

TESIS DE DOCTORADO

**DISEÑO Y SÍNTESIS DE  
CÁPSULAS MOLECULARES Y  
SISTEMAS MESÓGENOS  
BASADOS EN CICLOPÉPTIDOS**

Haxel Lionel Ozores Teira

ESCUELA DE DOCTORADO INTERNACIONAL

PROGRAMA DE DOCTORADO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA QUÍMICA

SANTIAGO DE COMPOSTELA

2018





## DECLARACIÓN DEL AUTOR DE LA TESIS

### DISEÑO Y SÍNTESIS DE CÁPSULAS MOLECULARES Y SISTEMAS MESÓGENOS BASADOS EN CICLOPÉPTIDOS

D./Dña. Haxel Lionel Ozores Teira.

*Presento mi tesis, siguiendo el procedimiento adecuado al Reglamento, y declaro que:*

- 1) *La tesis abarca los resultados de la elaboración de mi trabajo.*
- 2) *En su caso, en la tesis se hace referencia a las colaboraciones que tuvo este trabajo.*
- 3) *La tesis es la versión definitiva presentada para su defensa y coincide con la versión enviada en formato electrónico.*
- 4) *Confirmando que la tesis no incurre en ningún tipo de plagio de otros autores ni de trabajos presentados por mí para la obtención de otros títulos.*

*En Santiago de Compostela, 1 de febrero de 2018.*

Fdo. Haxel Lionel Ozores Teira





## AUTORIZACIÓN DEL DIRECTOR / TUTOR DE LA TESIS

### DISEÑO Y SÍNTESIS DE CÁPSULAS MOLECULARES Y SISTEMAS MESÓGENOS BASADOS EN CICLOPÉPTIDOS

D./Dña. Juan R. Granja Guillán.

D./Dña. Manuel Amorín López.

INFORMA/N:

*Que la presente tesis, corresponde con el trabajo realizado por D/Dña. **Haxel Lionel Ozores Teira**, bajo mi dirección, y autorizo su presentación, considerando que reúne los requisitos exigidos en el Reglamento de Estudios de Doctorado de la USC, y que como director de ésta no incurre en las causas de abstención establecidas en Ley 40/2015.*

*En Santiago de Compostela, 1 de febrero de 2018.*

Fdo. Juan R. Granja Guillán

Fdo. Manuel Amorín López



## Agradecimientos

*Cuando bebas agua, recuerda la fuente*

Proverbio chino

Al final de este largo camino he aprendido que una tesis doctoral es algo más que una mera etapa académica. Es un profundo proceso de transformación personal, un viaje iniciático, en el que lo importante no son los logros alcanzados, sino las personas que te han acompañado hasta llegar a tu destino. Por ello, me gustaría comenzar esta memoria mostrando mi más sincero agradecimiento a todos los que habéis compartido conmigo esta experiencia.

En primer lugar, quisiera dar las gracias al artífice de que este trabajo haya sido posible, mi director de tesis, Juan Granja. Gracias por tus enseñanzas, tu apoyo, tu paciencia y por tu cercanía en el trato personal. También te agradezco tu forma de dirigir el grupo, desde el respeto, no imponiendo, sino motivando y animando a tus doctorandos a desarrollar sus propias ideas.

Al Profesor Manuel Amorín, por haber sido más que mi director de tesis, un amigo. Además de un gran profesional, me has demostrado que eres una buena persona y esa es la mejor impronta que uno puede dejar en la gente.

Al Profesor Luis Castedo, por su confianza, su simpatía y por sus sabios consejos.

A la doctora Rebeca García, por sus aportaciones a este trabajo y por demostrarme con su ejemplo que el éxito profesional puede alcanzarse desde la amabilidad.

Al doctor Javier Montenegro, por contagiarme su pasión por la química en los momentos en los que los resultados no acompañaban.

Al Profesor Kenneth N. Raymond, por haberme dado la oportunidad de realizar una estancia predoctoral bajo su dirección en una de las instituciones más prestigiosas del mundo, la Universidad de Berkeley. También quiero agradecer a los Profesores Robert G. Bergman y F. Dean Toste sus recomendaciones y a todos los miembros de su grupo su hospitalidad.

Al Profesor Ernesto Carmona, por haberme permitido trabajar en su laboratorio y a todos los integrantes de su grupo, en especial a María, a Mariete y a Jose, por haber convertido mi estancia en Sevilla en una experiencia inolvidable.

A los organismos e instituciones que han financiado esta tesis doctoral. Al Ministerio de Educación, Cultura y Deporte, por la beca FPU. A la Diputación de A Coruña, por la concesión de una bolsa de investigación. Al Ministerio de Economía y Competitividad (CTQ2013-43264-R y CTQ2012-38543-C03-03), a la Xunta de Galicia y al Fondo Europeo de

Desarrollo Regional (GPC2013-039 y EM2014/011), por haber financiado los proyectos que aquí se describen.

A todas esas personas con las que he compartido tantas horas, mis compañeros del CIQUS, así como a los técnicos Sergio y María, también os doy las gracias por vuestra ayuda y por haber amenizado mi estancia en el laboratorio. Una mención especial requieren los que han sido mi familia durante todos estos años, los miembros del grupo JG. A Roberto, César, Chus, Michele, Noel, Jorge y Arcadio les doy las gracias por haberme ayudado a dar los primeros pasos de este trayecto y por haberme dedicado tiempo del que muchas veces no disponían. A Alberto, Alexis, Bea, Eva, Imma, Irene, Iria, Iván, Juanillo, Karen, Leti, María José, Marisa, Marta, Martín y Nuria, por los buenos momentos compartidos de conversaciones, canciones y risas. La mente es frágil y los recuerdos se pierden con el paso del tiempo, pero aquello que se guarda en la memoria del corazón permanece para siempre. Ahí es donde os llevo a cada uno de vosotros.

También me gustaría dar las gracias a mis amigos del CM Fonseca: David, Jesús, Pablo, Jacob, Brais y Chaín por los debates hasta altas horas, las risas y todo lo que hemos vivido juntos. Gracias por haberme ayudado a crecer, de todos vosotros he aprendido algo. Tampoco me puedo olvidar de Eli, Pablo Pombar, Manu, Sansi, Tamara, Vicky y Yoli, a los he tenido el placer de conocer. Muchas gracias por vuestro cariño.

A Brenlla y Miki quiero agradecerles su amistad. Gracias por haber sido mi alegría en los momentos difíciles y por haberme regalado tantos momentos de felicidad.

A mis amigos de toda la vida: Jose, Roi y Juancho. Me siento muy afortunado por haberos conocido, la relación con vosotros ha sido determinante en todas las decisiones que he ido tomando a lo largo de mi vida. Muchas gracias.

A mis tíos maternos Hilario y Amparo, a mi primo Álvaro y a mis tíos paternos Pilar y Jorge, por haberme acogido en su casa, donde me he sentido como en casa en todo momento.

Al personal de la Universidad y del CIQUS, en especial al servicio de RMN (Ramón y Mencha).

A todos aquellos de los que me haya podido olvidar y que hayan sido importantes en esta etapa de mi vida les pido disculpas y les doy las gracias de todo corazón.

A toda mi familia y, sobre todo, a mis padres. A vosotros dos os lo debo absolutamente todo y, por mucho que me extendiese, jamás podría devolveros ni una mínima parte de lo que me habéis dado. Gracias por haberme regalado la vida, por vuestro amor, por valorar mi trabajo mucho más que yo mismo, por hacerme sentir que cuando todo falle siempre habrá un lugar donde me recibirán con los brazos abiertos. Sé que esto os hace sentir muy orgullosos de mí y ese sentimiento es suficiente para compensar todos los obstáculos que he tenido que sortear para llegar hasta aquí.

Cuando al principio de estas líneas comparaba el proceso de elaboración de una tesis con un viaje iniciático, lo hacía porque no se trata de un viaje cualquiera, sino de una experiencia transformadora. En esa transformación hay una persona que me ha influido de una manera muy especial. Apareciste en el peor momento, cuando los ánimos flaqueaban y el estrés hacía mella, y; sin embargo, gracias a ti he experimentado los años más felices de mi vida. Sobre ti, Miriam, podría escribir muchas cosas, pero como dijo Julio Cortázar “las palabras nunca alcanzan cuando lo que hay que decir desborda el alma”.







*A mis padres y a Miriam,*



# ÍNDICE

Abreviaturas y acrónimos .....	17
Resumen.....	23
Summary .....	27
<b>Introducción</b> .....	31
1. Química supramolecular.....	33
1.1. Antecedentes .....	33
1.2. Nacimiento de la química supramolecular.....	35
1.3. Reconocimiento molecular y autoensamblaje .....	38
2. Química anfitrión-huésped .....	38
2.1. Receptores moleculares artificiales.....	40
2.2. Receptores covalentes .....	40
2.2.1. Éteres corona, esferandos y criptandos.....	40
2.2.2. Ciclofanos.....	42
2.2.3. Cavitandos .....	43
2.2.4. Carcerandos y hemicarcerandos .....	45
2.3. Cápsulas moleculares no covalentes .....	47
2.3.1. Cajas de coordinación.....	48
2.3.2. Cápsulas autoensambladas .....	56
2.4. Contenedores moleculares con cavidades funcionalizadas .....	60
3. Autoensamblaje molecular .....	70
3.1. Estructuras tubulares.....	72
3.2. Nanotubos ciclopeptídicos.....	74
3.2.1. Estructuras tubulares constituidas por <i>D,L</i> - $\alpha$ -ciclopeptidos ( <i>D,L</i> - $\alpha$ -CPs).....	75
3.2.2. Estructuras tubulares constituidas por otros tipos de ciclopeptidos .....	79
3.2.3. Estructuras tubulares constituidas por $\alpha,\gamma$ -ciclopeptidos .....	81
3.3. Aplicaciones de los nanotubos ciclopeptídicos.....	89
3.3.1. Materiales porosos .....	95
4. Cristales líquidos .....	97
4.1. Precursores de cristales líquidos columnares .....	99
4.2. Moléculas discóticas supramoleculares.....	100
<b>Objetivos</b> .....	107
<b>Capítulo 1: Sistemas mesógenos basados en <math>\alpha,\gamma</math>-ciclopeptidos</b> .....	115
1.1. Diseño y síntesis .....	119

1.2. Estudios de RMN e IR.....	122
1.3. Estudios en estado sólido .....	124
1.3.1. Microscopía óptica de luz polarizada (POM) .....	124
1.3.2. Calorimetría diferencial de barrido (DSC) .....	125
1.3.3. Espectroscopía IR en estado sólido y difracción de rayos X .....	127
1.4. Aproximación supramolecular.....	131
1.4.1. Diseño y síntesis .....	133
1.4.2. Estudios de RMN e IR .....	135
1.4.3. Estudios en estado sólido.....	140
<b>Capítulo 2: Cápsulas moleculares basadas en <math>\alpha,\gamma</math>-ciclohexapéptidos .....</b>	<b>143</b>
2.1. Diseño.....	146
2.2. Síntesis .....	149
2.3. Estudios de dimerización por RMN e IR.....	152
2.4. Estudios de coordinación y reconocimiento .....	153
2.4.1. Aproximación metálica .....	153
2.4.1.1. Formación del heterodímero .....	154
2.4.1.2. Estudios de coordinación de Ag(I) .....	155
2.4.1.3. Estudios de coordinación de Cu(I).....	159
2.4.1.4. Estudios de coordinación de Zn(II) .....	162
2.5. Cambio de diseño.....	164
2.6. Estudios de dimerización por RMN e IR.....	166
2.7. Estudios de coordinación y reconocimiento.....	167
2.7.1. Aproximación metálica .....	167
2.7.2. Aproximación supramolecular.....	176
<b>Capítulo 3: Cápsulas moleculares basadas en <math>\alpha,\gamma</math>-ciclooctapéptidos.....</b>	<b>187</b>
3.1. Diseños previos .....	189
3.2. Síntesis .....	190
3.3. Cambio de diseño .....	194
3.4. Síntesis .....	195
3.5. Aproximación combinatoria dinámica .....	198
3.6. Diseño.....	200
3.7. Síntesis .....	201
3.8. Estudios de encapsulación.....	205
3.8.1. Síntesis de ligandos.....	205

3.8.2. Estudios de UV-vis.....	207
3.8.3. Estudios de RMN .....	213
3.8.4. Estudios de encapsulación por RMN .....	215
3.8.5. Estudios de dicroísmo circular (DC) .....	219
3.9. Caracterización termodinámica de la formación de los complejos ligando-receptor .....	221
3.10. Liberación del ligando y control sobre el equilibrio .....	224
<b>Conclusiones/Conclusions</b> .....	229
<b>Parte experimental</b> .....	243
1. Descripción general.....	245
2. Capítulo 1 .....	247
2.1. Síntesis y caracterización.....	247
2.1.1. Dendrones .....	247
2.1.2. Péptidos.....	247
2.2. Espectroscopía IR en estado sólido y difracción de rayos X .....	259
2.3. Experimentos de DOSY.....	259
3. Capítulo 2 .....	260
3.1. Síntesis y caracterización .....	260
3.2. Estudios de coordinación con el homodímero D11 .....	265
3.3. Estudios de coordinación con el heterodímero D(11-12) .....	266
3.4. Cambio de diseño.....	266
3.4.1. Síntesis y caracterización .....	266
3.4.2. Estudios de coordinación con el homodímero D14.....	270
3.4.3. Estudios de encapsulación con el homodímero D14 .....	271
3.5. Aproximación supramolecular.....	271
3.5.1. Síntesis de los ligandos S1-3 .....	271
3.5.2. Estudios de encapsulación de los diamonios S1-3 .....	272
4. Capítulo 3 .....	274
4.1. Diseños previos: síntesis y caracterización .....	274
4.2. Cambio de diseño.....	282
4.2.1. Síntesis y caracterización .....	282
4.3. Aproximación combinatoria dinámica .....	287
4.3.1. Síntesis y caracterización .....	287
4.3.2. Estudios de UV-vis .....	299
4.3.2.1. <i>Coefficiente de extinción</i> .....	300
4.3.2.2. <i>Medidas con la porfirina <b>26</b></i> .....	301
4.3.2.3. <i>Medidas con el dímero <b>D25</b></i> .....	301
4.3.2.4. <i>Estudios cinéticos</i> .....	302

4.3.3. Estudios de encapsulación por RMN.....	302
4.3.4. Estudios de dicroísmo circular (DC).....	303
4.3.5. Liberación del ligando.....	303
4.3.6. Control sobre el equilibrio.....	304

<b>Anexo I: Espectros de RMN de los ciclopéptidos .....</b>	<b>305</b>
---	------------

**Anexo II: Espectros de RMN e IR**

**Anexo III: DOSY**



## Abreviaturas y acrónimos

$[\alpha]_D^{20}$	rotación específica a 20 °C con lámpara de sodio
$\delta$	desplazamiento químico (ppm)
$\nu$	número de onda
$\rho$	densidad
$a$	constante de la red hexagonal
Aa	aminoácido
AB	acoplamiento con efecto tejado
Ac	acetilo
$\gamma$ -Aca	ácido 3-aminocicloalcanocarboxílico
$\gamma$ -Ace	ácido <i>cis</i> -4-aminociclopent-2-enocarboxílico
$\gamma$ -Ach	ácido <i>cis</i> -3-aminociclohexanocarboxílico
AcO	acetato
AcOH	ácido acético
$\gamma$ -Acp	ácido <i>cis</i> -3-aminociclopentanocarboxílico
ADN	ácido desoxirribonucleico
AFM	microscopía de fuerza atómica
$\gamma$ -Aga	ácido 1-glucurónico
$\gamma$ -Ahf	ácido 4-amino-3-hidroxitetrafurano-2-carboxílico
Ala	alanina
aq	disolución acuosa
Ar	argón/arilo
Arg	arginina
Bn	bencilo
BnOH	alcohol bencílico
Boc	<i>tert</i> -butiloxicarbonilo
(Boc) <sub>2</sub> O	anhídrido de <i>tert</i> -butiloxicarbonilo
br	pico ancho
Bu	butilo
c	cuadruplete
Cbz	benciloxicarbonilo
ccf	cromatografía en capa fina
CL	cristal líquido

Col	mesofase columnar
Col <sub>h</sub>	mesofase columnar hexagonal
Col <sub>L</sub>	mesofase columnar lamelar
Col <sub>ob</sub>	mesofase columnar oblicua
Col <sub>r</sub>	mesofase columnar rectangular
COSY	espectroscopía de correlación ( <i>Correlation Spectroscopy</i> )
CP	ciclopéptido
Cp*	ciclopentadienilo
Cr	fase cristal
<sup>13</sup> C-RMN	resonancia magnética nuclear de <sup>13</sup> C
d	doblete
D	dímero
D <sub>A</sub>	dímero alternado
DABCO	1,4-diazabicyclo[2.2.2]octano
DC	dicroísmo circular
<i>d<sub>calc</sub></i>	distancia calculada
dd	doble doblete
ddd	doble doblete
DDQ	2,3-dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona
D <sub>E</sub>	dímero eclipsado
DEPT	incremento no distorsionado por transferencia de polarización de <sup>13</sup> C
DFT	teoría del funcional de la densidad ( <i>Density Functional Theory</i> )
DIEA	diisopropiletilamina
DMAP	4- <i>N,N</i> -dimetilaminopiridina
DMF	<i>N,N</i> -dimetilformamida
DMSO	dimetilsulfóxido
Dn	dendrón
<i>d<sub>obs</sub></i>	distancia observada
DOSY	espectroscopía de orden difusional ( <i>Diffusion-Ordered Spectroscopy</i> )
dp	dipéptido
4-DPPBA	ácido 4-difenilfosfinobenzoico
DRX	difracción de rayos X
DSC	calorimetría diferencial de barrido
dt	doble triplete

<i>D</i>	coeficiente de difusión
EDC·HCl	hidrocloruro de la <i>N</i> -(3-dimetilaminopropil)- <i>N</i> '-etilcarbodiimida
e.e.	exceso enantiomérico
eq	equivalentes
ESI	ionización por electroespay
Et <sub>3</sub> N	trietilamina
EtOAc	acetato de etilo
Fm	9-fluorenilmetil
FRET	transferencia de energía de resonancia fluorescente ( <i>Fluorescence Resonance Energy Transfer</i> )
FTIR	espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier
5-FU	5-fluoracilo
Gln	glutamina
Glu	ácido glutámico
<i>h</i>	periodicidad del apilamiento a lo largo del eje de la columna
HOBt	1-hidroxibenzotriazol
hp	hexapéptido
HPLC	cromatografía líquida de alta resolución
<sup>1</sup> H-RMN	resonancia magnética nuclear de <sup>1</sup> H
HRMS	espectrometría de masas de alta resolución
HSQC	espectroscopía de correlación cuántica simple heteronuclear ( <i>Heteronuclear Single Quantum Correlation</i> )
<i>h, k</i>	índices de Miller
<i>J</i>	constante de acoplamiento
<i>K<sub>a</sub></i>	constante de asociación
I	fase de líquido isotrópico
IR	infrarrojo
LC	fases de cristal líquido
Leu	leucina
Lys	lisina
<i>m</i>	multiplete
<i>M</i>	peso molecular
MALDI	espectroscopía de masas por ionización láser asistida por matriz
Me	metilo

ME	molaridad efectiva
MOF	entramado metaloorgánicos ( <i>Metal-Organic Framework</i> )
MS	espectrometría de masas
m/z	relación masa/carga
N	número de Avogadro
N <sub>Col</sub>	mesofase nemática columnar
NDI	diimida 1,4,5,8-naftalenotetracarboxílica
N-HATU	hexafluorofosfato de N-óxido de N-[(dimetilamino)-1H-1,2,3-triazolo[4,5-b]piridin-1-il-metilen]-N-metilmetanamino
N-HBTU	hexafluorofosfato de N-óxido de N-[(1H-benzotriazol-1-il)dimetilamino-metilen]-N-metilmetanamino
N-TBTU	tetrafluoroborato de N-óxido de N-[(1H-benzotriazol-1-il)dimetilamino-metilen]-N-metilmetanamino
nOe	efecto nuclear Overhauser ( <i>Nuclear Overhauser Effect</i> )
NOESY	espectroscopía de efecto nuclear Overhauser ( <i>Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy</i> )
Ns	2-nitrobenzenosulfonilo/nosilo
OAc	acetato
op	octapéptido
OTf	trifluorometanosulfonato/triflato
Phe	fenilalanina
PhSH	tiofenol
Phth	ftalimido
PN <sub>3</sub>	<i>tris</i> (2-aminofenil)fosfina
POM	microscopía óptica de luz polarizada
PPh <sub>3</sub>	trifenilfosfina
ppm	partes por millón
Py	piridina
q	quintuplete
R <sub>f</sub>	valor de retención cromatográfica
r <sub>H</sub>	radio hidrodinámico
RMN	resonancia magnética nuclear
ROESY	espectroscopía de efecto nuclear Overhauser en el plano rotatorio ( <i>Rotational frame nuclear Overhauser Effect Spectroscopy</i> )
s	singlete

SAXS	dispersión de rayos X de ángulo pequeño ( <i>Small Angle X-ray Diffraction</i> )
$S_{col}$	sección transversal de la celda unidad hexagonal
SCPN	nanotubos peptídicos autoensamblados
Ser	serina
SNMC	nanotubos peptídicos con clústeres de plata subnanométricos
SWCNT	nanotubo de carbono de pared simple
t	tripleto
T	temperatura
ta	temperatura ambiente
TEM	microscopia de transmisión electrónica
TFA	ácido trifluoroacético
TFMSA	ácido triflorometanosulfónico
THF	tetrahidrofurano
TMEDA	tetrametiletilendiamina
TMS	tetrametilsilano
TMSS	tetrakis(trimetilsililo)silano
TMPA	<i>tris</i> (2-piridilmetil)amina
TOCSY	espectroscopía de correlación total ( <i>Total Correlation Spectroscopy</i> )
TOF	analizador de tiempo de vuelo ( <i>time of flight</i> )
TON	número de recambio ( <i>Turnover Number</i> )
tp	tetrapéptido
TREN	<i>tris</i> (2-aminoetil)amina
Trp	triptófano
Ts	tosilo
<i>p</i> -TsOH	ácido <i>para</i> -toluensulfónico
TTF	tetratiafulvaleno
Tyr	tirosina
UV	ultravioleta
$V_m$	volumen molecular
WAXS	dispersión de rayos X de ángulo grande ( <i>Wide Angle X-ray Diffraction</i> )
XRD	difracción de rayos X de polvo cristalino
Z	número estimado de moléculas por estrato de columna



## Resumen

La preparación de moléculas complejas de forma simple y controlada es uno de los mayores retos en química. En este aspecto, la química supramolecular ha demostrado ser una herramienta muy poderosa en la obtención de agregados de gran tamaño que presentan distintas aplicaciones en catálisis, reconocimiento molecular y ciencia de materiales. La eficacia de este tipo de procedimientos depende del uso correcto de las interacciones no covalentes como los enlaces de hidrógeno, los enlaces de coordinación y las fuerzas de van der Waals. De este modo, las estructuras complejas, que son difíciles de obtener a través de las estrategias de la química covalente, pueden ser preparadas de una forma más sencilla a partir de moléculas simples que portan grupos funcionales complementarios para interactuar a través de fuerzas intermoleculares. Dentro de este campo, las cavidades y los canales funcionales han emergido como sistemas altamente interesantes que han revolucionado la química, la nanotecnología y la ciencia de materiales. Uno de los métodos más efectivos para obtener este tipo de construcciones supramoleculares consiste en el autoensamblaje de péptidos cíclicos, ya que permiten un fácil control del diámetro interno del nanotubo.

Nuestro grupo de investigación está interesado en este tipo de estructuras moleculares. Por este motivo, en los últimos años hemos desarrollado una nueva clase de ciclopéptidos formadores de nanotubos constituidos por  $\alpha$ -aminoácidos y unidades de ácido 3-aminocicloalcanocarboxílico ( $\gamma$ -Aca). Una de las principales ventajas que presenta la incorporación de estos  $\gamma$ -aminoácidos consiste en que permiten funcionalizar la superficie interna del nanotubo a través de la funcionalización del carbono  $\beta$ , proyectado hacia la cavidad interna. Por tanto, consideramos que este tipo de sistemas podrían ser muy prometedores en la preparación de materiales porosos con un tamaño de poro controlado y de cavidades funcionales.

Teniendo en cuenta estas consideraciones, esta tesis doctoral se centra en el estudio de estructuras mesógenas y cápsulas moleculares basadas en  $\alpha,\gamma$ -ciclopéptidos. En el primer capítulo, en colaboración con el grupo de la Profesora Teresa Sierra se abordó la síntesis de una serie de ciclopéptidos decorados con dendrones, que presentan la capacidad de organizarse en fases de cristal líquido. Para ello, en primer lugar, se prepararon tres moléculas discóticas diferentes (**CP3-5**) mediante el acoplamiento de un ciclohexapéptido *N*-metilado, que incorporaba tres residuos de serina en la secuencia peptídica, con tres dendrones (**Dn1-3**) que se diferenciaban en el número de cadenas alquílicas presentes en la molécula. La estructura de los compuestos híbridos resultantes se confirmó a través de espectroscopía de masas, RMN y FTIR. Adicionalmente, los estudios en disolución revelaron que dichos compuestos se encuentran en la forma dimérica.

Con el objetivo de determinar la naturaleza mesogénica y las propiedades térmicas, los derivados mencionados anteriormente se estudiaron en fase sólida mediante POM, DSC y difracción de rayos X. Los resultados mostraron que los tres compuestos (**CP3-5**)

presentaban fases de cristal líquido con un ordenamiento columnar hexagonal ( $Col_h$ ). Además, dependiendo del número de colas alquílicas presentes en la unidad mesogénica, se obtenían mesofases con canales simples o dobles. Así, los compuestos **CP3** y **CP4**, que portaban dendrones funcionalizados con 3 y 6 colas hidrocarbonadas, respectivamente, conducían a la formación de materiales porosos con canales dobles; mientras que el derivado más sustituido **CP5** generaba mesofases con canales simples.

Con la intención de desarrollar una metodología que nos permitiese obtener materiales porosos con poros funcionalizados, también se llevó a cabo la preparación de moléculas discóticas supramoleculares formadas por el autoensamblaje de un núcleo ciclopeptídico con dendrones periféricos que portan 9 cadenas alquílicas. Para ello, en este caso, se sintetizaron dos CPs distintos, un tetrapéptido y un hexapéptido, para formar los heterocomplejos 1:2 y 1:3, respectivamente. Los estudios en estado sólido de los agregados preparados mostraron un comportamiento mesomórfico en ambos casos; pero, desafortunadamente, no se pudo determinar el tipo de mesofase que formaban.

Por otra parte, en los capítulos 2 y 3 nos centramos en la preparación de cápsulas moleculares provistas de grupos con capacidad de actuar como directores de la encapsulación proyectados hacia la cavidad interna a partir de  $\alpha,\gamma$ -ciclopeptidos. Con este propósito, las estructuras peptídicas se modificaron con tapas moleculares apropiadas para promover la internalización de distintas moléculas huésped en el interior del receptor.

El primer diseño que exploramos consistía en un dímero de cilohexapéptidos funcionalizados con tres piridinas. La molécula anfitrión abierta se sintetizó mediante una reacción de acoplamiento cruzado entre el CP *N*-propargilado y las correspondientes piridinas, bajo dos condiciones de Sonogashira distintas. Las condiciones acuosas requirieron la reducción *in situ* de los grupos alquino para impedir la adición de moléculas de agua a los triples enlaces, mientras que la reacción en disolventes orgánicos condujo a la obtención de la especie acetilénica. El cierre de ambas estructuras (**CP11** y **CP14**) se obtuvo mediante la adición de distintos metales de geometría tetraédrica, que dejan un posición de coordinación orientada hacia la cavidad interna.

La incorporación de Ag(I), Cu(I) o Zn(II) al ciclopeptido **CP11** dio lugar a la formación de complejos insolubles en cloroformo. Únicamente el Zn(II) proporcionó una especie parcialmente soluble. Por tanto, los experimentos de adición se llevaron a cabo inicialmente con el heterodímero **D11-12**. La incorporación de cantidades crecientes de Ag(I), Cu(I) o Zn(II) al compuesto **D11-12** provocó pequeños cambios en los espectros de  $^1H$ -RMN, sugiriendo la existencia de procesos de intercambio rápido.

Con el objetivo de incrementar la solubilidad, se preparó un ciclopeptido más hidrofóbico (**CP14**). A pesar de ello, la adición del centro metálico condujo a resultados similares a los obtenidos con **CP11**. Por el contrario, la incorporación de una sal de cobre con un contraión voluminoso ( $[Cu(CH_3CN)_4][BAR^F_4]$ ) en THF causó cambios significativos en la región aromática de **CP14**. Pero, en estas condiciones, el centro metálico se oxidó

rápida. Para prevenir la conversión de Cu(I) en Cu(II) se utilizó una sal con un carácter más covalente (CuI). Bajo estas condiciones, se obtuvo una mezcla del complejo deseado y la especie desmetalada en una relación de 2:1.

A pesar de que la interacción entre el receptor y el metal se observó en todos los casos, no se obtuvo ninguna evidencia de la encapsulación de los ligandos ensayados con las especies homodiméricas ni con las heterodiméricas. La adición de 1,5-dicianopentano sobre una disolución de **Ag-D11**, **Zn-D11** o **Cu-D(11-12)** no causó cambios en los espectros de RMN. El homodímero **Zn-D14** en presencia de 1,8-octanodicarboxilato tampoco condujo a la formación del complejo de inclusión. Finalmente, tampoco se obtuvieron evidencias del reconocimiento de 1,4-dicianobutano o de su análogo insaturado (*E*)-hex-3-enodinitrilo en el interior de **CuI-D14**, cuando el yoduro se precipitó por adición de AgPF<sub>6</sub>, a pesar de que se forma una especie distinta de la sustancia de partida.

Adicionalmente, el receptor **D14** se estudió en el reconocimiento de diamonios (Figura 73). Para ello, se utilizaron tres diamonios diferentes, uno corto (butano-1,4-diamonio, **S1**) y dos con el tamaño adecuado para interactuar con los dos ligandos tripodales del dímero al mismo tiempo (hexano-1,6-diamonio, **S2** y octano-1,8-diamonio, **S3**). Los espectros de <sup>1</sup>H-RMN y los experimentos de DOSY de mezclas **D14/S1-3** 1:1 mostraron que la interacción entre ambos componentes tenía lugar en todos los casos. Con la intención de obtener más información acerca de las especies obtenidas, se llevaron a cabo experimentos de DOSY a concentración variable. Los resultados de estos experimentos mostraron que el radio hidrodinámico ( $r_H$ ) dependía de la concentración para las mezclas que contenían los ligandos **S1** y **S3**. Por tanto, en ambos casos la interacción entre los componentes conduce a la formación de agregados. Por otra parte, con el ligando **S2** el tamaño de la especie obtenida resultó ser independiente de la concentración, lo que sugiere la formación del complejo 1:1. Desafortunadamente, no se observaron nOes entre los protones internos de la cápsula y el espaciador del ligando. Por tanto, no fue posible confirmar la encapsulación de **S2** en el receptor **D14**.

A continuación, sintetizamos cápsulas de mayor tamaño utilizando ciclooctapéptidos como estructura peptídica básica. Siguiendo una estrategia de diseño similar a la descrita para el receptor anterior, se incorporó una bipyridina y una terpiridina al esqueleto peptídico para llevar a cabo la coordinación de metales de geometría octaédrica, que proyectasen una de las posiciones de coordinación hacia la cavidad interna. Bajo estas premisas, se obtuvo el receptor cerrado que incorporaba rutenio (III) como centro metálico. Pero los bajos rendimientos no permitieron obtener cantidad de compuesto suficiente para llevar a cabo los estudios de encapsulación.

Continuando con la idea de preparar cápsulas moleculares basadas en ciclooctapéptidos, se exploró el uso de metaloporfirinas para realizar el cierre de la estructura. Inicialmente, se intentó preparar el receptor vacío a través de una reacción de

Sonogashira entre un CP *N*-propargilado y una diiodoporfirina. Desafortunadamente, bajo esas condiciones no se detectó la formación de la hemicápsula.

Por el contrario, el receptor deseado se obtuvo a partir de un ciclooctapéptido que portaba dos grupos hidracina y una porfirina de Zn funcionalizada con dos aldehídos complementarios, mediante la formación de los correspondientes enlaces covalentes dinámicos. La cápsula supramolecular resultante **D25** se ensayó en el reconocimiento de bipyridinas. En primer lugar, el proceso se estudió por UV-vis. Para ello, se llevaron a cabo estudios de adición de bipyridinas de distintos tamaños y de piridinas modelo, que nos permitieron estimar la contribución debida a la coordinación del ligando a la porfirina. A partir de los resultados obtenidos se pudo calcular la constante de asociación y la molaridad efectiva para cada ligando. El análisis de estos datos permitió concluir que los mejores candidatos eran los que presentaban una distancia entre nitrógenos de entre 15.8 y 16.6 Å. Con el objetivo de profundizar en la naturaleza del reconocimiento se llevaron a cabo experimentos de DOSY, NOESY y ROESY. La presencia de nOes entre los protones internos del receptor y los protones del espaciador de las bipyridinas ensayados proporcionó una evidencia clara de la encapsulación del ligando. Otra confirmación de la formación del complejo de inclusión se obtuvo a través de dicroísmo circular. Los espectros de DC de una mezcla **D25**/bipyridina mostraron una transmisión de quiralidad del péptido a las moléculas huésped estudiadas.

Finalmente, el ligando encapsulado se pudo liberar aprovechando el carácter reversible de los conectores entre el dímero y las tapas. De este modo, la adición de *O*-bencilhidroxilamina provocó la hidrólisis de los conectores y la formación de los enlaces oxima correspondientes con las porfirinas, liberando así el ligando atrapado en el interior de la estructura.



## Summary

The preparation of complex molecules in a controlled and simple manner is one of the greatest challenges in Chemistry. With this aim, Supramolecular Chemistry has shown to be a powerful tool to obtain large aggregates that present wide applications in catalysis, molecular recognition and material science. The success of this kind of chemical procedures depends on the correct use of noncovalent interactions such as hydrogen bonding, metal coordination or van der Waals forces. Therefore, complex architectures, which are difficult to obtain by covalent chemistry, can be easily prepared through templated synthesis from simple building blocks, bearing suitable and complementary functionalities. Within this field, functional cavities and channels have emerged as attractive systems that have revolutionized chemistry, nanotechnology and material science. One of the most interesting methods to achieve such kind of supramolecular structures consists of the self-assembly of cyclic peptide units, because it allows an easy control of the internal diameter of the nanotube.

Our group is interested in this type of molecular architectures. For this reason, over the last years we have developed new class of cyclic peptides constituted by  $\alpha$ -amino acids and 3-aminocycloalkanecarboxylic acids ( $\gamma$ -Acas). One of the main advantages of incorporating the  $\gamma$ -residues is the access to functionalize the internal surface of the nanotube, through the modification of the  $\beta$ -carbon of the  $\gamma$ -amino acid pointing towards the inner cavity. Therefore, we envisaged these systems as very attractive platforms for the construction of porous materials and functionalized cavities.

On the basis of these considerations, this thesis is focused on the study of mesogenic structures and molecular capsules based on  $\alpha,\gamma$ -cyclic peptides. In the first chapter, in collaboration with the group of Professor Teresa Sierra, a variety of self-assembling cyclic peptides decorated with mesogenic dendrons, with the ability to organize in liquid crystal phases, were reported. First of all, we prepared three different disc-shaped molecules (**CP3-5**) resulting from the coupling of a *N*-methylated cyclic hexapeptide, bearing serine residues, with three dendrons (**Dn1-3**), that differentiate from each other in the number of alkyl chains present in the molecule. The structure of the resulting hybrid compounds was confirmed by MS, NMR and FTIR. In addition, studies in solution revealed that such compounds are in the dimeric form.

In order to determine their mesogenic nature and thermal properties, the aforementioned peptide derivatives were studied by POM, DSC and X-ray diffraction. All three compounds (**CP3-5**) showed porous liquid crystals phases with a hexagonal columnar ( $\text{Col}_h$ ) arrangement. Furthermore, single or double channels were obtained depending on the number of alkyl chains present in the mesogenic units. Thus, compounds **CP3** and **CP4**, bearing dendrons functionalized with 3 and 6 hydrocarbon tails, respectively, led to the formation of double channels; while bulkier **CP5** generated a single channel material.

Aiming to develop a synthetic strategy for obtaining porous materials with functionalized pores, we also prepared supramolecular discotic molecules formed by the self-assembly of an arginine-based cyclic peptide core and peripheral dendrons bearing 9 alkyl chains. In this case, two different CPs, a tetrapeptide and a hexapeptide, were synthesized to form the 1:2 and 1:3 heterocomplex, respectively. Solid-state studies showed mesomorphic behavior in both cases, but unfortunately, the type of mesophase could not be determined.

On the other hand, in chapters 2 and 3 we focused on the preparation of molecular capsules with functionalized interiors from  $\alpha,\gamma$ -cyclic peptides. For this purpose, the peptidic scaffolds were modified with suitable caps that are able to point guests to the inner cavity.

The first design that we explored involved a dimer of cyclic hexapeptides functionalized by three pyridines. The open host molecule was synthesized by a cross-coupling reaction between the *N*-propargylated CP and the corresponding pyridines under two different Sonogashira conditions. Aqueous conditions required the reduction *in situ* of alkyne groups to prevent the water addition to the triple bond, while the reaction in organic solvents led to the acetylenic species. The closure of the two structures (**CP11** and **CP14**) was carried out by adding different tetrahedral metals that leaves a coordination site directed towards the *endo* position.

The incorporation of Ag(I), Cu(I) or Zn(II) to **CP11** led to the formation of insoluble complexes in chloroform. Only Zn(II) provided a partially soluble species. Therefore, the addition experiments were carried out initially with the heterodimer **D11-12**. The incorporation of increasing amounts of Ag(I), Cu(I) or Zn(II) to the aforementioned compound (**D11-12**) caused small changes in the NMR spectra, suggesting the existence of fast exchange processes.

In order to increase the solubility, the more hydrophobic **CP14** was prepared. However, the addition of the metal center provided similar results. In contrast, the incorporation of a copper salt with a bulkier counterion ( $[\text{Cu}(\text{CH}_3\text{CN})_4][\text{BAr}^{\text{F}}_4]$ ) in THF caused significant changes in the aromatic region of **CP14**, even though the metal center was rapidly oxidized. To prevent the Cu(I) to Cu(II) conversion we used the more covalent CuI salt. Under these conditions, the desired complex was obtained in mixture with the unmetallated form in a ratio 2:1.

Although the interaction between the host and the metal was observed in all cases, no evidence of guest encapsulation was obtained; neither in the homodimeric, nor in the heterodimeric species. The direct addition of 1,5-dicyanopentane to a solution of **Ag-D11**, **Zn-D11** or **Cu-D(11-12)** did not cause changes in the NMR spectra. The acetylenic homodimer **Zn-D14** in the presence of 1,8-octanedicarboxylate also did not lead to the formation of the inclusion complex. Finally, the recognition of 1,4-dicyanobutane or the unsaturated analogue (*E*)-hex-3-enedinitrile from **CuI-D14** did not occur when the iodide

was precipitated by addition of  $\text{AgPF}_6$ , even though a different species from the starting material is formed.

In addition, the open host **D14** was tested in the encapsulation of diammonium ligands. For this purpose, three different diammoniums, one short (butane-1,4-diammonium, **S1**) and two with the correct size to reach the both tripodal ligands of the dimer (hexane-1,6-diammonium, **S2** and octane-1,8-diammonium, **S3**), were studied.  $^1\text{H-NMR}$  spectra and DOSY experiments of **D14/S1-3** 1:1 mixtures confirmed the interaction between the components in all cases. In order to determine the nature of the assemblies, DOSY experiments at different concentrations were performed. The results showed a dependence between the hydrodynamic radius ( $r_{\text{H}}$ ) and the concentration for the solutions containing **S1** or **S3**. Therefore, both ligands should cause the formation of large aggregates. On the other hand, the size was independent of the concentration for the ligand **S2**, suggesting the obtention of the 1:1 complex. Unfortunately, nOe cross-peaks between the internal protons of the host and the ligand linker were not observed. Thus, the formation of the encapsulated species could not be fully demonstrated.

Next, we synthesized larger capsules by using cyclic octapeptide scaffolds. With the aim of implementing the previously used strategy, we incorporated a bipyridine and a terpyridine in the peptidic skeleton to coordinate octahedral metals, leaving a coordination site pointed towards the *endo* position. The enclosed host was achieved by addition of ruthenium (III) but, unfortunately, the low yields obtained did not allow carrying out the encapsulation studies.

Continuing with the idea of obtaining cyclic octapeptide-based capsules, we explored the use of metalloporphyrins to close the structure. Initially, we tried to prepare the empty host by means of a Sonogashira reaction between the *N*-propargylated CP and a diiodoporphyrin derivative. Unfortunately, under these conditions the hemicapsule was never detected.

Conversely, the empty host was prepared from a cyclic octapeptide, bearing two hydrazine groups, and a dibenzaldehyde Zn-porphyrin by means of a dynamic covalent reaction. Then, the resulting supramolecular capsule **D25** was tested in the recognition of a variety of bipyridines. For this purpose, first of all, the process was studied by UV-vis spectroscopy. Thus, addition experiments were carried out with bipyridines of different sizes and model pyridines, which provided an estimation of the contribution due to the coordination of the ligand to the porphyrin. From these results the association constant and the effective molar value were obtained for each ligand. Data analysis allowed to conclude that the best ligands were those with an internitrogen separation between 15.8 and 16.6 Å. In order to determine the nature of recognition, DOSY, NOESY and ROESY experiments were performed. The presence of nOe cross-peaks between the internal protons of the host and the ligand linkers, provided clear evidences of the guest encapsulation. The formation of the

inclusion complex was also confirmed by circular dichroism. The CD spectra of a mixture **D25**/bipyridine showed a transmission of chirality from the peptide to the guest.

Finally, the encapsulated guests could be released by using the reversibility of the hydrazone connections. The addition of *O*-benzylhydroxylamine caused the hydrolysis of the connectors together with the formation of an oxime bond with the porphyrin cap, releasing in this way the entrapped ligand.





## **Introducción**



# 1. Química supramolecular

## 1.1. Antecedentes

La historia del universo muestra que, desde la aparición de las primeras partículas elementales, se estableció un proceso de formación progresiva de sistemas cada vez más complejos. De discreta a condensada y de condensada a materia organizada, viva y pensante; el camino siempre se ha dirigido hacia un aumento de la complejidad a través de la autoorganización.<sup>1</sup> Pero ¿cómo y por qué se organiza la materia? Estas son algunas de las preguntas fundamentales que la ciencia ha intentado responder desde tiempos ancestrales y que han permitido tener un mejor conocimiento sobre el universo y sobre nosotros mismos.

En esta búsqueda, resulta sencillo reconocer el papel de las dos ciencias hermanas de la química: la física y la biología. La primera intenta desentrañar las leyes del universo, mientras que la segunda averigua las reglas de la vida. Pero, ¿cuál es la gran cuestión de la química?, ¿tiene alguna pregunta fundamental que resolver? Según Jean-Marie Lehn, padre de la química supramolecular, puede ser que la química tenga el reto de responder a la pregunta más importante de todas: ¿de qué manera la materia ha sido capaz de volverse más compleja? Es decir, ¿cuáles son los pasos y procesos que provocan que una serie de partículas elementales se organicen para dar lugar a un organismo vivo y finalmente, pensante? Por tanto, la misión de la química es la de tender el puente entre las leyes de la física y su expresión en sistemas biológicos complejos.<sup>2</sup>

Para dar respuestas a estas preguntas los químicos se han centrado en el análisis de las interacciones que conducen hacia la organización de átomos y moléculas en entidades con un mayor grado de complejidad. A lo largo de dos siglos aproximadamente, la mayor parte de los esfuerzos se focalizaron en el estudio del enlace covalente.<sup>3</sup> Fruto del entendimiento de los procesos de formación y ruptura de dicho enlace, la química molecular ha creado una amplia gama de compuestos y materiales cada vez más sofisticados y ha desarrollado un poderoso arsenal de procedimientos para la construcción de los mismos.<sup>4</sup>

De la misma forma que existe un campo encargado del estudio del enlace covalente (química molecular), a medida que se fue descubriendo la existencia de fuerzas que mantenían las moléculas unidas entre sí y su importancia en ciertos procesos químicos y biológicos, emergió una nueva disciplina que se ocupa del estudio de las interacciones intermoleculares: la química supramolecular.

---

<sup>1</sup> Lehn, J.-M. *PNAS* **2002**, *99*, 4763-4768.

<sup>2</sup> Lehn, J.-M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 2836-2850.

<sup>3</sup> Lehn, J.-M. *Chem. Soc. Rev.* **2007**, *36*, 151-160.

<sup>4</sup> (a) Myers, D. R. *J. Chem. Educ.*, **2016**, *93*, 225-226; (b) Carreira, E. M. *Chem. Rev.* **2015**, *115*, 8945-8945; (c) Nicolaou, K. C. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 131-146; (d) Clayden, J.; Greeves, N. and Warren, S. *Organic Chemistry*, Oxford University Press, 2012; (e) Smith, M. B. *Organic Synthesis, Third Edition*, Elsevier (Academic Press), New York, N. Y., 2011; (f) Nicolaou, K.C. *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 951-972; (g) Nicolaou, K.C. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 7007-7016.

Es difícil determinar a partir de qué momento esta rama comenzó a constituirse como un campo diferenciado, ya que su aparición fue el fruto de un largo proceso de acumulación de resultados en distintas áreas de la ciencia. El primero que postuló la existencia de las fuerzas intermoleculares fue Johannes Diderik van der Waals en 1873. Durante su tesis doctoral, van der Waals observó la separación de la idealidad en el comportamiento de los gases reales, sobre todo cuando eran sometidos a altas presiones, que atribuyó a las interacciones entre moléculas adyacentes.<sup>5</sup>

Por otra parte, entre finales del siglo XIX y principios del XX, se fueron gestando tres conceptos fundamentales que sentaron las bases de la química supramolecular: reconocimiento, fijación, y coordinación.<sup>6</sup> En 1894 Emil Fischer propuso un mecanismo para la interacción de los sustratos con las enzimas, basado en la complementariedad topológica entre ambos componentes, conocido como el “modelo de llave-cerradura.”<sup>7</sup> Con esta idea Fisher introdujo el concepto de reconocimiento molecular, que sería clave para el posterior desarrollo de la química supramolecular. Más tarde, en 1906, Paul Ehrlich aplicaría las ideas del reconocimiento molecular al campo de la medicina, introduciendo a su vez los conceptos de receptor y sustrato biológico con su teoría de la inmunidad de cadena lateral.<sup>8</sup> Por otro lado, el concepto de fijación selectiva nació de la necesidad de explicar las causas por las cuales se producía el reconocimiento entre los componentes. Para ello se postuló la existencia de una interacción o afinidad mutua entre ellos, relacionada con la noción de coordinación introducida por Alfred Werner en 1893.<sup>9</sup> Esta aportación fue determinante para la aparición del nuevo campo ya que la química supramolecular es una generalización de la química de coordinación.

A principios del siglo XX los enlaces no covalentes se fueron entendiendo en mayor detalle gracias, entre otras, a las aportaciones de Latimer y Rodebush, que describieron el enlace de hidrógeno en 1920.<sup>10</sup> A su vez los conocimientos obtenidos acerca de las interacciones intermoleculares permitieron comprender mejor los procesos de reconocimiento. En este contexto, Karl Lothar Wolf utiliza por primera vez el término “supermolécula” (Übermoleküle) en 1937 para referirse a los dímeros de ácido acético unidos por enlaces de hidrógeno.

En la primera mitad del siglo XX la química supramolecular fue evolucionando rápidamente. La muestra del gran grado de desarrollo alcanzado en ese período la encontramos en uno de los mayores hitos de la historia de la ciencia: la descripción de la estructura del ADN por Francis Crick y James Watson, con las contribuciones de Maurice

---

<sup>5</sup> van der Waals, J. D. *On the Continuity of the Gaseous and Liquid States (doctoral dissertation)*, Universiteit Leiden, 1873.

<sup>6</sup> Lehn J-M. *Supramolecular Chemistry: Concepts and Perspectives*, Wiley, New York, 1995.

<sup>7</sup> Fischer, E. *Ber. Deutsch. Ges.* **1894**, 27, 2985-2993.

<sup>8</sup> Ehrlich, P. *Studies on Immunity*, Wiley, New York, 1906.

<sup>9</sup> Werner, A. *Zeitschr. Anorg. Chem.* **1893**, 3, 267-330.

<sup>10</sup> Latimer, W. M.; Rodebush, W. H. *J. Am. Chem. Soc.* **1920**, 42, 1419-1433.

Wilkins y Rosalind Franklin. En base a los experimentos realizados por Chargaff para determinar las proporciones de las bases nitrogenadas en el ADN y los datos de difracción de rayos X proporcionados por Franklin, Watson y Crick propusieron en 1953 un modelo de doble hélice para representar la estructura tridimensional del polímero en el que ambas hebras se mantienen unidas debido a la interacción a través de enlaces de hidrógeno entre las bases complementarias.<sup>11</sup>

Sin embargo, a pesar de que los fundamentos de la química supramolecular estaban establecidos y que se habían aplicado de manera puntual en la explicación de los fenómenos de agregación y reconocimiento, la mayoría de los químicos seguían pensando que las propiedades de las moléculas dependían de su estructura interna y que las interacciones con su entorno eran inexistentes o, en el mejor de los casos, insignificantes.<sup>12</sup> El cambio de paradigma comenzó a producirse a finales de la década de 1960 a raíz de los trabajos de Pedersen, Lehn y Cram que describían sistemas en los que las fuerzas intermoleculares eran protagonistas del diseño, demostrando su importancia a la hora de construir estructuras complejas.

## 1.2. Nacimiento de la química supramolecular

En 1967, Charles Pedersen, un químico de la División de Elastómeros de DuPont en Wilmington, Delaware, describió por primera vez una serie de poliéteres cíclicos con capacidad de coordinar ciertos iones metálicos.<sup>13</sup> El primero de ellos, el dibenzo[18]corona-6, que fue obtenido de forma accidental, dio paso a otros análogos a los que llamó “éteres corona” debido a la apariencia de corona de sus complejos con los cationes metálicos de los Grupos IA y IIA (Figura 1a). Con esto, Pedersen demostró que era posible formar complejos estables con los iones metálicos alcalinos y alcalinotérreos usando moléculas sintéticas y que no era, por tanto, una propiedad exclusiva de los sistemas naturales.<sup>14</sup>

Siguiendo los innovadores trabajos de Pedersen, Jean-Marie Lehn probó que la encapsulación completa de estos cationes metálicos del Grupo IA y IIA también podía lograrse mediante una clase de receptores tridimensionales, a los que llamó criptandos.<sup>6,15</sup> Estas estructuras combinaban características de las diaminas macrobíclicas de Simmon y Park<sup>16</sup> y de los éteres corona de Pedersen (Figura 1b). En 1969, Lehn y sus colaboradores

<sup>11</sup> Watson, J. D.; Crick, F. H. C. *Nature* **1953**, *171*, 737-738.

<sup>12</sup> Schalley, C. A. *Analytical Methods in Supramolecular Chemistry*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 2012.

<sup>13</sup> (a) Pedersen, C. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, *89*, 2495-2496; (b) Pedersen, C. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, *89*, 7017-7036.

<sup>14</sup> Liu, Z.; Mohan Nalluri, S. K.; Stoddart J. F. *Chem. Soc. Rev.* **2017**, *46*, 2459-2478.

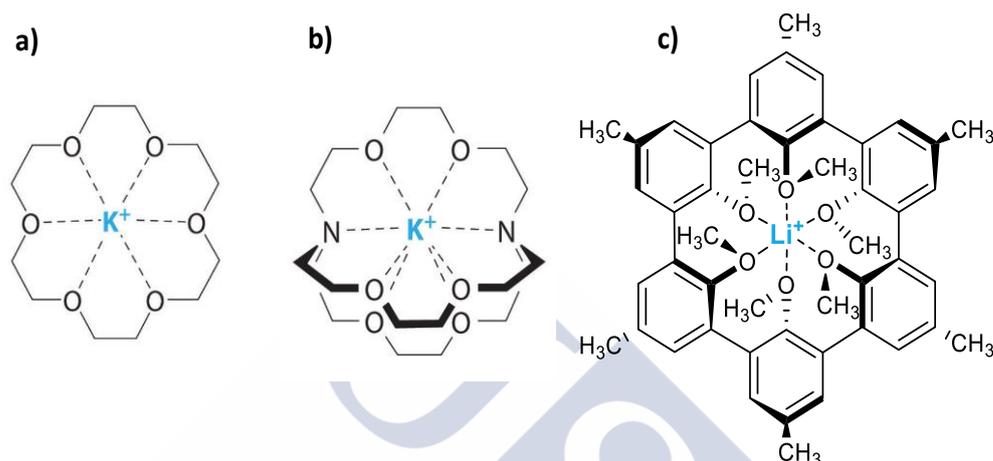
<sup>6</sup> Lehn J.-M. *Supramolecular Chemistry: Concepts and Perspectives*, Wiley, New York, 1995.

<sup>15</sup> (a) Lehn, J.-M. *Pure Appl. Chem.* **1994**, *66*, 1961-1966; (b) Lehn, J.-M. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1988**, *27*, 89-112; (c) Lehn, J.-M. *Science* **1985**, *227*, 849-856; (d) Lehn, J.-M. *Acc. Chem. Res.* **1978**, *11*, 49-57.

<sup>16</sup> (a) Simmons, H. E.; Park, C. H. *J. Am. Chem. Soc.* **1968**, *90*, 2428-2429; (b) Park, C. H.; Simmons, H. E. *J. Am. Chem. Soc.* **1968**, *90*, 2429-2431; (c) Park, C. H.; Simmons, H. E. *J. Am. Chem. Soc.* **1968**, *90*, 2431-2432.

describieron la síntesis de un poliéter macrobíclico al que denominaron criptando[2.2.2], que presentaba una gran afinidad por cationes metálicos alcalinos y alcalinotérreos.<sup>17</sup>

Inspirado también por Pedersen, Donald J. Cram desarrolló sofisticados contenedores moleculares orgánicos como los cavitandos y esferandos, que supusieron el origen del área conocida como química anfitrión-huésped (Figura 1c). Dichos compuestos, además de coordinar cationes metálicos alcalinos y alcalinotérreos, tenían la capacidad de reconocer pequeñas moléculas orgánicas en su cavidad interna.<sup>18</sup>



**Figura 1.** a) Modelo del complejo del éter corona 18-corona-6 con potasio preparado por primera vez por Pedersen. b) Estructura del criptando [2.2.2.] coordinando un ión de potasio desarrollado por Lehn. c) Ejemplo de esferando reconociendo un catión de potasio preparado por Cram.

Debido a estas contribuciones pioneras en los campos de los éteres corona, la química supramolecular y la química anfitrión-huésped; Pedersen, Lehn y Cram fueron galardonados con el Premio Nobel de Química en 1987, veinte años después de la publicación de los artículos seminales de Pedersen.<sup>15b,18a,19</sup>

La estrategia supramolecular permite preparar estructuras con un gran grado de complejidad, evitando los problemas de la química tradicional basada en el enlace covalente, como los bajos rendimientos obtenidos a medida que se aumenta la complejidad de la molécula objetivo.<sup>20</sup> Por este motivo, esta disciplina ha experimentado un desarrollo extraordinario durante las últimas décadas, hasta convertirse en una de las áreas más prolíficas y dinámicas de la química.<sup>14,21</sup> Su carácter multidisciplinario ha permitido utilizar

<sup>17</sup> (a) Dietrich, B.; Lehn, J.-M.; J. P. Sauvage *Tetrahedron Lett.* **1969**, *10*, 2885-2888; (b) Dietrich, B.; Lehn, J.-M.; Sauvage, J. P. *Tetrahedron Lett.* **1969**, *10*, 2889-2892.

<sup>18</sup> (a) Cram, D. J. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1988**, *27*, 1009-1020; (b) Cram, D. J. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1986**, *25*, 1039-1057; (c) Cram D. J.; Cram, J.-M. *Science* **1974**, *183*, 803-809.

<sup>15b</sup> Lehn, J.-M. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1988**, *27*, 89-112.

<sup>19</sup> Pedersen, C. J. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1988**, *27*, 1021-1027.

<sup>20</sup> Beuerle, F. *Nature* **2016**, *540*, 529-531.

<sup>14</sup> Liu, Z.; Nalluri, S. K. M.; Stoddart, J. F. *Chem. Soc. Rev.* **2017**, *46*, 2459-2478.

<sup>21</sup> (a) Lehn, J.-M. *Chem. Soc. Rev.* **2017**, *46*, 2378-2379; (b) Mali, K. S.; Pearce, N.; De Feyter, S.; Champness, N. R. *Chem. Soc. Rev.* **2017**, *46*, 2520-2542; (c) Gale, P. A.; Davis, J. T.; Quesada, R. *Chem. Soc. Rev.* **2017**, *46*, 2497-2519; (d)

las interacciones no covalentes en la preparación de nuevos materiales y sistemas complejos,<sup>22</sup> como las máquinas moleculares.<sup>23</sup> Precisamente a raíz de las aportaciones en el diseño y síntesis de máquinas moleculares Jean-Pierre Sauvage, Sir James Fraser Stoddard y Bernard Lucas Feringa recibieron el premio Nobel de Química en 2016; lo que supuso el segundo reconocimiento para la disciplina y la confirmación de que la química supramolecular es un área en auge y con grandes perspectivas de futuro.<sup>24</sup>

El término *química supramolecular* fue introducido por Jean-Marie Lehn en dos artículos publicados en 1978 que pretendían definir, consolidar y generalizar las áreas de la química de los éteres corona, la química anfitrión-huésped y la química del reconocimiento molecular.<sup>15d,25</sup> Según la definición aportada por Lehn durante su discurso de recepción del Nobel, la química supramolecular es “la química más allá de la molécula.” Se trata, por tanto, de la disciplina que se encarga del estudio de todos los procesos químicos relacionados con las interacciones no covalentes tales como las interacciones electrostáticas, las interacciones ión-dipolo y dipolo-dipolo, los puentes de hidrógeno, las interacciones catión- $\pi$  y anión- $\pi$  y las fuerzas de van der Waals y también los enlaces de coordinación, que se incluyen en este tipo de química debido a su carácter reversible. Sobre la base de estas interacciones se asienta la construcción de sistemas complejos y funcionales generados de una forma espontánea y organizada.<sup>15b,c</sup>

A pesar de la gran cantidad de procesos distintos que pueden tener lugar a través de este tipo de interacciones, según Lehn, existen tres grandes áreas superpuestas que engloban a todos ellos. Estas tres áreas se corresponden con las fases que sigue la materia en su organización en sistemas progresivamente más complejos. La primera es la del reconocimiento molecular y los procesos que de él se derivan (reactividad, catálisis y transporte). La segunda abarca los procesos relativos al autoensamblaje y autoorganización y se ocupa del diseño y aplicación de sistemas programados. La tercera y más compleja introduce los conceptos de adaptación al medio y evolución, que permiten el diseño de sistemas químicos adaptativos y dinámicos.<sup>26</sup> De estas tres áreas nos centraremos únicamente en las dos primeras, ya que son las que están involucradas en el trabajo desarrollado a lo largo de la presente tesis doctoral.

---

Murray, J.; Kim, K.; Ogoshi, T.; Yaod, W.; Gibb, B. C. *Chem. Soc. Rev.* **2017**, *46*, 2479-2496; (e) Chen, L.-J.; Yang, H.-B.; Shionoya, M. *Chem. Soc. Rev.* **2017**, *46*, 2555-2576; (f) Lewis, J. E. M.; Beer, P. D.; Loeb, S. J.; Goldup, S. M. *Chem. Soc. Rev.* **2017**, *46*, 2577-2591; (g) Kolesnichenko, I. V.; Anslyn, E. V. *Chem. Soc. Rev.* **2017**, *46*, 2385-2390.

<sup>22</sup> (a) Ashkenasy, G.; Hermans, T. M.; Otto, S.; Taylor, A. F. *Chem. Soc. Rev.* **2017**, *46*, 2543-2554; (b) Amabilino, D. B.; Smith, D. K.; Steed, J. W. *Chem. Soc. Rev.* **2017**, *46*, 2404-2420.

<sup>23</sup> Erbas-Cakmak, S.; Leigh, D. A.; McTernan, C. T.; Nussbaumer, A. L. *Chem. Rev.* **2015**, *115*, 10081-10206.

<sup>24</sup> Barnes, J. C.; Mirkin, C. A. *PNAS* **2017**, *114*, 620-625.

<sup>15d</sup> Lehn, J.-M. *Acc. Chem. Res.* **1978**, *11*, 49-57.

<sup>25</sup> Lehn, J.-M. *Pure Appl. Chem.* **1978**, *50*, 871-892.

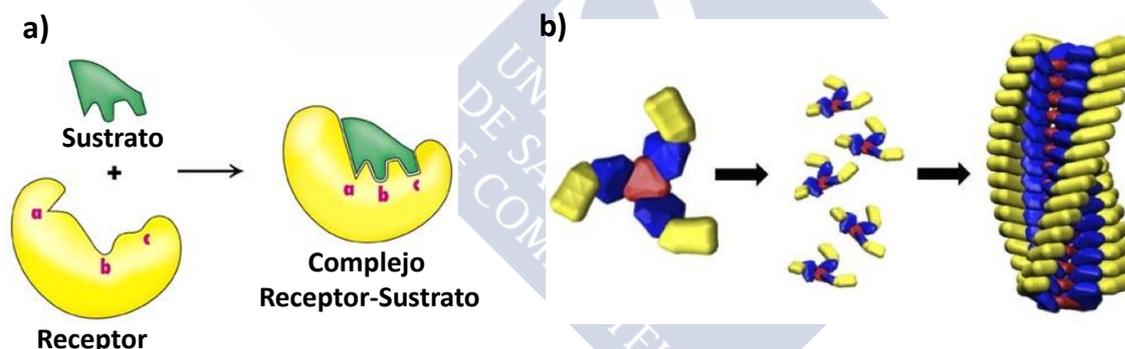
<sup>15b,c</sup> (b) Lehn, J.-M. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1988**, *27*, 89-112; (c) Lehn, J.-M. *Science* **1985**, *227*, 849-856.

<sup>26</sup> Vicens, J.; Vicens, Q. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* **2011**, *71*, 251-274.

### 1.3. Reconocimiento molecular y autoensamblaje

El reconocimiento molecular y el autoensamblaje son dos conceptos relacionados entre sí. En ambos casos la interacción entre las moléculas se produce en base a la información estructural contenida en ellas. Dicha información estructural se compone principalmente de dos elementos: complementariedad, que implica la distribución adecuada de los grupos complementarios en la molécula, y la preorganización, que se refiere a la correcta disposición conformacional de la misma. La diferencia entre ambos procesos estriba en la complejidad de los sistemas supramoleculares de los que se ocupan.

El reconocimiento molecular estudia los casos más sencillos en los que una molécula (*receptor*) reconoce a otra más pequeña (*sustrato*) de manera selectiva. El receptor es una estructura covalente o supramolecular que presenta un hueco o cavidad con un tamaño y forma adecuados para albergar en su interior al sustrato (Figura 2a). Por ello, este tipo de procesos también son conocidos como procesos *anfitrión-huésped* (*host-guest*). Por su parte, el autoensamblaje se ocupa de sistemas más complejos en los que varios componentes (de igual o diferente tamaño) se organizan para dar lugar a una estructura supramolecular con forma y propiedades definidas (Figura 2b). En general, este tipo de procesos son menos específicos y a partir de los mismos elementos se pueden obtener estructuras distintas en función de las condiciones externas.<sup>27</sup>



**Figura 2.** a) Modelo de proceso de reconocimiento entre un receptor y su sustrato. b) Modelo de proceso de autoensamblaje molecular.

## 2. Química anfitrión-huésped

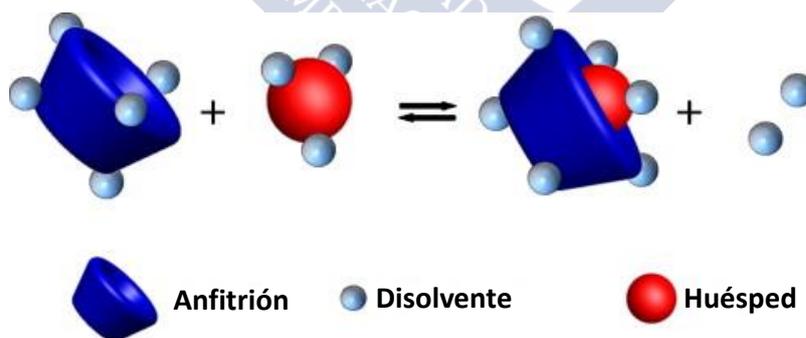
Como acabamos de decir, la química anfitrión-huésped engloba los procesos de reconocimiento molecular entre dos componentes: un receptor y una molécula huésped, en los que el primero reconoce al segundo a través del sitio de unión para formar el complejo anfitrión-huésped. Las interacciones entre el receptor y la molécula huésped están prefijadas y vienen determinadas por la forma, las dimensiones y la naturaleza del sitio de unión

<sup>27</sup> (a) Steed, J. W.; Turner, R. D.; Wallace, K. *Core Concepts in Supramolecular Chemistry and Nanochemistry*, John Wiley & Sons: Cichester, UK, 2007; (b) Steed, J.W.; Atwood, J. L. *Supramolecular Chemistry*, John Wiley & Sons, Ltd: UK, 2009.

(cavidad interna); por tanto, este tipo de procesos son selectivos.<sup>28</sup> Esto provoca que sea precisamente la cavidad del receptor la que establezca qué tipo de moléculas pueden acceder a ella y qué fenómenos pueden tener lugar.

La formación del complejo es un proceso de equilibrio en el que la especie anfitrión-huésped está favorecida desde el punto de vista termodinámico, a pesar de que el factor entrópico suele ser negativo. El equilibrio está determinado por la constante de asociación ( $K_a$ ) o constante de enlace, que es el parámetro que mide la estabilidad termodinámica del complejo. De este modo, cuanto más elevado sea el valor de  $K_a$ , más estable será la especie anfitrión-huésped en comparación con los componentes por separado.<sup>27</sup>

En la naturaleza existen numerosos ejemplos de este tipo de sistemas, como las enzimas y los receptores, que desempeñan funciones biológicas fundamentales para la vida. Las moléculas confinadas en el interior de la estructura hospedadora tienen un comportamiento distinto al que presentan en disolución, donde están rodeadas de moléculas de disolvente y las interacciones son aleatorias y tienen un tiempo de vida muy corto. Por el contrario, dentro de la molécula anfitrión el huésped se encuentra parcialmente aislado del disolvente, adopta una disposición determinada y las interacciones estabilizantes con el sitio de unión son duraderas en el tiempo (Figura 3). Estas características implican que en la cavidad interna de los receptores moleculares ocurran una serie de procesos que no se pueden dar de manera sencilla en el seno de la disolución. Entre ellos podemos encontrar nuevas conformaciones y relaciones estereoquímicas, nuevas reacciones, catálisis o estabilización de intermedios reactivos.<sup>28</sup> Por todo esto, en las últimas décadas, una buena parte de los químicos supramoleculares se han centrado en el desarrollo de contenedores moleculares artificiales con la intención de emular a los sistemas naturales e incluso de llevar a cabo procesos desconocidos para la biología y la química en disolución.



**Figura 3.** Representación de una molécula huésped en el seno de la disolución y en la cavidad interna de una molécula anfitrión. Para que el complejo se forme es necesario que la molécula huésped y la cavidad interna del anfitrión se desolvaten.

<sup>28</sup> Ballester, P.; Fujita, M.; Rebek Jr., J. *Chem. Soc. Rev.* **2015**, *44*, 392-393.

## 2.1. Receptores moleculares artificiales

En las últimas décadas se ha preparado una amplia variedad de receptores artificiales como los contenedores moleculares,<sup>28,29</sup> entramados metaloorgánicos (MOFs),<sup>30</sup> redes porosas,<sup>31</sup> dendrímeros<sup>32</sup> o cápsulas en estado sólido;<sup>33</sup> que presentan aplicaciones como agentes de reconocimiento, estabilización de especies reactivas y catálisis, entre otras. Sin embargo, por motivos de brevedad y concreción, únicamente nos centraremos en los receptores moleculares artificiales discretos y solubles, con cavidades bien definidas.

Aun así, resulta imposible resumir en esta introducción todo el trabajo realizado en cuanto al diseño, síntesis, propiedades y aplicaciones de este tipo de receptores. Por tanto, tan solo describiremos algunos ejemplos representativos con la intención de dar una visión general del grado de desarrollo alcanzado en esta disciplina. Para una visión más amplia véanse las revisiones bibliográficas publicadas recientemente.<sup>29a,34</sup>

## 2.2. Receptores covalentes

### 2.2.1. Éteres corona, esferandos y criptandos

Como hemos mencionado anteriormente la capacidad de los éteres corona para coordinar cationes, fue descubierta por Charles Pedersen en 1967.<sup>13</sup> Los macrociclos descritos por Pedersen, que se unían selectivamente a iones metálicos alcalinos, supuso el primer ejemplo de reconocimiento llevado a cabo con una molécula orgánica sintética.

<sup>27</sup> (a) Steed, J. W.; Turner, R. D.; Wallace, K. *Core Concepts in Supramolecular Chemistry and Nanochemistry*, John Wiley & Sons: Cichester, UK, 2007; (b) Steed, J.W.; Atwood, J. L. *Supramolecular Chemistry*, John Wiley & Sons, Ltd: UK, 2009.

<sup>28</sup> Ballester, P.; Fujita, M.; Rebek Jr., J. *Chem. Soc. Rev.* **2015**, *44*, 392-393.

<sup>29</sup> (a) Zarra, S.; Wood, D. M.; Roberts, D. A.; Nitschke, J. R. *Chem. Soc. Rev.* **2015**, *44*, 419-432; (b) Dariush, A. Self-assembled molecular capsule. In *Synergy in Supramolecular Chemistry*; Ed. Tatsuya, N.; CRC Press: Boca Raton, FL, 2015; pp 133-148; (c) Smulders, M. M. J.; Riddell, I. A.; Browne, C.; Nitschke, J. R. *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 1728-1754; (d) Forgan, R. S.; Sauvage, J.-P.; Stoddart, J. F. *Chem. Rev.* **2011**, *111*, 5434-5464; (e) Saalfrank, R. W.; Maid, H.; Scheurer, A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 8794-8824; (f) Conn, M. M.; Rebek Jr., J. *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 1647-1668.

<sup>30</sup> (a) Gangu, K. K.; Maddila, S.; Mukkamala, S. B.; Jonnalagadda, S. B. *Inorganica Chim. Acta* **2016**, *446*, 61-74; (b) Hong-Cai, Z.; Kitagawa, S. *Chem. Soc. Rev.* **2014**, *43*, 5415-5418.

<sup>31</sup> (a) Schwarzmaier, C.; Schindler, A.; Heindl, C.; Scheuermayer, S.; Peresyphkina, E. V.; Virovets, A. V.; Neumeier, M.; Gschwind, R.; Scheer, M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 10896-10899; (b) Kawamichi, T.; Haneda, T.; Kawano, M.; Fujita, M. *Nature* **2009**, *461*, 633-635.

<sup>32</sup> Kaanumalle, L. S.; Nithyanandhan, J.; Pattabiraman, M.; Jayaraman, N.; Ramamurthy, V. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 8999-9006.

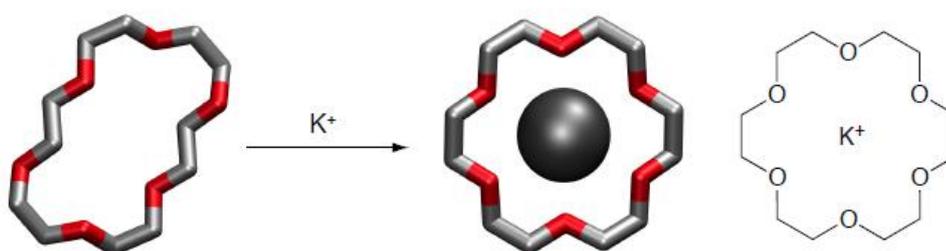
<sup>33</sup> Wei, W.; Li, W. L.; Li, Z. F.; Su, W. P.; Hong, M. C. *Chem. Eur. J.* **2013**, *19*, 468-472.

<sup>13</sup> (a) Pedersen, C. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, *89*, 2495-2496; (b) Pedersen, C. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, *89*, 7017-7036.

<sup>29a</sup> Zarra, S.; Wood, D. M.; Roberts, D. A.; Nitschke, J. R. *Chem. Soc. Rev.* **2015**, *44*, 419-432.

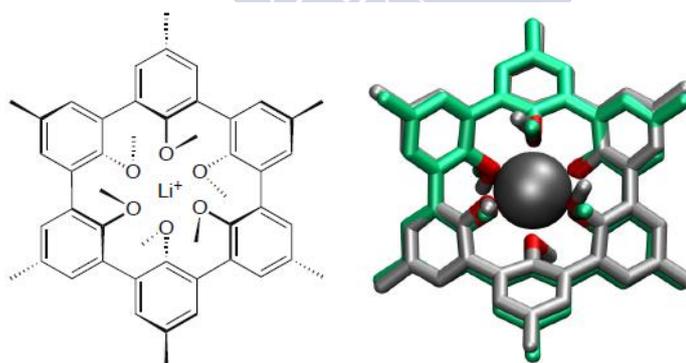
<sup>34</sup> (a) Lai, W.-F.; Rogach, A. L.; Wong, W.-T. *Chem. Soc. Rev.* **2017**, *46*, 6379-6419; (b) Díaz-Moscoso, A.; Ballester, P. *Chem. Commun.* **2017**, *53*, 4635-4652; (c) Galan, A.; Ballester, P. *Chem. Soc. Rev.* **2016**, *45*, 1720-1737; (d) Ramamurthy, V. *Acc. Chem. Res.* **2015**, *48*, 2904-2917; (e) Barrow, S. J.; Kasera, S.; Rowland, M. J.; del Barrio, J.; Scherman, O. A. *Chem. Rev.* **2015**, *115*, 12320-12406; (f) Isaacs, L. *Acc. Chem. Res.* **2014**, *47*, 2052-2062.

En este tipo de sistemas el complejo anfitrión-huésped se produce mediante la interacción electrostática del catión correspondiente con los oxígenos situados en el interior del anillo. Aunque el mecanismo de formación del complejo puede parecer conceptualmente simple, el proceso no es trivial, ya que para que todos los átomos de oxígeno puedan interactuar con el ión metálico central es necesario que el macrociclo se adapte, experimentando un cambio conformacional (Figura 4). Esta adaptación del sitio de unión durante la formación del complejo, tiene un coste energético que se compensa con la ganancia de entalpía libre de unión debido a la complementariedad entre el receptor y el huésped.<sup>35</sup>



**Figura 4.** Representación del cambio conformacional que experimenta un éter corona en el proceso de reconocimiento de un ión potasio.

En contraste con este comportamiento, los esferandos, desarrollados por el grupo de Donald Cram, no requieren dicha adaptación de la molécula anfitrión, ya que el macrociclo libre tiene la disposición correcta para acomodar al catión en su interior.<sup>36</sup> Por tanto, la formación del sitio de unión tiene lugar durante la síntesis, en lugar de durante el transcurso del proceso de complejación (Figura 5). Esta preorganización se traduce en mejoras muy significativas en la constante de asociación y suele incrementar la selectividad por sustratos específicos.

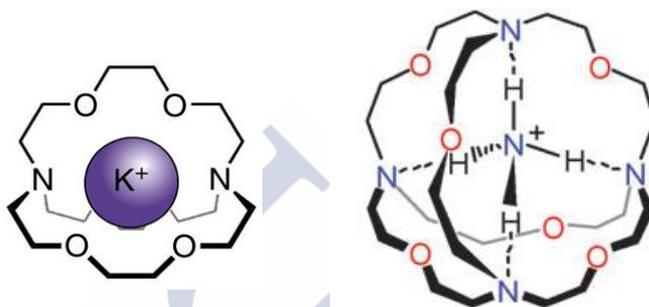


**Figura 5.** Representación estructural de un ión de litio reconocido en la cavidad interna de un ciclofano (izquierda). La superposición de las imágenes de rayos X del receptor libre y del complejo de  $\text{Li}^+$  muestra la perfecta preorganización que presenta el sitio de unión (derecha).

<sup>35</sup> Koshland, D. E. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1958**, *44*, 98-104.

<sup>36</sup> (a) Trueblood, K. N.; Knobler, C. B.; Maverick, E.; Helgeson, R. C.; Brown, S. B.; Cram, D. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103*, 5594-5596; (b) Cram, D. J.; Kaneda, T.; Helgeson, R. C.; Lein, G. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, *101*, 6752-6754.

Por otra parte, a partir de los trabajos de Pedersen, el profesor Jean-Marie Lehn desarrolló una serie de ligandos macrobíclicos, que debido a su capacidad de envolver completamente al huésped recibieron el nombre de criptandos. A través de la correcta disposición de los heteroátomos y del tamaño de las cadenas, se pudieron preparar cavidades con afinidad por especies inorgánicas aniónicas y catiónicas, tales como el amonio, cationes orgánicas o moléculas neutras como el agua. Además, debido a la geometría tridimensional de estos receptores, la complementariedad con los sustratos esféricos y tetraédricos es mejor que en los macrociclos descritos anteriormente; por lo que este tipo de complejos presentan unas altas constantes de asociación (Figura 6).



**Figura 6.** Representación estructural de dos complejos de tipo criptando unidos a un ión de potasio (izquierda) y un catión de amonio (derecha), respectivamente. Estos ejemplos muestran la complementariedad geométrica que presentan este tipo de receptores tridimensionales por moléculas esféricas y tetraédricas.

### 2.2.2. Ciclofanos

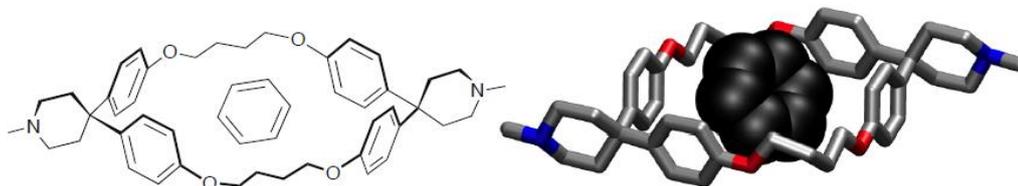
Los receptores sintéticos de moléculas apolares no eran conocidos, hasta que Koga y colaboradores describieron la inclusión de huéspedes aromáticos dentro de la cavidad de un ciclofano (Figura 7).<sup>37</sup> Los ciclofanos son macrociclos formados por anillos aromáticos adyacentes que están unidos por puentes alquílicos. El trabajo en este tipo de sistemas llevó a la aparición de una gran variedad de estructuras hechas a medida, que amplió enormemente las posibilidades del reconocimiento y permitió internalizar moléculas de distinta naturaleza. De este modo, se prepararon complejos de ciclofano con sustratos catiónicos, aniónicos y neutros.<sup>38</sup>

Mediante el control del tamaño, forma y propiedades electrónicas del macrociclo, se pueden preparar cavidades basadas en este tipo de estructuras diseñadas para acomodar moléculas huésped de interés de manera específica. Además, la polaridad del anfitrión se puede modular para obtener sistemas solubles en disolventes orgánicos o acuosos. Esta versatilidad que presentan los ciclofanos ha propiciado que este tipo de receptores fuesen seleccionados para llevar a cabo los primeros estudios que permitieron conocer aspectos

<sup>37</sup> Odashima, K.; Itai, A.; Iitaka, Y.; Koga, K. *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 2504-2505.

<sup>38</sup> (a) R. Gleiter, H. Hopf (Eds.), *Modern Cyclophane Chemistry*, Wiley-VCH, Weinheim (Germany), 2004; (b) Diederich, F. *Cyclophanes, Monographs in supramolecular chemistry* (series editor J. F. Stoddart), Royal Society of Chemistry, Cambridge (UK), 1991.

químicos y biológicos fundamentales del reconocimiento molecular, como el efecto hidrofóbico o la interacción catión- $\pi$ .<sup>39</sup> Adicionalmente, el estudio de los ciclofanos sentó las bases para el desarrollo de moléculas entrelazadas llevado a cabo posteriormente por el profesor Stoddart.<sup>40</sup>



**Figura 7.** Molécula de benceno reconocida en la cavidad interna de un ciclofano debido al efecto hidrofóbico. A la izquierda se muestra una representación estructural del complejo resultante y a la derecha la estructura obtenida por difracción de rayos X.

### 2.2.3. Cavitandos

A comienzos de la década de 1980 el profesor Donald Cram postuló que las moléculas hospedadoras con cavidades cóncavas podrían ser buenos candidatos para acomodar sustratos más pequeños en su interior. Este tipo de receptores, a los que más tarde se les daría el nombre de cavitandos, requieren el uso de estructuras cóncavas para su formación.<sup>41</sup> Sin embargo, hasta ese momento se conocían muy pocos compuestos sintéticos con esas características.

En la búsqueda de esa clase de bloques de construcción, el grupo de Cram se basó en los trabajos de Högberg y las aportaciones en el estudio de los ciclotriveratrilenos de Erdtman,<sup>42</sup> para sintetizar las primeras moléculas anfitrión derivadas de resorcin[4]areno. A partir de estas plataformas cóncavas de resorcin[4]areno se ha preparado una amplia gama de receptores,<sup>43</sup> entre los que resulta particularmente interesante el derivado que incorpora cuatro paredes aromáticas de quinoxalina, ya que da lugar a una estructura con una cavidad profunda (Figura 8).<sup>44</sup>

Este cavitando tiene la capacidad de albergar pequeñas moléculas en su interior,<sup>45</sup> característica que fue aprovechada por Dalcanale y colaboradores para llevar a cabo la

<sup>39</sup> Stauffer, D. A.; Dougherty, D. A. *Tetrahedron Lett.* **1988**, 29, 6039-6042.

<sup>40</sup> Stoddart, J. F.; Colquhoun, H. M. *Tetrahedron* **2008**, 64, 8231-8263.

<sup>41</sup> Cram, D. J. *Science* **1983**, 219, 1177-1183.

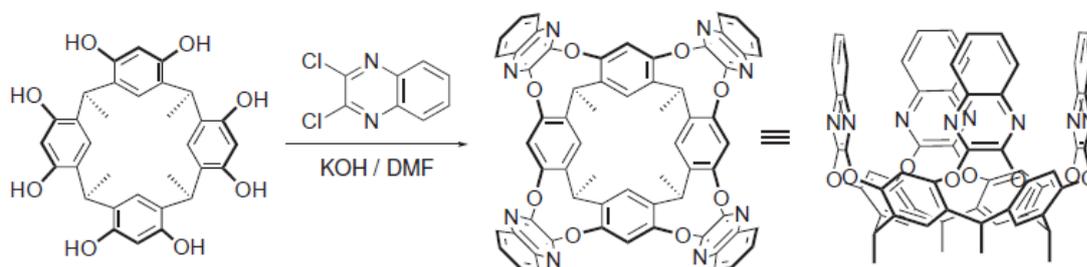
<sup>42</sup> Erdtman, H.; Haglid, F.; Ryhage, R. *Acta Chem. Scand.* **1964**, 18, 1249-1254.

<sup>43</sup> (a) Pinalli, R.; Pedrini, A.; Dalcanale, E. *Comprehensive Supramolecular Chemistry II*, Ed. G. W. Gokel y J. L. Atwood, Elsevier, 2017, 87-115; (b) Cram, D. J.; Cram, J. M. *Container Molecules and their Guests, Monographs in supramolecular chemistry* (series editor J. F. Stoddart), Royal Society of Chemistry, Cambridge (UK), 1994.

<sup>44</sup> Moran, J. R.; Karbach, S.; Cram, D. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, 104, 5826-5828.

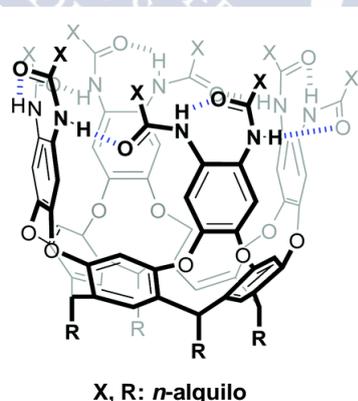
<sup>45</sup> (a) Soncini, P.; Bonsignore, S.; Dalcanale, E.; Ugozzoli, F. J. *Org. Chem.* **1992**, 57, 4608-4612; (b) Dalcanale, E.; Soncini, P.; Bacchilega, G.; Ugozzoli, F. J. *Chem. Soc., Chem. Commun.* **1989**, 500-502.

detección de compuestos aromáticos en el aire.<sup>46</sup> Aunque, a consecuencia de su estructura abierta y su flexibilidad conformacional, la unión anfitrión-huésped es bastante débil y el intercambio de huésped ocurre de manera rápida.



**Figura 8.** Preparación de un cavitando de cuatro paredes a partir de una plataforma de resorcin[4]areno y 2,3-dicloroquinoxalina.

La flexibilidad se pudo reducir considerablemente mediante el uso de paredes funcionalizadas en sus extremos con grupos aceptores y dadores de enlace de hidrógeno (Figura 9). De esta forma, las interacciones intramoleculares entre los grupos de las distintas paredes restringe la libertad conformacional. Un ejemplo de este diseño son los cavitandos autoplegables desarrollados por Rebek que portan grupos amida en los extremos de las paredes aromáticas.<sup>47</sup> Como consecuencia de este reforzamiento de la estructura, el cavitando dificulta el intercambio de moléculas de adamantano y el intercambio es un proceso lento con respecto a la escala de RMN. De hecho, la barrera cinética para dicho intercambio es de  $16.9 \pm 0.4$  Kcal.mol<sup>-1</sup> en *p*-xileno-*d*<sub>10</sub> (siendo  $K_a = 40 \pm 10$  M<sup>-1</sup>), a pesar de que continúa siendo una cavidad abierta.



**Figura 9.** Representación estructural de un cavitando autoplegable. La interacción a través de enlace de hidrógeno entre los grupos aceptores y dadores situados en los extremos de las paredes conduce a la formación de una cavidad definida.

El cierre parcial de dichos cavitandos mediante el anclaje de grupos voluminosos que pueden girar libremente en el extremo superior de la estructura también proporciona

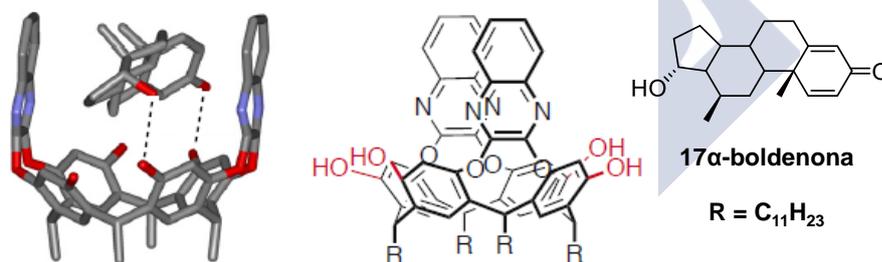
<sup>46</sup> Zampolli, S.; Betti, P.; Elmi, I.; Dalcanale, E. *Chem. Commun.* **2007**, 2790-2792.

<sup>47</sup> (a) Rudkevich, D.; Hilmersson, G.; Rebek Jr., J. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 12216-12225; (b) Rudkevich, D.; Hilmersson, G.; Rebek Jr., J. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 9911-9912.

complejos anfitrión-huésped con barreras cinéticas apreciables para el intercambio del huésped.<sup>48</sup>

Otra alternativa para mejorar las propiedades de reconocimiento de los receptores con paredes de quinoxalina es suprimir dos de las aletas aromáticas; obteniéndose, de esta manera, una estructura de tipo grieta. Esta clase de moléculas hospedadoras presentan afinidad por moléculas planas, que se sitúan entre las dos paredes restantes del receptor. Además, el cavitando presenta cuatro grupos OH que pueden participar en el reconocimiento formando enlaces de hidrógeno con sustratos, que portan los grupos funcionales adecuados.

Particularmente adecuados para esta clase de cavitandos de tipo grieta son los esteroides. De hecho, pueden formar complejos con más de diez clases diferentes de esteroides, donde la 17 $\alpha$ -boldenona es el candidato que presenta una mayor afinidad.<sup>49</sup> La estructura bien definida, especialmente con respecto a la posición de los hidroxilos que participan en los enlaces de hidrógeno con el huésped, conduce a una pronunciada discriminación diastereomérica. Así la 17 $\alpha$ -boldenona ( $K_a = 536 \text{ M}^{-1}$ ) es reconocida con una afinidad cinco veces superior a la de su epímero, la 17 $\beta$ -boldenona. Los estudios computacionales muestran que el diastereoisómero preferido puede orientar sus grupos cetona e hidroxilo hacia los grupos OH de la grieta molecular (Figura 10), mientras que en el epímero de menor afinidad, no es posible geoméricamente la interacción simultánea de sus grupos polares.



**Figura 10.** Modelo molecular de un complejo formado por un cavitando de tipo grieta y la 17 $\alpha$ -boldenona. El esteroide se sitúa entre las dos paredes aromáticas en una disposición adecuada para la formación de dos enlaces de hidrógeno con los grupos hidroxilo del receptor.

#### 2.2.4. Carcerandos y hemicarcerandos

Los cavitandos descritos anteriormente generan sitios de unión cóncavos con paredes aromáticas que, como hemos visto, pueden reconocer moléculas huésped con mayor o menor eficacia. Sin embargo, en todos estos diseños, los receptores no rodean completamente al huésped. Los primeros ejemplos de moléculas hospedadoras sintéticas se deben una vez más al profesor Cram, que diseñó un receptor formado por dos cavitandos de resorcin[4]areno

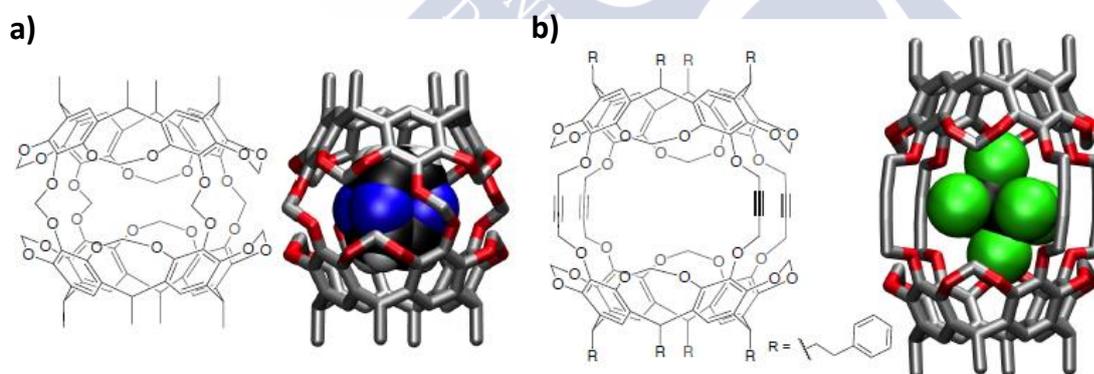
<sup>48</sup> Hooley, R. J.; VanAnda, H. J.; Rebek Jr., J. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 3894-3895.

<sup>49</sup> Cacciarini, M.; Azov, V. A.; Seiler, P.; Kunzer, H.; Diederich, F. *Chem. Commun.* **2005**, 5269-5271.

unidos, dando lugar a una estructura de tipo jaula (Figura 11a).<sup>50</sup> Dicha molécula anfitrión deja un hueco central lo suficientemente grande para acomodar iones o moléculas en su interior. Debido a su estructura covalente estos receptores atrapan a la molécula huésped durante la síntesis y, una vez formado el complejo, la especie retenida solo se puede liberar mediante la ruptura de enlaces covalentes. Estas características, que recuerdan a las de una jaula, son el motivo por el cual esta clase de estructuras se denominan carcerandos.

A pesar de que el atrapado de moléculas dentro del interior de un receptor que las envuelve completamente supuso un gran avance, la naturaleza permanente del encarcelamiento, junto con el hecho de que las moléculas huésped debían estar presentes durante la síntesis, limitó mucho el uso de los carcerandos. Por esta razón se desarrollaron los hemicarcerandos.<sup>51</sup>

Al igual que sus predecesores, este tipo de receptores son estructuras covalentes de tipo jaula que presentan cavidades internas para atrapar al huésped. Pero en este caso, los barrotes moleculares dejan un espacio lo suficientemente amplio para que el sustrato pueda entrar y salir de la molécula anfitrión, al menos mediante el aporte de energía (Figura 11b). Así, por ejemplo, el hemicarcerando constituido por dos unidades de pirogalo[4]areno unidas por espaciadores de acetileno es capaz de formar complejos con moléculas huésped adecuadas, como el  $\text{CHCl}_2\text{CHCl}_2$  o el  $\text{CF}_3\text{C}_6\text{H}_5$ . Una vez internalizadas, las especies que acceden a su interior a través de los huecos de la estructura pueden ser liberadas calentando el sistema, ya que presentan barreras cinéticas relativamente pequeñas.<sup>52</sup>



**Figura 11.** a) Representación estructural de un carcerando e imagen de rayos X de un complejo en el que la molécula huésped se encuentra atrapada permanentemente. b) Ejemplo de hemicarcerando de pirogalo[4]areno con una distancia entre barrotes suficiente para que la molécula huésped pueda salir de la cavidad interna.

Para separar adecuadamente las contribuciones termodinámicas de la formación del complejo anfitrión-huésped en los hemicarcerandos Cram propuso los términos de unión intrínseca y unión constrictiva, que tenían en cuenta el impedimento cinético de los

<sup>50</sup> (a) Cram, D. J.; Karbach, S.; Kim, Y. H.; Baczyński, L.; Marti, K.; Sampson, R. M.; Kallemeyn, G. W. *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 2554-2560; (b) Cram, D. J.; Karbach, S.; Kim, Y. H.; Baczyński, L.; Kallemeyn, G. W. *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 2575-2576.

<sup>51</sup> Tanner, M. E.; Knobler, C. B.; Cram, D. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 1659-1660.

<sup>52</sup> Eid, C. N.; Knobler, C. B.; Gronbeck, D. A.; Cram, D. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 8506-8515.

huéspedes para escapar de la cavidad. La unión intrínseca es equivalente a la entalpía libre de unión total  $\Delta G^\circ$ , mientras que la constrictiva se define como:<sup>53</sup>

$$\Delta G_{\text{constrictiva}} = \Delta G_{\text{asoc}}^\ddagger = \Delta G_{\text{disoc}}^\ddagger - (-\Delta G^\circ)$$

De acuerdo con esto, la contribución constrictiva es la energía libre necesaria para alcanzar el estado de transición para la descomplejación a partir de la especie anfitrión-huésped, menos la energía libre de enlace que se pierde durante la descomplejación.

Del mismo modo que en el caso de los ciclofanos, los carcerandos descritos anteriormente dieron lugar a una amplia variedad de estructuras, que permitieron estudiar el comportamiento de las especies en el interior de la cavidad (rotación, isomerización, intercambio cinético de moléculas huésped, etc).<sup>54</sup> Estos resultados proporcionaron también muchas claves sobre los procesos de reconocimiento molecular.

Uno de los puntos culminantes fue la síntesis de ciclobutadieno en el interior de un hemicarcerando a temperatura ambiente.<sup>55</sup> Este compuesto no puede ser obtenido mediante procedimientos clásicos en disolución, ya que una vez formado dimeriza inmediatamente. Sin embargo, la protección del receptor, que aísla de manera individual las moléculas de ciclobutadieno, hace que el compuesto sea estable a temperatura ambiente.

### 2.3. Cápsulas moleculares no covalentes

La preparación de contenedores moleculares de manera covalente resulta muy complicada desde el punto de vista sintético y limita mucho sus aplicaciones. Por ello, en las últimas décadas, se han descrito aproximaciones basadas en el uso de fuerzas intermoleculares más débiles y reversibles para mantener unidos los distintos elementos que conforman la estructura del receptor. Estas aproximaciones combinan el autoensamblaje molecular y el reconocimiento para formar el complejo supramolecular. La estrategia supramolecular presenta ventajas muy significativas con respecto a la covalente; ya que, además de facilitar la síntesis, permiten reconocer moléculas de una forma dinámica. De este modo el huésped puede entrar en la cavidad y salir de ella sin necesidad de romper enlaces covalentes o aportar energía, lo que conduce a nuevas características y aplicaciones.<sup>34b,56</sup>

Las interacciones intermoleculares más utilizadas para la construcción de estos contenedores moleculares no covalentes son los enlaces de coordinación metal-ligando y los enlaces de hidrógeno, debido a su carácter direccional. Ambos tipos de estructuras anfitrión presentan características propias que serán descritas a continuación.

<sup>53</sup> Cram, D. J.; Blanda, M. T.; Paek, K.; Knobler, C. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 7765-7773.

<sup>54</sup> Jasat, A.; Sherman, J. C. *Chem. Rev.* **1999**, *99*, 931-968.

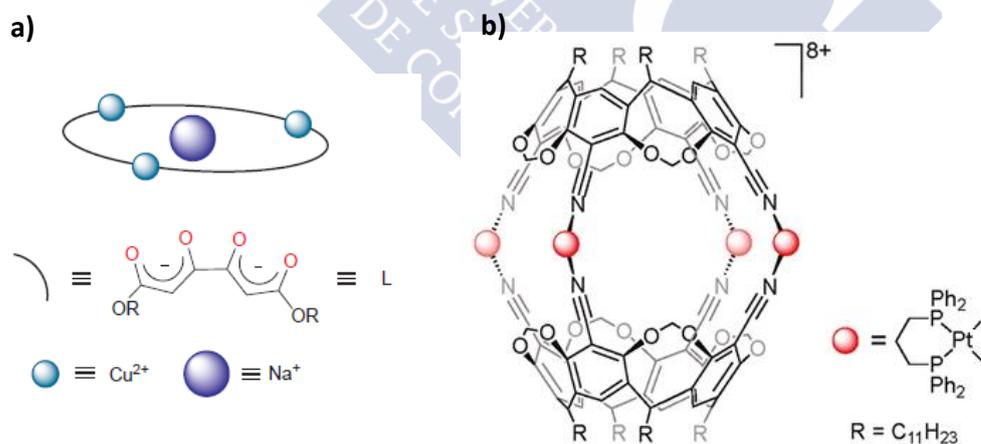
<sup>55</sup> Cram, D. J.; Tanner, M. E.; Thomas, R. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1991**, *30*, 1024-1027.

<sup>56</sup> Catti, L.; Zhang, Q.; Tiefenbacher, K. *Chem. Eur. J.* **2016**, *22*, 9060-9066.

### 2.3.1. Cajas de coordinación

La introducción de los enlaces de coordinación en la preparación de contenedores moleculares artificiales supuso un gran avance con respecto a sus análogos covalentes. Los centros metálicos presentan geometrías definidas que dependen de la naturaleza del metal y de los ligandos que se coordinan. Por tanto, mediante la correcta elección del metal y los ligandos, se pueden obtener receptores con la forma y el tamaño deseados de una manera mucho más sencilla.<sup>57</sup>

Este potencial sintético se puso de manifiesto con la preparación de análogos metálicos de las moléculas anfitrión descritas en los apartados anteriores. Así, por ejemplo, Saalfrank y colaboradores, sustituyeron los cuatro puentes de etano en los éteres corona por metales de transición para obtener los metalocoronatos (Figura 12a).<sup>58</sup> Estos receptores se forman por autoensamblaje de los distintos componentes en un solo paso, en lugar de las múltiples etapas sintéticas que implica la preparación de los éteres corona convencionales. Además, utilizando distintos metales y ligandos, se ha podido construir una amplia variedad de metalocoronatos con estructuras bien definidas.<sup>59</sup> Algunos de ellos presentan interesantes propiedades como el magnetismo unimolecular.<sup>60</sup> Como extensión de estos trabajos, también se han descrito metalotopómeros de los criptandos orgánicos y sus complejos.<sup>61</sup> Así, por ejemplo, el grupo de Dalcanale preparó una estructura dimérica; donde las dos unidades de resorcin[4]areno, funcionalizadas con grupos nitrilo, se unían mediante cuatro centros metálicos de Pt(II) (Figura 12b).<sup>62</sup> Dicha estructura actuaba como receptor para aniones de trifluoroacetato de manera eficiente.



**Figura 12.** a) Representación de un metalocoronato. b) Metalotopómero de un cavitando diseñado por Dalcanale.

<sup>57</sup> Cook, T. R.; Stang, P. J. *Chem. Rev.* **2015**, *115*, 7001-7045.

<sup>58</sup> Saalfrank, R. W.; Löw, N.; Hampel, F.; Stachel, H.-D. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1996**, *35*, 2209-2210.

<sup>59</sup> Saalfrank, R. W.; Uller, E.; Demleitner, B.; Bernt, I. *Struct. Bond.* **2000**, *96*, 149-175.

<sup>60</sup> Waldmann, O.; Koch, R.; Schromm, S.; Schüle, J.; Müller, P.; Bernt, I.; Saalfrank, R. W.; Hampel, F.; Baltes, E. *Inorg. Chem.* **2001**, *40*, 2986-2995.

<sup>61</sup> Saalfrank, R. W.; Dresel, A.; Seitz, V.; Trummer, S.; Hampel, F.; Teichert, M.; Stalke, D.; Stadler, C.; Daub, J.; Schunemann, V.; Trautwein, A. X. *Chem. Eur. J.* **1997**, *3*, 2058-2062.

<sup>62</sup> Jacopozzi, P.; Dalcanale, E. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1997**, *36*, 613-615.

Los esfuerzos no solo se concentraron en imitar estructuras ya conocidas, sino que también se prepararon múltiples receptores poliédricos constituidos por distintos metales y ligandos a través de esta metodología. Los principales impulsores de este tipo de contenedores moleculares fueron los profesores Makoto Fujita y Kenneth N. Raymond. En sus diseños, ambos investigadores, usaron una aproximación conocida como *molecular paneling*,<sup>63</sup> que consiste en la utilización de ligandos planos con grupos aromáticos en la construcción de la molécula anfitrión. Dichos grupos aromáticos actúan a modo de pared molecular en la estructura supramolecular, generando cavidades con interesantes propiedades electrónicas.

Los primeros ejemplos de receptores obtenidos en base a esta estrategia de paneles moleculares se debieron al grupo de Fujita. Para su construcción, el profesor Fujita utilizó, como centro metálico, un complejo planocuadrado de Pd(II) con dos posiciones de coordinación en disposición *cis* ocupadas por un ligando de etilendiamina (Figura 13).<sup>64</sup> De este modo, se fuerza una geometría de 90° en el entorno de coordinación del metal que puede ser aprovechada para construir estructuras autoensambladas 2D y 3D. Así, por ejemplo, la mezcla del complejo de Pd(II) con un ligando plano triangular (1,3,5-*tris*(4-piridil)triazina) en una relación de 6:4, conducía a la formación de una caja octaédrica (Figura 13).<sup>65</sup> Este receptor, con una carga total de +12, resultó ser muy eficiente en el reconocimiento de una amplia variedad de compuestos orgánicos en disolución acuosa; sobre todo, alcanos flexibles y moléculas aromáticas planas.<sup>66</sup> Además, demostró ser un catalizador eficiente para una gran variedad de reacciones de Diels-Alder,<sup>67</sup> dimerización fotoquímica [2+2],<sup>68</sup> oxidación fotoquímica<sup>69</sup> y oxidación catalizada por paladio,<sup>70</sup> en condiciones suaves. La caja octaédrica también presentó aplicaciones en la estabilización de intermedios reactivos<sup>71</sup> e incluso, se pudieron estudiar interacciones intermoleculares en su interior, observándose propiedades no convencionales de las especies encapsuladas.<sup>72</sup>

<sup>63</sup> Chakrabarty, R.; Mukherjee, P. S.; Stang, P. J. *Chem. Rev.* **2011**, *111*, 6810-6918.

<sup>64</sup> Fujita, M.; Yazaki, J.; Ogura, K. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 5645-5646.

<sup>65</sup> Fujita, M.; Oguro, D.; Miyazawa, M.; Oka, H.; Yamaguchi, K.; Ogura, K. *Nature* **1995**, *378*, 469-471.

<sup>66</sup> Yoshizawa, M.; Tamura, M.; Fujita, M. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 6846-6847.

<sup>67</sup> (a) Nishioka, Y.; Yamaguchi, T.; Yoshizawa, M.; Fujita, M. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 7000-7001; (b) Yoshizawa, M.; Tamura, M.; Fujita, M. *Science* **2006**, *312*, 251-254; (c) Kusukawa, T.; Nakai, T.; Okano, T.; Fujita, M. *Chem. Lett.* **2003**, *32*, 284-285.

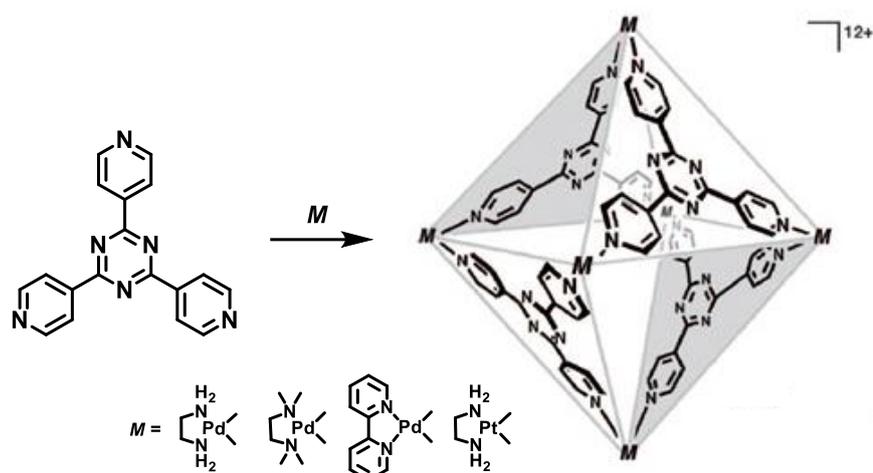
<sup>68</sup> (a) Nishioka, Y.; Yamaguchi, T.; Kawano, M.; Fujita, M. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 8160-8161; (b) Yoshizawa, M.; Takeyama, Y.; Okano, T.; Fujita, M. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 3243-3247; (c) Yoshizawa, M.; Takeyama, Y.; Kusukawa, T.; Fujita, M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 1347-1349.

<sup>69</sup> Yoshizawa, M.; Miyagi, S.; Kawano, M.; Ishiguro, K.; Fujita, M. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 9172-9173.

<sup>70</sup> (a) Yoshizawa, M.; Sato, N.; Fujita, M. *Chem. Lett.* **2005**, *34*, 1392-1393; (b) Ito, H.; Kusukawa, T.; Fujita, M. *Chem. Lett.* **2000**, 598-599.

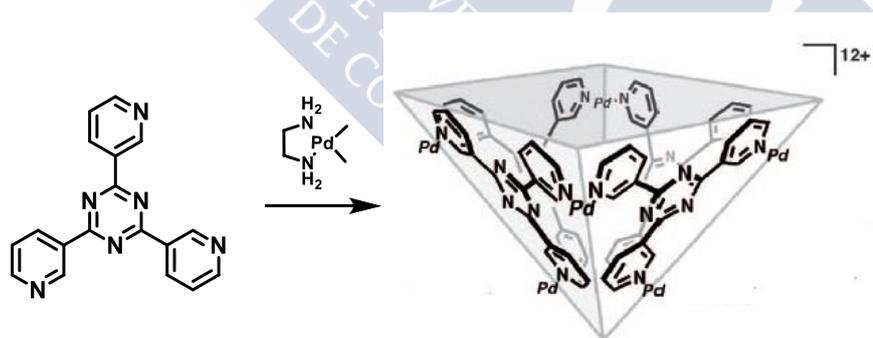
<sup>71</sup> (a) Kawano, M.; Kobayashi, Y.; Ozeki, T.; Fujita, M. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 6558-6559; (b) Yoshizawa, M.; Kusukawa, T.; Fujita, M.; Yamaguchi, K. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 6311-6312.

<sup>72</sup> (a) Nakabayashi, K.; Kawano, M.; Kato, T.; Furukawa, K.; Ohkoshi, S.-i.; Hozumi, T.; Fujita, M. *Chem. Asian J.* **2007**, *2*, 164-170; (b) Nakabayashi, K.; Kawano, M.; Fujita, M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 5322-5325; (c)



**Figura 13.** Preparación de cajas de geometría octaédrica a partir de 1,3,5-*tris*(4-piridil)triazina.

Mediante el simple reemplazo de la etilendiamina del receptor anterior por *N,N,N',N'*-tetrametiletilendiamina o 2,2'-bipiridina se obtuvieron cajas moleculares similares con propiedades de solubilidad y cristalinidad diferentes.<sup>73</sup> Los iones de Pd(II) también se pueden intercambiar por otros metales planocuatros como el Pt (II). Esta modificación da lugar a receptores más robustos, resistentes a condiciones ácidas y básicas.<sup>74</sup> El cambio de la posición del nitrógeno en las piridinas del ligando (de la *para* a la *meta*) también afectó a las propiedades de la estructura final. De hecho, cuando se utilizó la *tris*(3-piridil)triazina se obtuvo una estructura abierta a modo de bolsillo hidrofóbico con características similares a los cavitandos desarrollados por Cram (Figura 14).<sup>75</sup>



**Figura 14.** Formación de un receptor de tipo bolsillo a partir de 1,3,5-*tris*(3-piridil)triazina.

Finalmente, cuando el *tris*(4-piridil)triazina se combinó con un ligando estéricamente impedido como el tetrametil-4,4'-bipiridina en la formación de la molécula anfitrión, el autoensamblaje de los distintos elementos dio lugar, de forma selectiva, a una caja en forma

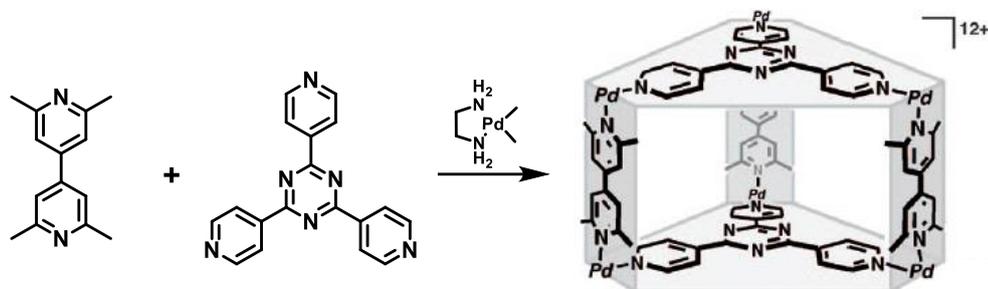
Nakabayashi, K.; Kawano, M.; Yoshizawa, M.; Ohkoshi, S.-i.; Fujita, M. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 16694-16695; (d) Sun, W.-Y.; Kusukawa, T.; Fujita, M. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 11570-11571.

<sup>73</sup> Kusukawa, T.; Fujita, M. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 13576-13582.

<sup>74</sup> Ibukuro, F.; Kusukawa, T.; Fujita, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 8561-8562.

<sup>75</sup> (a) Yu, S.-Y.; Kusukawa, T.; Biradha, K.; Fujita, M. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 2665-2666; (b) Fujita, M.; Yu, S.-Y.; Kusukawa, T.; Funaki, H.; Ogura, K.; Yamaguchi, K. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 2082-2085.

de prisma (Figura 15).<sup>76</sup> Esta cavidad resulta muy apropiada para el reconocimiento de huéspedes aromáticos unidos a través de interacciones del tipo  $\pi$ - $\pi$  y puede ser expandida mediante la modificación de la longitud del espaciador entre las piridinas del ligando pilar de bipyridina.



**Figura 15.** Preparación de una caja en forma de prisma a partir de tetrametil-4,4'-bipiridina y *tris*(4-piridil)triazina.

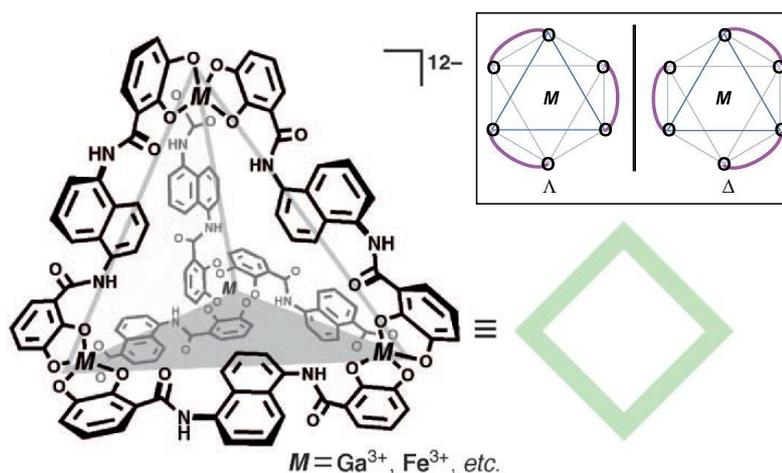
La habilidad del Pd(II) para coordinar ligandos piridina también fue explotada por Fujita para crear construcciones moleculares de tipo esfera. De esta forma, además de cajas octaédricas ( $M_6L_{12}$ ) se prepararon otros compuestos del tipo  $M_nL_{2n}$  como cuboctaedros ( $M_{12}L_{24}$ ), rombicuboctaedros ( $M_{24}L_{48}$ ) y especies relacionadas.<sup>77</sup>

Por otra parte, el profesor Raymond y colaboradores desarrollaron contenedores moleculares tetraédricos formados por cuatro iones metálicos octaédricos ( $Ga^{3+}$  o  $Fe^{3+}$ ) y seis naftalenos, que portaban dos unidades de catecol para interactuar con el centro metálico.<sup>78</sup> Pese a que el entorno del metal es quirral, únicamente obtuvieron las cajas homoquirales  $\Delta, \Delta, \Delta, \Delta$  y  $\Lambda, \Lambda, \Lambda, \Lambda$  como mezcla racémica. Dichos receptores aniónicos (carga total -12), son solubles en agua y presentan una amplia cavidad hidrofóbica que tiene la capacidad de reconocer cationes como  $NMe_4^+$ ,  $NEt_4^+$ ,  $PEt_4^+$  o iones de ferroceno, con elevadas constantes de afinidad (Figura 16).

<sup>76</sup> (a) Yoshizawa, M.; Nakagawa, J.; Kumazawa, K.; Nagao, M.; Kawano, M.; Ozeki, T.; Fujita, M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 1810-1813; (b) Yoshizawa, M.; Nagao, M.; Kumazawa, K.; Fujita, M. *J. Organomet. Chem.* **2005**, *690*, 5383-5388.

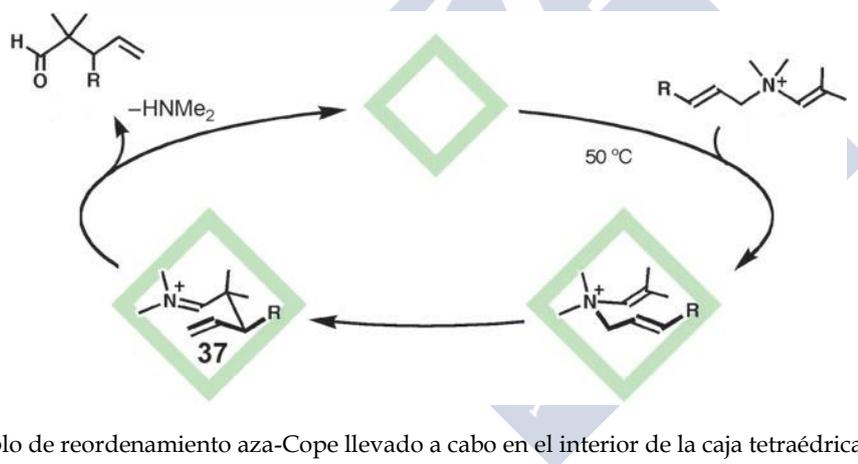
<sup>77</sup> (a) Ueda, Y.; Ito, H.; Fujita, D.; Fujita, M. *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, *139*, 6090-6093; (b) Fujita, D.; Ueda, Y.; Sato, S.; Mizuno, N.; Kumasaka, T.; Fujita, M. *Nature* **2016**, *540*, 563-566; (c) Fujita, D.; Ueda, Y.; Sato, S.; Yokoyama, H.; Mizuno, N.; Kumasaka, T.; Fujita, M. *Chem.* **2016**, *1*, 91-101; (d) Pilgrim, B. S.; Nitschke, J. R. *Chem.* **2016**, *1*, 16-31; (e) Sun, Q.-F.; Sato, S.; Fujita, M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 13510-13513.

<sup>78</sup> Caulder, D. L.; Powers, R. E.; Parac, T. N.; Raymond, K. N. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 1840-1842.



**Figura 16.** Representación estructural de cajas  $[\text{M}_4\text{L}_6]^{12-}$  de geometría tetraédrica, preparadas en el grupo de Raymond. La quiralidad en el entorno del metal conduce a la formación de dos isómeros,  $\Delta, \Delta, \Delta, \Delta$  y  $\Lambda, \Lambda, \Lambda, \Lambda$ , como mezcla racémica.

Aprovechando esta preferencia por los huéspedes con carga positiva, el anfitrión tetraédrico de  $\text{Ga}^{3+}$  se ha utilizado para acelerar reacciones de reordenamiento aza-Cope cationicos (Figura 17).<sup>79</sup>

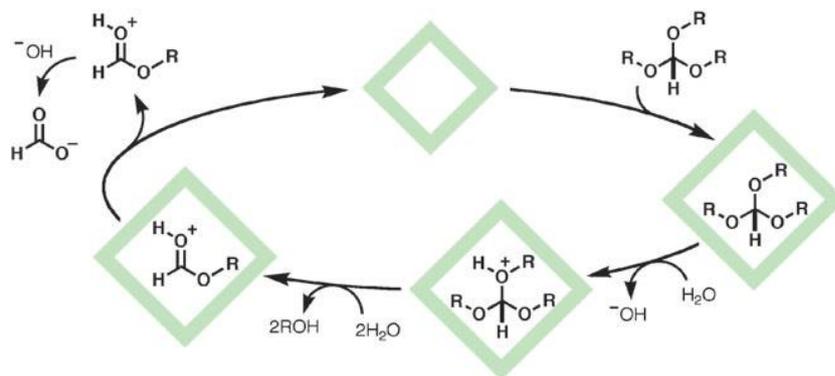


**Figura 17.** Ejemplo de reordenamiento aza-Cope llevado a cabo en el interior de la caja tetraédrica  $[\text{Ga}_4\text{L}_6]^{12-}$ .

También se ha comprobado que el interior del receptor genera un entorno ácido que se puede utilizar para acelerar reacciones que requieren este tipo de catálisis, en disoluciones acuosas neutras y básicas (Figura 18).<sup>80</sup>

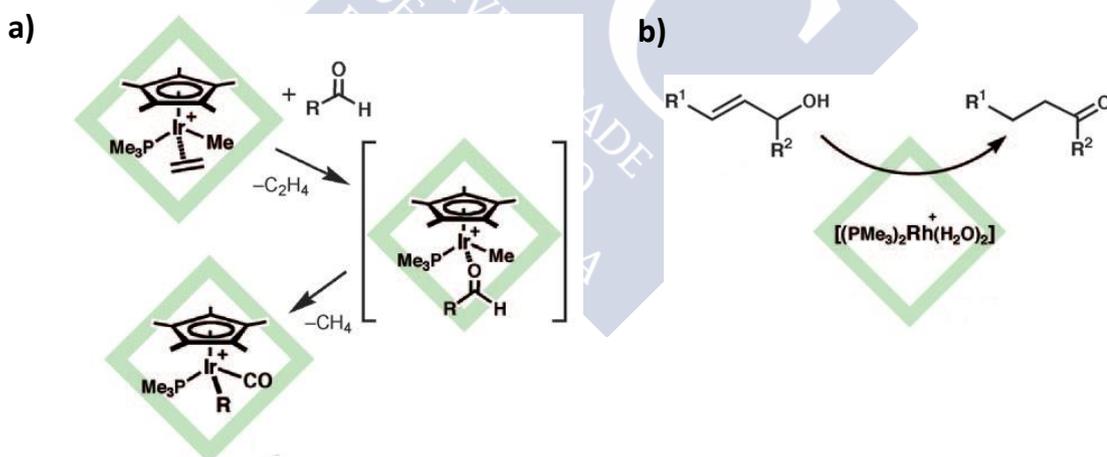
<sup>79</sup> (a) Hastings, C. J.; Fiedler, D.; Bergman, R. G.; Raymond, K. N. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 10977-10983; (b) Fiedler, D.; Bergman, R. G.; Raymond, K. N. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 6748-6751.

<sup>80</sup> Pluth, M. D.; Bergman, R. G.; Raymond, K. N. *Science* **2007**, *316*, 85-88.



**Figura 18.** Ejemplo de reacción de catálisis ácida llevada a cabo en la cavidad interna de la caja  $[Ga_4L_6]^{12-}$ .

Además, se han podido atrapar catalizadores organometálicos en su interior, que ampliaron el rango de procesos que se pueden llevar a cabo en el interior de la estructura, y donde se puso de manifiesto la influencia del entorno quiral de la caja en la reactividad de las especies encapsuladas.<sup>81</sup> Así, el complejo formado por el receptor conteniendo  $[Cp^*(PMe_3)Ir(Me)(C_2H_4)]^+$  ( $Cp^* = C_5Me_5$ ), era activo en reacciones de C-H activación con aldehídos y éteres; mostrando, además, una diastereoselectividad moderada, que no se apreciaba en ausencia del anfitrión (Figura 19a).<sup>82</sup> Cuando el receptor se cargó con un catalizador de Rh(I), la especie resultante aceleró la isomerización de alcoholes alílicos y éteres a aldehídos y enol éteres, respectivamente (Figura 19b).<sup>83</sup> Finalmente, la encapsulación de un catalizador de Au, desarrollado por el profesor Toste, condujo a mejoras sustanciales en la velocidad y el TON en la hidroalcoxilación de alenos.<sup>84</sup>



**Figura 19.** Ejemplos de reacciones de catálisis organometálica llevados a cabo en el interior de la caja  $[Ga_4L_6]^{12-}$ .

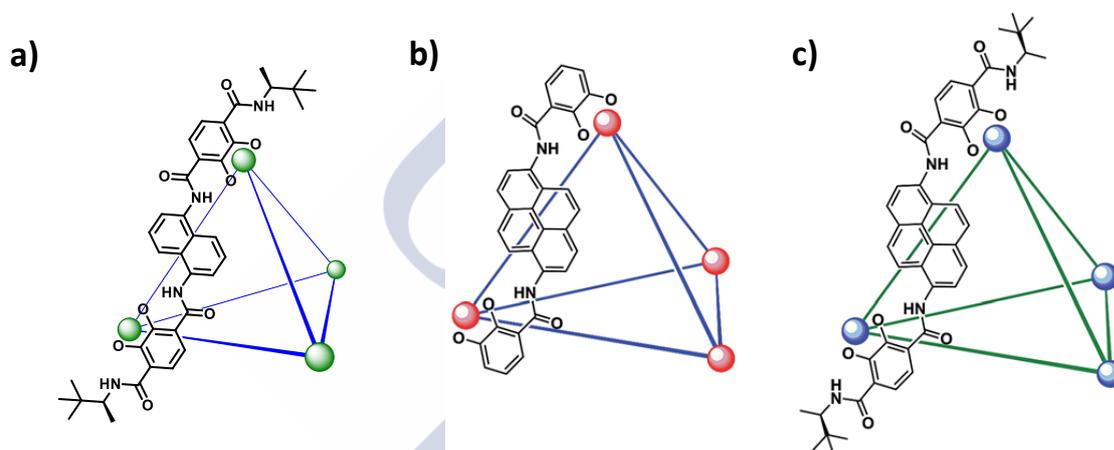
<sup>81</sup> (a) Catti, L.; Zhang, Q.; Tiefenbacher, K. *Synthesis* **2016**, *48*, 313-328; (b) Kaphan, D. M.; Levin, M. D.; Bergman, R. G.; Raymond, K. N.; Dean Toste, F. *Science* **2015**, *350*, 1235-1238; (c) Leenders, S. H. A. M.; Gramage-Doria, R.; de Bruin, B.; Reek, J. N. H. *Chem. Soc. Rev.* **2015**, *44*, 433-448.

<sup>82</sup> Leung, D. H.; Fiedler, D.; Bergman, R. G.; Raymond, K. N. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 963-966.

<sup>83</sup> Leung, D. H.; Bergman, R. G.; Raymond, K. N. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 2746-2747.

<sup>84</sup> Wang, J. Z.; Brown, C. J.; Bergman, R. G.; Raymond, K. N.; Dean Toste, F. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 7358-7360.

La caja supramolecular preparada por el grupo de Raymond mostró ser quimioselectiva; es decir, cuando las reacciones se llevaban a cabo en presencia del receptor, se observaba la formación preferente de unos diastereoisómeros frente a otros. Sin embargo, dado que se trata de una mezcla racémica de dos isómeros, el  $\Delta,\Delta,\Delta,\Delta$  y el  $\Lambda,\Lambda,\Lambda,\Lambda$ , los procesos de catálisis enantioselectiva están limitados en este tipo de sistemas. Con el objetivo de obtener únicamente uno de los dos isómeros, los grupos catecol del ligando se reemplazaron por tereftlimidas, que incorporaban grupos amina quirales (Figura 20a).<sup>85</sup> De esta forma, en función de la quiralidad de la amina empleada, se obtenía el isómero  $\Delta,\Delta,\Delta,\Delta$  o  $\Lambda,\Lambda,\Lambda,\Lambda$ , separadamente. Estas cajas se ensayaron frente a ciclaciones de tipo monoterpreno, observándose excesos enantioméricos de hasta un 69% sin pérdida de rendimiento ni de quimioselectividad.



**Figura 20.** a) Versión enantioméricamente pura de la cápsula de naftaleno  $[\text{Ga}_4\text{L}_6]^{12-}$  desarrollada por el grupo de Raymond. b) Representación estructural de la caja de pireno tetraédrica  $[\text{Ga}_4\text{L}_6]^{12-}$  en su versión racémica. c) Versión enantioméricamente pura de la cápsula de pireno  $[\text{Ga}_4\text{L}_6]^{12-}$ .

Más recientemente, el mismo autor modificó el tamaño de la cavidad tetraédrica utilizando un espaciador de pireno en lugar del naftaleno entre los grupos catecol o tereftalimido (Figura 20b,c).<sup>86</sup> Así, se sintetizaron las cajas con paredes de pireno en su versión racémica y enantioméricamente pura, respectivamente. Dichos receptores también se emplearon para catalizar reacciones de ciclación de monoterpreno, donde se pudo comprobar una mejora en la quimioselectividad del proceso.

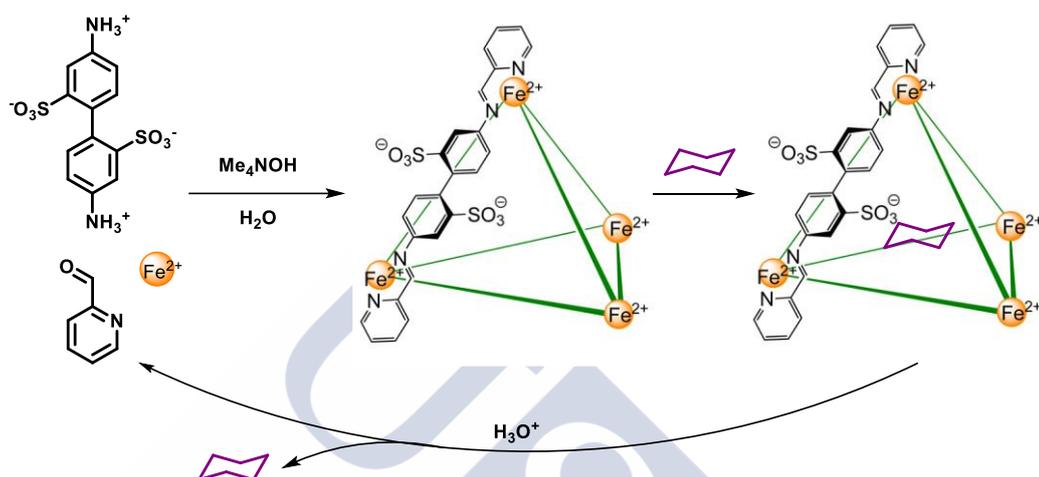
Siguiendo los trabajos de Raymond, el profesor Nitschke preparó una caja tetraédrica en la que el centro metálico era Fe(II) y el ligando se componía de dos elementos: una pared aromática de ácido bifenil-2,2'-disulfónico y dos piridina, unidos mediante enlaces imina.<sup>87</sup> De esta forma, al autoensamblarse todos los componentes en medio básico se formaba una estructura supramolecular estable, con una cavidad hidrofóbica capaz de albergar moléculas

<sup>85</sup> Zhao, C.; Sun, Q. F.; Hart-Cooper, W. M.; Dipasquale, A. G.; Dean Toste, F.; Bergman, R. G.; Raymond, K. N. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 18802-18805.

<sup>86</sup> Hart-Cooper, W. M.; Zhao, C.; Triano, R. M.; Yaghoubi, P.; Ozores, H. L.; Burford, K. N.; Dean Toste, F.; Bergman, R. G.; Raymond, K. N. *Chem. Sci.* **2015**, *6*, 1383-1393.

<sup>87</sup> Mal, P.; Schultz, D.; Beyeh, K.; Rissanen, K.; Nitschke, J. R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 8297-8301.

neutras en su interior por efecto hidrofóbico. Lo interesante de que las partes del ligando se unan mediante un enlace covalente dinámico es que en medio ácido la estructura se desensambla, liberando el huésped encapsulado (Figura 21). Así, a través de la modulación del pH se obtiene un sistema reversible de reconocimiento y liberación de moléculas. Además, este receptor ha demostrado ser efectivo en la estabilización de compuestos reactivos, como el fósforo blanco,<sup>88</sup> y en el atrapado selectivo de SF<sub>6</sub>, un gas causante del efecto invernadero.<sup>89</sup>



**Figura 21.** Preparación de una caja tetraédrica con capacidad de reconocer moléculas neutras (ciclohexano) mediante la formación de enlaces imina. La acidificación del medio promueve la ruptura de los enlaces imina y la liberación de la molécula huésped.

La incorporación de grupos glicerol enantiopuros a la pared aromática, permitió obtener los isómeros de la caja por separado, pese a que los grupos quirales se encuentran alejados del centro metálico (Figura 22).<sup>90</sup> Este sistema, además de reconocer diversos huéspedes orgánicos, mostró actividad catalítica en la hidrólisis de diclorvos organofosforados neurotóxicos. Además de las cajas descritas, en los últimos años, el grupo de Nitschke ha preparado otros receptores tetraédricos<sup>91</sup> y estructuras con otras geometrías, como prismas pentagonales y hexagonales,<sup>92</sup> cubos e icosaedros,<sup>93</sup> que también actuaban como agentes de reconocimiento eficientes frente a una amplia variedad de sustratos.

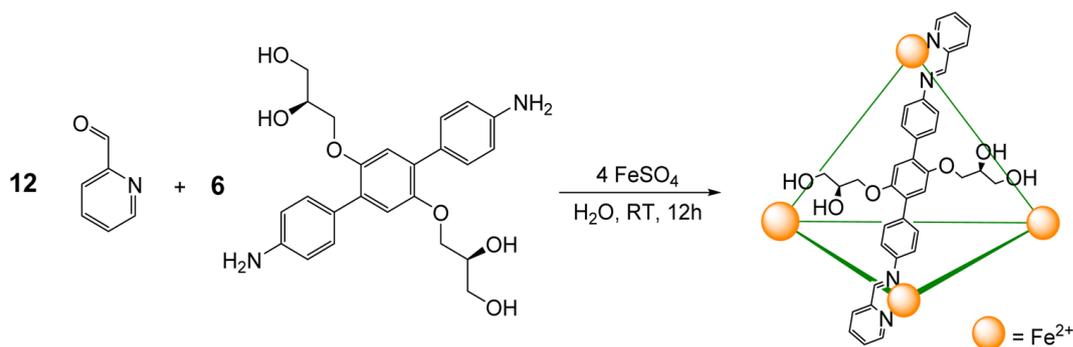
<sup>88</sup> Mal, P.; Breiner, B.; Rissanen, K.; Nitschke, J. R. *Science* **2009**, 324, 1697-1699.

<sup>89</sup> Riddell, I. A.; Smulders, M. M. J.; Clegg, J. K.; Nitschke, J. R. *Chem. Commun.* **2010**, 47, 457-459.

<sup>90</sup> Bolliger, J. L.; Belenguer, A. M.; Nitschke, J. R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, 52, 7958-7962.

<sup>91</sup> (a) McConnell, A. J.; Aitchison, C. M.; Grommet, A. B.; Nitschke, J. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, 139, 6294-6297; (b) Ramsay, W. J.; Foster, J. A.; Moore, K. L.; Ronson, T. K.; Mirgalet, R. J.; Jefferson, D. A.; Nitschke, J. R. *Chem. Sci.* **2015**, 6, 7326-7331.

<sup>92</sup> (a) Riddell, I. A.; Ronson, T. K.; Clegg, J. K.; Wood, C. S.; Bilbeisi, R. A.; Nitschke, J. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, 136, 9491-9498; (b) Meng, W.; Ronson, T. K.; Clegg, J. K.; Nitschke, J. R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, 52, 1017-1021; (c) Riddell, I. A.; Hristova, Y. R.; Clegg, J. K.; Wood, C. S.; Breiner, B.; Nitschke, J. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, 135, 2723-2733; (d) Riddell, I. A.; Smulders, M. M. J.; Clegg, J. K.; Hristova, Y. R.; Breiner, B.; Thoburn, J. D.; Nitschke, J. R. *Nature Chem.* **2012**, 4, 751-756.



**Figura 22.** Preparación de una caja tetraédrica enantioméricamente pura mediante la incorporación de grupos quirales en la pared aromática.

Esta estrategia sintética ha sido empleada por estos y otros muchos autores para construir una amplia variedad de arquitecturas supramoleculares 3D muy sofisticadas.<sup>94</sup> Desde los primeros diseños de estructuras “Platónicas” (tetraedro, octaedro, cubo, dodecaedro e icosaedro), con caras formadas por polígonos regulares, se pasó a construcciones más complejas (“Arquimideanas”) que combinaban dos o más polígonos regulares con un control preciso de la geometría. También se han sintetizado compuestos tridimensionales con estructuras no clásicas, especies heterometálicas, cajas dobles interpenetradas capaces de reconocer aniones, etc.<sup>29c,63,95</sup> La sencillez del método y su versatilidad hacen de esta metodología una de las más atractivas a la hora de construir receptores artificiales.

### 2.3.2. Cápsulas autoensambladas

Como hemos dicho al principio de esta sección, el enlace de hidrógeno ha sido otra de las fuerzas intermoleculares utilizadas en la construcción de contenedores autoensamblados debido a su carácter direccional. El uso de enlaces de hidrógeno para la preparación de cápsulas moleculares fue introducido por Rebek, de Mendoza y colaboradores en la década de 1990. El primer ejemplo de este tipo de estructuras fue el receptor conocido como “pelota de tenis”.<sup>96</sup> Esta molécula anfitrión se formaba cuando dos monómeros, constituidos por dos

<sup>93</sup> (a) Brenner, W.; Ronson, T. K.; Nitschke, J. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, *139*, 75-78; (b) Ramsay, W. J.; Szczypiński, F. T.; Weissman, H.; Ronson, T. K.; Smulders, M. M. J.; Rybtchinski, B.; Nitschke, J. R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 3988-3992; (c) Bilbeisi, R. A.; Ronson, T. K.; Nitschke, J. R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *125*, 9197-9200.

<sup>94</sup> (a) Beuerle, F. *Nature* **2016**, *540*, 529-531; (b) Wang, Q.-Q.; Gonell, S.; Leenders, S. H. A. M.; Dürr, M.; Ivanović-Burmazović, I.; Reek, J. N. H. *Nat. Chem.* **2016**, *8*, 225-230; (c) Cullen, W.; Misuraca, M. C.; Hunter, C. A.; Williams, N. H.; Ward, M. D. *Nat. Chem.* **2016**, *8*, 231-236; (d) Wang, S.; Sawada, T.; Ohara, K.; Yamaguchi, K.; Fujita, M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 2063-2066.

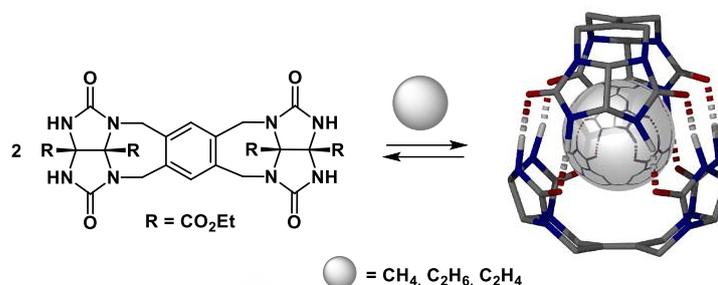
<sup>29c</sup> Smulders, M. M. J.; Riddell, I. A.; Browne, C.; Nitschke, J. R. *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 1728-1754.

<sup>63</sup> Chakrabarty, R.; Mukherjee, P. S.; Stang, P. J. *Chem. Rev.* **2011**, *111*, 6810-6918.

<sup>95</sup> (a) Vardhana, H.; Yusubov, M.; Verpoort, F. *Coord. Chem. Rev.* **2016**, *306*, 171-194; (b) Han, M.; Engelhard, D. M.; Clever, G. H. *Chem. Soc. Rev.* **2014**, *43*, 1848-1860.

<sup>96</sup> (a) Branda, N.; Wyler, R.; Rebek Jr., J. *Science* **1994**, *263*, 1267-1268; (b) Wyler, R.; de Mendoza, J.; Rebek Jr., J. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1993**, *32*, 1699-1701.

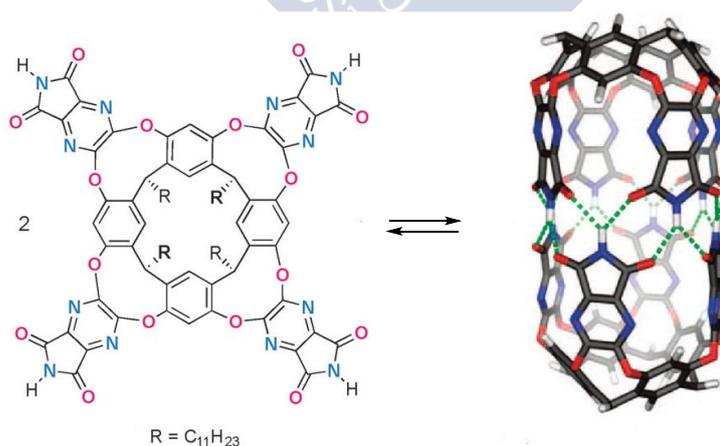
subunidades de glucolurilo unidas por un anillo aromático, dimerizaban mediante interacciones por enlace de hidrógeno a través de los grupos aceptores y dadores complementarios. La cavidad resultante, de unos 60 Å<sup>3</sup> aproximadamente, tenía la capacidad de atrapar de manera reversible pequeñas moléculas como metano, etano y etileno (Figura 23).



**Figura 23.** Cápsula autoensamblada denominada “pelota de tenis”, preparada por Rebek a partir de dos unidades de un derivado de glucolurilo.

El grado de ocupación demostró ser un factor clave en la preferencia de unos huéspedes frente a otros.<sup>97</sup> Los estudios de encapsulación permitieron concluir que el candidato más apropiado era aquel que tenía una forma complementaria a la del sitio de unión del receptor y cuyo coeficiente de empaquetamiento (relación entre el volumen del huésped y el volumen de la cavidad del anfitrión) se situaba en torno al 55% en disolución.

Posteriormente, también en el grupo de Rebek, se preparó una cavidad mucho más grande como resultado del autoensamblaje, en presencia de la molécula huésped, de dos cavitandos complementarios de resorcin[4]areno con paredes de diazaftalimida.<sup>98</sup> En esta estructura, conocida como “cilindro”, las dos subunidades se unían mediante enlaces de hidrógeno bifurcados entre los grupos imida, situados en los extremos de la pared aromática (Figura 24).



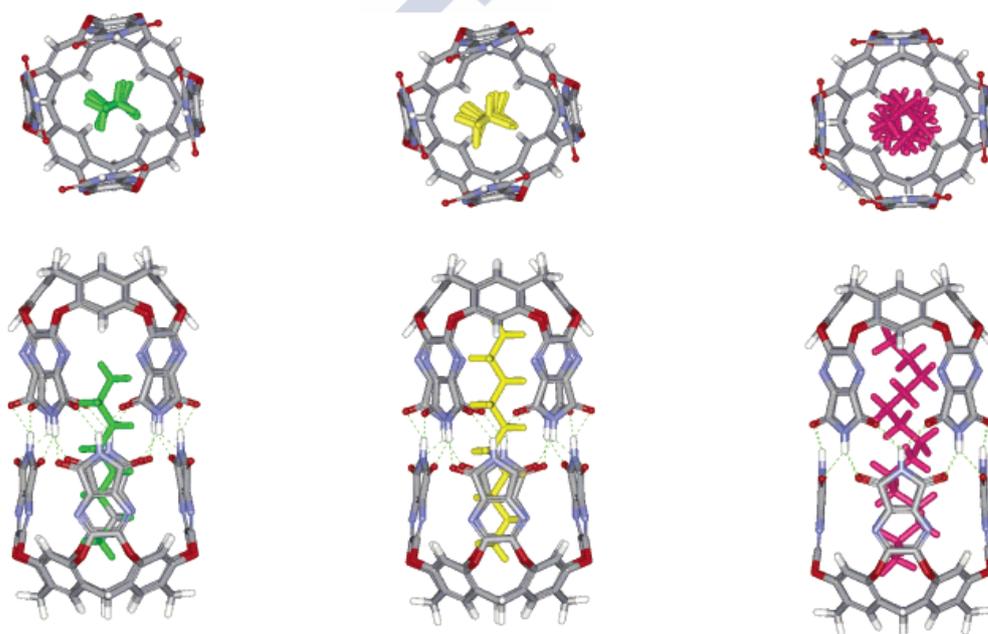
**Figura 24.** Formación de la cápsula conocida como “cilindro”. En presencia del huésped adecuado el cavitando de resorcinareno dimeriza a través de enlaces de hidrógeno bifurcados entre los grupos aceptores y dadores complementarios.

<sup>97</sup> Mecozzi, S.; Rebek Jr., J. *Chem. Eur. J.* **1998**, *4*, 1016-1022.

<sup>98</sup> Heinz, T.; Rudkevich, D. M.; Rebek Jr., J. *Nature* **1998**, *394*, 764-766.

La cápsula solo se formaba en presencia de la molécula huésped y presentaba una selectividad remarkable. Este hecho se puso de manifiesto cuando se observó que la cavidad podía reconocer dos moléculas de benceno o de tolueno, e incluso dos anillos aromáticos distintos: benceno y *p*-xileno; sin embargo, no era capaz de acomodar dos moléculas de *p*-xileno.

Años más tarde, ese mismo receptor se utilizó en el reconocimiento reversible de alcanos lineales de diversas longitudes.<sup>99</sup> Los estudios de RMN permitieron observar que con cadenas hidrocarbonadas de menos de seis carbonos, la cavidad podía albergar dos moléculas que se movían libremente en el interior de la misma. Para alcanos más grandes que el *n*-decano, las paredes aromáticas debían girar para aumentar el volumen interno del anfitrión y acomodar una sola molécula. Además, las cadenas con más de diez átomos de carbono hasta el *n*-tetradecano, tenían que adoptar una conformación helicoidal para poder acceder al interior de la estructura dimérica (Figura 25).



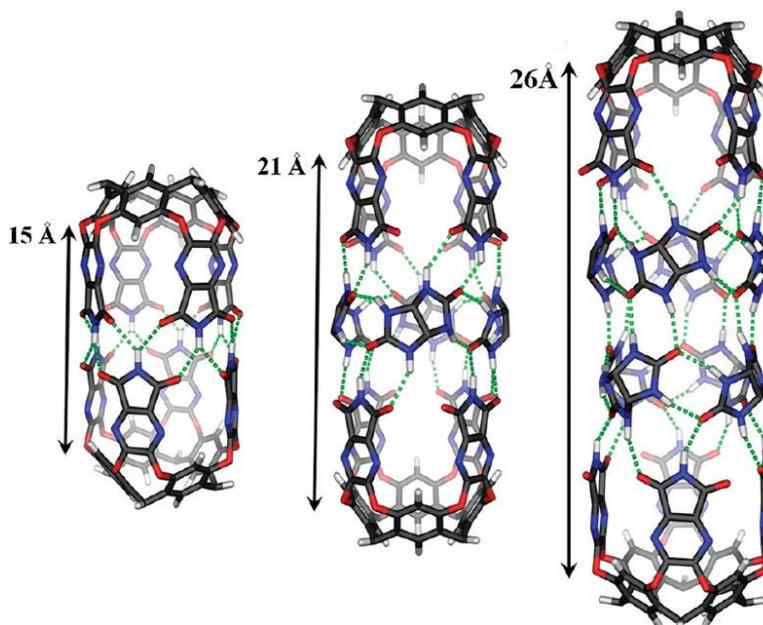
**Figura 25.** Vistas superior y frontal de las estructuras minimizadas de los complejos de la cápsula cilíndrica con *n*-C<sub>8</sub>H<sub>18</sub> (izquierda), *n*-C<sub>10</sub>H<sub>22</sub> (centro) y *n*-C<sub>14</sub>H<sub>30</sub> (derecha).

Para el atrapado de huéspedes alquílicos sustituidos de mayor tamaño, era necesario alargar la cápsula cilíndrica. Con este propósito, el propio grupo de Rebek utilizó unidades de glucolurilo que se insertaban entre las dos mitades del receptor para dar lugar a nuevas cavidades cilíndricas (Figura 26).<sup>100</sup> La incorporación de estos espaciadores en la estructura permitió incrementar la longitud en 6 Å, aproximadamente. De este modo, la cápsula expandida tenía la capacidad de reconocer alcanos lineales hasta el C<sub>21</sub>H<sub>44</sub>. Estudios posteriores probaron que las cadenas alquílicas con un mayor número de átomos de carbono también podían ser encapsuladas extendiendo todavía más la longitud de la cápsula. Los

<sup>99</sup> Scarso, A.; Trembleau, L.; Rebek Jr., J. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 13512-13518.

<sup>100</sup> Ajami, D.; Rebek Jr., J. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 5314-5315.

datos de RMN mostraron que la adición de un exceso de glicurilo conducía a la incorporación de un segundo cinturón entre las dos mitades de la molécula anfitrión. La formación de estas cápsulas extendidas solo podía producirse en presencia de huéspedes adecuados en disolventes no competitivos. En estas condiciones, dependiendo de la longitud del alcano, se podían obtener incluso receptores hiperextendidos que contenían tres y cuatro anillos de glucolurilo para acomodar cadenas alquílicas de gran tamaño.<sup>101</sup>



**Figura 26.** Modelo de la cápsula cilíndrica y de dos versiones extendidas por la incorporación de uno y dos anillos de glucolurilo, respectivamente.

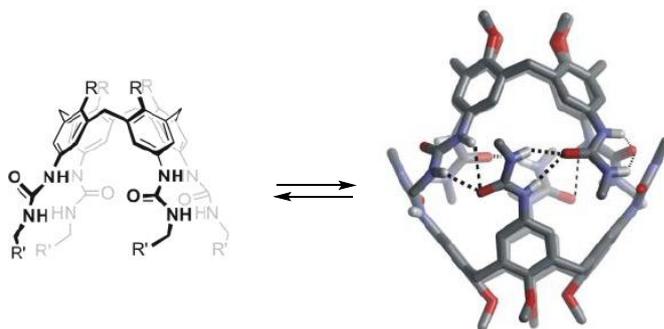
También se utilizaron otras estructuras convexas, como los calixarenos, en la preparación de cápsulas autoensambladas. El primer ejemplo de este tipo de receptores nuevamente se sintetizó en el grupo de Rebek. La estructura supramolecular consistía en un dímero de calix[4]arenos decorados con cuatro grupos urea (Figura 27).<sup>102</sup> De este modo, cuando ambas subunidades se ensamblaban en las condiciones adecuadas, se establecían un total de 16 enlaces de hidrógeno entre los grupos aceptores y dadores de los grupos urea, formando lo que se conoce como “cinturón de ureas”. El proceso de dimerización tenía lugar en disolventes que podían actuar a su vez como huésped (tolueno o cloroformo). Esta clase de cápsulas moleculares que incorporan unidades de calixareno en su estructura también fueron sintetizadas por otros autores como Böhmer<sup>103</sup> o Reinhoudt.<sup>104</sup>

<sup>101</sup> (a) Ajami, D.; Rebek Jr., J. *Acc. Chem. Res.* **2012**, *46*, 990-999; (b) Rebek Jr., J. *Acc. Chem. Res.* **2009**, *42*, 1660-1668; (c) Ajami, D.; Rebek Jr., J. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 9283-9286.

<sup>102</sup> Shimizu, K. D.; Rebek Jr., J. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1995**, *92*, 12403-12407.

<sup>103</sup> (a) Mogck, O.; Böhmer, V.; Vogt, W. *Tetrahedron* **1996**, *52*, 8489-8496; (b) Mogck, O.; Paulus, E. F.; Böhmer, V.; Thondorf, I.; Vogt, W. *Chem. Commun.* **1996**, 2533-2534.

<sup>104</sup> (a) Scheerder, J.; Vreekamp, R. H.; Engbersen, J. F. J.; Verboom, W.; vanDuynhoven, J. P. M.; Reinhoudt, D. N. *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 3476-3481; (b) Scheerder, J.; vanDuynhoven, J. P. M.; Engbersen, J. F. J.; Reinhoudt, D. N. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1996**, *35*, 1090-1093.



**Figura 27.** Cápsula dimérica de tetraurea calix[4]areno desarrollada por Rebek. Esta estructura constituye el primer ejemplo de cápsula autoensamblada a través de un “cinturón de ureas”.

Más recientemente, se han descrito ejemplos de cápsulas moleculares que combinaban los dos tipos de interacciones mencionadas anteriormente (enlaces de coordinación y enlaces de hidrógeno).<sup>105</sup> Además, en los últimos años, se han preparado estructuras análogas a las cápsulas cilíndricas de Rebek en las que los dos derivados de resorcin[4]areno dimerizaban a través de otras clases de interacciones supramoleculares, como las interacciones iónicas<sup>106</sup> o los enlaces halógeno.<sup>107</sup>

## 2.4. Contenedores moleculares con cavidades funcionalizadas

Como hemos visto hasta ahora, la aplicación de estrategias supramoleculares en la preparación de moléculas anfitrión ha permitido obtener, de forma relativamente sencilla y controlada, estructuras con cavidades funcionales de distintos tamaños y geometrías. Este control se consigue mediante el uso de fuerzas de enlace direccionales, como los enlaces de coordinación o de los enlaces de hidrógeno, que fijan la disposición de los componentes en el agregado supramolecular. Sin embargo, a pesar de que las interacciones que mantienen unidas las diferentes partes del receptor son direccionales, las encargadas de reconocer al huésped en el sitio de unión, en la mayor parte de los casos, no lo son. Por tanto, dicho huésped, una vez internalizado, puede moverse libremente en el interior del anfitrión.<sup>108</sup> Esto dista mucho de lo que sucede en los sistemas naturales, como las enzimas, donde las cavidades presentan residuos que ayudan fijar el sustrato en una determinada disposición; de modo que se consigue una mayor selectividad y eficiencia en los procesos. Por ello, la funcionalización interna de los contenedores moleculares es uno de los mayores retos de la química anfitrión-huésped en la actualidad.<sup>109</sup>

Existen muchos tipos de receptores convencionales covalentes y autoensamblados. Sin embargo, son mucho más escasos los ejemplos que presentan grupos proyectados hacia

<sup>105</sup> Yamanaka, M.; Toyoda, N.; Kobayashi, K. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 9880-9881.

<sup>106</sup> Oshovsky, G. V.; Reinhoudt, D. N.; Verboom, W. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 5270-5278.

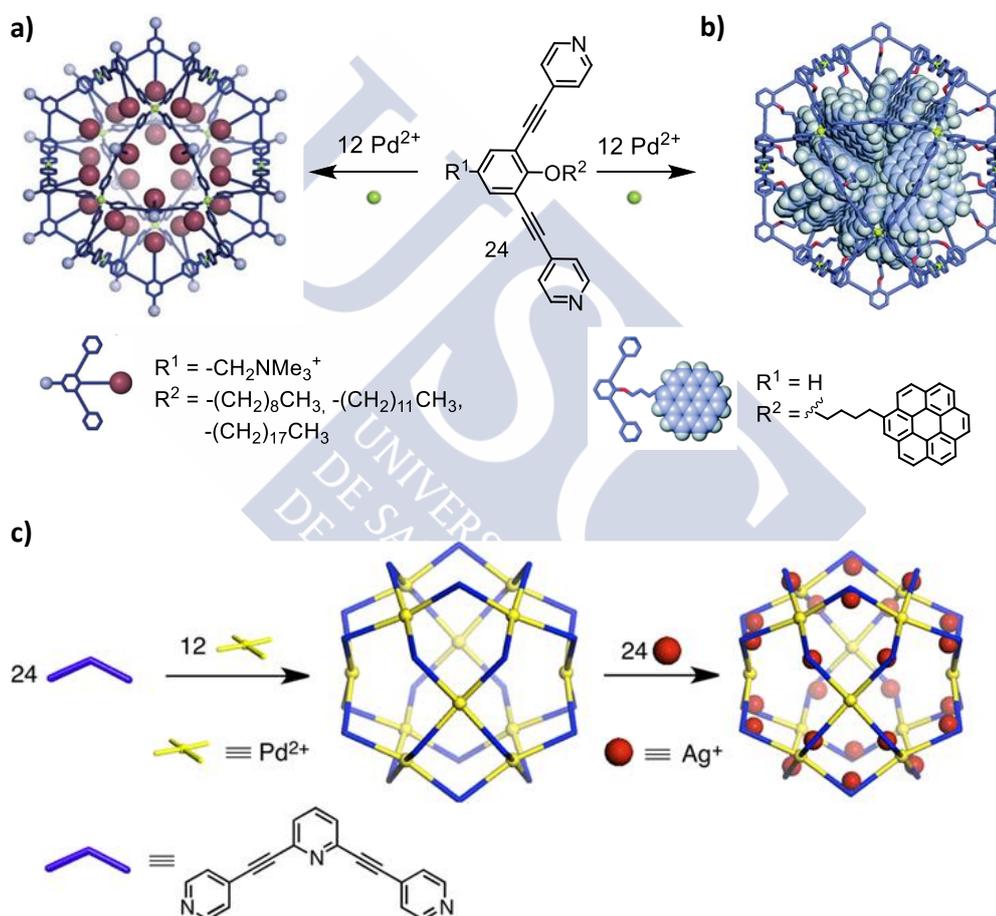
<sup>107</sup> (a) Dumele, O.; Schreib, B.; Warzok, U.; Trapp, N.; Schalley, C. A.; Diederich, F. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2017**, *56*, 1152-1157; (b) Dumele, O.; Trapp, N.; Diederich, F. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 12339-12344.

<sup>108</sup> Kitagawaa, H.; Koboria, Y.; Yamanakaa, M.; Yozab, K.; Kobayashi, K. *PNAS* **2009**, *106*, 10444-10448.

<sup>109</sup> Adriaenssens, L.; Ballester, P. *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 3261-3277.

interior de la estructura para dirigir la encapsulación y fijar la posición de la molécula huésped. A lo largo de esta introducción hemos descrito algunos sistemas covalentes con estas propiedades como los éteres corona, los criptandos o los esferandos. No obstante, nos centraremos únicamente en los receptores supramoleculares, debido a las ventajas ya mencionadas con respecto a los covalentes.

Algunos intentos de funcionalización interna fueron llevados a cabo en el grupo de Fujita. Para ello, prepararon un ligando precursor de complejos esféricos del tipo  $M_{12}L_{24}$ , formado por un anillo central de fenol unido a dos piridinas a través de la posición *orto* al grupo hidroxilo.<sup>110</sup> De este modo, una vez formada la estructura supramolecular, dichos grupos hidroxilo quedaban proyectados hacia el interior de la esfera (Figura 28).



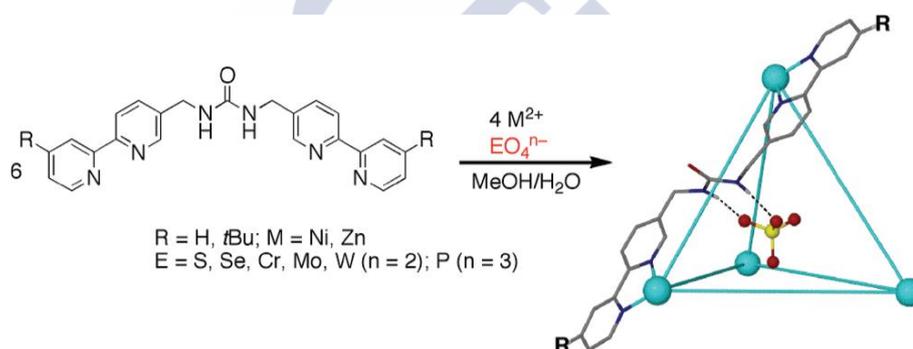
**Figura 28.** Cajas esféricas  $[M_{12}L_{24}]$  con interiores funcionalizados preparadas por el grupo de Fujita.

Aprovechando esta propiedad, los autores anclaron cadenas alquílicas de distinta longitud al ligando precursor a través del OH (Figura 28a). Así, consiguieron formar esferas con cavidades internas hidrofóbicas. En un diseño posterior, la cadena alquílica del ligando se reemplazó por un anillo de coroneno, obteniéndose también una caja esférica con un

<sup>110</sup> Suzuki, K.; Iida, J.; Sato, S.; Kawano, M.; Fujita, M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 5780-5782.

interior aromático, que incrementaba la solubilidad del C<sub>60</sub> (Figura 28b).<sup>111</sup> Por otra parte, siguiendo la misma estrategia, se sintetizó un ligando análogo con un anillo central de piridina (Figura 28c).<sup>112</sup> En esta ocasión, el heteroátomo orientado hacia la superficie interna se utilizó para la posterior coordinación de iones de Ag<sup>+</sup> en la cavidad.

Otro diseño interesante de contenedor molecular con grupos funcionales proyectados hacia el interior se debe a Custelcean y colaboradores.<sup>113</sup> En este caso, partiendo de un ligando formado por dos bipyridinas espaciadas por un grupo urea, prepararon una caja tetraédrica en la que los NHs se orientaban hacia la cavidad interna (Figura 29). La presencia de dichos grupos provocó cambios en el comportamiento del receptor en comparación con sus análogos no funcionalizados. De esta forma, mientras los complejos convencionales del tipo M<sub>4</sub>L<sub>6</sub> favorecen la encapsulación de iones monocargados relativamente hidrofóbicos, la nueva especie mostró preferencia por aniones multicargados fuertemente hidofílicos. Recientemente, el grupo de Mukherjee también utilizó ligandos con grupos urea para construir una estructura de tipo prisma con capacidad de catalizar reacciones de Michael de una serie de nitroolefinas insolubles en agua, en medio acuoso.<sup>114</sup>



**Figura 29.** Caja tetraédrica desarrollada por Custelcean en la que los grupos NH del ligando dirigidos hacia la cavidad interna interactúan con la molécula huésped.

Con respecto a las cápsulas autoensambladas, también existen algunos ejemplos de funcionalización interna. En este campo cabe destacar las contribuciones de los profesores Atwood y Ballester. En 1997 MacGillivray y Atwood describieron una cápsula hexamérica formada por la interacción de seis unidades de resorcin[4]areno en presencia de trazas de agua (Figura 30a).<sup>115</sup> Las imágenes de rayos X revelaron que el agua jugaba un papel determinante en la estabilización de la estructura supramolecular ya que, además de los 48 enlaces de hidrógeno entre los monómeros, se establecían otros 12 adicionales con 8 moléculas de agua atrapadas en la cavidad interna resultante. Sin embargo, los hidroxilos que formaban enlaces de hidrógeno con estas moléculas apuntaban hacia el exterior. Mattay

<sup>111</sup> Suzuki, K.; Takao, K.; Sato, S.; Fujita, M. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 2544-2545.

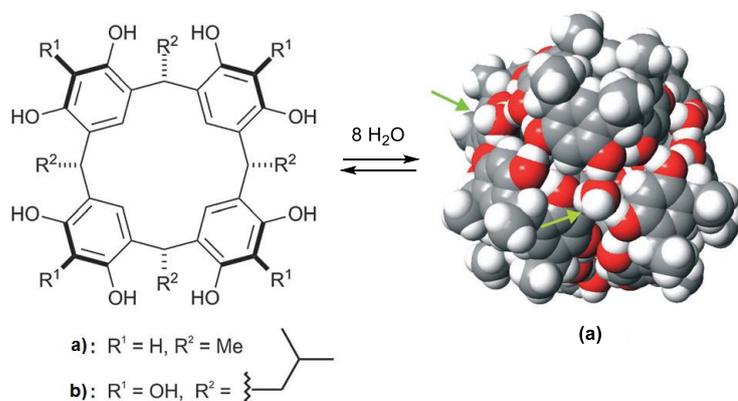
<sup>112</sup> Harris, K.; Sun, Q.-F.; Sato, S.; Fujita, M. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 12497-12499.

<sup>113</sup> Custelcean, R.; Bonnesen, P. V.; Duncan, N. C.; Zhang, X. H.; Watson, L. A.; Van Berkel, G.; Parson, W. B.; Hay, B. P. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 8525-8534.

<sup>114</sup> Howlader, P.; Das, P.; Zangrando, E.; Mukherjee, P. S. *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138*, 1668-1676.

