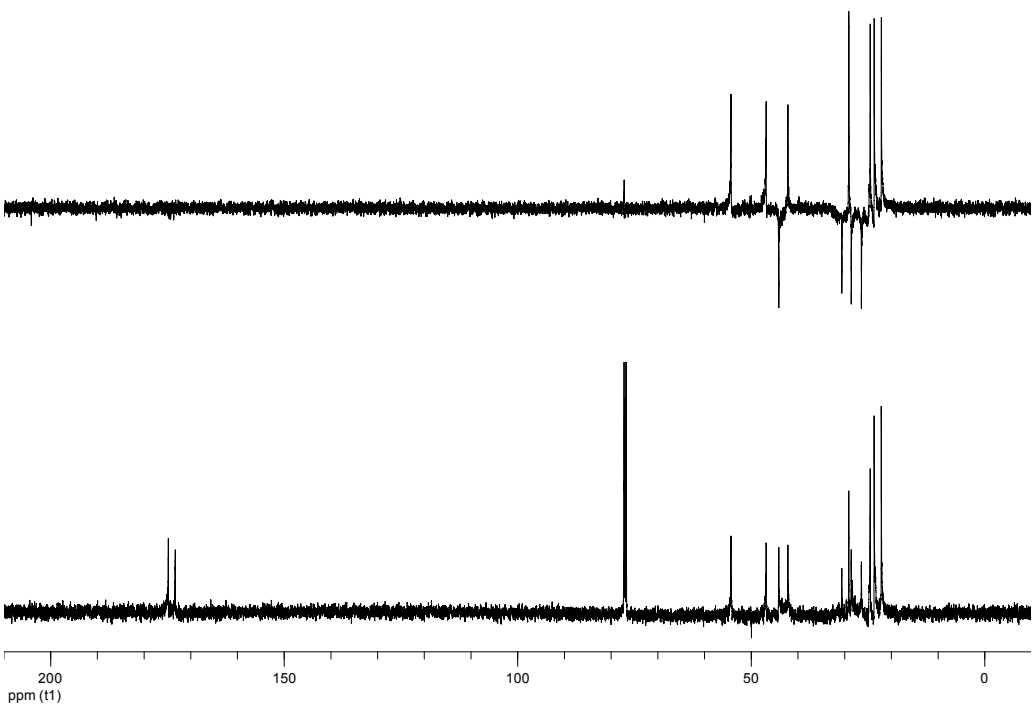
3) TOCSY [15.32 mM, $CDCl_3$, 298 K (25 ºC), 500.13 MHz]





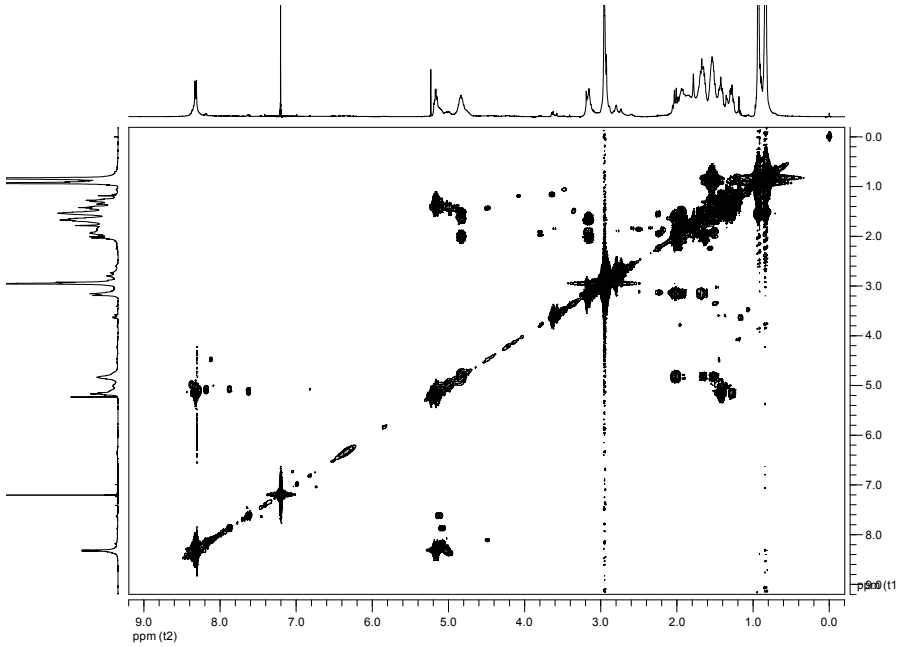
27



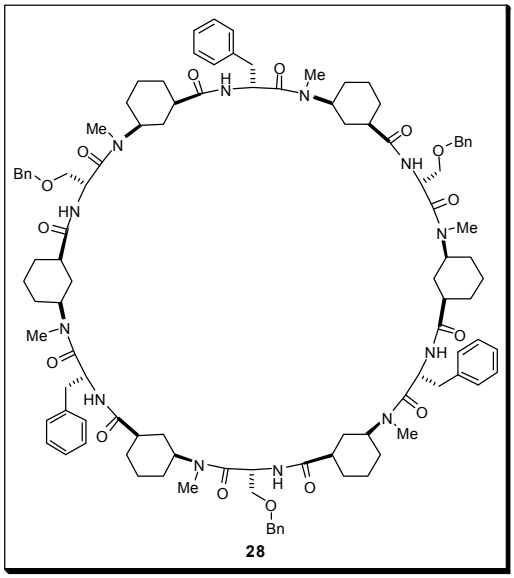


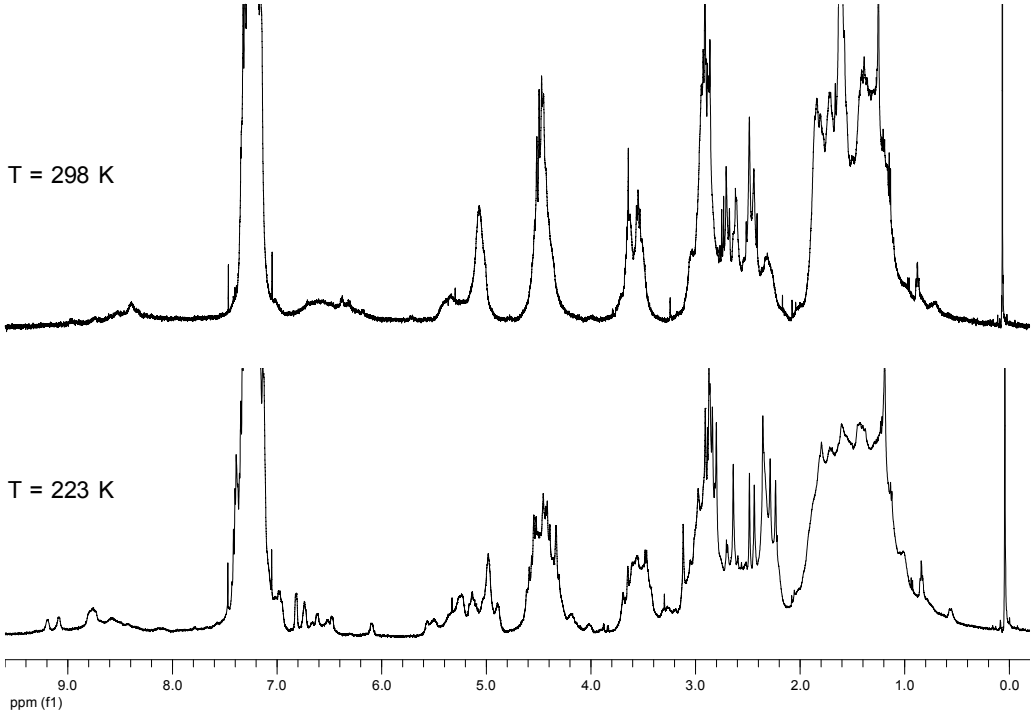
***ciclo*[(*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp)$_6$-] (27)**

1) COSY [19.46 mM, $CDCl_3$, 298 K (25 ºC), 500.13 MHz]



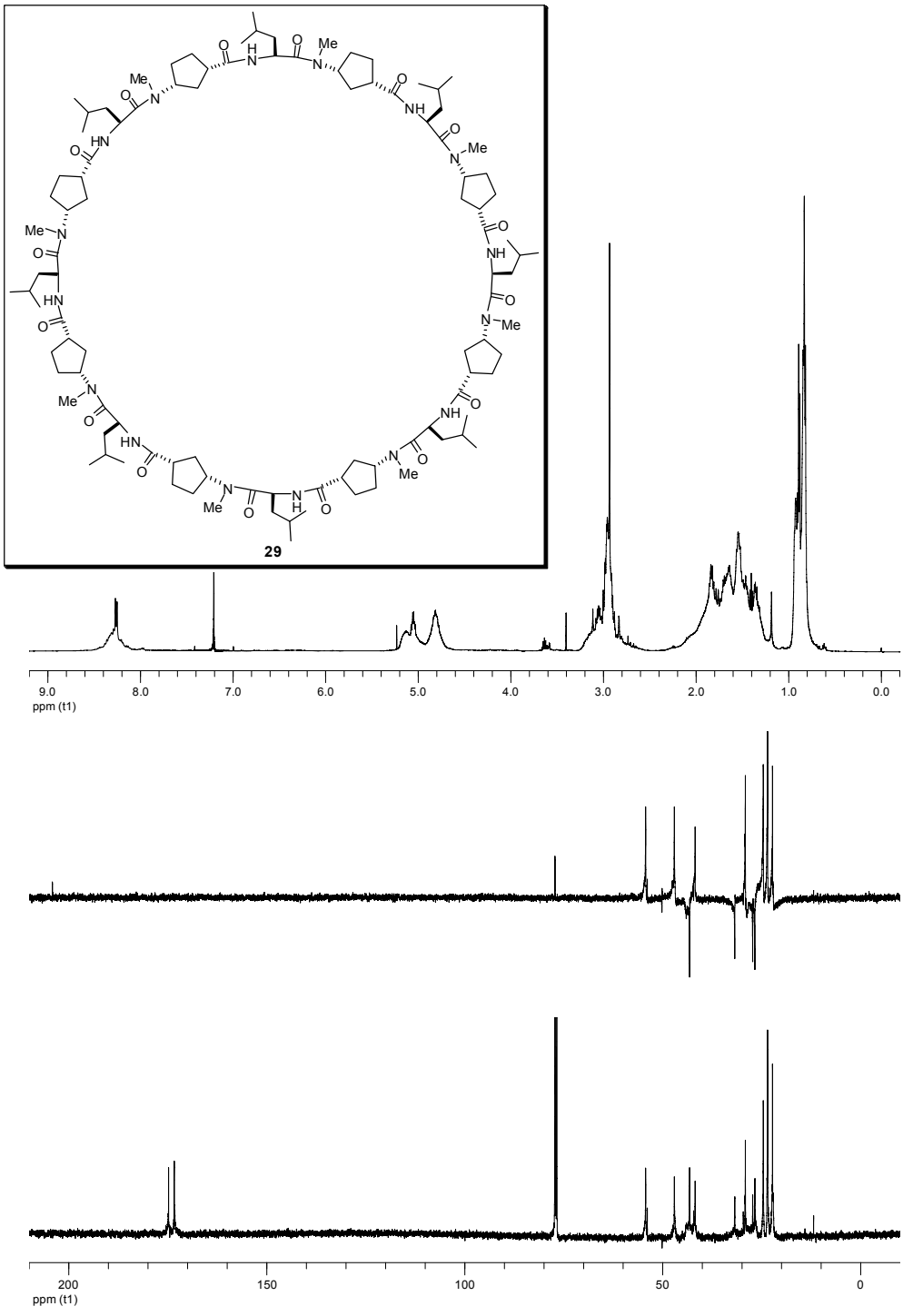
27.15.2. CICLODODECAPÉPTIDOS DERIVADOS DEL ÁCIDO 3-AMINOCICLOHEXANOCARBOXÍLICO





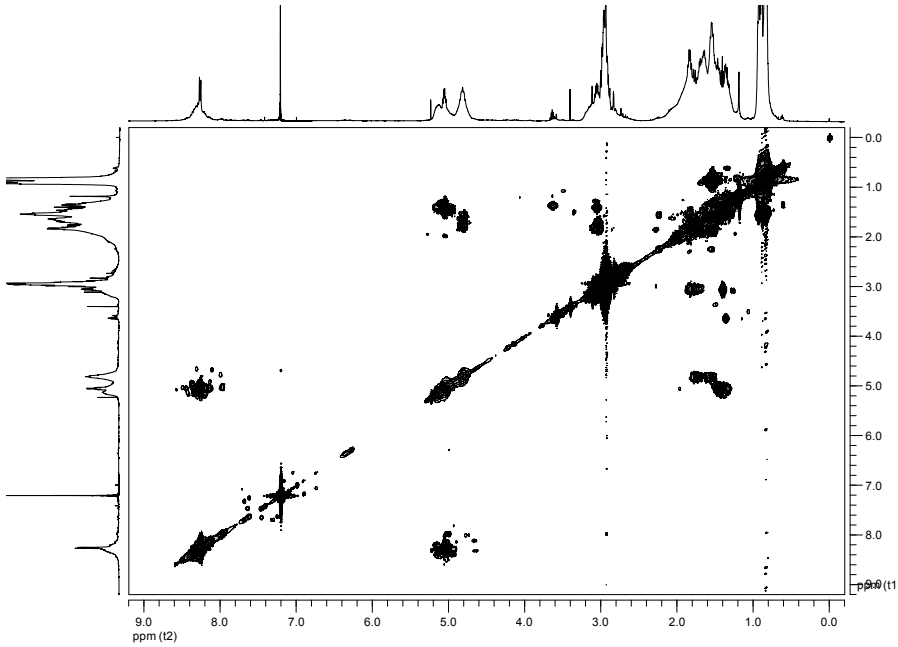
27.16. CICLOHEXADECAPÉPTIDOS

27.16.1. CICLOHEXADECAPÉPTIDOS DERIVADOS DEL ÁCIDO 3-AMINOCICLO-PENTANOCARBOXÍLICO



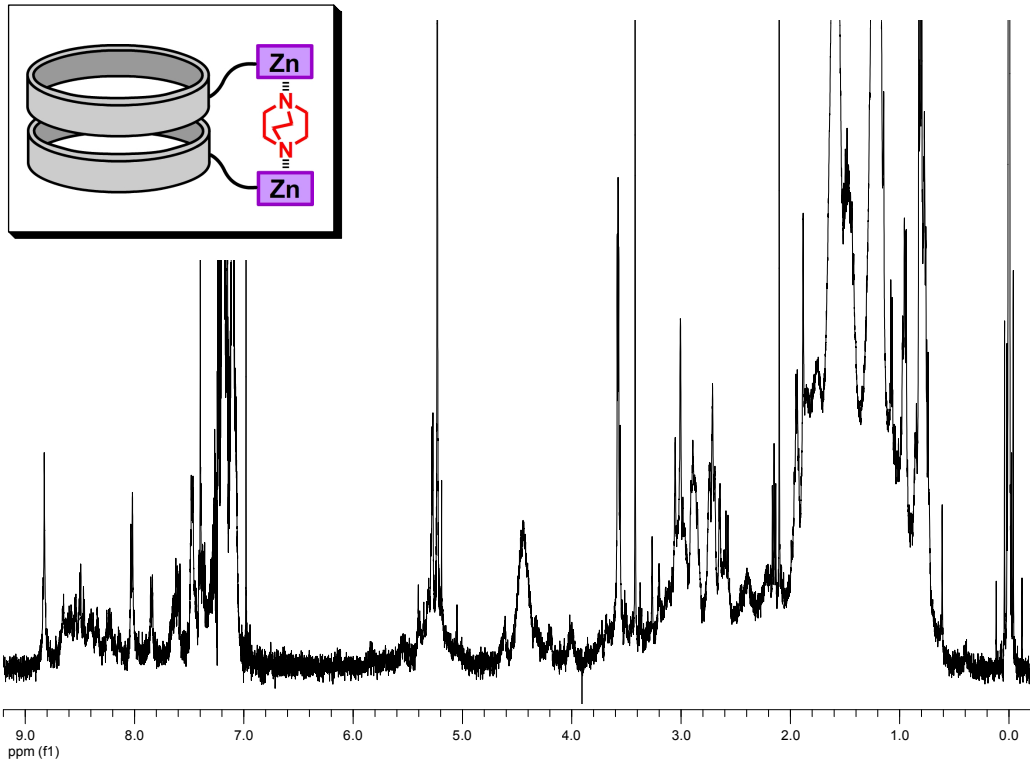
***ciclo*[(*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp)$_8$-] (29)**

1) COSY [18.28 mM, $CDCl_3$, 298 K (25 ºC), 500.13 MHz]

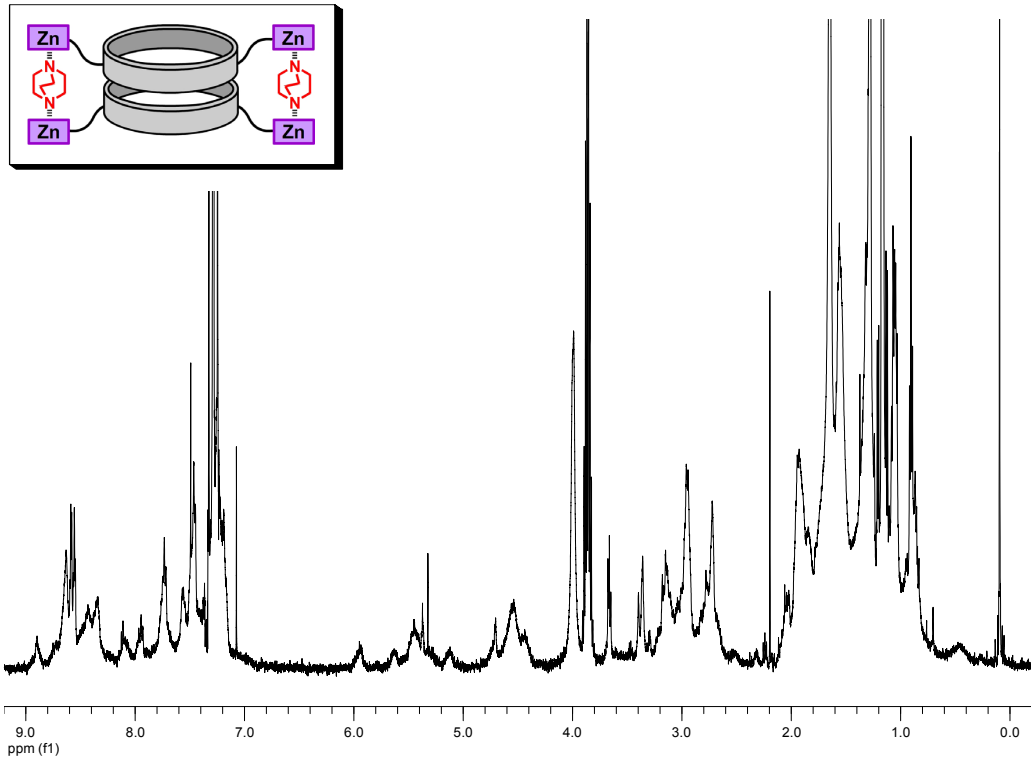


27.17. DÍMEROS COORDINADOS METÁLICAMENTE

27.17.1. COMPLEJO 1:1 SÁNDWICH DABCO⊂D_{96}



27.17.2.COMPLEJO 2:1 SÁNDWICH DABCO⊂D_{97}



27.18. TABLAS RESUMEN

Tabla 1. Estudio espectroscópico de RMN en $CDCl_3$ (25 ºC) de diversos ciclopéptidos *D*,*L*- o *L*,*D*-alternantes de fórmula molecular *ciclo*[(Leu-^{Me}N-γ-Acp)$_n$-] (n = 2, 3, 4, 5, 6, 8) que se autoensamblan para dar lugar a las correspondientes estructuras homodiméricas, en donde se muestran los desplazamientos químicos de las señales de NH_{Leu}, $H\alpha_{Leu}$ y $H\gamma_{Acp}$, así como los valores correspondientes de las constantes de acoplamiento ($J_{NH,\ H\alpha}$) [**CT**: ciclotetrapéptido; **CHP**: ciclohexapéptido; **COP**: ciclooctapéptido; **CDP**: ciclodecapéptido; **CDDP**: ciclododecapéptido; **CDDP**: ciclohexadecapéptido].

Ciclopéptido	δ NH_{Leu} [a]	δ $H\alpha_{Leu}$	δ $H\gamma_{Acp}$	$J_{NH,\ H\alpha}$ [b]
CTP 23	6.83	5.05	4.47	9.4
CHP 20	8.23	5.18	4.80	9.4
COP 21	8.33	5.16	4.84	9.5
CDP 25	8.42	5.20	4.92	9.1
CDDP 27	8.32	5.17	4.84	9.1
CHDP 29	8.26	5.05	4.81	9.0

[a] Desplazamientos químicos expresados en ppm

[b] Constantes de acoplamiento expresadas en Hz

28.FORMACIÓN DE HETERODÍMEROS CICLOPEPTÍDICOS

28.1. GENERAL

La preparación de los heterodímeros se llevó a cabo mediante experimentos de adición controlada de un ciclopéptido (generalmente formado por γ-Ach) sobre otro ciclopéptido (generalmente formado por γ-Acp), lo que permite observar la aparición de señales características del heterodímero resultante mediante espectroscopia de RMN.

Los espectros de ^{1}H RMN se registraron en los espectrómetros *Bruker AMX-500* (500.13 MHz) y *Varian Inova-750* (750.13 MHz). Los desplazamientos químicos están dados en partes por millón (ppm, δ) respecto a la señal de TMS, que es lo que se emplea como referencia interna. Todos los espectros, salvo que se especifique lo contrario, se llevaron a cabo a 25 ºC.

Las señales de los espectros de ^{1}H RMN de los α,γ-ciclopéptidos fueron asignadas a partir de los correspondientes experimentos bidimensionales 2D COSY (2QF-COSY), TOCSY, NOESY y ROESY adquiridos a la concentración y temperatura indicada. Los tiempos de mezcla (~250 ms o 400 ms) no fueron optimizados. Los espectros fueron típicamente registrados empleando secuencias de pulsos estándar de *Bruker* en aparatos de 500 MHz, siendo referenciados respecto a las resonancias residuales de protón en $CDCl_3$ (a 7.26 ppm).

28.2. HETERODÍMEROS CICLOHEXAPEPTÍDICOS

28.2.1. HETERODÍMERO CICLOHEXAPEPTÍDICO Acp/Ach $D_{20/32}$

Adición de **20** (disolución 2.10 mM en $CDCl_3$) a **32** (disolución 2.10 mM en $CDCl_3$)

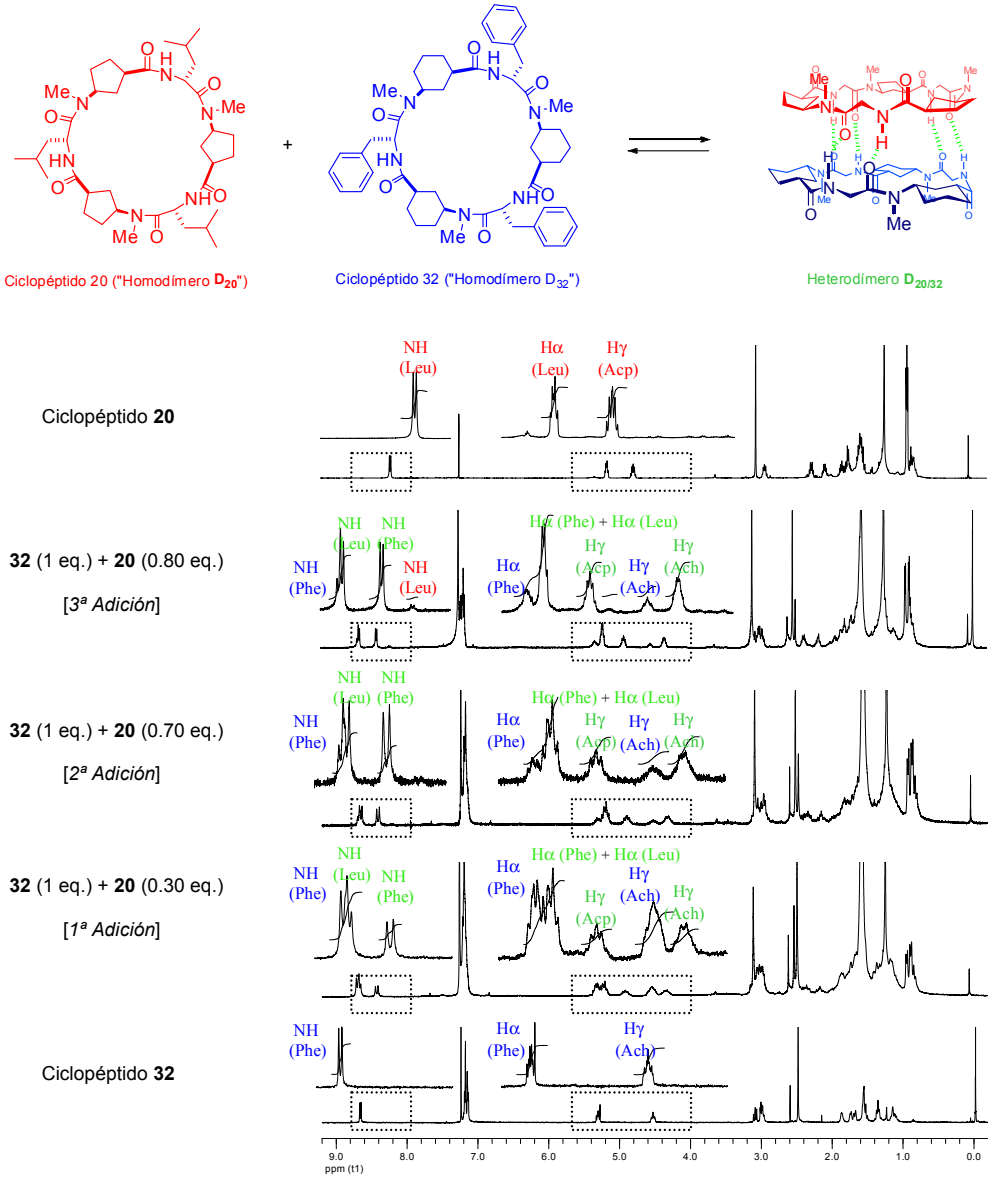
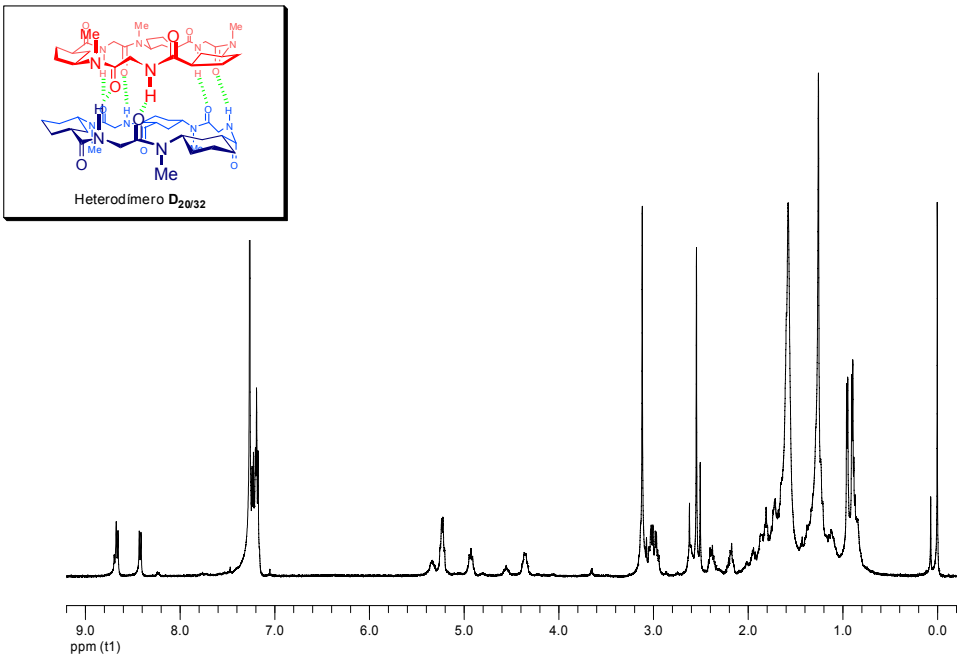


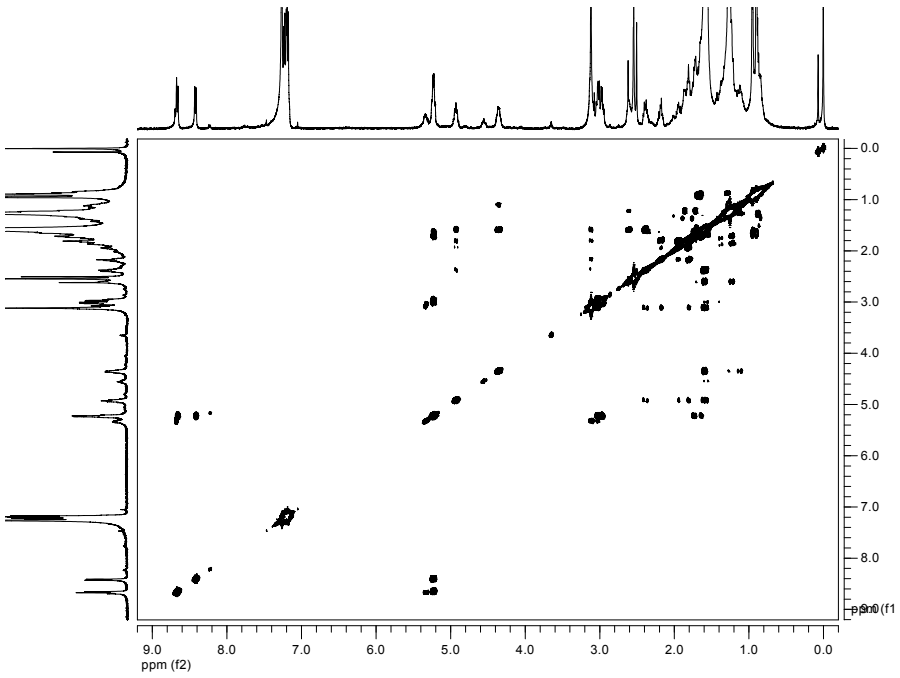
Figura 1. Espectros de ^{1}H RMN correspondientes a la formación del heterodímero **$D_{20/32}$** mediante adición de diferentes equivalentes (0.30, 0.70 y 0.80 eq.) de **20** a una disolución 2.10 mM de **32** (298 K, $CDCl_3$). Las señales en rojo corresponden al homodímero **D_{20}**, las señales en azul corresponden al homodímero **D_{32}** y las señales en verde corresponden al heterodímero **$D_{20/32}$**.

Heterodímero $D_{20/32}$

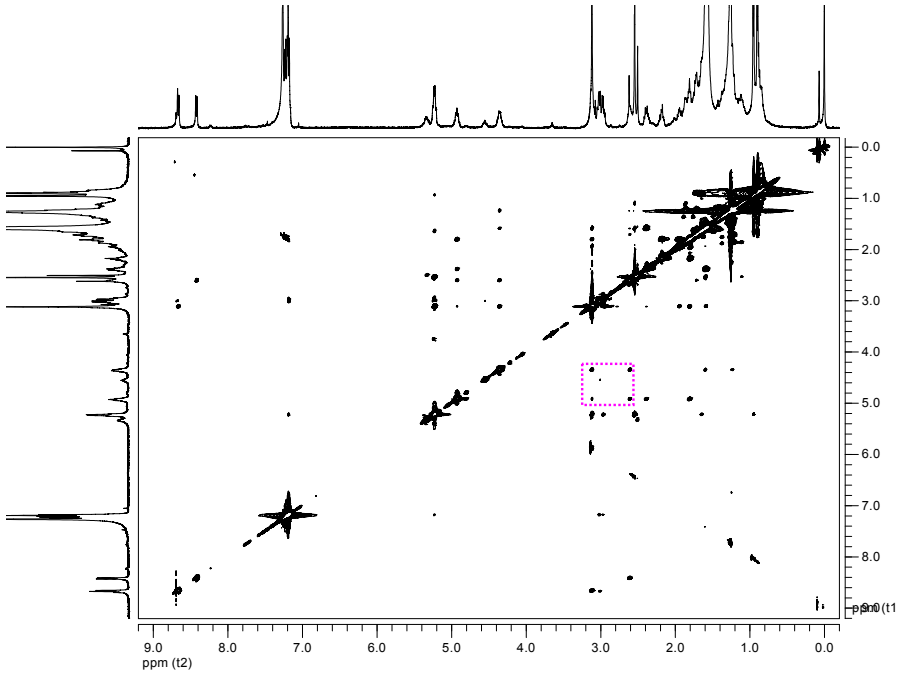
1) ^{1}H RMN [*3ª Adición*. $CDCl_3$, 298 K (25 º C), 500.13 MHz]

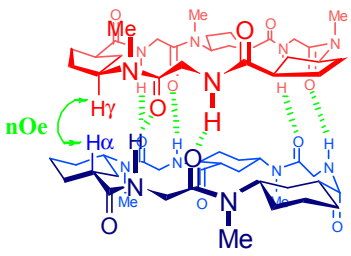


2) COSY [*3ª Adición*, $CDCl_3$, 298 K (25 º C), 500.13 MHz]



3) ROESY [*3ª Adición*, $CDCl_3$, 298 K (25 º C), 500.13 MHz]





Hα (Acp) Heterodímero **$D_{20/32}$**

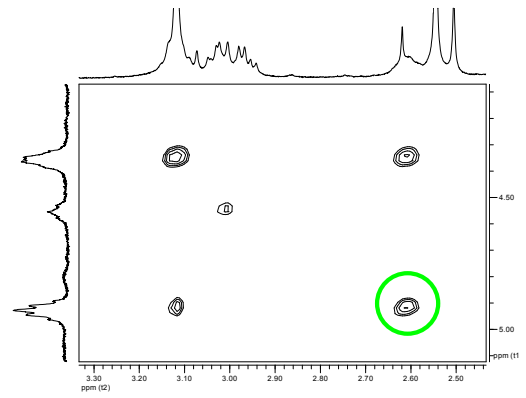
Hα (Ach) Homodímero **D_{32}**

Hα (Ach) Heterodímero **$D_{20/32}$**

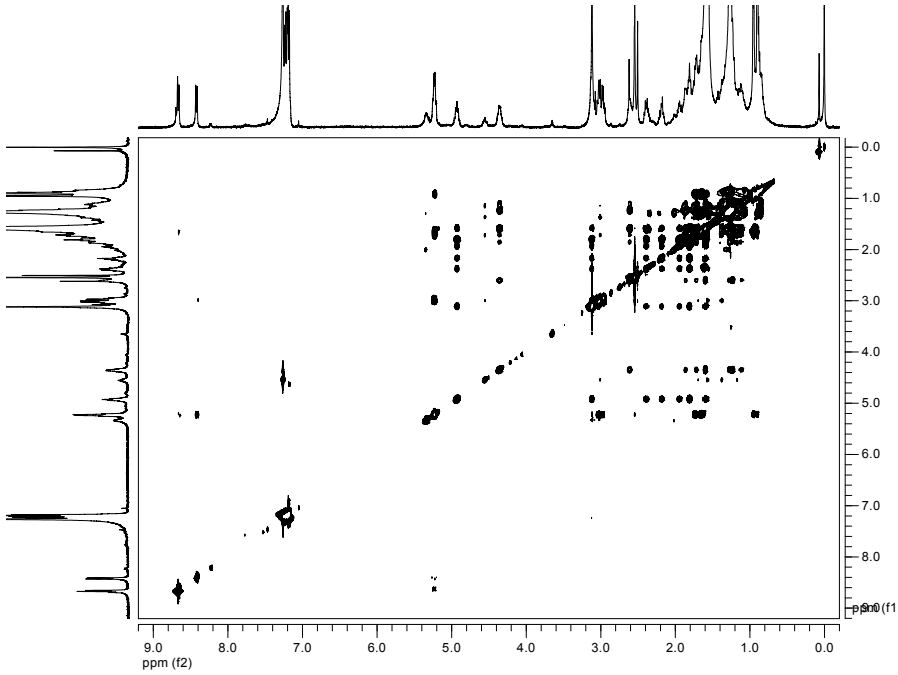
Hγ (Ach) Heterodímero **$D_{20/32}$**

Hγ (Ach) Homodímero **D_{32}**

Hγ (Acp) Heterodímero **$D_{20/32}$**



4) TOCSY [*3ª Adición*, $CDCl_3$, 298 K (25 º C), 500.13 MHz]



28.2.2. HETERODÍMERO CICLOHEXAPEPTÍDICO Acp/Acp $D_{20/33}$

Adición de **20** (disolución 1.96 mM en $CDCl_3$) a **33** (disolución 1.96 mM en $CDCl_3$)