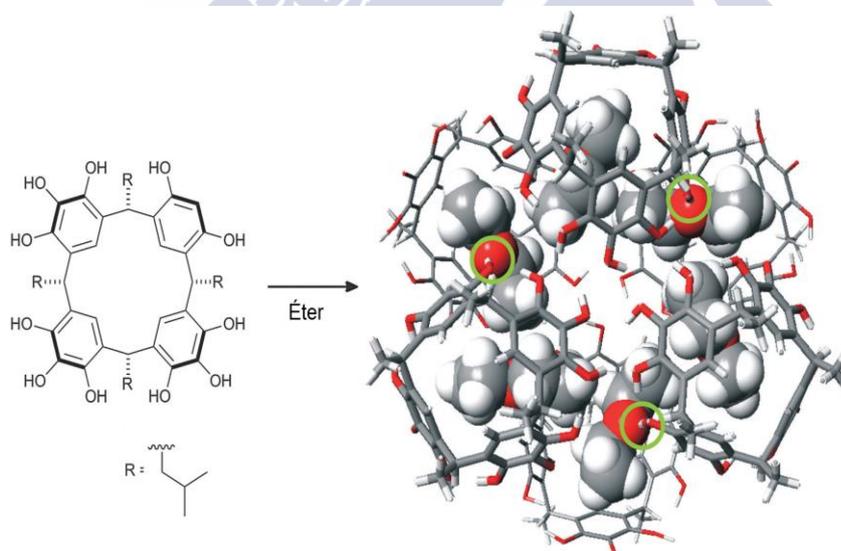
<sup>115</sup> MacGillivray, L. R.; Atwood, J. L. *Nature* **1997**, *389*, 469-472.

y colaboradores prepararon una estructura similar utilizando unidades de pirogalol[4]areno (Figura 30b);<sup>116</sup> sin embargo, en este caso los hidroxilos extra del monómero hacían que todos los grupos aceptores y dadores estuviesen ocupados y; por tanto, la presencia de agua no era necesaria.



**Figura 30.** Formación de cápsulas hexaméricas a partir de resorcin[a]areno (a) y pirogalol[4]areno (b).

Posteriormente, en base a estas estructuras, Atwood y colaboradores sintetizaron la primera cápsula con grupos polares dirigidos hacia el interior (Figura 31).<sup>117</sup> Para este propósito emplearon un derivado pirogalolareno en el que uno de los anillos era deficitario en hidroxilos. El análisis de los cristales obtenidos en éter, confirmó que 6 de los enlaces de hidrógeno que se establecían con el disolvente atrapado en la cavidad estaban dirigidos hacia el interior.

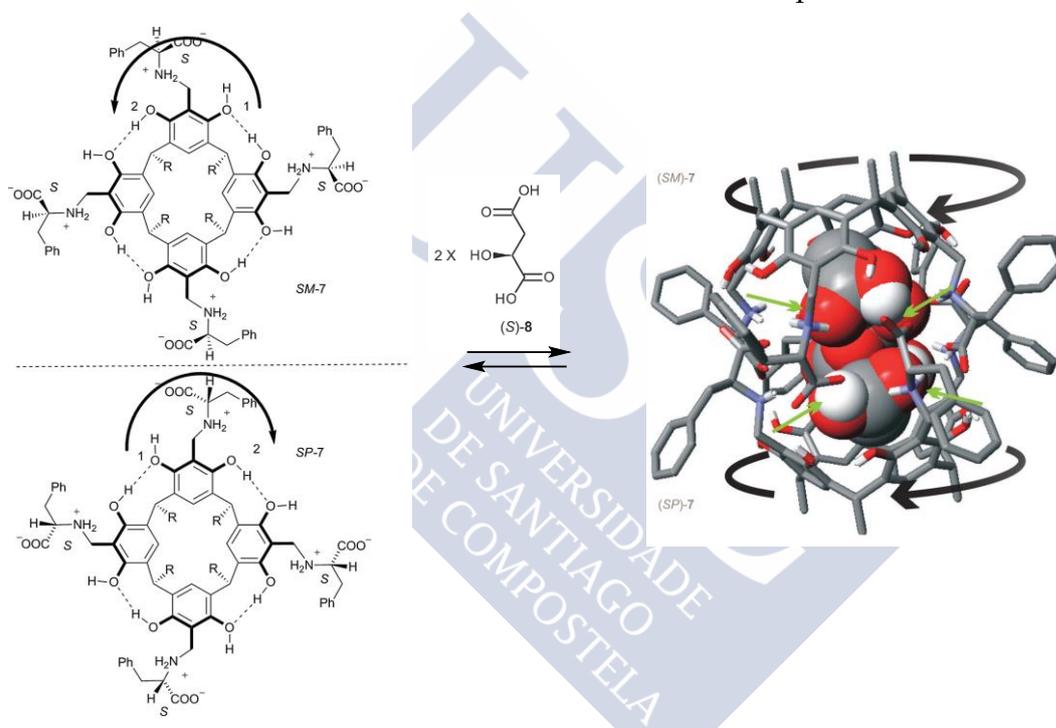


**Figura 31.** Cápsula hexamérica preparada por Atwood con grupos polares dirigidos hacia el interior de la estructura.

<sup>116</sup> Gerkensmeier, T.; Iwanek, W.; Agena, C.; Frohlich, R.; Kotila, S.; Nather, C.; Mattay, J. *Eur. J. Org. Chem.* **1999**, 2257-2262.

<sup>117</sup> Atwood, J. L.; Barbour, L. J.; Jerga, A. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2002**, 99, 4837-4841.

Más recientemente, Szumna y colaboradores introdujeron una cápsula dimérica en la que los componentes se unían por una combinación de fuerzas electrostáticas e interacciones por enlace de hidrógeno. En esta ocasión, los autores incorporaron aminoácidos a las unidades de resocin[4]areno, que inducían la dimerización mediante interacciones entre los grupos amonio y carboxilato complementarios (Figura 32).<sup>118</sup> Dicha interacción dejaba algunos grupos polares orientados hacia la cavidad interna, por lo que el receptor presentaba afinidad por huéspedes polares e hidrofílicos, como el ácido málico.<sup>119</sup> Las imágenes de rayos X del complejo anfitrión-huésped mostraron que las interacciones responsables de mantener unidas las dos mitades de la cápsula eran también las encargadas de estabilizar al huésped en la cavidad.<sup>120</sup> Es decir, los grupos carboxilato y amonio de los residuos aminoácidos proyectados hacia el interior interactuaban con los grupos aceptores y dadores de dos moléculas de ácido málico, acomodándolas con una orientación específica.



**Figura 32.** Formación de la cápsula autoensamblada desarrollada por Szumna y colaboradores. El resocin[4]areno funcionalizado con *S*-fenilalanina presenta dos ciclo-diastereoisómeros, que al ensamblarse en presencia de dos moléculas de ácido *L*-málico genera la estructura dimérica. En la imagen de rayos X se indican los grupos polares de la cápsula proyectados hacia la cavidad interna que interactúan con las moléculas huésped.

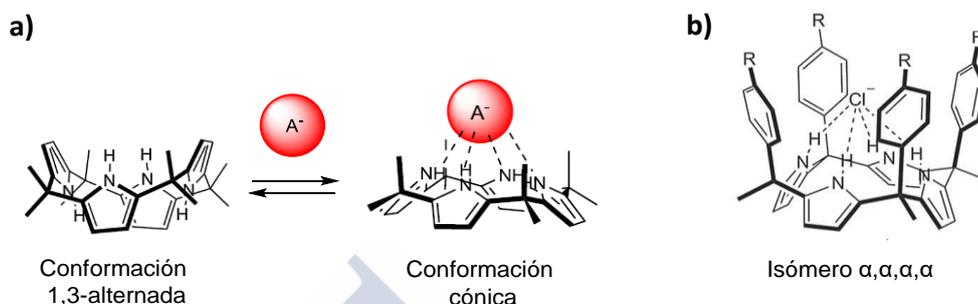
Una aproximación elegante para construir cápsulas con interiores polares consiste en emplear calix[4]pirroles en lugar de los calix[4]arenos. La característica más interesante de estas estructuras es su núcleo tetrapirrólico, que actúa como dador de enlace de hidrógeno. De esta forma, en presencia de aniones u otras moléculas aceptoras, el anillo de calix[4]pirrol, que en medios apolares adopta fundamentalmente la conformación 1,3-alternada, adquiere

<sup>118</sup> Kuberski, B.; Szumna, A. *Chem. Commun.* **2009**, 1959-1961.

<sup>119</sup> Szumna, A. *Chem. Commun.* **2009**, 4191-4193.

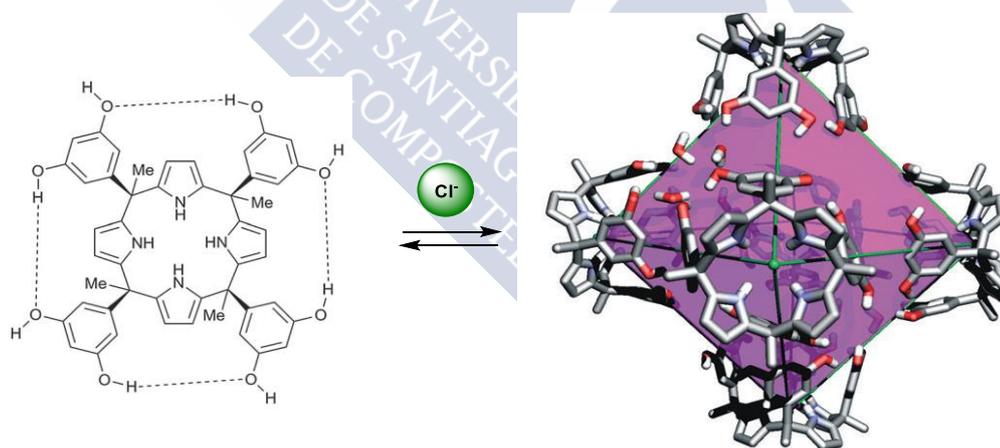
<sup>120</sup> Szumna, A. *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 12381-12388.

la conformación cónica necesaria para que todos los NHs puedan participar en el enlace de hidrógeno (Figura 33a).<sup>121</sup> En base a esta propiedad, algunos autores como Floriani o Sessler prepararon cavitandos con interiores polares mediante la introducción en la posición *meso* de grupos aromáticos.<sup>122</sup> De todos los isómeros resultantes de esta modificación, el  $\alpha,\alpha,\alpha,\alpha$  (en el que los arilos se sitúan hacia la misma cara del anillo de calix[4]pirrol), es el que da lugar a la estructura deseada (Figura 33b).



**Figura 33.** a) Representación del cambio conformacional que experimenta un anillo de calix[4]pirrol en presencia de un anión. b) Cavitando derivado de la funcionalización de un anillo de calix[4]pirrol con paredes aromáticas.

Estos aspectos del diseño fueron explotados posteriormente por el profesor Ballester para la formación de cápsulas autoensambladas.<sup>123</sup> En uno de sus primeros trabajos en este campo, el grupo de Ballester preparó una estructura hexamérica similar a la descrita por Atwood, en la que en lugar de resorcin[4]areno se utilizaba un derivado del calix[4]pirrol análogo, donde los grupos hidroxilo se situaban en las paredes aromáticas de la posición *meso* (Figura 34).



**Figura 34.** Cápsula hexamérica descrita por Ballester formada a partir unidades de calix[4]pirrol que presentan paredes aromáticas funcionalizadas con grupos hidroxilo. La conformación cónica que adoptan los anillos tetrapirrólicos en presencia de aniones cloruro orienta los NHs hacia el interior de la estructura supramolecular.

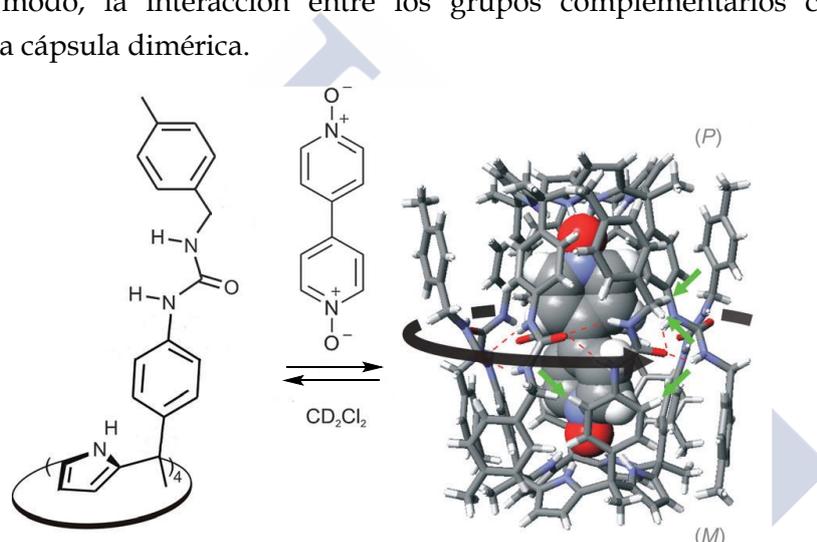
<sup>121</sup> (a) Gross, D. E.; Schmidtchen, F. P.; Antonius, W.; Gale, P. A.; Lynch, V. M.; Sessler, J. L. *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 7822-7827; (b) Custelcean, R.; Delmau, L. H.; Moyer, B. A.; Sessler, J. L.; Cho, W. S.; Gross, D.; Bates, G. W.; Brooks, S. J.; Light, M. E.; Gale, P. A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 2537-2542.

<sup>122</sup> (a) Bonomo, L.; Solari, E.; Toraman, G.; Scopelliti, R.; Latronico, M.; Floriani, C. *Chem. Commun.* **1999**, 2413-2414; (b) Anzenbacher, P.; Jursikova, K.; Lynch, V. M.; Gale, P. A.; Sessler, J. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 11020-11021.

<sup>123</sup> Gil-Ramirez, G.; Benet-Buchholz, J.; Escudero-Adan, E. C.; Ballester, P. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 3820-3821.

Las imágenes de rayos X de los cristales, que se obtuvieron en presencia de un gran exceso de cloruro de tetrametilamonio, revelaron que en la estructura supramolecular el núcleo de tetrapirrol estaba en la conformación cónica, con los NHs dirigidos hacia el interior, debido a la interacción con los iones cloruro y a la formación de tres enlaces de hidrógeno intramoleculares a través de los hidroxilos de la pared aromática.

Kohnke y colaboradores describieron un contenedor molecular constituido por dos unidades de calix[4]pirrol de dos paredes, que era capaz de reconocer dicarboxilatos e hidroxibenzoatos debido, una vez más, a la presencia de los grupos NH de los anillos de pirrol orientados hacia la cavidad interna.<sup>124</sup> Por otra parte, Ballester basándose en la idea del cinturón de ureas, mencionado en el apartado anterior, diseñó un monómero de calix[4]pirrol con cuatro paredes aromáticas extendidas que portaban grupos urea (Figura 35).<sup>125</sup> De este modo, la interacción entre los grupos complementarios conducía a la formación de una cápsula dimérica.



**Figura 35.** Cápsula dimérica unida a través de un “cinturón de ureas” desarrollada por Ballester. En presencia de una molécula huésped adecuada, como un *N*-óxido, los dos ciclo-diastereoisómeros (*P* y *M*) del calix[4]pirrol decorado con grupos urea dimeriza, dejando los NH de los anillos tetrapirrólicos dirigidos hacia el interior.

Esta estructura presentaba importantes ventajas frente a las análogas de calix[4]areno; ya que poseían un volumen interno mayor y, además, los dos anillos tetrapirrólicos podían orientar huéspedes polares en el interior. En primera instancia este receptor se utilizó para encapsular *bis-N*-óxidos de tamaño adecuado. En concreto, el 4,4'-dipiridil *bis-N,N'*-óxido resultó ser un buen candidato dado que, por una parte interaccionaba con ambos calix[4]pirroles al mismo tiempo, y por la otra, tenía la longitud adecuada para que las ureas pudiesen establecer los puentes de hidrógeno entre los grupos complementarios. Posteriormente, los mismos autores demostraron que no era necesaria la adición de un ligando ditópico para que la dimerización tuviese lugar, sino que los huéspedes monotópicos también podían dar lugar a la formación de la cápsula.<sup>126</sup> Esto abrió la posibilidad de utilizar

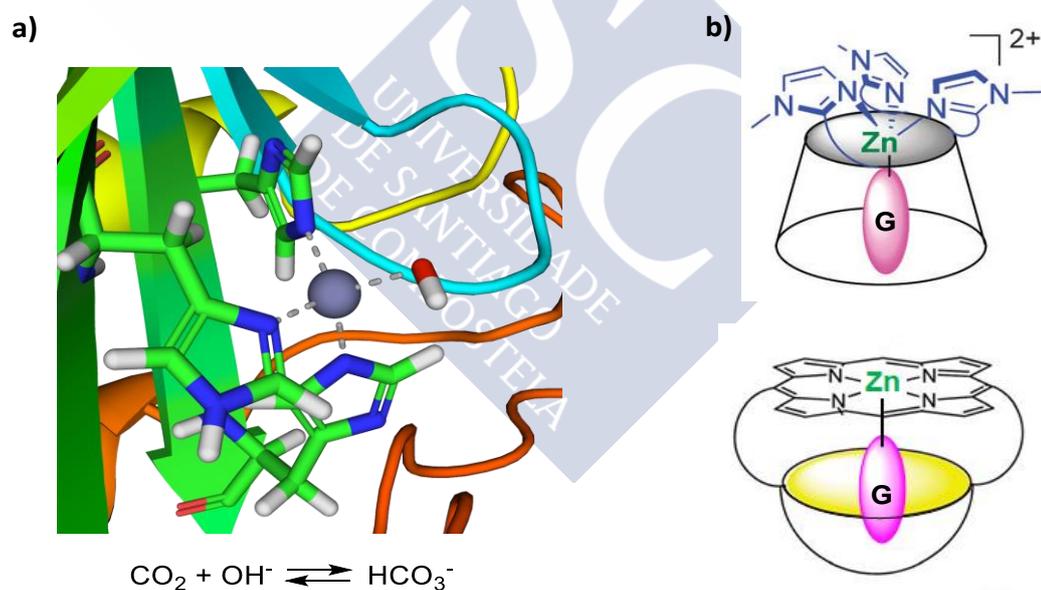
<sup>124</sup> Cafeo, G.; Kohnke, F. H.; Valenti, L.; White, A. J. P. *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 11593-11600.

<sup>125</sup> Ballester, P.; Gil-Ramirez, G. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2009**, *106*, 10455-10459.

<sup>126</sup> Gil-Ramirez, G.; Chas, M.; Ballester, P. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 2520-2521.

este tipo de anfitriones como reactores de dimensiones nanométricas. A partir de estos primeros estudios, el grupo de Ballester ha preparado distintas estructuras diméricas muy sofisticadas, incluyendo cápsulas quirales y sistemas heterodiméricos.<sup>127</sup>

Una estrategia particularmente interesante de funcionalización, se basa en la incorporación de ligandos que proyectan iones metálicos hacia la cavidad interna. Este método es el elegido por las metaloenzimas para llevar a cabo una amplia variedad de procesos en condiciones suaves de forma quimio- y estereoselectiva (Figura 36a).<sup>128</sup> Las metaloenzimas suelen utilizar uno o varios ligandos que, al coordinarse al centro metálico, orientan sus orbitales no comprometidos hacia el interior del sitio activo. De esta forma, se obtiene un sistema en el que se suman dos factores: el efecto del metal y el efecto de la cavidad, muy atractivo en reacciones de catálisis.<sup>129</sup> Por ello, este tipo de estructuras han despertado un gran interés y muchos investigadores han intentado construir análogos artificiales. La forma clásica de diseñar compuestos biomiméticos de las metaloenzimas consiste en usar una plataforma que imite el entorno del sitio activo, y un ligando tripodal con átomos dadores (N/O/S) o una porfirina, para dirigir el centro metálico hacia la cavidad (Figura 36b). En este apartado veremos solo algunos ejemplos ilustrativos de cómo se ha intentado emular el comportamiento de los sistemas naturales a través de moléculas sintéticas.



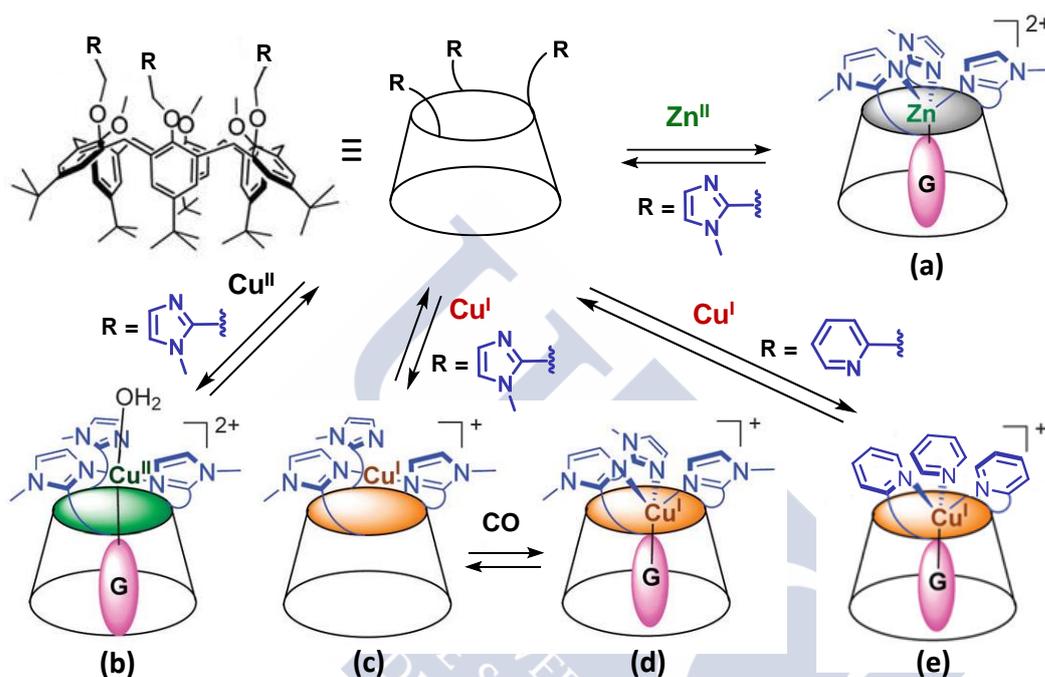
**Figura 36.** a) Representación del sitio activo de la anhidrasa carbónica. La metaloenzima presenta tres histidinas unidas a un ión de  $\text{Zn}^{2+}$  que cataliza la transformación de dióxido de carbono en ácido carbónico. b) Representación esquemática de dos estructuras artificiales análogas a la anhidrasa carbónica.

<sup>127</sup> (a) Chas, M.; Ballester, P. *Chem. Sci.* **2012**, *3*, 186-191; (b) Chas, M.; Gil-Ramirez, G.; Ballester, P. *Org. Lett.* **2011**, *13*, 3402-3405; (c) Chas, M.; Gil-Ramirez, G.; Escudero-Adan, E. C.; BenetBuchholz, J.; Ballester, P. *Org. Lett.* **2010**, *12*, 1740-1743.

<sup>128</sup> (a) Holm, R. H.; Solomon, E. I. *Bioinorganic Enzymology II* **2014**, *114*, 3367-4038; (b) Special issue on bioinorganic Enzymology: *Chem. Rev.* **1996**, *96*, 2237-3042.

<sup>129</sup> Rebilly, J.-N.; Colasson, B.; Bistri, O.; Over, D.; Reinaud, O. *Chem. Soc. Rev.* **2015**, *44*, 467-489.

Una de las aproximaciones se basa en utilización de macrociclos, como los calixarenos (descritos en apartados anteriores) o las ciclodextrinas, funcionalizados con los ligandos adecuados para la interacción con el metal.<sup>130</sup> De esta forma, la adición del centro metálico cierra la estructura, generando una cavidad donde tiene lugar el reconocimiento del huésped. Por ejemplo, la incorporación de *N*-Me-imidazoles o piridinas en las posiciones 1-, 3- y 5- de un calix[6]areno da lugar a un compuesto tridentado capaz de coordinar iones metálicos como Zn(II), Cu(II) o Cu(I) (Figura 37).<sup>129</sup>



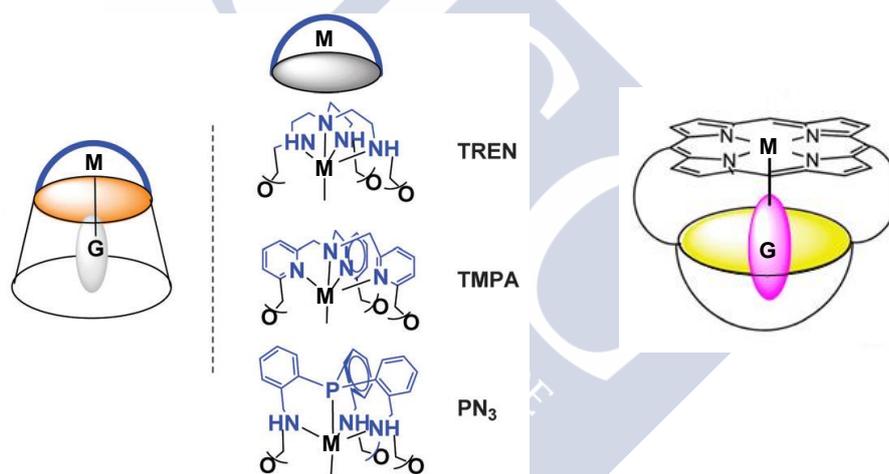
**Figura 37.** Compuestos biomiméticos de metaloenzimas basados en calix[6]areno. La incorporación de anillos de *N*-Me-imidazol o piridina en las posiciones 1-, 3- y 5- del calixareno permite coordinar distintos metales, orientando uno de los orbitales hacia la cavidad interna.

Las características del complejo resultante dependen fuertemente de los ligandos y del metal. Así, por ejemplo, en el derivado de calixareno con tres imidazoles, la introducción de Zn(II) conduce a una geometría pseudo-tetraédrica en el entorno del metal, con tres posiciones de coordinación ocupadas por los anillos de imidazol y una cuarta dirigida hacia la cavidad interna del calixareno (Figura 37a). El Cu(II) da lugar a complejos pentacoordinados (Figura 37b). Mientras que el Cu(I) favorece una geometría lineal  $N_2Cu$  (Figura 37c), excepto que un ligando fuertemente  $\pi$ -aceptor, como el CO, esté presente. En cuyo caso, el complejo adopta un patrón de coordinación  $N_3Cu(CO)$  tetraédrico (Figura 37d). Por el contrario, la geometría tetraédrica está favorecida con iones de Cu(I) cuando, en lugar de *N*-Me-imidazoles, se utilizan brazos de un dador más débil como la piridina. De este modo, se obtienen complejos del tipo  $N_3Cu(G)$  (Figura 37e), donde la posición de

<sup>130</sup> (a) Cacciapaglia, R.; Casnati, A.; Mandolini, L.; Reinhoudt, D. N.; Salvio, R.; Sartori, A.; Ungaro, R. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 12322-12330; (b) Cacciapaglia, R.; Casnati, A.; Mandolini, L.; Reinhoudt, D. N.; Salvio, R.; Sartori, A.; Ungaro, R. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 5398-5402; (c) Kim, D. H.; Lee, S. S. *Bioorg. Med. Chem.* **2000**, *8*, 647-652; (d) Tabushi, I.; Kuroda, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 4580-4584.

coordinación orientada hacia la cavidad interna puede estar ocupada por un nitrilo o un cloruro. Estos resultados demuestran la importancia de la elección precisa de los ligandos y del centro metálico.

Los receptores descritos anteriormente, aunque se han utilizado de manera exitosa en el reconocimiento de distintos sustratos (aminas primarias, alcoholes, amidas y nitrilos),<sup>131</sup> y en procesos redox;<sup>132</sup> no garantizan que el huésped se internalice en la estructura (posición *endo*). Los imidazoles o las piridinas, debido a su libertad conformacional, pueden coordinarse también por la parte externa del receptor (posición *exo*). Por este motivo, se han preparado calixarenos con ligandos polidentados a modo de tapa. La unión covalente de ambos componentes conduce a sistemas preorganizados, que sitúan el centro metálico en la cavidad interna y, además, da lugar a complejos más estables. Los ligandos más habituales para este propósito son los compuestos poliamínicos<sup>133</sup> [*tris*(2-aminoetil)amina (TREN), *tris*(2-piridilmetil)amina (TMPA), *tris*(2-aminofenil)fosfina (PN<sub>3</sub>)] y las porfirinas (Figura 38). Éstos últimos resultan especialmente atractivos debido a sus propiedades químicas, electrónicas y fotofísicas. Por ello, las porfirinas han sido ampliamente utilizadas para cerrar diferentes tipos de macrociclos (calixarenos, resorcinarenos, ciclodextrinas y glucolurilos).<sup>134</sup>



**Figura 38.** Receptor funcionalizado con grupos que fuerzan la orientación hacia el interior de la cavidad de la molécula huésped (G).

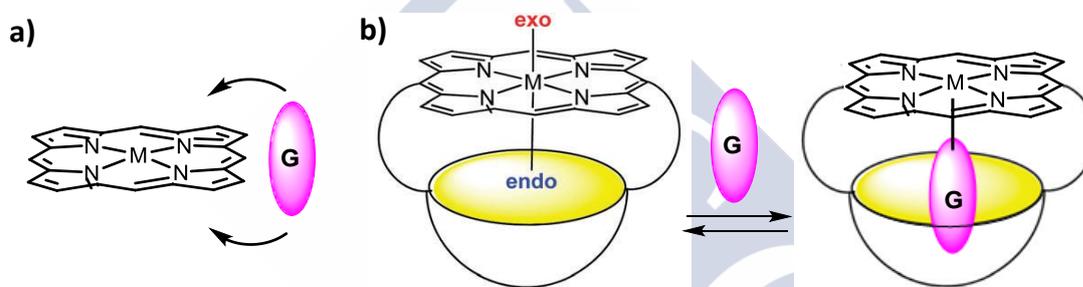
<sup>131</sup> (a) Bravin, C.; Badetti, E.; Scaramuzzo, F. A.; Licini, G.; Zonta, C. *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, *139*, 6456-6460; (b) Coquière, D.; Le Gac, S.; Darbost, U.; Sénèque, O.; Jabin, I.; Reinaud, O. *Org. Biomol. Chem.* **2009**, *7*, 2485-2500; (c) Sénèque, O.; Rager, M. N.; Giorgi, M.; Reinaud, O. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 6183-6189; (d) Blanchard, S.; Le Clainche, L.; Rager, M. N.; Chansou, B.; Tuchagues, J. P.; Duprat, A. F.; Le Mest, Y.; Reinaud, O. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 2732-2735.

<sup>132</sup> Le Poul, N.; Campion, M.; Douziech, B.; Rondelez, Y.; Le Clainche, L.; Reinaud, O.; Le Mest, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 8801-8810.

<sup>133</sup> (a) Zeng, X. S.; Coquiere, D.; Alenda, A.; Garrier, E.; Prange, T.; Li, Y.; Reinaud, O.; Jabin, I.; *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 6393-6402; (b) Zeng, X. S.; Hucher, N.; Reinaud, O.; Jabin, I.; *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 6886-6889; (c) Jabin, I.; Reinaud, O. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 3416-3419.

<sup>134</sup> (a) Iwamoto, H.; Nishi, S.; Haino, T. *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 12670; (b) Middel, O.; Verboom, W.; Reinhoudt, D. N. *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 3998-4005; (c) Rowan, A. E.; Aarts, P. P. M.; Kontstaal, K. W. M. *Chem. Commun.* **1998**, 611-612.

En la porfirina aislada, el centro metálico presenta dos posiciones de coordinación axiales indistinguibles (Figura 39a). Sin embargo, en el receptor dichas posiciones no son equivalentes, ya que una de ellas apunta hacia la cavidad interna y la otra hacia el exterior (Figura 39b). Este hecho provoca que los ligandos de tamaño adecuado se coordinen preferentemente por la posición *endo* debido a la estabilización adicional que aporta la formación del complejo de encapsulación. En base a esta propiedad también se han sintetizado receptores de tipo pinza y cajas de coordinación biporfirínicas para el reconocimiento de huéspedes bidentados.<sup>135</sup> En este tipo de sistemas, cuando el ligando tiene la distancia adecuada para coordinarse simultáneamente a ambas porfirinas se forma el complejo sándwich, el cual presenta una constante de asociación más elevada que el producto resultante de la interacción a través de la superficie externa. Además, en los últimos años, el grupo de Aderson ha desarrollado receptores porfirínicos que reconocen ligandos politópicos de número de coordinación y tamaño definidos por el número de porfirinas presentes en la estructura.<sup>136</sup>



**Figura 39.** Representación del proceso de coordinación de la molécula huésped (G) en la porfirina aislada (a) y en el receptor (b).

### 3. Autoensamblaje molecular

El autoensamblaje es un proceso por el cual un sistema desordenado de componentes o una parte de una molécula, forma espontáneamente una estructura organizada como consecuencia de las interacciones locales no covalentes.<sup>137</sup> Las moléculas que participan en el proceso son entidades químicas programadas, es decir, contienen grupos funcionales complementarios que dirigen la organización de la materia hacia la formación de estructuras con una topología y propiedades definidas de antemano.<sup>138</sup>

<sup>135</sup> (a) Valderreya, V.; Aragaya, G.; Ballester, P. *Coord. Chem. Rev.* **2014**, 258-259, 137-156; (b) Durot, S., Taesch, J.; Heitz, V. *Chem. Rev.* **2014**, 114, 8542-8578.

<sup>136</sup> Rickhaus, M.; Jentzsch, A. V.; Tejerina, L.; Grübner, I.; Jirasek, M.; Claridge, T. D. W.; Anderson, H. L. *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, 139, 16502-16505.

<sup>137</sup> Whitesides, G. M.; Grzybowski, B. *Science* **2002**, 295, 2418-2421.

<sup>138</sup> Hosseini, M. W. *Chem. Commun.* **2005**, 5825-5829.

Existen dos tipos de autoensamblaje: el estático y el dinámico.<sup>139</sup> El primero implica sistemas que se ordenan para alcanzar un mínimo energético global o local y no disipan energía. Mientras que en el autoensamblaje dinámico, las interacciones responsables de la formación de estructuras o patrones entre componentes sólo ocurren si el sistema está disipando energía; por tanto, es un proceso que tiene lugar en situaciones de no equilibrio.<sup>140</sup> Aunque esta clase de autoorganización es fundamental para la vida, ya que muchos procesos presentes en los seres vivos se dan en dichas condiciones de no equilibrio, este es un campo de investigación todavía muy reciente y la mayoría de esfuerzos se han centrado en el estudio de los sistemas estáticos.<sup>141</sup>

En base a la tendencia al equilibrio de los procesos de autoensamblaje estático es posible preparar estructuras supramoleculares estables. Además, la labilidad de las interacciones supramoleculares, que son responsables del proceso de autoensamblaje, permite que la estructura se modifique en función de las condiciones externas para alcanzar un nuevo mínimo energético. Esta propiedad ofrece la posibilidad de preparar materiales inteligentes y autorreparables. Por todo esto y por la sencillez de la estrategia supramolecular, la química sintética ha utilizado el autoensamblaje molecular como herramienta para la obtención de estructuras funcionales complejas. De hecho, los principios de la estrategia *bottom-up*, una de las técnicas de fabricación de nanomateriales más efectivas, se asientan en este tipo de procesos de autoorganización de la materia.<sup>142</sup>

La principal dificultad de esta estrategia sintética radica en el control del autoensamblaje debido a que los procesos supramoleculares son menos direccionales que los covalentes, pudiendo dar lugar a varias estructuras diferentes en función de las condiciones de reacción. En estas circunstancias, el balance energético adquiere una importancia crucial ya que el ordenamiento de múltiples moléculas para formar una determinada estructura molecular implica que el factor entrópico sea generalmente negativo. Sin embargo, fruto de una ardua investigación en el campo se han podido establecer las bases termodinámicas de dichos procesos, lo que en muchos casos ha permitido predecir de forma apropiada la estructura supramolecular resultante.<sup>143</sup>

El autoensamblaje molecular también es la estrategia que ha escogido la naturaleza para generar estructuras complejas.<sup>144</sup> De hecho, los ejemplos más sofisticados de este tipo de procesos los encontramos en los sistemas naturales como por ejemplo el plegamiento de las

---

<sup>139</sup> (a) Tantakitti, F.; Boekhoven, J.; Wang, X.; Kazantsev, R. V.; Yu, T.; Li, J.; Zhuang, E.; Zandi, R.; Ortony, J. H.; Newcomb, C. J.; Palmer, L. C.; Shekhawat, G. S.; Olvera de la Cruz, M.; Schatz, G. C.; Stupp, S. I. *Nature Materials* **2016**, *15*, 469-476; (b) Mattia, E.; Otto, S. *Nature Nanotechnology* **2015**, *10*, 111-119.

<sup>140</sup> Whitesides, G. M.; Grzybowski, B. *Science* **2002**, *295*, 2418-24-21.

<sup>141</sup> (a) Grzybowski, B. A.; Fitzner, K.; Paczesny, J.; Granick, S. *Chem. Soc. Rev.* **2017**, *46*, 5647-5678; (b) van Esch, J. H.; Klajn, R.; Otto, S. *Chem. Soc. Rev.* **2017**, *46*, 5474-5475.

<sup>142</sup> Shteina, Z.; Shoseyova, O. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2017**, *114*, 428-429.

<sup>143</sup> Brea, R. J.; Granja, J. R. *An. Quím.* **2008**, *104*, 257-264.

<sup>144</sup> Lehn, J.-M. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2002**, *99*, 4763-4768.

proteínas para adquirir la estructura tridimensional que determina su función biológica, el ensamblaje del virus del mosaico del tabaco, la formación de las membranas lipídicas o la estructura en doble hélice del ADN.<sup>145</sup>

### 3.1. Estructuras tubulares

La implementación del autoensamblaje en la química sintética ha permitido preparar una gran variedad de arquitecturas moleculares con distintas topologías como helicatos,<sup>146</sup> esferas,<sup>147</sup> barriles,<sup>148</sup> cubos,<sup>149</sup> nanohilos<sup>150</sup> o nanotubos.<sup>151</sup> Este último tipo de compuestos, que se inspiran en estructuras tubulares presentes en la naturaleza, es especialmente interesante debido a que presentan aplicaciones en áreas muy diversas (óptica, electrónica, catálisis, separación molecular, química médica, transporte molecular, etc).<sup>152</sup> Por ello, en los últimos años se han preparado nanotubos a partir de distintos precursores y utilizando distintas metodologías. Sin embargo, muchas de las aproximaciones sintéticas no permiten obtener nanotubos con un diámetro interno y una longitud uniforme, lo que resulta fundamental para el desarrollo de las aplicaciones más relevantes.

Debido a la dificultad de construir estructuras tubulares de dimensiones controladas a través de procedimientos basados en el enlace covalente, las estrategias más efectivas se han desarrollado en el seno de la química supramolecular. Dentro de este tipo de aproximaciones, las interacciones más utilizadas para la construcción de las estructuras tubulares son los enlaces de hidrógeno debido a su carácter direccional. Aunque dichas fuerzas intermoleculares son considerablemente más débiles que los enlaces covalentes, cuando actúan conjuntamente pueden dar lugar a agregados supramoleculares estables. De hecho, los procesos de ensamblaje por enlaces de hidrógeno se encuentran actualmente entre las estrategias más eficientes para obtener nanoestructuras funcionales.<sup>153</sup>

<sup>145</sup> Whitesides, G. M., Mathias, J. P., Seto, C. T. *Science* **1991**, 254, 1312-1319.

<sup>146</sup> Boiocchi, M.; Fabbrizzi, L. *Chem. Soc. Rev.* **2014**, 43, 1835-1847.

<sup>147</sup> Stefankiewicz, A. R.; Sanders, J. K. M. *Science* **2010**, 328, 1115-1116.

<sup>148</sup> Lima, Y-b.; Lee, M. J. *Mater. Chem.* **2011**, 21, 11680-11685.

<sup>149</sup> Stephenson, A.; Ward, M. D. *Dalton Trans.* **2011**, 40, 10360-10369.

<sup>150</sup> Qian, C.; Kim, F.; Ma, L.; Tsui, F.; Yang, P.; Liu, J. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 1195-1198.

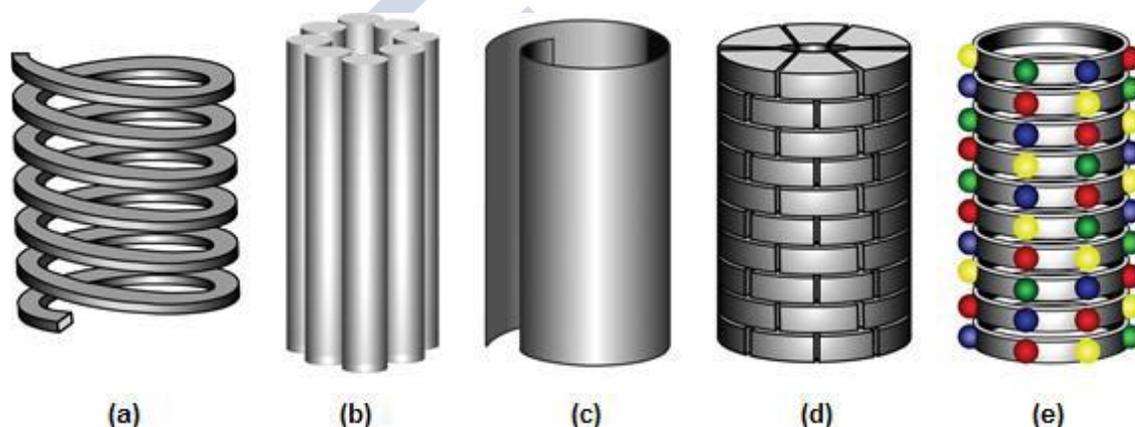
<sup>151</sup> Chapman, R.; Danial, M.; Koh, M. L.; Jolliffe, K. A.; Perrier, S. *Chem. Soc. Rev.* **2012**, 41, 6023-6041.

<sup>152</sup> (a) Adler-Abramovich, L.; Gazit, E. *Chem. Soc. Rev.* **2014**, 43, 6881-6893; (b) García-Fandiño, R.; Amorín, M.; Granja, J. R. *Synthesis of supramolecular nanotubes, in Supramolecular Chemistry: From Molecules to Nanomaterials*, Vol. 5, Ed. P. A. Gale and J. W. Steed, John Wiley & Sons Ltd., New York, 2012, pp 2149-2182; (c) Tasis, D.; Tagmatarchis, N.; Bianco A.; Prato, M. *Chem. Rev.* **2006**, 106, 1105-1136; (d) Lin, Y.; Taylor, S.; Li, H.; Fernando, K. A. S.; Qu, L.; Wang, W.; Gu, L.; Zhou B.; Sun, Y.-P. *J. Mater. Chem.* **2004**, 14, 527-541; (e) Martin, C. R.; Kohli, P. *Nature Reviews* **2003**, 2, 29-37.

<sup>152b</sup> García-Fandiño, R.; Amorín, M.; Granja, J. R. *Synthesis of supramolecular nanotubes, in Supramolecular Chemistry: From Molecules to Nanomaterials*, Vol. 5, Ed. P. A. Gale and J. W. Steed, John Wiley & Sons Ltd., New York, 2012, pp 2149-2182.

<sup>153</sup> Rodríguez-Vázquez, N.; Amorín, M.; Granja, J. R. *Org. Biomol. Chem.* **2017**, 15, 4490-4505.

En base a estas premisas se han desarrollado muchas aproximaciones supramoleculares para la construcción de nanotubos (Figura 40).<sup>152b</sup> Una primera estrategia consiste en la utilización de moléculas lineales que se pliegan formando una estructura helicoidal, que deja un poro a lo largo del eje de la misma.<sup>154</sup> Otra alternativa, denominada de tipo barril, emplea moléculas rígidas a modo de listones que se agrupan en torno a un orificio central.<sup>155</sup> Un tercer método se basa en el simple plegamiento (o enrollamiento) de una lámina, que da lugar al establecimiento de un canal.<sup>156</sup> Otra aproximación utiliza moléculas con forma sectorial (cuñas) que se asocian en discos o rosetas, y que posteriormente se apilan o enrollan originando una superestructura tubular.<sup>157</sup> Finalmente, la estrategia más reciente consiste en emplear moléculas cíclicas que se puedan apilar para formar un nanotubo a lo largo del eje de apilamiento.<sup>151,158</sup> Este último método resulta particularmente atractivo debido a que el diámetro de la estructura tubular depende únicamente del tamaño de la unidad cíclica que se apila y, por tanto, dicho diámetro se puede regular de forma sencilla a través del control de las dimensiones del monómero.



**Figura 40.** Representación de las cinco posibles estrategias para la obtención de estructuras con topología tubular: (a) Plegamiento de moléculas lineales para formar estructuras helicoidales; (b) apilamiento de listones formados por moléculas rígidas; (c) plegamiento de láminas; (d) asociación de moléculas con forma sectorial (cuñas) y (e) apilamiento de moléculas cíclicas.

<sup>154</sup> Prince, R. B.; Brunsveld, L.; Meijer, E. W.; Moore, J. S. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 228-230.

<sup>155</sup> (a) Shen, B.; He, Y.; Kim, Y.; Wang, Y.; Lee, M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 2382-2386; (b) Sakai, N.; Mareda, J.; Matile, S. *Acc. Chem. Res.* **2005**, *38*, 79-87.

<sup>156</sup> Lai, Z.; Chen, Y.; Tan, C.; Zhang, X.; Zhang, H. *Chem.* **2016**, *1*, 59-77.

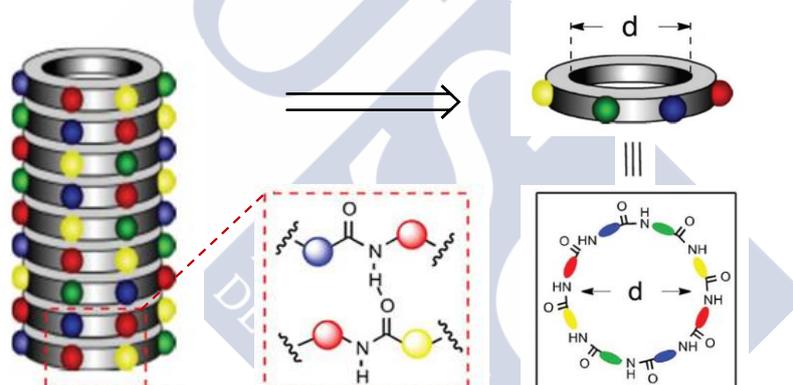
<sup>157</sup> (a) Obana, M.; Fukino, T.; Hikima, T.; Aida, T. *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138*, 9246-9250; (b) Moralez, J. G.; Ruez, J.; Yamazaki, T.; Motkuri, R. K.; Kovalenko, A.; Fenniri, H. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 8307-8309; (c) Fenniri, H.; Mathivanan, P.; Vidale, K. L.; Sherman, D. M.; Hallenga, K.; Wood, K. V.; Stowell, J. G. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 3854-3855.

<sup>151</sup> Chapman, R.; Danial, M.; Koh, M. L.; Jolliffe, K. A.; Perrier, S. *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41*, 6023-6041.

<sup>158</sup> (a) Brea, R. J.; Reiriz, C.; Granja, J. R. *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39*, 1448-1456; (b) Bong, D. T.; Clark, T. D.; Granja, J. R.; Ghadiri, M. R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 980-1011.

### 3.2. Nanotubos ciclopeptídicos

Uno de los ejemplos más representativos de esta estrategia son los nanotubos peptídicos.<sup>151,153,158</sup> Este tipo de estructuras se forman por el autoensamblaje de péptidos cíclicos (CPs) que interaccionan entre sí mediante interacciones por enlace de hidrógeno. Para que se produzca el apilamiento entre las subunidades y se forme la estructura tubular es necesario que los CPs adopten la conformación plana. Dicha conformación se consigue mediante el correcto diseño del esqueleto peptídico en cuanto a número de átomos y quiralidad de los aminoácidos que lo componen. De este modo, cuando el anillo está formado por un número par de átomos y la quiralidad de cada uno de los aminoácidos en la secuencia peptídica es la adecuada, se obtiene una estructura en la cual las cadenas laterales apuntan hacia el exterior del ciclopeptido en una disposición pseudoequatorial y los grupos amida del enlace peptídico se orientan perpendicularmente al plano del anillo (Figura 41). Este ordenamiento especial permite que tengan lugar las interacciones por enlace de hidrógeno entre las subunidades peptídicas a través de los grupos dadores (NH) y aceptores (C=O) complementarios situados en ambas caras del CP.



**Figura 41.** Representación esquemática de un nanotubo peptídico formado por el autoensamblaje molecular de ciclopeptidos.

En base a esta estrategia se ha desarrollado una amplia variedad de nanotubos peptídicos que se clasifican en función del tipo de aminoácidos que componen el ciclopeptido precursor. Así, por ejemplo, se han obtenido estructuras tubulares a partir de los ciclopeptidos formados por  $\alpha$ -,<sup>159</sup>  $\beta$ -<sup>160</sup> o  $\delta$ -aminoácidos.<sup>161</sup> Además, el ciclopeptido

<sup>151</sup> Chapman, R.; Danial, M.; Koh, M. L.; Jolliffe, K. A.; Perrier, S. *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41*, 6023-6041.

<sup>153</sup> Rodríguez-Vázquez, N.; Amorín, M.; Granja, J. R. *Org. Biomol. Chem.* **2017**, *15*, 4490-4505.

<sup>158</sup> (a) Brea, R. J.; Reiriz, C.; Granja, J. R. *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39*, 1448-1456; (b) Bong, D. T.; Clark, T. D.; Granja, J. R.; Ghadiri, M. R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 980-1011.

<sup>159</sup> Ghadiri, M. R.; Granja, J. R.; Milligan, R. A.; McRee, D. E.; Khazanovich, N. *Nature* **1993**, *366*, 324-327.

<sup>160</sup> Clark, T. D.; Buehler, L. K.; Ghadiri, M. R. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 651-656.

<sup>161</sup> Gauthier, D.; Baillargeon, P.; Drouin, M.; Dory, Y. L. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 4635-4638.

precursor puede estar constituido por combinaciones de aminoácidos. De este modo, se han descrito nanotubos que incorporan  $\alpha$ - y  $\beta$ -,<sup>162</sup>  $\alpha$ - y  $\gamma$ -<sup>163</sup> o  $\alpha$ - y  $\varepsilon$ -aminoácidos,<sup>164</sup> entre otros.

El número y el tipo de aminoácidos empleados en la construcción del CP determinan el diámetro del nanotubo. Por tanto, como hemos dicho anteriormente, esta aproximación permite modular la amplitud del canal de una manera relativamente sencilla. Adicionalmente esta metodología presenta una segunda ventaja, ya que ofrece la posibilidad de modificar las propiedades externas de la estructura supramolecular mediante la correcta elección de las cadenas laterales.<sup>153</sup> Así, por ejemplo, se puede promover la solubilidad del nanotubo en medios lipídicos o acuosos a través de la introducción en la secuencia peptídica de aminoácidos con cadenas laterales hidrofóbicas o hidrofílicas, respectivamente. El diseño apropiado del ciclopeptido precursor y la optimización de las condiciones de autoensamblaje permiten que las estructuras tubulares resultantes puedan ser utilizadas como canales iónicos, agentes antimicrobianos y citotóxicos o como sensores iónicos en soporte sólido.<sup>152b,158b,165</sup>

### 3.2.1. Estructuras tubulares constituidas por *D,L*- $\alpha$ -ciclopeptidos (*D,L*- $\alpha$ -CPs)

La estrategia de apilar péptidos cíclicos para la preparación de estructuras tubulares fue propuesta por primera vez por De Santis en 1974. En base a estudios teóricos, De Santis postuló que los ciclopeptidos constituidos por un número par de  $\alpha$ -aminoácidos con estereoquímica *D* y *L* alternante podrían adquirir la conformación plana adecuada para autoensamblarse en forma de nanotubos.<sup>166</sup> Sin embargo, los primeros intentos de preparación de dichas estructuras, llevados a cabo en el grupo del Profesor Lorenzi, no fueron concluyentes debido a la baja solubilidad de los péptidos empleados.<sup>167</sup>

La confirmación experimental de las predicciones de De Sanctis se obtuvo en 1993 a través de los trabajos realizados en el grupo del Profesor Ghadiri. Para ello, se utilizó un ciclopeptido que presentaba unas propiedades de solubilidad que dependían del pH del medio, el *c*-[(*L*-Gln-*D*-Ala-*L*-Glu-*D*-Ala-)<sub>2</sub>].<sup>159</sup> De este modo, debido a las cadenas laterales del

<sup>162</sup> Karle, I. L.; Handa, B. K.; Hassall, C. H. *Acta Crystallogr. Sect. B* **1975**, *31*, 555-560.

<sup>163</sup> Amorín, M.; Castedo, L.; Granja, J. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 2844-2845.

<sup>164</sup> Horne, W. S.; Stout, C. D.; Ghadiri, M. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 9372-9376.

<sup>153</sup> Rodríguez-Vázquez, N.; Amorín, M.; Granja, J. R. *Org. Biomol. Chem.* **2017**, *15*, 4490-4505.

<sup>152b</sup> García-Fandiño, R.; Amorín, M.; Granja, J. R. *Synthesis of supramolecular nanotubes, in Supramolecular Chemistry: From Molecules to Nanomaterials*, Vol. 5, Ed. P. A. Gale and J. W. Steed, John Wiley & Sons Ltd., New York, 2012, p. 2149.

<sup>158b</sup> Bong, D. T.; Clark, T. D.; Granja, J. R.; Ghadiri, M. R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 980-1011.

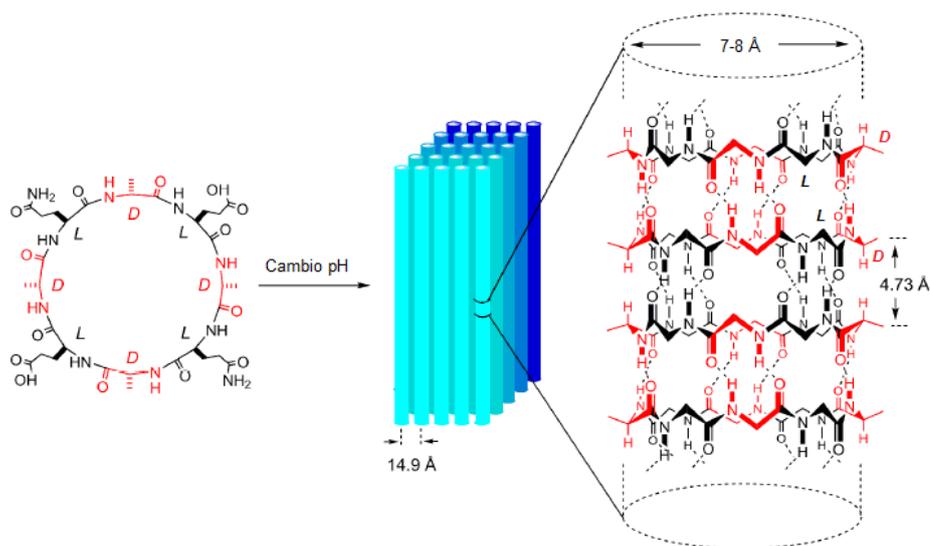
<sup>165</sup> Rodríguez-Vázquez, N.; Ozores, H. L.; Guerra, A.; González-Freire, E.; Fuertes, A.; Panciera, M.; Priegue, J. M.; Outeiral, J.; Montenegro, J.; García-Fandiño, R.; Amorín, M.; Granja, J. R. *Curr. Top. Med. Chem.* **2014**, *14*, 2647-2661.

<sup>166</sup> De Santis, P.; Morosetti, S.; Rizzo, R. *Macromolecules* **1974**, *7*, 52-58.

<sup>167</sup> Tomasic, L.; Lorenzi, G. P. *Helv. Chim. Acta* **1987**, *70*, 1012-1016.

<sup>159</sup> Ghadiri, M. R.; Granja, J. R.; Milligan, R. A.; McRee, D. E.; Khazanovich, N. *Nature* **1993**, *366*, 324-327.

ácido glutámico, la estructura resultante era soluble en medio básico acuoso y, por el contrario, presentaba una baja solubilidad en medio ácido. Aprovechando este comportamiento diferencial, Ghadiri diseñó un experimento en el cual mediante la acidificación controlada de una disolución básica acuosa del  $c$ -[(L-Gln-D-Ala-L-Glu-D-Ala)<sub>2</sub>] se obtenían agregados microcristalinos (Figura 42). La caracterización de estos agregados microcristalinos por microscopía de transmisión electrónica (TEM), difracción de electrones y espectroscopia FTIR permitió concluir que dichos microcristales estaban formados por haces de nanotubos, con un diámetro interno de 7.5 Å, dispuestos paralelamente. Los estudios de difracción también mostraron que la estructura tubular estaba constituida por unidades cíclicas apiladas dispuestas en forma de lámina β antiparalela.



**Figura 42.** Representación esquemática del experimento llevado a cabo por Ghadiri para la obtención de los primeros nanotubos peptídicos. En la parte derecha de la figura se resaltan las interacciones a través de enlace de hidrógeno entre las distintas unidades ciclopeptídicas. Las cadenas laterales de los  $\alpha$ -Aas se han omitido para una mayor claridad.

Posteriormente, los mismos investigadores consiguieron obtener agregados microcristalinos de nanotubos con diámetros internos de 13 Å utilizando el  $c$ -[(L-Gln-D-Ala-L-Glu-D-Ala)<sub>3</sub>] como péptido precursor.<sup>168</sup> Este hecho puso de manifiesto que existía una relación directa entre el número de aminoácidos presentes en la unidad ciclopeptídica y el diámetro interno del nanotubo, lo que confirmó el potencial de esta aproximación para preparar estructuras tubulares con tamaño de poro controlado.

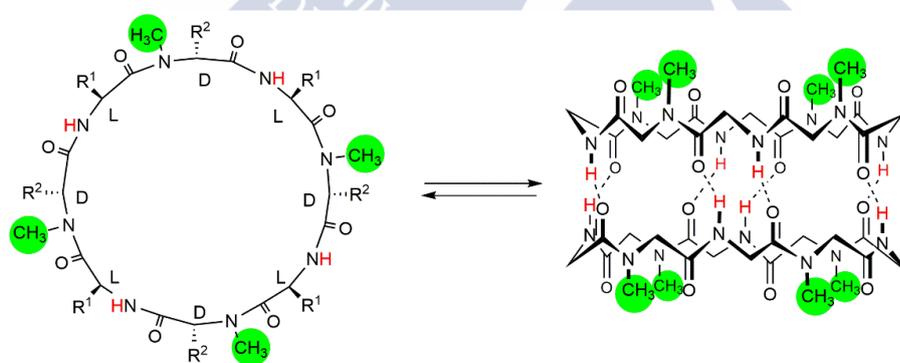
A partir de estos trabajos seminales, se prepararon otros nanotubos peptídicos autoensamblados (SCPNS) usando CPs que combinan residuos básicos con residuos hidrófobos en su esqueleto,<sup>169</sup> o incluso péptidos anfifílicos o hidrófobos.<sup>158a,170</sup> Cada uno de

<sup>168</sup> Khazanovich, N.; Granja, J. R.; Milligan, R. A.; McRee, D. E.; Ghadiri, M. R. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 6011-6012.

<sup>169</sup> (a) Montenegro, J.; Ghadiri, M. R.; Granja, J. R. *Acc. Chem. Res.* **2013**, *46*, 2955-2965; (b) Hourani, R.; Zhang, C.; van der Weegen, R.; Ruiz, L.; Li, C.; Keten, S.; Helms, B. A.; Xu, T. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 15296-15299; (c) Rosenthal-Aizman, K.; Scensson, G.; Undén, A. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 3372-3373; (d) Sánchez-Quesada, J.;

estos nanotubos presenta características diferentes en función de los aminoácidos empleados en la construcción del ciclopéptido; ya que, como se mencionó anteriormente, la orientación hacia el exterior de las cadenas laterales permite modular las propiedades externas mediante el correcto diseño de la secuencia peptídica.

El principal inconveniente de los nanotubos peptídicos es su escasa solubilidad, debido a que el apilamiento indefinido de unidades cíclicas conduce a la formación de agregados de masa molecular muy elevada. Este hecho limita sus aplicaciones y además dificulta su caracterización en disolución. Por tanto, con el objetivo de profundizar en el estudio de las interacciones que conducen a la formación de los SCPNs el Profesor Ghadiri decidió preparar la unidad tubular más sencilla, que es aquella que resulta de la interacción de dos ciclopéptidos (Figura 43).<sup>171</sup> Para detener el proceso de autoensamblaje en el establecimiento de la forma dimérica es necesario bloquear una de las caras del CP. De esta manera, se impide el crecimiento indefinido de la estructura tubular y se obtiene el dímero resultante de la interacción de dos unidades cíclicas a través de la cara que no ha sido bloqueada. Dicha estructura dimérica se obtuvo de una forma sencilla explotando una característica de los *D,L*- $\alpha$ -CPs, que es que los grupos NH (dadores del enlace de hidrógeno) de los aminoácidos de una misma quiralidad (*D* o *L*) se encuentran proyectados hacia la misma cara del ciclopéptido. Por consiguiente, si se *N*-alquilan los residuos de la misma quiralidad (*D* o *L*) se impide el establecimiento de enlaces de hidrógeno a través de la cara *N*-alquilada del CP y se obtiene la estructura dimérica resultante de la interacción por la cara opuesta.



**Figura 43.** Formación de dímeros a partir de ciclopéptidos *N*-metilados. La introducción de grupos alquilo en los nitrógenos de los aminoácidos de igual configuración bloquea una de las caras del ciclopéptido, impidiendo el crecimiento del nanotubo. Para mayor claridad se han omitido las cadenas laterales de los Aas.

Kim, H. S.; Ghadiri, M. R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2503-2506; (e) Hartgerink, J. D.; Granja, J. R.; Milligan, R. A.; Ghadiri, M. R. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 43-50; (f) Ghadiri, M. R.; Granja, J. R.; Buehler, L. K. *Nature* **1994**, *369*, 301-304; (g) Granja, J. R.; Ghadiri, M. R. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 10785-10786.

<sup>158a</sup> Brea, R. J.; Reiriz, C.; Granja, J. R. *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39*, 1448-1456.

<sup>170</sup> Fernández-López, S.; Kim, H.-S.; Choi, E. C.; Delgado, M.; Granja, J. R.; Khasanov, A.; Kraehenbuehl, K.; Long, G.; Weinberger, D. A.; Wilcoxon, K. M.; Ghadiri, M. R. *Nature* **2001**, *412*, 452-455.

<sup>171</sup> (a) 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; (b) Ghadiri, M. R.; Kobayashi, K.; Granja, J. R.; Chadha, R. K.; McRee, D. E. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, *34*, 93-95.

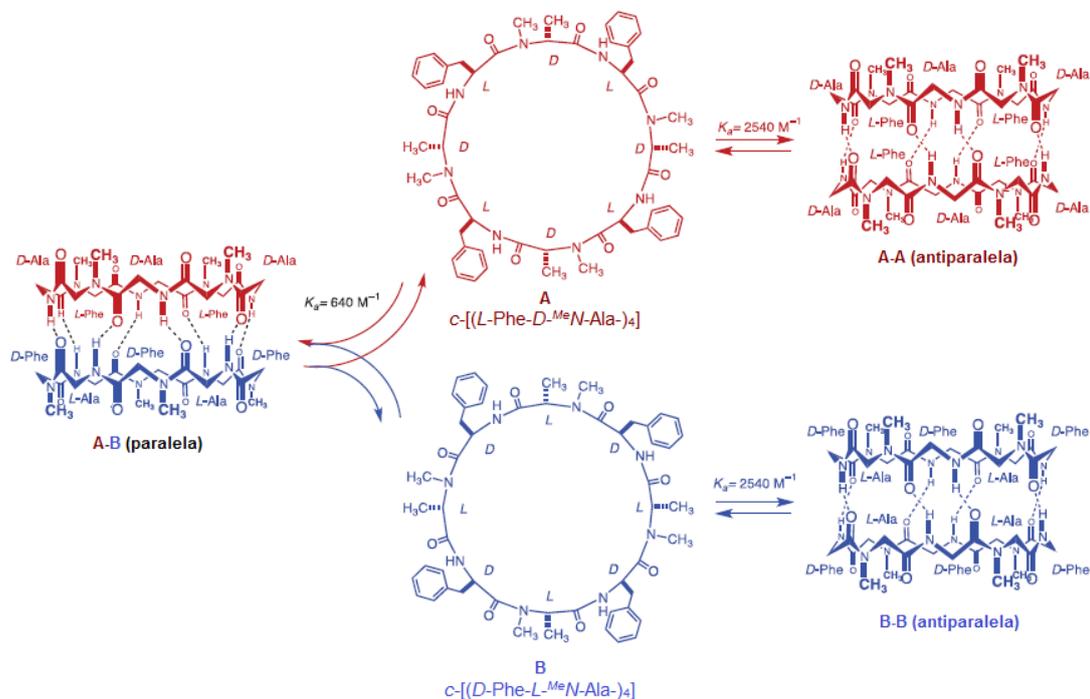
Gracias a esta modificación se pudo estudiar el autoensamblaje de CPs de distintos tamaños con modelos sencillos. Los resultados obtenidos mostraron que los mejores candidatos para la formación de nanotubos eran los hexa- y los octapéptidos. Los ciclotetrapéptidos no daban lugar a dímeros, probablemente debido a restricciones conformacionales que impiden que los grupos donantes y aceptores del enlace de hidrógeno se dispongan de manera adecuada para el establecimiento de la interacción. Por otra parte, los deca- y dodecapéptidos tampoco conducían a la estructura dimérica. En este caso el motivo es que la gran flexibilidad que presentan favorece la obtención de formas plegadas, que impiden la dimerización.<sup>168,169d</sup>

Pese a que la *N*-alquilación de una de las caras del ciclopéptido es una buena aproximación para obtener información acerca de las interacciones que gobiernan la formación de los nanotubos, presentan una importante limitación, ya que el impedimento estérico entre el grupo *N*-alquilo y el carbonilo desestabiliza la conformación plana. A consecuencia de ello, puede darse la situación en la cual los CPs no bloqueados puedan dar lugar a nanotubos a pesar de que sus análogos *N*-alquilados no formen los dímeros correspondientes. Esto sucede, por ejemplo, en el caso de los decámeros y dodecámeros mencionados anteriormente; ya que, mientras que los péptidos modificados se pliegan sobre sí mismos, sus derivados no alquilados conducen a la formación de SCPNs.

Pese a ello, pudieron extraerse importantes conclusiones de los estudios realizados con los hexa- y los octapéptidos *N*-metilados. Los primeros estudios se llevaron a cabo con el ciclooctapéptido  $c\text{-}[(L\text{-Phe-}D\text{-MeN-Ala-})_4]$ , para el que se determinó una constante de asociación de  $2540 \text{ M}^{-1}$ .<sup>171b</sup> Los estudios termodinámicos mostraron que la dimerización es un proceso fundamentalmente entálpico, en el que cada enlace de hidrógeno aporta entre 0.5-0.7 Kcal.mol<sup>-1</sup>. Además, la estructura dimérica resultante pudo analizarse por difracción de rayos X, donde se observó que, tal y como se había predicho, los CPs adoptan una conformación plana con los grupos amídicos situados en perpendicular al plano del anillo. Otro dato importante que arrojaron las imágenes de rayos X fue la presencia de moléculas de agua desordenadas en la cavidad interna del dímero, lo que evidenciaba la naturaleza hidrofílica del poro.

Profundizando en la naturaleza de la interacción también se comprobó que el dímero obtenido presentaba una estructura secundaria tipo lámina  $\beta$  antiparalela en la que los residuos homocirales estaban enfrentados formando la especie **A-A** (Figura 44). Cuando se añadió una cantidad equimolar del péptido de quiralidad opuesta **B**, se observó que junto con los homodímeros **A-A** y **B-B**, también se formaba el heterodímero **A-B** (Figura 44). En este caso, la nueva especie **A-B** interactuaba según un patrón de lámina  $\beta$  paralela. Los estudios de <sup>1</sup>H-RMN permitieron determinar que la lámina  $\beta$  antiparalela era 0.8 Kcal.mol<sup>-1</sup> más estable que la paralela. Para descartar que la estabilidad de las láminas  $\beta$  fuese debida a las cadenas laterales, se preparó un nuevo péptido, el  $c\text{-}[(L\text{-Phe-}D\text{-MeN-Ala-L-Leu-}D\text{-MeN-Ala-})_2]$ , que podía dar lugar a dos dímeros distintos: uno eclipsado, en el que los residuos de Phe y los de Leu se superponen con sus iguales, y otro alternado, en el que los residuos de Phe se

superponen con los de Leu y viceversa.<sup>172</sup> Los estudios de RMN mostraron que la proporción de ambas especies era prácticamente la misma, con lo cual se pudo concluir que las cadenas laterales apenas participaban en la estabilización de la estructura.



**Figura 44.** Formación de los homodímeros (A-A y B-B) y del heterodímero (A-B) a partir de una mezcla racémica formada por los ciclopéptidos A y B. Para mayor claridad se han omitido las cadenas laterales de los Aas en las estructuras diméricas.

Similares resultados se obtuvieron con los ciclohexapéptidos *N*-metilados, donde la principal diferencia que se encontró fue que dimerizaban con constantes de asociación más pequeñas. Así, por ejemplo, para el  $c-[(L\text{-MeN-Leu-D-Leu})_3]$  se obtuvo un valor de  $\sim 80 \text{ M}^{-1}$ , unas 30 veces más bajo que el registrado para el ciclooctapéptido descrito anteriormente.<sup>173</sup>

### 3.2.2. Estructuras tubulares constituidas por otros tipos de ciclopéptidos

Los estudios pioneros de formación de nanotubos peptídicos mencionados en el apartado anterior, incentivaron el desarrollo de estructuras tubulares basadas en otros tipos de unidades cíclicas (Figura 45). De este modo, se fueron sintetizando nanotubos

<sup>168</sup> Khazanovich, N.; Granja, J. R.; Milligan, R. A.; McRee, D. E.; Ghadiri, M. R. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 6011–6012.

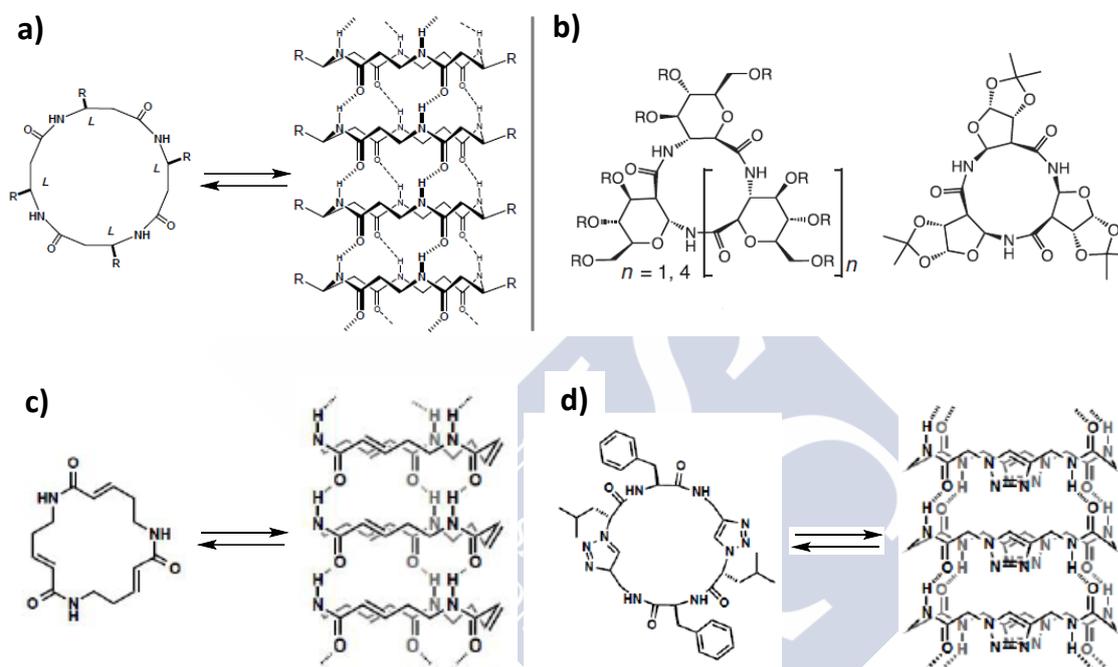
<sup>169d</sup> Sánchez-Quesada, J.; Kim, H. S.; Ghadiri, M. R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2503–2506.

<sup>171b</sup> Ghadiri, M. R.; Kobayashi, K.; Granja, J. R.; Chadha, R. K.; McRee, D. E. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, *34*, 93–95.

<sup>172</sup> Kobayashi, K.; Granja, J. R.; Ghadiri, M. R. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, *34*, 95–98.

<sup>173</sup> Sun, X. C.; Lorenzi, G. P. *Helv. Chem. Acta* **1994**, *77*, 1520–1526.

constituidos por  $\beta$ -,<sup>174</sup>  $\delta$ -<sup>161,175</sup> o  $\epsilon$ -aminoácidos<sup>164</sup> con nuevas propiedades, derivadas de las características intrínsecas del ciclopeptido precursor. Así, por ejemplo, los nanotubos que contenían  $\beta$ - o  $\delta$ -aminoácidos en la secuencia peptídica conducían a la formación de materiales anisotrópicos, debido al momento dipolar generado por la disposición de los grupos dadores y aceptores del enlace de hidrógeno en el CP. La introducción de  $\beta$ -aminoácidos derivados de azúcares en el esqueleto peptídico daba lugar a SCPNs con superficies externas de tipo sacárido para su interacción con lectinas (Figura 45b). Y la incorporación de 1,2,3-triazol- $\epsilon$ -aminoácidos a la estructura del ciclopeptido modificaba las propiedades de la cavidad interna de los nanotubos resultantes debido a la presencia de los anillos de triazol (Figura 45d).



**Figura 45.** a) Modelo de la formación de nanotubos a partir de un  $\beta$ -ciclopeptido. b) Estructura de dos  $\beta$ -CPs formados por  $\beta$ -aminoácidos derivados de azúcares. c) Representación del proceso de autoensamblaje de un ciclotropéptido formado por  $\delta$ -aminoácidos. d) Formación de nanotubos a partir de un  $\alpha,\epsilon$ -ciclopeptido.

Siguiendo la misma estrategia de preparación de estructuras tubulares, algunos autores han utilizado cicloureas como precursores de nanotubos.<sup>176</sup> Al igual que en los casos

<sup>174</sup> (a) Fujimura, F.; Horikawa, Y.; Morita, T.; Sugiyama, J.; Kimura, S. *Biomacromolecules* **2007**, *8*, 611-616; (b) Seebach, D.; Matthews, J. L.; Meden, A.; Wessels, T.; Baerlocher, C.; McCusker, L. B. *Helv. Chim. Acta* **1997**, *80*, 173-182.

<sup>161</sup> Gauthier, D.; Baillargeon, P.; Drouin, M.; Dory, Y. L. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 4635-4638.

<sup>175</sup> Leclair, S.; Baillargeon, P.; Skouta, R.; Gauthier, D.; Zhao, Y.; Dory, Y. L. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 349-353.

<sup>164</sup> Horne, W. S.; Stout, C. D.; Ghadiri, M. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 9372-9376.

<sup>176</sup> (a) Roy, K.; Wang, C.; Smith, M. D.; Dewal, M. B.; Wibowo, A. C.; Brown, J. C.; Ma, S.; Shimizu, L. S. *Chem. Commun.* **2011**, 277-279; (b) Hennig, A.; Fischer, L.; Guichard, G.; Matile, S. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 16889-16895; (c) López, J. L.; Pérez, E. M.; Viruela, P. M.; Viruela, R.; Ortíand, E.; Martín, N. *Org. Lett.* **2009**, *11*, 4524-4527; (d) Semetey, V.; Didierjean, C.; Briand, J.-P.; Aubry, A.; Guichard, G. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 1895-1898.

anteriores la formación de la estructura tubular implica la conformación plana del macrociclo, con los grupos C=O y NH dispuestos perpendicularmente al plano del anillo, que facilita la interacción entre subunidades vecinas. En este caso, cada carbonilo establece dos puentes de hidrógeno con dos protones amídicos, por tanto las interacciones entre subunidades son más fuertes.

El desarrollo de estructuras tubulares basadas en oligoureas cíclicas permitió obtener distintos sistemas con interesantes aplicaciones como transportadores de iones, absorbentes de gases o nanotubos donadores de electrones, entre otras.<sup>176</sup> Las ureas también se han combinado con anillos de triazol para preparar macrociclos peptidomiméticos a partir de precursores derivados de carbohidratos; donde, en función de la quiralidad de la secuencia peptídica, los monómeros se apilan de forma paralela o antiparalela.<sup>177</sup>

### 3.2.3. Estructuras tubulares constituidas por $\alpha,\gamma$ -ciclopéptidos

Cuando enumeramos las principales estrategias para la construcción de estructuras tubulares, destacábamos que las dos ventajas más importantes que presenta la aproximación basada en el apilamiento de unidades cíclicas son el fácil control sobre diámetro interno y las propiedades externas del nanotubo. Sin embargo, salvo excepciones (como la de los CPs que contenían anillos de triazol en la estructura), ninguno de los sistemas vistos hasta ahora permiten controlar las propiedades internas de una forma sencilla y sistemática. Este aspecto resulta muy interesante, ya que las características de la cavidad determinan en gran medida el tipo de sustancias que pueden pasar a través de la misma.

Con este objetivo, en los últimos años nuestro grupo de investigación ha desarrollado un nuevo tipo de ciclopéptidos con capacidad para autoensamblarse constituidos por  $\alpha$ -aminoácidos y unidades de ácido 3-aminocicloalcanocarboxílico ( $\gamma$ -Aca).<sup>163,178,179,180,181,182</sup> La incorporación de  $\gamma$ -aminoácidos cíclicos, además de favorecer la conformación plana del CP debido a la rigidez aportada por los anillos de cicloalcano, permite funcionalizar la cavidad interna a través de los metilenos en posición  $\beta$  de los  $\gamma$ -Aca proyectados hacia el interior del nanotubo (Figura 46).<sup>153</sup>

<sup>177</sup> Ghorai, A.; Reddy K, S.; Achari, B.; Chattopadhyay, P. *Org. Lett.* **2014**, *16*, 3196-3199.

<sup>163</sup> Amorín, M.; Castedo, L.; Granja, J. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 2844-2845.

<sup>178</sup> Brea, R. J.; Amorín, M.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 5710-5713.

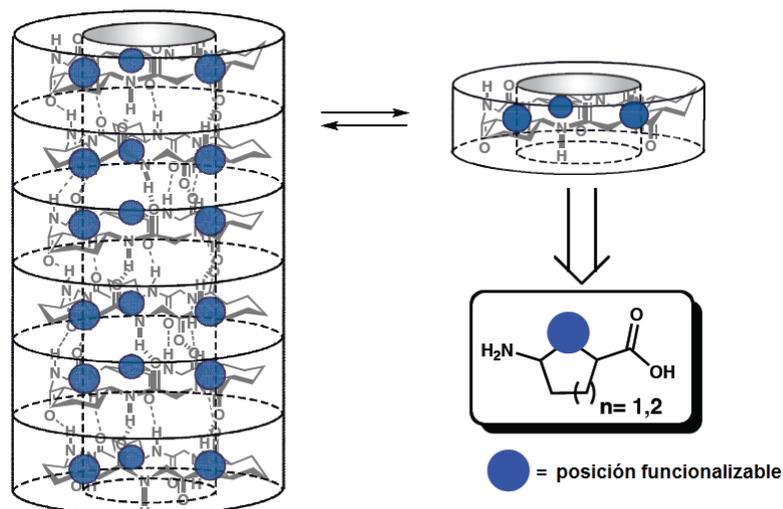
<sup>179</sup> Amorín, M.; Brea, R. J.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 4681-4684.

<sup>180</sup> Amorín, M.; Brea, R. J.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Heterocycles* **2006**, *67*, 575-583.

<sup>181</sup> Amorín, M.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Chem. Eur. J.* **2005**, *11*, 6543-6551.

<sup>182</sup> Brea, R. J.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Chem. Commun.* **2007**, 3267-3269.

<sup>153</sup> Rodríguez-Vázquez, N.; Amorín, M.; Granja, J. R. *Org. Biomol. Chem.* **2017**, *15*, 4490-4505.



**Figura 46.** Representación de un nanotubo constituido por  $\alpha,\gamma$ -ciclopéptidos en la que se destacan los metilenos de la posición  $\beta$ , proyectados hacia el interior del canal (círculo azul). La funcionalización de dichos grupos permite modificar las propiedades internas de la estructura supramolecular.

El diseño de  $\alpha,\gamma$ -ciclopéptidos sigue el mismo patrón que en los  $D,L$ - $\alpha$ -ciclopéptidos. De hecho, la forma más sencilla de preparar  $\alpha,\gamma$ -CPs con capacidad para autoensamblarse es tomar como modelo el  $D,L$ - $\alpha$ -CP análogo y reemplazar cada  $\alpha$ -Aa de la posición deseada por un  $\gamma$ -Aca de quiralidad equivalente. Para ello, hay que tener en cuenta que los  $(1R, 3S)$ - $\gamma$ -Acas son estructuralmente equivalentes a los  $\alpha$ -aminoácidos de configuración  $L$ , mientras que los  $(1S, 3R)$ - $\gamma$ -Acas son análogos a los  $D$ - $\alpha$ -Aas (Figura 47).<sup>183</sup> Siguiendo estas premisas se puede sintetizar una gran variedad de CPs con distinto número de unidades de  $\gamma$ -Aca y ocupando distintas posiciones en el anillo, aunque los preparados hasta la fecha son fundamentalmente de tres tipos: los que alternan  $\alpha$ - y  $\gamma$ -aminoácidos ( $\alpha,\gamma$ -CPs),<sup>163,179,181</sup> los que combinan dichos aminoácidos en una proporción 3:1 ( $3\alpha,\gamma$ -CPs)<sup>183</sup> y los constituidos únicamente por  $\gamma$ -Acas ( $\gamma$ -CPs).<sup>184</sup> Además de estas estructuras, recientemente nuestro grupo de investigación ha descrito un péptido constituido por 6  $\gamma$ -Aas y 4  $\alpha$ -Aas que mantiene la capacidad de autoensamblarse.<sup>185</sup>

<sup>183</sup> Amorín, M.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 2100-2111.

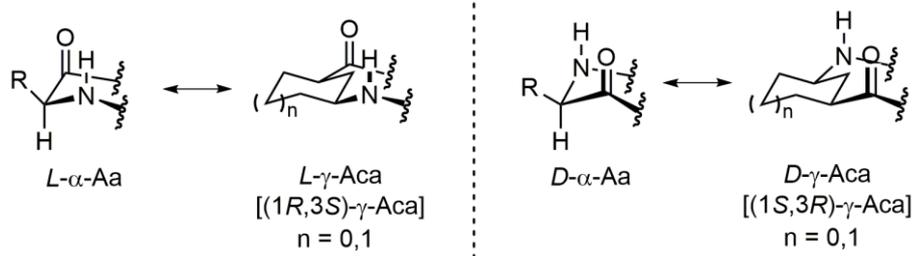
<sup>163</sup> Amorín, M.; Castedo, L.; Granja, J. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 2844-2845.

<sup>179</sup> Amorín, M.; Brea, R. J.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 4681-4684.

<sup>181</sup> Amorín, M.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Chem. Eur. J.* **2005**, *11*, 6543-6551.

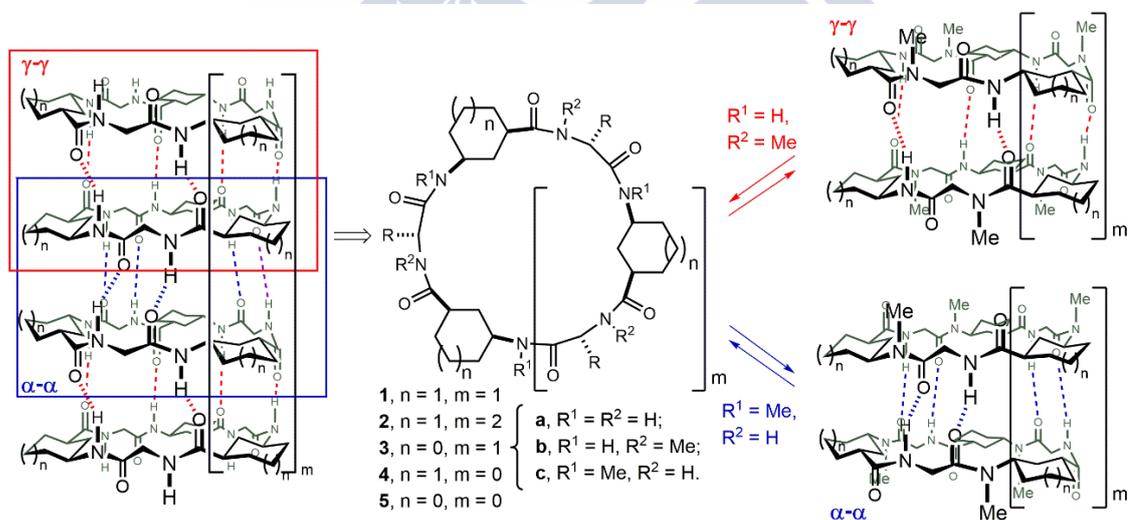
<sup>184</sup> Guerra, A.; Brea, R. J.; Amorín, M.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Org. Biomol. Chem.* **2012**, *10*, 8762-8766.

<sup>185</sup> Rodríguez-Vázquez, N.; García-Fandiño, R.; Aldegunde, M. J.; Brea, J.; Loza, M. I.; Amorín, M.; Granja, J. R. *Org. Lett.* **2017**, *19*, 2560-2563.



**Figura 47.** Equivalencia entre los  $\alpha$ -aminoácidos y los ácidos *cis*-3-aminocicloalcanocarboxílicos ( $\gamma$ -Acas).

Los primeros estudios se llevaron a cabo con diseños que alternaban  $\alpha$ -aminoácidos y ácido *cis*-3-aminociclohexanocarboxílico ( $\gamma$ -Ach) en su estructura (Figura 48).<sup>163,179,181</sup> Esta disposición alternada de los residuos en la cadena peptídica conduce a la obtención de CPs con dos caras no equivalentes, ya que los grupos carbonilo y amino de los  $\gamma$ -Aas se sitúan en una de las caras del ciclopeptido (cara  $\gamma$ ), mientras que los grupos correspondientes de los  $\alpha$ -Aas lo hacen por la cara opuesta (cara  $\alpha$ ). Además, debido a que la distancia entre los grupos C=O y NH para los  $\gamma$ -aminoácidos es distinta en comparación con la de los  $\alpha$ -aminoácidos, cada una de las caras sólo puede interaccionar, para formar una estructura secundaria de lámina  $\beta$  antiparalela, con la cara homóloga de la siguiente subunidad. Por tanto, se establecen dos tipos de interacciones que se denominan interacción  $\gamma$ - $\gamma$  o  $\alpha$ - $\alpha$ , en función del tipo de caras que estén implicadas en el proceso. Como consecuencia de ello, el apilamiento sucesivo de  $\alpha,\gamma$ -CPs, genera nanotubos en los que ambas interacciones se alternan a lo largo de la estructura.



**Figura 48.** Izquierda: Representación estructural de los nanotubos preparados a partir de los ciclopeptidos  $c$ -[(*D*- $\alpha$ -Aa-*L*- $\gamma$ -Aca)-]<sub>x</sub> ( $x = m + 2$ , donde  $m = 0, 1, 2, \dots, 6$ ), en el que se observan dos tipos de interacciones diferentes:  $\alpha$ - $\alpha$  (en azul) y  $\gamma$ - $\gamma$  (en rojo). Derecha: Modelos dimericos correspondientes a cada una de las interacciones.

Los dos tipos de interacciones pudieron ser estudiadas por separado mediante la estrategia de bloqueo selectivo de una de las caras del CP descrita para la obtención de dímeros *D,L*- $\alpha$ -ciclopeptídicos. Para ello, se llevó a cabo la síntesis de ciclohexapéptidos (anillos de 24 eslabones), que alternaban  $\alpha$ -aminoácidos y unidades de ácido 3-

aminociclohexanocarboxílico ( $\gamma$ -Ach), en los que o bien los  $\alpha$ - o los  $\gamma$ -Aas estaban *N*-metilados selectivamente.<sup>163</sup> De este modo, pudieron obtenerse los dímeros resultantes de la interacción  $\gamma$ - $\gamma$  y  $\alpha$ - $\alpha$ , respectivamente (Figura 48). Los estudios termodinámicos sobre estos modelos sencillos permitieron obtener el valor de la constante de asociación para cada proceso, resultando ser comparable a la obtenida con los *D,L*- $\alpha$ -CPs ( $K_a \sim 10^2 \text{ M}^{-1}$ ) para los dímeros por interacción  $\gamma$ - $\gamma$  y mucho mayor ( $K_a > 10^5 \text{ M}^{-1}$ ) para los que dimerizan por interacción entre las caras  $\alpha$ . En general, la interacción  $\alpha$ - $\alpha$  es más fuerte que la  $\gamma$ - $\gamma$ . Esto se debe probablemente a la repulsión estérica entre los grupos metilo y carbonilo, que se hallan próximos en los CPs con la cara  $\alpha$  bloqueada, que dificultan la conformación plana.<sup>179,181,186</sup>

Los estudios llevados a cabo con ciclooctapéptidos (anillos de 32 eslabones) condujeron a resultados similares, observándose de nuevo que la interacción  $\gamma$ - $\gamma$  era más débil que la  $\alpha$ - $\alpha$ .<sup>181</sup> En cuanto a los ciclotetrapéptidos (anillos de 16 eslabones), no se observó la formación de dímeros generados mediante la interacción  $\gamma$ - $\gamma$ , mientras que los diseñados para interactuar a través de la cara  $\alpha$  presentaban una constante de asociación débil ( $K_a \sim 15 \text{ M}^{-1}$ ).<sup>179,180</sup>

El estudio de las interacciones sobre formas dimericas no se limitó exclusivamente a péptidos cíclicos que contenían  $\gamma$ -Ach en la secuencia peptídica, sino que también se prepararon CPs que incorporaban ácido *cis*-3-aminociclopentanocarboxílico ( $\gamma$ -Acp). En este aminoácido el ángulo definido en el plano por los enlaces O=C-C $\alpha$  y C $\gamma$ -N es mayor que en el  $\gamma$ -Ach ( $140^\circ$  frente a  $120^\circ$ ), por lo que favorece la construcción de anillos más grandes. De este modo, además de los CPs constituidos por 4,<sup>179,180</sup> 6<sup>178</sup> y 8 residuos,<sup>187</sup> pudieron prepararse los anillos de 10,<sup>182</sup> 12<sup>182</sup> e incluso 16 aminoácidos.<sup>188</sup> Esto puso de manifiesto que se puede obtener un control preciso del diámetro interno mediante este método de formación de nanotubos (1-25 Å). Al igual que en los casos anteriores todos estos sistemas dimerizaban con altas constantes de asociación a través de la interacción  $\alpha$ - $\alpha$  ( $K_a > 10^5 \text{ M}^{-1}$ ), salvo en el caso de los tetrapéptidos, que lo hacían con constantes inferiores a  $100 \text{ M}^{-1}$ . Sin embargo, a diferencia de lo que ocurría con los derivados del  $\gamma$ -Ach, los dímeros resultantes de la interacción por la cara  $\gamma$  no se formaban, sino que los CPs adoptaban conformaciones

<sup>163</sup> Amorín, M.; Castedo, L.; Granja, J. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 2844-2845.

<sup>179</sup> Amorín, M.; Brea, R. J.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 4681-4684.

<sup>181</sup> Amorín, M.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Chem. Eur. J.* **2005**, *11*, 6543-6551.

<sup>186</sup> García-Fandiño, R.; Castedo, L.; Granja, J. R.; Vázquez, S. A. *J. Phys. Chem. B* **2010**, *114*, 4973-4983.

<sup>179</sup> Amorín, M.; Brea, R. J.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 4681-4684.

<sup>180</sup> Amorín, M.; Brea, R. J.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Heterocycles* **2006**, *67*, 575-583.

<sup>178</sup> Brea, R. J.; Amorín, M.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 5710-5713.

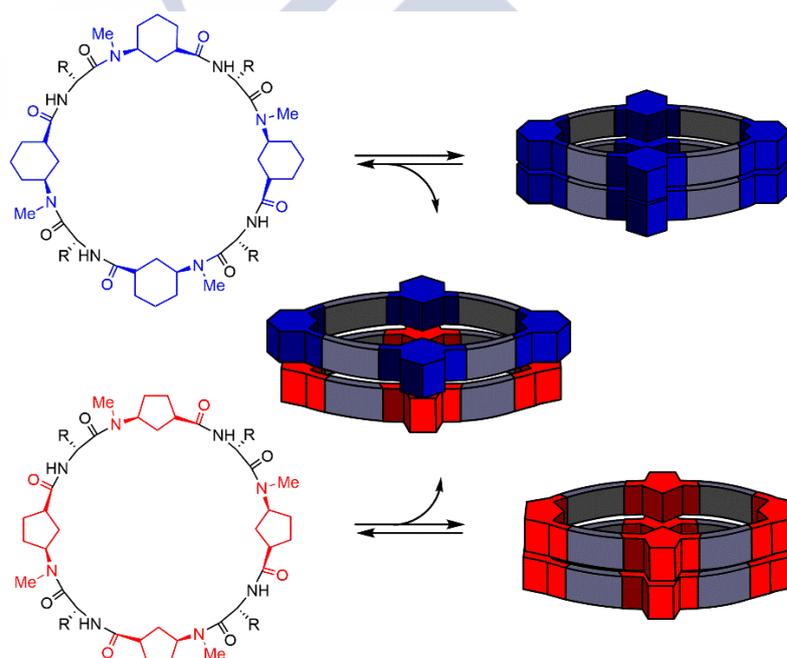
<sup>187</sup> Reiriz, C.; Castedo, L.; Granja, J. R. *J. Pep. Sci.* **2008**, *14*, 241-249.

<sup>182</sup> Brea, R. J.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Chem. Commun.* **2007**, 3267-3269.

<sup>188</sup> Tesis doctoral de Roberto J. Brea Fernández - "Diseño, síntesis y aplicaciones de sistemas supramoleculares homo- y heterodiméricos selectivos y eficientes basados en  $\alpha,\gamma$ -ciclopéptidos" (Universidad de Santiago de Compostela, 2013).

plegadas debido, probablemente, a la mayor flexibilidad del anillo de 5 miembros y al establecimiento de enlaces de hidrógeno intermoleculares entre los grupos carbonilo y amino.<sup>187</sup>

Posteriormente, se procedió a estudiar la formación de estructuras heterodiméricas basadas en este tipo de CPs. La heterodimerización es una herramienta de diversificación estructural y versatilidad funcional muy común en la naturaleza,<sup>189</sup> por lo que es un proceso altamente interesante. Los heterodímeros se obtuvieron como resultado de la combinación de un  $\alpha,\gamma$ -ciclopeptido derivado del  $\gamma$ -Ach y su ciclopeptido complementario de  $\gamma$ -Acp (Figura 49).<sup>178,190</sup> La mezcla de ambos CPs en cantidades equimoleculares condujo, en todos los casos, a la obtención de la forma heterodimérica como especie mayoritaria. Además, la relación de especies no se ve afectada por los  $\alpha$ -aminoácidos empleados, por lo que el proceso de formación del heterodímero está relacionado con las interacciones que se establecen a nivel del esqueleto peptídico y es independiente de las cadenas laterales. Esta selectividad en la obtención de las formas heterodiméricas permite modificar las propiedades de las cadenas laterales y el anclaje de diversos grupos para generar sistemas de transferencia de electrones o energía.<sup>190,191,192</sup>



**Figura 49.** Formación de heterodímeros  $\alpha,\gamma$ -ciclopeptídicos a partir de los correspondientes homodímeros. La combinación de  $\alpha,\gamma$ -CPs constituidos por  $\gamma$ -Achs (en azul) y  $\alpha,\gamma$ -CPs formados por  $\gamma$ -Acps (en rojo) conduce a la obtención preferencial de la especie heterodimérica.

<sup>189</sup> Bowers, P. M.; Cokus, S. J.; Eisenberg, D.; Yeates, T. O. *Science* **2004**, *306*, 2246-2249.

<sup>190</sup> Brea, R. J.; Pérez-Alvite, M. J.; Panciera, M.; Mosquera, M.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Chem. Asian J.* **2011**, *6*, 110-121.

<sup>191</sup> Brea, R. J.; Castedo, L.; Granja, J. R.; Herranz, M. A.; Sánchez, L.; Martín, N.; Seitz, W.; Guldi, D. M. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2007**, *104*, 5291-5294.

<sup>192</sup> Brea, R. J.; Vázquez, M. E.; Mosquera, M.; Castedo, L.; Granja, J. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 1653-1657.

Además de este tipo de CPs, también se han sintetizado anillos peptídicos con otras combinaciones de  $\alpha$ - y  $\gamma$ -Aas, lo que ha permitido obtener sistemas con nuevos diámetros internos y propiedades de ensamblaje. Así por ejemplo, en el estudio de la dimerización de ciclopeptidos *N*-metilados que combinaban dichos residuos en una relación 3:1 ( $3\alpha,\gamma$ -CPs), se observó que en función del número y posición de los grupos metilo se obtenían distintas estructuras; lo que puso de manifiesto la importancia de dichos grupos en el proceso de autoensamblaje.<sup>183</sup> De este modo, algunos monómeros adoptaban una conformación plana que conducía a la formación del dímero a través de una lámina  $\beta$  antiparalela y otros daban lugar a formas plegadas. Finalmente, se prepararon CPs constituidos únicamente por  $\gamma$ -aminoácidos de quiralidad alternante. Curiosamente, en estos casos, las propiedades de autoensamblaje dependían del tamaño del anillo. Así, mientras los tetrapéptidos se asociaban en forma de nanotubos mediante interacciones paralelas,<sup>193</sup> los  $\gamma$ -octapéptidos dimerizaban a través de láminas  $\beta$ -antiparalelas.<sup>184</sup>

Como hemos mencionado al principio de este apartado, una de las mayores ventajas de la introducción de  $\gamma$ -aminoácidos en la estructura del CP es la posibilidad de modificar las propiedades internas a través del metileno en posición  $\beta$  del  $\gamma$ -Aca, proyectado hacia el interior de la estructura. Al contrario de lo que pasa en las estructuras tubulares formadas únicamente por  $\alpha$ -aminoácidos, que presentan un poro hidrofílico debido al efecto de los grupos amida que forman la pared del nanotubo, la presencia de dicho metileno proporciona cierta hidrofobicidad a la cavidad. De hecho, las imágenes de rayos X obtenidas para diferentes estructuras diméricas confirmaron las características anfipáticas del poro, ya que los dímeros cristalizaban con una molécula de cloroformo o de agua en su interior (Figura 50).<sup>163,194</sup> Los estudios computacionales también mostraron este comportamiento. Así, las minimizaciones en medio acuoso reflejaron que los SCPNs contenían moléculas de agua parcialmente ordenadas en su interior.<sup>195</sup> Mientras que en los cálculos de DFT de la especie dimérica en cloroformo, la molécula de disolvente situada en la cavidad interna establecía interacciones de van der Waals con los metilenos del  $\gamma$ -aminoácido que estabilizan la estructura del dímero.<sup>196</sup> Todos estos datos nos hicieron pensar que este tipo de sistemas podrían resultar muy atractivos para la preparación de receptores, canales iónicos y canales moleculares selectivos.

---

<sup>183</sup> Amorín, M.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 2100-2111.

<sup>193</sup> 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*, 3051-3056.

<sup>184</sup> Guerra, A.; Brea, R. J.; Amorín, M.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Org. Biomol. Chem.* **2012**, *10*, 8762-8766.

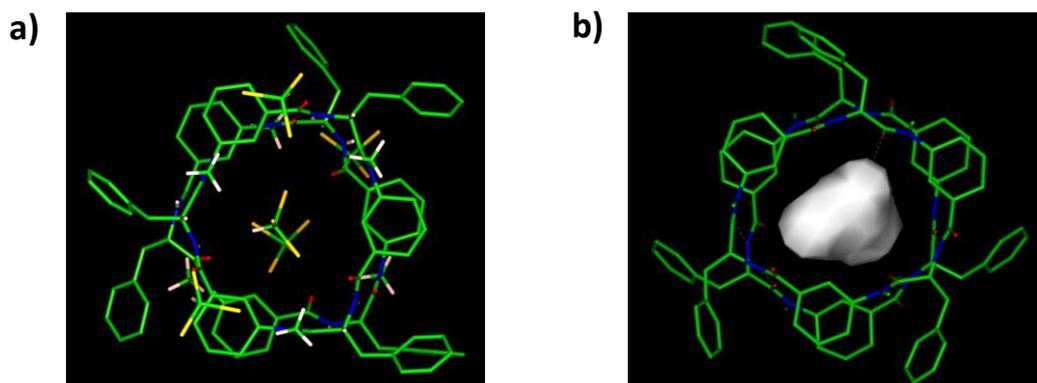
<sup>163</sup> Amorín, M.; Castedo, L.; Granja, J. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 2844-2845.

<sup>194</sup> Amorín, M.; Villaverde, V.; Castedo, L.; Granja, J. R. *J. Drug Delivery Sci. Technol.* **2005**, *15*, 87-92.

<sup>195</sup> García Fandiño, R.; Granja, J. R.; D'Abramo, M.; Orozco, M. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 15678-15686.

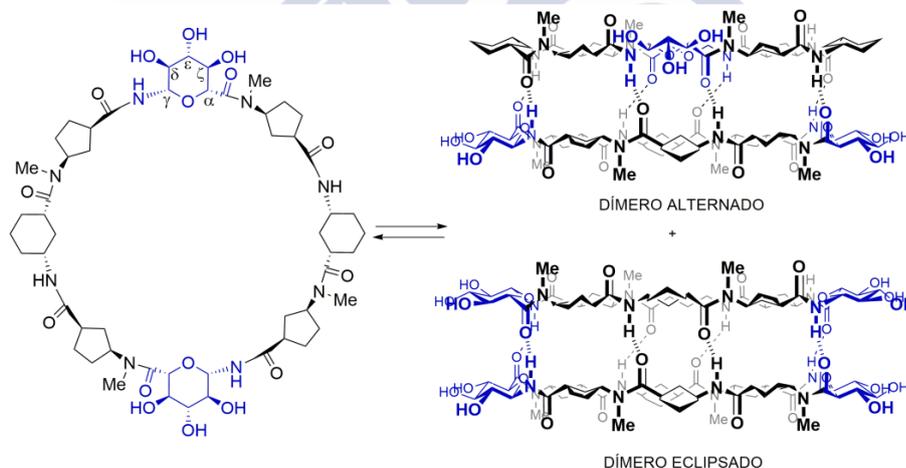
<sup>196</sup> García-Fandiño, R.; Granja, J. R. *J. Phys. Chem. C* **2013**, *117*, 10143-10162.

<sup>184</sup> Guerra, A.; Brea, R. J.; Amorín, M.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Org. Biomol. Chem.* **2012**, *10*, 8762-8766.



**Figura 50.** Estructuras obtenidas por difracción de rayos X de dos dímeros  $\alpha,\gamma$ -ciclopeptídicos. Las imágenes muestran la presencia de una molécula de cloroformo (a) y dos moléculas de agua desordenadas (b) en el interior de la estructura.

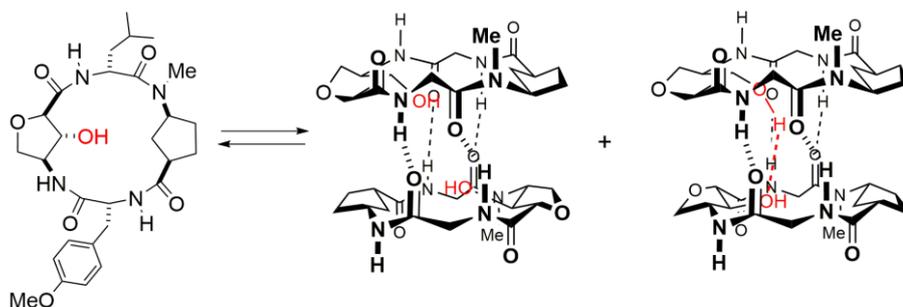
Con este objetivo, en los últimos años nuestro grupo de investigación se ha centrado en la funcionalización de la cavidad interna de nanotubos y dímeros. La primera idea consistió en la introducción de heteroátomos en la posición  $\beta$  del  $\gamma$ -aminoácido. Para ello, se sintetizó un CP que incorporaba unidades de un sacárido derivado del ácido 1-glucurónico ( $\gamma$ -Aga), con lo que el oxígeno hemiaminal se situaba en el lumen, modificando las propiedades internas del dímero resultante (Figura 51).<sup>184</sup> En este caso, de los dos posibles dímeros solo se observaba el alternado, probablemente debido a las repulsiones entre los pares electrónicos de los oxígenos en el isómero eclipsado.



**Figura 51.** Representación del proceso de autoensamblaje del ciclopeptido que incorpora en su estructura un  $\gamma$ -aminoácido derivado del ácido glucurónico (residuos en color azul).

Posteriormente, se diseñaron otras alternativas basadas en la incorporación de grupos funcionales a través del carbono  $\beta$  del anillo hidrocarbonado. En este caso hay que tener en cuenta que para alcanzar la conformación plana del CP es necesario que los grupos carbonilo y amino tengan una disposición *cis* y que el sustituyente anclado al carbono  $\beta$  se oriente en *trans* a estos dos. De esta manera, se consigue la estructura plana deseada, con los grupos funcionales de la posición  $\beta$  proyectados hacia el interior en una disposición pseudoecuatorial. Bajo estas premisas, se sintetizó un  $\gamma$ -aminoácido que portaba un hidroxilo

en el carbono  $\beta$ , el ácido 4-amino-3-hidroxitetrafurano-2-carboxílico ( $\gamma$ -Ahf),<sup>197</sup> que se utilizó en la preparación del tetrapéptido *c*-[D-Leu-L-Ahf-D-Tyr(Me)-MeN-L-Acp-].<sup>198</sup> Los estudios del proceso de dimerización de dicho CP mostraron que los grupos hidroxilo de la cavidad interna dirigen el autoensamblaje, incrementan la estabilidad del dímero y restringen el equilibrio hacia la forma en la que los dos grupos hidroxilo interactúan a través de enlace de hidrógeno (Figura 52).



**Figura 52.** Representación del proceso de formación de una estructura dimérica con la cavidad funcionalizada mediante la incorporación de una unidad de  $\gamma$ -Ahf en la secuencia peptídica. El autoensamblaje del ciclotetrapéptido da lugar a dos especies diméricas (alternada y eclipsada).

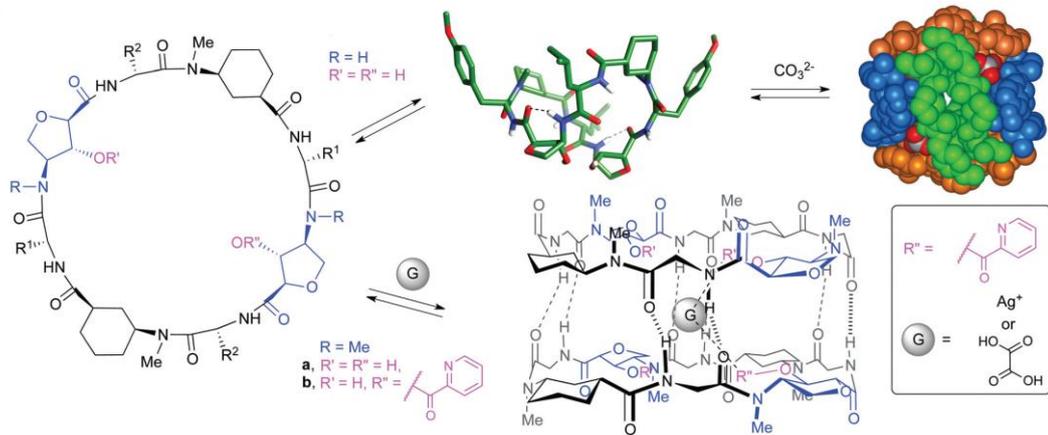
Siguiendo esta misma estrategia de funcionalización interna, se preparó un ciclooctapéptido que incorporaba dos unidades de  $\gamma$ -Ahf.<sup>199</sup> En este caso, el CP resultante en lugar de adquirir la conformación plana, se plegaba en una disposición de tipo V en la que el protón de la amida y el carbonilo del Ahf interactuaban a través de enlace de hidrógeno (Figura 53).<sup>199a</sup> Sin embargo, esta conformación plegada mantenía la capacidad para ensamblarse, pero en lugar de formar dímeros, se obtenían agregados esféricos que podían reconocer aniones como cloruro, nitrato, hidróxido o carbonato.

Para impedir la conformación plegada, los residuos de Ahf se *N*-metilaron.<sup>199b</sup> El CP resultante, esta vez, condujo a la formación del dímero correspondiente en cloroformo. Sin embargo, para la obtención de dicho dímero fue necesario añadir un pequeño porcentaje de un disolvente polar como metanol o agua. Este comportamiento sugiere que la cavidad hidrofílica necesita ser ocupada por moléculas polares para la formación de la estructura dimérica. Además de modificar las propiedades internas, los grupos hidroxilo pueden usarse para introducir nuevos grupos que le confieran otras características al lumen del ensamblado. En nuestro grupo hemos utilizado esta estrategia para incorporar un ácido picolínico en uno de los residuos de Ahf que permitió reconocer otras moléculas, como iones de plata o ácido oxálico, en la cavidad interna del dímero (Figura 53). Recientemente, también hemos descrito un dímero formado por dos ciclodecapéptidos que contenían un ácido carboxílico proyectado hacia la cavidad interna para la encapsulación de complejos de platino con actividad citotóxica.

<sup>197</sup> Rodríguez-Vázquez, N.; Salzinger, S.; Silva, L. F.; Amorín, M.; Granja, J. R. *Eur. J. Org. Chem.* **2013**, 3477-3493.

<sup>198</sup> Reiriz, C.; Amorín, M.; García-Fandiño, R.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Org. Biomol. Chem.* **2009**, *7*, 4358-4361.

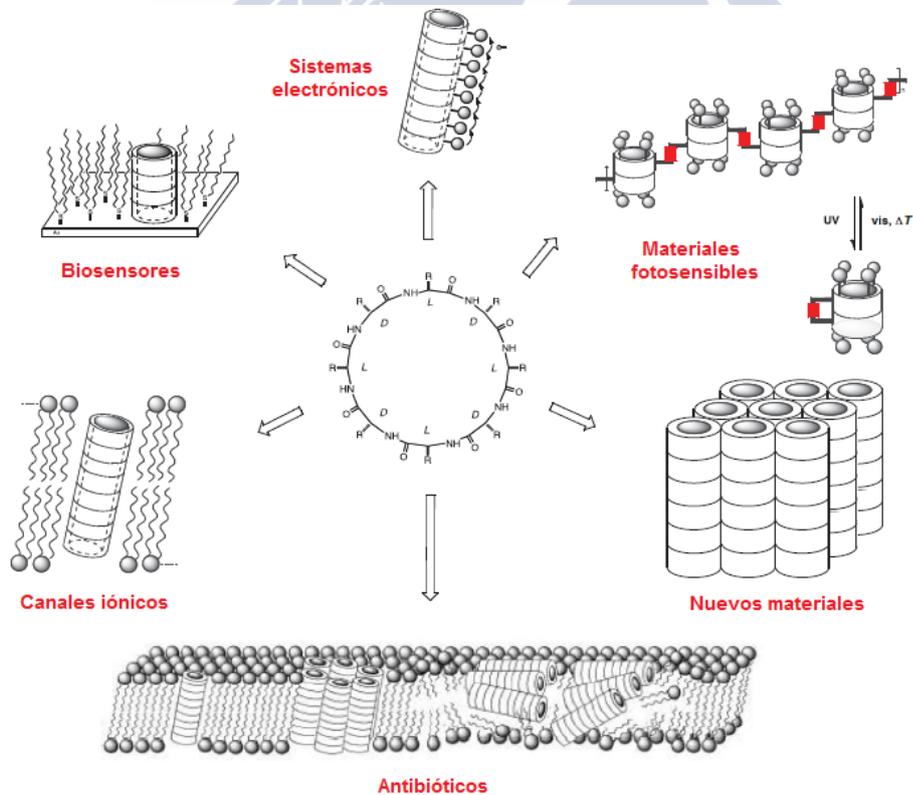
<sup>199</sup> (a) Rodríguez-Vázquez, N.; Amorín, M.; Alfonso, I.; Granja, J. R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 4504-4508; (b) Rodríguez-Vázquez, N.; García-Fandiño, R.; Amorín, M.; Granja, J. R. *Chem. Sci.* **2016**, *7*, 183-187.



**Figura 53.** Representación estructural de ciclopeptidos que incorporan unidades de  $\gamma$ -Ahh en su esqueleto peptídico. Dependiendo de que dichos aminoácidos estén *N*-metilados o no el CP puede adoptar una conformación en V, que se autoensambla para formar agregados esféricos en presencia de aniones; o formar dímeros, que pueden encapsular diversas moléculas huésped mediante la incorporación de piridinas a través de los hidroxilos proyectados hacia la cavidad interna (b).

### 3.3. Aplicaciones de los nanotubos ciclopeptídicos

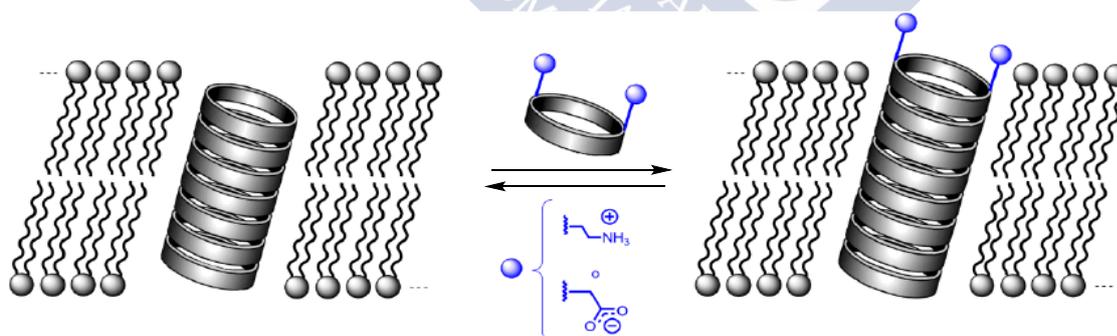
El fácil control del diámetro y las propiedades de los nanotubos ciclopeptídicos hacen que este tipo de estructuras resulten muy atractivas para la preparación de numerosas estructuras funcionales (Figura 54).



**Figura 54.** Resumen de las aplicaciones más importantes que presentan los nanotubos peptídicos.

Una de sus primeras aplicaciones fue la preparación de canales transmembranales formados por el autoensamblaje, en las bicapas lipídicas, de CPs que contenían residuos hidrofóbicos para favorecer la interacción con los fosfolípidos. Así el grupo de Ghadiri sintetizó el ciclooctapéptido *c*-[L-Gln-(D-Leu-L-Trp)<sub>3</sub>-D-Leu-], que generaba canales capaces de transportar iones de Na<sup>+</sup> y K<sup>+</sup> a velocidades superiores a 10<sup>7</sup> iones por segundo, es decir, tres veces más rápido que un canal natural de gamicidina A.<sup>169a,f</sup> Además, los canales formados por este tipo de CPs son selectivos en cuanto al tamaño de las sustancias que los atraviesan.<sup>169d,g</sup> Esto se observó en los estudios de transporte de moléculas como glucosa o ácido glutámico, que podían migrar a través de los nanotubos derivados de decapeptidos, pero no a través de los formados por octapéptidos.

Un nuevo grado de control con respecto al paso de sustancias a través del canal se consiguió mediante la incorporación de ciclopeptidos cargados en el extremo del nanotubo (tapa molecular) (Figura 55).<sup>200</sup> Esta modificación tiene el objetivo de poder controlar la apertura y el cierre del canal, así como modular la selectividad en el transporte. La adición de un CP hidrofílico conduce a la formación del nanotubo heteromérico, en el cual la tapa molecular se sitúa en la interfase entre las cadenas fosfolipídicas y la disolución acuosa. De esta manera, por un lado interacciona con el extremo del nanotubo y por el otro expone los residuos cargados hacia la fase acuosa. Las perturbaciones locales electrostáticas que provocan las subunidades a modo de tapa modifican la selectividad y conductividad iónica del canal transmembranal. Así, cuando se empleaban tapas que portaban grupos con carga positiva (amonio), se observaba una disminución en los valores de conductancia para cationes; mientras que las propiedades de transporte mejoraban cuando se utilizaban CPs cargados negativamente (carboxilatos), debido al efecto atractor hacia los iones de carga opuesta.



**Figura 55.** Representación esquemática de la formación de canales transmembranales heteroméricos. El ciclopeptido hidrofóbico se autoensambla en la membrana lipídica para dar lugar al canal; mientras que el ciclopeptido que porta los grupos cargados se sitúa en la interfase, actuando a modo de tapa molecular para regular el paso de sustancias.

<sup>169a,f</sup> (a) Montenegro, J.; Ghadiri, M. R.; Granja, J. R. *Acc. Chem. Res.* **2013**, *46*, 2955-2965; (f) Ghadiri, M. R.; Granja, J. R.; Buehler, L. K. *Nature* **1994**, *369*, 301-304.

<sup>169d,g</sup> (d) Sánchez-Quesada, J.; Kim, H. S.; Ghadiri, M. R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2503-2506; (g) Granja, J. R.; Ghadiri, M. R.; *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 10785-10786.

<sup>200</sup> Sánchez-Quesada, J.; Isler, M. P.; Ghadiri, M. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 10004-10005.

La variación de las cadenas laterales también altera las propiedades del poro. El efecto de las cadenas laterales se estudió recientemente en vesículas utilizando octapéptidos que portaban cuatro *D*-Leu y cuatro *L*-aminoácidos con distintos grupos funcionales.<sup>201</sup> De esta forma, los autores encontraron que los CPs que contenían cadenas cargadas (CPs anfipáticos) daban lugar a poros más largos que los CPs neutros. Esta estrategia permite la preparación de membranas con poros distribuidos uniformemente y con la orientación correcta, mediante el diseño adecuado de la secuencia. Así, el uso de CPs anfipáticos catiónicos, como el  $c\text{-}[(L\text{-Gln-}D\text{-Ala-}L\text{-Lys-}D\text{-Ala-})_2]$ , conducía al alineamiento de los SCPNs en líquidos iónicos nanoestructurados.<sup>202</sup> Una estrategia alternativa para obtener la disposición vertical de los SCPNs en la membrana es la técnica de deposición por capas (*layer-by-layer*).<sup>203</sup> Esta aproximación, además, podría proporcionar la oportunidad de controlar con precisión las propiedades del nanotubo mediante la selección adecuada de los CPs en la secuencia de apilamiento.

Los  $\beta$ -ciclopéptidos también daban lugar a la formación de canales, que mostraban unos valores de conductancia similares a los *D,L*- $\alpha$ -CPs.<sup>174b</sup> Más recientemente, en nuestro grupo de investigación hemos demostrado que los  $\alpha,\gamma$ -CPs pueden insertarse igualmente en las membranas lipídicas para formar canales capaces de transportar iones de metales alcalinos pese al carácter parcialmente hidrofóbico de la cavidad.<sup>204</sup>

El grado de precisión alcanzado en la formación de membranas porosas ha abierto la puerta a otra de sus aplicaciones importantes que es la liberación controlada de fármacos. Así, por ejemplo, usando ciclopéptidos hidrofóbicos, se observó que ciertas moléculas anticancerígenas pequeñas podían ser transportadas a través de las bicapas lipídicas de manera dosis dependiente y selectiva con respecto al tamaño.<sup>205</sup> El 5-fluoracilo (5-FU), el fármaco más pequeño de los probados, fue el que presentó la mayor velocidad de difusión. La acción combinada de dicho fármaco y un *D,L*- $\alpha$ -CP condujo a una actividad antitumoral mejorada tanto en líneas celulares como *in vivo*.

Mediante el correcto diseño de la secuencia de aminoácidos también puede conseguirse que los nanotubos adopten otras disposiciones en la membrana, lo que conduce a nuevas aplicaciones. De esta manera, cuando se utilizaba un número menor de residuos

<sup>201</sup> Danial, M.; Perrier, S.; Jolliffe, K. A. *Org. Biomol. Chem.* **2015**, *13*, 2464-2473.

<sup>202</sup> Byrne, N.; Menzies, D.; Goujon, N.; Forsyth, M. *Chem. Commun.* **2013**, 7729-7731.

<sup>203</sup> Mizrahi, M.; Zakrassov, A.; Lerner-Yardeni, J.; Ashkenasy, N. *Nanoscale* **2012**, *4*, 518-24.

<sup>174b</sup> Seebach, D.; Matthews, J. L.; Meden, A.; Wessels, T.; Baerlocher, C.; McCusker, L. B. *Helv. Chim. Acta* **1997**, *80*, 173-182.

<sup>204</sup> García-Fandiño, R.; Amorín, M.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Chem. Sci.* **2012**, *3*, 3280-3285.

<sup>205</sup> (a) Chen, J.; Zhang, B.; Xia, F.; Xie, Y.; Jiang, S.; Su, R.; Lu, Y.; Wu, W. *Nanoscale* **2016**, *8*, 7127-7136; (b) Liu, H.; Chen, J.; Shen, Q.; Fu, W.; Wu, W. *Mol. Pharm.* **2010**, *7*, 1985-1994.

<sup>165</sup> Rodríguez-Vázquez, N.; Ozores, H. L.; Guerra, A.; González-Freire, E.; Fuertes, A.; Panciera, M.; Priegue, J. M.; Outeiral, J.; Montenegro, J.; García-Fandiño, R.; Amorín, M.; Granja, J. R. *Curr. Top. Med. Chem.* **2014**, *14*, 2647-2661.

<sup>170</sup> Fernández-López, S.; Kim, H.-S.; Choi, E. C.; Delgado, M.; Granja, J. R.; Khasanov, A.; Kraehenbuehl, K.; Long, G.; Weinberger, D. A.; Wilcoxon, K. M.; Ghadiri, M. R. *Nature* **2001**, *412*, 452-455.

hidrofóbicos en la preparación de los CPs, éstos se disponían en paralelo a la membrana lipídica, actuando como agentes antimicrobianos.<sup>165,170</sup> También se observó que los *D,L*- $\alpha$ -CPs anfipáticos y catiónicos presentan similitudes estructurales con las placas amiloides; por lo que pueden actuar como inhibidores de la enfermedad de Alzheimer al impedir la agregación de las proteínas A $\beta$  hacia formas tóxicas.<sup>206</sup> Recientemente, se han descrito resultados similares en la inhibición de la agregación de la  $\alpha$ -Sinucleína, un proceso asociado a la enfermedad de Parkinson.<sup>207</sup>

La funcionalización externa, mediante el anclaje de nuevas moléculas funcionales que no influyen en el proceso de autoensamblaje, permiten obtener materiales híbridos que expanden el rango de propiedades de los SCPNs. En este sentido, el grupo de Ghadiri preparó CPs análogos a las mannopeptimicinas, con propiedades antimicrobianas, mediante la incorporación de sacáridos en las cadenas laterales.<sup>208</sup> Los CPs resultantes mostraron una menor toxicidad frente a células mamíferas, al mismo tiempo que mantenían su potencial bactericida.

El anclaje de moléculas en la periferia de los ciclopeptidos formadores de nanotubos también ha hecho posible la preparación de cables de tamaño nanométrico. Con respecto a esto, el propio Ghadiri diseñó un CP que portaba cuatro unidades de una diimida 1,4,5,8-naftalenotetracarboxílica (NDI) unidas a través de residuos de lisina.<sup>209</sup> Dichos CPs modificados se autoensamblaban con los grupos NDI apilados dando lugar a nanotubos electrónicamente deslocalizados. En nuestro grupo de investigación también hemos sintetizado cables moleculares 1 D mediante el empleo de un  $\alpha,\gamma$ -CP acoplado a un grupo C<sub>60</sub>.<sup>210</sup> Este diseño conducía a la formación de SCPNs en los que las unidades de fullereno se disponían alternativamente a un lado y otro de la estructura tubular formando un ángulo de 180° entre unidades. Este ordenamiento origina una estructura en la cual el nanotubo central estaba escoltado por dos filas de C<sub>60</sub> alineados. En esta misma línea, se han preparado  $\beta$ -ciclopeptidos decorados con unidades de tetratíafulvaleno (TTF), que una vez más daban lugar al alineamiento de los grupos en la estructura tubular resultante.<sup>211</sup> Los cristales obtenidos de este tipo de estructuras tubulares mostraron propiedades típicas de semiconductores tipo p.

---

<sup>206</sup> Richman, M.; Wilk, S.; Chemerovski, M.; Wärmländer, S. K. T. S.; Wahlström, A.; Gräslund, A.; Rahimipour, S. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 3474-3484.

<sup>207</sup> Chemerovski-Glikman, M.; Rozentur-Shkop, E.; Richman, M.; Grupi, A.; Getler, A.; Cohen, H. Y.; Shaked, H.; Wallin, C.; Wärmländer, S. K. T. S.; Haas, E.; Gräslund, A.; Chill, J. H.; Rahimipour, S. *Chem. Eur. J.* **2016**, *22*, 14236-14246.

<sup>208</sup> Motiei, L.; Rahimipour, S.; Thayer, D. A.; Wong, C.-H.; Ghadiri, M. R. *Chem. Commun.* **2009**, 3693-3695.

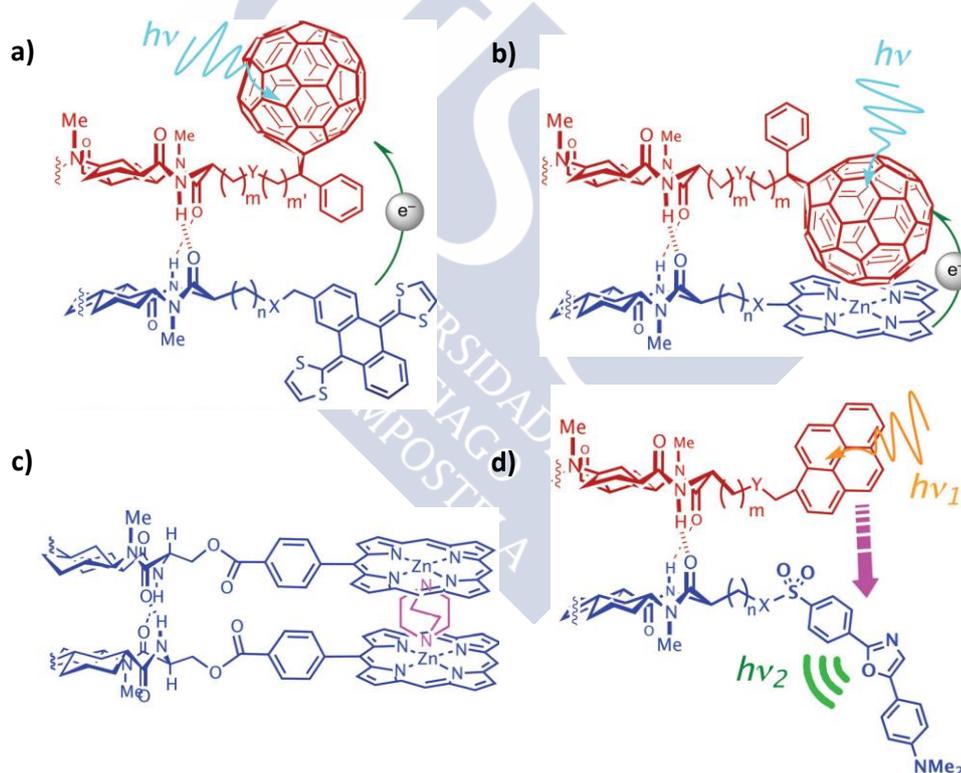
<sup>209</sup> Ashkenasy, N.; Horne, W. S.; Ghadiri, M. R. *Small* **2006**, *2*, 99-102.

<sup>210</sup> Reiriz, C.; Brea, R. J.; Arranz, A.; 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.

<sup>211</sup> Uji, H.; Kim, H.; Imai, T.; Mitani, S.; Sugiyama, J.; Kimura, S. *Biopolymers* **2016**, *106*, 275-282.

<sup>191</sup> Brea, R. J.; Castedo, L.; Granja, J. R.; Herranz, M. A.; Sánchez, L.; Martín, N.; Seitz, W.; Guldi, D. M. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2007**, *104*, 5291-5294.

También se han preparado sistemas con propiedades electrónicas utilizando estructuras diméricas. Con este objetivo, en base al equilibrio homodímero-heterodímero, descrito anteriormente, se han conseguido preparar sistemas fotosintéticos artificiales eficientes. De esta forma, se diseñó un heterodímero basado en dos  $\alpha,\gamma$ -ciclohexapéptidos (uno basado en Acp y otro en Ach) en el cual uno de los CPs portaba una unidad electrodonadora (derivado de tetratrafalvaleno  $\pi$ -extendido) y el segundo un aceptor de electrones (fullereno) (Figura 56a).<sup>191</sup> Los estudios demostraron que la fotoexcitación de este híbrido daba lugar a la transferencia electrónica desde el fulvaleno al  $C_{60}$  debido a la proximidad de dichos grupos en el espacio. Más recientemente, se ha preparado un sistema similar en el que la unidad electrodonadora era, en este caso, una porfirina de Zn (Figura 56b).<sup>212</sup> La mayor diferencia encontrada fue la existencia de una interacción atractiva entre la porfirina y el fullereno que estabilizaba el heterodímero y situaba los grupos electrónicos próximos en el espacio. Esta característica aumentaba la eficiencia del proceso de transferencia de electrones a través del espacio.



**Figura 56.** Aplicaciones de algunas estructuras diméricas basadas en  $\alpha,\gamma$ -ciclohexapéptidos. a) y b) Modelos de sistemas supramoleculares dador-aceptor que dan lugar a procesos de transferencia electrónica. c) Modelo de reconocimiento selectivo de diaminas en un sistema de tipo pinza homodimérico. d) Modelo de heterodímero constituido por CPs que portan grupos pireno y dapsilo que dan lugar a procesos de transferencia de energía (FRET) eficientes.

<sup>212</sup> Aragay, G.; Ventura, B.; Guerra, A.; Pintre, I.; Chiorboli, C.; García-Fandiño, R.; Flamigni, L.; Granja, J. R.; Ballester, P. *Chem. Eur. J.* **2014**, *20*, 3427-3438.

Adicionalmente, este tipo de híbridos CP-porfirina se han utilizado para fijar uno de los rotoisómeros del dímero (Figura 56c).<sup>213</sup> Para ello, aprovechando la capacidad de la porfirina metalada para coordinar ligandos nitrogenados, se añadió una diamina terciaria (DABCO) o una bipyridina para obtener el complejo sándwich. Este reconocimiento a través de la superficie externa conlleva la obtención del compuesto tipo pinza como única especie.

A parte de sistemas de transferencia de electrones, también se han sintetizado sistemas de transferencia de energía a partir de heterodímeros  $\alpha,\gamma$ -ciclopeptídicos (Figura 56d). La incorporación de un pireno a uno de los CPs y una unidad de dapoxilo al péptido complementario, dio lugar a un sistema FRET (*fluorescence resonance energy transfer*) debido a la confrontación de los grupos en el heterodímero.<sup>190,192</sup> Además, el equilibrio homodímero/heterodímero se pudo seguir por fluorescencia ya que cada una de las especies presenta señales características. Resultados similares se obtuvieron cuando el par pireno/perileno se usó en octapéptidos.

El control de la longitud del nanotubo es uno de los mayores retos en este tipo de estructuras, ya que no se puede obtener de forma sencilla. Pese a ello, algunos autores han propuesto aproximaciones interesantes basadas en el empleo de polímeros o listones de longitud definida. Con este propósito, en el grupo de Perrier estudiaron el autoensamblaje de CPs unidos a polímeros de longitud precisa, mediante una reacción de cicloadición azida-alquino catalizada por Cu.<sup>214</sup> Esta conjugación permitió controlar en cierta medida la longitud de los nanotubos formados, que dependía tanto del tamaño del polímero como del medio empleado. Además, el estudio puso de manifiesto que la mezcla de disolventes, la longitud del polímero y la temperatura tenían un efecto directo sobre el tamaño del SCPN.

A parte de la funcionalización covalente, también se han sintetizado materiales conjugados de manera supramolecular. El ejemplo más destacado fue la preparación de híbridos de SCPNs y nanotubos de carbono de pared simple (SWCNTs) desarrollados en nuestro grupo de investigación.<sup>215</sup> Con esta intención se sintetizó un  $\alpha,\gamma$ -CP con un pireno enlazado a través de un residuo de Lys, ya que es conocida la capacidad de dicho areno para interactuar con los nanotubos de carbono mediante fuerzas de tipo  $\pi$ - $\pi$ .<sup>216</sup> La combinación de los SWCNTs y los CPs condujo a la formación de la estructura híbrida, donde los nanotubos de carbono ejercían un efecto plantilla en el autoensamblaje de las unidades ciclopeptídicas. El estudio de las propiedades del sistema resultante reveló que la especie

<sup>213</sup> Hernández-Eguía, L. P.; Brea, R. J.; Castedo, L.; Ballester, P.; Granja, J. R. *Chem. Eur. J.* **2011**, *17*, 1220-1229.

<sup>190</sup> Brea, R. J.; Pérez-Alvite, M. J.; Panciera, M.; Mosquera, M.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Chem. Asian J.* **2011**, *6*, 110-121.

<sup>192</sup> Brea, R. J.; Vázquez, M. E.; Mosquera, M.; Castedo, L.; Granja, J. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 1653-1657.

<sup>214</sup> (a) Gody, G.; Roberts, D. A.; Maschmeyer, T.; Perrier, S. *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138*, 4061-4068; (b) Chapman, R.; Jolliffe, K. A.; Perrier, S. *Polym. Chem.* **2011**, *2*, 1956-1963.

<sup>215</sup> Montenegro, J.; Vázquez-Vázquez, C.; Kalinin, A.; Geckeler, K. E.; Granja, J. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 2484-2491.

<sup>216</sup> Chen, R. J.; Zhang, Y.; Wang, D.; Dai, H. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 3838-3839.

conjugada combina las propiedades de ambos componentes; es decir, la solubilidad en agua debida a los nanotubos peptídicos y la conductividad eléctrica característica de los SWCNTs. Usando el mismo CP funcionalizado con una unidad de pireno, se preparó otro material híbrido mediante la combinación de los nanotubos peptídicos resultantes con clústeres de plata subnanométricos (SNMCs).<sup>217</sup> Los experimentos de microscopía de fuerza atómica (AFM) también mostraron la formación de dominios ordenados en los que los SNMCs se alinean preferentemente en la parte superior de los nanotubos peptídicos.

### 3.3.1. Materiales porosos

La preparación de materiales porosos nanoestructurados con poros de tamaño definido constituye un área de gran interés debido a la posibilidad de ser implementados en membranas que presentan una selectividad mejorada.<sup>218</sup> Una estrategia muy eficaz a la hora de conseguir este tipo de estructuras consiste en el autoensamblaje de moléculas pequeñas para dar lugar a estructuras estables, que se caracterizan por presentar una disposición ordenada de los poros y un tamaño controlado de los mismos.<sup>158a,219</sup> Con respecto a esto, algunos autores han basado sus diseños en ciclopéptidos formadores de nanotubos, ya que como hemos expuesto a lo largo de esta introducción, permiten un control muy preciso sobre el diámetro interno. Un ejemplo de este método de obtención de materiales porosos lo encontramos en los trabajos de Bielsalski, que para dicho propósito, utilizó un *D,L*- $\alpha$ -CP enlazado a un grupo iniciador de polímeros (Figura 57).<sup>220</sup> De esta forma, una vez que los CPs se autoensamblaban para formar las correspondientes estructuras tubulares, el iniciador, en condiciones adecuadas, promovía la polimerización sobre la superficie del nanotubo, formando un material polimérico con un tamaño de poro definido por el diámetro del ciclopéptido precursor.

---

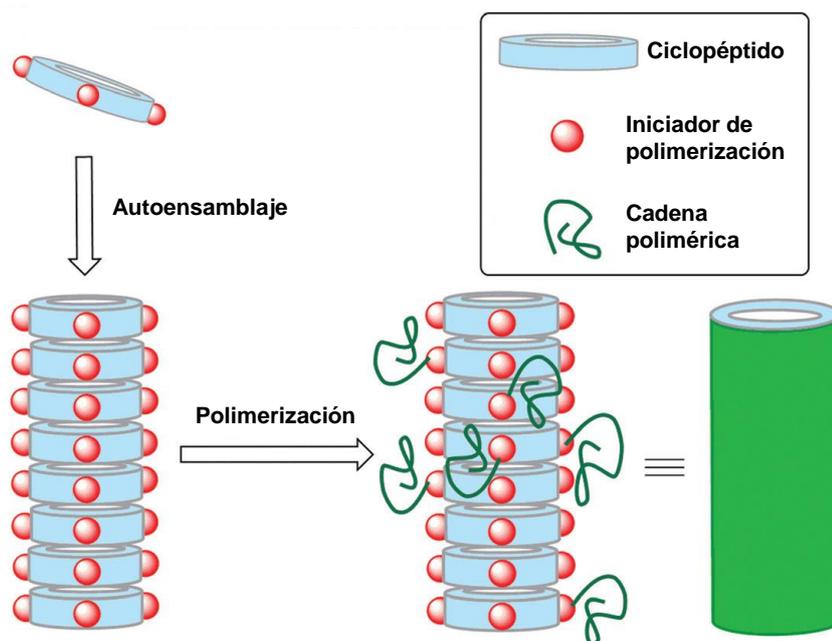
<sup>217</sup> Cuerva, M.; García-Fandiño, R.; Vázquez-Vázquez, C.; López-Quintela, M. A.; Montenegro, J.; Granja, J. R. *ACS Nano* **2015**, *11*, 10834-10843.

<sup>218</sup> Wu, D.; Xu, F.; Sun, B.; Fu, R.; He, H.; Matyjaszewski, K. *Chem. Rev.* **2012**, *112*, 3959-4015.

<sup>158a</sup> Brea, R. J.; Reiriz, C.; Granja, J. R. *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39*, 1448-1456.

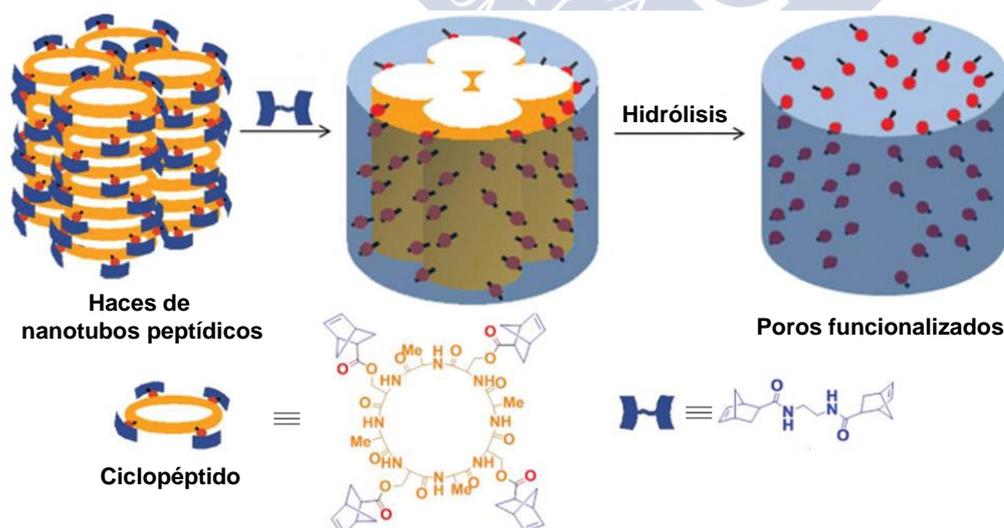
<sup>219</sup> (a) Mastalerz, M. *Chem. Eur. J.* **2012**, *18*, 10082-1091; (b) Afonso, R.; Mendes, A.; Gales, L. J. *Mater. Chem.* **2012**, *22*, 1709-1723; (c) Bong, D. T.; Clark, T. D.; Granja, J. R.; Ghadiri, M. R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 988-1011.

<sup>220</sup> Couet, J.; Jeyaprakash, J. D.; Samuel, S.; Kopyshchev, A.; Santer, S.; Biesalski, M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 3297-3301.



**Figura 57.** Representación esquemática de la formación de un material polimérico poroso a partir de ciclopéptidos formadores de nanotubos enlazados a grupos iniciadores de polímeros.

Esta estrategia también permitió modificar las propiedades del poro. Usando los SCPNs como plantilla, se han preparado películas poliméricas porosas con grupos carboxilato en el interior del canal (Figura 58).<sup>221</sup> Para ello, se utilizó un CP unido a cuatro unidades de norborneno a través de enlaces éster. De este modo, una vez formados los correspondientes nanotubos y polimerizado el sistema resultante, la hidrólisis de dichos ésteres condujo a la obtención de un material con poros de diámetro definido, ricos en grupos carboxílicos.



**Figura 58.** Representación esquemática de la formación de un polímero con poros funcionalizados.

<sup>221</sup> Potnuru, M.; Madhavan, N. *Polym. Chem.* **2016**, *7*, 31-35.

De manera similar, Xu y colaboradores, combinaron *D,L*- $\alpha$ -CPs y copolímeros de bloque para la obtención de materiales microporosos.<sup>222</sup> En este caso, los autores partieron de una disolución del híbrido péptido-polímero en una matriz formada por un copolímero de bloque. La aplicación de ciclos de calentamiento-enfriamiento a dicha mezcla condujo al autoensamblaje del híbrido dentro de la matriz para formar películas poliméricas con canales. Una vez sintetizado el material, se ensayó frente al transporte de gases, donde se pudo comprobar que existía una cierta selectividad de tamaño ya que la velocidad de difusión era mayor para los gases más pequeños como el dióxido de carbono.

#### 4. Cristales líquidos

Otra aproximación muy interesante para la obtención de materiales porosos, con poros cilíndricos bien organizados, se basa en el uso de fuerzas mesogénicas que dirigen el autoensamblaje de las distintas unidades hacia la formación de fases de cristal líquido (CL). La mayoría de los materiales sólidos dan lugar a líquidos isotropos directamente al fundirse. Sin embargo, en algunos casos, se forman una o más fases intermedias, denominadas mesofases, donde el material tiene una estructura ordenada y al mismo tiempo la movilidad propia de un líquido. Los compuestos que tienen esta característica se denominan cristales líquidos (o mesógenos).<sup>223</sup>

Existen diversas clasificaciones para los cristales líquidos. En cuanto a su modo de preparación se distinguen dos grandes clases: liotrópicos y termotrópicos.<sup>223</sup> Los cristales líquidos liotrópicos son aquellos que tienen lugar al destruir la red cristalina del compuesto por adición de un disolvente. Por su parte, los termotrópicos se forman por fusión de la fase sólida y pueden mostrar diferentes temperaturas de transición entre fases: transiciones cristal-cristal, cristal-mesofase (desde el sólido a la primera mesofase), mesofase-mesofase (cuando existen diferentes mesofases) y punto de aclaramiento (de la última mesofase al líquido isotropo). En general, estas transiciones se observan tanto al calentar la muestra como al enfriarla (transiciones enantiotrópicas), pero en algunos casos sólo se observan al enfriar (transiciones monotrópicas).

Dentro de los cristales líquidos termotrópicos se distinguen dos tipos según la clase de moléculas que los componen: calamíticos, en los que la molécula precursor tiene forma de cálamo o varilla; y discóticos, formados a partir de unidades con forma de disco.<sup>224</sup> En este último tipo, las moléculas discóticas pueden generar fases discóticas o columnares (Col) en función de si se produce o no el apilamiento de las distintas unidades (Figura 59). Las

---

<sup>222</sup> (a) Zhang, C.; Xu, T. *Nanoscale* **2015**, *7*, 15117-15121; (b) Xu, T.; Zhao, N.; Ren, F.; Hourani, R.; Lee, M. T.; Shu, J. Y.; Mao, S.; Helms, B. A. *ACS Nano* **2011**, *5*, 1376-1384.

<sup>223</sup> Goodby, J. W.; Gray, G. W. *Handbook of Liquid Crystals*, Vol. 1, Wiley-VCH, New York, 1998.

<sup>224</sup> (a) Goodby, J. W.; Saez, I. M.; Cowling, S. J.; Gortz, V.; Draper, M.; Hall, A. W.; Sia, S.; Cosquer, G.; Lee, S. E.; Raynes, E. P. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 2754-2787; (b) Tschierske, C. *J. Mater. Chem.* **1998**, *8*, 1485-1508.

mesofases columnares son las más prometedoras a la hora de preparar materiales porosos ya que las columnas resultantes se asocian, dejando huecos a lo largo de la estructura.

A su vez, estas mesofases columnares muestran una amplia variedad de estructuras que se clasifican según la simetría, la orientación de los discos con respecto al eje de la columna y el grado de orden dentro de la columna. Si las columnas exhiben orden orientacional pero no posicional, la fase se denomina nemática columnar ( $N_{Col}$ ). Por otra parte, cuando las columnas se orientan paralelamente y se disponen en capas se obtiene una fase columnar lamelar ( $Col_l$ ). En algunos casos las columnas, además de orientarse de forma paralela, se empaquetan en estructuras bidimensionales periódicas. Según la simetría de la red bidimensional en el plano perpendicular a los ejes de las columnas, la mesofase puede ser columnar hexagonal ( $Col_h$ ), oblicua ( $Col_{ob}$ ) o rectangular ( $Col_r$ ); entre otras.<sup>225</sup> Finalmente, según el grado de orden dentro de la columna, las fases se clasifican en ordenadas o desordenadas, en función de si la correlación en el apilamiento columnar se extiende a larga o a corta distancia.

Las diferentes mesofases existentes, se asocian con texturas características cuando se observa la muestra con un microscopio óptico entre polarizadores cruzados, a causa de la diferente distribución molecular que poseen.<sup>226</sup> Por tanto, la microscopía óptica es una de las técnicas empleadas para identificar el tipo de mesofase que presenta un compuesto con comportamiento de cristal líquido. Desafortunadamente, en muchos casos las imágenes no son lo suficientemente concluyentes.<sup>227</sup> Por el contrario, la difracción de rayos X (DRX) permite obtener una caracterización estructural completa incluyendo el tipo de mesofase e información acerca del ordenamiento de las moléculas en la superestructura.<sup>228</sup> Así que ambas técnicas se usan de forma complementaria. Adicionalmente, la calorimetría diferencial de barrido (DSC), proporciona información acerca de las temperaturas y las entalpías de transición entre las distintas fases.

<sup>225</sup> (a) Guillon, D. *Struct. Bond.* **1999**, 95, 41-82; (b) Chandrasekhar, S. En *Handbook of Liquid Crystals*, Vol. 2B, Ed. Demus, D.; Goodby, J.; Gray, G. W.; Spies, H.-W.; Vill, V., Wiley-VCH: Weinheim, Germany, 1998, p. 750-780.

<sup>226</sup> Dierking, I. *Textures of Liquid Crystals*, Wiley-VCH: Weinheim, Germany, 2003.

<sup>227</sup> (a) Laschat, S.; Baro, A.; Steinke, N.; Giesselmann, F.; Hagele, C.; Scalia, G.; Judele, R.; Kapatsina, E.; Sauer, S.; Schreivogel, A.; Tosoni, M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, 46, 4832-4887; (b) Destrade, C.; Foucher, P.; Gasparoux, H.; Tinh, N. H.; Levelut, A. M.; Malthete, J. *Mol. Cryst. Liq. Cryst.* **1984**, 106, 121-146.

<sup>228</sup> (a) Prasad, S. K.; Rao, D. S. S.; Chandrasekhar, S.; Kumar, S. *Mol. Cryst. Liq. Cryst.* **2003**, 396, 121-139; (b) Kouwer, P. H. J.; Jager, W. F.; Mijs, W. J.; Picken, S. J. *J. Mater. Chem.* **2003**, 13, 458-469.

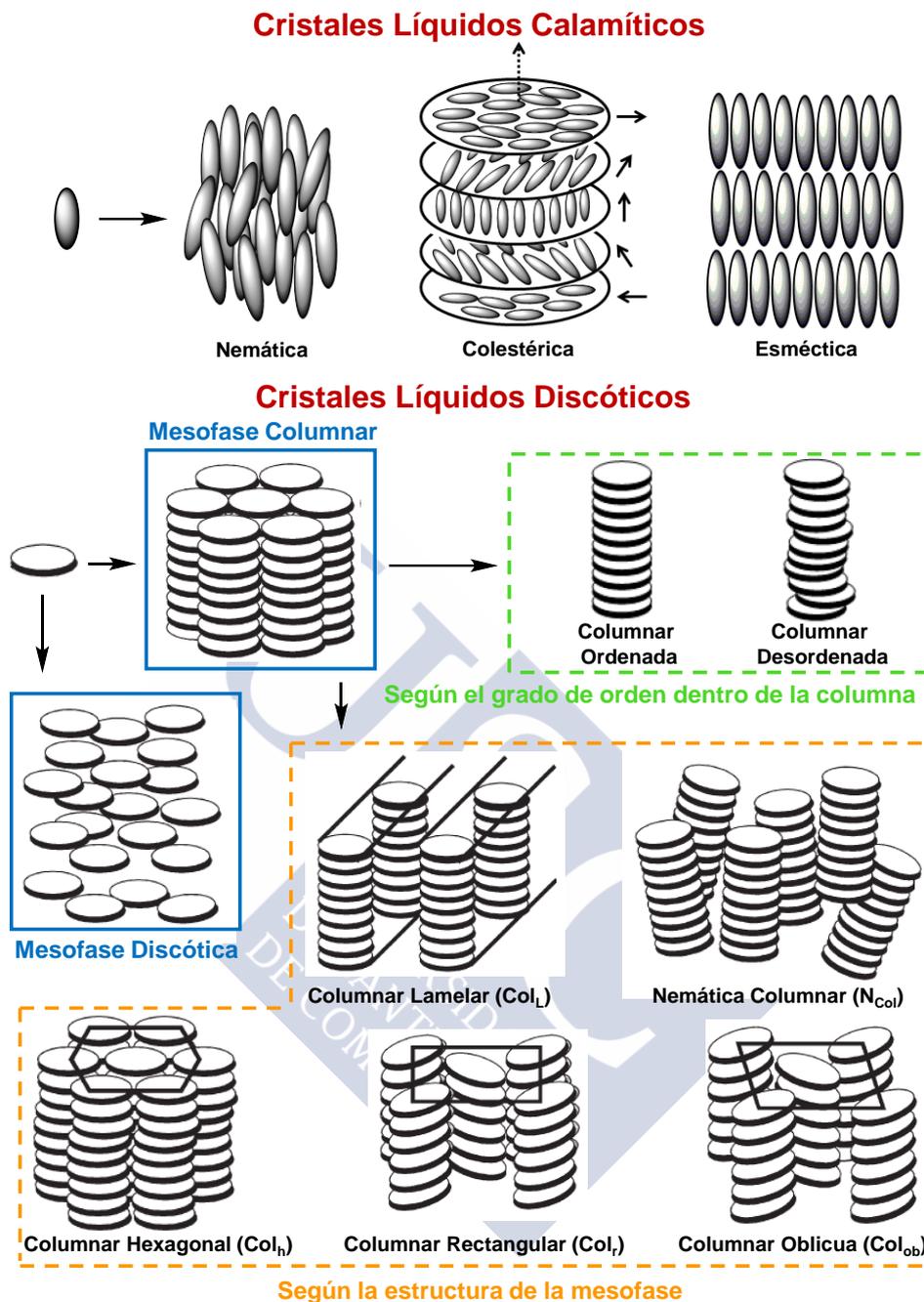


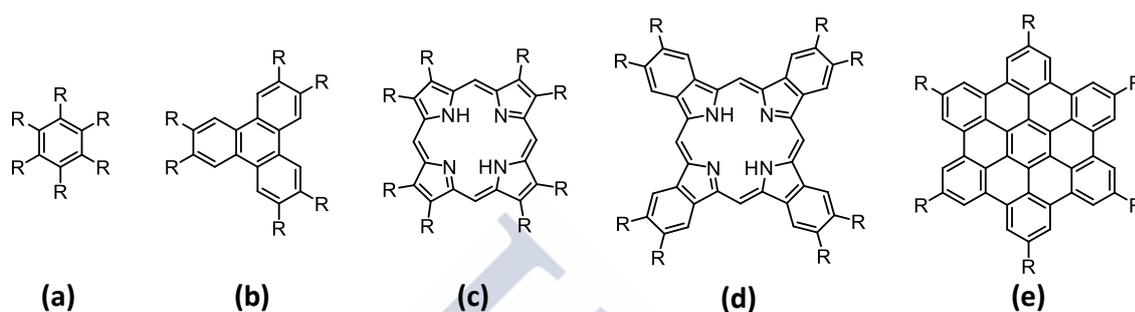
Figura 59. Clasificación de los cristales líquidos termotrópicos.

#### 4.1. Precursores de cristales líquidos columnares

Como hemos indicado anteriormente, los cristales líquidos columnares se basan en moléculas con forma de disco.<sup>229</sup> En general, las moléculas discóticas consisten en un núcleo central rígido y plano, normalmente aromático, rodeado por cadenas hidrocarbonadas de 5 o

<sup>229</sup> (a) Wöhrle, T.; Wurzbach, I.; Kirres, J.; Kostidou, A.; Kapernaum, N.; Litterscheidt, J.; Haenle, J. C.; Staffeld, P.; Baro, A.; Giesselmann, F.; Laschat, S. *Chem. Rev.* **2016**, *116*, 1139-1241; (b) Kumar, S. *Chemistry of Discotic Liquid Crystals: From Monomers to Polymers*, CRC Press: Boca Raton, FL, 2011.

más átomos de carbono. El núcleo central es el responsable del apilamiento columnar, que se produce a través de interacciones  $\pi$ - $\pi$  entre los anillos aromáticos. Por otra parte, las cadenas hidrocarbonadas proporcionan una estabilidad adicional a la estructura debido a las interacciones hidrofóbicas que se establecen entre ellas y, además, reducen la correlación entre columnas vecinas. En base a estas premisas, se han preparado moléculas discóticas con núcleos de benceno,<sup>230</sup> trifenileno,<sup>231</sup> porfirina,<sup>232</sup> ftalocianina<sup>233</sup> y hexabenzocoroneno;<sup>234</sup> entre otros (Figura 60).<sup>229a</sup>



**Figura 60.** Representación estructural de moléculas discóticas con núcleos de: a) benceno, b) trifenileno, c) porfirina, d) ftalocianina y e) hexabenzocoroneno.

## 4.2. Moléculas discóticas supramoleculares

Aunque el mesomorfismo de tipo columnar se obtiene, fundamentalmente, a partir de moléculas con forma de disco, no está limitado únicamente a precursores con este tipo de geometría. Así, por ejemplo, los cristales líquidos fasmídicos,<sup>235</sup> que presentan una mesofase columnar, están formados por moléculas policatenares lineales que portan las colas alifáticas en ambos extremos de la estructura (Figura 61). En este tipo de sistemas, la fase columnar se forma cuando varias moléculas se agrupan en agregados discóticos mediante fuerzas de enlace débil (van der Waals,  $\pi$ - $\pi$  o interacciones por enlace de hidrógeno).

<sup>230</sup> (a) Kumar, S. *Handbook of liquid crystals*, Vol. 4; Ed. Goodby, J. W.; Collings, P. J.; Kato, T.; et al.; Weinheim, Germany: Wiley-VCH; 2014; pp 467-520; (b) Lehmann, M.; Fischbach, I.; Spiess, H. W.; Meier, H. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 772-784; (c) Bushey, M. L.; Nguyen, T.-Q.; Zhang, W.; Horoszewski, D.; Nuckolls, C. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 5446-5453.

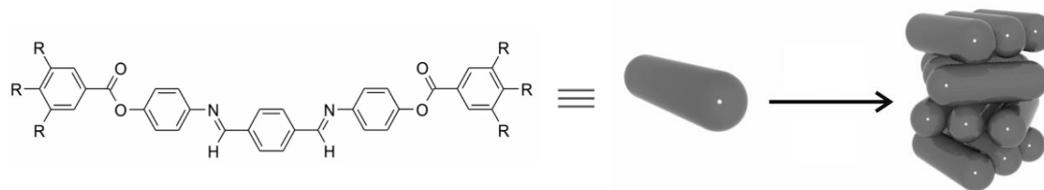
<sup>231</sup> Kumar, S. *Chem. Soc. Rev.* **2006**, *35*, 83-109.

<sup>232</sup> (a) Yamaguchi, T.; Kimura, T.; Matsuda, H.; Aida, T. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 6350-6355; (b) Uno, H.; Masumoto, A.; Ono, N. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 12082-12083.

<sup>233</sup> (a) Ahmida, M. M.; Eichhorn, S. H. *ECS Trans.* **2010**, *25*, 1-10; (b) Nolte, R. J. M.; van der Pol, J. F.; Neeleman, E.; Zwikker, J. W.; Drenth, W.; Aerts, J.; Visser, R.; Picken, S. J. *Liq. Cryst.* **2006**, *33*, 1373-1387; (c) Cook, M. J. *Chem. Rec.* **2002**, *2*, 225-236.

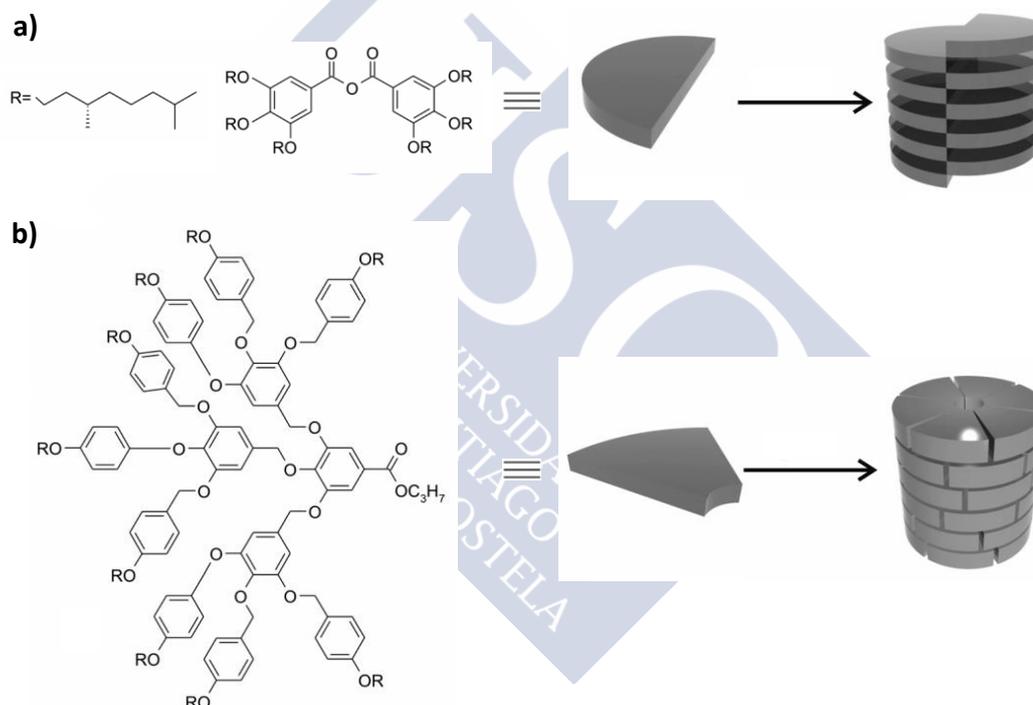
<sup>234</sup> (a) Pisula, W.; Feng, X.; Müllen, K. *Adv. Mater.* **2010**, *22*, 3634-3649; (b) Pisula, W.; Tomovic, Z.; Watson, M. D.; Müllen, K.; Kussmann, J.; Ochsenfeld, C.; Metzroth, T.; Gauss, J. *J. Phys. Chem. B* **2007**, *111*, 7481-7487.

<sup>235</sup> (a) Gharbia, M.; Gharbi, A.; Nguyen, H. T.; Málthete, J. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **2002**, *7*, 312-325; (b) Raïs, K.; Daoud, M.; Gharbia, M.; Gharbi, A.; Nguyen, H. T. *Chemphyschem* **2001**, *2*, 45-49.



**Figura 61.** Representación esquemática de la formación de una mesofase columnar a partir de unidades discóticas constituidas por moléculas calamíticas. La unidad discótica se genera mediante la unión de varias moléculas calamíticas a través de interacciones intermoleculares.

Siguiendo este mismo principio, se han diseñado otras estructuras que, al igual que los compuestos anteriores, pueden organizarse en agregados supramoleculares discóticos para dar lugar a mesofases columnares. Este es el caso de los anhídridos de los ácidos 3,4,5-trialcoxibenzoicos,<sup>236</sup> con forma de semidisco, que dimerizan a través de interacciones dipolo-dipolo o de los dendrones con forma de cuña,<sup>237</sup> que se auto-organizan en estructuras de tipo roseta unidas mediante fuerzas de enlace débil (Figura 62).

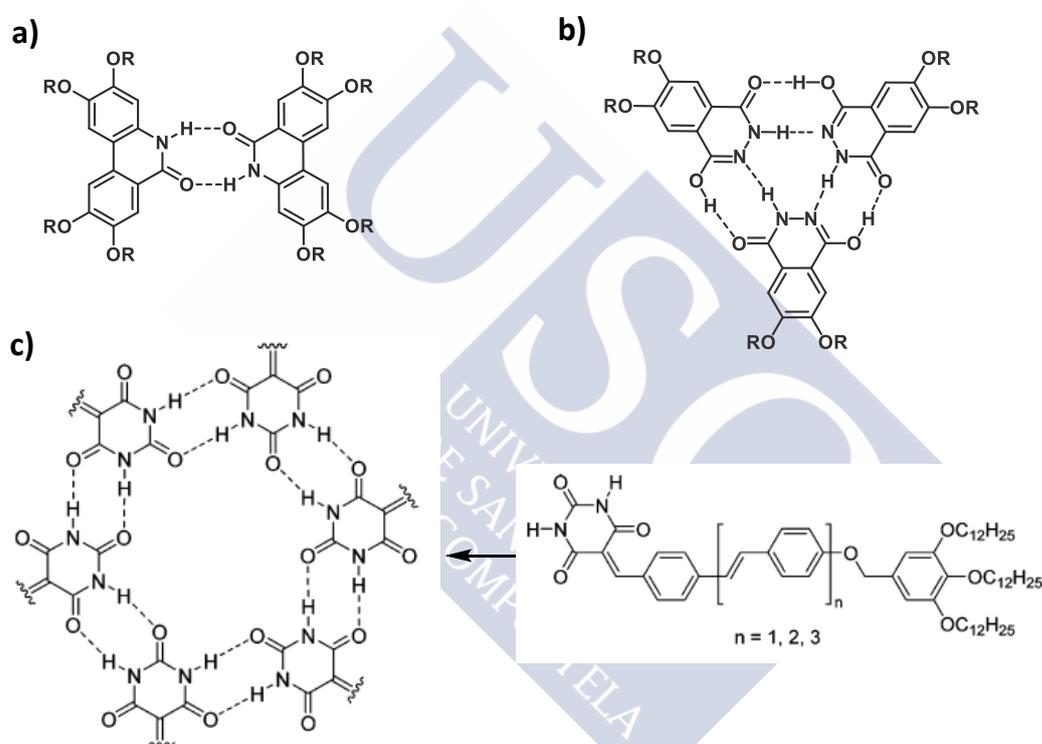


**Figura 62.** Representación esquemática de la formación de una mesofase columnar a partir de unidades discóticas constituidas por moléculas calamíticas. La unidad discótica se genera mediante la unión de varias moléculas calamíticas a través de interacciones intermoleculares.