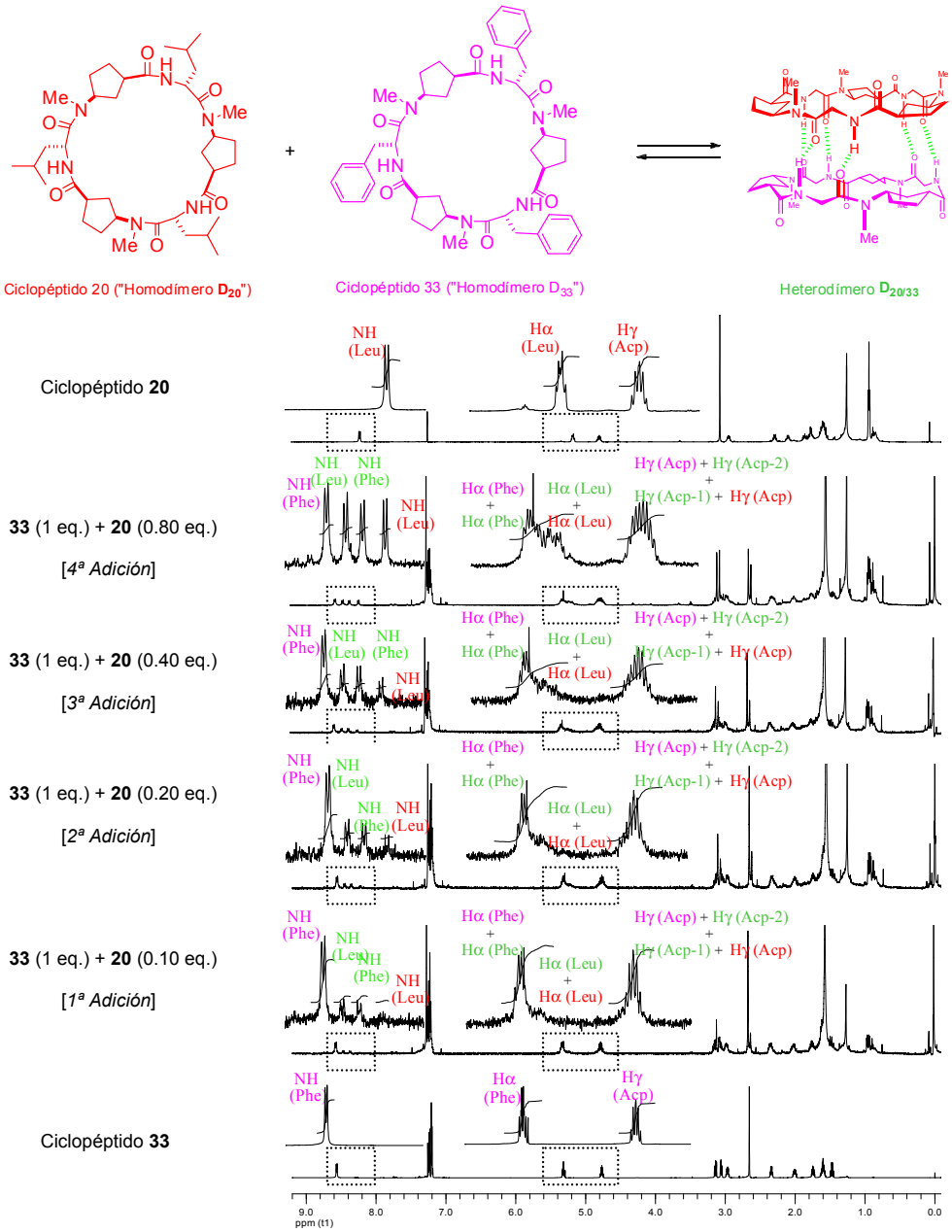
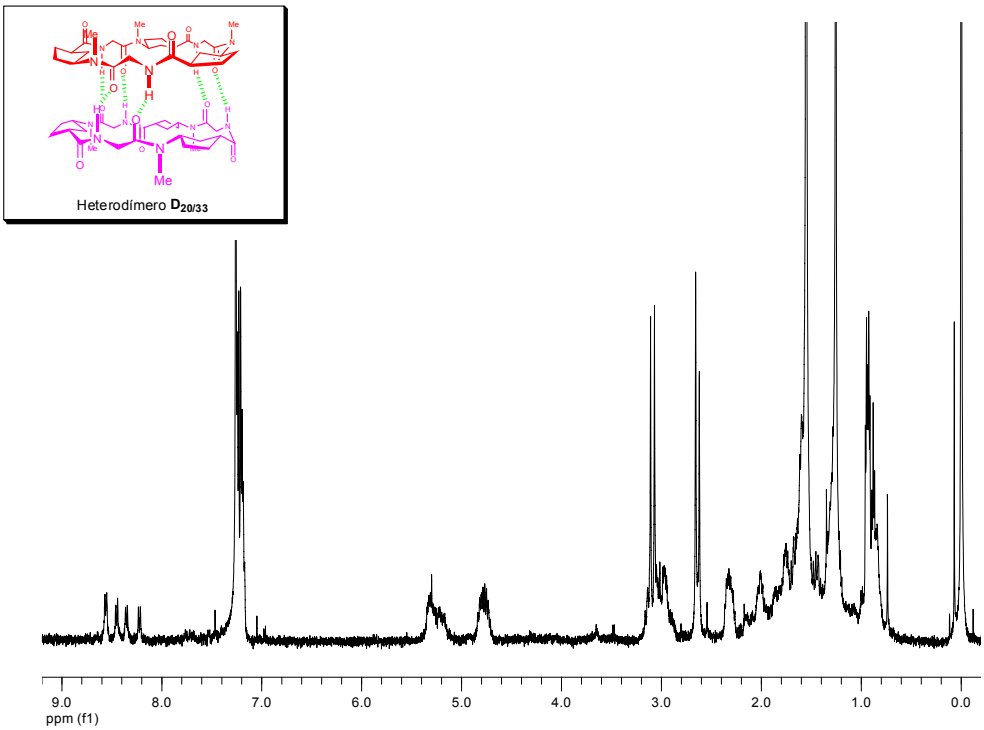


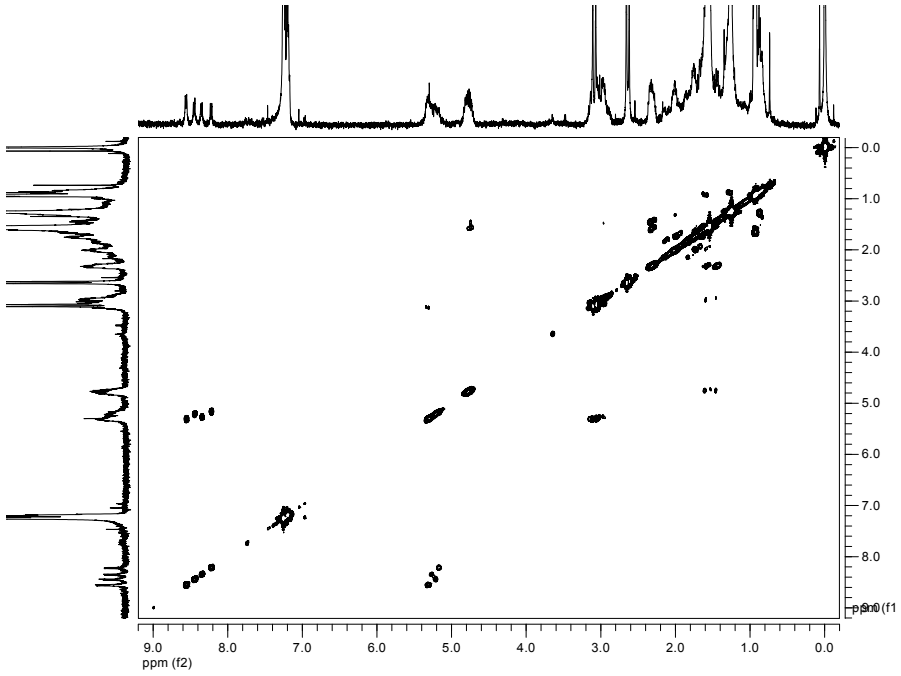
Figura 3. Espectros de ^{1}H RMN correspondientes a la formación del heterodímero **$D_{20/33}$** mediante adición de diferentes equivalentes (0.10, 0.20, 0.40 y 0.80 eq.) de **20** a una disolución 1.96 mM de **33** (298 K, $CDCl_3$). Las señales en rojo corresponden al homodímero **D_{20}**, las señales en fucsia corresponden al homodímero **D_{33}** y las señales en verde corresponden al heterodímero **$D_{20/33}$**(Acp-1: Acp de **20**; Acp-2: Acp de **33**).

Heterodímero $D_{20/33}$

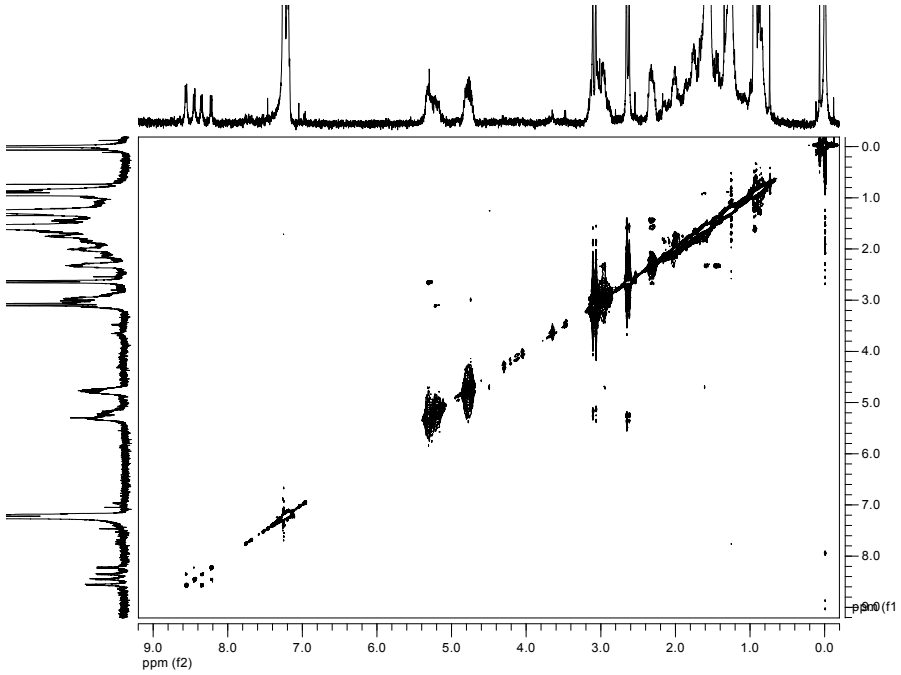
1) ^{1}H RMN [*4ª Adición*, $CDCl_3$, 298 K (25 º C), 500.13 MHz]



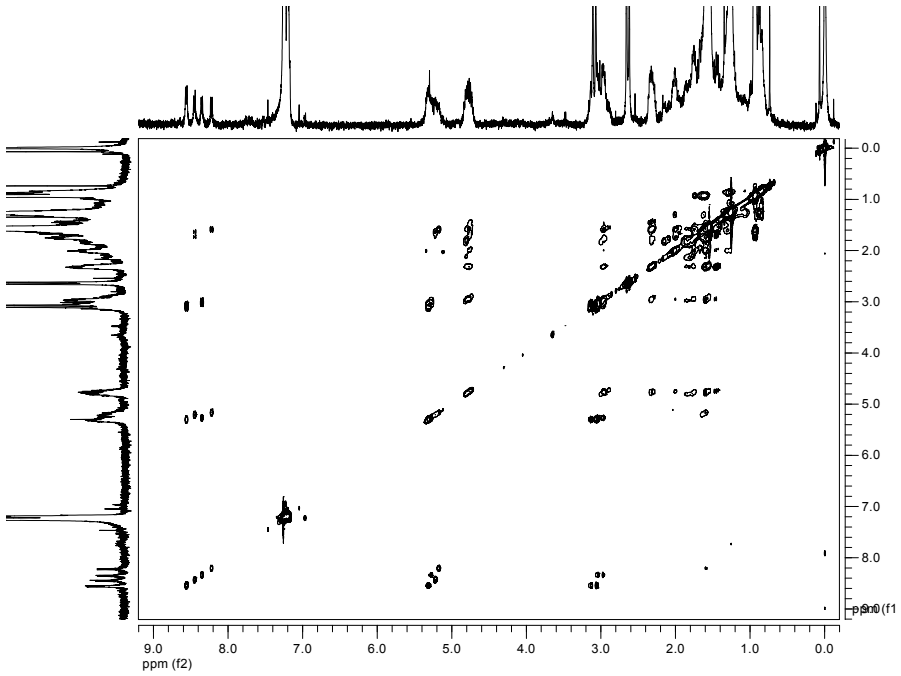
2) COSY [*4ª Adición*, $CDCl_3$, 298 K (25 º C), 500.13 MHz]



3) ROESY [*4ª Adición*, $CDCl_3$, 298 K (25 º C), 500.13 MHz]

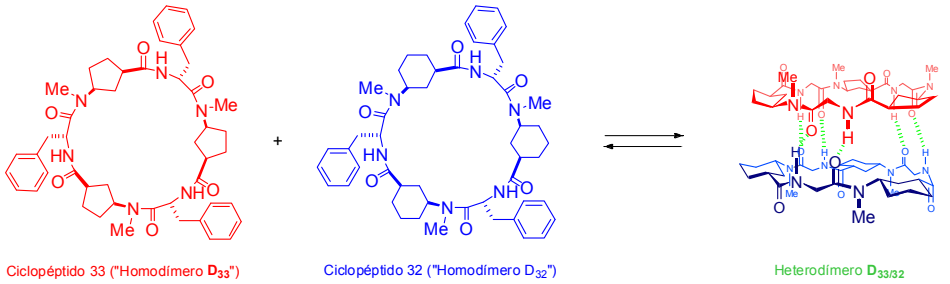


4) TOCSY [*4ª Adición*, $CDCl_3$, 298 K (25 º C), 500.13 MHz]



28.2.3. HETERODÍMERO CICLOHEXAPEPTÍDICO Acp/Ach $D_{33/32}$

Adición de **32** (disolución 4.66 mM en $CDCl_3$) a **33** (disolución 4.66 mM en $CDCl_3$)



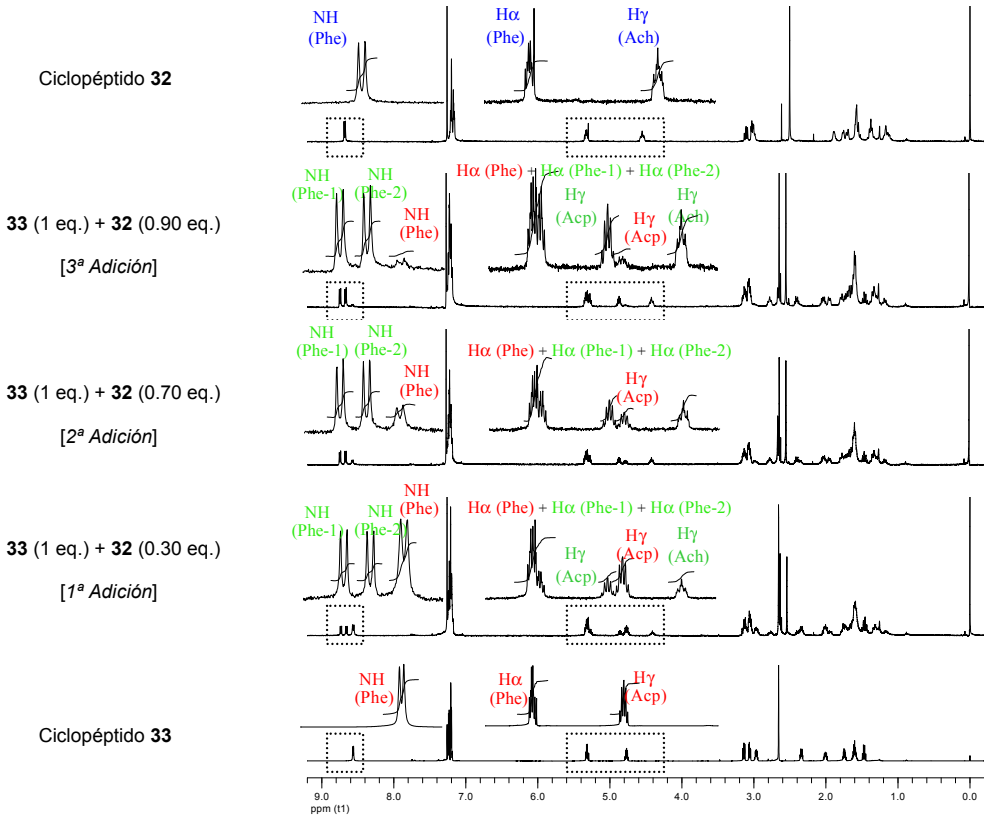
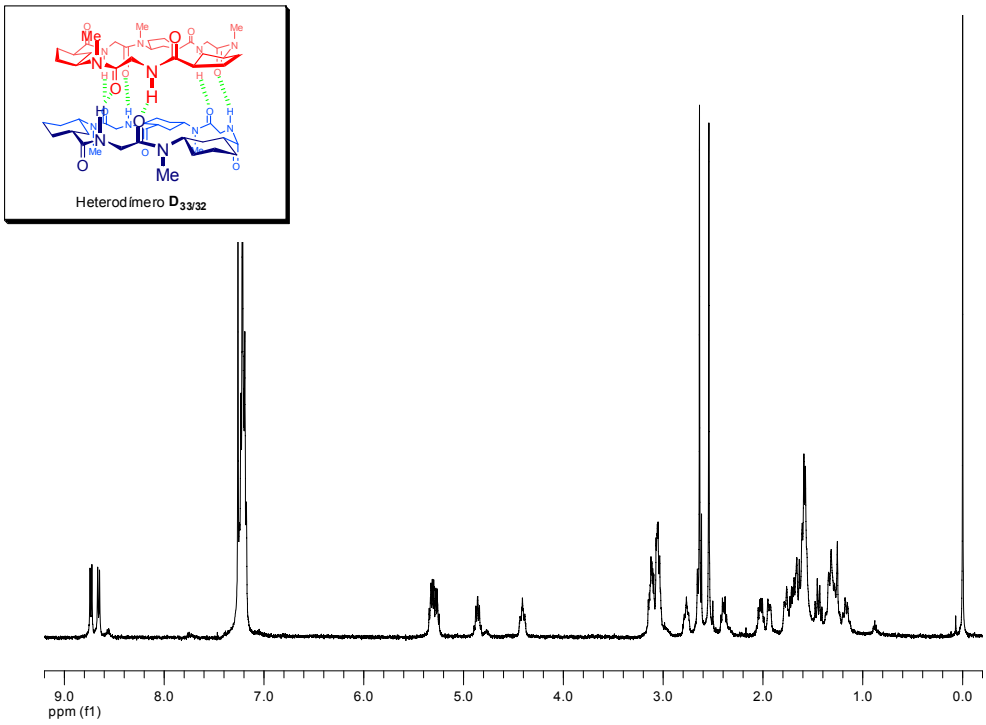


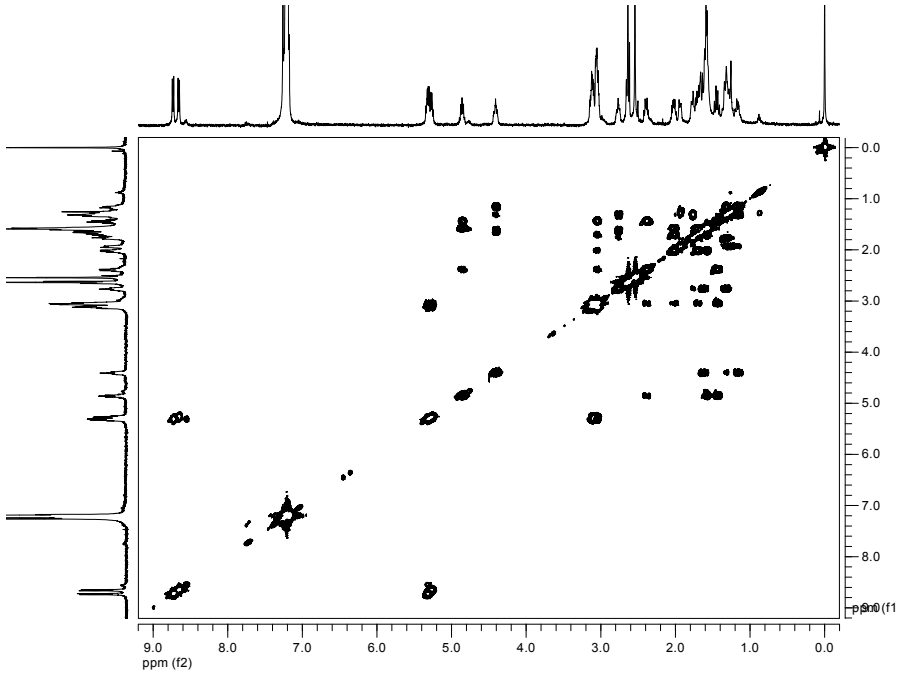
Figura 2. Espectros de ^{1}H RMN correspondientes a la formación del heterodímero $\mathbf{D_{33/32}}$ mediante adición de diferentes equivalentes (0.30, 0.70 y 0.90 eq.) de **32** a una disolución 4.66 mM de **33** (298 K, $CDCl_3$). Las señales en rojo corresponden al homodímero $\mathbf{D_{33}}$, las señales en azul corresponden al homodímero $\mathbf{D_{32}}$ y las señales en verde corresponden al heterodímero $\mathbf{D_{33/32}}$ (Phe-1: Phe de **33**; Phe-2: Phe de **32**).

Heterodímero $D_{33/32}$

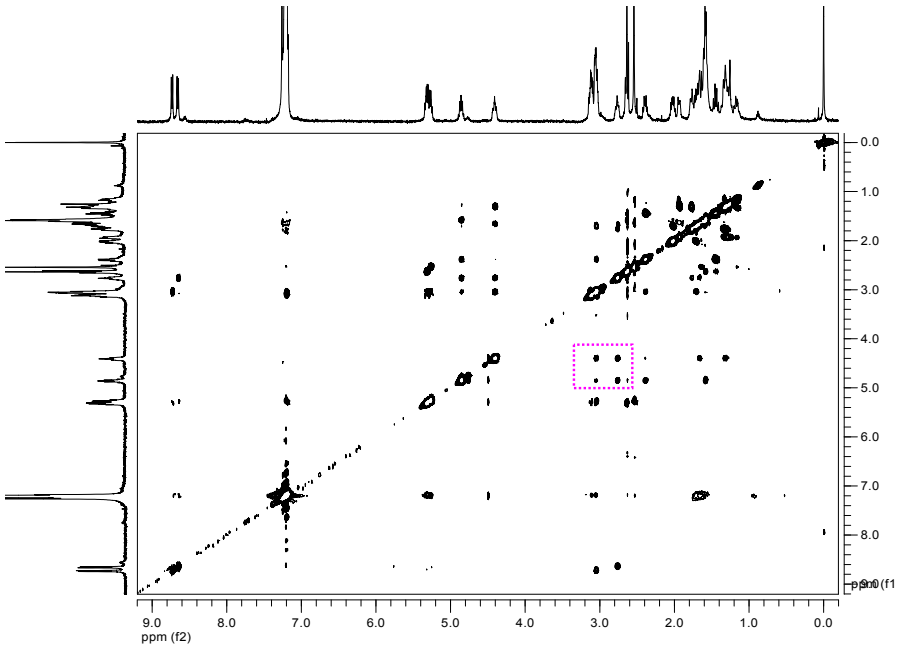
1) ^{1}H RMN [*3ª Adición*, $CDCl_3$, 298 K (25 º C), 500.13 MHz]

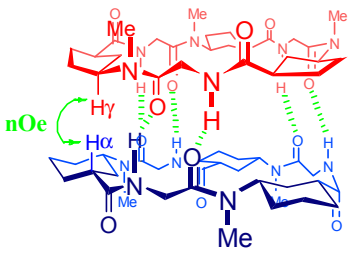


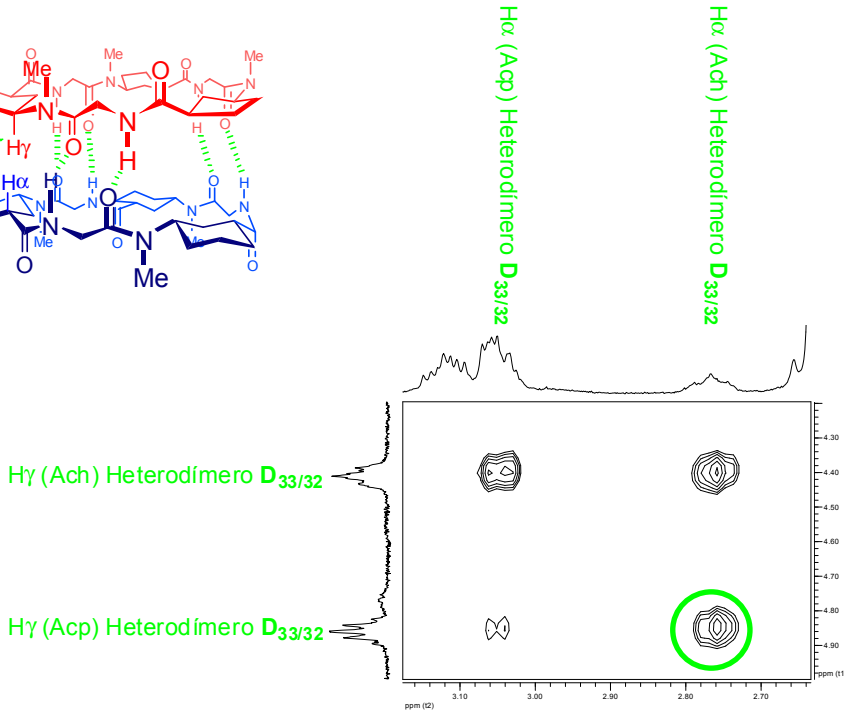
2) COSY [*3ª Adición*, $CDCl_3$, 298 K (25 º C), 500.13 MHz]



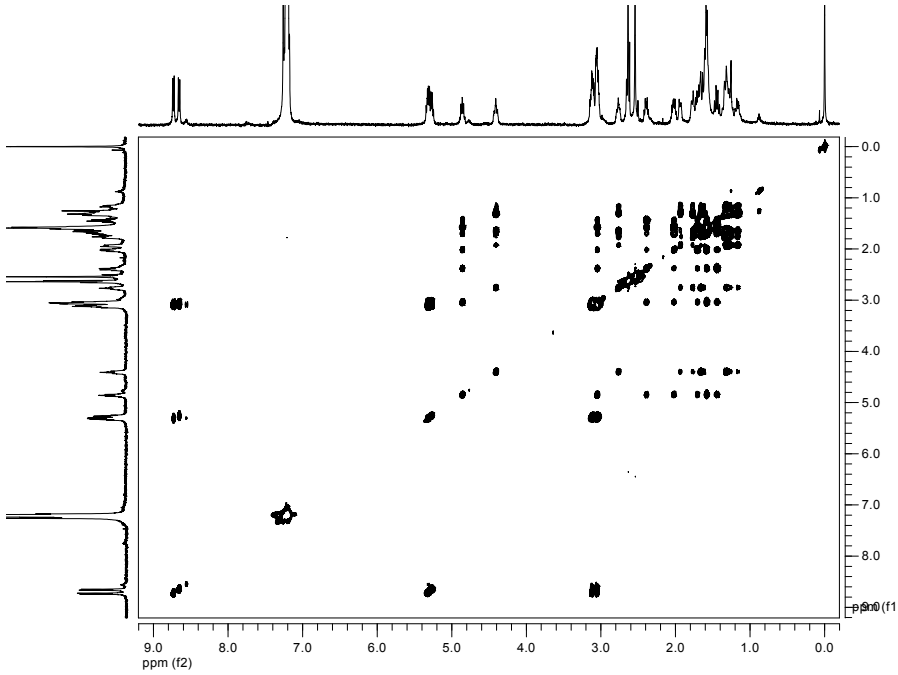
3) ROESY [*3ª Adición*, $CDCl_3$, 298 K (25 º C), 500.13 MHz]





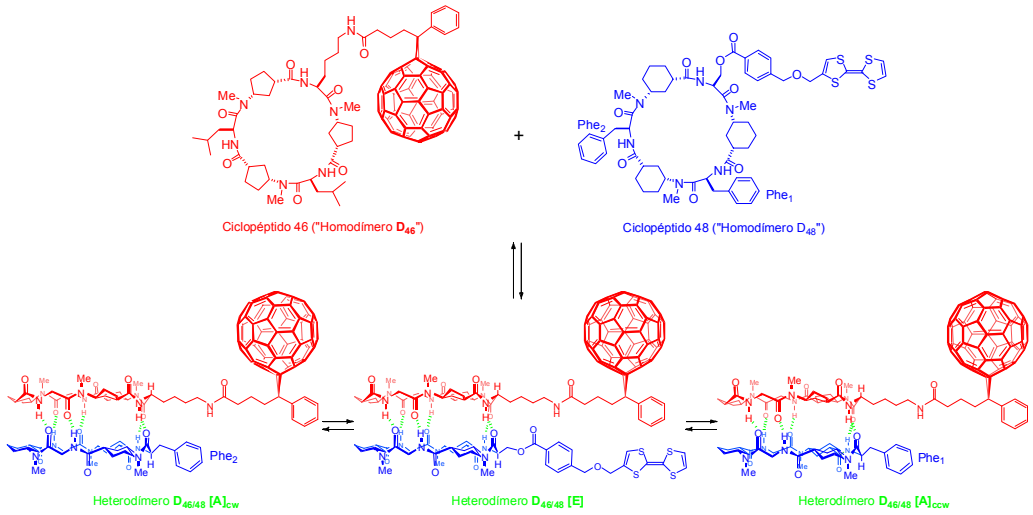


4) TOCSY [*3rd Addition*, $CDCl_3$, 298 K (25 º C), 500.13 MHz]



28.2.4. HETERODÍMERO CICLOHEXAPEPTÍDICO Acp/Ach $D_{46/48}$

Adición de **48** (disolución 2.33 mM en $CDCl_3$) a **46** (disolución 2.33 mM en $CDCl_3$)



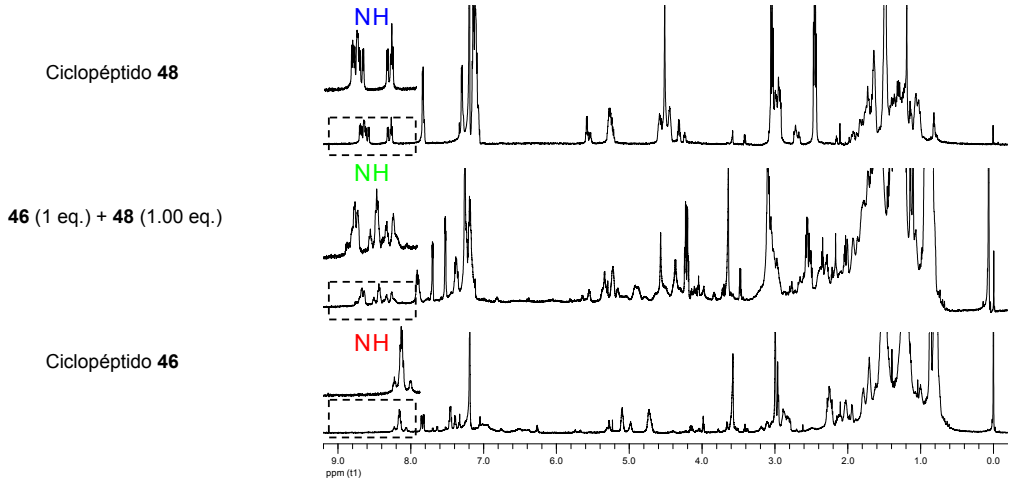
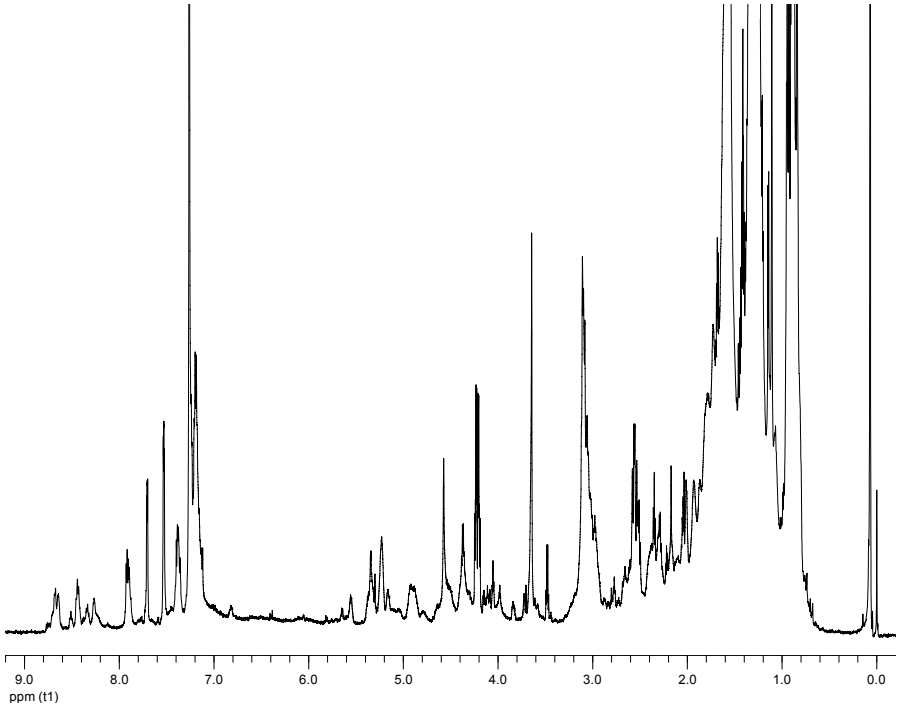


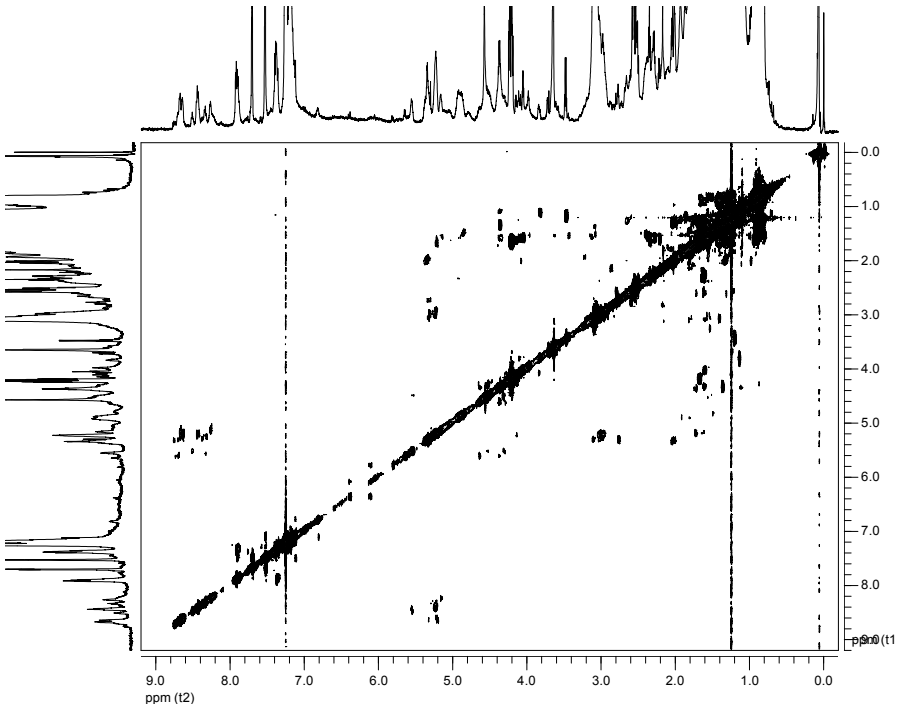
Figura 4. Espectros de ^{1}H RMN correspondientes a la formación del heterodímero $\mathbf{D_{46/48}}$ mediante adición de 1.00 equivalente de **48** a una disolución 2.33 mM de **46** (298 K, $CDCl_3$). Las señales en rojo corresponden al homodímero $\mathbf{D_{46}}$, las señales en azul corresponden al homodímero $\mathbf{D_{48}}$ y las señales en verde corresponden al heterodímero $\mathbf{D_{46/48}}$.

Heterodímero $D_{46/48}$

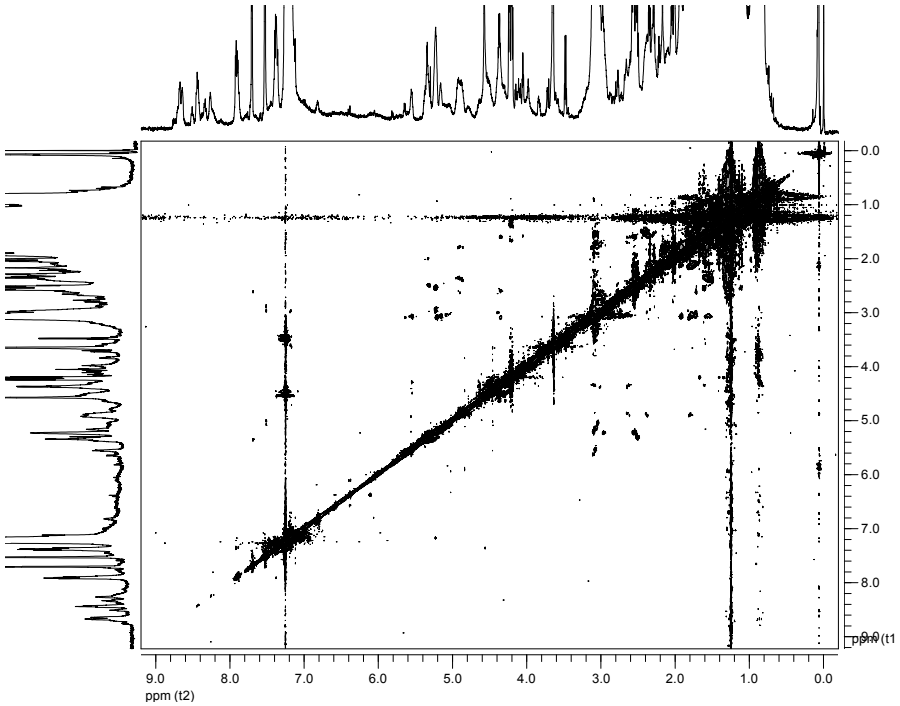
1) ^{1}H RMN [$CDCl_3$, 298 K (25 º C), 500.13 MHz]



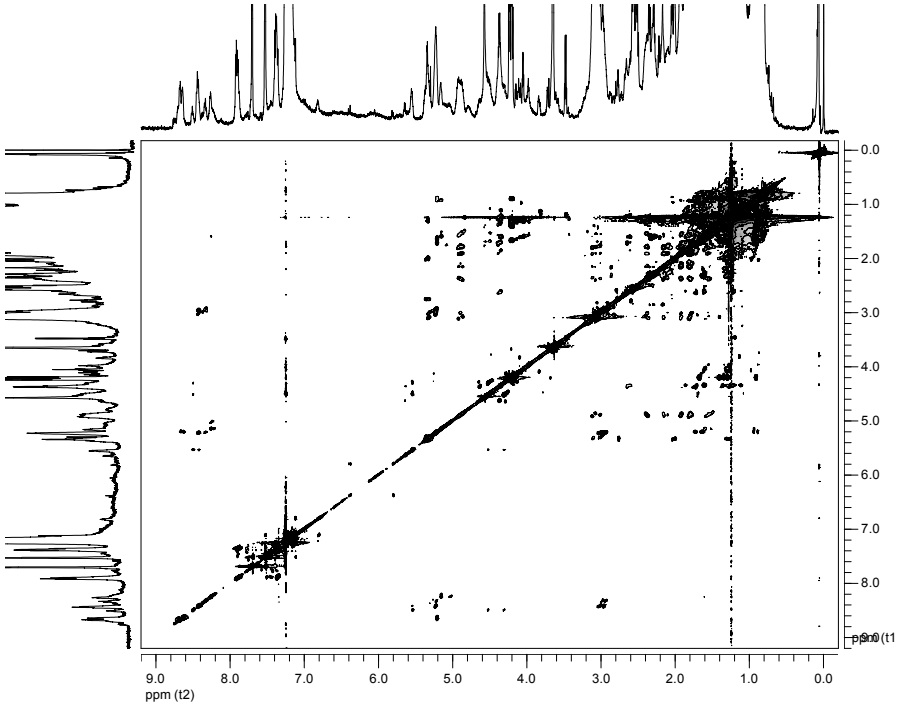
2) COSY [$CDCl_3$, 298 K (25 º C), 500.13 MHz]



3) ROESY [$CDCl_3$, 298 K (25 º C), 500.13 MHz]

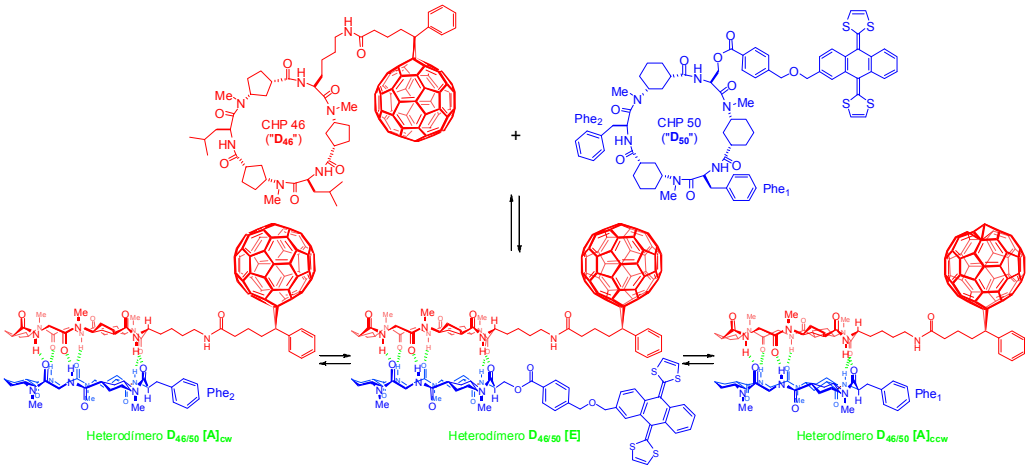


4) TOCSY [$CDCl_3$, 298 K (25 º C), 500.13 MHz]



28.2.5. HETERODÍMERO CICLOHEXAPEPTÍDICO Acp/Ach $D_{46/50}$

Adición de **50** (disolución 2.00 mM en $CDCl_3$) a **46** (disolución 2.00 mM en $CDCl_3$)



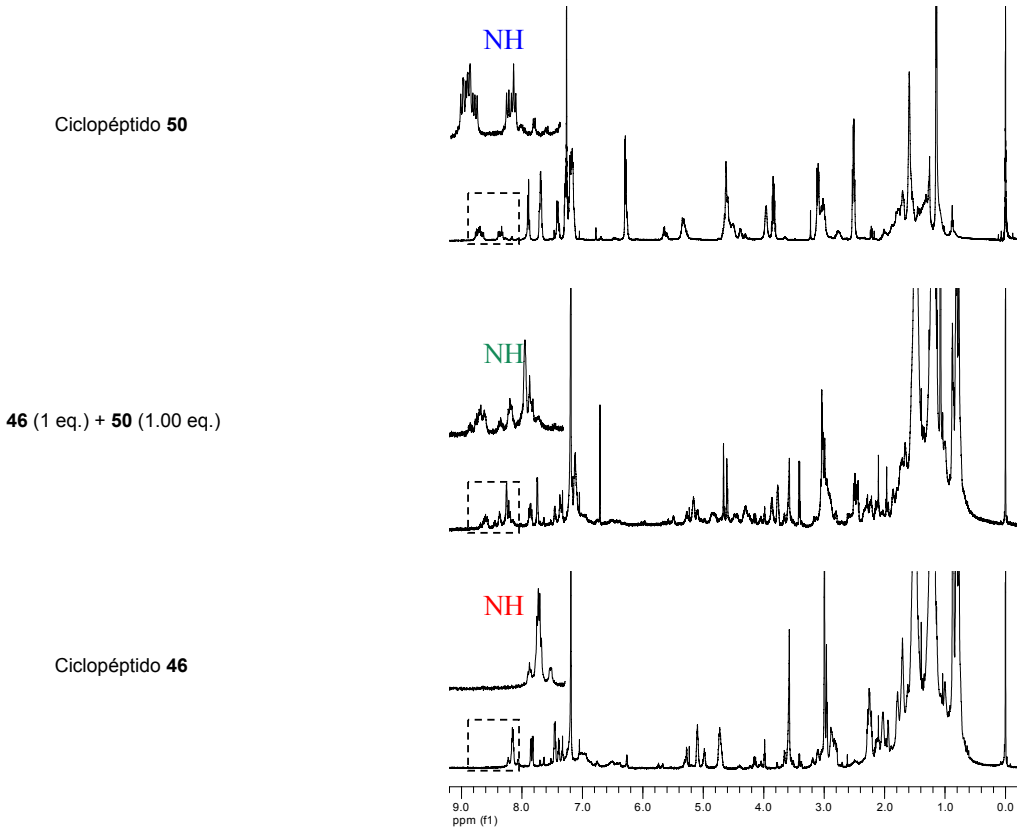
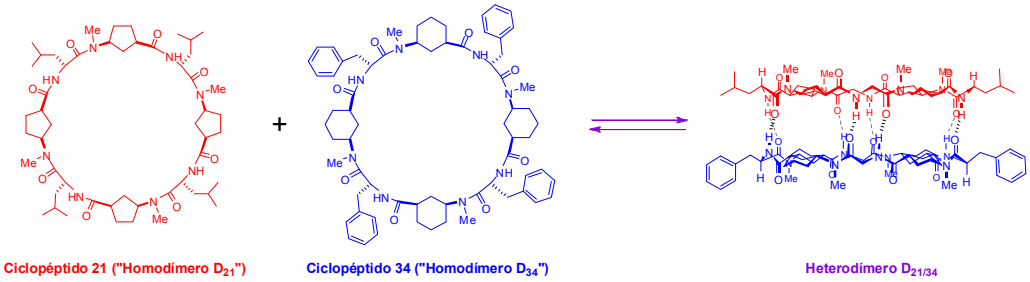


Figura 5. Espectros de ^{1}H RMN correspondientes a la formación del heterodímero $\mathbf{D_{46/50}}$ mediante adición de 1.00 equivalente de **50** a una disolución 2.00 mM de **46** (298 K, $CDCl_3$). Las señales en rojo corresponden al homodímero $\mathbf{D_{46}}$, las señales en azul corresponden al homodímero $\mathbf{D_{50}}$ y las señales en verde corresponden al heterodímero $\mathbf{D_{46/50}}$.

28.3. HETERODÍMEROS CICLOOCTAPEPTÍDICOS

28.3.1. HETERODÍMERO CICLOOCTAPEPTÍDICO Acp/Ach $D_{21/34}$

Adición de **34** (disolución 1.70 mM en $CDCl_3$) a **21** (disolución 1.70 mM en $CDCl_3$)



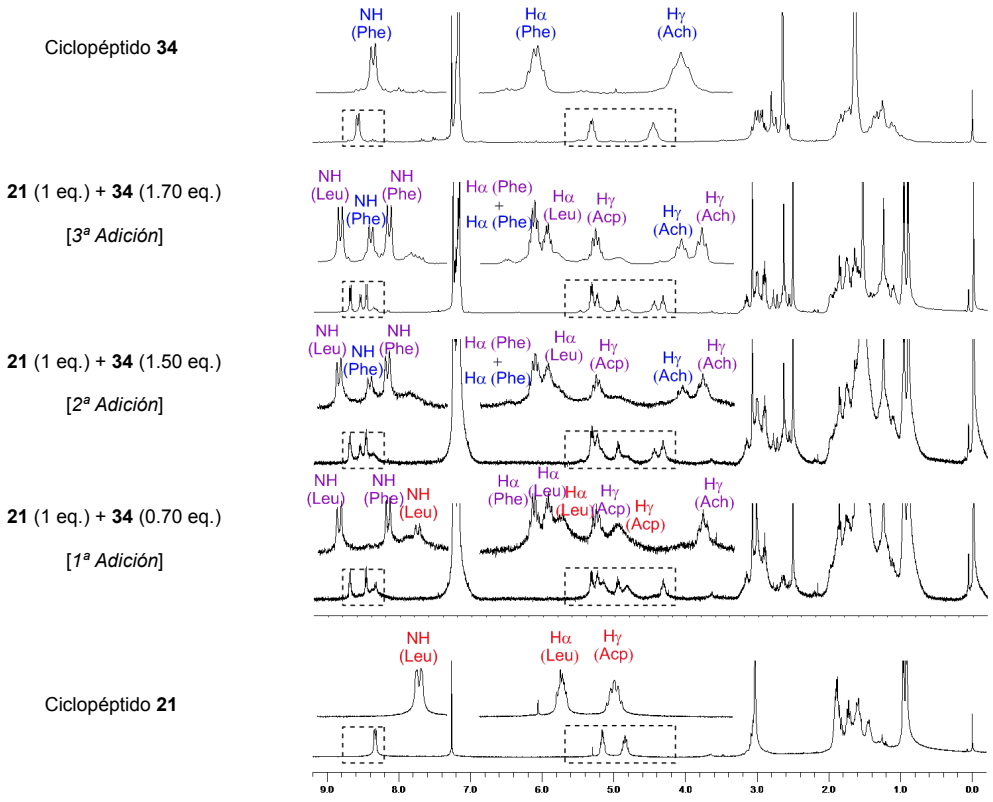
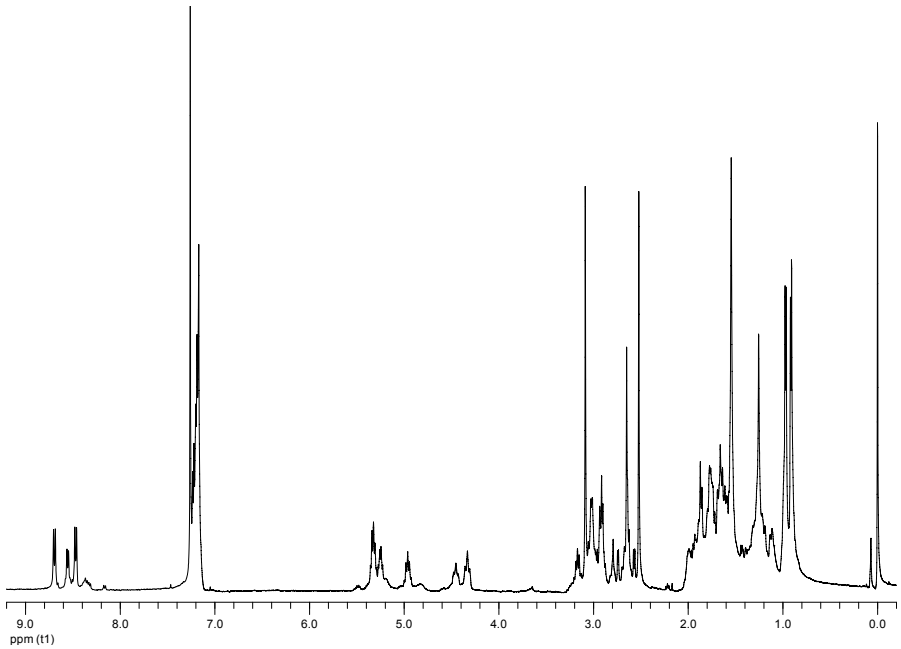


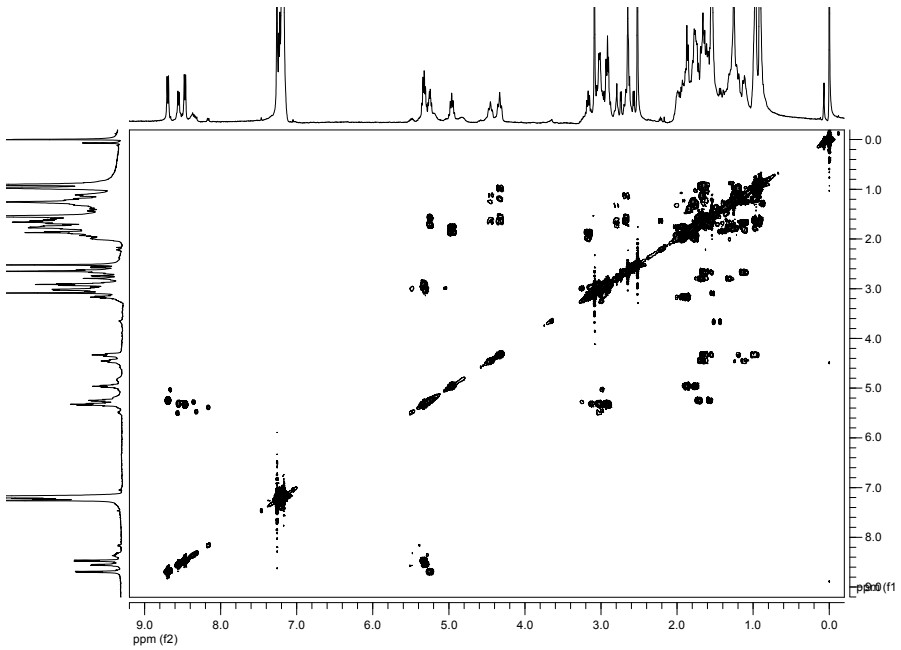
Figura 6. Espectros de ^{1}H RMN correspondientes a la formación del heterodímero **$D_{21/34}$** mediante adición de diferentes equivalentes (0.70, 1.50 y 1.70 eq.) de **21** a una disolución 1.70 mM de **34** (298 K, $CDCl_3$). Las señales en rojo corresponden al homodímero **D_{21}**, las señales en azul corresponden al homodímero **D_{34}** y las señales en violeta corresponden al heterodímero **$D_{21/34}$**.

Heterodímero $D_{21/34}$

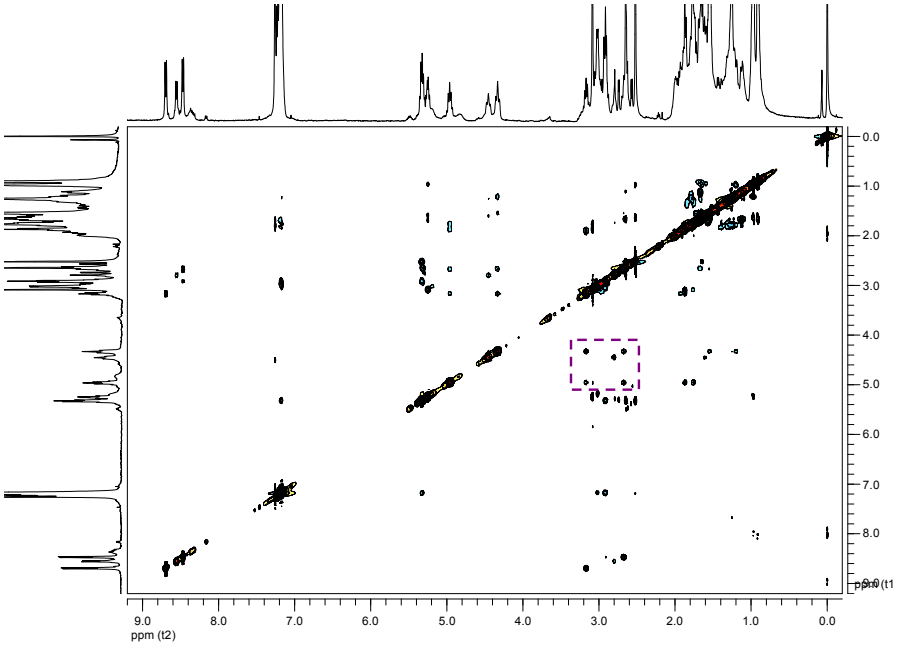
1) ^{1}H RMN [*3ª Adición*, $CDCl_3$, 298 K (25 º C), 500.13 MHz]

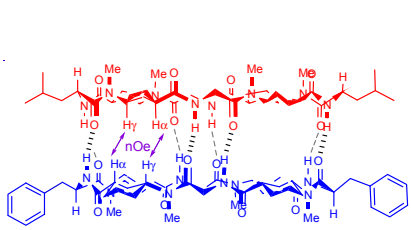


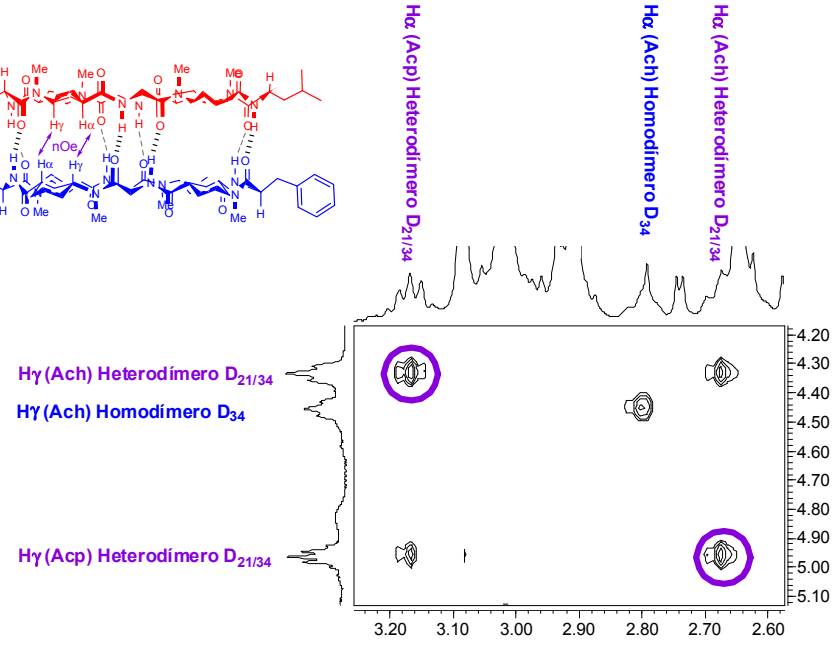
2) COSY [*3ª Adición*, $CDCl_3$, 298 K (25 ºC), 500.13 MHz]



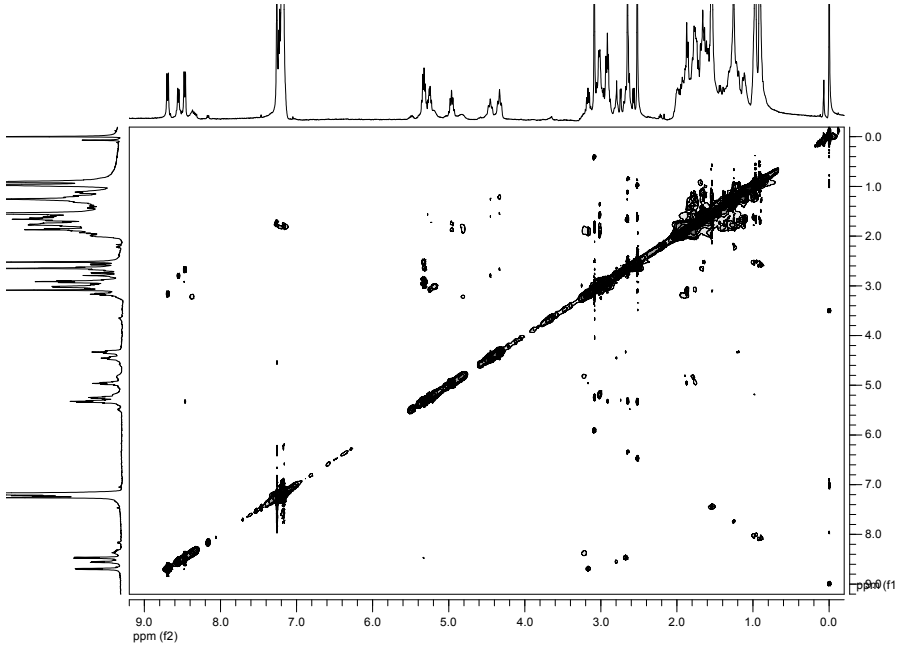
3) ROESY [*3ª Adición*, $CDCl_3$, 298 K (25 ºC), 500.13 MHz]





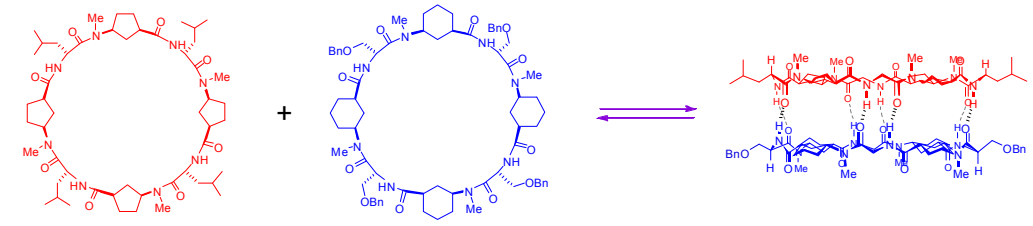


4) ROESY [*3ª Adición*, $CDCl_3$, 298 K (25 ºC), 500.13 MHz]



28.3.2. HETERODÍMERO CICLOOCTAPEPTÍDICO Acp/Ach $D_{21/35}$

Adición de **35** (disolución 1.70 mM en $CDCl_3$) a **21** (disolución 1.70 mM en $CDCl_3$)



Ciclopéptido 21 ("Homodímero D_{21}") Ciclopéptido 35 ("Homodímero D_{35}") Heteroïmero $D_{21/35}$

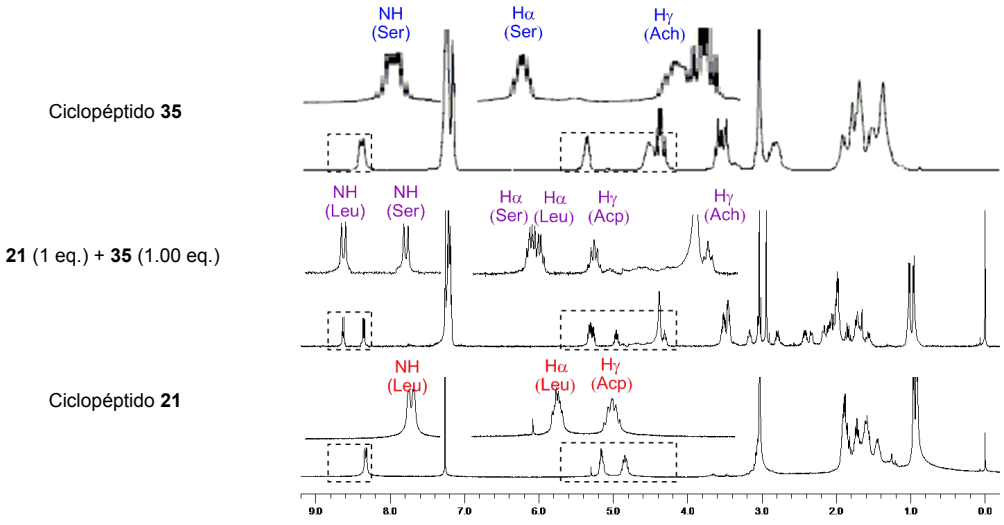
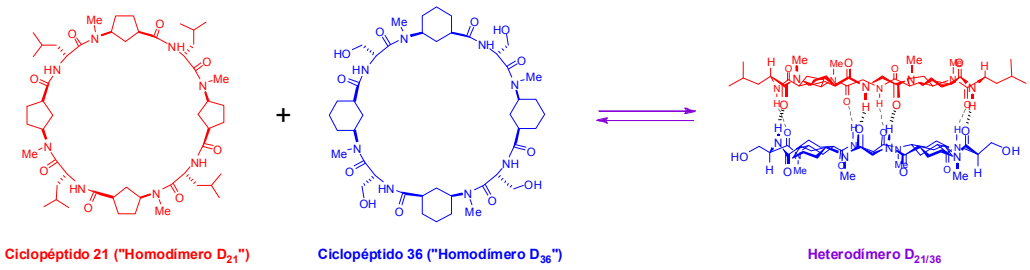


Figura 7. Espectros de ^{1}H RMN correspondientes a la formación del heterodímero $\mathbf{D_{21/35}}$ mediante adición de 1.00 equivalente de **35** a una disolución 2.00 mM de **21** (298 K, $CDCl_3$). Las señales en rojo corresponden al homodímero $\mathbf{D_{21}}$, las señales en azul corresponden al homodímero $\mathbf{D_{35}}$ y las señales en violeta corresponden al heterodímero $\mathbf{D_{21/35}}$.

28.3.3. HETERODÍMERO CICLOOCTAPEPTÍDICO Acp/Ach $D_{21/36}$

Adición de **36** (disolución 8.40 mM en CD_3OH) a **21** (disolución 1.70 mM en $CDCl_3$)



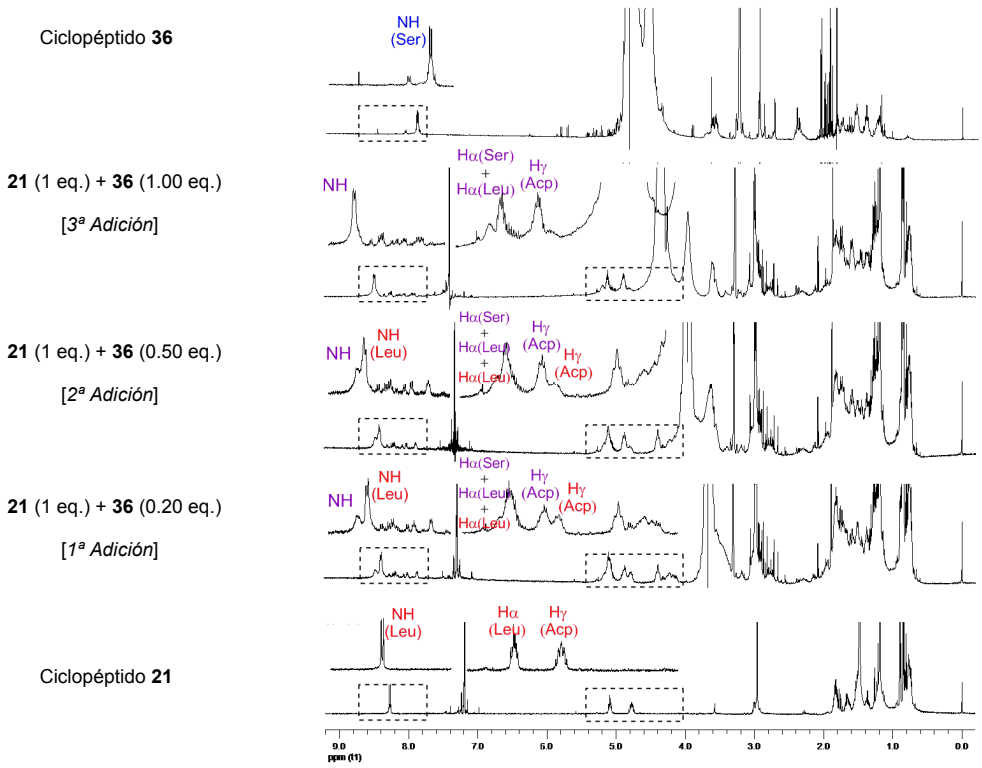


Figura 8. Espectros de ^{1}H RMN correspondientes a la formación del heterodímero $\mathbf{D_{21/36}}$ mediante adición de diferentes equivalentes (0.20, 0.50 y 1.00 eq.) de **36** a una disolución 1.70 mM de **21** (298 K, $CDCl_3$). Las señales en rojo corresponden al homodímero $\mathbf{D_{21}}$, las señales en azul corresponden al homodímero $\mathbf{D_{36}}$ y las señales en violeta corresponden al heterodímero $\mathbf{D_{21/36}}$.

29. ANÁLISIS MEDIANTE DIFRACCIÓN DE RAYOS X

29.1. GENERAL

Los datos cristalográficos se adquirieron a baja temperatura (120 K) en un difractómetro *Bruker Smart X1000*, empleando radiación Mo Kα y un monocromador de grafito. Todos los cálculos se realizaron en un PC compatible con IBM utilizando los programas COLLECT,[4] HKL Denzo and Scalepack,[5] SORTAV,[6] SHELX-97,[7] WinGx,[8] SIR2002,[9] ORTEP3,[10] PLATON (SQUEEZE)[11] y PARST.[12]

Todos los datos cristalográficos obtenidos pueden conseguirse a través del *Cambridge Crystallographic Data Centre* via Internet en www.ccdc.cam.ac.uk/data_request/cif.

29.2. PREPARACIÓN DE CRISTALES

29.2.1. CICLOHEXAPÉPTIDOS DERIVADOS DEL ÁCIDO 3-AMINOCICLOPENTANOCARBOXÍLICO

Cristal resultante de *ciclo*[(*D*-Leu-*L*-^{Me}N-γ-Acp)$_3$-] (20). En un experimento habitual, 10 mg de ciclopéptido **20** previamente purificado por HPLC se disolvieron en 1 mL de $CHCl_3$ y se equilibraron via difusión por fase vapor en 5 mL de hexanos, proporcionando el correspondiente homodímero en forma de cristalización espontánea después de 1-3 días [cristales incoloros].

29.2.2. CICLOOCTAPÉPTIDOS DERIVADOS DEL ÁCIDO 3-AMINOCICLOPENTANOCARBOXÍLICO

Cristal resultante de *ciclo*[(*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp)$_4$-] (22). En un experimento habitual, 3 mg de ciclopéptido **22** previamente purificado por HPLC se disolvieron en 0.5 mL de $C_2H_2Cl_4$ y se equilibraron via difusión por fase vapor en 2.5 mL de hexanos, proporcionando el correspondiente homodímero en forma de cristalización espontánea después de 7-10 días [cristales incoloros].

Cristal resultante de *ciclo*[(*L*-γ-Acp-*D*-^{Me}N-Ala)$_4$-] (31). En un experimento habitual, 5 mg de ciclopéptido **31** previamente purificado por HPLC se disolvieron en 1 mL de CH_2Cl_2 y se equilibraron via difusión por fase vapor en 5 mL de hexanos, proporcionando la correspondiente estructura plegada en forma de cristalización espontánea después de 1-3 días [cristales incoloros].

29.2.3. HETERODÍMEROS CICLOHEXAPEPTÍDICOS Acp/Ach

Cristal resultante de *ciclo*[(*D*-Leu-*L*-^{Me}N-γ-Acp)$_3$-] (20) + *ciclo*[(*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach)$_3$-] (32). En un experimento habitual, 2 mg de una mezcla 1:1 de ciclopéptidos **20** y **32** previamente purificados por HPLC se disolvieron en 0.5 mL de $CHCl_3$ y se equilibraron via difusión por fase vapor en 2.5 mL de hexanos, proporcionando el correspondiente heterodímero en forma de cristalización espontánea después de 1-3 días [cristales incoloros].

29.3. DATOS CRISTALOGRÁFICOS

29.3.1. CICLOHEXAPÉPTIDOS DERIVADOS DEL ÁCIDO 3-AMINOCICLO-PENTANOCARBOXÍLICO

Cristal resultante de *ciclo*[(*D*-Leu-*L*-^{Me}N-γ-Acp)$_3$-] (20)

La estructura cristalina es enantioméricamente pura y la configuración absoluta que mejor se ajusta a los datos experimentales es la que aparece en todas las figuras y tablas. La estructura, por contener átomos de alta densidad electrónica, tiene suficiente capacidad de dispersión anómala para la longitud de onda empleada (Kα de Mo) por lo que la desviación estándar del parámetro de Flack [-0.01(7) en la Tabla 2] es bastante pequeña, así que la fiabilidad en la determinación de la configuración absoluta es buena.

El disolvente está desordenado en un canal que deja la estructura del complejo a lo largo del eje a.

En la Tabla 2 se recoge la información experimental más importante. El grupo espacial es $P2_1$, lo que implica que hay dos operaciones de simetría relacionando las moléculas de la celdilla unidad. Esto quiere decir que sólo la mitad de la celdilla unidad es cristalográficamente independiente. Todo lo demás se puede generar a partir de la unidad asimétrica aplicando la simetría del grupo espacial. En este caso la parte independiente es [2 × ($C_{39}H_{66}N_6O_6$), 3.30 × ($CHCl_3$), 1.4 × (H_2O)]; dos moléculas del ciclopéptido (un dímero), 3.30 moléculas de cloroformo y 1.4 moléculas de agua. En cuanto a las moléculas de $CHCl_3$, dos se encuentran sin desordenar, otra desordenada en dos orientaciones distintas sobre la misma posición aproximadamente y el 0.30 restante comparte posición con dos moléculas de agua al 0.70.

No sólo el disolvente está desordenado, sino que hay un anillo de ciclopentano que también lo está.

Los valores de los factores de desacuerdo (R's) son ligeramente altos, pero aceptables para una estructura de estas características y con el disolvente desordenado que presenta.

Tabla 2. Datos cristalográficos y refinamiento de la estructura resultante de la cristalización del ciclohexapéptido ***ciclo*[(*D*-Leu-*L*-^{Me}N-γ-Acp)$_3$-] (20)** [HOMODÍMERO **D_{20}**].