<sup>236</sup> (a) Kishikawa, K.; Furusawa, S.; Yamaki, T.; Kohmoto, S.; Yamamoto, M.; Yamaguchi, K. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 1597-1605; (b) Omenat, A.; Barberá, J.; Serrano, J. L.; Houbrechts S.; Persoons, A. *Adv. Mater.* **1999**, *11*, 1292-1295.

<sup>237</sup> (a) Percec, V.; Mitchell, C. M.; Cho, W.-D.; Uchida, S.; Glodde, M.; Ungar, G.; Zeng, X.; Liu, Y.; V. S. K.; Heiney, P. A. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 6078-6094; (b) Jung, H. T.; Kim, S. O.; Ko, Y. K.; Yoon, D. K.; Hudson, S. D.; Percec, V.; Holerca, M. N.; Cho, W.-D.; Mosier, P. E. *Macromolecules* **2002**, *35*, 3717-3721; (c) Percec, V.; Cho, W.-D.; Ungar, G.; Yeardley, D. J. P. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 1302-1315.

En la formación de las moléculas discóticas supramoleculares, el enlace de hidrógeno es la interacción intermolecular elegida en la mayoría de los diseños, debido a su intensidad y direccionalidad. Un método de obtención de estructuras supramoleculares con forma de disco, consiste en el uso de un precursor que presenta una correcta disposición de los grupos aceptores y dadores para autoensamblarse con el ordenamiento requerido. Así, por ejemplo, los derivados de tetra(alcoxi)-6(5H)-fenantridonas dimerizan para dar lugar a la molécula discótica.<sup>238</sup> También podemos encontrar discos formados por un mayor número de unidades, como el caso de las 3,4-dialcoxifthalhidrazinas, en las que interaccionan tres moléculas en torno a un eje de simetría C<sub>3</sub>;<sup>239</sup> o los oligo(*p*-fenilenovinilenos) sustituidos con colas alifáticas y un ácido barbitúrico terminal, que forman macrociclos de seis unidades (Figura 63).<sup>240</sup>



**Figura 63.** Ejemplos de moléculas discóticas formadas por la interacción de subunidades con forma sectorial a través de enlaces de hidrógeno. (a) Dímero de tetra(alcoxi)-6(5H)-fenantridonas. (b) Trímero de 3,4-dialcoxifthalhidrazinas. (c) Formación de un hexámero a partir de un derivado de oligo(*p*-fenilenovinileno).

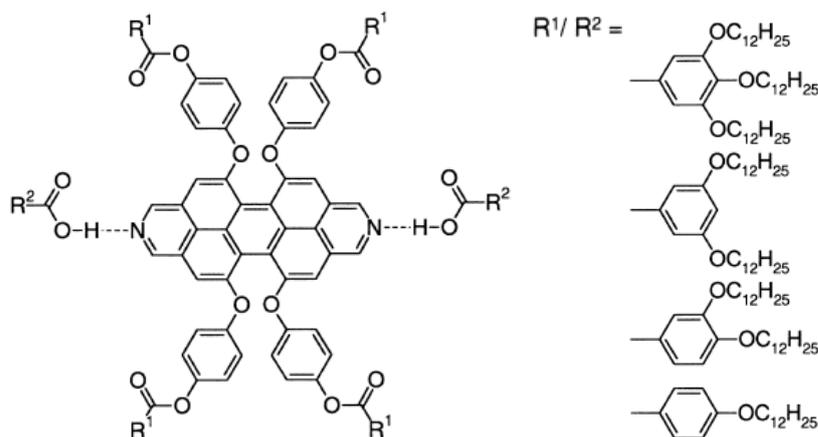
Sin embargo, la unidad discótica también puede formarse a partir de moléculas distintas. En relación a esto, en los últimos años se ha desarrollado una estrategia que consiste en utilizar sistemas de dos componentes en los que uno de ellos actúa a modo de plantilla y el otro porta las cadenas hidrocarbonadas. De este modo, la mezcla de ambos

<sup>238</sup> (a) Takezoe, H.; Kishikawa, K.; Gorecka, E. *J. Mater. Chem.* **2006**, *16*, 2412-2416; (b) Kleppinger, R.; Lilly, C. P.; Yang, C. *J. Am. Chem. Soc.*, **1997**, *119*, 4097-4102.

<sup>239</sup> Suárez, M.; Lehn, J.-M.; Zimmerman, S. C.; Skoulios, A.; Heinrich, B. *J. Am. Chem. Soc.*, **1998**, *120*, 9526-9532.

<sup>240</sup> Yagai, S.; Goto, Y.; Karatsu, T.; Kitamura, A.; Kikkawa, Y. *Chem. Eur. J.* **2011**, *17*, 13657-13660.

compuestos en cantidades estequiométricas conduce a la formación de estructuras con forma de disco en las que la molécula plantilla, situada en el centro, dispone los grupos portadores de las colas alifáticas en su periferia (Figura 64 y 65). Así, los heterocomplejos 1:2 de diazadibenzoperilenos y ácidos benzoicos decorados con cadenas hidrocarbonadas conducen a la formación de fases columnares, incluso si el derivado de perileno no tiene propiedades mesogénicas (Figura 64).<sup>241</sup>



**Figura 64.** Ejemplo de heterocomplejo 1:2 con forma de disco, constituido por unidades de diazadibenzoperileno y ácido benzoico.

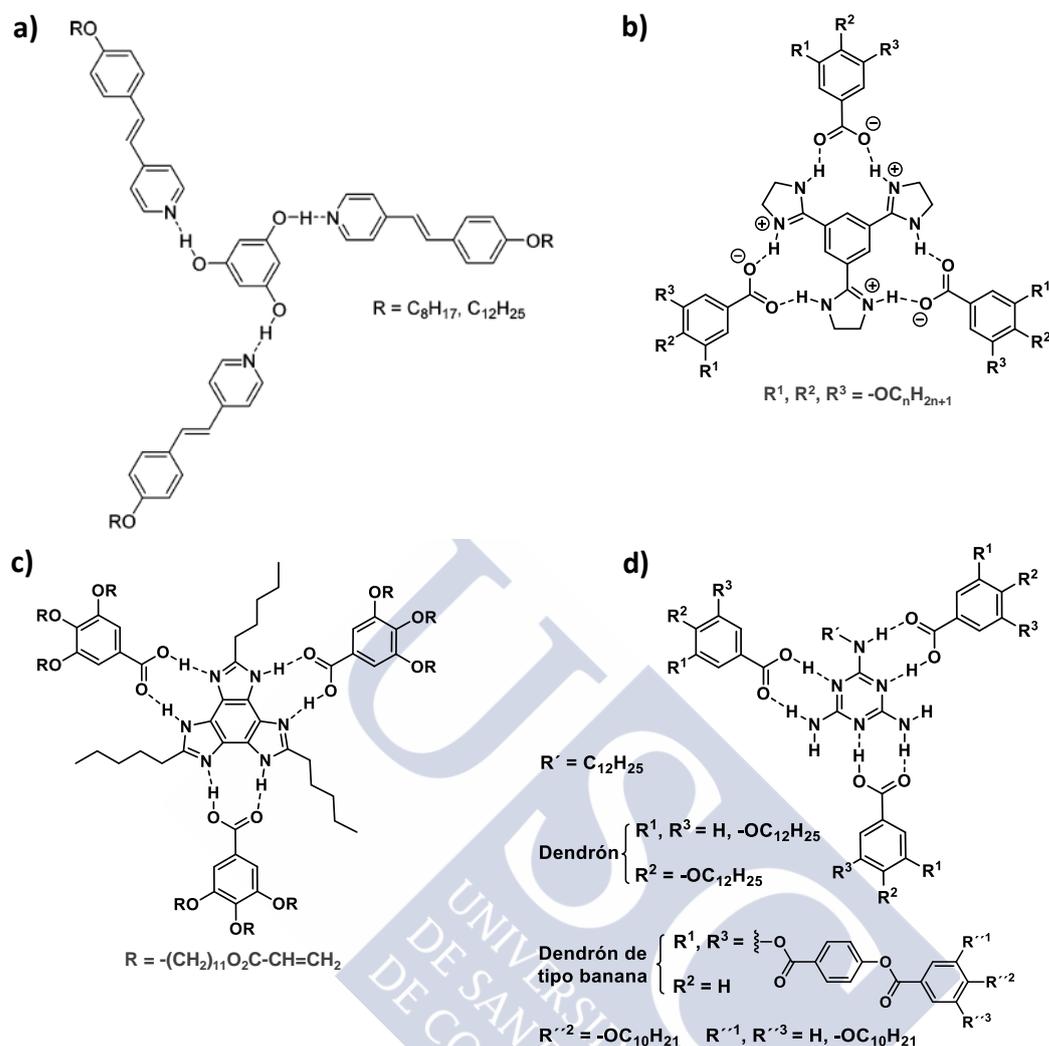
Dentro de este tipo de sistemas, la mayoría de los diseños se basan en heterocomplejos 1:3 que presentan un eje de simetría C<sub>3</sub> (Figura 65). Por ejemplo, Lee y colaboradores describieron moléculas discóticas con núcleos de un derivado del floroglucinol rodeados por tres unidades de estilbazol funcionalizadas con colas alifáticas.<sup>242</sup> Otros autores han utilizado moléculas plantilla con grupos imidazol, como el 1,3,5-*tris*(imidazoil)benzeno o el benzotris(imidazol), para interaccionar con ácidos benzoicos, generando de este modo el disco supramolecular.<sup>243</sup> Más recientemente, el grupo de Serrano empleó una mezcla binaria de un núcleo de melanina y tres ácidos carboxílicos policatenares de tipo dendrón o con forma de banana, para inducir la formación de mesofases columnares.<sup>244</sup>

<sup>241</sup> Sautter, A.; Thalacker, C.; Würther, F. *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 4557-4560.

<sup>242</sup> Lee, J. H.; Jang, I.; Hwang, S. H.; Lee, S. J.; Yoo, S. H.; Jho, J. Y. *Liq. Cryst.* **2012**, *39*, 973-981.

<sup>243</sup> (a) Lee, C. J.; Lee, S. J.; Chang, Y. J. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 3863-3866; (b) Lee, H.-K.; Lee, H.; Ko, Y. H.; Chang, Y. J.; Oh, N.-K.; Zin, W.-C.; Kimoon, K. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2669-2671; (c) Kraft, A.; Reichert, A.; Kleppinger, R. *Chem. Commun.* **2000**, 1015-1016.

<sup>244</sup> (a) Castelar, S.; Barberá, J.; Marcos, M.; Romero, P.; Serrano, J. L.; Golemme, A.; Terminec, R. *J. Mater. Chem. C* **2013**, *1*, 7321-7332; (b) Álvarez, L.; Barberá, J.; Puig, L.; Romero, P.; Serrano, J. L.; Sierra, T. *J. Mater. Chem.* **2006**, *16*, 3768-3773; (c) Barberá, J.; Puig, L.; Romero, P.; Serrano, J. L.; Sierra, T. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 4487-4492.



**Figura 65.** Ejemplos de heterocomplejos 1:3 con forma de disco unidos por enlace de hidrógeno. a) Estructura tetramérica desarrollada por Lee y colaboradores. b) y c) Unidades discóticas formadas a partir de moléculas plantilla con grupos imidazol. d) Complejos diseñados por Serrano constituidos por un núcleo de melanina y ácidos carboxílicos de tipo dendrón con forma de cuña o banana.

Este tipo de sistemas de dos componentes resulta especialmente interesante en la fabricación de materiales porosos con poros de tamaño regular y controlado. Para ello, la estrategia más extendida consiste en la utilización de heterocomplejos 1:3 que portan colas polimerizables. De este modo, una vez establecida la mesofase columnar, se procede a la polimerización del material y a la posterior retirada de la molécula plantilla del interior de la estructura.<sup>243,245</sup> Además, este método permite obtener películas poliméricas con poros funcionalizados, ya que una vez eliminado el núcleo, los grupos complementarios del enlace de hidrógeno quedan expuestos hacia la superficie interna (Figura 66).

<sup>243</sup> (a) Lee, C. J.; Lee, S. J.; Chang, Y. J. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 3863-3866; (b) Lee, H.-K.; Lee, H.; Ko, Y. H.; Chang, Y. J.; Oh, N.-K.; Zin, W.-C.; Kimoon, K. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2669-2671; (c) Kraft, A.; Reichert, A.; Kleppinger, R. *Chem. Commun.* **2000**, 1015-1016.

<sup>245</sup> Bögels, G. M.; Luggler, J. A. M.; Goor, O. J. G. M.; Sijbesma, R. P. *Adv. Funct. Mater.* **2016**, *26*, 8023-8030.

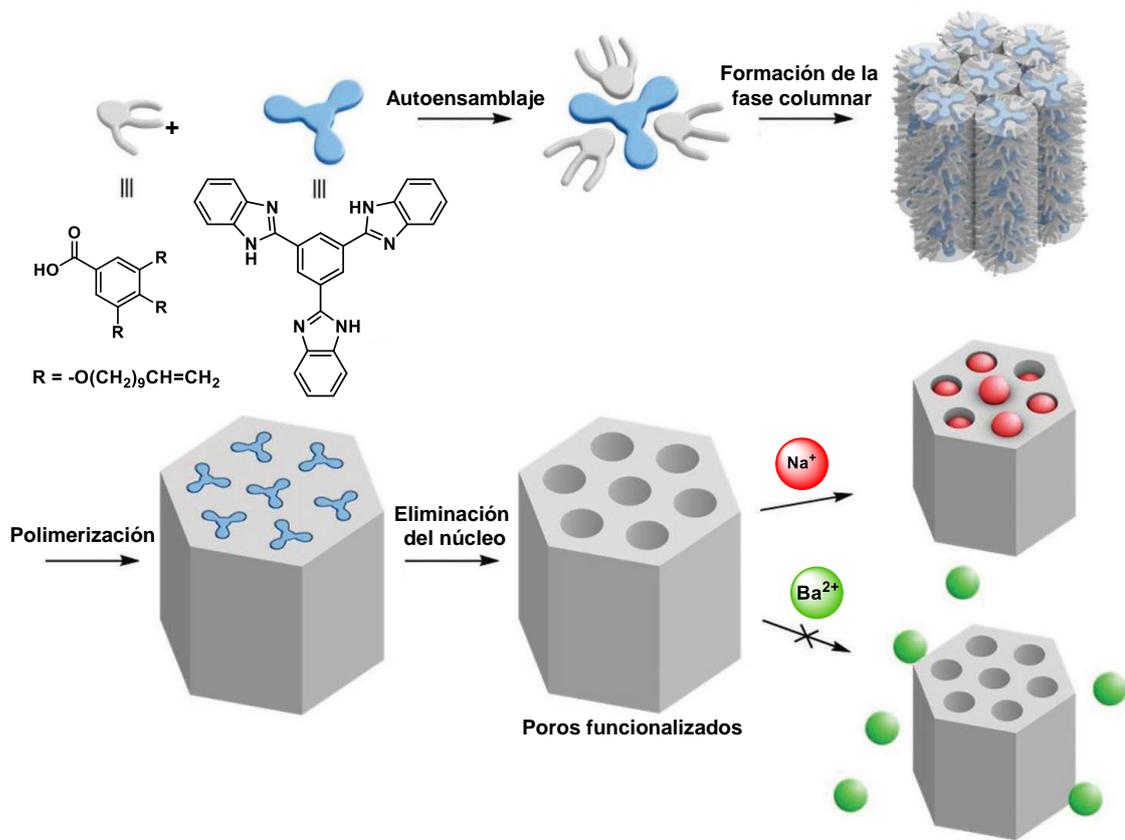


Figura 66. Preparación de materiales porosos a partir de heterocomplejos supramoleculares 1:3 con colas polimerizables.







## **Objetivos**



Como hemos visto a lo largo de la introducción, el desarrollo de la química supramolecular ha permitido sintetizar una amplia variedad de sistemas complejos a partir de moléculas sencillas, mediante el uso de las interacciones intermoleculares.<sup>14,21,22,23</sup> Gran parte de los esfuerzos en este campo se han centrado en la preparación de cavidades<sup>28,29</sup> y canales funcionales.<sup>151</sup> Una de las estrategias más interesantes para sintetizar este tipo de sistemas consiste en el apilado de ciclopéptidos, ya que permiten modular de manera sencilla el diámetro interno y las propiedades externas de la estructura tubular.<sup>151,158</sup>

Nuestro grupo de investigación está interesado en esta clase de arquitecturas supramoleculares. Por ello, en los últimos años ha desarrollado estructuras basadas en un nuevo tipo de ciclopéptidos con capacidad de autoensamblarse constituidos por  $\alpha$ -aminoácidos y unidades de ácido 3-aminocicloalcanocarboxílico ( $\gamma$ -Aca).<sup>163,178,179,180,181,182</sup> La principal novedad que aporta la incorporación de  $\gamma$ -aminoácidos cíclicos en la secuencia peptídica con respecto a otros diseños es que permite funcionalizar la cavidad interna del nanotubo. Esto se debe a que los metilenos de la posición  $\beta$  de los  $\gamma$ -Aca, quedan expuestos hacia la superficie interna de la estructura supramolecular. Por tanto, consideramos que estos sistemas resultarían muy atractivos para la construcción de materiales porosos y receptores con cavidades funcionalizadas.

Teniendo en cuenta estos aspectos, el primer objetivo que nos propusimos fue la preparación de materiales porosos, con poros de tamaño definido y funcionalizables,

<sup>14</sup> Liu, Z.; Nalluri, S. K. M.; Stoddart, J. F. *Chem. Soc. Rev.* **2017**, *46*, 2459-2478.

<sup>21</sup> (a) Lehn, J.-M. *Chem. Soc. Rev.* **2017**, *46*, 2378-2379; (b) Mali, K. S.; Pearce, N.; De Feyter, S.; Champness, N. R. *Chem. Soc. Rev.* **2017**, *46*, 2520-2542; (c) Gale, P. A.; Davis, J. T.; Quesada, R. *Chem. Soc. Rev.* **2017**, *46*, 2497-2519; (d) Murray, J.; Kim, K.; Ogoshi, T.; Yaod, W.; Gibb, B. C. *Chem. Soc. Rev.* **2017**, *46*, 2479-2496; (e) Chen, L.-J.; Yang, H.-B.; Shionoya, M. *Chem. Soc. Rev.* **2017**, *46*, 2555-2576; (f) Lewis, J. E. M.; Beer, P. D.; Loeb, S. J.; Goldup, S. M. *Chem. Soc. Rev.* **2017**, *46*, 2577-2591; (g) Kolesnichenko, I. V.; Anslyn, E. V. *Chem. Soc. Rev.* **2017**, *46*, 2385-2390.

<sup>22</sup> (a) Ashkenasy, G.; Hermans, T. M.; Otto, S.; Taylor, A. F. *Chem. Soc. Rev.* **2017**, *46*, 2543-2554; (b) Amabilino, D. B.; Smith, D. K.; Steed, J. W. *Chem. Soc. Rev.* **2017**, *46*, 2404-2420.

<sup>23</sup> Erbas-Cakmak, S.; Leigh, D. A.; McTernan, C. T.; Nussbaumer, A. L. *Chem. Rev.* **2015**, *115*, 10081-10206.

<sup>28</sup> Ballester, P.; Fujita, M.; Rebek, Jr. J. *Chem. Soc. Rev.* **2015**, *44*, 392-393.

<sup>29</sup> (a) Zarra, S.; Wood, D. M.; Roberts, D. A.; Nitschke, J. R. *Chem. Soc. Rev.* **2015**, *44*, 419-432; (b) Dariush, A. Self-assembled molecular capsule. In *Synergy in Supramolecular Chemistry*; Tatsuya, N., Ed.; CRC Press: Boca Raton, FL, 2015; pp 133-148; (c) Smulders, M. M. J.; Riddell, I. A.; Browne, C.; Nitschke, J. R. *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 1728-1754; (d) Forgan, R. S.; Sauvage, J.-P.; Stoddart, J. F. *Chem. Rev.* **2011**, *111*, 5434-5464; (e) Saalfrank, R. W.; Maid, H.; Scheurer, A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 8794-8824; (f) Conn, M. M.; Rebek, J. *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 1647-1668.

<sup>151</sup> Chapman, R.; Danial, M.; Koh, M. L.; Jolliffe, K. A.; Perrier, S. *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41*, 6023-6041.

<sup>158</sup> (a) Brea, R. J.; Reiriz, C.; Granja, J. R. *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39*, 1448-1456; (b) Bong, D. T.; Clark, T. D.; Granja, J. R.; Ghadiri, M. R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 980-1011.

<sup>163</sup> Amorín, M.; Castedo, L.; Granja, J. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 2844-2845.

<sup>178</sup> Brea, R. J.; Amorín, M.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 5710-5713.

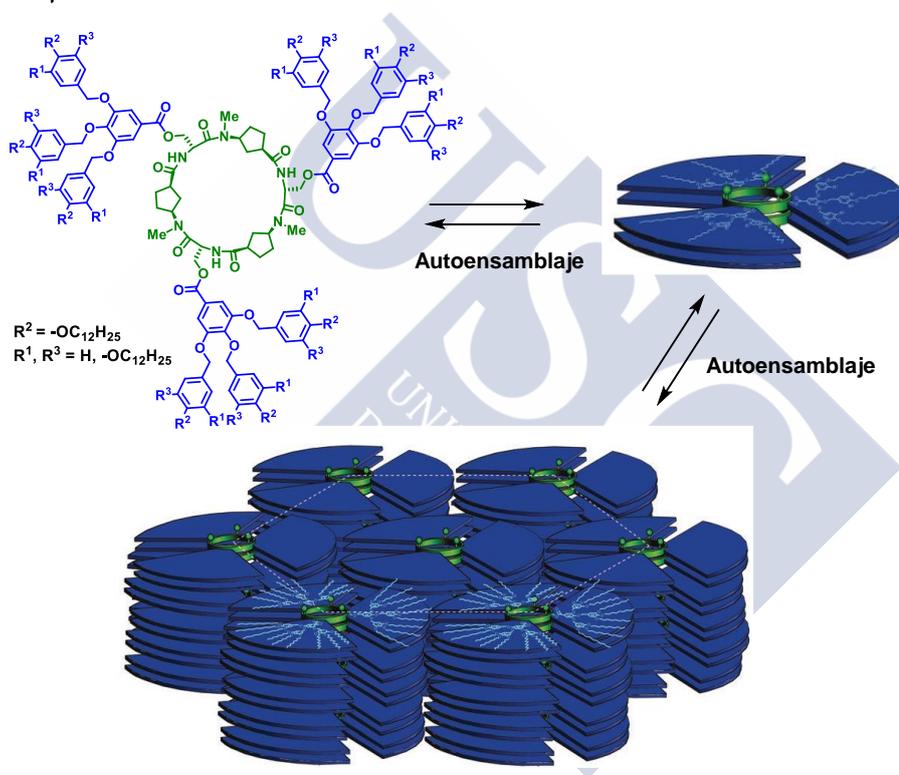
<sup>179</sup> Amorín, M.; Brea, R. J.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 4681-4684.

<sup>180</sup> Amorín, M.; Brea, R. J.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Heterocycles* **2006**, *67*, 575-583.

<sup>181</sup> Amorín, M.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Chem. Eur. J.* **2005**, *11*, 6543-6551.

<sup>182</sup> Brea, R. J.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Chem. Commun.* **2007**, 3267-3269.

utilizando  $\alpha,\gamma$ -CPs como plantilla. Inspirados por la capacidad de algunas moléculas discóticas para autoensamblarse en fases columnares,<sup>229</sup> decidimos aprovechar las fuerzas mesogénicas para organizar las unidades ciclopeptídicas en columnas paralelas. Para ello, en colaboración con los Profesores José Luis Serrano y Teresa Sierra, de la Universidad de Zaragoza, diseñamos una serie de precursores de cristales líquidos, con forma de disco, constituidos por un  $\alpha,\gamma$ -ciclohexapéptido *N*-metilado unido a tres dendrones mesogénicos derivados del ácido benzoico (Figura 67). De este modo, se obtiene un sistema que combina las propiedades de los  $\alpha,\gamma$ -CPs, con respecto al control del diámetro y la funcionalización interna, con la habilidad de los dendrones para organizarse en fases columnares. Por tanto, estos diseños podrían resultar muy prometedores en la fabricación de películas poliméricas con poros funcionalizados mediante la introducción de grupos funcionales a través de la posición  $\beta$  del  $\gamma$ -aminoácido.

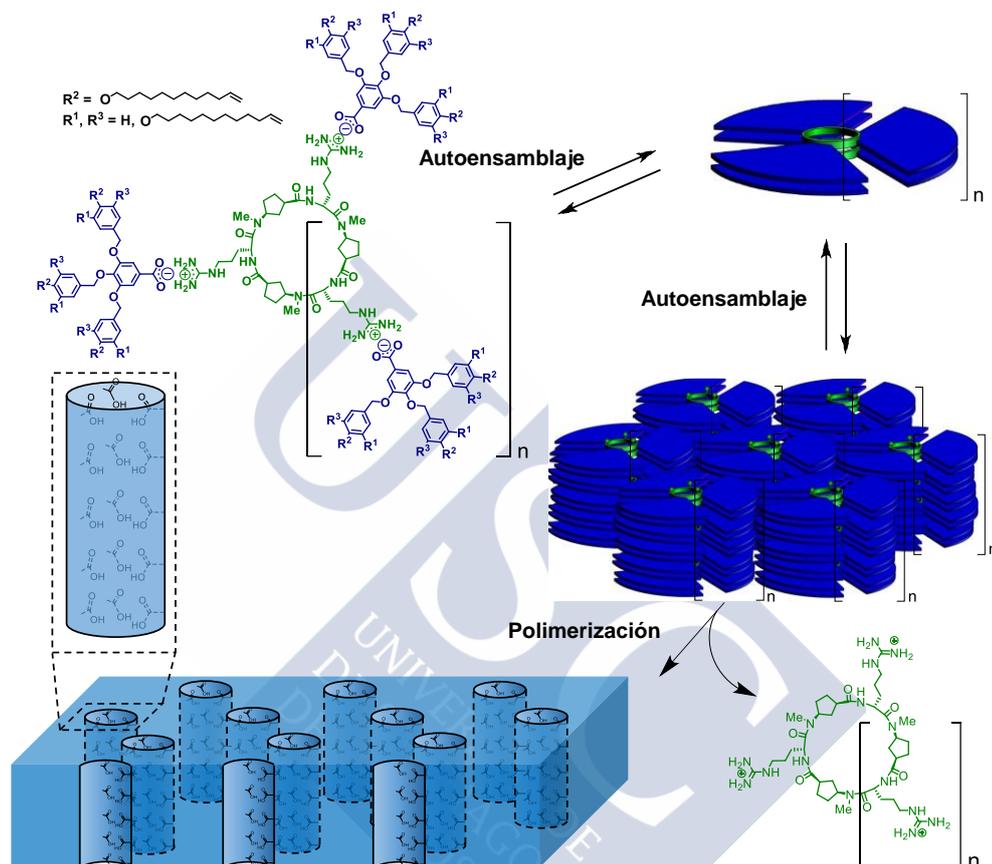


**Figura 67.** Estrategia propuesta para la preparación de mesofases columnares porosas basadas en ciclopeptidos formadores de dímeros.

Otra alternativa de funcionalización interna de los poros que nos propusimos explorar, se basa en la estrategia de formación de películas poliméricas a partir heterocomplejos de tipo plantilla con colas polimerizables. En este tipo de sistemas, una vez polimerizado el material, se procede a la eliminación de la molécula plantilla del interior de

<sup>229</sup> (a) Wöhrle, T.; Wurzbach, I.; Kirres, J.; Kostidou, A.; Kapernaum, N.; Litterscheidt, J.; Haenle, J. C.; Staffeld, P.; Baro, A.; Giesselmann, F.; Laschat, S. *Chem. Rev.* **2016**, *116*, 1139-1241; (b) Kumar, S. *Chemistry of Discotic Liquid Crystals: From Monomers to Polymers*, CRC Press: Boca Raton, FL, 2011.

la estructura, dejando canales con grupos funcionales dirigidos hacia el interior.<sup>243,245</sup> Con este objetivo, decidimos sintetizar ciclopeptidos precursores de dímeros con residuos de arginina para llevar a cabo la unión supramolecular con el dendrón, mediante la interacción por enlaces de hidrógeno entre los grupos aceptores y dadores complementarios. En este caso, la retirada del ciclopeptido central, tras la etapa de formación del polímero, daría lugar a películas poliméricas con poros ricos en grupos carboxílicos (Figura 68).



**Figura 68.** Preparación de películas poliméricas con poros funcionalizados a partir de heterocomplejos ciclopeptido-dendrón.

Por otra parte, como hemos comentado también en la introducción, el desarrollo de los contenedores moleculares autoensamblados ha permitido obtener de manera relativamente sencilla una gran variedad de cavidades con formas y tamaños muy diversos, que se han aplicado en procesos de reconocimiento, estabilización de intermedios reactivos o catálisis.<sup>28,29,63</sup> De igual modo, los dímeros  $\alpha,\gamma$ -ciclopeptídicos presentan cavidades cilíndricas

<sup>243</sup> (a) Lee, C. J.; Lee, S. J.; Chang, Y. J. *Tetrahedron Lett.* **2002**, 43, 3863-3866; (b) Lee, H.-K.; Lee, H.; Ko, Y. H.; Chang, Y. J.; Oh, N.-K.; Zin, W.-C.; Kimoon, K. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, 40, 2669-2671; (c) Kraft, A.; Reichert, A.; Kleppinger, R. *Chem. Commun.* **2000**, 1015-1016.

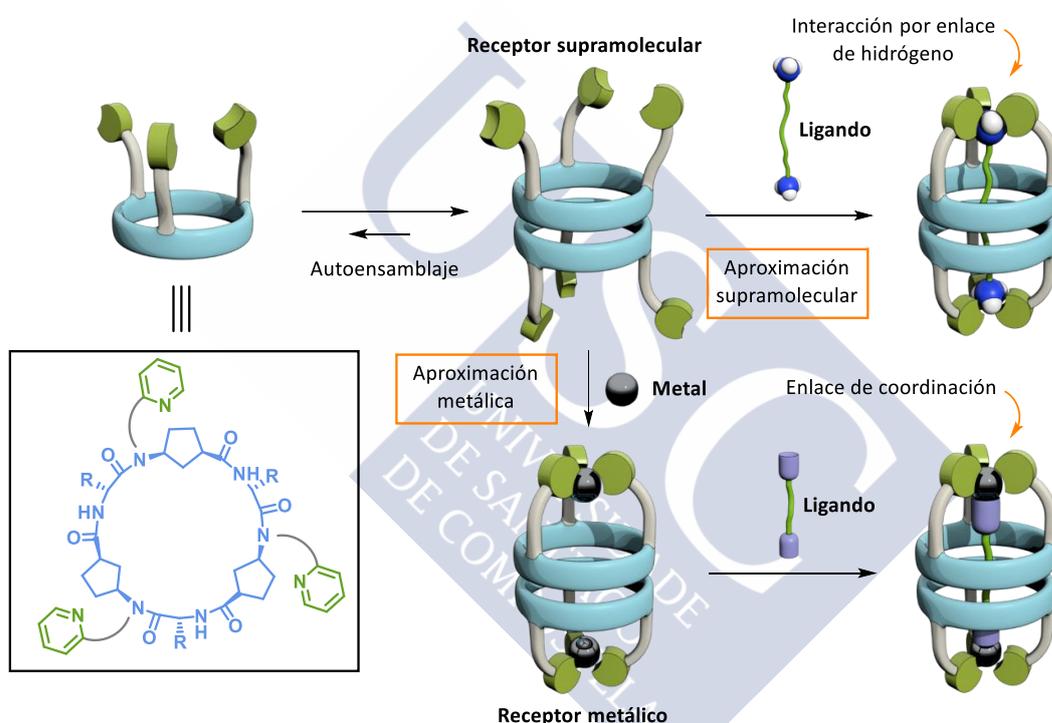
<sup>245</sup> Bögels, G. M.; Lugger, J. A. M.; Goor, O. J. G. M.; Sijbesma, R. P. *Adv. Funct. Mater.* **2016**, 26, 8023-8030.

<sup>28</sup> Ballester, P.; Fujita, M.; Rebek, Jr. J. *Chem. Soc. Rev.* **2015**, 44, 392-393

<sup>29</sup> (a) Zarra, S.; Wood, D. M.; Roberts, D. A.; Nitschke, J. R. *Chem. Soc. Rev.* **2015**, 44, 419-432; (b) Dariush, A. Self-assembled molecular capsule. In *Synergy in Supramolecular Chemistry*; Tatsuya, N., Ed.; CRC Press: Boca Raton, FL, 2015; pp 133-148; (c) Smulders, M. M. J.; Riddell, I. A.; Browne, C.; Nitschke, J. R. *Chem. Soc. Rev.* **2013**, 42, 1728-

que podrían ser aprovechadas para llevar a cabo algunos de los procesos mencionados anteriormente. Esta apreciación nos llevó a plantear el uso de estas plataformas moleculares como estructura básica en la preparación de cápsulas autoensambladas.

Dentro de este tipo de receptores, consideramos que aquéllos que presentan grupos funcionales dirigidos hacia el interior son especialmente atractivos, ya que seleccionan el sustrato y lo fijan en una determinada disposición de la misma forma que sucede en los sistemas naturales.<sup>109</sup> Concretamente, los contenedores moleculares con ligandos que proyectan iones metálicos hacia la cavidad interna despertaron nuestro interés debido a que podrían ser utilizados en reacciones de catálisis quimioselectivas.<sup>129</sup> Con el objetivo de preparar estas estructuras miméticas de metaloenzimas, decidimos incorporar tres piridinas al esqueleto de un  $\alpha,\gamma$ -ciclohexapéptido en posición axial al plano del anillo (Figura 69).



**Figura 69.** Modelo de cápsula molecular basado en un dímero de  $\alpha,\gamma$ -ciclohexapéptidos que incorporan tres piridinas para realizar el cierre de la cavidad. El diseño propuesto permite llevar a cabo el reconocimiento a través de dos estrategias distintas: la supramolecular, en la cual las piridinas interaccionan con el ligando mediante enlace de hidrógeno; o la metálica, a través de la adición de un metal de geometría tetraédrica que actúa como director de la encapsulación.

De esta forma, la adición de un metal de geometría tetraédrica conduciría a la formación del complejo en el que tres de las posiciones de coordinación del centro metálico

1754; (d) Forgan, R. S.; Sauvage, J.-P.; Stoddart, J. F. *Chem. Rev.* **2011**, *111*, 5434–5464; (e) Saalfrank, R. W.; Maid, H.; Scheurer, A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 8794–8824; (f) Conn, M. M.; Rebek, J. *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 1647–1668.

<sup>63</sup> Chakrabarty, R.; Mukherjee, P. S.; Stang, P. J. *Chem. Rev.* **2011**, *111*, 6810–6918.

<sup>109</sup> Adriaenssens, L.; Ballester, P. *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 3261–3277.

<sup>129</sup> Rebilly, J.-N.; Colasson, B.; Bistri, O.; Over, D.; Reinaud, O. *Chem. Soc. Rev.* **2015**, *44*, 467–489.

estarían ocupadas por las piridinas, y una cuarta quedaría orientada hacia la cavidad interna del dímero. Dicha posición de coordinación proyectada hacia el interior podría aprovecharse para dirigir la encapsulación de ligandos bidentados de longitud adecuada. Además, dado que las piridinas pueden participar en la formación de enlaces de hidrógeno, también nos propusimos ensayar la cápsula desmetalada en el reconocimiento de diamonios en los que cada uno de los protones de los grupos amonio podría establecer un enlace de hidrógeno con una piridina (Figura 69).

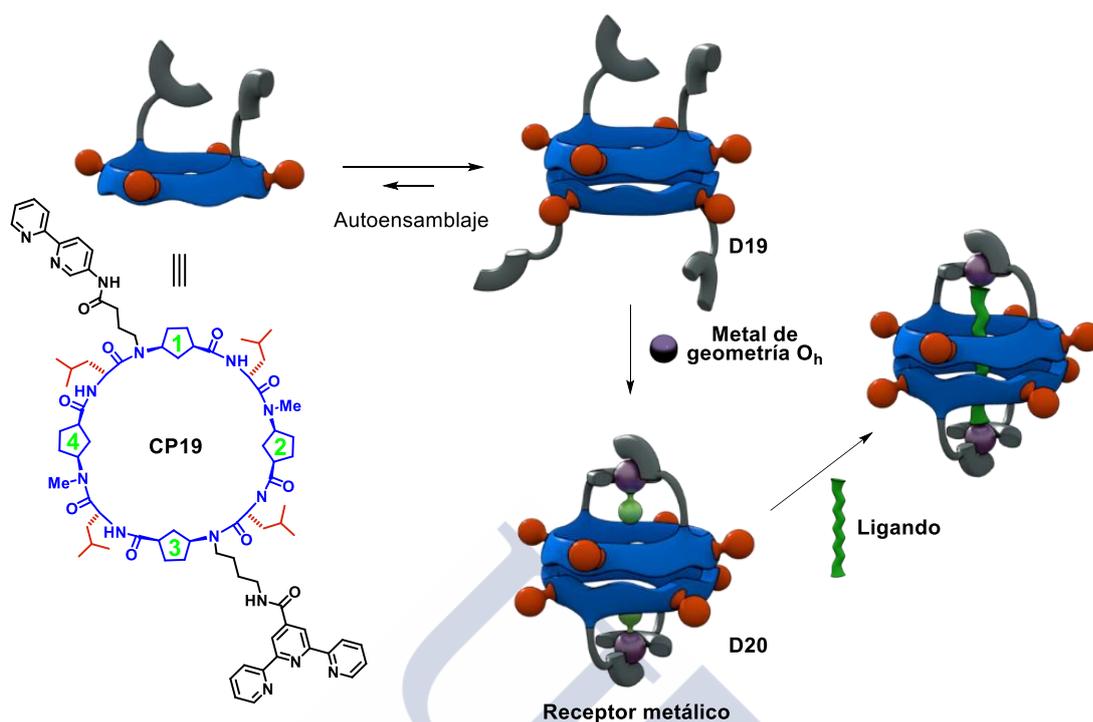
Aprovechando una de las ventajas de las cápsulas moleculares basadas en ciclopeptidos, la fácil modulación del diámetro interno, decidimos explorar estructuras de mayor tamaño que nos permitiesen reconocer sustratos más voluminosos. Para ello, decidimos sustituir el ciclohexapéptido por un ciclooctapéptido como componente básico en la construcción del nuevo receptor, adaptando el diseño de las tapas a la simetría del sistema. Por tanto, en lugar de piridinas decidimos incorporar una bipyridina y una terpiridina en los  $\gamma$ -aminoácidos primero y tercero del ciclopeptido (Figura 70). De esta manera, pensamos que la adición de un metal de geometría octaédrica daría lugar a una estructura cerrada, donde 5 de las 6 posiciones de coordinación del centro metálico estarían ocupadas por los ligandos mencionados, y el sexto orbital podría utilizarse, al igual que en los diseños precedentes, para dirigir la encapsulación de ligandos específicos hacia el interior de la cavidad.<sup>246</sup>

Los sistemas propuestos no garantizan la internalización de la molécula huésped; ya que la libertad de giro de los ligandos permite que la coordinación se pueda establecer a través la parte externa de la estructura. Por este motivo, nos planteamos como último objetivo preparar un receptor que incorporase tapas moleculares que forzasen la coordinación de la molécula huésped a través de la cavidad interna. Para ello, decidimos incorporar una metaloporfirina a un ciclooctapéptido. De este modo, se obtendría un receptor bipoirfínico autoensamblado que podría reconocer huéspedes bidentados de tamaño adecuado, debido al efecto estabilizador de la formación del complejo sándwich (Figura 71).<sup>135</sup>

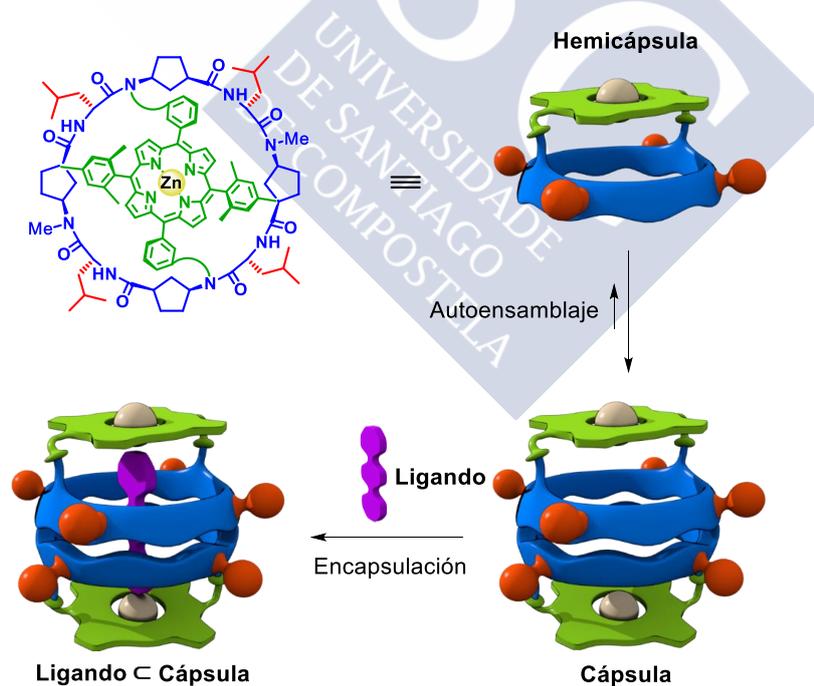
---

<sup>246</sup> (a) Enriquez-Cabrera, A.; Sasaki, I.; Bukhanko, V.; Tassé, M.; Mallet-Ladeira, S.; Lacroix, P. G.; Barba-Barba, R. M.; Ramos-Ortiz, G.; Farfán, N.; Voitenko, Z. and Malfant, I. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2017**, *11*, 1446-1456; (b) Li, A.; Yadav, R.; White, J. K.; Herroon, M. K.; Callahan, B. P.; Podgorski, I.; Turro, C.; Scott, E. E.; Kodanko, J. J. *Chem. Commun.* **2017**, *53*, 3673-3676; (c) Chan, H.; Ghayche, J. B.; Wei, J.; Renfrew, A. K. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2017**, *12*, 1679-1686; (d) Amemori, S.; Sasaki, Y.; Yanai, N.; Kimizuka, N. *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138*, 8702-8705; (e) Kon, H.; Nagata, T. *Inorg. Chem.* **2009**, *48*, 8593-8602; (f) Gallaway, J. W.; Barton, A. C. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 8527-8536; (g) Altobello, S.; Argazzi, R.; Caramori, S.; Contado, C.; Da Fre, S.; Rubino, P.; Chone, C.; Larramona, G.; Bignozzi, C. A. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 15342-15343.

<sup>135</sup> (a) Valderreya, V.; Aragaya, G.; Ballester, P. *Coord. Chem. Rev.* **2014**, *258-259*, 137-156; (b) Durot, S.; Taesch, J.; Heitz, V. *Chem. Rev.* **2014**, *114*, 8542-8578.

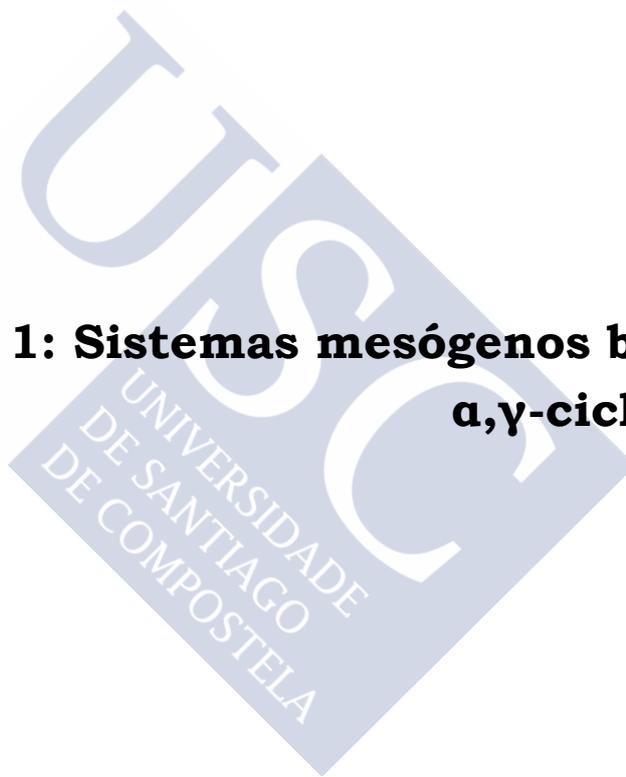


**Figura 70.** Modelo de cápsula molecular basado en un dímmero de  $\alpha,\gamma$ -ciclooctapéptidos que incorporan una bipyridina y una terpiridina para realizar el cierre de la estructura, mediante la adición de metales de geometría octaédrica. Las posiciones de coordinación dirigidas hacia el interior de la estructura podrían dirigir la internalización de ligandos bidentados.



**Figura 71.** Modelo de la estrategia sintética propuesta para la obtención de una cápsula molecular basada en un dímmero  $\alpha,\gamma$ -ciclooctapeptídico cerrado por dos metaloporfirinas, que dirigen la encapsulación de la molécula huésped.

**Capítulo 1: Sistemas mesógenos basados en  $\alpha,\gamma$ -ciclopéptidos**





La preparación de materiales porosos nanoestructurados con poros bien definidos constituye un área de gran interés debido a la posibilidad de ser implementados en membranas que presentan una selectividad mejorada.<sup>218</sup> Una estrategia muy eficaz a la hora de conseguir este tipo de diseños es el autoensamblaje de moléculas pequeñas para dar lugar a estructuras estables, que se caracterizan por presentar una disposición ordenada de los poros y un tamaño controlado de los mismos.<sup>158a,219</sup> La formación de dichos materiales porosos, mediante este procedimiento, se puede llevar a cabo a través de la interacción entre moléculas mesogénicas, en el seno de una disolución, que conduce a un ordenamiento en fases con características de cristal líquido. Con respecto a esto, en los últimos años, se ha demostrado que las mesofases columnares son estructuras supramoleculares prometedoras en la obtención de superficies permeables debido, precisamente, a que presentan un ordenamiento bidimensional en capas que puede ser aprovechado en la elaboración de films y membranas porosas.<sup>247</sup>

En la búsqueda de *building blocks* que aumentasen la precisión en el control de los poros se pensó en la posibilidad de introducir ciclopeptidos (CPs) formadores de nanotubos debido a que, dichos agregados supramoleculares, presentan un diámetro uniforme que puede ser controlado de manera sencilla; ya que depende únicamente del número y de la naturaleza de los aminoácidos empleados en la construcción del ciclo.<sup>151,158</sup> Además, la superficie externa del nanotubo puede ser modulada mediante la correcta elección de las cadenas laterales, que a su vez se pueden funcionalizar para dotar a la estructura de las propiedades deseadas. Los ciclopeptidos empleados fueron diseñados de forma que adoptasen una conformación plana en disolución, en la cual los grupos amida (carbonilo y NH) quedan orientados perpendicularmente con respecto al plano del anillo. Esta disposición permite la interacción entre las unidades ciclopeptídicas a través de enlaces hidrógeno, dando lugar a una estructura tipo lámina  $\beta$  entre los mismos que conduce a la formación del nanotubo (SPCN) (Figura 1.1a). La cavidad interna de los SPCNs ha sido

---

<sup>218</sup> Wu, D.; Xu, F.; Sun, B.; Fu, R.; He, H.; Matyjaszewski, K. *Chem. Rev.* **2012**, *112*, 3959-4015.

<sup>158a</sup> Brea, R. J.; Reiriz, C.; Granja, J. R. *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39*, 1448-1456.

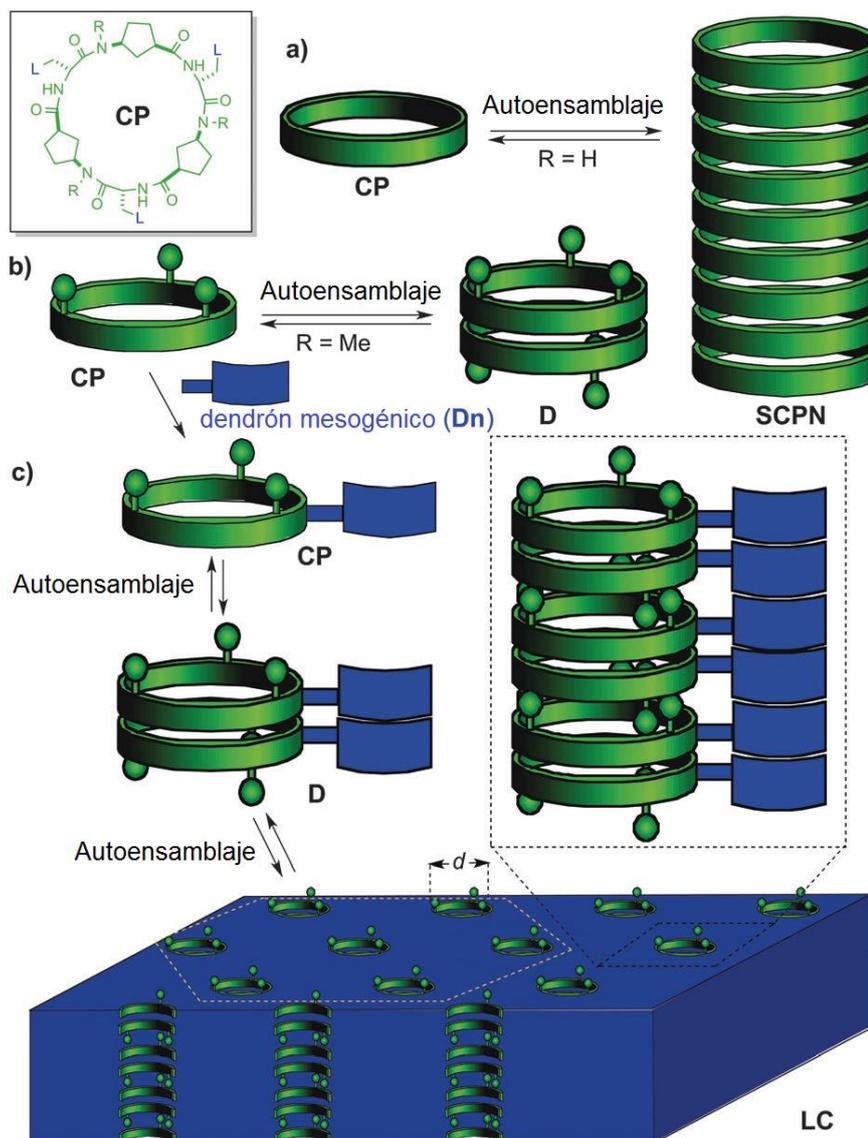
<sup>219</sup> (a) Mastalerz, M. *Chem. Eur. J.* **2012**, *18*, 10082-1091; (b) Afonso, R.; Mendes, A.; Gales, L. *J. Mater. Chem.* **2012**, *22*, 1709-1723; (c) Bong, D. T.; Clark, T. D.; Granja, J. R.; Ghadiri, M. R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 988-1011.

<sup>247</sup> (a) Ishida, Y.; Sakata, H.; Achalkumar, A. S.; Yamada, K.; Matsuoka, Y.; Iwahashi, N.; Amano, S.; Saigo, K. *Chem. Eur. J.* **2011**, *17*, 14752-14762; (b) Kato, T. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 7847-7848; (c) Kim, A. J.; Kaucher, M. S.; Davis, K. P.; Peterca, M.; Imam, M. R.; Christian, N. A.; Levine, D. N.; Bates, F. S.; Percec, V.; Hammer, D. A. *Adv. Funct. Mater.* **2009**, *19*, 2930-2936; (d) Kato, T.; Mizoshita, N.; Kishimoto, K. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 38-68; (e) Yoshio, M.; Kagata, T.; Hoshino, T. K.; Mukai, T.; Ohno, H.; Kato, T. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 5570-5577; (f) Gin, D. L.; Gu, W.; Pindzola, B. A.; W.-j. Zhou, W.-J. *Acc. Chem. Res.* **2001**, *34*, 973-980; (g) Beggin, U.; Zipp, G.; Mourran, A.; Walther, P.; Möller, M. *Adv. Mater.* **2000**, *12*, 513-516.

<sup>151</sup> Chapman, R.; Danial, M.; Koh, M. L.; Jolliffe, K. A.; Perrier, S. *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41*, 6023-6041.

<sup>158</sup> (a) Brea, R. J.; Reiriz, C.; Granja, J. R. *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39*, 1448-1456; (b) Bong, D. T.; Clark, T. D.; Granja, J. R.; Ghadiri, M. R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 980-1011.

empleada en el transporte activo de iones y moléculas polares, donde se observó un cierto grado de selectividad.<sup>169</sup>



**Figura 1.1.** Estrategia propuesta para la preparación de mesofases columnares porosas basadas en ciclopéptidos formadores de dímeros.

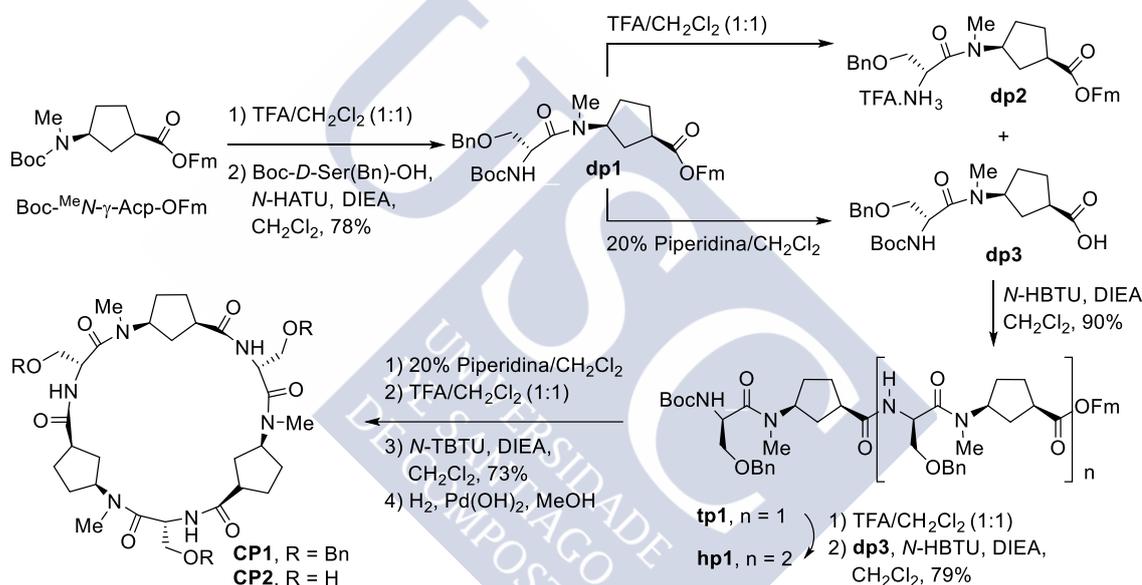
Por este motivo, se pensó que la combinación de un elemento estructural con capacidad para formar estructuras porosas (ciclopéptidos) con moléculas mesogénicas con tendencia a autoorganizarse en fases de cristal líquido, podría suponer una aproximación interesante en la obtención de películas con canales paralelos de tamaños nano o

<sup>169</sup> (a) Montenegro, J.; Ghadiri, M. R.; Granja, J. R. *Acc. Chem. Res.* **2013**, *46*, 2955-2965; (b) Hourani, R.; Zhang, C.; van der Weegen, R.; Ruiz, L.; Li, C.; Keten, S.; Helms, B. A.; Xu, T. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 15296-15299; (c) Rosenthal-Aizman, K.; Scensson, G.; Undén, A. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 3372-3373; (d) Sánchez-Quesada, J.; Kim, H. S.; Ghadiri, M. R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2503-2506; (e) Hartgerink, J. D.; Granja, J. R.; Milligan, R. A.; Ghadiri, M. R. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 43-50; (f) Ghadiri, M. R.; Granja, J. R.; Buehler, L. K. *Nature* **1994**, *369*, 301-304; (g) Granja, J. R.; Ghadiri, M. R.; *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 10785-10786.

subnanométricos.<sup>248</sup> En este contexto surgió una colaboración con el grupo de los Profesores José Luis Serrano y Teresa Sierra, de la Universidad de Zaragoza, que tienen una amplia experiencia en el estudio de dendrones que presentan características mesogénicas. Con el objetivo de estudiar el comportamiento de este diseño, decidimos preparar una serie de compuestos híbridos resultantes de la incorporación de dendrones mesogénicos derivados del ácido benzoico a un  $\alpha,\gamma$ -ciclohexapéptido con capacidad para formar dímeros en disolventes orgánicos apolares (Figura 1.1).

### 1.1. Diseño y síntesis

Los ciclohexapéptidos decorados con dendrones a través de sus cadenas laterales  $c\text{-}\{[D\text{-Ser}(\text{Dn}1\text{-}3)\text{-}(1R,3S)\text{-}^{\text{Me}}N\text{-}\gamma\text{-Acp-}]_3\}$  (CP3-5) se prepararon a partir del ciclohexapéptido CP2 siguiendo la estrategia sintética que se muestra en el Esquema 1.1.<sup>163,178,179,180,181,182</sup>



**Esquema 1.1.** Esquema sintético seguido en la preparación del ciclohexapéptido CP2 mediante una estrategia de síntesis en disolución.

Para la construcción del esqueleto peptídico se decidió emplear una combinación de un  $\alpha$ -aminoácido (serina) con un aminoácido no natural  $N$ -metilado derivado del ácido 3-aminociclopentanocarboxílico ( $\gamma$ -Me- $N$ -Acp). La incorporación de  $\gamma$ -Acp a la estructura aumenta la constante de asociación del proceso de dimerización con respecto a los ciclohexapéptidos constituidos únicamente por  $\alpha$ -aminoácidos y, por otra parte, permite

<sup>248</sup> Sato, K.; Itoh, Y.; Aida, T. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 13767-13769.

<sup>163</sup> Amorín, M.; Castedo, L.; Granja, J. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 2844-2845.

<sup>178</sup> Brea, R. J.; Amorín, M.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 5710-5713.

<sup>179</sup> Amorín, M.; Brea, R. J.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 4681-4684.

<sup>180</sup> Amorín, M.; Brea, R. J.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Heterocycles* **2006**, *67*, 575-583.

<sup>181</sup> Amorín, M.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Chem. Eur. J.* **2005**, *11*, 6543-6551.

<sup>182</sup> Brea, R. J.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Chem. Commun.* **2007**, 3267-3269.

funcionalizar la cavidad interna a través del carbono en posición  $\beta$ . Dicha funcionalización permitiría aumentar la selectividad de los canales transmembrana en futuros proyectos.<sup>197,198,199</sup> La razón por la cual se utilizó el  $\gamma$  aminoácido *N*-metilado se debe a que esta modificación bloquea la cara  $\gamma$  del ciclopéptido y detiene el proceso de autoensamblaje en la formación del dímero, impidiendo el crecimiento de la estructura tubular. Como  $\alpha$ -aminoácido se eligió la serina debido a que la cadena lateral se puede usar para introducir nuevos elementos funcionales de forma sencilla mediante reacciones de esterificación.

El ciclopéptido **CP2** se obtuvo mediante una estrategia convergente de síntesis en disolución, teniendo en cuenta la ortogonalidad de los grupos funcionales, a partir del éster fluorenilmetílico del ácido 3-aminociclopentanocarboxílico *N*-metilado ((*1R,3S*)-Boc-MeN- $\gamma$ -Acp-OFm).<sup>197,249</sup>

El extremo amino de dicho aminoácido se desprotegió por tratamiento con TFA. La sal resultante se acopló con serina *O*-bencilada en su cadena lateral (Boc-*D*-Ser(Bn)-OH) en presencia de *N*-HATU y DIEA para dar lugar al dipéptido **dp1**.<sup>250</sup> Esta aproximación resulta muy efectiva en el acoplamiento aminas impedidas estéricamente y condujo a la obtención del producto deseado en buen rendimiento. El dipéptido resultante se dividió en tres porciones; una de ellas se trató con TFA, mientras que una segunda se hizo reaccionar con una disolución del 20% de piperidina en diclorometano, para obtener los dipéptidos desprotegidos **dp2** y **dp3** respectivamente. A continuación, ambos dipéptidos se acoplaron usando *N*-HBTU en medio básico, dando lugar al **tp1** en un 90% de rendimiento. El hexapéptido se preparó por acoplamiento del tetrapéptido obtenido con la porción del dipéptido que no empleamos en la síntesis del **tp1**, previa desprotección de los grupos funcionales correspondientes. El grupo Boc del **tp1** se eliminó mediante tratamiento con TFA y el fluorenilmetilo del **dp1** se retiró con 20% piperidina/diclorometano. Posteriormente, los péptidos desprotegidos se trataron con *N*-HBTU en medio básico para dar lugar al hexapéptido **hp1**. Tras la desprotección de los extremos *C*- y *N*-terminal, el péptido resultante se cicló en condiciones de alta dilución, usando *N*-TBTU como agente de acoplamiento, dando lugar al ciclopéptido protegido **CP1**. El espectro de <sup>1</sup>H-RMN mostró el comportamiento típico de este tipo de estructuras en disolución, cuando se hayan involucradas en la formación de dímeros. Este comportamiento se caracteriza por la simplicidad en las señales, debido a la simetría C3 del sistema, y por la presencia a campo bajo (8.10 ppm) de un doblete con una constante de acoplamiento de 9.3 Hz, correspondiente a los protones de los grupos amida. La formación de la lámina  $\beta$  se confirmó, además,

<sup>197</sup> Rodríguez-Vázquez, N.; Salzinger, S.; Silva, L. F.; Amorín, M.; Granja, J. R. *Eur. J. Org. Chem.* **2013**, 3477-3493.

<sup>198</sup> Reiriz, C.; Amorín, M.; García-Fandiño, R.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Org. Biomol. Chem.* **2009**, *7*, 4358-4361.

<sup>199</sup> (a) Rodríguez-Vázquez, N.; Amorín, M.; Alfonso, I.; Granja, J. R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 4504-4508; (b) Rodríguez-Vázquez, N.; García-Fandiño, R.; Amorín, M.; Granja, J. R. *Chem. Sci.* **2016**, *7*, 183-187.

<sup>197</sup> Rodríguez-Vázquez, N.; Salzinger, S.; Silva, L. F.; Amorín, M.; Granja, J. R. *Eur. J. Org. Chem.* **2013**, *17*, 3477-3493.

<sup>249</sup> Bandekar, J. *Biochim. Biophys. Acta* **1992**, *1120*, 123-143.

<sup>250</sup> El-Faham, A.; Albericio, F. *Chem. Rev.* **2011**, *111*, 6557-6602.

mediante FTIR por la presencia de las bandas a 3302, 1672, 1626 y 1529  $\text{cm}^{-1}$ ; características de esta clase de sistemas (Tabla 1.1).<sup>249,250</sup> Finalmente, los grupos bencilo se eliminaron mediante hidrogenación catalizada por 10%  $\text{Pd}(\text{OH})_2/\text{C}$  para dar lugar al ciclopéptido deseado **CP2**, que presentó baja solubilidad en disolventes orgánicos apolares. Por este motivo no se pudieron caracterizar sus propiedades supramoleculares.

Los dendrones estudiados **Dn1**, **Dn2**, **Dn3** se prepararon en el grupo de Cristales Líquidos y Polímeros de la Universidad de Zaragoza, siguiendo una estrategia sintética previamente descrita.<sup>251</sup> Estos dendrones se diferencian entre sí en el número de cadenas alifáticas de doce átomos de carbono presentes en la estructura (Figura 1.2). De forma que **Dn1**, **Dn2** y **Dn3** portan tres, seis y nueve cadenas respectivamente. El empaquetamiento de este tipo de materiales depende fuertemente de dicho número de grupos alquílicos.

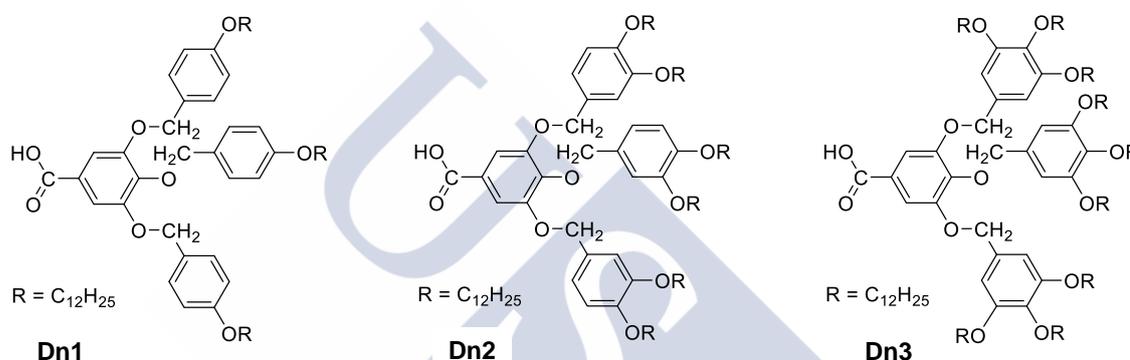


Figura 1.2. Estructura de los dendrones **Dn1**, **Dn2** y **Dn3**.

El último paso consistió en el acoplamiento del ciclohexapéptido desprotegido **CP2** con los diferentes dendrones, descritos anteriormente, mediante tratamiento con  $\text{EDC}\cdot\text{HCl}$  y  $\text{DMAP}$  (Esquema 1.2). La alta tendencia a agregarse tanto de los dendrones como del ciclopéptido dificultó la formación del compuesto triacoplado y la purificación del mismo. Por tanto, cada esterificación entre **CP2** y el dendrón **Dn** correspondiente se llevó a cabo durante un período de reacción de 3-5 días, añadiendo agente de acoplamiento y base frescos cada 24 horas. El proceso de purificación fue igualmente complejo, tanto por cromatografía en columna como por HPLC, debido a que la predisposición a la agregación de los dendrones empleados provoca que el exceso de dendrón, que no está acoplado al péptido, y el producto triacoplado eluyan conjuntamente. El aislamiento de los compuestos puros

<sup>249</sup> Bandekar, J. *Biochim. Biophys. Acta* **1992**, 1120, 123-143.

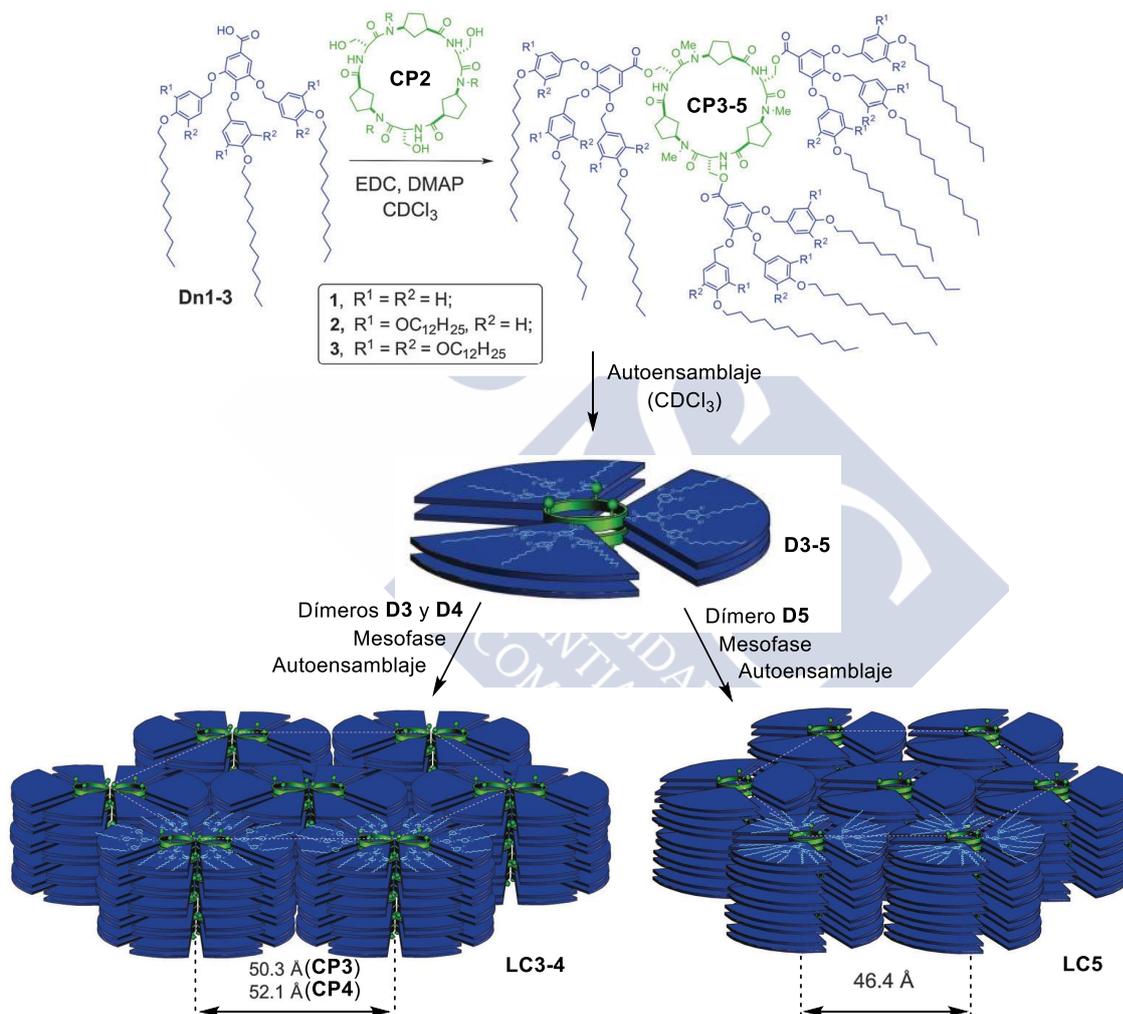
<sup>250</sup> (a) Kubelka, J.; Keiderling, T. A. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123, 12048-12058; (b) Haris, P. I.; Chapman, D. *Biopolymers (Peptide Sci.)* **1995**, 37, 251-263; (c) Krimm, S.; Bandekar, J. *Adv. Protein Chem.* **1986**, 38, 181-364.

<sup>251</sup> (a) Percec, V.; Ahn, C. H.; Cho, W. D.; Jamieson, A. M.; Kim, J.; Leman, T.; Schmidt, M.; Gerle, M.; Moller, M.; Prokhorova, S. A.; Sheiko, S. S.; Cheng, S. Z. D.; Zhang, A.; Ungar, G.; Yeardley, D. J. P. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, 120, 8619-8631; (b) Percec, V.; Cho, W. D.; Mosier, P. E.; Ungar, G.; Yeardley, D. J. P. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, 120, 11061-11070; (c) Balagurusamy, V. S. K.; Ungar, G.; Percec, V.; Johansson, G. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 1539-1555.

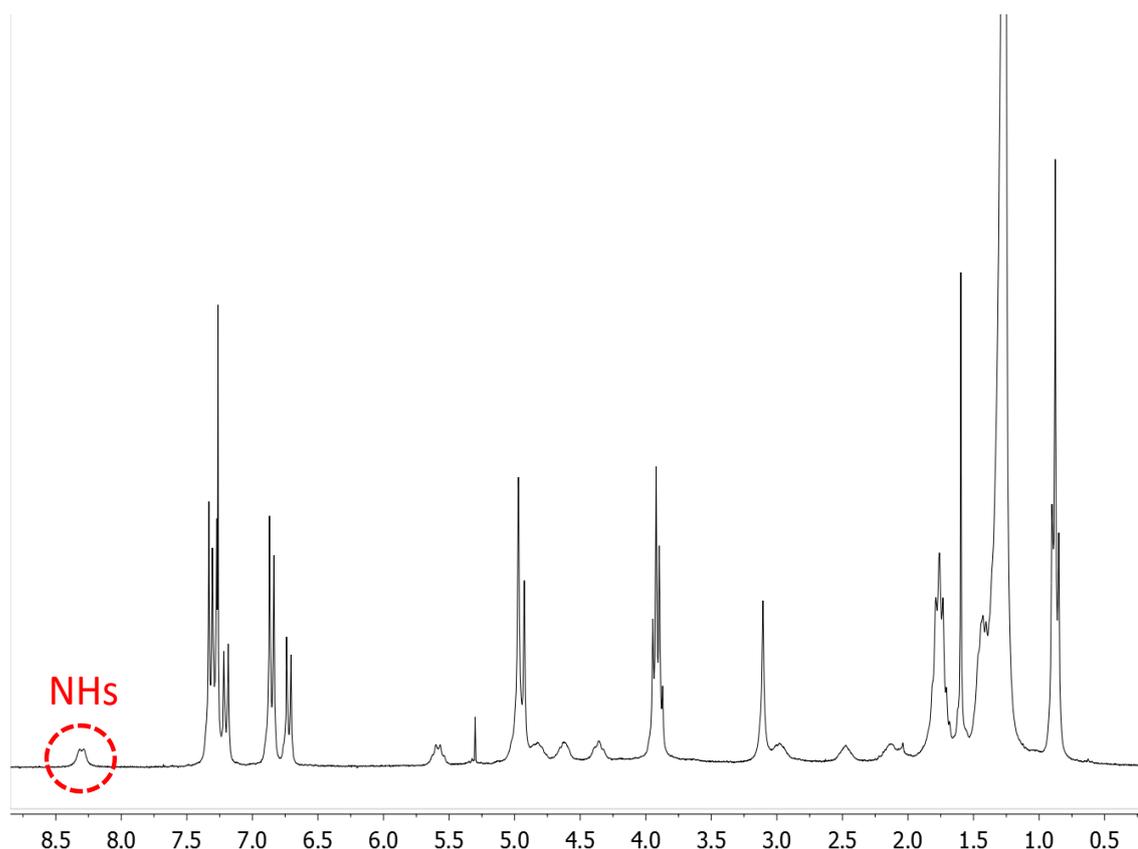
requirió de al menos tres repurificaciones para obtener unos pocos miligramos de producto con un grado de pureza adecuado para abordar los estudios.

## 1.2. Estudios de RMN e IR

El espectro de  $^1\text{H}$ -RMN de los CPs obtenidos (CP3-CP5), en cloroformo deuterado, mostró la señal de los protones de la amida a un desplazamiento químico de 8.29 ppm, confirmando la formación de las estructuras diméricas esperadas D3, D4 y D5 (Esquema 1.2, Figura 1.3).



**Esquema 1.2.** Preparación de los ciclopéptidos mesogénicos, CP3-5, mediante esterificación de CP2 con los dendrones Dn1-3 y formación de la mesofase.



**Figura 1.3.**  $^1\text{H}$ -RMN en  $\text{CDCl}_3$  del compuesto **D3**, donde se indica la señal de los protones correspondientes al grupo amida.

Mediante espectroscopía de FTIR también pudimos comprobar que el ensamblaje se produce a través de la interacción tipo lámina  $\beta$  antiparalela característica de este tipo de agregados. Este hecho se evidenció por las bandas a  $1625\text{ cm}^{-1}$  y  $1530\text{ cm}^{-1}$  correspondientes a amida I y amida II, respectivamente. En disolución, la banda de estiramiento del enlace N-H aparece en torno a  $3300\text{ cm}^{-1}$ , lo que es consistente con la vibración de los grupos N-H formando parte de enlaces de hidrógeno. A partir de esta frecuencia de vibración, usando la correlación de Krimm, pudimos calcular el valor promedio aproximado de la distancia intradímero, que resultó ser de aproximadamente  $4.8\text{ \AA}$  (Tabla 1.1).<sup>163,178, 181,182,192,194,250</sup>

<sup>163</sup> Amorín, M.; Castedo, L.; Granja, J. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 2844-2845.

<sup>178</sup> Brea, R. J.; Amorín, M.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 5710-5713.

<sup>181</sup> Amorín, M.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Chem. Eur. J.* **2005**, *11*, 6543-6551.

<sup>182</sup> Brea, R. J.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Chem. Commun.* **2007**, 3267-3269.

<sup>192</sup> Brea, R. J.; Vázquez, M. E.; Mosquera, M.; Castedo, L.; Granja, J. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 1653-1657.

<sup>194</sup> Amorín, M.; Villaverde, V.; Castedo, L.; Granja, J. R. *J. Drug Delivery Sci. Technol.* **2005**, *15*, 87-92.

<sup>250</sup> (a) Kubelka, J.; Keiderling, T. A. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 12048-12058; (b) Haris, P. I.; Chapman, D. *Biopolymers (Peptide Sci.)* **1995**, *37*, 251-263; (c) Krimm, S.; Bandekar, J. *Adv. Protein Chem.* **1986**, *38*, 181-364.

**Tabla 1.1.** Datos obtenidos por FTIR ( $\text{cm}^{-1}$ ) de los péptidos estudiados.

Ciclopéptido		Amida A	Amida I <sub>a</sub>	Amida I <sub>b</sub>	Amida II	Distancia entre subunidades ( $\text{\AA}$ ) <sup>b</sup>
CP1	Disolución <sup>a</sup>	3303	1667	1627	1532	4.80
	Sólido	3302	1672	1626	1529	4.80
CP3	Disolución <sup>a</sup>	3309	1673	1628	1534 <sup>c</sup>	4.83
	Sólido	3299	1678	1626	1539 <sup>c</sup>	4.79
CP4	Disolución <sup>a</sup>	3308	1673	1629	1535 <sup>c</sup>	4.83
	Sólido	3286	1674 <sup>c</sup>	1643 <sup>c</sup>	1540 <sup>c</sup>	4.75
CP5	Disolución <sup>a</sup>	3310	1671	1626	1530	4.83
	Sólido	3300	1673 <sup>c</sup>	1626	1541	4.80

<sup>a</sup> Disolución en  $\text{CHCl}_3$  (CP1: 1 mM, CP4: 2.5 mM, CP3 y CP5: 5 mM). <sup>b</sup> Distancia interpéptidos estimada a partir de la correlación de Krimm.<sup>250c</sup> <sup>c</sup> Estas bandas están solapadas con señales cercanas.

### 1.3. Estudios en estado sólido

Los tres derivados ciclopeptídicos se estudiaron por microscopía óptica de luz polarizada (POM), calorimetría diferencial de barrido (DSC) y difracción de rayos X para determinar su naturaleza mesogénica, sus propiedades térmicas y el tipo de mesofase que forman (Tabla 1.2).

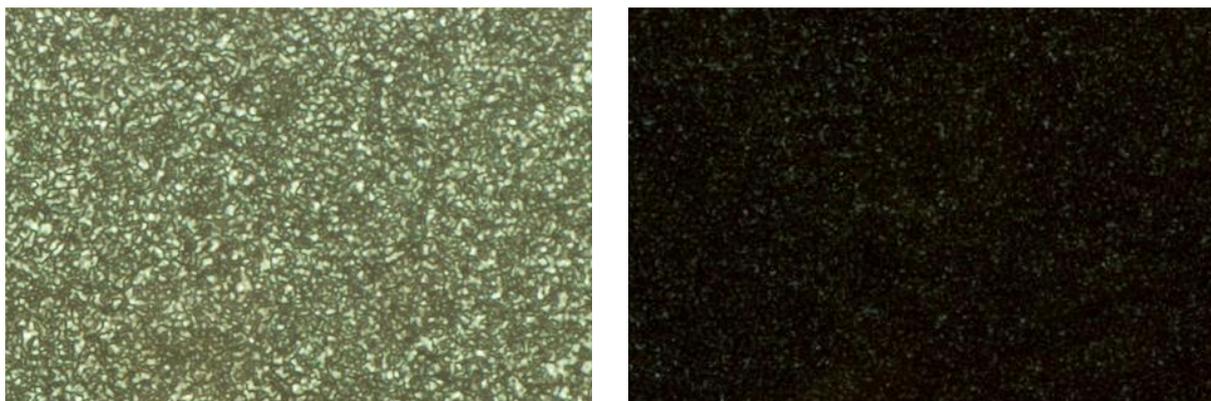
**Tabla 1.2.** Propiedades térmicas y termodinámicas obtenidas durante el segundo ciclo de calentamiento (h)-enfriamiento (c) en los experimentos de DSC. La temperatura de cambio de fase se expresa en  $^{\circ}\text{C}$  y la variación de entalpía del proceso (entre paréntesis) en  $\text{KJ/mol}$ .

CP3	h: Cr 158.0 Col <sub>h</sub> 168.7 (28.7) <sup>a</sup> I	c: I 160.8 (23.0) Col <sub>h</sub> <sup>b</sup>
CP4	h: Cr 103.7 (20.3) Col <sub>h</sub> 137.7 (2.0) I	c: I 125.4 (1.1) Col <sub>h</sub> <sup>b</sup>
CP5	h: Col <sub>h</sub> 99.6 (1.8) I	c: I 91.7 (1.0) Col <sub>h</sub> <sup>b</sup>

<sup>a</sup> Los picos corresponden a ambas transiciones, de Cr (cristal) a Col<sub>h</sub> (mesofase) y de Col<sub>h</sub> a I (líquido isotrópico), solapadas. El valor de entalpía corresponde a la integración de ambos picos. <sup>b</sup> No se observó cristalización durante el proceso de enfriamiento hasta  $0^{\circ}\text{C}$ .

#### 1.3.1. Microscopía óptica de luz polarizada (POM)

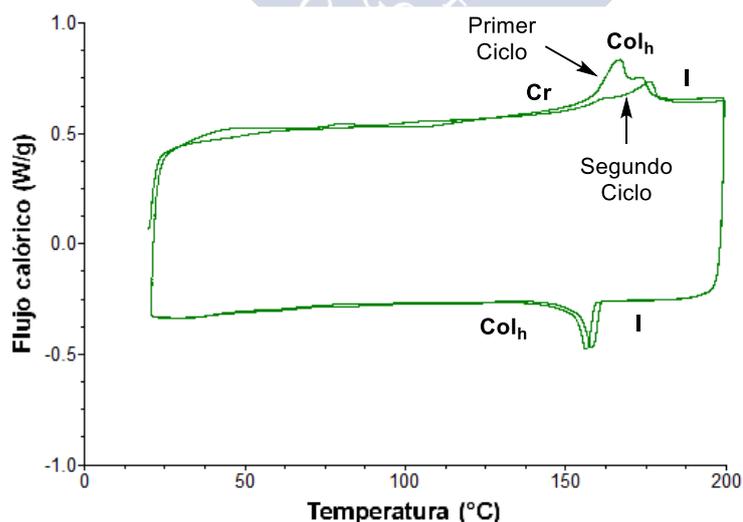
Todos los compuestos mostraron un comportamiento mesomórfico enantiotrópico. Las texturas observadas para los ciclos CP3 y CP4 por microscopía óptica, entre polarizadores cruzados, aunque no muy bien definidas (Figura 1.4), fueron congruentes con una organización mesomórfica columnar hexagonal (Col<sub>h</sub>). Por el contrario, la imagen obtenida por POM para CP5 aparecía completamente en negro, indicando la posibilidad de alineamiento homeotrópico de una mesofase Col<sub>h</sub>.



**Figura 1.4.** Imágenes obtenidas por microscopía óptica de luz polarizada (POM). Texturas observadas a través de polarizadores cruzados para los compuestos **CP3** a 30 °C (izquierda) y **CP4** (derecha) a 90 °C, enfriando la muestra desde la fase de líquido isotrópico a una velocidad de 1 °C/min.

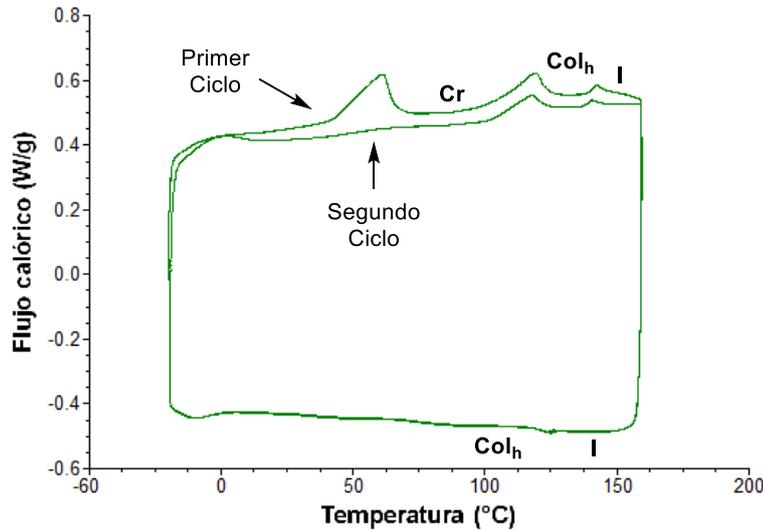
### 1.3.2. Calorimetría diferencial de barrido (DSC)

Los termogramas de los compuestos **CP3-CP5**, obtenidos por DSC, muestran dos ciclos de calentamiento-enfriamiento. Con respecto a **CP3**, la fase de calentamiento (parte superior del termograma) mostró dos picos solapados tanto en el primer ciclo como en el segundo. El pico a la temperatura más baja está relacionado con la transición cristal-mesofase, mientras que el correspondiente a una temperatura más alta se asocia a una transición mesofase-líquido isotrópico. Durante la fase de enfriamiento (parte inferior del termograma) se obtuvo un único pico, correspondiente a la formación de la mesofase desde el líquido isotrópico como se había observado previamente por POM. Durante la fase de calentamiento del segundo ciclo, el pico correspondiente al proceso de fusión del cristal (primer pico) resultó ser mucho más pequeño que en el primer ciclo, lo que indica que la cristalización no se produjo de forma completa en la etapa de enfriamiento (Figura 1.5).



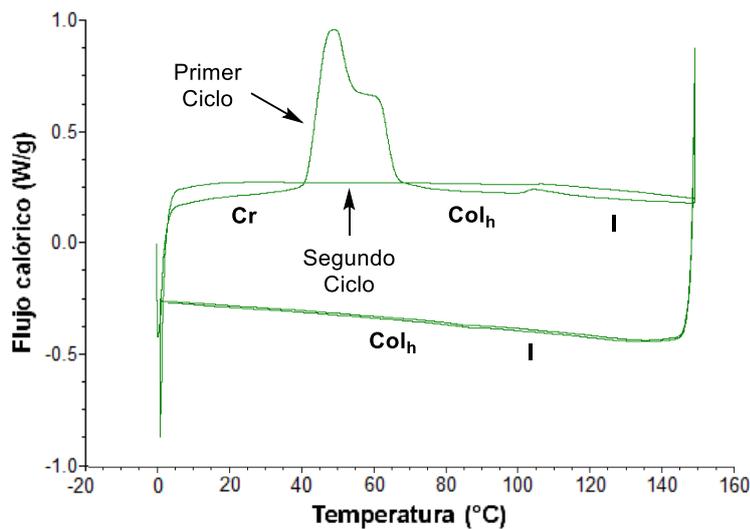
**Figura 1.5.** Termograma obtenido por DSC para el compuesto **CP3**, registrado a una velocidad de 10 °C/min, en el que se muestran los dos ciclos de calentamiento-enfriamiento. Las fases a través de las que pasa la muestra durante el proceso: cristal, mesofase y líquido isotrópico; se indican con las abreviaturas **Cr**, **Col<sub>h</sub>** e **I** respectivamente.

Para el compuesto **CP4**, se observaron dos picos durante la fase de calentamiento del primer ciclo, correspondientes a la transición cristal-cristal y cristal-mesofase, respectivamente. Adicionalmente se apreció un tercer pico con una entalpía asociada más baja relacionada con el proceso de aclaramiento (paso de mesofase a líquido isotrópico). En el segundo ciclo, apareció el pico de la transición de cristal a mesofase debido a que la cristalización sólo se producía parcialmente, al igual que sucedía con **CP3** (Figura 1.6).



**Figura 1.6.** Termograma obtenido por DSC para el compuesto **CP4**, registrado a una velocidad de 10 °C/min, en el que se muestran los dos ciclos de calentamiento-enfriamiento.

Por otra parte, el compuesto **CP5** mostró un pico ancho, correspondiente a la transición de cristal a mesofase, en el primer ciclo y, además, un segundo pico con un valor de entalpía similar al obtenido para **CP4**, asociado a la transición mesofase-líquido isotrópico. La transición de cristal a mesofase no se observaba en ciclos posteriores ni en el proceso de calentamiento ni en el proceso de enfriamiento hasta 0 °C (Figura 1.7).



**Figura 1.7.** Termograma obtenido por DSC para el compuesto **CP5**, registrado a una velocidad de 10 °C/min, en el que se muestran los dos ciclos de calentamiento-enfriamiento.

La transición desde el estado de líquido isotrópico hasta la formación de la mesofase ocurría con un alto cambio en la entalpía para **CP3** (parte inferior del termograma, Figura 1.5), lo que es consistente con una interacción fuerte entre moléculas. En contraste, dicha transición sucedió a valores de entalpía más bajos para **CP4** y **CP5** (parte inferior del termograma, Figuras 1.5 y 1.6, respectivamente). Una visión global de las propiedades térmicas y termodinámicas pone de manifiesto una disminución significativa de las temperaturas de transición de los procesos de fusión (paso de cristal a mesofase) y aclaramiento (paso de mesofase a líquido isotrópico) en el orden **CP3 > CP4 > CP5**, que se traduce en diferencias entre los valores de entalpía de dichos compuestos asociados al proceso de aclaramiento. Estas divergencias pueden explicarse en relación al número de colas periféricas presentes en cada molécula, ya que esto influye en la fuerza de las interacciones entre los núcleos ciclopeptídicos.

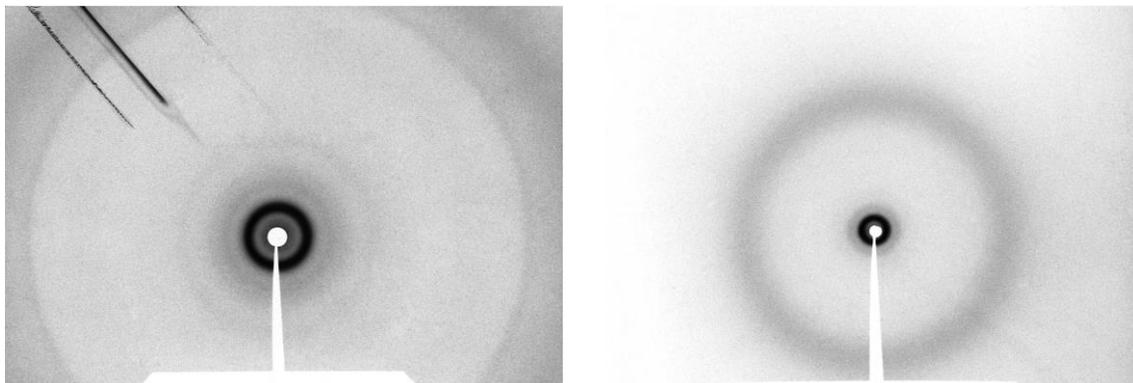
### **1.3.3. Espectroscopía IR en estado sólido y difracción de rayos X**

En un esfuerzo por obtener más información acerca de la organización estructural de las mesofases  $Col_h$  de los tres compuestos, se realizaron estudios de espectroscopía IR en estado sólido y de difracción de rayos X. La espectroscopía IR confirmó que la entidad dimerica observada en disolución es la unidad mesogénica de apilamiento. Los espectros registrados para cada uno de los ciclopeptidos mostraron unas frecuencias de alargamiento para el enlace N-H de aproximadamente  $3300\text{ cm}^{-1}$  en los tres casos (Tabla 1.1), lo que concuerda con la vibración de dicho enlace cuando el grupo NH se encuentra fuertemente unido por un enlace de hidrógeno. Las bandas amida I ( $1625\text{-}1630\text{ cm}^{-1}$ ) y amida II ( $1530\text{-}1540\text{ cm}^{-1}$ ) (Tabla 1.1) confirmaron que el CP adopta una estructura tipo lámina  $\beta$  antiparalela en la mesofase.

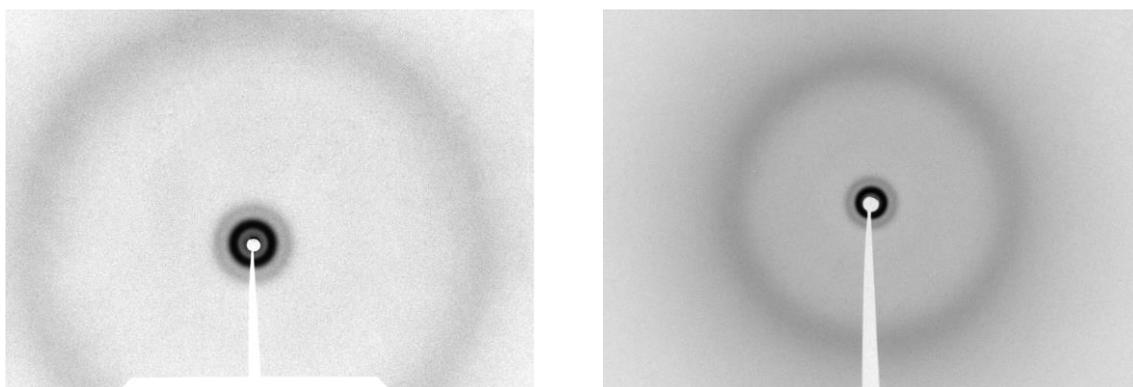
Por otra parte, los patrones de difracción de rayos X fueron consistentes con una mesofase columnar hexagonal ( $Col_h$ ) en todos los casos (Esquema 1.2). La dispersión relacionada con la distancia  $h$  entre los ciclopeptidos unidos por enlace de hidrógeno no se observó debido a que la separación entre dímeros no es una distancia periódica repetitiva. Aunque la existencia de la asociación dimerica en la mesofase fue probada por espectroscopía de IR y es consistente con otras evidencias obtenidas por difracción de rayos X.

Para los estudios de rayos X cada muestra se calentó hasta el estado de líquido isotrópico y, a continuación, se dejó enfriar hasta alcanzar la temperatura ambiente. La región de ángulo pequeño contenía unos máximos agudos muy fuertes y de media intensidad, cuyo espaciamiento está en la relación recíproca  $1:3^{1/2}$  y pueden ser indexados, respectivamente, como los reflejos (10) y (11) de una red hexagonal bidimensional (Tabla 1.3). A parte de esto, los patrones mostraron un halo amplio y difuso en la región de ángulo grande, a  $4.4\text{ \AA}$  aproximadamente, que es característico de un ordenamiento tipo líquido de

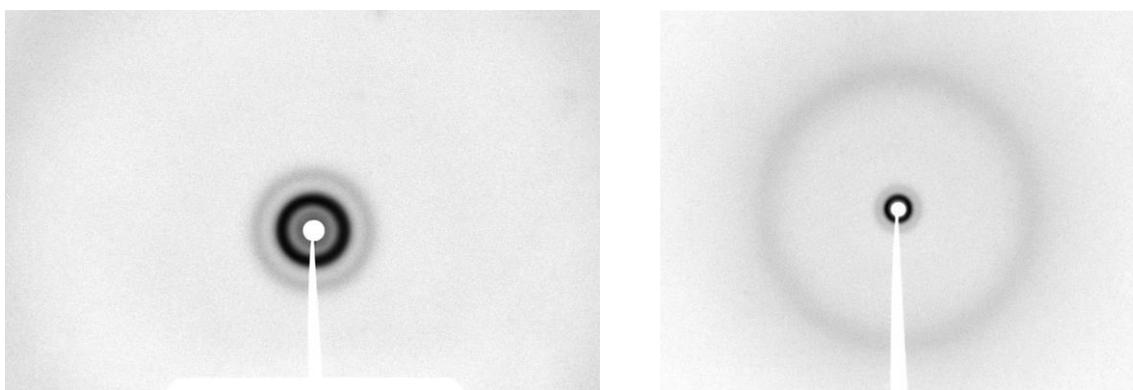
las cadenas hidrocarbonadas y de la ausencia de parámetros de apilamiento regular (Figuras 1.8, 1.9 y 1.10).



**Figura 1.8.** Patrones de dispersión de rayos X de ángulo pequeño, SAXS, (izquierda) y de ángulo grande, WAXS, (derecha) para la mesofase columnar hexagonal ( $Col_h$ ) del compuesto CP3, obtenidos a temperatura ambiente. Durante el experimento se observó la cristalización parcial de la muestra debido a los largos tiempos de exposición. Sin embargo, las reflexiones de la mesofase columnar hexagonal se observan inequívocamente a ángulos pequeños (los dos primeros máximos de la imagen de la izquierda).



**Figura 1.9.** Patrones de dispersión de rayos X de ángulo pequeño, SAXS, (izquierda) y de ángulo grande, WAXS, (derecha) para la mesofase columnar hexagonal ( $Col_h$ ) del compuesto CP4, obtenidos a temperatura ambiente.



**Figura 1.10.** Patrones de dispersión de rayos X de ángulo pequeño, SAXS, (izquierda) y de ángulo grande, WAXS, (derecha) para la mesofase columnar hexagonal ( $Col_h$ ) del compuesto CP5, obtenidos a temperatura ambiente.

Aplicando un tratamiento geométrico estándar se obtuvo una buena estimación del empaquetamiento de estos compuestos dentro de la fase cristalina líquida. La sección transversal de la celda unidad hexagonal se pudo calcular mediante la ecuación  $S_{col} = a \times d_{10}$  (Tabla 1.3).

**Tabla 1.3.** Datos de rayos X para las mesofases columnares hexagonales de los compuestos **CP3**, **CP4** y **CP5** tomados a temperatura ambiente, después de enfriar la muestra desde la fase de líquido isotrópico.  $d_{obs}$  y  $d_{calc}$  corresponden a las distancias observadas y calculadas, respectivamente (vs: muy fuerte; m: intensidad media; diff.: difusa);  $h k$  son los índices de Miller;  $a$  es la constante de la red hexagonal;  $S_{col}$  es el área de la sección transversal de la celda unidad;  $Z$  es el número estimado de moléculas por estrato de columna.

Compuesto	$d_{obs}$ (Å)	$d_{calc}$ (Å)	$h k$	Parámetros de red (Å)	$Z$
<b>CP3</b>	43.8 (vs)	43.6	1 0	$a = 50.3$ $S_{col} = 2193 \text{ Å}^2$	2
	25.0 (m)	25.15	1 1		
	4.4 (diff.)				
<b>CP4</b>	45.4 (vs)	45.1	1 0	$a = 52.1$ $S_{col} = 2350 \text{ Å}^2$	2
	25.7 (m)	26.05	1 1		
	4.4 (diff.)				
<b>CP5</b>	40.5 (vs)	40.2	1 0	$a = 46.4$ $S_{col} = 1865 \text{ Å}^2$	1
	22.9 (m)	23.2	1 1		
	4.4 (diff.)				

Dicha sección transversal y la periodicidad del apilamiento  $h$  a lo largo del eje de la columna están ligados a través de la relación  $h \times S_{col} = Z \times V_m$ , donde  $Z$  es el número de moléculas dentro de un estrato de la columna de espesor  $h$  y  $V_m$  el volumen molecular. En los patrones de difracción obtenidos por XRD (difracción de polvo cristalino) no se observó ningún máximo de dispersión relacionado con la periodicidad de apilamiento  $h$  (distancia entre unidades repetitivas); por tanto, dicho valor se estimó a partir de la relación mencionada anteriormente,  $h = (Z \times V_m) / (a \times d_{10})$ , considerando el número de moléculas ( $Z$ ) como una variable. El volumen molecular  $V_m$  está relacionado con la densidad  $\rho$  y el peso molecular  $M$  por la ecuación  $\rho = (M \times 10^{24} / N) / V_m$ , donde  $N$  es el número de Avogadro. Asumiendo que la densidad tiene un valor próximo a  $1 \text{ g.cm}^{-3}$ , se establece la relación  $h = (Z \times M \times 10^{24}) / (N \times a \times d_{10})$ . Si calculamos  $h$  a partir de esta ecuación para los compuestos **CP3** y **CP4**, suponiendo que hay dos moléculas (un dímero,  $Z = 2$ ) por estrato, se obtienen valores de  $5.4$  y  $7.4 \text{ Å}$  respectivamente. Considerando que la distancia intradímero (distancia CP-CP unidos por enlace de hidrógeno) estimada a partir de la frecuencia de vibración en IR es de  $4.8 \text{ Å}$  aproximadamente, los valores obtenidos resultan demasiado pequeños y; por tanto, se deduce que debe haber dos dímeros ocupando cada estrato de espesor  $h$  para los compuestos

**CP3** y **CP4**. De hecho, si recalculamos dicho parámetro para  $Z = 4$ , se obtienen valores de 10.8 y 14.8 Å, respectivamente; que resultan mucho más coherentes desde el punto de vista estructural. Esto significa que se necesitan dos dímeros para cubrir la sección transversal de la columna, lo cual implica que cada uno de los dímeros ocupa la mitad de dicha sección y; por tanto, tiene que asociarse con otra molécula, dando lugar a un par de dímeros gemelos (Esquema 1.2). El apilamiento de esta unidad estructural genera una pareja de nanotubos paralelos a lo largo del eje de la columna.

Para el compuesto **CP5**, aplicando el mismo algoritmo se obtuvo un valor de  $h = 11.8$  Å para  $Z = 2$ ; por lo que en este caso un solo dímero es suficiente para llenar toda la sección transversal y esto se traduce, en cuanto a la estructura de la mesofase, en la formación de una superficie porosa de un único nanotubo por sección (Esquema 1.2).

Otra evidencia que apoya nuestra hipótesis estructural se obtuvo por comparación de los valores calculados para la sección transversal de la celda unidad de cada uno de los compuestos. Si se compara el área de dicha sección para **CP3** ( $50.3 \text{ Å} \times 43.6 \text{ Å} = 2193 \text{ Å}^2$ ) y **CP4** ( $52.1 \text{ Å} \times 45.1 \text{ Å} = 2350 \text{ Å}^2$ ) con la calculada para **CP5** ( $46.4 \text{ Å} \times 40.2 \text{ Å} = 1865 \text{ Å}^2$ ), se puede comprobar que los valores para los dos primeros compuestos son demasiado grandes para estar formada por un dímero simple.

La evolución de dos dímeros a uno, con respecto a las unidades de apilamiento, se puede explicar por el hecho de que la aproximación de dos moléculas para formar un par de dímeros gemelos debe ser desfavorable estéricamente cuando el número de cadenas periféricas es demasiado grande.<sup>252</sup> Las estructuras diméricas derivadas de **CP3** y **CP4** no contienen un número de grupos alquílicos suficiente para llenar el espacio alrededor del dímero; por tanto, las columnas no se pueden generar por apilamiento de dímeros simples y, por el contrario, son forzados a ensamblarse en pares de dímeros gemelos. A diferencia de los dos anteriores, el dímero derivado de **CP5**, que contiene 54 cadenas en su estructura, cumple los requisitos para apilar y generar las columnas mesomórficas por sí mismo.

En un esfuerzo por racionalizar los resultados obtenidos, se restó a  $h$  (distancia entre unidades repetitivas) el valor de la distancia intradímero (4.8 Å) para estimar el valor de la distancia entre dímeros adyacentes. Para **CP5** se obtuvo un valor promedio de 7 Å aproximadamente, que lo sitúa entre los calculados para **CP3** (~6 Å) y **CP4** (~10 Å). Esto es razonable si consideramos que dicha separación está forzada por los requisitos estéricos impuestos por las cadenas hidrocarbonadas y que el número de cadenas por unidad de apilamiento aumenta de **CP3** (par de dímeros, 36 cadenas) a **CP5** (dímero simple, 54 cadenas) y de **CP5** a **CP4** (par de dímeros, 72 cadenas). El menor número de cadenas y la separación interdímeros más corta para **CP3**, que sugieren un apilamiento más fuerte de las unidades díméricas en este compuesto, podría ser una explicación a la alta entalpía de aclaramiento observada en comparación con **CP4** y **CP5**.

<sup>252</sup> (a) Beltrán, E.; Serrano, J. L.; Sierra, T.; Giménez, R. *Org. Lett.* **2010**, *12*, 1404-1407; (b) Barberá, J.; Puig, L.; Serrano, J. L.; Sierra, T. *Chem. Mater.* **2004**, *16*, 3308-3317.

#### 1.4. Aproximación supramolecular

Los resultados obtenidos nos hicieron pensar que el diseño propuesto podría servir como modelo en la elaboración de films y membranas porosas selectivas. Con este objetivo nos planteamos una estrategia que se basa en la introducción de un dendrón modificado **Dn4**, en el cual las cadenas hidrocarbonadas se sustituyen por colas portadoras de una olefina terminal. De este modo, una vez organizado el material y establecida la mesofase, se procedería a la polimerización del mismo, promovida por un iniciador de radicales, para dar lugar a la estructura deseada (Esquema 1.3).<sup>243,245</sup> Sin embargo, como se ha mencionado anteriormente, nos hemos encontrado diversas dificultades durante la síntesis de los compuestos **CP3-5** relacionadas con la agregación de los dendrones en la etapa de acoplamiento de la estructura mesogénica al esqueleto ciclopeptídico, que dificultan la obtención del producto triacoplado químicamente puro. El proceso requería largos tiempos de reacción y sucesivas purificaciones para obtener los productos con un grado de pureza adecuado; con lo cual solo pudimos aislar pequeñas fracciones de compuesto puro para abordar los estudios.

Por tanto; en primer lugar decidimos solucionar los problemas sintéticos valiéndonos de una aproximación supramolecular para la formación del *building block*. El motivo por el cual nos decantamos por esta estrategia radica en su sencillez, ya que no necesita reactivos adicionales ni purificaciones ulteriores. El único factor a tener en cuenta es la precisión en el ajuste de las proporciones de los elementos estructurales a la estequiometría de la reacción. En este caso el diseño juega un papel fundamental, ya que el control sobre la organización del material es menor, con lo cual resulta imprescindible la correcta elección de los grupos funcionales complementarios. Con respecto a esto, una de las interacciones supramoleculares más estudiadas y utilizadas es el par guanidinio-carboxilato, que da lugar a la formación de puentes salinos muy estables debido a la atracción por fuerzas electrostáticas de los grupos con carga opuesta.<sup>253</sup> Por ello pensamos que un sistema formado por un ciclopeptido que portase los grupos guanidinio en las cadenas laterales y el dendrón desprotonado podría dar lugar a la formación de la estructura supramolecular deseada, una vez establecida la interacción por puente salino entre ambos elementos estructurales en el seno de la disolución. Además, este diseño permitiría funcionalizar los poros de una manera sencilla, ya que una vez polimerizado el material supramolecular, podría lavarse el film con una disolución acuosa ácida que arrastrase el ciclopeptido, dejando los grupos carboxilo dirigidos hacia el interior de la cavidad (Esquema 1.3). Esto podría aprovecharse para

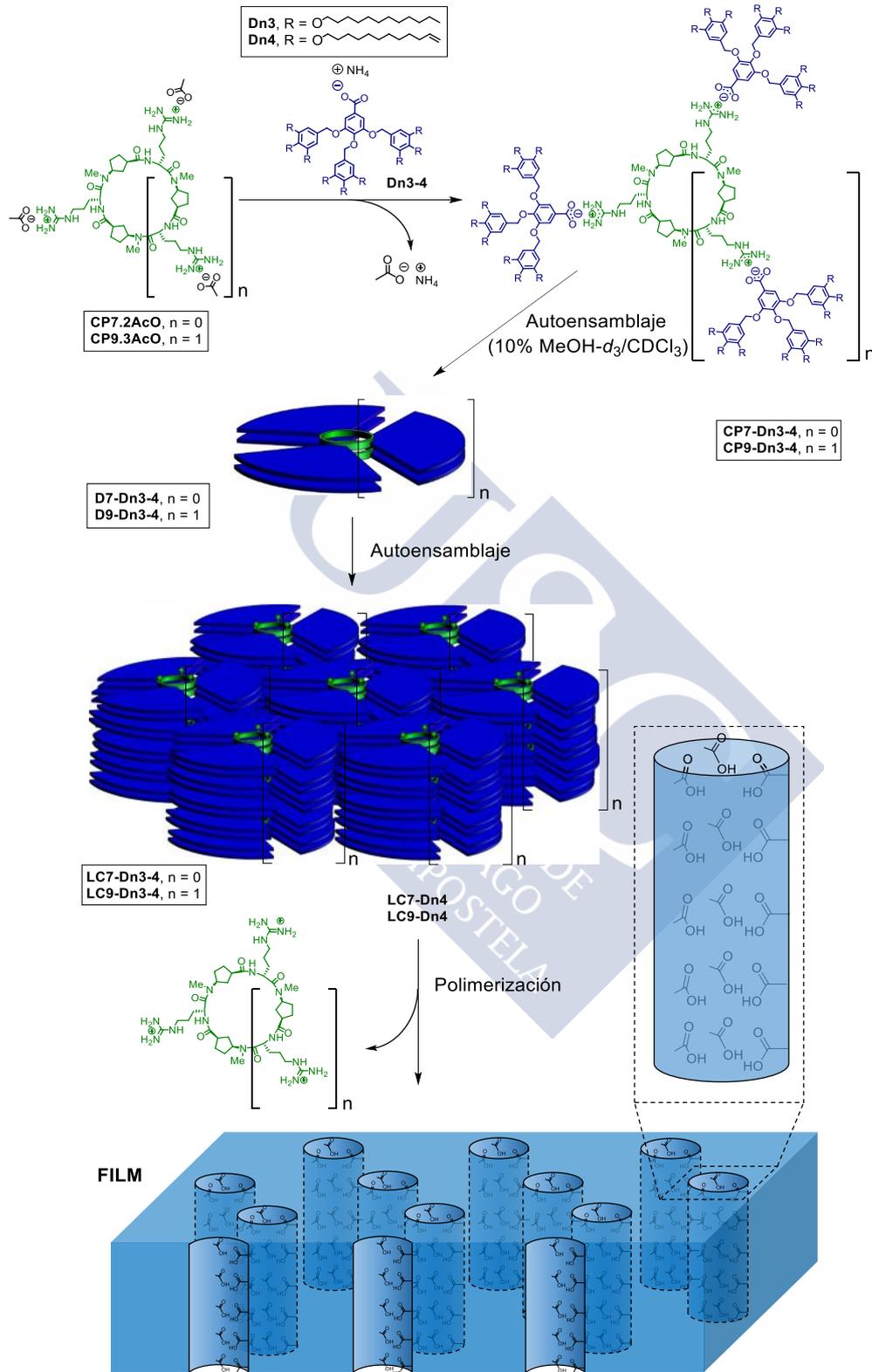
---

<sup>243</sup> (a) Lee, C. J.; Lee, S. J.; Chang, Y. J. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 3863-3866; (b) Lee, H.-K.; Lee, H.; Ko, Y. H.; Chang, Y. J.; Oh, N.-K.; Zin, W.-C.; Kimoon, K. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2669-2671; (c) Kraft, A.; Reichert, A.; Kleppinger, R. *Chem. Commun.* **2000**, 1015-1016.

<sup>245</sup> Bögels, G. M.; Lugger, J. A. M.; Goor, O. J. G. M.; Sijbesma, R. P. *Adv. Funct. Mater.* **2016**, *26*, 8023-8030.

<sup>253</sup> (a) Blondeau, P.; Segura, M.; Pérez-Fernández, R.; de Mendoza, J. *Chem. Soc. Rev.* **2007**, *36*, 198-210; (c) Best, M. D.; Tobey, S. L.; Anslyn, E. V. *Coord. Chem. Rev.* **2003**, *240*, 3-15; (b) Galan, A.; Andreu, D.; Echevarren, A. M.; Prados, P.; de Mendoza, J. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 1511-1512.

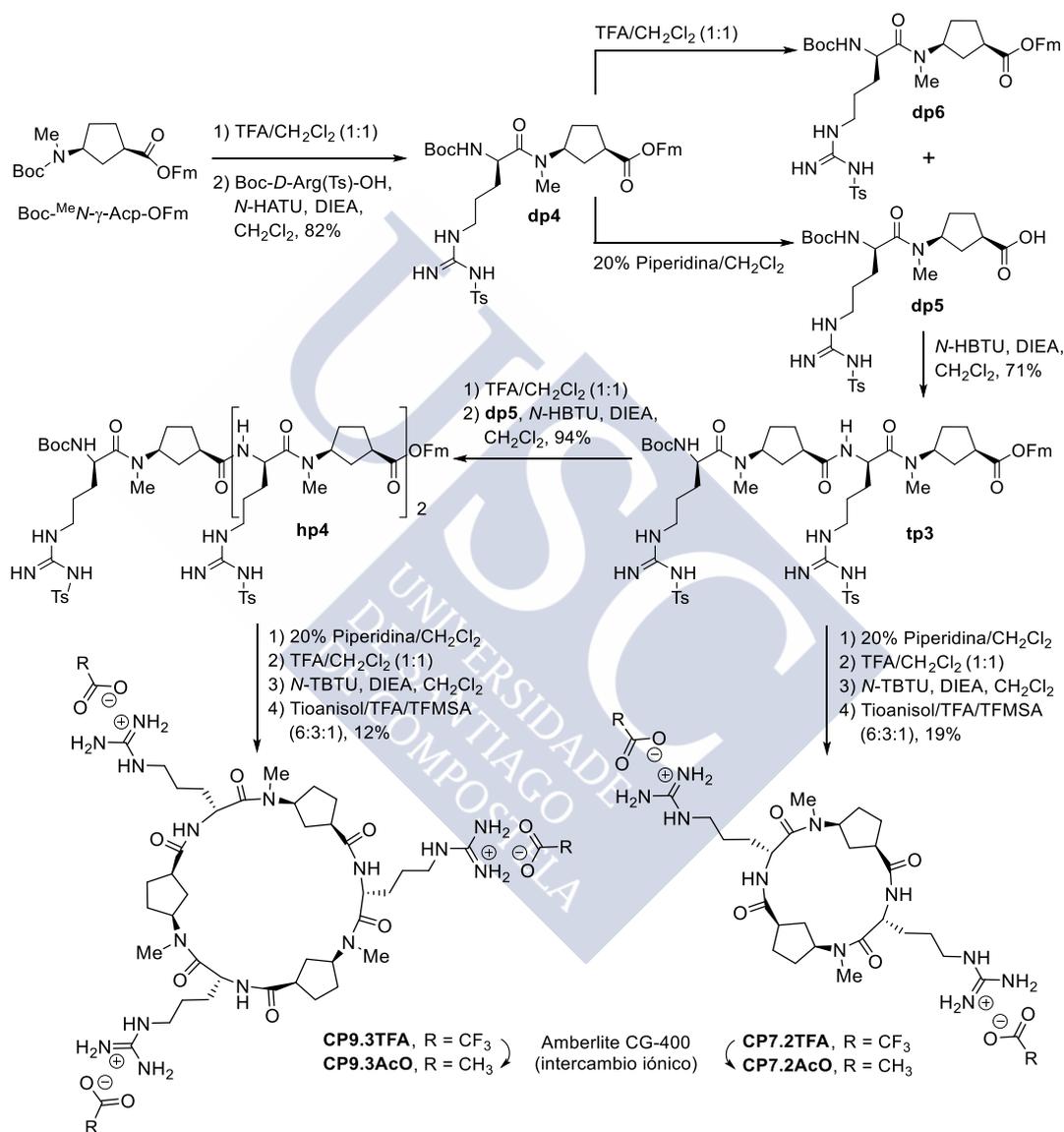
aumentar la selectividad de dichos poros en relación con el paso de moléculas de una naturaleza determinada con respecto a otras.



**Esquema 1.3.** Preparación de los agregados supramoleculares **CP7-Dn3**, **CP7-Dn4**, **CP9-Dn3** y **CP9-Dn4**, formación de la mesofase y preparación del films mediante polimerización a partir de los compuestos **LC7-Dn4** y **LC9-Dn4**.

### 1.4.1. Diseño y síntesis

Con el objetivo anteriormente descrito y siguiendo la ruta sintética descrita en el Esquema 1.4, se sintetizaron dos ciclopéptidos de diferente tamaño: un tetrapéptido,  $c-[(D-Arg-L-MeN-\gamma-Acp-)]_2 \cdot 2AcO$ , y un hexapéptido,  $c-[(D-Arg-L-MeN-\gamma-Acp-)]_3 \cdot 3AcO$ , que incorporan dos y tres argininas, respectivamente, en el esqueleto peptídico. Como aminoácido no natural nuevamente se utilizó el derivado *N*-metilado del ácido 3-aminociclopentanocarboxílico ( $\gamma-MeN-Acp$ ).



**Esquema 1.4.** Ruta sintética empleada en la preparación del ciclotetrapéptido **CP7.2AcO** y del ciclohexapéptido **CP9.3AcO**.

El tetrapéptido cíclico **CP7.2AcO** se obtuvo, al igual que en el caso anterior, mediante una estrategia convergente de síntesis en disolución a partir del éster fluorenilmetílico del ácido 3-aminociclopentanocarboxílico *N*-metilado (*Boc-L-MeN-γ-Acp-OFm*). El extremo amino se desprotegió por tratamiento con TFA. El aminoácido resultante se acopló con arginina *N*-tosilada en su cadena lateral (*Boc-D-Arg(Ts)-OH*) en presencia de *N*-HATU y

DIEA para dar lugar al dipéptido **dp4** en un 82% de rendimiento. El dipéptido resultante se dividió en dos porciones; una de ellas se trató con TFA, mientras que la segunda se hizo reaccionar con una disolución del 20% de piperidina en diclorometano, para obtener los dipéptidos desprotegidos **dp5** y **dp6** respectivamente. A continuación, ambos dipéptidos se acoplaron usando *N*-HBTU en medio básico, dando lugar al **tp3**. Tras la desprotección de los extremos C- y N-terminal en las condiciones previamente descritas, el tetrapéptido se cicló en condiciones de alta dilución (0.2 mM) en una mezcla de DMF/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:9), usando *N*-TBTU como agente de acoplamiento, para dar lugar al ciclopéptido protegido **CP6**, que se llevó a la siguiente etapa sin purificación previa debido a problemas de solubilidad, tanto en fase normal como en fase reversa. Finalmente, se procedió a la desprotección de las argininas mediante el tratamiento del ciclopéptido protegido con una mezcla de tianisól, TFA y ácido trifluorometanosulfónico para dar lugar a **CP7.2TFA** en un 19% de rendimiento global para las dos etapas (ciclación y desprotección).

Para la formación de la sal mesogénica se tuvo en cuenta que, dado que tanto el ciclopéptido descrito como el dedrón desprotonado tienen un anión y un catión asociado respectivamente, podría establecerse una competencia entre la formación del puente salino y la interacción de ambos componentes con sus respectivos contraiones. Para evitar este tipo de interferencias recurrimos a una estrategia que permitiese retirar los contraiones respectivos de cada uno de los componentes, mediante la formación de una sal volátil que pudiese ser eliminada fácilmente del medio (Esquema 1.3). Con este propósito, por una parte, decidimos reemplazar el anión trifluoroacetato, asociado a las argininas del ciclopéptido **CP7.2TFA**, por el acetato mediante un proceso de intercambio iónico. Para ello se hizo pasar una disolución acuosa de **CP7.2TFA** a través de una resina (Amberlite CG-400), previamente acondicionada con una disolución de acetato amónico 2M. El intercambio de contraión se confirmó por <sup>1</sup>H-RMN en D<sub>2</sub>O mediante integración del singlete a 1.79 ppm, correspondiente a los protones del grupo acetato, con respecto a las señales del péptido (Figura 1.11). Por otra parte, el grupo carboxílico del dendrón **Dn3** se desprotonó con una disolución acuosa de NH<sub>3</sub> para dar lugar a la sal amónica derivada. De esta forma una vez combinados ambos componentes para dar lugar al agregado supramolecular **CP7-Dn3**, se obtiene como subproducto acetato amónico que puede ser eliminado de manera sencilla mediante liofilización de la mezcla.

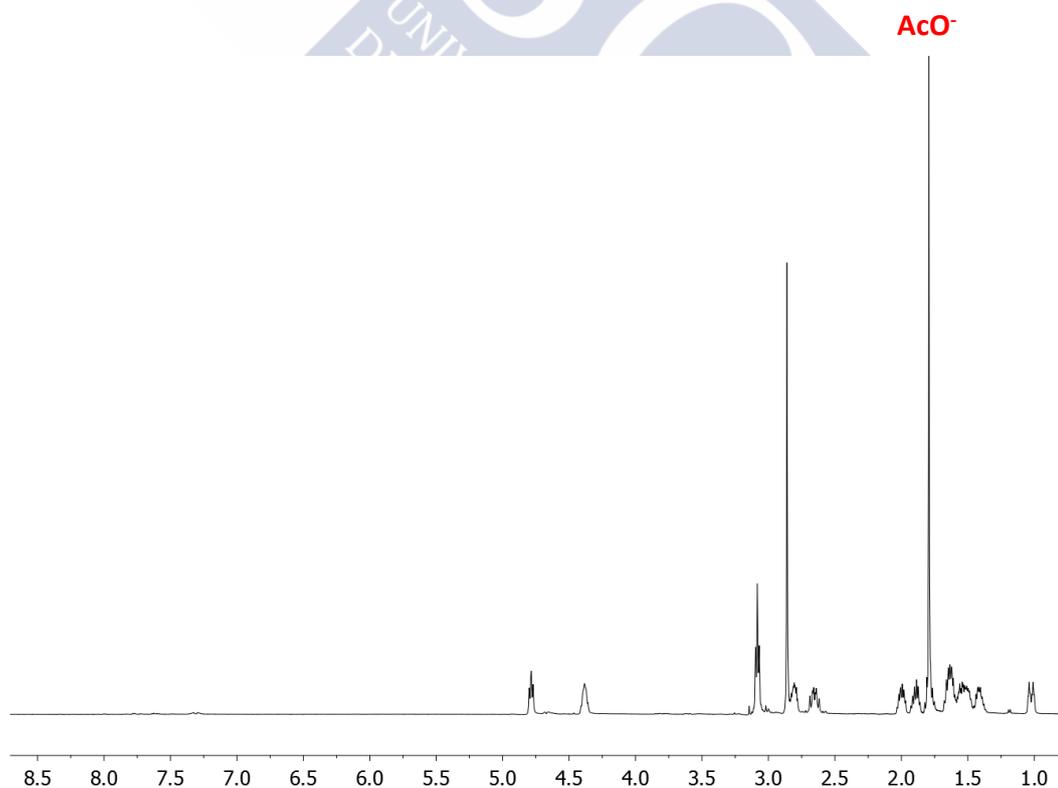
El ciclohexapéptido **CP9.3AcO** se preparó de forma análoga a **CP7.2AcO** a partir del hexapéptido **hp4**, obtenido por acoplamiento del tetrapéptido **tp3** y el dipéptido **dp4**, previa desprotección de los extremos N- y C-terminal respectivamente. A continuación, el péptido resultante **hp4** se trató en primer lugar con una disolución del 20% de piperidina en diclorometano, posteriormente con una mezcla 1:1 de TFA en diclorometano y, finalmente, se cicló en condiciones de alta dilución (1 mM) en una mezcla de DMF/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:9), usando *N*-TBTU como agente de acoplamiento. Bajo estas condiciones se obtuvo el ciclopéptido protegido **CP8**, que nuevamente se utilizó en la siguiente etapa sin purificación previa debido a problemas de solubilidad. Por último, se procedió a la desprotección de las

argininas en medio ácido para dar lugar a **CP9.3TFA** en un 12% de rendimiento global para las dos etapas (ciclación y desprotección). El ciclopéptido **CP9.3AcO** se obtuvo por intercambio del contraión mediante el procedimiento descrito anteriormente (Figura 1.12).

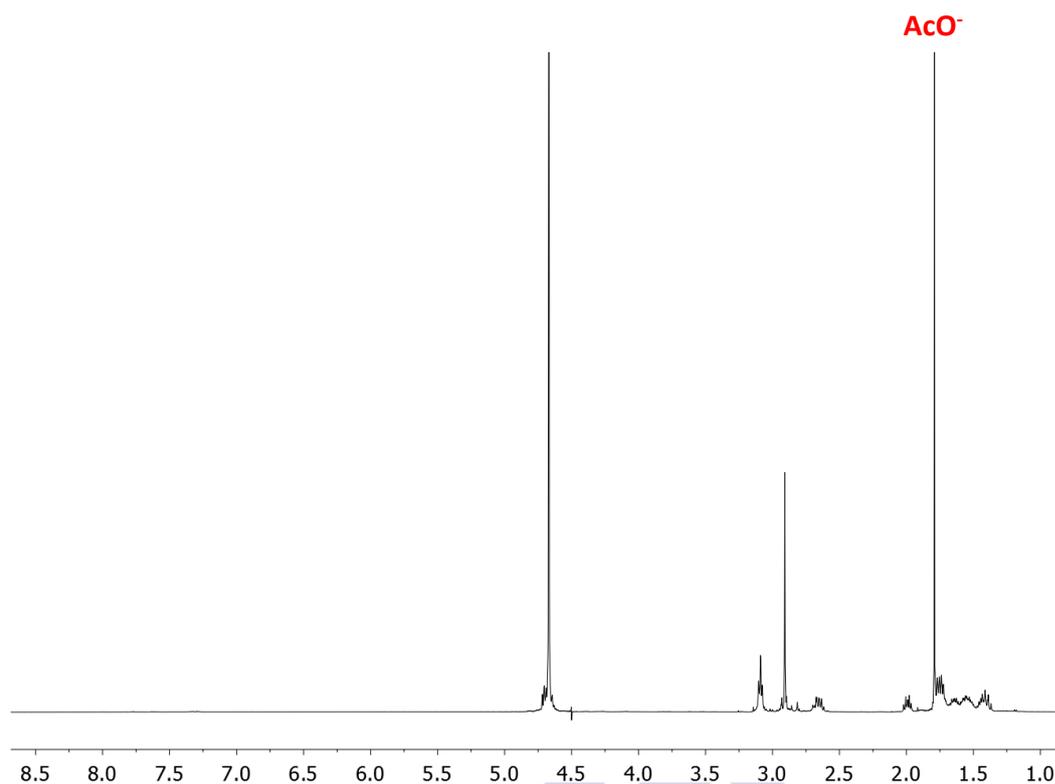
Para la formación de los agregados supramoleculares se eligió el dendrón **Dn3**, ya que según los estudios realizados con los compuestos covalentes **CP3-5** es el que conduce a la formación de un dímero simple. **CP7-Dn3** y **CP9-Dn3** se prepararon mezclando los ciclopéptidos **CP7.2AcO** y **CP9.3AcO** con los equivalentes correspondientes de la sal de amonio del dendrón **Dn3**, seguido de la liofilización de la muestra para eliminar el acetato amónico obtenido como subproducto.

#### 1.4.2. Estudios de RMN e IR

Debido al carácter hidrofílico de los compuestos **CP7.2AcO** y **CP9.3AcO**, la caracterización por RMN se realizó en agua deuterada. Con lo cual no observamos las señales correspondientes a los NHs, a causa del intercambio de dichos protones con los deuterones del disolvente (Figuras 1.11 y 1.12) y; por tanto, no fue posible determinar si la especie predominante en disolución es el monómero o el dímero. De todas formas, es de esperar que la formación de la estructura dimérica no tenga lugar en estas condiciones, ya que la competencia de los disolventes polares por los grupos aceptores y dadores involucrados en el enlace de hidrógeno dificulta la formación de la lámina  $\beta$ .

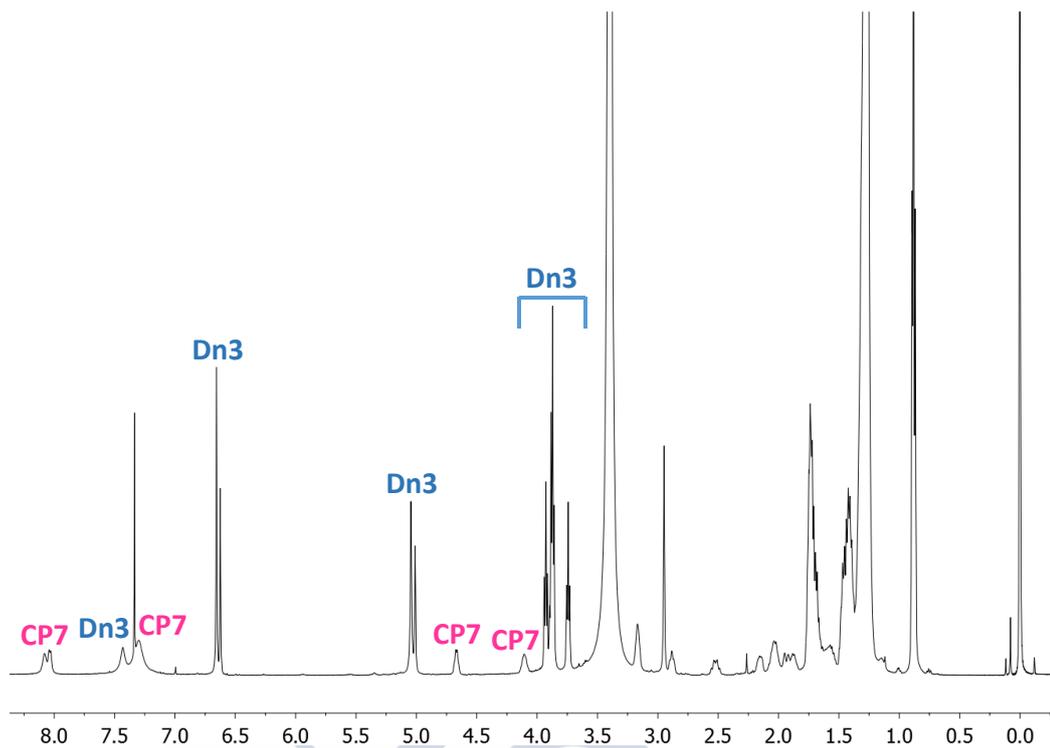


**Figura 1.11.** <sup>1</sup>H-RMN en D<sub>2</sub>O del compuesto **CP7.2AcO** donde se indica el singlete correspondiente al anión acetato.

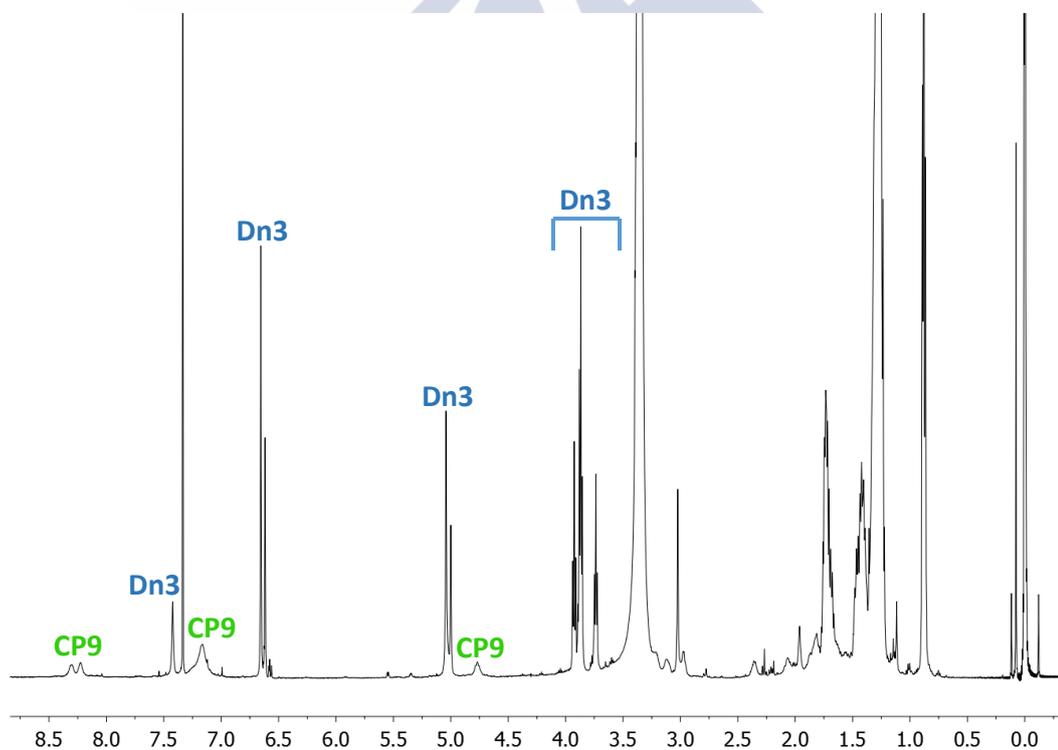


**Figura 1.12.**  $^1\text{H}$ -RMN en  $\text{D}_2\text{O}$  del compuesto **CP9.3AcO** donde se indica el singlete correspondiente al anión acetato.

A pesar de la distinta naturaleza de los péptidos preparados, de carácter hidrofílico, y el dendrón, de carácter hidrofóbico, esperábamos que la interacción entre los grupos guanidinio y carboxilato condujese a la solubilización de los primeros en disolventes orgánicos apolares. Sin embargo, ambos compuestos resultaron ser insolubles en  $\text{CDCl}_3$  y sólo se disolvieron cuando se añadió un 10% de  $\text{MeOH-}d_3$ , siendo la solubilidad del sistema con tres argininas inferior a la de su análogo de dos. Por integración de las señales de los péptidos correspondientes y el dendrón pudimos determinar que la relación péptido-dendrón era la correcta en ambos casos, 1:2 para **CP7-Dn3** y 1:3 para **CP9-Dn3** (Figuras 1.13 y 1.14). Además, el desplazamiento químico de los protones de la amida a 8.04 y 8.30 ppm, respectivamente sugieren la formación de las estructuras diméricas correspondientes **D7-Dn3** y **D9-Dn3** (Esquema 1.3). Por otra parte, los espectros de FTIR mostraron las bandas amida I ( $1625\text{-}1630\text{ cm}^{-1}$ ) y amida II ( $1530\text{-}1540\text{ cm}^{-1}$ ). Sin embargo, en esta ocasión las bandas de la región en torno a  $3300\text{ cm}^{-1}$  no fueron tan claras como las observadas para los análogos covalentes, debido al solapamiento con otras señales asociadas a los grupos guanidinio.



**Figura 1.13.**  $^1\text{H}$ -RMN en 10%  $\text{MeOH-}d_3/\text{CDCl}_3$  del compuesto **D7-Dn3** donde se indica algunas señales características del péptido y del dendrón.



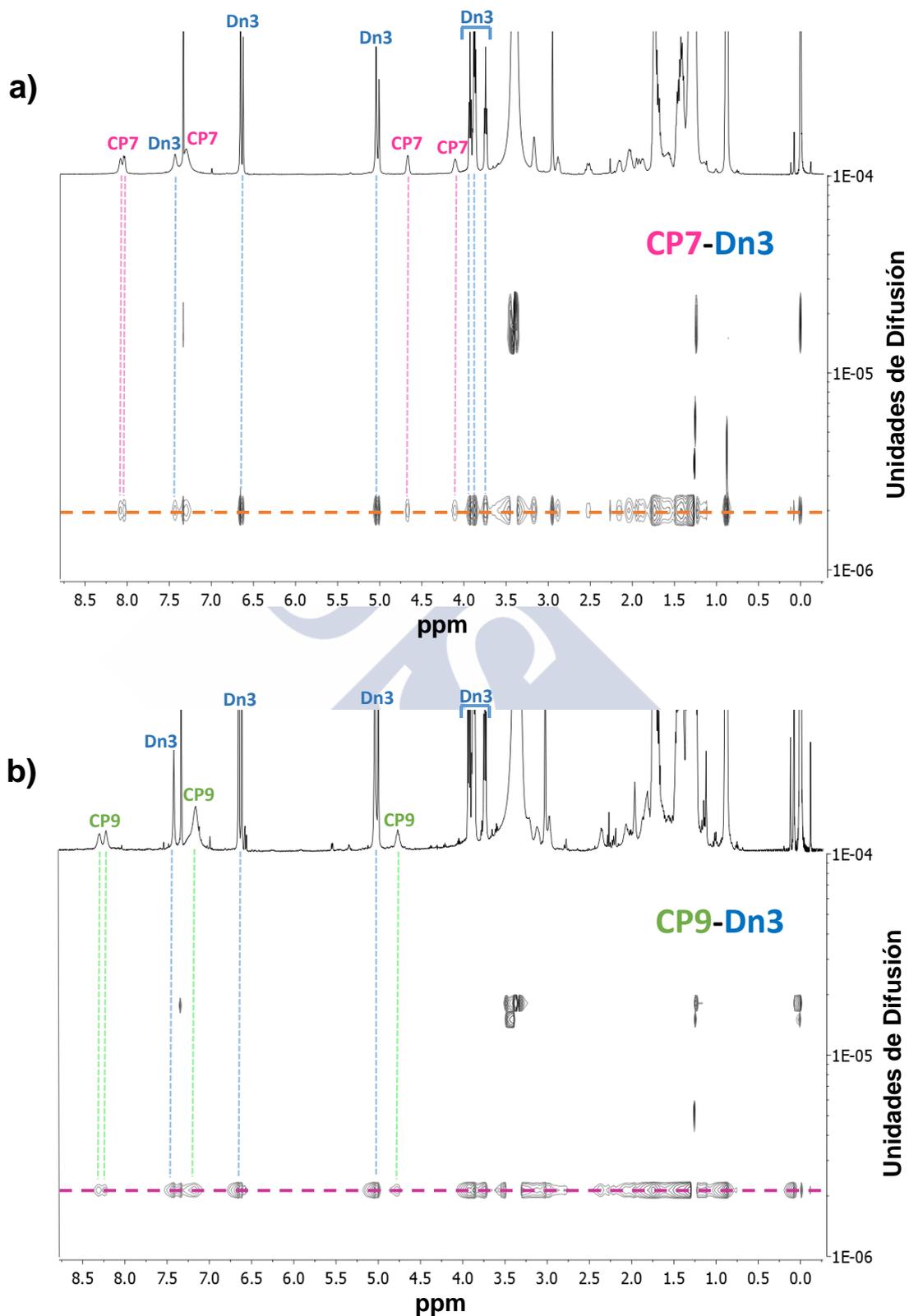
**Figura 1.14.**  $^1\text{H}$ -RMN en 10%  $\text{MeOH-}d_3/\text{CDCl}_3$  del compuesto **D9-Dn3** donde se indica algunas señales características del péptido y del dendrón.

Con el objetivo de verificar si existe una interacción péptido-dendrón en disolución, se llevaron a cabo experimentos de DOSY (Diffusion Ordered Spectroscopy). Dichos experimentos se fundamentan en que las moléculas difunden en un determinado disolvente a una velocidad que depende del tamaño de las mismas; de modo que, a mayor tamaño molecular, menor es su velocidad de difusión. La facilidad con que un soluto se mueve en el seno de una disolución está representada por el coeficiente de difusión y depende principalmente del tamaño y forma del soluto, de la viscosidad del disolvente y de la temperatura (ver anexo III para más detalles). Como es evidente, a los protones pertenecientes a una misma molécula les corresponde el mismo valor para dicho coeficiente; por tanto, en una representación bidimensional del espectro de  $^1\text{H}$ -RMN frente a la difusión para una mezcla de compuestos, siempre que la diferencia de tamaño entre los mismos nos permita distinguirlos, observaríamos que las señales de cada componente se alinearían en torno al mismo valor del coeficiente de difusión. Por ello, esta técnica resulta muy útil para estudiar interacciones supramoleculares en sistemas complejos.<sup>254</sup>

En el caso que nos ocupa podrían darse dos situaciones: que el péptido y el dendrón difundan por separado o que exista una interacción entre ambos elementos, dando lugar a una única especie. Si el péptido y el dendrón se comportasen como moléculas independientes cabría esperar que cada componente difundiese con una velocidad distinta y esto se traduciría en que las señales de  $^1\text{H}$ -RMN asociadas a cada uno de ellos se alinearían en torno a dos valores de difusión diferentes en el espectro 2D. En cambio, si existe una interacción entre ellos para formar la estructura supramolecular, deberíamos observar un único valor para el coeficiente de difusión y; por tanto, las señales de péptido y dendrón deberían coincidir en una misma línea imaginaria. Los espectros de DOSY de la mezcla **CP7/Dn3** (1:2) y **CP9/Dn3** (1:3) reflejaron en ambos casos esta segunda situación, sugiriendo que el péptido y el dendrón interaccionan para formar una única especie en disolución (Figura 1.15).

---

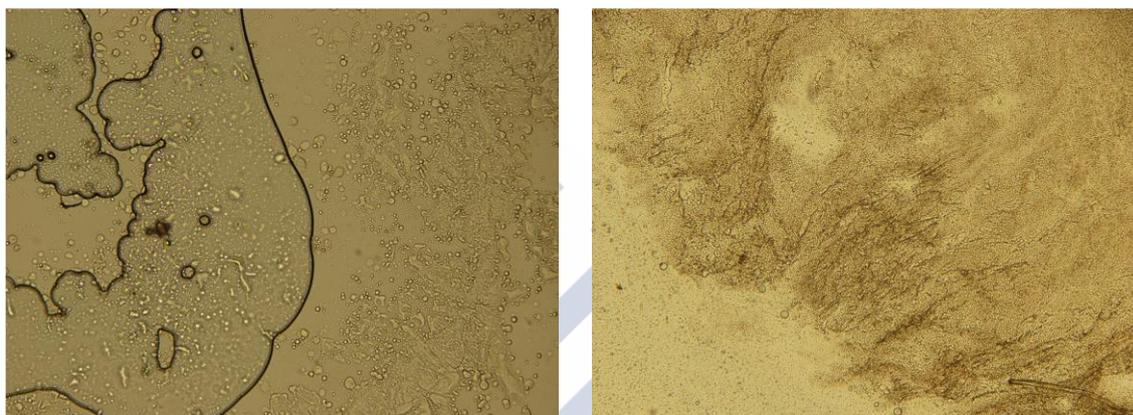
<sup>254</sup> Johnson Jr., C. S. *Progr. NMR Spectrosc.* **1999**, *34*, 203-256.



**Figura 1.15.** Espectros de DOSY, ampliados en la región de 8.75 a 3.25 ppm, de la mezcla CP7/Dn3 1:2 (a) y CP9/Dn3 1:3 (b). Para mayor claridad se indican las señales de los péptidos y el dendrón y las líneas horizontales que atraviesan las señales que presentan el mismo valor para la difusión.

### 1.4.3. Estudios en estado sólido

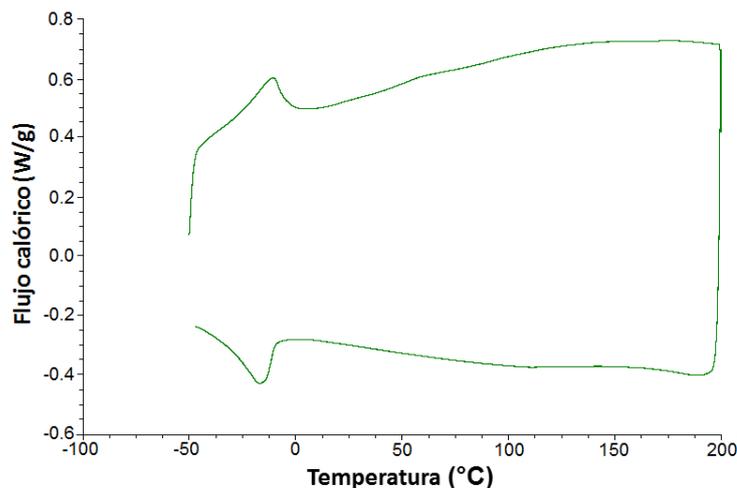
Una vez confirmada la formación de los compuestos **CP7-Dn3** y **CP9-Dn3** en disolución, decidimos llevar a cabo estudios en estado sólido para comprobar que dichos agregados supramoleculares presentaban propiedades mesogénicas. En el microscopio óptico no se pudo determinar que las muestras analizadas correspondan a materiales uniformes, ya que en las fotos obtenidas parece que se trate de una mezcla de dos estructuras no miscibles (Figura 1.16). Tampoco se observó una textura clara, únicamente se pudo apreciar algo de textura en algunas zonas y un aumento de fluidez alrededor de 160 °C; sin embargo, una parte del sólido de aspecto cristalino y birrefringente nunca llegó a fundirse.



**Figura 1.16.** Imágenes obtenidas por microscopía óptica de luz polarizada (POM) para los compuestos **CP7-Dn3** a 180 °C (izquierda) y **CP9-Dn3** a 170 °C (derecha). Como se puede comprobar, en ninguna de las dos muestras se observa una textura uniforme correspondiente a una única estructura regular.

Con la intención de profundizar los estudios, el compuesto **CP7-Dn3** se analizó por calorimetría diferencial de barrido (DSC), por ser la muestra que presentaba mejor aspecto en microscopía óptica de luz polarizada (POM). En el termograma registrado hasta los 200 °C no se detectó nada en la región en torno a 160 °C, que es donde se había observado el aumento de fluidez en microscopía óptica. Tampoco se apreció la transición típica del dendrón aislado, a 117 °C, hacia el estado de líquido isotrópico;<sup>255</sup> por lo que no se puede afirmar que el péptido y el dendrón no estén interaccionando. Lo único que pudimos distinguir fue un pico por debajo de temperatura ambiente, que podría deberse al proceso de cristalización y, quizás, en la fase de enfriamiento (parte inferior del termograma) un pico muy ancho o salto en la línea base entre 100 y 150 °C; aunque los resultados no fueron concluyentes (Figura 1.17).

<sup>255</sup> Percec, V.; Peterca, M.; Tsuda, Y.; Rosen, B. M.; Uchida, S.; Imam, M. R.; Ungar, G.; Heiney, P. A. *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 8994-9004.



**Figura 1.17.** Termograma obtenido por DSC para el compuesto **CP7-Dn3**, registrado a una velocidad de 10 °C/min, en el que se muestra un ciclo de calentamiento-enfriamiento.

Dado que ni la microscopía óptica, ni la calorimetría diferencial de barrido nos proporcionaron demasiada información acerca de la estructura y la naturaleza mesogénica de **CP7-Dn3** y **CP9-Dn3**, decidimos analizarlos por difracción de rayos X. Dicho estudio realizado con las dos muestras vírgenes, es decir, sin tratamiento térmico nos permitió determinar que ambos compuestos parecen estar en el estado de cristal líquido y que no hay fase cristalina. Este hecho se dedujo de la presencia de un único halo ancho difuso a 4.3 Å en la región de altos ángulos. Además las dos estructuras presentan un anillo a bajo ángulo, que no es tan fino como suele observarse en el caso de una fase columnar típica. De esto se deduce que el orden intercolumnar se extiende a corta distancia. Para el compuesto **CP9-Dn3** dicho anillo de bajo ángulo aparece a una distancia de 35 Å y no se observa un segundo anillo, como sucedía en el caso de los análogos covalentes (Figuras 1.7, 1.8 y 1.9, izquierda). Si la mesofase es hexagonal y asumimos que ésta es la reflexión fundamental (1 0), obtenemos un valor para el parámetro de malla de  $a = 40$  Å, ligeramente inferior a los obtenidos para los compuestos **CP3-5** (Tabla 1.3). En el caso de **CP7-Dn3**; la distancia a la cual se observa el anillo de bajo ángulo es de 41.5 Å y, a diferencia del compuesto anterior, se detecta un anillo muy difuso, a ángulo ligeramente superior al del anillo descrito, a una distancia de 27-28 Å. Sin embargo, la relación entre los máximos de dichos anillos no es raíz de 3, sino 1.5, lo que no tiene ningún significado físico. En todo caso, los máximos observados fueron relativamente anchos y difusos; mucho más de lo esperado para una fase columnar típica.

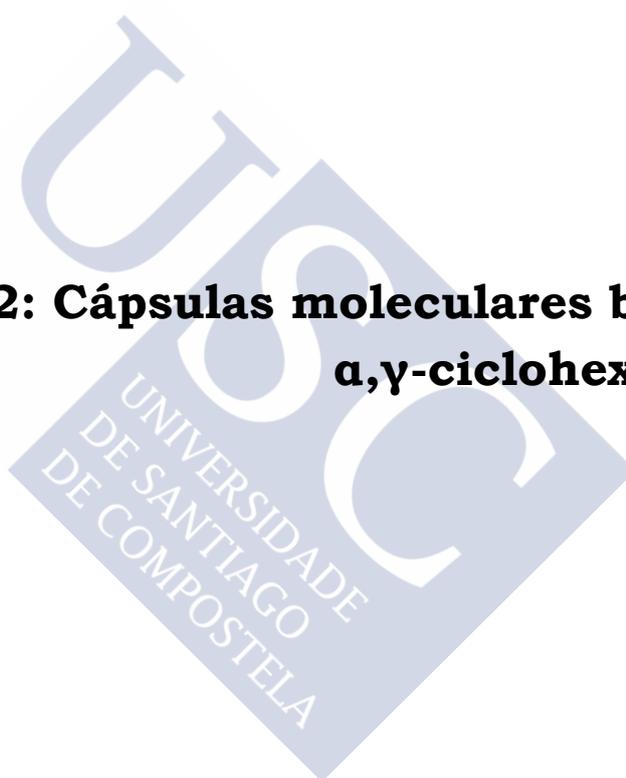
Como se puede comprobar los resultados obtenidos mediante los estudios en estado sólido no fueron concluyentes. Por una parte, teniendo en cuenta los datos de POM parece que tenemos una mezcla compleja de materiales, sin embargo, a la vista del análisis por DSC dicha mezcla no se corresponde al péptido y el dendrón aislados. Este hecho lo confirman los estudios de rayos X, ya que no se observa en ninguno de los dos casos un anillo definido consistente con una fase columnar típica, que cabría esperar para el dendrón si se

comportase de forma independiente. Lo único que podemos afirmar es que los compuestos preparados presentan un carácter mesogénico, pero no es posible determinar el tipo de mesofase que forman ni la manera en que se organiza el material.

A la vista de estos pobres resultados, decidimos parar el proyecto en este punto y explorar otros diseños, que exceden el marco de esta tesis doctoral.



## **Capítulo 2: Cápsulas moleculares basadas en $\alpha,\gamma$ -ciclohexapéptidos**





A partir de los trabajos de Rebek y de Mendoza en la década de los noventa, donde se describen los primeros ejemplos de cápsulas supramoleculares autoensambladas,<sup>96,98,102</sup> y del posterior desarrollo de las cajas moleculares poliédricas, que permitieron obtener de forma sencilla una gran variedad de cavidades con geometrías y tamaños muy diversos;<sup>29a,c,57,255</sup> la química de los procesos *host-guest* ha experimentado un importante crecimiento en los últimos años, convirtiéndose en uno de los campos más prolíficos y dinámicos. El interés en este tipo de estructuras radica en el hecho de que emulan ciertos sistemas biológicos fundamentales para la vida como las enzimas y los receptores, por lo que presentan algunas de sus funciones. Además, estas especies permiten llevar a cabo procesos que no están presentes en la Naturaleza y que muy difícilmente se podrían realizar usando estrategias convencionales de química en disolución.<sup>34b,56</sup>

Generalmente, las interacciones entre el receptor y el ligando están prefijadas y vienen determinadas por la forma, las dimensiones y la naturaleza de la cavidad interna.<sup>28</sup> Esto provoca que sea precisamente dicha cavidad la que establezca qué tipo de moléculas pueden acceder a ella y qué fenómenos pueden tener lugar.<sup>28</sup> Existen numerosos ejemplos en la bibliografía en los que se utilizan de forma exitosa este tipo de sistemas en procesos de reconocimiento, catálisis, estabilización de intermedios reactivos, etc.<sup>34c,81,29a,256</sup> Sin embargo, hasta donde nosotros sabemos, son mucho más escasos los diseños en los cuales una parte del receptor participa activamente en el proceso de encapsulación.<sup>109</sup> En este caso, la internalización del ligando no se produce por una perfecta complementariedad entre ambos elementos, sino que está dirigida por un grupo funcional o conjunto de grupos funcionales anclados a la estructura del receptor.<sup>109,129</sup> La introducción de esta modificación estructural podría presentar una serie de ventajas frente a los contenedores moleculares descritos anteriormente: como el reconocimiento de moléculas con escasa afinidad por la cavidad, el

<sup>96</sup> (a) Branda, N.; Wyler, R.; Rebek Jr., J. *Science* **1994**, *263*, 1267-1268; (b) Wyler, R.; de Mendoza, J.; Rebek Jr., J. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1993**, *32*, 1699-1701.

<sup>98</sup> Heinz, T.; Rudkevich, D. M.; Rebek Jr., J. *Nature* **1998**, *394*, 764-766.

<sup>102</sup> Shimizu, K. D.; Rebek Jr., J. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1995**, *92*, 12403-12407.

<sup>29a,c</sup> (a) Zarra, S.; Wood, D. M.; Roberts, D. A.; Nitschke, J. R. *Chem. Soc. Rev.* **2015**, *44*, 419-432; (c) Smulders, M. M. J.; Riddell, I. A.; Browne, C.; Nitschke, J. R. *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 1728-1754.

<sup>57</sup> Cook, T. R.; Stang, P. J. *Chem. Rev.* **2015**, *115*, 7001-7045.

<sup>255</sup> (a) Ahmad, N.; Younus, H. A.; Chughtai, A. C.; Verpoort, F. *Chem. Soc. Rev.* **2015**, *44*, 9-25; (b) Tranchemontagne, D. J.; O'Keeffe, M.; Ni, Z.; Yaghi, O. M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 5136-5147.

<sup>34b</sup> Díaz-Moscoso, A.; Ballester, P. *Chem. Commun.* **2017**, *53*, 4635-4652.

<sup>56</sup> Catti, L.; Zhang, Q.; Tiefenbacher, K. *Chem. Eur. J.* **2016**, *22*, 9060-9066.

<sup>28</sup> Ballester, P.; Fujita, M.; Rebek Jr., J. *Chem. Soc. Rev.* **2015**, *44*, 392-393.

<sup>34c</sup> Galan, A.; Ballester, P. *Chem. Soc. Rev.* **2016**, *45*, 1720-1737.

<sup>81</sup> (a) Catti, L.; Zhang, Q.; Tiefenbacher, K. *Synthesis* **2016**, *48*, 313-328; (b) Kaphan, D. M.; Levin, M. D.; Bergman, R. G.; Raymond, K. N.; Dean Toste, F. *Science* **2015**, *350*, 1235-1238; (c) Leenders, S. H. A. M.; Gramage-Doria, R.; de Bruin, B.; Reek, J. N. H. *Chem. Soc. Rev.* **2015**, *44*, 433-448.

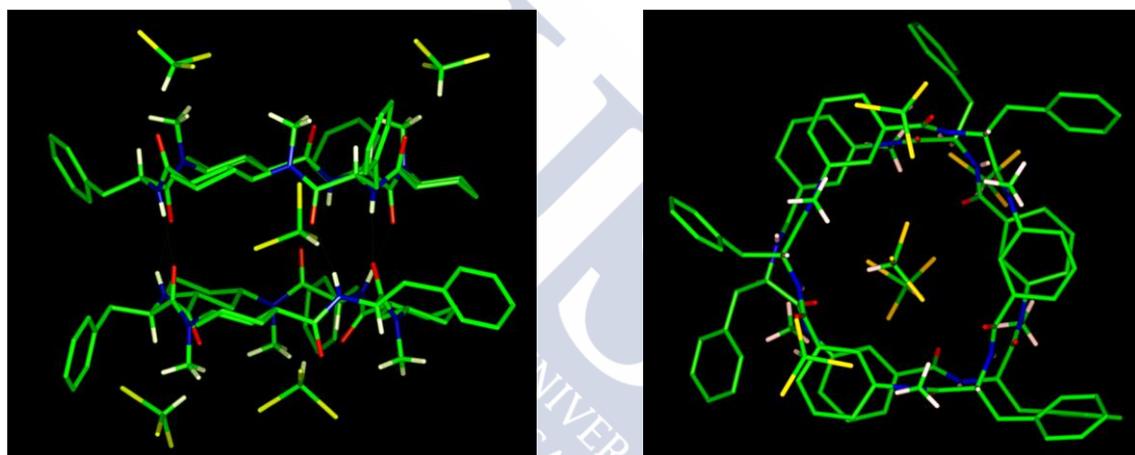
<sup>256</sup> Brown, C. J.; Toste, F. D.; Bergman, R. G.; Raymond, K. N. *Chem. Rev.* **2015**, *115*, 3012-3035.

<sup>109</sup> Adriaenssens, L.; Ballester, P. *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 3261-3277.

<sup>129</sup> Rebilly, J.-N.; Colasson, B.; Bistri, O.; Over, D.; Reinaud, O. *Chem. Soc. Rev.* **2015**, *44*, 467-489.

aumento de la selectividad con respecto al tipo de sustratos reconocidos y el incremento de los valores de las constantes de asociación debido al efecto de la estabilización adicional proporcionada por el grupo director.

Por otra parte, como hemos visto, los dímeros formados por  $\alpha,\gamma$ -ciclopeptidos dan lugar a cavidades cuyo tamaño y propiedades pueden ser modulados de forma sencilla mediante la correcta elección del número y tipo de aminoácidos empleados en la preparación del esqueleto peptídico.<sup>151,158</sup> Las estructuras obtenidas por difracción de rayos X mostraron que dichos compuestos cristalizaban en todos los casos con una molécula de agua o cloroformo en su interior,<sup>163,194</sup> hecho que puso de manifiesto que dicha cavidad necesita ser ocupada por al menos una molécula de disolvente (Figura 2.1). Todas estas consideraciones nos hicieron pensar que estos sistemas podrían emplearse como componente básico en la elaboración de cápsulas moleculares *ad hoc*.



**Figura 2.1.** Vistas lateral (izquierda) y superior (derecha) de la estructura obtenida por difracción de rayos X de un dímero  $\alpha,\gamma$ -cicloheptapéptido.<sup>163</sup> Las imágenes muestran la presencia de una molécula de disolvente ( $\text{CHCl}_3$ ) en el interior de la estructura.

## 2.1. Diseño

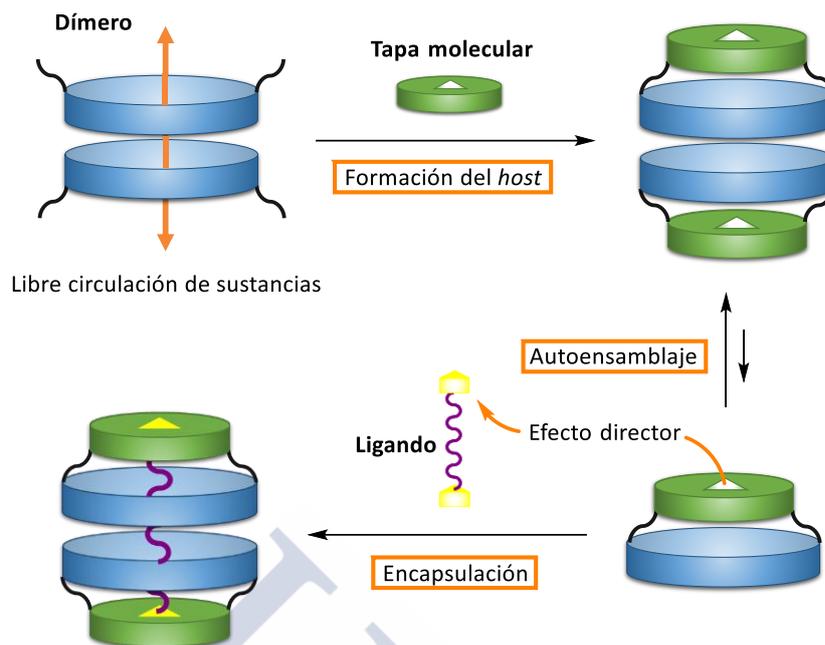
Para transformar un dímero  $\alpha,\gamma$ -ciclopeptídico en una cápsula molecular es necesario cerrar ambos extremos del mismo mediante la introducción de un par de elementos estructurales, anclados a cada uno de los péptidos, que bloqueen la libre circulación de sustancias a través de la superficie interna (Esquema 2.1). La estructura resultante consiste en un receptor supramolecular en el que la encapsulación se produce por atrapado del ligando durante el proceso de autoensamblaje.

<sup>151</sup> Chapman, R.; Danial, M.; Koh, M. L.; Jolliffe, K. A.; Perrier, S. *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41*, 6023-6041.

<sup>158</sup> (a) Brea, R. J.; Reiriz, C.; Granja, J. R. *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39*, 1448-1456; (b) Bong, D. T.; Clark, T. D.; Granja, J. R.; Ghadiri, M. R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 980-1011.

<sup>163</sup> Amorín, M.; Castedo, L.; Granja, J. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 2844-2845.

<sup>194</sup> Amorín, M.; Villaverde, V.; Castedo, L.; Granja, J. R. *J. Drug Delivery Sci. Technol.* **2005**, *15*, 87-92.



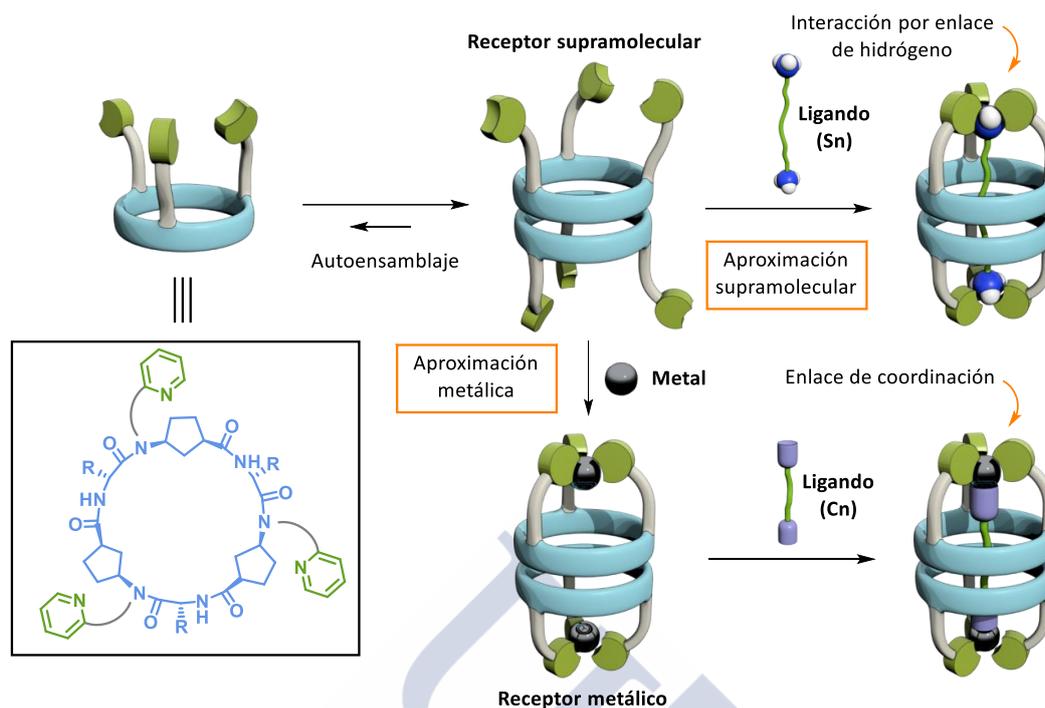
**Esquema 2.1.** Estrategia general para la obtención de cápsulas moleculares basadas dímeros  $\alpha,\gamma$ -ciclopeptídicos en los cuales las tapas ejercen un efecto director en la internalización del ligando.

En vista de la escasa selectividad advertida en los estudios de rayos X; en los cuales, como hemos mencionado anteriormente, la superficie interna podía ser ocupada indistintamente por una molécula hidrofílica o hidrofóbica,<sup>163,194</sup> decidimos decantarnos por una estrategia de reconocimiento en la cual las tapas ejerciesen un efecto director sobre el tipo de moléculas que deseamos confinar en el interior de la cavidad (Esquema 2.1). Esta aproximación presenta ciertas ventajas, ya que permite cambiar las propiedades y las funciones del receptor mediante la modificación de dichas tapas sin tener que variar la totalidad de la estructura.

Teniendo en cuenta todos estos aspectos generales, el primer diseño que abordamos consistió en un dímero formado por el autoensamblaje de dos hexámeros que incorporan tres piridinas ancladas al esqueleto peptídico para llevar a cabo el cierre de la estructura. Cada uno de los monómeros resultantes se comporta como un agente quelante que puede formar complejos metálicos, o establecer interacciones mediante enlace de hidrógeno con otras moléculas para dar lugar a la formación de la cápsula (Esquema 2.2).

<sup>163</sup> Amorín, M.; Castedo, L.; Granja, J. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 2844-2845.

<sup>194</sup> Amorín, M.; Villaverde, V.; Castedo, L.; Granja, J. R. *J. Drug Delivery Sci. Technol.* **2005**, *15*, 87-92.



**Esquema 2.2.** Modelo de cápsula molecular basado en un dímero de  $\alpha,\gamma$ -ciclohexapéptidos que incorporan tres piridinas en la estructura peptídica para realizar el cierre de la cavidad. El diseño propuesto permite llevar a cabo el reconocimiento a través de dos estrategias distintas: la supramolecular, en la cual las piridinas interactúan con el ligando mediante enlace de hidrógeno; o la metálica, a través de la adición de un metal de geometría tetraédrica que actúa como director de la encapsulación.

Para la construcción del ciclo péptido pensamos nuevamente en una combinación de un  $\alpha$ -aminoácido (alanina) y un aminoácido no natural  $N$ -propargilado derivado del ácido 3-aminociclopentanocarboxílico ( $\gamma$ -Propargil- $N$ -Acp). Los motivos fundamentales de nuestra elección, como ya se ha mencionado en el capítulo anterior, se basan en que la incorporación de  $\gamma$ -Acp a la estructura, incrementa el valor de la constante de asociación con respecto a ciclo péptidos constituidos únicamente por  $\alpha$ -aminoácidos y, adicionalmente, nos ofrece la posibilidad de modificar las propiedades de la cavidad interna mediante la funcionalización de los metilenos en posición  $\beta$ , proyectados hacia el interior de la estructura.<sup>197,198,199</sup> La  $N$ -propargilación, en este caso, no solo cumple la función de impedir la formación del nanotubo; sino que, además, nos permite introducir las tapas de la estructura mediante acoplamientos de Sonogashira o a través de una cicloadición 3+2 de tipo *click*. Como  $\alpha$ -aminoácido se eligió la alanina debido a que presenta una cadena lateral hidrofóbica pequeña que favorece la solubilidad en disolventes orgánicos.

Con respecto al diseño de las tapas se consideró el tipo de simetría del ciclo péptido y la doble condición impuesta de actuar como cierre y director de la encapsulación al mismo

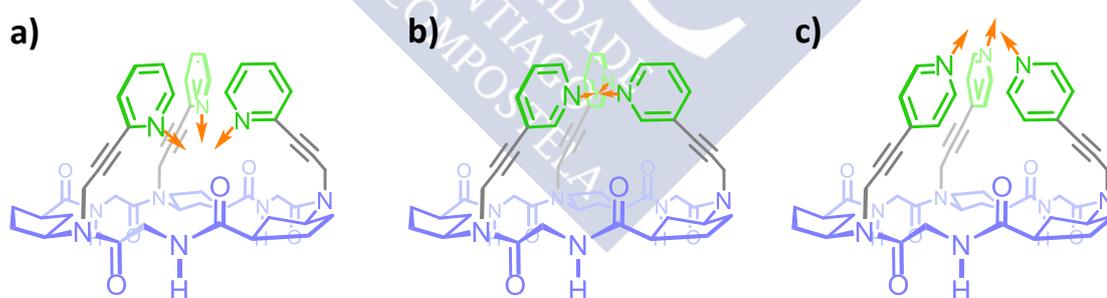
<sup>197</sup> Rodríguez-Vázquez, N.; Salzinger, S.; Silva, L. F.; Amorín, M.; Granja, J. R. *Eur. J. Org. Chem.* **2013**, 3477-3493.

<sup>198</sup> Reiriz, C.; Amorín, M.; García-Fandiño, R.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Org. Biomol. Chem.* **2009**, 7, 4358-4361.

<sup>199</sup> (a) Rodríguez-Vázquez, N.; Amorín, M.; Alfonso, I.; Granja, J. R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, 55, 4504-4508; (b) Rodríguez-Vázquez, N.; García-Fandiño, R.; Amorín, M.; Granja, J. R. *Chem. Sci.* **2016**, 7, 183-187.

tiempo. Teniendo en cuenta estos requerimientos, pensamos que la incorporación de tres piridinas al esqueleto peptídico podría ser una buena alternativa; ya que daría lugar a un quelante tridentado que podría interactuar a través de enlaces de hidrógeno con grupos dadores complementarios o coordinarse a iones metálicos, manteniendo la simetría  $C_3$  del sistema (Esquema 2.2). En el primer caso la internalización se produce por el efecto de las propias piridinas, que proyectan al ligando hacia la cavidad interior gracias a la formación simultánea de tres enlaces de hidrógeno. En el segundo caso, sin embargo, es el metal el encargado de dirigir la encapsulación; por tanto, estimamos que los metales que mejor se adaptaría a nuestro sistema serían aquéllos que dan lugar a complejos de geometría tetraédrica. De esta forma, tres de los orbitales del centro metálico estarían ocupados por las piridinas y el cuarto orbital debería orientado hacia el interior de la estructura, por lo que sería el causante del reconocimiento de moléculas huésped.

Un último factor que consideramos fue la posición del heteroátomo en el anillo de piridina con respecto al punto de anclaje al ciclopéptido. De las tres posibles maneras de unir el heterociclo al esqueleto peptídico: *orto*, *meta* y *para*; previmos que las dos primeras son las más adecuadas para nuestro sistema, ya que permiten orientar el nitrógeno hacia el interior de la cavidad sin distorsionar la estructura del dímero. Por el contrario, la unión en *para* proyecta el heteroátomo hacia el exterior y, por tanto, la interacción con el ligando se produciría a través de la superficie externa de la cápsula. En primer lugar decidimos explorar el sistema resultante del acoplamiento de las piridinas en *orto*, ya que teniendo en cuenta el diámetro del ciclopéptido y que los átomos de nitrógeno se encuentran proyectados más profundamente hacia el interior de la cavidad, este diseño podría conducir más fácilmente a la internalización del huésped (Esquema 2.3).

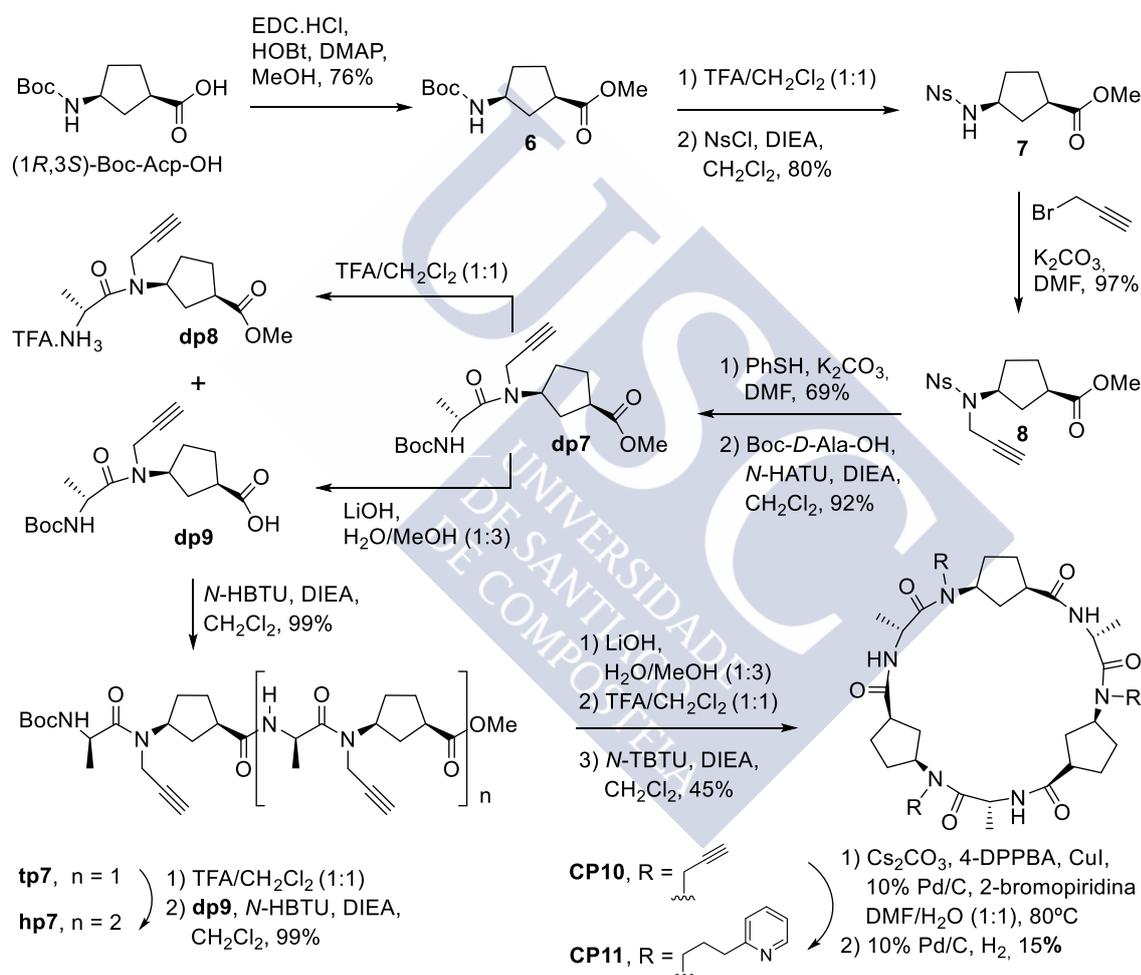


**Esquema 2.3.** Modelo de la estructura de una hemicápsula con los heteroátomos situados en las tres posiciones posibles de la piridina a) *orto*, b) *meta* y c) *para*. Las flechas indican la dirección de coordinación del quelato en cada caso. Para mayor claridad se han omitido las cadenas laterales.

## 2.2. Síntesis

En base a estos planteamientos se propuso la síntesis del ciclopéptido **CP11**, que se llevó a cabo siguiendo la ruta sintética que se ilustra en el Esquema 2.4. Los intentos de incorporación del grupo propargilo a la estructura peptídica mediante las condiciones de alquilación habituales, usadas para la obtención de los derivados *N*-metilados del  $\gamma$ -Acp y  $\gamma$ -

Ach, resultaron infructuosos.<sup>187,197</sup> Por tanto, tuvimos que recurrir a una variante, desarrollada por Fukuyama, que permite la transformación de aminas primarias en secundarias en condiciones suaves.<sup>258</sup> Este procedimiento se basa en la incorporación de un grupo atractor de electrones (2- o 4-nitrobenzenosulfonilo) para la protección de la amina. De esta forma se incrementa la acidez del protón del grupo amino, con lo cual puede ser sustraído por bases más débiles que las que se utilizan en los procedimientos de *N*-alquilación habituales. Estas condiciones resultan especialmente atractivas en nuestro caso debido a que reducen la epimerización del carbono  $\alpha$  que conllevaría el uso de bases fuertes como los hidruros. Además, el grupo protector puede ser eliminado de manera sencilla y ortogonal al final del proceso mediante el tratamiento con un tiol en condiciones alcalinas.



**Esquema 2.4.** Ruta sintética para la preparación de **CP11** a partir del  $\gamma$ -aminoácido (1*R*, 3*S*)-Boc-Acp-OH.

Partiendo de estas premisas, el  $\gamma$ -aminoácido *N*-propargilado **8** se obtuvo a partir del (1*R*,3*S*)-Boc-Acp-OH enantioméricamente puro, mediante el método anteriormente descrito.

<sup>187</sup> Reiriz, C.; Castedo, L.; Granja, J. R. *J. Pep. Sci.* **2008**, *14*, 241-249.

<sup>197</sup> Rodríguez-Vázquez, N.; Salzinger, S.; Silva, L. F.; Amorín, M.; Granja, J. R. *Eur. J. Org. Chem.* **2013**, 3477-3493.

<sup>258</sup> (a) Fukuyama, T.; Cheung, M.; Jow, C. K.; Hidai, Y.; Kan, T. *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 5831-5834; (b) Fukuyama, T.; Jow, C. K.; Cheung, M. *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 6373-6374.

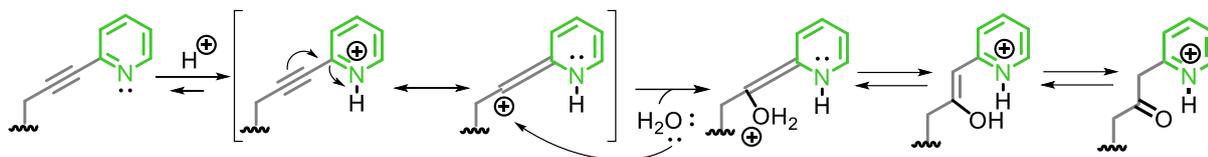
Para ello, en primer lugar, se procedió a la protección del extremo carboxílico mediante una esterificación con EDC.HCl, HOBt y DMAP en MeOH. El compuesto resultante **6** se trató con TFA en diclorometano y, posteriormente, con cloruro de 2-nitrobenzenosulfonilo en condiciones básicas para dar lugar al nosilato **7**. La *N*-alquilación de **7** se llevó a cabo con bromuro de propargilo, usando carbonato potásico en DMF seca, para dar lugar a **8** en excelente rendimiento.

Una vez obtenido el  $\gamma$ -aminoácido funcionalizado, se procedió a la formación del esqueleto peptídico. El grupo nosilo se eliminó por tratamiento con tiofenol en presencia de carbonato potásico. A continuación, el producto desprotegido resultante se acopló con Boc-*D*-Ala-OH, usando *N*-HATU como agente de acoplamiento en presencia de diisopropiletilamina (DIEA) para dar lugar al dipéptido **dp7** en un 92% de rendimiento. El dipéptido resultante se dividió en tres porciones; una de ellas se trató con TFA, mientras que una segunda se hizo reaccionar con LiOH en una mezcla de H<sub>2</sub>O/MeOH (1:3), para obtener los dipéptidos desprotegidos **dp8** y **dp9** respectivamente. A continuación, ambos dipéptidos se acoplaron usando *N*-HBTU en medio básico, dando lugar al **tp7** en un 99% de rendimiento. El hexapéptido se preparó por acoplamiento del tetrapéptido obtenido con la porción del dipéptido que no empleamos en la síntesis del **tp7**, previa desprotección de los grupos funcionales correspondientes. El grupo Boc del **tp7** se eliminó mediante tratamiento con TFA en diclorometano y el extremo carboxílico del **dp7** se desprotegió con LiOH en una mezcla de H<sub>2</sub>O/MeOH (1:3). Posteriormente, los péptidos desprotegidos se trataron con *N*-HBTU en medio básico para dar lugar al hexapéptido **hp7**. Tras la desprotección de los extremos *C*- y *N*-terminal, el péptido resultante se cicló en condiciones de alta dilución, usando *N*-TBTU como agente de acoplamiento, dando lugar al ciclopéptido **CP10** en un 45% de rendimiento.

Finalmente, se llevó a cabo la incorporación de las piridinas al esqueleto peptídico mediante una variante en medio acuoso de la reacción de Sonogashira.<sup>259</sup> Debido a la polaridad del producto resultante, fue necesario llevar a cabo la purificación en fase reversa. Este tipo de cromatografía, que implica el uso de eluyentes ligeramente ácidos, da lugar a la protonación de las piridinas ancladas al ciclopéptido. Los anillos de piridonio resultantes activan los alquinos frente a ataques nucleófilos. Por tanto, en las condiciones cromatográficas se observaba la hidratación parcial de los triples enlaces, que conducía a la obtención de mezclas complejas (Esquema 2.5). Para evitar la adición de agua al alquino, decidimos reducirlos mediante una hidrogenación catalizada por paladio, antes de proceder a la purificación del producto triacoplado (Esquema 2.4). El proceso global condujo a la obtención del ciclopéptido **CP11** en un 15% de rendimiento global para las dos etapas. A lo largo del proceso de unión de las piridinas al esqueleto peptídico, únicamente se observó la formación del producto triacoplado, sin que se detectasen en ningún momento las formas intermedias mono y diacoplada. Esto sugiere que la incorporación de las piridinas en estas

<sup>259</sup> Brea, R. J.; López-Deber, M. P.; Castedo, L.; Granja, J. R. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 7870-7873.

condiciones es un proceso coordinado en el que el anclaje del primer heterociclo promueve el acoplamiento de los otros dos.<sup>260</sup>



Esquema 2.5. Mecanismo de la hidratación del alquino unido al anillo de piridina en medio ácido.

### 2.3. Estudios de dimerización por RMN e IR

Una vez obtenido el ciclopéptido CP11, se estudió su dimerización en disolución. El espectro de  $^1\text{H}$ -RMN en cloroformo deuterado mostró un doblete a 8.40 ppm, con una constante de acoplamiento de 9.4 Hz, correspondiente a los protones de la amida. El hecho de observar una única señal para dichos protones fuertemente desapantallada, es consistente con el establecimiento de interacciones por enlace de hidrógeno entre los grupos carbonilo y NH para dar lugar a la formación del dímero. Además, el desplazamiento químico fue independiente de la concentración y de la temperatura; por lo que la constante de asociación ( $K_a$ ) debe ser superior a  $10^5 \text{ M}^{-1}$ .<sup>163,192</sup> Mediante espectroscopía de FTIR también obtuvimos indicios de la obtención de la estructura supramolecular. Esto se evidenció por las bandas a  $1626 \text{ cm}^{-1}$  y  $1530 \text{ cm}^{-1}$  correspondientes a amida I y amida II, respectivamente, y por la banda de estiramiento del enlace N-H en torno a  $3300 \text{ cm}^{-1}$ ; que son características de interacciones tipo lámina  $\beta$  antiparalela.<sup>163,178, 181,182,192,194,248,249</sup>

<sup>260</sup> (a) Ngo, T. H.; Labuta, J.; Lim, G. N.; Webre, W. A.; D'Souza, F.; Karr, P. A.; Lewis, J. E. M.; Hill, J. P.; Ariga, K.; Goldup, S. M. *Chem. Sci.* **2017**, *8*, 6679-6685; (b) Movsisyan, L. D.; Franz, M.; Hampel, F.; Thompson, A. L.; Tykwinski, R. R.; Anderson, H. L. *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138*, 1366-1376; (c) Neal, E. A.; Goldup S. M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 12488-12493; (d) Hoekman, S.; Kitching, M. O.; Leigh, D. A.; Pappmeyer, M.; Roke, D. *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, *137*, 7656-7659; (e) Crowley, J. D.; Goldup, S. M.; Lee, A.-L.; Leigh, D. A.; McBurney, R. T. *Chem. Soc. Rev.* **2009**, *38*, 1530-1541.

<sup>163</sup> Amorín, M.; Castedo, L.; Granja, J. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 2844-2845.

<sup>192</sup> Brea, R. J.; Vázquez, M. E.; Mosquera, M.; Castedo, L.; Granja, J. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 1653-1657.

<sup>178</sup> Brea, R. J.; Amorín, M.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 5710-5713.

<sup>181</sup> Amorín, M.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Chem. Eur. J.* **2005**, *11*, 6543-6551.

<sup>182</sup> Brea, R. J.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Chem. Commun.* **2007**, 3267-3269.

<sup>194</sup> Amorín, M.; Villaverde, V.; Castedo, L.; Granja, J. R. *J. Drug Delivery Sci. Technol.* **2005**, *15*, 87-92.

<sup>248</sup> Bandekar, J. *Biochim. Biophys. Acta* **1992**, *1120*, 123-143.

<sup>249</sup> (a) Kubelka, J.; Keiderling, T. A. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 12048-12058; (b) Haris, P. I.; Chapman, D. *Biopolymers (Peptide Sci.)* **1995**, *37*, 251-263; (c) Krimm, S.; Bandekar, J. *Adv. Protein Chem.* **1986**, *38*, 181-364.

## 2.4. Estudios de coordinación y reconocimiento

### 2.4.1. Aproximación metálica

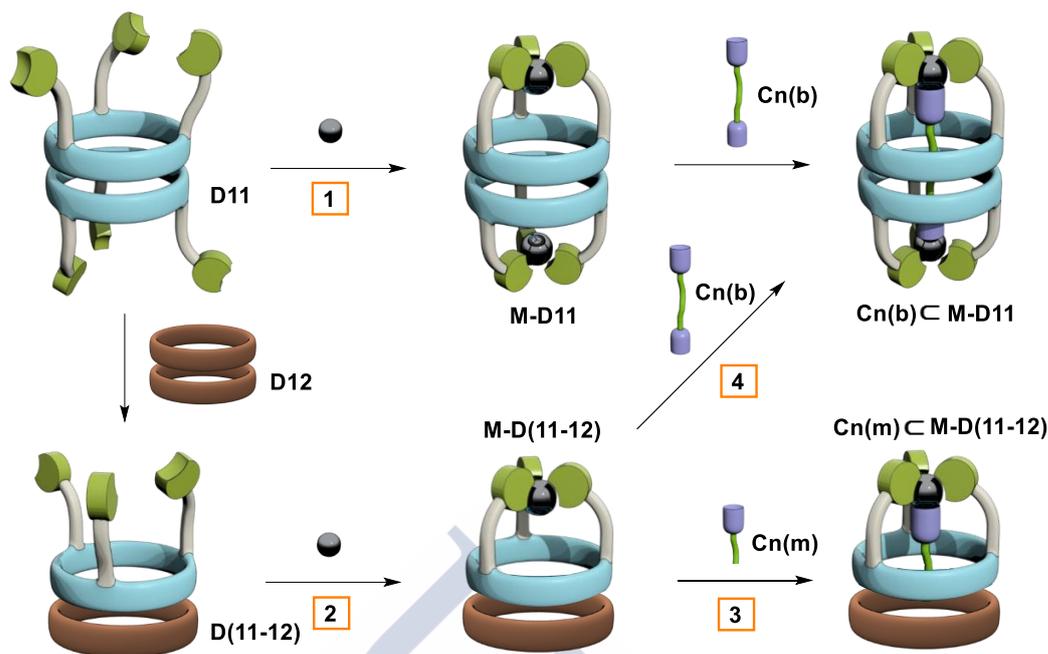
A lo largo de la discusión del diseño del receptor, hemos destacado que la estructura preparada presenta cierta versatilidad ya que puede reconocer ligandos de manera supramolecular, a través de la formación de enlaces de hidrógeno con las piridinas, o formar complejos en los que el metal ejerce un efecto director sobre la molécula huésped (Esquema 2.2). Para comenzar el estudio decidimos probar la aproximación metálica. En este caso, la estrategia de inclusión del ligando en la cavidad interna conlleva el cierre previo de la estructura mediante la adición de un metal que se coordine simultáneamente con las tres piridinas ancladas a cada unidad del **CP11**. Además, como hemos mencionado anteriormente, es preciso que el centro metálico posea un cuarto orbital orientado hacia el interior de la estructura que fuerce la internalización de la molécula huésped. Por tanto, decidimos emplear metales que presentan una geometría de coordinación tetraédrica.

En primer lugar, inspirándonos en sistemas análogos descritos en la bibliografía, estudiamos el cierre de la estructura mediante la coordinación de Ag(I).<sup>261</sup> Para ello se llevaron a cabo experimentos de adición de AgPF<sub>6</sub> disuelto en acetonitrilo deuterado sobre una disolución de ciclopeptido **CP11** en deuterocloroformo (Esquema 2.6, 1). También, en base a ejemplos bibliográficos de complejos de plata con ligandos tridentados basados en piridinas en los cuales el cuarto orbital se ocupa por una molécula de acetonitrilo, pensamos que este sistema podría ser útil en el reconocimiento de bisnitrilos.<sup>262</sup> Por tanto, las adiciones se realizaron en presencia de 1 equivalente de 1,5-dicianopentano, el cual se seleccionó considerando la distancia estimada entre los dos centros metálicos. El proceso se siguió por <sup>1</sup>H-RMN, registrando el espectro después de cada nueva adición. En estas condiciones, la incorporación del metal condujo a la precipitación del ciclopeptido; mientras que el bisnitrilo permaneció en disolución, lo que indica que no se produce el reconocimiento en el interior de la estructura.

---

<sup>261</sup> (a) Huang, M.; Corbin, J. R.; Dolan, N. S.; Fry, C. G.; Vinokur, A. I.; Guzei, I. A.; Schomaker, J. M. *Inorg. Chem.* **2017**, *56*, 6725-6733; (b) Williams, N. J.; Gan, W.; Reibenspies, J. H.; Hancock, R. H. *Inorg. Chem.* **2009**, *48*, 1407-1415; (c) Crespo, O.; Gimeno, M. C.; Laguna, A.; Larraz, C.; Villacampa, D. *Chem. Eur. J.* **2007**, *13*, 235-246; (d) Yan, Z.; Xia, S.; Gardlik, M.; Seo, W.; Maslak, V.; Gallucci, J.; Hadad, C. M.; Badjic, J. D. *Org. Lett.* **2007**, *12*, 2301-2304.

<sup>262</sup> (a) Howson, S. E.; Clarkson, G. J.; Faulkner, A. D.; Kaner, R. A.; Whitmore, M. J.; Scott, P. *Dalton Trans.* **2013**, *42*, 14967-14981; (b) Letko, C. S.; Rauchfuss, T. B.; Zhou, X.; Gray, D. L. *Inorg. Chem.* **2012**, *51*, 4511-4520; (c) Sumbly, C. J.; Hardie, M. J. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 6395-6399; (d) Sumbly, C. J.; Fisher, J.; Prior, T. J.; Hardie, M. J. *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 2945-2959.



**Esquema 2.6.** Modelo de las estrategias seguidas en los estudios de coordinación del metal para el cierre de la estructura y el reconocimiento de ligandos. La ruta 1 describe el proceso de encapsulación a partir del homodímero **D11**, mientras que la ruta 2 corresponde al reconocimiento de ligandos bidentados (**Cn(b)**) y monodentados (**Cn(m)**) a partir del heterodímero **D(11-12)**.

#### 2.4.1.1. Formación del heterodímero

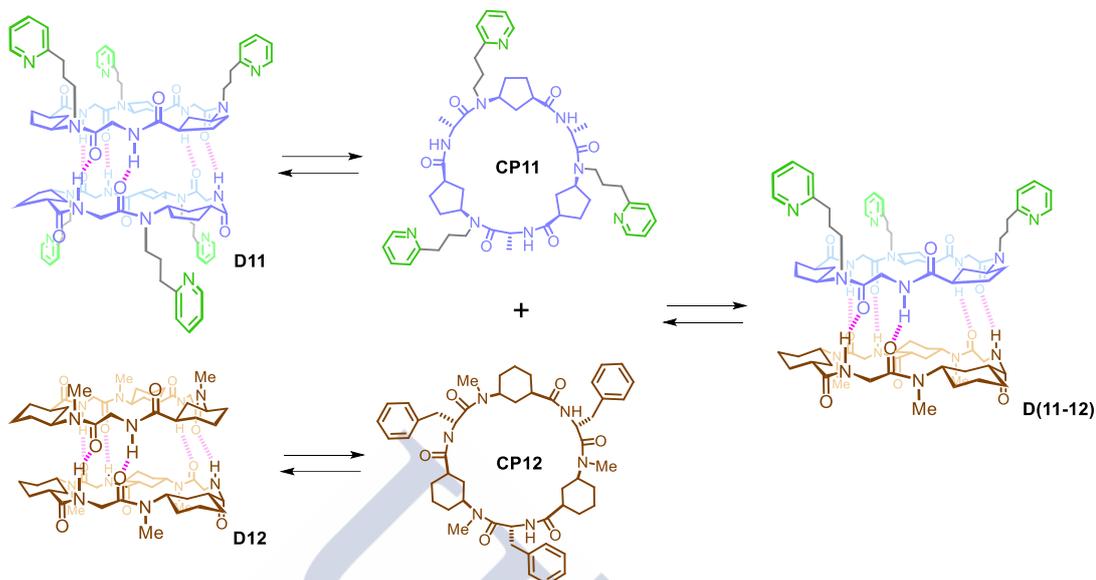
Para aumentar la solubilidad del sistema decidimos formar un heterodímero, en el que sólo uno de los CPs contuviese los grupos piridina, y estudiar la coordinación metálica sobre esta especie (Esquema 2.7). En trabajos previos realizados en el grupo, se había demostrado que la mezcla de dos  $\alpha,\gamma$ -ciclo péptidos formados por  $\gamma$ -Acp y  $\gamma$ -Ach, respectivamente, daban lugar a la obtención preferente de la forma heterodimérica.<sup>178, 191,192</sup> La formación del heterodímero **D(11-12)** se llevó a cabo añadiendo cantidades crecientes de **CP11** sobre una disolución de *c*-{[D-Phe-L-MeN- $\gamma$ -Ach-]<sub>3</sub>} (**CP12**) en cloroformo deuterado. La transformación se siguió por <sup>1</sup>H-RMN, centrándonos en los cambios producidos en las señales de los protones amídicos (NHs) (Figura 2.2). La adición de **CP11** sobre **CP12** provocó la atenuación del doblete a 8.69 ppm, correspondiente al homodímero **D12**, y la aparición de dos nuevas señales a 8.75 y 8.47 ppm, procedentes de la nueva forma dímica. Una vez alcanzada la equivalencia molar, la mezcla 1:1 de ambos ciclo péptidos mostró que el heterodímero, que es la especie predominante en disolución, se encuentra en equilibrio con sus homodímeros correspondientes en una relación **D(11-12)/D11/D12** (9:0.5:0.5). Este hecho se evidenció por la presencia de las señales a 8.40 y 8.69 ppm, asociadas a los

<sup>178</sup> Brea, R. J.; Amorín, M.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 5710-5713.

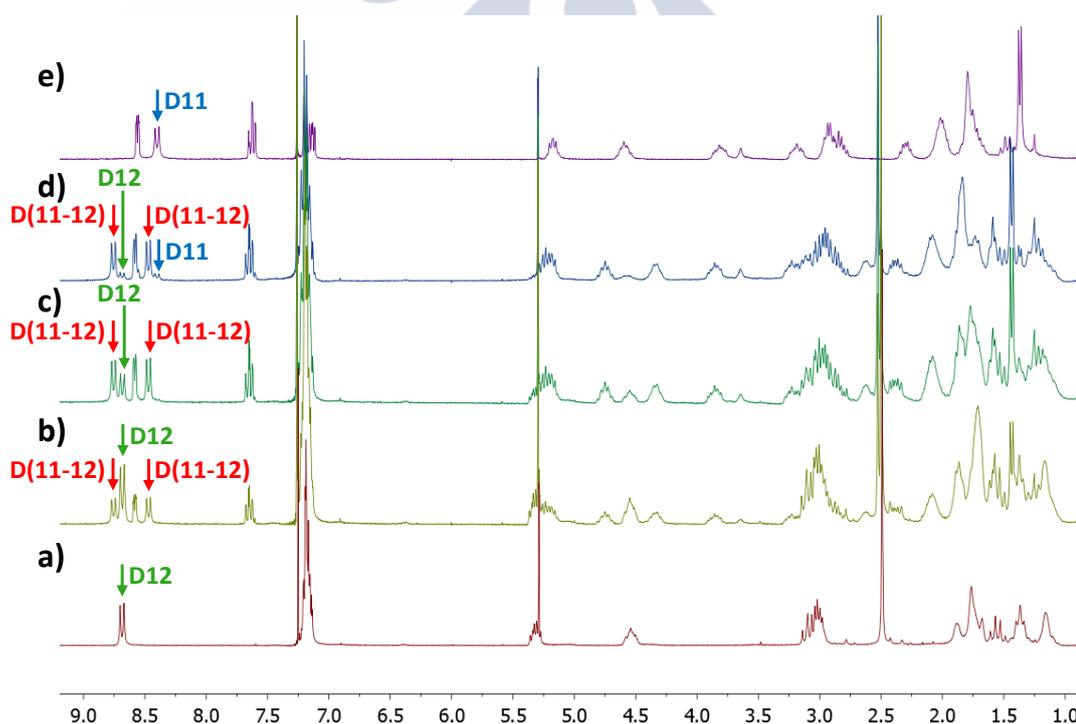
<sup>191</sup> Brea, R. J.; Castedo, L.; Granja, J. R.; Herranz, M. A.; Sánchez, L.; Martín, N.; Seitz, W.; Guldi, D. M. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2007**, *104*, 5291-5294.

<sup>192</sup> Brea, R. J.; Vázquez, M. E.; Mosquera, M.; Castedo, L.; Granja, J. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 1653-1657.

homodímeros **D11** y **D12** respectivamente, que aparecen junto al par de dobletes a 8.75 y 8.47 ppm, correspondientes a la estructura heterodimérica.



**Esquema 2.7.** Formación del heterodímero **D(11-12)** a partir de los homodímeros **D11** y **D12**. Para mayor claridad se han omitido las cadenas laterales en las estructuras diméricas.

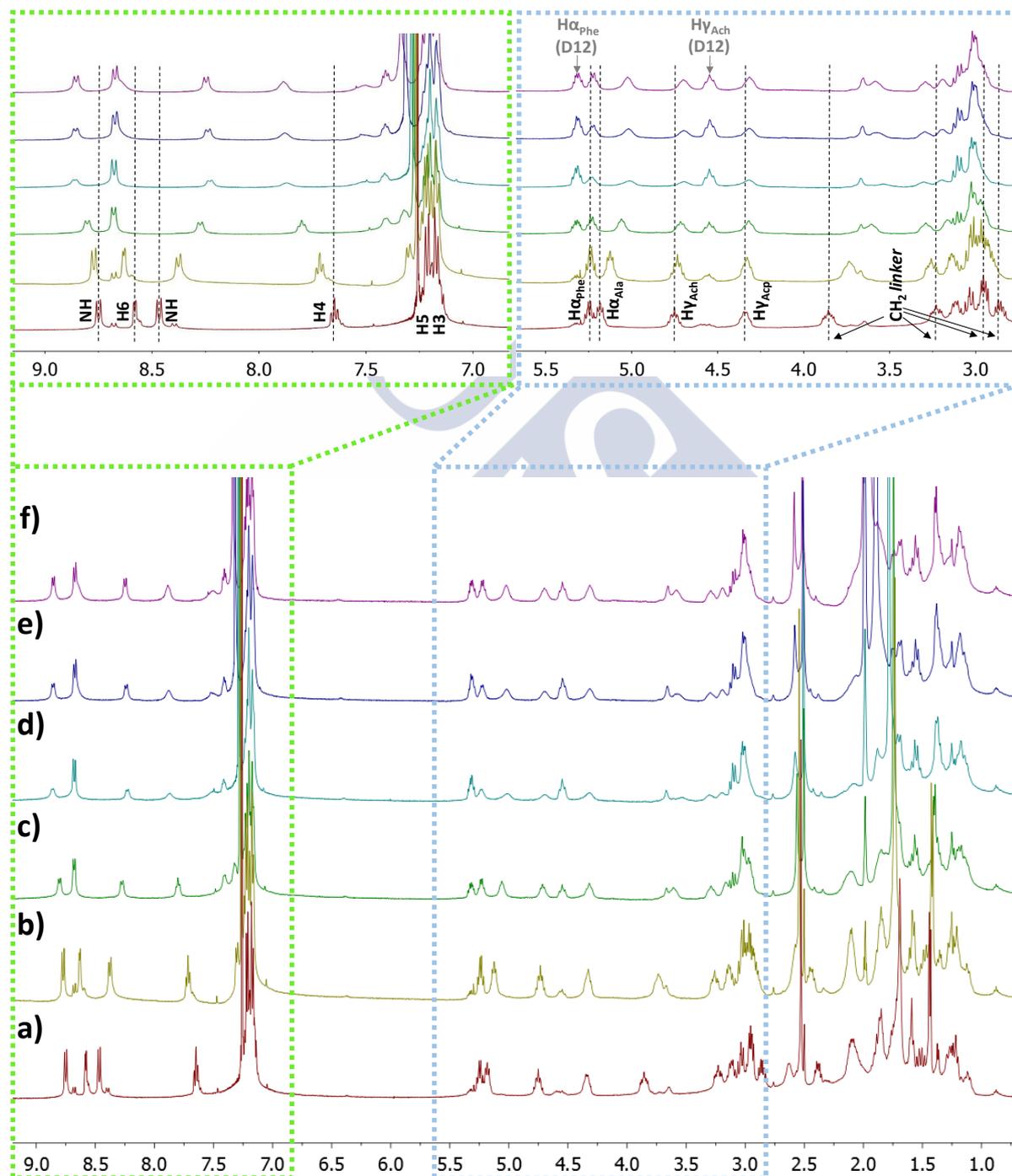


**Figura 2.2.** Formación del heterodímero **D(11-12)** a partir de los ciclopéptidos **CP11** y **CP12**. El ciclopéptido **CP11** (e) se adicionó sobre **CP12** (a) en cantidades de 0.33 (b), 0.66 (c) y 1 equivalentes (d). Los protones amídicos de los dímeros presentes en la mezcla se indican con las flechas correspondientes.

#### 2.4.1.2. Estudios de coordinación de *Ag(I)*

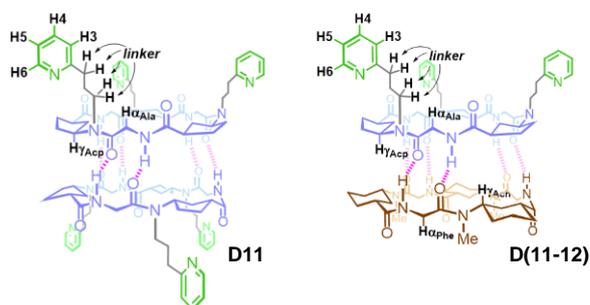
Una vez confirmada la formación del heterodímero **D(11-12)**, se llevaron a cabo los experimentos de adición de  $\text{AgPF}_6$  (Esquema 2.6, 2). En este caso, la coordinación del metal

no conduce a la obtención de una cápsula sino a una cavidad abierta que puede albergar ligandos monodentados (Esquema 2.6, 3). La sal de plata se disolvió en acetonitrilo deuterado y se añadieron cantidades crecientes, sobre una disolución de **D(11-12)** en  $\text{CDCl}_3$ , hasta un total de 3 equivalentes. Pese a que se observó cierta turbidez después de las primeras adiciones, la precipitación fue solo parcial y pudimos seguir el proceso por RMN (Figura 2.3).



**Figura 2.3.** Estudio de adición de  $\text{AgPF}_6$  sobre el heterodímero **D(11-12)**. La sal de plata disuelta en  $\text{CD}_3\text{CN}$  se añadió sobre una disolución de **D(11-12)** (5 mM en  $\text{CDCl}_3$ , a) en cantidades de 0.33 (b), 0.66 (c), 1 (d), 2 (e) y 3 equivalentes (f). Para mayor claridad se muestra una ampliación de las regiones de 9.0-7.0 y 5.5-3.0 ppm.

El estudio comparativo de los espectros obtenidos mostró que se produce un desapantallamiento de todas las señales de la piridina tras la adición del metal (Tabla 2.1).



**Tabla 2.1.** Resumen de los datos obtenidos por  $^1\text{H}$ -RMN en los estudios de coordinación con el homodímero **D11** y el heterodímero **D(11-12)**. Entre paréntesis se indica la variación en el desplazamiento químico con respecto a la forma desmetalada.

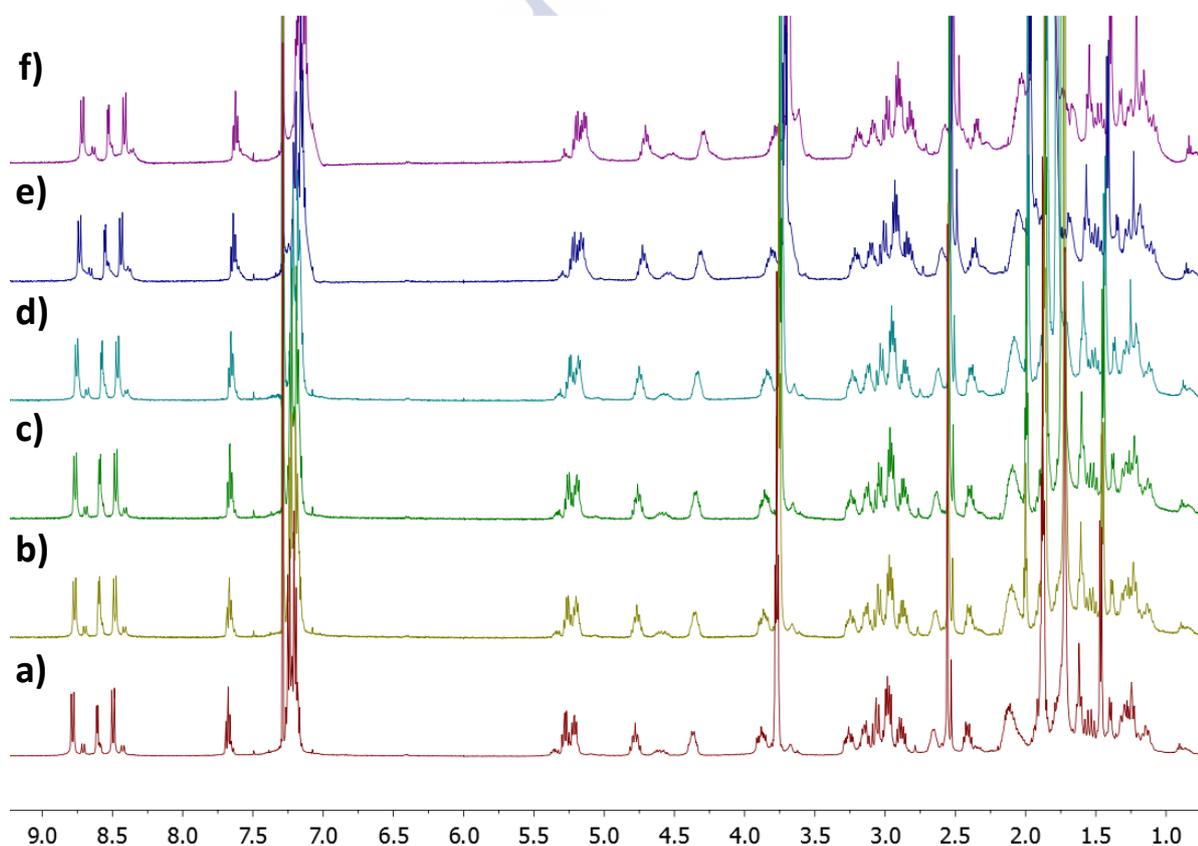
Especie	Metal	Solubilidad	H6 (ppm)	NH (ppm)	H4 (ppm)	H5 (ppm)	H3 (ppm)	H $\alpha$ (ppm)	H $\gamma$ (ppm)	Linker (ppm)
<b>D11</b>	Desmetalado	Soluble	8.56	8.40	7.63	7.19	7.14	5.18 <sup>a</sup>	4.60 <sup>b</sup>	3.82 3.19 2.93 2.84
	Ag(I)	Insoluble	—	—	—	—	—	—	—	—
	Cu(I)	Insoluble	—	—	—	—	—	—	—	—
	Zn(II)	Parcialmente soluble	8.66	8.44	8.04	7.59	7.52	5.05 <sup>a</sup>	4.51 <sup>b</sup>	3.73 (-0.09) 3.25 (+0.06) 3.06 (+0.13) 2.95 (+0.11)
			(+0.10)	(+0.04)	(+0.41)	(+0.40)	(+0.38)	(-0.13)	(-0.09)	
<b>D(11-12)</b>	Desmetalado	Soluble	8.58	8.76 8.47	7.65	7.25- 7.11 <sup>c</sup>	7.25- 7.11 <sup>c</sup>	5.25 <sup>d</sup>	4.75 <sup>b</sup>	3.86 3.23 2.95 2.85
	Ag(I)	Parcialmente soluble	8.68	8.86	7.88	7.51	7.41	5.23 <sup>d</sup>	4.70 <sup>b</sup>	3.58 (-0.28) 3.29 (+0.06) 3.02 (+0.07) 2.95 (+0.10)
			(+0.10)	(+0.10)	(+0.23)			(-0.02)	(-0.05)	
	Cu(I)	Parcialmente soluble	8.55	8.81	7.80	7.37	7.30- 7.11 <sup>c</sup>	5.03 <sup>a</sup>	4.32 <sup>e</sup>	3.71 (-0.15) 3.25 (+0.02) 2.95
			(-0.03)	(+0.05)	(+0.15)			(-0.15)	(-0.02)	(-0.02)
Zn(II)	Parcialmente soluble	8.75	9.05	8.40	7.94	7.83	5.23 <sup>d</sup>	4.65 <sup>b</sup>	3.75 (-0.11) 3.31 (+0.08) 3.00 (+0.05) 2.94 (+0.09)	
		(+0.17)	(+0.29)	(+0.75)			(-0.02)	(-0.10)	(-0.03)	

<sup>a</sup> H $\alpha_{Ala}$ . <sup>b</sup> H $\gamma_{Acp}$ . <sup>c</sup> La señal se encuentra solapada con señales cercanas en el intervalo indicado. <sup>d</sup> H $\alpha_{Phe}$ . <sup>e</sup> H $\gamma_{Ach}$ .

Con respecto a los NHs observamos un comportamiento divergente. Por una parte, el protón a 8.75 ppm se desplaza hasta los 8.86 ppm, mientras que el situado a 8.47 ppm experimenta un apantallamiento de 0.23 ppm. También observamos cambios en otros protones de la estructura peptídica, que fueron más acusados para las señales provenientes del ciclopeptido **CP11** que para las de **CP12**. El protón en  $\alpha$  a la alanina, se desplazó desde 5.18 a 5.03 ppm, el H $\gamma_{Acp}$  se apantalló ligeramente de 4.75 a 4.70 ppm y las señales asociadas a los metilenos del espaciador se movieron hacia campo alto. Otro aspecto relevante que se extrajo de este estudio fue que las señales del homodímero **D11** desaparecieron, mientras

que las asociadas a **D12** aumentaron hasta alcanzar una relación 1:2 con respecto a las del heterodímero. Esto sugiere que la plata precipita parcialmente dicho homodímero **D11** hasta que se alcanza el equilibrio, lo que resulta coherente con la turbidez observada tras las primeras adiciones.

Todos los cambios en el espectro se produjeron en las adiciones de 0 a 1 equivalentes (Figura 2.3, Tabla 2.1). La incorporación de cantidades mayores de  $\text{AgPF}_6$  a la disolución no tuvo ningún efecto adicional, lo que es consistente con la formación de la especie 1:1. Para confirmar que dichos cambios son causados por el metal y no por una interacción con el codisolvente, se realizó un blanco en el cual se añadieron cantidades crecientes de acetonitrilo deuterado sobre **D(11-12)** (Figura 2.4). En esta ocasión no se apreció ninguna modificación significativa en el espectro, con lo que pudimos concluir que los desplazamientos de las señales se deben exclusivamente a la coordinación del metal.



**Figura 2.4.** Blanco de los estudios de adición. Sobre una disolución de **D(11-12)** 5mM en  $\text{CDCl}_3$  (a) se añadieron volúmenes de  $\text{CD}_3\text{CN}$  de 15 en 15  $\mu\text{L}$  hasta un total de b) 15  $\mu\text{L}$  c) 30  $\mu\text{L}$  d) 45  $\mu\text{L}$  e) 60  $\mu\text{L}$  f) 75  $\mu\text{L}$ .

Aunque la interacción se produce, a la vista de los resultados, creemos que no se forma un quelato estable; ya que en todo momento tenemos un solo heterodímero en disolución. Si se obtuviese dicho quelato, esperaríamos observar una mezcla de dos compuestos heterodiméricos [**D(11-12)** y **Ag-D(11-12)**] hasta la metalación completa de **D(11-12)**. El aspecto ancho de las señales nos hace pensar que se produce un equilibrio rápido

entre la especie metalada y desmetalada, con respecto a la escala de tiempo de RMN, que provoca que ambos compuestos sean equivalentes.

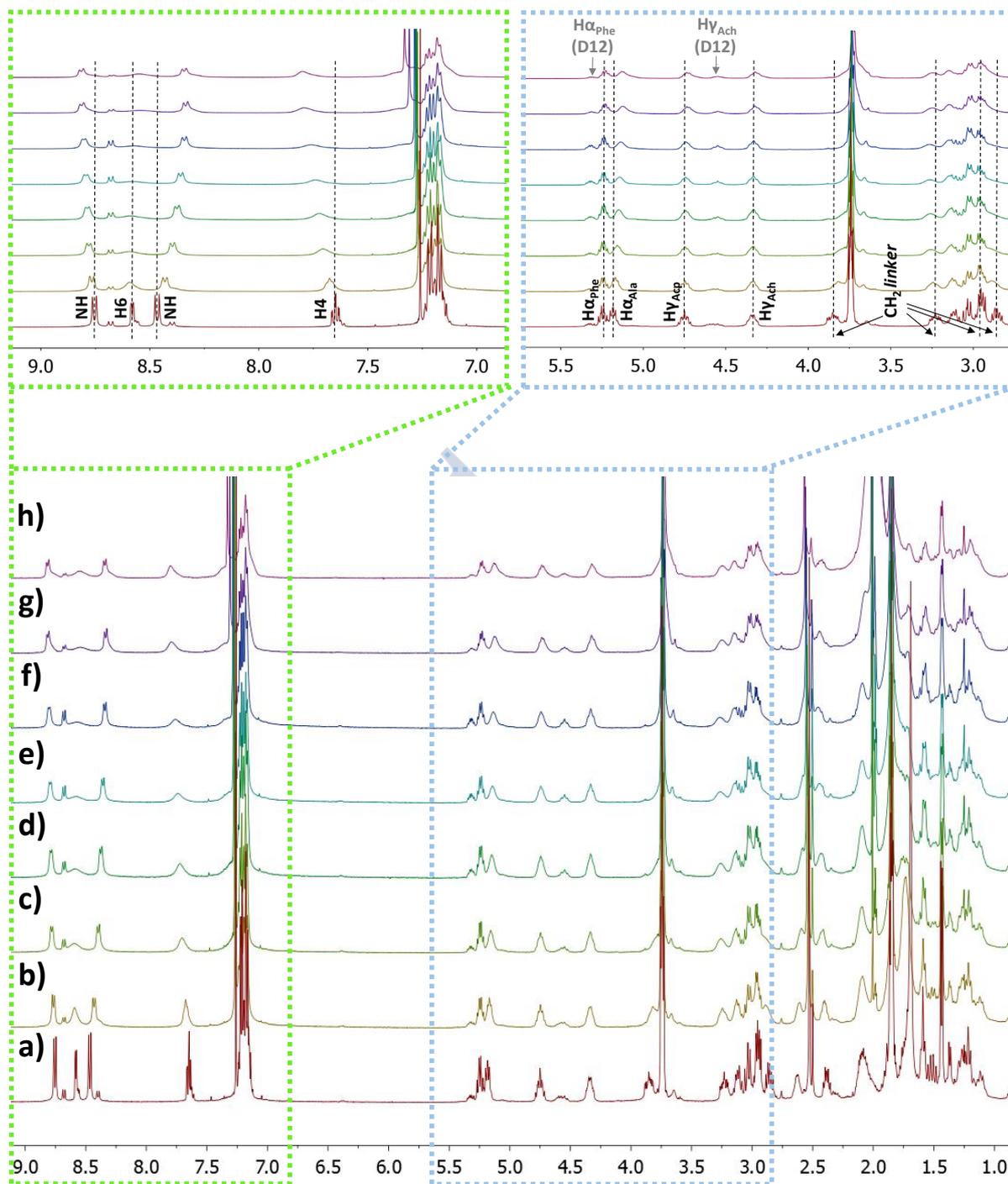
#### 2.4.1.3. Estudios de coordinación de Cu(I)

El siguiente centro metálico que se estudió fue el Cu(I), que mostró un comportamiento similar al descrito anteriormente.<sup>262b,263</sup> Los experimentos de adición sobre el homodímero **D11** se realizaron en las mismas condiciones que empleamos en la coordinación de Ag(I), usando en este caso [Cu(CH<sub>3</sub>CN)<sub>4</sub>]PF<sub>6</sub> como fuente del metal (Esquema 2.6, 1). En esta ocasión también observamos que el péptido precipita; por tanto, decidimos llevar a cabo los estudios sobre el heterodímero **D(11-12)** (Esquema 2.6, 2).

Las adiciones de la sal de cobre en acetonitrilo deuterado nuevamente provocaron el desplazamiento de las señales de la piridina y de su entorno próximo (metilenos del espaciador, H $\alpha$  de la alanina y H $\gamma_{AcP}$  de **CP11**) (Figura 2.5, Tabla 2.1). También se vieron afectados los NHs del heterodímero que, una vez más, mostraron un comportamiento divergente. Sin embargo, los cambios fueron menos acentuados que en el caso anterior. Otro paralelismo que encontramos con respecto a los estudios con Ag(I) fue que las adiciones por encima de 1 equivalente no tenían efecto sobre el desplazamiento químico de las señales, lo que apunta a la formación de un complejo 1:1. Tampoco se observó la presencia de varias especies en disolución con proporciones de metal por debajo de la equivalencia; sino un ensanchamiento de las señales que parece indicar que, de igual manera, se produce un equilibrio rápido entre el quelato y la forma desmetalada. La principal diferencia que advertimos con respecto a la plata fue que, aunque el homodímero **D11** también precipita, la proporción entre **D12** y **D(11-12)** varía mucho menos pasando de 1:9 a 2:8. Es decir, el complejo resultante de la coordinación con Cu(I) es más soluble que su análogo de Ag(I).

<sup>262b</sup> Letko, C. S.; Rauchfuss, T. B.; Zhou, X.; Gray, D. L. *Inorg. Chem.* **2012**, *51*, 4511-4520.

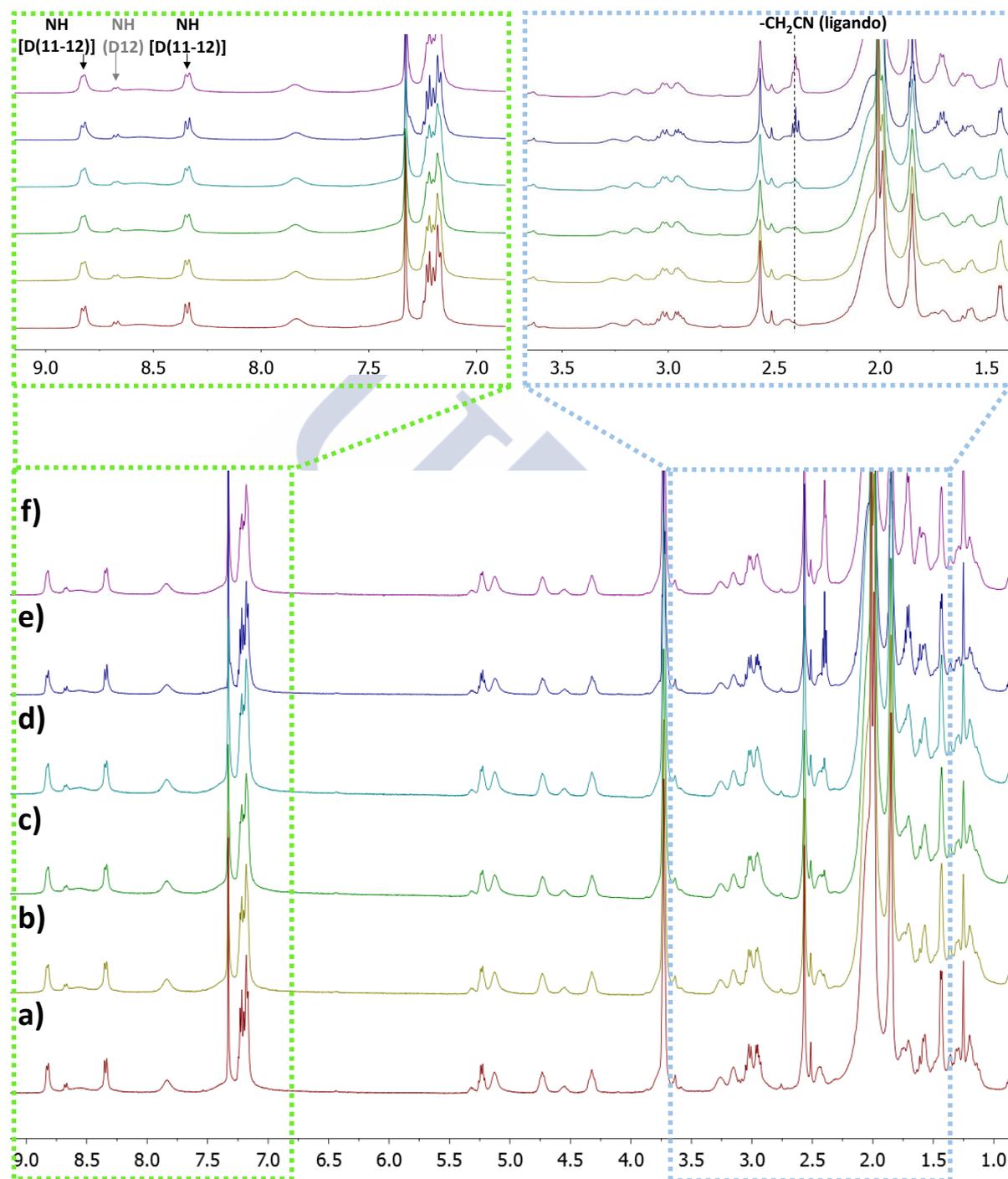
<sup>263</sup> (a) Hanf, S.; García-Rodríguez, R.; Bond, A. D.; Hey-Hawkins, E.; Wright, D. S. *Dalton Trans.* **2016**, *45*, 276-283; (b) Thiabaud, G.; Brugnara, A.; Carboni, M.; Le Poul, N.; Colasson, B.; Le Mest, Y.; Reinaud, O. *Org. Lett.* **2012**, *14*, 2500-2503; (c) Thiabaud, G.; Guillemot, G.; Schmitz-Afonso, I.; Colasson, B.; Reinaud, O. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 7383-7386; (d) Pérez, J.; Morales, D.; García-Escudero, L. A.; Martínez-García, H.; Miguel, D.; Bernada, P. *Dalton Trans.* **2009**, *2*, 375-382; (e) Kodera, M.; Kajita, Y.; Tachi, Y.; Katayama, K.; Kano, K.; Hirota, S.; Fujinami, S.; Suzuki, M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 334-337; (f) Rondelez, Y.; Rager, M.-N.; Duprat, A.; Reinaud, O. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 1334-1340.



**Figura 2.5.** Estudio de adición de  $[\text{Cu}(\text{CH}_3\text{CN})_4]\text{PF}_6$  sobre el heterodímero **D(11-12)**. La sal de cobre disuelta en  $\text{CD}_3\text{CN}$  se añadió sobre una disolución de **D(11-12)** (5 mM en  $\text{CDCl}_3$ , a) en cantidades de 0.2 (b), 0.4 (c), 0.6 (d), 0.8 (e), 1 (f), 2 (g) y 3 equivalentes (h). Para mayor claridad se muestra una ampliación de las regiones de 9.0-7.0 y 5.5-3.0 ppm.

Sobre este complejo  $[\text{Cu-D(11-12)}]$  decidimos añadir un bisnitrilo (1,5-dicianopentano) para comprobar si la coordinación del mismo era capaz de desplazar el equilibrio hacia la forma homodimérica, lo que supondría una prueba indirecta de la encapsulación del ligando bidentado (Esquema 2.6, 4). La adición de cantidades crecientes de

1,5-dicianopentano no ocasionó cambios en el espectro de  $^1\text{H}$ -RMN; por lo que una vez más no observamos que el reconocimiento tuviese lugar en el interior de la cápsula (Figura 2.6).



**Figura 2.6.** Estudio de adición de 1,5-dicianopentano sobre el complejo Cu-D(11-12). El bisnitrilo se añadió sobre Cu-D(11-12) obtenido en el experimento anterior (a) en cantidades de 0.15 (b), 0.30 (c), 0.5 (d), 1 (e) y 1.5 equivalentes (f). Para mayor claridad se muestra una ampliación de la región aromática, donde se indican las señales de los NHs del heterodímero y homodímero D12; y de la región de 3.5-1.5 ppm, donde aparece la señal de los protones en posición  $\alpha$  al nitrilo del ligando.

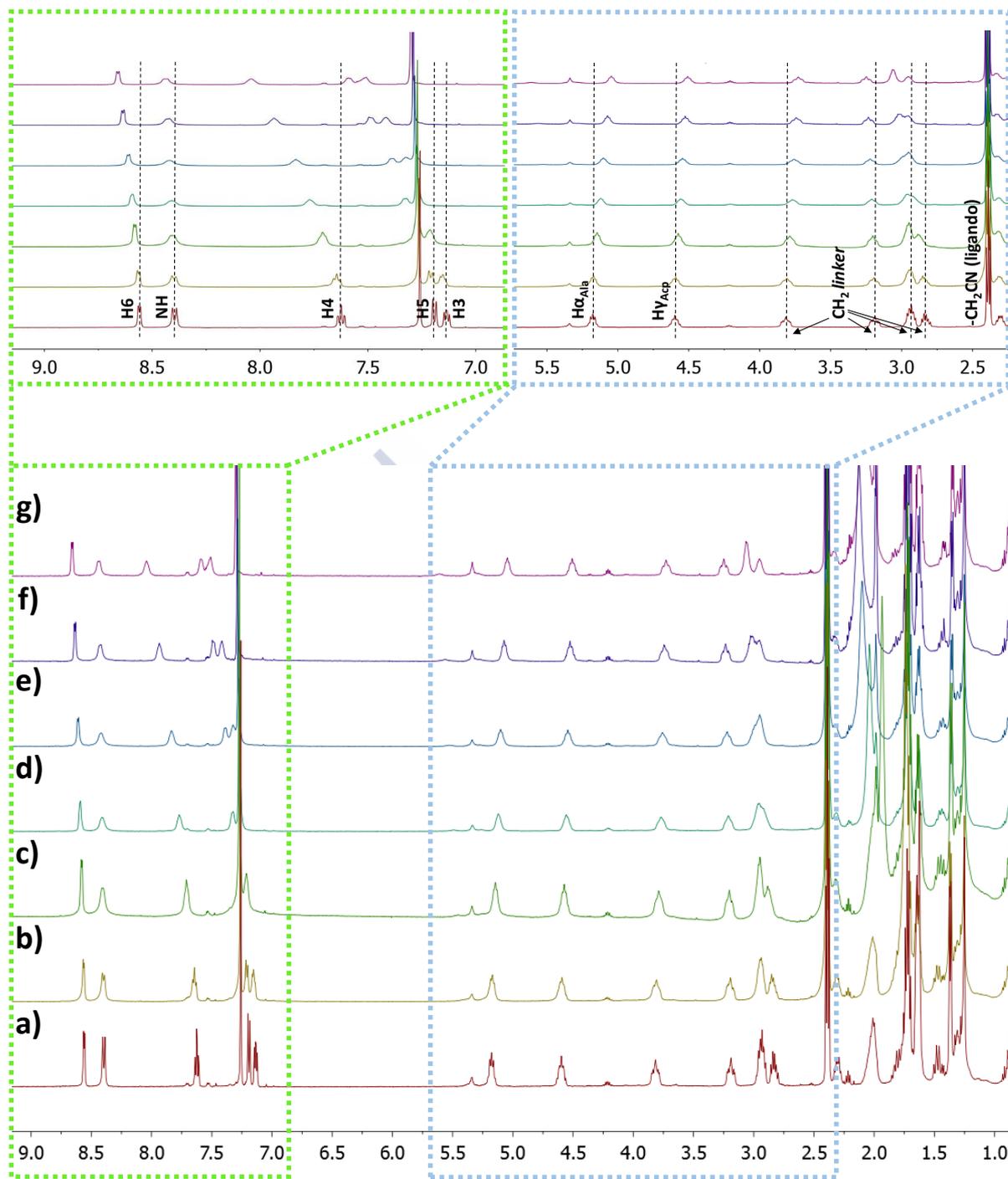
#### 2.4.1.4. Estudios de coordinación de Zn(II)

Finalmente decidimos explorar la coordinación de Zn(II)<sup>131a,264</sup> y para ello, nuevamente, comenzamos realizando adiciones sobre el homodímero **D11** (Esquema 2.6, 1). Los experimentos de adición se llevaron a cabo usando Zn(OTf)<sub>2</sub> como fuente del metal y en presencia de 1,5-dicianopentano. A diferencia de los casos anteriores, en esta ocasión el péptido sólo precipitó parcialmente y se pudo estudiar el efecto del catión metálico sobre la forma homodimérica (Figura 2.7). Una vez más la incorporación del metal causó desplazamientos significativos en las señales de las piridinas y el esqueleto peptídico, que confirmaron la interacción entre **CP11** y el zinc (Tabla 2.1). A lo largo de las adiciones se observó una única especie en disolución con señales anchas, al igual que en los estudios con Ag(I) y Cu(I), que relacionamos con la formación de un complejo lábil que está en equilibrio con el péptido desmetalado. Sin embargo, a pesar de que la interacción tiene lugar, no se obtuvo ningún indicio de la encapsulación del 1,5-dicianopentano, ya que los desplazamientos químicos de los protones asociados a dicho compuesto permanecieron inalterados a lo largo del estudio. De esto se puede deducir que no existe ninguna cooperatividad que facilite la coordinación simultánea del bisnitrilo con los dos centros metálicos.

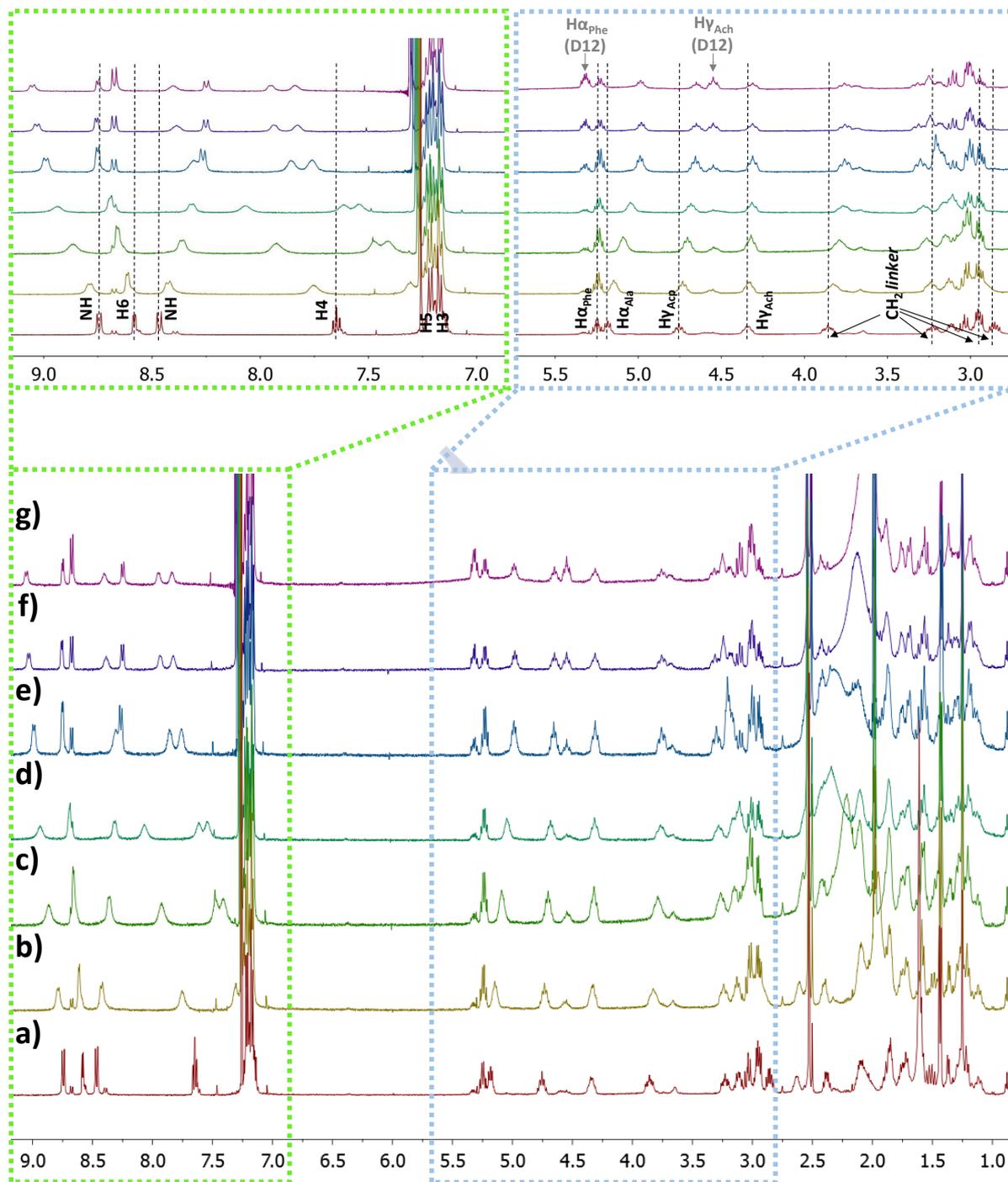
También se llevaron a cabo adiciones de la sal de zinc sobre el compuesto **D(11-12)** para comparar el efecto de la coordinación del metal con respecto a lo observado para Ag(I) y Cu(I) (Esquema 2.6, 2) (Figura 2.8). Al igual que en los casos anteriores, los espectros de <sup>1</sup>H-RMN mostraron el desapantallamiento de los protones aromáticos y cambios en las señales del *linker* y el esqueleto peptídico (Tabla 2.1). En esta ocasión dichos cambios fueron mucho más acusados que los producidos por los cationes monovalentes, lo que resulta coherente teniendo en cuenta que la carga +2 le confiere un carácter más electrofílico al centro metálico. Como en el resto de los estudios de coordinación realizados con **D(11-12)** se observó la formación de un complejo lábil, ya que en ninguna de las adiciones se apreció más de una especie en disolución, sino el ensanchamiento de las señales como producto de un intercambio rápido de ligandos. No obstante, a diferencia de los experimentos llevados a cabo con Ag(I) y Cu(I), la variación en el desplazamiento químico de las señales no cesó hasta la adición de 3 equivalentes de metal. Además, el complejo resultante **Zn-(D11-12)** resultó ser menos soluble que sus análogos **Ag-(D11-12)** y **Cu-D(11-12)**. Este hecho se evidenció por el aumento de la proporción del homodímero **D12** a lo largo de las adiciones hasta alcanzar una relación 1:1 con respecto a **D(11-12)**.

<sup>131a</sup> Bravin, C.; Badetti, E.; Scaramuzzo, F. A.; Licini, G.; Zonta, C. *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, *139*, 6456-6460.

<sup>264</sup> Zhang, D.; Bousquet, B.; Mulatier, J.-C.; Pitrat, D.; Jean, M.; Vanthuynne, N.; Guy, L.; Dutasta, J.-P.; Martinez, A. *J. Org. Chem.* **2017**, *82*, 6082-6088; (c) Giuliano, M. W.; Lin, C.-Y.; Romney, D. K.; Miller, S. J.; Anslyn, E. V. *Adv Synth Catal.* **2015**, *357*, 2301-2309; (d) O'Toole, L.; Creaven, B. S.; McGinley, J. *Dalton Trans.* **2014**, *43*, 8387-8394; (e) Wada, A.; Jitsukawa, K.; Masuda, H. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 12293-12297; (f) Makowska-Grzyska, M. M.; Szajna, E.; Shipley, C.; Arif, A. M.; Mitchell, M. H.; Halfen, J. A.; Berreau, L. M. *Inorg. Chem.* **2003**, *42*, 7472-7488.



**Figura 2.7.** Estudio de adición de  $Zn(OTf)_2$  sobre el homodímero **D11**. La sal de zinc disuelta en  $CD_3CN$  se añadió sobre una disolución de **CP11** (5 mM en  $CDCl_3$ , a) en cantidades de 0.2 (b), 0.4 (c), 0.6 (d), 0.8 (e), 1 (f) y 2 equivalentes (g). Para mayor claridad se muestra una ampliación de las regiones de 9.0-7.0 y 5.5-2.5 ppm.



**Figura 2.8.** Estudio de adición de  $Zn(OTf)_2$  sobre el heterodímero **D(11-12)**. La sal de zinc disuelta en  $CD_3CN$  se añadió sobre una disolución de **D(11-12)** (5 mM en  $CDCl_3$ , a) en cantidades de 0.33 (b), 0.66 (c), 1 (d), 1.5 (e), 2 (f) y 3 equivalentes (g). Para mayor claridad se muestra una ampliación de las regiones de 9.0-7.0 y 5.5-3.0 ppm.

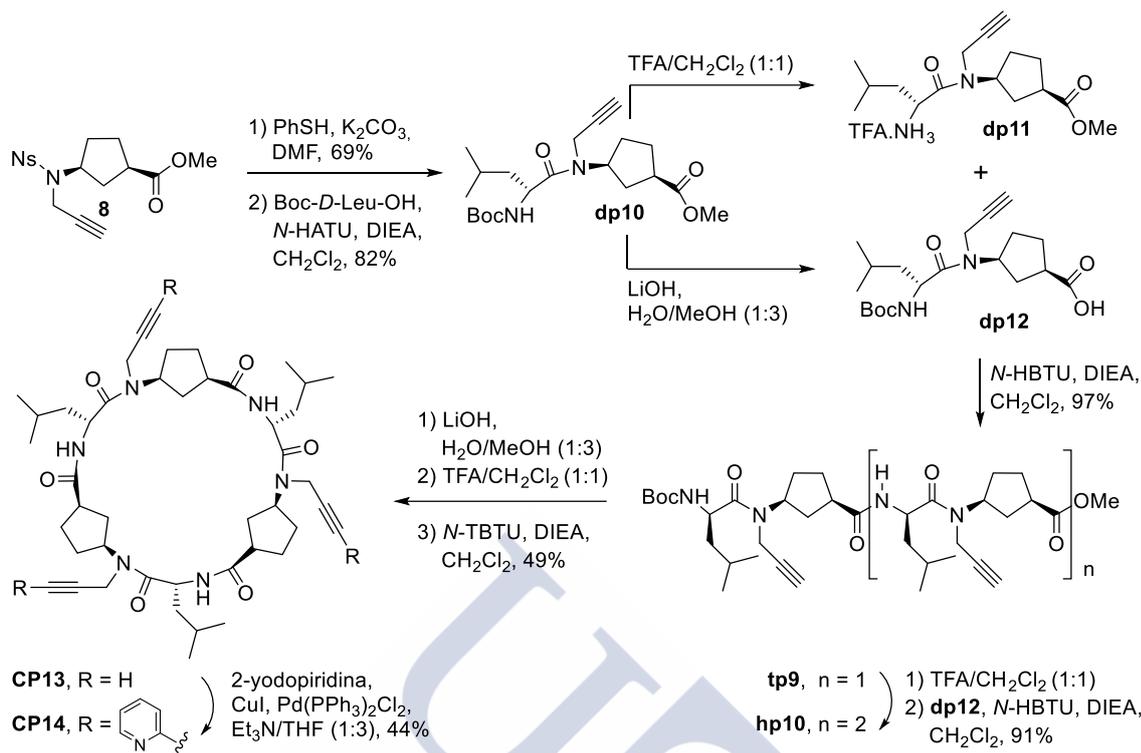
## 2.5. Cambio de diseño

Debido a los problemas de solubilidad mencionados en los estudios con el homodímero **D11** decidimos introducir un cambio en el diseño que aumentase la hidrofobicidad del sistema. Con esta finalidad, se sintetizó un nuevo ciclo péptido en el cual

las alaninas se sustituyeron por leucinas, que presentan una cadena lateral más apolar (Esquema 2.8). Para ello se partió del  $\gamma$ -aminoácido *N*-propargilado **8**, cuyo extremo *N*-terminal se desprotegió mediante tratamiento con tiofenol en presencia de  $K_2CO_3$ . El producto resultante se acopló con Boc-*D*-Leu-OH, usando *N*-HATU como agente de acoplamiento en medio básico para dar lugar al **dp10** en un 82% de rendimiento. El dipéptido **dp10** se dividió en tres porciones; una de ellas se trató con TFA, mientras que una segunda se hizo reaccionar con LiOH en una mezcla de  $H_2O/MeOH$  (1:3), para obtener los dipéptidos desprotegidos **dp11** y **dp12** respectivamente. Posteriormente, ambos dipéptidos se acoplaron usando *N*-HBTU en presencia de diisopropiletilamina (DIEA), dando lugar al **tp9** en un 90% de rendimiento. El hexapéptido se preparó por acoplamiento del tetrapéptido obtenido con la porción del dipéptido que no empleamos en la síntesis del **tp9**, previa desprotección de los grupos funcionales correspondientes. El grupo Boc del **tp9** se eliminó mediante tratamiento con TFA en diclorometano y el extremo carboxílico del **dp10** se desprotegió con LiOH en una mezcla de  $H_2O/MeOH$  (1:3). Posteriormente, los péptidos desprotegidos se trataron con *N*-HBTU en medio básico para dar lugar al hexapéptido **hp10**. Tras la desprotección de los extremos *C*- y *N*-terminal, el péptido resultante se cicló en condiciones de alta dilución, usando *N*-TBTU como agente de acoplamiento, dando lugar al ciclopéptido **CP13**. Finalmente, se intentó llevar a cabo la incorporación de las piridinas al esqueleto peptídico mediante las mismas condiciones de acoplamiento cruzado que empleamos en la síntesis del **CP11**. Sin embargo, la escasa solubilidad del **CP13** en medio acuoso, debido a la hidrofobicidad de las cadenas laterales, no permitió llevar a cabo el proceso a través de este método. Por tanto, recurrimos a un procedimiento clásico de la reacción de Sonogashira.<sup>265</sup> El tratamiento del ciclopéptido **CP13** con 2-yodopiridina, CuI y  $Pd(PPh_3)_2Cl_2$  en una mezcla de  $Et_3N/THF$  (1:3) condujo a la formación del **CP14** en un 44% de rendimiento. En esta ocasión el compuesto se purificó en fase normal, por lo que no fue necesario llevar a cabo la reducción de los alquinos. A diferencia de las condiciones acuosas, en las que se observaba únicamente la formación del producto triacoplado, esta vez pudimos detectar la evolución del proceso a través de las formas mono y diacoplada hasta la obtención del **CP14** como única especie. Por tanto, creemos que en este caso no existe un efecto cooperativo que facilite la introducción de las piridinas.<sup>260</sup>

<sup>265</sup> Black, H. T.; Yee, N.; Zems, Y.; Perepichka, D. F. *Chem. Eur. J.* **2016**, *22*, 17251-17261.

<sup>260</sup> (a) Ngo, T. H.; Labuta, J.; Lim, G. N.; Webre, W. A.; D'Souza, F.; Karr, P. A.; Lewis, J. E. M.; Hill, J. P.; Ariga, K.; Goldup, S. M. *Chem. Sci.* **2017**, *8*, 6679-6685; (b) Movsisyan, L. D.; Franz, M.; Hampel, F.; Thompson, A. L.; Tykwinski, R. R.; Anderson, H. L. *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138*, 1366-1376; (c) Neal, E. A.; Goldup S. M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 12488-12493; (d) Hoekman, S.; Kitching, M. O.; Leigh, D. A.; Pappmeyer, M.; Roke, D. *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, *137*, 7656-7659; (e) Crowley, J. D.; Goldup, S. M.; Lee, A.-L.; Leigh, D. A.; McBurney, R. T. *Chem. Soc. Rev.* **2009**, *38*, 1530-1541.



**Esquema 2.8.** Preparación del ciclohexapéptido **CP14** mediante una estrategia de síntesis en disolución, teniendo en cuenta la ortogonalidad de los grupos funcionales.

## 2.6. Estudios de dimerización por RMN e IR

El  $^1H$ -RMN del **CP14** en cloroformo deuterado mostró un único doblete a 8.26 ppm para los protones amídicos. Este hecho sugiere que el ciclohexapéptido se encuentra en la forma dimerica. Además, el desplazamiento químico de dichos protones fue, una vez más, independiente de la concentración y de la temperatura; por lo que la constante de asociación ( $K_a$ ) debe ser superior a  $10^5 M^{-1}$ .<sup>163,192</sup> Por otra parte, en el espectro de FTIR se observaron bandas a  $1626\text{ cm}^{-1}$  y  $1530\text{ cm}^{-1}$ , correspondientes a amida I y amida II respectivamente, y una banda en torno a  $3300\text{ cm}^{-1}$ , asociada al estiramiento del enlace N-H, que confirmaron la formación del homodímero **D14**.<sup>163,178, 181,182,192,194,248,249</sup>

<sup>163</sup> Amorín, M.; Castedo, L.; Granja, J. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 2844-2845.

<sup>192</sup> Brea, R. J.; Vázquez, M. E.; Mosquera, M.; Castedo, L.; Granja, J. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 1653-1657.

<sup>178</sup> Brea, R. J.; Amorín, M.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 5710-5713.

<sup>181</sup> Amorín, M.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Chem. Eur. J.* **2005**, *11*, 6543-6551.

<sup>182</sup> Brea, R. J.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Chem. Commun.* **2007**, 3267-3269.

<sup>194</sup> Amorín, M.; Villaverde, V.; Castedo, L.; Granja, J. R. *J. Drug Delivery Sci. Technol.* **2005**, *15*, 87-92.

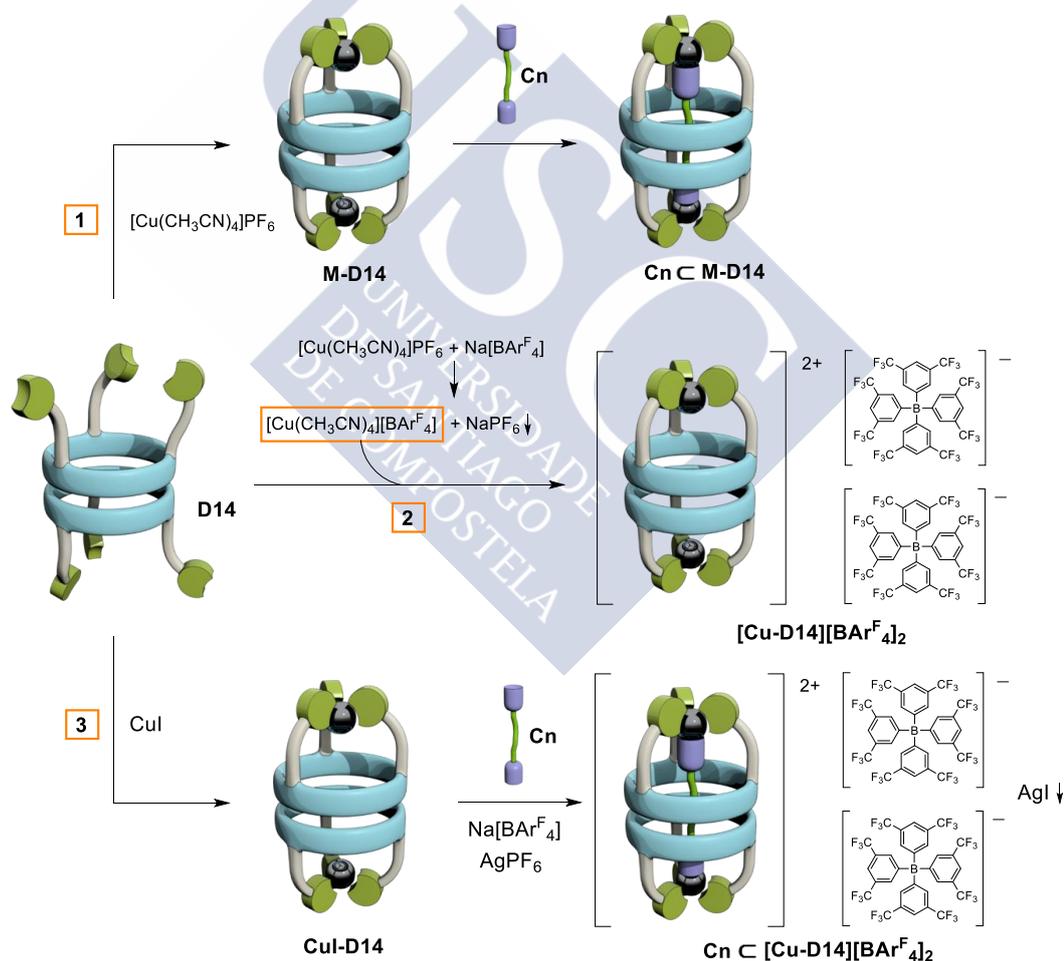
<sup>248</sup> Bandekar, J. *Biochim. Biophys. Acta* **1992**, *1120*, 123-143.

<sup>249</sup> (a) Kubelka, J.; Keiderling, T. A. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 12048-12058; (b) Haris, P. I.; Chapman, D. *Biopolymers (Peptide Sci.)* **1995**, *37*, 251-263; (c) Krimm, S.; Bandekar, J. *Adv. Protein Chem.* **1986**, *38*, 181-364.

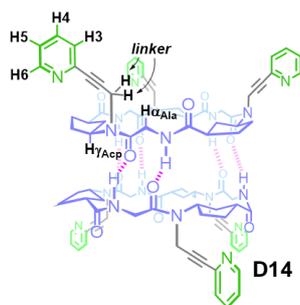
## 2.7. Estudios de coordinación y reconocimiento

### 2.7.1. Aproximación metálica

Una vez confirmada la estructura del receptor, retomamos los estudios de coordinación con este nuevo diseño. Inicialmente ensayamos el cierre con Zn(II) por ser el único metal, de los probados con el homodímero **D11**, que conducía a la formación de un complejo soluble. Para ello, llevamos a cabo experimentos de adición de Zn(OTf)<sub>2</sub> disuelto en acetonitrilo deuterado sobre una disolución de **D14** en CDCl<sub>3</sub> (Esquema 2.9, 1). La adición de cantidades crecientes de la sal de zinc volvió a provocar cambios significativos en los desplazamientos químicos de los protones de las piridinas, los metilenos del espaciador y el esqueleto peptídico; aunque en esta ocasión las variaciones fueron inferiores a las observadas en el homodímero **D11** (Tabla 2.2, Figura 2.9). Una vez más, la incorporación del metal causó el ensanchamiento de las señales por lo que creemos que, nuevamente, se obtiene un quelato lábil.



**Esquema 2.9.** Modelo de las estrategias seguidas en los estudios de coordinación del Cu(I) para el cierre de la estructura y el reconocimiento de ligandos (**Cn**) con el dímero **D14**. En la ruta 1 el proceso se lleva a cabo mediante la adición directa de  $[\text{Cu}(\text{CH}_3\text{N})_4]\text{PF}_6$ . En la ruta 2 el anión  $\text{PF}_6^-$  se intercambia por el contraión voluminoso  $[\text{BarF}_4]^-$  previamente a la incorporación del metal. En la ruta 3 la estructura se cierra a través de la coordinación de  $\text{CuI}$  en primer lugar y, posteriormente, el yoduro se precipita mediante la adición de una sal de plata que libera el cuarto orbital del centro metálico para el reconocimiento del ligando.



**Tabla 2.2.** Resumen de los datos obtenidos por  $^1\text{H}$ -RMN en los estudios de coordinación con el homodímero **D14**. Entre paréntesis se indica la variación en el desplazamiento químico con respecto a la forma desmetalada.

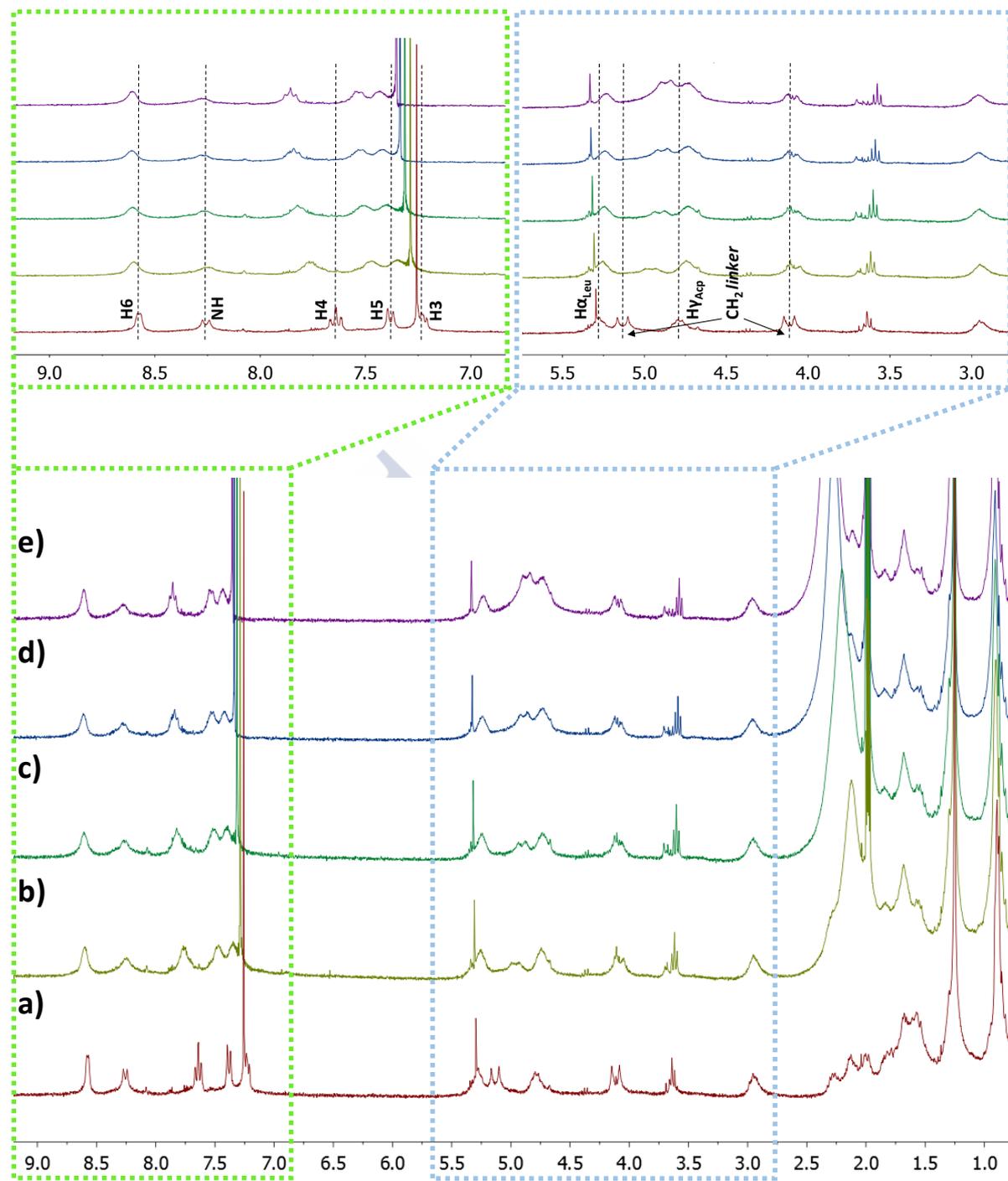
Fuente metal	Ligando	Disolvente	H6 (ppm)	NH (ppm)	H4 (ppm)	H5 (ppm)	H3 (ppm)	H $\alpha$ (ppm)	H $\gamma$ (ppm)	Linker (ppm)
Desmetalado	—	$\text{CDCl}_3$	8.58	8.26	7.64	7.38	7.23	5.28	4.79	5.13 4.12
		$\text{THF-}d_8$	8.51	8.22	7.67	7.42	7.23	5.29	4.89	5.09 4.13
$\text{Zn}(\text{OTf})_2$	1,8-octanodi-carboxilato <sup>a</sup>	$\text{CDCl}_3$	8.61	8.28	7.86	7.53	7.44	5.23	4.73	4.86 (-0.27)
			(+0.03)	(+0.02)	(+0.22)	(+0.15)	(+0.21)	(-0.05)	(-0.06)	4.09 (-0.03)
$[\text{Cu}(\text{CH}_3\text{CN})_4][\text{BAR}^{\text{F}}_4]$	—	$\text{THF-}d_8$	9.54	7.95	7.30	7.26	6.74	5.22	5.10	5.76 (+0.67)
			(+1.03)	(-0.27)	(-0.37)	(-0.16)	(-0.49)	(-0.07)	(+0.21)	5.54 (+1.41)
$\text{CuI}$	—	$\text{THF-}d_8$	9.78	7.98	7.36	7.36	6.84	5.25	5.08	5.65 (+0.56)
			(+1.27)	(-0.24)	(-0.31)	(-0.06)	(-0.39)	(-0.04)	(+0.19)	5.31 (+1.18)
$\text{CuI} + \text{Na}[\text{BAR}^{\text{F}}_4] + \text{AgPF}_6$	1,4-diciano-butano	$\text{THF-}d_8$	9.54	7.98	7.46	7.31	6.91	5.21	5.10	5.72 (+0.63)
			(+1.03)	(-0.24)	(-0.21)	(-0.11)	(-0.32)	(-0.08)	(+0.21)	5.27 (+1.14)
$\text{CuI} + \text{Na}[\text{BAR}^{\text{F}}_4] + \text{AgPF}_6$	(E)-hex-3-enodinitrilo <sup>b</sup>	$\text{THF-}d_8$	9.57				6.90	5.21	5.02	5.66
			(+1.06)	8.06	7.44	7.34	(-0.33)	(-0.08)	(+0.13)	(+0.57)
			9.51	(-0.16)	(-0.23)	(-0.08)	6.78	5.16	4.92	5.30
			(+1.00)			(-0.45)	(-0.13)	(+0.03)	(+1.17)	

<sup>a</sup> El ligando no se disolvió en estas condiciones. <sup>b</sup> Se obtuvieron dos formas.

Debido a que el  $\text{Zn}^{2+}$  puede formar complejos con carboxilatos,<sup>131a,266</sup> decidimos añadir 1 equivalente de 1,8-octanodicarboxilato de sodio confiando en que dicha sal, insoluble en cloroformo, se solubilizase al ser reconocida en el interior de **Zn-D14**. Sin embargo, el sólido no se disolvió y la adición del ligando no ocasionó ninguna modificación en el espectro de  $^1\text{H}$ -RMN del complejo.

<sup>131a</sup> Bravin, C.; Badetti, E.; Scaramuzzo, F. A.; Licini, G.; Zonta, C. *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, *139*, 6456-6460.

<sup>266</sup> (a) Scaramuzzo, F. A.; Badetti, E.; Licini, G.; Zonta, C. *Eur. J. Org. Chem.* **2017**, *11*, 1438-1442; (b) Galardon, E.; Tomas, A.; Roussel, P.; Artaud, I. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2011**, *25*, 3797-3801; (c) Grubel, K.; Laughlin, B. J.; Maltais, T. R.; Smith, R. C.; Arifc, A. M.; Berreau, L. M. *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 10431-10433.



**Figura 2.9.** Estudio de adición de  $\text{Zn}(\text{OTf})_2$  sobre el homodímero **D14**. La sal de zinc disuelta en  $\text{CD}_3\text{CN}$  se añadió sobre una disolución de **CP14** (5 mM en  $\text{CDCl}_3$ , a) en cantidades de 0.5 (b), 1 (c), 2 (d) y 3 equivalentes. Para mayor claridad se muestra una ampliación de las regiones de 9.0-7.0 y 5.5-3.0 ppm.

A continuación, se estudió la coordinación de Cu(I)<sup>262b,263</sup> mediante experimentos de adición de  $[\text{Cu}(\text{CH}_3\text{CN})_4]\text{PF}_6$  en las mismas condiciones que en los casos anteriores (Esquema 2.9, 1). La incorporación del metal a la estructura, al igual que se había observado con el homodímero **D11**, condujo a la precipitación del péptido. También se intentó llevar a cabo el proceso en otros disolventes orgánicos que no interfieren en la formación de enlaces de hidrógeno, como diclorometano y THF, con idénticos resultados. Por tanto, la introducción de las leucinas en el esqueleto peptídico no fue suficiente para solucionar los problemas de solubilidad del complejo.

En este punto, decidimos cambiar de estrategia e incrementar la hidrofobicidad del sistema a través de un intercambio de anión en la sal de cobre  $[\text{Cu}(\text{CH}_3\text{CN})_4]\text{PF}_6$ . Dado que como resultado de la incorporación del metal se obtiene un complejo catiónico, el contraión podría tener cierta influencia en la solubilidad del sistema. Partiendo de esta premisa se preparó el tetrakis[3,5-bis(trifluorometil)fenil]borato sódico ( $\text{Na}[\text{BAr}^{\text{F}_4}]$ )<sup>267</sup> que se usó para intercambiar el  $\text{PF}_6^-$  por el anión voluminoso  $[\text{BAr}^{\text{F}_4}]^-$ .<sup>262b</sup> La mezcla de  $[\text{Cu}(\text{CH}_3\text{CN})_4]\text{PF}_6$  y  $\text{Na}[\text{BAr}^{\text{F}_4}]$  en diclorometano condujo a la formación de  $[\text{Cu}(\text{CH}_3\text{CN})_4][\text{BAr}^{\text{F}_4}]$  y  $\text{NaPF}_6$ , que precipitó en el medio como subproducto (Esquema 2.9, 2).

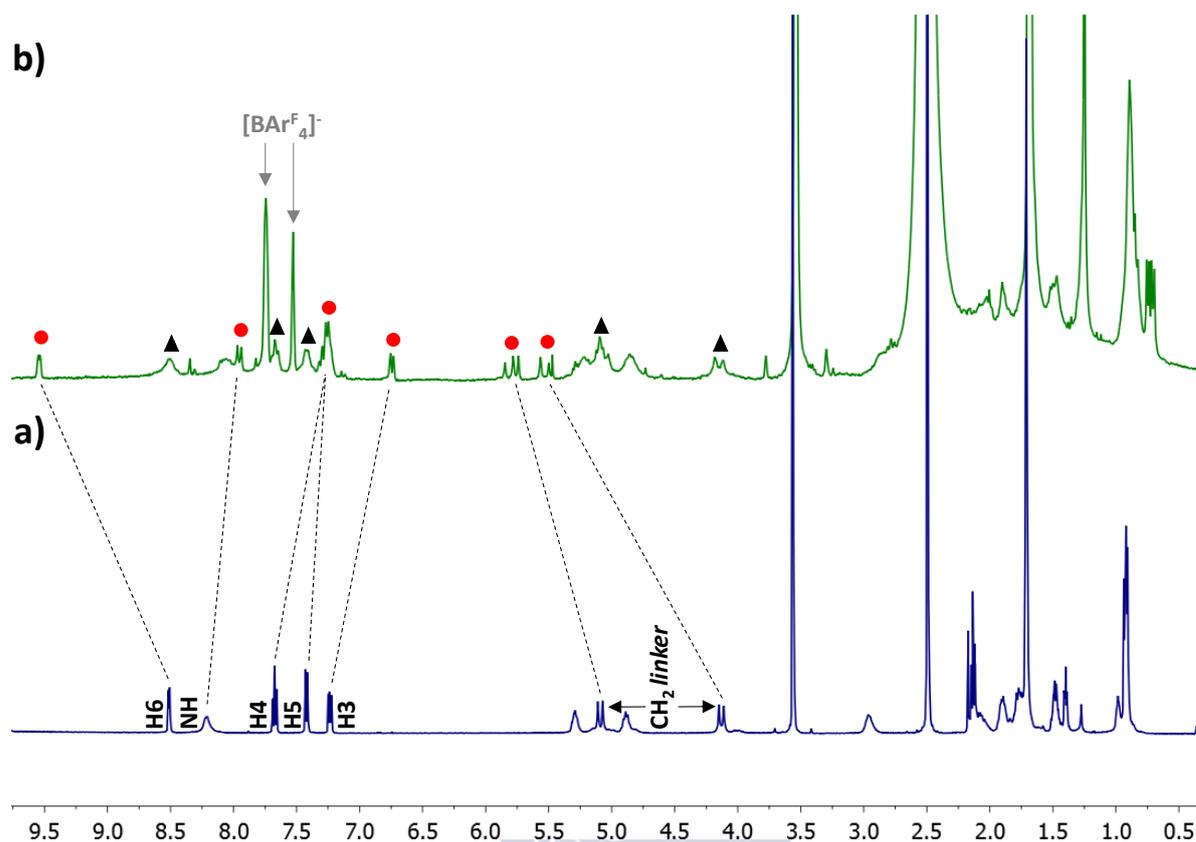
La adición del  $[\text{Cu}(\text{CH}_3\text{CN})_4][\text{BAr}^{\text{F}_4}]$  sobre una disolución de **D14** en  $\text{CDCl}_3$  causó, una vez más, la precipitación del complejo resultante. Sin embargo, la mezcla presentó una buena solubilidad en THF deuterado, con lo cual el proceso pudo ser estudiado por <sup>1</sup>H-RMN. En estas condiciones, la adición de 1 equivalente de  $[\text{Cu}(\text{CH}_3\text{CN})_4][\text{BAr}^{\text{F}_4}]$  produjo cambios muy significativos en el desplazamiento químico de las señales del CP (Figura 2.10). Al igual que en los experimentos de adición mencionados anteriormente, los protones que experimentaron mayores variaciones fueron los del anillo de piridina y los metilenos del espaciador (Tabla 2.2). H6, que aparece a 8.51 ppm en el homodímero **D14**, se desapantalló hasta los 9.54 ppm en la especie metalada. Por otra parte, los protones H4 y H5 a 7.67 y 7.42 ppm, respectivamente, se movieron a campo alto hasta los 7.30 y 7.26 ppm. H3 se desplazó desde 7.23 hasta 6.74 ppm. Finalmente, el par de dobletes a 5.09 y 4.13 ppm, correspondientes a los protones diasterotópicos de la posición propargílica, se movieron hacia campo bajo hasta 5.76 y 5.54 ppm respectivamente. El resto de señales del esqueleto peptídico también sufrieron variaciones en mayor o menor medida. En esta ocasión, a diferencia de los estudios precedentes, la incorporación del metal dio lugar a la aparición de una nueva especie con señales bien definidas. Sin embargo, la formación de dicho quelato no

<sup>262b</sup> Letko, C. S.; Rauchfuss, T. B.; Zhou, X.; Gray, D. L. *Inorg. Chem.* **2012**, *51*, 4511-4520.

<sup>263</sup> (a) Hanf, S.; García-Rodríguez, R.; Bond, A. D.; Hey-Hawkins, E.; Wright, D. S. *Dalton Trans.* **2016**, *45*, 276-283; (b) Thiabaud, G.; Brugnara, A.; Carboni, M.; Le Poul, N.; Colasson, B.; Le Mest, Y.; Reinaud, O. *Org. Lett.* **2012**, *14*, 2500-2503; (c) Thiabaud, G.; Guillemot, G.; Schmitz-Afonso, I.; Colasson, B.; Reinaud, O. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 7383-7386; (d) Pérez, J.; Morales, D.; García-Escudero, L. A.; Martínez-García, H.; Miguel, D.; Bernada, P. *Dalton Trans.* **2009**, *2*, 375-382; (e) Kodera, M.; Kajita, Y.; Tachi, Y.; Katayama, K.; Kano, K.; Hirota, S.; Fujinami, S.; Suzuki, M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 334-337; (f) Rondelez, Y.; Rager, M.-N.; Duprat, A.; Reinaud, O. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 1334-1340.

<sup>267</sup> Yakelis, N. A.; Bergman, R. G. *Organometallics* **2005**, *24*, 3579-3581.

fue completa ya que, junto a las del complejo se observaron señales del homodímero **D14** desmetalado (Figura 2.10, b). También se pudo advertir que se produce una rápida oxidación del Cu(I) para dar lugar a Cu(II). Este hecho se evidenció por el color de la disolución, que adquirió una tonalidad azul intensa con el paso del tiempo. Además, en el espectro de  $^1\text{H}$ -RMN se comprobó que esta transformación afecta drásticamente a la coordinación con las piridinas ya que, una vez oxidado el metal, el equilibrio se desplaza hacia la especie desmetalada.



**Figura 2.10.**  $^1\text{H}$ -RMN en THF de **CP14** (5 mM) desmetalado (a) y tras la adición de 1 equivalente de  $[\text{Cu}(\text{CH}_3\text{CN})_4][\text{BARF}_4]$  (b). Los cambios más significativos se indican mediante líneas discontinuas. Las señales del complejo **Cu-D14** se señalan con puntos rojos, las del homodímero **D14** desmetalado con triángulos negros.

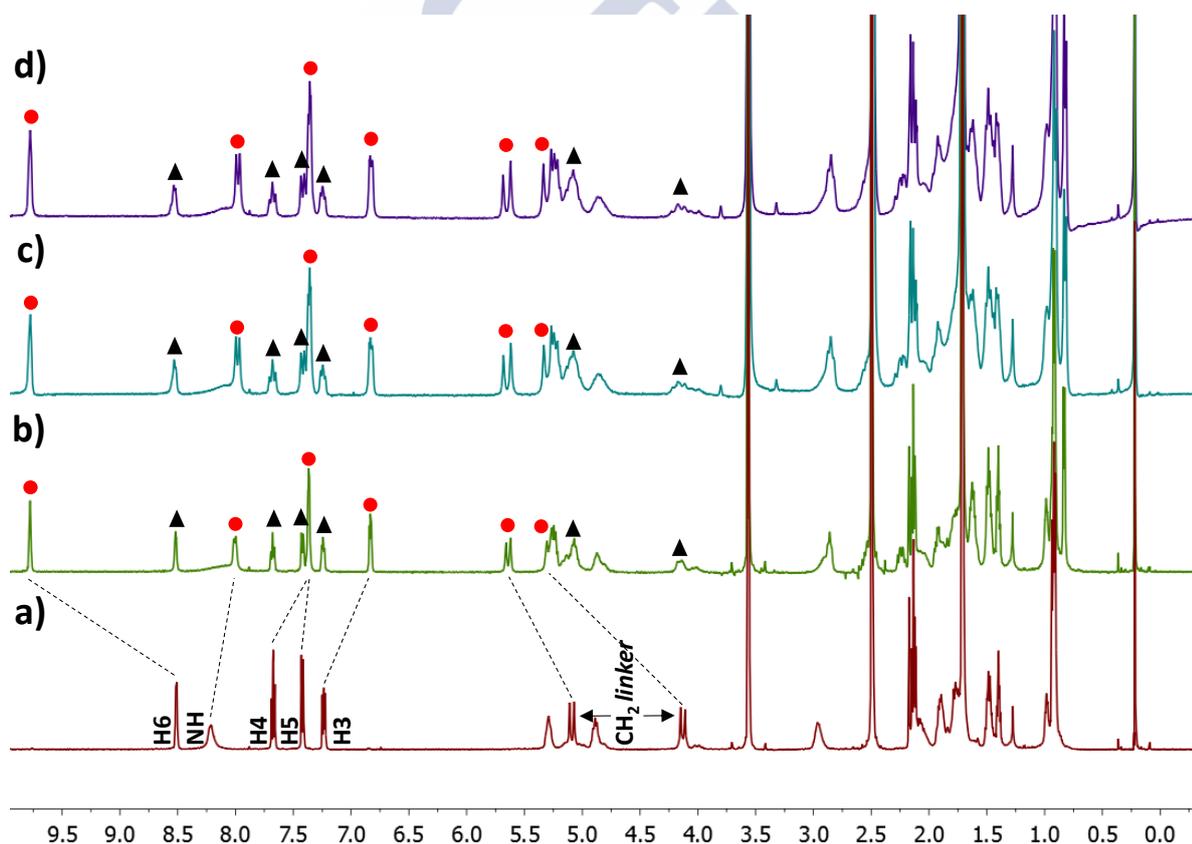
Con el objetivo de minimizar la oxidación, decidimos emplear una sal de Cu(I) más estable para llevar a cabo el proceso. Por este motivo se eligió el CuI como fuente del metal. La estabilidad de dicho compuesto puede explicarse en base a la teoría ABDB (ácido-base duro-blando) de Pearson, según la cual existe una preferencia por las interacciones entre ácidos y bases de la misma naturaleza (blando-blando o duro-duro).<sup>268</sup> Dado que el catión  $\text{Cu}^+$  es un ácido blando y su contraión  $\text{I}^-$ , una base blanda, la interacción entre ambos componentes está favorecida. Siguiendo este razonamiento, la especie  $\text{CuI}_2$  es inestable debido a que el cobre en estado de oxidación +2 es un ácido intermedio; por lo que, en presencia de yoduro, tiende hacia la formación del catión monovalente.<sup>269</sup> Además, el enlace

<sup>268</sup> Pearson, R. G. *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, *85*, 3533-3539.

<sup>269</sup> Burdett, J. K.; Sevovt, S. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 12788-12792.

entre ácidos y bases blandas es predominantemente covalente, lo que le confiere una estabilidad adicional. Todo ello nos hizo pensar que el CuI podría ser un excelente candidato para efectuar el cierre de la cavidad.

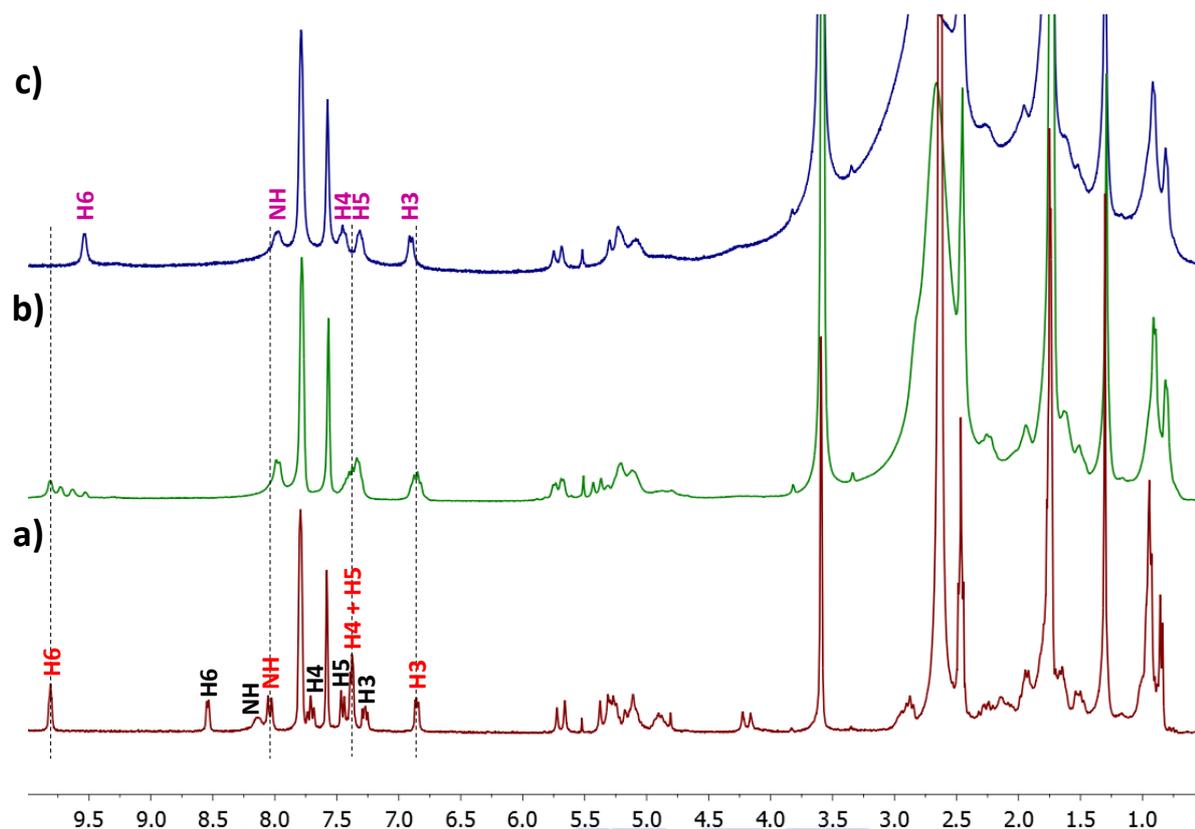
Partiendo de este supuesto se añadieron 2 equivalentes de CuI sobre una disolución del homodímero **D14** en THF deuterado (Esquema 2.9, 3). Al igual que en el caso anterior, la coordinación del metal condujo a la aparición de una nueva especie con señales bien definidas, lo que nos hace pensar que nuevamente se forma un quelato estable. El  $^1\text{H}$ -RMN de la mezcla 1:1 del **CP14** y la sal de cobre, tomado inmediatamente después de la adición, mostró que el complejo se encuentra en una relación 3:2 con respecto a la sustancia de partida (Figura 2.11, b). Al cabo de 4 horas se registró un nuevo espectro en el cual se pudo observar que la relación había crecido hasta una relación **CuI-D14/D14** de 2:1 (Figura 2.11, c). La adición de cantidades mayores de CuI no tuvo ningún efecto en el valor de dicho ratio, que permaneció inalterado (Figura 2.11, d). El análisis por espectroscopía de masas de una alícuota de la mezcla mostró que la nueva especie que se forma es la resultante de la incorporación de una unidad de CuI a la estructura ciclopeptídica.



**Figura 2.11.** Estudio de coordinación de CuI al homodímero **D14**. Sobre una disolución 5 mM de **CP14** en THF (a) se añadieron 2 equivalentes de CuI (b). Al cabo de 4 h se registró un nuevo espectro (c). Finalmente se adicionaron 2 equivalentes más de CuI (d). Las señales del complejo **CuI-D14** se señalan con puntos rojos, las del homodímero **D14** desmetalado con triángulos negros.

Una vez confirmado el cierre de la cavidad, el problema que se nos planteó fue la manera de llevar a cabo el reconocimiento del ligando en estas nuevas condiciones. Como se ha comentado anteriormente, el enlace Cu-I es prácticamente covalente, con lo cual el intercambio del anión I<sup>-</sup> por otros ligandos no se produce de forma sencilla. Por tanto, decidimos añadir una sal de plata soluble en disolventes orgánicos que retirase el yoduro del medio, mediante la formación de AgI (Esquema 2.9, 3). De este modo, se abriría la esfera de coordinación del Cu(I) para ser ocupada por un nuevo ligando. Otro aspecto que se tuvo en cuenta fue que, una vez sustraído el yoduro del complejo, es necesario que la especie resultante incorpore un nuevo contraión que ayude a solubilizar el conjunto. Por ello, el experimento se realizó en presencia de 1 equivalente de Na[BAr<sup>F</sup><sub>4</sub>].

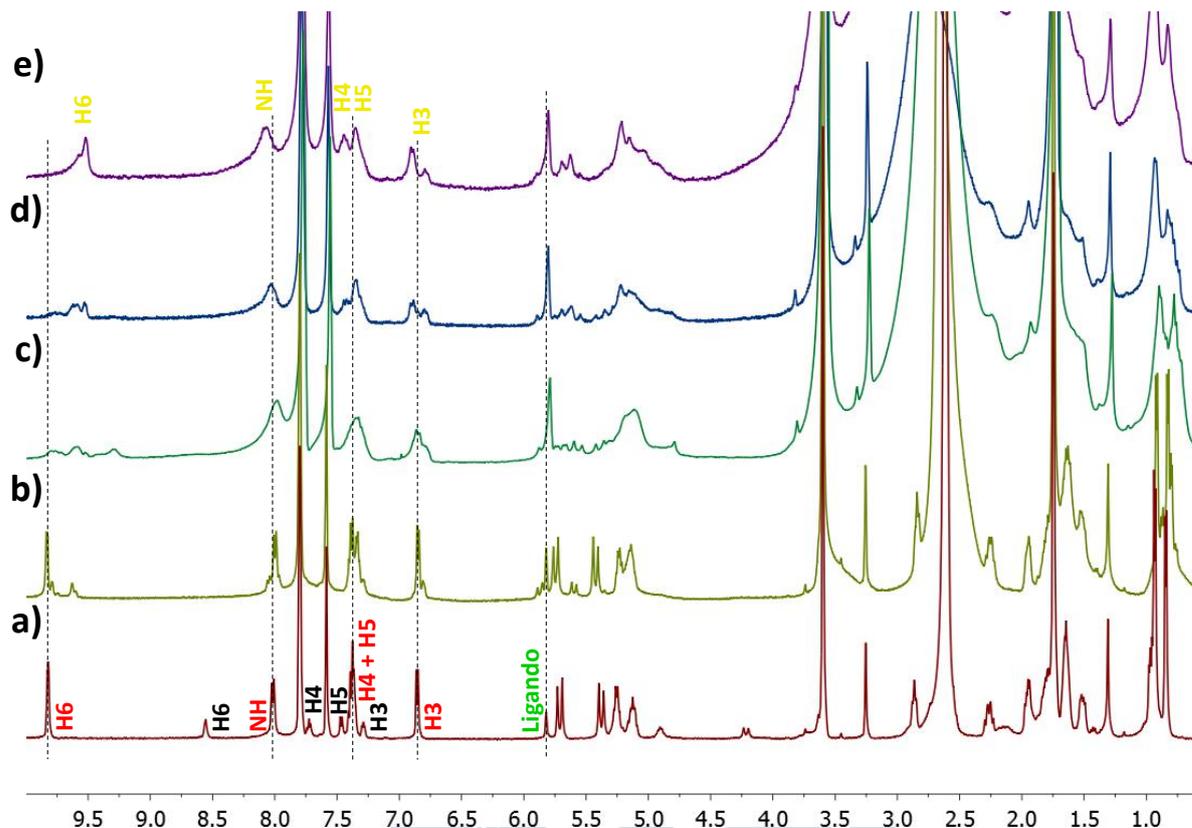
Considerando estas cuestiones, se procedió con el estudio de encapsulación. En este caso nos decantamos por un ligando ligeramente más corto que el empleado en experimentos anteriores, el 1,4-dicianobutano. El proceso se llevó a cabo adicionando 2 equivalentes de AgPF<sub>6</sub> sobre una mezcla del complejo **CuI-D14**, el bisnitrilo (1,4-dicianobutano) y Na[BAr<sup>F</sup><sub>4</sub>], en THF deuterado. La incorporación de la sal de plata causó la formación de un precipitado blanco lechoso. El <sup>1</sup>H-RMN, registrado justo después de la adición mostró, por una parte, la desaparición completa de la parte de péptido desmetalado que permanecía en disolución tras la adición de CuI y, por la otra, el desdoblamiento del protón H6 de la piridina en cuatro señales de intensidades diferentes (Figura 2.12, b). En este punto, la especie mayoritaria se correspondió con el complejo de partida **CuI-D14**. Al cabo de 3 horas, se registró un nuevo espectro en el que pudimos observar que el proceso evoluciona hacia la formación de un único compuesto, que coincide con la especie minoritaria de la mezcla observada anteriormente (Figura 2.12, c). Estos datos podrían ser consistentes con la obtención del complejo de inclusión, ya que el reconocimiento implica una serie de etapas intermedias (atrapado del yoduro, coordinación del primer nitrilo, coordinación del segundo nitrilo) que dan lugar a la formación de distintas especies a lo largo del proceso. Además, teniendo en cuenta las altas constantes de asociación que presentan los dímeros constituidos por α,γ-ciclopéptidos, y considerando que el dímero debe desensamblarse para que el bisnitrilo pueda acceder al interior de la estructura, es de esperar que la encapsulación del ligando sea un proceso lento. Todo esto sumado a que en última instancia se obtiene una única especie, cuyas señales no coinciden ni con las de **CuI-D14** ni con las del homodímero desmetalado **D14** (Tabla 2.2), nos hizo pensar que se estaba produciendo el reconocimiento del bisnitrilo en el interior de la cápsula. Lamentablemente, todas las señales del 1,4-dicianobutano que aparecen en la región 2.5-1.5 ppm quedaron ocultas y no fue posible llevar a cabo experimentos de nOe o DOSY para confirmar los resultados.



**Figura 2.12.** Estudio de encapsulación de 1,4-dicianobutano. Sobre una mezcla de **CuI-D14**, 1,4-dicianobutano y  $\text{Na}[\text{BAr}^{\text{F}}_4]$  en THF (5 mM, a) se adicionaron 2 equivalentes de  $\text{AgPF}_6$  (b). Al cabo de 3 h se registró un nuevo espectro (c). Las señales características de la especie desmetalada **D14** se indican en negro, las del complejo **CuI-D14** en rojo y las de la nueva especie formada en violeta.

Para solucionar este problema decidimos repetir el estudio con un análogo insaturado del 1,4-dicianobutano, el (*E*)-hex-3-enodinitrilo. La idea de introducir un doble enlace en la posición central de la cadena alquílica radica en que los protones del alqueno aparecen a un desplazamiento químico de entre 5 y 6 ppm en el  $^1\text{H}$ -RMN, en una región del espectro con menos interferencias, donde podríamos llevar a cabo los estudios mencionados. Por tanto, el experimento se repitió en las condiciones descritas anteriormente reemplazando el 1,4-dicianobutano por el nuevo ligando. La adición de 2 equivalentes de  $\text{AgPF}_6$  sobre la mezcla del complejo **CuI-D14**, (*E*)-hex-3-enodinitrilo y  $\text{Na}[\text{BAr}^{\text{F}}_4]$ , en THF deuterado condujo nuevamente a la formación de un precipitado blanco lechoso. El  $^1\text{H}$ -RMN, registrado justo después de la adición mostró, una vez más, la desaparición completa de la parte de péptido desmetalado que permanecía en disolución tras la adición de **CuI** y una mezcla de varias especies, aunque en esta ocasión la especie yodada estaba en mayor proporción que con el ligando anterior (Figura 2.13, b). Al cabo de 5 horas se registró un nuevo espectro en el que pudimos observar una evolución en el proceso, pero mucho más lenta que en el caso anterior (Figura 2.13, c). Fueron necesarias 72 horas para llegar a una situación similar a la descrita con el 1,4-dicianobutano. Sin embargo, en esta ocasión, se obtuvo una mezcla de dos especies en una proporción (4:1), en base a la integración de la señal correspondiente al protón H3 de la piridina (Figura 2.13, e). También se observó un aumento en la intensidad del singlete

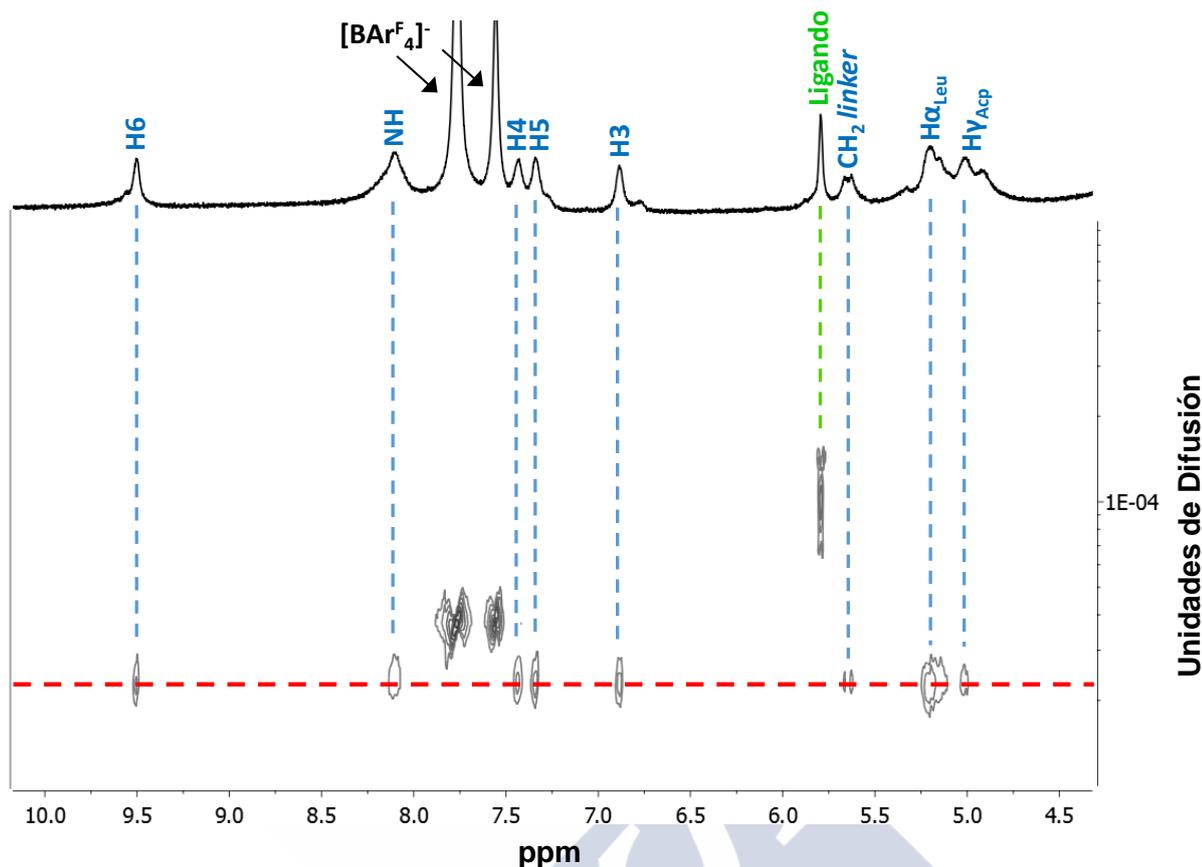
correspondiente a los protones oléfinicos del ligando, lo que es indicativo de la precipitación parcial del péptido.



**Figura 2.13.** Estudio de encapsulación de (*E*)-hex-3-enodinitrilo. Sobre una mezcla de **CuI-D14**, (*E*)-hex-3-enodinitrilo y Na[BAR<sup>F</sup><sub>4</sub>] en THF (5 mM, a) se adicionaron 2 equivalentes de AgPF<sub>6</sub> (b). Al cabo de 5 (c), 24 (d) y 72 h (e) se registró un nuevo espectro. Las señales características de la especie desmetalada **D14** se indican en negro, las del complejo **CuI-D14** en rojo, las de la nueva especie formada en amarillo y la señal de los protones olefinicos del ligando en violeta.

En este punto decidimos llevar a cabo experimentos de DOSY para comprobar si se producía la interacción entre el (*E*)-hex-3-enodinitrilo y el receptor.<sup>270</sup> La representación bidimensional del espectro de <sup>1</sup>H-RMN frente a la difusión de la mezcla de **CuI-D14**, (*E*)-hex-3-enodinitrilo y Na[BAR<sup>F</sup><sub>4</sub>] tras la adición de AgPF<sub>6</sub>, mostró dos velocidades de difusión distintas para el ligando y el dímero (Figura 2.14). Por tanto, podemos concluir que el reconocimiento del bisnitrilo no tiene lugar en estas condiciones.

<sup>270</sup> Avram, L.; Cohen, Y. *Chem. Soc. Rev.* **2015**, *44*, 586-602.

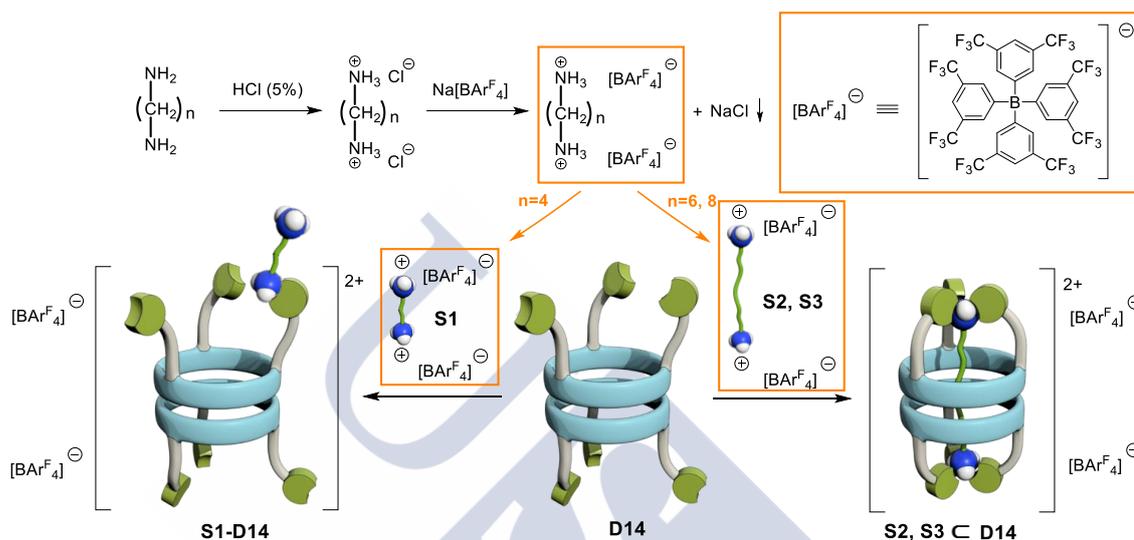


**Figura 2.14.** Espectro de DOSY de la mezcla de **CuI-D14**, (*E*)-hex-3-enodinitrilo y  $\text{Na}[\text{BArF}_4]$  tras la adición de  $\text{AgPF}_6$ . Las señales características del complejo **Cu-D14** y del ligando se indican en azul y verde, respectivamente. La línea horizontal en rojo marca la difusión de la cápsula.

### 2.7.2. Aproximación supramolecular

A continuación, decidimos explorar la otra posibilidad de reconocimiento que nos ofrece el diseño propuesto. En este caso el efecto director es ejercido directamente por las piridinas mediante la formación de enlaces de hidrógeno con el ligando (Esquema 2.2). En la búsqueda de compuestos complementarios a nuestro receptor, pensamos que los cationes de amonio primarios podrían ser excelentes candidatos debido a que presentan tres protones ácidos que pueden interaccionar por enlace de hidrógeno con las piridinas de **CP14**. Además, a causa de su geometría tetraédrica, una vez formado el complejo, el sustituyente enlazado al amonio quedaría orientado hacia el interior de la cavidad. Teniendo en cuenta estas consideraciones y la naturaleza dimerica del receptor, nos propusimos estudiar la encapsulación de diamonios. Para ello, decidimos comparar el comportamiento de **D14** frente a tres ligandos de longitudes diferentes: uno corto, que no podía interaccionar simultáneamente con las dos tapas del dímero (1,4-butanodiamonio, **S1**) y otros dos con un tamaño adecuado para interaccionar con ambos monómeros al mismo tiempo y ser reconocidos, de este modo, en el interior de la estructura peptídica [1,6-hexanodiamonio (**S2**) y 1,8-octanodiamonio (**S3**)] (Esquema 2.10).

Estos ligandos se obtuvieron en forma de dicloruro de diamonio, a partir de las correspondientes diaminas comerciales, mediante protonación con una disolución acuosa de HCl al 5%. Dado que las sales resultantes son insolubles en disolventes orgánicos, decidimos intercambiar el cloruro por el anión voluminoso utilizado en el apartado anterior, el tetrakis[3,5-bis(trifluorometil)fenil]borato ( $[\text{BAr}^{\text{F}}_4]^-$ ).<sup>267</sup> El cambio de contraión permitió solubilizar los ligandos en diclorometano deuterado, por lo que pudimos caracterizarlos de manera aislada y en presencia de la cápsula, en las mismas condiciones.

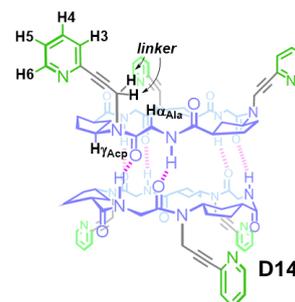


**Esquema 2.10.** Obtención de los ligandos **S1-3** y estructuras esperadas como resultado de su interacción con el homodímero **D14**.

El proceso de encapsulación se siguió por  $^1\text{H}$ -RMN comparando el espectro de una mezcla **S/D14** (1:1) con el del ligando y el dímero por separado. En primer lugar se estudió el diamonio más largo. La adición de un equivalente de la sal de boro de **S3** sobre **D14** en diclorometano deuterado, condujo a la formación de una única especie en la cual las señales de ambos componentes experimentaron cambios (Tabla 2.3, 2.4 y Figura 2.15). El cambio más significativo observado fue la aparición de una señal ancha fuertemente desapantallada a 8.80 ppm, que asociamos con los protones del grupo amonio involucrados en la formación de enlaces de hidrógeno. El resto de señales del ligando también se vieron afectadas, aunque en menor medida, siendo la diferencia más relevante el desdoblamiento del singlete a 1.31 ppm, asociado a los cuatro metilenos centrales, en dos señales a 1.46 y 1.34 ppm. Con respecto a la estructura peptídica, los cambios más importantes se produjeron en el entorno de la piridina, donde se observó el apantallamiento del singlete correspondiente al protón en posición *orto* al nitrógeno (H6) y el desplazamiento a campo bajo del resto de señales del heterociclo. Además, los protones diastereotópicos de la posición propargílica ( $\text{CH}_2$  linker) también acusaron el efecto de la presencia del ligando desplazándose de 5.00 a 4.55 ppm y de 4.10 a 3.95, respectivamente. Por el contrario el grupo NH apenas se vio afectado, lo que sugiere que la estructura dimerica se mantiene inalterada. En relación a las restantes señales del

<sup>267</sup> Yakelis, N. A., Bergman, R. G. *Organometallics* **2005**, *24*, 3579-3581.

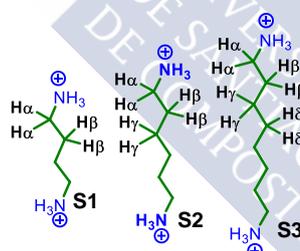
esqueleto peptídico se observaron variaciones en el desplazamiento del  $H_\gamma$  y en los protones internos en posición  $\beta$  del Acp. Todos estos datos apuntan a que se produce una interacción entre el diamonio y el dímero **D14**, que conserva la simetría  $C_3$  del sistema.



**Tabla 2.3.** Resumen de los datos obtenidos por  $^1\text{H}$ -RMN para **D14** en  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$  durante los estudios de reconocimiento de diamonios. Entre paréntesis se indica la variación en el desplazamiento químico con respecto al homodímero aislado.

Ligando	H6 (ppm)	NH (ppm)	H4 (ppm)	H5 (ppm)	H3 (ppm)	$H_{\alpha_{\text{Leu}}}$ (ppm)	$H_{\gamma_{\text{Acp}}}$ (ppm)	Linker (ppm)	$H_{\alpha_{\text{Acp}}}$ (ppm)	$H_{\beta_{\text{Acp}}}$ (ppm)
—	8.60	8.23	7.73	7.45	7.31	5.29	4.81	5.00 4.10	2.97	2.13
<b>S1</b>	8.57 (-0.03)	8.41 (+0.18)	7.83 (+0.10)	7.54 (+0.09)	7.34 (+0.03)	5.27 (-0.02)	4.82 (+0.01)	5.00 4.13 (+0.03)	3.09 (+0.12)	2.21 (+0.08)
<b>S2</b>	8.49 (-0.11)	8.30 (+0.07)	7.82 (+0.09)	7.54 (+0.09)	7.38 (+0.07)	5.26 (-0.03)	4.74 (-0.07)	4.74 4.03 (-0.07)	3.00 (+0.03)	2.24 (+0.11)
<b>S3</b>	8.45 (-0.15)	8.24 (+0.01)	7.84 (+0.11)	7.56 (+0.11)	7.37 (+0.06)	5.25 (-0.04)	4.69 (-0.12)	4.55 (-0.45) 3.95 (-0.15)	2.99 (+0.02)	2.22 (+0.09)

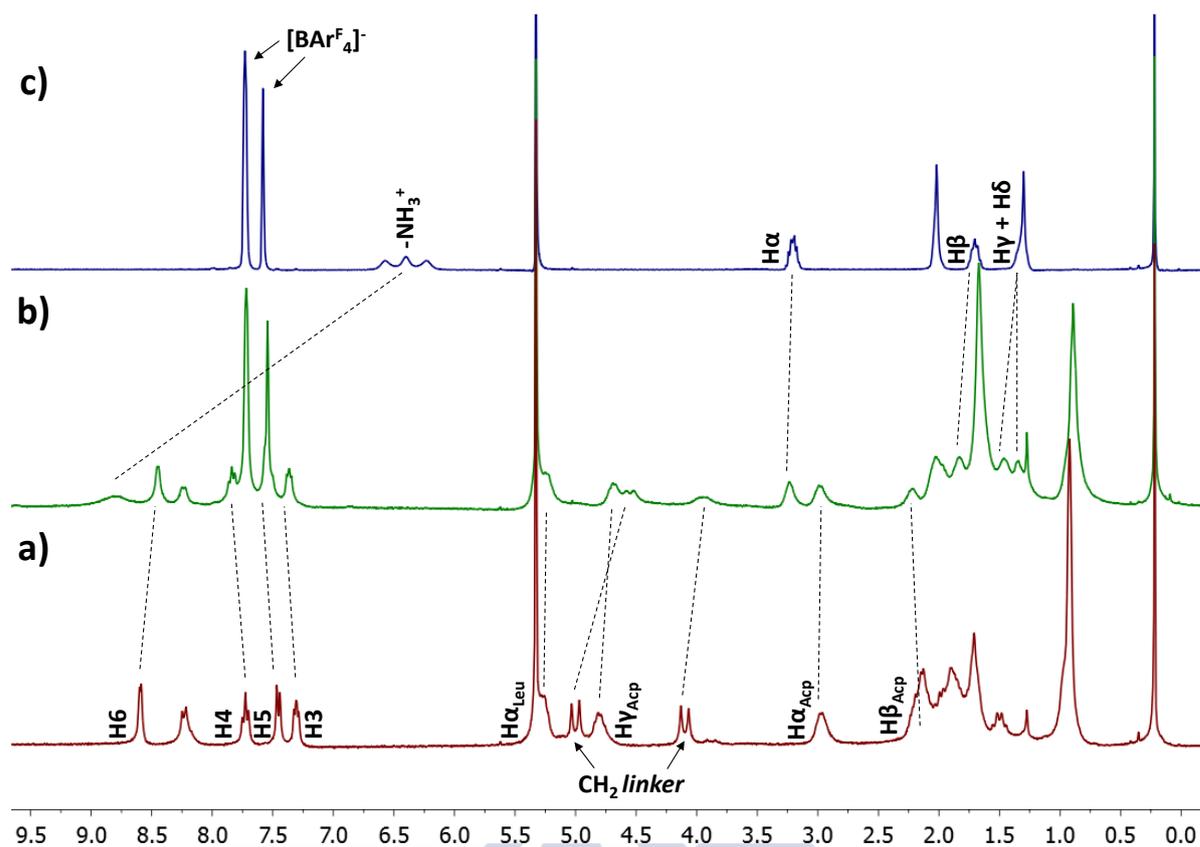
**Tabla 2.4.** Resumen de los datos obtenidos por  $^1\text{H}$ -RMN para los ligandos **S1-S3** en  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$  durante los estudios de reconocimiento con **D14**. Entre paréntesis se indica la variación en el desplazamiento químico con respecto a los diamonios aislados.



Especie	$-\text{NH}_3^+$ (ppm)	$H_\alpha$ (ppm)	$H_\beta$ (ppm)	$H_\gamma$ (ppm)	$H_\delta$ (ppm)
<b>S1</b>	7.13	3.13	1.77	—	—
<b>S2</b>	6.69	3.13	1.69	1.37	—
<b>S3</b>	6.41	3.21	1.71	1.31	1.31
<b>S1/D14 (1:1)</b>	9.81 (+2.68)	3.40 (+0.27)	1.90 (+0.13)	—	—
<b>S2/D14 (1:1)</b>	8.97 (+2.28)	3.30 (+0.17)	1.94 (+0.25)	1.61 (+0.24)	—
<b>S3/D14 (1:1)</b>	8.80 (+2.39)	3.24 (+0.03)	1.84 (+0.13)	1.46 (+0.15)	1.35 (+0.04)

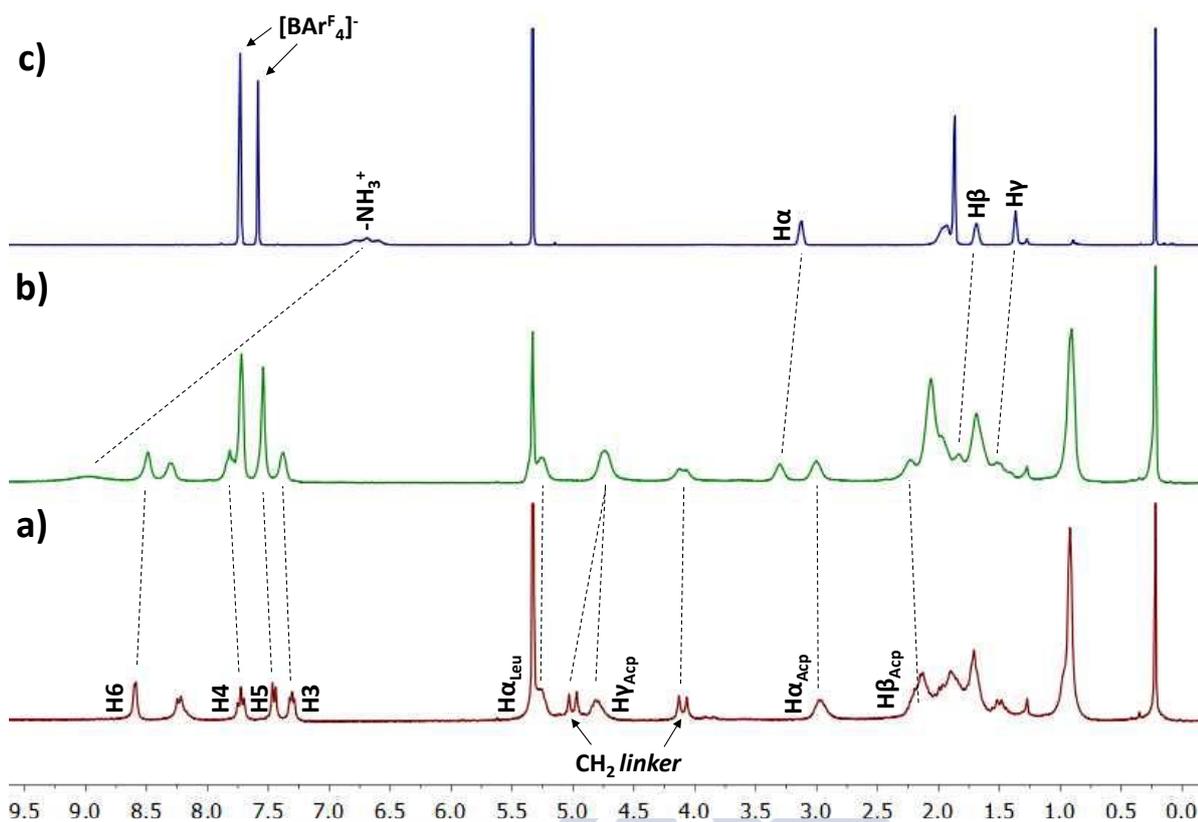
**Tabla 2.5.** Datos obtenidos en los experimentos de DOSY durante los estudios de reconocimiento de los ligandos **S1-S3** con **D14** en  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ . Los experimentos se realizaron por duplicado para cada una de las concentraciones.

Especie	[ ] (mM)	$D_{\text{TMSs}}/D_x$	$r_H$ (Å)
<b>S1</b>	10	1.85	—
<b>S2</b>	10	2.08	—
<b>S3</b>	10	2.04	—
<b>D14</b>	5	2.80	$10.0 \pm 0.1$
	2.5	2.81	$10.0 \pm 0.2$
<b>S1/D14 (1:1)</b>	10	5.67	$20.1 \pm 0.2$
	5	5.11	$18.2 \pm 0.1$
	2	4.28	$15.2 \pm 0.1$
<b>S2/D14 (1:1)</b>	10	3.32	$11.8 \pm 0.2$
	5	3.49	$12.4 \pm 0.4$
	2	3.33	$11.8 \pm 1.1$
<b>S3/D14 (1:1)</b>	10	4.39	$15.6 \pm 0.6$
	5	3.83	$13.6 \pm 0.2$
	2	3.57	$12.7 \pm 0.3$



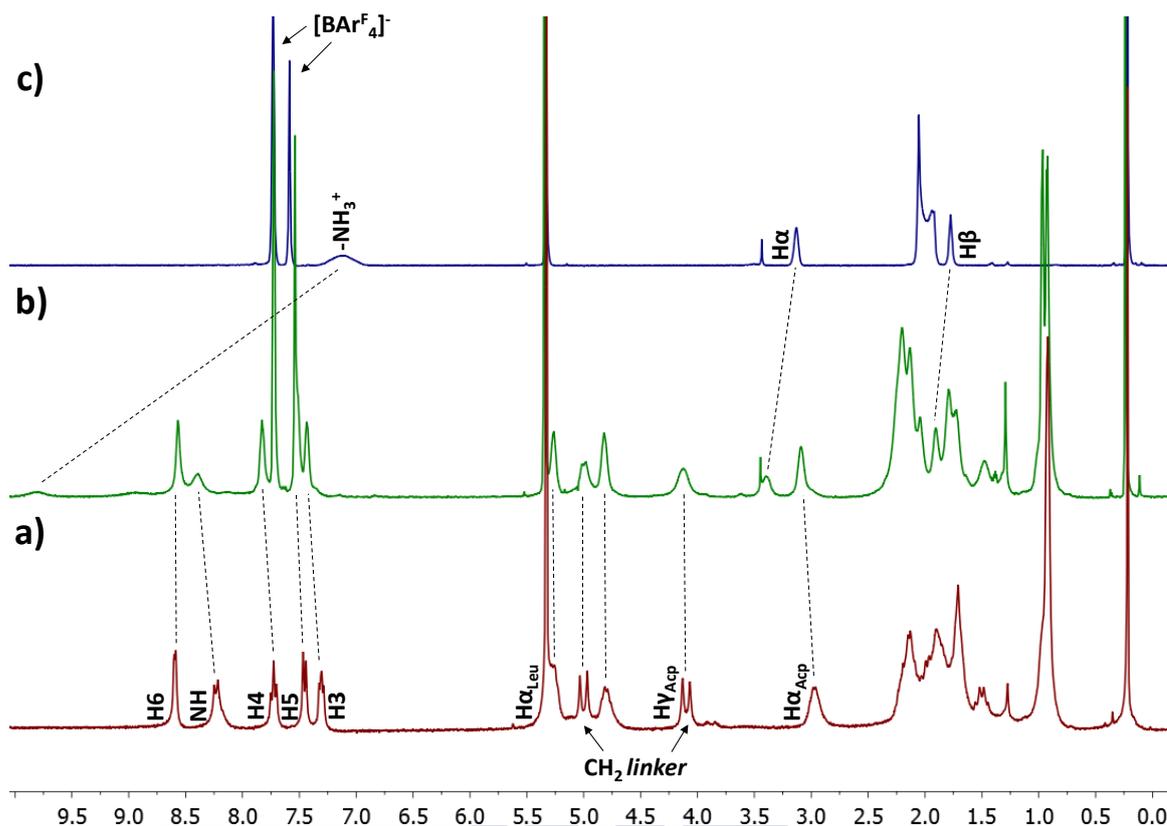
**Figura 2.15.** Estudio de encapsulación de 1,8-octanodiamonio (**S3**) con el homodímero **D14**. La sal bórica del 1,8-octanodiamonio (c) y el homodímero **D14** (a) disueltos en  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$  (10 mM) se mezclaron en una proporción 1:1 (b). Los desplazamientos más significativos de las señales del péptido y del ligando se indican con líneas punteadas.

A continuación se repitió el estudio en las mismas condiciones con el 1,6-hexanodiamonio (**S2**). La adición de un equivalente de **S2** sobre **D14**, nuevamente condujo a la formación de una única especie con señales anchas (Figura 2.16). Una vez más, los protones del grupo amonio se desapantallaron de forma muy acusada, lo que sugiere que la interacción con las piridinas tiene lugar. Las señales de la cadena alquílica del ligando también experimentaron cambios en su desplazamiento químico (Tabla 2.4). Con respecto a las señales del péptido, se observaron diferencias en el entorno de la piridina y los protones propargílicos. El resto de señales del esqueleto peptídico también se vieron afectadas, sobre todo el  $\text{H}\gamma$  y el  $\text{H}\beta$  (Tabla 2.3).



**Figura 2.16.** Estudio de encapsulación de 1,6-hexanodiamonio (**S2**) con el homodímero **D14**. La sal bórica del 1,6-hexanodiamonio (c) y el homodímero **D14** (a) disueltos en  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$  (10 mM) se mezclaron en una proporción 1:1 (b). Los desplazamientos más significativos de las señales del péptido y del ligando se indican con líneas punteadas.

Finalmente, se llevó a cabo el estudio con el diamonio más corto. La adición de **S1** sobre el receptor **D14**, disuelto en diclorometano deuterado, produjo una vez más el ensanchamiento de las señales del dímero (Figura 2.17). Al igual que en los casos anteriores, se observó un desapantallamiento muy acusado de los protones del grupo amonio. Pero a diferencia de los ligandos anteriores, la señal se desdobló en dos a 9.81 y 9.94 ppm. El resto de señales del ligando también se vieron afectadas (Tabla 2.4). Con respecto a la estructura peptídica, se produjeron pequeños cambios sobre todo en las señales de la piridina. Sin embargo, en esta ocasión el protón en *orto* al nitrógeno apenas se desplazó. La diferencia más importante respecto al estudio con **S3** y **S2** tuvo lugar en los protones propargílicos, ya que su desplazamiento químico varió muy poco con respecto al del dímero aislado (Tabla 2.3).

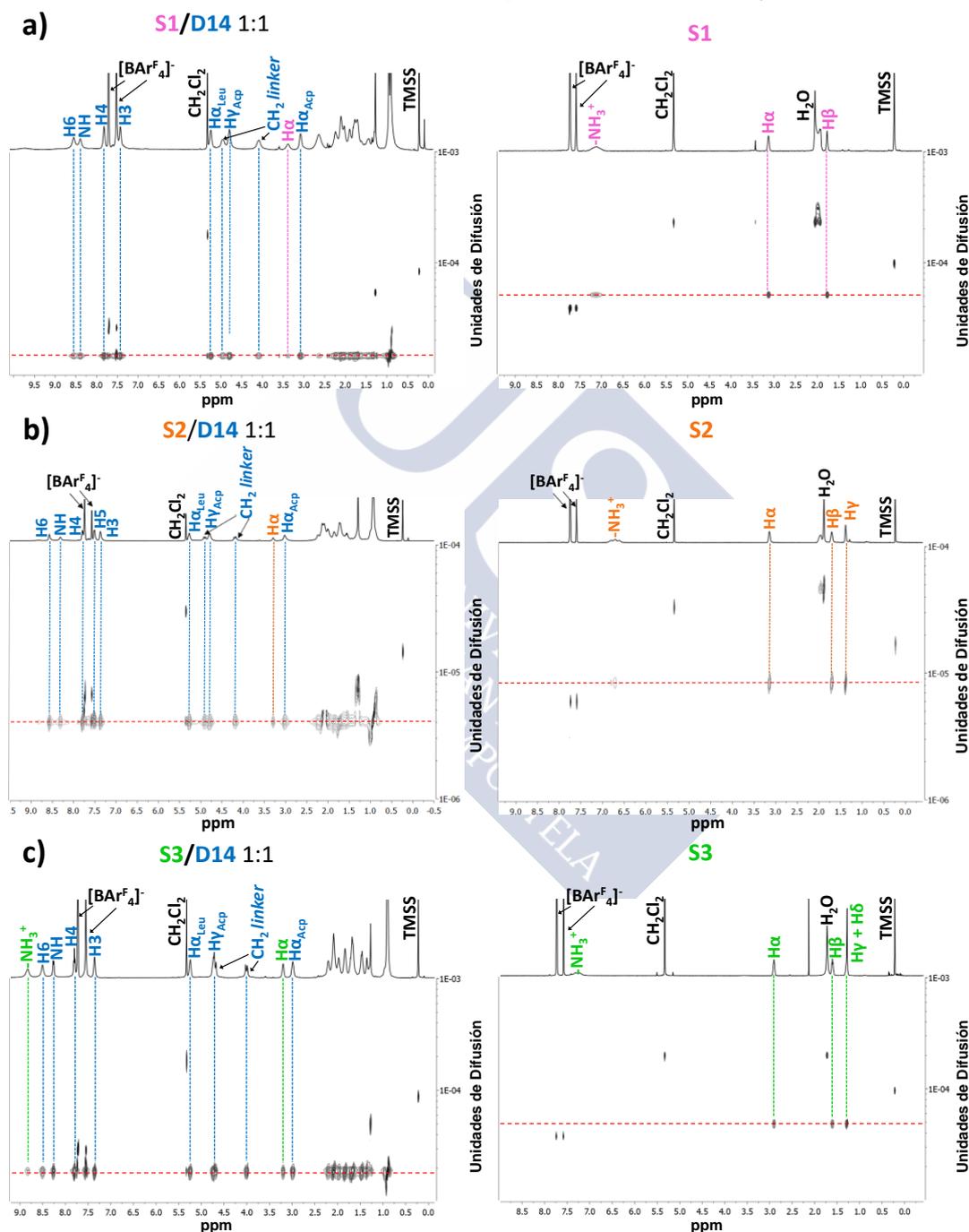


**Figura 2.17.** Estudio de encapsulación de 1,4-butanodiamonio (**S1**) con el homodímero **D14**. La sal bórica del 1,4-butanodiamonio (c) y el homodímero **D14** (a) disueltos en  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$  (10 mM) se mezclaron en proporción (1:1) (b). Los desplazamientos más significativos de las señales del péptido y del ligando se indican con líneas punteadas.

Otra evidencia de la interacción entre ambos componentes se obtuvo mediante experimentos de DOSY.<sup>270</sup> Para ello, se comparó la difusión de los tres ligandos aislados con la obtenida en presencia del dímero en cada caso (Figuras 2.18). Dado que pequeñas variaciones en las condiciones de medida afectan al valor de los coeficientes de difusión, se usó un patrón interno, el tetrakis(trimetilsilil)silano (TMSS). De esta forma, se calculó la difusividad molar, que se define como el cociente entre el coeficiente de difusión de referencia ( $D_{\text{TMSS}}$ ) y el de la molécula o especie formada ( $D_x$ ), que permitió obtener valores comparables entre sí (ver anexo III para más detalles). Para el estudio nos centramos en la señal del protón en  $\alpha$  a los amonios en todos los casos (**S1-3**), debido a que no se solapa con ninguna otra en la especie aislada ni en la mezcla. Teniendo en cuenta estas consideraciones, los coeficientes de difusión obtenidos a través de los experimentos de DOSY de una disolución 10 mM de **S3** proporcionaron una relación  $D_{\text{TMSS}}/D_{\text{S3}}$  de 2.04. Mientras que, para la mezcla **S3/D14** 1:1, a la misma concentración, se obtuvo un valor para  $D_{\text{TMSS}}/D_{\text{S3/D14}}$  de 4.39 (Tabla 2.5). Es decir; el 1,8-octanodiamonio, en presencia del CP, experimenta un descenso significativo en la velocidad de difusión. Con **S2** se observó un comportamiento similar, siendo la relación  $D_{\text{TMSS}}/D_x$  para el ligado aislado de 2.08 y para la mezcla **S1/D14**

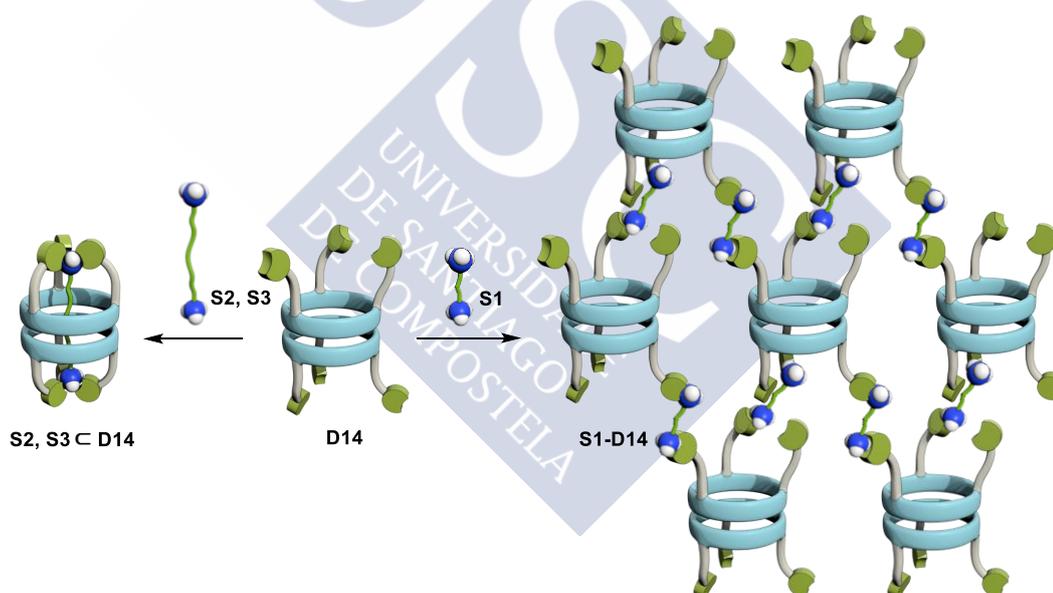
<sup>270</sup> Avram, L.; Cohen, Y. *Chem. Soc. Rev.* **2015**, *44*, 586-602.

1:1 de 3.32 (Tabla 2.5). Finalmente, para el ligando corto **S1** también se obtuvieron dos valores de difusividad molar diferentes cuando el experimento se realizó con el ligando aislado y en presencia de **D14** (Tabla 2.5). La representación bidimensional del espectro de  $^1\text{H}$ -RMN frente a la difusión para las tres mezclas (**S1-3/D14**) mostró claramente que el ligando y el dímero se comportan como una única especie en todos los casos, lo que confirmó que los tres diamonios interaccionan con el receptor en disolución (Figura 2.18).



**Figura 2.18.** a) Espectros de DOSY de la mezcla **S1/D14** 1:1 (izquierda) y el ligando **S1** aislado (derecha). b) Espectros de DOSY de la mezcla **S2/D14** 1:1 (izquierda) y el ligando **S2** aislado (derecha). c) Espectros de DOSY de la mezcla **S3/D14** 1:1 (izquierda) y el ligando **S3** aislado (derecha). Para mayor claridad se indican las señales características del ciclo péptido **CP14** (azul) y de los diamonios **S1** (violeta), **S2** (granate) y **S3** (verde). Las líneas horizontales (en rojo) atraviesan las señales de las especies que difunden a la misma velocidad.

Aunque todos estos resultados evidencian que la interacción tiene lugar, no nos proporcionan información acerca de si el reconocimiento se produce en la cavidad interna para obtener el complejo ligando-dímero o si, por el contrario, dicha interacción se da a través del exterior de la estructura para formar agregados de mayor tamaño (Esquema 2.11). Con el objetivo de distinguir ambas situaciones se diseñaron experimentos de DOSY para cada uno de los ligandos en los cuales se midió la difusión de una mezcla equimolecular ligando/dímero a distintas concentraciones. El fundamento de dichos experimentos radica en el hecho de que, si el reconocimiento se produce a través de la superficie externa para dar lugar a agregados supramoleculares de tipo hilo o red tridimensional infinita, el tamaño de la estructura obtenida dependería de la concentración. Es decir, si nuestro sistema se comportase de esta manera deberíamos observar que, a medida que se aumenta la concentración, el tamaño de los agregados se incrementa y esto se traduciría en el espectro de DOSY en una bajada en la velocidad de difusión. Por tanto, la relación  $D_{\text{TMSS}}/D_X$  debería variar entre las muestras medidas a distinta concentraciones. Por el contrario, la inclusión del ligando en el interior de la estructura conduce a la formación de una única especie, que es independiente de la concentración y como consecuencia de ello, la difusividad molar ( $D_{\text{TMSS}}/D_X$ ) tendría que permanecer constante.

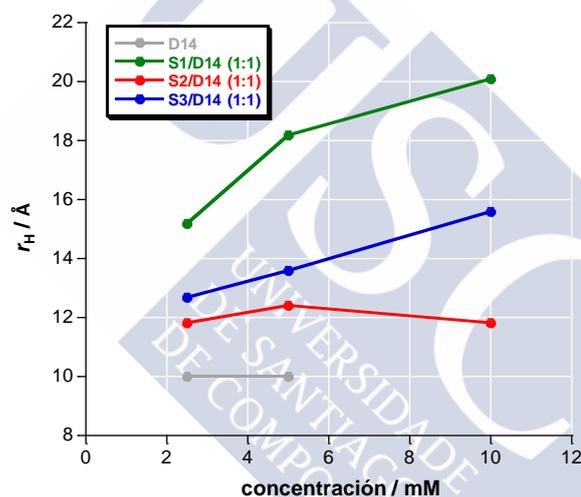


**Esquema 2.11.** Modelo de las estructuras resultantes de la interacción del ligando a través del interior (**S2, S3 c D14**) y exterior (**S1-D14**) del homodímero **D14**.