Identification code	jg10ro1n	
Empirical formula	$2(C_{39}H_{66}N_6O_6)$, $3.30(CHCl_3)$, $1.40(H_2O)$	
Formula weight	1846.27	
Temperature	120.0(1) K	
Wavelength	0.71073 Å	
Crystal system	Monoclinic	
Space group	$P2_1$	
Unit cell dimensions	a = 11.1974(13) Å	α= 90°
	b = 17.1605(19) Å	β= 101.081(2)°
	c = 25.303(3) Å	γ = 90°
Volume	4771.4(10) $Å^3$	
Z	2	
Density (calculated)	1.285 Mg/m^3	
Absorption coefficient	0.352 mm^{-1}	
F(000)	1965.2	
Crystal size	0.66 × 0.31 × 0.06 mm^3	
Theta range for data collection	1.44 to 24.76°	
Index ranges	-13<=h<=12, -20<=k<=20, 0<=l<=29	
Reflections collected	35749	
Independent reflections	16157 [R(int) = 0.0405]	
Completeness to theta = 24.76°	99.7 %	
Absorption correction	Semi-empirical from equivalents	
Max. and min. transmission	0.98 and 0.7014	
Refinement method	Full-matrix least-squares on F^2	
Data / restraints / parameters	16157 / 461 / 1063	
Goodness-of-fit on F^2	1.045	
Final R indices [I>2sigma(I)]	R1 = 0.075, wR2 = 0.1861	
R indices (all data)	R1 = 0.1112, wR2 = 0.2143	
Absolute structure parameter	-0.01(7)	
Largest diff. peak and hole	1.199 and -0.607 e.$Å^{-3}$	

Tabla 3. Coordenadas atómicas (x 10^4) y parámetros de desplazamiento isotrópico equivalente (Å^2 × 10^3) de la estructura resultante de la cristalización de ***ciclo*[(*D*-Leu-*L*-^{Me}N-γ-Acp)$_3$-] (20)** [HOMODÍMERO **D_{20}**].

	x	y	z	U(eq)[a]
N(101)	4310(5)	23(3)	2942(2)	35(1)
C(102)	5027(6)	264(4)	3461(2)	40(2)
C(103)	5134(7)	-391(4)	3878(3)	49(2)
C(104)	5547(10)	-1163(5)	3695(4)	88(3)
C(105)	6676(9)	-1146(7)	3487(6)	107(4)
C(106)	5710(20)	-1716(8)	4177(5)	217(13)
C(110)	4401(5)	963(3)	3656(2)	32(1)
O(111)	3277(4)	915(3)	3641(2)	41(1)
N(112)	5042(4)	1588(3)	3854(2)	40(1)
C(113)	6362(6)	1619(5)	3907(4)	69(3)
C(114)	4374(7)	2297(3)	3953(3)	44(2)
C(115)	4462(8)	2937(4)	3545(3)	52(2)
C(116)	4162(6)	3678(3)	3831(2)	38(2)
C(117)	4885(10)	3542(4)	4400(3)	68(3)
C(118)	4832(10)	2690(4)	4500(3)	68(3)
C(120)	4508(6)	4394(4)	3551(2)	39(2)
O(121)	5591(4)	4602(3)	3606(2)	49(1)
N(131)	3603(4)	4760(3)	3230(2)	33(1)
C(132)	3802(5)	5424(3)	2894(2)	33(1)
C(133)	3289(6)	6175(3)	3095(3)	40(2)
C(134)	3379(6)	6894(4)	2750(3)	48(2)
C(135)	4650(7)	7063(5)	2673(4)	63(2)
C(136)	2853(11)	7589(5)	2995(5)	96(4)
C(140)	3169(5)	5245(3)	2314(2)	31(1)
O(141)	2048(4)	5320(3)	2194(2)	37(1)
N(142)	3849(4)	5018(3)	1962(2)	42(1)
C(143)	5138(6)	4819(6)	2121(4)	71(3)
C(144)	3273(7)	4878(4)	1404(2)	46(2)
C(145)	3150(8)	4025(4)	1239(3)	51(2)

C(146)	3172(8)	4010(4)	639(3)	60(2)
C(147)	3803(15)	4777(5)	542(4)	128(6)
C(148)	3934(12)	5244(6)	992(3)	93(4)
C(150)	3880(7)	3315(4)	499(3)	56(2)
O(151)	5000(6)	3306(4)	593(3)	96(2)
N(161)	3182(6)	2721(3)	273(2)	43(1)
C(162)	3751(6)	1997(4)	127(3)	40(2)
C(163)	3380(7)	1835(5)	-471(3)	48(2)
C(164)	3771(9)	2454(5)	-850(3)	62(2)
C(165)	5047(13)	2583(8)	-743(5)	108(4)
C(166)	3412(13)	2157(7)	-1423(4)	103(4)
C(170)	3320(7)	1324(4)	444(3)	44(2)
O(171)	2260(5)	1176(4)	388(2)	75(2)
N(172)	4277(9)	981(6)	826(4)	28(2)
C(173)	5464(12)	1325(8)	1025(6)	50(4)
C(174)	3941(12)	308(7)	1097(5)	30(3)
N(372)	3934(15)	741(10)	659(7)	52(4)
C(373)	5240(20)	712(15)	693(10)	81(7)
C(374)	3390(20)	166(12)	996(8)	55(5)
C(175)	3509(7)	490(5)	1603(3)	52(2)
C(176)	3895(6)	-208(4)	1983(3)	42(2)
C(177)	4533(7)	-764(5)	1654(3)	53(2)
C(178)	4972(10)	-304(6)	1268(4)	32(3)
C(378)	3860(20)	-622(13)	1025(9)	70(6)
C(180)	4734(6)	55(4)	2484(3)	45(2)
O(181)	5782(5)	275(5)	2475(2)	78(2)
N(201)	774(5)	464(3)	3527(2)	35(1)
C(202)	476(5)	-322(4)	3326(2)	36(1)
C(203)	1319(6)	-919(3)	3661(2)	37(2)
C(204)	1178(6)	-975(4)	4243(3)	47(2)
C(205)	-33(7)	-1326(7)	4293(3)	75(3)
C(206)	2211(7)	-1448(5)	4572(3)	61(2)
C(210)	635(5)	-344(4)	2739(2)	35(1)
O(211)	1683(4)	-403(3)	2643(2)	48(1)
N(212)	-332(4)	-300(4)	2342(2)	42(1)
C(213)	-1565(6)	-180(6)	2430(3)	54(2)

C(214)	-174(6)	-325(4)	1778(2)	49(2)
C(215)	-348(9)	465(4)	1497(3)	62(2)
C(216)	-351(8)	256(5)	913(3)	65(2)
C(217)	-973(11)	-552(5)	844(3)	79(3)
C(218)	-1055(8)	-838(4)	1397(3)	59(2)
C(220)	-1029(8)	857(5)	531(3)	64(2)
O(221)	-2154(6)	903(5)	444(4)	115(3)
N(231)	-358(5)	1303(3)	277(2)	41(1)
C(232)	-865(6)	1889(3)	-118(2)	34(1)
C(233)	-455(7)	1736(4)	-650(2)	45(2)
C(234)	-862(11)	2310(5)	-1099(3)	80(3)
C(235)	-2202(12)	2404(7)	-1224(4)	109(5)
C(236)	-376(10)	2074(6)	-1590(3)	84(3)
C(240)	-440(6)	2694(3)	111(2)	37(2)
O(241)	582(5)	2921(3)	79(2)	48(1)
N(242)	-1181(5)	3110(3)	353(2)	48(2)
C(243)	-2357(9)	2834(8)	418(6)	135(7)
C(244)	-775(7)	3843(4)	614(3)	49(2)
C(245)	-597(8)	3817(4)	1217(3)	54(2)
C(246)	-740(6)	4662(4)	1394(2)	45(2)
C(247)	-1676(8)	4995(4)	923(3)	64(2)
C(248)	-1593(13)	4547(6)	452(3)	115(5)
C(250)	-1173(6)	4697(4)	1923(3)	43(2)
O(251)	-2220(4)	4510(4)	1958(2)	73(2)
N(261)	-360(4)	4933(3)	2358(2)	34(1)
C(262)	-668(5)	4981(3)	2889(2)	33(1)
C(263)	-344(6)	5777(3)	3141(3)	38(2)
C(264)	-1001(6)	6452(4)	2823(3)	47(2)
C(265)	-2356(7)	6375(5)	2736(3)	61(2)
C(266)	-636(9)	7215(5)	3128(5)	93(4)
C(270)	21(5)	4349(3)	3245(2)	33(1)
O(271)	1147(4)	4414(3)	3382(2)	42(1)
N(272)	-579(5)	3748(3)	3387(2)	41(1)
C(273)	-1912(6)	3658(4)	3220(5)	81(3)
C(274)	94(7)	3110(4)	3706(3)	46(2)
C(275)	14(10)	2331(4)	3415(3)	74(3)

C(276)	452(7)	1747(4)	3859(3)	46(2)
C(277)	-9(8)	2082(4)	4347(3)	50(2)
C(278)	-277(15)	2902(5)	4229(4)	119(6)
C(280)	-24(6)	945(4)	3684(3)	50(2)
O(281)	-1092(5)	764(4)	3681(3)	77(2)
C(1)	2386(9)	2422(5)	2133(4)	25(3)
Cl(11)	1529(6)	2224(3)	1444(2)	32(2)
Cl(12)	1650(6)	3248(3)	2374(2)	35(2)
Cl(13)	2001(6)	1580(2)	2509(2)	36(1)
C(1B)	1359(12)	2337(6)	2093(4)	41(4)
Cl(1B)	1793(6)	2228(3)	1460(2)	32(2)
Cl(2B)	2318(6)	1656(3)	2566(2)	31(1)
Cl(3B)	1906(6)	3293(3)	2358(2)	34(2)
C(2)	2828(7)	582(5)	5510(3)	55(2)
Cl(21)	3115(2)	683(1)	4859(1)	57(1)
Cl(22)	2778(7)	1509(2)	5788(2)	210(3)
Cl(23)	1437(2)	127(2)	5511(1)	85(1)
C(3)	-2276(6)	501(4)	5545(3)	51(2)
Cl(31)	-1751(2)	-177(2)	5138(1)	99(1)
Cl(32)	-1538(2)	1390(2)	5547(1)	83(1)
Cl(33)	-3848(2)	613(1)	5356(1)	55(1)
O(1W)	6537(9)	3230(6)	1630(4)	79(3)
O(2W)	7145(14)	1525(10)	2745(6)	140(5)
C(4)	6483(16)	2100(20)	2029(8)	117(14)
Cl(41)	5411(7)	2447(5)	2398(3)	75(2)
Cl(42)	5834(9)	2545(6)	1398(4)	87(2)
Cl(43)	8085(9)	2114(7)	2069(4)	105(3)

[a] U(eq) está definido como un tercio de la traza del tensor ortogonalizado U^{ij}

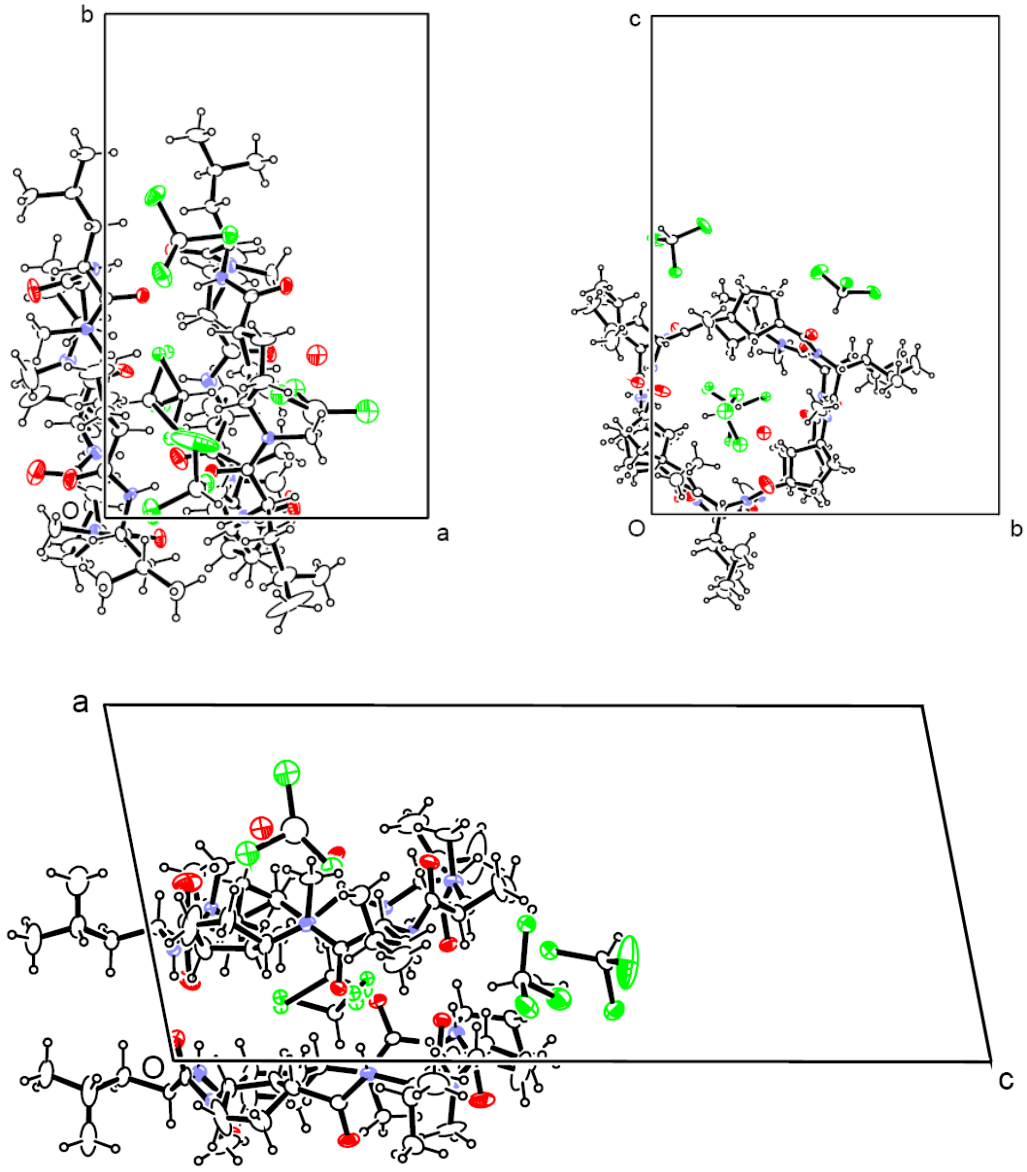


Figura 9. Diagramas ORTEP de la estructura resultante de la cristalización del ciclohexapéptido ***cicIo*[(*D*-Leu-*L*-^{Me}N-γ-Acp)$_3$-] (20)** [HOMODÍMERO **D_{20}**]. *Plano ab*: arriba izquierda; *Plano bc*: arriba derecha; *Plano ac*: abajo.

29.3.2. CICLOOCTAPÉPTIDOS DERIVADOS DEL ÁCIDO 3-AMINOCICLOPENTANOCARBOXÍLICO

Cristal resultante de *ciclo*[(*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp)$_4$-] (22)

La estructura cristalina es enantioméricamente pura y la configuración absoluta que mejor se ajusta a los datos experimentales es la que aparece en todas las figuras y tablas. La estructura, por contener átomos con más densidad electrónica (Cl), tiene mayor capacidad de dispersión anómala para la longitud de onda empleada (Kα de Mo) por lo que la desviación estándar del parámetro de Flack [0.11(10) en la Tabla 4] es razonablemente pequeña, así que la fiabilidad en la determinación de la configuración absoluta es relativamente aceptable.

El disolvente está desordenado en un canal que deja la estructura del complejo a lo largo del eje c. Aparecían lo que podrían ser unas 8 moléculas de agua y 3 de metanol, pero no hemos sido capaz de refinar un modelo aceptable, por lo que se ha optado a eliminar su contribución utilizado el procedimiento SQUEEZE.[11]

En la Tabla 4 se recoge la información experimental más importante. El grupo espacial es I4, lo que implica que hay 8 operaciones de simetría relacionando las moléculas de la celdilla unidad. Esto quiere decir que sólo un octavo de la celdilla unidad es cristalográficamente independiente. Todo lo demás se puede generar a partir de la unidad asimétrica aplicando la simetría del grupo espacial. En este caso la parte independiente es 2 × [1/4($C_{52}H_{88}N_8O_8$), ($C_2H_2Cl_2O_2$)]; dos veces un cuarto de la molécula del péptido (un cuarto del dímero) y dos moléculas de ácido dicloroacético.

Tabla 4. Datos cristalográficos y refinamiento de la estructura resultante de la cristalización del ciclooctapéptido ***ciclo*[(*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp)$_4$-] (22)** [HOMODÍMERO **D_{22}**].

Identification code	jg05ro2n	
Empirical formula	$C_{52}H_{88}N_8O_8$, $4(C_2H_2Cl_2O_2)$	
Formula weight	1469.05	
Temperature	120.0(1) K	
Wavelength	0.71073 Å	
Crystal system	Tetragonal	
Space group	I 4	
Unit cell dimensions	a = 23.6648(9) Å	α= 90°
	b = 23.6648(9) Å	β= 90°
	c = 16.5051(13) Å	γ = 90°
Volume	9243.2(9) Å^3	
Z	4	
Density (calculated)	1.056 Mg/m^3	
Absorption coefficient	0.296 mm^{-1}	
F(000)	3104	
Crystal size	0.38 × 0.37 × 0.35 mm^3	
Theta range for data collection	1.5 to 24.79°	
Index ranges	-19<=h<=19, 0<=k<=27, -19<=l<=18	
Reflections collected	34689	
Independent reflections	7868 [R(int) = 0.0388]	
Completeness to theta = 24.79°	99.6 %	
Absorption correction	Semi-empirical from equivalents	
Max. and min. transmission	0.902 and 0.709	
Refinement method	Full-matrix least-squares on F^2	
Data / restraints / parameters	7868 / 3 / 424	
Goodness-of-fit on F^2	1.072	
Final R indices [I>2sigma(I)]	R1 = 0.0736, wR2 = 0.2042	
R indices (all data)	R1 = 0.0901, wR2 = 0.2194	
Absolute structure parameter	0.11(10)	
Largest diff. peak and hole	0.926 and -0.62 e.Å^{-3}	

Tabla 5. Coordenadas atómicas (x 10^4) y parámetros de desplazamiento isotrópico equivalente (Å^2 × 10^3) de la estructura resultante de la cristalización de ***ciclo*[(*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp)$_4$-] (22)** [HOMODÍMERO **D_{22}**].

	x	y	z	U(eq)[a]
N(101)	-710(1)	2543(1)	339(2)	34(1)
C(102)	-222(2)	2855(2)	46(3)	37(1)
C(103)	-255(2)	3474(2)	342(3)	44(1)
C(104)	-784(2)	3799(2)	54(4)	61(2)
C(105)	-760(3)	3925(3)	-820(4)	69(2)
C(106)	-868(4)	4326(3)	533(4)	88(2)
C(110)	303(2)	2582(2)	417(3)	38(1)
O(111)	282(1)	2455(2)	1132(2)	54(1)
N(112)	761(2)	2506(2)	-36(2)	39(1)
C(113)	782(2)	2645(2)	-912(3)	51(1)
C(114)	1251(2)	2228(2)	319(3)	39(1)
C(115)	1410(2)	1681(2)	-93(4)	61(1)
C(116)	1996(2)	1568(2)	273(3)	44(1)
C(117)	2271(2)	2136(3)	247(6)	94(3)
C(118)	1793(2)	2575(2)	329(4)	59(1)
C(120)	2315(2)	1105(2)	-146(3)	40(1)
O(121)	2366(2)	1107(2)	-895(2)	75(1)
N(201)	2642(2)	22(1)	2831(2)	34(1)
C(202)	2762(2)	581(2)	3143(2)	31(1)
C(203)	3362(2)	774(2)	2934(3)	40(1)
C(204)	3825(2)	457(2)	3357(3)	55(1)
C(205)	3845(3)	603(3)	4273(4)	76(2)
C(206)	4392(2)	601(3)	2939(5)	78(2)
C(210)	2351(2)	995(2)	2730(2)	31(1)
O(211)	2233(1)	932(1)	2023(2)	48(1)
N(212)	2156(2)	1427(2)	3182(2)	40(1)
C(213)	2265(3)	1467(3)	4069(3)	59(1)
C(214)	1787(2)	1859(2)	2805(3)	45(1)
C(215)	1185(2)	1853(2)	3160(3)	48(1)

C(216)	978(2)	2436(2)	2915(3)	43(1)
C(217)	1472(2)	2809(2)	3150(5)	66(2)
C(218)	1998(2)	2470(2)	2913(3)	51(1)
C(220)	428(2)	2589(2)	3316(3)	40(1)
O(221)	379(1)	2664(2)	4058(2)	53(1)
O(11)	2743(2)	1021(1)	-2326(2)	54(1)
O(12)	2775(4)	87(2)	-2313(3)	139(3)
C(13)	2841(3)	517(2)	-2648(3)	64(2)
C(14)	3103(3)	542(3)	-3451(3)	67(2)
Cl(15)	3798(1)	804(1)	-3417(1)	116(1)
Cl(16)	2692(1)	930(1)	-4128(1)	90(1)
O(21)	657(2)	2556(2)	5562(2)	79(1)
O(22)	1448(2)	2093(3)	5344(3)	97(2)
C(23)	1105(2)	2337(3)	5761(3)	56(1)
C(24)	1182(3)	2337(3)	6664(4)	73(2)
Cl(25)	1626(1)	1809(1)	7057(1)	101(1)
Cl(26)	1449(2)	2974(1)	6952(2)	154(2)

[a] U(eq) está definido como un tercio de la traza del tensor ortogonalizado U^{ij}

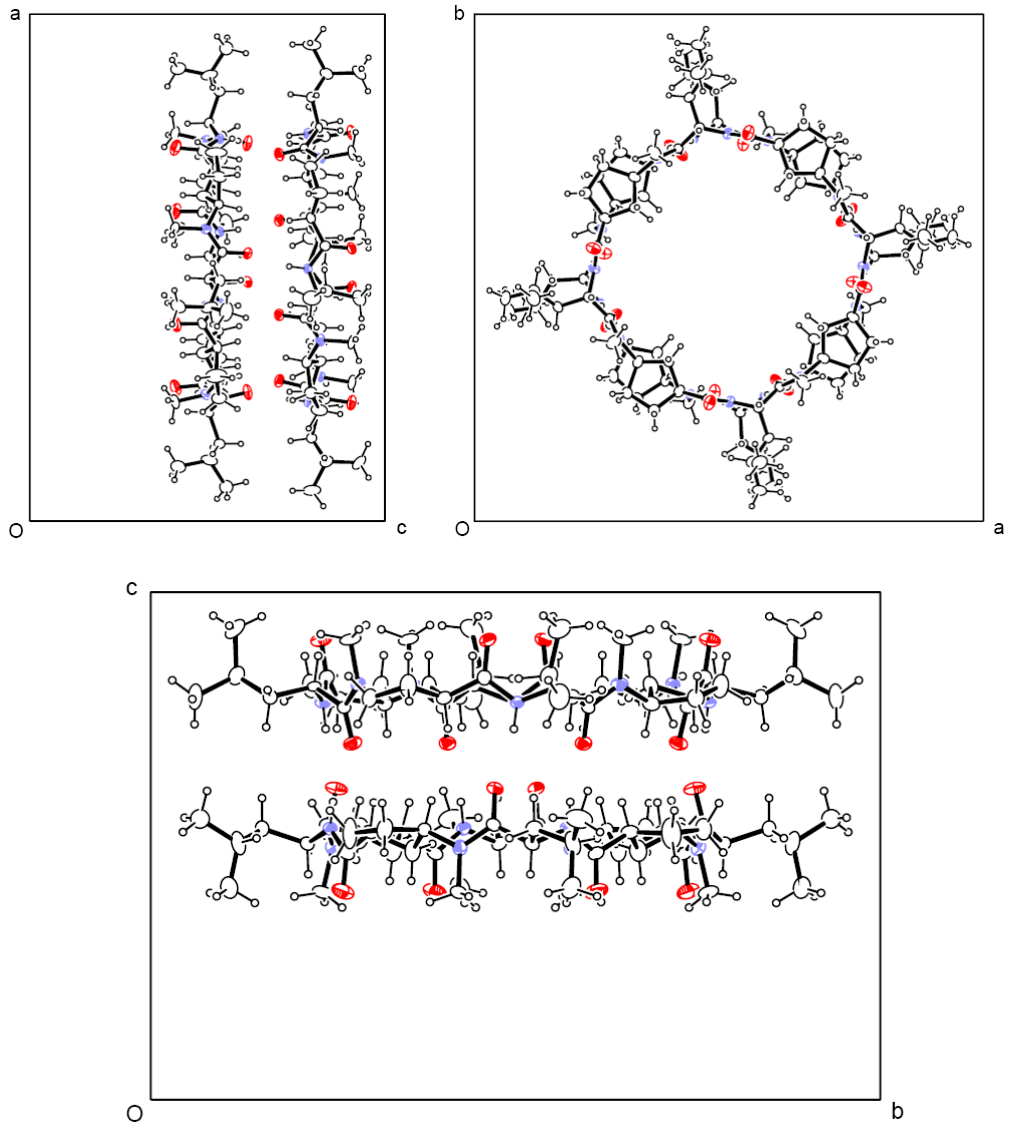


Figura 10. Diagramas ORTEP de la estructura resultante de la cristalización del ciclooctapéptido ***ciclo*[(*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp)$_4$-] (22)** [HOMODÍMERO **D$_{22}$**]. *Plano ac*: arriba izquierda; *Plano ab*: arriba derecha; *Plano bc*: abajo.

Cristal resultante de *ciclo*[(*L*-γ-Acp-*D*-^{Me}N-Ala)$_4$-] (31)

El cristal que se probó inicialmente (un prisma de buen tamaño) difractó de manera adecuada (resolución mayor de 0.80 Å) por lo que, a pesar de estar maclado, se continuó con la recogida de datos. De este modo, se observó que se trataba de una macla no merohédrica con tres dominios. Las leyes de macla están definidas por giros de 180º alrededor de ejes recíprocos; (0, 1, -0.174) para orientar el primer dominio con el segundo y (0, 0, 1) para orientar el primer dominio con el tercero. La proporción refinada de las poblaciones de los tres dominios de la macla es de 65.77(9)% para el primero, 23.94(7)% para el segundo y la complementaria de 10.29(5)% para el tercero. Estos datos están recogidos en la Tabla 6.

La configuración absoluta que mejor se ajusta a los datos experimentales es la que aparece en todas las figuras y tablas. La estructura, por contener átomos con más densidad electrónica (Cl), tiene mayor capacidad de dispersión anómala para la longitud de onda empleada (Kα de Mo) por lo que la desviación estándar del parámetro de Flack [0.00(8) en la Tabla 6] es razonablemente pequeña, así que la fiabilidad en la determinación de la configuración absoluta es relativamente aceptable.

En la Tabla 6 se recoge la información experimental más importante. El grupo espacial es P1, mientras que la parte independiente es [($C_{40}H_{64}N_8O_8$), (CH_2Cl_2)]; una molécula del ciclopéptido y una molécula de diclorometano. Por otro lado hay dos ^{Me}N-Ala que se encuentran desordenadas en dos posiciones próximas. Los factores de ocupación son de 38(2)% para los átomos etiquetados como A y de 62(2)% para los etiquetados como B.

Cabe resaltar que el ciclopéptido se pliega sobre sí mismo para satisfacer las posibilidades de enlaces de hidrógeno intramoleculares.

Tabla 6. Datos cristalográficos y refinamiento de la estructura resultante de la cristalización del ciclooctapéptido ***ciclo*[(*L*-γ-Acp-*D*-^{Me}N-Ala)$_4$-] (31)** [ESTRUCTURA PLEGADA **P_{31}**].

Identification code	jg04maa3n
Empirical formula	$C_{40}H_{64}N_8O_8$, CH_2Cl_2
Formula weight	869.92
Temperature	100(2) K
Wavelength	0.71073 Å
Crystal system	Triclinic
Space group	*P*1
Unit cell dimensions	a = 10.0898(4) Å □= 89.144(3)°
	b = 10.6839(5) Å □= 73.513(3)°
	c = 12.2736(5) Å □ = 62.133(2)°
Volume	1110.69(8) Å3
Z	1
Density (calculated)	1.301 Mg/m3
Absorption coefficient	0.206 mm-1
F(000)	466
Crystal size	0.46 × 0.43 × 0.16 mm3
Theta range for data collection	1.75 to 27.10°
Index ranges	-12<=h<=12, -13<=k<=13, -15<=l<=15
Reflections collected	25558
Independent reflections	14367 [R(int) = 0.0397]
Completeness to theta = 27.10°	96.4 %
Absorption correction	Semi-empirical from equivalents
Max. and min. transmission	0.9459 and 0.8289
Refinement method	Full-matrix least-squares on F2
Data / restraints / parameters	14367 / 13 / 617
Goodness-of-fit on F2	1.055
Twin fractions:	0.6577(9) / 0.2394(7) / 0.1029(5)
Final R indices [I>2sigma(I)]	R1 = 0.0431, wR2 = 0.1230
R indices (all data)	R1 = 0.0473, wR2 = 0.1266
Absolute structure parameter	0.00(8)
Largest diff. peak and hole	0.320 and -0.406 e.Å-3

Tabla 7. Coordenadas atómicas (x 10^4) y parámetros de desplazamiento isotrópico equivalente (Å^2 × 10^3) de la estructura resultante de la cristalización de ***ciclo*[(*L*-γ-Acp-*D*-^{Me}N-Ala)$_4$-] (31)** [ESTRUCTURA PLEGADA **P_{31}**].

	x	y	z	U(eq)[a]
N(11)	524(3)	7094(4)	8973(3)	25(1)
C(12)	-396(4)	8644(4)	8995(3)	27(1)
C(13)	341(5)	9100(4)	7919(3)	27(1)
C(14)	1608(4)	9370(4)	8160(4)	29(1)
C(15)	1279(5)	9420(5)	9482(4)	35(1)
C(16)	-321(5)	9460(5)	9954(3)	29(1)
C(17)	3258(5)	8154(5)	7584(4)	31(1)
O(18)	3500(4)	6907(3)	7505(3)	41(1)
N(21)	4446(4)	8484(4)	7233(3)	34(1)
C(22)	4206(5)	9934(5)	7303(4)	41(1)
C(23A)[b]	6090(20)	7610(20)	6905(15)	31(5)
C(24A)[b]	7100(20)	7640(20)	7615(15)	35(4)
C(25A)[b]	6830(20)	7690(20)	5628(15)	28(5)
O(26A)[b]	8019(12)	7820(20)	5278(8)	52(5)
C(23B)[c]	6086(14)	7155(13)	6779(9)	22(2)
C(24B)[c]	7012(13)	7048(14)	7590(9)	36(2)
C(25B)[c]	6940(13)	7181(14)	5532(11)	27(3)
O(26B)[c]	8365(6)	6767(11)	5230(5)	39(2)
N(31)	6026(4)	7688(4)	4885(3)	24(1)
C(32)	6600(5)	7701(5)	3657(3)	27(1)
C(33)	5223(6)	8451(5)	3183(4)	36(1)
C(34)	4716(5)	7343(4)	3004(4)	25(1)
C(35)	6240(5)	5879(5)	2813(4)	33(1)
C(36)	7498(5)	6214(5)	2966(4)	37(1)
C(37)	3411(4)	7419(4)	4048(3)	22(1)
O(38)	3040(3)	8123(3)	4972(3)	35(1)
N(41)	2692(3)	6629(3)	3966(3)	20(1)
C(42)	1537(4)	6641(5)	5025(3)	27(1)
C(43)	2727(4)	6025(4)	2893(3)	20(1)
C(44)	1156(4)	6857(4)	2653(3)	25(1)
C(45)	3245(4)	4417(4)	2840(3)	19(1)
O(46)	2903(3)	3849(3)	2185(2)	26(1)

N(51)	4107(3)	3705(3)	3514(3)	20(1)
C(52)	4720(4)	2154(4)	3497(3)	20(1)
C(53)	5210(5)	1695(4)	4569(3)	24(1)
C(54)	6941(5)	1385(4)	4274(3)	24(1)
C(55)	7508(4)	1354(5)	2952(3)	27(1)
C(56)	6256(4)	1314(4)	2510(3)	21(1)
C(57)	7063(5)	2560(5)	4842(3)	28(1)
O(58)	6089(4)	3813(3)	4891(3)	39(1)
N(61)	8348(4)	2168(4)	5201(3)	31(1)
C(62)	9467(5)	683(5)	5212(4)	36(1)
C(63A)[b]	8270(20)	3570(20)	5659(15)	24(4)
C(64A)[b]	9750(30)	3610(30)	4900(19)	44(5)
C(65A)[b]	8280(20)	3460(20)	6902(16)	25(4)
O(66A)[b]	9080(20)	3820(30)	7270(8)	60(6)
C(63B)[c]	8764(13)	3122(12)	5651(10)	23(3)
C(64B)[c]	10333(14)	3020(14)	4912(12)	36(3)
C(65B)[c]	8712(14)	2959(13)	6907(10)	25(3)
O(66B)[c]	9829(8)	2760(10)	7233(5)	33(2)
N(71)	7328(4)	3076(4)	7581(3)	23(1)
C(72)	7100(4)	2898(4)	8796(3)	23(1)
C(73)	6085(4)	2161(4)	9140(3)	23(1)
C(74)	4360(4)	3368(4)	9347(3)	23(1)
C(75)	4408(4)	4793(4)	9549(3)	24(1)
C(76)	6086(4)	4324(4)	9581(3)	27(1)
C(77)	3826(4)	3370(4)	8307(3)	20(1)
O(78)	4771(3)	2755(3)	7365(2)	31(1)
N(81)	2266(3)	4159(4)	8423(3)	22(1)
C(82)	1836(5)	4220(5)	7370(3)	29(1)
C(83)	978(4)	4758(4)	9520(3)	23(1)
C(84)	46(5)	3940(5)	9747(4)	32(1)
C(85)	-115(4)	6347(5)	9589(3)	27(1)
O(86)	-1499(3)	6913(3)	10213(3)	40(1)
C(1)	2962(6)	1080(6)	1272(5)	50(1)
Cl(1)	4690(2)	-355(2)	425(1)	59(1)
Cl(2)	1706(2)	565(2)	2219(1)	61(1) Cl(33)

[a] U(eq) está definido como un tercio de la traza del tensor ortogonalizado U^{ij}

[b] Parámetro de población: 0.38(2)

[c] Parámetro de población: 0.62(2)

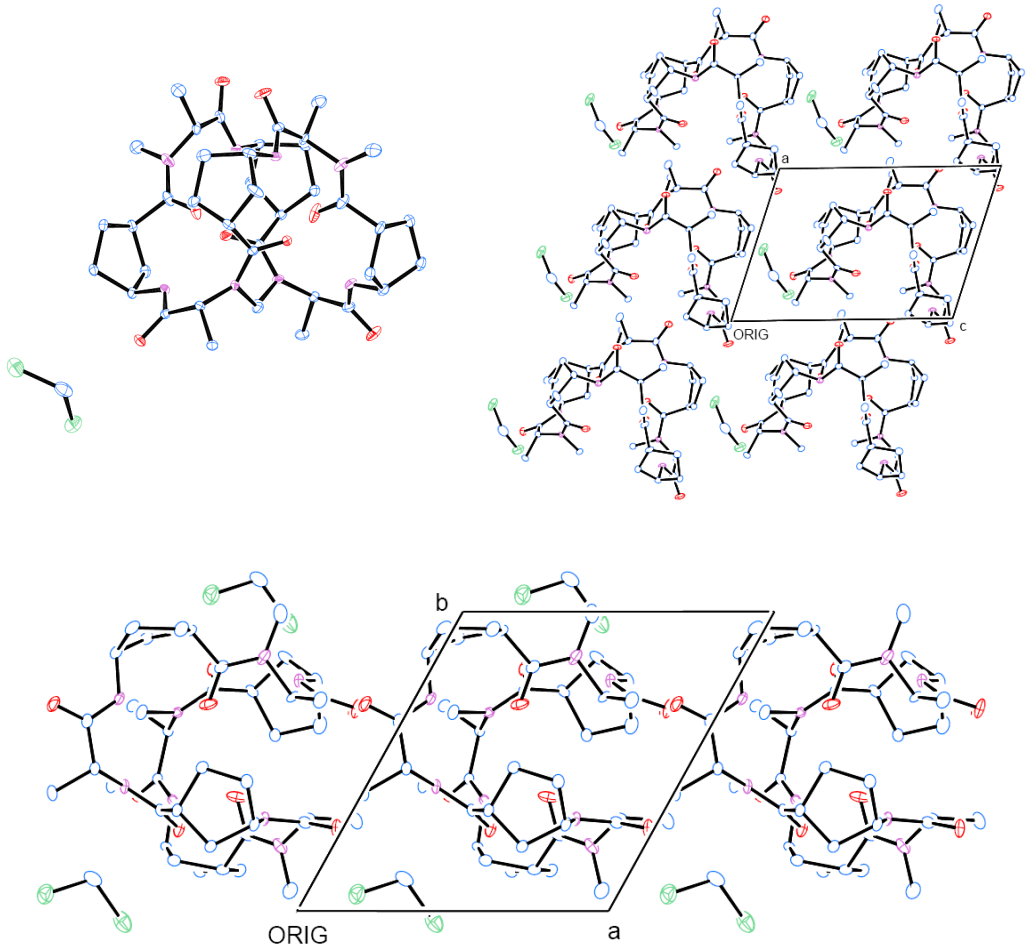


Figura 11. Diagramas ORTEP de la estructura resultante de la cristalización del ciclooctapéptido ***ciclo*[(*L*-γ-Acp-*D*-^{Me}N-Ala)$_4$-] (31)** [ESTRUCTURA PLEGADA **P$_{31}$**]. *Plano bc*: arriba izquierda; *Plano ac*: arriba derecha; *Plano ab*: abajo.

29.3.3. HETERODÍMEROS CICLOHEXAPEPTÍDICOS Acp/Ach

Cristal resultante de *ciclo*[(*D*-Leu-*L*-^{Me}N-γ-Acp)$_3$-] (20) + *ciclo*[(*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach)$_3$-] (32)

La estructura cristalina es enantioméricamente pura y la configuración absoluta que mejor se ajusta a los datos experimentales es la que aparece en todas las figuras y tablas. La estructura, por contener átomos de alta densidad electrónica, tendría bastante capacidad de dispersión anómala si se hubiera utilizado la longitud de onda Kα del Cu. Como ese difractómetro no estaba disponible hemos tenido que usar Kα del Mo (mucha menor capacidad de dispersión anómala) por lo que la desviación estándar del parámetro de Flack [0.06(12) en la Tabla 8] no es buena, así que la fiabilidad en la determinación de la configuración absoluta tampoco lo es.