Teniendo en cuenta este razonamiento se llevaron a cabo experimentos de DOSY de las mezclas **S1-3/D14** 1:1 a una concentración de 10, 5 y 2 mM (Tabla 2.5). Dichos experimentos, que nuevamente se realizaron en presencia de un patrón interno (TMSS), permitieron obtener la relación  $D_{\text{TMSS}}/D_X$  en cada caso. Para **S3** se obtuvieron valores de 4.39, 3.83 y 3.57, para cada una de las concentraciones mencionadas anteriormente. Estos datos evidenciaron la existencia de una dependencia de la velocidad de difusión con la concentración. Con **S1** se obtuvieron resultados similares, siendo en este caso la difusividad

molar de 5.67, 5.11 y 4.28, respectivamente. Sin embargo, el ligando **S2** mostró un comportamiento distinto ya que la relación  $D_{\text{TMSS}}/D_{\text{S2/D14}}$  apenas se vio alterada con la concentración (3.32 para 10 mM, 3.49 para 5 mM y 3.33 para 2 mM).

A partir de estos datos se calculó el radio hidrodinámico para cada uno de los ligandos a las concentraciones mencionadas (Tabla 2.5, Figura 2.19) (ver anexo III). La interacción de **D14** con **S3** dio lugar a agregados de  $15.6 \pm 0.6$ ,  $13.6 \pm 0.2$  y  $12.7 \pm 0.3$  Å para las concentraciones de 10, 5 y 2 mM, respectivamente. Con el ligando **S1** también se observó la formación de agregados de distinto tamaño según la concentración empleada. Por el contrario, 1,6-hexanodiamonio (**S2**) proporcionó valores para  $r_{\text{H}}$  muy próximos entre sí ( $11.8 \pm 0.2$ ,  $12.4 \pm 0.4$  y  $11.8 \pm 1.1$ ). A modo de control, también se llevó a cabo el experimento de DOSY a concentración variable con el homodímero **D14**. En esta ocasión los espectros se registraron a dos concentraciones distintas (5 y 2.5 mM), obteniéndose una relación  $D_{\text{TMSS}}/D_{\text{D14}}$  de 2.80 y 2.81, respectivamente. A partir de estos valores se calculó el radio hidrodinámico ( $r_{\text{H}}$ ), siendo de 10 Å en ambos casos.



**Figura 2.19.** Representación del radio hidrodinámico aparente ( $r_{\text{H}}$ ) frente a la concentración para cada una de las especies estudiadas. La gráfica muestra que la interacción de los diamonios **S1** y **S3** con **D14** da lugar a agregados cuyo tamaño depende de la concentración. Por el contrario, en la especie resultante de la interacción con **S2**, al igual que sucede con el homodímero **D14** aislado,  $r_{\text{H}}$  es independiente de la concentración.

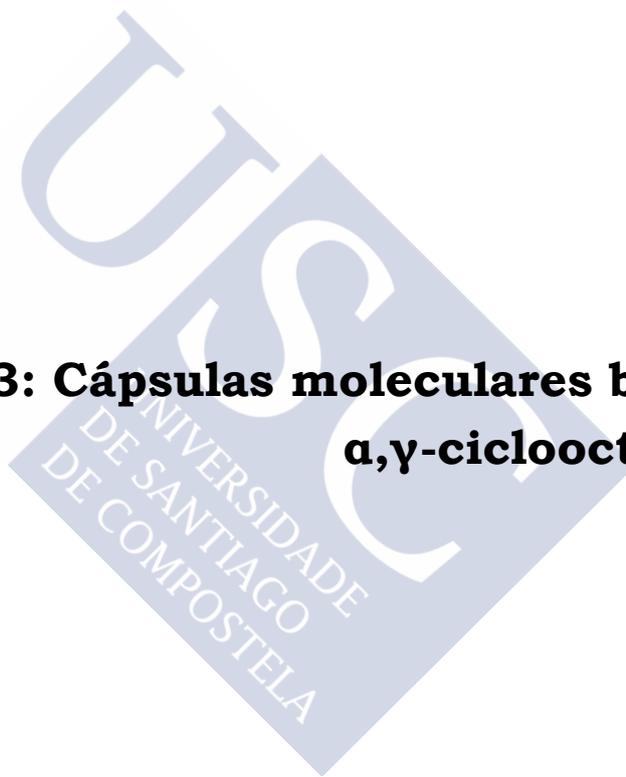
A la vista de los resultados creemos que todos diamonios estudiados interactúan con el receptor **D14**. Sin embargo, teniendo en cuenta los datos obtenidos en los experimentos de DOSY a concentración variable, la especie que se obtiene depende del ligando empleado. Así, mientras que los ligandos **S1** y **S3** dan lugar a agregados supramoleculares, el ligando **S2** conduce al complejo de inclusión. La diferencia de tamaños entre **D14** (10 Å) y **S2-D14** (~12 Å), probablemente se debe a la presencia del contraión ( $[\text{BAr}^{\text{F}}_4]^-$ ). Para confirmar estos resultados, decidimos realizar estudios de NOESY y ROESY con **S2** para obtener alguna evidencia de la internalización del diamonio en la estructura peptídica, pero lamentablemente no observamos picos de cruce de las señales del ligando con los protones internos de **D14**.

Debido a las restricciones impuestas por las dimensiones de la cavidad en los  $\alpha,\gamma$ -ciclohexapéptidos, que prácticamente nos limitan a la inclusión de moléculas constituidas por una cadena alifática con los grupos funcionales situados en los extremos de la misma, decidimos abordar la síntesis de cápsulas más grandes. Estos nuevos diseños constituyen el objeto de estudio del capítulo 3.





**Capítulo 3: Cápsulas moleculares basadas en  
 $\alpha,\gamma$ -ciclooctapéptidos**





### 3.1. Diseños previos

Con el objetivo de profundizar en el estudio de cápsulas moleculares basadas en  $\alpha,\gamma$ -ciclopeptidos, nos propusimos explorar estructuras con cavidades más grandes que nos permitiesen reconocer sustratos de mayor tamaño. Como se ha mencionado a lo largo de la presente tesis doctoral, una de las características más interesantes de los sistemas constituidos por ciclopeptidos es la sencilla modulación del diámetro interno, el cual depende del número de aminoácidos empleados en la construcción del esqueleto peptídico.<sup>151,158</sup> Por tanto, decidimos sustituir el ciclohexapeptido por un ciclooctapeptido como componente básico en el diseño del nuevo receptor, lo que supone un incremento de alrededor de 3 Å en el diámetro interno de la estructura.<sup>182</sup> A pesar del cambio de tamaño, en base a los prometedores resultados obtenidos con los receptores basados en  $\alpha,\gamma$ -ciclohexapeptidos, decidimos mantener una estrategia de reconocimiento similar.

Con esta intención se diseñó una nueva cápsula metálica adaptada a la simetría del sistema (Esquema 3.1). En este caso, las piridinas se reemplazaron por una bipyridina y una terpiridina que se unieron a los Acp 1 y 3 del ciclopeptido. De esta manera, pensamos que la adición de un metal de geometría octaédrica conduciría a la obtención de una estructura cerrada, donde 5 de las 6 posiciones de coordinación del centro metálico estarían ocupadas por los ligandos mencionados, y el sexto orbital podría utilizarse, al igual que en los diseños precedentes, para reconocer y dirigir ligandos específicos hacia el interior de la cavidad.<sup>246</sup> En esta ocasión, dado que fue necesario introducir dos heterociclos diferentes, los espaciadores propargílicos se sustituyeron por un aminobutilo y un carboxipropilo que permiten realizar una protección ortogonal de los grupos funcionales para poder anclar la bipyridina y la terpiridina en etapas sintéticas consecutivas. Por su parte, los Acp 2 y 4, que no intervienen en el proceso de coordinación, se *N*-metilaron para impedir la formación de enlaces de hidrógeno no deseados, que pudiesen inducir el plegamiento del CP.<sup>199</sup>

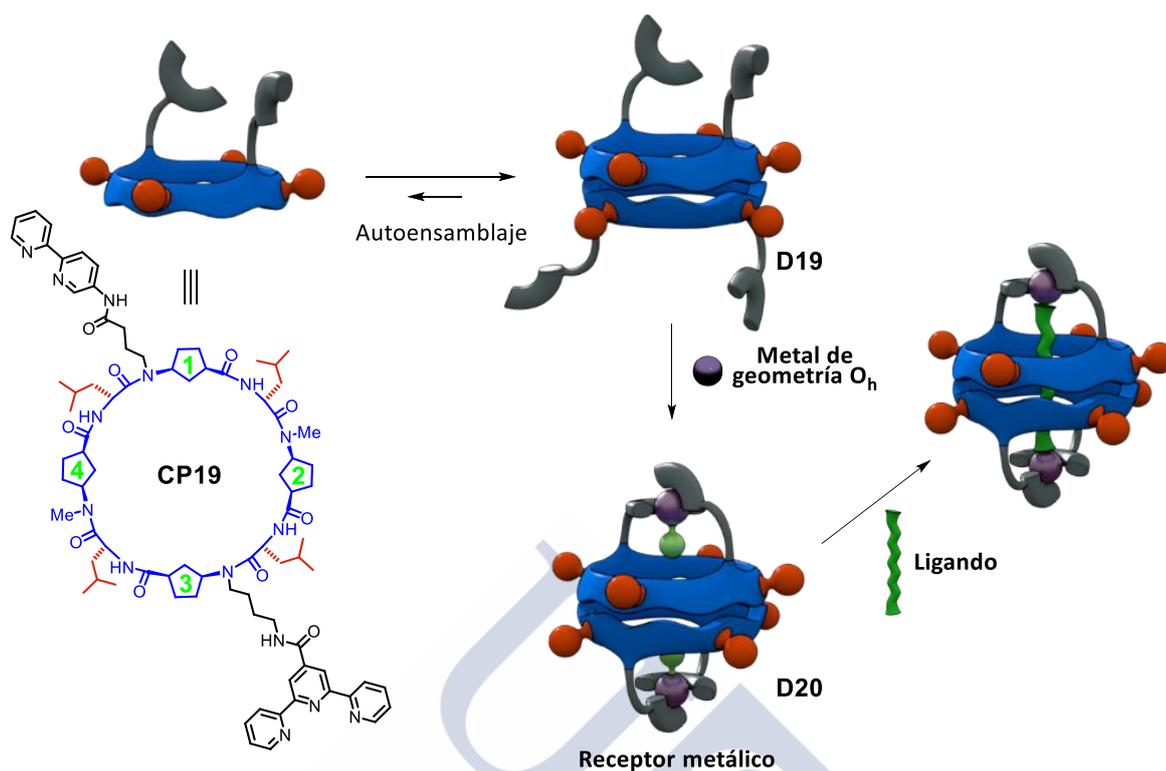
<sup>151</sup> Chapman, R.; Danial, M.; Koh, M. L.; Jolliffe, K. A.; Perrier, S. *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41*, 6023-6041.

<sup>158</sup> (a) Brea, R. J.; Reiriz, C.; Granja, J. R. *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39*, 1448-1456; (b) Bong, D. T.; Clark, T. D.; Granja, J. R.; Ghadiri, M. R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 980-1011.

<sup>182</sup> Brea, R. J.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Chem. Commun.* **2007**, 3267-3269.

<sup>246</sup> (a) Enriquez-Cabrera, A.; Sasaki, I.; Bukhanko, V.; Tassé, M.; Mallet-Ladeira, S.; Lacroix, P. G.; Barba-Barba, R. M.; Ramos-Ortiz, G.; Farfán, N.; Voitenko, Z. and Malfant, I. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2017**, *11*, 1446-1456; (b) Li, A.; Yadav, R.; White, J. K.; Herroon, M. K.; Callahan, B. P.; Podgorski, I.; Turro, C.; Scott, E. E.; Kodanko, J. J. *Chem. Commun.* **2017**, *53*, 3673-3676; (c) Chan, H.; Ghayche, J. B.; Wei, J.; Renfrew, A. K. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2017**, *12*, 1679-1686; (d) Amemori, S.; Sasaki, Y.; Yanai, N.; Kimizuka, N. *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138*, 8702-8705; (e) Kon, H.; Nagata, T. *Inorg. Chem.* **2009**, *48*, 8593-8602; (f) Gallaway, J. W.; Barton, A. C. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 8527-8536; (g) Altobello, S.; Argazzi, R.; Caramori, S.; Contado, C.; Da Fre, S.; Rubino, P.; Chone, C.; Larramona, G.; Bignozzi, C. A. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 15342-15343.

<sup>199</sup> (a) Rodríguez-Vázquez, N.; Amorín, M.; Alfonso, I.; Granja, J. R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 4504-4508; (b) Rodríguez-Vázquez, N.; García-Fandiño, R.; Amorín, M.; Granja, J. R. *Chem. Sci.* **2016**, *7*, 183-187.



**Esquema 3.1.** Modelo de cápsula molecular basado en un dímero de  $\alpha,\gamma$ -ciclooctapéptidos que incorpora una biperidina y una terpiridina unidos al esqueleto peptídico con el objetivo de realizar el cierre de la cavidad mediante la adición de metales de geometría octaédrica (Ru, Os, Co). La vacante de coordinación queda dirigida hacia el interior de la estructura, pudiendo actuar como director de la encapsulación frente a ligandos bidentados.

### 3.2. Síntesis

Teniendo en cuenta los aspectos del diseño sintético comentados anteriormente y la necesidad de ortogonalidad respecto a los grupos funcionales, se propuso la síntesis de **CP15** que se describe en el Esquema 3.2. Los  $\gamma$ -aminoácidos **10**, **13** y **15** se prepararon a partir del (1*R*,3*S*)-Boc-Acp-OH enantioméricamente puro. El compuesto **10** se obtuvo en un 87% de rendimiento global a través de la *N*-metilación del (1*R*,3*S*)-Boc-Acp-OH,<sup>187,197</sup> seguida de la protección del extremo carboxílico mediante tratamiento con alcohol bencílico en presencia de EDC.HCl, HOBT y DMAP. La síntesis de los aminoácidos **13** y **15** no se pudo llevar a cabo usando esta metodología; por tanto, una vez más se recurrió al procedimiento de Fukuyama.<sup>258</sup> En primer lugar, el (1*R*,3*S*)-Boc-Acp-OH se protegió en forma de éster bencílico. A continuación, se formó el nosilato **12** mediante tratamiento con TFA en diclorometano y posterior reacción con cloruro de 2-nitrobenzenosulfonilo en medio básico. La *N*-alquilación de **12** con 4-bromobutilftalimida, usando carbonato potásico en DMF seca,

<sup>187</sup> Reiriz, C.; Castedo, L.; Granja, J. R. *J. Pep. Sci.* **2008**, *14*, 241-249.

<sup>197</sup> Rodríguez-Vázquez, N.; Salzinger, S.; Silva, L. F.; Amorín, M.; Granja, J. R. *Eur. J. Org. Chem.* **2013**, 3477-3493.

<sup>258</sup> (a) Fukuyama, T.; Cheung, M.; Jow, C. K.; Hidai, Y.; Kan, T. *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 5831-5834; (b) Fukuyama, T.; Jow, C. K.; Cheung, M. *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 6373-6374.

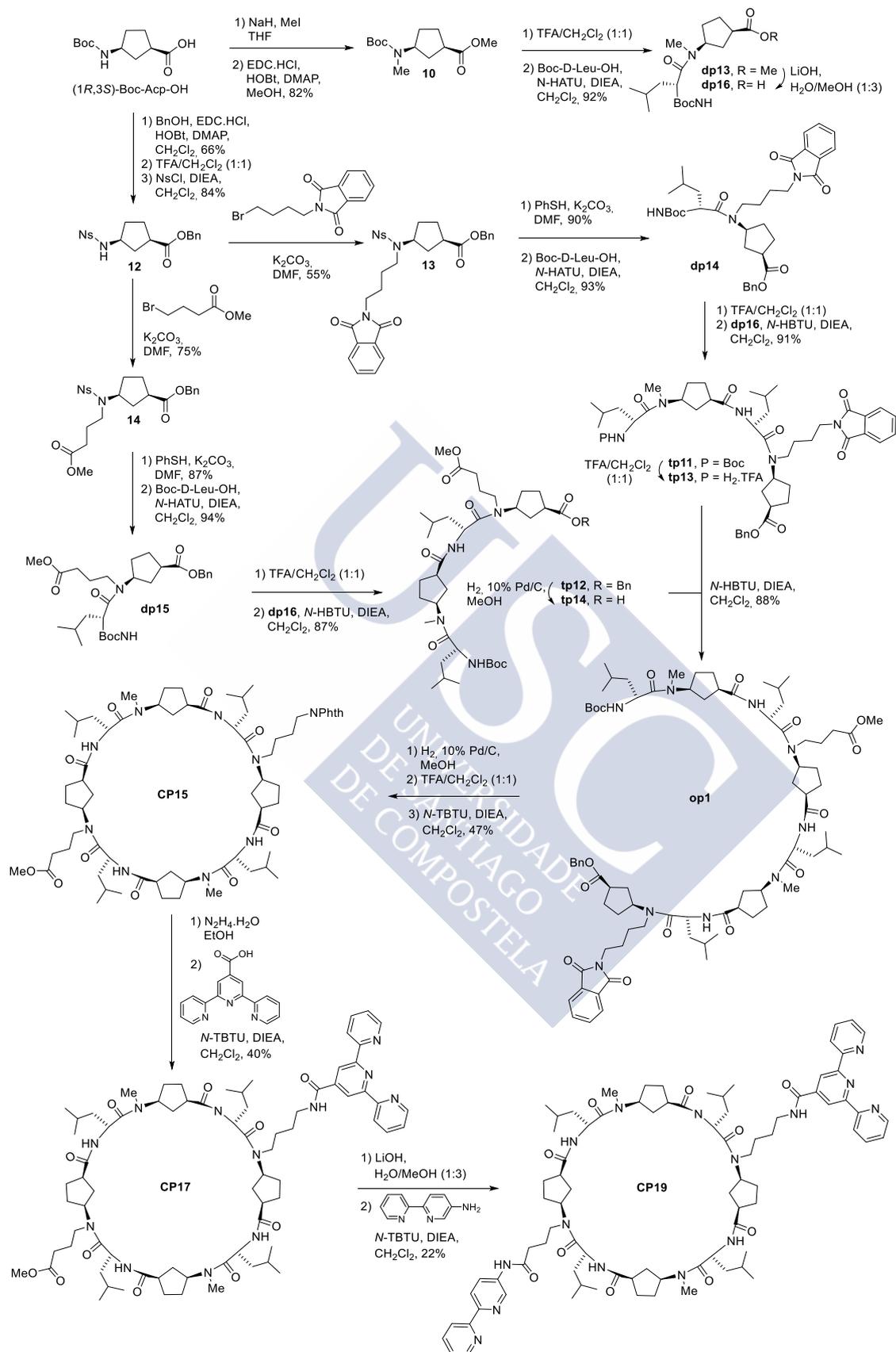
dio lugar a **13** en un 55% de rendimiento. El compuesto **14** se obtuvo en las mismas condiciones utilizando 4-bromobutanoato de metilo como agente alquilante.

A continuación, se prepararon los correspondientes dipéptidos. El extremo amino del  $\gamma$ -aminoácido *N*-metilado **10**, se desprotegió mediante tratamiento con TFA en diclorometano. El producto resultante se acopló con Boc-*D*-Leu-OH usando *N*-HATU<sup>250</sup> como agente de acoplamiento en presencia de diisopropiletilamina (DIEA), para dar lugar al **dp13** en un 64% de rendimiento. Por otra parte, los dipéptidos **dp14** y **dp15** se prepararon a partir de los compuestos **13** y **14**, respectivamente, previa eliminación del grupo nosilo por tratamiento con tiofenol en presencia de carbonato potásico. En ambos casos, el producto resultante se acopló con Boc-*D*-Leu-OH en presencia de *N*-HATU y DIEA. Bajo estas condiciones se obtuvieron **dp14** y **dp15** en excelentes rendimientos. Los tetrapéptidos **tp12** y **tp13** se sintetizaron por acoplamiento del **dp13** con los dipéptidos **dp14** y **dp15**, respectivamente, previa desprotección de los grupos funcionales correspondientes. De esta forma, el extremo carboxílico del **dp13** se desprotegió mediante una hidrogenólisis catalizada por paladio, para dar lugar al **dp16**; mientras que el grupo Boc de **dp14** y **dp15** se eliminó por tratamiento con TFA en diclorometano. A continuación, los dipéptidos desprotegidos resultantes se acoplaron con **dp16** usando *N*-HBTU<sup>250</sup> para dar lugar a **tp12** en un 91% y **tp13** en un 87% de rendimiento. Para la preparación del octapéptido lineal **op1**, en primer lugar, el bencilo de **tp13** se eliminó mediante una hidrogenólisis catalizada por paladio. Por otra parte, el extremo amino de **tp12** se desprotegió por tratamiento con TFA. Finalmente, los tetrapéptidos resultantes **tp15** y **tp14** se acoplaron en presencia de *N*-HBTU y DIEA. Tras la desprotección de los extremos *C*- y *N*-terminal de **op1**, el péptido resultante se cicló en condiciones de alta dilución, usando *N*-TBTU como agente de acoplamiento, para dar lugar al ciclopéptido protegido **CP15** en un 47% de rendimiento.

A continuación se procedió con la incorporación de los ligandos. Con este objetivo, el **CP15** se trató con hidróxido de litio para desproteger el éster metílico. Sin embargo, en estas condiciones también se vio afectado el grupo ftalimido. Por tanto, decidimos acoplar la terpiridina en primer lugar. Para ello, el grupo ftalimido se eliminó mediante tratamiento con hidracina monohidratada y, a continuación, el producto desprotegido resultante **CP16** se hizo reaccionar con el ácido 2,2':6',2''-terpiridina-4'-carboxílico en presencia de *N*-TBTU y DIEA para dar lugar al ciclopéptido **CP17** en un 40% de rendimiento. Finalmente, para la obtención de **CP19**, el éster metílico de **CP17** se desprotegió mediante tratamiento con hidróxido de litio y, el péptido resultante, **CP18** se acopló con 2,2'-Bipiridin-5-amina, usando *N*-TBTU como agente acoplamiento. El anclaje de ambos ligandos a la estructura peptídica tuvo lugar en un 9% de rendimiento global.

---

<sup>250</sup> El-Faham, A.; Albericio, F. *Chem. Rev.* **2011**, *111*, 6557-6602.



**Esquema 3.2.** Ruta sintética para la preparación de **CP19** a partir del  $\gamma$ -aminoácido (1R, 3S)-Boc-Acp-OH mediante una estrategia convergente de síntesis en disolución.

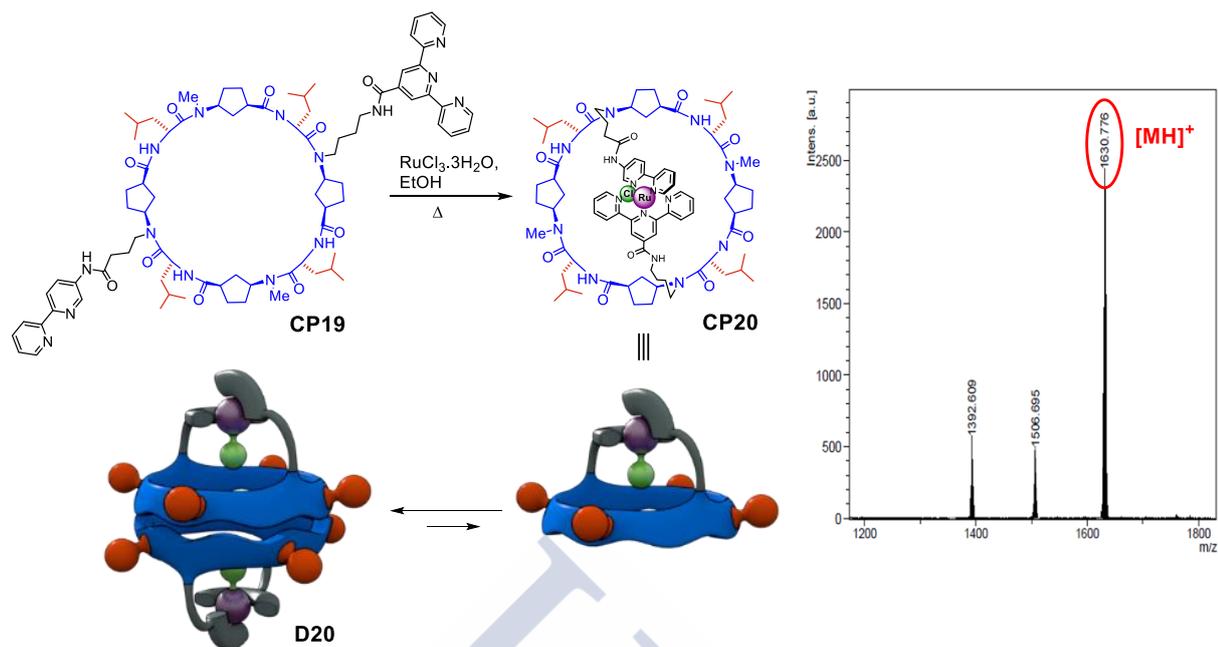
El bajo rendimiento obtenido se debe, además de al número de etapas intermedias, a la complejidad de las desprotecciones y los acoplamientos, y a problemas de solubilidad que dificultaban la purificación de los compuestos. Por una parte, la terpiridina y la biperidina son solubles en medio ácido acuoso, con lo cual no se pueden realizar lavados con disolución al 5% de HCl, ya que se genera un sistema anfífilico con tendencia a permanecer en la interfase. Por la otra, dichos ligandos aumentan la polaridad del ciclopéptido, con lo que se obtiene un sistema con una polaridad demasiado elevada para ser purificado mediante columna de sílica y demasiado apolar, debido a la hidrofobicidad aportada por las leucinas, para ser purificado en fase reversa. Esto implica que una vez acoplados los correspondientes ligandos heterocíclicos, la purificación del producto se realizase utilizando alúmina como fase estacionaria. La alúmina no tiene una resolución adecuada para este tipo de compuestos, con lo cual fueron necesarias sucesivas purificaciones para obtener el compuesto deseado con un grado de pureza adecuado. La cromatografía de exclusión por tamaños tampoco resultó del todo satisfactoria, ya que en grandes cantidades no se consigue una buena separación del producto con respecto a las impurezas. Todo esto imposibilitó la obtención del ciclopéptido **CP19** en cantidades razonables para abordar los estudios de encapsulación.

Aun así, con los miligramos de compuesto puro disponibles decidimos realizar un ensayo de cierre de la estructura mediante la adición de un metal octaédrico.<sup>246</sup> Para llevar a cabo el proceso nos decantamos por el rutenio, debido a que forma complejos cinéticamente estables que presentan interesantes propiedades fotoquímicas y redox.<sup>246a-c,271</sup> Como fuente del metal se utilizó  $\text{RuCl}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ , el cual se añadió en cantidades equimoleculares sobre una disolución de **CP19** en etanol (Esquema 3.3). La mezcla, que se calentó a reflujo protegida de la luz, condujo a la formación de una disolución de color rojo intenso. El análisis de una alícuota de dicha disolución por espectroscopía de masas (MALDI-TOF) mostró un pico intenso con la masa esperada del ciclopéptido **CP20**. Lamentablemente, la cantidad obtenida no fue suficiente para llevar a cabo estudios de RMN ni para realizar experimentos de encapsulación.

---

<sup>246</sup> (a) Enriquez-Cabrera, A.; Sasaki, I.; Bukhanko, V.; Tassé, M.; Mallet-Ladeira, S.; Lacroix, P. G.; Barba-Barba, R. M.; Ramos-Ortiz, G.; Farfán, N.; Voitenko, Z. and Malfant, I. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2017**, *11*, 1446-1456; (b) Li, A.; Yadav, R.; White, J. K.; Herroon, M. K.; Callahan, B. P.; Podgorski, I.; Turro, C.; Scott, E. E.; Kodanko, J. J. *Chem. Commun.* **2017**, *53*, 3673-3676; (c) Chan, H.; Ghayche, J. B.; Wei, J.; Renfrew, A. K. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2017**, *12*, 1679-1686; (d) Amemori, S.; Sasaki, Y.; Yanai, N.; Kimizuka, N. *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138*, 8702-8705; (e) Kon, H.; Nagata, T. *Inorg. Chem.* **2009**, *48*, 8593-8602; (f) Gallaway, J. W.; Barton, A. C. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 8527-8536; (g) Altobello, S.; Argazzi, R.; Caramori, S.; Contado, C.; Da Fre, S.; Rubino, P.; Chone, C.; Larramona, G.; Bignozzi, C. A. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 15342-15343.

<sup>271</sup> (a) Rodríguez, J.; Mosquera, J.; Couceiro, J. R.; M. Eugenio Vázquez, M. E.; Mascareñas, J. L. *Angew. Chem.* **2016**, *128*, 15844-15847; (b) Huisman, M.; White, J. K.; Lewalski, V. G.; Podgorski, I.; Turro, C.; Kodanko, J. J. *Chem. Commun.* **2016**, *52*, 12590-12593; (c) Lameijer, L. N.; Hopkins, S. L.; Brevé, T. G.; Askes, S. H. C.; Bonnet, S. *Chem. Eur. J.* **2016**, *22*, 18484-18491; (d) Rilak, A.; Bratsos, I.; Zangrando, E.; Kljun, J.; Turel, I.; Bugarcic, Z. D.; Alessio, E. *Inorg. Chem.* **2014**, *53*, 6113-6126; (e) Cadranel, A.; Trošelj, B. M. A.; Yamazaki, S.; Alborés, P.; Kleiman, V. D.; Baraldo, L. M. *Dalton Trans.* **2013**, *42*, 16723-16732.



Esquema 3.3. Obtención del *host* a partir del ciclo péptido **CP19** mediante la incorporación de Ru(II).

### 3.3. Cambio de diseño

Debido a las dificultades sintéticas mencionadas, decidimos cambiar el diseño e incorporar un ligando de características similares (con una vacante de coordinación disponible para el reconocimiento del mismo), pero que pudiese ser introducido en una sola etapa y que no modificase en exceso la polaridad del ciclo péptido. Teniendo en cuenta estos requerimientos se propuso el sistema que se describe en el Esquema 3.4. En esta ocasión, como elemento de cierre se consideró el uso de metaloporfirinas, ya que presenta una simetría ( $C_2/C_4$ ) complementaria a la de los ciclooctapéptidos.<sup>212,213,272</sup> Además el centro metálico permite dirigir la encapsulación del ligando hacia el interior de la cavidad, que es uno de los objetivos fundamentales de la presente tesis doctoral, y nos aporta una amplia variedad de alternativas ya que según el metal empleado podemos reconocer moléculas de distinta naturaleza.<sup>135,273</sup> Para la conexión entre ambos componentes se pensó en la incorporación de

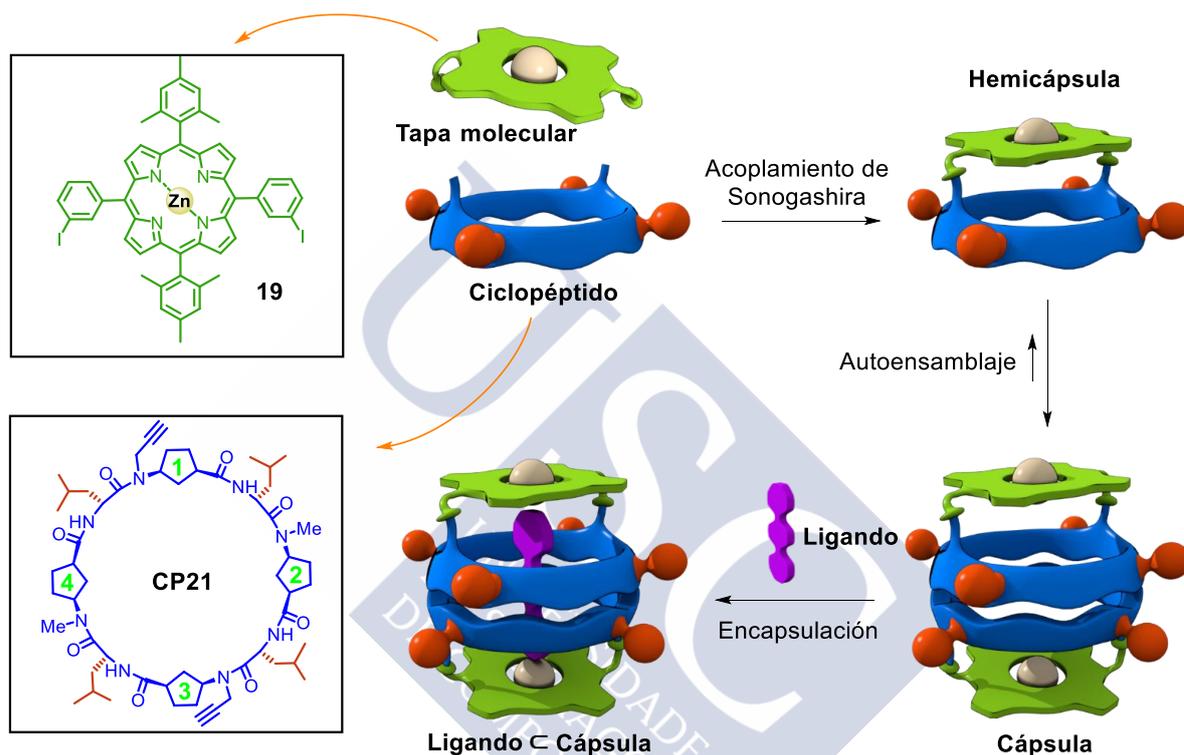
<sup>212</sup> Aragay, G.; Ventura, B.; Guerra, A.; Pintre, I.; Chiorboli, C.; García-Fandiño, R.; Flamigni, L.; Granja, J. R.; Ballester, P. *Chem. Eur. J.* **2014**, *20*, 3427-3438.

<sup>213</sup> Hernández-Eguía, L. P.; Brea, R. J.; Castedo, L.; Ballester, P.; Granja, J. R. *Chem. Eur. J.* **2011**, *17*, 1220-1229.

<sup>272</sup> (a) Shi, Y. H.; Sánchez-Molina, I.; Cao, C. S.; Cook, T. R.; Stang, P. J. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2014**, *111*, 9390-9395; (b) D'Urso, A.; Fragala, M. E.; Purrello, R. *Chem. Commun.* **2013**, *49*, 4441-4443; (c) Boccalon, M.; Iengo, E.; Tecilla, P. *Org. Biomol. Chem.* **2013**, *11*, 4056-4067; (d) Samanta, S. K.; Schmittel, M. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 18794-18797; (e) Otte, M.; Kuijpers, P. F.; Troeppner, O.; Ivanovic-Burmazovic, I.; Reek, J. N. H.; de Bruin, B. *Chem. Eur. J.* **2013**, *19*, 10170-10178; (f) Meng, W.; Breiner, B.; Rissanen, K.; Thoburn, J. D.; Clegg, J. K.; Nitschke, J. R. *Angew. Chem.* **2011**, *123*, 3541-3545; (g) Hoffmann, M.; Kärnbratt, J.; Chang, M.-H.; Herz, L. M.; Albinsson, B.; Anderson, H. L. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 4993-4996.

<sup>135</sup> (a) Valderreya, V.; Aragaya, G.; Ballester, P. *Coord. Chem. Rev.* **2014**, *258-259*, 137-156; (b) Durot, S.; Taesch, J.; Heitz, V. *Chem. Rev.* **2014**, *114*, 8542-8578.

un par de alquinos en los Acp 1 y 3 del ciclooctapéptido **CP21** y de dos yodoarilos en las posiciones 5 y 15 de la porfirina. De esta forma, el cierre de la estructura se produciría en una sola etapa por la formación de un par de enlaces C-C, mediante una reacción de Sonogashira. Los yoduros en el compuesto **19** se situaron en la posición *meta* del anillo para reducir las tensiones estéricas y facilitar el acoplamiento entre la porfirina y el ciclo péptido. Al igual que en el diseño anterior, los Acp 2 y 4, que no intervienen en el proceso de coordinación, se *N*-metilaron para impedir la formación de enlaces de hidrógeno que distorsionasen la conformación plana del CP.<sup>199</sup>



**Esquema 3.4.** Modelo de cápsula molecular basado en un dímérico de  $\alpha,\gamma$ -ciclooctapéptidos que incorporan una metaloporfirina como elemento de cierre de la estructura.

### 3.4. Síntesis

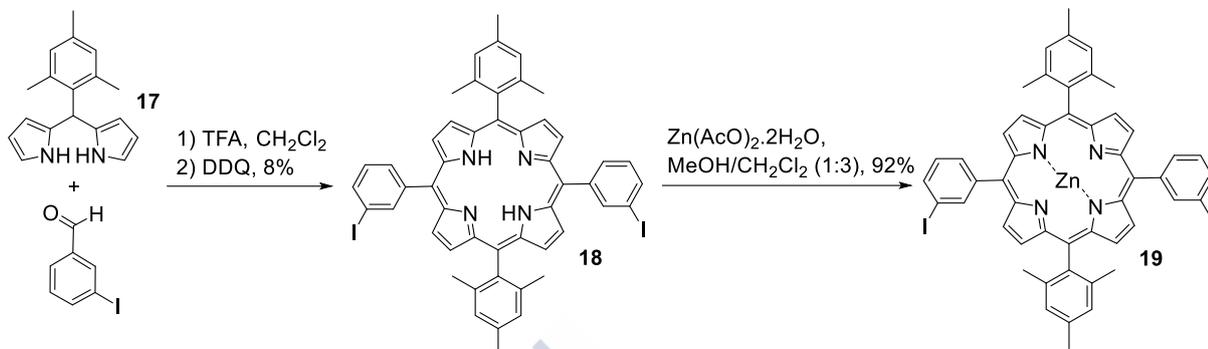
En base a estas premisas se prepararon la metaloporfirina **19** y el ciclo péptido **CP21**, siguiendo las rutas sintéticas que se indican en los Esquemas 3.5 y 3.6. La porfirina **18** se obtuvo mediante una condensación 2+2 de tipo McDonald<sup>274</sup> a partir del 5-dipirrometano<sup>275</sup> **17**

<sup>273</sup> (a) Schoepff, L.; Kocher, L.; Durot, S.; Heitz, V. *J. Org. Chem.* **2017**, *82*, 5845-5851; (b) Dhamija, A.; Ikbal, S. A.; Rath, S. P. *Inorg. Chem.* **2016**, *55*, 13014-13026; (c) Ikbal, S. A.; Dhamija, A.; Rath, S. P. *Chem. Commun.* **2015**, *51*, 14107-14110; (d) Stulz, E.; Scott, S. M.; Bond, A. D.; Teat, S. J.; Sanders, J. K. M. *Chem. Eur. J.* **2003**, *9*, 6039-6048; (e) Webb, S. J.; Sanders, J. K. M. *Inorg. Chem.* **2000**, *39*, 5920-5929.

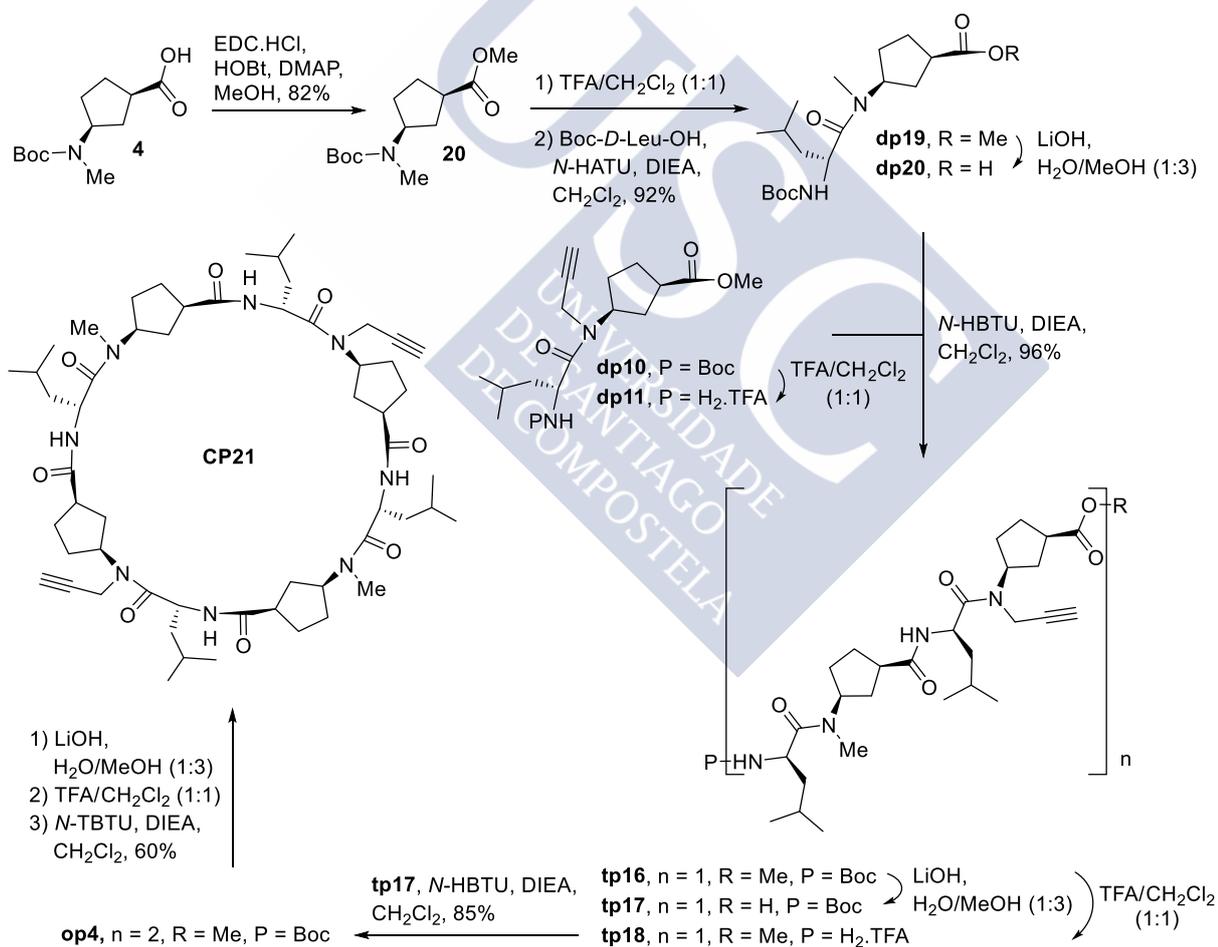
<sup>199</sup> (a) Rodríguez-Vázquez, N.; Amorín, M.; Alfonso, I.; Granja, J. R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 4504-4508; (b) Rodríguez-Vázquez, N.; García-Fandiño, R.; Amorín, M.; Granja, J. R. *Chem. Sci.* **2016**, *7*, 183-187.

<sup>274</sup> (a) Littler, B. J.; Ciringh, Y.; Lindsey, J. S. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 2864-2872; (b) Lee, C. H.; Lindsey, J. S. *Tetrahedron* **1994**, *50*, 11427-11440.

y el 3-iodobenzaldehído. La mezcla de **17** y dicho aldehído en medio ácido, seguida de la oxidación con DDQ, condujo a la obtención de **18** en un 8% de rendimiento. Finalmente, el compuesto **18** se metaló por tratamiento con acetato de zinc en una mezcla 1:3 de metanol/diclorometano, dando lugar a la porfirina **19**.



Esquema 3.5. Síntesis de la porfirina de zinc **19**.



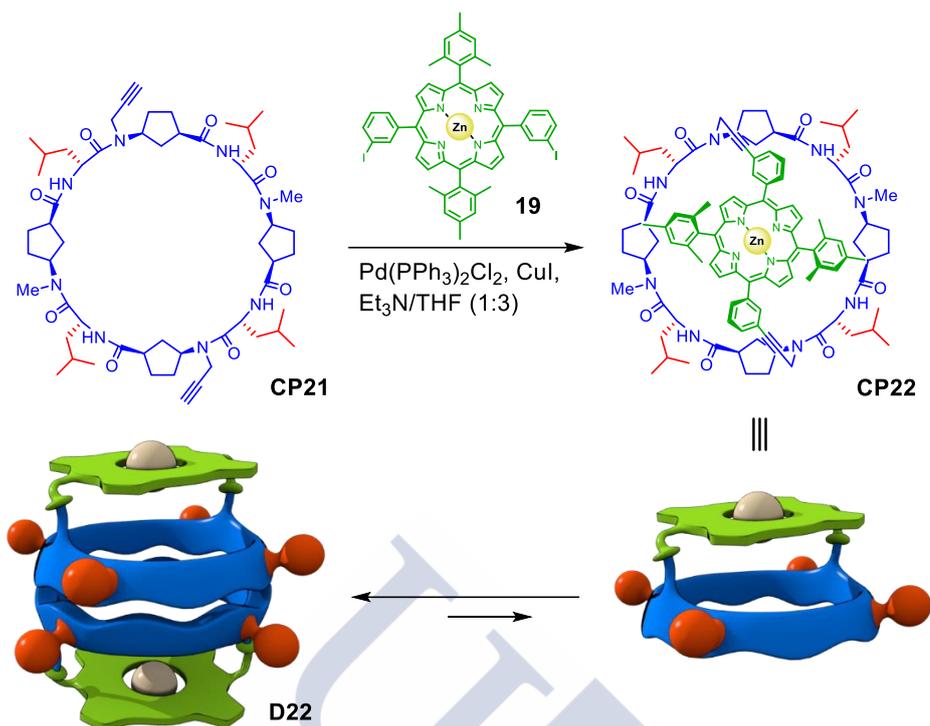
Esquema 3.6. Ruta sintética para la preparación de **CP21**.

<sup>275</sup> Halime, Z.; Lachkar, M.; Matsouki, N.; Charalambidis, G.; di Vaira, M.; Coutsolelos, A. G.; Boitrel, B. *Tetrahedron* **2006**, *62*, 3056-3064.

Para la obtención del **CP21** partimos del dipéptido **dp10**, descrito en el capítulo 2. El dipéptido *N*-metilado **dp19** se preparó siguiendo una estrategia similar. En este caso el aminoácido *N*-metilado **4** (capítulo 1), se esterificó mediante tratamiento con EDC.HCl, HOBT y DMAP en MeOH para formar **20**. El extremo amino del  $\gamma$ -aminoácido *N*-metilado **20**, se desprotegió mediante tratamiento con TFA en diclorometano. El producto resultante se acopló con Boc-*D*-Leu-OH usando *N*-HATU como agente de acoplamiento en presencia de diisopropiletilamina (DIEA), para dar lugar al **dp19** en un 92% de rendimiento.

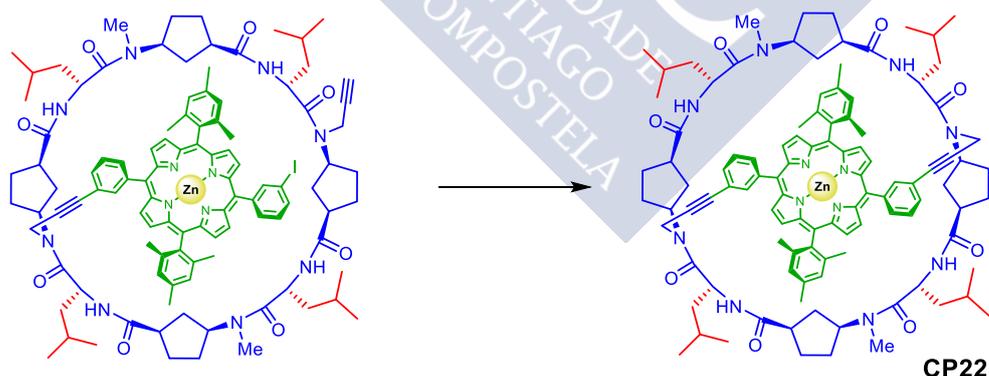
El tetrapéptido se preparó por acoplamiento de ambos dipéptidos tras la desprotección de los grupos funcionales correspondientes; de forma que el extremo carboxílico de **dp19** se desprotegió con hidróxido de litio, mientras que el grupo Boc del **dp10** se eliminó mediante tratamiento con TFA en diclorometano. A continuación, los péptidos resultantes **dp20** y **dp11** se acoplaron usando *N*-HBTU como agente activante para dar lugar al **tp16** en excelente rendimiento. Posteriormente, el producto resultante se dividió en dos porciones, una de ellas se trató con hidróxido de litio, mientras que la segunda se desprotegió con TFA para obtener los tetrapéptidos **tp17** y **tp18**, respectivamente. Una vez más, ambos péptidos se acoplaron bajo condiciones similares a las descritas anteriormente para formar el octapéptido lineal **op4**. Finalmente, se desprotegieron los extremos C- y *N*-terminal del **op4** y el péptido resultante se cicló en condiciones de alta dilución, usando *N*-TBTU como agente de acoplamiento, para dar lugar al ciclopéptido **CP21** en un 60% de rendimiento.

La última etapa consistió en la unión de la porfirina de zinc **19** con el ciclopéptido **CP21**, que se llevó a cabo en condiciones de alta dilución mediante una reacción de Sonogashira (Esquema 3.7). El acoplamiento se siguió por espectroscopía de masas, tomando alícuotas de la disolución cada cierto tiempo, y por cromatografía en capa fina. En las primeras horas de reacción se observó un pico con la masa correspondiente al producto monoacoplado, junto a los picos de la porfirina **19** y **CP21**. Los tiempos prolongados de reacción llevaban a la formación de un precipitado. El análisis del sobrenadante mostró la desaparición de la especie resultante del primer acoplamiento; sin embargo, nunca se observó la formación de la hemicápsula. En capa fina, al cabo de 12 horas, detectamos la presencia de una serie de compuestos de  $R_f$  similar. Estos datos no hicieron pensar que, en estas condiciones, tiene lugar un acoplamiento intermolecular que conduce a la obtención de estructuras poliméricas. El  $^1\text{H}$ -RMN de los productos de la mezcla aislados apoyó estas sospechas, ya que los espectros mostraron agrupaciones de señales poco definidas. Cuando la unión entre ambos componentes se intentó llevar a cabo en condiciones más diluidas, para minimizar el acoplamiento intermolecular, o con la porfirina desmetalada, para evitar las posibles interacciones del zinc en el proceso, se obtuvieron resultados similares.



Esquema 3.7. Preparación del *host* a partir de sus componentes (CP21 y porfirina 19).

A la vista de estos resultados, sospechamos de la existencia de un error en el diseño que impide la formación del producto deseado; ya que una vez formado el primer enlace, el segundo acoplamiento debería ser rápido debido a la predisposición y proximidad de los grupos reactivos (Esquema 3.8). Por este motivo, decidimos cambiar la longitud del espaciador y la naturaleza de los grupos reactivos para facilitar la unión del elemento de cierre a la estructura peptídica.



Esquema 3.8. Formación de CP22 a partir del producto monoacoplado. La proximidad de los grupos reactivos (yoduro y alquino) facilitarían la formación del enlace C-C; por lo que el segundo acoplamiento debería ser más rápido que el primero.

### 3.5. Aproximación combinatoria dinámica

A lo largo del proceso de puesta a punto de una metodología sintética para la obtención de cápsulas moleculares basadas en  $\alpha,\gamma$ -ciclooctapéptidos, hemos comprobado;

por una parte, que los intentos de incorporación de las tapas de forma covalente mediante reacciones de acoplamiento cruzado carbono-carbono resultaron poco eficientes. Por otro lado, las aproximaciones basadas en la incorporación de ligandos heterocíclicos derivados de piridina (terpiridina, bipyridina) para la coordinación con metales de geometría octaédrica, no nos permitieron llegar a una cantidad de producto suficiente para llevar a cabo los estudios de encapsulación debido a problemas en la síntesis y la purificación del CP.

Estas observaciones hicieron que nos planteásemos una nueva estrategia sintética que simplificase los procesos de obtención y purificación de la estructura final. Con este objetivo, decidimos cambiar el tipo de enlace para la unión entre la tapa y el ciclopéptido, de forma que cumpliera ciertos requerimientos. En primer lugar, buscábamos una unión lo suficientemente estable para poder manipular y estudiar el comportamiento de la cápsula frente a los ligandos correspondientes. Por otra parte, el acoplamiento entre ambos elementos debería producirse preferiblemente en una sola etapa para evitar las pérdidas de compuesto que conllevan los procesos multietapa. Y finalmente, la reacción debía ser lo más limpia e implicar el menor número de reactivos posible para minimizar las reacciones laterales y facilitar la purificación del producto final.

Aunque las condiciones impuestas son muy restrictivas, gracias al desarrollo de la química combinatoria dinámica<sup>276,277</sup> se han descrito algunos tipos de enlace que reúnen estas características. En primer lugar pensamos en la formación de iminas mediante la introducción de aldehídos y aminas en la estructura dimérica y en la tapa molecular, respectivamente. Esto cumple algunos de los requisitos, ya que se trata de procesos limpios y en una sola etapa, en las cuales la amina y el aldehído reaccionan en condiciones de catálisis ácida para dar lugar al producto de condensación con el desprendimiento de una molécula de agua. Al tratarse de una reacción en equilibrio, la eliminación del agua formada (azeotrópicamente o mediante un agente desecante) favorecería la formación de la imina. Además este tipo de enlace, aunque covalente, es lo suficientemente lábil para que el proceso pueda ser revertido, lo que nos ofrecería la posibilidad de controlar el proceso de liberación del huésped mediante la hidrólisis de la unión entre el péptido y la tapa. Aunque esto supone una gran ventaja en cuanto al control del proceso, dicho enlace resulta bastante inestable y se hidroliza fácilmente en presencia de agua.<sup>277</sup> Por tanto, dificultaría la manipulación del sistema durante los estudios de encapsulación. Por este motivo decidimos utilizar enlaces más estables termodinámicamente pero que, al mismo tiempo, conservasen la propiedad de ser reversibles. Teniendo en cuenta todos estos factores, las hidrazonas y las oximas suponen unos excelentes candidatos para llevar a cabo la síntesis del receptor. Aunque ambos tipos de enlace tienen características similares, finalmente nos decantamos por las hidrazonas ya que son estables termodinámicamente y más resistentes frente a la

---

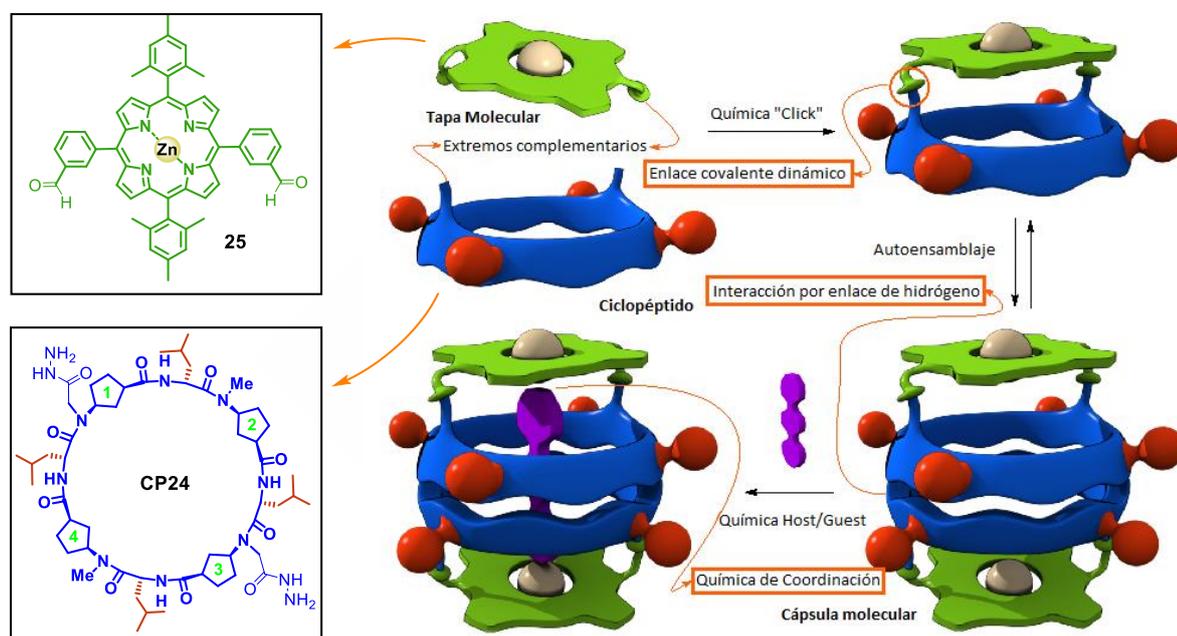
<sup>276</sup> Nguyen, R.; Huc, I. *Chem. Commun.* **2003**, 8, 942-943.

<sup>277</sup> Corbett, P. T.; Leclaire, J.; Vial, L.; West, K. R.; Wietor, J.-L.; Sanders, J. K. M.; Otto, S. *Chem. Rev.* **2006**, 106, 3652-3711.

hidrólisis que las iminas; pero más lábiles que las oximas, que dificultarían la posterior apertura de la cápsula a través de las tapas.

### 3.6. Diseño

El sistema que nos propusimos sintetizar y estudiar consistió en una estructura, análoga a la descrita en el apartado anterior, en la que se combinan distintos tipos de interacciones para la preparación, ensamblaje y reconocimiento, lo que le confiere propiedades que permiten regular de manera sencilla las distintas fases del proceso (Esquema 3.9).



**Esquema 3.9.** Modelo de la estrategia sintética propuesta para la obtención de una cápsula molecular basada en un dímero  $\alpha,\gamma$ -ciclooctapeptídico cerrado por dos metaloporfirinas, en el cual se destacan los tipos de interacciones que intervienen a lo largo del proceso.

Para formar el esqueleto peptídico decidimos emplear, una vez más, una combinación de un  $\alpha$ -aminoácido que contiene una cadena lateral hidrofóbica (leucina) y un aminoácido no natural  $N$ -alquilados derivado del ácido 3-aminociclopentanocarboxílico ( $\gamma$ -Acp), por las razones esgrimidas en los capítulos anteriores (incremento del valor de la constante de asociación y posibilidad de modificar las propiedades de la cavidad interna mediante la funcionalización de los metilenos en posición  $\beta$ ).<sup>197,198,199</sup> Como elemento de cierre se volvió a considerar el uso de metaloporfirinas debido a que, como se ha mencionado en el apartado anterior, presentan propiedades de simetría ( $C_4/C_2$ ) que permite

<sup>197</sup> Rodríguez-Vázquez, N.; Salzinger, S.; Silva, L. F.; Amorín, M.; Granja, J. R. *Eur. J. Org. Chem.* **2013**, 3477-3493.

<sup>198</sup> Reiriz, C.; Amorín, M.; García-Fandiño, R.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Org. Biomol. Chem.* **2009**, 7, 4358-4361.

<sup>199</sup> (a) Rodríguez-Vázquez, N.; Amorín, M.; Alfonso, I.; Granja, J. R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, 55, 4504-4508; (b) Rodríguez-Vázquez, N.; García-Fandiño, R.; Amorín, M.; Granja, J. R. *Chem. Sci.* **2016**, 7, 183-187.

una complementariedad adecuada con los ciclooctapéptidos<sup>212,213,272</sup> y, además, el centro metálico permite dirigir la encapsulación de los ligandos hacia el interior de la cavidad.

La unión entre ambos componentes se llevó a cabo a través de un par de enlaces hidrazona, con lo que se obtiene una unión que se puede revertir para recuperar ambos elementos (tapa y ciclopéptido) por separado. Dicha unión se llevó a cabo a través de la posición *meta* del anillo para reducir las tensiones estéricas y facilitar el acoplamiento entre la porfirina y el ciclopéptido. La porfirina se seleccionó como elemento portador de los grupos aldehído, mientras que el CP se funcionalizó con dos grupos hidrazida anclados a los Acp 1 y 3. Por otra parte, como en los casos anteriores, los Acp 2 y 4 se *N*-metilaron para impedir el plegamiento del CP.<sup>199</sup>

### 3.7. Síntesis

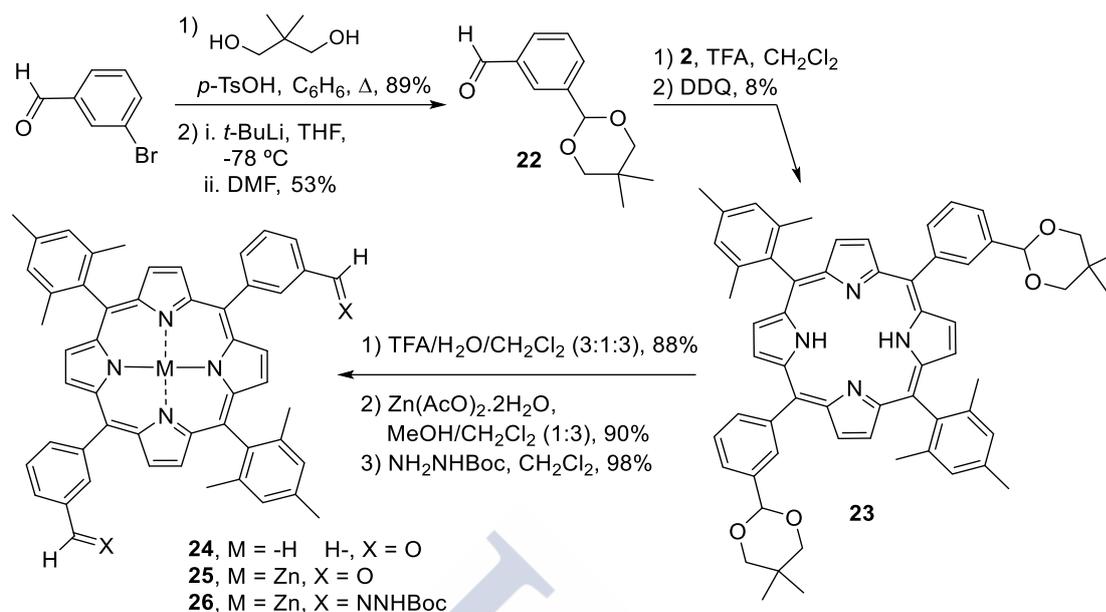
Partiendo de estas premisas se propuso la síntesis para el ciclopéptido **CP24** y la porfirina **25** (Esquemas 3.10 y 3.11). La porfirina **25** se preparó a partir del 3-bromobenzaldehído, que se protegió con 2,2-dimetilpropan-1,3-diol en presencia de ácido *para*-toluensulfónico en benceno a reflujo. A continuación, el aldehído protegido se trató con *tert*-butil litio a -78 °C y el carbanión resultante se atrapó con DMF seca, dando lugar al compuesto **22**. La condensación entre el 5-dipirrometano **17** y el *meta*-formil benzaldehído protegido **22** en presencia de ácido trifluoroacético (TFA), seguida de la oxidación con DDQ condujo a la obtención de la porfirina **23** en un 8% de rendimiento.<sup>274</sup> Posteriormente, los grupos protectores acetal se eliminaron mediante el tratamiento de **23** con TFA en una mezcla 1:3 de agua/diclorometano para dar lugar a **24**. Finalmente, la porfirina **24** se metaló por tratamiento con acetato de zinc en una mezcla 1:3 de metanol/diclorometano, dando lugar al compuesto **25**.

<sup>212</sup> Aragay, G.; Ventura, B.; Guerra, A.; Pintre, I.; Chiorboli, C.; García-Fandiño, R.; Flamigni, L.; Granja, J. R.; Ballester, P. *Chem. Eur. J.* **2014**, *20*, 3427-3438.

<sup>213</sup> Hernández-Eguía, L. P.; Brea, R. J.; Castedo, L.; Ballester, P.; Granja, J. R. *Chem. Eur. J.* **2011**, *17*, 1220-1229.

<sup>272</sup> (a) Shi, Y. H.; Sánchez-Molina, I.; Cao, C. S.; Cook, T. R.; Stang, P. J. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2014**, *111*, 9390-9395; (b) D'Urso, A.; Fragala, M. E.; Purrello, R. *Chem. Commun.* **2013**, *49*, 4441-4443; (c) Boccalon, M.; Iengo, E.; Tecilla, P. *Org. Biomol. Chem.* **2013**, *11*, 4056-4067; (d) Samanta, S. K.; Schmitt, M. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 18794-18797; (e) Otte, M.; Kuijpers, P. F.; Troeppner, O.; Ivanovic-Burmazovic, I.; Reek, J. N. H.; de Bruin, B. *Chem. Eur. J.* **2013**, *19*, 10170-10178; (f) Meng, W.; Breiner, B.; Rissanen, K.; Thoburn, J. D.; Clegg, J. K.; Nitschke, J. R. *Angew. Chem.* **2011**, *123*, 3541-3545; (g) Hoffmann, M.; Kärnbratt, J.; Chang, M.-H.; Herz, L. M.; Albinsson, B.; Anderson, H. L. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 4993-4996.

<sup>274</sup> (a) Littler, B. J.; Ciringh, Y.; Lindsey, J. S. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 2864-2872; (b) Lee, C. H.; Lindsey, J. S. *Tetrahedron* **1994**, *50*, 11427-11440.



Esquema 3.10. Síntesis de las porfirinas de zinc **25** y **26**.

La preparación del **CP24** se llevó a cabo en disolución, utilizando estrategias de formación de enlace péptico desarrolladas en nuestro grupo de investigación.<sup>163,178,179,180,181,182</sup> Con respecto a los grupos funcionales, se escogieron de forma que fueran ortogonales y resistiesen las condiciones de reacción a lo largo de todo el procedimiento sintético. De esta forma, la elección del carbamato bencílico para proteger los grupos amino y la protección de los grupos carboxílicos como éster metílico permitió utilizar grupos *tert*-butilo (éster y carbamato) para proteger los grupos funcionales del espaciador, evitando las posibles complicaciones durante la desprotección de los ácidos carboxílicos bajo condiciones básicas.<sup>278</sup>

Teniendo en cuenta estas consideraciones, se sintetizó el **CP24** a partir de los  $\gamma$ -aminoácidos **7** y **20**, descritos previamente en la presente tesis doctoral (Esquema 3.11). En primer lugar se procedió a la *N*-alquilación del nosilato **7** mediante el procedimiento de Fukuyama,<sup>258</sup> para dar lugar al compuesto **27** en un 95% de rendimiento. A continuación, el grupo nosilo se eliminó por tratamiento con tiofenol en presencia de carbonato potásico y, el producto resultante, se acopló con *D*-Leu, protegida como carbamato bencílico, usando *N*-HATU como agente de acoplamiento en presencia de diisopropiletilamina (DIEA).<sup>250</sup> Bajo

<sup>163</sup> Amorín, M.; Castedo, L.; Granja, J. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 2844-2845.

<sup>178</sup> Brea, R. J.; Amorín, M.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 5710-5713.

<sup>179</sup> Amorín, M.; Brea, R. J.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 4681-4684.

<sup>180</sup> Amorín, M.; Brea, R. J.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Heterocycles* **2006**, *67*, 575-583.

<sup>181</sup> Amorín, M.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Chem. Eur. J.* **2005**, *11*, 6543-6551.

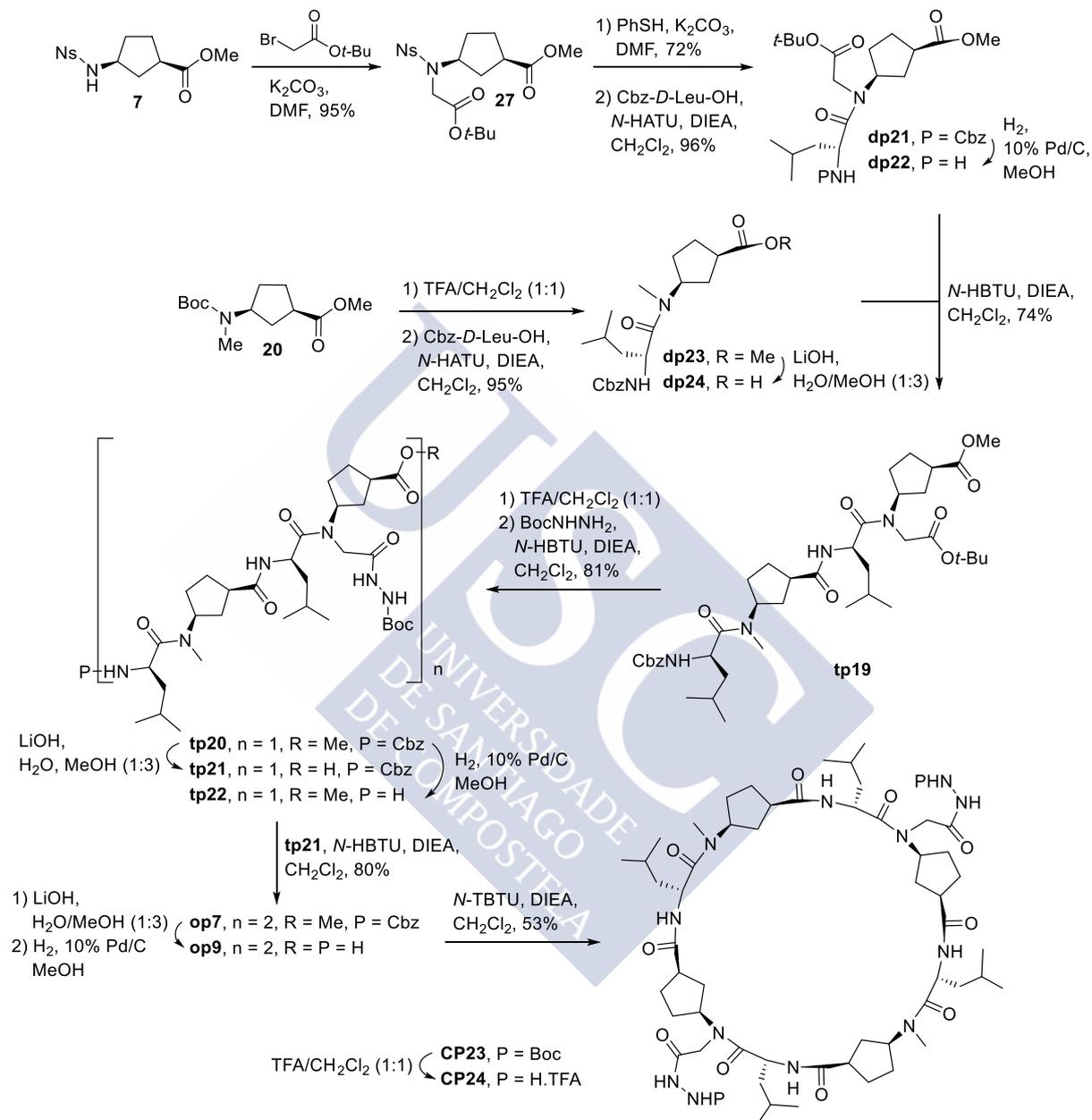
<sup>182</sup> Brea, R. J.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Chem. Commun.* **2007**, 3267-3269.

<sup>278</sup> Isidro-Llobet, A.; Álvarez, M.; Albericio, F. *Chem. Rev.* **2009**, *109*, 2455-2504.

<sup>258</sup> (a) Fukuyama, T.; Cheung, M.; Jow, C. K.; Hidai, Y.; Kan, T. *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 5831-5834; (b) Fukuyama, T.; Jow, C. K.; Cheung, M. *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 6373-6374.

<sup>250</sup> El-Faham, A.; Albericio, F. *Chem. Rev.* **2011**, *111*, 6557-6602.

estas condiciones se obtuvo el dipéptido **dp21** en excelente rendimiento. Por otra parte, para la preparación del **dp23** se partió del  $\gamma$ -aminoácido *N*-metilado **20**, el cual se desprotegió con TFA y posteriormente se acopló con Cbz-*D*-Leu-OH, dando lugar al dipéptido deseado en muy buen rendimiento.

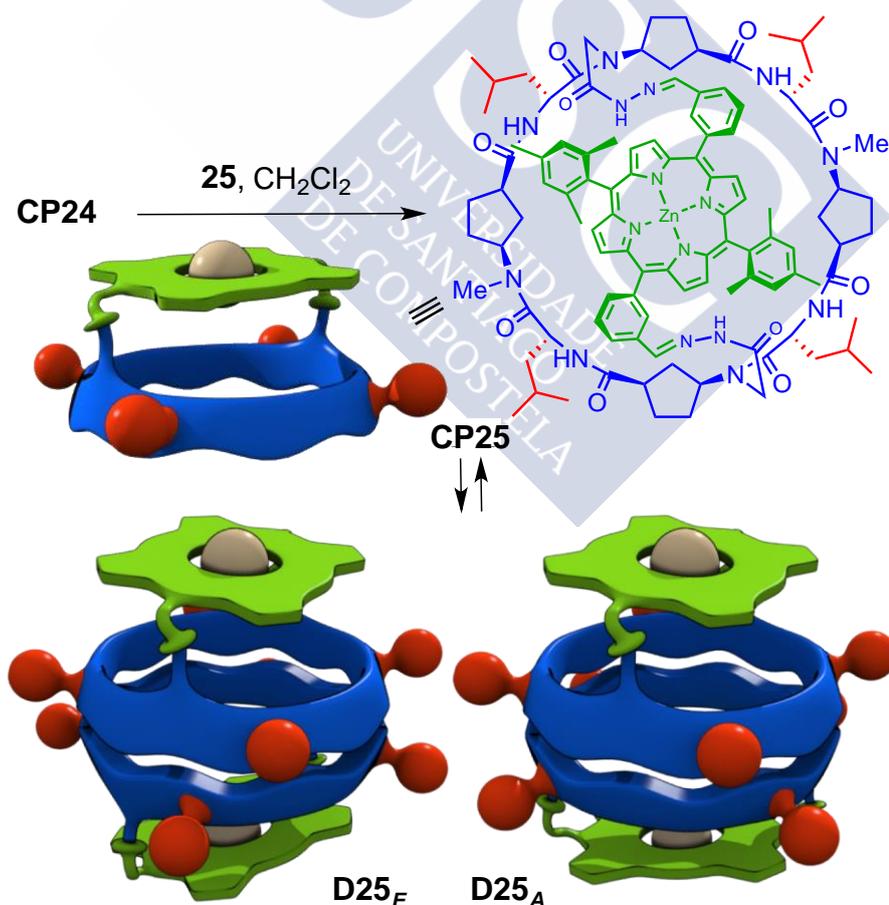


Esquema 3.11. Ruta sintética para la preparación de CP1.

El tetrapéptido se preparó por acoplamiento de ambos dipéptidos previa desprotección de los grupos funcionales correspondientes. De esta forma el **dp23** se trató con hidróxido de litio para dar **dp24**, mientras que el Cbz de **dp21** se eliminó mediante hidrogenólisis catalizada por paladio para generar **dp22**. A continuación, los péptidos **dp24** y **dp22** se acoplaron usando *N*-HBTU como agente de acoplamiento para dar lugar a **tp19** en un 74% de rendimiento. En esta etapa decidimos incorporar el grupo hidracina. Para ello, el

tetrapéptido se trató con una mezcla 1:1 de TFA en diclorometano durante 15 minutos y, la sal de TFA resultante, se hizo reaccionar con hidracina protegida con Boc en presencia de *N*-HBTU y DIEA para dar, al cabo de 3 horas, el tetrapéptido **tp20** en un 81% de rendimiento. El producto resultante se dividió en dos porciones; una se trató con hidróxido de litio para generar **tp21**, mientras que la segunda se hidrogenó para obtener el tetrapéptidos **tp22**. Una vez más, ambos péptidos se acoplaron bajo condiciones similares a las descritas anteriormente para formar el octapéptido lineal **op7**. Tras la desprotección de los extremos C- y N-terminal, el péptido resultante se cicló en condiciones de alta dilución, usando *N*-TBTU como agente de acoplamiento. De esta forma, se obtuvo el ciclopéptido protegido **CP23**. Finalmente, el grupo Boc de las hidracinas se eliminó mediante el tratamiento del **CP23** con una mezcla 1:1 de TFA en diclorometano para dar lugar al ciclopéptido deseado **CP24**.

La última etapa consistió en la condensación de la porfirina de zinc **25** con el ciclopéptido **CP24**, que se llevó a cabo por reacción de ambos componentes durante toda la noche en condiciones de alta dilución (Esquema 3.12). La hemicápsula resultante se obtuvo en un 62% de rendimiento sin pérdida del ión metálico, tal y como reflejaron los espectros de  $^1\text{H}$ -RMN y masas.

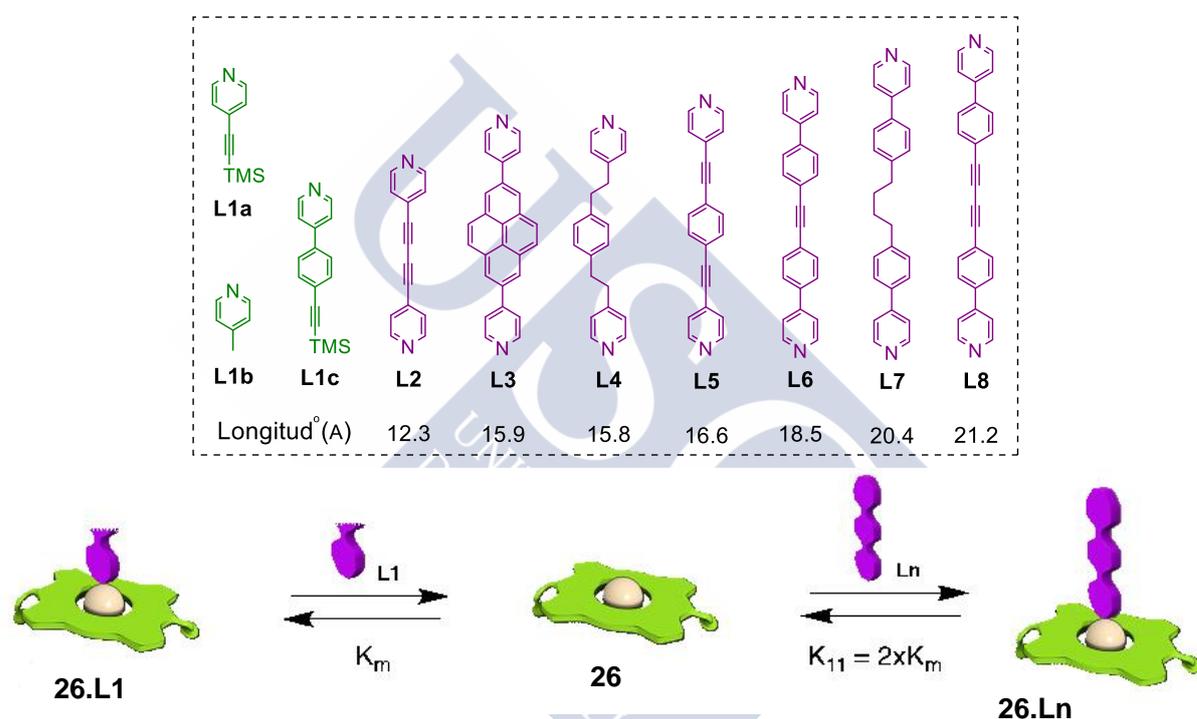


**Esquema 3.12.** Preparación del híbrido péptido-porfirina (**CP25**) a partir de sus componentes (**CP24** y porfirina **25**) y equilibrio de dimerización.

### 3.8. Estudios de encapsulación

#### 3.8.1. Síntesis de ligandos

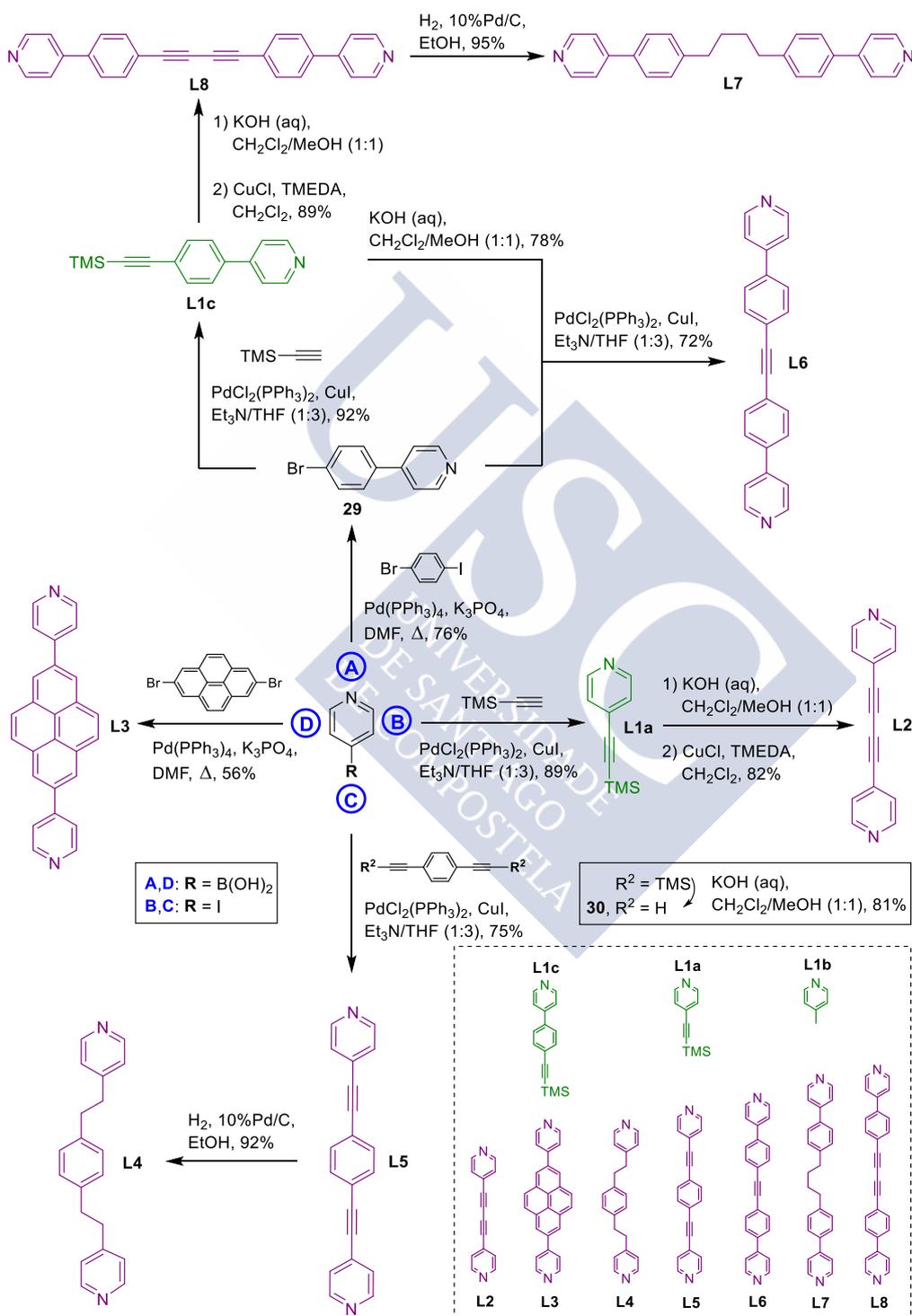
Para llevar a cabo los estudios de encapsulación se diseñaron una serie de ligandos 4,4'-bipiridina que se diferencian entre sí por la longitud y propiedades del conector (Esquema 3.13). Dicha longitud varía en un rango de 12.3 a 21.2 Å, considerando la distancia de nitrógeno a nitrógeno de los grupos piridina, lo que permitiría estimar el tamaño de la cápsula. Los ligandos monodentados **L1a-c** se emplearon como modelo para calcular la afinidad de las distintas piridinas con las porfirinas de zinc. De esta forma deberíamos ser capaces de determinar la contribución de la cooperatividad, resultante de la coordinación de ambas porfirinas con los ligandos bidentados, en el proceso de encapsulación.



Esquema 3.13. Ligandos ( $L_n$ ) usados en los estudios de encapsulación con **D25** y procesos de equilibrio con la porfirina modelo **26**.

En el Esquema 3.14 se ilustran las rutas sintéticas usadas para la preparación de los ligandos. La piridina **L1a** se sintetizó a partir de la 4-yodopiridina y el trimetilsililacetileno mediante una reacción de acoplamiento cruzado de Sonogashira. El ligando **L1b** es comercial y se usó sin ningún tratamiento adicional. Para la preparación de **L1c**, en primer lugar se sintetizó el intermedio **29** mediante una reacción de Suzuki entre el ácido 4-piridinilborónico y el 1-bromo-4-yodobenceno y, a continuación, se acopló el trimetilsililacetileno bajo condiciones de Sonogashira. La síntesis de los ligandos bidentados **L2** y **L8** se llevó a cabo a partir de las piridinas **L1a** y **L1c** respectivamente, que se desililaron con hidróxido potásico en una mezcla diclorometano/metanol (1:1) y, posteriormente, se trataron en condiciones de acoplamiento acetilénico de Hay. Por otra parte, el 1,4-bis[(trimetilsilil)etinil]benceno (**30**) y **L1c** se trataron con hidróxido potásico para eliminar el TMS y se acoplaron con la 4-

yodopiridina y la fenilpiridina **29**, respectivamente, bajo condiciones de Sonogashira. De esta forma, se obtuvieron los ligandos **L5** y **L6** en buenos rendimientos. **L3** se preparó mediante un acoplamiento de Suzuki entre la 4-yodopiridina y el 2,7-dibromopireno. Finalmente, los ligandos **L4** y **L7** se obtuvieron a partir **L5** y **L8**, mediante hidrogenación catalizada por paladio.



**Esquema 3.14.** Ruta sintética para la preparación de los ligandos monodentados **L1a-L1c** (en verde) y los ligandos bidentados **L2-L8** (en violeta).

### 3.8.2. Estudios de UV-vis

La coordinación de los ligandos se estudió en primer lugar por espectroscopía UV-visible. Las medidas se llevaron a cabo a una concentración de receptor constante mientras que la del ligando se incrementó a lo largo de la valoración. Los receptores de tipo pinza basados en bisporfirinas metaladas con zinc experimentan un desplazamiento hacia el rojo de 5 nm durante la formación del complejo sándwich con ligandos bidentados como el DABCO.<sup>279</sup> Este desplazamiento de 5 nm se debe a la existencia de un acoplamiento excitónico entre los cromóforos de la porfirina de zinc dispuestos cofacialmente. Por otra parte, los resultados previos de los sistemas de tipo pinza supramoleculares, formados por dimerización de híbridos de ciclopeptido-porfirina, mostraron que dicho acoplamiento excitónico ya estaba presente en el propio receptor. En estos casos el máximo de absorción de la banda Soret aparecía a 427 nm antes de la adición del ligando; por tanto, la formación del complejo sándwich con DABCO únicamente se manifestó por un incremento en la intensidad de dicha banda, cuyo desplazamiento permanecía virtualmente inalterado.<sup>212,213</sup> En el caso de la cápsula, el mencionado acoplamiento excitónico entre los grupos cromóforos de la porfirina no se observó en ningún caso, ni en el receptor vacío, ni durante la formación del complejo sándwich.<sup>280</sup> Probablemente esto se debe a la larga distancia entre las dos porfirinas del receptor **D25**. Por lo tanto, la interacción entre la cápsula y los ligandos sólo se pudo seguir por la aparición de la banda Soret de absorción característica a 431 nm resultante de la coordinación axial de las piridinas con la porfirina metalada (Figura 3.1).

Inicialmente decidimos estudiar la afinidad de ciertos ligandos por la porfirina modelo **26** (Esquema 3.13), que se obtuvo a partir de **25** por tratamiento con hidracina protegida con Boc (Esquema 3.10). Los valores para la constante de asociación, que se recogen en la Tabla 3.1, se obtuvieron usando el programa DynaFit Biochem<sup>281,282</sup> considerando un modelo de coordinación estequiométrico entre la porfirina **26** y el ligando.

---

<sup>279</sup> (a) 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; (b) Brettar, J.; Gisselbrecht, J. P.; Gross, M.; Solladie, N. *Chem. Commun.* **2001**, 733-734; (c) Rein, R.; Gross, M.; Solladie, N. *Chem. Commun.* **2004**, 1992-1993; (d) Anderson, H. L.; Hunter, C. A.; Meah, M. N.; Sanders, J. K. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 5780-5789.

<sup>212</sup> Aragay, G.; Ventura, B.; Guerra, A.; Pintre, I.; Chiorboli, C.; García-Fandiño, R.; Flamigni, L.; Granja, J. R.; Ballester, P. *Chem. Eur. J.* **2014**, *20*, 3427-3438.

<sup>213</sup> Hernández-Eguía, L. P.; Brea, R. J.; Castedo, L.; Ballester, P.; Granja, J. R. *Chem. Eur. J.* **2011**, *17*, 1220-1229.

<sup>280</sup> Hunter, C. A.; Sanders, J. K.; Stone, A. J. *Chem. Phys.* **1989**, *133*, 395-404.

<sup>281</sup> DynaFit, version 4.07, BioKin Ltd.

<sup>282</sup> (a) Kuzmič, P. *Anal. Biochem.* **1996**, *237*, 260-273; (b) Kuzmič, P. *Methods Enzymol.* **2009**, *467*, 247-280.

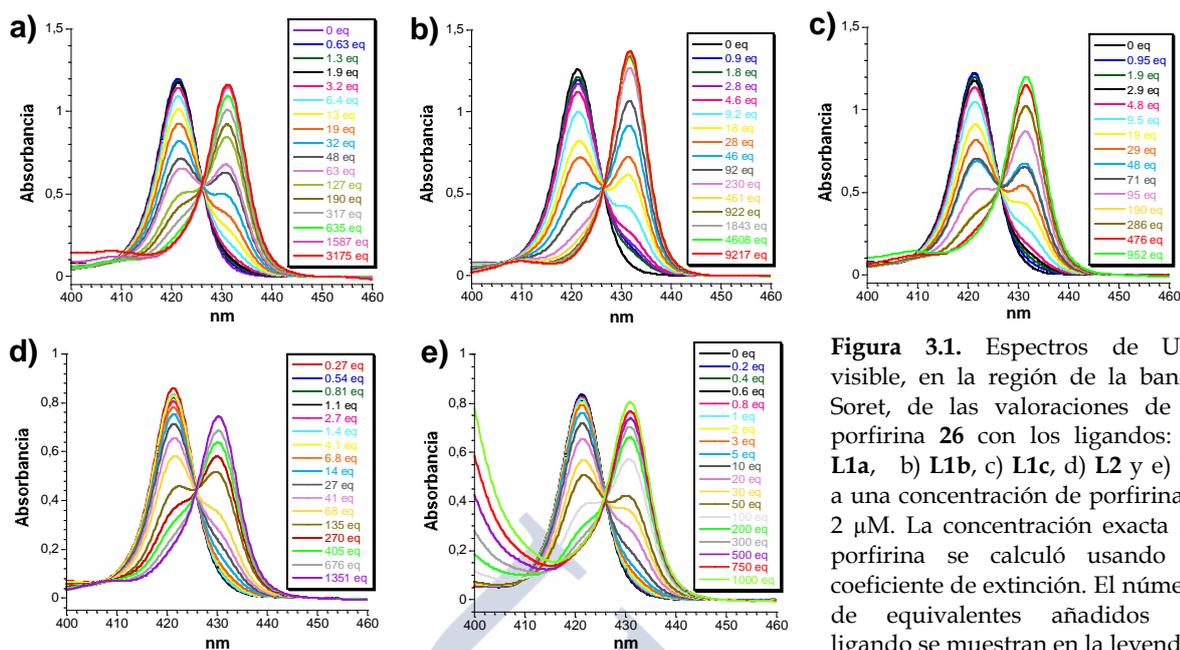


Figura 3.1. Espectros de UV-visible, en la región de la banda Soret, de las valoraciones de la porfirina **26** con los ligandos: a) **L1a**, b) **L1b**, c) **L1c**, d) **L2** y e) **L5** a una concentración de porfirina  $\sim 2 \mu\text{M}$ . La concentración exacta de porfirina se calculó usando el coeficiente de extinción. El número de equivalentes añadidos de ligando se muestran en la leyenda.

Las constantes de asociación para los ligandos **L1a-c** y **L2** con **26** resultaron consistentes con resultados preliminares recogidos en la bibliografía.<sup>283</sup> Las diferencias observadas entre los ligandos **L1** se deben, tal y como habíamos previsto, a los efectos electrónicos; de modo que los ligandos ricos en electrones como la picolina (**L1b**) presentan valores más altos para la constante de asociación. El valor de la constante de asociación con la porfirina modelo **26** para **L2** no casa con la idea de que, dado que el ligando bidentado presenta dos lugares de coordinación, a igual concentración con respecto a su análogo monodentado ( $[\text{L2}] = [\text{L1a}]$ ), la constante de asociación debería ser el doble de la obtenida para **L1a**. Este hecho sugiere que la conjugación de los grupos acetileno reduce la afinidad de la piridina por los complejos Zn-porfirina.

Los estudios de UV-visible con la cápsula **D25** proporcionaron resultados similares para los ligandos monodentados (Figura 3.2) a los obtenidos con la porfirina **26**, aunque los valores de la constante de asociación fueron un orden de magnitud más bajos, indicando que la cápsula presenta algún tipo de impedimento a la hora de coordinar los ligandos. El valor de la constante de asociación para el ligando bidentado más corto de la serie (**L2**) resultó muy similar al obtenido para **L1a**, sugiriendo que dicho ligando es demasiado corto para coordinarse simultáneamente a ambas porfirinas una vez internalizado en el receptor **D25**. Por tanto, previsiblemente dicha coordinación tiene lugar principalmente por la cara externa. De hecho, si consideramos que el ligando **L2** interactúa con el dímero de una forma similar a los ligandos **L1a-c** para formar los agregados **D25.2L2** o **L2cD25.L2** (Esquema 3.11) y

<sup>283</sup> (a) Satake, A.; Kobuke, Y. *Tetrahedron* **2005**, *61*, 13-41; (b) Summers, J. S.; Stolzenberg, A. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 10559-10567; (c) Cole, S. J.; Curthoys, G. C.; Magnusson, E. A.; Phillips, J. N. *Inorg. Chem.* **1972**, *11*, 1024-1028.

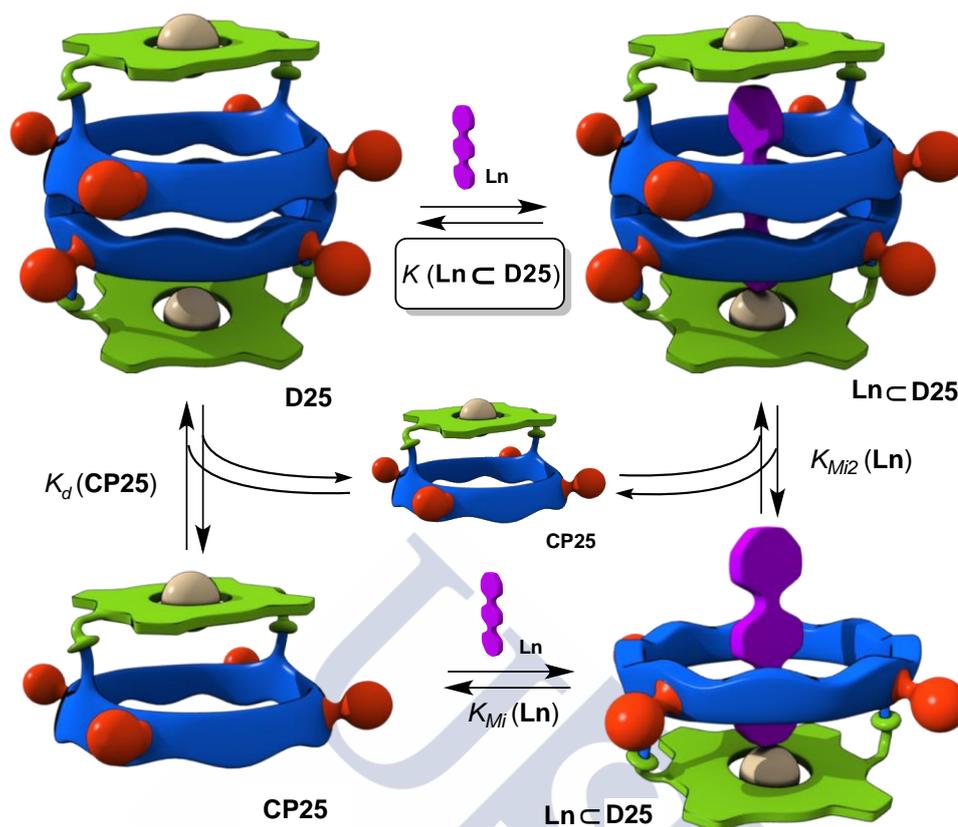
calculamos la constante de asociación utilizando el modelo correspondiente, se obtiene un valor de  $2.4 \times 10^6 \text{ M}^{-2}$  que se aproxima al obtenido para el ligando **L1a** (Tabla 3.1).

**Tabla 3.1.** Resumen de los datos termodinámicos obtenidos para los ligandos estudiados.

Ligando (Ln)	$K_m(\text{Ln})$ ( $\text{M}^{-1}$ ) <sup>a</sup>	$K_D(\text{Ln})$ ( $\text{M}^{-2}$ ) <sup>b</sup>	$K(\text{Ln} \subset \text{D25})$ ( $\text{M}^{-1}$ ) <sup>c</sup>	EM (M)	Longitud (Å)
<b>L1a</b>	$5.9 \times 10^3$	$9.9 \times 10^5$	—	—	—
<b>L1b</b>	$1.7 \times 10^4$	$2.6 \times 10^7$	—	—	—
<b>L1c</b>	$1.1 \times 10^4$	$4.6 \times 10^6$	—	—	—
<b>L2</b>	$5.9 \times 10^3$	$2.4 \times 10^{6d}$	$1.1 \times 10^3$	$2.7 \times 10^{-4}$	12.3
<b>L3</b>	—	—	$1.1 \times 10^5$	$6.0 \times 10^{-3}$	15.9
<b>L4</b>	—	—	$1.2 \times 10^8$	1.1	15.8
<b>L5</b>	$9.2 \times 10^3$	—	$7.6 \times 10^6$	1.9	16.6
<b>L6</b>	—	—	$1.8 \times 10^6$	$9.9 \times 10^{-2}$	18.5
<b>L7</b>	—	—	$6.2 \times 10^5$	$3.4 \times 10^{-2}$	20.4
<b>L8</b>	—	—	$6.2 \times 10^4$	$3.4 \times 10^{-3}$	21.2

<sup>a</sup> Constante de asociación calculada usando la porfirina **26** en un modelo de interacción con el ligando 1:1; <sup>b</sup> Constante de asociación calculada usando un modelo  $\text{D25} + 2 \text{Ln} \rightleftharpoons \text{D25.2Ln}$ ; <sup>c</sup> Constante de asociación calculada usando un modelo  $\text{D25} + \text{Ln} \rightleftharpoons \text{Ln} \subset \text{D25}$ ; <sup>d</sup> La constante de asociación se determinó usando el modelo para ligandos monodentados ( $\text{D25} + 2 \text{L2} \rightleftharpoons \text{D25.2L2}$ ).

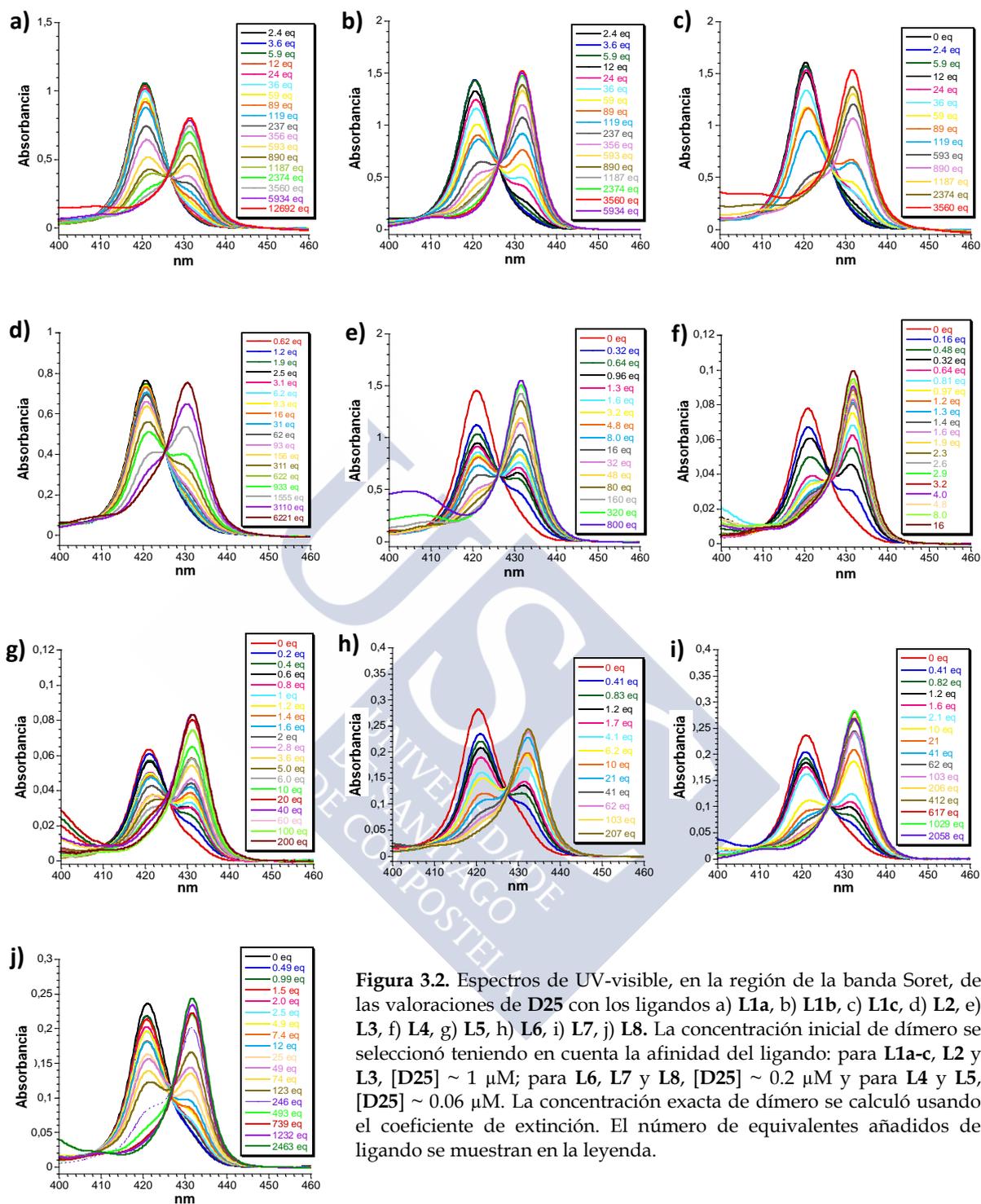
Teniendo en cuenta que la formación del complejo huésped-receptor no se puede producir a través de la interacción directa del dímero **D25** con el ligando bidentado, se propuso un modelo en dos pasos en el cual inicialmente un monómero **CP25** se coordina a una piridina del ligando a través de la cara interna para formar la especie **Ln**⊂**CP25** y, a continuación, una segunda unidad de ciclopeptido interacciona inmediatamente con dicha especie para formar el producto de encapsulación **Ln**⊂**D25** (Esquema 3.15).



**Esquema 3.15.** Equilibrios involucrados en la encapsulación de los ligandos bidentados.

A continuación, pasamos a evaluar ligandos rígidos más largos como **L5** (Esquema 3.6). Para ello comenzamos el estudio con la porfirina **26** a modo de control y observamos que la constante de asociación era muy similar a la obtenida con **L2**. Con respecto a la cápsula **D25** esperábamos obtener unos valores notablemente diferentes teniendo en cuenta la longitud del ligando (16.6 Å). Sin embargo, para nuestra sorpresa, cuando se realizaron las medidas de UV-visible de las muestras preparadas inmediatamente antes de la acumulación del espectro, era necesario añadir unos 500 equivalentes de **L5** para desplazar el equilibrio completamente hacia el complejo resultante de la coordinación axial del ligando a las porfirinas metaladas (431 nm). Dichas muestras se dejaron equilibrando con agitación durante 5 horas y, posteriormente, se repitieron las medidas. Los nuevos datos cambiaron considerablemente y mostraron que la banda Soret de la porfirina se desplazaba totalmente hacia la longitud de onda a 431 nm con la adición de 10 veces menos equivalentes (Figura 3.2g). Esta observación sugiere que la encapsulación es un proceso lento que requiere varias horas para alcanzar el equilibrio.<sup>284</sup> Esto se debe a que la cápsula debe desensamblarse para que el ligando pueda acceder a la cavidad interna de la estructura, formando la especie **Ln ⊂ CP25** (Esquema 3.8).

<sup>284</sup> (a) Hermann, K.; Ruan, Y.; Hardin, A. M.; Hadad, C. M.; Badjic, J. D. *Chem. Soc. Rev.* **2015**, *44*, 500-514; (b) Santamaría, J.; Martín, T.; Hilmerssin, G.; Craig, S. L.; Rebek, J., Jr. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* **1999**, *96*, 8344-8347.



**Figura 3.2.** Espectros de UV-visible, en la región de la banda Soret, de las valoraciones de **D25** con los ligandos a) **L1a**, b) **L1b**, c) **L1c**, d) **L2**, e) **L3**, f) **L4**, g) **L5**, h) **L6**, i) **L7**, j) **L8**. La concentración inicial de dímero se seleccionó teniendo en cuenta la afinidad del ligando: para **L1a-c**, **L2** y **L3**,  $[D25] \sim 1 \mu\text{M}$ ; para **L6**, **L7** y **L8**,  $[D25] \sim 0.2 \mu\text{M}$  y para **L4** y **L5**,  $[D25] \sim 0.06 \mu\text{M}$ . La concentración exacta de dímero se calculó usando el coeficiente de extinción. El número de equivalentes añadidos de ligando se muestran en la leyenda.

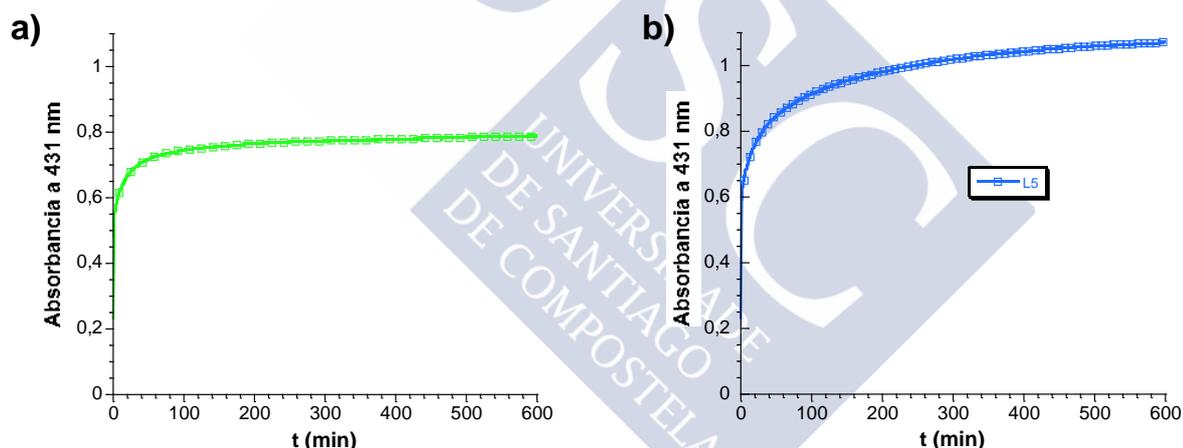
Teniendo en cuenta que la constante de dimerización, estimada en trabajos previos en el grupo, es del orden de  $10^8 \text{ M}^{-1}$ <sup>190</sup> a la concentración de péptido empleada ( $\sim 2 \mu\text{M}$ ), la concentración de monómero reactivo es baja ( $[CP25] \sim 5 \times 10^{-7} \text{ M}$ ) y; por tanto, la especie

<sup>190</sup> Brea, R. J.; Pérez-Alvite, M. J.; Panciera, M.; Mosquera, M.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Chem. Asian J.* **2011**, *6*, 110-121.

mayoritaria es el dímero **D25**, que puede coordinar los ligandos a través de la cara externa de la porfirina para formar los dímeros improductivos **D25.Ln** y/o **D25.2Ln** (Esquema 3.10).

Con respecto al monómero, la interacción con el ligando puede tener lugar tanto por la cara interna como por la externa de la porfirina para generar **CP25.Ln** (Esquema 3.11) o **LnCP25** (Esquema 3.8), respectivamente. Una vez que el cavitando coordina el ligando para formar el complejo **LnCP25**, si dicho ligando tiene el tamaño apropiado, la interacción con una segunda unidad de ciclopeptido debería ser un proceso rápido y favorable que conduce al producto de encapsulación **LnCD25**.

Con el objetivo de verificar la velocidad de formación del complejo de encapsulación, se llevaron a cabo estudios cinéticos en los cuales, sobre una disolución de **D25** a una concentración  $2\ \mu\text{M}$ , se añadieron dos equivalentes de **L5** y se siguió la aparición de la banda a  $431\ \text{nm}$  durante 12 horas (tomando medidas cada 30 segundos). Los resultados de este experimento mostraron que se necesita un tiempo superior a las 5 horas para alcanzar el equilibrio (Figura 3.3a). Un resultado similar se obtuvo cuando el estudio se realizó con el ligando **L3** (Figura 3.3b), confirmando que la velocidad del proceso es independiente de la afinidad del ligando.



**Figura 3.3.** Estudios cinéticos de encapsulación en los cuales se siguió la aparición de la banda a  $431\ \text{nm}$  con el tiempo para los ligandos **L5** (a) y **L3** (b) con la cápsula **D25** a una concentración  $2\ \mu\text{M}$ .

Teniendo en cuenta estas observaciones, las muestras para los estudios de UV-visible se dejaron equilibrar durante 12 horas antes de registrar los espectros. Bajo estas condiciones, **L3** y **L5** presentaron valores para la constante de asociación mucho más elevados en comparación a los obtenidos con los ligandos estudiados previamente (Tabla 3.1). Debido a esto, en las primeras adiciones, el equilibrio se desplazaba mayoritariamente hacia el complejo de inclusión. Por tanto, fue necesario reducir la concentración de dímero para obtener un número suficiente de datos que permitiese obtener la constante de asociación con cierta fiabilidad. Las medidas proporcionaron un valor para dicha constante con **L3** de  $1.1 \times 10^5\ \text{M}^{-1}$ . El ligando **L5**, de mayor tamaño que el anterior, condujo a un resultado superior en dos órdenes de magnitud ( $7.6 \times 10^6\ \text{M}^{-1}$ ). En este último caso, únicamente se necesitaron 50

equivalentes de ligando para desplazar el equilibrio hacia la especie **L5****D25**, cuando las medidas se realizaban a una concentración de dímero casi 20 veces inferior a la empleada en los estudios con **L2**, **L3** y **L1a-c**. Pese a que, como se acaba de mencionar, las medidas se realizaron en condiciones de alta dilución ( $[D25] \sim 0.06 \mu M$ ), prácticamente en el límite de detección, se obtuvo una constante de asociación que está en el límite de la técnica de fluorescencia. Pero, de todos modos, proporciona una buena idea de la excelente complementariedad entre el ligando **L5** y **D25**. Las diferencias observadas entre **L3** y **L5** podrían deberse principalmente a la longitud del ligando, es decir, que la molécula huésped más larga se adecúa mejor a la distancia entre porfirinas del receptor; o a efectos estéricos entre el anillo central de pireno del ligando **L3** con la estructura interna del dímero. Para comprobar cuál de los dos factores era el causante de dicha diferencia, se decidió llevar a cabo el estudio con el ligando **L4**, de un tamaño similar a **L3**, pero menos voluminoso. En esta ocasión, se obtuvo una afinidad por la cápsula ( $1.2 \times 10^8 M^{-1}$ , Tabla 1) incluso mayor que con **L5**. Una vez más, fue necesario trabajar a concentraciones en el límite de detección y no se pudo calcular con precisión el valor de la constante de asociación, debido a que nos encontramos en el límite de la técnica de fluorescencia. Pero, a la vista de los resultados, **L4** parece ser mejor ligando que **L5** y; por tanto, la afinidad de **L3** debe estar más relacionada con el impedimento estérico provocado por pireno central que con la propia longitud del ligando.

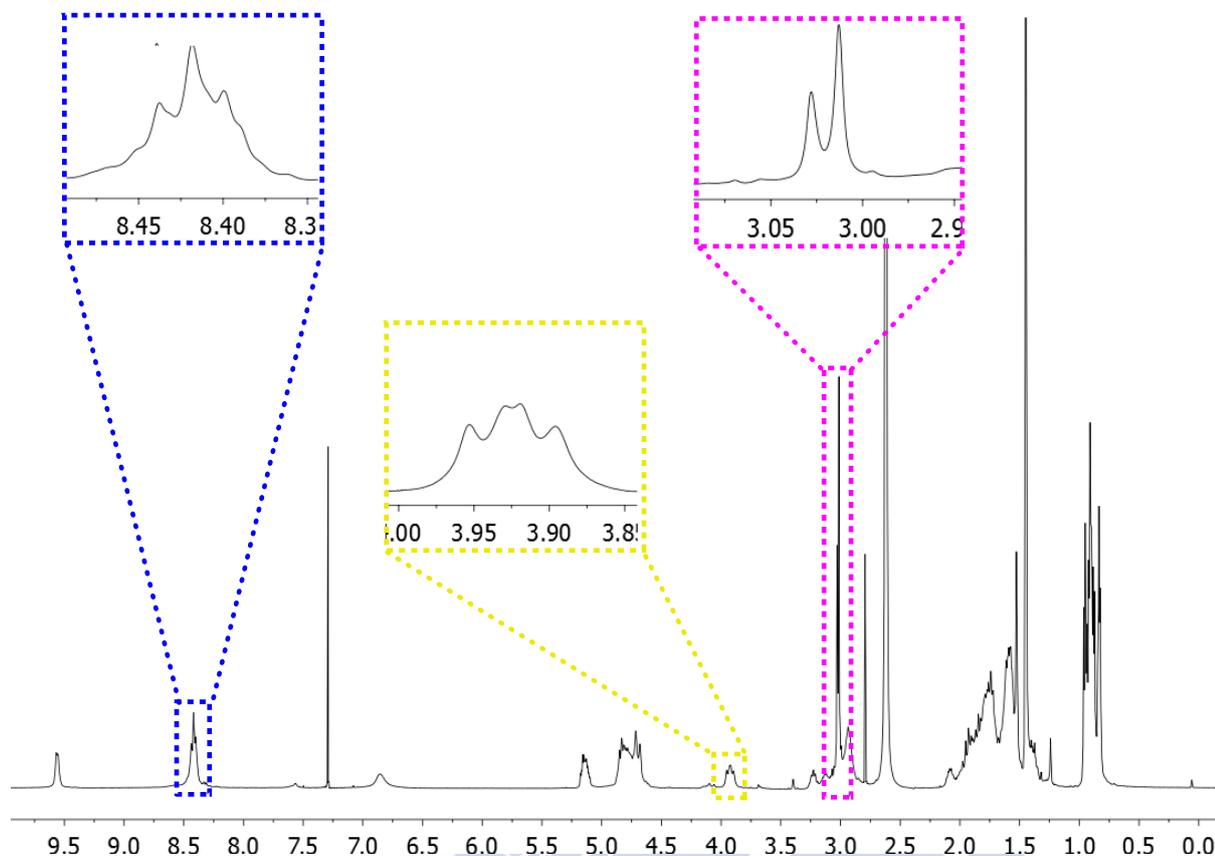
Los ligandos más largos como **L6**, **L7** y **L8** (Esquema 3.6, Figura 3.2) proporcionaron, como era de esperar, valores para la constante de asociación  $[K(LnD25)]$  menores a los obtenidos con **L4** y **L5**. Esto se debe a que el aumento en la longitud del ligando dificulta que la formación del complejo sándwich sea óptima. Un incremento de 2 Å en la longitud de **L6** en comparación con **L5**, conduce a una afinidad por **D25** cinco veces más baja. Todas estas observaciones apuntan a que los mejores ligandos son aquellos cuya longitud esta comprendida entre 15.8 y 16.6 Å y que no presentan elementos estructurales de gran volumen.

### 3.8.3. Estudios de RMN

El proceso de autoensamblaje se estudió por  $^1H$ -RMN. Estudios previos realizados con ciclopéptidos que portaban cadenas laterales funcionalizadas con pireno permitieron estimar la constante de dimerización, que en el caso de los octámeros fue del orden de  $10^8 M^{-1}$ .<sup>190</sup> **CP23**, **CP24** y **CP25**, debido a su simetría  $C_2$ , pueden formar dos dímeros no equivalentes que se diferencian en la posición relativa de los aminoácidos de un ciclopéptido con respecto a otro con el que forma la estructura dimérica. A consecuencia de ello, se obtiene un dímero eclipsado (**D<sub>E</sub>**) y otro alternado (**D<sub>A</sub>**) (Esquema 3.5). Por tanto, si el

<sup>190</sup> Brea, R. J.; Pérez-Alvite, M. J.; Panciera, M.; Mosquera, M.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Chem. Asian J.* **2011**, *6*, 110-121.

equilibrio entre ambos dímeros es lento con respecto a la escala de tiempo de RMN, se pueden observar dos grupos de señales en el espectro de protón (Figura 3.4).<sup>163,171b,181,182</sup>



**Figura 3.4.**  $^1\text{H}$ -RMN de CP23 en  $\text{CDCl}_3$ . Las señales resaltadas correspondientes a los NHs (azul),  $\text{CH}_2$ (acetilhidrazina) (amarillo) y grupos NMe (violeta) aparecen desdobladas en dos grupos, confirmando la presencia de dos formas díméricas: alternada y eclipsada.

La cápsula **D25** presentó una baja solubilidad en cloroformo deuterado que se tradujo en un espectro de RMN con señales anchas, quizás como consecuencia de la usencia de moléculas de tamaño apropiado para llenar la cavidad interna del receptor.<sup>97</sup> Por este motivo fue necesario realizar los experimentos de RMN en presencia de un 10% de  $\text{DMSO}-d_6$  para solubilizar la muestra y obtener señales bien definidas. El  $^1\text{H}$ -RMN, en estas condiciones, proporcionó un espectro cuyas señales pueden ser atribuidas a la existencia de un equilibrio inter-dímeros ( $\text{D25}_E \rightleftharpoons \text{D25}_A$ ) que conduce a la formación de dos estructuras no equivalentes en una proporción 7:4. Además, hay que tener en cuenta que existe un equilibrio adicional en el enlace hidrazona, entre las formas *cis-trans*, que podría incrementar el número de especies presentes en disolución (Esquema 3.9).

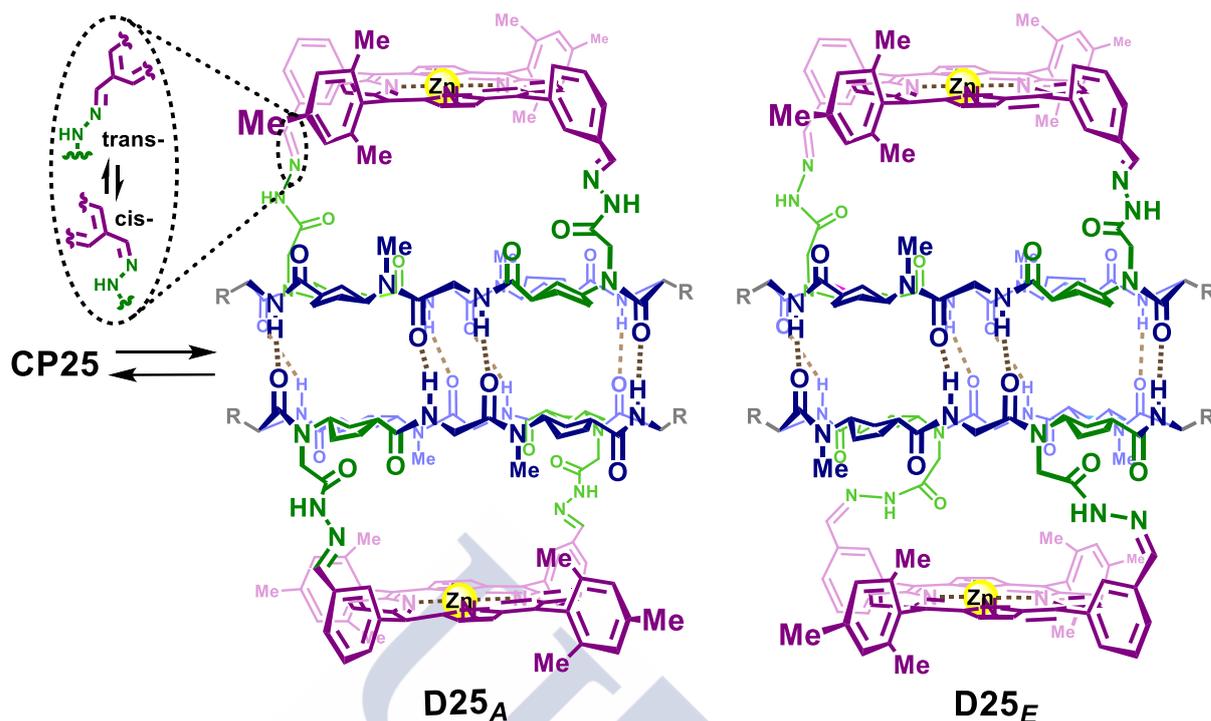
<sup>163</sup> Amorín, M.; Castedo, L.; Granja, J. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 2844-2845.

<sup>171b</sup> Ghadiri, M. R.; Kobayashi, K.; Granja, J. R.; Chadha, R. K.; McRee, D. E. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, *34*, 93-95.

<sup>181</sup> Amorín, M.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Chem. Eur. J.* **2005**, *11*, 6543-6551.

<sup>182</sup> Brea, R. J.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Chem. Commun.* **2007**, 3267-3269.

<sup>97</sup> Mecozzi, S.; Rebek Jr., J. *Chem. Eur. J.* **1998**, *4*, 1016-1022.



**Esquema 3.16.** Representación de los equilibrios presentes en la estructura del receptor causantes de la formación de las distintas especies en disolución.

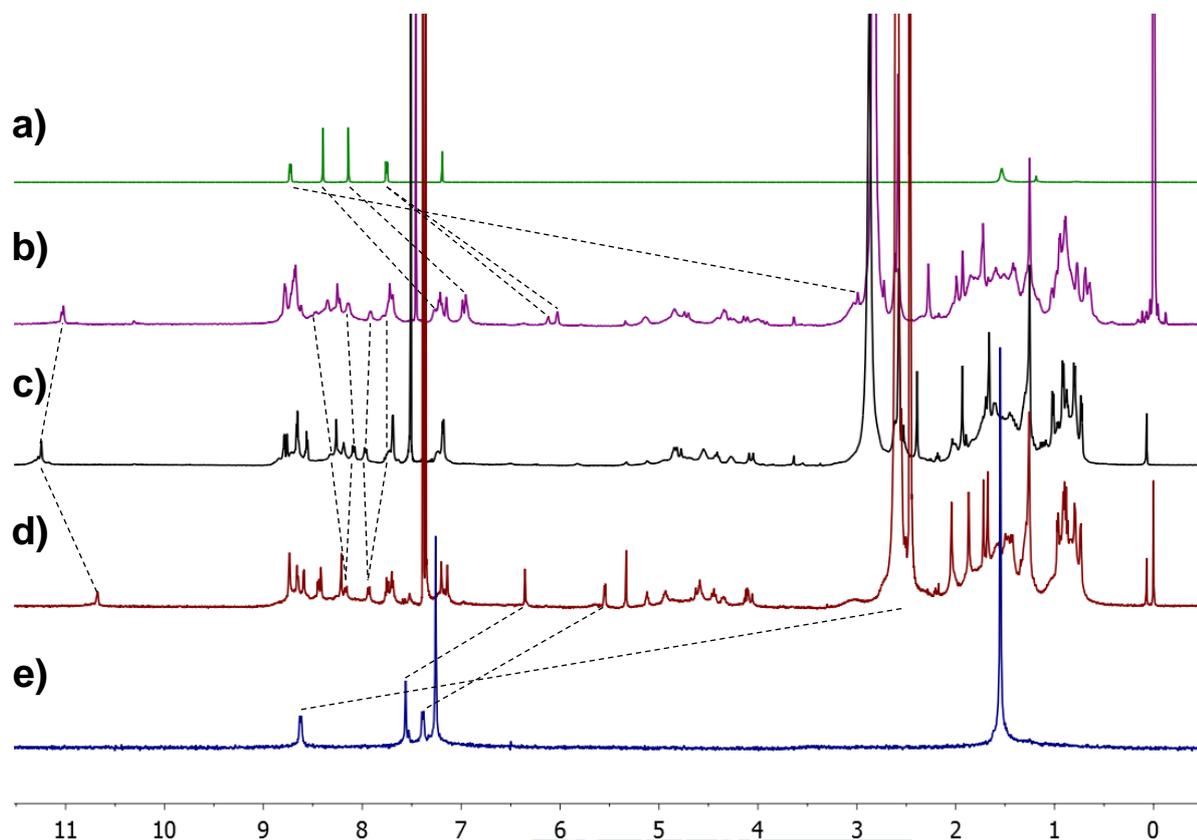
### 3.8.4. Estudios de encapsulación por RMN

Los procesos de encapsulación se estudiaron también por RMN. Comenzamos con **L5** debido a la gran afinidad mostrada en los estudios de UV-visible y por su rigidez, que reduce el número potencial de conformaciones diferentes. La adición de dicho ligando a una disolución de **D25** en 10% DMSO-*d*<sub>6</sub>/CDCl<sub>3</sub> provocó cambios significativos en el <sup>1</sup>H-RMN (Figura 3.5), como el desplazamiento de las señales a 11.36 y 11.29 ppm, correspondientes al NH de la hidrazona, que convergieron en una sola señal a 10.68 ppm. Otra diferencia con respecto al espectro de la cápsula vacía fue la aparición de dos señales a 6.36 (*p*-fenileno) y 5.55 ppm (C3 y C5 de la piridina), correspondientes al ligando. La tercera señal del ligando, relacionada con los protones C2 y C6 de la piridina, aparecía solapada con otros protones de la cápsula, con un desplazamiento químico de 2.51 ppm. Por tanto, las señales aromáticas se sitúan en una región de RMN atípica para compuestos de esta naturaleza. El desplazamiento a campo alto de estos protones es característico de los ligandos que forman parte de complejos sándwich con dos porfirinas de zinc.<sup>135b,272,285</sup> Además, el espectro sugiere la

<sup>135b</sup> Durot, S.; Taesch, J.; Heitz, V. *Chem. Rev.* **2014**, *114*, 8542-8578.

<sup>272</sup> (a) Shi, Y. H.; Sánchez-Molina, I.; Cao, C. S.; Cook, T. R.; Stang, P. J. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2014**, *111*, 9390-9395; (b) D'Urso, A.; Fragala, M. E.; Purrello, R. *Chem. Commun.* **2013**, *49*, 4441-4443; (c) Boccalon, M.; Iengo, E.; Tecilla, P. *Org. Biomol. Chem.* **2013**, *11*, 4056-4067; (d) Samanta, S. K.; Schmittel, M. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 18794-18797; (e) Otte, M.; Kuijpers, P. F.; Troeppner, O.; Ivanovic-Burmazovic, I.; Reek, J. N. H.; de Bruin, B. *Chem. Eur. J.* **2013**, *19*, 10170-10178; (f) Meng, W.; Breiner, B.; Rissanen, K.; Thoburn, J. D.; Clegg, J. K.; Nitschke, J. R.

existencia de una sola forma dimérica. Aunque el ligando **L5** debería rotar libremente en el interior de la cápsula en torno al eje axial, el dímero debe preferir la interacción únicamente a través de una de las láminas  $\beta$ , una vez incluido dicho ligando. La ausencia de nOe entre los protones de las amidas, aunque no es concluyente, sugiere que el isómero que se forma es el alternado. Desafortunadamente, no se observaron más señales que nos permitiesen confirmar la estructura propuesta para la cápsula.



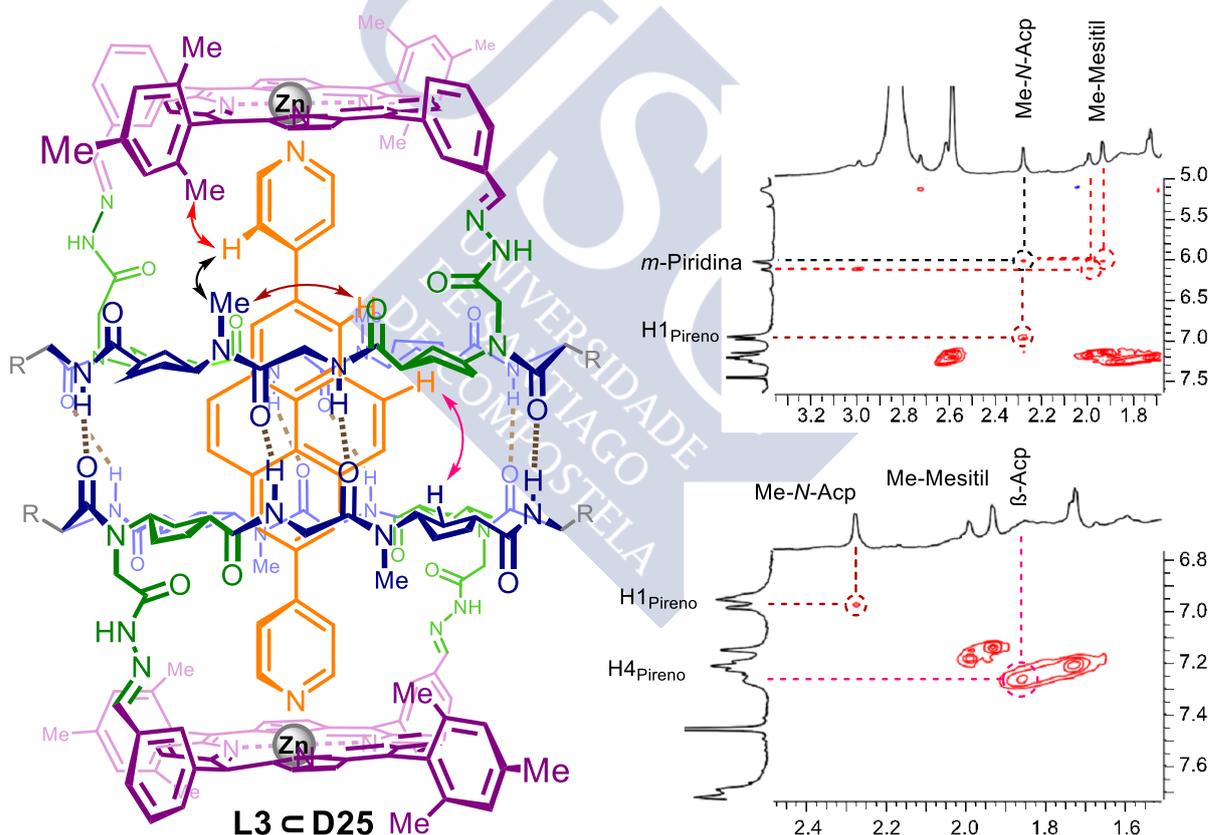
**Figura 3.5.**  $^1\text{H}$ -RMN en 10%  $\text{DMSO-}d_6/\text{CDCl}_3$  de **D25** (5 mM, c) con los ligandos **L3** (b) y **L5** (d) y ligandos **L3** (a) y **L5** (e) aislados. Los desplazamientos más característicos de las señales se indican mediante líneas discontinuas.

El espectro de protón con el ligando **L3** (Figura 3.5a-b) mostró un comportamiento similar. Los protones de la piridina también se desplazaban a campo alto hasta 6.02, 6.12 y 2.99 ppm. En este caso algunas señales aparecían desdobladas, sugiriendo la formación de dos complejos diferentes que interconvierten lentamente en escala de tiempo de RMN. Desafortunadamente, no pudimos determinar si ese desdoblamiento se debe a las dos láminas  $\beta$  que se corresponden con las formas eclipsada y alternada del dímero, a la geometría de la hidrazona (*cis* o *trans*) o a las dos posibles orientaciones que el ligando puede adoptar en el interior de la cavidad debido a que, en este caso, el anillo de pireno probablemente no puede girar libremente en torno al eje axial. Los espectros bidimensionales de **L3** $\subset$ **D25** proporcionaron evidencias claras de que **L3** se encuentra confinado en el interior

Angew. Chem. **2011**, *123*, 3541-3545; (g) Hoffmann, M.; Kärnbratt, J.; Chang, M.-H.; Herz, L. M.; Albinsson, B.; Anderson, H. L. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 4993-4996.

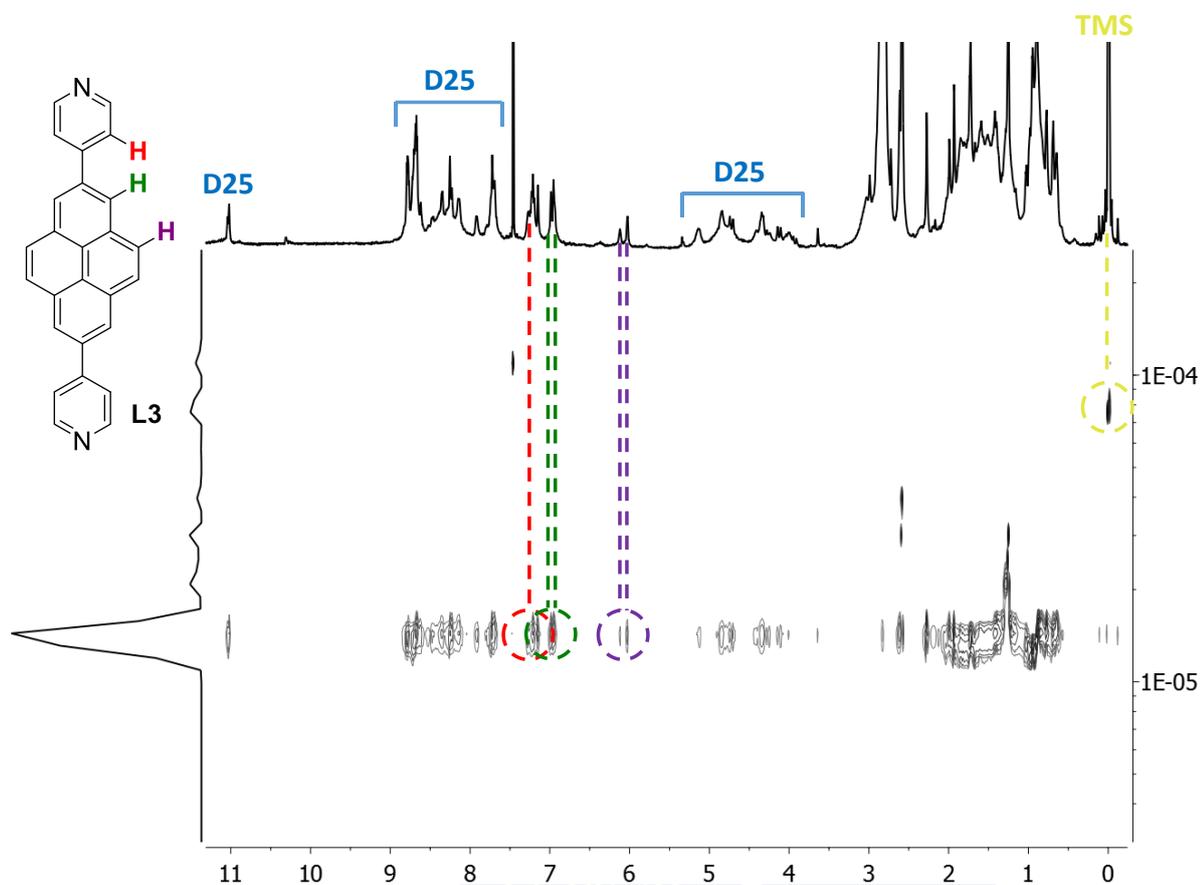
<sup>285</sup> Lifschitz, A. M.; Rosen, M. S.; McGuirk, C. M.; Mirkin, C. A. *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, *137*, 7252-7261.

de la cápsula **D25** (Figura 3.6). La existencia de señales de nOe entre los protones en posición *meta* de las piridinas a 6.12 y 6.02 ppm y los metilos de los grupos mesitileno de la porfirina que están proyectados hacia el interior de la cavidad del dímero es un indicio de que el reconocimiento del ligando se produce dentro de la estructura dimérica. Cabe mencionar que la señal de cruce es visible para ambas señales del ligando. Además, para la forma mayoritaria, se aprecia un nOe de dichos protones de la piridina con los grupos N-metilo y los protones en posición  $\beta$  del Acp. El nOe entre H1 (3, 6 o 8) del pireno central y los grupos N-metilo del ciclopéptido constituye otra prueba clara de la encapsulación del ligando. Finalmente, también existe otro nOe entre H4 (5, 9 o 10) del anillo de pireno con los H2 del Acp que confirma la disposición interna de **L3** en la cavidad de **D25**. La presencia de todos esos picos de cruce no sólo confirman la encapsulación del ligando, sino que, además, representan indicios de que la interacción entre ambos componentes es fuerte debido a su proximidad. Esto podría explicar la baja constante de asociación observada en los estudios de UV-visible ya que, por motivos estéricos, el reconocimiento del ligando está menos favorecido.



**Figura 3.6.** Ampliación de las regiones de NOESY de **D25** (5 mM) en 10% DMSO- $d_6$ /CDCl $_3$  con el ligando **L3** donde se muestran los picos de cruce que confirman la encapsulación del ligando.

Con el objetivo de confirmar la encapsulación del ligando, se llevaron a cabo experimentos de DOSY de una mezcla de **D25** (2 mM en 10% DMSO- $d_6$ /CDCl $_3$ ) con 1 equivalente de **L3** (Figura 3.7).<sup>270</sup>



**Figura 3.7.** Espectro de DOSY de **D25** (2 mM) en 10% DMSO- $d_6$ /CDCl $_3$  con el ligando **L3**. Las señales del ligando presentan un coeficiente de difusión similar al de la cápsula, sugiriendo que se produce la interacción entre ambos componentes.

Los valores de autodifusión obtenidos para la mezcla se compararon con el medido para tetrametilsilano (TMS), que se usó como patrón interno. En el espectro de DOSY se puede apreciar que, pese a la diferencia de tamaño entre el ligando y la cápsula, ambos componentes difunden a la misma velocidad. No se observaron agregados de mayor tamaño, ratificando que la interacción con la metaloporfirina tiene lugar en el interior de la estructura y no a través de la cara externa. En dicho caso la coordinación de las bipyridinas conduciría a la formación de hilos en los cuales se intercalasen unidades de ligando y de dímero y, por tanto, la velocidad de difusión sería mucho más baja.

Con **L5** los espectros se midieron en las mismas condiciones y se observaron resultados similares (Figura 3.8).

<sup>270</sup> Avram, L.; Cohen, Y. *Chem. Soc. Rev.* **2015**, *44*, 586-602.

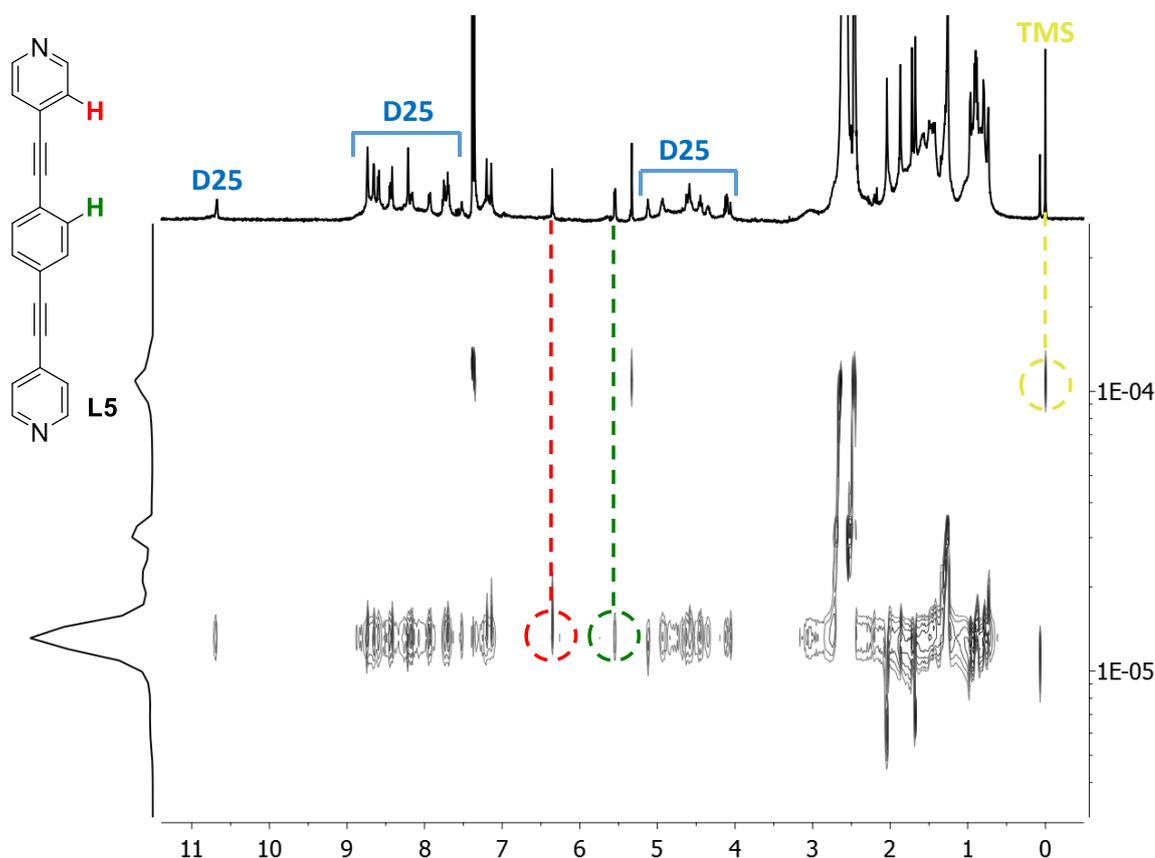
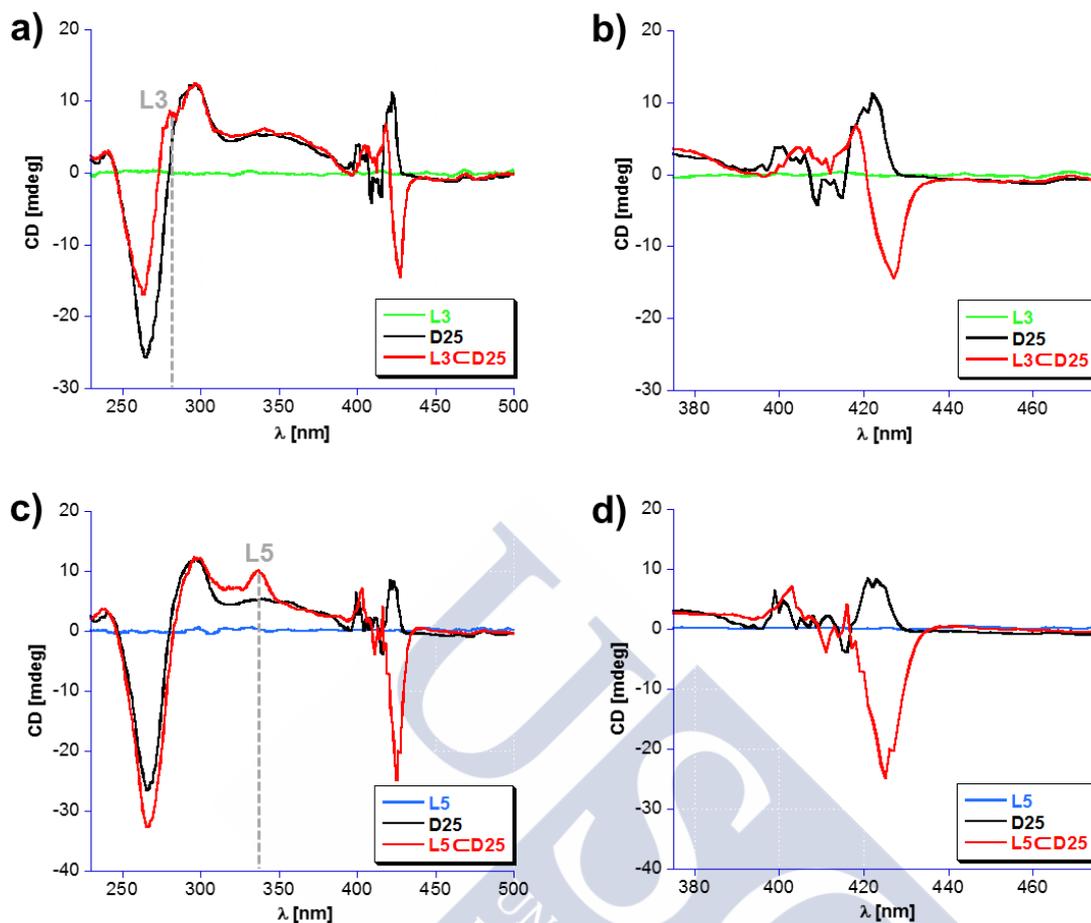


Figura 3.8. Espectro de DOSY de **D25** (2 mM) en 10% DMSO- $d_6$ /CDCl $_3$  con el ligando **L5**.

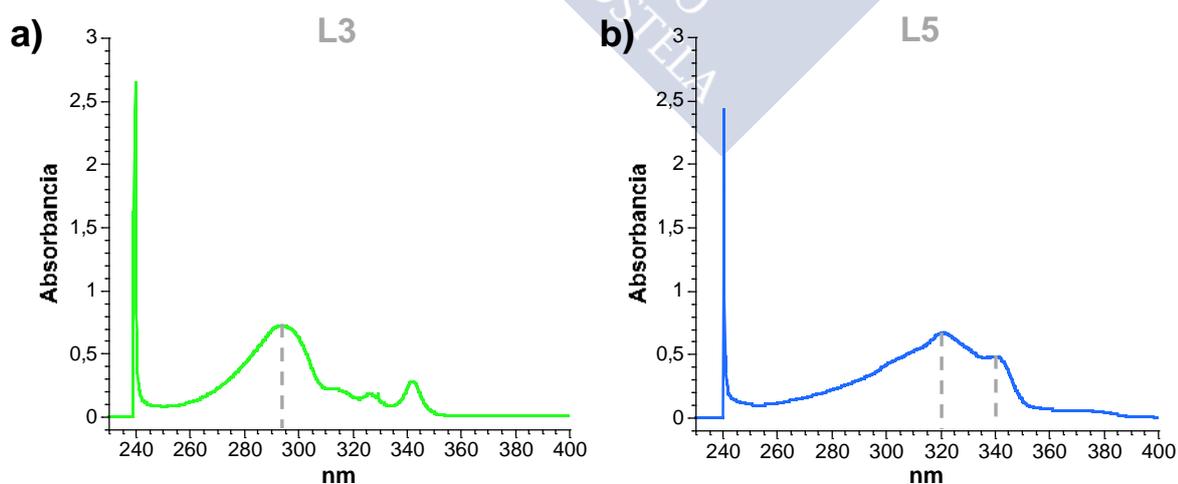
### 3.8.5. Estudios de dicroísmo circular (DC)

La interacción de los ligandos **L3** y **L5** con el dímero **D25** también se siguió por dicroísmo circular (Figura 3.9).<sup>286</sup> En primer lugar, se registró el espectro de la cápsula vacía en cloroformo a una concentración de 100  $\mu$ M. Dicho espectro mostró un efecto Cotton positivo en la banda Soret, sugiriendo que se produce una transferencia de quiralidad desde el péptido hacia la porfirina. Por otra parte, como era de esperar, **L3** y **L5** aislados no mostraron ninguna banda en el espectro de DC. La adición de un equivalente de ligando (**L3** o **L5**) sobre una disolución de **D25**, provocó una inversión de signo en el efecto Cotton y la aparición de una pequeña banda, a 270 nm para **L3** y 340 nm para **L5**, proveniente del ligando (Figura 3.10). Esta observación es resultado, probablemente, de la transmisión de quiralidad del péptido a la molécula huésped debido a las restricciones conformacionales de la cavidad interna, lo que supone una prueba más de la formación del complejo de inclusión.

<sup>286</sup> Gottarelli, G.; Lena, S.; Masiero, S.; Pieraccini, S.; Spada, G. P. *Chirality* **2008**, *20*, 471-485.



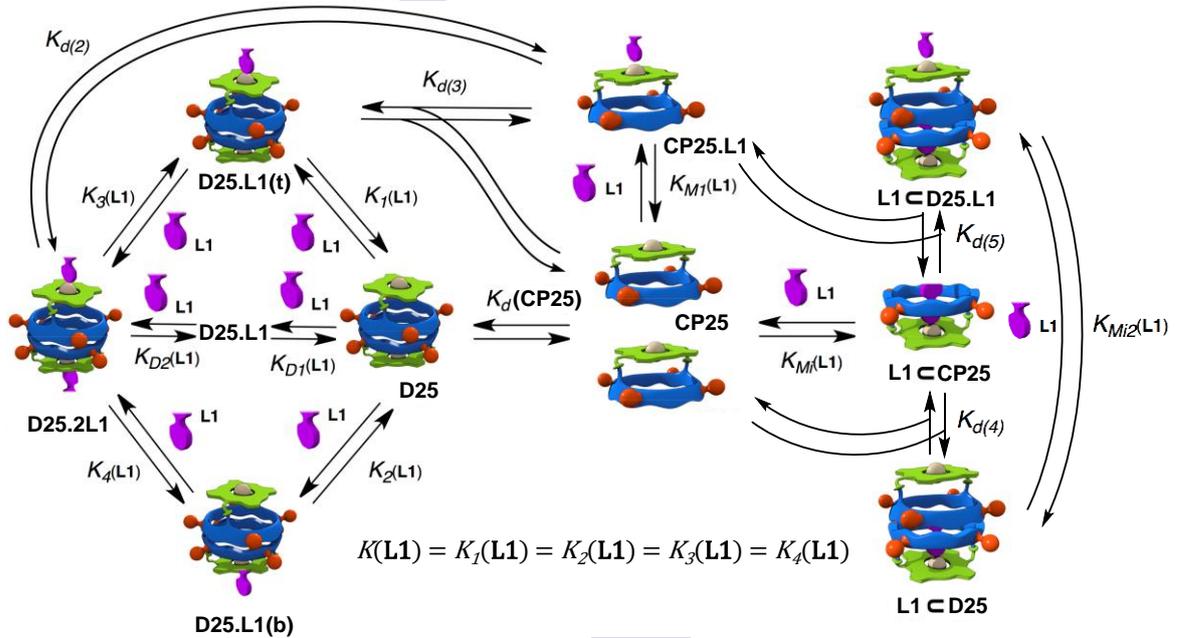
**Figura 3.9.** a) Espectro de DC obtenido para la cápsula D25 (línea negra), el ligando L3 (línea verde) y el complejo L3CD25 (línea roja); b) ampliación de la región de la banda Soret de la porfirina donde se observa a inversión en el efecto Cotton; c) Espectro de DC obtenido para la cápsula D25 (línea negra), el ligando L5 (línea azul) y el complejo L5CD25 (línea roja) y d) ampliación de la región de la banda Soret de la porfirina donde se observa a inversión en el efecto Cotton.



**Figura 3.10.** Espectros de UV de los ligandos L3 (a) y L5 (b) en cloroformo a una concentración 200  $\mu\text{M}$ .

### 3.9. Caracterización termodinámica de la formación de los complejos ligando-receptor

Con el objetivo de realizar un análisis termodinámico de estos resultados propusimos una serie de equilibrios para evaluar la constante de estabilidad de los complejos ligando-receptor (Esquemas 3.17 y 3.18). Desafortunadamente, la señal de emisión de todas las especies involucradas en los equilibrios propuestos es idéntica, en todos los casos durante la adición del ligando observamos un desplazamiento de la banda Soret hacia la longitud de onda de 431 nm. Como consecuencia de ello, tan sólo podemos llevar a cabo un análisis cualitativo asumiendo ciertas simplificaciones. Los ligandos monodentados **L1** pueden interactuar en disolución tanto con **CP25** como con **D25**. Dependiendo de la cara a través de la cual se produzca dicha interacción se pueden formar los complejos **CP25.L1** o **L1⊂CP25** (Esquema 3.17). Este último es el intermedio responsable de la encapsulación del ligando para dar lugar a **L1⊂D25**.



$$K_{D1}(L1) = \frac{[D25.L1]}{[L1] \times [D25]} = 2 \times K_1(L1) = 2 \times K(L1) \quad (6)$$

$$K_{D2}(L1) = \frac{[D25.2L1]}{[L1] \times [D25.L1]} = \frac{K(L1)}{2} \quad (7)$$

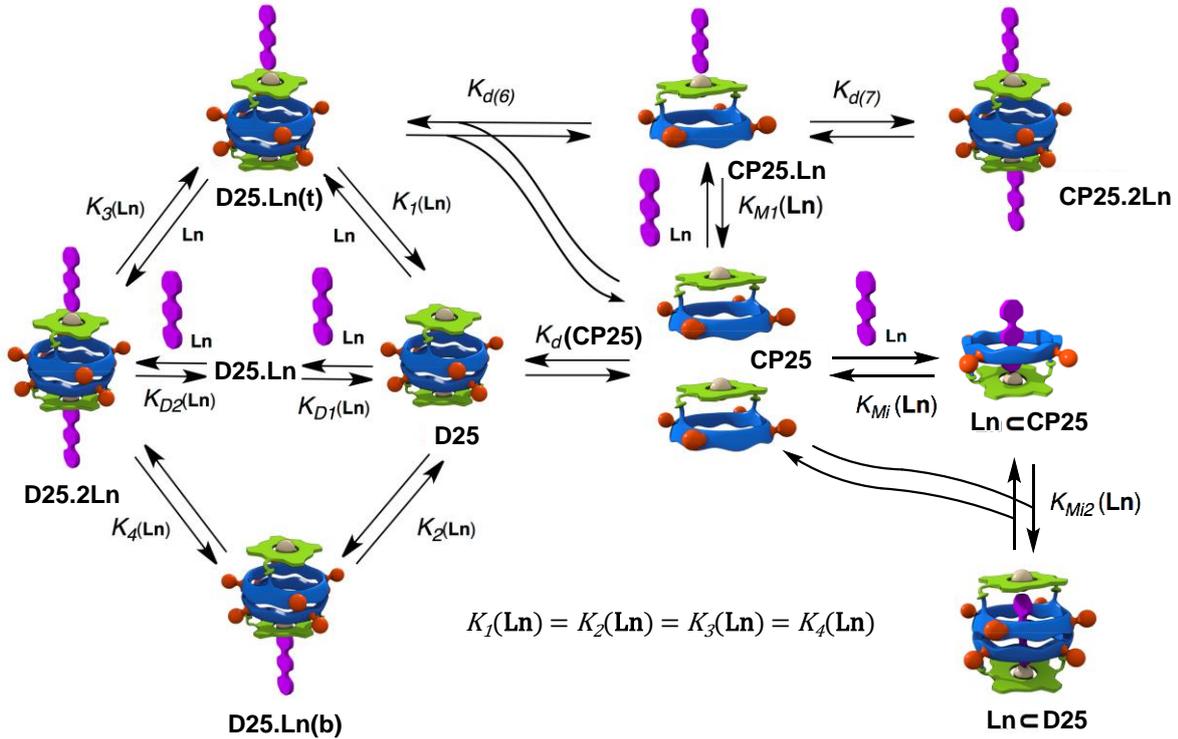
$$K_D(L1) = \frac{[D25.2L1]}{[L1]^2 \times [D25]} = K_{D1}(L1) \times K_{D2}(L1) = K(L1) \times K(L1) \quad (8)$$

$$K(L1) = \sqrt{K_D(L1)} \quad (9)$$

$$K(L1) = \frac{[CP25.L1]}{[L1] \times [CP25]} \sim K(L1) \quad (10)$$

$$K_{M1}(L1) = \frac{[L1 \subset CP25]}{[L1] \times [CP25]} \sim K_{M1}(L1) \sim K(L1) \quad (11)$$

Esquema 3.17. Modelo de los posibles equilibrios que se pueden establecer entre los ligandos monodentados **L1a-c** y la cápsula **D25**.



$$K_I(\text{Ln}) = 2 \times K(\text{L1}) = 2 \times \sqrt{K_D(\text{L1})} \quad (12)$$

$$K_{MI}(\text{Ln}) = \frac{[\text{CP25} \cdot \text{Ln}]}{[\text{Ln}] \times [\text{CP25}]} \sim K_I(\text{Ln}) = 2 \times K(\text{L1}) \quad (1)$$

$$K_{MI}(\text{Ln}) = \frac{[\text{Ln} \subset \text{CP25}]}{[\text{Ln}] \times [\text{CP25}]} \sim K_{MI}(\text{Ln}) = 2 \times K(\text{L1}) \quad (2)$$

$$K_{MI2}(\text{Ln}) = \frac{[\text{Ln} \subset \text{D25}]}{[\text{Ln} \subset \text{CP25}] \times [\text{CP25}]} = K_{MI}(\text{Ln}) \times K_d(\text{CP25}) \times \text{ME} = 2 \times K(\text{L1}) \times K_d(\text{CP25}) \times \text{ME} \quad (3)$$

$$K(\text{Ln} \subset \text{D25}) = \frac{[\text{Ln} \subset \text{D25}]}{[\text{Ln}] \times [\text{CP25}]^2} = K_{MI}(\text{Ln}) \times K_{MI2}(\text{Ln}) = 4 \times [K(\text{L1})]^2 \times K_d(\text{CP25}) \times \text{ME} \quad (4)$$

$$\text{ME} = \frac{K(\text{Ln} \subset \text{D25})}{\{4 \times [K(\text{L1})]^2 \times K_d(\text{CP25})\}} = \frac{K(\text{Ln} \subset \text{D25})}{\{4 \times K_D(\text{L1}) \times K_d(\text{CP25})\}} \quad (5)$$

**Esquema 3.18.** Modelo de los posibles equilibrios que se pueden establecer entre los ligandos bidentados Ln (donde n = 2-8) y la cápsula D25.

Como primera asunción, consideramos que las constantes microscópicas  $K_{MI}(\text{L1})$  (coordinación con la cara cóncava del cavitando) y  $K_{MI}(\text{L1})$  (coordinación a través de la cara convexa) son prácticamente iguales, ya que el diámetro del ciclo péptido es lo suficientemente grande para que no existan impedimentos que dificulten la aproximación del ligando a través de la cara interna. En cualquier caso, teniendo en cuenta la constante de asociación de CP25 para formar D25 [ $K_d(\text{CP25}) \sim 10^8 \text{ M}^{-1}$ ]<sup>17</sup> y la concentración a la cual se llevaron a cabo las medidas, la especie predominante en disolución es el dímero. Como consecuencia, las interacciones mayoritarias observadas en las medidas de UV son aquellas que se producen entre las tapas moleculares de D25 y los ligandos. La constante macroscópica del proceso global  $K_D(\text{L1})$  es igual al cuadrado de la constante microscópica

$K(\mathbf{L1})$ , ver ecuación (8) en el Esquema 3.17.<sup>287</sup> También asumimos que no se producen cambios en las propiedades de la porfirina durante la dimerización del ciclopéptido para formar **D25**. La afinidad de los ligandos monodentados **L1a-c** [ $K_D(\mathbf{L1})$ ] por la cápsula, medida en las valoraciones de UV (Tabla 3.1), se usó como modelo de interacción entre los grupos piridina de los ligando bidentados y las porfirinas. Así, por analogía estructural, **L1a** se usó como modelo para **L2** y **L5**, la piridina funcionalizada con un grupo metilo **L1b** para **L4**, y **L1c** para el resto de ligandos (**L3**, **L6**, **L7** y **L8**). Los valores para dichos ligandos monodentados con **D25**, aunque menores, son consistentes con los obtenidos con la porfirina **26** y otros recogidos en la bibliografía para porfirinas de zinc similares.<sup>283</sup>

Las constantes de estabilidad para todos los complejos fueron estimadas estadísticamente usando las ecuaciones descritas en el Esquema 3.18. El equilibrio directo entre los ligandos bidentados y la cápsula para la formación de **Ln**⊂**D25** transcurre a través de la especie monomérica **Ln**⊂**CP25** (Esquema 3.18). El complejo **Ln**⊂**D25** sólo tiene lugar en el caso de que el ligando encapsulado encaje en la cavidad y tenga la distancia adecuada para coordinarse a los dos átomos de zinc. El valor de la constante de asociación para el proceso en el cual una de las piridinas del ligando bidentado interacciona con una metaloporfirina deberían ser el doble de la constante microscópica para el mismo proceso con el ligando monovalente **L1** de estructura análoga; por tanto, tal como se ilustra en la ecuación (1)  $K_{MI}(\mathbf{Ln}) = 2 \times K(\mathbf{L1})$ . Para poder formar el complejo de inclusión, la cápsula debería disociarse para dar lugar a los correspondientes monómeros **CP25**. Como se ha mencionado para el caso de ligandos monodentados, dicho cavitando (**CP25**) puede interaccionar con el ligando por ambas caras de la porfirina: la interna y la externa, para formar los complejos **CP25**·**Ln** o **Ln**⊂**CP25** (Esquema 3.18), respectivamente. Las constantes microscópicas de afinidad,  $K_{MI}(\mathbf{Ln})$  y  $K_{Mi}(\mathbf{Ln})$ , se consideraron prácticamente idénticas. Por tanto, como se indica en la ecuación (2),  $K_{MI}(\mathbf{Ln}) \sim K_{Mi}(\mathbf{Ln})$ . Una vez formado **Ln**⊂**CP25**, la última etapa [ $K_{Mi2}(\mathbf{Ln})$ ] para la obtención del producto de encapsulación implica dos procesos: la interacción de la segunda piridina con la metaloporfirina [ $K_{Mi}(\mathbf{Ln})$ ] y la dimerización [ $K_d(\mathbf{CP25})$ ]. Dado que el valor de [ $K_{Mi}(\mathbf{Ln})$ ] está íntimamente relacionado con la estructura del ligando, no es posible comparar de forma directa unos ligandos con respecto a los otros. Para poder corregir el efecto electrónico de los sustituyentes y poder determinar qué ligando se adapta mejor a la cavidad del dímero, es necesario introducir un factor de corrección. Dicho factor se denomina molaridad efectiva (ME). Por tanto,  $K_{Mi2}(\mathbf{Ln}) = K_d(\mathbf{CP25}) \times 2 \times K(\mathbf{Ln}) \times \text{ME}$  (ecuación 3). Dicha molaridad efectiva, como se puede observar en la ecuación (5), únicamente depende de la constante de estabilidad medida para cada ligando,

<sup>287</sup> Martínez, J. C.; Murciano-Calles, J.; Cobos, E. S.; Iglesias-Bexiga, Luque M. I.; Ruiz-Sanz, J. In *Applications of Calorimetry in a Wide Context - Differential Scanning Calorimetry, Isothermal Titration Calorimetry and Microcalorimetry*, Elkordy, A. A. Ed, InTech, Rijeka (Croatia), 2013, Chapter 4.

<sup>283</sup> (a) Satake, A.; Kobuke, Y. *Tetrahedron* **2005**, *61*, 13-41; (b) Summers, J. S.; Stolzenberg, A. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 10559-10567; (c) Cole, S. J.; Curthoys, G. C.; Magnusson, E. A.; Phillips, J. N. *Inorg. Chem.* **1972**, *11*, 1024-1028.

$K(\text{LnCD25})$ , y de la constante macroscópica obtenida con las piridinas monodentadas modelo [ $K_D(\text{L1})$ ].

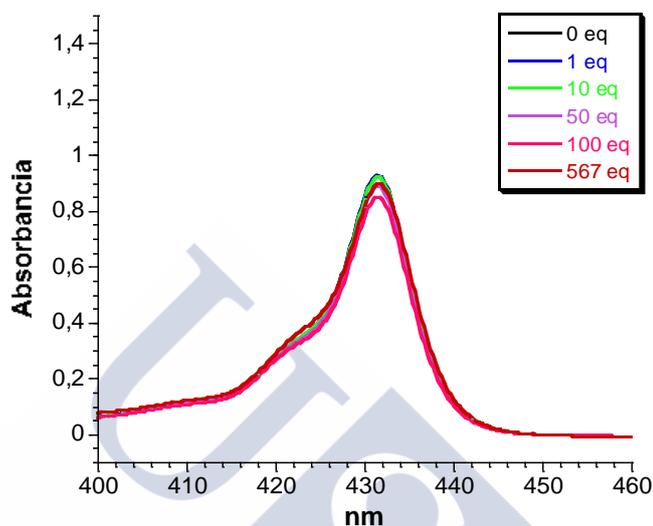
El ajuste proporcionó una constante de estabilidad para el complejo con el ligando **L2** de  $1.1 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ . Mediante la ecuación (5) obtuvimos un valor para la molaridad efectiva (ME) de  $2.7 \times 10^{-4} \text{ M}$  que confirma la baja complementariedad entre la cavidad interna de la cápsula y el ligando. Esto sugiere que **L2** no es lo suficientemente largo como para coordinarse a ambas metaloporfirinas. El ligando **L3** mostró una mejora en la ME ( $6.0 \times 10^{-3} \text{ M}$ ), pero el valor todavía está lejos de poder ser considerado como bueno. Esta ME confirma las dificultades que tiene dicho ligando para entrar en el interior de la estructura. Creemos que este hecho no se debe a su longitud; de hecho, el ligando **L4**, que tiene una longitud similar a **L3**, presenta una ME tres órdenes de magnitud más elevada (1.1 M). Aunque **L4** tiene la constante de asociación más alta de la serie, el ligando que exhibe la mayor molaridad efectiva es **L5** (1.9 M). Estos datos indican que la distancia entre los dos átomos de zinc en la cápsula debe estar en un rango de 15.8-16.6 Å. Las diferencias observadas podrían estar relacionadas con la flexibilidad del ligando. Los ligandos de mayor tamaño mostraron progresivamente una interacción cada vez más débil como consecuencia de la reducción en la complementariedad entre ambos elementos del complejo ligando-receptor. De todas formas, para el ligando más largo de la serie (**L8**), con una distancia calculada N-N de 21.2 Å, la ME fue mayor que para **L2** y **L3**. Este hecho refleja la flexibilidad de la cápsula para incorporar ligandos de gran tamaño; pero, por el contrario, la estructura no puede encogerse lo suficiente para acomodar ligandos cortos. Una vez más, el valor anormal en la afinidad de **L3** debe indicar que existen impedimentos estéricos que dificultan el correcto ajuste del ligando a la cavidad interna.

### 3.10. Liberación del ligando y control sobre el equilibrio

Una vez confirmada la encapsulación del ligando, decidimos estudiar el proceso inverso: la liberación del mismo del interior de la estructura. Con esta finalidad, se propusieron varias alternativas que incluyen: la adición de disolventes próticos polares, que compitan con la formación de enlaces de hidrógeno inter péptido, la hidrólisis del enlace covalente reversible del *linker* y experimentos de competencia, entre otros.

En primer lugar optamos por la estudiar la liberación del huésped mediante la adición de metanol. El metanol compite por los grupos aceptores en el enlace de hidrógeno. Esto permitiría desplazar al equilibrio hacia la forma monomérica y, por tanto, el ligando podría salir del interior de la cavidad. Para ello, partimos de una disolución  $0.5 \mu\text{M}$  de **L5CD25** a la cual se añadieron progresivamente pequeños volúmenes de metanol. La dilución con dicho disolvente hasta una concentración aproximada de  $0.15 \mu\text{M}$  no produjo cambios significativos en el espectro de UV-visible. Este resultado confirma la alta estabilidad de estos complejos. A continuación decidimos añadir un segundo ciclopéptido basado en ácido 3-aminociclohexano-carboxílico (Ach) para formar el heterodímero

(Esquema 3.12).<sup>178,190</sup> Como se ha comentado en el capítulo anterior, en trabajos previos realizados en el grupo de investigación se había observado que la mezcla de CPs basados en Ach- y Acp- conduce a la formación de la especie heterodimérica, que es más estable que los correspondientes homodímeros. La adición de casi 600 equivalentes de CP26 a una disolución 1  $\mu\text{M}$  de L5-CP25 en cloroformo no dio lugar a cambios en el espectro de UV (Figura 3.11).

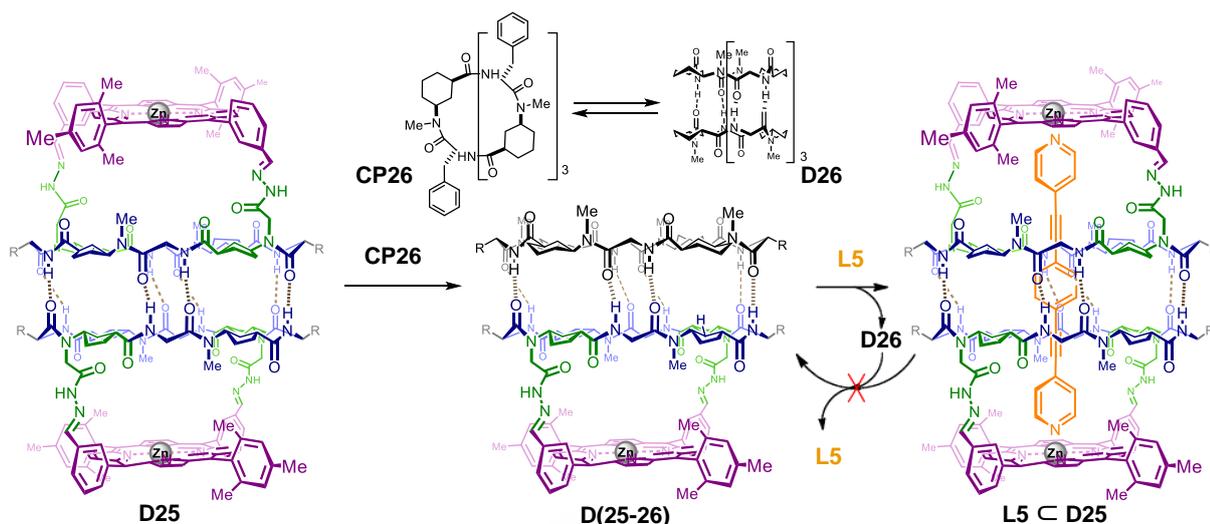


**Figura 3.11.** Experimento de liberación del ligando mediante la formación del heterodímero. La adición del ciclopeptido complementario basado en Ach sobre una disolución de L5-D25 (1  $\mu\text{M}$ ) no provocó cambios en el desplazamiento de la banda Soret de la porfirina.

A causa de este resultado, nos propusimos explorar el proceso inverso. Para ello, en primer lugar formamos el heterodímero mediante la mezcla de cantidades equimoleculares de CP25 y CP26. La formación del cavitando D(25-26) se confirmó por  $^1\text{H}$ -RMN, en el cual un nuevo grupo de señales apareció, mientras que desaparecían las correspondientes a los homodímeros (Esquema 3.19 y Figura 3.12). El hecho se manifestó por la presencia de cuatro nuevos dobletes a 8.56, 8.52, 8.44 y 8.38 ppm, correspondientes a los NHs de D(25-26).

<sup>178</sup> Brea, R. J.; Amorín, M.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 5710-5713.

<sup>190</sup> Brea, R. J.; Pérez-Alvite, M. J.; Panciera, M.; Mosquera, M.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Chem. Asian J.* **2011**, *6*, 110-121.



Esquema 3.19. Experimentos de competencia entre los ciclopéptidos complementarios CP25 y CP26 y el ligando L5.

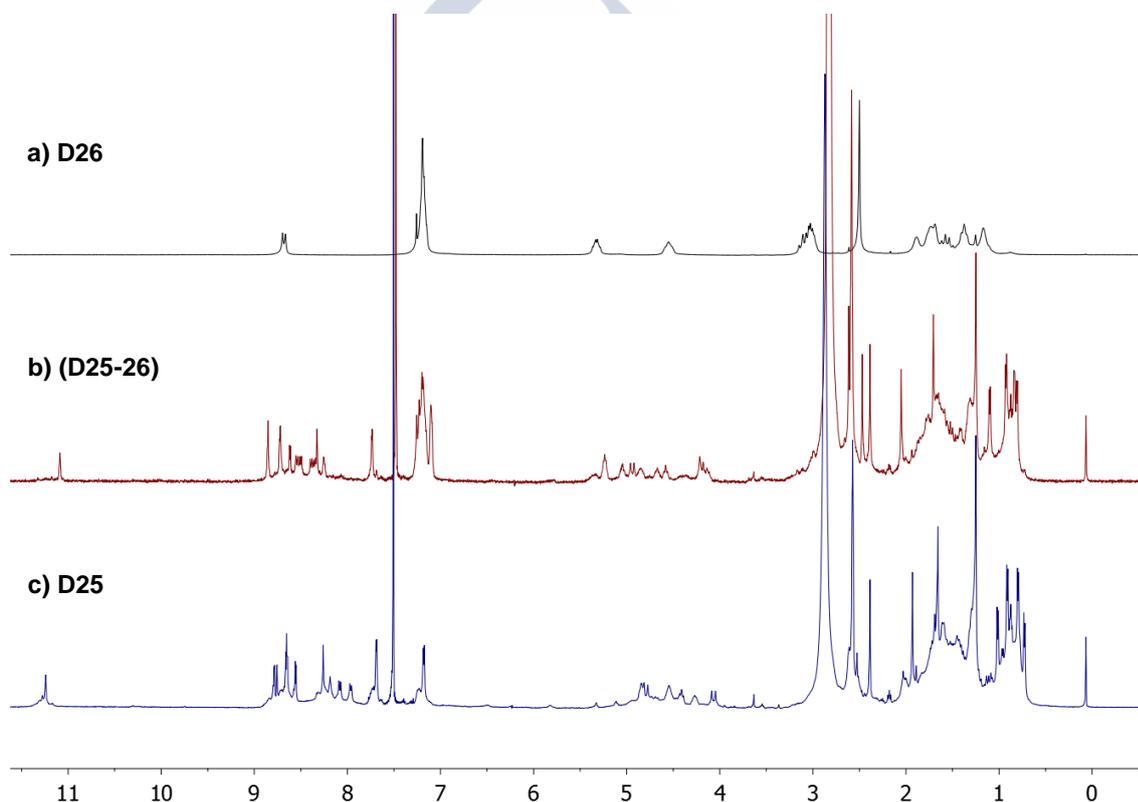
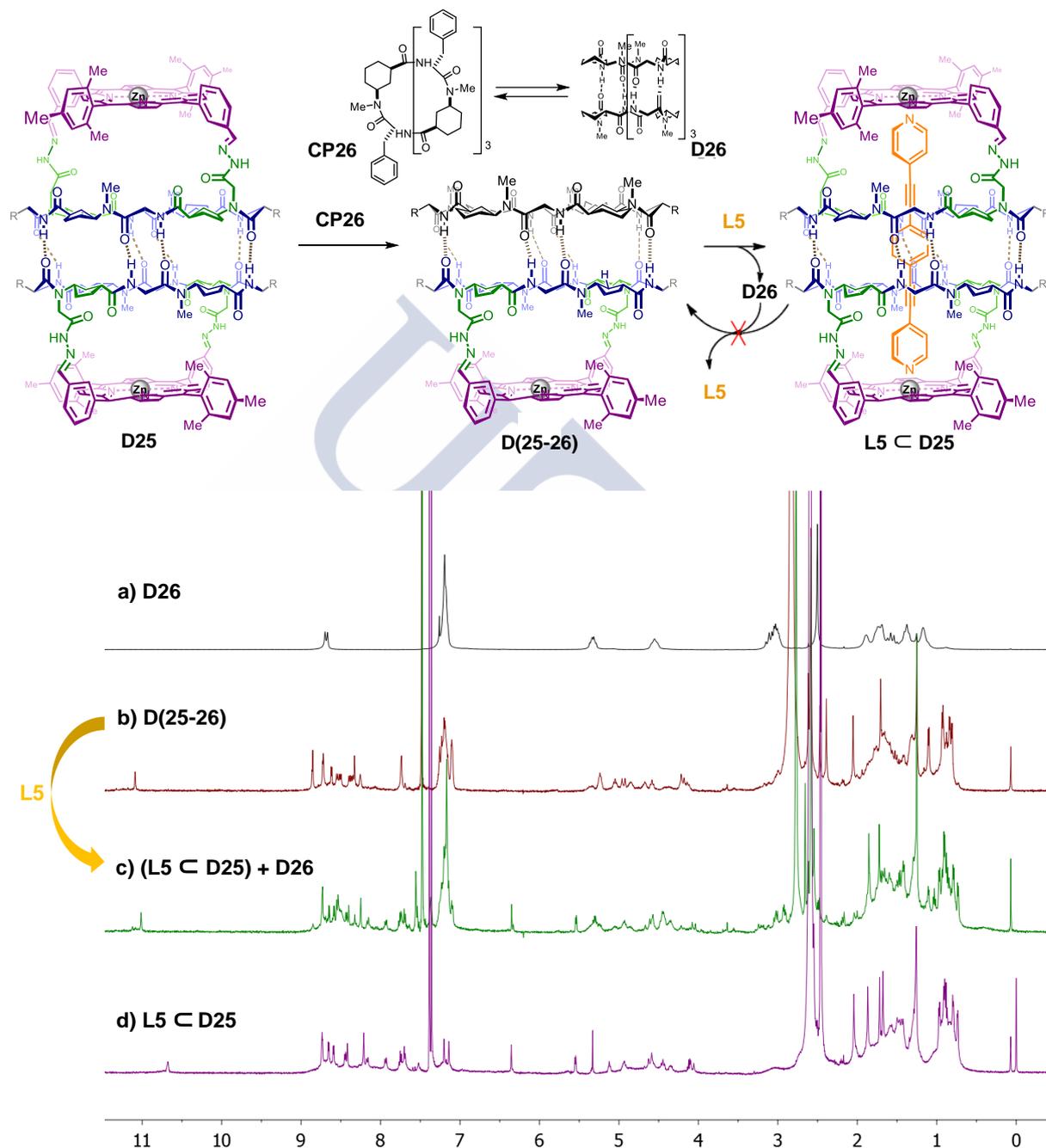


Figura 3.12. Formación del heterodímero. D(25-26) se obtuvo mediante la adición de 1 equivalente de homodímero D26 sobre una disolución de D25 1.1 mM en 10% DMSO- $d_6$ /CDCl $_3$ .

Una vez formado el heterodímero se añadió 1 equivalente de L5 (por tratarse del ligando con la mayor molaridad efectiva de todos los estudiados). La adición del ligando provocó cambios significativos en el  $^1\text{H}$ -RMN, obteniéndose un espectro similar al registrado para el complejo L5⊂D25 (Figura 3.13). El desplazamiento químico de los NHs (8.17 y 7.94 ppm), junto con la aparición de las señales de L5 en la región típica del ligando encapsulado

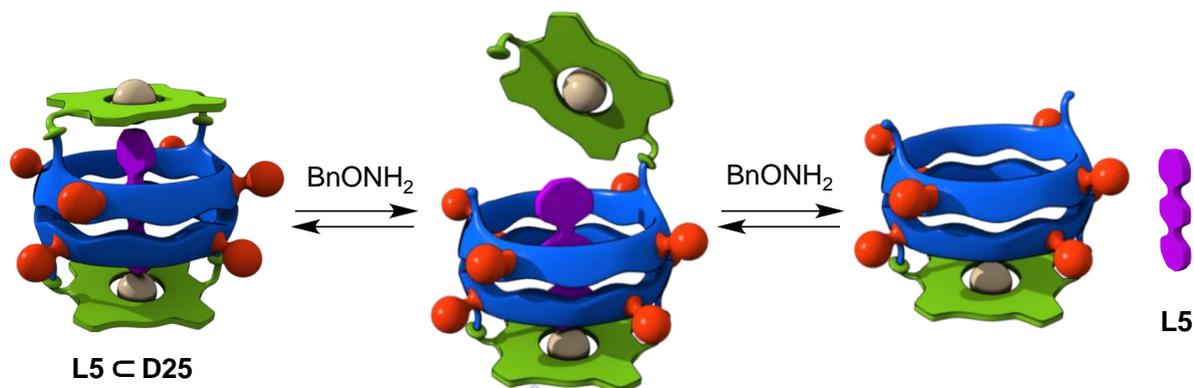
a 6.36 y 5.55 ppm, proporcionaron una evidencia clara de que el equilibrio se desplaza hacia la formación de  $L5 \subset CP25$ . Este resultado se confirmó por espectroscopía de UV-visible, donde la adición del ligando sobre una disolución de heterodímero provocó un desplazamiento de la banda Soret hacia la longitud de onda de 431 nm.



**Figura 3.13.** Experimento de competencia en el cual el equilibrio heterodímero-homodímero está controlado por el ligando. La adición de 1 equivalente de  $L5$  sobre  $D(25-26)$  (b) provoca un desplazamiento del equilibrio hacia las formas homodiméricas  $D26$  y  $L5 \subset D25$  (c).

Prosiguiendo con el estudio de liberación del huésped probamos una última alternativa: la hidrólisis del enlace hidrazona (Esquema 3.20). Teniendo en cuenta que, tal y como se ha mencionado en la introducción del capítulo, el enlace oxima es más estable que el

enlace hidrazona, la adición de una hidroxilamina debería conducir a la apertura de la tapa y la consiguiente expulsión del ligando. Por tanto, decidimos añadir *O*-becilhidroxilamina a una disolución de **L5** en 10% de DMSO/ $\text{CHCl}_3$ .



Esquema 3.20. Modelo del proceso de liberación del ligando mediante la hidrólisis del enlace hidrazona.

El proceso se estudió por UV, siguiendo la desaparición de la banda a 431 nm con el tiempo (Figura 3.14). El espectro resultante mostró que, al cabo de 20 horas, la práctica totalidad de dicha banda había desaparecido. Finalmente, se registró el espectro de UV-visible de dicha muestra, donde se comprobó que la banda Soret aparecía a 421 nm, en la región típica de las porfirinas de zinc en ausencia de ligando. Este hecho confirmó la liberación de **L5** en el seno de la disolución.

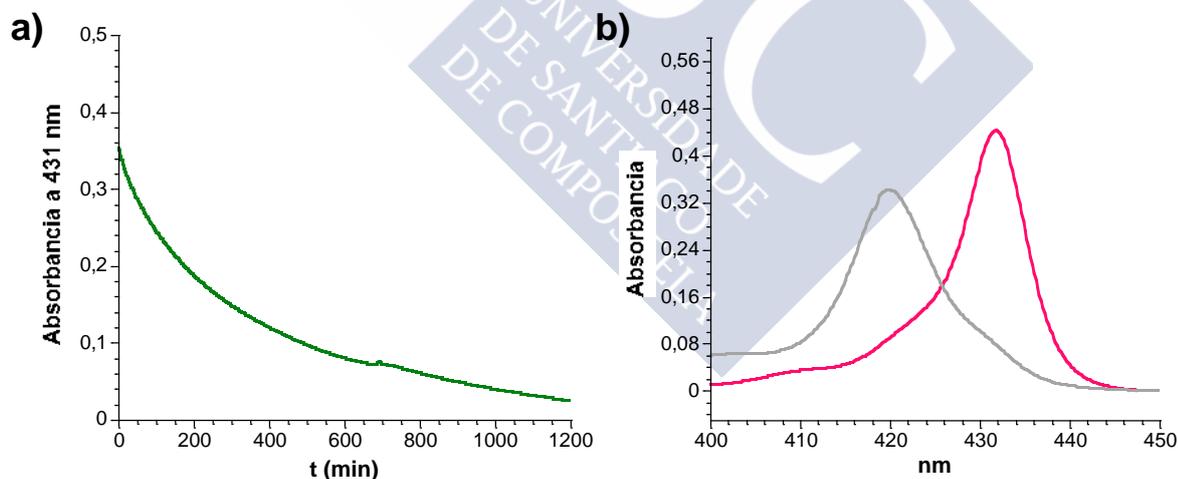


Figura 3.14. Experimento de liberación del ligando mediante la hidrólisis con *O*-bencilhidroxilamina. **a)** Estudio cinético en el cual se siguió la desaparición de la banda a 431 nm con el tiempo para el complejo **L5** en **D25** ( $0,31 \mu\text{M}$ ) en una disolución de *O*-bencilhidroxilamina (1 mM) en 10% DMSO/ $\text{CHCl}_3$ ; **b)** Espectros de UV antes (línea rosa) y después (línea gris) de la adición de *O*-bencilhidroxilamina. La adición de la hidroxilamina provocó el desplazamiento de la banda Soret hacia la longitud de onda de 421 nm.

## **Conclusiones/Conclusions**

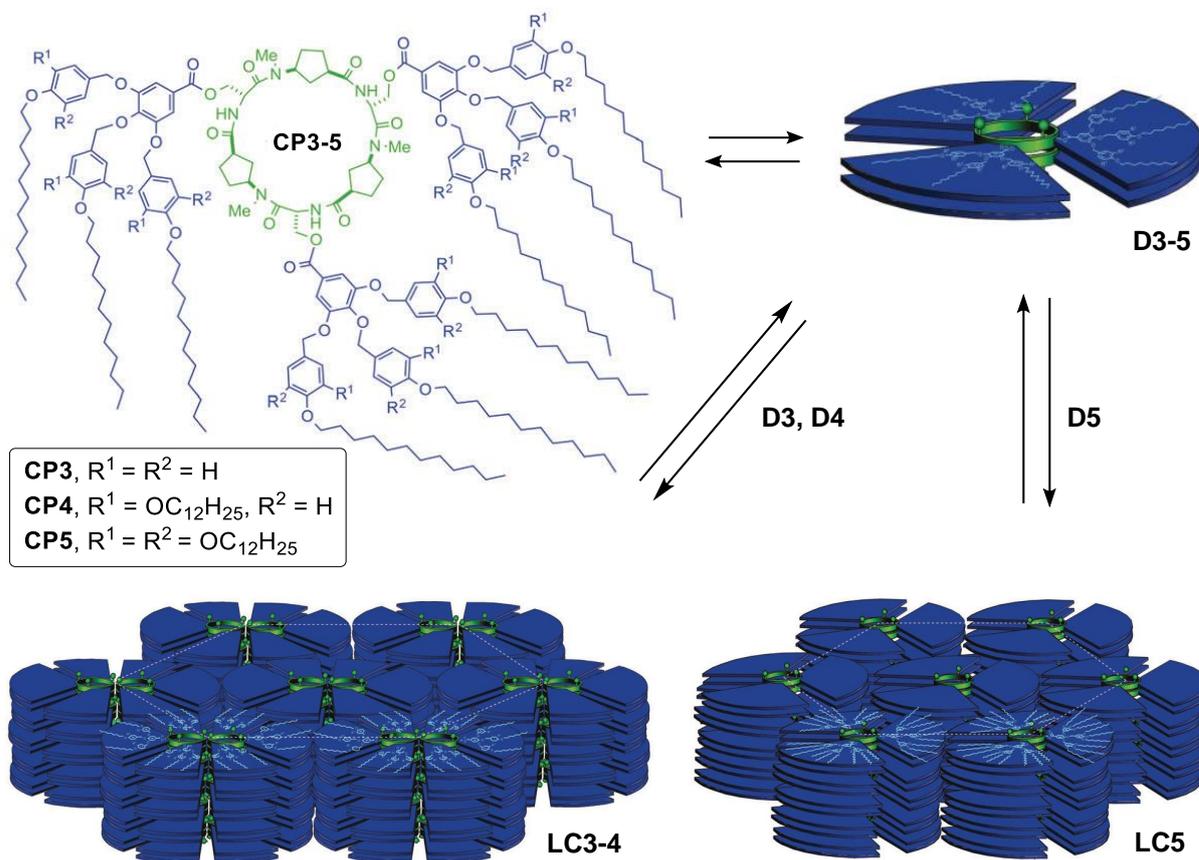




En resumen, a lo largo de esta tesis doctoral se ha descrito el diseño, la síntesis y las propiedades de estructuras mesógenas y cápsulas moleculares basadas en  $\alpha,\gamma$ -ciclopéptidos.

En el primer capítulo, en colaboración con el grupo de Teresa Sierra, se abordó la preparación de materiales porosos usando moléculas discóticas formadas por un ciclopéptido central decorado con dendrones, que portan un número variable de colas alquílicas. Para la formación de la molécula discótica se propusieron dos estrategias: la covalente, en la cual el péptido y los dendrones se unen mediante enlaces covalentes, y la supramolecular, en la que ambos componentes interactúan a través de enlaces de hidrógeno.

Los derivados covalentes **CP3-5** se prepararon mediante el acoplamiento de un ciclohexapéptido *N*-metilado, que incorpora tres residuos de serina en la secuencia peptídica, con tres dendrones distintos que se diferencian en el número de cadenas hidrocarbonadas presentes en la estructura (Figura 72).

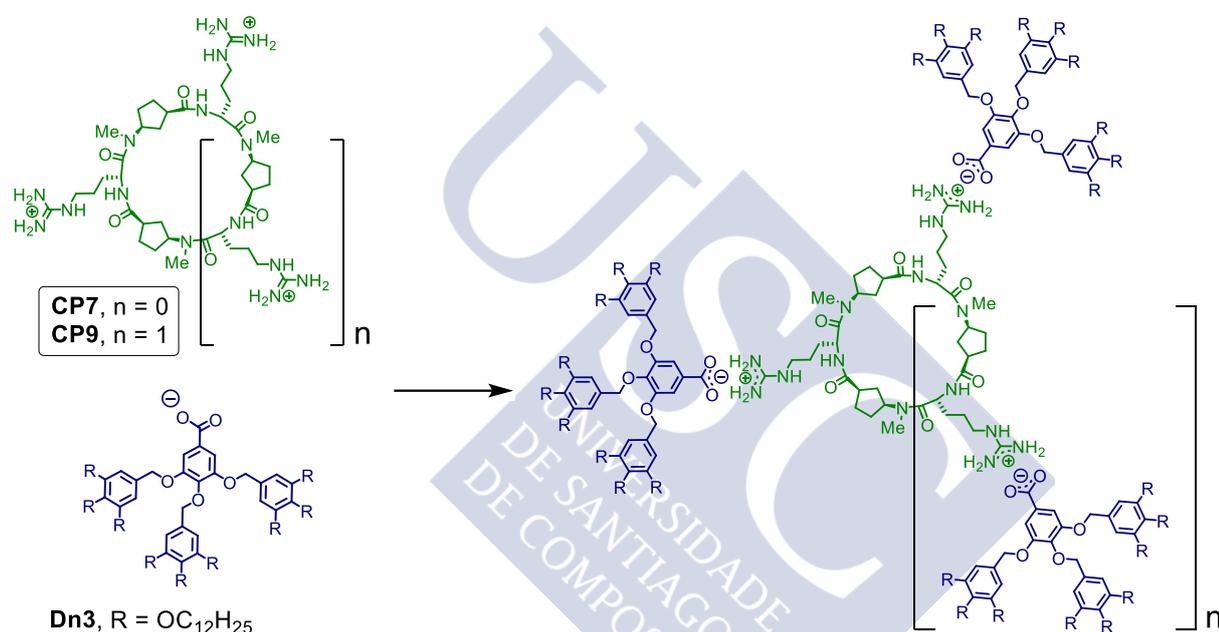


**Figura 72.** Representación de la formación de la mesofase a partir de las moléculas discóticas covalentes **CP3-5**. Dependiendo del número de cadenas alquílicas unidas al dendrón, se obtienen materiales porosos con canales simples o dobles.

Los espectros de RMN revelaron que dichos derivados se encontraban en la forma dimérica en disolución. Además, los estudios en estado sólido (POM, DSC y difracción de rayos X) mostraron que las tres especies (**CP3-5**) presentaban fases de cristal líquido con un ordenamiento columnar hexagonal ( $Col_h$ ). Adicionalmente, dependiendo del dendrón

utilizado (**Dn1-3**) se obtuvieron estructuras con canales simples o dobles. De este modo, las moléculas discóticas **CP3** y **CP4**, que contienen dendrones funcionalizados con 3 y 6 colas hidrocarbonadas, respectivamente, conducían a la formación de canales dobles; mientras que el compuesto más voluminoso **CP5** generaba mesofases con canales simples (Figura 72).<sup>288</sup>

Por otra parte, las moléculas discóticas supramoleculares se prepararon mediante el autoensamblaje de ciclopéptidos derivados de arginina con el dendrón que porta 9 cadenas alquílicas en su estructura (**Dn3**). En este caso se sintetizaron dos CPs distintos, un tetrapéptido y un hexapéptido, para generar los heterocomplejos 1:2 y 1:3, respectivamente (Figura 73). Con estos agregados se llevaron a cabo estudios en estado sólido, que mostraron un comportamiento mesomórfico en ambos casos. Pero, desafortunadamente, no se puso a determinar el tipo de mesofase en ninguno de los dos casos.



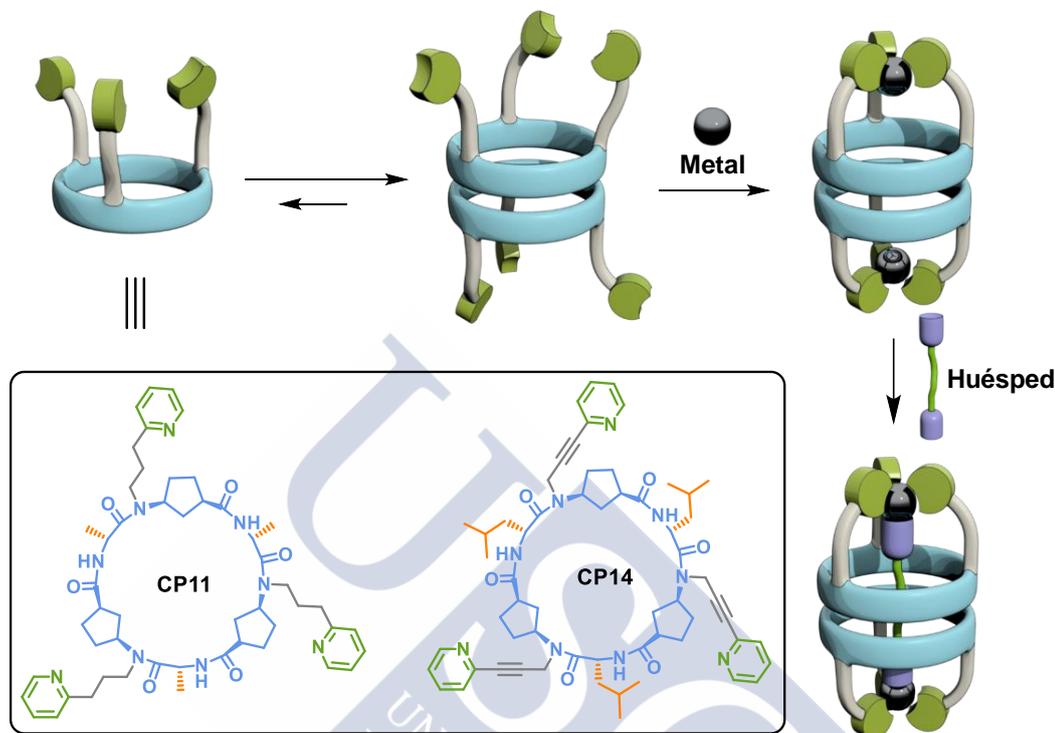
**Figura 73.** Preparación de moléculas discóticas supramoleculares a partir de **CP7** o **CP9** y el dendrón **Dn3**.

En los capítulos 2 y 3, se describió la preparación de cápsulas moleculares provistas de grupos con capacidad de actuar como directores de la encapsulación proyectados hacia la cavidad interna a partir de  $\alpha,\gamma$ -ciclopéptidos. Con este propósito, las estructuras peptídicas se modificaron con tapas moleculares apropiadas para promover la internalización de distintas moléculas huésped en el interior del receptor.

El primer diseño que exploramos consistía en un dímero de cilohexapéptidos funcionalizados con tres piridinas. La molécula anfitrión abierta se sintetizó mediante una reacción de acoplamiento cruzado entre el CP *N*-propargilado y las correspondientes piridinas, bajo dos condiciones de Sonogashira distintas. Las condiciones acuosas requirieron la reducción *in situ* de los grupos alquino para impedir la adición de moléculas de agua a los

<sup>288</sup> Amorín, M.; Pérez, A.; Barberá, J.; Ozores, H. L.; Serrano, J. L.; Granja, J. R.; Sierra, T. *Chem. Commun.* **2014**, 50, 688-690.

triples enlaces, mientras que la reacción en disolventes orgánicos condujo a la obtención de la especie acetilénica. El cierre de ambas estructuras (**CP11** and **CP14**) se obtuvo mediante la adición de distintos metales de geometría tetraédrica, que dejan un posición de coordinación orientada hacia la posición *endo* (Figura 74).



**Figura 74.** Representación de la preparación de cápsulas moleculares a partir de los ciclohexapéptidos **CP11** y **CP14**. El receptor cerrado se obtuvo mediante la adición de metales que inducen una geometría de coordinación tetraédrica.

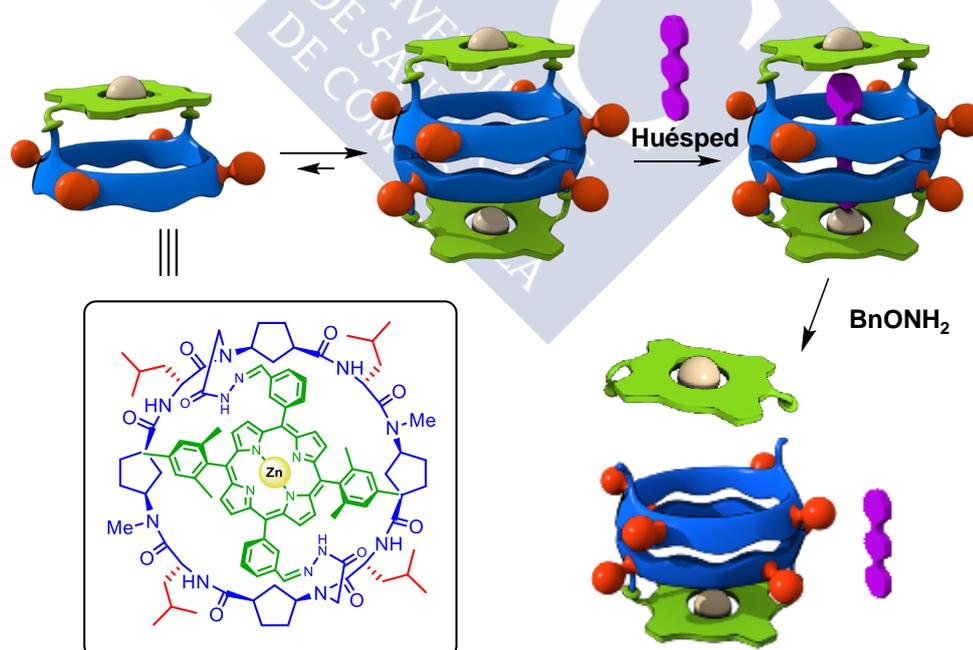
La incorporación de Ag(I), Cu(I) o Zn(II) al ciclo péptido **CP11** dio lugar a la formación de complejos insolubles en cloroformo. Únicamente el Zn(II) proporcionó una especie parcialmente soluble. Por tanto, los experimentos de adición se llevaron a cabo inicialmente con el heterodímero **D11-12**. La incorporación de cantidades crecientes de Ag(I), Cu(I) o Zn(II) al compuesto **D11-12** provocó pequeños cambios en los espectros de  $^1\text{H}$ -RMN, sugiriendo la existencia de procesos de intercambio rápido.

Con el objetivo de incrementar la solubilidad, se preparó un ciclo péptido más hidrofóbico (**CP14**). A pesar de ello, la adición del centro metálico condujo a resultados similares a los obtenidos con **CP11**. Por el contrario, la incorporación de una sal de cobre con un contraión voluminoso ( $[\text{Cu}(\text{CH}_3\text{CN})_4][\text{BAr}^{\text{F}}_4]$ ) en THF causó cambios significativos en la región aromática de **CP14**. Pero, en estas condiciones, el centro metálico se oxidó rápidamente. Para prevenir la conversión de Cu(I) en Cu(II) se utilizó una sal con un carácter más covalente (CuI). Bajo estas condiciones, se obtuvo una mezcla del complejo deseado y la especie desmetalada en una relación de 2:1.



de las posiciones de coordinación hacia la cavidad interna. Bajo estas premisas, se obtuvo el receptor cerrado que incorporaba rutenio (III) como centro metálico. Pero, desafortunadamente, los bajos rendimientos no permitieron obtener cantidad de compuesto suficiente para llevar a cabo los estudios de encapsulación.

Continuando con la idea de preparar cápsulas moleculares basadas en ciclooctapéptidos, se exploró el uso de metaloporfirinas para realizar el cierre de la estructura. El receptor deseado se obtuvo a partir de un ciclooctapéptido, que portaba dos grupos hidracina, y una porfirina de Zn funcionalizada con dos aldehídos complementarios, mediante la formación de los correspondientes enlaces covalentes dinámicos. La cápsula resultante **D25** se ensayó en el reconocimiento de bipyridinas. En primer lugar, el proceso se estudió por UV-vis. A través de los resultados obtenidos en las valoraciones se pudo calcular la constante de asociación y la molaridad efectiva para cada ligando. El análisis de estos datos permitió concluir que los mejores candidatos eran los que presentaban una distancia entre nitrógenos de entre 15.8 y 16.6 Å. Con el objetivo de profundizar en la naturaleza del reconocimiento se llevaron a cabo experimentos de DOSY, NOESY y ROESY. La presencia de nOes entre los protones internos del receptor y los protones del espaciador de las bipyridinas ensayados proporcionó una evidencia clara de la encapsulación del ligando. Finalmente, el ligando encapsulado se pudo liberar aprovechando el carácter reversible de los conectores entre el dímero y las tapas. De este modo, la adición de *O*-bencilhidroxilamina provocó la hidrólisis de los conectores y la formación de los enlaces oxima con las porfirinas, liberando así el ligando atrapado en el interior de la estructura (Figura 76).<sup>289</sup>



**Figura 76.** Representación de los procesos de reconocimiento y liberación de bipyridinas en una cápsula molecular basada en un dímero de ciclooctapéptidos cerrado por dos metaloporfirinas.

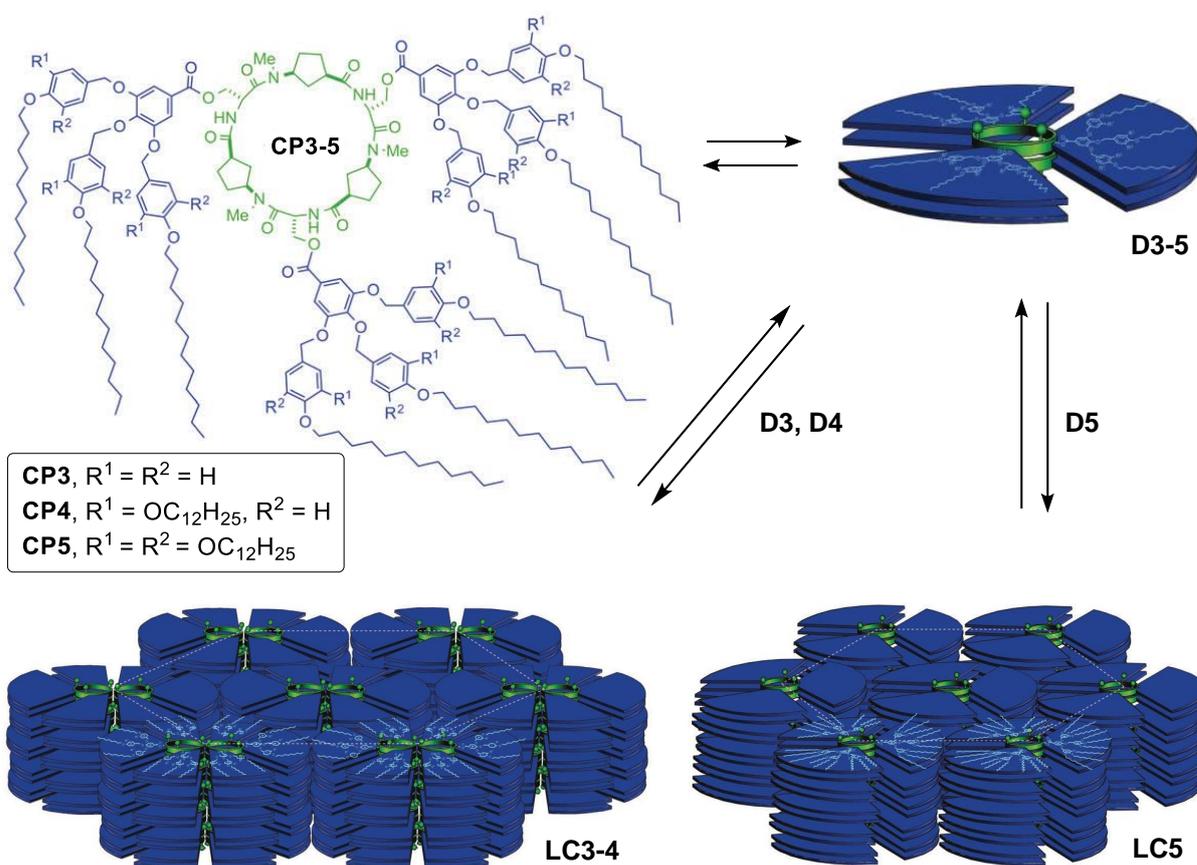
<sup>289</sup> Ozores, H. L.; Amorín, M.; Granja, J. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, *139*, 776-784.



In summary, throughout this Ph.D. dissertation we have described the design, synthesis and properties of some mesogenic structures and molecular capsules based on  $\alpha,\gamma$ -cyclic peptides.

In the first chapter, in collaboration with the group of Teresa Sierra, we discussed the preparation of porous materials using discotic molecules formed by a cyclic peptide core and peripheral dendrons, bearing a variable number of alkyl chains. For this purpose, two different approaches were tested: the covalent one, in which the two components of the discotic units are linked by covalent bonds, and the supramolecular one, where the hydrogen bonding leads to the formation of the disc-shaped molecule.

The covalent compounds **CP3-5** were prepared by coupling of a *N*-methylated cyclic hexapeptide, incorporating serine residues, with three dendrons that differentiate from each other in the number of tails present in the molecule (Figure 72).

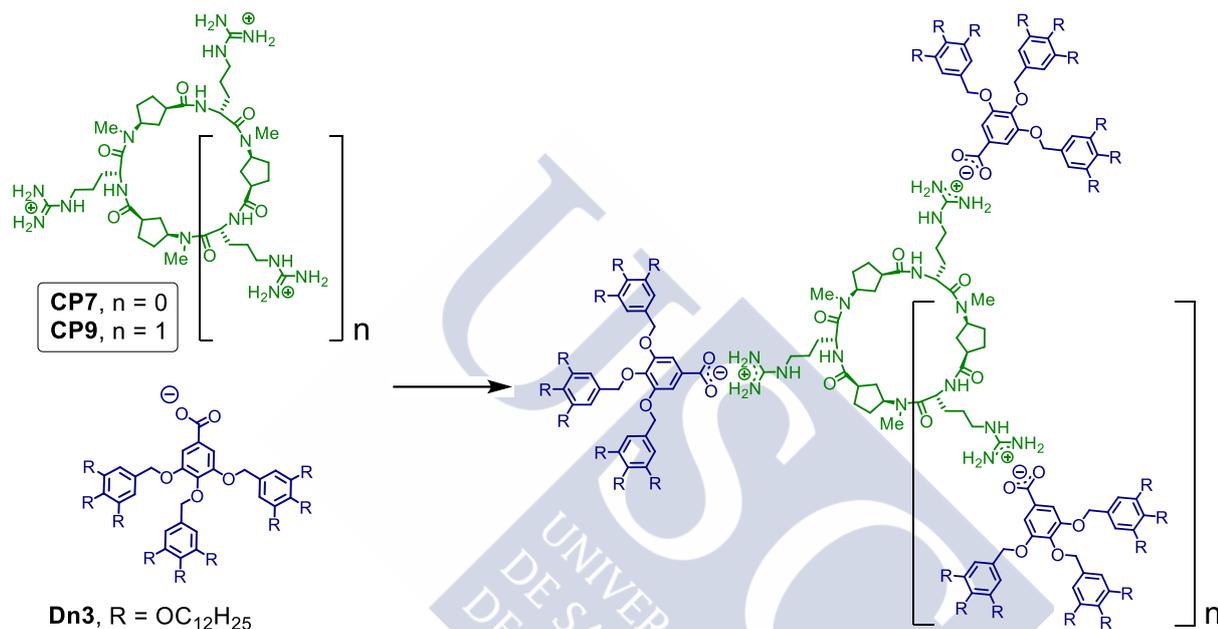


**Figure 72.** Formation of mesophases from covalent discotic molecules **CP3-5**. Depending on the number of alkyl chains attached to the dendron, single or double channel materials were obtained.

NMR spectra revealed that such compounds are in the dimeric form in solution. Moreover, solid-state studies (POM, DSC and X-ray diffraction) showed the formation of liquid crystal phases with a hexagonal columnar ( $Col_h$ ) arrangement for all the three species (**CP3-5**). Furthermore, single or double channels were obtained depending on the dendron (**Dn1-3**) selected to form the discotic unit. Thus, compounds **CP3** and **CP4**, bearing dendrons

functionalized with 3 and 6 hydrocarbon tails respectively, led to the formation of double channels; while bulkier **CP5** generated a single channel material (Figure 72).<sup>288</sup>

On the other hand, supramolecular discotic molecules were formed by the self-assembly of arginine-based cyclic peptides and the dendron bearing 9 alkyl chains (**Dn3**). In this case, two different CPs, a tetrapeptide and a hexapeptide, were synthesized to form the 1:2 and 1:3 heterocomplex, respectively (Figure 73). Solid-state studies of these assemblies showed mesomorphic behavior in both cases, but unfortunately, the type of mesophase could not be determined.

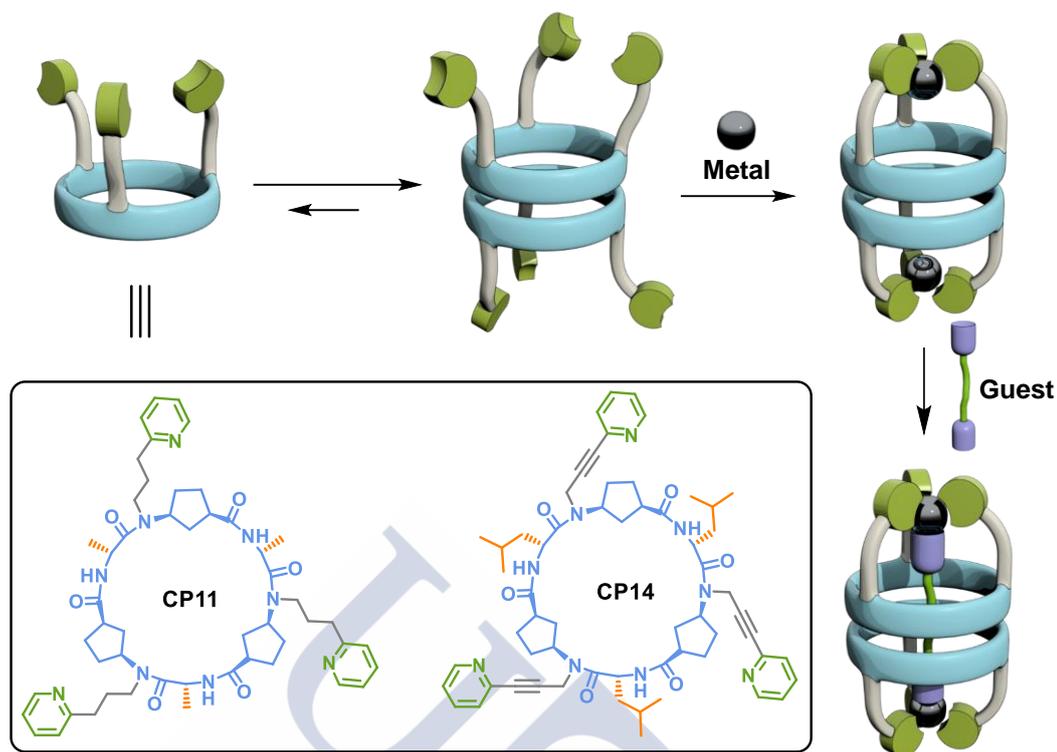


**Figure 73.** Preparation of supramolecular discotic molecules from **CP7** or **CP9** and Dendron **Dn3**.

In chapters 2 and 3, we focused on the preparation of molecular capsules with functionalized interiors from  $\alpha,\gamma$ -cyclic peptides. For this purpose, the peptidic scaffolds were modified by suitable caps, that are able to promote de encapsulation of guests in the inner cavity.

The first design that we explored involved a dimer of cyclic hexapeptides functionalized by three pyridines. The open host molecule was synthesized by a cross-coupling reaction between the *N*-propargylated CP and the corresponding pyridines under two different Sonogashira conditions. Aqueous conditions required the reduction *in situ* of alkyne groups to prevent the water addition to the triple bond, while the reaction in organic solvents led to the acetylenic species. The closure of the two structures (**CP11** and **CP14**) was achieved by adding different tetrahedral metals which leaves a coordination site pointed towards the *endo* position (Figure 74).

<sup>288</sup> Amorín, M.; Pérez, A.; Barberá, J.; Ozores, H. L.; Serrano, J. L.; Granja, J. R.; Sierra, T. *Chem. Commun.* **2014**, 50, 688-690.



**Figure 74.** Preparation of molecular capsules from cyclic hexapeptides **CP11** and **CP14**. The enclosed host is achieved by means of the addition of a tetrahedral metal.

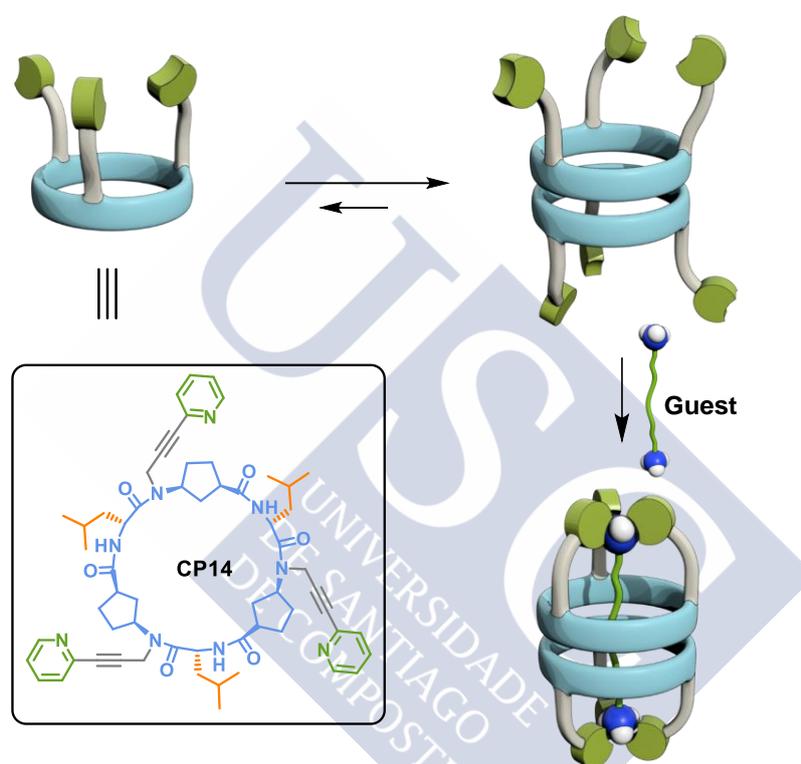
The incorporation of Ag(I), Cu(I) or Zn(II) to **CP11** led to the formation of insoluble complexes in chloroform. Only Zn(II) provided a partially soluble species. Therefore, the addition experiments were carried out initially with the heterodimer **D11-12**. The incorporation of increasing amounts of Ag(I), Cu(I) or Zn(II) to the aforementioned compound (**D11-12**) caused small changes in the NMR spectra, suggesting the existence of fast exchange processes.

In order to increase the solubility, the more hydrophobic **CP14** was prepared. However, the addition of the metal center provided similar results. In contrast, the incorporation of a copper salt with a bulkier counterion ( $[\text{Cu}(\text{CH}_3\text{CN})_4][\text{BAr}^{\text{F}}_4]$ ) in THF caused significant changes in the aromatic region of **CP14**, even though the metal center was rapidly oxidized. To prevent the Cu(I) to Cu(II) conversion we used the more covalent CuI salt. Under these conditions, the desired complex was obtained in mixture with the unmetallated form in a ratio 2:1.

Although the interaction between the host and the metal was observed in all cases, no evidence of guest encapsulation was obtained; neither in the homodimeric, nor in the heterodimeric species.

In addition, the open host **D14** was tested in the encapsulation of diammonium ligands (Figure 75). For this purpose, three different diammoniums, one short (butane-1,4-diammonium, **S1**) and two with the correct size to reach the both tripodal ligands of the dimer (hexane-1,6-diammonium, **S2** and octane-1,8-diammonium, **S3**), were studied.  $^1\text{H}$ -

NMR spectra and DOSY experiments of **D14/S1-3** 1:1 mixtures confirmed the interaction between the components in all cases. In order to determine the nature of the assemblies, DOSY experiments at different concentrations were performed. The results showed a dependence between the hydrodynamic radius ( $r_H$ ) and the concentration for the solutions containing **S1** or **S3**. Therefore, both ligands should cause the formation of large aggregates. On the other hand, the size was independent of the concentration for the ligand **S2**, suggesting the obtention of the 1:1 complex. Unfortunately, nOe cross-peaks between the internal protons of the host and the ligand linker were not observed. Thus, the formation of the encapsulated species could not be fully demonstrated.

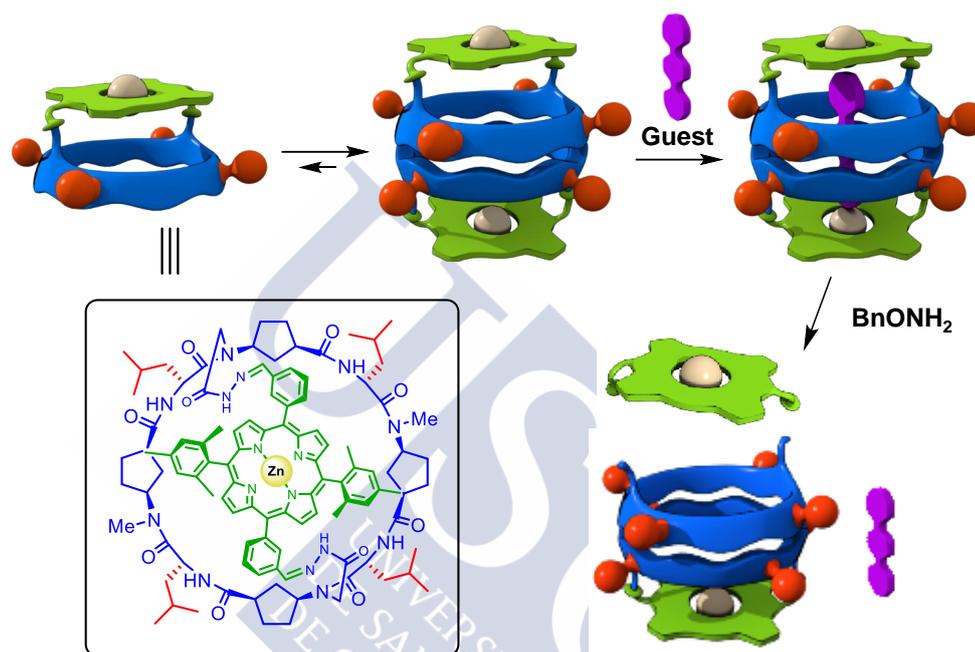


**Figure 75.** Supramolecular recognition of diammonium ligands in the inner cavity of the pyridine host.

Next, we synthesized larger capsules by using cyclic octapeptide scaffolds. With the aim of implementing the previously used strategy, we incorporated a bipyridine and a terpyridine in the peptidic skeleton to coordinate octahedral metals, leaving a coordination site pointed towards the *endo* position. The enclosed host was achieved by addition of ruthenium (III) but, unfortunately, the low yields obtained did not allow carrying out the encapsulation studies.

Continuing with the idea of obtaining cyclic octapeptide-based capsules, we explored the use of metalloporphyrins to close the structure. The empty host was prepared from a cyclic octapeptide, bearing two hydrazine groups, and a dibenzaldehyde Zn-porphyrin by means of a dynamic covalent reaction. The supramolecular capsule **D25** was tested in the recognition of a variety of bipyridines. The UV-vis titrations allowed to obtain the association constants and the effective molar values. The results showed that the best ligands

were those with an internitrogen separation between 15.8 and 16.6 Å. In order to determine the nature of recognition, DOSY, NOESY and ROESY experiments were performed. The presence of nOe cross-peaks between the internal protons of the host and the ligand linkers, provided clear evidences of the guest encapsulation. Finally, the encapsulated guests could be released by using the reversibility of the hydrazone connections. The addition of *O*-benzylhydroxylamine caused the hydrolysis of the connectors together with the formation of an oxime bond with the porphyrin cap, releasing in this way the entrapped ligand (Figure 76).<sup>289</sup>



**Figure 76.** Representation of bypiridine recognition and release processes in the cavity of a cyclic octapeptide-based porphyrin capsule.

<sup>289</sup> Ozores, H. L.; Amorín, M.; Granja, J. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, *139*, 776-784.





## **Parte experimental**



## 1. Descripción general

Los  $\alpha$ -aminoácidos y los agentes de acoplamiento *N*-HATU, *N*-HBTU, *N*-TBTU, HOBT, y EDC-HCl, fueron adquiridos en Iris Biotech, Novabiochem, Advanced Chemtech, Aldrich o GL Biochem (Shanghai) Ltd. Todos los reactivos de partida provienen de casas comerciales a no ser que se indique lo contrario. El tetrakis(trimetilsililo)silano (TMSS) se adquirió en Alfa Aesar. Tanto los disolventes deuterados ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ ,  $\text{D}_2\text{O}$ ,  $\text{MeOH-}d_3$ ,  $\text{MeOH-}d_4$ ,  $\text{DMSO-}d_6$ ,  $\text{THF-}d_8$ ), como las bases DMAP, piperidina y DIEA se obtuvieron a través de Sigma-Aldrich. La DIEA empleada para la síntesis en disolución se destiló sobre hidruro cálcico, sobre ninhidrina y posteriormente se almacenó bajo atmósfera inerte con tamices moleculares. Los disolventes utilizados fueron de calidad Síntesis o HPLC y se utilizaron sin ninguna purificación adicional, excepto el diclorometano, que fue destilado sobre hidruro cálcico, y el tetrahidrofurano, que se destiló sobre sodio/benzofenona.<sup>290,291</sup>

Las cromatografías en capa fina se realizaron con láminas de sílica Merck 60 F<sub>254</sub> o alúmina neutra Merck 60 F<sub>254</sub>, sobre soporte de aluminio. El análisis de las placas cromatográficas se llevó a cabo con una lámpara de UV. Los compuestos que no mostraron actividad en ultravioleta se revelaron sumergiendo la capa fina en una disolución de Ninhidrina (2% en Etanol) o Ce/Mo (200 mg de  $(\text{NH}_4)_2\text{Ce}(\text{NO}_3)_6$ , 9.6 g de molibdato amónico, 11.2 mL  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 200 mL  $\text{H}_2\text{O}$ ) y aplicando calor posteriormente son un decapador. Para las columnas cromatográficas se empleó como fase estacionaria sílica-gel Acros 60 A, 40-60  $\mu\text{m}$  y alúmina básica Merck 90 active. Los disolventes empleados en las purificaciones fueron hexano, acetato de etilo, diclorometano y metanol. Las mezclas de disolventes se expresan como relación v/v.

En las purificaciones de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) se utilizaron los equipos Hitachi D-7000 (fase normal) y Agilent serie 1100 (fase reversa). La fase móvil utilizada se especifica en cada caso, pero de forma general se empleó una mezcla de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  y MeOH para las purificaciones en fase normal, mientras que para las purificaciones en fase reversa se utilizó una mezcla de  $\text{H}_2\text{O}$  y  $\text{CH}_3\text{CN}$  con 0.1% de TFA. Las columnas empleadas para realizar los análisis de cromatografía líquida y las purificaciones fueron: Phenomenex Luna 5u Silica (5  $\mu\text{m}$ , 250 x 10 mm) (fase normal) y Agilent Eclipse XDB-C18 (5  $\mu\text{m}$ , 150 x 4.6 mm) (fase reversa). Para las purificaciones mediante exclusión por tamaños se empleó la resina lipofílica Sephadex® LH20 suministrada por Sigma-Aldrich. Los procesos de intercambio iónico se llevaron a cabo empleando una resina Amberlite® CG-400.

Los experimentos de resonancia magnética se llevaron a cabo en los espectrómetros Varian Inova 500 MHz, Varian Inova 400 MHz, Varian Mercury 300 MHz y Bruker DPX 250. Los desplazamientos químicos ( $\delta$ ) se expresaron en partes por millón (ppm) usando la señal del TMS, TMSS o del propio disolvente deuterado como referencia. Las constantes de acoplamiento (*J*) se expresaron en Hz. Las señales de  $^1\text{H}$ -RMN se asignaron en función de los

<sup>290</sup> Brown, H. C. "Organic Sintesis via Boranes", Ed. John Wiley & Sons, 1975.

<sup>291</sup> Perrin, D. D.; Armarego, W. I. F. "Purification of Laboratory Chemical", Ed. Pergamon Press, 1988.

patrones de desdoblamiento como singlete (s), doblete (d), triplete (t), cuádruplete (c), quintuplete (q) o multiplete (m). Las señales anchas se asignaron como br. En el caso de los  $\alpha,\gamma$ -ciclopéptidos las señales de los espectros de  $^1\text{H}$ -RMN se asignaron a partir de los correspondientes experimentos bidimensionales COSY, TOCSY, NOESY y/o ROESY, adquiridos a la concentración y temperatura indicada. Los tiempos de mezcla (entre 250-1000 ms) no se optimizaron. En los espectros de  $^{13}\text{C}$ -RMN, la asignación de señales se realizó empleando experimentos DEPT-135 (Distortionless Enhancement by Polarization Transfer), obtenidos con un ángulo de  $135^\circ$ .

Los espectros de masas de baja resolución se llevaron a cabo en los equipos LC/MS Bruker Amazon SL y Agilent 1100 series. Los espectros de masas de alta resolución se realizaron en el Servicio de Espectrometría de Masas y Proteómica de la Universidad de Santiago de Compostela, usando los equipos Bruker Autoflex, Bruker Amazon ETD, Ultraflex III TOF/TOF y Micromass Autospec. Para los espectros de MALDI-TOF la matriz empleada fue el ácido  $\alpha$ -ciano-4-hidroxicinámico (HCCA) o el ditranol. Los datos obtenidos se expresan en unidades de masa por unidad de carga ( $m/z$ ) y los valores entre paréntesis corresponden a las intensidades relativas al pico base.

Las medidas de FTIR se realizaron en un equipo JASCO FT/IR-400, usando disoluciones 5-10 mM en  $\text{CHCl}_3$  depositadas sobre pastillas de  $\text{CaF}_2$ , o en un espectrómetro Spectrum Two, depositando la muestra disuelta en  $\text{CHCl}_3$  directamente. Para las medidas en disolución, que también se realizaron en el JASCO FT/IR-400, se utilizó una celda de IR de  $\text{CaF}_2$ .

Las medidas de rotación óptica  $[\alpha]_D^T$  se llevaron a cabo en un polarímetro digital Jasco DIP-370 DIGITAL POLARIMETER, utilizando la longitud de onda correspondiente a la línea D del sodio y empleando en todos los casos MeOH de calidad HPLC como disolvente.

Las medidas de UV/VIS se llevaron a cabo en el espectrómetro Cary 100 Bio UV/Visible, utilizando una microcubeta estándar Hellma.

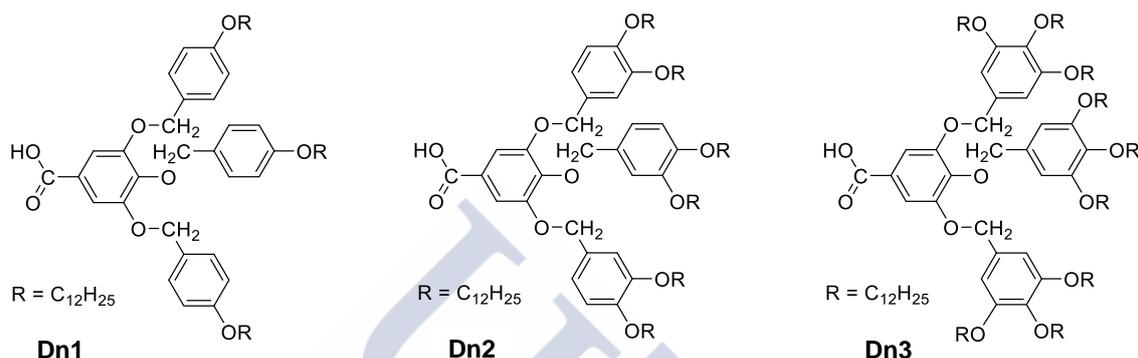
Los estudios en estado sólido del capítulo 1 fueron realizados por el grupo de los profesores Teresa Sierra y José Luis Serrano, en la Universidad de Zaragoza. Los experimentos de calorimetría diferencia de barrido (DSC) se llevaron a cabo con los instrumentos de DSC-MDSC TA, Q-20 y Q-2000. Las texturas de cristal líquido se analizaron en un microscopio de luz polarizada Olympus BX-50, equipado con un dispositivo de calentamiento Linkam TMS91 y un procesador central de etapa caliente CS196. Las microfotografías se tomaron con una cámara digital Olympus DP12-2. Las medidas de difracción de rayos X se llevaron a cabo a temperatura ambiente usando una cámara Pinhole (Anton-Paar), operando con un haz de  $\text{Cu K}\alpha$  con filtro de Ni. La muestra se depositó en capilares de vidrio Lindemann (1 mm de diámetro) perfectamente sellados y calentados, cuando fue necesario, con un sistema de temperatura variable. Los patrones de difracción se recogieron en una película fotográfica plana perpendicular al haz de rayos X.

## 2. Capítulo 1

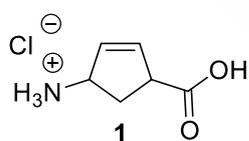
### 2.1. Síntesis y caracterización

#### 2.1.1. Dendrones

Los dendrones **Dn1**, **Dn2** y **Dn3**; facilitados por los Profesores José Luis Serrano y Teresa Sierra, se prepararon siguiendo procedimientos sintéticos descritos previamente en bibliografía.<sup>251</sup>

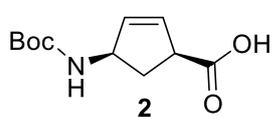


#### 2.1.2. Péptidos



**Hidrocloreuro del ácido *cis*-4-aminociclopent-2-enocarboxílico (ClH.H- $\gamma$ -Ace-OH) (1):** Una disolución de **2-azabicyclo [2.2.1]hept-5-en-3-ona** (25.0 g, 229 mmol) en HCl diluido (10%, 1.3 L) se agitó durante 24 h a ta.

La disolución se concentró a presión reducida y el aceite resultante se lavó sucesivamente con acetona, dando lugar al **ClH.H- $\gamma$ -Ace-OH** como un sólido blanco, que se filtró y le lavó con acetona [37.0 g, 99%,  $R_f = 0.46$  (50% MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)]. <sup>1</sup>H-RMN (D<sub>2</sub>O, 250 MHz,  $\delta$ ): 6.18 (d,  $J = 5.6$  Hz, 1H), 6.04-5.79 (m, 1H), 4.36 (m, 1H), 3.81-3.60 (m, 1H), 2.63 (dt,  $J = 14.6$  y 8.5 Hz, 1H), 2.03 ppm (dt,  $J = 14.6$  y 4.9 Hz, 1H).<sup>182</sup>

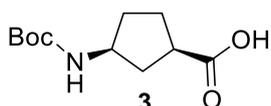


**Ácido (1*S*,4*R*)-4-(*tert*-butiloxicarbonilamino)ciclopent-2-enocarboxílico (Boc-*L*- $\gamma$ -Ace-OH) (2):** Una disolución de **ClH.H- $\gamma$ -Ace-OH** (37.0 g, 226 mmol) en una mezcla de H<sub>2</sub>O:dioxano (1:1, 1.5 L) se trató con DIEA (119 mL, 679 mmol) y Boc<sub>2</sub>O (74.0 g, 339 mmol). La mezcla se agitó durante 3 h a ta y posteriormente se acidificó hasta pH 3 con una disolución de HCl (10%). La disolución resultante se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x 500 mL) y las fases orgánicas

<sup>251</sup> (a) Percec, V.; Ahn, C. H.; Cho, W. D.; Jamieson, A. M.; Kim, J.; Leman, T.; Schmidt, M.; Gerle, M.; Moller, M.; Prokhorova, S. A.; Sheiko, S. S.; Cheng, S. Z. D.; Zhang, A.; Ungar, G.; Yeardley, D. J. P. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 8619-8631; (b) Percec, V.; Cho, W. D.; Mosier, P. E.; Ungar, G.; Yeardley, D. J. P. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 11061-11070; (c) Balagurusamy, V. S. K.; Ungar, G.; Percec, V.; Johansson, G. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 1539-1555.

<sup>182</sup> Brea, R. J.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Chem. Commun.* **2007**, 3267-3269.

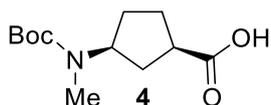
combinadas se secaron con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida para dar lugar a un aceite amarillo, que se cristalizó de una mezcla de CHCl<sub>3</sub>:hexano (1:1) para obtener Boc-*cis*- $\gamma$ -Ace-OH [50.8 g, 99%, R<sub>f</sub> = 0.71 (50% MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)]. La mezcla racémica obtenida se resolvió mediante sucesivas cristalizaciones en CHCl<sub>3</sub>:hexano (1:1), en presencia de (*R*)-1-fenil-etanamina (0.7 equivalentes). Los cristales blancos obtenidos se filtraron, se redisolviéron en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (500 mL) y se lavaron con una disolución acuosa de HCl (5%, 3 x 100 mL). La fase orgánica se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se concentró a vacío, dando lugar al **Boc-*L*- $\gamma$ -Ace-OH** como un sólido blanco. Para conseguir un e.e. > 98% se repitió este proceso al menos 3 veces, reduciendo en cada nueva cristalización la proporción de hexano y aumentando la cantidad de amina quiral empleada hasta 1 equivalente. La pureza enantiomérica se determinó mediante el Test de Marfey.<sup>292</sup> <sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 250 MHz,  $\delta$ ): 10.8 (s, 1H), 6.30 y 4.98 (m, 1H), 5.90 (s, 2H), 4.80-4.51 (m, 1H), 3.51 (s, 1H), 2.54 (m, 1H), 1.94 (m, 1H), 1.46 ppm (s, 9H). [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup> = -46.1 (*c* = 1.0 en MeOH).<sup>182</sup>



**Ácido (1*R*,3*S*)-3-(*tert*-butiloxicarbonilamino)ciclopentanocarboxílico**

**(Boc-*L*- $\gamma$ -Acp-OH) (3):** Una disolución de **Boc-*L*- $\gamma$ -Ace-OH** (20.0 g, 88.0 mmol) y Pd/C (10% en peso, 9.36 g, 8.80 mmol) en EtOH (440

mL) se agitó bajo atmósfera de hidrógeno (presión de globo) a ta durante 12 h. Transcurrido ese tiempo, la mezcla se filtró a través de celita y las aguas madres se concentraron a presión reducida, dando lugar al **Boc-*L*- $\gamma$ -Acp-OH**. [20.0 g, 99%, R<sub>f</sub> = 0.60 (10% MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)]. <sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 250 MHz,  $\delta$ ): 6.34 y 5.03 (m, 1H, NH), 4.15-3.73 (m, 1H, H $\gamma$ ), 2.81 (m, 1H, H $\alpha$ ), 1.39 ppm (s, 9H, Boc). [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup> = -16.8 (*c* = 1.0 en MeOH).<sup>178</sup>



**Ácido (1*R*,3*S*)-3-[(*tert*-butiloxicarbonil)metilamino]ciclopentanocarboxílico**

**(Boc-*L*-MeN- $\gamma$ -Acp-OH) (4):** Una disolución de **Boc-*L*- $\gamma$ -Acp-OH** (6.00 g, 26.2 mmol) en THF seco (262 mL) se enfrió a 0 °C y se

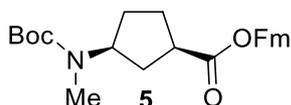
trató con NaH (60% en aceite mineral, 3.14 g, 78.6 mmol). La mezcla resultante se agitó a esa temperatura durante 30 min, y a continuación se añadió MeI (4.98 mL, 78.6 mmol). Después de agitar la mezcla resultante durante 12 h a ta, la reacción se monitorizó mediante ccf y se comprobó que todavía quedaba sustancia de partida; por tanto, se añadieron 3 equivalentes más de NaH (60% en aceite mineral), (3.14 g, 78.6 mmol) y otros 3 de MeI (4.98 mL, 78.6 mmol). La mezcla se agitó durante 3 h a ta. Una vez confirmada la completa desaparición de la sustancia de partida, se adicionó H<sub>2</sub>O (30 mL) para neutralizar el exceso de NaH, y el THF se eliminó a presión reducida. Posteriormente, la fase acuosa resultante se lavó con Et<sub>2</sub>O (3 x 50 mL), se acidificó hasta un pH de 3 mediante la adición de una disolución acuosa de HCl (10%) y se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x 50 mL). Las fases orgánicas combinadas se secaron con

<sup>292</sup> Szókán, G.; Mezö, G.; Hudecz, F. J. *Chromatography* **1988**, *444*, 115-122.

<sup>182</sup> Brea, R. J.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Chem. Commun.* **2007**, 3267-3269.

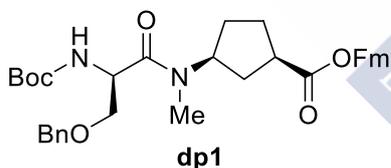
<sup>178</sup> Brea, R. J.; Amorín, M.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 5710-5713.

Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El crudo se cristalizó de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/hexano para obtener el **Boc-L-MeN-γ-Acp-OH** como un sólido blanco. [5.61 g, 88%, R<sub>f</sub> = 0.58 (10% MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)]. <sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 250 MHz, δ): 4.53 (m, 1H, H<sub>γ</sub>), 2.82 (m, 1H, H<sub>α</sub>), 2.76 (s, 3H, NMe), 1.46 ppm (s, 9H, Boc). [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = -23.0 (c = 0.80 en MeOH).<sup>178</sup>



**(1R,3S)-3-[(*tert*-butiloxycarbonil)metilamino]ciclopentanocarboxilato de 9H-fluoren-9-ilmetilo (**Boc-L-MeN-γ-Acp-OFm**) (5):**

Una disolución de **Boc-L-MeN-γ-Acp-OH** (2.50 g, 11.8 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> seco (118 mL) se trató con EDC.HCl (3.50 g, 17.8 mmol), HOBT (2.40 g, 17.8 mmol), 9-fluorenilmetanol (18.5 g, 17.8 mmol) y DMAP (2.18 g, 17.8 mmol), y se agitó durante 3 h a ta. La mezcla resultante se lavó con una disolución acuosa de HCl (5%, 3 x 100 mL) y disolución acuosa saturada de NaHCO<sub>3</sub> (3 x 100 mL). La fase orgánica se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El crudo se purificó mediante cromatografía rápida en columna de gel de sílice (8-12% EtOAc/hexano), dando lugar al **Boc-L-MeN-γ-Acp-OFm** como un aceite amarillo [3.95 g, 85%, R<sub>f</sub> = 0.87 (50% EtOAc/hexano)]. <sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 250 MHz, δ): 7.77 (d, J = 7.4 Hz, 2H, Ar Fm), 7.61 (t, J = 7.2 Hz, 2H, Ar Fm), 7.38 (m, 4H, Ar Fm), 4.47 (m, 2H, CH<sub>2</sub> Fm), 4.31-3.99 (m, 1H, CH Fm y H<sub>γ</sub>), 2.77 (m, 1H, H<sub>α</sub>), 2.69 (s, 3H, NMe), 1.47 ppm (s, 9H, Boc).<sup>178</sup>

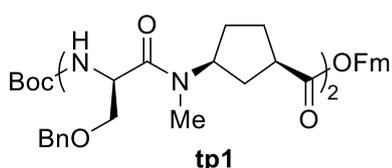


**Boc-D-Ser(Bn)-L-MeN-γ-Acp-OFm (dp1):** Una disolución de **Boc-L-MeN-γ-Acp-OFm** (1.35 g, 3.21 mmol) en una mezcla de TFA y CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:1, 32 mL) se agitó durante 15 min a ta. La disolución se concentró a presión reducida y el residuo se disolvió y concentró a sequedad de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x 10 mL). El

sólido obtenido se secó a alto vacío durante 3 h. La sal de TFA resultante se disolvió en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> seco (32 mL) y se trató sucesivamente con DIEA (2.24 mL, 12.8 mmol), Boc-D-Ser(Bn)-OH (1.04 g, 3.53 mmol) y N-HATU (1.35 g, 3.53 mmol). La mezcla se agitó bajo Ar a ta durante 1.5 h y, a continuación, se lavó con una disolución acuosa de HCl (5%, 3 x 30 mL) y disolución acuosa saturada de NaHCO<sub>3</sub> (3 x 30 mL). La fase orgánica se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El crudo se purificó mediante cromatografía rápida en columna de gel de sílice (20-30% EtOAc/hexano), dando lugar al dipéptido **dp1** como una espuma blanca. [1.50 g, 78%, R<sub>f</sub> = 0.51 (30% EtOAc/hexano)]. <sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz, δ): 7.57 (t, J = 7.3 Hz, 2H, Ar), 7.58 (d, J = 7.2 Hz, 2 H, Ar), 7.44 -7.26 (m, 9 H, Ar), 5.50 (t, J = 8.9 Hz, 1 H, NH), 4.91 (m, 1 H, H<sub>α</sub> Ser), 4.58-4.40 (m, 4 H, CH<sub>2</sub> Bn y CH<sub>2</sub> Fm), 4.31 (m, 3 H, H<sub>γ</sub> Acp), 4.20 (t, J = 6.2 Hz, 1 H, CH Fm), 2.84 y 2.74 (s, 3 H, NMe), 2.61 (m, 1 H, H<sub>α</sub> Acp), 1.44 ppm (s, 9 H, Boc). <sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 75.4 MHz, δ): 175.6 y 175.3 (CO), 171.0 y 170.3 (CO), 155.1 (CO), 143.6 (C), 141.3 (C), 137.8 (C), 137.6 (C), 128.3 (CH), 127.8 (CH), 127.6 (CH), 127.4 (CH), 127.0 (CH), 124.8 (CH), 120.0 (CH), 79.7 (C), 73.2 y 73.1

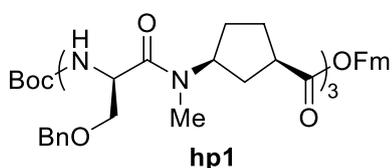
<sup>178</sup> Brea, R. J.; Amorín, M.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 5710-5713.

(CH<sub>2</sub>), 71.1 (CH<sub>2</sub>), 65.9 (CH<sub>2</sub>), 57.5 (CH), 54.2 (CH), 50.4 (CH), 50.0 (CH), 46.9 (CH), 41.5 (CH), 41.3 (CH), 38.5 (CH), 31.8 (CH<sub>2</sub>), 30.9 (CH<sub>2</sub>), 29.4 (CH<sub>3</sub>), 28.3 (CH<sub>3</sub>), 28.0 (CH<sub>2</sub>), 27.7 (CH), 27.5 (CH<sub>2</sub>), 27.3 (CH<sub>2</sub>), 27.1 ppm (CH<sub>2</sub>). **MS (ESI)** [m/z (%): 621.3 ([MNa]<sup>+</sup>, 100), 599.5 ([MH]<sup>+</sup>, 2), 543.5 ([M-*t*Bu]<sup>+</sup>, 15), 499.4 ([MH]<sup>+</sup>-Boc, 8). **HRMS (ESI) calculado** para C<sub>36</sub>H<sub>42</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>Na: 621.2935, **encontrado**: 621.2927.



**Boc-[D-Ser(Bn)-L-MeN- $\gamma$ -Acp]<sub>2</sub>-OFm (**tp1**):** Una disolución de **dp1** (234 mg, 0.391 mmol) en una mezcla de piperidina y CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:4, 4 mL) se agitó a ta durante 30 min. La mezcla resultante se lavó con una disolución acuosa de HCl (5%, 4 x 4 mL). La fase orgánica se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para dar lugar al dipéptido Boc-*D*-Ser(Bn)-*L*-MeN- $\gamma$ -Acp-OH (**dp2**), que se utilizó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

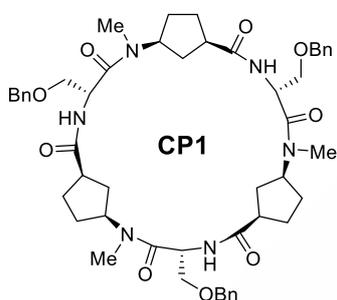
Por otra parte, una disolución de **dp1** (234 mg, 0.391 mmol) en una mezcla de TFA y CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:1, 4 mL) se agitó a ta durante 15 min. La disolución se concentró a presión reducida y el residuo se disolvió y concentró a sequedad de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x 4 mL). El sólido obtenido se secó a alto vacío durante 3 h. La sal de TFA resultante (**dp3**) se disolvió en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> seco (4 mL) y se trató sucesivamente con DIEA (273  $\mu$ L, 1.56 mmol), dipéptido desprotegido **dp2** y *N*-HBTU (163 mg, 0.430 mmol). La mezcla se agitó bajo Ar a ta durante 1 h y, a continuación, se lavó con una disolución acuosa de HCl (5%, 3 x 10 mL) y disolución acuosa saturada de NaHCO<sub>3</sub> (3 x 10 mL). La fase orgánica se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El crudo se purificó mediante cromatografía rápida en columna de gel de sílice (0-3% MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), dando lugar al tetrapéptido **tp1** como una espuma blanca. [318 mg, 90%, R<sub>f</sub> = 0.56 (5% MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)]. **MS (ESI)** [m/z (%): 923.5 ([MNa]<sup>+</sup>, 100), 900.7 ([MH]<sup>+</sup>, 10), 800.3 ([MH]<sup>+</sup>-Boc, 15). **HRMS (ESI) calculado** para C<sub>53</sub>H<sub>64</sub>N<sub>4</sub>O<sub>9</sub>Na: 923.4571, **encontrado**: 923.4677.



**Boc-[D-Ser(Bn)-L-MeN- $\gamma$ -Acp]<sub>3</sub>-OFm (**hp1**):** Una disolución de **dp1** (220 mg, 0.367 mmol) en una mezcla de piperidina y CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:4, 4 mL) se agitó a ta durante 30 min. La mezcla resultante se lavó con una disolución acuosa de HCl (5%, 4 x 4 mL). La fase orgánica se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para dar lugar al dipéptido Boc-*D*-Ser(Bn)-*L*-MeN- $\gamma$ -Acp-OH (**dp2**), que se utilizó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

Por otra parte, una disolución de **tp1** (300 mg, 0.334 mmol) en una mezcla de TFA y CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:1, 4 mL) se agitó a ta durante 15 min. La disolución se concentró a presión reducida y el residuo se disolvió y concentró a sequedad de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x 4 mL). El sólido obtenido se secó a alto vacío durante 3 h. La sal de TFA resultante (**tp2**) se disolvió en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> seco (4 mL) y se

trató sucesivamente con DIEA (233  $\mu$ L, 1.34 mmol), dipéptido desprotegido **dp2** y *N*-HBTU (139 mg, 0.367 mmol). La mezcla se agitó bajo Ar a ta durante 1 h y, a continuación, se lavó con una disolución acuosa de HCl (5%, 3 x 10 mL) y disolución acuosa saturada de NaHCO<sub>3</sub> (3 x 10 mL). La fase orgánica se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El crudo se purificó mediante cromatografía rápida en columna de gel de sílice (0-5% MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), dando lugar al hexapéptido **hp1** como una espuma blanca. [264 mg, 79%, R<sub>f</sub> = 0.38 (5% MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)]. **MS (ESI)** [m/z (%): 1225.4 ([MNa]<sup>+</sup>, 100), 1202.1 ([MH]<sup>+</sup>, 6), 1102.5 ([MH]<sup>+</sup>-Boc, 12). **HRMS (ESI) calculado** para C<sub>70</sub>H<sub>86</sub>N<sub>6</sub>O<sub>12</sub>Na: 1225.6201, **encontrado**: 1225.6214.



**$\alpha$ -[*D*-Ser(Bn)-*L*-MeN- $\gamma$ -Acp]<sub>3</sub> [CP1]:** Una disolución de hexapéptido lineal **hp1** (250 mg, 0.208 mmol) en una mezcla de piperidina y CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:4, 3 mL) se agitó a ta durante 30 min. La mezcla resultante se lavó con una disolución acuosa de HCl (5%, 4 x 5 mL). La fase orgánica se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para dar lugar al hexapéptido Boc-[*D*-Ser(Bn)-*L*-MeN- $\gamma$ -Acp]<sub>3</sub>-OH (**hp2**), que se utilizó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

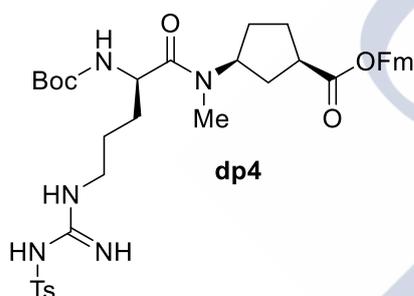
El **hp2** se disolvió en una mezcla de TFA y CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:1, 3 mL) y se agitó a ta durante 15 min. La disolución se concentró a presión reducida y el residuo se disolvió y concentró a sequedad de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x 3 mL). El sólido obtenido se secó a alto vacío durante 3 h. El hexapéptido resultante (**hp3**) se disolvió en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> seco (208 mL) y se trató con DIEA (145  $\mu$ L, 0.833 mmol) y *N*-TBTU (80.1 mg, 0.250 mmol). La mezcla se agitó bajo Ar a ta durante 12 h y, a continuación, se concentró a presión reducida. El residuo resultante se disolvió en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (15 mL) y se lavó con una disolución acuosa de HCl (5%, 3 x 10 mL) y disolución acuosa saturada de NaHCO<sub>3</sub> (3 x 10 mL). La fase orgánica se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El crudo se purificó por HPLC (Phenomenex Luna 5u, 2-15% CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH, 30 min), obteniéndose el ciclopéptido **CP1** como un sólido blanco. [138 mg, 73%, R<sub>f</sub> = 0.35 (10% MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)]. **<sup>1</sup>H-RMN** (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz,  $\delta$ ): 8.10 (d, *J* = 9.3 Hz, 3H, NH), 7.35-6.99 (m, 15H, Ar Bn), 5.27 (q, *J* = 9 Hz, 3H, H $\alpha$  Ser), 4.74 (m, 3H, H $\gamma$  Acp), 4.40 (AB, *J* = 12.5 Hz, 3H, CH<sub>2</sub> Bn), 4.30 (AB, *J* = 12.5 Hz, 3H, CH<sub>2</sub> Bn), 3.47 (t, *J* = 9.0 Hz, 3H, CH<sub>2</sub> Ser), 3.27 (dd, *J* = 8.5 y 5.3 Hz, 3H, CH<sub>2</sub> Ser), 2.95 (s, 9H, NMe), 2.86 (br, 3H, H $\alpha$  Acp), 2.30 (m, 3H, CH<sub>2</sub> Acp), 2.05 (m, 3H, CH<sub>2</sub> Acp), 1.73 (m, 9H, CH<sub>2</sub> Acp), 1.44 ppm (q, *J* = 11.3 Hz, CH<sub>2</sub> Acp). **<sup>13</sup>C-RMN** (CDCl<sub>3</sub>, 75.4 MHz,  $\delta$ ): 175.0 (CO), 171.7 (CO), 137.9 (C), 128.3 (CH), 128.0 (CH), 127.2 (CH), 72.9 (CH<sub>2</sub>), 70.4 (CH<sub>2</sub>), 54.8 (CH), 47.9 (CH), 42.6 (CH), 36.2 (CH<sub>2</sub>), 30.0 (CH<sub>3</sub>), 27.2 (CH<sub>2</sub>), 26.9 ppm (CH<sub>2</sub>). **MS (ESI)** [m/z (%): 929.5 ([MNa]<sup>+</sup>, 100), 907.5 ([MH]<sup>+</sup>, 99). **HRMS (ESI) calculado** para C<sub>51</sub>H<sub>66</sub>N<sub>6</sub>O<sub>9</sub>: 907.4964, **encontrado**: 907.4954. **FTIR (pastilla de CaF<sub>2</sub>)**:  $\nu$  = 3302 (amida A), 1672 (amida II), 1626 (amida I), 1529 cm<sup>-1</sup> (amida II). **FTIR (1.0 mM, celda de CaF<sub>2</sub>)**:  $\nu$  = 3303 (amida A), 1667 (amida II), 1627 (amida I), 1532 cm<sup>-1</sup> (amida II).

***c*-{[D-Ser(Dn1)-L-MeN- $\gamma$ -Acp-]<sub>3</sub>} (CP3):** Una disolución de CP1 (30.0 mg, 0.0331 mmol) y Pd(OH)<sub>2</sub>/C (20% en peso, 15.0 mg, 0.0214 mmol) en MeOH (1 mL) se agitó bajo atmósfera de hidrógeno (presión de globo) a ta durante 24 h. La mezcla resultante se filtró a través de celita y el residuo se lavó con MeOH. Las aguas madres se concentraron a presión reducida y el sólido resultante se secó a alto vacío durante 6 h, obteniéndose el ciclopeptido desprotegido *c*-{[D-Ser-L-MeN- $\gamma$ -Acp-]<sub>3</sub>} [CP2], que se utilizó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

El CP2 se disolvió en CHCl<sub>3</sub> (1 mL) y se trató con Dn1 (113 mg, 0.116 mmol), EDC.HCl (50.7 mg, 0.265 mmol), y DMAP (32.3 mg, 0.264 mmol). Cada 24 h se añadió una cantidad adicional de EDC.HCl (25.0 mg, 0.232 mmol) durante 3-5 días. Una vez confirmada la desaparición de la sustancia de partida por ccf, se diluyó con CHCl<sub>3</sub> (5 mL) y se lavó con una disolución acuosa de HCl (5%, 2 x 5 mL) y disolución acuosa saturada de NaHCO<sub>3</sub> (2 x 5 mL). La fase orgánica se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El crudo se purificó por HPLC (Phenomenex Luna 5u, 2-15% CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH, 30 min), dando lugar al ciclopeptido CP3 como un sólido amarillo pálido. [38.4 mg, 33%]. <sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 250 MHz,  $\delta$ ): 8.29 (br, 3H, NH), 7.32 (d, *J* = 6.7 Hz, 12H, Ar Bn), 7.27 (s, 6H, Ar), 7.20 (d, *J* = 8.6 Hz, 6H, Ar Bn), 6.85 (d, *J* = 8.6 Hz, 12H, Ar Bn), 6.72 (d, *J* = 8.6 Hz, 6H, Ar Bn), 5.59 (br, 3H, H $\alpha$  Ser), 5.30 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), 4.97 (s, 12 H, CH<sub>2</sub> Bn), 4.93 (s, 6H, CH<sub>2</sub> Bn), 4.83 (br, 3H, H $\gamma$  Acp), 4.63 (br, 3H, CH<sub>2</sub> Ser), 4.36 (br, 3H, CH<sub>2</sub> Ser), 3.95-3.85 (m, 18H, CH<sub>2</sub>O cola), 3.11 (s, 9H, NMe), 2.98 ppm (br, 3H, H $\alpha$  Acp). MS-MALDI-TOF (matriz ditranol) [*m/z* (%): 3587.4 ([MNa]<sup>+</sup>, 100). FTIR (pastilla de CaF<sub>2</sub>):  $\nu$  = 3299 (amida A), 1719 ( $\nu$  C=O, éster), 1678 (amida II), 1626 (amida I), 1539 cm<sup>-1</sup> (amida II). FTIR (5.0 mM, celda de CaF<sub>2</sub>):  $\nu$  = 3309 (amida A), 1718 ( $\nu$  C=O, éster), 1673 (amida II), 1628 (amida I), 1534 cm<sup>-1</sup> (amida II).

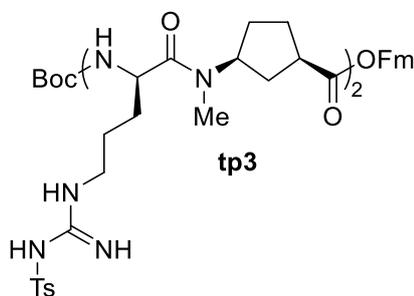
***c*-{[D-Ser(Dn2)-L-MeN- $\gamma$ -Acp-]<sub>3</sub>} (CP4):** Este compuesto se preparó utilizando el procedimiento descrito para CP1 a partir de CP1 (25.0 mg, 0.0276 mmol). Pd(OH)<sub>2</sub>/C (20% en peso, 12.5 mg, 0.0178 mmol) en MeOH (1 mL) y Dn2 (149 mg, 0.096 mmol), EDC.HCl (42.3 mg, 0.221 mmol), DMAP (26.9 mg, 0.221 mmol) en CHCl<sub>3</sub> (1 mL). El crudo se purificó por HPLC (Phenomenex Luna 5u, 2-15% CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH, 30 min) para dar lugar al ciclopeptido CP4 como un sólido amarillo pálido. [57.6 mg, 39%]. <sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz,  $\delta$ ): 8.29 (br, 3H, NH), 7.38 (s, 6H, Ar), 6.98 (s, 6H, Ar Bn), 6.90 (s, 3H, Ar Bn), 6.89 (d, *J* = 8.2 Hz, 6H, Ar Bn), 6.81 (d, *J* = 8.2 Hz, 6H, Ar Bn), 6.79 (d, *J* = 8.2 Hz, 3H, Ar Bn), 6.68 (d, *J* = 8.2 Hz, 3H, Ar Bn), 5.59 (br, 3H, H $\alpha$  Ser), 5.30 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), 4.98 (s, 12H, CH<sub>2</sub> Bn), 4.93 (s, 6H, CH<sub>2</sub> Bn), 4.84 (br, 3H, H $\gamma$  Acp), 4.64 (br, 3H, CH<sub>2</sub> Ser), 4.37 (br, 3H, CH<sub>2</sub> Ser), 3.95-3.65 (m, 36H, CH<sub>2</sub>O cola), 3.14 (s, 9H, NMe), 2.98 ppm (br, 3H, H $\alpha$  Acp). MS-MALDI-TOF (matriz ditranol) [*m/z* (%): 5246.9 ([MNa]<sup>+</sup>, 100). FTIR (pastilla de CaF<sub>2</sub>):  $\nu$  = 3286 (amida A), 1731 ( $\nu$  C=O, éster), 1674 (amida II), 1643 (amida I), 1540 cm<sup>-1</sup> (amida II). FTIR (2.5 mM, celda de CaF<sub>2</sub>):  $\nu$  = 3308 (amida A), 1717 ( $\nu$  C=O, éster), 1673 (amida II), 1629 (amida I), 1535 cm<sup>-1</sup> (amida II).

**c-[[D-Ser(Dn3)-L-MeN-γ-Acp-]<sub>3</sub>] (CP5):** Este compuesto se preparó utilizando el procedimiento descrito para **CP1** a partir de **CP1** (20.0 mg, 0.0220 mmol). Pd(OH)<sub>2</sub>/C (20% en peso, 10.0 mg, 0.0142 mmol) en MeOH (1 mL) y **Dn3** (162 mg, 0.077 mmol), EDC.HCl (33.8 mg, 0.176 mmol), DMAP (21.6 mg, 0.176 mmol) en CHCl<sub>3</sub> (1 mL). El crudo se purificó por HPLC (Phenomenex Luna 5u, 2-15% CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH, 30 min), para dar lugar al ciclopeptido **CP5** como un sólido amarillo pálido. [92.5 mg, 61%]. <sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz, δ): 8.28 (br, 3H, NH), 7.42 y 7.38 (2s, 6H, Ar), 6.63, 6.57 y 6.55 (3s, 18H, Ar Bn), 5.60 (br, 3H, H<sub>α</sub> Ser), 5.30 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), 5.00 y 4.95 (2s, 18H, CH<sub>2</sub> Bn), 4.84 (br, 3H, H<sub>γ</sub> Acp), 4.63 (br, 3H, CH<sub>2</sub> Ser), 4.40 (br, 3H, CH<sub>2</sub> Bn), 3.95-3.65 (m, 54H, CH<sub>2</sub>O cola), 3.15 (s, 9H, NMe), 3.02 ppm (br, 3H, H<sub>α</sub> Acp). **MS-MALDI-TOF** (matriz ditranol) [m/z (%): 6886.8 ([MH]<sup>+</sup>, 100). **FTIR (pastilla de CaF<sub>2</sub>):** ν = 3300 (amida A), 1699 (ν C=O, éster), 1626 (amida I), 1541 cm<sup>-1</sup> (amida II). **FTIR (5.0 mM, celda de CaF<sub>2</sub>):** ν = 3310 (amida A), 1708 (ν C=O, éster), 1671 (amida II), 1626 (amida I), 1530 cm<sup>-1</sup> (amida II).



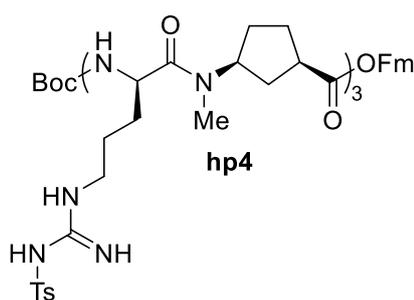
**Boc-D-Arg(Ts)-L-MeN-γ-Acp-OFm (dp4):** Una disolución de **Boc-L-MeN-γ-Acp-OFm** (1.00 g, 2.38 mmol) en una mezcla de TFA y CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:1, 24 mL) se agitó a ta durante 15 min. La disolución se concentró a presión reducida y el residuo se disolvió y concentró a sequedad de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x 10 mL). El sólido obtenido se secó a alto vacío durante 3 h. La sal de TFA resultante se disolvió en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> seco (24 mL) y se trató sucesivamente con DIEA (2.50 mL, 14.3 mmol), Boc-D-Arg(Ts)-OH (1.12 g, 2.61 mmol) y N-HATU (1.81 g, 4.75 mmol). La mezcla se agitó bajo Ar a ta durante 1 h y, a continuación, se lavó con una disolución acuosa de HCl (5%, 3 x 20 mL) y disolución acuosa saturada de NaHCO<sub>3</sub> (3 x 20 mL). La fase orgánica se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El crudo se purificó mediante cromatografía rápida en columna de gel de sílice (0-3% MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), para dar lugar al dipéptido **dp4** como una espuma blanca. [1.42 g, 82%, R<sub>f</sub> = 0.48 (5% MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)]. <sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz, δ): 7.79-7.69 (dobletes solapados, 4H, Ar), 7.57 (d, J = 6.9 Hz, 2H, Ar), 7.40 (t, J = 7.4 Hz, 2H, Ar), 7.31 (t, J = 7.4 Hz, 2H, Ar), 7.24-7.16 (2 dobletes solapados, 2H, Ar), 6.51 (br, 2H, NH), 5.70 (t, J = 7.6 Hz, 1H, NH), 4.85 [m, 0.6 H, H<sub>α</sub> Arg(Ts) (confórmero mayoritario)], 4.64-4.32 [m y dobletes solapados, 3.4 H, 0.4 H<sub>α</sub> Arg(Ts) (confórmero minoritario) + CH<sub>2</sub> Fm + H<sub>γ</sub> Acp], 4.19 (t, J = 6.2 Hz, 1H, CH Fm), 3.35 y 3.16 [br, 2H, CH<sub>2</sub> Arg(Ts)], 2.89-2.66 (m y 3s, 4H, H<sub>α</sub> Acp y NMe), 2.38, 2.36 y 2.35 (s, 3H, Me Ts), 1.40 ppm (s, 9H, Boc). <sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 75.4 MHz, δ): 175.8 (CO), 172.4 (CO), 157.2 (C), 156.6 (CO), 143.9 (C), 142.0 (C), 141.6 (C), 141.2 (C), 129.4 (CH), 128.1 (CH), 127.4 (CH), 126.2 (CH), 125.1 (CH), 120.3 (CH), 80.4 (C), 66.2 (CH<sub>2</sub>), 57.8 (CH), 54.5 (CH), 47.2 (CH), 41.8 (CH), 41.0 (CH<sub>2</sub>), 32.0 y 31.7 (CH<sub>2</sub>), 31.2 (CH<sub>2</sub>), 29.4 (CH<sub>3</sub>), 28.6 (CH<sub>3</sub>), 28.0 y 27.8 (CH<sub>2</sub>), 27.4 (CH<sub>2</sub>), 25.0 (CH<sub>2</sub>), 21.7 ppm (CH<sub>3</sub>). **MS (ESI)** [m/z (%): 754.3 ([MNa]<sup>+</sup>, 83), 654.3 ([MNa]<sup>+</sup>-Boc, 99), 632.3

([MH]<sup>+</sup>-Boc, 100). **HRMS (ESI) calculado** para C<sub>39</sub>H<sub>49</sub>N<sub>5</sub>NaO<sub>7</sub>S: 754.3245, **encontrado**: 754.3242.



**Boc-[D-Arg(Ts)-L-MeN- $\gamma$ -Acp]<sub>2</sub>-OFm (tp3):** Una disolución de **dp4** (670 mg, 0.917 mmol) en una mezcla de piperidina y CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:4, 9 mL) se agitó a ta durante 30 min. La mezcla resultante se lavó con una disolución acuosa de HCl (5%, 4 x 10 mL). La fase orgánica se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para dar lugar al dipéptido Boc-D-Arg(Ts)-L-MeN- $\gamma$ -Acp-OH (**dp5**), que se utilizó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

Por otra parte, una disolución de **dp4** (655 mg, 0.895 mmol) en una mezcla de TFA y CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:1, 9 mL) se agitó a ta durante 15 min. La disolución se concentró a presión reducida y el residuo se disolvió y concentró a sequedad de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x 9 mL). El sólido obtenido se secó a alto vacío durante 3 h. La sal de TFA resultante (**dp6**) se disolvió en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> seco (9 mL) y se trató sucesivamente con DIEA (938  $\mu$ L, 5.37 mmol), dipéptido desprotegido **dp5** y N-HBTU (407 mg, 1.07 mmol). La mezcla se agitó bajo Ar a ta durante 1 h y, a continuación, se lavó con una disolución acuosa de HCl (5%, 3 x 10 mL) y disolución acuosa saturada de NaHCO<sub>3</sub> (3 x 10 mL). La fase orgánica se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El crudo se purificó mediante cromatografía rápida en columna de gel de sílice (0-6% MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), para dar lugar al tetrapéptido **tp3** como una espuma blanca. [745 mg, 71%, R<sub>f</sub> = 0.41 (10% MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)]. **MS (ESI) [m/z (%)]**: 1167.4 ([MH]<sup>+</sup>, 48), 584.5 ([MH]<sup>2+</sup>, 100). **HRMS (ESI) calculado** para C<sub>59</sub>H<sub>79</sub>N<sub>10</sub>O<sub>11</sub>S<sub>2</sub>: 1167.5366, **encontrado**: 1167.5365.

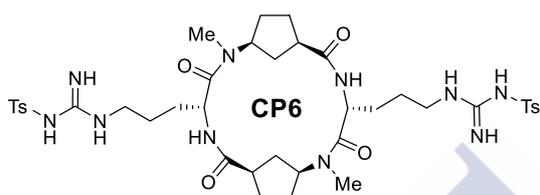


**Boc-[D-Arg(Ts)-L-MeN- $\gamma$ -Acp]<sub>3</sub>-OFm (hp4):** Una disolución de **dp4** (90.0 mg, 0.124 mmol) en una mezcla de piperidina y CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:4, 1.2 mL) se agitó a ta durante 30 min. La mezcla resultante se lavó con una disolución acuosa de HCl (5%, 4 x 2 mL). La fase orgánica se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para dar lugar al dipéptido Boc-D-Arg(Ts)-L-MeN- $\gamma$ -Acp-OH (**dp5**), que se utilizó en la siguiente etapa sin purificación

adicional.

Por otra parte, una disolución de **tp3** (120 mg, 0.103 mmol) en una mezcla de TFA y CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:1, 1 mL) se agitó a ta durante 15 min. La disolución se concentró a presión reducida y el residuo se disolvió y concentró a sequedad de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x 2 mL). El sólido obtenido se secó a alto vacío durante 3 h. La sal de TFA resultante (**tp4**) se disolvió en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> seco (1 mL) y se trató sucesivamente con DIEA (108  $\mu$ L, 0.617 mmol), dipéptido desprotegido **dp5** y N-HBTU

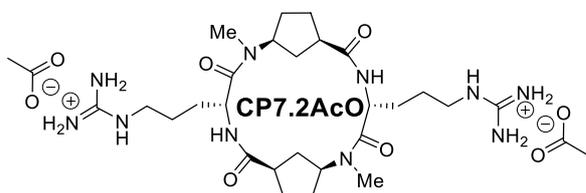
(47.0 mg, 1.24 mmol). La mezcla se agitó bajo Ar a ta durante 1 h y, a continuación, se lavó con una disolución acuosa de HCl (5%, 3 x 2 mL) y disolución acuosa saturada de NaHCO<sub>3</sub> (3 x 2 mL). La fase orgánica se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El crudo se purificó mediante cromatografía rápida en columna de gel de sílice (0-10% MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), para dar lugar al tetrapéptido **hp4** como una espuma blanca. [155 mg, 94%, R<sub>f</sub> = 0.35 (10% MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)]. **MS (ESI)** [m/z (%): 1602.7 ([MH]<sup>+</sup>, 100), 1624.7 ([MNa]<sup>+</sup>, 80)]. **HRMS (ESI) calculado** para C<sub>79</sub>H<sub>108</sub>N<sub>15</sub>O<sub>15</sub>S<sub>3</sub>: 1602.7306, **encontrado**: 1602.7309.



**c-[[D-Arg(Ts)-L-MeN-γ-Acp-]<sub>2</sub>] (CP6):** Una disolución de tetrapéptido lineal **tp3** (191 mg, 0.164 mmol) en una mezcla de piperidina y CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:4, 2 mL) se agitó a ta durante 30 min.

La mezcla resultante se lavó con una disolución acuosa de HCl (5%, 4 x 2 mL). La fase orgánica se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para dar lugar al tetrapéptido Boc-[D-Arg(Ts)-L-MeN-γ-Acp]<sub>2</sub>-OH (**tp5**), que se utilizó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

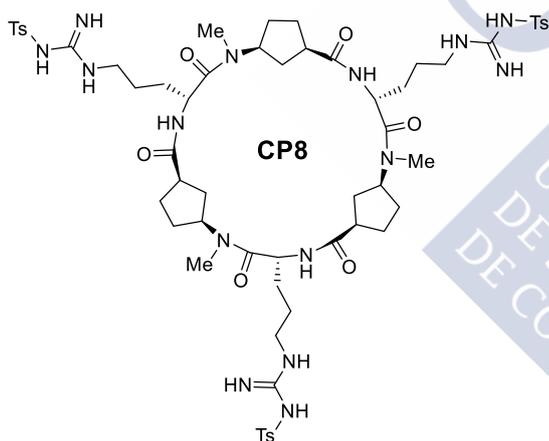
El **tp5** se disolvió en una mezcla de TFA y CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:1, 2 mL) y se agitó a ta durante 15 min. La disolución se concentró a presión reducida y el residuo se disolvió y concentró a sequedad de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x 2 mL). El sólido obtenido se secó a alto vacío durante 3 h. El tetrapéptido resultante (**tp6**) se disolvió en una mezcla de DMF seca y CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> seco (1:9, 820 mL) y se trató con DIEA (286 μL, 1.64 mmol) y N-TBTU (105 mg, 0.328 mmol). La mezcla se agitó bajo Ar a ta durante 12 h y, a continuación, se concentró a presión reducida. El residuo resultante se disolvió en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (15 mL) y se lavó con una disolución acuosa de HCl (5%, 3 x 10 mL) y disolución acuosa saturada de NaHCO<sub>3</sub> (3 x 10 mL). La fase orgánica se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para dar lugar al ciclopéptido c-[[D-Arg(Ts)-L-MeN-γ-Acp-]<sub>2</sub>] (**CP6**), que se utilizó en la siguiente etapa sin purificación adicional.



**c-[(D-Arg-L-MeN-γ-Acp-)<sub>2</sub>] (CP7.2AcO):** El **CP6** se disolvió en una mezcla de tioanisol, TFA y ácido trifluorometanosulfónico (6:3:1, 1.6 mL) y se agitó a ta durante 1 h. El volumen de disolvente se redujo a presión

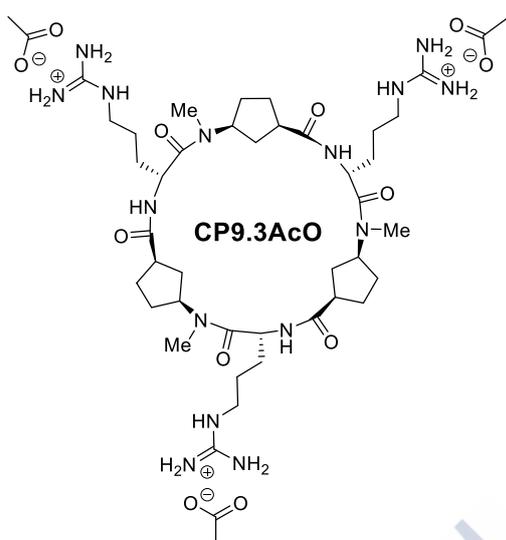
reducida y, a continuación, el péptido se precipitó añadiendo la disolución resultante sobre Et<sub>2</sub>O (50 mL) en baño de hielo. La mezcla se centrifugó, se decantó y el residuo se lavó con Et<sub>2</sub>O (2 x 10 mL). El crudo se purificó por HPLC (Phenomenex Luna C18, (0-50% ACN + 0.1% TFA)/(H<sub>2</sub>O + 0.1% TFA), 30 min, tr = 14.9-15.5 min.), para dar lugar al ciclopéptido **CP7.2TFA** como un sólido blanco. [24.2 mg, 19%].

**Intercambio iónico:** La resina (Amberlite CG-400) se puso sobre una placa filtrante, se añadió acetato amónico 2M, se agitó con una espátula hasta formar una suspensión y se hizo vacío. El proceso se repitió varias veces hasta un total de 100 mL y, finalmente, la resina se lavó abundantemente con agua milliQ para eliminar el exceso de sales. A continuación el **CP7.2TFA** se disolvió en agua milliQ, se añadió la resina, previamente acondicionada, y se agitó durante 30 min. Al cabo de ese tiempo, la suspensión se filtró y las aguas madres se liofilizaron para dar lugar al ciclopéptido **CP7.2AcO** como un polvo blanco.  $^1\text{H-RMN}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ , 500 MHz,  $\delta$ ): 4.78 (t,  $J = 7.3$  Hz, 2H,  $\text{H}\alpha$  Arg), 4.38 (m, 2H,  $\text{H}\gamma$  Acp), 3.08 (t,  $J = 6.9$  Hz, 4H,  $\text{CH}_2$  Arg), 2.86 (s, 6H, NMe), 2.81 (m, 2H,  $\text{H}\alpha$  Acp), 2.65 (m, 2H,  $\text{H}\beta$  Acp), 1.99 (m, 2H,  $\text{CH}_2$  Acp), 1.89 (m, 2H,  $\text{CH}_2$  Acp), 1.79 (s + m, 8H,  $\text{AcO}^- + \text{CH}_2$  Acp), 1.64 (m, 4H,  $\text{CH}_2$  Arg), 1.53 (m, 4H,  $\text{CH}_2$  Arg +  $\text{CH}_2$  Acp), 1.42 (m, 2H,  $\text{CH}_2$  Arg), 1.02 ppm (dt,  $J = 14.5$  y 4.2 Hz, 2H,  $\text{H}\beta$  Acp).  $^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 75.4 MHz,  $\delta$ ): 196.5 (CO), 178.3 (CO), 173.4 (CO), 156.6 (C), 56.5 (CH), 49.1 (CH), 41.7 (CH), 40.6 ( $\text{CH}_2$ ), 39.5 ( $\text{CH}_2$ ), 30.7 ( $\text{CH}_3$ ), 28.0 ( $\text{CH}_2$ ), 27.4 ( $\text{CH}_2$ ), 26.2 ( $\text{CH}_2$ ), 24.1 ( $\text{CH}_2$ ), 23.1 ppm ( $\text{CH}_3$ ). **MS (ESI)** [ $m/z$  (%): 564.4 ( $[\text{MH}]^+$ , 38), 282.2 ( $[\text{MH}]^{2+}$ , 100). **HRMS (ESI) calculado** para  $\text{C}_{26}\text{H}_{48}\text{N}_{10}\text{O}_4^{2+}$ : 564.3849, **encontrado**: 564.3853.



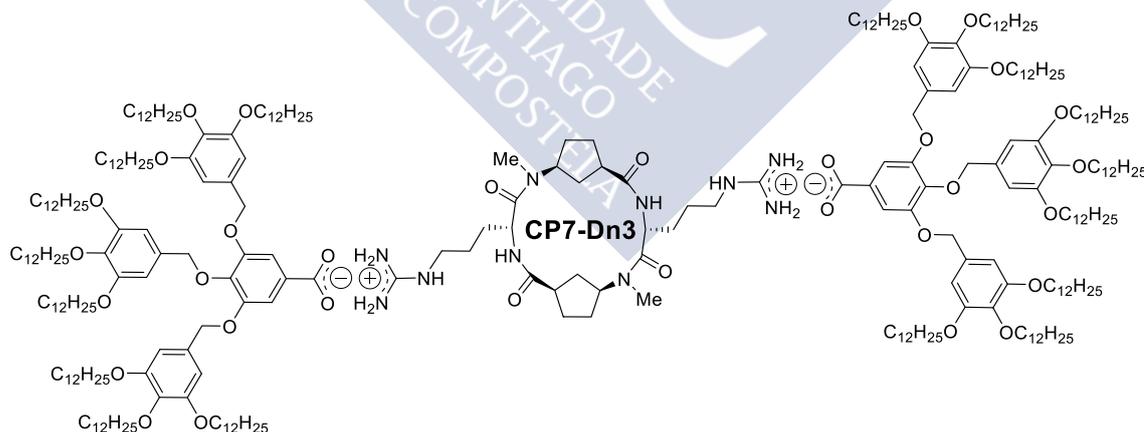
**$c\text{-}[[D\text{-Arg}(\text{Ts})\text{-L-MeN-}\gamma\text{-Acp-}]_3]$  (CP8):** Una disolución de hexapéptido lineal **hp4** (165 mg, 0.103 mmol) en una mezcla de piperidina y  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (1:4, 1 mL) se agitó a ta durante 30 min. La mezcla resultante se lavó con una disolución acuosa de HCl (5%, 4 x 1 mL). La fase orgánica se secó con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para dar lugar al hexapéptido Boc- $[[D\text{-Arg}(\text{Ts})\text{-L-MeN-}\gamma\text{-Acp-}]_3\text{-OH}$  (**hp5**), que se utilizó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

El **hp5** se disolvió en una mezcla de TFA y  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (1:1, 1 mL) y se agitó a ta durante 15 min. La disolución se concentró a presión reducida y el residuo se disolvió y concentró a sequedad de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (3 x 1 mL). El sólido obtenido se secó a alto vacío durante 3 h. El hexapéptido resultante (**hp6**) se disolvió en una mezcla de DMF seca y  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  seco (1:9, 103 mL) y se trató con DIEA (180  $\mu\text{L}$ , 1.03 mmol) y *N*-TBTU (66.0 mg, 0.206 mmol). La mezcla se agitó bajo Ar a ta durante 12 h. La mezcla se agitó bajo Ar a ta durante 12 h y, a continuación, se concentró a presión reducida. El residuo resultante se disolvió en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (15 mL) y se lavó con una disolución acuosa de HCl (5%, 3 x 10 mL) y disolución acuosa saturada de  $\text{NaHCO}_3$  (3 x 10 mL). La fase orgánica se secó con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para dar lugar al ciclopéptido  $c\text{-}[[D\text{-Arg}(\text{Ts})\text{-L-MeN-}\gamma\text{-Acp-}]_3]$  (**CP8**), que se utilizó en la siguiente etapa sin purificación adicional.



*c*-[*(D*-Arg-*L*-MeN- $\gamma$ -Acp-)]<sub>3</sub> (CP9.3AcO): El CP8 se disolvió en una mezcla de tioanisol, TFA y ácido trifluorometanosulfónico (6:3:1, 1 mL) y se agitó a ta durante 1 h. El volumen de disolvente se redujo a presión reducida y, a continuación, el péptido se precipitó añadiendo la disolución resultante sobre Et<sub>2</sub>O (50 mL) en baño de hielo. La mezcla se centrifugó, se decantó y el residuo se lavó con Et<sub>2</sub>O (2 x 10 mL). El crudo se purificó por HPLC (Phenomenex Luna C18, (0-50% ACN + 0.1% TFA)/(H<sub>2</sub>O + 0.1% TFA), 30 min, tr = 15.3-16.2 min.), para dar lugar al ciclopéptido CP9.3TFA como un sólido blanco. [14.7 mg, 12%]. Finalmente,

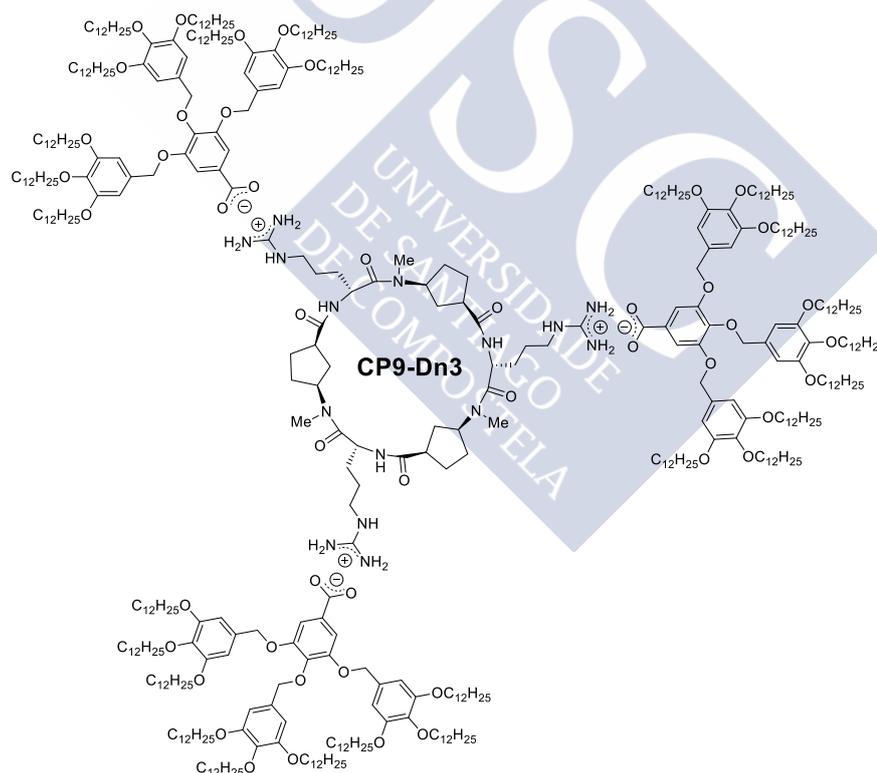
el contraión se intercambió, siguiendo el procedimiento descrito anteriormente para el ciclopéptido CP7, obteniéndose CP9.3AcO como un polvo blanco. <sup>1</sup>H-RMN (D<sub>2</sub>O, 500 MHz,  $\delta$ ): 4.73-4.62 (m, H $\alpha$  Arg + H $\gamma$  Acp), 3.09 (t, *J* = 6.8 Hz, 6H, CH<sub>2</sub> Arg), 2.91 (s, 9H, NMe), 2.66 (m, 3H, H $\alpha$  Acp), 1.99 (m, 3H, H $\beta$  Acp), 1.79 (s, 9H, AcO<sup>-</sup>), 1.75 (m, 12H, CH<sub>2</sub> Acp), 1.64 (m, 3H, CH<sub>2</sub> Arg), 1.55 (m, 6H, CH<sub>2</sub> Arg), 1.41 ppm (m, 6H, CH<sub>2</sub> Arg + H $\beta$  Acp). <sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 75.4 MHz,  $\delta$ ): 196.5 (CO), 181.4 (CO), 177.9 (CO), 173.2 (CO), 156.6 (C), 55.1 (CH), 49.6 (CH), 42.7 (CH), 40.5 (CH<sub>2</sub>), 33.8 (CH<sub>2</sub>), 39.5 (CH<sub>3</sub>), 27.9 (CH<sub>2</sub>), 27.6 (CH<sub>2</sub>), 26.8 (CH<sub>2</sub>), 24.1 (CH<sub>2</sub>), 23.2 ppm (CH<sub>3</sub>). MS (ESI) [m/z (%): 846.6 ([MH]<sup>+</sup>, 25), 423.3 ([MH]<sup>2+</sup>, 100). HRMS (ESI) calculado para C<sub>39</sub>H<sub>72</sub>N<sub>15</sub>O<sub>6</sub><sup>3+</sup>: 846.5774, encontrado: 846.5771.



**CP7-Dn3:** En un vial se disolvió el dendrón Dn3 (19.4 mg, 0.0092 mmol) en CHCl<sub>3</sub> (300  $\mu$ L). A continuación se preparó una disolución acuosa de NH<sub>3</sub> (25%, 3.5  $\mu$ L, 0.0462 mmol) en agua milliQ (30  $\mu$ L), se añadió sobre la anterior y la mezcla resultante se sonicó a ta durante 1.5 h. La suspensión se concentró a presión reducida para eliminar la fase orgánica. A continuación, se añadió agua milliQ (1 mL), se sonicó durante 10 min y se liofilizó para dar

lugar a la sal de amonio del dendrón desprotonado, que se utilizó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

Una suspensión de la sal de amonio del dendrón **Dn3** y **CP7.2AcO** (3.2 mg, 0.0046 mmol) en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (1 mL) se sonicó durante a ta 30 min. La mezcla se concentró a presión reducida, se añadió agua milliQ (1 mL) y se liofilizó. Sobre el sólido resultante se añadió agua milliQ (1 mL) y se volvió a liofilizar. El proceso se repitió dos veces más para eliminar los restos de acetato amónico, obteniéndose el compuesto **CP7-Dn3** como un polvo blanco. [20.5 mg, 94%].  $^1\text{H-RMN}$  (10%  $\text{MeOH-}d_3/\text{CDCl}_3$ , 500 MHz,  $\delta$ ): 8.08 (br s, 2H, NH guanidinio), 8.04 (br d,  $J = 6.9$  Hz, 2H, NH), 7.43 (br s, 4H,  $\text{Ar}_1\text{H}$ ), 7.29 (br s, 4H,  $\text{NH}_2$  guanidinio), 6.66 y 6.62 (s, 12H,  $\text{Ar}_2\text{H}$ ), 5.04 y 5.01 (s, 12H,  $\text{CH}_2$  Bn), 4.67 (m, 2H,  $\text{H}_\alpha$  Arg), 4.11 (m, 2H,  $\text{H}_\gamma$  Acp), 3.93, 3.87 y 3.73 (t,  $J = 6.6$  Hz, 36 H,  $\text{OCH}_2$  cadena alifática), 3.16 (br, 4H,  $\text{CH}_2$  guanidinio), 2.95 (s, 6H, NMe), 2.89 (m, 2H,  $\text{H}_\alpha$  Acp), 2.52 (m, 2H,  $\text{H}_\beta$  Acp), 2.16 (m, 2H,  $\text{CH}_2$  Acp), 2.04 (m, 4H,  $\text{CH}_2$  Acp), 1.90 (m, 2H,  $\text{H}_\beta$  Acp), 1.79-1.19 (m, 190H,  $\text{CH}_2$  Arg +  $\text{CH}_2$  Acp +  $\text{CH}_2$  Arg +  $\text{CH}_2$  cadena alifática), 0.88 ppm (dd,  $J = 6.7$  y 5.8 Hz, 54H,  $\text{CH}_3$  cadena alifática). **FTIR** (298 K,  $\text{CHCl}_3$ ): 3354, 3278, y 3193 (amida A), 1666 (amida  $\text{I}_{\text{II}}$ ), 1630 (amida I), 1540  $\text{cm}^{-1}$  (amida II).



**CP9-Dn3:** En un vial se disolvió el dendrón **Dn3** (18.2 mg, 0.0087 mmol) en  $\text{CHCl}_3$  (300  $\mu\text{L}$ ). A continuación se preparó una disolución acuosa de  $\text{NH}_3$  (25%, 3.2  $\mu\text{L}$ , 0.0435 mmol) en agua milliQ (30  $\mu\text{L}$ ), se añadió sobre la anterior y la mezcla resultante se sonicó a ta durante 1.5 h. La suspensión se concentró a presión reducida para eliminar la fase orgánica. A continuación, se añadió agua milliQ (1 mL), se sonicó durante 10 min y se liofilizó para dar

lugar a la sal de amonio del dendrón desprotonado, que se utilizó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

Una suspensión de la sal de amonio del dendrón **Dn3** y **CP9.3AcO** (3.0 mg, 0.0029 mmol) en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (1 mL) se sonicó a ta durante 30 min. La mezcla se concentró a presión reducida, se añadió agua milliQ (1 mL) y se liofilizó. Sobre el sólido resultante se añadió agua milliQ (1 mL) y se volvió a liofilizar. El proceso se repitió dos veces más para eliminar los restos de acetato amónico, obteniéndose el compuesto **CP9-Dn3** como un polvo blanco. [18.7 mg, 97%].  $^1\text{H-RMN}$  (10%  $\text{MeOH-}d_3/\text{CDCl}_3$ , 500 MHz,  $\delta$ ): 8.30 (br d,  $J = 6.9$  Hz, 3H, NH), 8.23 (br s, 3H, NH guanidinio), 7.42 (br s, 6H,  $\text{Ar}_1\text{H}$ ), 7.17 (br s, 6H,  $\text{NH}_2$  guanidinio), 6.66 y 6.62 (s, 18H,  $\text{Ar}_2\text{H}$ ), 5.09-4.96 (s + m, 21H,  $\text{CH}_2$  Bn +  $\text{H}\alpha$  Arg), 4.77 (m, 3H,  $\text{H}\gamma$  Acp), 3.93, 3.87 y 3.74 (t,  $J = 6.6$  Hz, 54H,  $\text{OCH}_2$  cadena alifática), 3.13 (br, 6H,  $\text{CH}_2$  guanidinio), 3.02 (s, 9H, NMe), 2.97 (m, 3H,  $\text{H}\alpha$  Acp), 2.36 (m, 3H,  $\text{CH}_2$  Acp), 2.06 (m, 3H,  $\text{CH}_2$  Acp), 1.91-1.78 (m, 9H,  $\text{CH}_2$  Acp), 1.78-1.19 (m, 285H,  $\text{CH}_2$  Arg +  $\text{CH}_2$  Arg +  $\text{CH}_2$  Acp +  $\text{CH}_2$  cadena alifática), 0.88 ppm (ddd,  $J = 7.0, 3.9$  y  $2.9$  Hz, 81H,  $\text{CH}_3$  cadena alifática). **FTIR** (298 K,  $\text{CHCl}_3$ ): 3297 y 3186 (amida A), 1669 (amida  $\text{I}_{\text{II}}$ ), 1625 (amida I), 1545  $\text{cm}^{-1}$  (amida II).

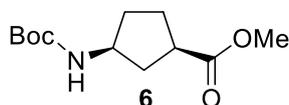
## 2.2. Espectroscopía IR en estado sólido y difracción de rayos X

Para los estudios de FTIR y difracción de rayos X las muestras se disolvieron en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , se filtraron y se les aplicó el tratamiento térmico correspondiente. Dicho tratamiento consistió en el calentamiento del sólido por encima del punto de aclaramiento (obtenido a través de los termogramas de DSC) y posterior enfriamiento hasta alcanzar la temperatura ambiente. De este modo se garantiza la formación de la mesofase.

## 2.3. Experimentos de DOSY: (ver CD, Anexo III).

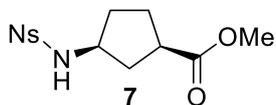
### 3. Capítulo 2

#### 3.1. Síntesis y caracterización



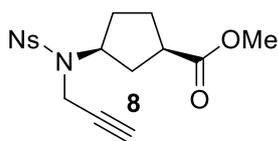
**(1R,3S)-3-(tert-butoxycarbonylamino)ciclopentanocarboxilato de metilo (Boc-L- $\gamma$ -Acp-OMe) (6):** Una disolución de **Boc-L- $\gamma$ -Acp-OH** (10.0 g, 43.6 mmol) en MeOH (436 mL) se trató con EDC.HCl (12.5 g, 65.4 mmol), HOBt (8.84 g, 65.4 mmol) y DMAP (7.98 g, 65.4 mmol).

Después de 2 h de agitación a ta, el disolvente se eliminó a presión reducida. El residuo resultante se disolvió en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (200 mL), se lavó con una disolución acuosa de HCl (5%, 3 x 200 mL) y con una disolución saturada de NaHCO<sub>3</sub> (3 x 200 mL). La fase orgánica se secó, con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El crudo se purificó mediante cromatografía rápida en columna de gel de sílice (5-20% EtOAc/hexano), dando lugar al **Boc-L- $\gamma$ -Acp-OMe** como un sólido blanco. [8.06 g, 76%, R<sub>f</sub> = 0.78 (5% MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)]. **<sup>1</sup>H-NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz,  $\delta$ ): 5.00 y 4.73 (2 br, 1H, NH), 3.93 (br, 1H, H $\gamma$ ), 3.58 (s, 3H, OMe), 2.73 (m, 1H, H $\alpha$ ), 2.08 (m, 1H, CH<sub>2</sub> Acp), 1.82 (m, 3H, CH<sub>2</sub> Acp), 1.68-1.46 (m, 1H, CH<sub>2</sub> Acp), 1.33 ppm (s, 10H, Boc + CH<sub>2</sub> Acp). **<sup>13</sup>C-NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 75.4 MHz,  $\delta$ ): 177.2 (CO), 155.3 (CO), 78.9 (C), 51.9 (CH<sub>3</sub>), 51.7 (CH), 41.7 (CH), 36.3 (CH<sub>2</sub>), 32.9 (CH<sub>2</sub>), 28.3 (CH<sub>3</sub>), 27.8 (CH<sub>2</sub>). **MS (ESI)** [m/z (%): 266.1 ([M+Na]<sup>+</sup>, 100), 244.1 ([MH]<sup>+</sup>, 25). **HRMS (ESI) calculado** para C<sub>12</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>4</sub>: 244.1543, **encontrado**: 244.1541.

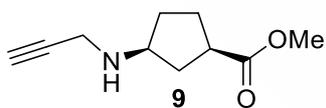


**(1R,3S)-3-(2-Nitrobenzenosulfonilamino)ciclopentanocarboxilato de metilo (Ns-L- $\gamma$ -Acp-OMe) (7):** Una disolución de **6** (6.00 g, 24.7 mmol) en una mezcla de TFA y CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:1, 123 mL) se agitó a ta

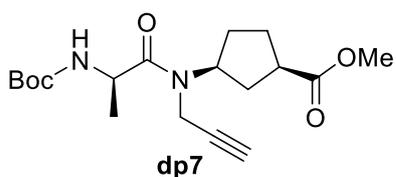
durante 15 min. La disolución se concentró a presión reducida y el residuo se disolvió y concentró a sequedad de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x 50 mL). El sólido obtenido se secó a alto vacío durante 3 h. La sal de TFA resultante se disolvió en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> seco (247 mL) y se trató sucesivamente con DIEA (25.8 mL, 148 mmol) y cloruro de 2-nitrobenzenosulfonilo (6.56 g, 29.6 mmol). La mezcla se agitó durante 1.5 h a ta y a continuación se lavó con una disolución acuosa de HCl (5%, 3 x 250 mL) y con una disolución saturada de NaHCO<sub>3</sub> (3 x 250 mL). La fase orgánica se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El crudo se purificó mediante cromatografía rápida en columna de gel de sílice (15-50% EtOAc/hexano), dando lugar al **Ns-L- $\gamma$ -Acp-OMe** como un sólido amarillo. [6.49 g, 80%, R<sub>f</sub> = 0.69 (2% MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)]. **<sup>1</sup>H-NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz,  $\delta$ ): 8.20-8.12 (m, 1H, Ns), 7.89-7.81 (m, 1H, Ns), 7.77-7.66 (m, 2H, Ns), 5.91 (d, J = 7.5 Hz, 1H, NH), 3.95 (m, 1H, H $\gamma$ ), 3.69 (s, 3H, OMe), 2.81 (m, 1H, H $\alpha$ ), 2.18-1.57 ppm (m, 6H, CH<sub>2</sub> Acp). **<sup>13</sup>C-RMN** (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz,  $\delta$ ): 176.6 (CO), 150.0 (C), 133.7 (C), 133.4 (CH), 132.8 (CH), 130.7 (CH), 125.3 (CH), 55.5 (CH<sub>3</sub>), 52.8 (CH), 41.6 (CH), 36.4 (CH<sub>2</sub>), 33.2 (CH<sub>2</sub>), 27.9 ppm (CH<sub>2</sub>). **MS (ESI)** [m/z (%): 329.1 ([MH]<sup>+</sup>, 100). **HRMS (ESI) calculado** para C<sub>13</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>NaO<sub>6</sub>S: 351.0621, **encontrado**: 351.0608.



**(1R,3S)-3-[(2-Nitrobenzenosulfonyl)propargilamino]ciclopentanocarboxilato de metilo (Ns-*L*-propargilN- $\gamma$ -Acp-OMe) (8):** Una disolución de 7 (4.21 g, 12.8 mmol) en DMF seca (64 mL) se trató con  $K_2CO_3$  (7.08 g, 51.2 mmol) y bromuro de propargilo (80%, 4.28 mL, 38.4 mmol). La mezcla se agitó a ta durante 5 h bajo Ar y el disolvente se eliminó a presión reducida. El residuo resultante se suspendió en  $CH_2Cl_2$  (128 mL) y se lavó con agua (3 x 100 mL) y con una disolución saturada de NaCl (3 x 100 mL). La fase orgánica se secó con  $Na_2SO_4$  anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El crudo se purificó mediante cromatografía rápida en columna de gel de sílice (20-30% EtOAc/hexano), dando lugar al **Ns-*L*-propargilN- $\gamma$ -Acp-OMe** como un aceite amarillo. [4.55 g, 97%,  $R_f$  = 0.65 (50% EtOAc/hexano)].  $^1H$ -NMR ( $CDCl_3$ , 300 MHz,  $\delta$ ): 8.18-8.06 (m, 1H, Ns), 7.76-7.53 (m, 3H, Ns), 4.29 (m, 1H, H $\gamma$ ), 4.17 (AB,  $J$  = 2.5 Hz, 2H,  $CH_2$  propargilo), 4.11 (AB,  $J$  = 2.5 Hz, 2H,  $CH_2$  propargilo), 3.66 y 3.64 (2s, 3H, OMe), 2.77 (m, 1H, H $\alpha$ ), 2.24-1.80 ppm (m, 7H,  $CH_2$  Acp +  $C\equiv C-H$ ).  $^{13}C$ -NMR ( $CDCl_3$ , 75 MHz,  $\delta$ ): 176.0 (CO), 148.0 (C), 133.8 (CH), 133.5 (C), 131.8 (CH), 131.2 (CH), 124.2 (CH), 79.4 (C), 73.1 (CH), 58.8 (CH), 58.3 ( $CH_3$ ), 51.9 (CH), 40.7 (CH), 32.9 ( $CH_2$ ), 32.6 ( $CH_2$ ), 28.5 ( $CH_2$ ), 26.9 ppm ( $CH_2$ ). **MS (ESI)** [ $m/z$  (%): 367.1 ([MH] $^+$ , 100). **HRMS (ESI) calculado** para  $C_{16}H_{18}N_2NaO_6S_1$ : 389.0778, **encontrado**: 389.0776.

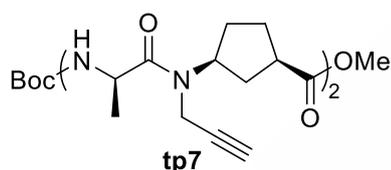


**(1R,3S)-3-(Propargilamino)ciclopentanocarboxilato de metilo (*L*-propargilN- $\gamma$ -Acp-OMe) (9):** Una disolución de 8 (4.18 g, 11.4 mmol) en DMF seca (57 mL) se trató con  $K_2CO_3$  (6.30 g, 45.6 mmol) y tiofenol (3.51 mL, 34.2 mmol). La mezcla resultante se agitó bajo Ar a ta durante 4 h y, a continuación, el disolvente se eliminó a presión reducida. El residuo se suspendió en  $CH_2Cl_2$  (100 mL) y se lavó con agua (2 x 100 mL) y con una disolución saturada de NaCl (2 x 100 mL). La fase orgánica se secó con  $Na_2SO_4$  anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El crudo se purificó mediante cromatografía rápida en columna de gel de sílice (25-40% EtOAc/hexano), dando lugar al ***L*-propargilN- $\gamma$ -Acp-OMe** como un aceite amarillo. [1.43 g, 69%,  $R_f$  = 0.26 (75% EtOAc/hexano)].  $^1H$ -NMR ( $CDCl_3$ , 300 MHz,  $\delta$ ): 3.58 (s, 3H, OMe), 3.31 (AB,  $J$  = 2.5 Hz, 2H,  $CH_2$  propargilo), 3.24 (m, 1H, H $\gamma$ ), 2.70 (m, 1H, H $\alpha$ ), 2.14 (t,  $J$  = 2.5 Hz, 1H,  $C\equiv C-H$  propargilo), 2.12-1.13 ppm (m, 6H,  $CH_2$  Acp).  $^{13}C$ -NMR ( $CDCl_3$ , 75 MHz,  $\delta$ ): 176.4 (CO), 82.1 (C), 71.4 (CH), 57.8 ( $CH_3$ ), 51.6 (CH), 42.2 (CH), 36.5 ( $CH_2$ ), 36.2 ( $CH_2$ ), 32.1 ( $CH_2$ ), 27.4 ppm ( $CH_2$ ). **MS (ESI)** [ $m/z$  (%): 182.1 ([MH] $^+$ , 100). **HRMS (ESI) calculado** para  $C_{10}H_{16}NO_2$ : 182.1176, **encontrado**: 182.1175.



**Boc-*D*-Ala-*L*-propargilN- $\gamma$ -Acp-OMe (dp7):** Una disolución de 9 (1.00 g, 5.52 mmol) en  $CH_2Cl_2$  seco (55 mL) se trató sucesivamente con DIEA (3.9 mL, 22.1 mmol), Boc-*D*-Ala-OH (1.15 g, 6.07 mmol) y *N*-HATU (2.52 g, 6.62 mmol). La mezcla resultante se agitó bajo Ar a ta durante 1 h. A

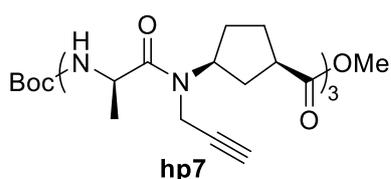
continuación, se lavó con una disolución acuosa de HCl (5%, 3 x 50 mL) y con una disolución saturada de NaHCO<sub>3</sub> (3 x 50 mL). La fase orgánica se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía rápida en columna de gel de sílice (15-60% EtOAc/hexano), dando lugar al dipéptido **dp7** como un aceite incoloro. [1.79 g, 92%; R<sub>f</sub> = 0.50 (40% EtOAc/hexano)]. **<sup>1</sup>H-NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz, δ): 5.55 y 5.28 (2d, J = 8.92 y 8.95 Hz, 1H, NH), 4.83 y 4.26 (2m, 1H, H<sub>α</sub> Ala), 4.66 (m, 1H, H<sub>γ</sub> Acp), 4.37 (AB, J = 17.7 Hz, 1H, CH<sub>2</sub> propargilo), 4.10 (s, 1H, C≡C-H), 3.95 (AB, J = 17.7 Hz, 1H, CH<sub>2</sub> propargilo), 3.71 y 3.69 (2s, 3H, OMe), 1.42 ppm (s, 9H, Boc). **<sup>13</sup>C-NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 75.4 MHz, δ): 176.2 y 175.6 (CO), 173.7 y 172.1 (CO), 155.4 (CO), 80.2, 79.9 y 79.2 (C), 72.6 y 70.4 (C), 57.6 y 54.9 (CH), 51.7 y 51.6 (CH), 49.2 y 48.5 (CH), 43.0 y 42.0 (CH<sub>2</sub>), 40.9 (CH<sub>3</sub>), 32.6, 32.5 y 31.6 (CH<sub>2</sub>), 30.6 y 28.7 (CH<sub>2</sub>), 28.1 (CH<sub>3</sub>), 27.7, 27.4 y 27.1 (CH<sub>2</sub>), 24.4, 23.3, 23.1, 21.8 y 21.5 ppm (CH<sub>3</sub>). **MS (ESI)** [m/z (%): 375.2 ([MNa]<sup>+</sup>, 100). **HRMS (ESI) calculado** para C<sub>18</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>Na: 375.1890, **encontrado**: 375.1875.



**Boc-(D-Ala-L-propargyl-N-γ-Acp)<sub>2</sub>-OMe (tp7):** Una disolución de **dp7** (402 mg, 1.14 mmol) en una mezcla de agua y MeOH (1:3, 11.4 mL) se trató con LiOH (82.1 mg, 3.42 mmol). La mezcla se agitó a ta durante 2 h y, a continuación, se acidificó con una disolución acuosa de HCl (10%) hasta un pH de 2.5.

El producto se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x 10 mL) y las fases orgánicas combinadas se secaron con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida; dando lugar al dipéptido Boc-D-Ala-L-propargyl-N-γ-Acp-OH (**dp9**), que se utilizó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

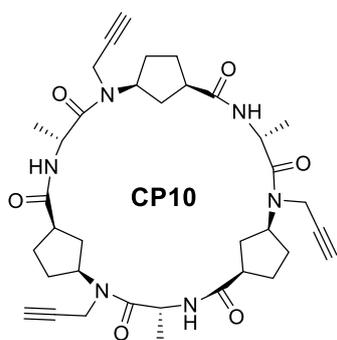
Por otra parte, una disolución de **dp7** (402 mg, 1.14 mmol) en una mezcla de TFA y CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:1, 11.4 mL) se agitó a ta durante 15 min. Posteriormente, la disolución resultante se concentró a presión reducida y el residuo se disolvió y concentró a sequedad de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x 10 mL). El sólido obtenido se secó a alto vacío durante 3 h. La sal de TFA resultante (**dp8**) se disolvió en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> seco (11.4 mL) y se trató sucesivamente con DIEA (1.18 mL, 6.78 mmol), dipéptido desprotegido **dp9** y N-HBTU (514 mg, 1.36 mmol). La mezcla resultante se agitó bajo Ar a ta durante 1 h. A continuación, se lavó con una disolución acuosa de HCl (5%, 3 x 10 mL) y con una disolución saturada de NaHCO<sub>3</sub> (3 x 10 mL). La fase orgánica se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El crudo se purificó mediante cromatografía rápida en columna de gel de sílice (0-2% MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), dando lugar al tetrapéptido **tp7** como una espuma blanca. [646 mg, 99%, R<sub>f</sub> = 0.43 (5% MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)]. **MS (ESI)** [m/z (%): 595.3 ([MNa]<sup>+</sup>, 100), 495.3 ([MNa]<sup>+</sup>-Boc, 13). **HRMS (ESI) calculado** para C<sub>30</sub>H<sub>44</sub>N<sub>4</sub>O<sub>7</sub>Na: 595.3102, **encontrado**: 595.3093.



**Boc-(D-Ala-L-propargyl-N- $\gamma$ -Acp)<sub>3</sub>-OMe (hp7):** Una disolución de **dp7** (402 mg, 1.14 mmol) en una mezcla de agua y MeOH (1:3, 11.4 mL) se trató con LiOH (82.1 mg, 3.42 mmol). La mezcla se agitó a ta durante 2 h y, a continuación, se acidificó con una disolución acuosa de HCl (10%) hasta un pH de 2.5.

El producto se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x 10 mL) y las fases orgánicas combinadas se secaron con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida; dando lugar al dipéptido Boc-D-Ala-L-propargyl-N- $\gamma$ -Acp-OH (**dp9**), que se utilizó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

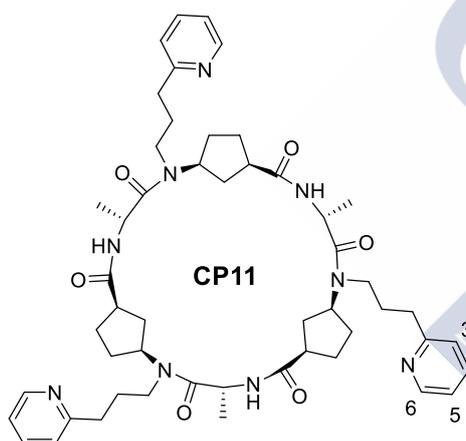
Por otra parte, una disolución de **tp7** (601 mg, 1.05 mmol) en una mezcla de TFA y CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:1, 10 mL) se agitó a ta durante 15 min. Al cabo de ese tiempo, la disolución resultante se concentró a presión reducida y el residuo se disolvió y concentró a sequedad de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x 5 mL). El sólido obtenido se secó a alto vacío durante 3 h. La sal de TFA resultante (**tp8**) se disolvió en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> seco (10 mL) y se trató sucesivamente con DIEA (1.1 mL, 6.30 mmol), dipéptido desprotegido **dp9** y N-HBTU (478 mg, 1.26 mmol). La mezcla resultante se agitó bajo Ar a ta durante 1 h y, a continuación, se lavó con una disolución acuosa de HCl (5%, 3 x 10 mL) y con una disolución saturada de NaHCO<sub>3</sub> (3 x 10 mL). La fase orgánica se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía rápida en columna de gel de sílice (0-4% MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) para dar lugar al hexapéptido **hp7** como una espuma blanca. [824 mg, 99%, R<sub>f</sub> = 0.40 (5% MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)]. **MS (ESI)** [m/z (%): 815.4 ([MNa]<sup>+</sup>, 100), 793.4 ([MH]<sup>+</sup>, 25). **HRMS (ESI) calculado** para C<sub>42</sub>H<sub>60</sub>N<sub>6</sub>O<sub>9</sub>: 793.4495, **encontrado**: 793.4478.



**c-[(D-Ala-L-propargyl-N- $\gamma$ -Acp)<sub>3</sub>] (CP10):** Una disolución de hexapéptido lineal **hp7** (695 mg, 0.876 mmol) en una mezcla de agua y MeOH (1:3, 8.7 mL) se trató con LiOH (63.0 mg, 2.63 mmol). La mezcla se agitó a ta durante 2 h y, a continuación, se acidificó con una disolución acuosa de HCl (10%) hasta un pH de 2.5. El producto se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x 10 mL) y la fases orgánicas combinadas se secaron con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida; dando lugar al hexapéptido Boc-(D-Ala-L-propargyl-N- $\gamma$ -Acp)<sub>3</sub>-OH (**hp8**), que se utilizó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

El **hp8** se disolvió en una mezcla de TFA y CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:1, 8.7 mL) y se agitó durante 15 min a ta. La disolución se concentró a presión reducida y el residuo se disolvió y concentró a sequedad de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x 5 mL). El sólido obtenido se secó a alto vacío durante 3 h. El hexapéptido resultante **hp9** se disolvió en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> seco (876 mL) y se trató con DIEA (920  $\mu$ L, 5.26 mmol) y N-TBTU (338 mg, 1.05 mmol). La mezcla se agitó durante 12 h a ta bajo Ar. Se concentró a presión reducida para reducir el volumen de disolvente y a continuación se lavó

con disolución acuosa de HCl (5%, 3 x 10 mL) y disolución saturada de NaHCO<sub>3</sub> (3 x 10 mL). La fase orgánica se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El crudo se purificó mediante cromatografía rápida en columna de gel de sílice (0-4% MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), dando lugar al ciclopéptido **CP10** como un sólido blanco. [260 mg, 45%, R<sub>f</sub> = 0.32 (5% MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)]. **<sup>1</sup>H-NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz, δ): 8.27 (d, *J* = 9.2 Hz, 3 H, NH), 5.25 (m, 3H, H $\alpha$  Ala), 4.77 (AB, *J* = 20.9 Hz, 3H, CH<sub>2</sub> propargilo), 4.73 (m, 3H, H $\gamma$  Acp), 3.86 (AB, *J* = 20.1 Hz, 3H, CH<sub>2</sub> propargilo), 2.89 (m, 3H, H $\alpha$  Acp), 2.33 (s, 3H, C $\equiv$ C-H), 2.30-1.69 (m, 12H, CH<sub>2</sub> Acp), 1.45 (m, 3H, CH<sub>2</sub> Acp), 1.40 ppm (d, *J* = 6.7 Hz, 9H, CH<sub>3</sub> Ala). **<sup>13</sup>C-NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 75.4 MHz, δ): 175.2 (CO), 174.1 (CO), 80.2 (C), 72.6 (CH), 55.0 (CH), 44.5 (CH), 42.1 (CH), 36.5 (CH<sub>2</sub>), 32.9 (CH<sub>2</sub>), 27.5 (CH<sub>2</sub>), 18.7 ppm (CH<sub>3</sub>). **FTIR (1.0 mM, celda de CaF<sub>2</sub>):**  $\nu$  = 3301 (amida A), 1667 (amida II), 1627 (amida I), 1530 cm<sup>-1</sup> (amida II). **MS (ESI) [m/z (%):** 683.4 ([MNa]<sup>+</sup>, 100), 661.4 ([MH]<sup>+</sup>, 52), 341.7 ([MNa]<sup>2+</sup>, 23). **HRMS (ESI) calculado** para C<sub>36</sub>H<sub>49</sub>N<sub>6</sub>O<sub>6</sub>: 661.3708, **encontrado:** 661.3719.



**CP11:** Una suspensión de 2-bromopiridina (130  $\mu$ L, 1.36 mmol), Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (369 mg, 1.13 mmol), CuI (8.6 mg, 0.0453 mmol), 4-DPPBA (13.9 mg, 0.0453 mmol) y 10% Pd/C (24.1 mg, 0.0226 mmol) en DMF/H<sub>2</sub>O (1:1, 1.5 mL) se desoxigenó mediante burbujeo con una corriente de Ar durante 30 min. A continuación, se añadió **CP10** (100 mg, 0.151 mmol) y, la mezcla resultante, se agitó bajo atmósfera de Ar a 80°C durante 12 h. La evolución de la reacción se siguió por espectroscopía de masas, tomando alícuotas de la reacción cada cierto tiempo e inyectando las

muestras en modo directo. Una vez confirmada la formación del producto triacoplado, la mezcla se enfrió hasta ta y se desoxigenó mediante corriente de Ar durante 20 min. Al cabo de ese tiempo, se añadió más 10% Pd/C (24.1 mg, 0.0226 mmol), se puso el sistema bajo atmósfera de hidrógeno (presión de globo) y, la suspensión resultante, se agitó a ta durante 12 h. A continuación la mezcla se filtró y las aguas madres se concentraron a presión reducida. El crudo se purificó por HPLC (Columna: Phenomenex Luna C18, Gradiente: 5-75% (ACN + 0.1% TFA)/(H<sub>2</sub>O + 0.1% TFA) en 30 min, tr = 21 min.), dando lugar al ciclopéptido **CP11** como un sólido blanco. [20.5 mg, 15%]. **<sup>1</sup>H-NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz, δ): 8.56 (br, 3H, H6 Py), 8.40 (d, *J* = 9.3 Hz, 3H, NH), 7.63 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H, H4 Py), 7.19 (d, *J* = 7.5 Hz, 3H, H5 Py), 7.14 (t, *J* = 5.3 Hz, 3H, H3 Py), 5.18 (m, 3H, H $\alpha$  Leu), 4.60 (m, 3H, H $\gamma$  Acp), 3.82 (m, 3H, NCH<sub>2</sub>-), 3.19 (m, 3H, NCH<sub>2</sub>-), 2.93 (m, 6H, -CH<sub>2</sub>Py + H $\alpha$  Acp), 2.84 (m, 3H, -CH<sub>2</sub>Py), 2.23 (m, 3H, CH<sub>2</sub> Acp), 1.95 (m, 9H, -CH<sub>2</sub>- linker + CH<sub>2</sub> Acp), 1.41 (m, 3H, CH<sub>2</sub> Acp), 1.30 ppm (d, *J* = 6.5 Hz, 9H, CH<sub>3</sub> Ala). **FTIR (1.0 mM, celda de CaF<sub>2</sub>):**  $\nu$  = 3307 (amida A), 1665 (amida II), 1626 (amida I), 1530 cm<sup>-1</sup> (amida II). **MS (ESI) [m/z (%):** 904.5 ([MH]<sup>+</sup>, 100), 452.3 ([MH]<sup>2+</sup>, 32). **HRMS (ESI) calculado** para C<sub>51</sub>H<sub>70</sub>N<sub>9</sub>O<sub>6</sub>: 904.5444, **encontrado:** 904.5453.

**CP12:** El ciclopéptido se preparó siguiendo el procedimiento descrito en la bibliografía.<sup>163</sup>

**Formación del heterodímero D(11-12):** En un tubo de RMN, se disolvió el ciclopéptido *c*-{[D-Phe-L<sup>Me</sup>N- $\gamma$ -Ach-]<sub>3</sub>} (**CP12**) (12.0 mg, 0.014 mmol) en CDCl<sub>3</sub> (500  $\mu$ L). Por otra parte, en un vial, se disolvió el **CP11** (12.6 mg, 0.014 mmol) en CDCl<sub>3</sub> (60  $\mu$ L). A continuación, se añadieron alícuotas (0.33, 0.66, 1.0 equiv.) de la disolución de **CP11** (60  $\mu$ L, 0.014 mmol) sobre el tubo de RMN, registrándose el espectro de <sup>1</sup>H-RMN después de cada nueva adición (Figura 2.2).

### 3.2. Estudios de coordinación con el homodímero D11

**Adición de AgPF<sub>6</sub>:** En un tubo de RMN, se disolvió una mezcla de homodímero **CP11** (2.3 mg, 0.0025 mmol) y 1,5-dicianopentano (0.16  $\mu$ L, 0.00125) en CDCl<sub>3</sub> (500  $\mu$ L) bajo atmósfera de Ar. Por otra parte, el AgPF<sub>6</sub> (6.3 mg, 0.025 mmol) se pesó en caja seca, se introdujo en un vial y se disolvió en CD<sub>3</sub>CN (200  $\mu$ L) bajo atmósfera de Ar. A continuación, se añadieron alícuotas (0.33, 0.66, 1.0, 2.0, 3.0 equiv.) de la disolución de AgPF<sub>6</sub> (60  $\mu$ L, 0.0075 mmol) sobre el tubo de RMN, registrándose el espectro de <sup>1</sup>H-RMN después de cada nueva adición. En estas condiciones el péptido precipitó.

**Adición de [Cu(CH<sub>3</sub>CN)<sub>4</sub>]PF<sub>6</sub>:** En un tubo de RMN, se disolvió una mezcla de homodímero **CP11** (2.3 mg, 0.0025 mmol) y 1,5-dicianopentano (0.16  $\mu$ L, 0.00125) en CDCl<sub>3</sub> (500  $\mu$ L) bajo atmósfera de Ar. Por otra parte, el Cu(CH<sub>3</sub>CN)<sub>4</sub>]PF<sub>6</sub> (9.3 mg, 0.025 mmol) se pesó en caja seca, se introdujo en un vial y se disolvió en CD<sub>3</sub>CN (200  $\mu$ L) bajo atmósfera de Ar. A continuación, se añadieron alícuotas (0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 2.0, 3.0 equiv.) de la disolución de Cu(CH<sub>3</sub>CN)<sub>4</sub>]PF<sub>6</sub> (60  $\mu$ L, 0.0075 mmol) sobre el tubo de RMN, registrándose el espectro de <sup>1</sup>H-RMN después de cada nueva adición. En estas condiciones el péptido precipitó.

**Adición de Zn(OTf)<sub>2</sub>:** En un tubo de RMN, se disolvió una mezcla de homodímero **CP11** (2.3 mg, 0.0025 mmol) y 1,5-dicianopentano (0.16  $\mu$ L, 0.00125) en CDCl<sub>3</sub> (500  $\mu$ L) bajo atmósfera de Ar. Por otra parte, el Zn(OTf)<sub>2</sub> (9.3 mg, 0.025 mmol) se pesó en caja seca, se introdujo en un vial y se disolvió en CD<sub>3</sub>CN (200  $\mu$ L) bajo atmósfera de Ar. A continuación, se añadieron alícuotas (0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 2.0 equiv.) de la disolución de Zn(OTf)<sub>2</sub> (40  $\mu$ L, 0.0050 mmol) sobre el tubo de RMN, registrándose el espectro de <sup>1</sup>H-RMN después de cada nueva adición (Figura 2.8, Tabla 2.1).

<sup>163</sup> Amorín, M.; Castedo, L.; Granja, J. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 2844-2845.

### 3.3. Estudios de coordinación con el heterodímero D(11-12)

**Blanco:** En un tubo de RMN, se disolvió el heterodímero **D(11-12)** (4.4 mg, 0.0025 mmol) en  $\text{CDCl}_3$  (500  $\mu\text{L}$ ) bajo atmósfera de Ar. A continuación, se añadieron volúmenes de  $\text{CD}_3\text{CN}$  (de 15 en 15  $\mu\text{L}$  hasta un total de 75  $\mu\text{L}$ ) sobre el tubo de RMN, registrándose el espectro de  $^1\text{H}$ -RMN después de cada nueva adición (Figura 2.4).

**Adición de  $\text{AgPF}_6$ :** En un tubo de RMN, se disolvió el heterodímero **D(11-12)** (4.4 mg, 0.0025 mmol) en  $\text{CDCl}_3$  (500  $\mu\text{L}$ ) bajo atmósfera de Ar. Por otra parte, el  $\text{AgPF}_6$  (6.3 mg, 0.025 mmol) se pesó en caja seca, se introdujo en un vial y se disolvió en  $\text{CD}_3\text{CN}$  (200  $\mu\text{L}$ ) bajo atmósfera de Ar. A continuación, se añadieron alícuotas (0.33, 0.66, 1.0, 2.0, 3.0 equiv.) de la disolución de  $\text{AgPF}_6$  (60  $\mu\text{L}$ , 0.0075 mmol) sobre el tubo de RMN, registrándose el espectro de  $^1\text{H}$ -RMN después de cada nueva adición (Figura 2.3, Tabla 2.1).

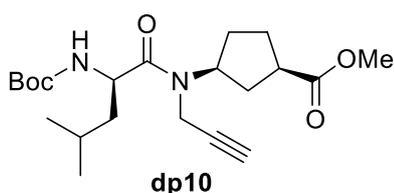
**Adición de  $[\text{Cu}(\text{CH}_3\text{CN})_4]\text{PF}_6$ :** En un tubo de RMN, se disolvió el heterodímero **D(11-12)** (4.4 mg, 0.0025 mmol) en  $\text{CDCl}_3$  (500  $\mu\text{L}$ ) bajo atmósfera de Ar. Por otra parte, el  $[\text{Cu}(\text{CH}_3\text{CN})_4]\text{PF}_6$  (9.3 mg, 0.025 mmol) se pesó en caja seca, se introdujo en un vial y se disolvió en  $\text{CD}_3\text{CN}$  (200  $\mu\text{L}$ ) bajo atmósfera de Ar. A continuación, se añadieron alícuotas (0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 2.0, 3.0 equiv.) de la disolución de  $[\text{Cu}(\text{CH}_3\text{CN})_4]\text{PF}_6$  (60  $\mu\text{L}$ , 0.0075 mmol) sobre el tubo de RMN, registrándose el espectro de  $^1\text{H}$ -RMN después de cada nueva adición (Figura 2.5, Tabla 2.1).

**Adición de 1,5-dicianopentano sobre  $\text{Cu-D(11-12)}$ :** En un vial, se disolvió el 1,5-dicianopentano (3.2  $\mu\text{L}$ , 0.025 mmol) en  $\text{CDCl}_3$  (400  $\mu\text{L}$ ) bajo atmósfera de Ar. A continuación, se añadieron alícuotas (0.15, 0.30, 0.5, 1.0, 1.5 equiv.) de la disolución de 1,5-dicianopentano (60  $\mu\text{L}$ , 0.00375 mmol) sobre el tubo de RMN del experimento anterior, registrándose el espectro de  $^1\text{H}$ -RMN después de cada nueva adición (Figura 2.6).

**Adición de  $\text{Zn}(\text{OTf})_2$ :** En un tubo de RMN, se disolvió el heterodímero **D(11-12)** (4.4 mg, 0.0025 mmol) en  $\text{CDCl}_3$  (500  $\mu\text{L}$ ) bajo atmósfera de Ar. Por otra parte, el  $\text{Zn}(\text{OTf})_2$  (9.3 mg, 0.025 mmol) se pesó en caja seca, se introdujo en un vial y se disolvió en  $\text{CD}_3\text{CN}$  (200  $\mu\text{L}$ ) bajo atmósfera de Ar. A continuación, se añadieron alícuotas (0.33, 0.66, 1.0, 1.5, 2.0, 3.0 equiv.) de la disolución de  $\text{Zn}(\text{OTf})_2$  (60  $\mu\text{L}$ , 0.0075 mmol) sobre el tubo de RMN, registrándose el espectro de  $^1\text{H}$ -RMN después de cada nueva adición (Figura 2.7, Tabla 2.1).