En la Tabla 8 se recoge la información experimental más importante. El grupo espacial es $P2_12_12_1$, lo que implica que hay cuatro operaciones de simetría relacionando las moléculas de la celdilla unidad. Esto quiere decir que sólo un cuarto de la celdilla unidad es cristalográficamente independiente. Todo lo demás se puede generar a partir de la unidad asimétrica aplicando la simetría del grupo espacial. En este caso la parte independiente es [$C_{51}H_{66}N_6O_6$, $C_{39}H_{66}N_6O_6$, 2 × ($CHCl_3$)]; dos moléculas de péptido (un heterodímero) y dos moléculas de cloroformo (La primera no está desordenada y las dos restantes están desordenadas en dos posiciones al 50%). En el interior del canal formado por los dímeros hay una molécula y media de $CHCl_3$.

Este es el primer caso en el que los dímeros forman canales tubulares en el cristal. El dímero se forma a través de 6 enlaces de hidrógeno convencionales del tipo N-H···O=C y los dímeros se apilan a través de 6 contactos de hidrógeno débil del tipo CH_3···O=C.

Los valores de los factores de desacuerdo (R's) son ligeramente altos (hemos de tener en cuenta que el cristal sólo ha difractado hasta 1.0 Å), pero aceptables para una estructura de estas características.

Tabla 8. Datos cristalográficos y refinamiento de la estructura resultante de la cristalización de ***ciclo*[(*D*-Leu-*L*-^{Me}N-γ-Acp)$_3$-] (20) + *ciclo*[(*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach)$_3$-] (32)** [HETERODÍMERO **$D_{20/32}$**].

Identification code	jg11ro3n	
Empirical formula	$C_{39}H_{66}N_6O_6$, $C_{51}H_{66}N_6O_6$, 2($CHCl_3$)	
Formula weight	1812.81	
Temperature	120.0(1) K	
Wavelength	0.71073 Å	
Crystal system	Orthorhombic	
Space group	$P2_12_12_1$	
Unit cell dimensions	a = 11.1341(15) Å	α= 90°
	b = 26.561(4) Å	β= 90°
	c = 33.533(5) Å	γ = 90°
Volume	9917(2) Å^3	
Z	4	
Density (calculated)	1.214 Mg/m^3	
Absorption coefficient	0.235 mm^{-1}	
F(000)	3872	
Crystal size	0.39 × 0.24 × 0.14 mm^3	
Theta range for data collection	0.98 to 20.88°	
Index ranges	-11<=h<=11, 0<=k<=26, 0<=l<=33	
Reflections collected	51514	
Independent reflections	10414 [R(int) = 0.0656]	
Completeness to theta = 20.88°	99.6 %	
Absorption correction	Semi-empirical from equivalents	
Max. and min. transmission	0.968 and 0.627	
Refinement method	Full-matrix least-squares on F^2	
Data / restraints / parameters	10414 / 1386 / 1147	
Goodness-of-fit on F^2	1.068	
Final R indices [I>2sigma(I)]	R1 = 0.0822, wR2 = 0.2222	
R indices (all data)	R1 = 0.1093, wR2 = 0.2494	
Absolute structure parameter	0.06(12)	
Largest diff. peak and hole	0.96 and -0.412 e.Å^{-3}	

Tabla 9. Coordenadas atómicas (x 10^4) y parámetros de desplazamiento isotrópico equivalente (Å^2 × 10^3) de la estructura resultante de la cristalización de la mezcla ciclooctapeptídica ***ciclo*[(*D*-Leu-*L*-^{Me}N-γ-Acp)$_3$-] (20) + *ciclo*[(*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach)$_3$-] (32)** [HETERODÍMERO **D$_{20/32}$**].

	x	y	z	U(eq)[a]
N(101)	3199(6)	4209(2)	805(2)	51(2)
C(102)	3636(7)	3716(3)	916(2)	53(2)
C(103)	3057(8)	3309(3)	647(2)	58(2)
C(104)	3582(7)	2792(3)	716(3)	58(2)
C(105)	4567(9)	2633(3)	496(3)	80(3)
C(106)	5039(10)	2166(3)	540(3)	89(3)
C(107)	4551(8)	1837(3)	799(3)	65(2)
C(108)	3602(8)	1975(3)	1023(3)	72(3)
C(109)	3132(8)	2457(3)	985(3)	63(2)
C(110)	3279(7)	3625(3)	1351(2)	47(2)
O(111)	2265(5)	3494(3)	1429(2)	68(2)
N(112)	4090(5)	3711(3)	1638(2)	56(2)
C(113)	5372(8)	3813(7)	1563(3)	135(6)
C(114)	3716(7)	3643(3)	2056(2)	52(2)
C(115)	4118(7)	4057(3)	2325(2)	52(2)
C(116)	3671(7)	3983(3)	2747(2)	56(2)
C(117)	4085(10)	3481(3)	2907(3)	76(3)
C(118)	3703(11)	3053(3)	2633(3)	85(3)
C(119)	4131(9)	3130(3)	2210(3)	74(3)
C(120)	4084(7)	4404(3)	3011(3)	57(2)
O(121)	5115(6)	4571(3)	2994(2)	90(2)
N(131)	3312(6)	4568(2)	3282(2)	49(2)
C(132)	3626(7)	4973(3)	3552(2)	51(2)
C(133)	2992(8)	4888(3)	3955(2)	56(2)
C(134)	3240(7)	5291(3)	4257(2)	54(2)
C(135)	4210(8)	5250(4)	4517(2)	65(2)
C(136)	4411(10)	5605(4)	4807(3)	82(3)
C(137)	3671(10)	6009(4)	4840(3)	85(3)
C(138)	2754(10)	6079(4)	4577(3)	84(3)

C(139)	2535(8)	5715(3)	4288(3)	66(2)
C(140)	3163(7)	5460(3)	3362(2)	48(2)
O(141)	2077(5)	5496(2)	3317(2)	61(2)
N(142)	3926(5)	5823(2)	3256(2)	45(2)
C(143)	5234(6)	5794(3)	3331(3)	56(2)
C(144)	3446(6)	6276(3)	3056(2)	45(2)
C(145)	3930(7)	6342(3)	2639(2)	45(2)
C(146)	3278(6)	6783(3)	2435(2)	42(2)
C(147)	3421(8)	7254(3)	2679(2)	56(2)
C(148)	2974(9)	7189(3)	3105(2)	64(2)
C(149)	3596(8)	6752(3)	3308(2)	59(2)
C(150)	3763(7)	6873(3)	2019(2)	48(2)
O(151)	4824(5)	6801(3)	1929(2)	70(2)
N(161)	2990(6)	7064(3)	1756(2)	51(2)
C(162)	3296(7)	7171(3)	1344(2)	52(2)
C(163)	2777(9)	7678(3)	1199(2)	66(2)
C(164)	3158(12)	7790(4)	783(3)	96(3)
C(165)	4258(12)	8027(5)	716(4)	133(4)
C(166)	4637(15)	8096(7)	323(4)	192(7)
C(167)	3932(19)	7951(8)	23(5)	206(8)
C(168)	2870(20)	7717(7)	75(4)	204(8)
C(169)	2495(16)	7630(4)	464(3)	149(5)
C(170)	2836(6)	6747(3)	1082(2)	47(2)
O(171)	1741(5)	6694(2)	1061(2)	65(2)
N(172)	3621(5)	6439(2)	901(2)	53(2)
C(173)	4929(6)	6543(4)	898(3)	65(3)
C(174)	3170(7)	6005(3)	667(2)	51(2)
C(175)	3743(7)	5522(3)	800(2)	59(2)
C(176)	3266(7)	5071(3)	553(3)	63(2)
C(177)	3488(9)	5164(3)	116(2)	72(3)
C(178)	2913(10)	5652(3)	-17(3)	75(3)
C(179)	3355(10)	6101(3)	221(2)	69(3)
C(180)	3872(7)	4597(3)	685(3)	69(2)
O(181)	4974(6)	4550(3)	672(4)	138(4)
N(201)	-282(5)	3667(2)	1401(2)	47(2)
C(202)	-907(7)	3786(3)	1030(2)	54(2)

C(203)	-722(10)	3371(3)	727(3)	77(3)
C(204)	-1171(16)	2846(4)	866(4)	151(6)
C(205)	-2506(17)	2860(6)	919(5)	210(8)
C(206)	-720(20)	2447(5)	587(5)	217(9)
C(210)	-425(7)	4281(3)	875(2)	49(2)
O(211)	678(5)	4335(2)	831(2)	75(2)
N(212)	-1158(5)	4655(2)	778(2)	59(2)
C(213)	-2473(7)	4625(4)	835(4)	98(4)
C(214)	-658(7)	5154(3)	673(2)	56(2)
C(215)	-573(9)	5509(3)	1015(3)	68(3)
C(216)	-898(7)	6030(3)	861(2)	59(2)
C(217)	-1738(10)	5907(3)	519(3)	80(3)
C(218)	-1281(9)	5435(3)	336(3)	72(3)
C(220)	-1420(7)	6366(3)	1157(3)	63(2)
O(221)	-2488(6)	6318(3)	1267(3)	130(4)
N(231)	-734(5)	6715(2)	1330(2)	47(2)
C(232)	-1173(7)	7069(3)	1627(2)	52(2)
C(233)	-930(8)	7609(3)	1510(2)	60(2)
C(234)	-1406(8)	7758(3)	1095(3)	70(3)
C(235)	-2740(8)	7695(4)	1065(3)	88(3)
C(236)	-1085(13)	8305(4)	1012(4)	112(4)
C(240)	-580(6)	6956(3)	2026(2)	45(2)
O(241)	522(4)	7022(3)	2056(2)	63(2)
N(242)	-1227(5)	6832(2)	2344(2)	49(2)
C(243)	-2521(7)	6675(4)	2312(3)	82(3)
C(244)	-642(7)	6768(3)	2738(2)	48(2)
C(245)	-345(8)	6225(3)	2836(2)	59(2)
C(246)	-235(7)	6209(3)	3295(2)	50(2)
C(247)	-638(7)	6731(3)	3440(2)	53(2)
C(248)	-1330(8)	6955(3)	3090(2)	59(2)
C(250)	-962(7)	5784(3)	3445(3)	57(2)
O(251)	-2025(5)	5821(3)	3543(2)	88(2)
N(261)	-389(5)	5335(2)	3464(2)	48(2)
C(262)	-993(6)	4849(3)	3551(2)	49(2)
C(263)	-914(7)	4715(3)	3986(2)	56(2)
C(264)	-1727(7)	4272(3)	4104(3)	66(2)

C(265)	-3030(8)	4415(4)	4071(4)	88(3)
C(266)	-1410(10)	4102(4)	4529(3)	83(3)
C(270)	-386(7)	4457(3)	3294(2)	50(2)
O(271)	695(4)	4362(2)	3349(2)	64(2)
N(272)	-1020(5)	4205(3)	3031(2)	54(2)
C(273)	-2253(9)	4362(5)	2911(4)	119(5)
C(274)	-433(7)	3812(3)	2786(2)	50(2)
C(275)	-20(8)	3990(3)	2384(2)	56(2)
C(276)	-36(7)	3526(3)	2108(2)	52(2)
C(277)	-497(8)	3098(3)	2367(2)	60(2)
C(278)	-1170(7)	3344(3)	2707(2)	57(2)
C(280)	-821(7)	3619(4)	1760(3)	62(2)
O(281)	-1917(5)	3648(4)	1792(2)	105(3)
C(1)	2250(14)	5291(3)	1944(3)	107(4)
Cl(11)	1917(2)	5200(1)	2443(1)	74(1)
Cl(12)	1772(2)	4790(1)	1656(1)	70(1)
Cl(13)	1745(3)	5857(1)	1783(1)	89(1)
C(2)	6504(15)	5435(10)	1958(4)	124(9)
Cl(21)	5871(7)	5281(2)	2379(2)	104(2)
Cl(22)	7987(7)	5471(5)	1992(2)	163(4)
Cl(23)	5764(7)	5281(4)	1552(2)	139(3)
C(3)	8363(14)	6172(5)	4627(7)	96(7)
Cl(31)	9760(5)	6007(2)	4549(2)	106(2)
Cl(32)	7365(6)	5718(2)	4707(2)	104(2)
Cl(33)	8070(5)	6734(2)	4833(2)	90(2)

[a] U(eq) está definido como un tercio de la traza del tensor ortogonalizado U^{ij}

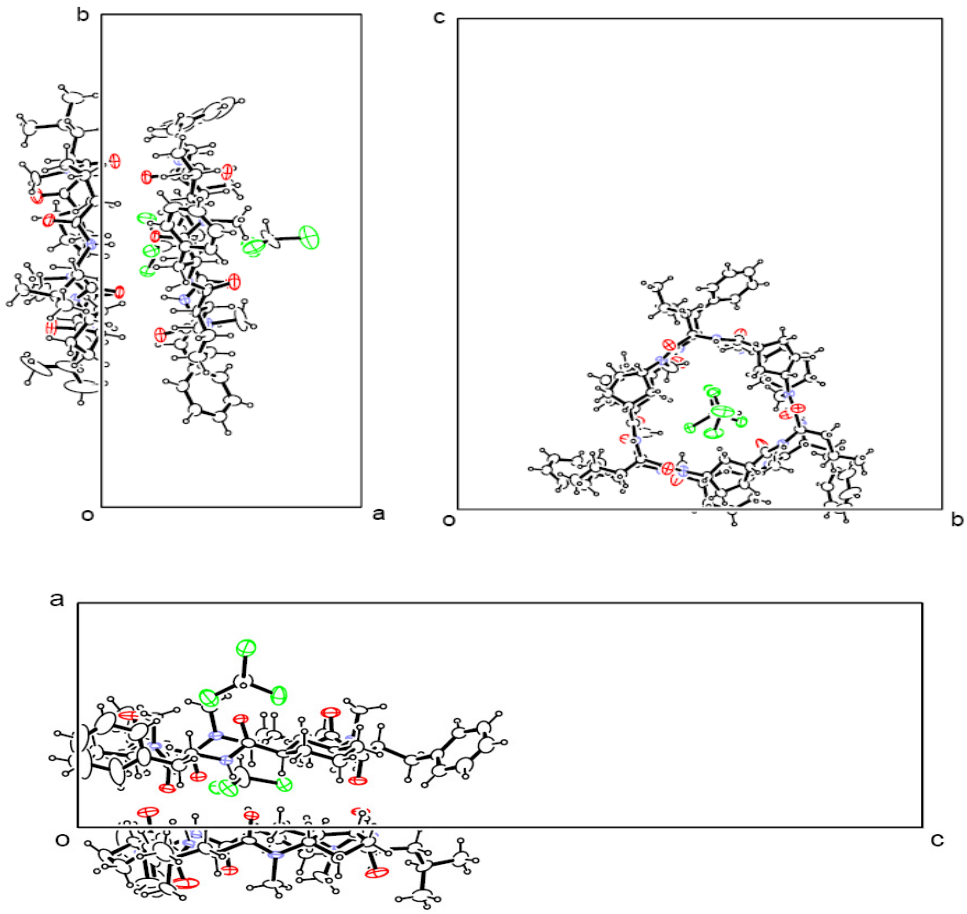


Figura 12. Diagramas ORTEP de la estructura resultante de la cristalización de la mezcla ***ciclo*[(*D*-Leu-*L*-^{Me}N-γ-Acp)$_3$-] (20) + *ciclo*[(*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach)$_3$-] (32)** [HETERODÍMERO **D$_{20/32}$**]. *Plano ab*: arriba izquierda; *Plano bc*: arriba derecha; *Plano ac*: abajo.

29.4. TABLAS RESUMEN

Tabla 10. Estudio de distancias de enlace entre subunidades ciclopeptídicas correspondientes a las estructuras cristalinas de homo- y heterodímeros ciclohexapeptídicos [D_{20}: homodímero de **20**; D_{32}: homodímero de **32**; $D_{20/32}$: heterodímero de **20 + 32**].

Dímero	$^{Me}N\cdots C{=}O$[a]	$C_{H\gamma}\cdots C_{H\alpha}$	$C_{H\alpha}\cdots C_{H\gamma}$	$O{=}C\cdots N^{Me}$	$NH\cdots O{=}C$	$C_{H\alpha}\cdots C_{H\alpha}$	$C{=}O\cdots HN$
	5.65	4.49	4.74	5.85	2.90	5.09	2.88
D_{20}	5.74	4.61	4.45	5.71	2.88	5.06	2.91
	5.62	4.42	4.50	5.63	2.87	5.14	2.98
	5.71	4.56	4.51	5.58	2.83	5.05	2.93
D_{32}	5.84	4.79	4.85	5.86	2.91	4.88	2.97
	5.62	4.61	4.63	5.67	3.00	5.02	2.89
	5.68	4.58	4.39	5.61	2.93	5.07	2.90
$D_{20/32}$	5.48	4.18	4.48	5.66	2.97	5.15	2.82
	5.49	4.19	4.59	5.71	2.83	5.08	2.87

[a] Las distancias de enlace están expresadas en Å

30. ESPECTROS DE FT-IR

30.1. GENERAL

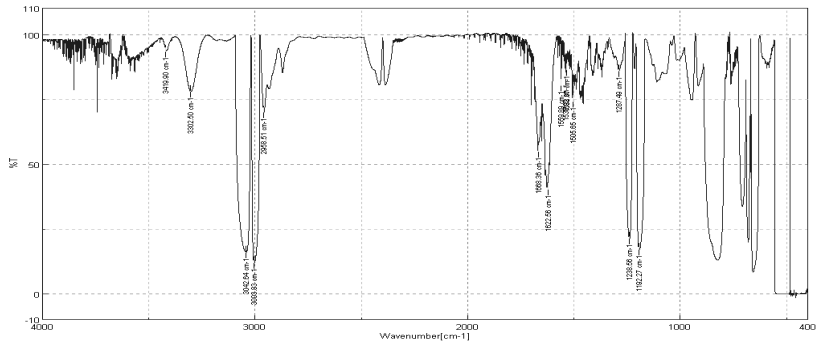
Las medidas de FT-IR fueron llevadas a cabo en un espectrofotómetro *Jasco FT/IR-400*, empleando celdillas de NaCl que contienen disoluciones 5-10 mM en $CHCl_3$. En el caso en que los compuestos no fueron solubles en $CHCl_3$, se realizaron las medidas depositando las muestras sobre pastillas de CaF_2. Todas las medidas, salvo que se especifique lo contrario, se llevaron a cabo a 25 ºC.

Las señales espectroscópicas más relevantes son: el modo de vibración ***amida Ia*** (que se corresponde con la vibración del C=O en la componente perpendicular al plano de la amida), el modo de vibración ***amida Ib*** (correspondiente al C=O en su componente paralela),[43] el modo de vibración ***amida II*** / ***II'*** (vibración en el plano del NH y que a su vez se corresponde con la del enlace C-N) y el modo de vibración ***amida A*** (derivada del *stretching*[44] del protón amida).

30.2. CICLOTETRAPÉPTIDOS

30.2.1. CICLOTETRAPÉPTIDOS DERIVADOS DEL ÁCIDO 3-AMINOCICLOPENTANOCARBOXÍLICO

***ciclo*[(*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp)$_2$-] (23)**



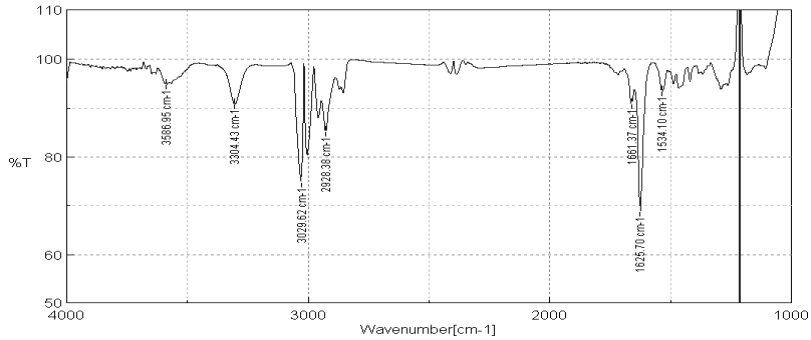
[43] El modo de vibración amida Ib también está relacionado con la vibración del carbonilo libre, y suele ser más débil que el de tipo Ia.

[44] Las vibraciones *stretching* (modos de elongación) son aquellas en las que los átomos de un enlace oscilan alargando y acortando la distancia del mismo sin modificar el eje ni el ángulo de enlace. Para una explicación más detallada, ver: a) Hollas, J. M. "Vibrational spectroscopy". En *Modern spectroscopy [4th edn]*; John Wiley & Sons: West Sussex (Reino Unido), **2004**; 137-198. b) Wartewig, S. "Basic principles of vibrational spectroscopy". En *IR and Raman spectroscopy: fundamental processing [Har/Cdr edn]*; Wiley-VCH: Weinheim (Alemania), **2003**; 27-34.

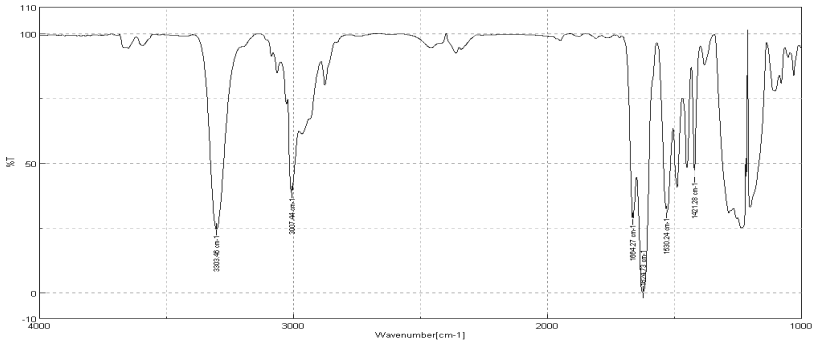
30.3. CICLOHEXAPÉPTIDOS

30.3.1. CICLOHEXAPÉPTIDOS DERIVADOS DEL ÁCIDO 3-AMINOCICLO-PENTANOCARBOXÍLICO

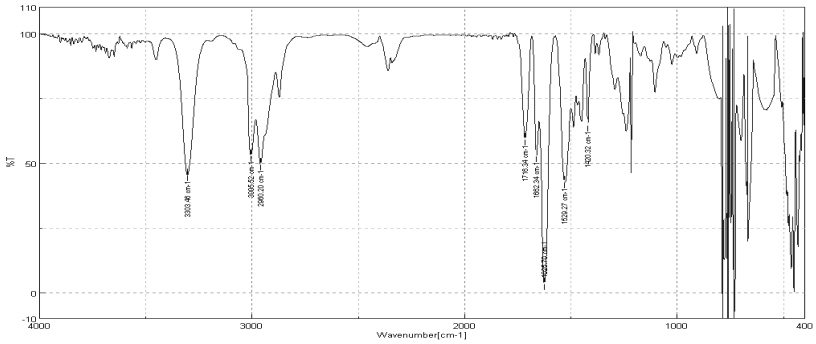
***ciclo*[(*D*-Leu-*L*-^{Me}N-γ-Acp)$_3$-] (20)**



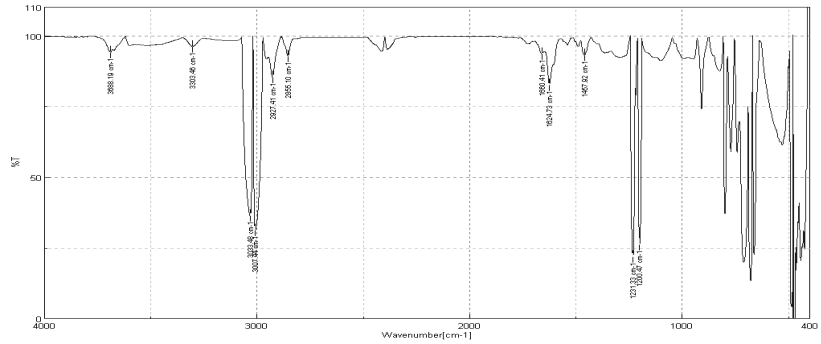
***ciclo*[(*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Acp)$_3$-] (33)**



***ciclo*{[*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp]$_2$-*L*-Lys(Z)-*D*-^{Me}N-γ-Acp-} (40)**

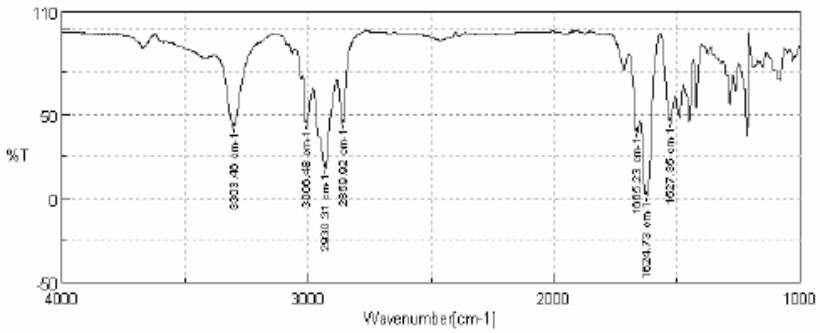


***ciclo*{[*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp]$_2$-*L*-Lys(PCBA)-*D*-^{Me}N-γ-Acp-} (46)**

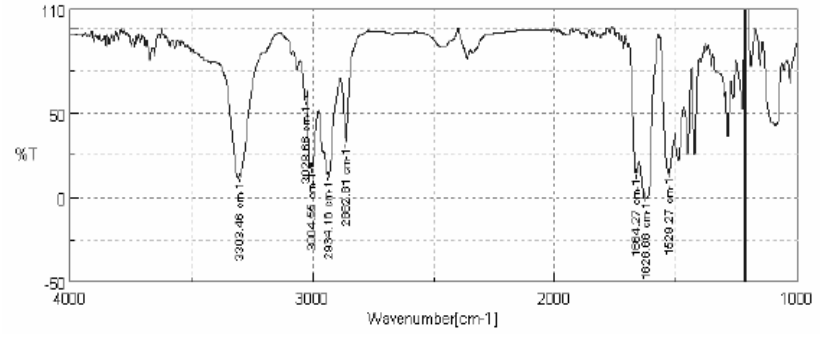


30.3.2. CICLOHEXAPÉPTIDOS DERIVADOS DEL ÁCIDO 3-AMINOCICLOHEXANOCARBOXÍLICO

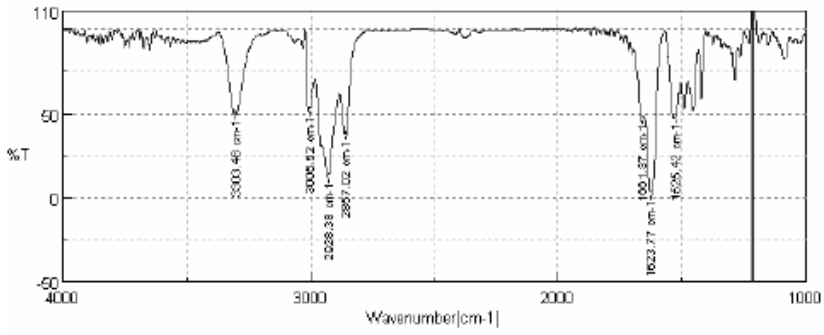
***ciclo*[(*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach)$_3$-] (32)**



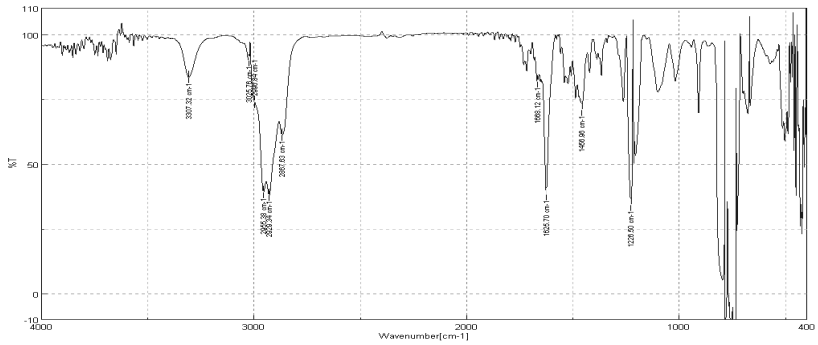
***ciclo*{[*L*-Phe-*D*-^{Me}N-γ-Ach]$_2$-*L*-Ser(Bn)-*D*-^{Me}N-γ-Ach-} (37)**



***ciclo*{[*L*-Phe-*D*-^{Me}N-γ-Ach]$_2$-*L*-Ser-*D*-^{Me}N-γ-Ach-} (38)**



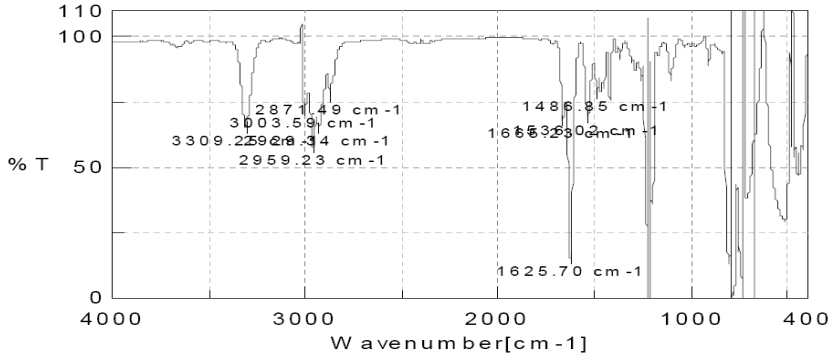
***ciclo*{[*L*-Phe-*D*-^{Me}N-γ-Ach]$_2$-*L*-Ser(TTF)-*D*-^{Me}N-γ-Ach-} (48)**



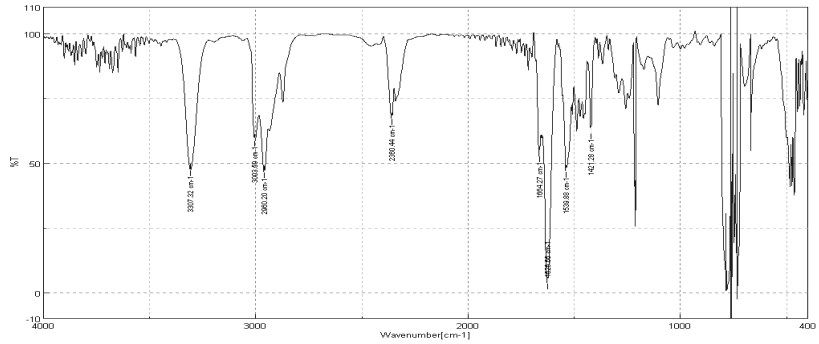
30.4. CICLOOCTAPÉPTIDOS

30.4.1. CICLOOCTAPÉPTIDOS DERIVADOS DEL ÁCIDO 3-AMINOCICLOPENTANOCARBOXÍLICO

***ciclo*[(*D*-Leu-*L*-^{Me}N-γ-Acp)$_4$-] (21)**

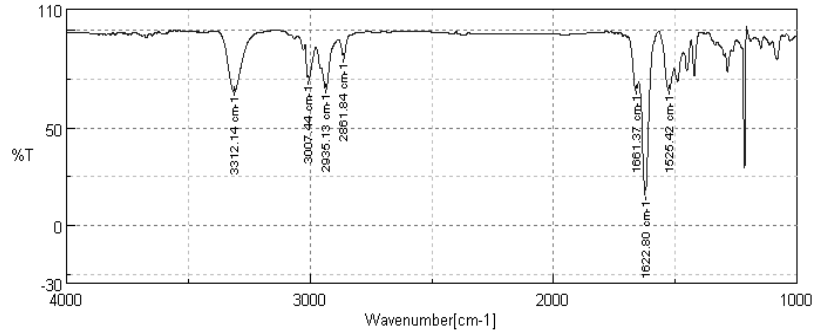


***ciclo*[(*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp)$_4$-] (22)**

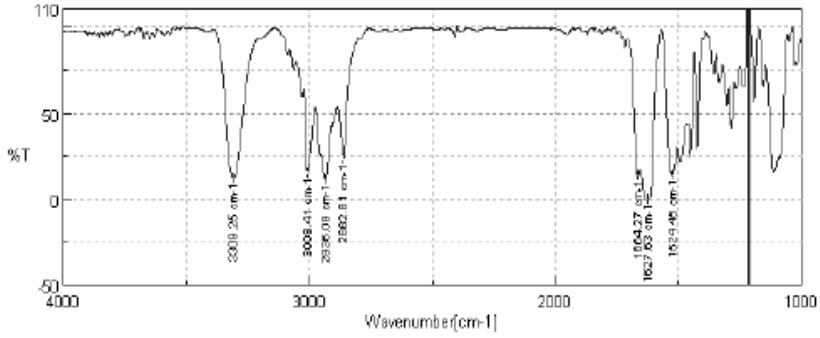


30.4.2. CICLOOCTAPÉPTIDOS DERIVADOS DEL ÁCIDO 3-AMINOCICLO-HEXANOCARBOXÍLICO

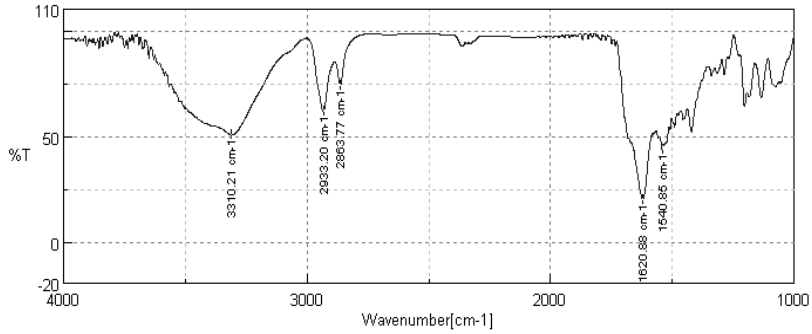
***ciclo*[(*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach)$_4$-] (34)**



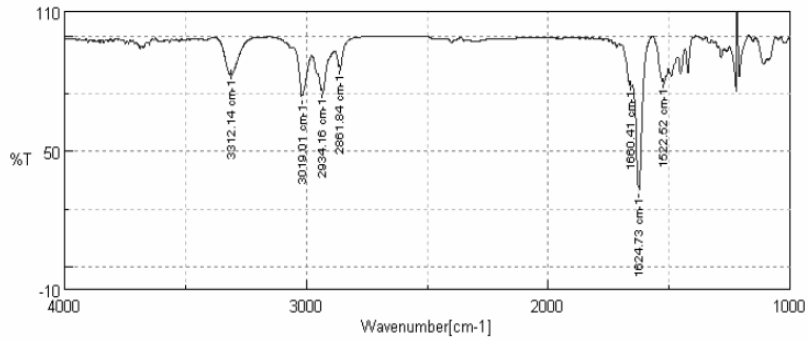
***ciclo*{[*D*-Ser(Bn)-*L*-^{Me}N-γ-Ach]$_4$-} (35)**



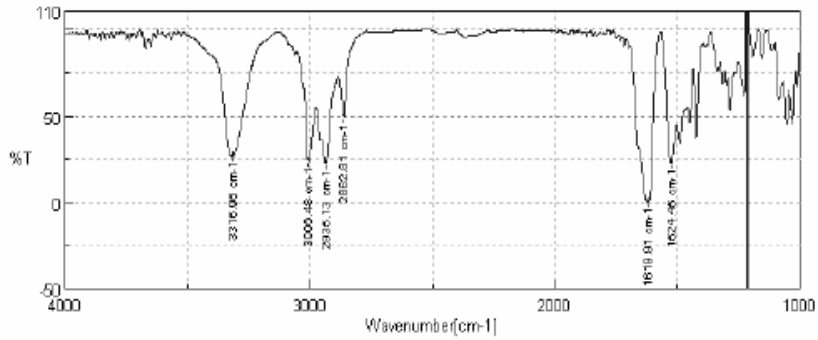
***ciclo*[(*D*-Ser-*L*-^{Me}N-γ-Ach)$_4$-] (36)**



***ciclo*{[*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach-*D*-Ser(Bn)-*L*-^{Me}N-γ-Ach-]$_2$-} (90)**



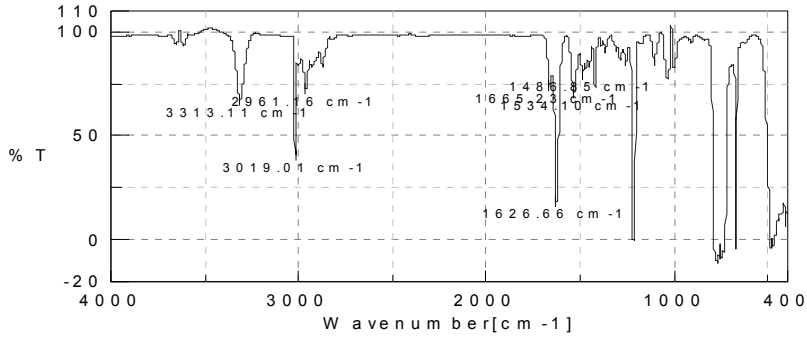
***ciclo*{[*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach-*D*-Ser-*L*-^{Me}N-γ-Ach-]$_2$-} (91)**



30.5. CICLODECAPÉPTIDOS

30.5.1. CICLODECAPÉPTIDOS DERIVADOS DEL ÁCIDO 3-AMINOCICLO-PENTANOCARBOXÍLICO

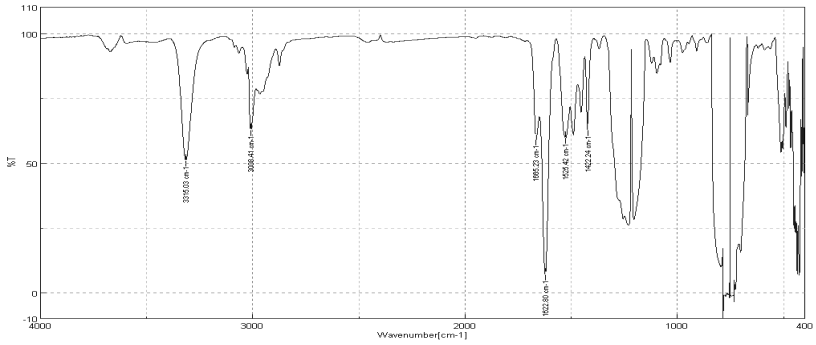
***ciclo*[(*D*-Leu-*L*-^{Me}N-γ-Acp)$_5$-] (25)**



30.6. CICLODODECAPÉPTIDOS

30.6.1. CICLODODECAPÉPTIDOS DERIVADOS DEL ÁCIDO 3-AMINOCICLO-PENTANOCARBOXÍLICO

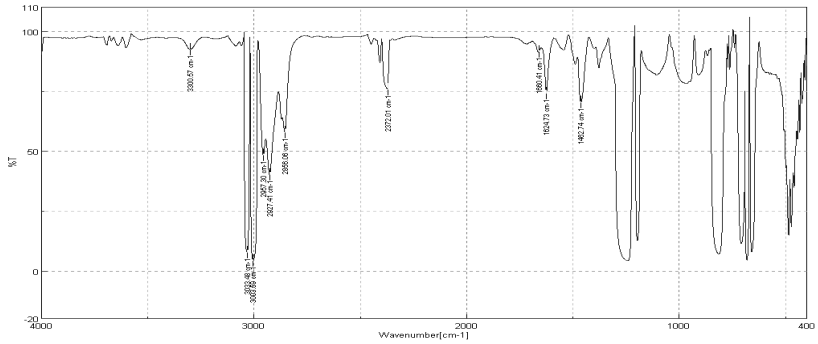
***ciclo*[(*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Acp)$_6$-] (26)**



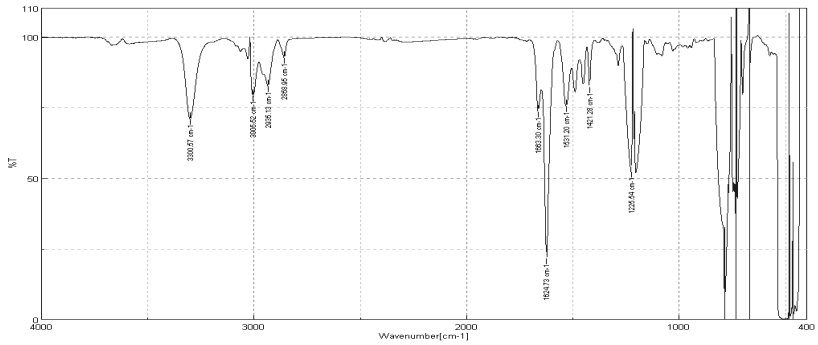
30.7. HETERODÍMEROS CICLOPEPTÍDICOS

30.7.1. HETERODÍMEROS CICLOHEXAPEPTÍDICOS Acp/Ach

***ciclo*[(*D*-Leu-*L*-^{Me}N-γ-Acp)$_3$-] (20) + *ciclo*[(*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach)$_3$-] (32)**

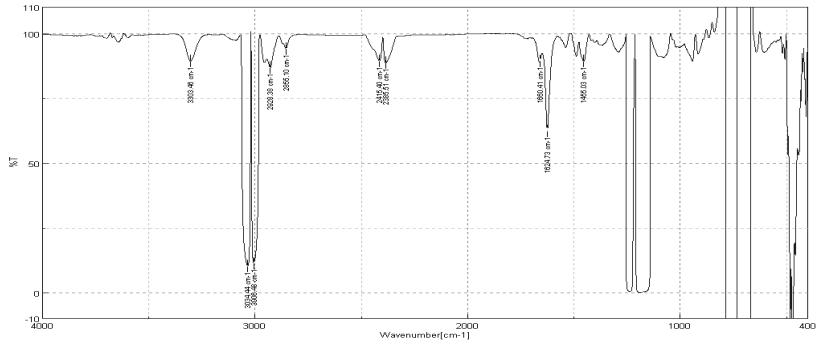


***ciclo*[(*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Acp)$_3$-] (33) + *ciclo*[(*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach)$_3$-] (32)**



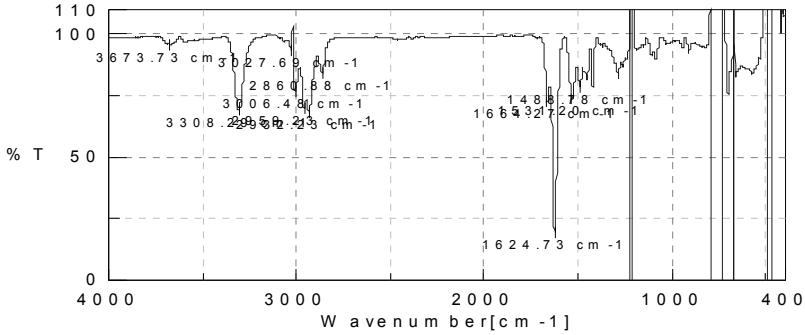
30.7.2. HETERODÍMEROS CICLOHEXAPEPTÍDICOS Acp/Acp

***ciclo*[(*D*-Leu-*L*-^{Me}N-γ-Acp)$_3$-] (20) + *ciclo*[(*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Acp)$_3$-] (33)**



30.7.3. HETERODÍMEROS CICLOOCTAPEPTÍDICOS Acp/Ach

***ciclo*[(*D*-Leu-*L*-^{Me}N-γ-Acp)$_4$-] (21) + *ciclo*[(*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach)$_4$-] (34)**



30.8. TABLAS RESUMEN

30.8.1. TABLA RESUMEN HOMODÍMEROS CICLOPEPTÍDICOS

Tabla 11. Estudio espectroscópico de FT-IR en $CHCl_3$ (25 ºC) de diversos ciclopéptidos que se autoensamblan para dar lugar a las correspondientes estructuras homodiméricas, en donde las bandas de vibración de C=O y NH permiten reflejar el motivo estructural que describen [**CT**: ciclotetrapéptido; **CHP**: ciclohexapéptido; **COP**: ciclooctapéptido; **CDP**: ciclodecapéptido; **CDDP**: ciclododecapéptido].

Ciclopéptido	Amida A	Amida Ia	Amida Ib	Amida II
CTP 23	3302	1668	1623	1538
CHP 20	3304	1661	1626	1534
CHP 33	3303	1664	1625	1530
CHP 40	3303	1662	1626	1529
CHP 46	3303	1660	1625	1531
CHP 32	3303	1665	1625	1527
CHP 37	3303	1664	1627	1529
CHP 38	3303	1661	1624	1525
CHP 48	3307	1668	1626	1534
COP 21	3309	1665	1626	1536
COP 22	3307	1664	1627	1540
COP 34	3312	1660	1623	1525
COP 35	3309	1660	1628	1524
COP 36[a]	3310	1661	1621	1541
CDP 25	3313	1665	1627	1534
CDDP 26	3315	1665	1623	1525

[a] FT-IR realizado depositando la muestra sobre pastilla de CaF_2

30.8.2. TABLA RESUMEN HETERODÍMEROS CICLOPEPTÍDICOS

Tabla 12. Estudio espectroscópico de FT-IR en $CHCl_3$ (25 ºC) de diversas mezclas ciclopeptídicas que se ensamblan para dar lugar a las correspondientes estructuras heterodiméricas, en donde las bandas de vibración de C=O y NH permiten reflejar el motivo estructural que describen [**CHP**: ciclohexapéptido; **COP**: ciclooctapéptido].

Ciclopéptidos	Amida A	Amida Ia	Amida Ib	Amida II
CHP 20 + 32[a]	3300	1660	1625	1543
CHP 33 + 32[a]	3300	1663	1625	1531
CHP 20 + 33[b]	3303	1660	1625	1539
COP 21 + 34[a]	3308	1664	1625	1531

[a] Heterodímero Acp/Ach

[b] Heterodímero Acp/Acp

31. MEDIDAS TERMODINÁMICAS

31.1. GENERAL

El cálculo de las variables termodinámicas de los procesos de autoensamblaje se llevó a cabo mediante medidas de los desplazamientos correspondientes a los NH de los α-aminoácidos a diferentes temperaturas y diferentes concentraciones, empleando una ecuación de regresión de tipo no lineal, que correlaciona los desplazamientos de los NH con la constante de asociación para un proceso en equilibrio entre monómero y dímero (modelo de LaPlanche).[13] La expresión matemática de dicha ecuación es la siguiente: $\delta_{obs} = \delta_{dim} + (\delta_{mon} - \delta_{dim})\cdot[-1 + (1 + 8K_aC)^{1/2}] / (4K_aC)$, donde C se corresponde con la concentración de cada experimento, mientras que K_a, δ_{mon} y δ_{dim} son valores calculados a partir de los datos observados (δ_{obs}). Para cada una de las condiciones estudiadas se calcularon los correspondientes valores de K_a a diferentes temperaturas. La correlación entre el $\log K_a$ y el inverso de la T (conocido como *representaciones de Van't Hoff*) nos permite obtener una recta a partir de la cual se relaciona la variación de entalpía (ΔH) con la pendiente y la variación de entropía (ΔS) con la ordenada en el origen.

31.2. CICLOTETRAPÉPTIDOS

31.2.1. CICLOTETRAPÉPTIDOS DERIVADOS DEL ÁCIDO 3-AMINOCICLOPENTANOCARBOXÍLICO

Análisis de dimerización de *ciclo*[(*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp)$_2$-] (23) mediante Van't Hoff. El ciclotetrapéptido **23** (previamente purificado por HPLC) se disolvió en $CDCl_3$ para dar lugar a diferentes disoluciones de concentración 20.02, 10.04, 5.05, 2.03 y 1.05 mM. Los espectros de ^{1}H RMN fueron registrados para cada disolución en un rango de temperaturas comprendido entre 243 y 303 K. La constante de asociación fue determinada para cada temperatura mediante regresión no lineal ajustando a la ecuación $\delta_{obs} = \delta_{dim} + (\delta_{mon} - \delta_{dim})\cdot[-1 + (1 + 8K_aC)^{1/2}] / (4K_aC)$ para los datos de δ(NH) obtenidos de los correspondientes espectros de ^{1}H RMN y de la concentración total de monómero. Las representaciones de Van't Hoff nos permitieron calcular los parámetros termodinámicos del proceso de dimerización.[45]

K_a (298 K) = 47 M^{-1}

ΔS (298 K) = -10.4 $J\cdot mol^{-1}\cdot K^{-1}$

ΔH (298 K) = -12.6 $kJ\cdot mol^{-1}$

ΔG (298 K) = -9.5 $kJ\cdot mol^{-1}$

[45] Los parámetros termodinámicos se calcularon teniendo en cuenta que $2.3\cdot R\cdot T\cdot \log K = \Delta H - T\cdot\Delta S$. De este modo, un ajuste adecuado a dicha ecuación permite calcular ΔH a partir de la pendiente y ΔS a partir de la ordenada en el origen. El valor de ΔG resulta de la ecuación $\Delta G = \Delta H - T\cdot\Delta S$.

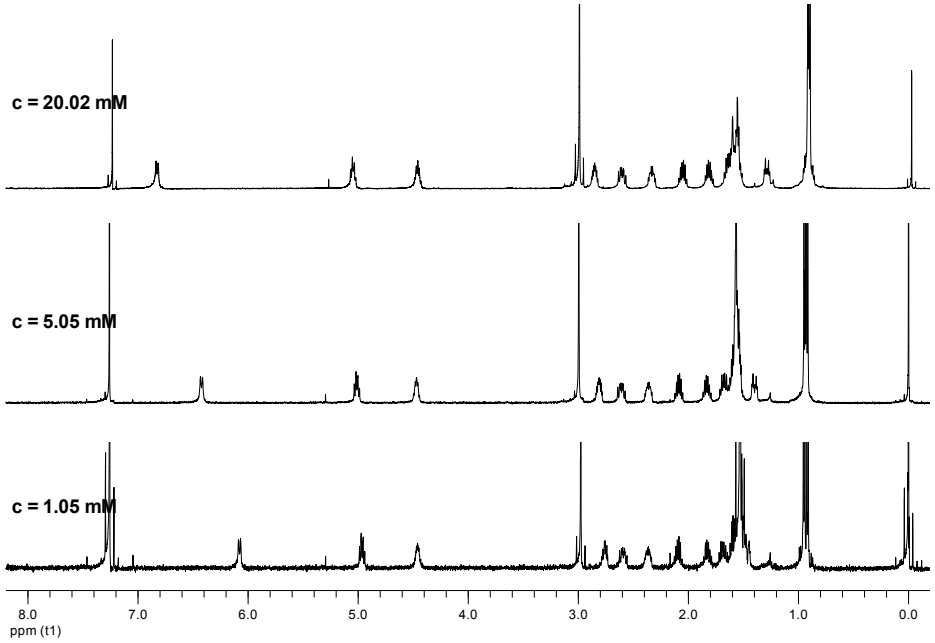


Figura 13. Espectros de ^{1}H RMN de diferentes disoluciones (20.02, 5.05 y 1.05 mM) de ***ciclo*[(*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp)$_2$-] (23)** en $CDCl_3$ a 303 K.

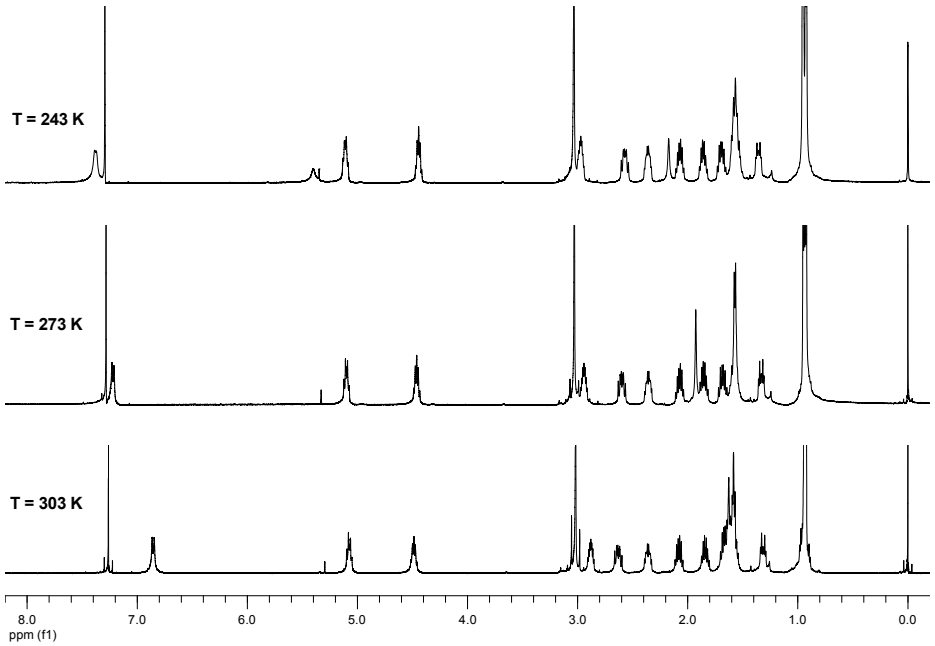


Figura 14. Espectros de ^{1}H RMN de una disolución 20.02 mM de ***ciclo*[(*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp)$_2$-] (23)** en $CDCl_3$ a diferentes temperaturas (243, 273 y 303 K).

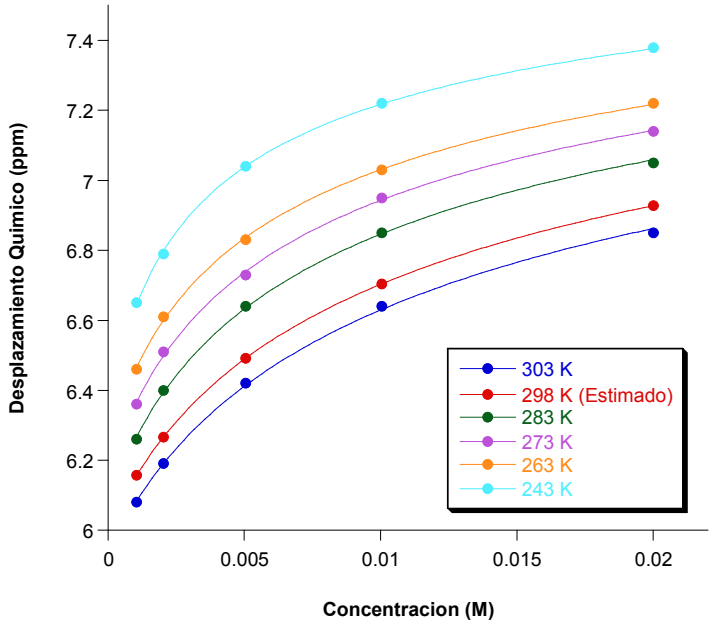


Figura 15. Representación gráfica que muestra el desplazamiento químico observado en ^{1}H RMN para la señal del NH correspondiente a ***ciclo*[(*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp)$_2$-] (23)** frente a la concentración (El ajuste a la ecuación $\delta_{obs} = \delta_{dim} + (\delta_{mon} - \delta_{dim})\cdot[-1 + (1 + 8K_aC)^{1/2}] / (4K_aC)$ permite obtener los valores de K_a para cada temperatura).

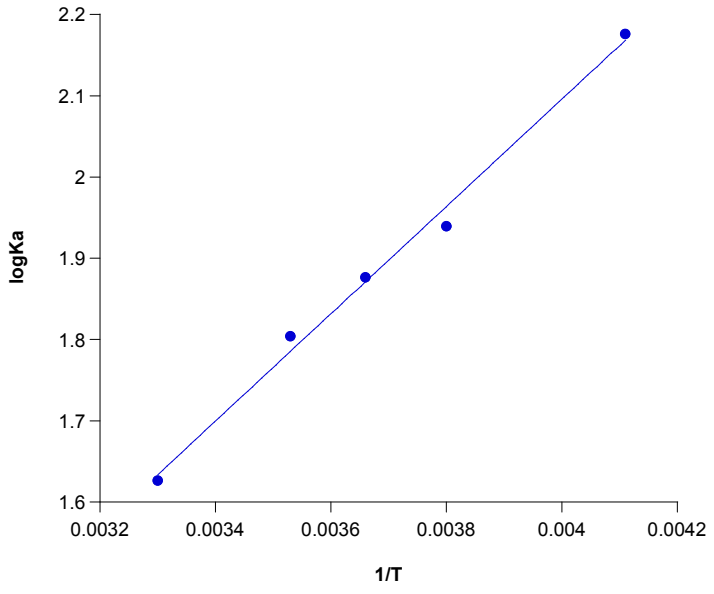


Figura 16. Representación de Van't Hoff correspondiente al proceso de autoensamblaje molecular de ***ciclo*[(*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp)$_2$-] (23)**.

31.2.2. CICLOTETRAPÉPTIDOS HÍBRIDOS Acp/Ach

Análisis de dimerización de *ciclo*[*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach-*D*-Leu-*L*-^{Me}N-γ-Acp-] (24) mediante Van't Hoff. El ciclotetrapéptido **24** (previamente purificado por HPLC) se disolvió en $CDCl_3$ para dar lugar a diferentes disoluciones de concentración 43.43, 21.72, 9.26, 4.63, 2.17 y 1.09 mM. Los espectros de ^{1}H RMN fueron registrados para cada disolución en un rango de temperaturas comprendido entre 213 y 313 K. La constante de asociación fue determinada para cada temperatura mediante regresión no lineal ajustando a la ecuación $\delta_{obs} = \delta_{dim} + (\delta_{mon} - \delta_{dim})\cdot[-1 + (1 + 8K_aC)^{1/2}] / (4K_aC)$ para los datos de δ(NH) obtenidos de los correspondientes espectros de ^{1}H RMN y de la concentración total de monómero. Las representaciones de Van't Hoff nos permitieron calcular los parámetros termodinámicos del proceso de dimerización.[29]

$$K_a \text{ (298 K)} = 28 \text{ M}^{-1}$$

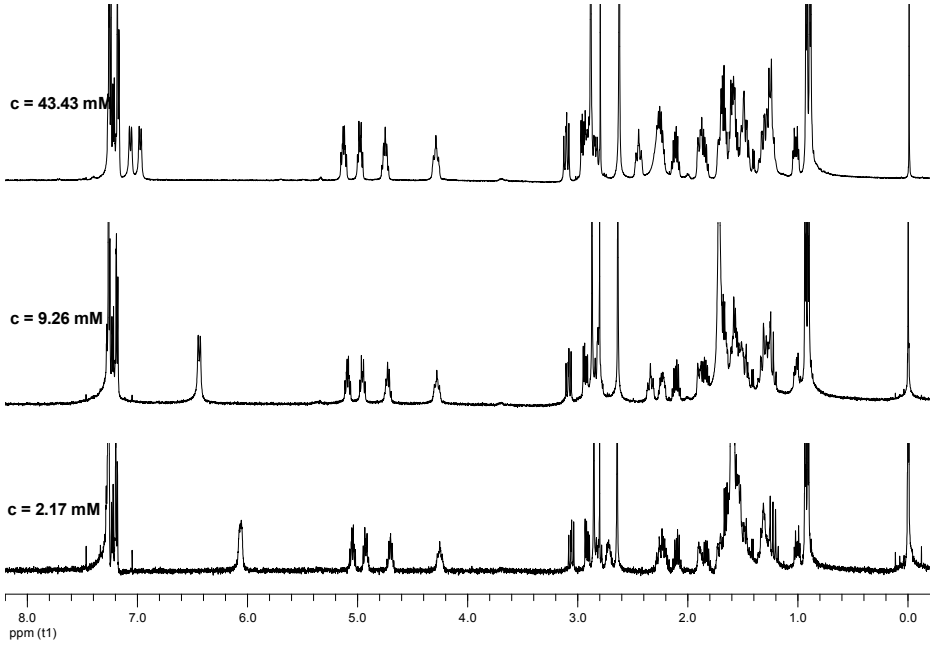


Figura 17. Espectros de ^{1}H RMN de diferentes disoluciones (43.43, 9.26 y 2.17 mM) de ***ciclo*[*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach-*D*-Leu-*L*-^{Me}N-γ-Acp-] (24)** en $CDCl_3$ a 293 K.

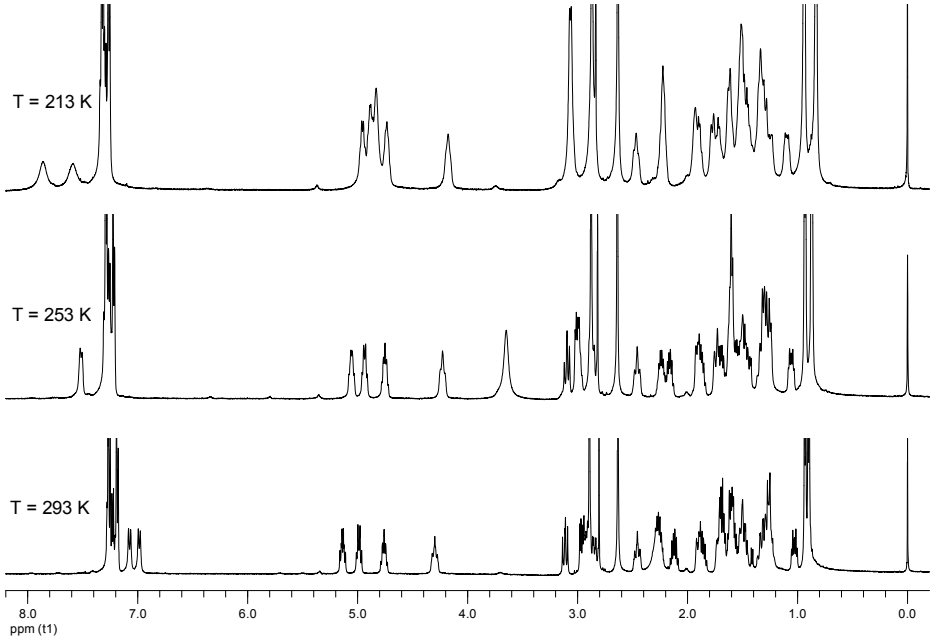


Figura 18. Espectros de ^{1}H RMN de una disolución 43.43 mM de ***ciclo*[*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach-*D*-Leu-*L*-^{Me}N-γ-Acp-] (24)** en $CDCl_3$ a diferentes temperaturas (213, 253 y 293 K).

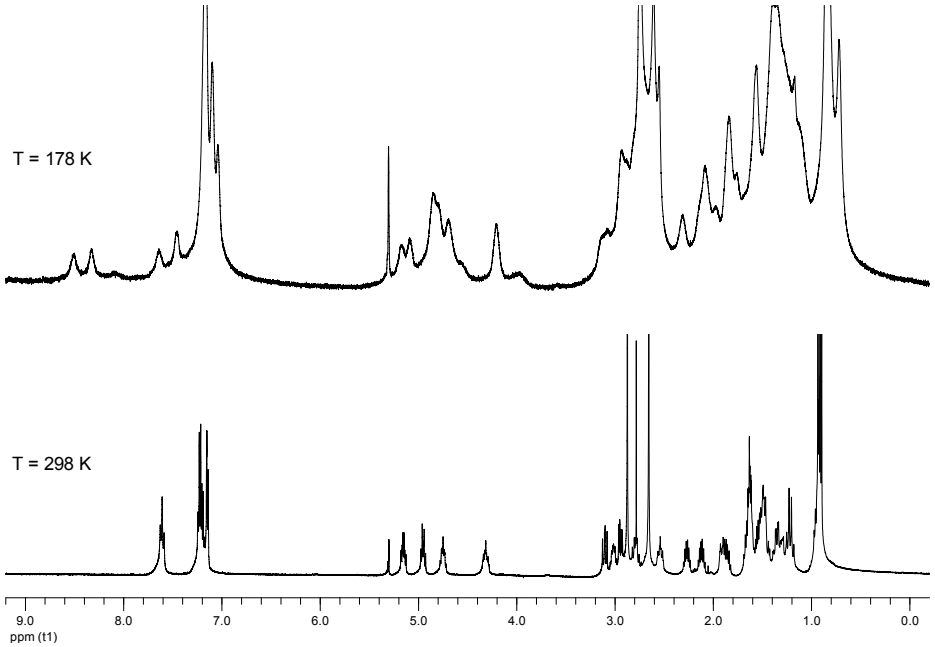


Figura 19. Espectros de ^{1}H RMN de una disolución 43.43 mM de ***ciclo*[*D*-Phe-*L*-^{Me}N-γ-Ach-*D*-Leu-*L*-^{Me}N-γ-Acp-] (24)** en CD_2Cl_2/CS_2 (4:1) a diferentes temperaturas (178 y 298 K).

31.3. TABLAS RESUMEN

Tabla 13. Estudio termodinámico en $CDCl_3$ (25 ºC) de diversos ciclopéptidos que se autoensamblan para dar lugar a las correspondientes estructuras homodiméricas [**CT**: ciclotetrapéptido].

Ciclopéptido	Ka[a]	ΔS[b]	ΔH[c]	ΔG[d]
CT 23	47	-10.4	-12.6	-9.5
CT 24	28			

[a] Los valores de constante de asociación están expresados en M^{-1}

[b] Los valores de entalpía están expresados en $J \cdot mol^{-1} \cdot K^{-1}$

[c] Los valores de entalpía están expresados en $kJ \cdot mol^{-1}$

[d] Los valores de entalpía están expresados en $kJ \cdot mol^{-1}$

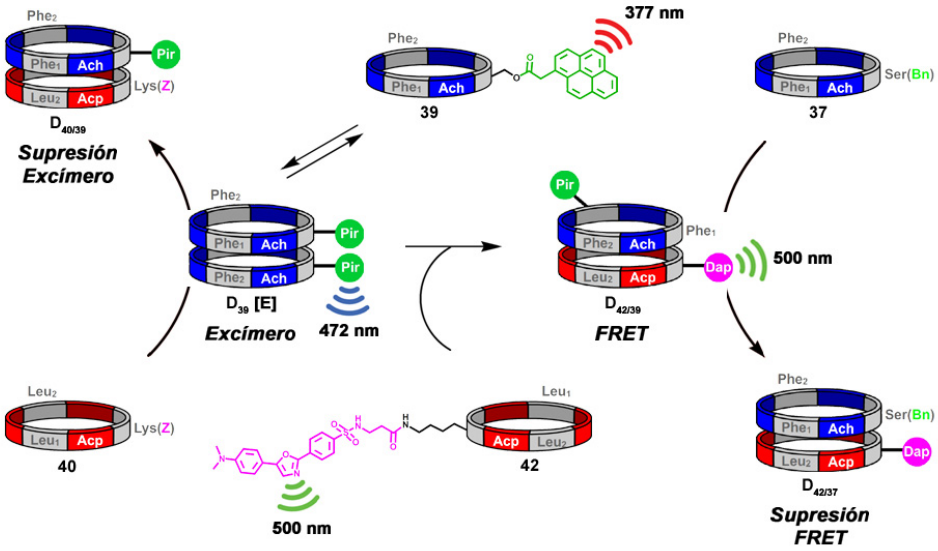
32. MEDIDAS DE FLUORESCENCIA

32.1. GENERAL

Las medidas de fluorescencia se llevaron a cabo en un espectrofluorómetro *SPEX FluoroMax-3*, empleando celdillas de NaCl. Los tiempos de vida de fluorescencia se obtuvieron en un aparato *Edinburgh Instruments CD900 Single Photon Counting (SPC)* y/o en un espectrómetro *Laser Strope Fluorescence Lifetime (Photon Technology International)*.

El análisis y tratamiento de los datos se realizó mediante el empleo del software *Kaleidagraph 3.5* (Sinergy Software, Reading, PA), *OriginPro 8.0* (OriginLab Corporation, Northampton, MA) y *Mathemathica 4.1* (Wolfram Research, Champaign, IL). Los valores de K_a se determinaron mediante análisis de mínimos cuadrados ajustando a las ecuaciones apropiadas.[46]

32.2. MODELO DE RED SUPRAMOLECULAR MULTICOMPONENTE

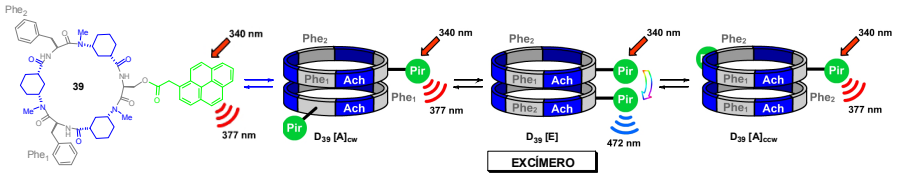


Esquema 1. Representación general de un sistema supramolecular multicomponente basado en α,γ-ciclohexapéptidos fluorescentes resultado de la formación controlada de homo- y heterodímeros.

[46] Para modelo y ecuaciones, ver: a) Park, J. W; Song, H. E.; Lee, S. Y. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 7071-7076. b) Martin, R. B. *Chem. Rev.* **1996**, *96*, 3043-3064.

32.3. HOMODÍMEROS CICLOHEXAPEPTÍDICOS

32.3.1. HOMODÍMERO CICLOHEXAPEPTÍDICO Ach/Ach D_{39} [E]: FORMACIÓN DE EXCÍMEROS



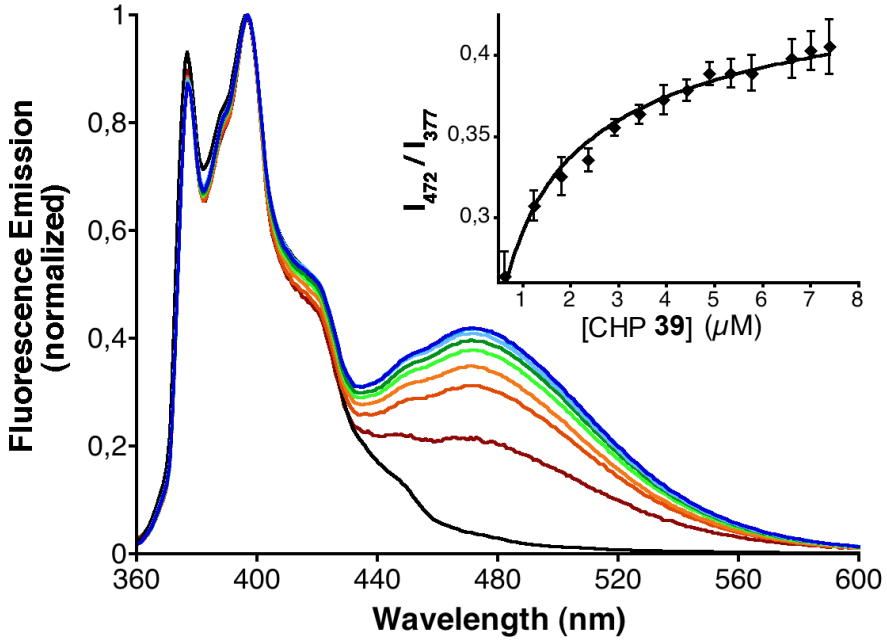
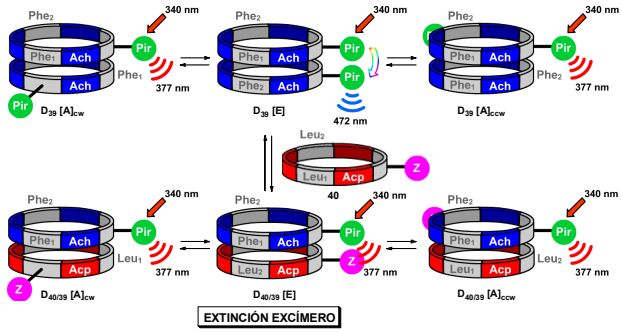


Figura 20. Espectros de emisión de fluorescencia de pireno de diferentes disoluciones de ***ciclo*{[*L*-Phe-*D*-^{Me}N-γ-Ach]$_2$-*L*-Ser(1-Pirenoacetil)-*D*-^{Me}N-γ-Ach-} (39)** en $CHCl_3$ (longitud de onda de excitación de 340 nm), desde 0.3 μM (línea marrón) a 7.4 μM (línea azul oscura), corroborando la formación del correspondiente homodímero **D_{39} [E]**. Ácido 1-pirenoacético (7.4 μM) ha sido utilizado como control (línea negra). La gráfica insertada en la parte superior derecha muestra la valoración y el ajuste necesarios para el cálculo de K_a. Todos los espectros fueron normalizados para llevar a cabo la representación gráfica.

32.4. HETERODÍMEROS CICLOHEXAPEPTÍDICOS

32.4.1. HETERODÍMERO CICLOHEXAPEPTÍDICO Acp/Ach $D_{40/39}$: EXTINCIÓN (*QUENCHING*) DE EXCÍMEROS



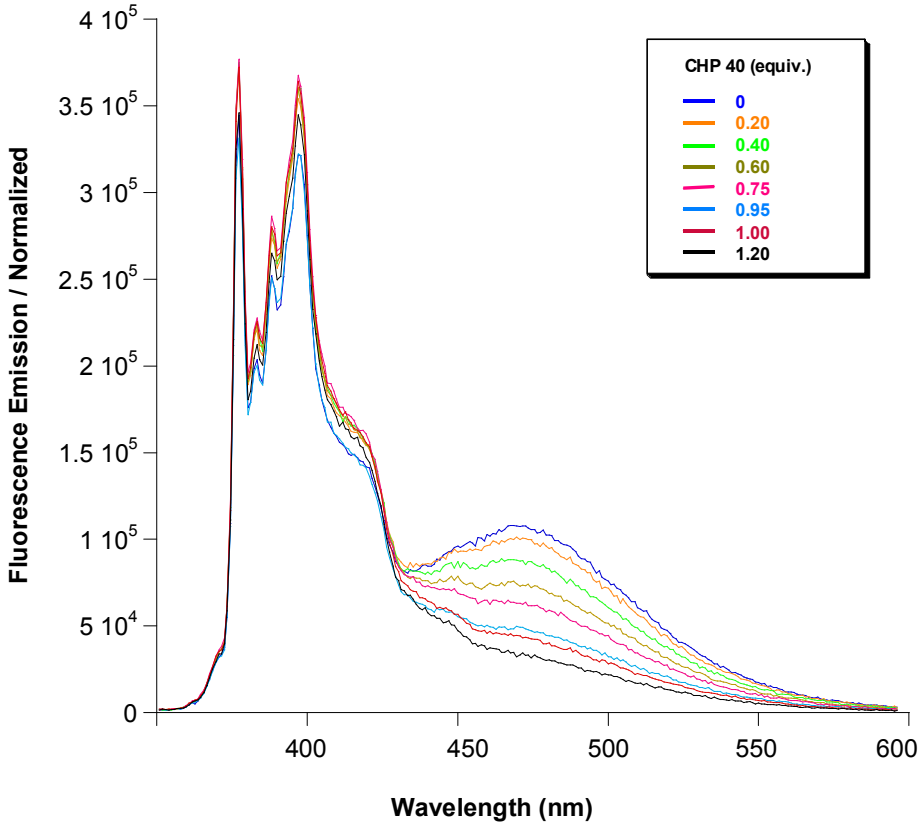
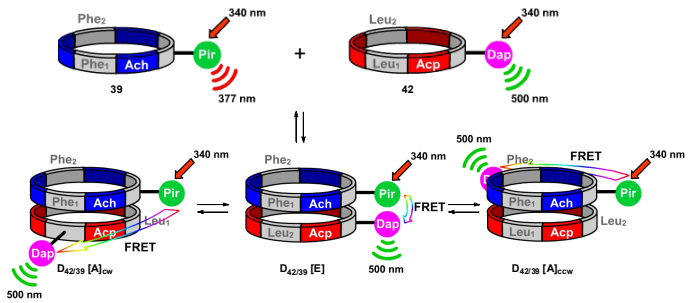


Figura 21. Espectros de emisión de fluorescencia de pireno de una disolución 3.68 μM de ***ciclo*{[*L*-Phe-*D*-^{Me}N-γ-Ach]$_2$-*L*-Ser(1-Pirenoacetil)-*D*-^{Me}N-γ-Ach-} (39)** en $CHCl_3$ (longitud de onda de excitación de 340 nm) en presencia de diferentes equivalentes (desde 0 a 1.2 eq.) de ***ciclo*{[*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp]$_2$-*L*-Lys(Z)-*D*-^{Me}N-γ-Acp-} (40)**, mostrando la disrupción del homodímero **D_{39} [E]** y corroborando la formación del correspondiente heterodímero **$D_{40/39}$**. Todos los espectros fueron normalizados para llevar a cabo la representación gráfica.