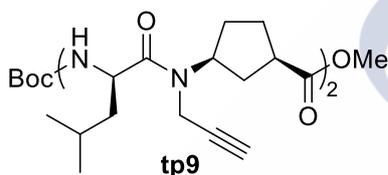
### 3.4. Cambio de diseño

#### 3.4.1. Síntesis y caracterización



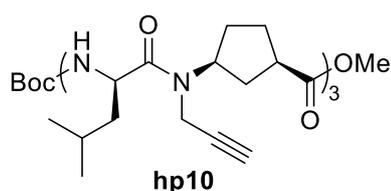
**Boc-D-Leu-L-propargyl-N- $\gamma$ -Acp-OMe (dp10):** Una disolución de **9** (1.11 g, 6.12 mmol) en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  seco (60 mL) se trató sucesivamente con DIEA (4.3 mL, 24.5 mmol), Boc-D-Leu-OH (1.56 g, 6.73 mmol) y *N*-HATU (2.79 g, 7.34 mmol). La mezcla resultante se agitó durante bajo a ta Ar 1 h y, a

continuación, se lavó con una disolución acuosa de HCl (5%, 3 x 60 mL) y con una disolución saturada de NaHCO<sub>3</sub> (3 x 60 mL). La fase orgánica se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El crudo se purificó mediante cromatografía rápida en columna de gel de sílice (15-60% EtOAc/hexano), dando lugar al dipéptido **dp10** como un aceite incoloro. [1.98 g, 82%; R<sub>f</sub> = 0.56 (40% EtOAc/hexano)]. **<sup>1</sup>H-NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz, δ): 5.49 y 5.11 (2d, J = 8.92 y 8.88, 1H, NH), 4.88-4.54 (m, 1.5H, H<sub>α</sub> Leu + H<sub>γ</sub> Acp), 4.54-4.22 (m, 1H, CH<sub>2</sub> propargilo + H<sub>γ</sub> Acp), 4.22-3.83 (m, 1.5H, CH<sub>2</sub> propargilo), 3.67 y 3.65 (s, 3H, OMe), 3.03-2.71 (m, 1H, H<sub>α</sub> Acp), 2.43-1.07 (m, 19H, C≡C-H + CH<sub>2</sub> Acp + Boc + CH<sub>2</sub> Leu + CH Leu), 1.05-0.81 ppm (m, 6H, CH<sub>3</sub> Leu). **<sup>13</sup>C-NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz, δ): 175.8 (CO), 172.5 (CO), 155.3 (CO), 80.4 (C), 72.7 (C), 57.6 (CH<sub>3</sub>), 51.7 (CH), 48.6 (CH), 42.0 (CH<sub>2</sub>), 41.0 (CH), 32.6 (CH<sub>2</sub>), 29.6 (CH<sub>2</sub>) 28.2 (CH<sub>3</sub>), 27.8 (CH<sub>2</sub>), 27.4 (CH<sub>2</sub>) 24.5 (CH<sub>3</sub>), 23.4 (CH), 21.6 ppm (CH). **MS (ESI)** [m/z (%): 417.2 ([MNa]<sup>+</sup>, 100), 395.2 ([MH]<sup>+</sup>, 31), 295.2 ([MH]<sup>+</sup>-Boc, 48). **HRMS (ESI) calculado** para C<sub>21</sub>H<sub>34</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>Na: 417.2360, **encontrado**: 417.2362.



**Boc-(D-Leu-L-propargyl-N-γ-Acp)<sub>2</sub>-OMe (tp9)**: Una disolución de **dp10** (450 mg, 1.14 mmol) en una mezcla de agua y MeOH (1:3, 11.4 mL) se trató con LiOH (82.1 mg, 3.42 mmol). La mezcla se agitó a ta durante 2 h y, a continuación, se acidificó con una disolución acuosa de HCl (10%) hasta un pH de 2.5. El producto se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x 10 mL) y las fases orgánicas combinadas se secaron con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida; dando lugar al dipéptido Boc-D-Leu-L-propargyl-N-γ-Acp-OH (**dp12**), que se utilizó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

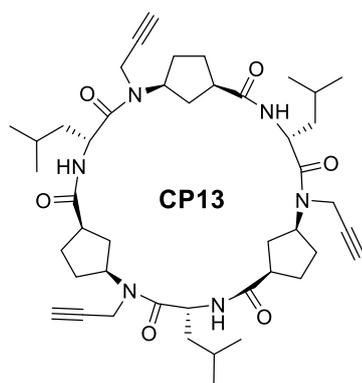
Por otra parte, una disolución de **dp10** (450 mg, 1.14 mmol) en una mezcla de TFA y CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:1, 11.4 mL) se agitó a ta durante 15 min. La disolución se concentró a presión reducida y el residuo se disolvió y concentró a sequedad de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x 10 mL). El sólido obtenido se secó a alto vacío durante 3 h. La sal de TFA resultante **dp11** se disolvió en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> seco (11.4 mL) y se trató sucesivamente con DIEA (1.18 mL, 6.78 mmol), dipéptido desprotegido **dp12** y N-HBTU (514 mg, 1.36 mmol). La mezcla se agitó durante bajo Ar a ta 1 h y, a continuación, se lavó con una disolución acuosa de HCl (5%, 3 x 10 mL) y con una disolución saturada de NaHCO<sub>3</sub> (3 x 10 mL). La fase orgánica se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El crudo se purificó mediante cromatografía rápida en columna de gel de sílice (0-2% MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), dando lugar al tetrapéptido **tp9** como una espuma blanca. [721 mg, 97%, R<sub>f</sub> = 0.46 (5% MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)]. **MS (ESI)** [m/z (%): 679.4 ([MNa]<sup>+</sup>, 100), 657.4 ([MH]<sup>+</sup>, 22), 557.4 ([MH]<sup>+</sup>-Boc, 41). **HRMS (ESI) calculado** para C<sub>36</sub>H<sub>57</sub>N<sub>4</sub>O<sub>7</sub>: 657.4222, **encontrado**: 657.4222.



**Boc-(D-Leu-L-propargyl-N- $\gamma$ -Acp)<sub>3</sub>-OMe (hp10):** Una disolución de **dp10** (450 mg, 1.14 mmol) en una mezcla de agua y MeOH (1:3, 11.4 mL) se trató con LiOH (82.1 mg, 3.42 mmol). La mezcla se agitó a ta durante 2 h y, a continuación, se acidificó con una disolución acuosa de HCl (10%) hasta un

pH de 2.5. El producto se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x 10 mL) y las fases orgánicas combinadas se secaron con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida; dando lugar al dipéptido Boc-D-Leu-L-propargyl-N- $\gamma$ -Acp-OH (**dp12**), que se utilizó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

Por otra parte, una disolución de **tp9** (692 mg, 1.05 mmol) en una mezcla de TFA y CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:1, 10 mL) se agitó a ta durante 15 min. La disolución se concentró a presión reducida y el residuo se disolvió y concentró a sequedad de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x 5 mL). El sólido obtenido se secó a alto vacío durante 3 h. La sal de TFA resultante **tp10** se disolvió en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> seco (10 mL) y se trató sucesivamente con DIEA (1.1 mL, 6.30 mmol), dipéptido desprotegido **dp12** y N-HBTU (478 mg, 1.26 mmol). La mezcla se agitó bajo Ar a ta durante 1 h y, a continuación, se lavó con una disolución acuosa de HCl (5%, 3 x 10 mL) y con una disolución saturada de NaHCO<sub>3</sub> (3 x 10 mL). La fase orgánica se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El crudo se purificó mediante cromatografía rápida en columna de gel de sílice (0-4% MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), dando lugar al hexapéptido **hp10** como una espuma blanca. [874 mg, 91%, R<sub>f</sub> = 0.42 (5% MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)]. **MS (ESI)** [m/z (%): 941.6 ([MNa]<sup>+</sup>, 100), 919.6 ([MH]<sup>+</sup>, 36), 841.6 ([MNa]<sup>+</sup>-Boc, 23). **HRMS (ESI) calculado** para C<sub>51</sub>H<sub>79</sub>N<sub>6</sub>O<sub>9</sub>; 919.5903, **encontrado**: 919.5904.

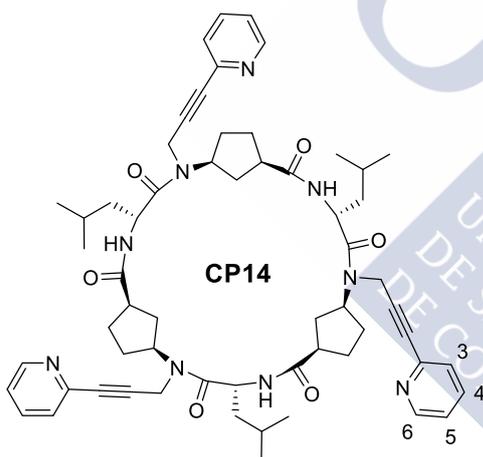


**c-[(D-Leu-L-propargyl-N- $\gamma$ -Acp)<sub>3</sub>] (CP13):** Una disolución de hexapéptido lineal **hp10** (804 mg, 0.876 mmol) en una mezcla de agua y MeOH (1:3, 8.7 mL) se trató con LiOH (63.0 mg, 2.63 mmol). La mezcla se agitó a ta durante 2 h y, a continuación, se acidificó con una disolución acuosa de HCl (10%) hasta un pH de 2.5. El producto se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x 10 mL) y las fases orgánicas combinadas se secaron con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida; dando lugar al hexapéptido Boc-(D-Leu-L-propargyl-N- $\gamma$ -Acp)<sub>3</sub>-OH (**hp11**), que se

utilizó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

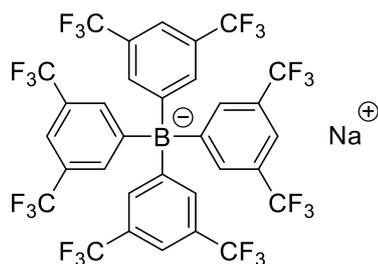
El **hp11** se disolvió en una mezcla de TFA y CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:1, 8.7 mL) y se agitó a ta durante 15 min. La disolución se concentró a presión reducida y el residuo se disolvió y concentró a sequedad de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x 5 mL). El sólido obtenido se secó a alto vacío durante 3 h. El hexapéptido resultante **hp12** se disolvió en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> seco (876 mL) y se trató con DIEA (920  $\mu$ L, 5.26 mmol) y N-TBTU (338 mg, 1.05 mmol). La mezcla se agitó bajo Ar a ta durante 12 h y, posteriormente, se concentró a presión reducida para reducir el volumen de disolvente. A

continuación, dicha disolución se lavó con una disolución acuosa de HCl (5%, 3 x 10 mL) y con una disolución saturada de NaHCO<sub>3</sub> (3 x 10 mL). La fase orgánica se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía rápida en columna de gel de sílice (0-4% MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), dando lugar al ciclopéptido **CP13** como un sólido blanco. [341 mg, 49%, R<sub>f</sub> = 0.35 (5% MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)]. **<sup>1</sup>H-NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz, δ): 8.11 (d, J = 9.5 Hz, 3 H, NH), 5.10 (m, 3H, H<sub>α</sub> Leu), 4.80 (AB, J = 20.1 Hz, 3H, CH<sub>2</sub> propargilo), 4.66 (m, 3H, H<sub>γ</sub> Acp), 3.82 (AB, J = 20.1 Hz, 3H, CH<sub>2</sub> propargilo), 2.86 (m, 3H, H<sub>α</sub> Acp), 2.27 (s, 3H, C≡C-H), 2.21-1.28 (m, 27H, CH<sub>2</sub> Acp + CH<sub>2</sub> Leu + CH Leu), 0.94-0.84 ppm (dobletes solapados, 18H, CH<sub>3</sub> Leu). **<sup>13</sup>C-NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 75.4 MHz, δ): 175.7 (CO), 173.6 (CO), 80.2 (C), 72.4 (CH), 54.9 (CH), 47.2 (CH), 41.4 (CH), 41.4 (CH<sub>2</sub>), 35.9 (CH<sub>2</sub>), 32.7 (CH<sub>2</sub>), 27.7 (CH<sub>2</sub>), 27.5 (CH<sub>2</sub>), 24.6 (CH), 23.3 (CH<sub>3</sub>), 22.0 ppm (CH<sub>3</sub>). **FTIR (1.0 mM, celda de CaF<sub>2</sub>):** ν = 3301 (amida A), 1665 (amida I<sub>II</sub>), 1620 (amida I), 1533 cm<sup>-1</sup> (amida II). **MS (ESI) [m/z (%):** 809.5 ([MNa]<sup>+</sup>, 100), 787.5 ([MH]<sup>+</sup>, 52), 404.8 ([MNa]<sup>2+</sup>, 23). **HRMS (ESI) calculado** para C<sub>45</sub>H<sub>67</sub>N<sub>6</sub>O<sub>6</sub>: 787.5117, **encontrado:** 787.5116.



**CP14:** Una disolución de **CP13** (30.0 mg, 0.0382 mmol), 2-yodopiridina (37 μL, 0.344 mmol) y CuI (2.2 mg, 0.0115 mmol) en Et<sub>3</sub>N/THF (1:3, 3.8 mL) se desoxigenó mediante burbujeo con una corriente de Ar durante 20 min. A continuación, se añadió Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (4.0 mg, 0.00573 mmol) y, la mezcla resultante, se agitó bajo Ar a ta durante 12 h. El disolvente se eliminó a presión reducida, el residuo se disolvió en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (5 mL) y, la disolución resultante, se lavó con una disolución saturada de NH<sub>4</sub>Cl (2 x 5 ml). La fase orgánica se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El crudo se purificó mediante cromatografía rápida en columna de gel de sílice (0-10% MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), dando lugar al **CP14** como un sólido amarillo. [17.0 mg, 44%]. **<sup>1</sup>H-NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz, δ): 8.58 (d, J = 4.4 Hz, 3H, H<sub>6</sub> Py), 8.26 (d, J = 9.4 Hz, 3H, NH), 7.64 (t, J = 6.4 Hz, 3H, H<sub>4</sub> Py), 7.38 (d, J = 7.7 Hz, 3H, H<sub>5</sub> Py), 7.23 (t, J = 5.0 Hz, 3H, H<sub>3</sub> Py), 5.28 (m, 3H, H<sub>α</sub> Leu), 5.13 (AB, J = 19.0 Hz, 3H, CH<sub>2</sub> propargilo), 4.79 (m, 3H, H<sub>γ</sub> Acp), 4.12 (AB, J = 19.0 Hz, 3H, CH<sub>2</sub> propargilo), 2.95 (m, 3H, H<sub>α</sub> Acp), 2.36-1.32 (m, 27H, CH<sub>2</sub> Acp + CH<sub>2</sub> Leu + CH Leu), 1.02-0.78 ppm (m, 18H, CH<sub>3</sub> Leu). **<sup>13</sup>C-NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 75.4 MHz, δ): 175.7 (CO), 173.9 (CO), 150.1 (CH), 142.7 (C), 136.1 (CH), 127.0 (CH), 123.0 (CH), 85.8 (C), 83.6 (C), 55.0 (CH), 47.6 (CH), 42.0 (CH), 41.6 (CH<sub>2</sub>), 36.3 (CH<sub>2</sub>), 33.6 (CH<sub>2</sub>), 28.0 (CH<sub>2</sub>), 27.8 (CH<sub>2</sub>), 24.8 (CH), 23.4 (CH<sub>3</sub>), 22.1 ppm (CH<sub>3</sub>). **FTIR (1.0 mM, celda de CaF<sub>2</sub>):** ν = 3307 (amida A), 1665 (amida I<sub>II</sub>), 1627 (amida I), 1530 cm<sup>-1</sup> (amida II). **MS (ESI) [m/z (%):** 1040.6 ([MNa]<sup>+</sup>, 100), 1018.6 ([MH]<sup>+</sup>, 23), 509.3 ([MH]<sup>2+</sup>, 56). **HRMS (ESI) calculado** para C<sub>60</sub>H<sub>76</sub>N<sub>9</sub>O<sub>6</sub>: 1018.5913, **encontrado:** 1018.5920.



**Tetrakis[3,5-bis(trifluorometil)fenil]borato sódico:** El  $\text{NaBF}_4$  se secó un pistolete a alto vacío (0.11 mm Hg) a  $90\text{ }^\circ\text{C}$  durante toda la noche. El Mg se lavó con agua regia ( $\text{HCl}/\text{HNO}_3$  (3:1)), acetona y  $\text{Et}_2\text{O}$  y se secó en bomba de alto vacío durante toda la noche.

Sobre una mezcla de Mg seco (417 mg, 17.2 mmol) y 1,2-dibromoetano seco (0.2 mL, 2.4 mmol) en  $\text{Et}_2\text{O}$  seco (62 mL); se añadió, gota a gota con un embudo de presión compensada, una disolución de 1-bromo-3,5-bis(trifluorometil)benceno (2.56 mL, 14.8 mmol) en  $\text{Et}_2\text{O}$  seco (20 mL). La mezcla resultante se calentó a reflujo bajo Ar durante 40 min. y, a continuación, se añadió  $\text{NaBF}_4$  (295 mg, 2.7 mmol). La disolución se agitó durante 12 h a ta. Al cabo de ese tiempo se añadió disolución saturada de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (100 mL), se agitó durante 30 minutos y la mezcla resultante se filtró. Las aguas madres se decantaron y el producto se extrajo con  $\text{Et}_2\text{O}$  (3 x 50 mL). Las fases orgánicas combinadas se secaron con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se filtraron y se concentraron a vacío. El residuo resultante se secó a presión reducida a  $100\text{ }^\circ\text{C}$  durante 12 h y se lavó con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  frío ( $-30\text{ }^\circ\text{C}$ ) para dar lugar a la sal deseada como un sólido blanco [1.72 g, 72%].<sup>267,293</sup>

### 3.4.2. Estudios de coordinación con el homodímero D14

**Adición de  $\text{Zn}(\text{OTf})_2$ :** En un tubo de RMN, se disolvió el ciclopéptido **CP14** (2.5 mg, 0.0025 mmol) en  $\text{CDCl}_3$  (500  $\mu\text{L}$ ) bajo atmósfera de Ar. Por otra parte, el  $\text{Zn}(\text{OTf})_2$  (9.3 mg, 0.025 mmol) se pesó en caja seca, se introdujo en un vial y se disolvió en  $\text{CD}_3\text{CN}$  (200  $\mu\text{L}$ ) bajo atmósfera de Ar. A continuación, se añadieron alícuotas (0.5, 1.0, 2.0, 3.0 equiv.) de la disolución de  $\text{Zn}(\text{OTf})_2$  (60  $\mu\text{L}$ , 0.0075 mmol) sobre el tubo de RMN, registrándose el espectro de  $^1\text{H}$ -RMN después de cada nueva adición (Figura 2.9, Tabla 2.2).

**Adición de 1,8-octanodicarboxilato de sodio:** el 1,8-octanodicarboxilato de sodio (0.3 mg, 0.00125 mmol) se añadió al tubo de RMN del experimento anterior. La mezcla resultante se sonicó y, a continuación, se registró el espectro de  $^1\text{H}$ -RMN.

**Adición de  $[\text{Cu}(\text{CH}_3\text{CN})_4]\text{PF}_6$ :** En un tubo de RMN, se disolvió el ciclopéptido **CP14** (2.5 mg, 0.0025 mmol) en  $\text{CDCl}_3$  (500  $\mu\text{L}$ ) bajo atmósfera de Ar. Por otra parte, el  $[\text{Cu}(\text{CH}_3\text{CN})_4]\text{PF}_6$  (9.3 mg, 0.025 mmol) se pesó en caja seca, se introdujo en un vial y se disolvió en  $\text{CD}_3\text{CN}$  (200  $\mu\text{L}$ ) bajo atmósfera de Ar. A continuación, se añadieron alícuotas (0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 2.0, 3.0 equiv.) de la disolución de  $[\text{Cu}(\text{CH}_3\text{CN})_4]\text{PF}_6$  (60  $\mu\text{L}$ , 0.0075 mmol) sobre el tubo de RMN, registrándose el espectro de  $^1\text{H}$ -RMN después de cada nueva adición. En estas condiciones el péptido precipitó.

**Formación de  $[\text{Cu}(\text{CH}_3\text{CN})_4][\text{BAR}^{\text{F}_4}]$ :** Una mezcla de  $[\text{Cu}(\text{CH}_3\text{CN})_4]\text{PF}_6$  (10.0 mg, 0.027 mmol) y  $\text{Na}[\text{BAR}^{\text{F}_4}]$  (23.8 mg, 0.027) en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  seco y desoxigenado (1 mL) se agitó a ta bajo Ar

<sup>267</sup> Yakelis, N. A.; Bergman, R. G. *Organometallics* **2005**, *24*, 3579-3581.

<sup>293</sup> Reger, D. L.; Wright, T. D.; Little, C. A.; Lamba, J. J. S.; Smith, M. D. *Inorg. Chem.* **2001**, *40*, 3810-3814.

durante 2 h. A continuación, la suspensión resultante se filtró y las aguas madres se concentraron a presión reducida, dando lugar al  $[\text{Cu}(\text{CH}_3\text{CN})_4][\text{BAr}^{\text{F}_4}]$  como un sólido blanco. [20.6 mg, 70%].

Para los experimentos que se describirán a continuación, el THF- $d_8$  se desoxigenó previamente mediante burbujeo con una corriente de Ar y se almacenó bajo Ar con tamices moleculares. En todos ellos se añadió tetrakis(trimetilsilil)silano como referencia interna.

**Adición de  $[\text{Cu}(\text{CH}_3\text{CN})_4][\text{BAr}^{\text{F}_4}]$ :** En un tubo de RMN, se disolvió una mezcla de ciclopéptido **CP14** (2.5 mg, 0.0025 mmol) y  $[\text{Cu}(\text{CH}_3\text{CN})_4][\text{BAr}^{\text{F}_4}]$  (2.7 mg, 0.0025 mmol) en THF- $d_8$  (500  $\mu\text{L}$ ) desoxigenado bajo atmósfera de Ar. La disolución resultante se agitó y, a continuación, se registró el espectro de  $^1\text{H}$ -RMN (Figura 2.10, Tabla 2.2).

**Adición de CuI:** En un tubo de RMN, se disolvió una mezcla de ciclopéptido **CP14** (2.5 mg, 0.0025 mmol) y CuI (0.48 mg, 0.0025 mmol) en THF- $d_8$  (500  $\mu\text{L}$ ) desoxigenado bajo atmósfera de Ar. La disolución resultante se agitó y, a continuación, se registró el espectro de  $^1\text{H}$ -RMN (Figura 2.11, Tabla 2.2). A continuación, se tomó una alícuota y se realizó un espectro de masas. **MS (ESI)** [m/z (%): 1207.4 ( $[\text{MH}]^+$ , 32), 1018.6 ( $[\text{MH}]^+$ , 100), 509.3 ( $[\text{MH}]^{2+}$ , 48).

### 3.4.3. Estudios de encapsulación con el homodímero D14

**Encapsulación de 1,4-dicianobutano:** En un tubo de RMN, se disolvió una mezcla de ciclopéptido **CP14** (2.5 mg, 0.0025 mmol), CuI (0.48 mg, 0.0025 mmol),  $\text{Na}[\text{BAr}^{\text{F}_4}]$  (2.2 mg, 0.0025 mmol) y 1,4-dicianobutano (0.14  $\mu\text{L}$ , 0.00125 mmol) en THF- $d_8$  (500  $\mu\text{L}$ ) desoxigenado bajo atmósfera de Ar. La disolución resultante se agitó y, a continuación, se registró el espectro de  $^1\text{H}$ -RMN. Posteriormente, se añadió  $\text{AgPF}_6$  (1.3 mg, 0.005 mmol), se registró un nuevo espectro de  $^1\text{H}$ -RMN (Figura 2.12, Tabla 2.2).

**Encapsulación de (E)-hex-3-enodinitrilo:** En un tubo de RMN, se disolvió una mezcla de ciclopéptido **CP14** (2.5 mg, 0.0025 mmol), CuI (0.48 mg, 0.0025 mmol),  $\text{Na}[\text{BAr}^{\text{F}_4}]$  (2.2 mg, 0.0025 mmol) y 1,4-dicianobutano (0.13 mg, 0.00125 mmol) en THF- $d_8$  (500  $\mu\text{L}$ ) desoxigenado bajo atmósfera de Ar. La disolución resultante se agitó y, a continuación, se registró el espectro de  $^1\text{H}$ -RMN. Posteriormente, se añadió  $\text{AgPF}_6$  (1.3 mg, 0.005 mmol), se registró un nuevo espectro de  $^1\text{H}$ -RMN (Figura 2.13, Tabla 2.2) y se llevaron a cabo los experimentos de DOSY (Figura 2.14).

## 3.5. Aproximación supramolecular

### 3.5.1. Síntesis de los ligandos S1-3

**S1:** La 1,4-butanodiamina (50  $\mu\text{L}$ , 0.50 mmol) se disolvió en una disolución acuosa de HCl al 5% (1 mL) y, la mezcla resultante, se agitó a ta durante 30 minutos. Al cabo de ese tiempo, la

disolución se liofilizó, dando lugar al dicloruro de 1,4-butadiamonio como un sólido blanco, que se utilizó sin purificación adicional. [79.7 mg, 99%].

Intercambio de contraíón: Una mezcla de dicloruro de 1,4-diamonio (5.0 mg, 0.031 mmol) y Na[BAr<sup>F</sup><sub>4</sub>] (54.9 mg, 0.062) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> seco (1 mL) se agitó a ta bajo Ar durante 4 h. A continuación, la suspensión resultante se filtró y las aguas madres se concentraron a presión reducida, dando lugar a **S1** como un sólido blanco. [41.1 mg, 73%].

**S2:** La 1,6-hexanodiamina (50 µL, 0.36 mmol) se disolvió en una disolución acuosa de HCl al 5% (1 mL) y, la mezcla resultante, se agitó a ta durante 30 minutos. Al cabo de ese tiempo, la disolución se liofilizó, dando lugar al dicloruro de 1,6-hexanodiamonio como un sólido blanco, que se utilizó sin purificación adicional. [67.4 mg, 99%].

Intercambio de contraíón: Una mezcla de dicloruro de 1,6-hexanodiamonio (5.0 mg, 0.026 mmol) y Na[BAr<sup>F</sup><sub>4</sub>] (47.0 mg, 0.053) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> seco (1 mL) se agitó a ta bajo Ar durante 4 h. A continuación, la suspensión resultante se filtró y las aguas madres se concentraron a presión reducida, dando lugar a **S2** como un sólido blanco. [40.0 mg, 82%].

**S3:** La 1,8-octanodiamina (50.0 mg, 0.35 mmol) se disolvió en una disolución acuosa de HCl al 5% (1 mL) y, la mezcla resultante, se agitó a ta durante 30 minutos. Al cabo de ese tiempo, la disolución se liofilizó, dando lugar al dicloruro de 1,8-octanodiamonio como un sólido blanco, que se utilizó sin purificación adicional. [75.3 mg, 99%].

Intercambio de contraíón: Una mezcla de dicloruro de 1,4-diamonio (5.0 mg, 0.023 mmol) y Na[BAr<sup>F</sup><sub>4</sub>] (40.8 mg, 0.046) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> seco (1 mL) se agitó a ta bajo Ar durante 4 h. A continuación, la suspensión resultante se filtró y las aguas madres se concentraron a presión reducida, dando lugar a **S3** como un sólido blanco. [29.3 mg, 68%].

### 3.5.2. Estudios de encapsulación de los diamonios S1-3

**Encapsulación de S1:** En un tubo de RMN, se disolvió una mezcla de ciclopéptido **CP14** (5.0 mg, 0.0050 mmol) y ligando **S1** (4.5 mg, 0.0025 mmol) en CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (500 µL). Se añadió tetrakis(trimetilsilil)silano (0.33 mg, 0.0010 µmol) como referencia interna. La disolución resultante se agitó y, a continuación, se registró el espectro de <sup>1</sup>H-RMN (Figura 2.17, Tabla 2.3 y 2.4) y se llevaron a cabo los experimentos de DOSY (Figura 2.18a, Tabla 2.5). Las muestras para los estudios de DOSY a 5 y 2 µL se prepararon por dilución de la disolución anterior.

**Encapsulación de S2:** En un tubo de RMN, se disolvió una mezcla de ciclopéptido **CP14** (5.0 mg, 0.0050 mmol) y ligando **S2** (4.6 mg, 0.0025 mmol) en CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (500 µL). Se añadió tetrakis(trimetilsilil)silano (0.33 mg, 0.0010 µmol) como referencia interna. La disolución resultante se agitó y, a continuación, se registró el espectro de <sup>1</sup>H-RMN (Figura 2.16, Tabla 2.3 y 2.4) y se llevaron a cabo los experimentos de DOSY (Figura 2.18b, Tabla 2.5). Las

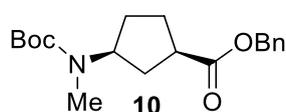
muestras para los estudios de DOSY a 5 y 2  $\mu\text{L}$  se prepararon por dilución de la disolución anterior.

**Encapsulación de S3:** En un tubo de RMN, se disolvió una mezcla de ciclopeptido **CP14** (5.0 mg, 0.0050 mmol) y ligando **S3** (4.7 mg, 0.0025 mmol) en  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$  (500  $\mu\text{L}$ ). Se añadió tetrakis(trimetilsilil)silano (0.33 mg, 0.0010  $\mu\text{mol}$ ) como referencia interna. La disolución resultante se agitó y, a continuación, se registró el espectro de  $^1\text{H}$ -RMN (Figura 2.15, Tabla 2.3 y 2.4) y se llevaron a cabo los experimentos de DOSY (Figura 2.18c, Tabla 2.5). Las muestras para los estudios de DOSY a 5 y 2  $\mu\text{L}$  se prepararon por dilución de la disolución anterior.



## 4. Capítulo 3

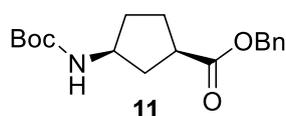
### 4.1. Diseños previos: síntesis y caracterización



**(1R,3S)-3-[(*tert*-butiloxycarbonil)metilamino]ciclopentanocarboxi-**

**lato de bencilo (Boc-*L*-MeN- $\gamma$ -Acp-OBn) (10):** Una disolución de Boc-

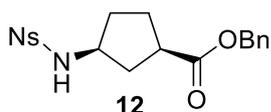
*L*-MeN- $\gamma$ -Acp-OH (4) (600 mg, 2.47 mmol) y alcohol bencílico (2.6 mL, 24.7 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (25 mL) se trató con EDC.HCl (708 mg, 3.70 mmol), HOBT (500 mg, 3.70 mmol) y DMAP (452 mg, 3.70 mmol). Al cabo de 3 h de agitación a ta, la mezcla se lavó con una disolución acuosa de HCl (5%, 3 x 30 mL) y con una disolución saturada de NaHCO<sub>3</sub> (3 x 30 mL). La fase orgánica se secó, con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y concentró a presión reducida. El crudo se purificó mediante cromatografía rápida en columna de gel de sílice (5-10% EtOAc/hexano), dando lugar a **10** como un aceite amarillo. [816 mg, 99%, *R<sub>f</sub>* = 0.70 (30% EtOAc/hexano)]. <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz,  $\delta$ ): 7.29 (s, 5H, Ar Bn), 5.06 (s, 2H, CH<sub>2</sub> Bn), 4.46 (br, 1H, H $\gamma$  Acp), 2.75 (m, 1H, H $\alpha$  Acp), 2.66 (s, 3H, NMe), 2.16-1.49 (m, 6H, CH<sub>2</sub> Acp), 1.39 ppm (s, 9H, Boc). <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 75.4 MHz,  $\delta$ ): 180.0 (CO), 160.0 (CO), 140.2 (C), 132.8 (CH), 132.4 (CH), 132.3 (CH), 83.8 (C), 70.6 (CH<sub>2</sub>), 60.1 (CH), 45.7 (CH), 36.3 (CH<sub>2</sub>), 33.4 (CH<sub>2</sub>), 32.7 (CH<sub>3</sub>), 32.5 (CH<sub>3</sub>), 31.6 ppm (CH<sub>2</sub>). **MS (ESI)** [*m/z* (%): 356.2 ([MNa]<sup>+</sup>, 100), 300.2 ([MNa]<sup>+</sup>-*t*Bu, 27). **HRMS (ESI) calculado** para C<sub>19</sub>H<sub>27</sub>NNaO<sub>4</sub>: 356.1832, **encontrado**: 356.1832.



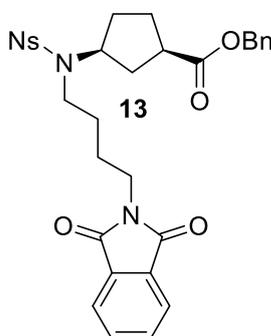
**(1R,3S)-3-(*tert*-butiloxycarbonilamino)ciclopentanocarboxilato de**

**bencilo (Boc-*L*- $\gamma$ -Acp-OBn) (11):** Una disolución de Boc-*L*- $\gamma$ -Acp-

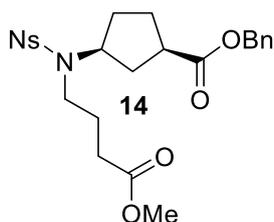
OH (2.50 g, 10.9 mmol) y alcohol bencílico (3.4 mL, 32.8 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (55 mL) se trató con EDC.HCl (3.13 g, 16.4 mmol), HOBT (2.21 g, 16.4 mmol) y DMAP (2.00 g, 16.4 mmol). Al cabo de 3 h de agitación a ta, la mezcla se lavó con una disolución acuosa de HCl (5%, 3 x 50 mL) y con una disolución saturada de NaHCO<sub>3</sub> (3 x 50 mL). La fase orgánica se secó, con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y concentró a presión reducida. El crudo se purificó mediante cromatografía rápida en columna de gel de sílice (10-30% EtOAc/hexano), dando lugar a **11** como un aceite amarillo. [2.30 g, 66%, *R<sub>f</sub>* = 0.90 (50% EtOAc/hexano)]. <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz,  $\delta$ ): 7.17 (s, 5H, Ar Bn), 5.21 (br, 1H, NH), 4.95 (s, 2H, CH<sub>2</sub> Bn), 3.89 (br, 1H, H $\gamma$  Acp), 2.66 (m, 1H, H $\alpha$  Acp), 2.05 (m, 1H, CH<sub>2</sub> Acp), 1.75 (br, 3H, CH<sub>2</sub> Acp), 1.59 (m, 1H, CH<sub>2</sub> Acp), 1.45 (m, 1H, CH<sub>2</sub> Acp), 1.29 ppm (s, 10H, Boc + CH<sub>2</sub> Acp). <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 75.4 MHz,  $\delta$ ): 180.8 (CO), 159.6 (CO), 140.1 (C), 132.8 (CH), 132.4 (CH), 132.3 (CH), 83.2 (C), 70.7 (CH<sub>2</sub>), 56.2 (CH), 46.1 (CH), 40.6 (CH<sub>2</sub>), 37.3 (CH<sub>2</sub>), 32.6 (CH<sub>3</sub>), 32.2 ppm (CH<sub>2</sub>). **MS (ESI)** [*m/z* (%): 342.2 ([MNa]<sup>+</sup>, 100), 286.1 ([MNa]<sup>+</sup>-*t*Bu, 62), 220.1 ([MH]<sup>+</sup>-Boc, 24). **HRMS (ESI) calculado** para C<sub>18</sub>H<sub>25</sub>NNaO<sub>4</sub>: 342.1676, **encontrado**: 342.1677.



**(1R,3S)-3-(2-Nitrobenzenosulfonilamino)ciclopentanocarboxilato de bencilo (Ns-L-γ-Acp-OBn) (12):** Una disolución de **11** (2.44 g, 7.65 mmol) en una mezcla de TFA y CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:1, 7.6 mL) se agitó a ta durante 15 min. La disolución se concentró a presión reducida y el residuo se disolvió y concentró de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x 10 mL). El sólido obtenido se secó a alto vacío durante 3 h. La sal de TFA resultante se disolvió en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> seco (7.6 mL) y se trató sucesivamente con DIEA (8.02 mL, 45.9 mmol) y cloruro de 2-nitrobenzenosulfonilo (2.03 g, 9.18 mmol). La mezcla se agitó a ta durante 1.5 h y, a continuación, se lavó con una disolución acuosa de HCl (5%, 3 x 250 mL) y con una disolución saturada de NaHCO<sub>3</sub> (3 x 250 mL). La fase orgánica se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía rápida en columna de gel de sílice (15-30% EtOAc/hexano), dando lugar a **12** como un aceite amarillo. [2.52 g, 84%, R<sub>f</sub> = 0.35 (40% EtOAc/hexano)]. **<sup>1</sup>H-NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz, δ): 8.05 (m, 1H, Ns), 7.71 (m, 1H, Ns), 7.63 (m, 2H, Ns), 7.25 (s, 5H, Ar Bn), 5.92 (m, 1H, NH), 5.04 (s, 2H, CH<sub>2</sub> Bn), 4.04 y 3.85 (2m, 1H, H<sub>γ</sub> Acp), 2.90 y 2.77 (2m, 1H, H<sub>α</sub> Acp), 2.02 (m, 1H, CH<sub>2</sub> Acp), 1.93-1.65 (m, 1H, CH<sub>2</sub> Acp), 1.56 ppm (m, 1H, CH<sub>2</sub> Acp). **<sup>13</sup>C-NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 75.4 MHz, δ): 180.3 (CO), 152.1 (C), 140.0 (C), 138.7 (C), 137.9 (CH), 137.1 (CH), 134.9 (CH), 132.8 (CH), 132.5 (CH), 132.4 (CH), 129.5 (CH), 70.9 (CH<sub>2</sub>), 59.7 (CH), 45.9 (CH), 40.6 (CH<sub>2</sub>), 37.2 (CH<sub>2</sub>), 32.0 ppm (CH<sub>2</sub>). **MS (ESI)** [m/z (%): 427.1 ([MNa]<sup>+</sup>, 100), 405.1 ([MH]<sup>+</sup>, 24). **HRMS (ESI) calculado** para C<sub>19</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>NaO<sub>6</sub>S: 427.0934, **encontrado**: 427.0932.

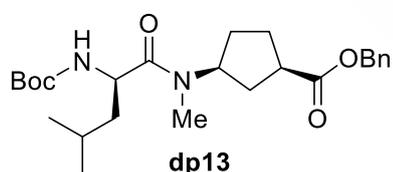


**(1R,3S)-3-[(2-Nitrobenzenosulfonil)4-ftalimidobutilamino]ciclopentanocarboxilato de bencilo (Ns-L-PhthN(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>N-γ-Acp-OBn) (13):** Una disolución de **12** (1.20 g, 2.97 mmol) en DMF seca (6 mL) se trató con K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (3.28 g, 23.8 mmol) y *N*-(4-bromobutil)ftalimida (1.68 g, 5.94 mmol). La mezcla se agitó bajo Ar a ta durante 3 h. El disolvente se eliminó a presión reducida, el residuo resultante se suspendió en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (20 mL) y se lavó con agua (3 x 20 mL) y con una disolución saturada de NaCl (3 x 20 mL). La fase orgánica se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y concentró a presión reducida. El crudo se purificó mediante cromatografía rápida en columna de gel de sílice (10-60% EtOAc/hexano), dando lugar a **13** como un aceite amarillo. [993 mg, 55%, R<sub>f</sub> = 0.45 (50% EtOAc/hexano)]. **<sup>1</sup>H-NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz, δ): 8.01-7.90 (m, 1H, Ns), 7.84-7.73 (m, 2H, Ns), 7.72-7.47 (m, 5H, Ns + Ar ftalimido), 7.29 (s, 5H, Ar Bn), 5.06 (s, 2H, CH<sub>2</sub> Bn), 4.18 (m, 1H, H<sub>γ</sub> Acp), 3.61 (m, 2H, CH<sub>2</sub> ftalimidobutilo), 3.26 (m, 2H, CH<sub>2</sub> ftalimidobutilo), 2.92-2.68 (m, 1H, H<sub>α</sub> Acp), 2.15-1.48 ppm (m, 10H, CH<sub>2</sub> Acp + CH<sub>2</sub> ftalimidobutilo). **<sup>13</sup>C-NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 75.4 MHz, δ): 175.3 (CO), 168.2 (CO), 148.0 (C), 135.8 (C), 133.9 (CH), 133.7 (C), 133.5 (CH), 132.0 (C), 131.7 (CH), 130.5 (CH), 128.5 (CH), 128.2 (CH), 128.1 (CH), 124.1 (CH), 123.2 (CH), 66.5 (CH<sub>2</sub>), 58.7 (CH), 43.8 (CH<sub>2</sub>), 40.6 (CH), 37.3 (CH<sub>2</sub>), 32.4 (CH<sub>2</sub>), 28.7 (CH<sub>2</sub>), 28.5 (CH<sub>2</sub>), 26.7 (CH<sub>2</sub>), 25.9 ppm (CH<sub>2</sub>). **MS (ESI)** [m/z (%): 628.2 ([MNa]<sup>+</sup>, 100), 606.2 ([MH]<sup>+</sup>, 52). **HRMS (ESI) calculado** para C<sub>31</sub>H<sub>31</sub>N<sub>3</sub>NaO<sub>8</sub>S: 628.1724, **encontrado**: 628.1725.



**(1R,3S)-3-[(2-Nitrobenzenosulfonil)4-metiloxibutilamino]ciclopentanocarboxilato de bencilo (Ns-*L*-MeO<sub>2</sub>C(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>N- $\gamma$ -Acp-OBn) (**14**):** Una disolución de **12** (1.20 g, 2.97 mmol) en DMF seca (6 mL) se trató con K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (3.28 g, 23.8 mmol) y 4-bromobutanoato de metilo (1.61 g, 8.91 mmol). La mezcla se agitó bajo Ar a ta durante 3 h. El disolvente se eliminó a presión reducida, el residuo resultante se suspendió en

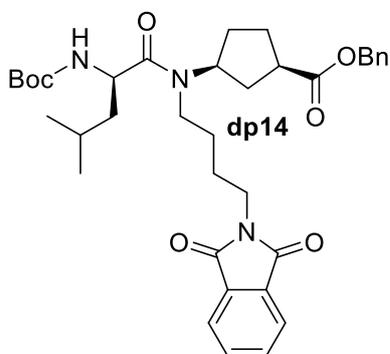
CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (20 mL) y se lavó con agua (3 x 20 mL) y con una disolución saturada de NaCl (3 x 20 mL). La fase orgánica se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y concentró a presión reducida. El crudo se purificó mediante cromatografía rápida en columna de gel de sílice (10-40% EtOAc/hexano), dando lugar a **14** como un aceite amarillo. [1.12 g, 75%, R<sub>f</sub> = 0.50 (50% EtOAc/hexano)]. **<sup>1</sup>H-NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz,  $\delta$ ): 8.01-7.92 (m, 1H, Ns), 7.70-7.52 (m, 3H, Ns), 7.31 (s, 5H, Ar Bn), 5.08 y 5.06 (2s, 2H, CH<sub>2</sub> Bn), 4.18 (m, 1H, H $\gamma$  Acp), 3.63 (s, 3H, OMe), 3.28 (dd, *J* = 8.9 y *J* = 6.6 Hz, 2H, CH<sub>2</sub> metiloxibutilo), 2.96-2.70 (m, 1H, H $\alpha$  Acp), 2.39-2.25 (m, 2H, CH<sub>2</sub> metoxibutilo), 2.12-1.56 ppm (m, 8H, CH<sub>2</sub> metiloxibutilo). **<sup>13</sup>C-NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 75.4 MHz,  $\delta$ ): 175.2 (CO), 173.1 (CO), 148.1 (C), 135.9 (C), 133.6 (CH), 131.7 (CH), 130.6 (CH), 128.6 (CH), 128.2 (CH), 128.1 (CH), 124.1 (CH), 66.5 (CH<sub>2</sub>), 58.7 (CH), 51.6 (CH<sub>3</sub>), 43.5 (CH<sub>2</sub>), 40.6 (CH), 32.5 (CH<sub>2</sub>), 31.0 (CH<sub>2</sub>), 28.6 (CH<sub>2</sub>), 26.7 (CH<sub>2</sub>), 26.4 ppm (CH<sub>2</sub>). **MS (ESI)** [*m/z* (%): 527.1 ([MNa]<sup>+</sup>, 100), 505.1 ([MH]<sup>+</sup>, 32). **HRMS (ESI) calculado** para C<sub>24</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>NaO<sub>8</sub>S: 527.1459, **encontrado**: 527.1455.



**Boc-*D*-Leu-*L*-MeN- $\gamma$ -Acp-OBn (dp13):** Una disolución de **10** (749 mg, 2.25 mmol) en una mezcla de TFA y CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:1, 11.2 mL) se agitó a ta durante 15 min. La disolución se concentró a presión reducida y el residuo se disolvió y concentró de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x 10 mL). El sólido obtenido se secó a

alto vacío durante 3 h. La sal de TFA resultante se disolvió en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> seco (11.2 mL) y se trató sucesivamente con DIEA (2.36 mL, 13.5 mmol), Boc-*D*-Leu-OH (572 mg, 2.47 mmol) y *N*-HATU (1.71 g, 4.50 mmol). La mezcla se agitó bajo Ar a ta durante 1 h y, a continuación, se lavó con una disolución acuosa de HCl (5%, 3 x 10 mL) y con una disolución saturada de NaHCO<sub>3</sub> (3 x 10 mL). La fase orgánica se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y concentró a presión reducida. El crudo se purificó mediante cromatografía rápida en columna rápida de gel de sílice (10-40% EtOAc/hexano), dando lugar al dipéptido **dp13** como una espuma blanca. [640 mg, 64%, R<sub>f</sub> = 0.60 (5% MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)]. **<sup>1</sup>H-NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz,  $\delta$ ): 7.34 (s, 5H, Ar Bn), 5.29 y 4.99 (2m, 1H, H $\alpha$  Leu), 5.13 y 5.12 (2s, 2H, CH<sub>2</sub> Bn), 4.72 y 4.60 (2m, 1H, H $\gamma$  Acp), 2.97-2.76 (m, 4H, NMe + H $\alpha$  Acp), 2.26-1.58 (m, 6H, CH<sub>2</sub> Acp), 2.22-1.21 (m+s, 18H, CH<sub>2</sub> Acp + CH<sub>2</sub> Leu + CH Leu + Boc), 1.10-0.85 ppm (m, 6H, CH<sub>3</sub> Leu). **<sup>13</sup>C-NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 75.4 MHz,  $\delta$ ): 175.8 (CO), 173.4 (CO), 166.0 (CO), 155.4 (C), 136.0 (C), 128.6 (CH), 128.5 (CH), 128.3 (CH), 128.2 (CH), 128.1 (CH), 79.3 (C), 66.6 y 66.4 (CH<sub>2</sub>), 57.4 (CH), 54.1 (CH), 49.4 y 48.7 (CH), 43.5 y 42.8 (CH<sub>2</sub>), 41.7 y 41.5 (CH<sub>3</sub>), 32.1 y 31.2 (CH<sub>2</sub>), 29.2 (CH), 28.4 (CH<sub>3</sub>), 27.7 y 27.2 (CH<sub>2</sub>), 24.7 (CH), 23.4 (CH<sub>3</sub>), 22.1 y 21.8 ppm (CH<sub>3</sub>). **MS (ESI)** [*m/z* (%): 469.3 ([MNa]<sup>+</sup>,

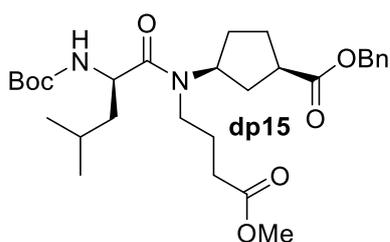
100), 447.3 ([MH]<sup>+</sup>, 22), 347.3 ([MH]<sup>+</sup>-Boc, 32). **HRMS (ESI) calculado** para C<sub>25</sub>H<sub>38</sub>N<sub>2</sub>NaO<sub>5</sub>: 469.2673, **encontrado**: 469.2680.



**Boc-D-Leu-L-PhthN(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>N-γ-Acp-OBn (dp14)**: Una disolución de **13** (900 mg, 1.49 mmol) en DMF seca (4.5 mL) se trató con K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (618 mg, 4.47 mmol) y tiofenol (180 μL, 1.79 mmol). La mezcla resultante se agitó bajo Ar a ta durante 4 h y, a continuación, el disolvente se eliminó a presión reducida. El residuo resultante se suspendió en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (15 mL) y se lavó con agua (2 x 15 mL) y con una disolución saturada de NaCl (2 x 15 mL). La fase orgánica se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y concentró a presión reducida para dar lugar a L-

PhthN(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>N-γ-Acp-OBn (**14**), que se utilizó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

El sólido obtenido se disolvió en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> seco (15 mL) y se trató sucesivamente con DIEA (1.04 mL, 5.96 mmol), Boc-D-Leu-OH (414 mg, 1.79 mmol) y N-HATU (681 mg, 1.79 mmol). La mezcla resultante se agitó bajo Ar a ta durante 1 h y, a continuación, se lavó con una disolución acuosa de HCl (5%, 3 x 15 mL) y con una disolución saturada de NaHCO<sub>3</sub> (3 x 15 mL). La fase orgánica se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y concentró a presión reducida. El crudo se purificó mediante cromatografía rápida en columna de gel de sílice (10-40% EtOAc/hexano), dando lugar al dipéptido **dp14** como una espuma blanca. [795 mg, 84%; R<sub>f</sub> = 0.45 (5% MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)]. **<sup>1</sup>H-NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz, δ): 7.82-7.74 (m, 2H, Ar), 7.69-7.61 (m, 2H, Ar), 7.33-7.22 (m, 5H, Ar), 5.28 y 5.27 (2d, J = 9.1 y 8.9 Hz, 1H, NH), 5.09 y 5.06 (2s, 2H, CH<sub>2</sub> Bn), 4.69-3.97 (m, 2H, H<sub>α</sub> Leu + H<sub>γ</sub> Acp), 3.73-3.52 (m, 2H, CH<sub>2</sub> ftalimidobutilo), 3.42-3.02 (m, 2H, CH<sub>2</sub> ftalimidobutilo), 3.01-2.68 (m, 1H, H<sub>α</sub> Acp), 1.37 y 1.33 (2s, 9H, Boc), 0.97-0.77 ppm (m, 6H, CH<sub>3</sub> Leu). **<sup>13</sup>C-NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 75.4 MHz, δ): 175.5 y 175.1 (CO), 173.8 (CO), 172.7 (CO), 168.2 (CO), 155.5 (C), 136.0 y 135.8 (C), 133.8 (CH), 132.1 (C), 128.5 (CH), 128.5 (CH), 128.3 (CH), 128.1 (CH), 128.0 (CH), 123.2 y 123.1 (CH), 79.4 y 79.2 (C), 66.5 y 66.3 (CH<sub>2</sub>), 60.3 (CH<sub>2</sub>), 57.7 y 55.9 (CH), 49.2 y 48.8 (CH), 43.8, 43.3 y 43.0 (CH<sub>2</sub>), 41.9 y 41.6 (CH<sub>2</sub>), 41.3 y 41.0 (CH), 37.6 y 37.3 (CH<sub>2</sub>), 32.9 y 32.2 (CH<sub>2</sub>), 29.1 y 28.6 (CH<sub>2</sub>), 28.3 (CH<sub>3</sub>), 27.0 y 26.9 (CH<sub>2</sub>), 26.4, 26.3 y 26.0 (CH<sub>2</sub>), 24.6 (CH), 23.4 y 23.3 (CH<sub>3</sub>), 22.0, 21.6 y 21.0 ppm (CH<sub>3</sub>). **MS (ESI)** [m/z (%): 656.3 ([MNa]<sup>+</sup>, 100), 634.3 ([MH]<sup>+</sup>, 18), 534.3 ([MH]<sup>+</sup>-Boc, 43). **HRMS (ESI) calculado** para C<sub>36</sub>H<sub>47</sub>N<sub>3</sub>NaO<sub>7</sub>: 656.3306, **encontrado**: 656.3308.



**Boc-D-Leu-L-MeO<sub>2</sub>C(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>N-γ-Acp-OBn (dp15)**: Una disolución de **14** (1.00 mg, 1.98 mmol) en DMF seca (6 mL) se trató con K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (821 mg, 5.94 mmol) y tiofenol (240 μL, 2.38 mmol). La mezcla resultante se agitó bajo Ar a ta durante 4 h y, a continuación, el disolvente se eliminó a presión reducida. El residuo se suspendió en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (20 mL) y se lavó con agua (2

x 20 mL) y con una disolución saturada de NaCl (2 x 20 mL). La fase orgánica se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y concentró a presión reducida para dar lugar a *L*-MeO<sub>2</sub>C(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>N- $\gamma$ -Acp-OBn (**15**), que se utilizó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

El sólido obtenido se disolvió en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> seco (20 mL) y se trató sucesivamente con DIEA (1.38 mL, 5.00 7.92 mmol), Boc-*D*-Leu-OH (550 mg, 2.38 mmol) y *N*-HATU (905 mg, 2.38 mmol). La mezcla resultante se agitó bajo Ar a ta durante 1 h y, a continuación, se lavó con disolución acuosa de HCl (5%, 3 x 20 mL) y con una disolución saturada de NaHCO<sub>3</sub> (3 x 20 mL). La fase orgánica se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y concentró a presión reducida. El crudo se purificó mediante cromatografía rápida en columna de gel de sílice (10-40% EtOAc/hexano), dando lugar al dipéptido **dp15** como una espuma blanca. [865 mg, 82%; R<sub>f</sub> = 0.45 (5% MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)]. **<sup>1</sup>H-NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz,  $\delta$ ): 7.31 (s, 5H, Ar), 5.29 y 5.18 (2d, J = 8.9 y 8.8 Hz, 1H, NH), 5.10, 5.09, 5.06 (3s, 2H, CH<sub>2</sub> Bn), 4.72-4.01 (m, 2H, H $\alpha$  Leu + H $\gamma$  Acp), 3.64 y 3.62 (2s, 3H, OMe), 3.41-3.03 (m, 2H, CH<sub>2</sub> metiloxibutilo), 3.02-2.73 (m, 1H, H $\alpha$  Acp), 2.40-2.21 (m, 2H, CH<sub>2</sub> metiloxibutilo), 1.38 (s, 9H, Boc), 0.97-0.82 ppm (m, 6H, CH<sub>3</sub> Leu). **<sup>13</sup>C-NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 75.4 MHz,  $\delta$ ): 175.5 (CO), 175.1 (CO), 173.3 (CO), 172.8 (CO), 155.5 (C), 136.0 y 135.8 (C), 128.5 (CH), 128.5 (CH), 128.2 (CH), 128.1 (CH), 128.0 (CH), 79.4 y 79.3 (C), 66.5 y 66.3 (CH<sub>2</sub>), 57.7 y 55.8 (CH), 51.7 y 51.5 (CH<sub>3</sub>), 49.3 y 48.8 (CH), 43.4 y 43.1 (CH<sub>2</sub>), 41.3 (CH<sub>2</sub>), 41.0 (CH), 32.8 y 32.2 (CH<sub>2</sub>), 31.5 y 31.0 (CH<sub>2</sub>), 29.1 (CH<sub>2</sub>), 28.3 (CH<sub>3</sub>), 26.9 (CH<sub>2</sub>), 26.2 (CH<sub>2</sub>), 24.6 (CH), 24.2 (CH<sub>2</sub>), 23.5 y 23.3 (CH<sub>3</sub>), 21.9 y 21.7 ppm (CH<sub>3</sub>). **MS (ESI)** [m/z (%): 555.3 ([MNa]<sup>+</sup>, 100), 533.3 ([MH]<sup>+</sup>, 27), 433.3 ([MH]<sup>+</sup>-Boc, 35). **HRMS (ESI) calculado** para C<sub>29</sub>H<sub>44</sub>N<sub>2</sub>NaO<sub>7</sub>: 555.3041, **encontrado**: 555.3042.

**Boc-*D*-Leu-*L*-MeN- $\gamma$ -Acp-*D*-Leu-*L*-PhthN(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>N- $\gamma$ -Acp-OBn (tp11)**: Una suspensión de **dp13** (300 mg, 0.672 mmol) y Pd/C (10% en peso, 71.5 mg, 0.0672 mmol) en MeOH (6.7 mL) se agitó bajo atmósfera de hidrógeno (presión de globo) a ta durante 3 h. Transcurrido ese tiempo, la mezcla se filtró a través de celita y las aguas madres se concentraron a presión reducida, dando lugar al Boc-*D*-Leu-*L*-MeN- $\gamma$ -Acp-OH (**dp16**), que se utilizó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

Por otra parte, una disolución de **dp14** (426 mg, 0.672 mmol) en una mezcla de TFA y CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:1, 6.7 mL) se agitó a ta durante 15 min. La disolución se concentró a presión reducida y el residuo se disolvió y concentró de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x 5 mL). El sólido obtenido se secó a alto vacío durante 3 h. La sal de TFA resultante **dp17** se disolvió en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> seco (6 mL) y se trató sucesivamente con DIEA (704  $\mu$ L, 4.03 mmol), dipéptido desprotegido **dp16** y *N*-HBTU (306 mg, 0.806 mmol). La mezcla se agitó bajo Ar a ta durante 1 h y, a continuación, se lavó con una disolución acuosa de HCl (5%, 3 x 6 mL) y con una disolución saturada de NaHCO<sub>3</sub> (3 x 6 mL). La fase orgánica se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y concentró a presión reducida. El crudo se purificó mediante cromatografía rápida en columna de gel de sílice (0-3% MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), dando lugar al tetrapéptido **tp11** como una espuma blanca. [532 mg, 91%, R<sub>f</sub> = 0.33 (5% MeOH/CH<sub>3</sub>Cl<sub>2</sub>)]. **MS (ESI)** [m/z (%): 894.5 ([MNa]<sup>+</sup>, 100), 872.5 ([MH]<sup>+</sup>, 18),

772.5 ([MH]<sup>+</sup>-Boc, 35), 447.3 ([MNa]<sup>2+</sup>, 43). **HRMS (ESI) calculado** para C<sub>49</sub>H<sub>69</sub>N<sub>5</sub>NaO<sub>9</sub>: 894.4987, **encontrado**: 894.4992.

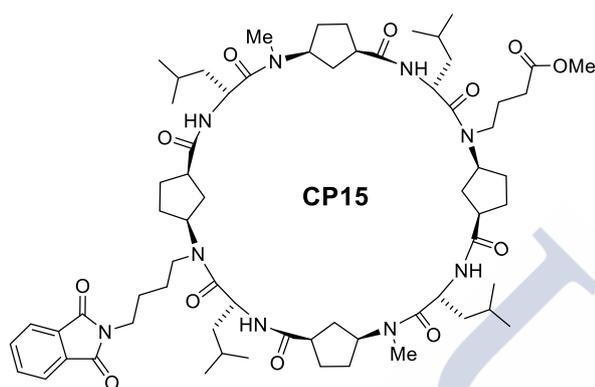
**Boc-D-Leu-L-MeN-γ-Acp-D-Leu-L-MeO<sub>2</sub>C(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>N-γ-Acp-OBn (tp12)**: Una suspensión de **dp13** (300 mg, 0.672 mmol) y Pd/C (10% en peso, 71.5 mg, 0.0672 mmol) en MeOH (6.7 mL) se agitó bajo atmósfera de hidrógeno (presión de globo) a ta durante 3 h. Transcurrido ese tiempo, la mezcla se filtró a través de celita y las aguas madres se concentraron a presión reducida, dando lugar al Boc-D-Leu-L-MeN-γ-Acp-OH (**dp16**), que se utilizó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

Por otra parte, una disolución de **dp15** (358 mg, 0.672 mmol) en una mezcla de TFA y CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:1, 6.7 mL) se agitó a ta durante 15 min. La disolución se concentró a presión reducida y el residuo se disolvió y concentró de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x 5 mL). El sólido obtenido se secó a alto vacío durante 3 h. La sal de TFA resultante **dp18** se disolvió en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> seco (6 mL) y se trató sucesivamente con DIEA (704 μL, 4.03 mmol), dipéptido desprotegido **dp16** y N-HBTU (306 mg, 0.806 mmol). La mezcla se agitó bajo Ar a ta durante 1 h y, a continuación, se lavó con una disolución acuosa de HCl (5%, 3 x 6 mL) y con una disolución saturada de NaHCO<sub>3</sub> (3 x 6 mL). La fase orgánica se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y concentró a presión reducida. El crudo se purificó mediante cromatografía rápida en columna de gel de sílice (0-3% MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), dando lugar al tetrapéptido **tp12** como una espuma blanca. [450 mg, 87%, R<sub>f</sub> = 0.33 (5% MeOH/CH<sub>3</sub>Cl<sub>2</sub>)]. **MS (ESI) [m/z (%)]**: 793.5 ([MNa]<sup>+</sup>, 100), 771.5 ([MH]<sup>+</sup>, 21), 671.5 ([MH]<sup>+</sup>-Boc, 28). **HRMS (ESI) calculado** para C<sub>42</sub>H<sub>66</sub>N<sub>4</sub>NaO<sub>9</sub>: 793.4722, **encontrado**: 793.4721.

**Boc-D-Leu-L-MeN-γ-Acp-D-Leu-L-PhthN(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>N-γ-Acp-D-Leu-L-MeN-γ-Acp-D-Leu-L-MeO<sub>2</sub>C(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>N-γ-Acp-OBn (op1)**: Una suspensión de **tp12** (420 mg, 0.545 mmol) y Pd/C (10% en peso, 58.0 mg, 0.0545 mmol) en MeOH (5.5 mL) se agitó bajo atmósfera de hidrógeno (presión de globo) a ta durante 3 h. Transcurrido ese tiempo, la mezcla se filtró a través de celita y las aguas madres se concentraron a presión reducida, dando lugar al Boc-D-Leu-L-MeN-γ-Acp-D-Leu-L-MeO<sub>2</sub>C(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>N-γ-Acp-OH (**tp14**), que se utilizó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

Por otra parte, una disolución de **tp11** (453 mg, 0.520 mmol) en una mezcla de TFA y CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:1, 5.2 mL) se agitó a ta durante 15 min. La disolución se concentró a presión reducida y el residuo se disolvió y concentró de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x 3 mL). El sólido obtenido se secó a alto vacío durante 3 h. La sal de TFA resultante **tp13** se disolvió en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> seco (5.2 mL) y se trató sucesivamente con DIEA (545 μL, 3.12 mmol), tetrapéptido desprotegido **tp14** y N-HBTU (237 mg, 0.624 mmol). La mezcla se agitó bajo Ar a ta durante 1 h y, a continuación, se lavó con una disolución acuosa de HCl (5%, 3 x 5 mL) y con una disolución saturada de NaHCO<sub>3</sub> (3 x 5 mL). La fase orgánica se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y concentró a presión reducida.

El crudo se purificó mediante cromatografía rápida en columna de gel de sílice (0-5% MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), dando lugar al octapéptido **op1** como una espuma blanca. [658 mg, 88%,  $R_f$  = 0.30 (5% MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)]. **MS (ESI)** [m/z (%): 1456.9 ([MNa]<sup>+</sup>, 100), 1434.9 ([MH]<sup>+</sup>, 23), 1334.9 ([MH]<sup>+</sup>-Boc, 38). **HRMS (ESI) calculado** para C<sub>79</sub>H<sub>120</sub>N<sub>9</sub>O<sub>15</sub>: 1434.8898, **encontrado**: 1434.8901.

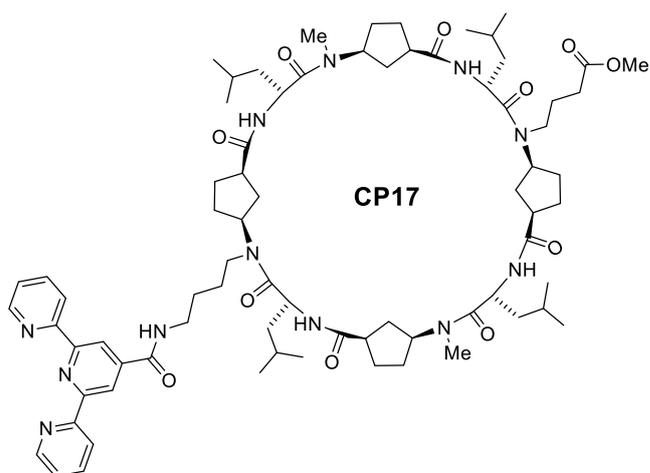


***c*-(D-Leu-L-MeN-γ-Acp-D-Leu-L-PhthN(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>N-γ-Acp-D-Leu-L-MeN-γ-Acp-D-Leu-L-**

**MeO<sub>2</sub>C(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>N-γ-Acp-)** (**CP15**): Una suspensión del octapéptido lineal **op1** (656 mg, 0.458 mmol) y Pd/C (10% en peso, 49.0 mg, 0.0458 mmol) en MeOH (4.6 mL) se agitó bajo atmósfera de hidrógeno (presión de globo) a ta durante 3 h. Transcurrido ese tiempo, la mezcla se filtró a través de celita y las aguas madres se concentraron a presión reducida,

dando lugar al Boc-D-Leu-L-MeN-γ-Acp-D-Leu-L-PhthN(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>N-γ-Acp-D-Leu-L-MeN-γ-Acp-D-Leu-L-MeO<sub>2</sub>C(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>N-γ-Acp-OH (**op2**), que se utilizó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

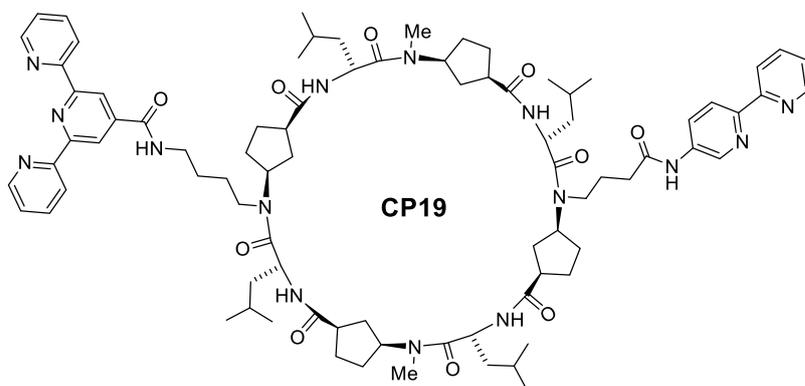
El octapéptido **op2** se disolvió en una mezcla de TFA y CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:1, 4.6 mL) y se agitó a ta durante 15 min. La disolución se concentró a presión reducida y el residuo se disolvió y concentró de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x 3 mL). El sólido obtenido se secó a alto vacío durante 3 h. El octapéptido resultante **op3** se disolvió en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> seco (460 mL) y se trató con DIEA (480 μL, 2.75 mmol) y *N*-TBTU (176 mg, 0.550 mmol). La mezcla se agitó bajo Ar a ta durante 12 h. Al cabo de ese tiempo, la disolución se concentró a presión reducida para reducir el volumen de disolvente y, a continuación, se lavó con una disolución acuosa de HCl (5%, 3 x 10 mL) y con una disolución saturada de NaHCO<sub>3</sub> (3 x 10 mL). La fase orgánica se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y concentró a presión reducida. El crudo se purificó mediante cromatografía rápida en columna de gel de sílice (0-4% MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), dando lugar al ciclopéptido **CP15** como un sólido blanco. [257 mg, 47%,  $R_f$  = 0.45 (10% MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)]. **<sup>1</sup>H-RMN** (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz, δ): 8.60-8.11 (m, 4H), 7.87-7.77 (dobletes solapados, 2H), 7.76-7.63 (dobletes solapados, 2H), 5.24-4.45 (m, 8H), 3.81-3.39 (m, 7H), 3.32-2.74 (m, 14H), 2.39 (m, 2H), 2.19-1.07 (m, 38H), 1.02-0.74 ppm (m, 24H). **FTIR** (1.0 mM, celda de CaF<sub>2</sub>): ν = 3301 (amida A), 1663 (amida II), 1627 (amida I), 1536 cm<sup>-1</sup> (amida II). **MS (ESI)** [m/z (%): 1248.8 ([MNa]<sup>+</sup>, 100), 1226.8 ([MH]<sup>+</sup>, 50). **HRMS (ESI) calculado** para C<sub>67</sub>H<sub>104</sub>N<sub>9</sub>O<sub>12</sub>: 1226.7799, **encontrado**: 1226.7798.



**CP17:** Una disolución de **CP15** (100 mg, 0.0816 mmol) en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (1.6 mL) se trató con hidracina monohidratada (20  $\mu\text{L}$ , 0.408 mmol). La mezcla resultante se agitó a ta durante 12 h. Al cabo de ese tiempo, la reacción se monitorizó mediante ccf y se comprobó que todavía quedaba sustancia de partida. Por tanto, se añadieron 5 equiv. más de hidracina monohidratada (20  $\mu\text{L}$ , 0.408 mmol) y la mezcla se agitó a ta durante 8 h. Una vez confirmada la completa desaparición de

la sustancia de partida, la disolución resultante se lavó con una disolución acuosa de HCl (5%, 2 x 2 mL). La fase orgánica se secó con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro, se filtró y concentró a presión reducida, dando lugar al ciclopéptido c-(D-Leu-L-MeN- $\gamma$ -Acp-D-Leu-L-NH $_2$ (CH $_2$ ) $_4$ N- $\gamma$ -Acp-D-Leu-L-MeN- $\gamma$ -Acp-D-Leu-L-MeO $_2$ C(CH $_2$ ) $_3$ N- $\gamma$ -Acp-) (**CP16**), que se utilizó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

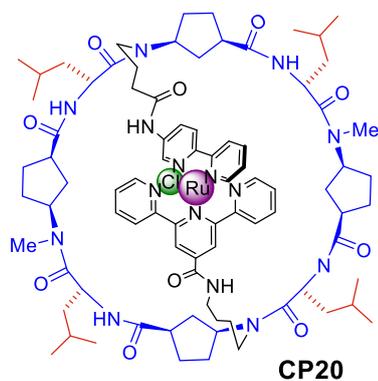
El **CP16** se disolvió en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  seco (2 mL) y se trató con DIEA (85  $\mu\text{L}$ , 0.490 mmol), ácido 2,2':6',2''-terpiridina-4'-ácido carboxílico (24.9 mg, 0.0898 mmol) y *N*-TBTU (37.2 mg, 0.0979 mmol). La mezcla resultante se agitó bajo Ar a ta durante 12 h y, a continuación, se lavó con una disolución saturada de  $\text{NaHCO}_3$  (3 x 2 mL). La fase orgánica se secó con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro, se filtró y concentró a presión reducida. El crudo se purificó mediante cromatografía rápida en columna de alúmina básica (2-15% MeOH/ $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ), dando lugar al ciclopéptido **CP17** como un sólido blanco. [43.9 mg, 40%;  $R_f$  (alúmina básica) = 0.65 (5% MeOH/ $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ )].  **$^1\text{H}$ -RMN** ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz,  $\delta$ ): 8.85 (d,  $J$  = 3.9 Hz, 2H), 8.69 (d,  $J$  = 4.7 Hz, 2H), 8.58 (d,  $J$  = 8.1 Hz, 2H), 8.55-8.12 (m, 4H), 7.83 (t,  $J$  = 7.7 Hz, 2H), 7.31 (t,  $J$  = 6.4 Hz, 2H), 5.30-4.46 (m, 8H), 3.68 (s, 3H), 3.57 (m, 2H), 3.27 (m, 4H), 3.15-2.70 (m, 8H), 2.54 (m, 1H), 2.37(m, 2H), 1.10-0.66 ppm (m, 24H). **FTIR** (1.0 mM, celda de  $\text{CaF}_2$ ):  $\nu$  = 3295 (amida A), 1659 (amida II), 1617 (amida I), 1539  $\text{cm}^{-1}$  (amida II). **MS (ESI)** [ $m/z$  (%): 1356.9 ([MH] $^+$ , 23), 678.4 ([MH] $^{2+}$ , 100). **HRMS (ESI) calculado** para  $\text{C}_{75}\text{H}_{111}\text{N}_{12}\text{O}_{11}$ : 1355.8490, **encontrado**: 1355.8488.



**CP19:** Una disolución de **CP17** (43.9 mg, 0.0324 mmol) en una mezcla de agua y MeOH (1:3, 1.1 mL) se trató con LiOH (3.9 mg, 0.162 mmol). La mezcla se agitó a ta durante 2 h y, a continuación, se acidificó

con una disolución acuosa de HCl (10%) hasta un pH de 2.5. El producto se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x 10 mL) y las fases orgánicas combinadas se secaron con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida; dando lugar al ciclopéptido **CP18**, que se utilizó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

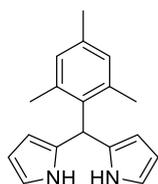
El **CP18** se disolvió en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> seco (3.2 mL) y se trató sucesivamente con DIEA (34 μL, 0.162 0.194 mmol), 5-amino-2,2'-bipiridina (6.1 mg, 0.0356 mmol) y *N*-HATU (14.8 mg, 0.0389 mmol). La mezcla se agitó bajo Ar a ta durante 1 h y, a continuación, se concentró hasta sequedad. El residuo resultante se lavó con Et<sub>2</sub>O y se secó a presión reducida. El crudo se purificó mediante cromatografía rápida en columna de alúmina básica (0-10% MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), dando lugar al ciclopéptido **CP19** como un sólido blanco. [10.7 mg, 22%, *R<sub>f</sub>* (alúmina básica) = 0.50 (5% MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)]. <sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz, δ): 9.62 [br, 1H, NH (bipiridina)], 8.94 [br d, 1H, H3 (bipiridina)], 8.87 [br s, 2H, H3' y H5' (terpiridina)], 8.72 [br d, 2H, H6 y H6'' (terpiridina)], 8.67 [br d, 1H, H3' (bipiridina)], 8.60 [br d, 2H, H3 y H3'' (terpiridina)], 8.46 [br s, 1H, H6 (bipiridina)], 8.34 [br d, 1H, H4 (bipiridina)], 8.32 [br d, 1H, H6' (bipiridina)], 7.86 [br t, 2H, H4 y H4'' (terpiridina)], 7.80 [br d, 1H, H4' (bipiridina)], 7.71 [br, 1H, NH (terpiridina)] 7.34 [br t, 2H, H5 y H5'' (terpiridina)], 7.26 [br, 1H, H5' (bipiridina)], 5.09 (m, 4H, H<sub>α</sub> Leu), 4.87 y 4.71 (m, 4H, H<sub>γ</sub> Acp), 3.76-2.75 (m, 14H, CH<sub>2</sub> aminobutilo + CH<sub>2</sub> butiloxicarboxilo + H<sub>α</sub> Acp + NMe), 1.06-0.68 ppm (m, 24H, CH<sub>3</sub> Leu). FTIR (1.0 mM, celda de CaF<sub>2</sub>): ν = 3295 (amida A), 1663 (amida II), 1621 (amida I), 1542 cm<sup>-1</sup> (amida II). MS (ESI) [m/z (%): 1494.9 ([MH]<sup>+</sup>, 32), 747.5 ([MH]<sup>2+</sup>, 100). HRMS (ESI) calculado para C<sub>84</sub>H<sub>116</sub>N<sub>15</sub>O<sub>10</sub>: 1494.9024, encontrado: 1494.9028.



**CP20:** Una mezcla de ciclopéptido **CP19** (5.0 mg, 0.0033 mmol) y RuCl<sub>3</sub>·3H<sub>2</sub>O (0.68 mg, 0.0033 mmol) en EtOH (2 mL) se agitó bajo Ar a 90 °C durante 5 h. La disolución resultante se concentró a presión reducida hasta sequedad y el residuo se lavó con Et<sub>2</sub>O. A continuación, el sólido se disolvió en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 mL) y se lavó con agua (2 x 2 mL). La fase orgánica se secó con Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> anhidro, se filtró y concentró a presión reducida; dando lugar a **CP20** como un sólido rojo. [2.7 mg, 51%]. MS (MALDI-TOF) calculado para C<sub>84</sub>H<sub>115</sub>ClN<sub>15</sub>O<sub>10</sub>Ru: 1630.7678, encontrado: 1630.776.

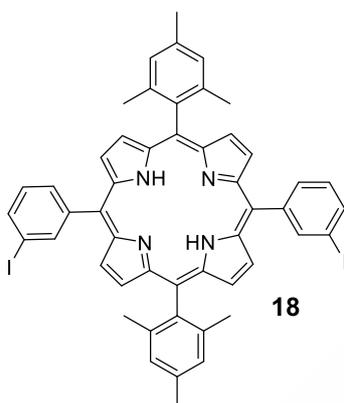
## 4.2. Cambio de diseño

### 4.2.1. Síntesis y caracterización



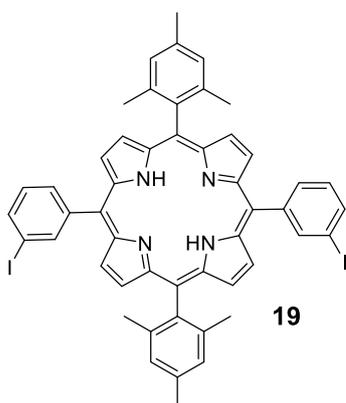
**Mesityl dipirrometano (17):** Una disolución de 2,4,6-trimetilbenzaldehído (2.96 mL, 20.0 mmol) y pirrol (56 mL, 800 mmol) se desoxigenó mediante burbujeo con una corriente de Ar durante 15 min. A continuación se añadió

TFA (154  $\mu$ L, 2.0 mmol) y se agitó bajo Ar a ta durante 1 h. La mezcla resultante se diluyó con tolueno (150 mL) y se lavó con una disolución saturada de  $\text{NaHCO}_3$  (3 x 100 mL). La fase orgánica se secó con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro, se filtró y concentró a presión reducida. El crudo se purificó mediante cromatografía rápida en columna de gel de sílice (10-50%  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ /hexano), dando lugar a **17** como un aceite amarillo.<sup>275</sup> [3.43 g, 65%].



**5,15-bis(3-yodofenil)-10,20-dimesitilporfirina (18):** Una disolución de **17** (176 mg, 0.76 mmol) y 3-yodobenzaldehído (200 mg, 0.76 mmol) en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (35 mL), protegida de la luz, se desoxigenó mediante burbujeo con una corriente de Ar durante 15 min. A continuación se añadió TFA (12  $\mu$ L, 0.15 mmol) gota a gota y la mezcla se agitó vigorosamente bajo Ar a ta durante 1 h. Al cabo de ese tiempo, se añadió DDQ (258 mg, 1.14 mmol) a la mezcla de reacción y se agitó durante 1 h adicional. Posteriormente, el disolvente se eliminó a presión reducida y, el residuo resultante, se purificó mediante cromatografía rápida

en columna de gel de sílice (15-50%  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ /hexano), dando lugar a **18** como un sólido violeta. [29.6 mg, 8%,  $R_f$  = 0.55 (50% hexano/ $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ )].  $^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz,  $\delta$ ): 8.77 (AB,  $J$  = 4.8 Hz, 4H, CH pirrol), 8.71 (AB,  $J$  = 4.9 Hz, 4H, CH pirrol), 8.59 (s, 2H, Ar), 8.19 (d,  $J$  = 7.7 Hz, 2H, Ar), 8.12 (d,  $J$  = 8.2 Hz, 2H, Ar), 7.47 (t,  $J$  = 7.8 Hz, Ar), 7.29 (s, 4H, Ar mesitilo), 2.64 (s, 6H,  $\text{Me}_{para}$  mesitilo), 1.84 (s, 12H,  $\text{Me}_{orto}$  mesitilo), -2.68 ppm (s, 2H, NH). **MS (ESI)** [ $m/z$  (%): 951.1 ([MH]<sup>+</sup>, 100). **HRMS (ESI) calculado** para  $\text{C}_{50}\text{H}_{41}\text{I}_2\text{N}_4$ : 951.1415, **encontrado**: 951.1410.

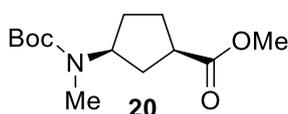


**5,15-bis(3-yodofenil)-10,20-dimesitilporfinatozinc(II) (19):** Una disolución de la porfirina **18** (21.0 mg, 0.022 mmol) y  $\text{Zn}(\text{OAc})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (48.8 mg, 0.222 mmol) en  $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (1:3, 2.2 mL), protegida de la luz, se agitó a ta durante 6 h. La mezcla resultante se lavó con agua (2 x 3 mL) y la fase orgánica se secó con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro, se filtró y concentró a presión reducida. El crudo se purificó mediante cromatografía rápida en columna de alúmina básica (50-100%  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ /hexano), dando lugar a la porfirina metalada **19** como un sólido violeta. [20.5 mg, 92%,  $R_f$  (alúmina básica) =

0.60 (50% hexano/ $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ )].  $^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz,  $\delta$ ): .86 (br AB, 4H, CH pirrol), 8.79 (br AB, 4H, CH pirrol), 8.59 (br s, 2H, Ar), 8.20 (br d, 2H, Ar), 8.11 (br d, 2H, Ar), 7.47 (br t, 2H, Ar), 7.28 (br s, 4H, Ar mesitilo), 2.64 (s, 6H,  $\text{CH}_3$  mesitilo), 1.82 ppm (s, 12H,  $\text{CH}_3$

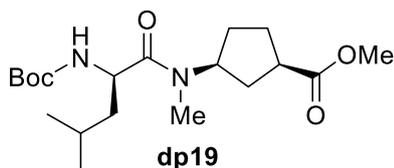
<sup>275</sup> Halime, Z.; Lachkar, M.; Matsouki, N.; Charalambidis, G.; di Vaira, M.; Coutsolelos, A. G.; Boitrel, B. *Tetrahedron* **2006**, *62*, 3056-3064.

mesitilo).  $^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75.4 MHz,  $\delta$ ): **MS (ESI)** [ $m/z$  (%): 150.1 (C), 149.7 (C), 144.9 (C), 142.8 (C), 139.2 (C), 138.8 (C), 137.6 (C), 136.6 (CH), 133.5 (CH), 132.1 (CH), 131.1 (CH), 128.1 (CH), 127.7 (CH), 119.7 (C), 118.5 (C), 92.8 (C), 21.6 ( $\text{CH}_3$ ), 21.5 ppm ( $\text{CH}_3$ ). **HRMS (MALDI-TOF-MS) calculado** para  $\text{C}_{50}\text{H}_{38}\text{I}_2\text{N}_4\text{Zn}$ : 1012.0477, **encontrado**: 1012.0468.



**(1R,3S)-3-[(*tert*-Butiloxicarbonil)metilamino]ciclopentanocarboxilato de metilo (Boc-*L*-MeN- $\gamma$ -Acp-Ome) (20)**: Una disolución de **Boc-*L*-MeN- $\gamma$ -Acp-OH (4)** (3.00 g, 12.3 mmol) en MeOH (123 mL) se trató con EDC.HCl (3.52 g, 18.4 mmol), HOBT (2.49 g, 18.4 mmol) y DMAP

(2.24 g, 18.4 mmol). Al cabo de 4 h de agitación a ta, el disolvente se eliminó a presión reducida. El residuo resultante se disolvió en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (100 mL), se lavó con una disolución acuosa de HCl (5%, 3 x 100 mL) y con una disolución saturada de  $\text{NaHCO}_3$  (3 x 100 mL). La fase orgánica se secó, con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro, se filtró y concentró a presión reducida. El crudo se purificó mediante cromatografía rápida en columna de gel de sílice (10-30% EtOAc/hexano), dando lugar a **20** como un aceite amarillo. [2.59 g, 82%,  $R_f$  = 0.85 (50% EtOAc/hexano)].  $^1\text{H}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz,  $\delta$ ): 4.51 (br, 1H, H $\gamma$ ), 3.68 (s, 3H, Ome), 2.84-2.70 (m, 4H, Nme + H $\alpha$ ), 2.12-1.58 (m, 6H,  $\text{CH}_2$  Acp), 1.45 ppm (s, 9H, Boc).  $^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 75.4 MHz,  $\delta$ ): 176.2 (CO), 155.6 (CO), 79.3 (C), 55.8 ( $\text{CH}_3$ ), 51.5 (CH), 41.1 (CH), 31.9 ( $\text{CH}_2$ ), 31.5 ( $\text{CH}_2$ ), 28.3 ( $\text{CH}_3$ ), 28.2 ( $\text{CH}_3$ ), 27.3 ppm ( $\text{CH}_2$ ). **MS (ESI)** [ $m/z$  (%): 280.2 ([Mna] $^+$ , 100), 258.2 ([MH] $^+$ , 35), 158.2 ([MH] $^+$ -Boc, 17). **HRMS (ESI) calculado** para  $\text{C}_{13}\text{H}_{24}\text{NO}_4$ : 258.1700, **encontrado**: 258.1705.



**Boc-*D*-Leu-*L*-MeN- $\gamma$ -Acp-Ome (dp19)**: Una disolución de **20** (317 mg, 1.23 mmol) en una mezcla de TFA y  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (1:1, 12.3 mL) se agitó a ta durante 15 min. La disolución se concentró a presión reducida y el residuo se disolvió y concentró de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (3 x 10 mL). El sólido obtenido se secó

a alto vacío durante 3 h. La sal de TFA resultante se disolvió en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  seco (12.3 mL) y se trató sucesivamente con DIEA (1.29 mL, 7.38 mmol), Boc-*D*-Leu-OH (305 mg, 1.32 mmol) y *N*-HATU (547 mg, 1.44 mmol). La mezcla se agitó bajo Ar a ta durante 1 h y, a continuación, se lavó con una disolución acuosa de HCl (5%, 3 x 10 mL) y una disolución saturada de  $\text{NaHCO}_3$  (3 x 10 mL). La fase orgánica se secó con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro, se filtró y concentró a presión reducida. El crudo se purificó mediante cromatografía rápida en columna de gel de sílice (20-40% EtOAc/hexano), dando lugar al dipéptido **dp19** como una espuma blanca. [419 mg, 92%,  $R_f$  = 0.52 (40% EtOAc/hexano)].  $^1\text{H}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz,  $\delta$ ): 5.49-5.22 (m, 1H, NH), 5.08-4.67 (m, 1H, H $\alpha$  Leu), 4.66-4.22 (m, 1H, H $\gamma$  Acp), 3.73-3.63 (m, 3H, Ome), 3.01-2.74 (m, 4H, H $\alpha$  Acp + Nme), 2.20-1.18 (m, 18H,  $\text{CH}_2$  Acp + Boc +  $\text{CH}_2$  Leu + CH Leu), 1.13-0.83 ppm (m, 6H,  $\text{CH}_3$  Leu).  $^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 75.4 MHz,  $\delta$ ): 176.3 y 175.7 (CO), 173.3 y 172.6 (CO), 155.5 y 155.4 (CO), 79.3 (C), 57.3 ( $\text{CH}_3$ ), 54.0 (CH), 51.8 (CH), 49.2 y 48.6 (CH), 43.4 y

42.7 (CH<sub>2</sub>), 41.5 y 41.3 (CH<sub>3</sub>), 32.3 y 31.2 (CH<sub>2</sub>), 29.1 (CH<sub>3</sub>), 28.3 (CH<sub>3</sub>), 27.6 y 27.1 (CH<sub>2</sub>), 24.6 (CH), 23.4 y 23.3 (CH<sub>3</sub>), 22.0 y 21.7 ppm (CH<sub>3</sub>). **MS (ESI)** [m/z (%): 393.2 ([Mna]<sup>+</sup>, 100), 371.2 ([MH]<sup>+</sup>, 28), 271.2 ([MH]<sup>+</sup>-Boc, 56). **HRMS (ESI) calculado** para C<sub>19</sub>H<sub>34</sub>N<sub>2</sub>NaO<sub>5</sub>: 393.2360, **encontrado**: 393.2360.

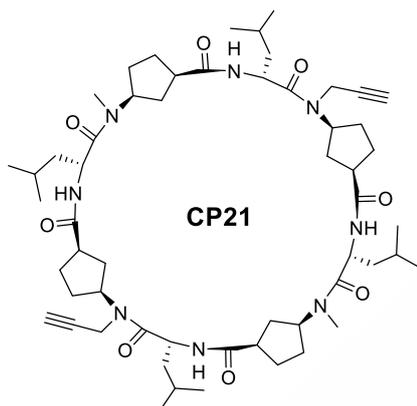
**Boc-D-Leu-L-MeN-γ-Acp-D-Leu-L-propargilN-γ-Acp-Ome (tp16)**: Una disolución de **dp19** (260 mg, 0.703 mmol) en una mezcla de agua y MeOH (1:3, 7 mL) se trató con LiOH (50.6 mg, 2.11 mmol). La mezcla se agitó a ta durante 2 h y, a continuación, se acidificó con una disolución acuosa de HCl (10%) hasta un pH de 2.5. El producto se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x 7 mL) y las fases orgánicas combinadas se secaron con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtraron y concentraron a presión reducida; dando lugar al dipéptido Boc-D-Leu-L-MeN-γ-Acp-OH (**dp20**), que se utilizó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

Por otra parte, una disolución de **dp10** (240 mg, 0.608 mmol) en una mezcla de TFA y CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:1, 6 mL) se agitó a ta durante 15 min. La disolución se concentró a presión reducida y el residuo se disolvió y concentró de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x 5 mL). El sólido obtenido se secó a alto vacío durante 3 h. La sal de TFA resultante **dp11** se disolvió en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> seco (6 mL) y se trató sucesivamente con DIEA (637 μL, 3.65 mmol), dipéptido desprotegido **dp20** y N-HBTU (277 mg, 0.730 mmol). La mezcla se agitó bajo Ar a ta durante 1 h y, a continuación, se lavó con una disolución acuosa de HCl (5%, 3 x 6 mL) y con una disolución saturada de NaHCO<sub>3</sub> (3 x 6 mL). La fase orgánica se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y concentró a presión reducida. El crudo se purificó mediante cromatografía rápida en columna de gel de sílice (30-50% EtOAc/hexano), dando lugar al tetrapéptido **tp16** como una espuma blanca. [370 mg, 96%, R<sub>f</sub> = 0.20 (50% EtOAc/hexano)]. **MS (ESI)** [m/z (%): 633.4 ([MH]<sup>+</sup>, 100), 655.4 ([Mna]<sup>+</sup>, 60). **HRMS (ESI) calculado** para C<sub>34</sub>H<sub>56</sub>N<sub>4</sub>O<sub>7</sub>Na: 655.4041, **encontrado**: 655.4038.

**Boc-(D-Leu-L-MeN-γ-Acp-D-Leu-L-propargilN-γ-Acp)<sub>2</sub>-Ome (op4)**. Una disolución de **tp16** (165 mg, 0.261 mmol) en una mezcla de agua y MeOH (1:3, 5 mL) se trató con LiOH (18.8 mg, 0.783 mmol). La mezcla se agitó a ta durante 2 h y, a continuación, se acidificó con una disolución acuosa de HCl (10%) hasta un pH de 2.5. El producto se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x 5 mL) y las fases orgánicas combinadas se secaron con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtraron y concentraron a presión reducida; dando lugar al tetrapéptido Boc-D-Leu-L-MeN-γ-Acp-D-Leu-L-propargilN-γ-Acp-OH (**tp17**), que se utilizó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

Por otra parte, una disolución de **tp16** (160 mg, 0.253 mmol) en una mezcla de TFA y CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:1, 5 mL) se agitó a ta durante 15 min. La disolución se concentró a presión reducida y el residuo se disolvió y concentró de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x 5 mL). El sólido obtenido se secó a alto vacío durante 3 h. La sal de TFA resultante **tp18** se disolvió en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> seco (5 mL) y se trató sucesivamente con DIEA (265 μL, 1.52 mmol), tetrapéptido desprotegido **tp17** y N-HBTU

(115 mg, 0.304 mmol). La mezcla se agitó bajo Ar a ta durante 1 h y, a continuación, se lavó con una disolución acuosa de HCl (5%, 3 x 5 mL) y con una disolución saturada de NaHCO<sub>3</sub> (3 x 5 mL). La fase orgánica se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y concentró a presión reducida. El crudo se purificó mediante cromatografía rápida en columna de gel de sílice (0-5% MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), dando lugar al octapéptido **op4** como una espuma blanca. [244 mg, 85%, R<sub>f</sub> = 0.30 (5% MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)]. **MS (ESI)** [m/z (%): 566.4 ([Mna]<sup>2+</sup>, 100), 1132.8 ([Mna]<sup>+</sup>, 55). **HRMS (ESI) calculado** para C<sub>62</sub>H<sub>101</sub>N<sub>8</sub>O<sub>11</sub>: 1132.7512, **encontrado**: 1132.7516.



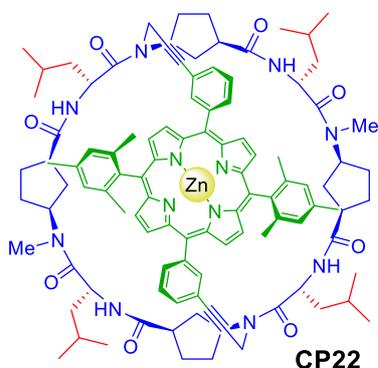
**c-[(D-Leu-L-MeN-γ-Acp-D-Leu-L-propargilN-γ-Acp)-<sub>2</sub>]**

(**CP21**): Una disolución de octapéptido lineal **op4** (186 mg, 0.186 mmol) en una mezcla de agua y MeOH (1:3, 3.7 mL) se trató con LiOH (13.4 g, 0.558 mmol). La mezcla se agitó a ta durante 2 h y, a continuación, se acidificó con una disolución acuosa de HCl (10%) hasta un pH de 2.5. El producto se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x 4 mL) y las fases orgánicas combinadas se secaron con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtraron y concentraron a presión reducida; dando lugar al octapéptido Boc-(D-Leu-L-MeN-γ-Acp-D-Leu-L-propargilN-γ-

Acp)<sub>2</sub>-OH (**op5**), que se utilizó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

El **op5** se disolvió en una mezcla de TFA y CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:1, 1.9 mL) y se agitó a ta durante 15 min. La disolución se concentró a presión reducida y el residuo se disolvió y concentró de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x 2 mL). El sólido obtenido se secó a alto vacío durante 3 h. El sal de TFA resultante **op6** se disolvió en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> seco (186 mL) y se trató con DIEA (195 μL, 1.12 mmol) y N-TBTU (71.7 mg, 0.223 mmol). La mezcla se agitó bajo Ar a ta durante 12 h. Al cabo de ese tiempo, la disolución resultante se concentró a presión reducida hasta un volumen de 10 mL y, a continuación, se lavó con una disolución acuosa de HCl (5%, 3 x 10 mL) y con una disolución saturada de NaHCO<sub>3</sub> (3 x 10 mL). La fase orgánica se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y concentró a presión reducida. El crudo se purificó mediante cromatografía rápida en columna de gel de sílice (0-4% MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), dando lugar al ciclopéptido **CP21** como un sólido blanco. [112 mg, 60%, R<sub>f</sub> = 0.47 (5% MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)]. **<sup>1</sup>H-RMN** (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz, δ): 8.35 (d, J = 9.5 Hz, 1.2H, NH), 8.26 (d, J = 9.5 Hz, 0.8H, NH), 8.20 (d, J = 9.5 Hz, 0.8H, NH), 8.14 (d, J = 9.5 Hz, 1.2H, NH), 5.10 (m, 4H, H<sub>α</sub> Leu), 4.80-4.55 (m, 6H, H<sub>γ</sub> Acp + CH<sub>2</sub> propargilo), 3.82 (td, J = 13.7 y J = 2.2 Hz, 2H, CH<sub>2</sub> propargilo), 3.25-2.80 (m, 10H, H<sub>α</sub> Acp + Nme), 2.21 (t, J = 2.4 Hz, 2H, C≡C-H propargilo), 2.15-1.37 (m, 36H, CH<sub>2</sub> Acp + CH<sub>2</sub> Leu + CH Leu), 0.95-0.78 ppm (m, 24H, CH<sub>3</sub> Leu). **<sup>13</sup>C-RMN** (CDCl<sub>3</sub>, 75.4 MHz, δ): 175.4 (CO), 174.7(CO), 174.1(CO), 173.3 (CO), 80.2 (C), 72.5 (C), 55.4 (CH), 54.6 (CH), 47.0 (CH), 46.9 (CH), 43.3 (CH), 42.2 (CH), 41.5 (CH<sub>2</sub>), 34.3 (CH<sub>2</sub>), 32.6 (CH<sub>2</sub>), 31.4 (CH<sub>2</sub>), 29.4 (CH<sub>2</sub>), 28.3 (CH<sub>2</sub>), 28.2 (CH<sub>3</sub>), 28.0 (CH<sub>2</sub>), 27.7(CH<sub>2</sub>), 26.9 (CH<sub>2</sub>), 26.7 (CH), 24.8 (CH), 23.5 (CH<sub>3</sub>), 22.1 ppm (CH<sub>3</sub>). **FTIR** (293 K, CHCl<sub>3</sub>) 3308 (amida A), 1673 (amida I<sub>a</sub>), 1632 (amida I<sub>b</sub>), 1540

(amida II)  $\text{cm}^{-1}$ . **MS (ESI)** [ $m/z$  (%): 1001.7 ( $[\text{MH}]^+$ , 45), 500.8 ( $[\text{MH}]^{2+}$ , 100). **HRMS (ESI) calculado** para  $\text{C}_{56}\text{H}_{89}\text{N}_8\text{O}_8$ : 1001.6798, **encontrado**: 1001.6794.

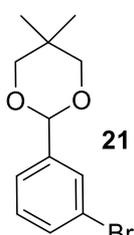


**CP22:** Una disolución de **CP21** (19.7 mg, 0.0197 mmol), porfirina metalada **19** (20.0 mg, 0.0197 mmol) y  $\text{CuI}$  (0.75 mg, 0.0115 0.00394 mmol) en  $\text{Et}_3\text{N}/\text{THF}$  (1:3, 2.0 mL) se desoxigenó mediante burbujeo con una corriente de Ar durante 20 min. A continuación, se añadió  $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2$  (1.4 mg, 0.00573 0.00197 mmol) y, la mezcla resultante, se agitó bajo Ar a ta. La evolución de la reacción se siguió por espectroscopía de masas en inyección directa y por cromatografía en capa fina, tomado alícuotas cada cierto

tiempo. Al cabo de 12 h, el disolvente se eliminó a presión reducida, el residuo se disolvió en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (5 mL) y se lavó con una disolución saturada de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  ( $2 \times 5$  mL). La fase orgánica se secó con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro, se filtró y concentró a presión reducida. El crudo se purificó mediante cromatografía rápida en columna de gel de sílice (0-10%  $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ). Las fracciones recogidas se analizaron por espectroscopía de masas en inyección directa.

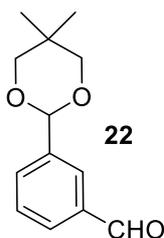
### 4.3. Aproximación combinatoria dinámica

#### 4.3.1. Síntesis y caracterización



**2-(3-Bromofenil)-5,5-dimetil-1,3-dioxano (21):** Sobre una disolución de 3-bromobenzaldehído (4.0 mL, 34.2 mmol) y 2,2-dimetil-1,3-propanodiol (4.27 g, 41.0 mmol) en benceno (53 mL), se añadió ácido *p*-toluensulfónico (6.5 mg, 0.0342 mmol). La mezcla resultante se calentó a reflujo durante 12 h, con eliminación del agua formada mediante un aparato Dean-Stark. A continuación,

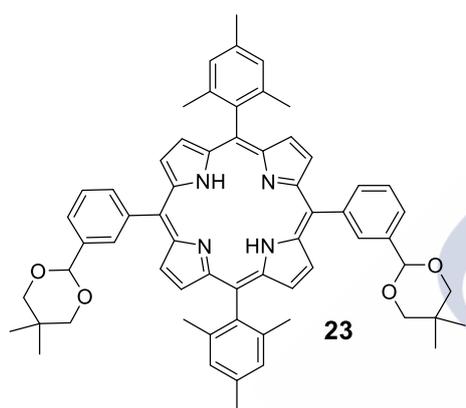
se dejó que la disolución alcanzase la ta, se diluyó con  $\text{Et}_2\text{O}$  (100 mL) y se lavó sucesivamente con una disolución saturada de  $\text{NaHCO}_3$  ( $3 \times 100$  mL), con agua ( $3 \times 100$  mL) y con una disolución saturada de  $\text{NaCl}$  ( $3 \times 100$  mL). La fase orgánica se secó con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro, se filtró y concentró a presión reducida; dando lugar a **21** como un aceite amarillo pálido.<sup>294</sup> [8.25 g, 89%].



**3-(5,5-Dimetil-1,3-dioxan-2-il)benzaldehído (22):** Sobre una disolución de **21** (5.0 g, 18.4 mmol) en THF seco (175 mL) a  $-78$  °C, se añadió una disolución de *t*-BuLi (1.5 M disolución en pentano, 21.7 mL, 36.8 mmol) gota a gota bajo Ar. La mezcla resultante se agitó a  $-78$  °C durante 2 h. Al cabo de ese tiempo, se aumentó la temperatura lentamente hasta los 0 °C y se volvió a enfriar a  $-78$

<sup>294</sup> AbuSalim, D. I.; Merfeld, M. L.; Lash, T. D. *J. Org. Chem.* **2013**, *78*, 10360-10368.

°C. Posteriormente, se añadió DMF seca (2.8 mL, 36.8 mmol) y, la disolución, se agitó a -78 °C durante 30 min. A continuación, se aumentó la temperatura lentamente hasta 0 °C, se añadió una disolución acuosa de HCl (5%, 50 mL), se eliminó el THF a presión reducida y se añadió Et<sub>2</sub>O (50 mL). La mezcla resultante se lavó con una disolución acuosa de HCl (5%, 3 x 50 mL) y con agua (3 x 50 mL). La fase orgánica se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y concentró a presión reducida. El crudo se purificó mediante cromatografía rápida en columna de gel de sílice (50-100% CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/hexano), dando lugar a **3** como un aceite amarillo pálido.<sup>295,296</sup> [2.15 g, 53%].



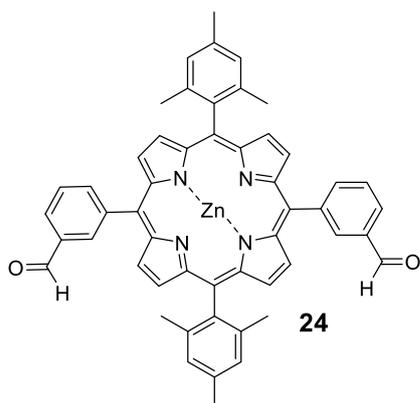
**5,15-bis[3-(5,5-dimetil-1,3-dioxan-2-il)-fenil]-10,20-**

**dimesitilporfirina (23):** Una disolución de **22** (1.31 g, 5.90 mmol) y **17** (1.56 g, 5.90 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (590 mL), protegida de la luz, se desoxigenó mediante burbujeo con una corriente de Ar durante 15 min. A continuación, se añadió TFA (91 µL, 1.18 mmol) gota a gota y, la mezcla resultante, se agitó vigorosamente bajo Ar a ta durante 1 h. Al cabo de ese tiempo, se añadió DDQ (2.01 g, 8.85 mmol) a la mezcla de reacción y se agitó durante 1 h adicional.

Posteriormente, el disolvente se eliminó a presión reducida y, el residuo resultante, se purificó mediante cromatografía rápida en columna de gel de sílice (20-75% CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/hexano), para dar lugar a **23** como un sólido violeta. [219 mg, 8%, R<sub>f</sub> = 0.64 (30% hexano/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)]. **<sup>1</sup>H-RMN** (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz, δ): 8.92 (AB, J = 4.7 Hz, 4H, CH pirrol), 8.81 (AB, J = 4.7 Hz, 4H, CH pirrol), 8.46 (s, 2H, Ar), 8.31 (d, J = 7.5 Hz, 2H, Ar), 8.06 (d, J = 7.6 Hz, 2H, Ar), 7.85 (t, J = 7.6 Hz, 2H, Ar), 7.38 (s, 4H, Ar mesitilo), 5.74 (s, 2H, CH dioxano), 3.93 (AB, J = 11.0 Hz, 4H, CH<sub>2</sub> dioxano), 3.78 (AB, J = 11.0 Hz, 4H, CH<sub>2</sub> dioxano), 2.72 (s, 6H, Me<sub>para</sub> mesitilo), 1.96 (s, 12H, Me<sub>orto</sub> mesitilo), 1.44 (s, 6H, CH<sub>3</sub> dioxano), 0.87 (s, 6H, CH<sub>3</sub> dioxano), -2.49 ppm (s, 2H, NH). **<sup>13</sup>C-RMN** (CDCl<sub>3</sub>, 75.4 MHz, δ): 142.0 (C), 139.5 (C), 138.6 (C), 137.8 (C), 137.1 (C), 135.1 (CH), 132.4 (CH), 131.7 (C), 130.1 (C), 127.8 (CH), 126.9 (CH), 125.6 (CH), 119.1 (C), 118.4 (C), 102.2 (CH), 77.9 (CH<sub>2</sub>), 30.4 (C), 23.3 (CH), 22.0 (CH<sub>3</sub>), 21.8 (CH<sub>3</sub>), 21.6 ppm (CH<sub>3</sub>). **MS (ESI)** [m/z (%): 927.5 ([MH]<sup>+</sup>, 100). **HRMS (ESI) calculado** para C<sub>62</sub>H<sub>63</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>: 927.4844, **encontrado**: 927.4831.

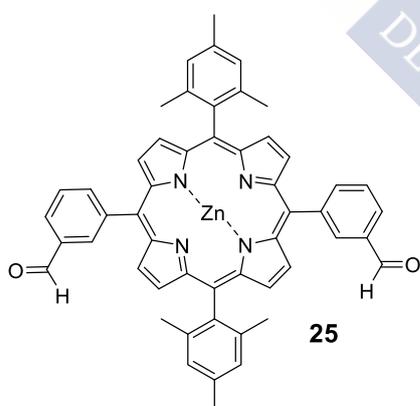
<sup>295</sup> Urbani, M.; Iehl, J.; Osinska, I.; Louis, R.; Holler, M.; Nierengarten, J.-F. *Eur. J. Org. Chem.* **2009**, 22, 3715-3725.

<sup>296</sup> Ding, H.; Meng, X.; Cui, X.; Yang, Y.; Zhou, T.; Wang, C.; Zeller, M.; Wang, C. *Chem. Commun.* **2014**, 50, 11162-11164.



**5,15-bis(3-formilfenil)-10,20-dimesitilporfirina (24):** Una disolución de la porfirina **23** (60.2 mg, 0.0650 mmol) en una mezcla de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2.7 mL), agua (0.9 mL) y TFA (2.7 mL), protegida de la luz, se agitó bajo Ar a ta durante 1 h. La fase acuosa y la orgánica se diluyeron (5 mL de volumen adicional cada una) y, la mezcla resultante, se decantó. El producto se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 × 10 mL) y las fases orgánicas combinadas se lavaron con una disolución saturada de NaHCO<sub>3</sub> (3 × 10 ml). La fase orgánica se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y concentró

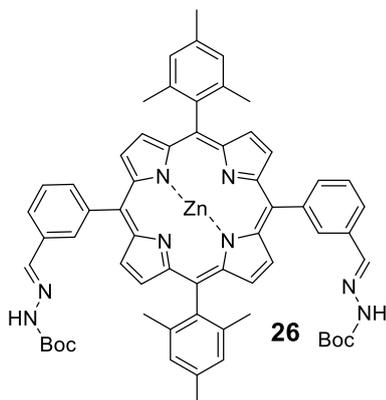
a presión reducida. El crudo se purificó mediante cromatografía rápida en columna de gel de sílice (50-100% CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/hexano), dando lugar a la porfirina desprotegida **24** como un sólido violeta. [43.3 mg, 88%, R<sub>f</sub> = 0.40 (30% hexano/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)]. <sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz, δ): 10.32 (s, 2H, -CHO), 8.76-8.69 (br s, 8H, CH pirrol), 8.50 (d, J = 7.6 Hz, 2H, Ar), 8.33 (d, J = 7.6 Hz, 2H, Ar), 7.94 (t, J = 7.6 Hz, 2H, Ar), 7.29 (s, 4H, Ar mesitilo), 2.64 (s, 6H, Me<sub>para</sub> mesitilo), 1.85 (s, 12H, Me<sub>orto</sub> mesitilo), -2.61 ppm (s, 2H, NH). <sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 75.4 MHz, δ): 192.6 (CHO), 143.0 (C), 139.7 (CH), 139.3 (C), 138.1 (C), 138.0 (C), 135.1 (CH), 135.0 (CH), 130.8 (C), 128.8 (CH), 127.8 (CH), 127.5 (CH), 118.9 (C), 117.6 (C), 21.6 (CH<sub>3</sub>), 21.5 ppm (CH<sub>3</sub>). **MS (ESI)** [m/z (%): 755.3 ([MH]<sup>+</sup>, 100). **HRMS (MALDI-TOF-MS) calculado** para C<sub>52</sub>H<sub>43</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>: 755.3381, **encontrado**: 755.3365.



**5,15-bis(3-formilfenil)-10,20-dimesitilporfirinato-zinc(II)**

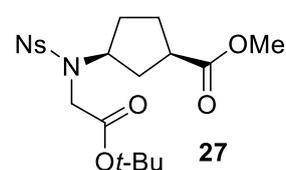
**(25):** Una disolución de la porfirina **24** (43.3 mg, 0.0573 mmol) y Zn(OAc)<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O (126 mg, 0.573 mmol) en MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:3, 8 mL), protegida de la luz, se agitó a ta durante 6 h. La mezcla resultante se lavó con agua (2 × 10 mL) y la fase orgánica se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y concentró a presión reducida. El crudo se purificó mediante cromatografía rápida en columna de alúmina básica (50-100% CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/hexano), dando lugar a la porfirina metalada **25** como un sólido violeta. [42.3 mg,

90%, R<sub>f</sub> (alúmina básica) = 0.26 (100% CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)]. <sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz, δ): 10.18 (s, 2H, CHO), 8.82 (AB, J = 4.7 Hz, 4H, CH pirrol), 8.79 (AB, J = 4.7 Hz, 4H, CH pirrol), 8.68 (s, 2H, Ar), 8.52 (d, J = 7.6 Hz, 2H, Ar), 8.27 (d, J = 7.6 Hz, 2H, Ar), 7.91 (t, J = 7.6 Hz, 2H, Ar), 7.29 (s, 4H, Ar mesitilo), 2.64 (s, 6H, Me<sub>para</sub> mesitilo), 1.84 ppm (s, 12H, Me<sub>orto</sub> mesitilo). <sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 75.4 MHz, δ): 192.7 (CHO), 150.2 (C), 149.8 (C), 143.8 (C), 139.6 (CH), 139.3 (C), 139.2 (C), 139.1 (C), 138.8 (C), 137.6 (C), 135.1 (CH), 135.0 (CH), 134.7 (C), 132.0 (CH), 131.3 (CH), 128.6 (CH), 127.7 (CH), 127.4 (CH), 119.8 (C), 118.5 (C), 21.7 (CH<sub>3</sub>), 21.5 ppm (CH<sub>3</sub>). **HRMS (ESI) calculado** para C<sub>52</sub>H<sub>40</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>Zn: 817.2515, **encontrado**: 817.2501.



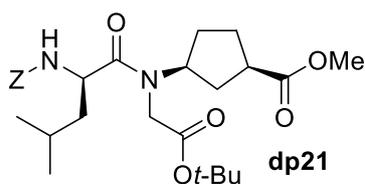
**5,15-bis[3-[(2-*tert*-butoxycarbonyl]hidrazonometil]fenil]-**

**10,20-dimesitilporfirinatozinc(II) (26):** Una disolución de la porfirina **25** (15.1 mg, 0.0185 mmol) y *tert*-butil carbazato (9.8 mg, 0.0742 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1.8 mL), protegida de la luz, se agitó a ta durante 12 h. Al cabo de ese tiempo, el disolvente se eliminó a presión reducida y, el residuo resultante, se purificó mediante cromatografía rápida en columna de alúmina básica (100% CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), dando lugar al compuesto **26** como un sólido violeta. [19.0 mg, 98%, R<sub>f</sub> = 0.48 (2% MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)]. <sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz, δ): 8.81 (br, 2H, NH hidrazona), 8.73 (AB, J = 3.5 Hz 4H, CH pirrol), 8.67 (AB, J = 3.5 Hz, 4H, CH pirrol), 8.49 (br s, 2H, Ar), 8.24 (t, J = 7.2 Hz, 2H, Ar, -N=CH- hidrazona), 8.09-7.96 (m, 4H, Ar), 7.70 (t, J = 7.7 Hz, 2H, Ar), 7.26, 7.25 y 7.23 (3s, 4H, Ar mesitilo), 2.60 (s, 6H, Me<sub>para</sub> mesitilo), 1.88, 1.82 y 1.77 (3s, 12H, Me<sub>orto</sub> mesitilo), 1.45 ppm (s, 18H, Boc). <sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 75.4 MHz, δ): 153.1 (CO), 149.8 (C), 149.6 (C), 139.6 (C), 139.3 (C), 137.1 (C), 135.4 (CH), 132.7 (CH), 132.1 (C), 131.8 (CH), 130.4 (CH), 127.4 (CH), 126.6 (CH), 126.0 (CH), 118.7 (C), 28.2 (CH<sub>3</sub>), 21.6 (CH<sub>3</sub>), 21.4 ppm (CH<sub>3</sub>). **HRMS (MALDI-TOF-MS) calculado** para C<sub>62</sub>H<sub>60</sub>N<sub>8</sub>O<sub>4</sub>Zn: 1044.4029, **encontrado:** 1044.4015.



**(1R,3S)-3-[(2-Nitrobenzenosulfonyl)tert-butoxiacetilamino]ciclopentanocarboxilato de metilo (Ns-*L*-*t*-BuOAcN- $\gamma$ -Acp-OMe) (27):**

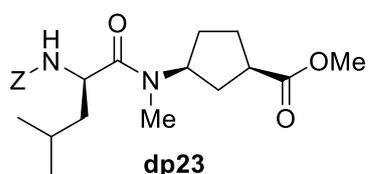
Una disolución de Ns-*L*- $\gamma$ -Acp-OMe (**7**) (539 mg, 1.64 mmol) en DMF seca (8.2 mL) se trató con K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (907 mg, 6.56 mmol) y bromoacetato de *tert*-butilo (726  $\mu$ L, 4.92 mmol). La mezcla se agitó bajo Ar a ta durante 3 h y, a continuación, el disolvente se eliminó a presión reducida. El residuo resultante se suspendió en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (15 mL) y se lavó con agua (2 x 15 mL) y con una disolución saturada de NaCl (2 x 15 mL). La fase orgánica se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y concentró a presión reducida. El crudo se purificó mediante cromatografía rápida en columna de gel de sílice (10-50% EtOAc/hexano), para dar lugar al aminoácido **27** como un aceite amarillo. [689 mg, 95%, R<sub>f</sub> = 0.64 (50% EtOAc/hexano)]. <sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz, δ): 8.23-8.07 (m, 1H, Ns), 7.94-7.51 (m, 3H, Ns), 4.24 (m, 1H, H $\gamma$ ), 4.04 (s, 2H, CH<sub>2</sub> *t*-BuOAc), 3.67 (s, 3H, OMe), 2.75 (m, 1H, H $\alpha$ ), 2.16-1.48 (m, 6H, CH<sub>2</sub> Acp), 1.43 y 1.41 ppm (2s, 9H, Boc). <sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 75.4 MHz, δ): 176.0 (CO), 168.6 (CO), 147.9 (C), 133.8 (C), 133.6 (CH), 131.8 (CH), 131.1 (CH), 124.2 (CH), 82.2 (C), 58.5 (CH<sub>3</sub>), 51.9 (CH), 45.1 (CH<sub>2</sub>), 40.3 (CH), 32.5 (CH<sub>2</sub>), 28.4 (CH<sub>2</sub>), 27.8 (CH<sub>3</sub>), 26.7 ppm (CH<sub>2</sub>). **MS (ESI) [m/z (%):** 465.1 ([MNa]<sup>+</sup>, 100), 443.1 ([MH]<sup>+</sup>, 46). **HRMS (ESI) calculado** para C<sub>19</sub>H<sub>26</sub>N<sub>2</sub>NaO<sub>8</sub>S: 465.1302, **encontrado:** 465.1302.



**Z-D-Leu-L-*t*-BuOAcN- $\gamma$ -Acp-OMe (dp21):** Una disolución de **27** (667 mg, 1.51 mmol) en DMF seca (5.0 mL) se trató con  $K_2CO_3$  (417 mg, 3.02 mmol) y tiofenol (190  $\mu$ L, 1.81 mmol). La mezcla se agitó bajo Ar a ta durante 4 h y, a continuación, el disolvente se eliminó a presión reducida; dando lugar al

aminoácido desprotegido L-*t*-BuOAcN- $\gamma$ -Acp-OMe (**28**), que se utilizó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

El sólido obtenido se disolvió en  $CH_2Cl_2$  seco (15 mL) y se trató sucesivamente con DIEA (740  $\mu$ L, 6.04 mmol), Z-D-Leu-OH (480 mg, 1.81 mmol) y N-HATU (1.15 g, 3.02 mmol). La mezcla se agitó bajo Ar a ta durante 1 h y, a continuación, se lavó con una disolución acuosa de HCl (5%, 3 x 8 mL) y con una disolución saturada de  $NaHCO_3$  (3 x 8 mL). La fase orgánica se secó con  $Na_2SO_4$  anhidro, se filtró y concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía rápida en columna de gel de sílice (15-50% EtOAc/hexano), dando lugar al dipéptido **dp21** como un aceite incoloro. [732 mg, 96%,  $R_f = 0.39$  (50% EtOAc/hexano)].  **$^1H$ -RMN** ( $CDCl_3$ , 300 MHz,  $\delta$ ): 7.31 (s, 5H, Ar Bn), 5.56 (d,  $J = 8.8$  Hz, 0.7H, NH), 5.43 (d,  $J = 8.8$  Hz, 0.3H, NH), 5.06 (s, 2H,  $CH_2$  Bn), 4.79 (m, 1H,  $H_\alpha$  Leu), 4.45-4.23 (m, 1.3H,  $H_\gamma$  Acp +  $CH_2$  *t*-BuOAc), 4.01 (AB,  $J = 16.6$  Hz, 0.7H,  $CH_2$  *t*-BuOAc), 3.83 (AB,  $J = 18.6$  Hz, 0.3H,  $CH_2$  *t*-BuOAc), 3.76-3.62 (m, 3.7H, OMe +  $CH_2$  *t*-BuOAc), 2.79 (m, 1H,  $H_\alpha$  Acp), 2.13 (m, 1H,  $H_\beta$  Acp), 1.45 y 1.42 (2s, 9H, Ot-Bu), 1.02-0.85 ppm (m, 6H,  $CH_3$  Leu).  **$^{13}C$ -RMN** ( $CDCl_3$ , 75.4 MHz,  $\delta$ ): 176.4 y 175.9 (CO), 174.0 y 172.5 (CO), 169.0 y 168.2 (CO), 156.2 y 156.1 (CO), 136.4 (C), 128.4 (CH), 128.0 (CH), 127.9 (CH), 82.5 y 81.5 (C), 66.8 ( $CH_2$ ), 57.5 y 55.0 ( $CH_3$ ), 52.0 y 51.8 (CH), 49.8 y 49.3 (CH), 45.5 y 44.2 ( $CH_2$ ), 43.2 y 42.3 ( $CH_2$ ), 41.0 y 40.8 (CH), 32.7 y 32.0 ( $CH_2$ ), 29.0 ( $CH_2$ ), 27.9 ( $CH_3$ ), 27.1 ( $CH_2$ ), 26.7 ( $CH_2$ ), 24.6 y 24.4 (CH), 23.5 y 23.4 ( $CH_3$ ), 21.8 y 21.5 ppm ( $CH_3$ ). **MS (ESI)** [ $m/z$  (%): 527.3 ([ $MNa$ ] $^+$ , 100), 505.3 ([ $MH$ ] $^+$ , 10). **HRMS (ESI) calculado** para  $C_{27}H_{41}N_2O_7$ : 505.2908, **encontrado**: 505.2906.



**Z-D-Leu-L-MeN- $\gamma$ -Acp-OMe (dp23):** Una disolución de **Boc-L-MeN- $\gamma$ -Acp-OMe (20)** (900 mg, 3.50 mmol) en una mezcla de TFA y  $CH_2Cl_2$  (1:1, 17.4 mL) se agitó a ta durante 15 min. La disolución se concentró a presión reducida y el residuo se disolvió y concentró de  $CH_2Cl_2$  (3 x 10 mL). El sólido

obtenido se secó a alto vacío durante 3 h. La sal de TFA resultante se disolvió en  $CH_2Cl_2$  seco (35 mL) y se trató sucesivamente con DIEA (3.7 mL, 21.0 mmol), Z-D-Leu-OH (1.02 g, 3.85 mmol) y N-HATU (2.66 g, 7.00 mmol). La mezcla se agitó bajo Ar a ta durante 1 h y, a continuación, se lavó con una disolución acuosa de HCl (5%, 3 x 30 mL) y con una disolución saturada de  $NaHCO_3$  (3 x 30 mL). La fase orgánica se secó con  $Na_2SO_4$  anhidro, se filtró y concentró a presión reducida. El crudo se purificó mediante cromatografía rápida en columna de gel de sílice (15-40% EtOAc/hexano), para dar lugar al dipéptido **dp23** como una espuma blanca. [1.35 g, 95%,  $R_f = 0.60$  (50% EtOAc/hexano)].  **$^1H$ -RMN** ( $CDCl_3$ , 300 MHz,  $\delta$ ): 7.32 (s, 5H, Ar Bn), 5.91-5.77 (m, 1H, NH), 5.07 (s, 2H,  $CH_2$  Bn), 4.94 (m, 0.4H,  $H_\alpha$

Leu), 4.78 (quint,  $J = 8.3$  Hz, 0.4H, H $\gamma$  Acp), 4.78 (m, 0.6H, H $\alpha$  Leu), 4.36 (m, 0.6H, H $\gamma$  Acp), 3.70 (s, 1.2H, OMe), 3.68 (s, 1.8H, OMe), 2.96 (s, 1.8H, NMe), 2.88-2.73 (m, 2.2H, NMe + H $\alpha$  Acp), 2.17-1.20 (m, 9H, CH<sub>2</sub> Acp + CH<sub>2</sub> Leu + CH Leu), 1.05-0.83 ppm (m, 6H, CH<sub>3</sub> Leu). **<sup>13</sup>C-RMN** (CDCl<sub>3</sub>, 75.4 MHz,  $\delta$ ): 176.3 y 175.7 (CO), 173.4 y 172.7 (CO), 156.3 y 156.0 (CO), 136.4 (C), 128.4 (CH), 128.0 (CH), 127.9 (CH), 66.8 (CH<sub>2</sub>), 57.5 y 54.3 (CH<sub>3</sub>), 52.0 y 51.9 (CH), 49.9 y 49.4 (CH), 43.2 y 42.4 (CH<sub>2</sub>), 41.8 (CH<sub>2</sub>), 41.6 y 41.3 (CH), 32.4 y 31.2 (CH<sub>2</sub>), 29.2 y 27.8 (CH<sub>3</sub>), 27.6 y 27.2 (CH<sub>2</sub>), 24.6 (CH), 23.3 y 22.9 (CH<sub>3</sub>), 21.8 y 21.6 ppm (CH<sub>3</sub>). **MS (ESI)** [ $m/z$  (%): 427.2 ([MNa]<sup>+</sup>, 100), 405.2 ([MH]<sup>+</sup>, 43). **HRMS (ESI) calculado** para C<sub>22</sub>H<sub>33</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>: 405.2384, **encontrado**: 405.2383.

**Z-D-Leu-L-MeN- $\gamma$ -Acp-D-Leu-L-<sup>t</sup>-BuOAcN- $\gamma$ -Acp-OMe (tp19)**: Una disolución de dipéptido **dp23** (500 mg, 1.24 mmol) en una mezcla de agua y MeOH (1:3, 6.2 mL) se trató con LiOH (89.1 mg, 3.71 mmol). La mezcla se agitó a ta durante 2 h y, a continuación, se acidificó con una disolución acuosa de HCl (10%) hasta un pH de 2.5. El producto se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x 20 mL) y la fase orgánica se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y concentró a presión reducida; dando lugar al dipéptido Z-D-Leu-L-MeN- $\gamma$ -Acp-OH (**dp24**), que se utilizó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

Por otra parte, una mezcla de dipéptido **dp21** (690 mg, 1.37 mmol) y Pd/C (10% en peso, 292 mg, 0.274 mmol) en MeOH (7.0 mL), se agitó bajo atmósfera de hidrógeno (presión de globo) a ta durante 2 h. La suspensión se filtró a través de celita y las aguas madres se concentraron a presión reducida para dar lugar al dipéptido H-D-Leu-L-<sup>t</sup>-BuOAcN- $\gamma$ -Acp-OMe (**dp22**), que se utilizó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

El dipéptido desprotegido **dp22** se disolvió en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> seco (12 mL) y se trató sucesivamente con DIEA (820  $\mu$ L, 4.72 mmol), **dp24** y N-HBTU (537 mg, 1.42 mmol). La mezcla se agitó bajo Ar a ta durante 1 h y, a continuación, se lavó con una disolución acuosa de HCl (5%, 3 x 10 mL) y con una disolución saturada de NaHCO<sub>3</sub> (3 x 10 mL). La fase orgánica se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía rápida en columna de gel de sílice (0-2% MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), para obtener el **tp19** como una espuma blanca. [651 mg, 74%,  $R_f = 0.38$  (5% MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)]. **MS (ESI)** [ $m/z$  (%): 486.3 (100), 765.4 ([MNa]<sup>+</sup>, 29), 743.5 ([MH]<sup>+</sup>, 27), 687.4 ([MH]<sup>+</sup>-<sup>t</sup>-Bu, 9). **HRMS (ESI) calculado** para C<sub>40</sub>H<sub>63</sub>N<sub>4</sub>O<sub>9</sub>: 743.4590, **encontrado**: 743.4587.

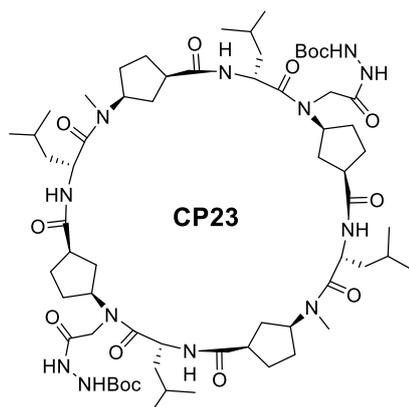
**Z-D-Leu-L-MeN- $\gamma$ -Acp-D-Leu-L-BocNHNHAcN- $\gamma$ -Acp-OMe (tp20)**: Una disolución de tetrapéptido **tp19** (628 mg, 0.847 mmol) en una mezcla de TFA y CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:1, 8 mL) se agitó durante a ta 15 min. Posteriormente, el disolvente se eliminó a presión reducida y el residuo se disolvió y concentró de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x 8 mL). El sólido obtenido se secó a alto vacío durante 3 h. La sal de TFA resultante se disolvió en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> seco (8 mL) y se trató sucesivamente con DIEA (890  $\mu$ L, 14.3 mmol), *tert*-butil carbazato (112 mg, 0.847 mmol) y N-HBTU (385 mg, 1.02

mmol). La mezcla se agitó bajo Ar a ta durante 1 h y, a continuación, se lavó con una disolución acuosa de HCl (5%, 3 x 10 mL) y con una disolución saturada de NaHCO<sub>3</sub> (3 x 10 mL). La fase orgánica se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y concentró a presión reducida. El crudo se purificó mediante cromatografía rápida en columna de gel de sílice (0-3% MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), dando lugar al tetrapéptido **tp20** como una espuma blanca. [548 mg, 81%, R<sub>f</sub> = 0.30 (5% MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)]. **MS (ESI)** [m/z (%): 823.5 ([MNa]<sup>+</sup>, 100), 801.5 ([MH]<sup>+</sup>, 31), 701.4 ([MH]<sup>+</sup>-Boc, 22)]. **HRMS (ESI) calculado** para C<sub>41</sub>H<sub>65</sub>N<sub>6</sub>O<sub>10</sub>: 801.4757, **encontrado**: 801.4752.

**Z-(D-Leu-L-MeN-γ-Acp-D-Leu-L-BocNHNHAcN-γ-Acp)<sub>2</sub>-OMe (op7)**: Una disolución de tetrapéptido **tp20** (268 mg, 0.334 mmol) en una mezcla de agua y MeOH (1:3, 3.4 mL) se trató con LiOH (24.1 g, 1.00 mmol). La mezcla se agitó a ta durante 3 h y, a continuación, se acidificó con una disolución acuosa de HCl (10%) hasta un pH de 2.5. El producto se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x 5 mL) y la fase orgánica se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y concentró a presión reducida para dar lugar al tetrapéptido Z-D-Leu-L-MeN-γ-Acp-D-Leu-L-BocNHNHAcN-γ-Acp-OH (**tp21**), que se utilizó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

Por otra parte, una mezcla de tetrapéptido **tp20** (268 mg, 0.334 mmol) y Pd/C (10% en peso, 71.0 mg, 0.0669 mmol) en MeOH (3.3 mL) se agitó bajo atmósfera de hidrógeno (presión de globo) a ta durante 2 h. La suspensión se filtró a través de celita y las aguas madres se concentraron a presión reducida para dar lugar al tetrapéptido H-D-Leu-L-MeN-γ-Acp-D-Leu-L-BocNHNHAcN-γ-Acp-OMe (**tp22**), que se utilizó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

El tetrapéptido desprotegido **tp22** se disolvió en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> seco (3 mL) y se trató sucesivamente con DIEA (200 μL, 1.16 mmol), **tp21** y N-HBTU (116 mg, 0.305 mmol). La mezcla se agitó bajo Ar a ta durante 1 h y, a continuación, se lavó con una disolución acuosa de HCl (5%, 3 x 5 mL) y con una disolución saturada de NaHCO<sub>3</sub> (3 x 5 mL). La fase orgánica se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía rápida en columna de gel de sílice (0-4% MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), para obtener el octapéptido **op7** como una espuma blanca. [333 mg, 80%, R<sub>f</sub> = 0.34 (5% MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)]. **MS (ESI)** [m/z (%): 1457.9 ([MNa]<sup>+</sup>, 100)]. **HRMS (ESI) calculado** para C<sub>73</sub>H<sub>119</sub>N<sub>12</sub>O<sub>17</sub>: 1435.8811, **encontrado**: 1435.8808.



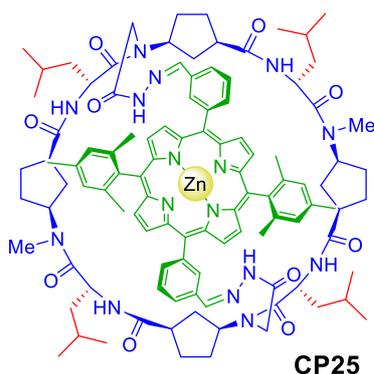
**c-[(D-Leu-L-MeN-γ-Acp-D-Leu-L-BocNHNHAcN-γ-Acp)<sub>2</sub>]**

**(CP23):** Una disolución de octapéptido lineal **op7** (320 mg, 0.223 mmol) en una mezcla de agua y MeOH (1:3, 2.3 mL) se trató con LiOH (16.1 mg, 0.669 mmol). La mezcla se agitó a ta durante 2 h y, a continuación, se acidificó con una disolución acuosa de HCl (10%) hasta un pH de 2.5. El producto se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x 5 mL) y la fase orgánica se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y concentró a presión reducida para dar lugar al octapéptido Z-(D-Leu-L-MeN-γ-Acp-D-Leu-L-BocNHNHAcN-γ-Acp)<sub>2</sub>-OH (**op8**), que se utilizó

en la siguiente etapa sin purificación adicional.

Una mezcla de **op8** (317 mg, 0.223 mmol) y Pd/C (10% en peso, 47.5 mg, 0.0446 mmol) en MeOH (2.2 mL) se agitó bajo atmósfera de hidrógeno (presión de globo) a ta durante 2 h. Al cabo de ese tiempo, la suspensión se filtró a través de celita y las aguas madres se concentraron a presión reducida; dando lugar al octapéptido H-(D-Leu-L-MeN-γ-Acp-D-Leu-L-BocNHNHAcN-γ-Acp)<sub>2</sub>-OH (**op9**), que se utilizó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

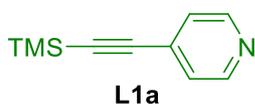
El octapéptido desprotegido **op19** se disolvió en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> seco (223 mL) y se trató sucesivamente con DIEA (230 μL, 1.34 mmol) y N-TBTU (143 mg, 0.446 mmol). La mezcla se agitó bajo Ar a ta durante 12 h. Al cabo de ese tiempo, la disolución resultante se concentró a presión reducida hasta un volumen de 20 mL y, a continuación, se lavó con una disolución acuosa de HCl (5%, 3 x 20 mL) y con una disolución saturada de NaHCO<sub>3</sub> (3 x 20 mL). La fase orgánica se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y concentró a presión reducida. El crudo se purificó mediante cromatografía rápida en columna de gel de sílice (0-9% MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), dando lugar al ciclopeptido **CP23** como un sólido blanco. [150 mg, 53%, R<sub>f</sub> = 0.51 (10% MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)]. <sup>1</sup>H-RMN (5% DMSO-*d*<sub>6</sub>/CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz, δ): 9.57 (m, 2H, BocNH-), 8.42 (m, 4H, NH), 6.86 (m, 2H, -NHAc-), 5.21-5.06 (m, 2H, H<sub>α</sub> Leu), 4.90-4.64 (m, 8H, 4H<sub>γ</sub> Acp + 2H<sub>α</sub> Leu + CH<sub>2</sub> acetilhidrazina), 3.94 (d, J = 12.2 Hz, 0.8H, CH<sub>2</sub> acetilhidrazina), 3.91 (d, J = 11.6 Hz, 1.2H, CH<sub>2</sub> acetilhidrazina), 3.23 (quint, J = 8.0 Hz, 1.2H, H<sub>α</sub> Acp), 3.13 (m, 0.8H, H<sub>α</sub> Acp), 3.02 (s, 2.4H, NMe), 3.01 (s, 3.6H, NMe), 2.93 (m, 2H, H<sub>α</sub> Acp), 2.13-1.48 (m, 32H, 24H, CH<sub>2</sub> Acp + CH<sub>2</sub> Leu + CH Leu), 1.44 (s, 18H, Boc), 1.42-1.30 (m, 4H, CH<sub>2</sub> Leu), 0.99-0.77 ppm (m, 24H, CH<sub>3</sub> Leu). <sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 75.4 MHz, δ): 176.7 y 176.5 (CO), 175.1 y 174.8 (CO), 174.5 y 174.5 (CO), 173.1 y 173.1 (CO), 169.0 (CO), 155.1 (CO), 81.3 (C), 55.1 (CH), 54.6 y 54.4 (CH), 47.4 y 47.3 (CH), 47.0 y 46.9 (CH), 43.5 (CH<sub>2</sub>), 43.2 y 43.0 (CH<sub>2</sub>), 42.1 (CH), 41.7 (CH<sub>2</sub>), 41.4 (CH), 41.1 (CH), 40.8 (CH), 34.0 (CH<sub>2</sub>), 31.0 (CH<sub>2</sub>), 29.2 y 29.1 (CH<sub>3</sub>), 28.1 (CH<sub>3</sub>), 26.7 y 26.6 (CH<sub>2</sub>), 24.7 y 24.6 (CH), 24.5 (CH), 23.6 y 23.5 (CH<sub>3</sub>), 23.3 (CH<sub>3</sub>), 22.0 y 21.9 (CH<sub>3</sub>), 21.3 ppm (CH<sub>3</sub>). FTIR (298 K, CHCl<sub>3</sub>): 3289 (amida A), 1717 (amida II), 1617 (amida I), 1542 cm<sup>-1</sup> (amida II). MS (ESI) [m/z (%): 1291.8 ([MNa]<sup>+</sup>, 100). HRMS (ESI) calculado para C<sub>64</sub>H<sub>109</sub>N<sub>12</sub>O<sub>14</sub>: 1269.8181, encontrado: 1269.8187.



**CP25:** Una disolución de ciclopéptido **CP23** (15.5 mg, 0.0122 mmol) en una mezcla de TFA y CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:1, 0.6 mL) se agitó a ta durante 15 min. La disolución se concentró a presión reducida y el residuo se disolvió y concentró de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x 1 mL). El sólido obtenido se secó a alto vacío durante 3 h. La sal de TFA resultante (**CP24**) se disolvió en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> seco (24 mL) y, a continuación, se añadió metaloporfirina **25** (10.0 mg, 0.0122 mmol). La mezcla, protegida de la luz, se agitó a ta durante 12 h. Al cabo de ese tiempo, la disolución resultante se concentró a presión reducida y, finalmente, el residuo se

purificó mediante cromatografía rápida en columna de alumina básica (0-5% MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), dando lugar al ciclopéptido **CP25** como un sólido violeta. [14.0 mg, 62%, R<sub>f</sub> = 0.26 (5% MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)]. <sup>1</sup>H-RMN (10% DMSO-*d*<sub>6</sub>/CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz, δ): 11.36 (br, 1H, NH acetilhidrazona), 11.29 (s, 1H, NH acetilhidrazona), 8.95-8.59 (m, 10H, CH pirrol + Ar), 8.30 (br, 1H, -N=CH- acetilhidrazona), 8.25 (s, 1H, -N=CH- acetilhidrazona), 8.23 (d, *J* = 10.5 Hz, 1H, NH), 8.20 (br, 1H, NH), 8.19 (m, 1H, Ar), 8.15 (br td, 1H, Ar), 8.05-8.00 (m, 2H, NH), 7.71-7.57 (m, 4H, Ar), 7.26-7.16 (2s, 4H, Ar mesitilo), 4.94 (br, 1H, CH<sub>2</sub> acetilhidrazona), 4.90 (m, 1H, H<sub>α</sub> Leu), 4.88 (m, 1H, H<sub>α</sub> Leu), 4.86 (d, *J* = 19.9 Hz, 1H, CH<sub>2</sub> acetilhidrazona), 4.60 (m, 1H, H<sub>α</sub> Leu), 4.50 (m, 2H, H<sub>γ</sub> Acp), 4.45 (m, 1H, H<sub>α</sub> Leu), 4.30 (m, 2H, H<sub>γ</sub> Acp), 4.19 (br, 1H, CH<sub>2</sub> acetilhidrazona), 4.08 (d, *J* = 20.0 Hz, 1H, CH<sub>2</sub> acetilhidrazona), 2.71 (m, 2H, H<sub>α</sub> Acp), 2.59 (m, 2H, H<sub>α</sub> Acp), 2.56 (s, 6H, ArMe *orto* mesitilo), 1.71 (s, 6H, ArMe *orto* mesitilo), 2.44 (s, 3H, NMe), 2.03 (s, 3H, NMe), 2.36 (m, 6H, ArMe *para* mesitilo), 2.19-1.12 (m, 36H, CH<sub>2</sub> Acp + CH<sub>2</sub> Leu + CH Leu), 1.12-0.63 ppm (m, 24H, CH<sub>3</sub> Leu). FTIR (298 K, CHCl<sub>3</sub>): 3301 (amida A), 1685 (amida I<sub>II</sub>), 1623 (amida I), 1536 cm<sup>-1</sup> (amida II). HRMS (MALDI-TOF-MS) calculado para C<sub>106</sub>H<sub>128</sub>N<sub>16</sub>O<sub>10</sub>Zn: 1848.92853, **encontrado**: 1848.92028.

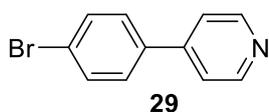
**CP26:** El ciclopéptido se preparó siguiendo el procedimiento descrito en la bibliografía.<sup>181</sup>



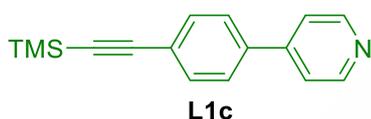
**4-[(trimetilsilil)etnil]piridina (L1a):** Una disolución de 4-yodopiridina (300 mg, 1.46 mmol), trimetilsililacetileno (620 μL, 4.39 mmol) y CuI (27.8 mg, 0.146 mmol) en Et<sub>3</sub>N/THF (1:3, 3.6 mL) se desoxigenó mediante burbujeo con una corriente de Ar durante 15 min. A continuación, se añadió Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (51.4 mg, 0.0732 mmol) y, la mezcla resultante, se agitó bajo Ar a 50°C durante 12 h. El disolvente se eliminó a presión reducida y, el residuo resultante, se purificó mediante cromatografía rápida en columna de gel de sílice (0-2% MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), dando lugar a **L1a** como un sólido amarillo intenso.<sup>297,298</sup> [228 mg, 89%].

<sup>181</sup> Amorín, M.; Castedo, L.; Granja, J. R. *Chem. Eur. J.* **2005**, *11*, 6543-6551.

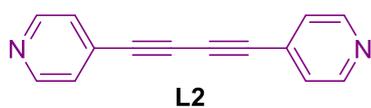
<sup>297</sup> Zeidan, T. A.; Kovalenko, S. V.; Manoharan, M.; Clark, R. J.; Ghiviriga, I.; Alabugin, I. V. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 4270-4285.



**4-(Bromofenil)piridina (29):** Una mezcla de 1-bromo-4-yodobenceno (552 mg, 1.95 mmol), ácido 4-piridinilborónico (200 mg, 1.63 mmol) y  $K_3PO_4$  (1.04 g, 4.88 mmol) se disolvió en DMF seca (16 mL). La disolución se desoxigenó mediante burbujeo con una corriente de Ar durante 15 min y, a continuación, se añadió  $Pd(PPh_3)_4$  (94.0 mg, 0.0814 mmol). La mezcla resultante se agitó bajo Ar a 100 °C durante 12 h. Al cabo de ese tiempo, se dejó que la disolución alcanzase la ta y se concentró a presión reducida. El residuo resultante se disolvió en  $CH_2Cl_2$  (20 mL) y se lavó con agua (3 x 20 mL). La fase orgánica se secó con  $Na_2SO_4$  anhidro, se filtró y concentró a presión reducida. El crudo se purificó mediante cromatografía rápida en columna de gel de sílice (25% EtAcO/ $CH_2Cl_2$ ), para dar lugar a **29** como un sólido amarillo intenso.<sup>299,300</sup> [290 mg, 76%].



**4-{4-[(Trimetilsilil)etnil]fenil}piridina (L1c):** Una disolución de **29** (100 mg, 0.427 mmol), trimetilsililacetileno (181  $\mu$ L, 1.28 mmol) y CuI (16.3 mg, 0.0854 mmol) en  $Et_3N/THF$  (1:3, 4.27 mL) se desoxigenó mediante burbujeo con una corriente de Ar durante 15 min. A continuación, se añadió  $Pd(PPh_3)_2Cl_2$  (30.0 mg, 0.0427 mmol) y, la mezcla resultante, se agitó bajo Ar a 50°C durante 12 h. El disolvente se eliminó a presión reducida y, el residuo resultante, se purificó mediante cromatografía rápida en columna de gel de sílice (25% EtAcO/ $CH_2Cl_2$ ), dando lugar a **L1c** como un sólido amarillo intenso. [98.8 mg, 92%,  $R_f = 0.55$  (100%  $CH_2Cl_2$ )].  $^1H$ -RMN ( $CDCl_3$ , 400 MHz,  $\delta$ ): 8.67 (br, 2H), 7.57 (s, 4H), 7.53-7.44 (m, 2H), 0.26 ppm (s, 9H).  $^{13}C$ -RMN ( $CDCl_3$ , 75.4 MHz,  $\delta$ ): 150.1 (CH), 147.2 (C), 138.0 (C), 132.7 (CH), 126.7 (CH), 124.0 (C), 121.5 (CH), 104.4 (C), 96.1 (C), -0.08 ppm ( $CH_3$ ). **MS (ESI)** [ $m/z$  (%): 251.1 ( $[MH]^+$ , 100). **HRMS (ESI) calculado** para  $C_{16}H_{17}NSi$ : 251.1130, **encontrado**: 251.1129.



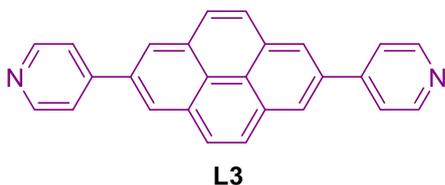
**1,4-di(piridin-4-il)buta-1,3-diino (L2):** Una mezcla de 4-etinilpiridina (87.4 g, 0.849 mol), CuCl (840 mg, 8.49 mmol) y TMEDA (1.27 mL, 8.49 mmol) en  $CH_2Cl_2$  (2.8 mL) se agitó en presencia de oxígeno a ta durante 6 h. La disolución resultante se diluyó con  $CH_2Cl_2$  (7 mL) y se lavó con agua (3 x 10 mL). La fase orgánica se secó con  $Na_2SO_4$  anhidro, se filtró y concentró a presión reducida. El crudo se purificó mediante cromatografía rápida en

<sup>298</sup> Moreno-García, P.; Gulcur, M.; Manrique, D. Z.; Pope, T.; Hong, W.; Kaliginedi, V.; Huang, C.; Batsanov, A. S.; Bryce, M. R.; Lambert, C.; Wandlowski, T. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 12228-12240.

<sup>299</sup> Vermeulen, N. A.; Karagiari, O.; Sarjeant, A. A.; Stern, C. L.; Hupp, J. T.; Farha, O. K.; Stoddart, J. F. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 14916-14919.

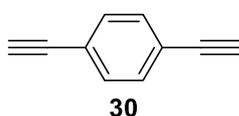
<sup>300</sup> Wang, Y.; Frattarelli, D. L.; Facchetti, A.; Cariati, E.; Tordin, E.; Ugo, R.; Zuccaccia, C.; Macchioni, A.; Wegener, S. L.; Stern, C. L.; Ratner, M. A.; Marks, T. J. *J. Phys. Chem. C* **2008**, *112*, 8005-8015.

columna de gel de sílice (0-2% MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), dando lugar a **L2** como un sólido amarillo pálido.<sup>301,302</sup> [0.071 g, 82%].



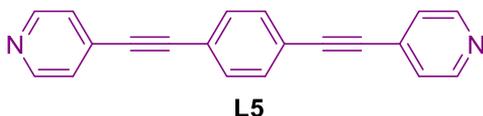
**2,7-di(piridin-4-il)pireno (L3):** Una mezcla de 2,7-dibromopireno (100 mg, 0.278 mmol), ácido 4-piridinilborónico (75.1 mg, 0.611 mmol) y K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (389 mg, 1.83 mmol) se disolvió en DMF seca (2.8 mL). La disolución se desoxigenó mediante burbujeo con una

corriente de Ar durante 15 min y, a continuación, se añadió Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (6.4 mg, 0.0056 mmol). La mezcla resultante se agitó bajo Ar a 100 °C durante 12 h. Al cabo de ese tiempo, se dejó que la disolución alcanzase la ta y se concentró a presión reducida. El residuo se disolvió en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (5 mL) y se lavó con agua (3 x 5 mL). La fase orgánica se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y concentró a presión reducida. El crudo se purificó mediante cromatografía rápida en columna de gel de sílice (0-3% MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) para dar lugar a **L3** como un sólido amarillo pálido. [55.8 mg, 56%, R<sub>f</sub> = 0.35 (2% MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)]. <sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz, δ): 8.79 (d, J = 5.9 Hz, 4H), 8.46 (s, 4H), 8.21 (s, 4H), 7.82 ppm (d, J = 5.9 Hz, 4H). <sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 75.4 MHz, δ): 150.4 (CH), 148.5 (C), 136.2 (C), 131.8 (C), 128.2 (CH), 124.4 (C), 123.7 (CH), 122.5 ppm (CH). **MS (ESI)** [m/z (%): 357.1 ([MH]<sup>+</sup>, 100). **HRMS (ESI) calculado** para C<sub>26</sub>H<sub>17</sub>N<sub>2</sub>: 357.1386, **encontrado**: 357.1387.



**1,4-Dietinilbenceno (30):** Una disolución de 1,4-bis[(trimetilsilil)etinil]benceno (107 mg, 0.396 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (1:1, 3.2 mL) se trató con una disolución acuosa de KOH (1 M, 320 μL).

La mezcla resultante se agitó a ta durante 3 h. El disolvente orgánico se eliminó a presión reducida, se añadió agua (4 mL) y se realizaron extracciones con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x 5 mL). Las fases orgánicas combinadas se secaron con MgSO<sub>4</sub> anhidro, se filtraron y concentraron a presión reducida; dando lugar a **30** como un sólido blanco, que se utilizó sin purificación adicional.<sup>303</sup> [40.5 mg, 81%].



**1,4-bis[(piridin-4-il)etinil]benceno (L5):** Una disolución de 4-yodopiridina (262 mg, 1.28 mmol), **30** (40.5 mg, 0.321 mmol) y CuI (24.4 mg, 0.128) en Et<sub>3</sub>N/THF (1:3, 3.2 mL) se desoxigenó mediante

burbujeo con una corriente de Ar durante 15 min. A continuación, se añadió Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>

<sup>301</sup> Vilhelmsen, M. H.; Jensen, J.; Tortzen, C. G.; Nielsen, M. B. *Eur. J. Org. Chem.* **2013**, 4, 701-711.

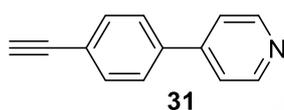
<sup>302</sup> Olive, A. G. L.; Parkan, K.; Givélet, C.; Michl, J. J. *Am. Chem. Soc.* **2011**, 133, 20108-20111.

<sup>303</sup> Lowe, G.; Droz, A. S.; Vilaivan, T.; Weaver, G. W.; Park, J. J.; Pratt, J. M.; Tweedale, L.; Kelland, L. R. *J. Med. Chem.* **1999**, 42, 3167-3174.

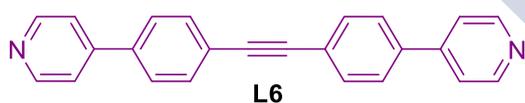
(45.1 mg, 0.0642 mmol) y, la mezcla resultante, se agitó bajo Ar a 50°C durante 12 h. El disolvente se eliminó a presión reducida y, el residuo resultante, se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (0-5% MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) para dar lugar a **L5** como un sólido amarillo pálido.<sup>298,304</sup> [67.5 mg, 75%].



**1,4-bis(2-(pyridin-4-yl)ethyl)benzene (L4):** Una disolución de **L5** (42.3 g, 0.151 mmol) en EtOH (5 mL) se trató con Pd/C (10% en peso, 16.1 g, 0.0151 mmol). La mezcla se agitó bajo atmósfera de hidrógeno (presión de globo) a ta durante 12 h. Al cabo de ese tiempo, la mezcla resultante se filtró a través de celita y las aguas madres se concentraron a presión reducida. El crudo se purificó mediante cromatografía rápida en columna de gel de sílice (0-5% MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) para dar lugar a **L4** como un sólido blanco.<sup>305,306</sup> [0.0401 g, 92%].



**4-(4-ethinilfenil)piridina (31):** Una disolución de **L1c** (50.0 mg, 0.199 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (1:1, 1.6 mL) se trató con una disolución acuosa de KOH (1 M, 160 μL). La mezcla resultante se agitó a ta durante 3 h. El disolvente orgánico se eliminó a presión reducida, se añadió agua (4 mL) y se realizaron extracciones con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x 5 mL). Las fases orgánicas reunidas se secaron con MgSO<sub>4</sub> anhidro, se filtraron y concentraron a presión reducida; dando lugar a **31** como un sólido amarillo, que se utilizó sin purificación adicional.<sup>303,307</sup> [27.8 mg, 78%].



**1,2-bis[4-(piridin-4-il)fenil]etino (L6):** Una disolución de **29** (43.5 mg, 0.186 mmol), **31** (27.8 mg, 0.155 mmol) y CuI (5.9 mg, 0.031 mmol) en Et<sub>3</sub>N/THF (1:3, 1.6 mL) se desoxigenó mediante burbujeo con una corriente de Ar durante 15 min. A continuación, se añadió Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (10.9 mg, 0.0155 mmol) y, la mezcla resultante, se agitó bajo Ar a 50°C durante 12 h. El disolvente se eliminó a presión reducida y, el residuo

<sup>298</sup> Moreno-García, P.; Gulcur, M.; Manrique, D. Z.; Pope, T.; Hong, W.; Kaliginedi, V.; Huang, C.; Batsanov, A. S.; Bryce, M. R.; Lambert, C.; Wandlowski, T. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 12228-12240.

<sup>304</sup> Lovett, J. E.; Hoffmann, M.; Cnossen, A.; Shutter, A. T. J.; Hogben, H. J.; Warren, J. E.; Pascu, S. I.; Kay, C. W. M.; Timmel, C. R.; Anderson, H. L. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 13852-13859.

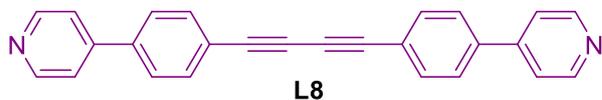
<sup>305</sup> Massaro, A.; Mordini, A.; Mingardi, A.; Klein, J.; Andreotti, D. *Eur. J. Org. Chem.* **2011**, *2*, 271-279.

<sup>306</sup> Wing-Wah Yam, V.; Chor-Yue Lau, V.; Li-Xin Wu *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **1998**, *9*, 1461-1468.

<sup>303</sup> Lowe, G.; Droz, A. S.; Vilaivan, T.; Weaver, G. W.; Park, J. J.; Pratt, J. M.; Tweedale, L.; Kelland, L. I. *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 3167-3174.

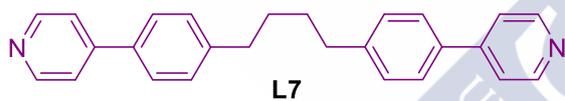
<sup>307</sup> Grunder, S.; Huber, R.; Horhoiu, V.; González, M. T.; Schönenberger, C.; Calame, M.; Mayor, M. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 8337-8344.

resultante, se purificó mediante cromatografía rápida en columna de gel de sílice (0-5% MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) para dar lugar a **L6** como un sólido amarillo pálido.<sup>298,304</sup> [37.1 mg, 72%].

**L8****1,4-bis[4-(piridin-4-il)fenil]buta-1,3-diino**

**(L8):** Una mezcla de **31** (15.0 mg, 0.0836 mmol), CuCl (82.8 mg, 0.836 mmol) y

TMEDA (125  $\mu$ L, 0.836 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2.8 mL) se agitó en presencia de oxígeno a ta durante 6 h. La disolución resultante se diluyó con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (8 mL) y se lavó con agua (3 x 10 mL). La fase orgánica se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y concentró a presión reducida. El crudo se purificó mediante cromatografía rápida en columna de gel de sílice (0-5% MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), dando lugar a **L8** como un sólido blanco. [13.2 mg, 89%, R<sub>f</sub> = 0.30 (2% MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)]. <sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz,  $\delta$ ): 8.66 (d, J = 5.6 Hz, 4H), 7.63 (AB, J = 8.5 Hz, 4H), 7.61 (AB, J = 8.5 Hz, 4H), 7.48 ppm (d, J = 5.6 Hz, 4H). <sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 75.4 MHz,  $\delta$ ): 150.4 (CH), 147.1 (C), 138.8 (C), 133.2 (CH), 127.0 (CH), 122.4 (C), 121.4 (CH), 81.6 (C), 75.3 ppm (C). **MS (ESI)** [m/z (%): 357.1 ([MH]<sup>+</sup>, 100). **HRMS (ESI) calculado** para C<sub>26</sub>H<sub>17</sub>N<sub>2</sub>: 357.1386, **encontrado**: 357.1385.

**L7****1,4-bis(4-(piridin-4-il)fenil)butano (L7):**

Una disolución de **L8** (9.7 mg, 0.0272 mmol) en EtOH (1.5 mL) se trató con Pd/C (10% en peso,

2.9 mg, 0.00272 mmol). La mezcla se agitó bajo atmósfera de hidrógeno (presión de globo) a ta durante 12 h. Al cabo de ese tiempo, la mezcla resultante se filtró a través de celita y las aguas madres se concentraron a presión reducida. El crudo se purificó mediante cromatografía rápida en columna de gel de sílice (0-5% MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), dando lugar a **L7** como un sólido blanco. [9.4 mg, 95%, R<sub>f</sub> = 0.30 (2% MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)]. <sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz,  $\delta$ ): 8.64 (br, 4H), 7.57 (d, J = 7.4 Hz, 4H), 7.49 (d, J = 5.5 Hz, 4H), 7.29 (d, J = 7.4 Hz, 4H), 2.72 (m, 4H), 1.73 ppm (m, 4H). <sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 75.4,  $\delta$ ): 150.2 (CH), 148.2 (C), 143.7 (C), 135.5 (C), 129.2 (CH), 126.9 (CH), 121.4 (CH), 35.5 (CH<sub>2</sub>), 30.9 ppm (CH<sub>2</sub>). **MS (ESI)** [m/z (%): 364.2 ([MH]<sup>+</sup>, 100). **HRMS (ESI) calculado** para C<sub>26</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>: 364.1939, **encontrado**: 364.1941.

**4.3.2. Estudios de UV-vis**

De manera general, las disoluciones para las medidas de UV-vis se prepararon usando CHCl<sub>3</sub> de grado HPLC como disolvente, que se hizo pasar a través de alúmina básica

<sup>298</sup> Moreno-García, P.; Gulcur, M.; Manrique, D. Z.; Pope, T.; Hong, W.; Kaliginedi, V.; Huang, C.; Batsanov, A. S.; Bryce, M. R.; Lambert, C.; Wandlowski, T. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 12228-12240.

<sup>304</sup> Lovett, J. E.; Hoffmann, M.; Cnossen, A.; Shutter, A. T. J.; Hogben, H. J.; Warren, J. E.; Pascu, S. I.; Kay, C. W. M.; Timmel, C. R.; Anderson, H. L. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 13852-13859.

para eliminar las trazas de HCl. La concentración inicial de porfirina **26** o dímero **D25** se recalculó utilizando el coeficiente de extinción.

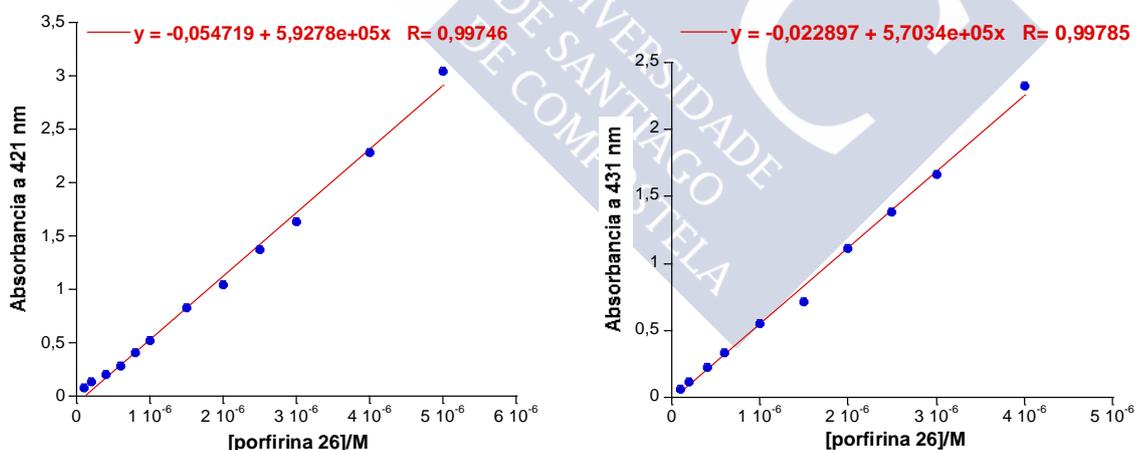
#### 4.3.2.1. Coeficiente de extinción

La ley de Lambert-Beer establece que:

$$A = \epsilon \cdot l \cdot c,$$

donde A es la absorbancia,  $\epsilon$  el coeficiente de extinción molar, l la longitud de la celda y c la concentración. Por tanto, la representación de A frente c genera una recta de pendiente  $\epsilon \cdot l$ . De este modo, el coeficiente de extinción se puede obtener de forma trivial dividiendo la pendiente por la longitud de la celda.

Teniendo en cuenta estas consideraciones, se diseñó un experimento de UV-vis con la porfirina **26** a concentración variable (0.1-5  $\mu\text{M}$ ). Las muestras se prepararon por dilución de una disolución madre 20  $\mu\text{M}$  de porfirina **26** (2.1 mg, 0.0020 mmol) en  $\text{CHCl}_3$  desacidificado (100 mL). A continuación, se registró el espectro de UV-vis centrado en la región de la banda Soret (máximo a 421 nm) para cada una de las concentraciones. Para la obtención del coeficiente de extinción se representó la absorbancia a 421 nm frente a la concentración (Figura 75). Los datos se ajustaron a una recta usando KaleidaGraph. El valor de  $\epsilon$  se obtuvo dividiendo la pendiente de dicha recta por la longitud de la cubeta ( $l = 1\text{cm}$ ). El experimento se realizó por duplicado.



**Figura 75.** Ajuste obtenido en dos experimentos de UV-vis independientes con la porfirina **26** a concentración variable. A partir de la ecuación de la recta se obtuvo el valor del coeficiente de extinción ( $\epsilon$ ).

Para recalcular las concentraciones de las especies involucradas en los estudios de UV-vis (porfirina **26** o dímero **D25**) se utilizó la media de los dos valores de  $\epsilon$  obtenidos.

#### 4.3.2.2. Medidas con la porfirina **26**

**Preparación de las muestras:** En primer lugar se preparó una disolución madre 2  $\mu\text{M}$  de porfirina **26** (1.05 mg, 1.0  $\mu\text{mol}$ ) en  $\text{CHCl}_3$  desacidificado (500 mL). Por otra parte se preparó una disolución de 10.000 equiv. del ligando correspondiente (**L1a-c**, **L2** o **L5**) (50 mL) usando la disolución 2  $\mu\text{M}$  de porfirina **26**. El resto de las muestras (1 mL) se prepararon a partir de la disolución de 10.000 equiv., por dilución de ésta con la disolución 2  $\mu\text{M}$  de porfirina **26**. Finalmente, las muestras se agitaron en viales cerrados durante 12 h.

**Obtención de  $K_m(\text{Ln})$ :** A partir de los espectros de UV-vis registrados para las muestras anteriores (Figura 3.1) se obtuvieron los datos de absorbancia a 431 nm frente a la concentración de ligando. La concentración inicial de porfirina **26** se recalculó utilizando el coeficiente de extinción. De este modo, se pudo obtener el número real de equivalentes de ligando presentes en cada muestra. Los valores de la constante de asociación (Tabla 3.1) se obtuvieron a partir de los datos de absorbancia a 431 nm frente a la concentración de ligando recalculados, usando el programa DynaFit Biochem.<sup>281,282</sup> Para los cálculos se consideró un modelo de coordinación 1:1 entre la porfirina **26** y el ligando correspondiente ( $26 + \text{Ln} \rightleftharpoons 26.\text{Ln}$ ).