32.4.2. HETERODÍMERO CICLOHEXAPEPTÍDICO Acp/Ach $D_{42/39}$: FRET



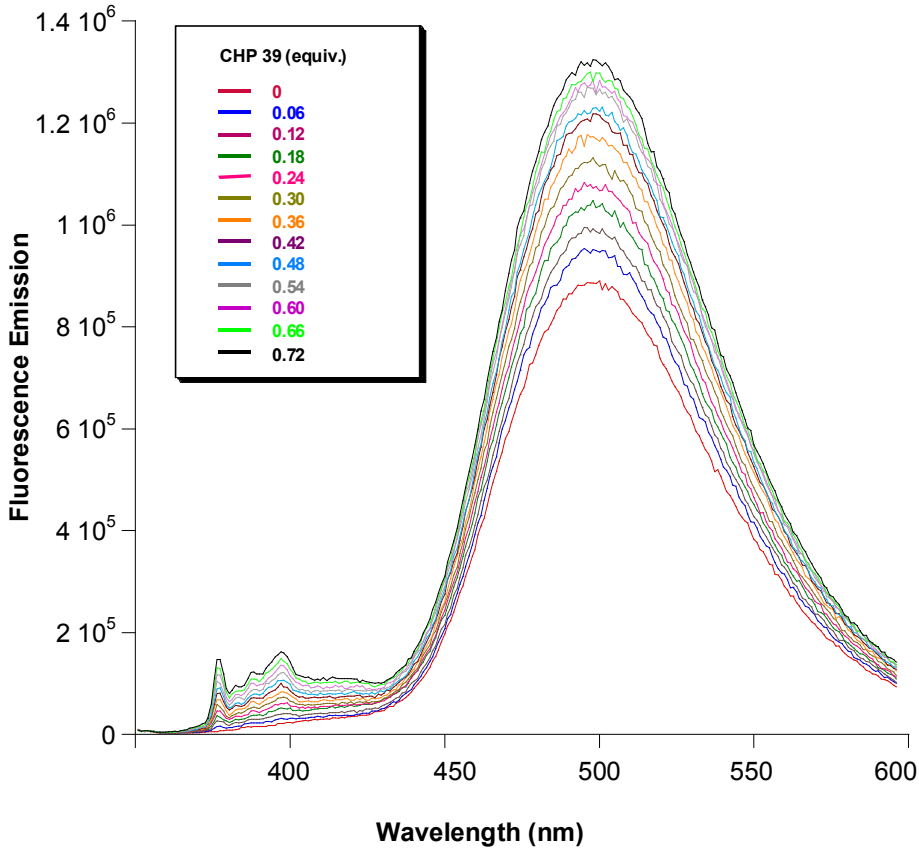
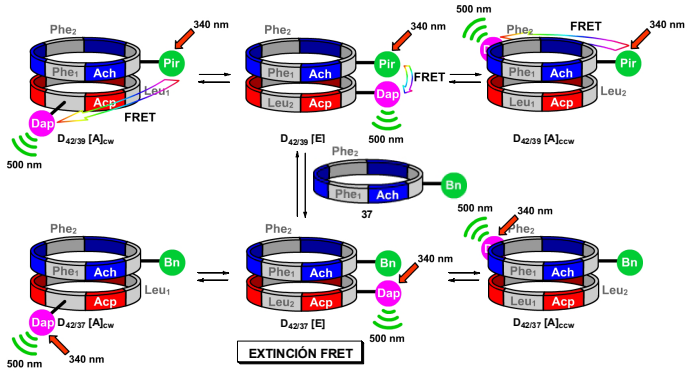


Figura 22. Espectros de emisión de fluorescencia de una disolución 0.81 μM de ***ciclo*{[*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp]$_2$-*L*-Lys(Dapoxilo)-*D*-^{Me}N-γ-Acp-} (42)** en $CHCl_3$ (longitud de onda de excitación de 340 nm) en presencia de diferentes equivalentes (desde 0 a 0.72 eq.) de ***ciclo*{[*L*-Phe-*D*-^{Me}N-γ-Ach]$_2$-*L*-Ser(1-Pirenoacetil)-*D*-^{Me}N-γ-Ach-} (39)**, corroborando la formación del correspondiente heterodímero **$D_{42/39}$**. Todos los espectros fueron normalizados para llevar a cabo la representación gráfica.

32.4.3. HETERODÍMERO CICLOHEXAPEPTÍDICO Acp/Ach $D_{42/37}$: EXTINCIÓN (*QUENCHING*) DE FRET



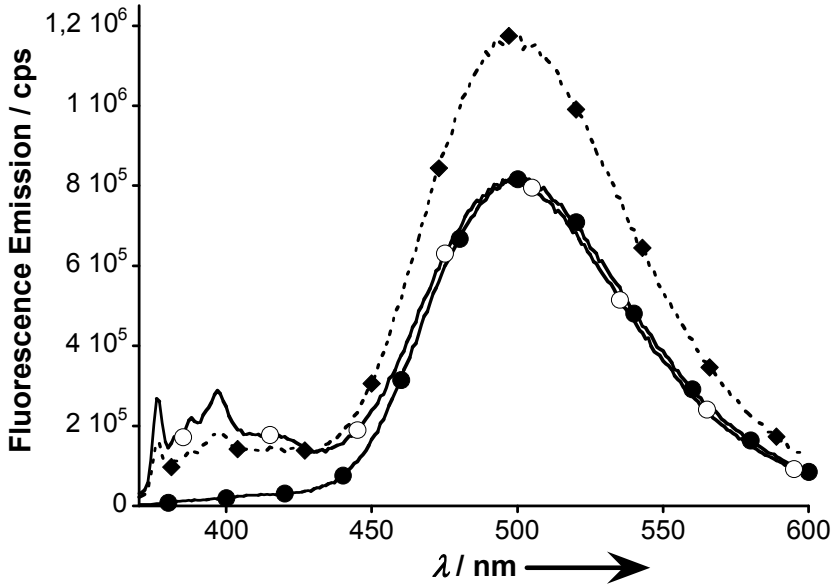


Figura 23. Espectros de emisión de fluorescencia de: **a)** una disolución monomérica 0.1 μM (●, línea sólida) de ***ciclo*{[*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp]$_2$-*L*-Lys(Dapoxilo)-*D*-^{Me}N-γ-Acp-} (42)**; **b)** una disolución (♦, línea punteada) de heterodímero **$D_{42/39}$**, mostrando el FRET; **c)** una disolución (○, línea sólida) de heterodímero **$D_{42/37}$** [obtenido mediante la adición de exceso de ***ciclo*{[*L*-Phe-*D*-^{Me}N-γ-Ach]$_2$-*L*-Ser(Bn)-*D*-^{Me}N-γ-Ach-} (37)** al heterodímero **$D_{42/39}$**], mostrando la supresión del FRET. Todas las disoluciones en $CHCl_3$. Longitud de onde de excitación de 340 nm. Todos los espectros fueron normalizados para llevar a cabo la representación gráfica.

32.4.4. HETERODÍMERO CICLOHEXAPEPTÍDICO Acp/Ach $D_{46/50}$: EXTINCIÓN (*QUENCHING*) DE LA FLUORESCENCIA DE FULLERENO

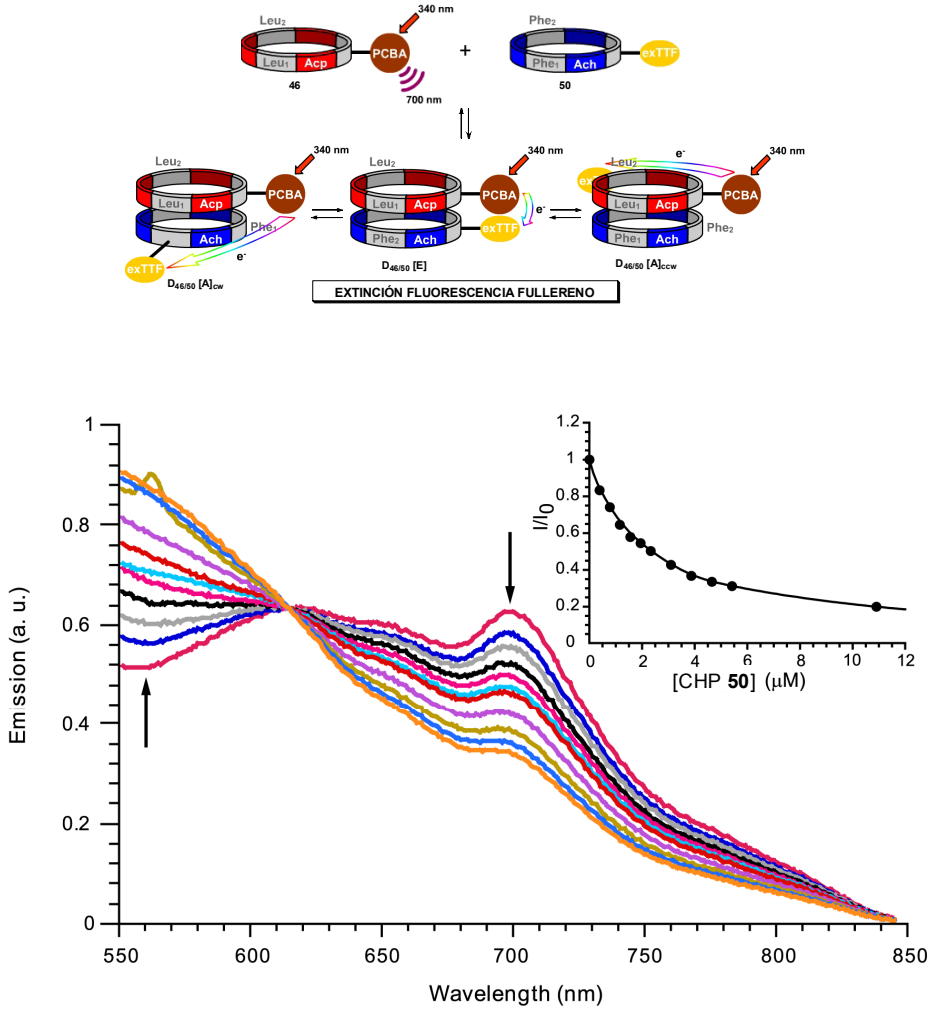


Figura 24. Cambios espectrales en la emisión de fluorescencia de una disolución 4.4 μM de ***ciclo*{[*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp]$_2$-*L*-Lys(PCBA)-*D*-^{Me}N-γ-Acp-} (46)** en CH_2Cl_2 (longitud de onda de excitación de 340 nm, T = 298 K) en presencia de diferentes equivalentes (desde 0 a 2.4 eq.) de ***ciclo*{[*L*-Phe-*D*-^{Me}N-γ-Ach]$_2$-*L*-Ser(exTTF)-*D*-^{Me}N-γ-Ach-} (50)**, corroborando la formación del correspondiente heterodímero $\mathbf{D_{46/50}}$. La gráfica insertada en la parte superior derecha muestra la valoración (relación de I/I_0 frente a [**50**]) y el ajuste necesarios para el cálculo de K_a. Todos los espectros fueron normalizados para llevar a cabo la representación gráfica.

32.5.ESTUDIOS DE FLUORESCENCIA CON RESOLUCIÓN TEMPORAL (*TIME-RESOLVED*)

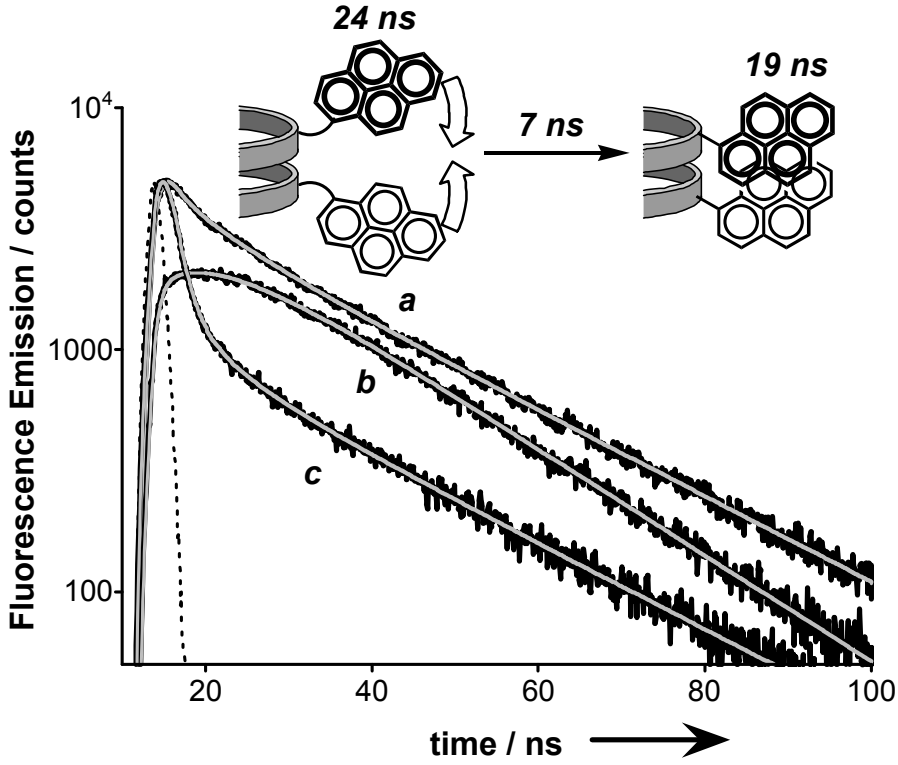


Figura 25. a) Espectros de emisión de fluorescencia con resolución temporal (longitud de onda de emisión de 380 nm) de una disolución monomérica 5 μM de ***ciclo*{[*L*-Phe-*D*-^{Me}N-γ-Ach]$_2$-*L*-Ser(1-Pirenoacetil)-*D*-^{Me}N-γ-Ach-} (39)**. **b)** Espectros de emisión de fluorescencia con resolución temporal (longitud de onda de emisión de 470 nm) de una disolución de homodímero **D_{39}**. **c)** Espectros de emisión de fluorescencia con resolución temporal (longitud de onda de emisión de 380 nm) del heterodímero **$D_{42/39}$** [obtenido mediante la adición de una disolución 5 μM de ***ciclo*{[*L*-Phe-*D*-^{Me}N-γ-Ach]$_2$-*L*-Ser(1-Pirenoacetil)-*D*-^{Me}N-γ-Ach-} (39)** a una disolución 1 μM de ***ciclo*{[*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp]$_2$-*L*-Lys(Dapoxilo)-*D*-^{Me}N-γ-Acp-} (42)**]. El esquema insertado en la parte superior muestra el cambio conformacional que tiene lugar en el homodímero **D_{39} [E]** para lograr la disposición geométrica requerida para la formación del excímero. Todas las disoluciones en $CHCl_3$. La emisión se muestra en color negro. La línea punteada representa el pulso del láser. Las líneas grises representan los mejores ajustes a los datos experimentales.

32.6. ESTUDIOS DE DECAIMIENTO DE LA FLUORESCENCIA

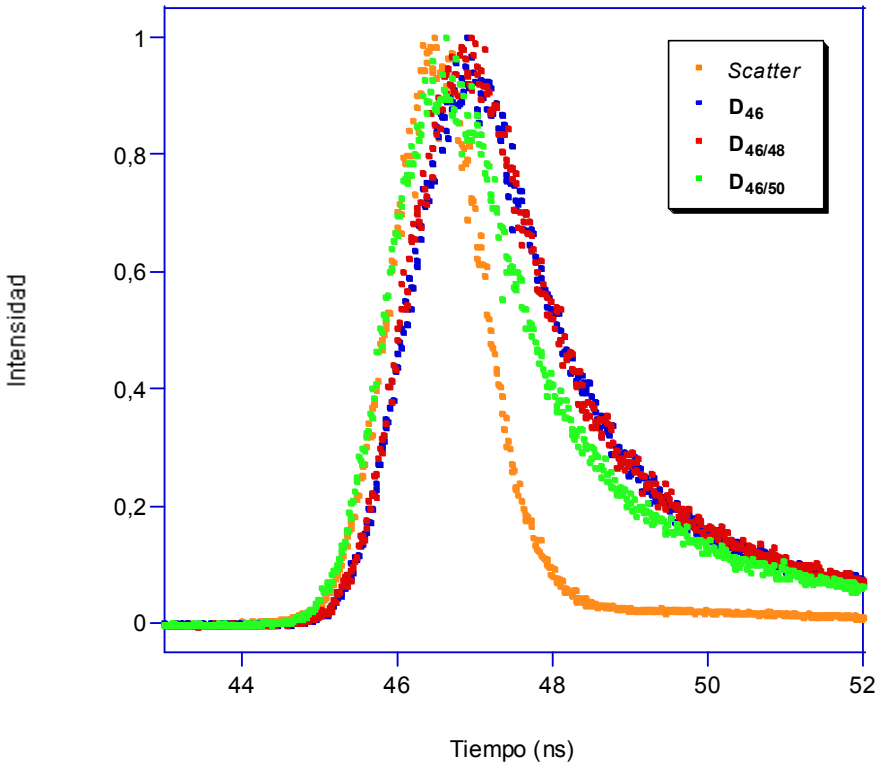


Figura 26. Estudio del decaimiento de la fluorescencia en $CHCl_3$ (25 ºC) de: **a)** una disolución (en azul) de ***ciclo*{[*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp]$_2$-*L*-Lys(PCBA)-*D*-^{Me}N-γ-Acp-} (46)** que se autoensambla para dar lugar al correspondiente homodímero $\mathbf{D_{46}}$; **b)** una disolución (en rojo) de heterodímero ciclohexapeptídico $\mathbf{D_{46/48}}$; **c)** una disolución (en verde) de heterodímero ciclohexapeptídico $\mathbf{D_{46/50}}$. En naranja se muestra la dispersión (*scatter*) del equipo de medida.

32.7. SOLAPAMIENTO ESPECTRAL DAPOXILO/PIRENO

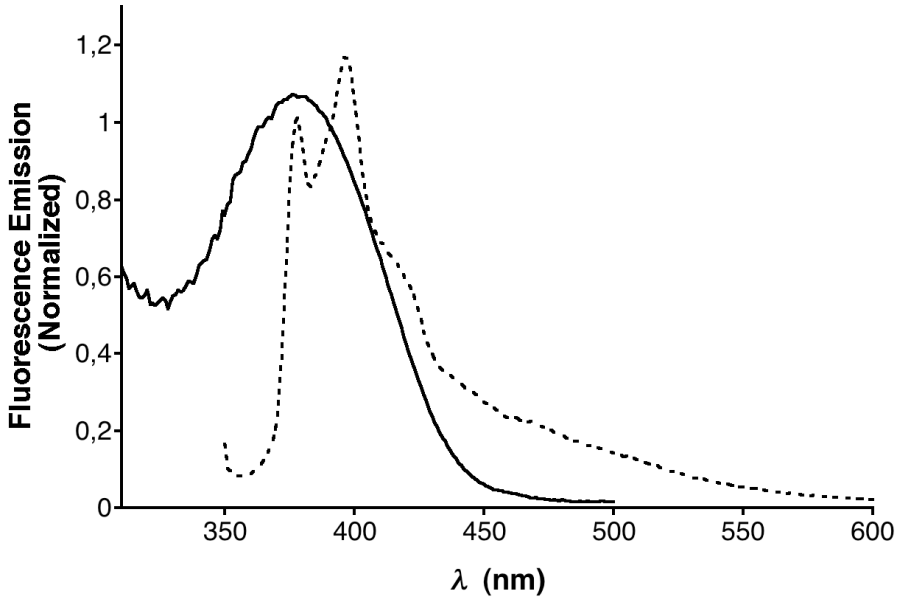


Figura 27. Superposición de los espectros de absorción de dapoxilo (línea sólida) y de emisión de pireno (línea punteada), mostrando un solapamiento espectral casi completo, el cual favorece que la transferencia de energía (FRET) entre los dos fluoróforos (desde el dador pireno al aceptor dapoxilo) se realice de manera eficiente. Todos los espectros fueron normalizados para llevar a cabo la representación gráfica.

32.8. TABLAS RESUMEN

32.8.1. TABLA RESUMEN DE CONSTANTES DE ASOCIACIÓN CALCULADAS MEDIANTE ESTUDIOS DE FLUORESCENCIA

Tabla 14. Constantes de asociación (K_a) de diversas estructuras homo- y heterodiméricas, las cuales han sido determinadas mediante estudios de fluorescencia de sus correspondientes procesos de asociación.[47] El cálculo del radio de Förster[48] para la especie heterodimérica que da lugar a FRET intramolecular entre pireno y dapoxilo (**$D_{42/39}$**) se llevó a cabo considerado un rendimiento cuántico de 0.33.[49]

Compuesto	K_a[a]	R_0[b]
D_{39}	2.1×10^6	
$D_{42/39}$		23
$D_{46/50}$	1.2×10^6	

[a] Los valores de constante de asociación están expresados en M^{-1}

[b] El radio de Förster (R_0) está expresado en Å

[47] El valor de la constante de asociación para la especie homodimérica derivada de pireno (**D_{39}**) ha sido determinada mediante estudios de fluorescencia de tipo estacionario, mientras que el valor de la constante de asociación para la especie heterodimérica derivada de fullereno (**$D_{46/50}$**) ha sido determinada mediante estudios de extinción (quenching) de la fluorescencia del propio fullereno.

[48] Valeur, B. En *Molecular fluorescence: principles and applications*; Wiley-VCH: Weinheim (Alemania), **2002**.

[49] Masuko, M.; Ohuchi, S.; Sode, K.; Ohtani, H.; Shimadzu, A. *Nucleic Acids Res.* **2000**, *28*, e34.

32.8.2. TABLA RESUMEN DE TIEMPOS DE VIDA CALCULADOS MEDIANTE FLUORESCENCIA CON RESOLUCIÓN TEMPORAL

Tabla 15. Tiempos de vida (τ_1 y τ_2) resultantes del análisis mediante fluorescencia con resolución temporal de diversas disoluciones de estructuras homo- y heterodiméricas en $CHCl_3$. En el caso de la especie que da lugar a FRET intramolecular se indica la distancia media entre fluoróforos ($r_{Pir\text{-}Dap}$).[49,50]

Compuesto	λ_{em}[a]	τ_1[b]	τ_2	$r_{Pir\text{-}Dap}$[c]	Eficiencia[d]
D_{39}	380	24	7		
D_{39}	470	19	7		
$D_{42/39}$ [A]	380	24	1	14	96

[a] La longitud de onda de emisión (λ_{em}) está expresada en nm

[b] Los tiempos de vida están expresados en ns

[c] La distancia media entre los fluoróforos ($r_{Pir\text{-}Dap}$) está expresada en Å

[d] La eficiencia de la transferencia está expresada en %

32.8.3. TABLA RESUMEN DE TIEMPOS DE VIDA CALCULADOS MEDIANTE DECAIMIENTO DE LA FLUORESCENCIA

Tabla 16. Tiempos de vida (τ_1 y τ_2) resultantes del análisis mediante decaimiento de la fluorescencia de diversas disoluciones de estructuras homo- y heterodiméricas en $CHCl_3$ (sombreado azul claro) y CH_2Cl_2 (sombreado rosa). R representa el error en el ajuste.

Compuesto	τ_1[a]	τ_2	R	τ_1	τ_2	R
D_{46}	1.320	0.200	1.011			
$D_{46/48}$	1.385	0.151	0.979	1.564	0.230	1.068
$D_{46/50}$	1.427	0.030	0.988			

[a] Los tiempos de vida están expresados en ns

[50] Esta distancia $r_{Pir\text{-}Dap}$ corresponde a los isómeros rotacionales donde los fluoróforos no están próximos (disposiciones alternadas **$D_{42/39}$ [A]$_{cw}$** y **$D_{42/39}$ [A]$_{ccw}$**). El calculo de dicha distancia se llevó a cabo mediante la ecuación: $r = R_0/(\tau^0_D/\tau_{te})^{1/6}$, siendo R_0 el radio de Förster, τ^0_D el tiempo de vida del estado excitado del dador (pireno) en ausencia de transferencia y τ_{te} el tiempo de vida del estado excitado del proceso de transferencia de energía. El error estimado en la determinación de esta distancia es de aproximadamente el 10%, derivado fundamentalmente del cálculo del radio de Förster [Stryer, L. *Annu. Rev. Biochem.* **1978**, *47*, 819-846].

32.8.4. TABLA RESUMEN DE BANDAS DE EMISIÓN DE FLUORESCENCIA

Tabla 17. Estudio de fluorescencia en $CHCl_3$ (longitud de onda de excitación de 340 nm, T = 298 K) de diversas estructuras homo- y heterodiméricas, en donde se muestran las principales bandas de emisión [**Em_1** y **Em_2**: bandas de emisión características de pireno; **Em_3**: banda de emisión característica del excímero de pireno; **Em_4**: banda de emisión característica de dapoxilo; **Em_5**: banda de emisión característica de fullereno]. De manera resaltada se muestran: **a)** la banda de emisión de excímero para el caso del homodímero **D_{39} [E]** (sombreado azul pálido), cuya formación viene determinada por la aparición de dicha señal; **b)** la banda de emisión de dapoxilo para el caso del heterodímero **$D_{42/39}$** (sombreado verde claro) responsable del FRET intramolecular, cuya formación viene determinada por el aumento de dicha señal; **c)** la banda de emisión de fullereno para el caso del heterodímero **$D_{46/50}$** (sombreado lavanda) responsable de la transferencia electrónica, cuya formación viene determinada por la disminución de dicha señal.

Compuesto	Em_1[a]	Em_2	Em_3	Em_4	Em_5
Ácido 1-pirenoacético[51]	377	397			
D_{39} [E]	377	397	472		
D_{42}				500	
D_{46}					700
$D_{42/39}$	377	397		500	
$D_{46/50}$					700

[a] Las longitudes de onda de cada banda de emisión están expresadas en nm

[51] El ácido 1-pirenoacético se emplea como referencia de pireno, ya que no da lugar a la formación de excímeros.

33. MEDIDAS ELECTROQUÍMICAS

33.1. GENERAL

Las medidas electroquímicas se registraron mediante voltametría cíclica (CV) y/o voltametría de pulso diferencial (DPV) en un equipo *Autolab PGStat 30*, empleando un electrodo de trabajo de carbón vitrificado (GC), un electrodo de referencia $Ag/AgNO_3$, un electrodo auxiliar de Pt y una disolución de $TBA{\bullet}ClO_4$ (0.1 M) en una mezcla 4:1 de *o*-DCB/CH_3CN como electrolito de soporte. Los valores de potencial están expresados en voltios (V) y los de intensidad en amperios (A). Todas las medidas han sido realizadas a 298 K.

33.2. SISTEMAS DE REFERENCIA

33.2.1. REFERENCIA C_{60}

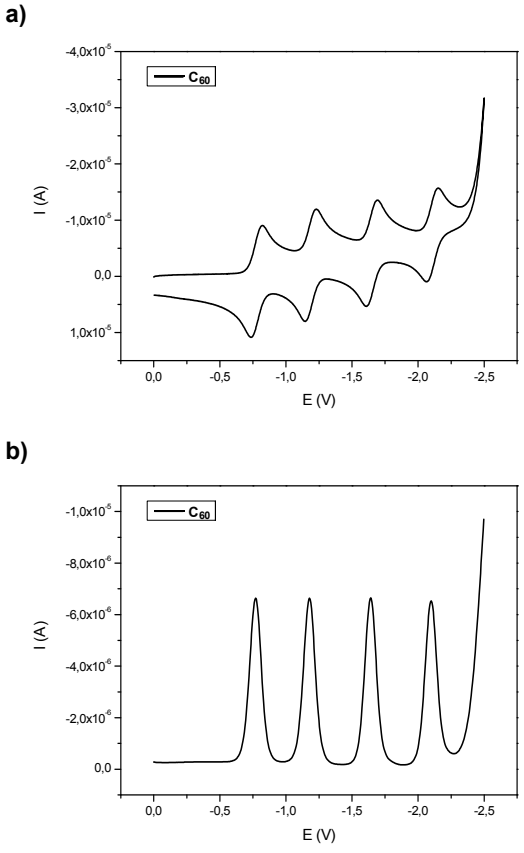


Figura 28. a) Voltamograma cíclico del sistema de referencia fullereno C_{60}. **b)** Voltamograma de pulso diferencial del sistema de referencia fullereno C_{60}.

33.2.2. REFERENCIA TTF

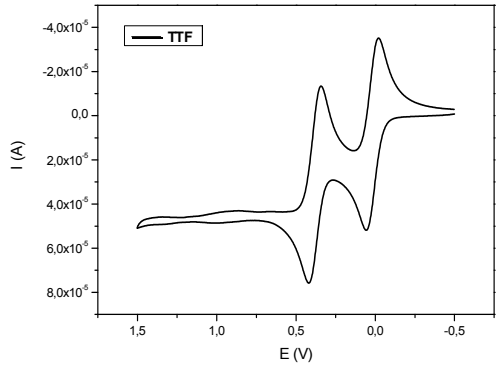


Figura 29. Voltamograma cíclico del sistema de referencia TTF.

33.2.3. REFERENCIA TTF-CO_2Me

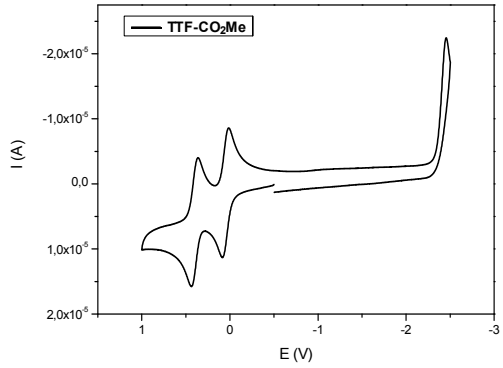


Figura 30. Voltamograma cíclico del sistema de referencia TTF-CO_2Me.

33.2.4. REFERENCIA TTF-CO_2H (47)

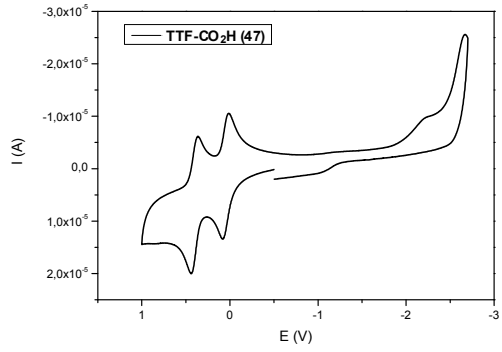


Figura 31. Voltamograma cíclico del sistema de referencia TTF-CO_2H (**47**).

33.2.5. REFERENCIA exTTF

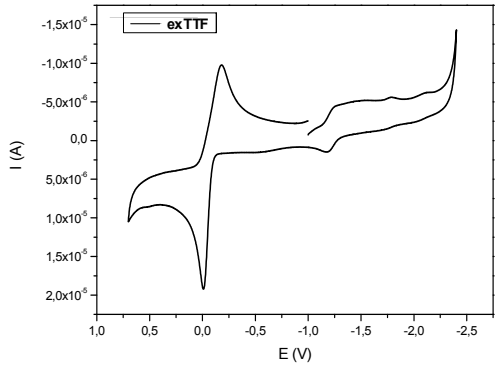


Figura 32. Voltamograma cíclico del sistema de referencia exTTF.

33.2.6. REFERENCIA exTTF-CO_2Me

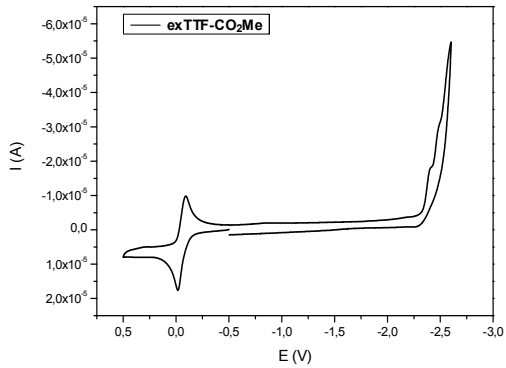


Figura 33. Voltamograma cíclico del sistema de referencia exTTF-CO_2Me.

33.2.7. REFERENCIA exTTF-CO_2H (49)

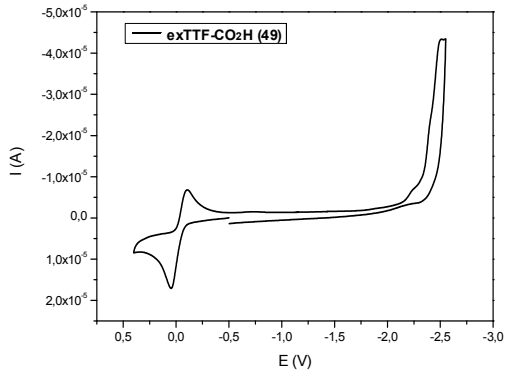


Figura 34. Voltamograma cíclico del sistema de referencia exTTF-CO_2H (**49**).

33.3. HOMODÍMEROS CICLOHEXAPEPTÍDICOS

33.3.1. HOMODÍMERO CICLOHEXAPEPTÍDICO Ach/Ach D_{44}

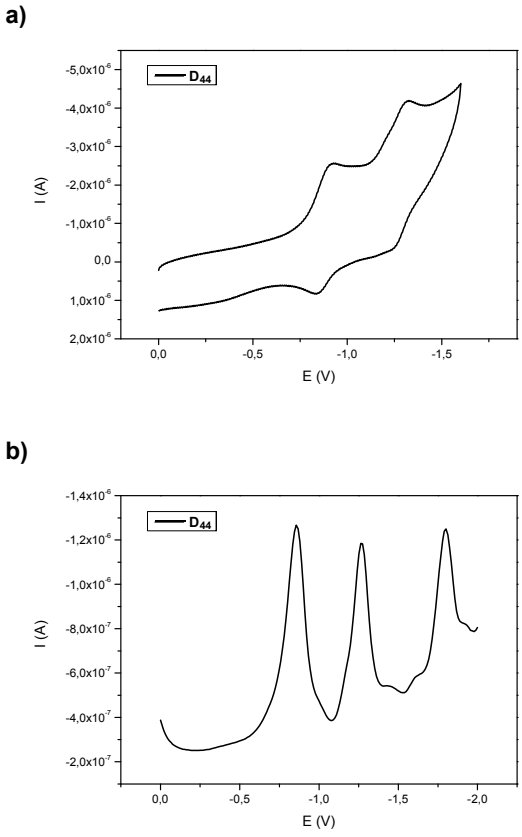


Figura 35. a) Voltamograma cíclico de una disolución de homodímero **D_{44}**, resultante del autoensamblaje supramolecular del hexapéptido ***ciclo*{[*L*-Phe-*D*-^{Me}N-γ-Ach]$_2$-*L*-Ser(Fullero-pirrolidina)-*D*-^{Me}N-γ-Ach-}** (**44**). **b)** Voltamograma de pulso diferencial del sistema homodimérico **D_{44}**.

33.3.2. HOMODÍMERO CICLOHEXAPEPTÍDICO Acp/Acp D_{46}

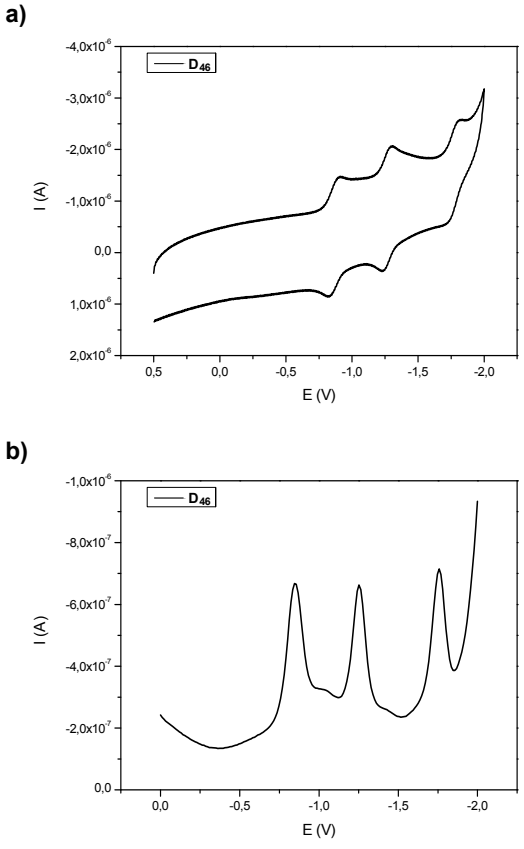


Figura 36. a) Voltamograma cíclico de una disolución de homodímero $\mathbf{D_{46}}$, resultante del autoensamblaje supramolecular del hexapéptido ***ciclo*{[*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp]$_2$-*L*-Lys(PCBA)-*D*-^{Me}N-γ-Acp-}** (**46**). **b)** Voltamograma de pulso diferencial del sistema homodimérico $\mathbf{D_{46}}$.

33.3.3. HOMODÍMERO CICLOHEXAPEPTÍDICO Ach/Ach D_{48}

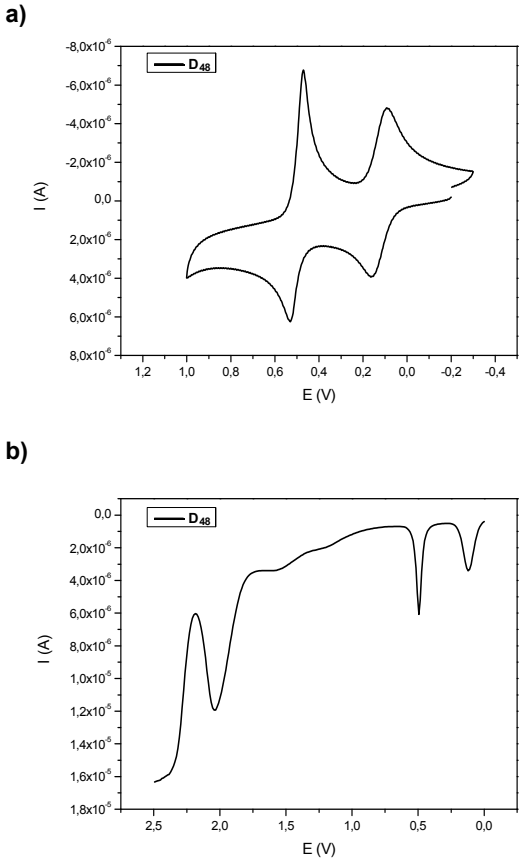


Figura 37. a) Voltamograma cíclico de una disolución de homodímero $\mathbf{D_{48}}$, resultante del autoensamblaje supramolecular del hexapéptido ***ciclo*{[*L*-Phe-*D*-^{Me}N-γ-Ach]$_2$-*L*-Ser(TTF)-*D*-^{Me}N-γ-Ach-}** (**48**). **b)** Voltamograma de pulso diferencial del sistema homodimérico $\mathbf{D_{48}}$.

33.3.4. HOMODÍMERO CICLOHEXAPEPTÍDICO Ach/Ach D_{50}

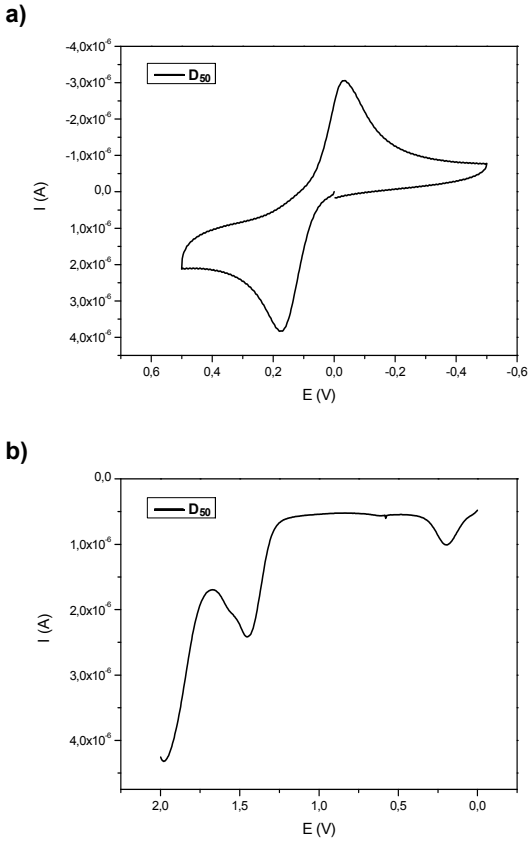


Figura 38. a) Voltamograma cíclico de una disolución de homodímero **D_{50}**, resultante del autoensamblaje supramolecular del hexapéptido ***ciclo*{[*L*-Phe-*D*-^{Me}N-γ-Ach]$_2$-*L*-Ser(exTTF)-*D*-^{Me}N-γ-Ach-}** (**50**). **b)** Voltamograma de pulso diferencial del sistema homodimérico **D_{50}**.

33.4. HETERODÍMEROS CICLOHEXAPEPTÍDICOS

33.4.1. HETERODÍMERO CICLOHEXAPEPTÍDICO Acp/Ach $D_{46/48}$

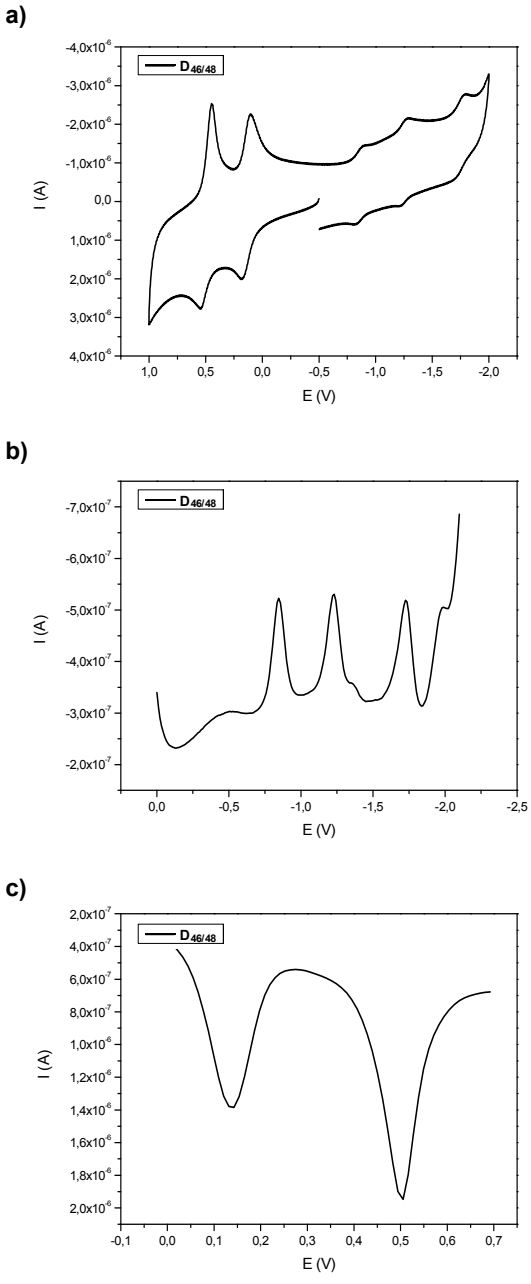


Figura 39. a) Voltamograma cíclico de una disolución de heterodímero **$D_{46/48}$**. **b)** Voltamograma de pulso diferencial (zona comprendida desde -2.5 a 0 V) del sistema heterodimérico **$D_{46/48}$**. **c)** Voltamograma de pulso diferencial (zona comprendida desde 0 a +0.7 V) del sistema heterodimérico **$D_{46/48}$**.

33.4.2. HETERODÍMERO CICLOHEXAPEPTÍDICO Acp/Ach $D_{46/50}$

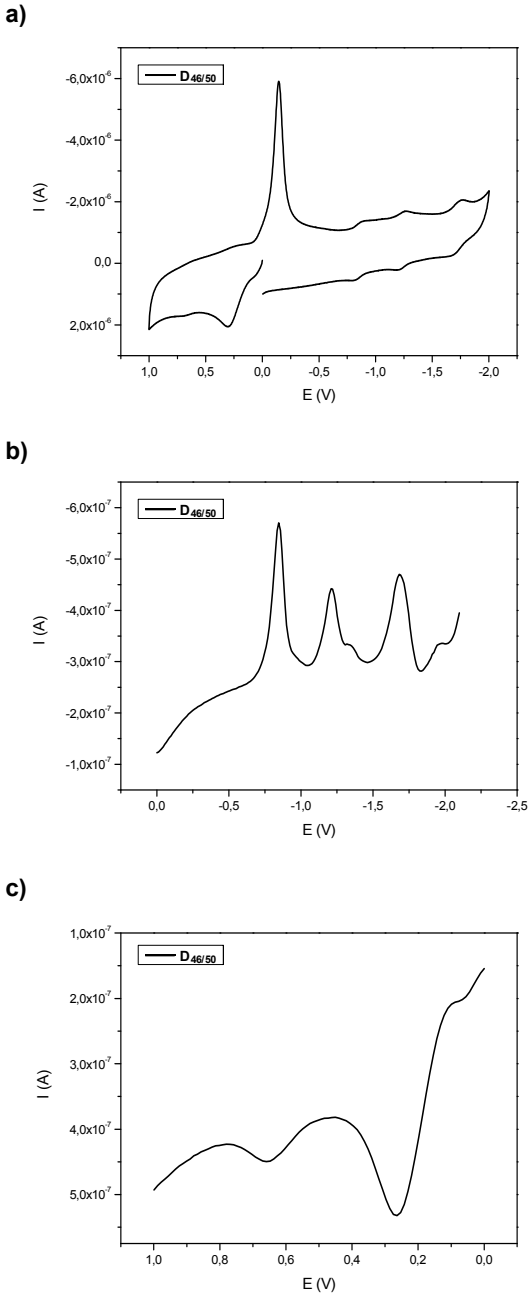


Figura 40. a) Voltamograma cíclico de una disolución de heterodímero $\mathbf{D_{46/50}}$. **b)** Voltamograma de pulso diferencial (zona comprendida desde -2.5 a 0 V) del sistema heterodimérico $\mathbf{D_{46/50}}$. **c)** Voltamograma de pulso diferencial (zona comprendida desde 0 a +1.0 V) del sistema heterodimérico $\mathbf{D_{46/50}}$.

33.5. FIGURAS RESUMEN

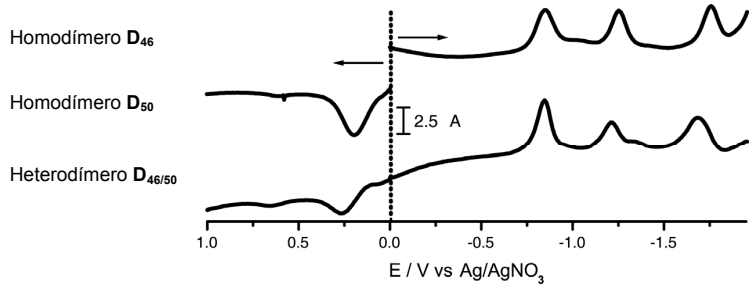


Figura 41. Voltamogramas de pulso diferencial de **D_{46}**, **D_{50}** y **$D_{46/50}$**.

33.6. TABLAS RESUMEN

Tabla 18. Estudio de las datos electroquímicos obtenidos mediante voltametría de diversas disoluciones de sistemas de referencia, homodímeros y heterodímeros.

Compuesto	E^1_{ox} [a,b]	E^2_{ox}	E^1_{red}	E^2_{red}	E^3_{red}	E^4_{red}
C_{60}			-0.82	-1.23	-1.69	-2.15
TTF	+0.02	+0.38				
TTF-CO_2H (47)	+0.05	+0.41				
exTTF	+0.09					
exTTF-CO_2H (49)	+0.16					
D_{44}			-0.85	-1.27	-1.80	
D_{46}			-0.91	-1.29	-1.79	
D_{48}	+0.12	+0.50				
D_{50}	+0.17					
$D_{46/48}$	+0.14	+0.51	-0.84	-1.23	-1.73	-2.00
$D_{46/50}$	+0.22		-0.93	-1.30	-1.76	

[a] Los potenciales están expresados en V

[b] Solo se dan los picos de potencial catódico o anódico

34. MEDIDAS FOTOFÍSICAS

34.1. GENERAL

Los estudios femtosegundo de absorción transitoria se llevaron a cabo empleando un sistema láser Ti:Sapphire (Modelo CPA 2101, Clark-MXR Inc.).

34.2. HOMODÍMEROS CICLOPEPTÍDICOS

34.2.1. HOMODÍMERO CICLOHEXAPEPTÍDICO Acp/Acp D_{46}

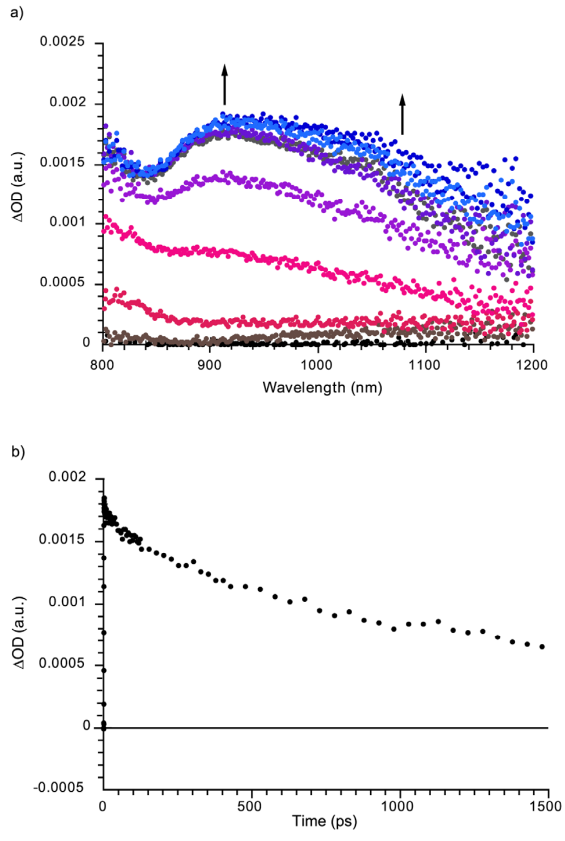


Figura 42. a) Espectros de absorción diferencial (zona del visible) obtenidos mediante fotólisis *flash* con resolución temporal de femtosegundo (longitud de onda de excitación de 387 nm, T = 298 K) de una disolución del homodímero **D_{46}** en CH_2Cl_2 saturado de nitrógeno con varios tiempos de espera comprendidos entre 0 y 5 ps. Las flechas indican la evolución de los cambios diferenciales. **b)** Perfiles de tiempo de absorción de los espectros mostrados anteriorrmente [Figura 42a] a 900 nm, en donde se observa la formación y decaimiento del fullereno fotoexcitado.

34.2.2. HOMODÍMERO CICLOHEXAPEPTÍDICO Ach/Ach D_{50}

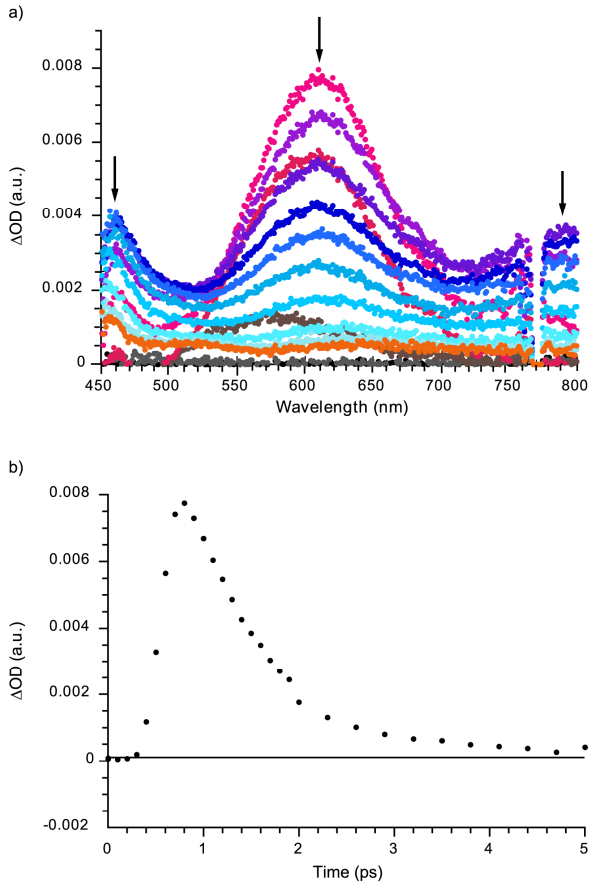


Figura 43. a) Espectros de absorción diferencial (zona del visible) obtenidos mediante fotólisis *flash* con resolución temporal de femtosegundo (longitud de onda de excitación de 387 nm, T = 298 K) de una disolución del homodímero **D_{50}** en CH_2Cl_2 saturado de nitrógeno con varios tiempos de espera comprendidos entre 0 y 5 ps. Las flechas indican la evolución de los cambios diferenciales. **b)** Perfiles de tiempo de absorción de los espectros mostrados anteriormente [Figura 43a] a 605 nm, en donde se observa la formación y decaimiento del exTTF fotoexcitado.

34.3. HETERODÍMEROS CICLOPEPTÍDICOS

34.3.1. HETERODÍMERO CICLOHEXAPEPTÍDICO Acp/Ach $D_{46/50}$

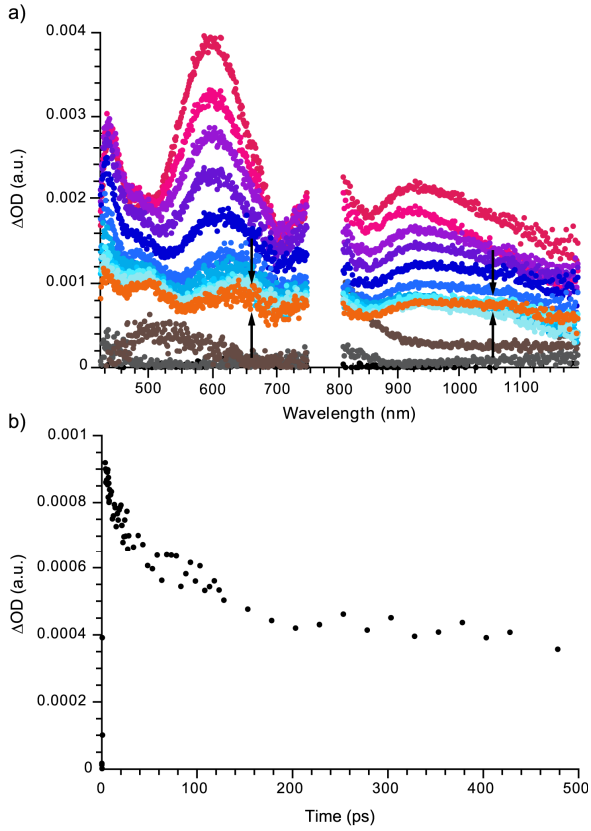


Figura 44. a) Espectros de absorción diferencial [zona del visible y del infrarrojo cercano (NIR)] obtenidos mediante fotólisis *flash* con resolución temporal de femtosegundo (longitud de onda de excitación de 387 nm, T = 298 K) de una disolución 5.0 μM del heterodímero **$D_{46/50}$** en CH_2Cl_2 saturado de nitrógeno con varios tiempos de espera comprendidos entre 0 y 200 ps. Las flechas indican las características del estado del par ión-radical. **b)** Perfiles de tiempo de absorción de los espectros mostrados anteriormente [Figura 44a] a 550 nm, en donde se observa el proceso de separación de cargas intramolecular.

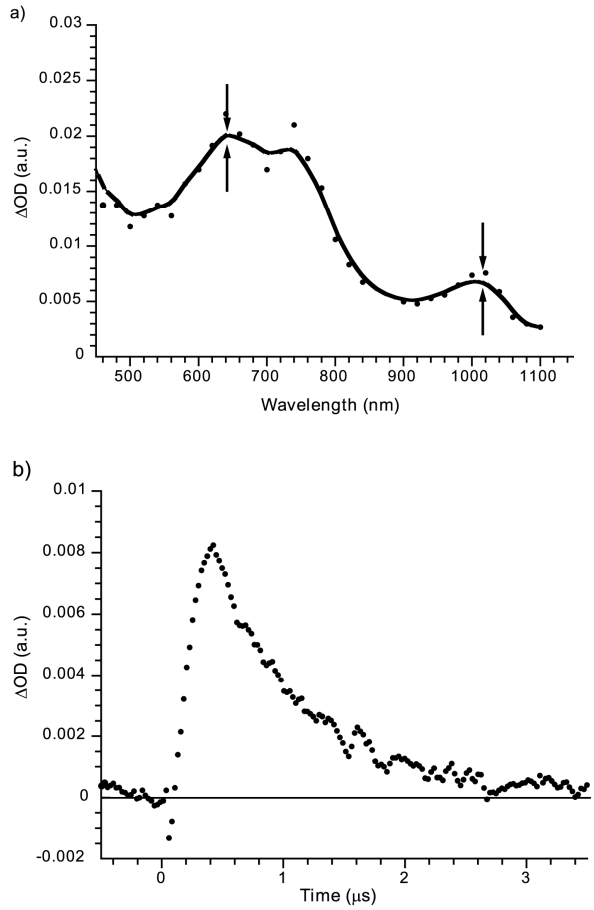


Figura 45. a) Espectro de absorción diferencial [zona del visible y del infrarrojo cercano (NIR)] obtenido mediante fotólisis *flash* con resolución temporal de nanosegundo (longitud de onda de excitación de 355 nm, T = 298 K) de una disolución 5.0 μM del heterodímero $\mathbf{D_{46/50}}$ en CH_2Cl_2 saturado de nitrógeno con tiempo de espera de 50 ns. Las flechas indican las características del estado del par ión-radical. **b)** Perfiles de tiempo de absorción del espectro mostrados anteriormente [Figura 45a] a 1040 nm, en donde se observa el proceso de recombinación de cargas.

35. ESPECTROS DE UV

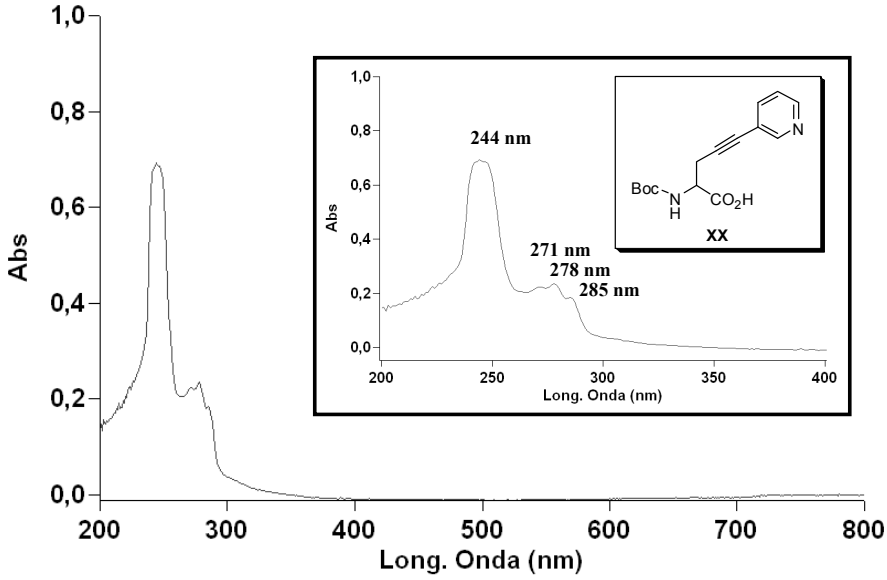
35.1. GENERAL

Las medidas de UV/Vis se realizaron en un espectrofotómetro *Cary 100 Bio UV/Visible*, empleando celdillas de NaCl. Todas las medidas, salvo que se especifique lo contrario, se llevaron a cabo a 25 ºC.

35.2. α-AMINOÁCIDOS

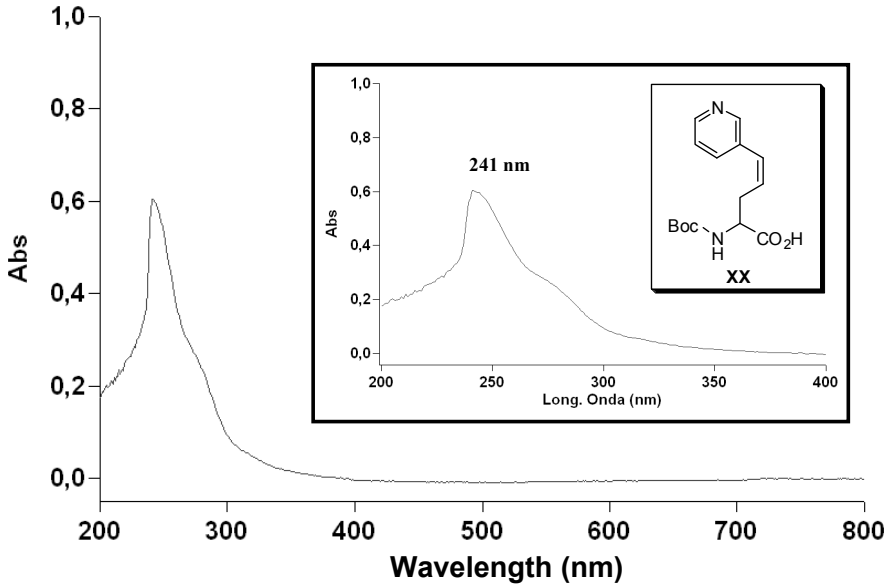
35.2.1. N-BOC-(HETERO)ARILPROPARGILGLICINAS

N-Boc-(3-piridil)propargilglicina (78)



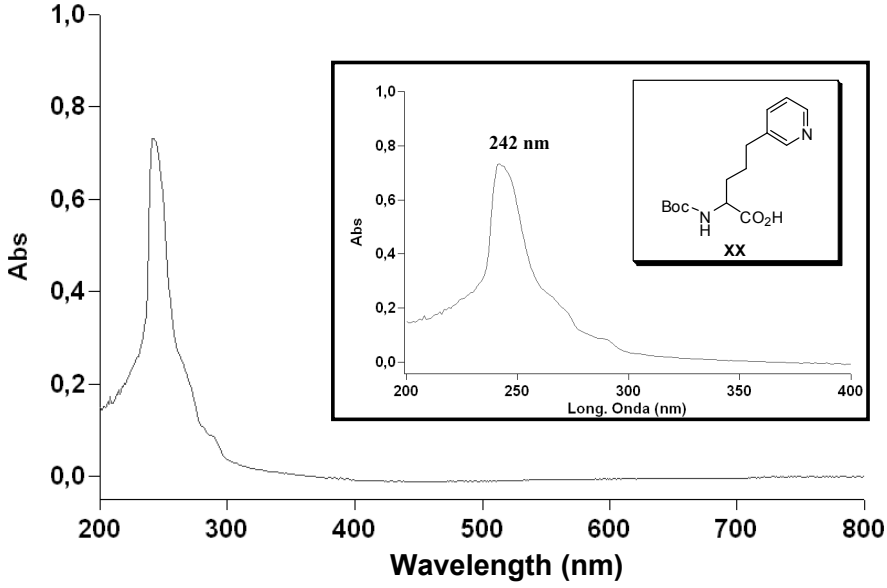
35.2.2. N-BOC-(HETERO)ARILPROPARGILGLICINAS SEMI-HIDROGENADAS

Ácido *DL-(Z)*-N-Boc-(3'-piridil)-2-aminopent-4-enoico (80)



35.2.3. N-BOC-(HETERO)ARILPROPARGILGLICINAS HIDROGENADAS

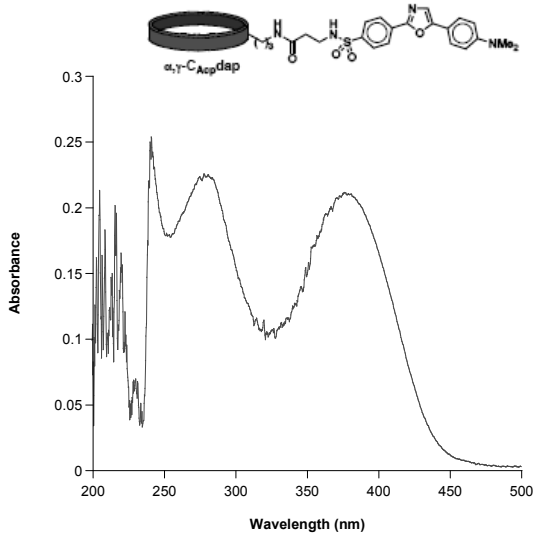
Ácido *DL*-N-Boc-(3'-piridil)-2-aminopentanoico (84)



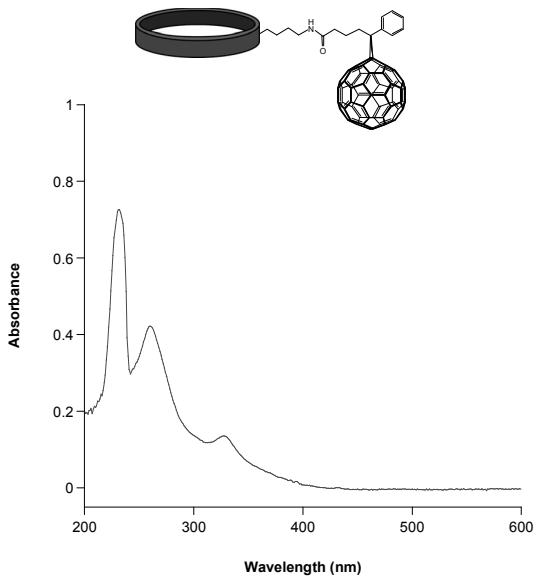
35.3. CICLOHEXAPÉPTIDOS

35.3.1. CICLOHEXAPÉPTIDOS DERIVADOS DEL ÁCIDO 3-AMINOCICLOPENTANOCARBOXÍLICO

***ciclo*{[*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp]$_2$-*L*-Lys(Dapoxilo)-*D*-^{Me}N-γ-Acp-} (42)**

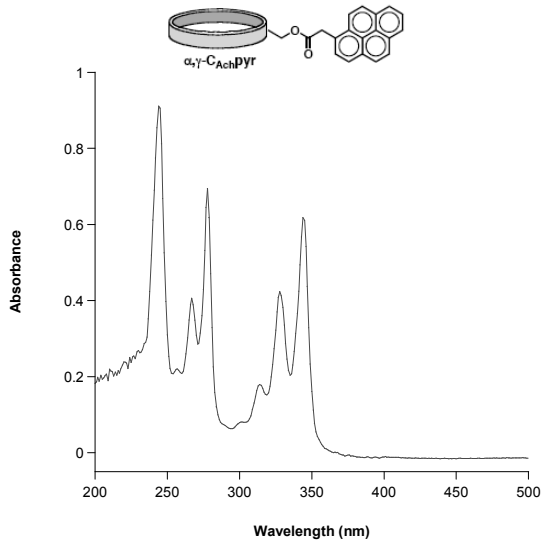


***ciclo*{[*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp]$_2$-*L*-Lys(PCBA)-*D*-^{Me}N-γ-Acp-} (46)**

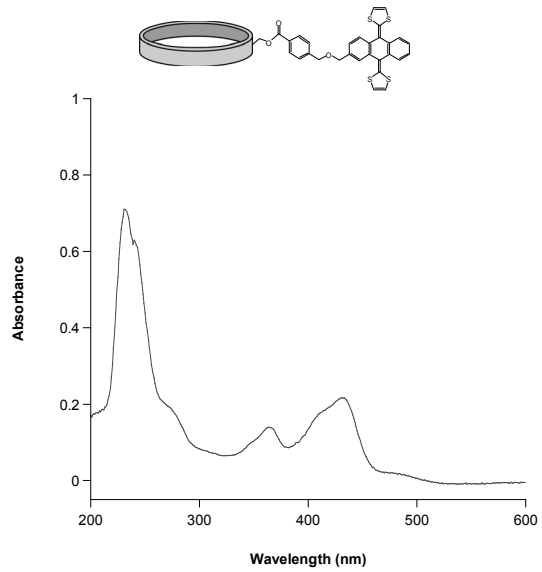


35.3.2. CICLOHEXAPÉPTIDOS DERIVADOS DEL ÁCIDO 3-AMINOCICLOHEXANOCARBOXÍLICO

_ciclo_{[_L_-Phe-_D_-^{Me}N-γ-Ach]$_2$-_L_-Ser(1-Pirenoacetil)-_D_-^{Me}N-γ-Ach-} (39)



_ciclo_{[_L_-Phe-_D_-^{Me}N-γ-Ach]$_2$-_L_-Ser(exTTF)-_D_-^{Me}N-γ-Ach-} (50)



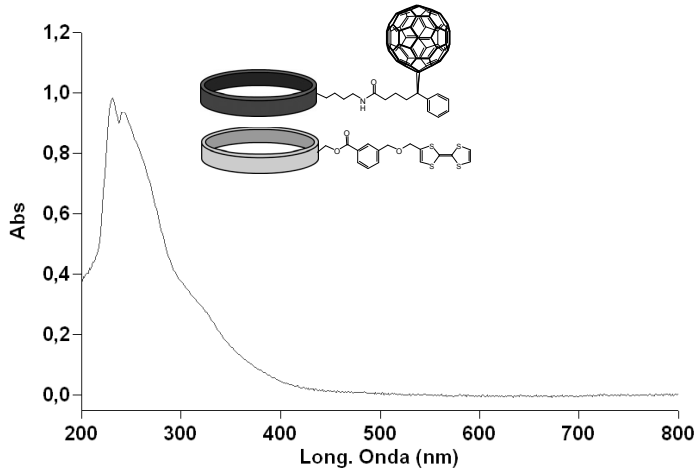
35.4. HETERODÍMEROS CICLOPEPTÍDICOS Acp/Ach

35.4.1. HETERODÍMEROS CICLOHEXAPEPTÍDICOS Acp/Ach

***ciclo*{[*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp]$_2$-*L*-Lys(PCBA)-*D*-^{Me}N-γ-Acp-} (46)**

+

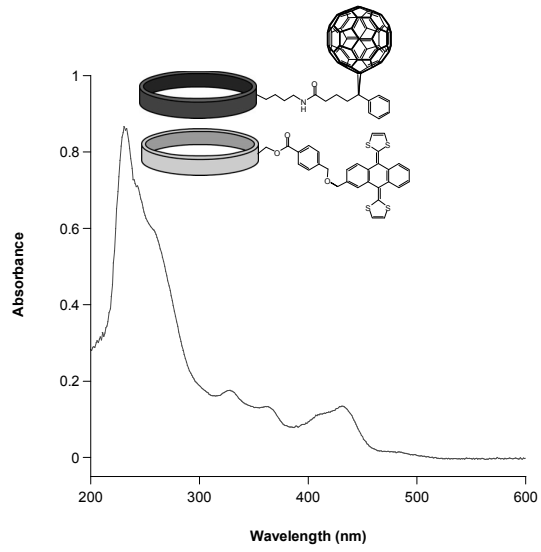
***ciclo*{[*L*-Phe-*D*-^{Me}N-γ-Ach]$_2$-*L*-Ser(TTF)-*D*-^{Me}N-γ-Ach-} (48)**



***ciclo*{[*L*-Leu-*D*-^{Me}N-γ-Acp]$_2$-*L*-Lys(PCBA)-*D*-^{Me}N-γ-Acp-} (46)**

+

***ciclo*{[*L*-Phe-*D*-^{Me}N-γ-Ach]$_2$-*L*-Ser(exTTF)-*D*-^{Me}N-γ-Ach-} (50)**



35.5. TABLAS RESUMEN

Tabla 19. Estudio espectroscópico de UV en $CHCl_3$ (25 ºC) de diversos aminoácidos, ciclopéptidos (los cuales se autoensamblan para dar lugar a las correspondientes estructuras homodiméricas) y mezclas de ciclopéptidos (los cuales se ensamblan para dar lugar a las correspondientes estructuras heterodiméricas), en donde se muestran las principales bandas de absorción [**Aa**: aminoácido; **CHP**: ciclohexapéptido].

Compuesto	UV_1[a]	UV_2	UV_3	UV_4	UV_5	UV_6
Aa 78	244	271	278	285		
Aa 80	241					
Aa 84	242					
CHP 42	243	277	367			
CHP 46	231	260	327			
CHP 39	246	268	278	314	328	345
CHP 50	232	364	432			
CHP 46 + 48	231	241				
CHP 46 + 50	231	328	363	431		

[a] Las longitudes de onda de cada banda de absorción están expresadas en nm