#### 4.3.2.3. Medidas con el dímero **D25**

**Preparación de las muestras:** En primer lugar se preparó una disolución madre de dímero **D25** en  $\text{CHCl}_3$  desacidificado (500 mL). La concentración inicial de dímero se seleccionó teniendo en cuenta la afinidad del ligando: para **L1a-c**, **L2** y **L3**, [**D25**]  $\sim 1 \mu\text{M}$ ; para **L6**, **L7** y **L8**, [**D25**]  $\sim 0.2 \mu\text{M}$  y para **L4** y **L5**, [**D25**]  $\sim 0.06 \mu\text{M}$ . Por otra parte se preparó una disolución madre del ligando correspondiente (50 mL) usando la disolución 2  $\mu\text{M}$  de porfirina **26**. El número de equivalentes de la disolución madre también se seleccionó teniendo en cuenta la afinidad del ligando: para **L1a-c**, **L2** y **L3**, 10.000 equiv.; para **L6**, **L7** y **L8**, [**D25**] 5000 equiv. y para **L4** y **L5**, [**D25**] 1000 equiv. El resto de las muestras (1 mL) se prepararon a partir de la disolución madre, por dilución con la disolución 2  $\mu\text{M}$  de porfirina **26**. Finalmente, las muestras se agitaron en viales cerrados durante 12 h.

**Obtención de  $K_D(\text{Ln})$  y  $K(\text{Ln} \cdot \text{D25})$ :** A partir de los espectros de UV-vis registrados para las muestras anteriores (Figura 3.2) se obtuvieron los datos de absorbancia a 431 nm frente a la concentración de ligando. La concentración inicial de dímero **D25** se recalculó utilizando el coeficiente de extinción. De este modo, se pudo obtener el número real de equivalentes de ligando presentes en cada muestra. Los valores de la constante de asociación (Tabla 3.1) se obtuvieron a partir de los datos de absorbancia a 431 nm frente a la concentración de ligando recalculados, usando el programa DynaFit Biochem.<sup>281,282</sup> Para los cálculos de  $K_D(\text{Ln})$  se

<sup>281</sup> DynaFit, version 4.07, BioKin Ltd.

<sup>282</sup> (a) Kuzmič, P. *Anal. Biochem.* **1996**, 237, 260-273; (b) Kuzmič, P. *Methods Enzymol.* **2009**, 467, 247-280.

<sup>281</sup> DynaFit, version 4.07, BioKin Ltd.

consideró un modelo  $D25 + 2 Ln \rightleftharpoons D25.2Ln$ . Mientras que para  $K(Ln \subset D25)$  se utilizó un modelo  $D25 + 2 L2 \rightleftharpoons D25.2L2$ .

#### 4.3.2.4. Estudios cinéticos

Sobre una disolución de dímero **D25** a una concentración 2  $\mu$ M, se añadieron dos equivalentes de ligando (**L3** o **L5**). La mezcla se agito durante 30 segundos y, al cabo de ese tiempo, se siguió la aparición de la banda a 431 nm durante 12 horas, tomando medidas en intervalos de 30 segundos (Figura 3.3).

#### 4.3.3. Estudios de encapsulación por RMN

El  $CDCl_3$  utilizado en los estudios de RMN se hizo pasar a través de alúmina básica para eliminar las trazas de HCl.

**L5 $\subset$ D25**: En un tubo de RMN, se disolvió una mezcla de dímero **D25** (2.1 mg, 0.000566 mmol) y **L5** (0.16 mg, 0.000566 mmol) en 10%  $DMSO-d_6/CDCl_3$  (0.3 mL). Se añadió TMS (0.038  $\mu$ L, 0.000282 mmol) como referencia interna.  $^1H$ -NMR (10%  $DMSO-d_6/CDCl_3$ , 500 MHz,  $\delta$ ): 10.67 (s, 4H, NH acetilhidrazona), 8.74 (dobletes solapados, 8H, CH pirrol), 8.66 (d,  $J = 4.6$  Hz, 4H, CH pirrol), 8.59 (d,  $J = 4.6$  Hz, 4H, CH pirrol), 8.44 (d,  $J = 7.3$  Hz, 4H, Ar), 8.42 (s, 4H, -N=CH- acetilhidrazona), 8.21 (s, 4H, Ar), 8.17 (d,  $J = 8.7$  Hz, 4H,  $NH_{Leu}$ ), 7.94 (d,  $J = 8.7$  Hz, 4H,  $NH_{Leu}$ ), 7.75 (t,  $J = 7.5$  Hz, 4H, Ar), 7.70 (d,  $J = 6.9$  Hz, 4H, Ar), 7.20 (s, 4H, Ar mesitilo), 7.14 (s, 4H, Ar mesitilo), 6.36 (s, 4H, Ar **L5**), 5.55 (d,  $J = 5.3$  Hz, 4H, Py *meta* **L5**), 4.94 (m, 4H,  $H\alpha$  Leu), 4.66-4.53 (m, 8H,  $H\beta$  hidrazona +  $H\gamma$  Acp), 4.44 (m, 4H,  $H\alpha$  Leu), 4.35 (m, 4H,  $H\gamma$  Acp), 4.07 (d,  $J = 19.2$  Hz, 4H,  $H\beta$  hidrazona), 2.74 (4H,  $H\alpha$  Acp), 2.59 (12H, ArMe *para* mesitilo), 2.57 (4H,  $H\alpha$  Acp), 2.55 (s, 12H, NMe), 2.51 (4H, Py *orto* **L5**), 1.87 (s, 12H, ArMe *orto* mesitilo), 1.72 (s, 12H, ArMe *orto* mesitilo), 2.09-1.14 (m, 72H,  $CH_2$  Acp +  $CH_2$  Leu + CH Leu), 1.14-0.68 ppm (m, 48H,  $CH_3$  Leu). (Figura 3.5d).

**L3 $\subset$ D25**: En un tubo de RMN, se disolvió una mezcla de dímero **D25** (2.2 mg, 0.000593 mmol) y **L3** (0.21 mg, 0.000593 mmol) en 10%  $DMSO-d_6/CDCl_3$  (0.3 mL). Se añadió TMS (0.040  $\mu$ L, 0.000296 mmol) como referencia interna.  $^1H$ -NMR (10%  $DMSO-d_6/CDCl_3$ , 500 MHz,  $\delta$ ): 11.04 y 11.02 (s, 4H, NH hidrazona), 8.81-8-64 (m, 16H, CH pirrol), 8.46 (br d, 1.33H, NH), 8.35 (m, 4H, Ar), 8.23 (br, 4H, Ar), 8.14 (br d, 2.67H, NH), 7.91 (br d, 2.67H, NH), 7.79 (br d, 1.33H, NH), 7.77-7.64 (m, 8H, Ar), 7.31-7.12 (m, 8H, Ar mesitilo), 7.05-6.86 (m, 8H, Pireno **L3**), 6.12 (br, 1.33H, Py *meta* **L3**), 6.02 (br, 2.67H, Py *meta* **L3**), 5.13 (m, 1.33H,  $H\alpha$  Leu), 4.98-4.63 (m, 9.34H,  $H\gamma$  Acp +  $H\alpha$  Leu +  $H\beta$  hidrazona), 4.41 (m, 2.67H,  $H\gamma$  Acp), 4.34 (m, 2.67H,  $H\alpha$  Leu), 4.30 (d,  $J = 19.9$  Hz, 1.33H,  $H\beta$  hidrazona), 4.24 (m, 1.33H,  $H\alpha$  Leu), 4.12 (d,  $J = 19.9$  Hz, 2.67H,  $H\beta$  hidrazona), 3.99 (m, 1.33H,  $H\gamma$  Acp), 3.92 (d,  $J = 19.9$  Hz, 1.33H,  $H\beta$  hidrazona), 2.99 (br s, 4H, Py *orto* **L3**), 2.72 (s, 4H, NMe), 2.61 (s, 4H, ArMe *para* mesitilo), 2.58

<sup>282</sup> (a) Kuzmič, P. *Anal. Biochem.* **1996**, 237, 260-273; (b) Kuzmič, P. *Methods Enzymol.* **2009**, 467, 247-280.

(s, 8H, ArMe *para* mesitilo), 2.28 (s, 8H, NMe), 2.10-1.10 [m, 104H, 1.99 (s, 4H, ArMe *orto* mesitilo) + 1.93 (s, 8H, ArMe *orto* mesitilo) + 1.85 (s, 4H, ArMe *orto* mesitilo) + 1.72 (s, 8H, ArMe *orto* mesitilo) + H $\alpha$  Acp + CH<sub>2</sub> Acp + CH<sub>2</sub> Leu + CH Leu], 1.10-0.56 ppm (m, 48H, CH<sub>3</sub> Leu). (Figura 3.5b).

#### 4.3.4. Estudios de dicroísmo circular (DC)

Las disoluciones para las medidas DC se prepararon usando CHCl<sub>3</sub> de grado HPLC como disolvente, que se hizo pasar a través de alúmina básica para eliminar las trazas de HCl.

**Preparación de las muestras:** En primer lugar se preparó una disolución 100  $\mu$ M de dímero **D25** (0.37 mg, 0.1  $\mu$ mol) en CHCl<sub>3</sub> desacidificado (1 mL). Por otra parte se preparó una disolución de ligando [**L3** (3.6 mg, 0.010 mmol) o **L5** (2.8 mg, 0.010 mmol)] en CHCl<sub>3</sub> desacidificado (1 mL). A continuación, se añadió 1 equiv. de ligando (10  $\mu$ L) sobre la disolución  $\mu$ M de dímero **D25**.

Las disoluciones 200  $\mu$ M de **L3** y **L5** para la obtención de los espectros de UV-vis se prepararon por dilución de las disoluciones de ligando del experimento anterior (20  $\mu$ L) con CHCl<sub>3</sub> desacidificado hasta un volumen total de 1 mL.

#### 4.3.5. Liberación del ligando

Las disoluciones para los estudios liberación del ligando se prepararon usando CHCl<sub>3</sub> de grado HPLC como disolvente, que se hizo pasar a través de alúmina básica para eliminar las trazas de HCl.

**Adición de MeOH:** En primer lugar se preparó una disolución 0.5  $\mu$ M de complejo **L5** $\subset$ **D25** (1.0 mg, 0.25  $\mu$ mol) en CHCl<sub>3</sub> desacidificado (500 mL). A continuación, se tomó 1 mL de la disolución anterior (0.5  $\times 10^{-3}$   $\mu$ mol) y se añadieron cantidades crecientes de MeOH de grado HPLC hasta una concentración final de **D25** 0.15  $\mu$ M (2.3 mL). Después de cada adición se registró el espectro de UV-vis.

**Adición de CP26:** En primer lugar se preparó una disolución 1.0  $\mu$ M de complejo **L5** $\subset$ **D25** (1.0 mg, 0.25  $\mu$ mol) en CHCl<sub>3</sub> desacidificado (250 mL). Por otra parte, se preparó una disolución de **CP26** (1 mg, 0.87  $\mu$ mol) en CHCl<sub>3</sub> desacidificado (2 mL). A continuación, se tomó 1 mL de la disolución 1.0  $\mu$ M de complejo **L5** $\subset$ **D25** (0.5  $\times 10^{-3}$   $\mu$ mol) y se añadieron cantidades crecientes de disolución de **CP26**, hasta un total de 600 equivalentes (690  $\mu$ L). Después de cada adición se registró el espectro de UV-vis (Figura 3.11).

**Adición de O-becilhidroxilamina:** En primer lugar se preparó una disolución 1.0 mM de O-becilhidroxilamina (1.2 mg, 0.00974 mmol) en 10% de DMSO/CHCl<sub>3</sub> (10 mL). Por otra parte, se preparó una disolución 0.31  $\mu$ M de **L5** $\subset$ **D25** (1.2  $\mu$ g, 0.00031  $\mu$ mol) en disolución 1.0 mM de O-becilhidroxilamina (1 mL). La mezcla se agitó durante 30 segundos y, a continuación, se

siguió la desaparición de la banda a 431 nm durante 20 horas, tomando medidas en intervalos de 30 segundos (Figura 3.14a).

#### 4.3.6. Control sobre el equilibrio

El  $\text{CDCl}_3$  utilizado en los estudios de RMN se hizo pasar a través de alúmina básica para eliminar las trazas de HCl.

**Formación del heterodímero D(25-26):** En un tubo de RMN, se disolvió una mezcla de ciclopéptido *c*-{[D-Phe-L-MeN- $\gamma$ -Ach-]<sub>4</sub>} (**CP26**) (0.63 mg, 0.55  $\mu\text{mol}$ ) y **CP25** (1.0 mg, 0.55  $\mu\text{mol}$ ) en 10%  $\text{DMSO-}d_6/\text{CDCl}_3$  (500  $\mu\text{L}$ ) y, a continuación, se registró el espectro de  $^1\text{H}$ -RMN (Figura 3.12).

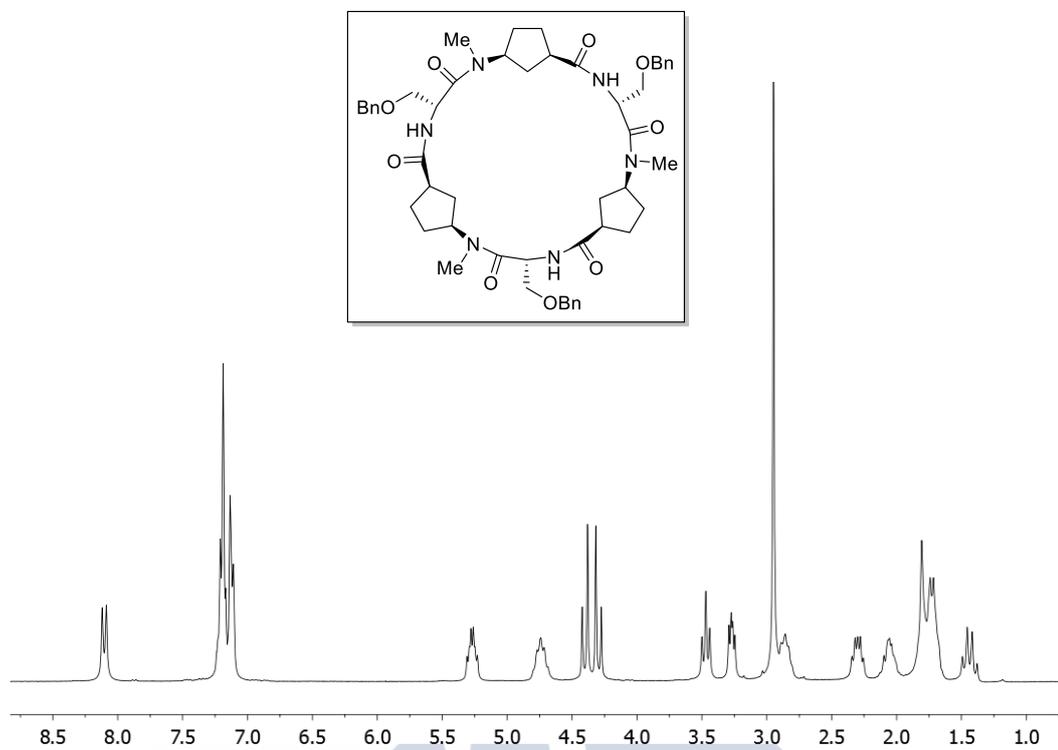
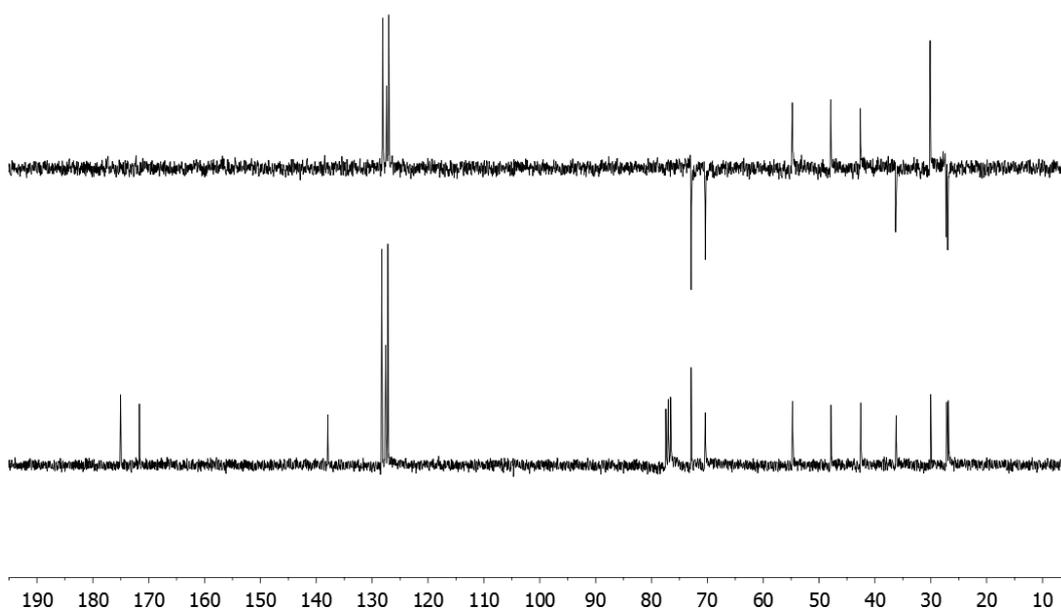
**Adición de L5:** En un tubo de RMN, sobre la disolución de heterodímero **D(25-26)** anterior se añadió 1 equiv. de ligando **L5** (0.15 mg, 0.55  $\mu\text{mol}$ ). La mezcla se agitó y, a continuación, se registró el espectro de  $^1\text{H}$ -RMN (Figura 3.13).



## **Anexo I: Espectros de RMN de los ciclopéptidos**

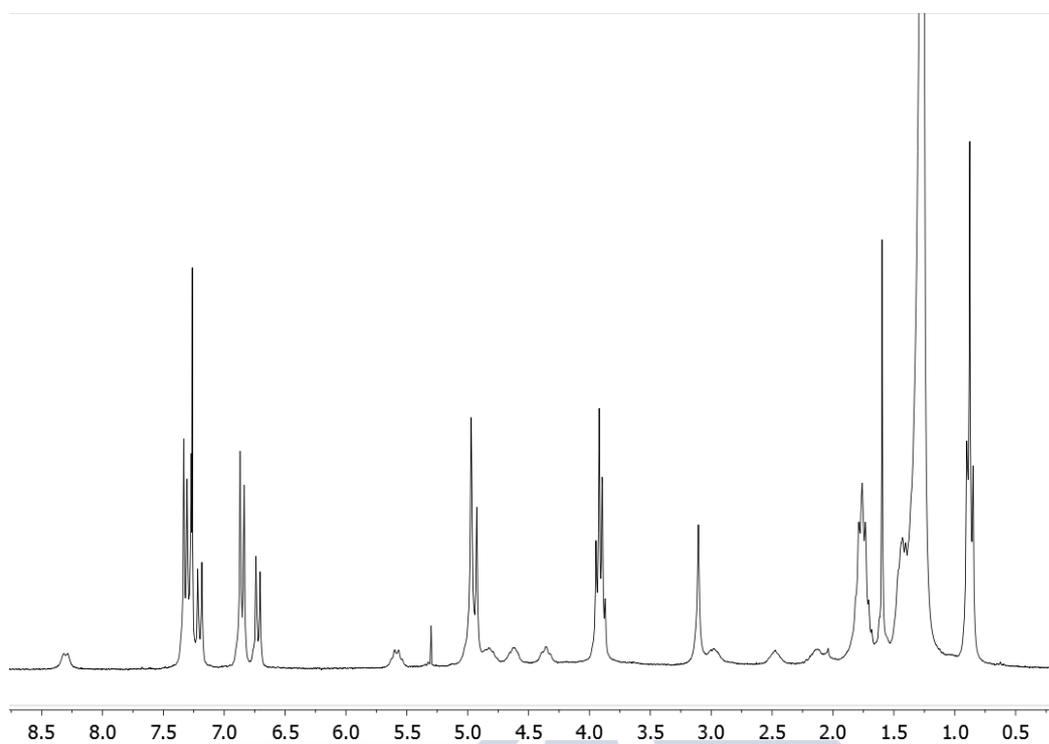




**c-[[D-Ser(Bn)-L-MeN-γ-Acp-]₃} (CP1)**<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 298K, 300 MHz)<sup>13</sup>C-RMN y DEPT (CDCl<sub>3</sub>, 298K, 75.4 MHz)

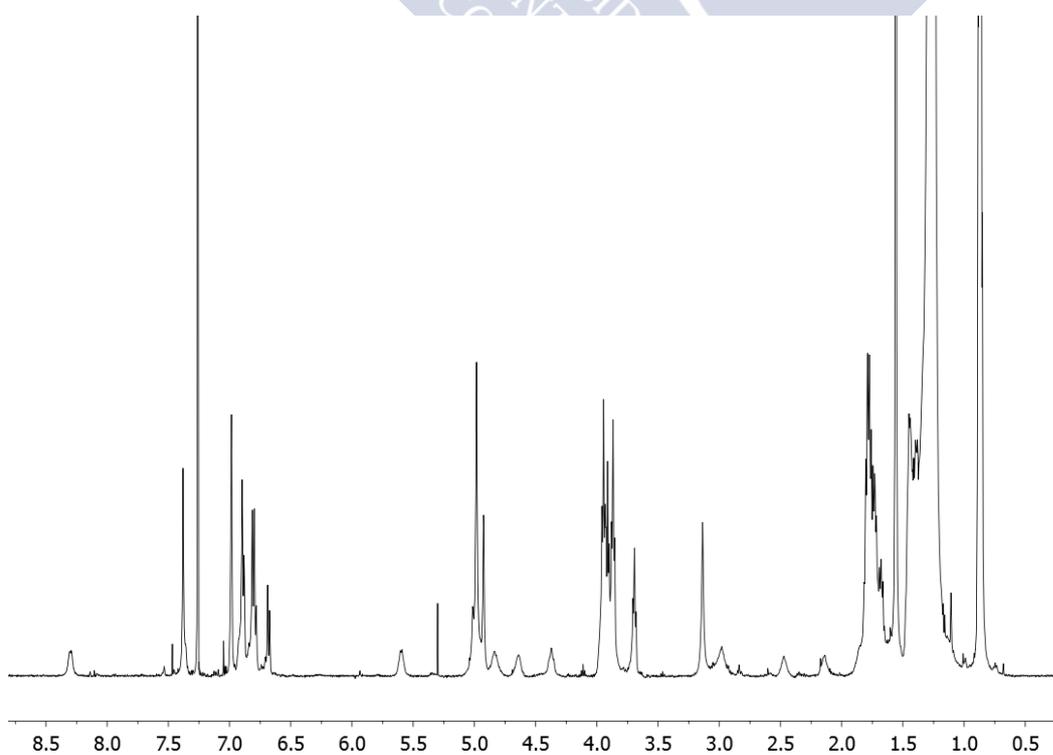
***c*-{[D-Ser(Dn1)-L-MeN-γ-Acp-]<sub>3</sub>} (CP3)**

<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 298K, 250 MHz)



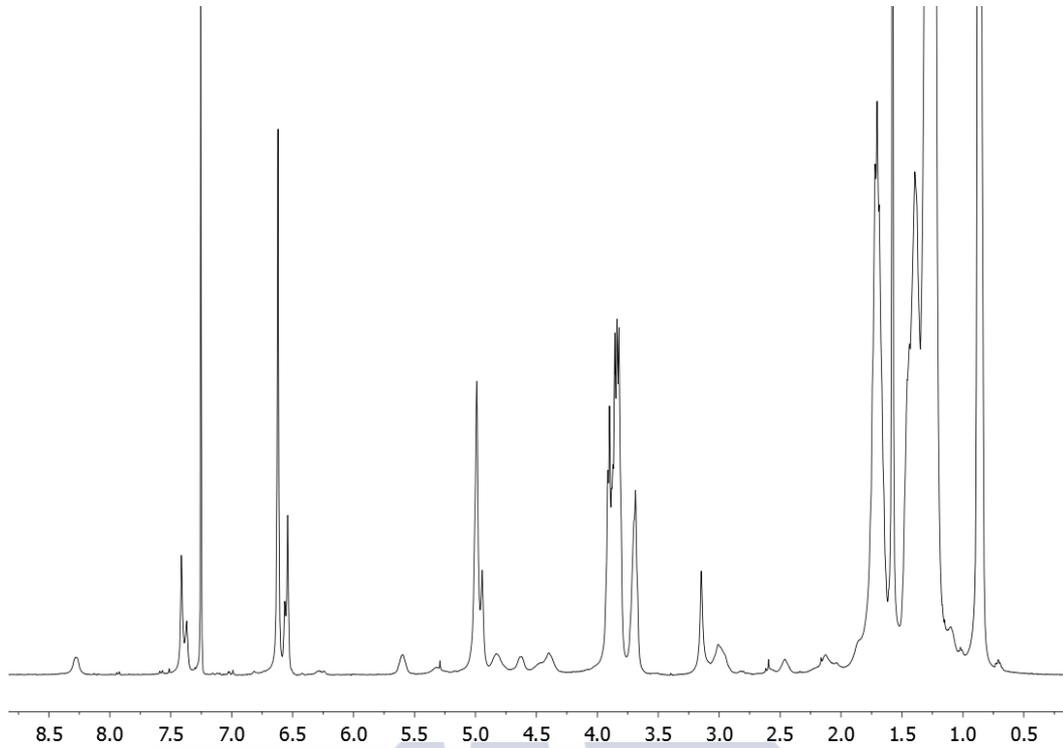
***c*-{[D-Ser(Dn2)-L-MeN-γ-Acp-]<sub>3</sub>} (CP4)**

<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 298K, 500 MHz)



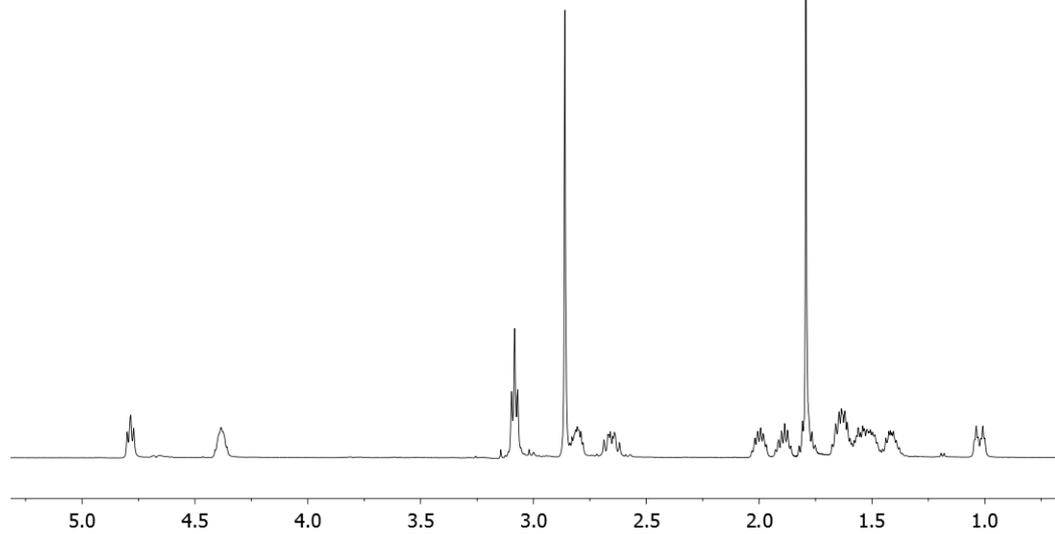
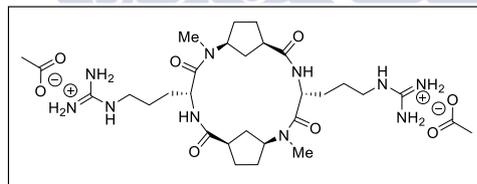
***c*-[*D*-Ser(*Dn*3)-*L*-<sup>Me</sup>N- $\gamma$ -Acp-]<sub>3</sub> (CP5)**

<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 298K, 400 MHz)

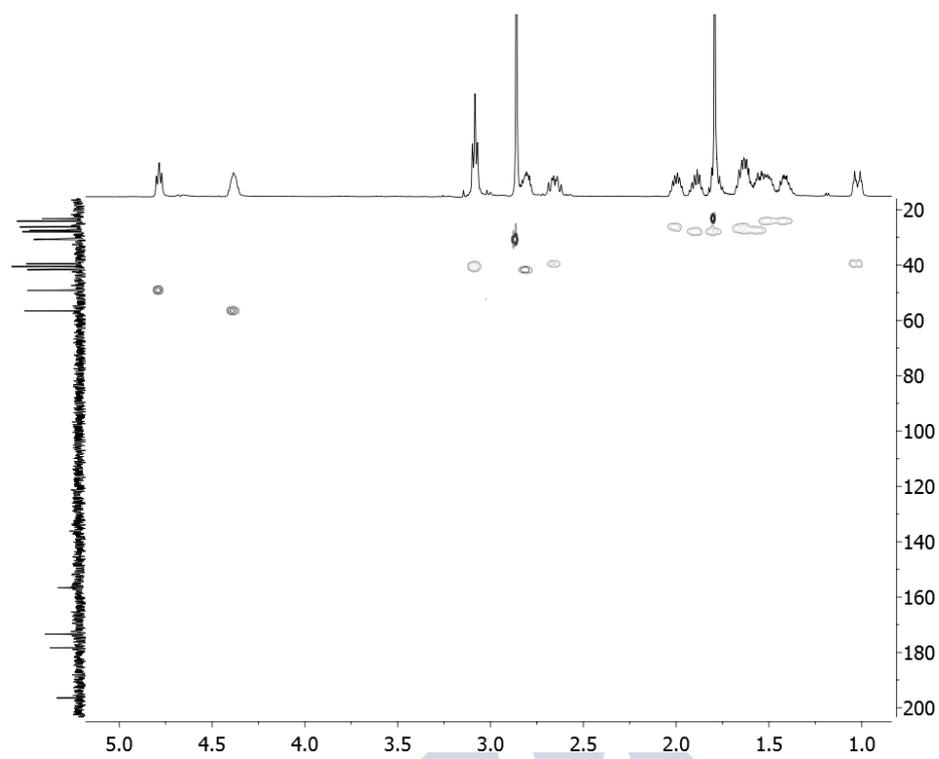


***c*-[*D*-Arg-*L*-<sup>Me</sup>N- $\gamma$ -Acp-]<sub>2</sub> (CP7.2AcO)**

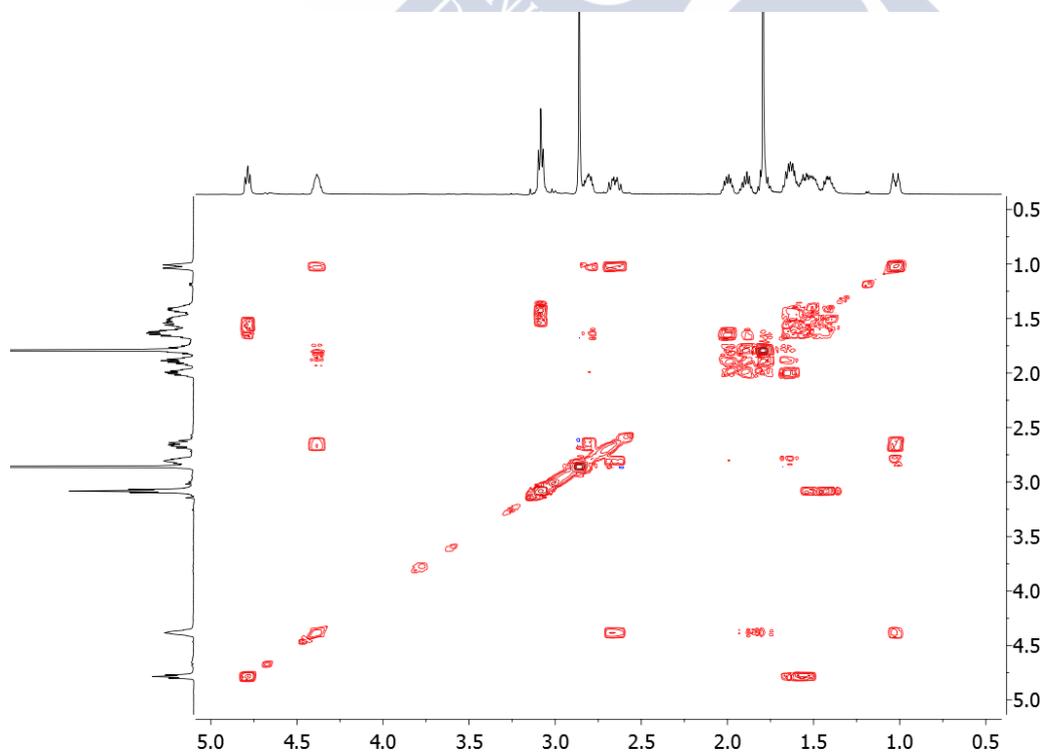
<sup>1</sup>H-RMN (D<sub>2</sub>O, 298K, 500 MHz)



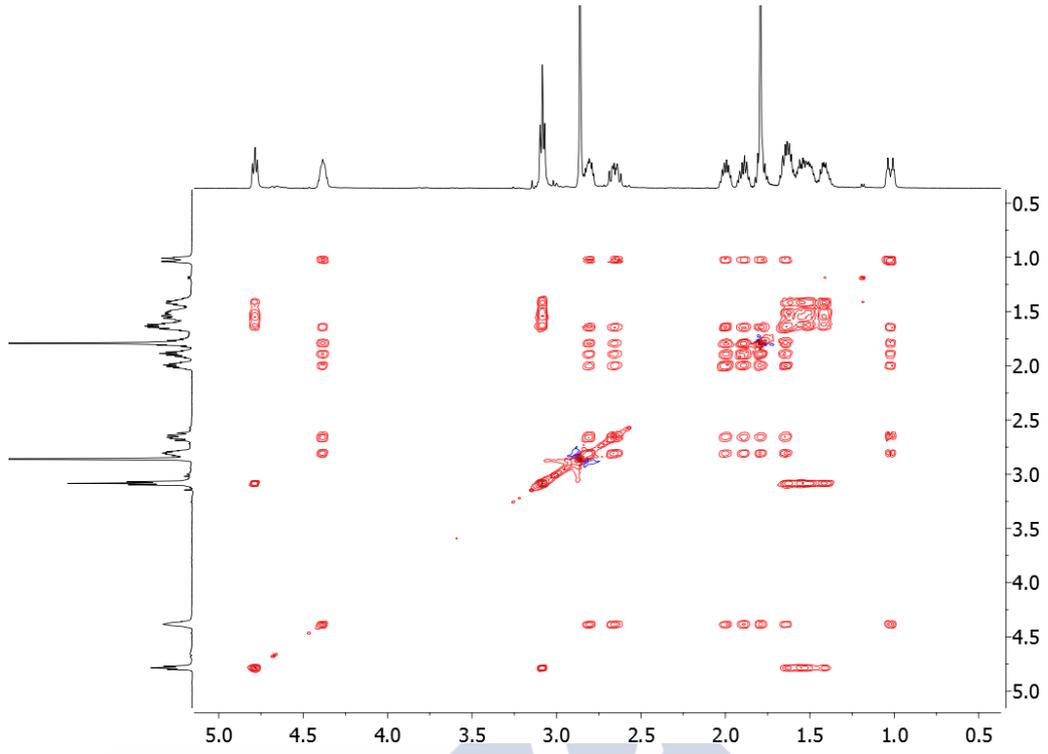
HSQC ( $D_2O$ , 298K, 500 MHz)



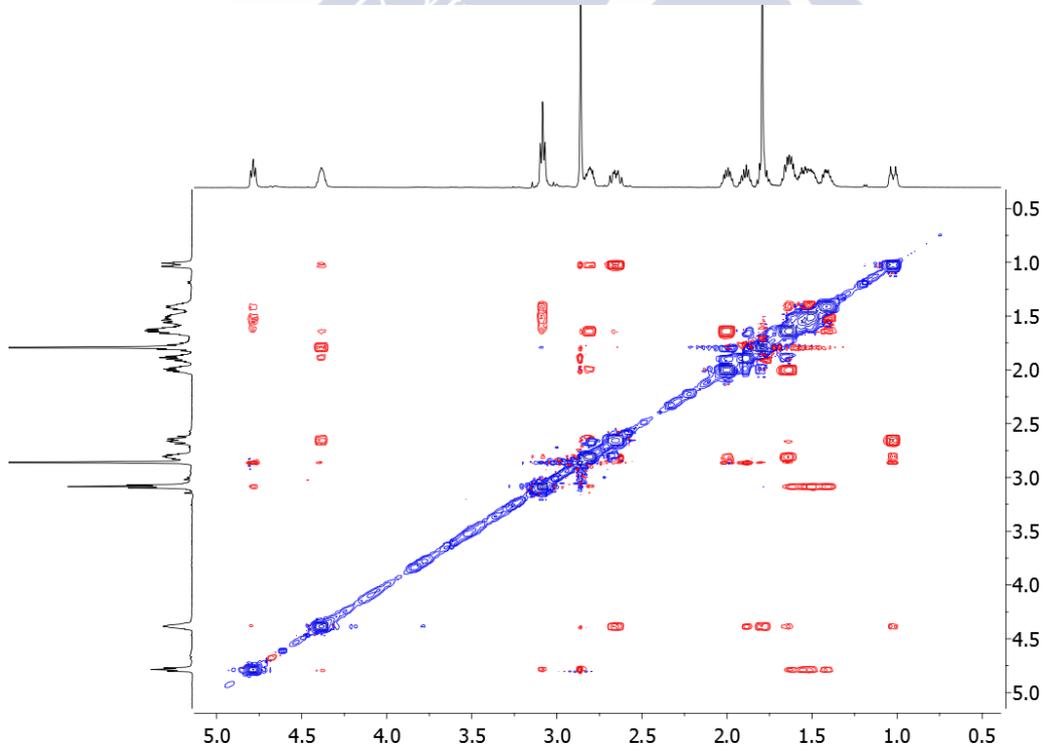
COSY ( $D_2O$ , 298K, 500 MHz)



TOCSY (D<sub>2</sub>O, 298K, 500 MHz)

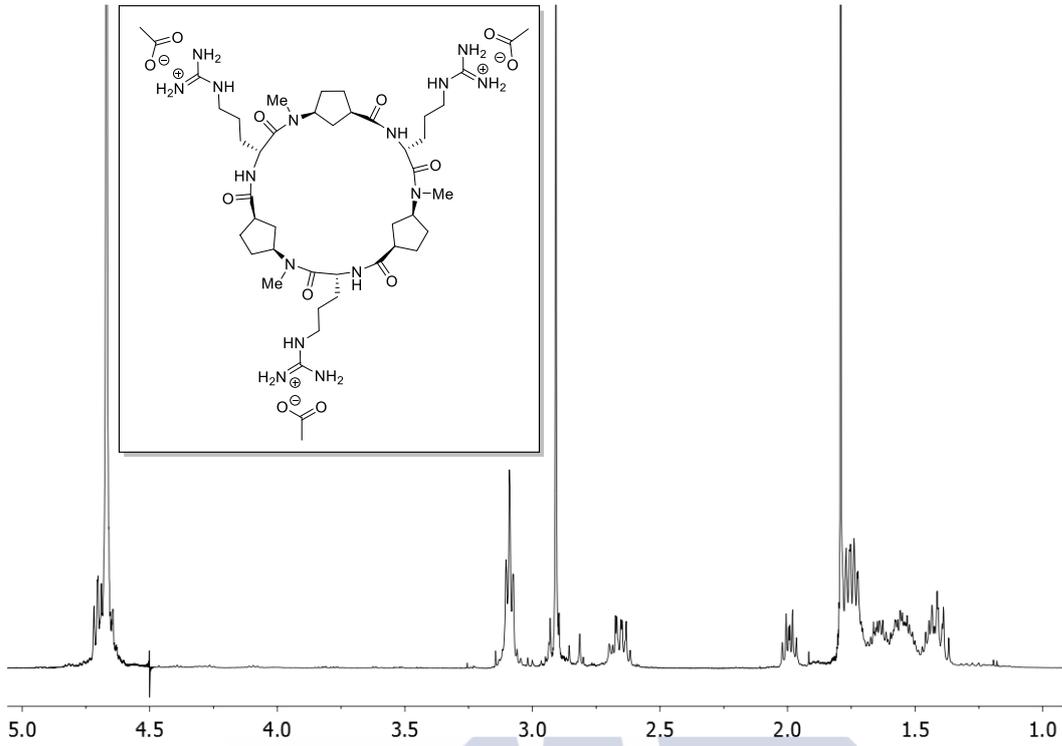


NOESY (D<sub>2</sub>O, 298K, 500 MHz)

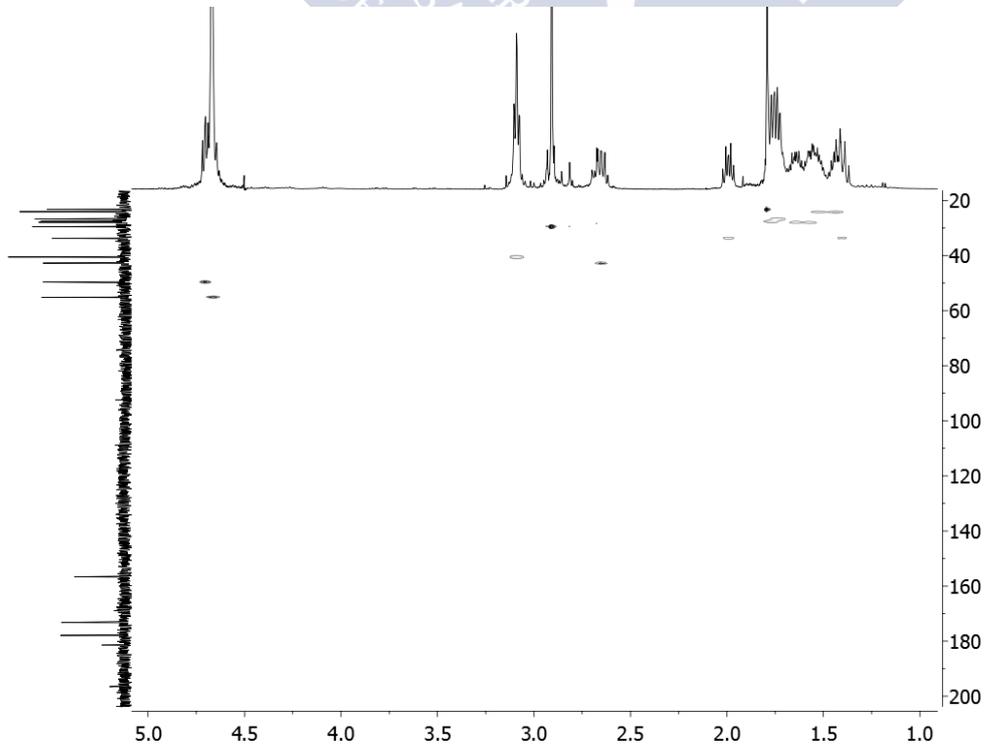


*c*-[(*D*-Arg-*L*-MeN- $\gamma$ -Acp-)<sub>3</sub>] (CP9.3AcO)

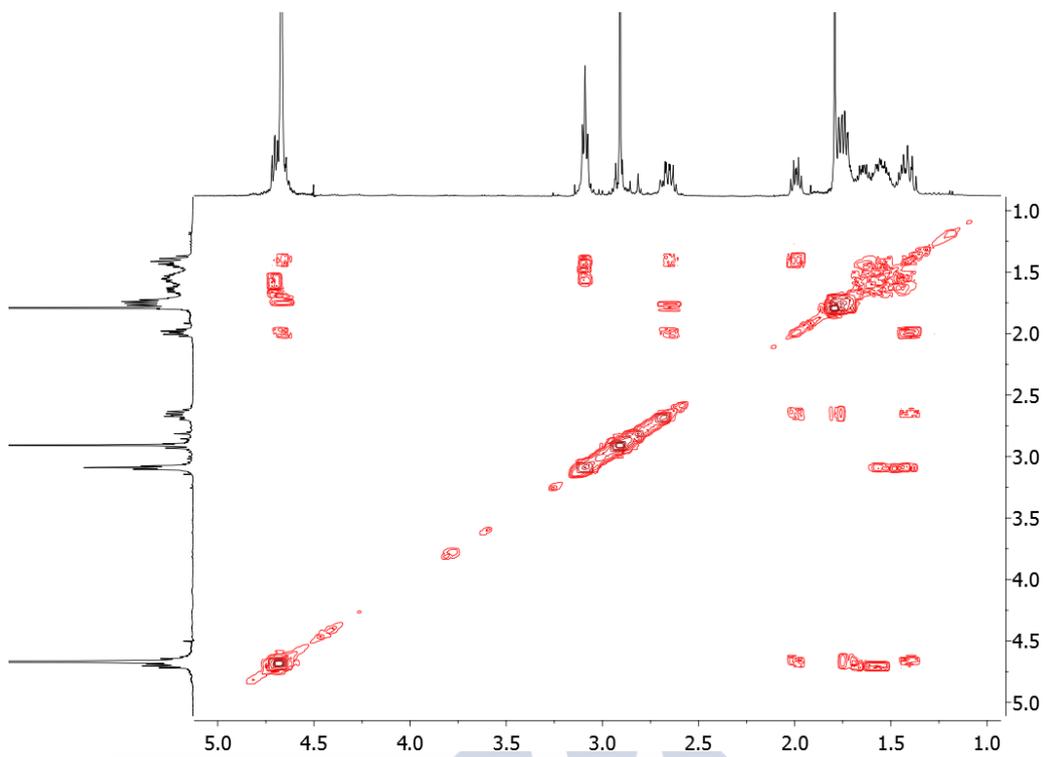
<sup>1</sup>H-RMN (D<sub>2</sub>O, 298K, 500 MHz)



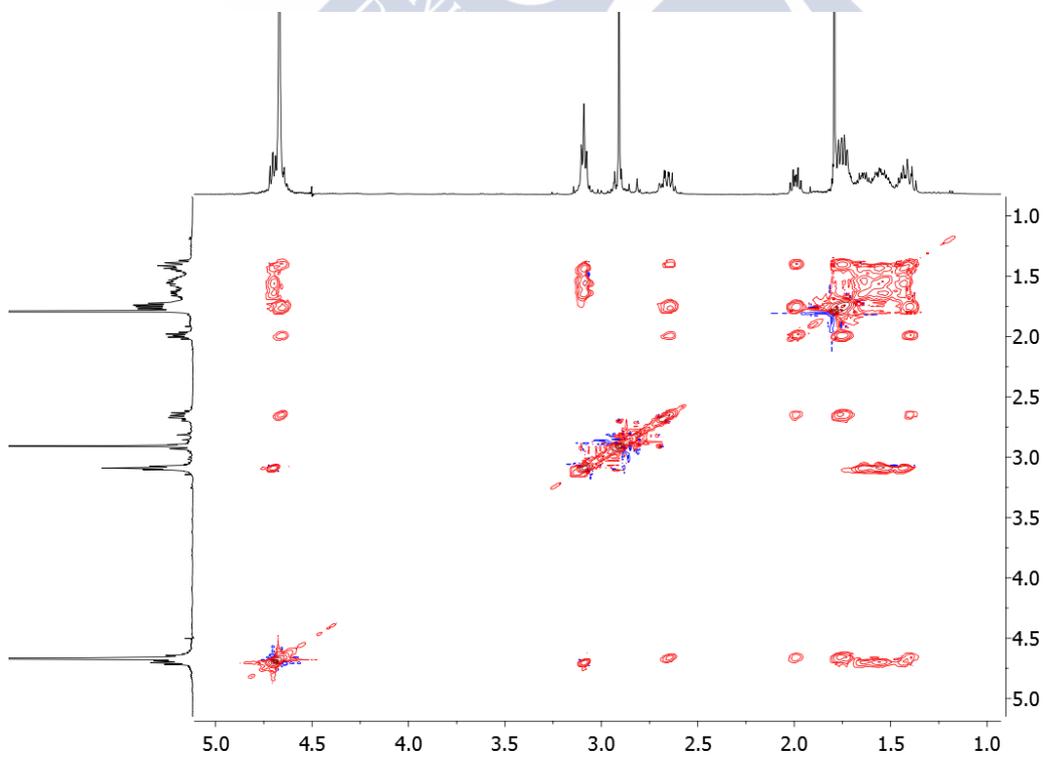
HSQC (D<sub>2</sub>O, 298K, 500 MHz)



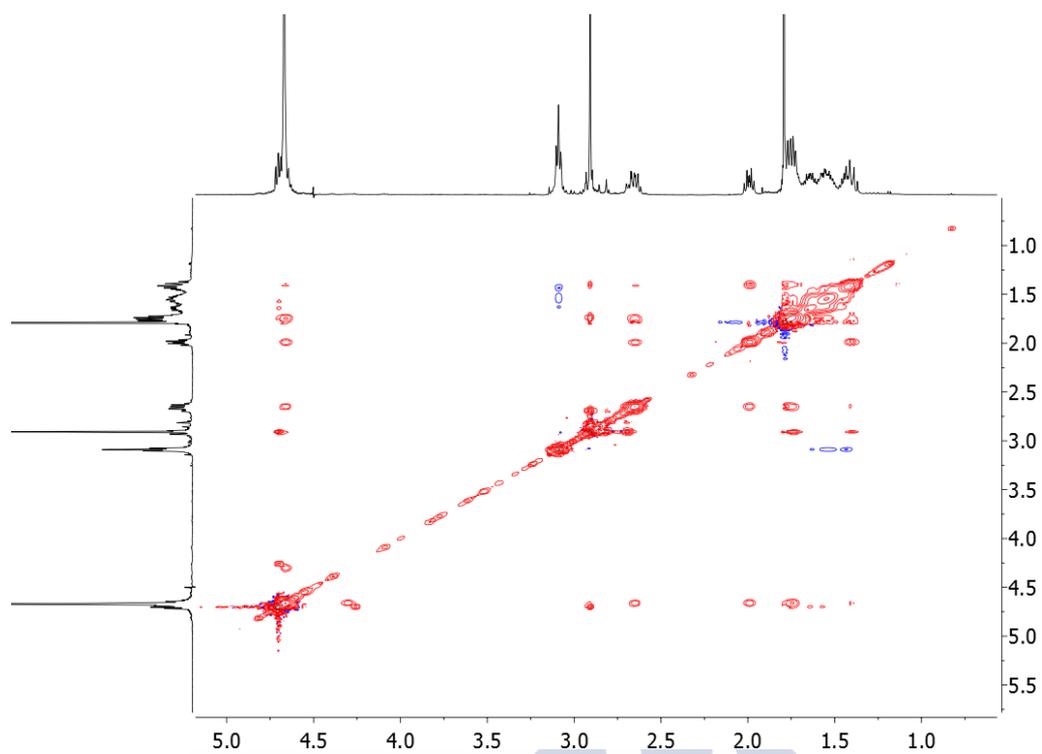
COSY (D<sub>2</sub>O, 298K, 500 MHz)



TOCSY (D<sub>2</sub>O, 298K, 500 MHz)

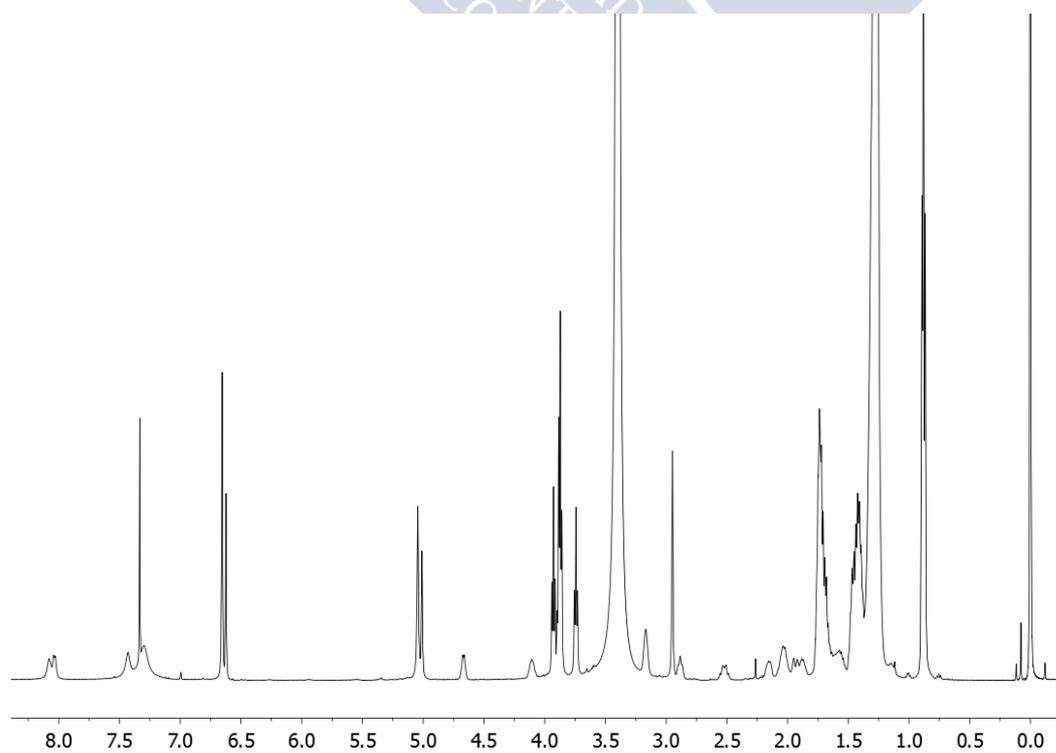


NOESY (D<sub>2</sub>O, 298K, 500 MHz)

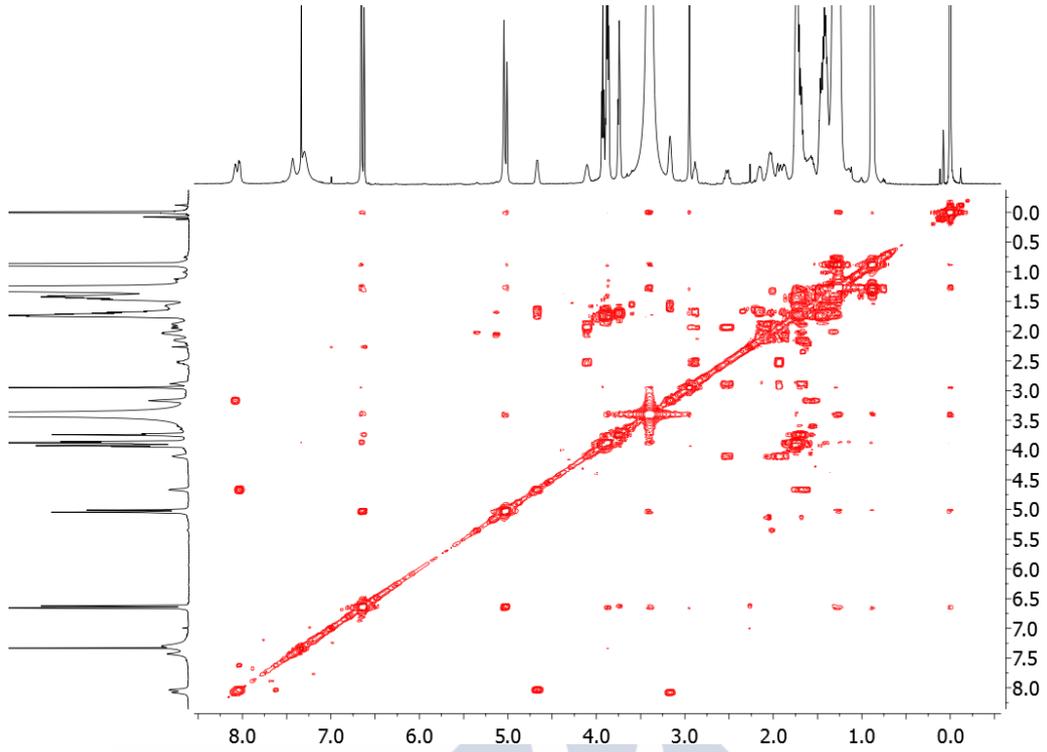


**CP7-Dn3**

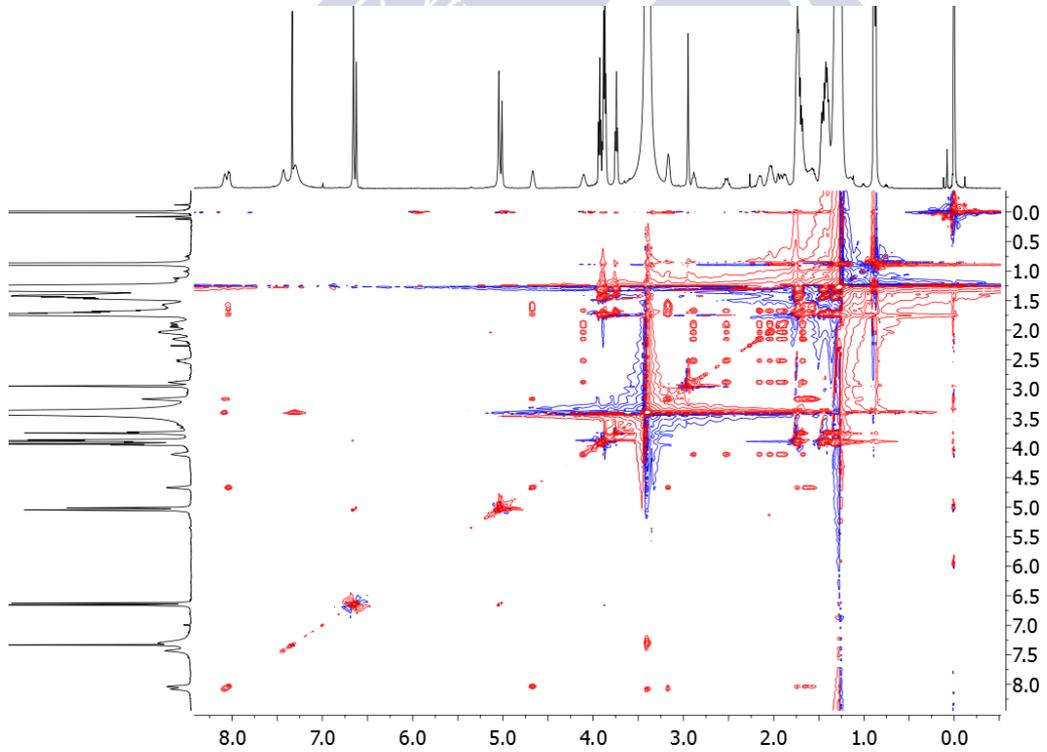
<sup>1</sup>H-RMN (10% MeOH-*d*<sub>3</sub>/CDCl<sub>3</sub>, 298K, 500 MHz)



COSY (10% MeOH- $d_3$ /CDCl $_3$ , 298K, 500 MHz)

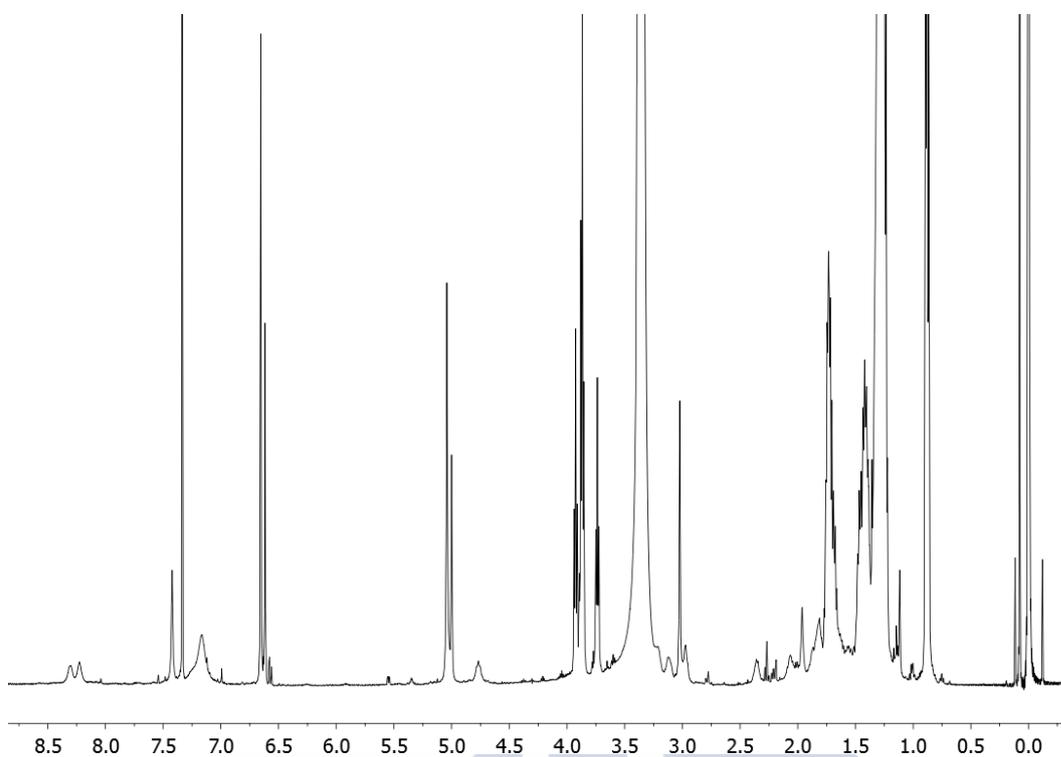


TOCSY (10% MeOH- $d_3$ /CDCl $_3$ , 298K, 500 MHz)

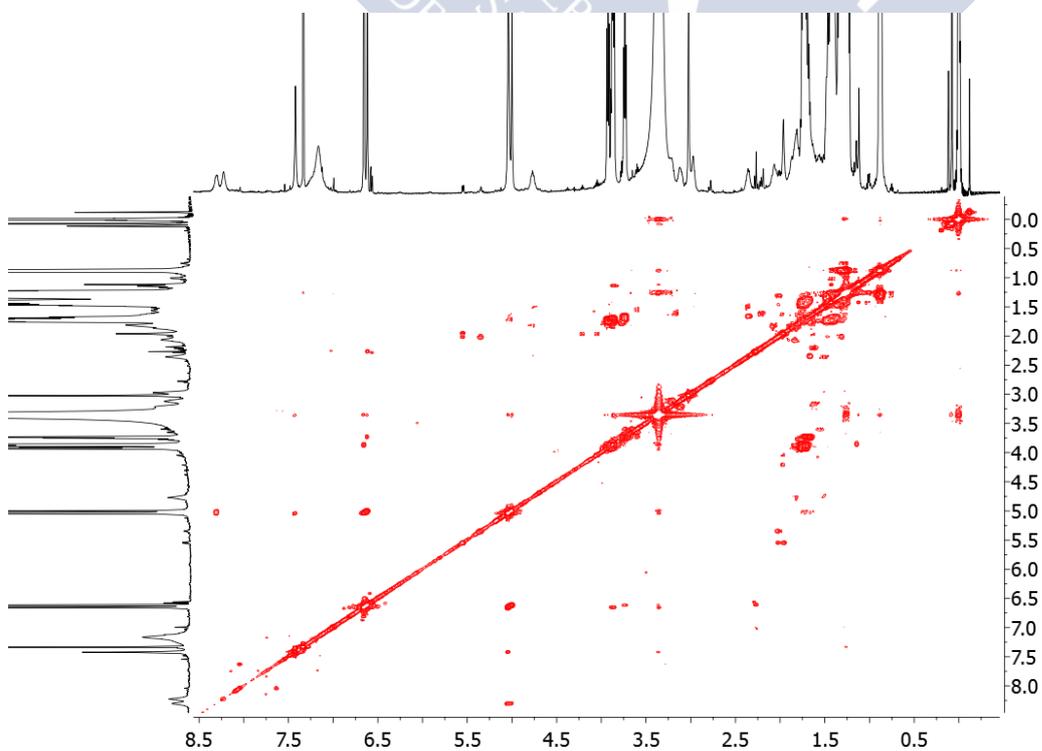


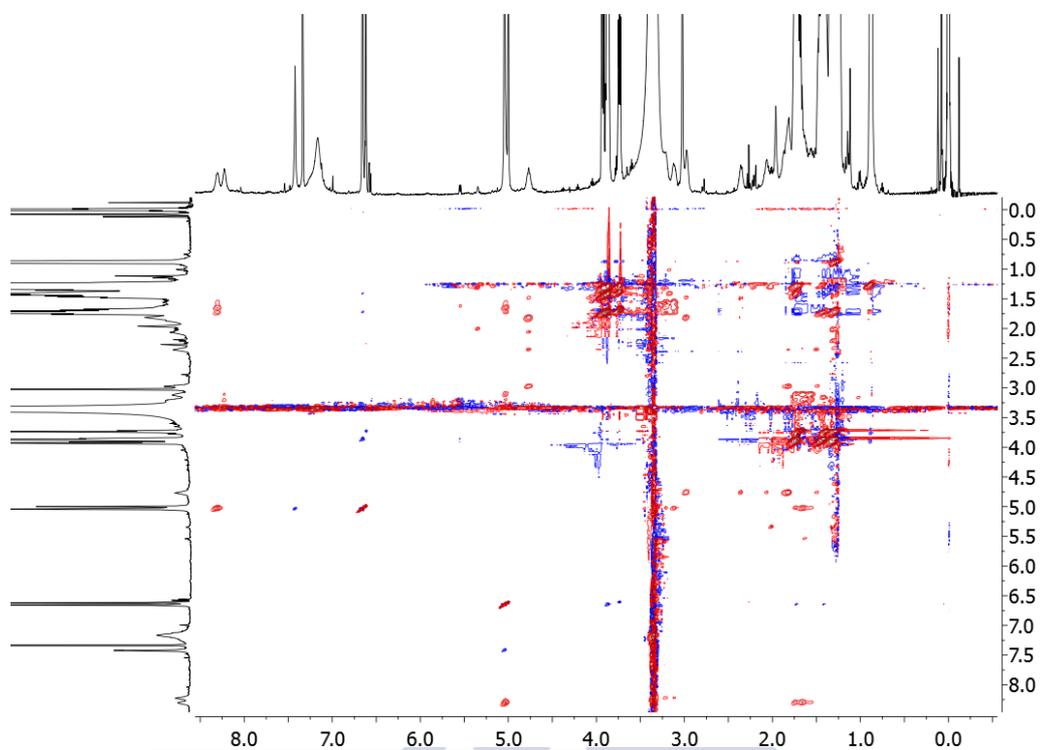
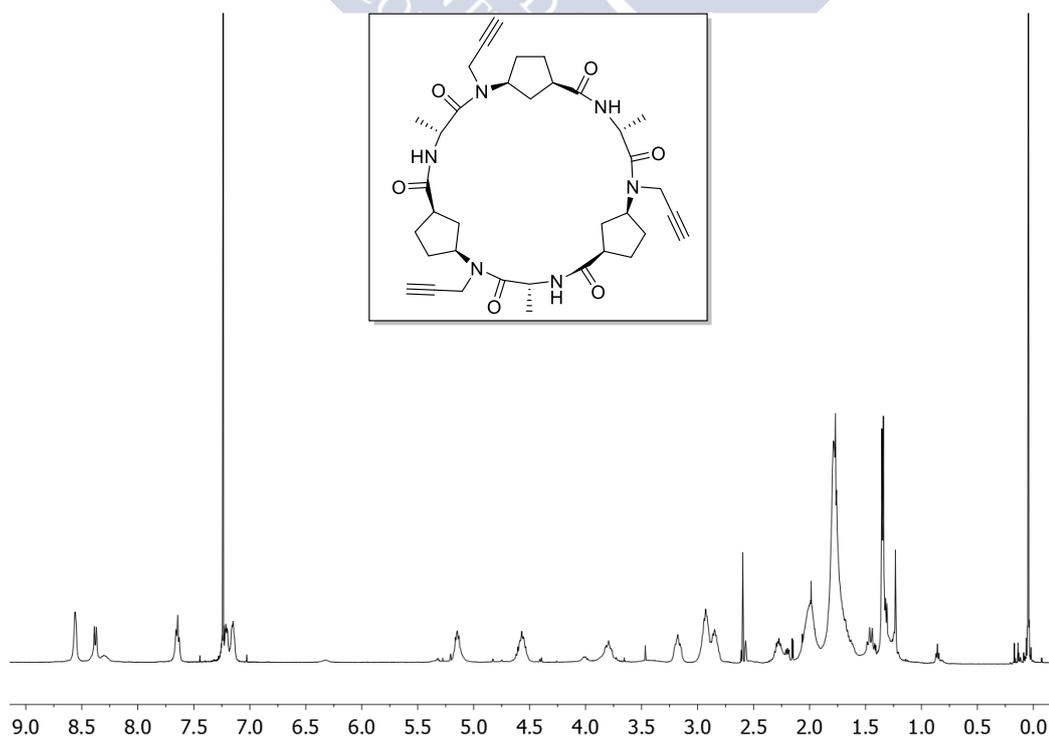
**CP9-Dn3**

$^1\text{H}$ -RMN (10% MeOH- $d_3$ /CDCl $_3$ , 298K, 500 MHz)

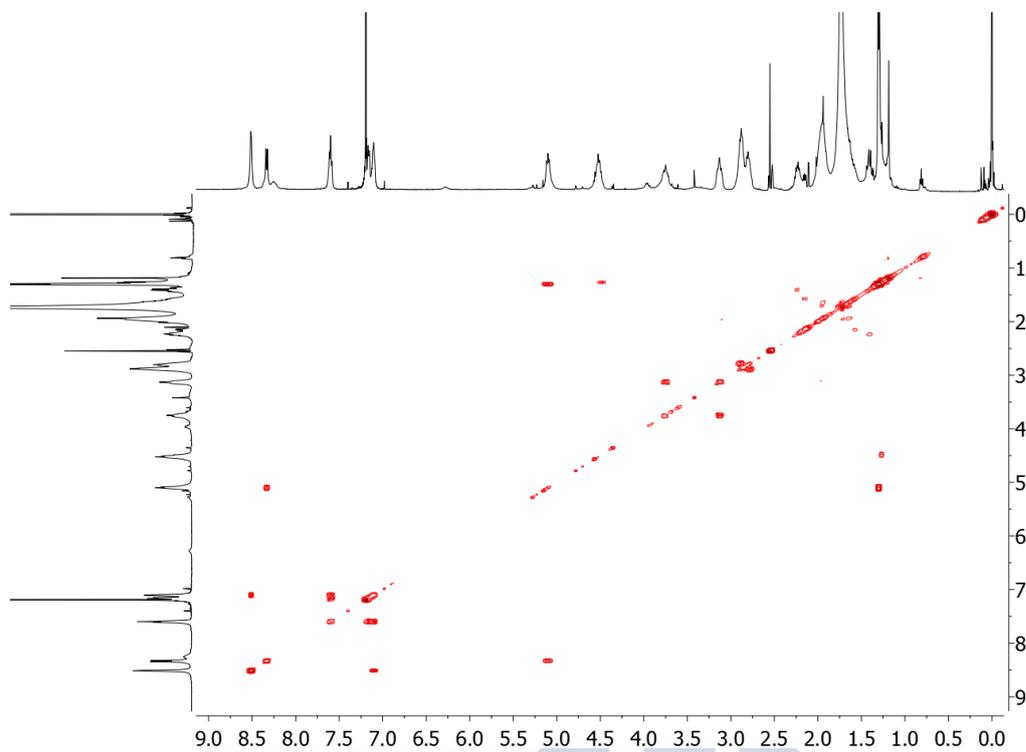


COSY (10% MeOH- $d_3$ /CDCl $_3$ , 298K, 500 MHz)

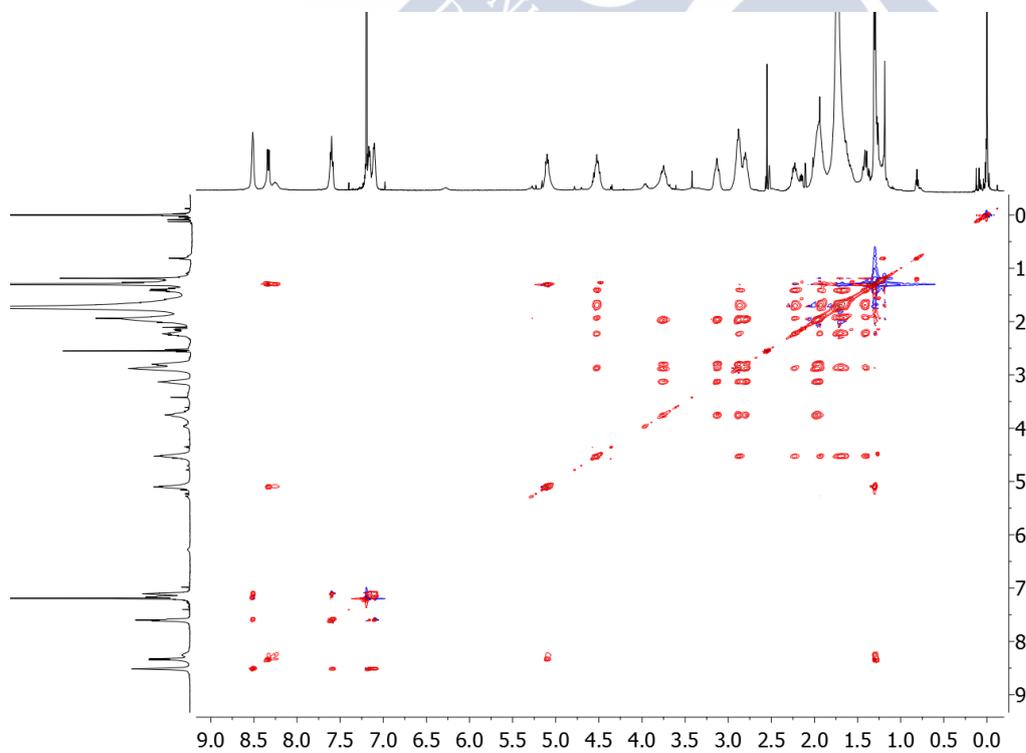


TOCSY (10% MeOH- $d_3$ /CDCl $_3$ , 298K, 500 MHz)***c***-[(*D*-Ala-*L*-propargyl<sup>1</sup>N- $\gamma$ -Acp)- $_3$ ] (CP10) $^1\text{H}$ -RMN (CDCl $_3$ , 298K, 500 MHz)

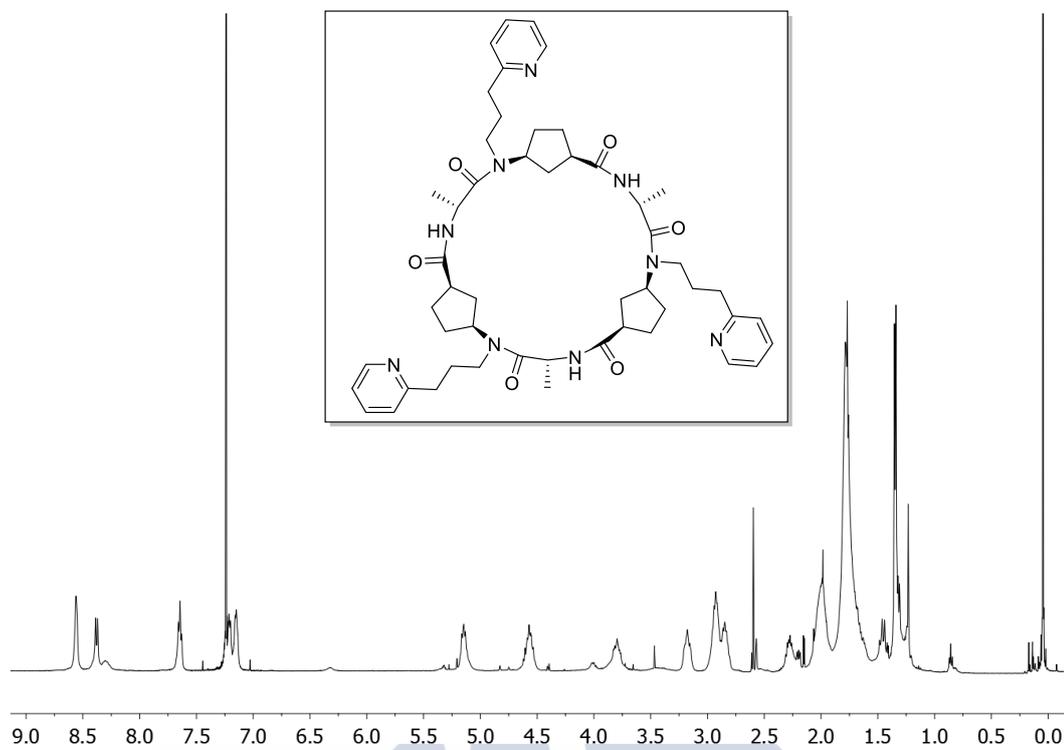
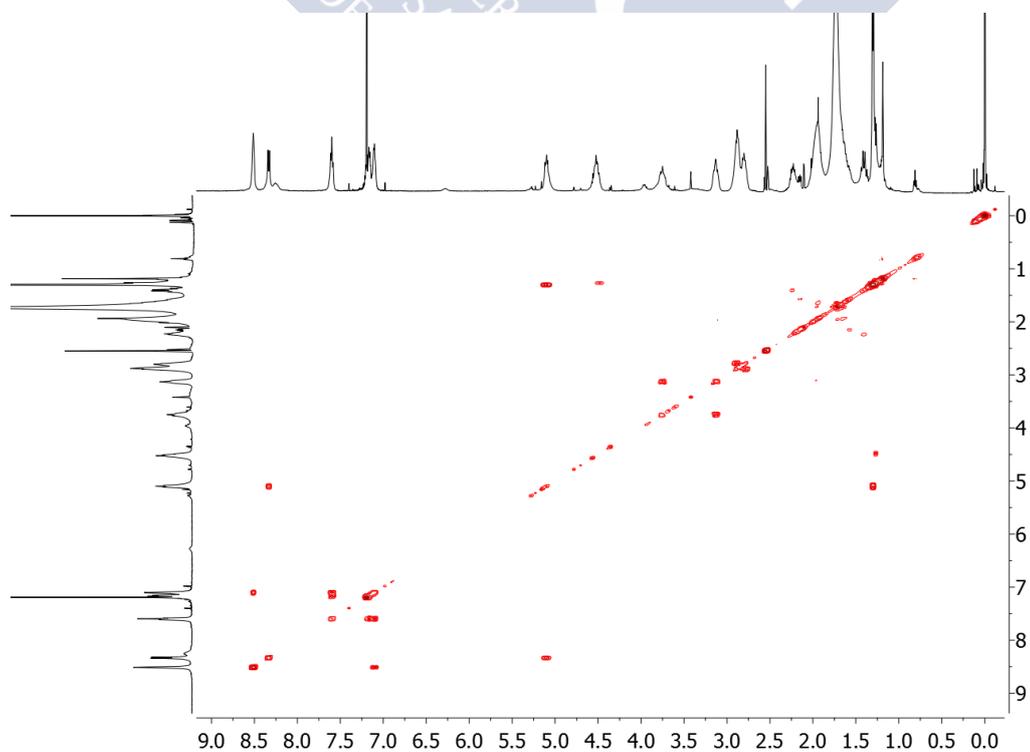
COSY (CDCl<sub>3</sub>, 298K, 500 MHz)



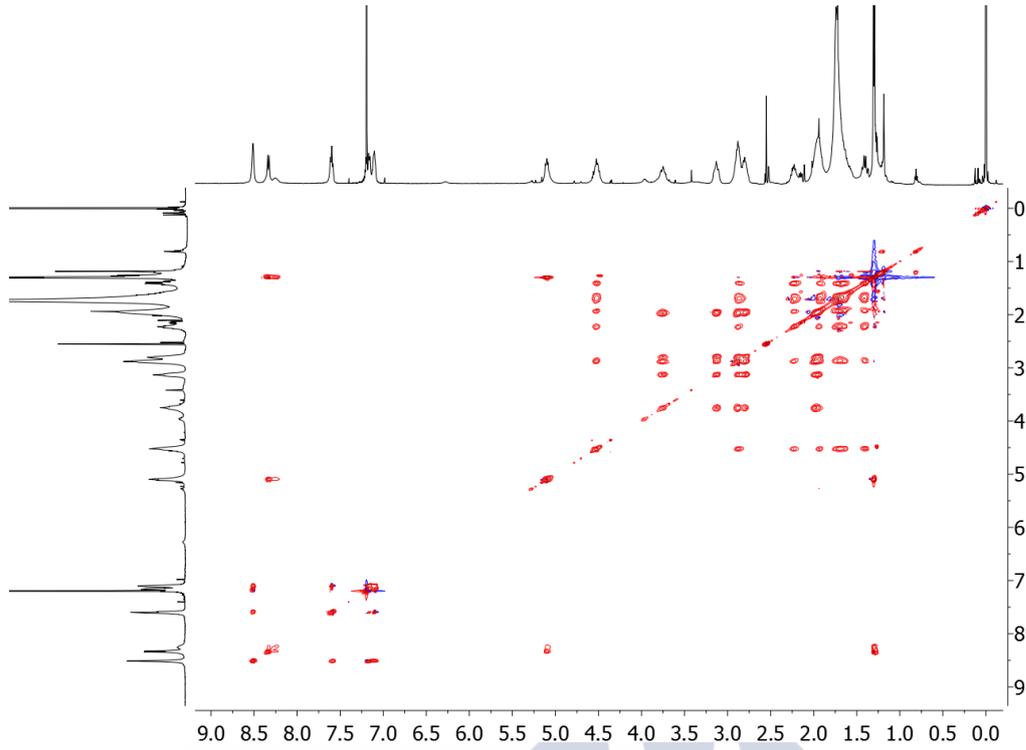
TOCSY (CDCl<sub>3</sub>, 298K, 500 MHz)



## CP11

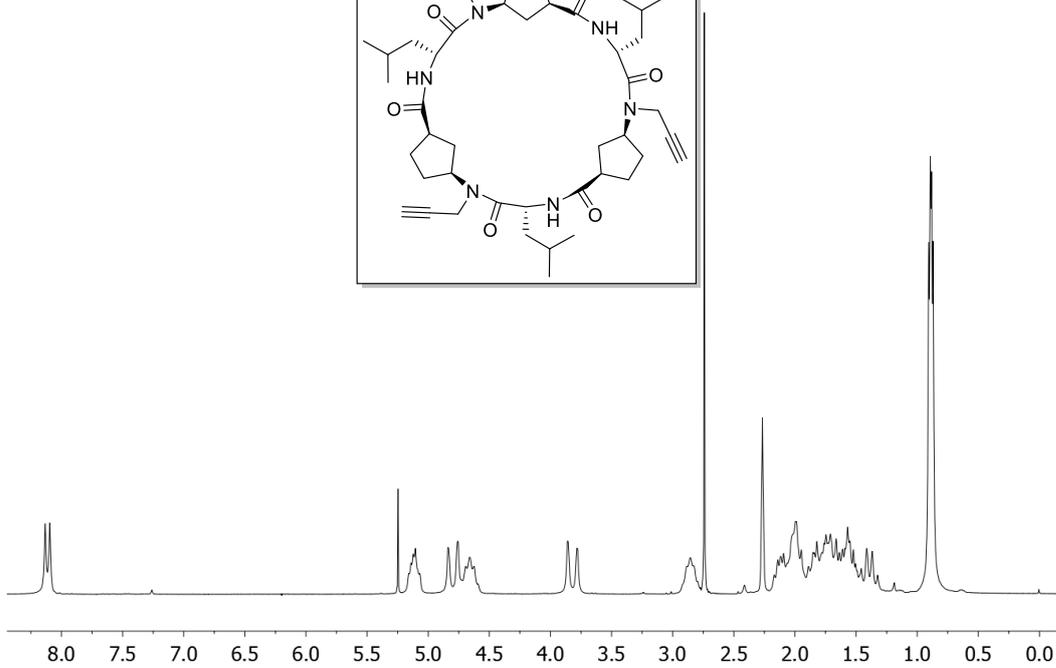
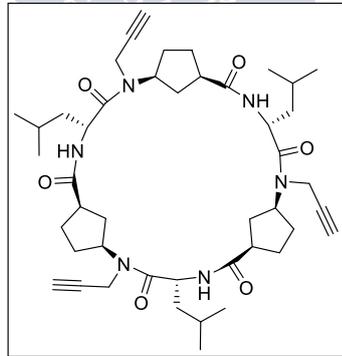
 $^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 298K, 500 MHz)COSY ( $\text{CDCl}_3$ , 298K, 500 MHz)

TOCSY (CDCl<sub>3</sub>, 298K, 500 MHz)

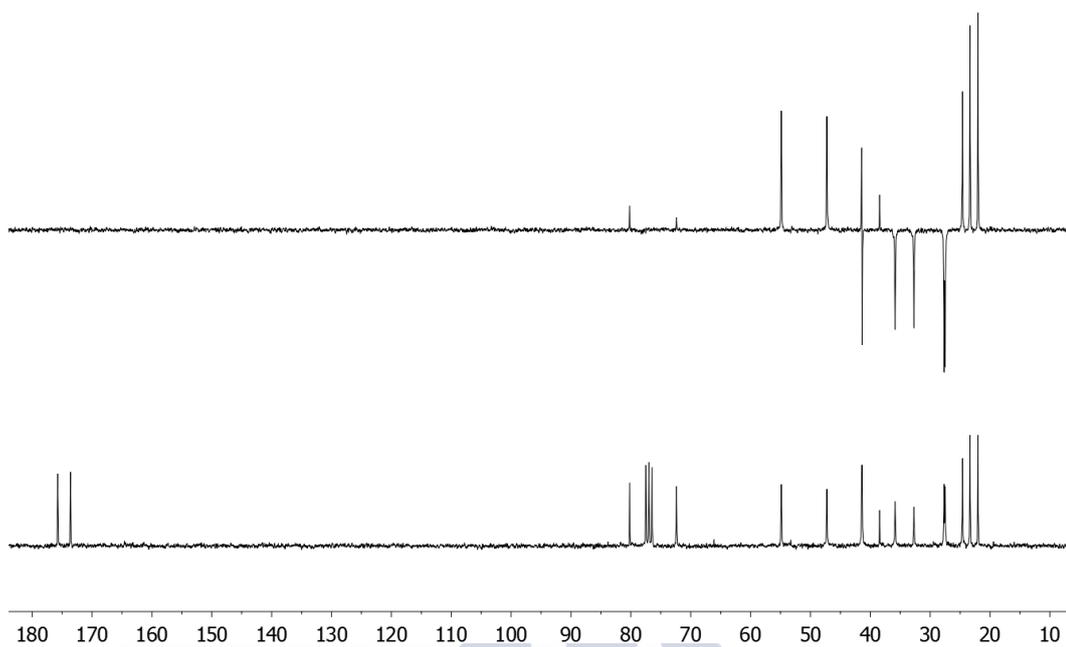


*c*-[(*D*-Leu-*L*-propargilN- $\gamma$ -Acp-)<sub>3</sub>] (CP13)

<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 298K, 500 MHz)

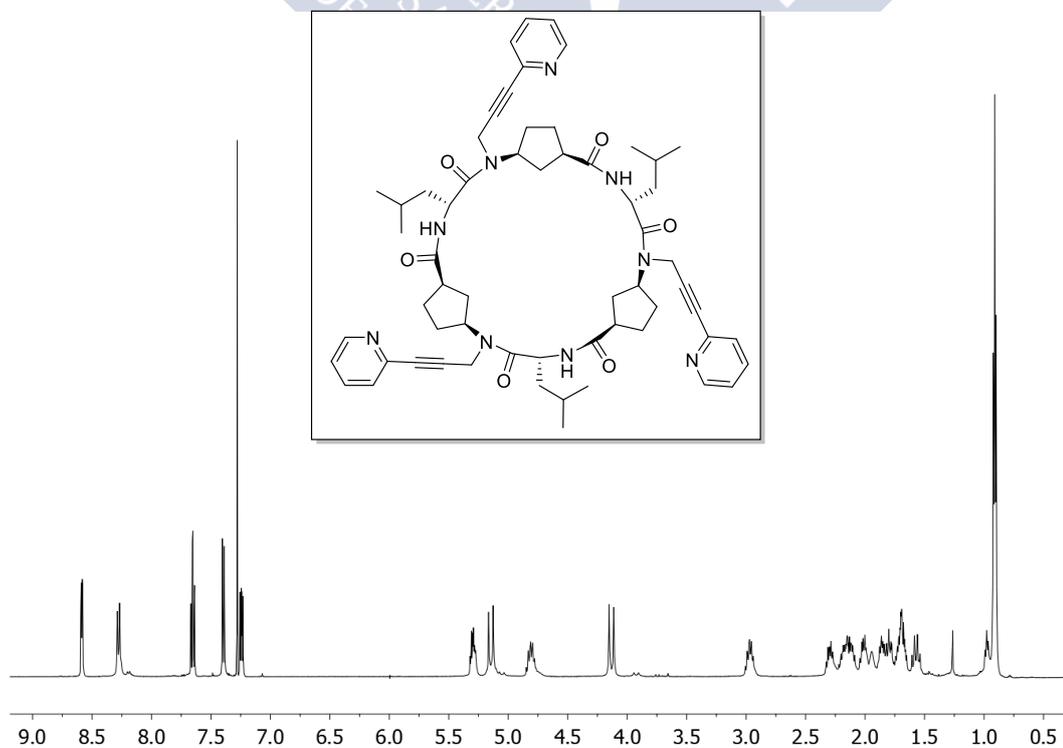


$^{13}\text{C}$ -RMN y DEPT ( $\text{CDCl}_3$ , 298K, 75.4 MHz)

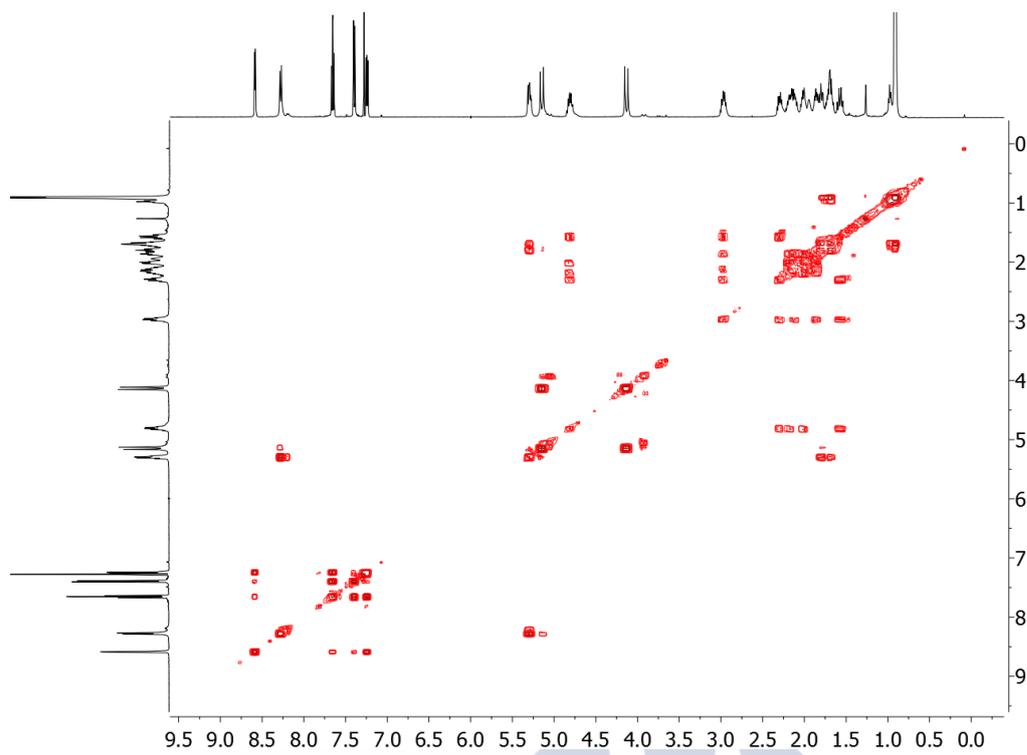


**CP14**

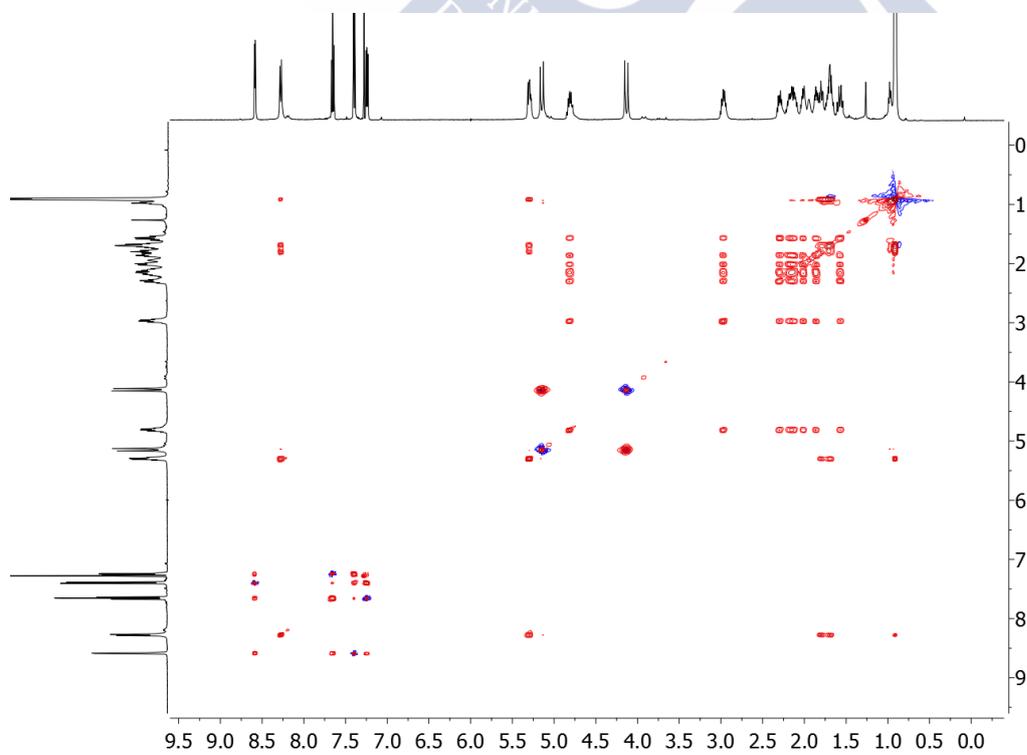
$^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 298K, 500 MHz)



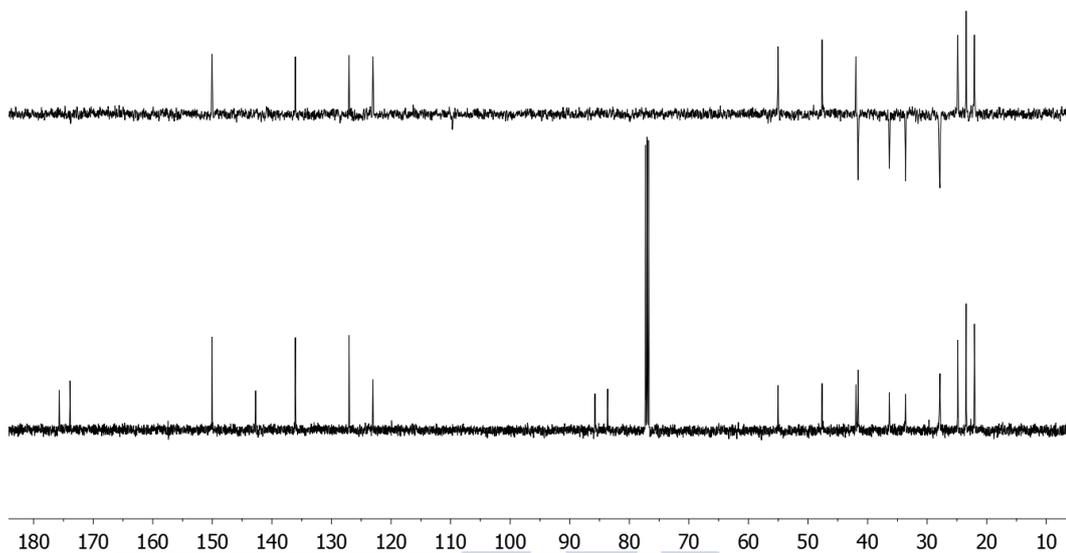
COSY (CDCl<sub>3</sub>, 298K, 500 MHz)



TOCSY (CDCl<sub>3</sub>, 298K, 500 MHz)

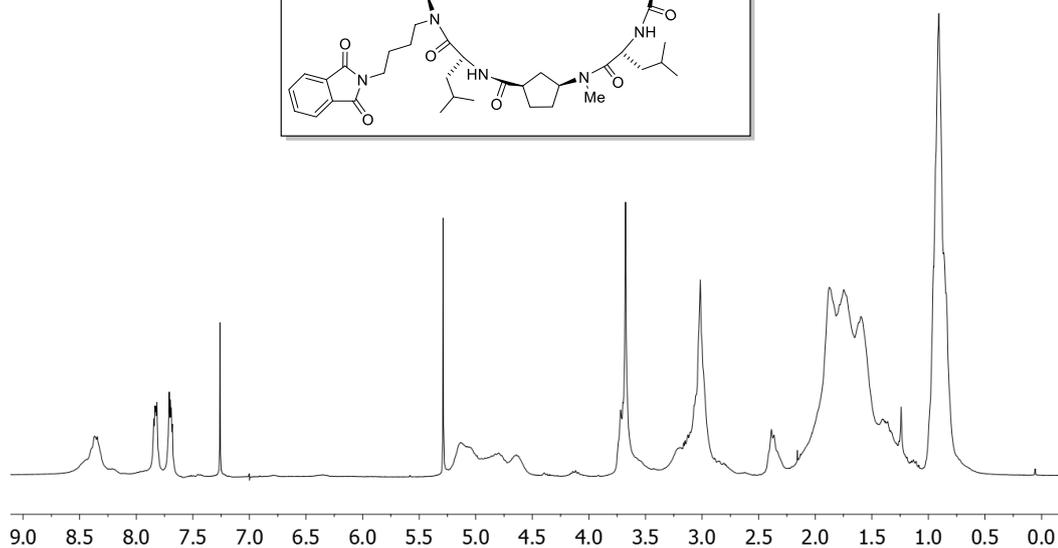
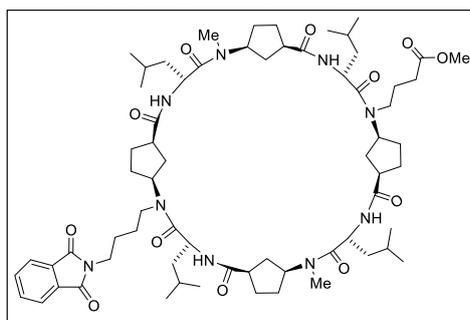


$^{13}\text{C}$ -RMN y DEPT ( $\text{CDCl}_3$ , 298K, 75.4 MHz)



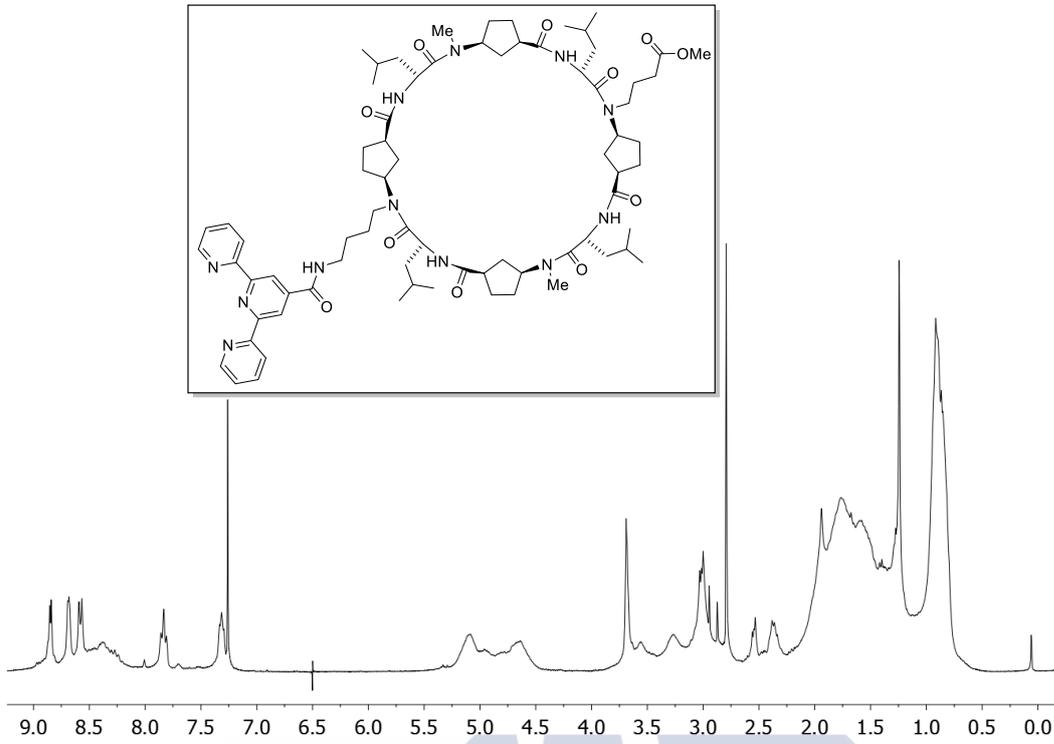
***c*-(*D*-Leu-*L*-MeN- $\gamma$ -Acp-*D*-Leu-*L*-PhthN(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>N- $\gamma$ -Acp-*D*-Leu-*L*-MeN- $\gamma$ -Acp-*D*-Leu-*L*-MeO<sub>2</sub>C(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>N- $\gamma$ -Acp-)** (CP15)

$^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 298K, 300 MHz)



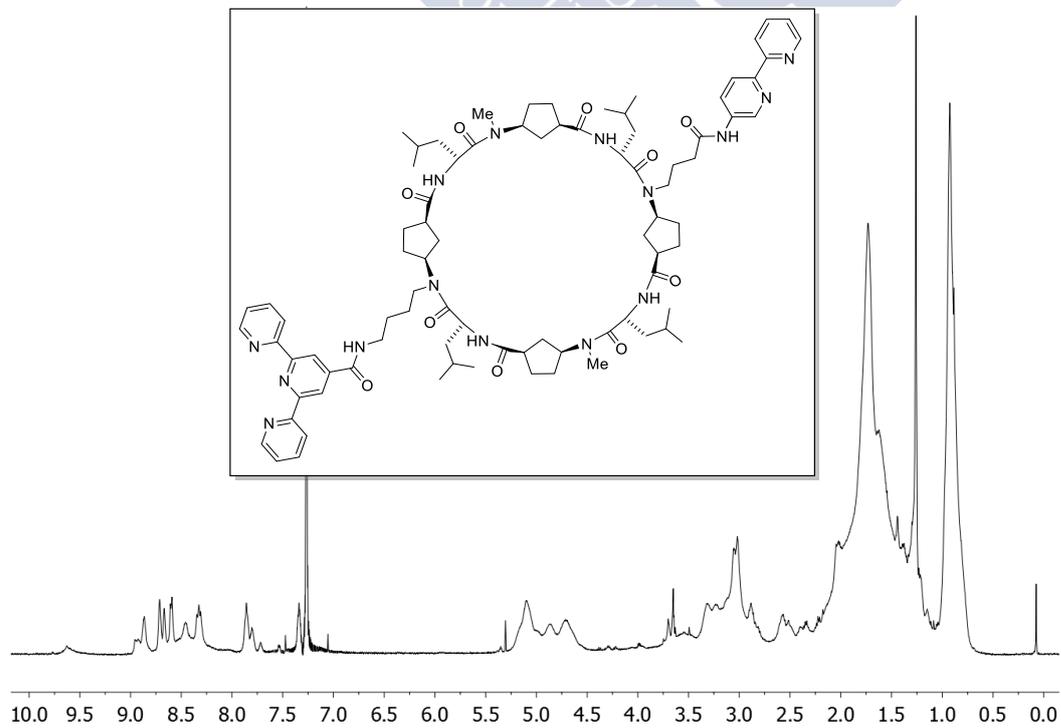
**CP17**

$^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 298K, 300 MHz)

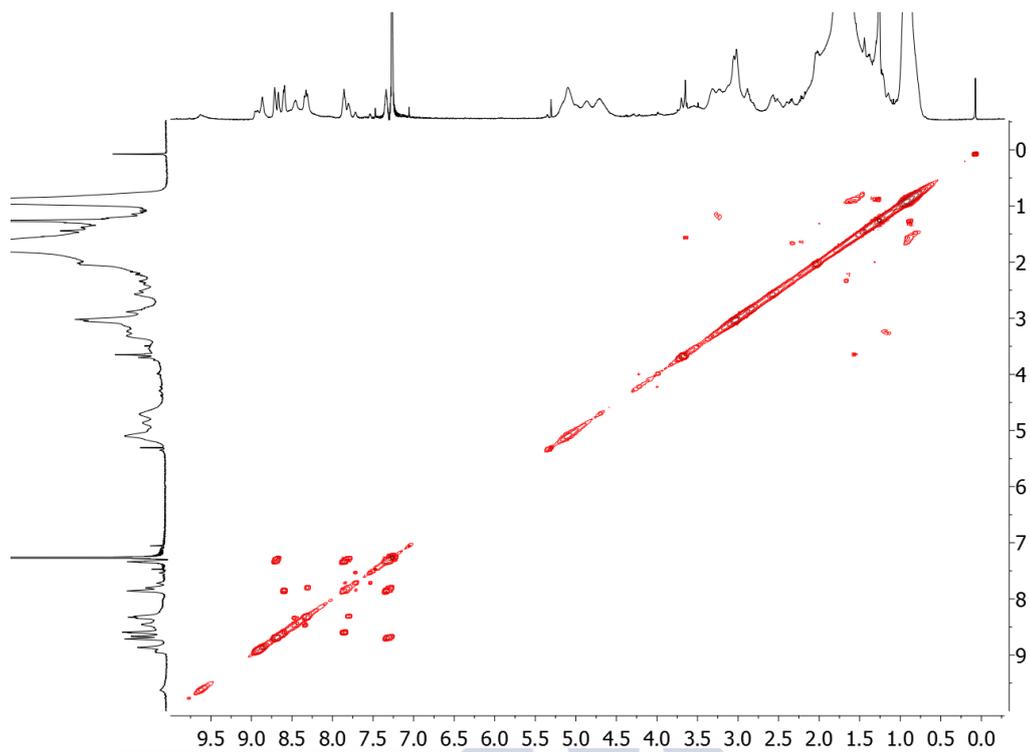


**CP19**

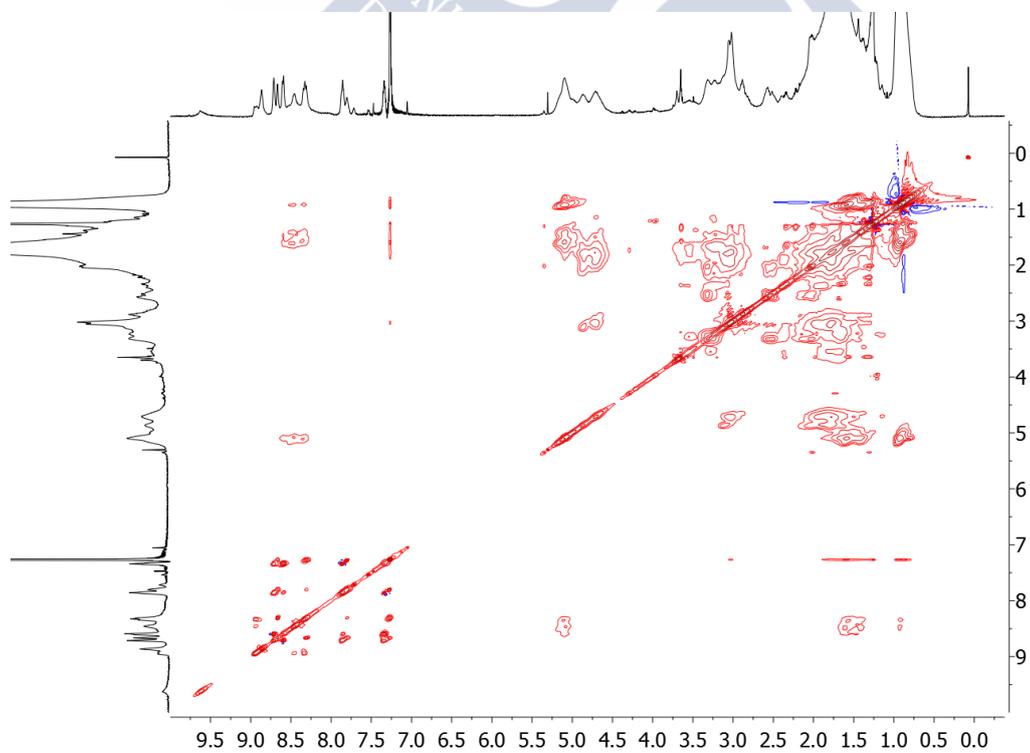
$^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 298K, 500 MHz)



COSY (CDCl<sub>3</sub>, 298K, 500 MHz)

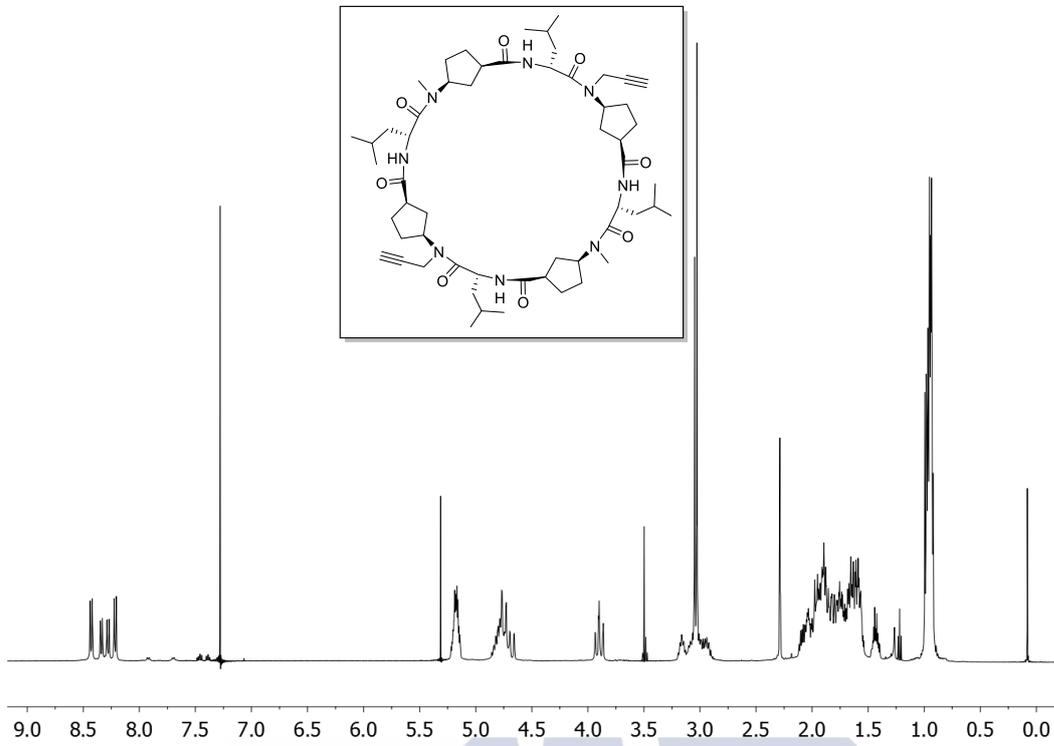


TOCSY (CDCl<sub>3</sub>, 298K, 500 MHz)

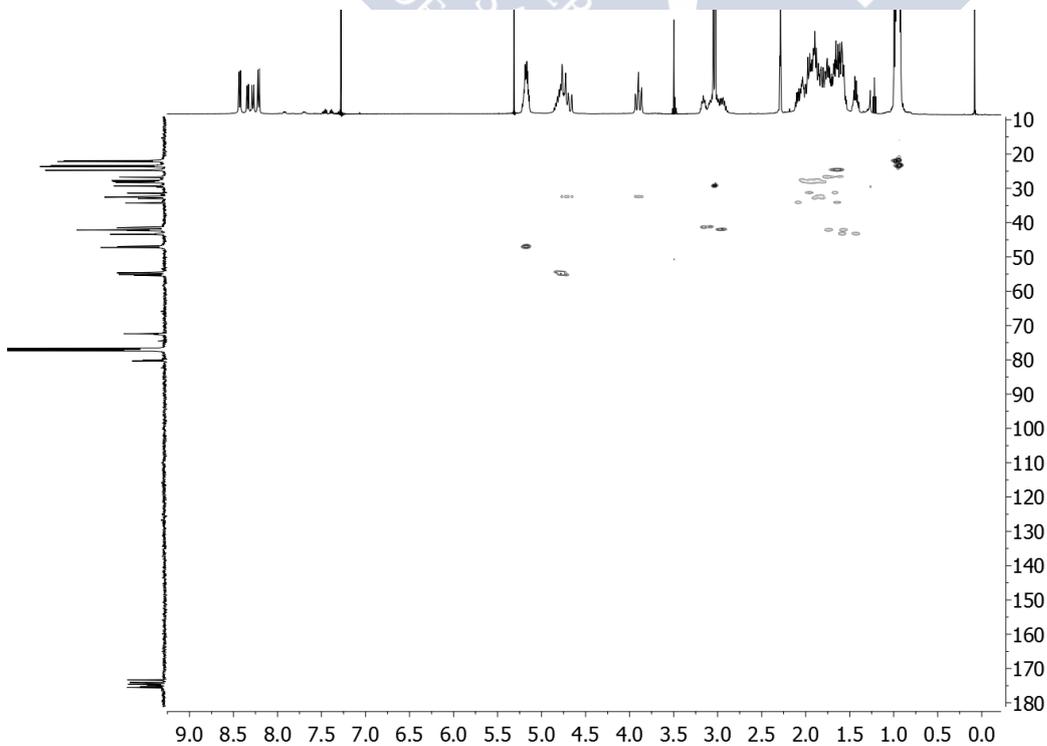


*c*-[(*D*-Leu-*L*-MeN- $\gamma$ -Acp-*D*-Leu-*L*-propargilN- $\gamma$ -Acp-)]<sub>2</sub> (CP21)

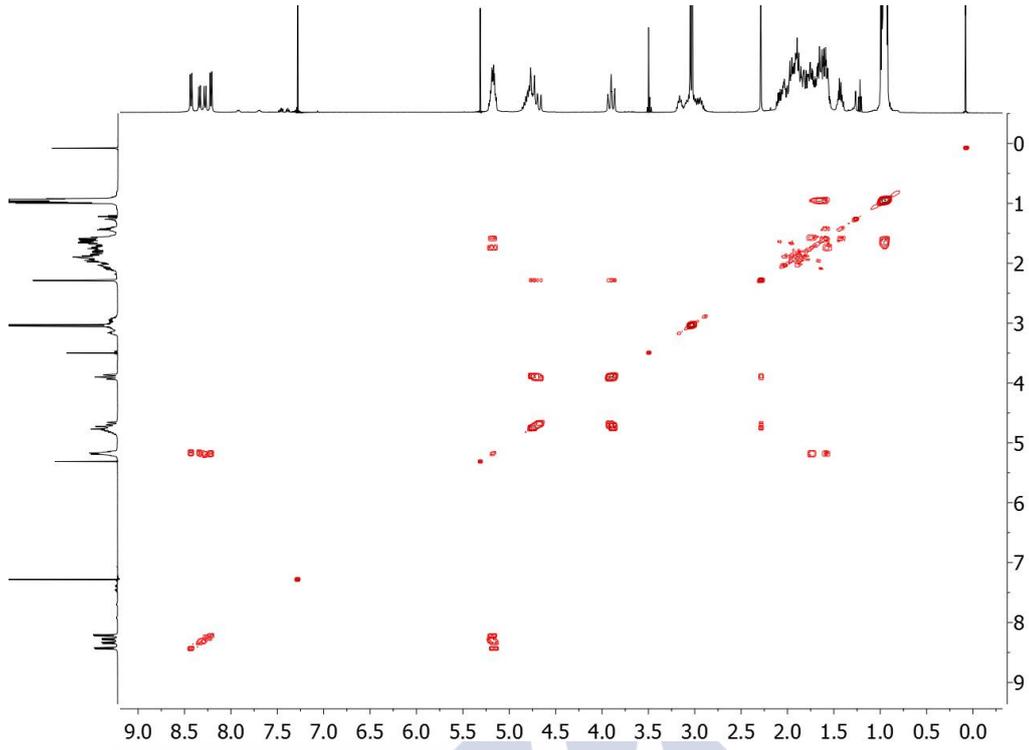
<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 298K, 500 MHz)



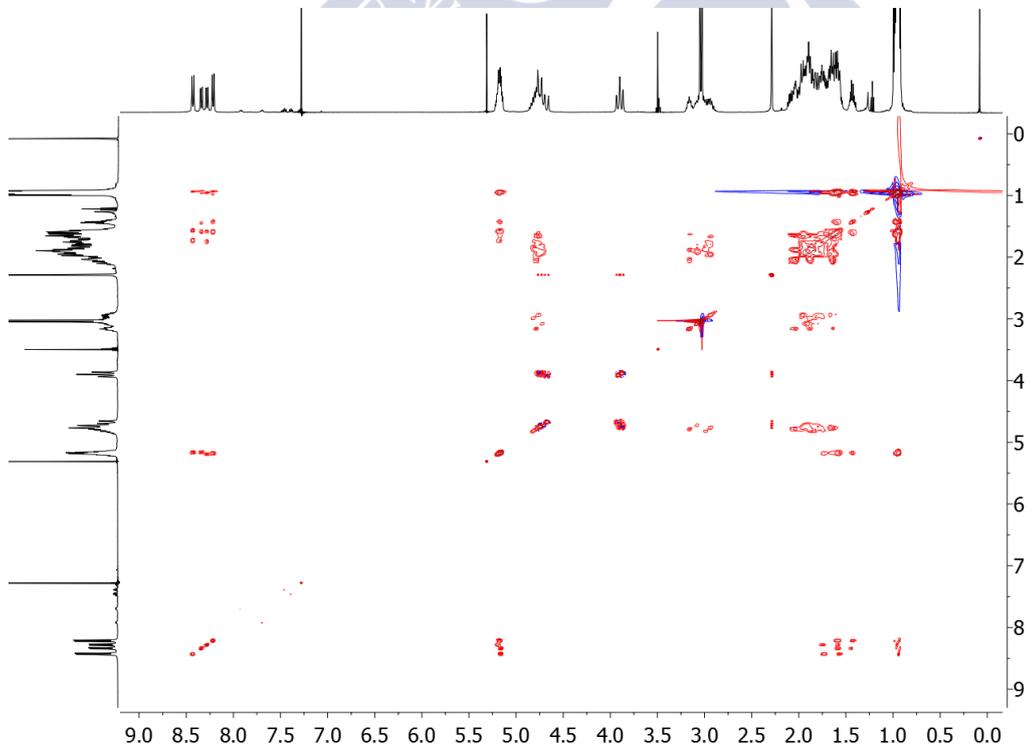
HSQC (CDCl<sub>3</sub>, 298K, 500 MHz)



COSY (CDCl<sub>3</sub>, 298K, 500 MHz)

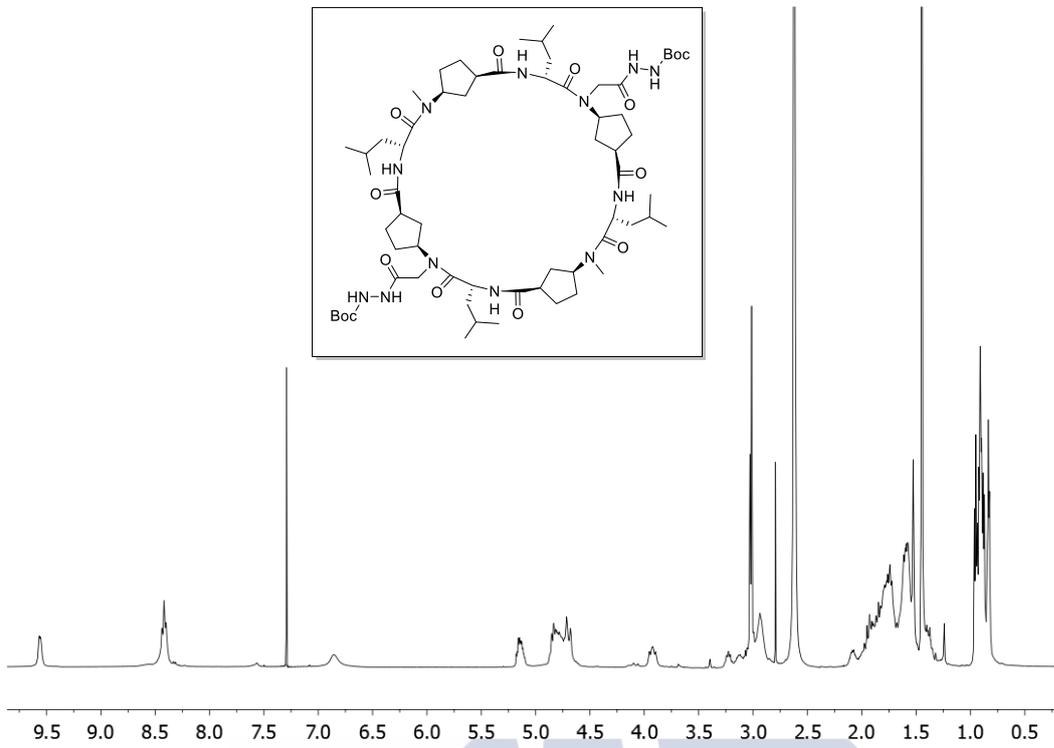


TOCSY (CDCl<sub>3</sub>, 298K, 500 MHz)

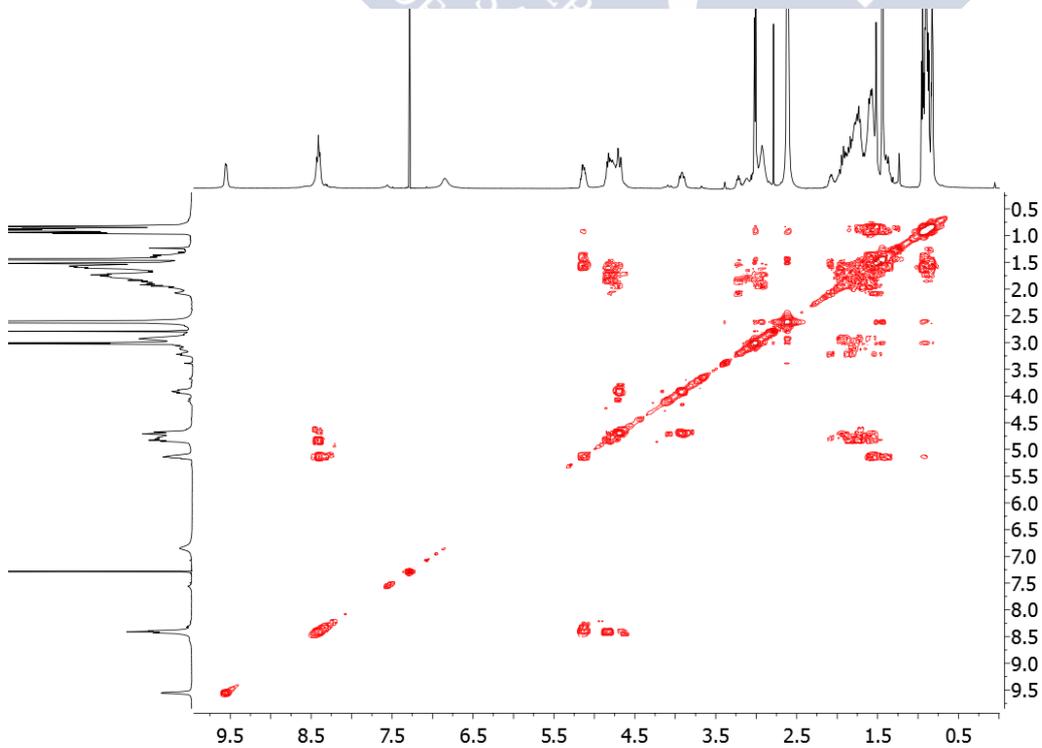


***c*-[(*D*-Leu-*L*-MeN- $\gamma$ -Acp-*D*-Leu-*L*-BocNHNHAcN- $\gamma$ -Acp-)]<sub>2</sub> (CP23)**

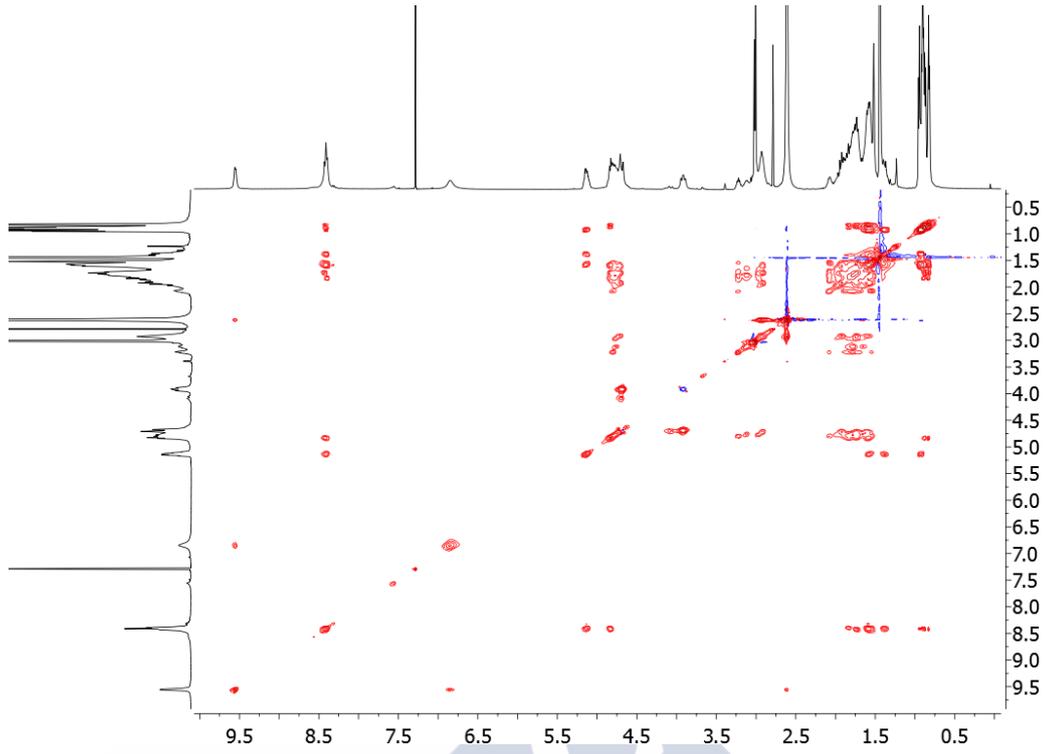
<sup>1</sup>H-RMN (5% DMSO-*d*<sub>6</sub>/CDCl<sub>3</sub>, 298K, 500 MHz)



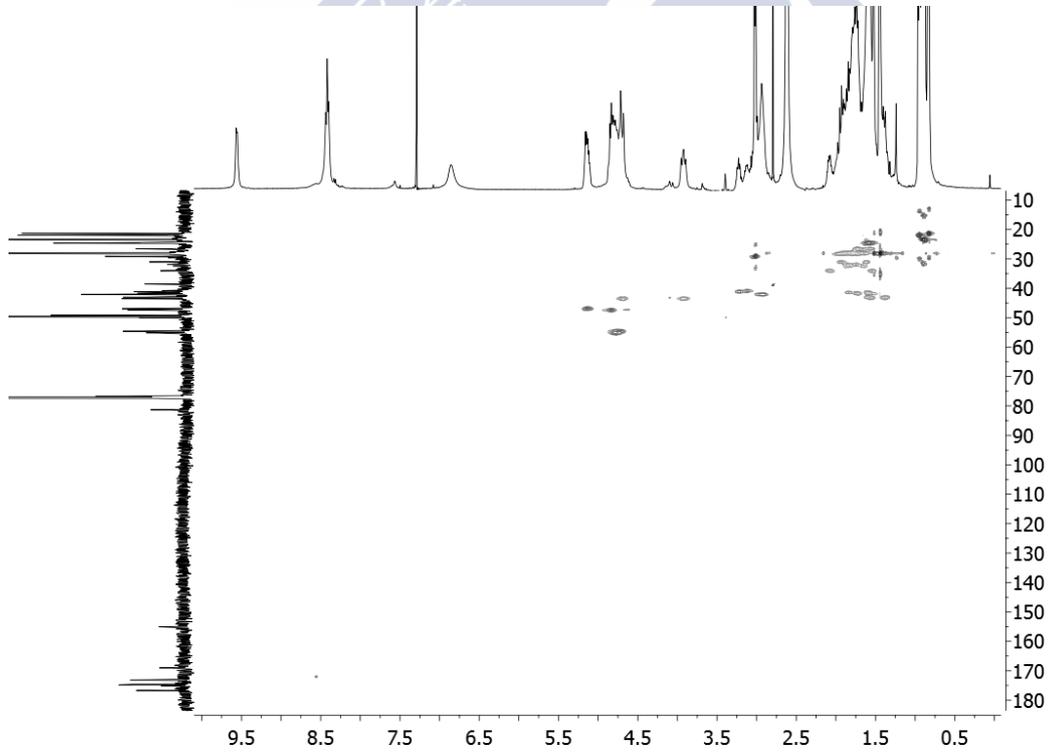
COSY (5% DMSO-*d*<sub>6</sub>/CDCl<sub>3</sub>, 298K, 500 MHz)



TOCSY (5% DMSO-*d*<sub>6</sub>/CDCl<sub>3</sub>, 298K, 500 MHz)

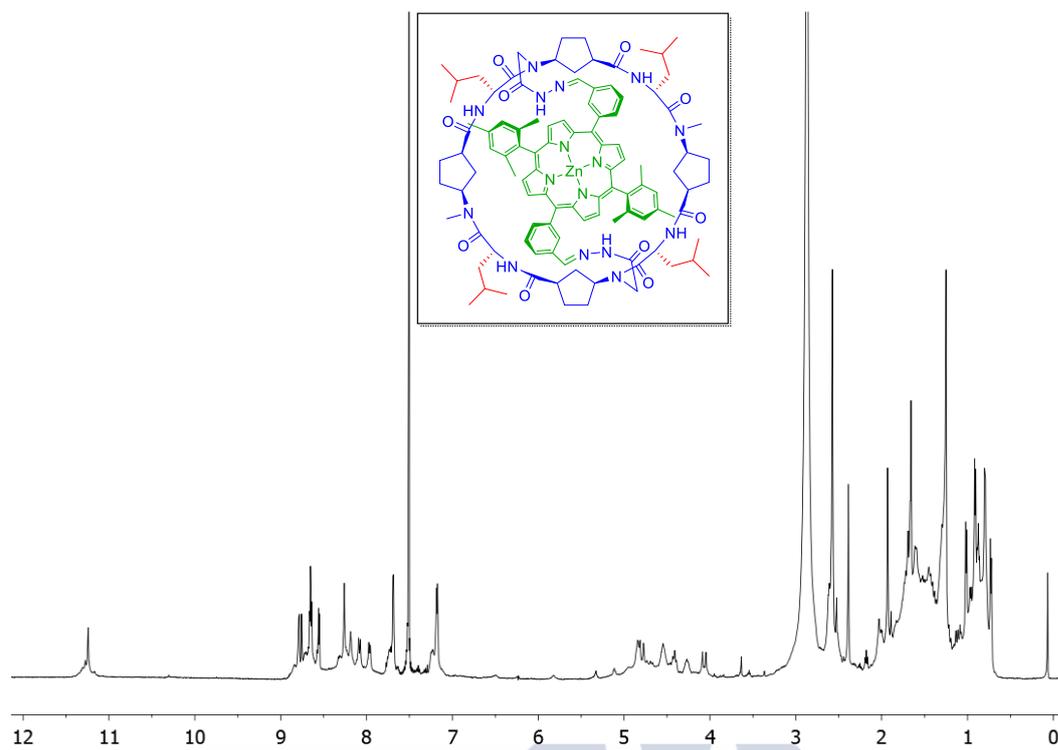


HSQC (5% DMSO-*d*<sub>6</sub>/CDCl<sub>3</sub>, 298K, 500 MHz)

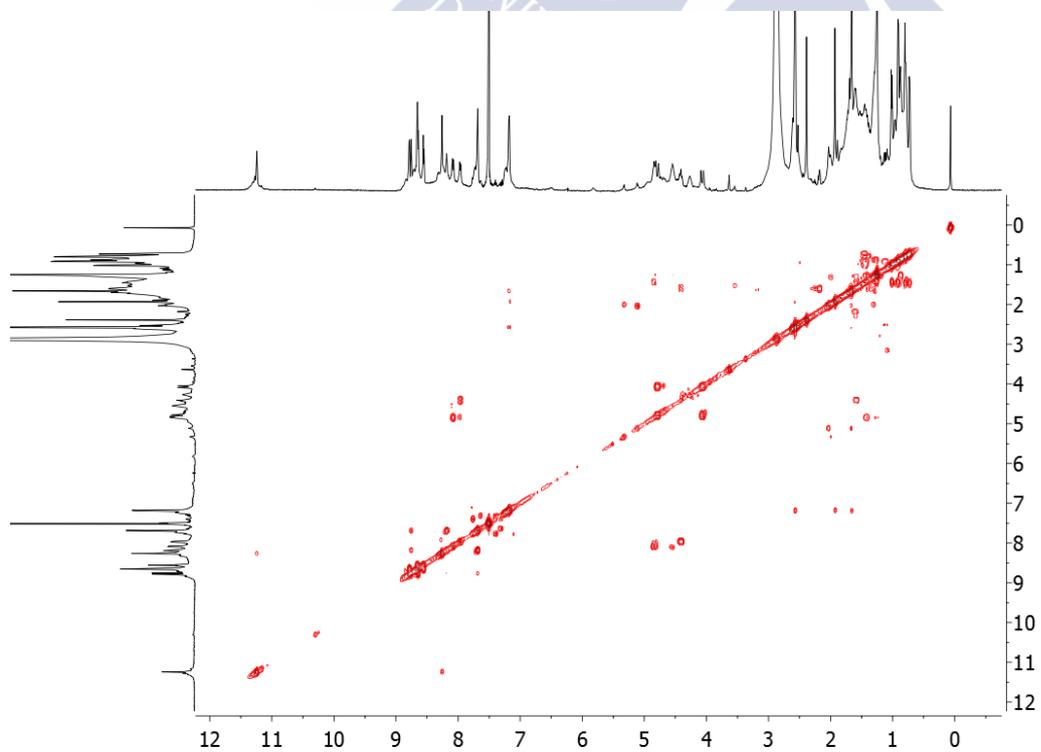


CP25

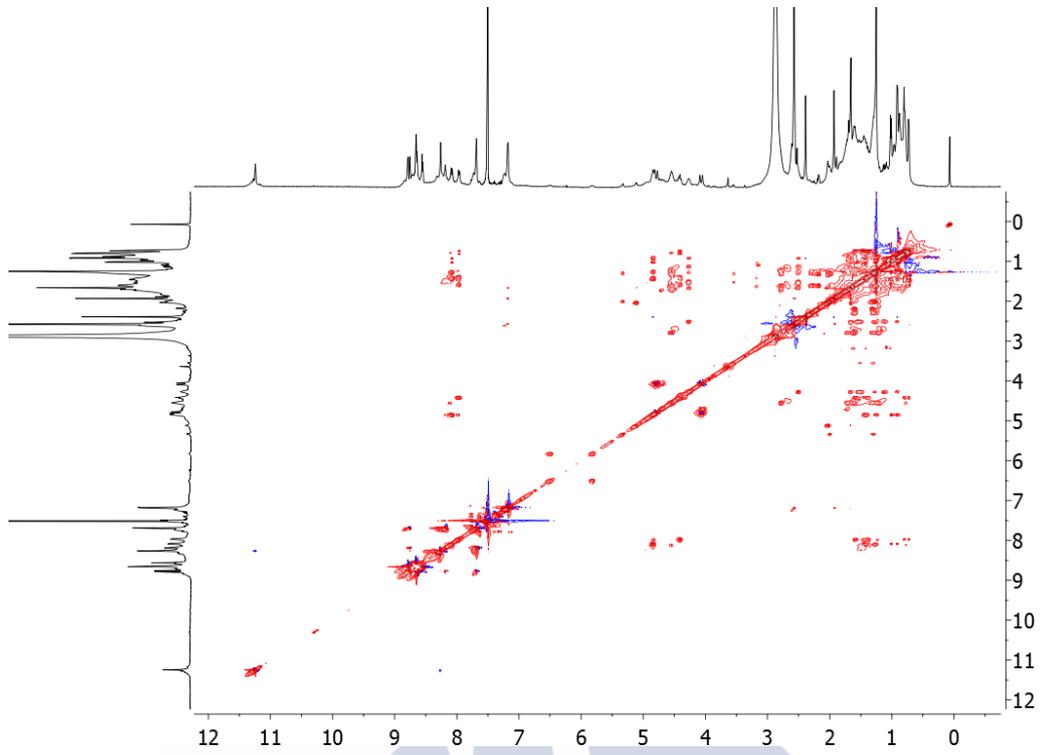
$^1\text{H}$ -RMN (10% DMSO- $d_6$ /CDCl $_3$ , 298K, 500 MHz)



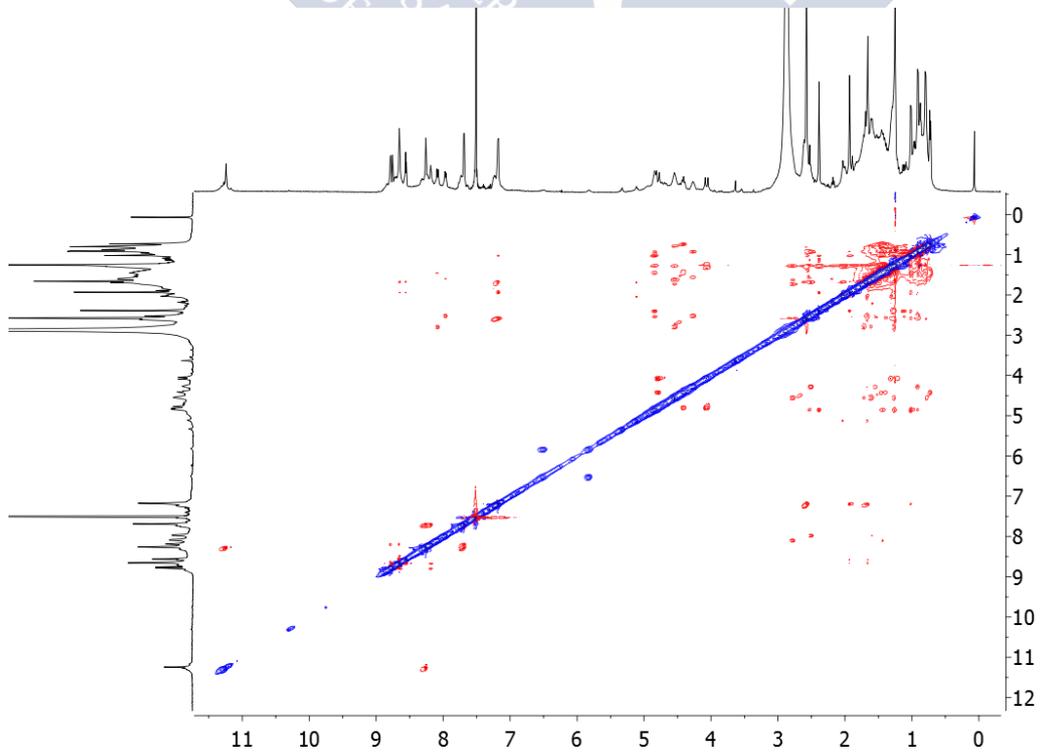
COSY (10% DMSO- $d_6$ /CDCl $_3$ , 298K, 500 MHz)



TOCSY (10% DMSO- $d_6$ /CDCl $_3$ , 298K, 500 MHz)



ROESY (10% DMSO- $d_6$ /CDCl $_3$ , 298K, 500 MHz)









## **Anexo II: Espectros de RMN e IR**





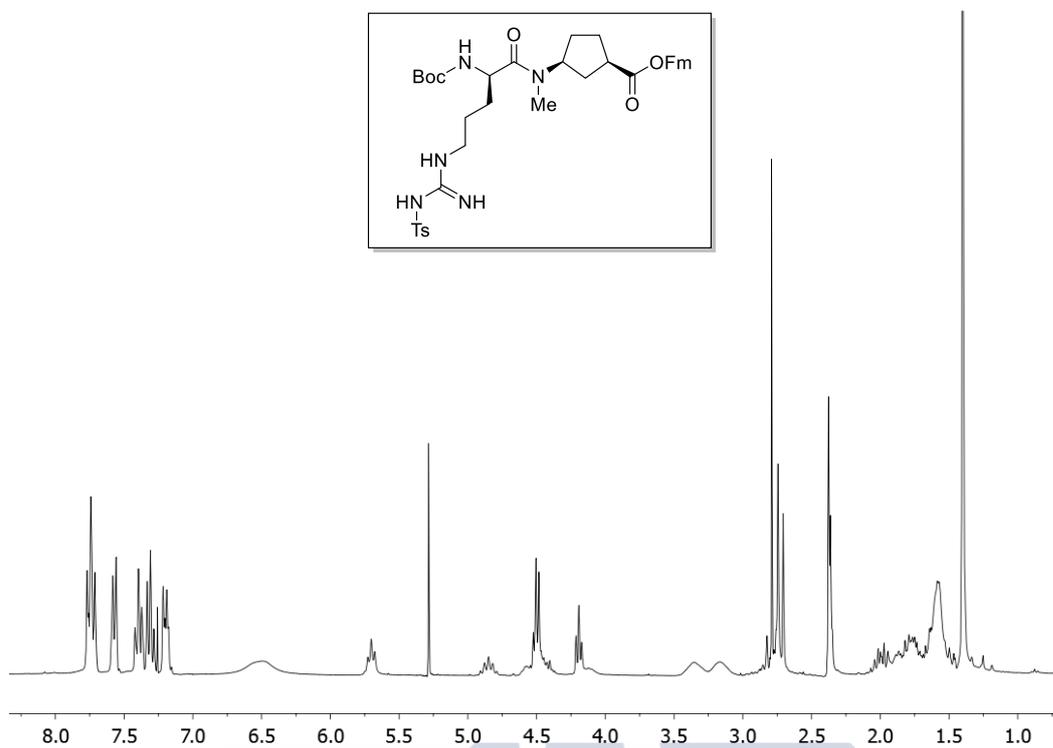
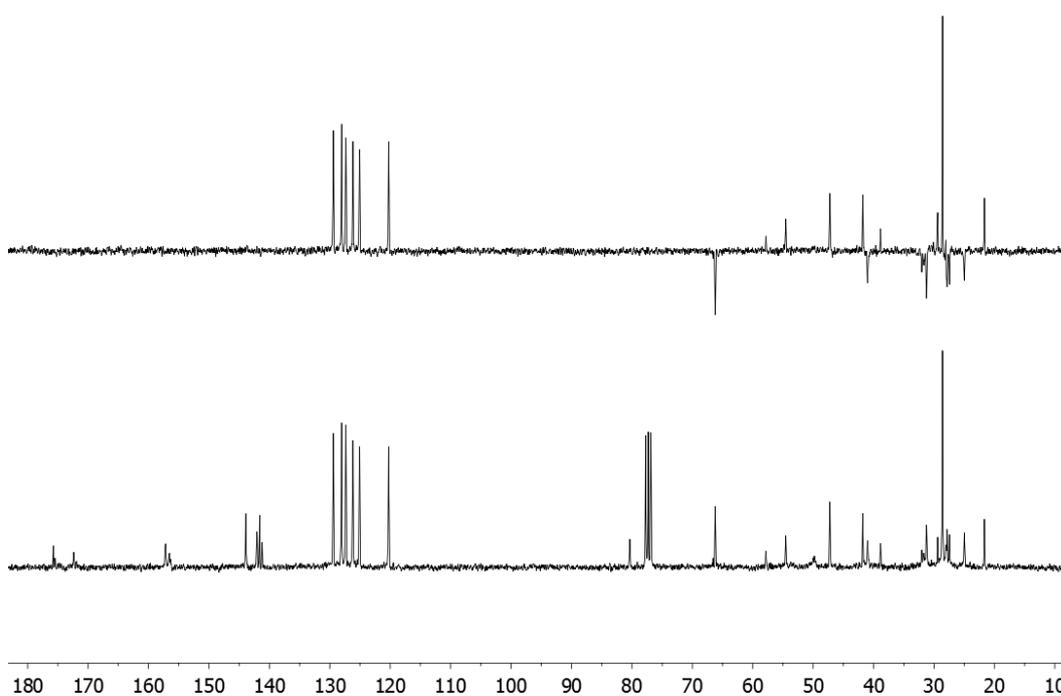
## ÍNDICE

<b>1. Espectros de RMN del capítulo 1</b> .....	5
<b>2. Espectros de RMN del capítulo 2</b> .....	7
<b>3. Espectros de RMN del capítulo 3</b> .....	13
<b>4. Espectros de IR de los ciclopéptidos</b> .....	36





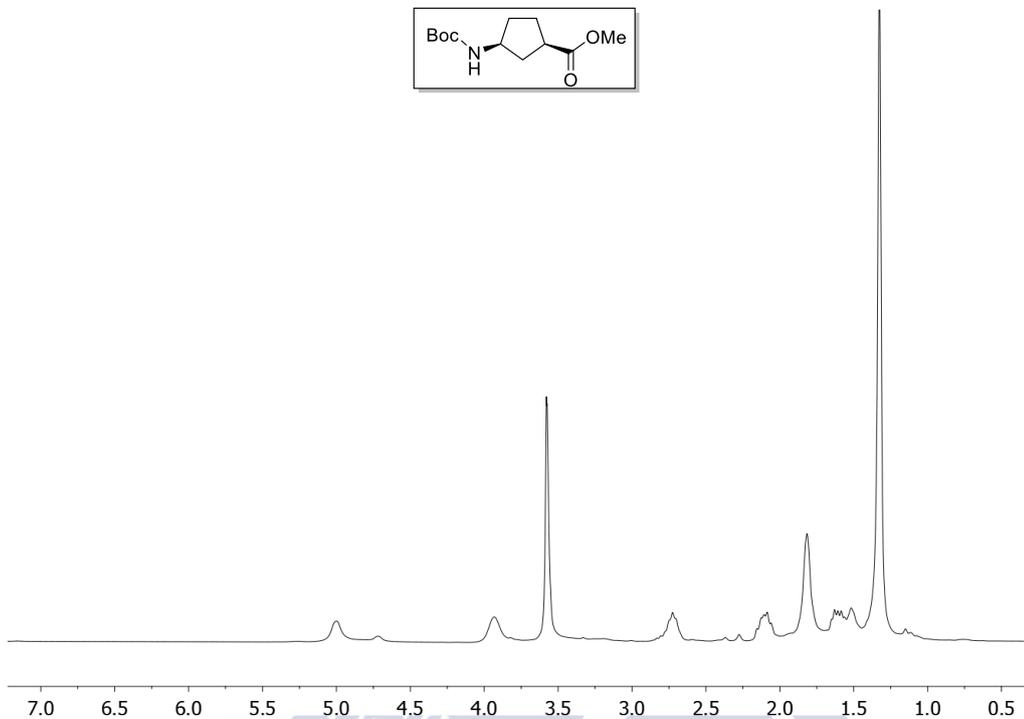
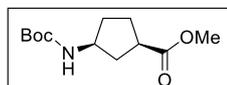


**Boc-D-Arg(Ts)-L-MeN- $\gamma$ -Acp-OFm (dp4)** $^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 298K, 300 MHz) $^{13}\text{C}$ -RMN y DEPT ( $\text{CDCl}_3$ , 298K, 75.4 MHz)

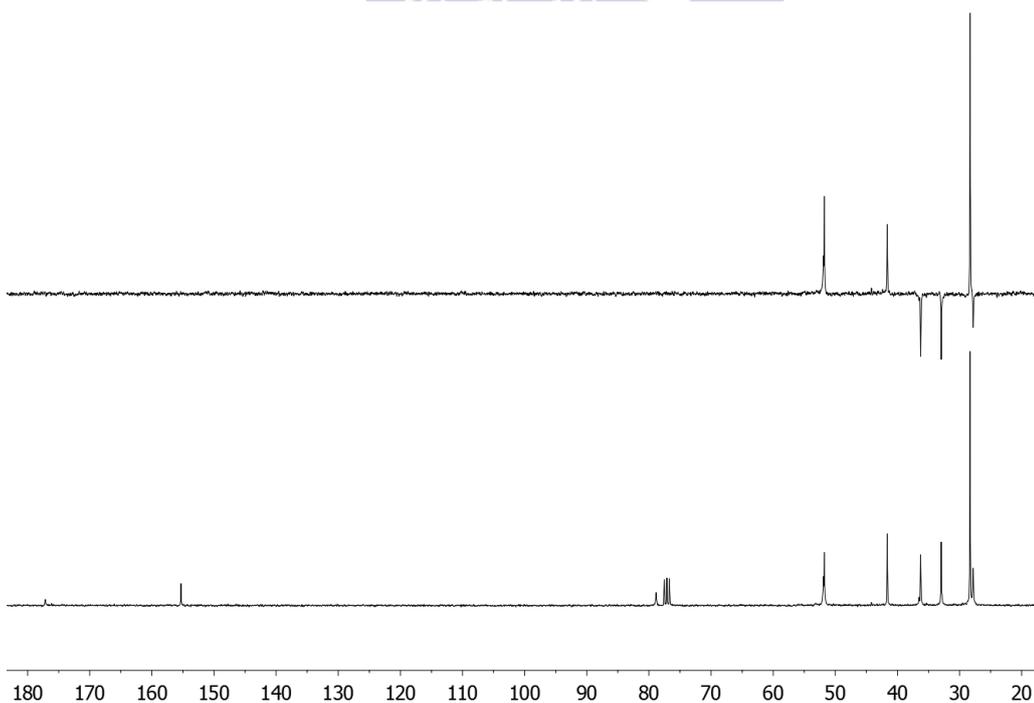
## 2. Espectros de RMN del capítulo 2

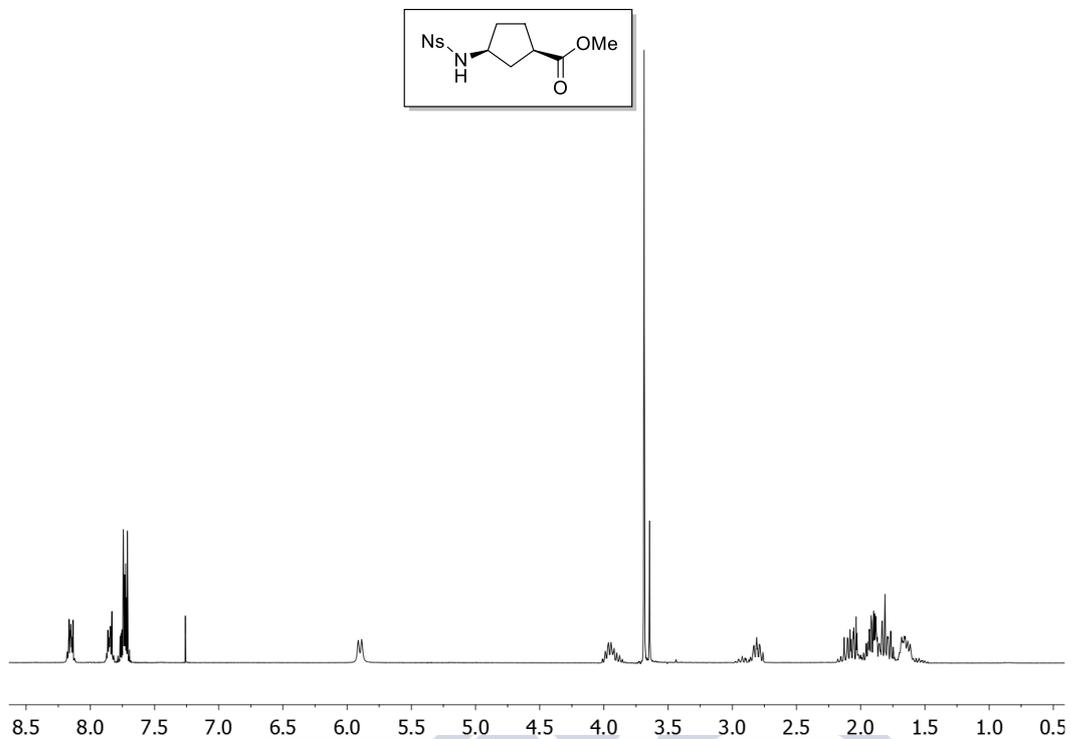
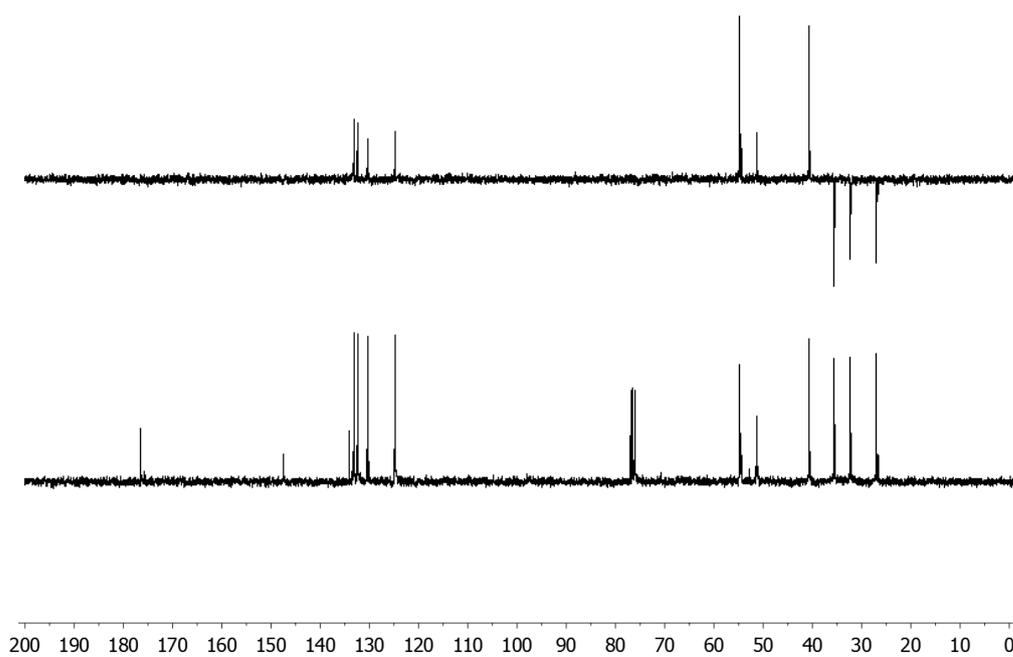
(1*R*,3*S*)-3-(*tert*-butiloxicarbonilamino)ciclopentanocarboxilato de metilo (Boc-*L*- $\gamma$ -Acp-OMe) (6)

$^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 298K, 300 MHz)



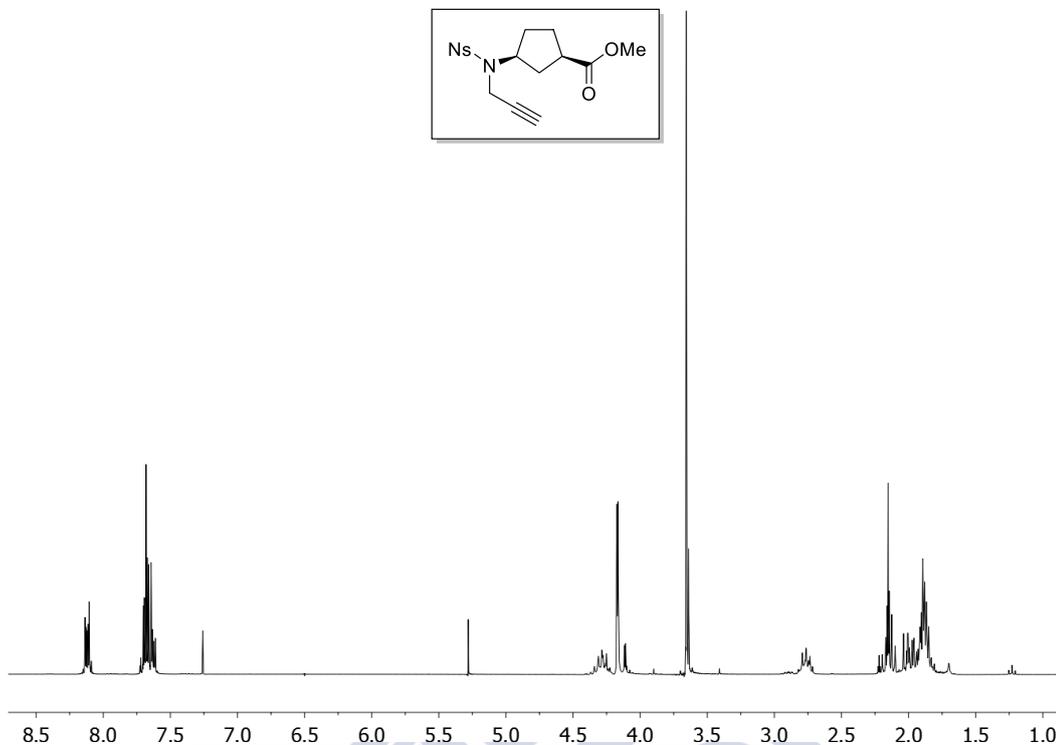
$^{13}\text{C}$ -RMN y DEPT ( $\text{CDCl}_3$ , 298K, 75.4 MHz)



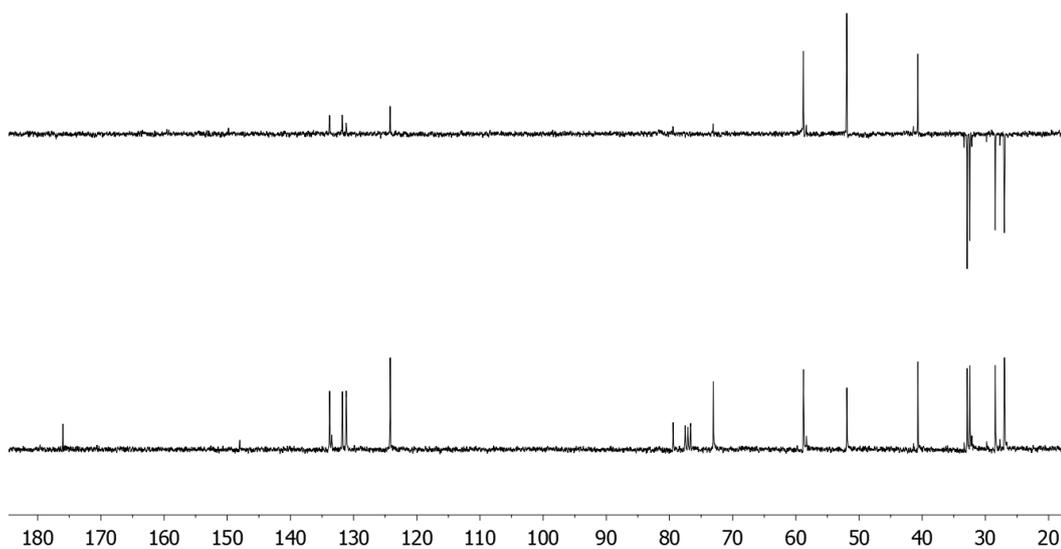
**(1*R*,3*S*)-3-(2-Nitrobenzenosulfonilamino)ciclopentanocarboxilato de metilo (Ns-*L*- $\gamma$ -Acp-OMe) (7)**<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 298K, 300 MHz)<sup>13</sup>C-RMN y DEPT (CDCl<sub>3</sub>, 298K, 75.4 MHz)

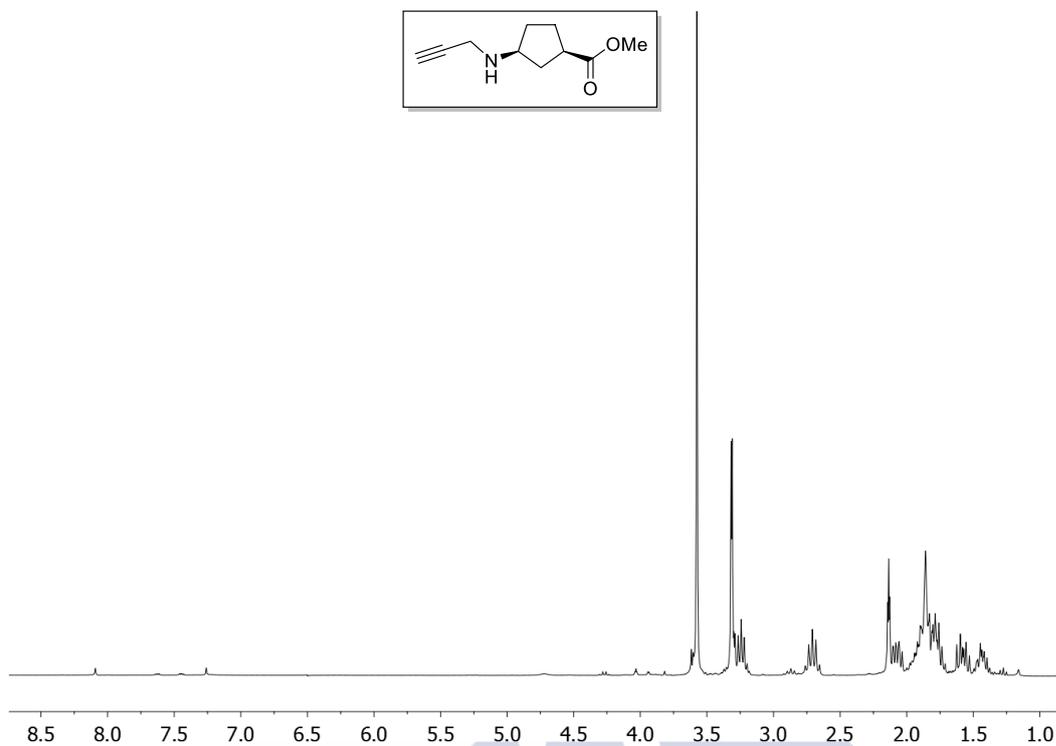
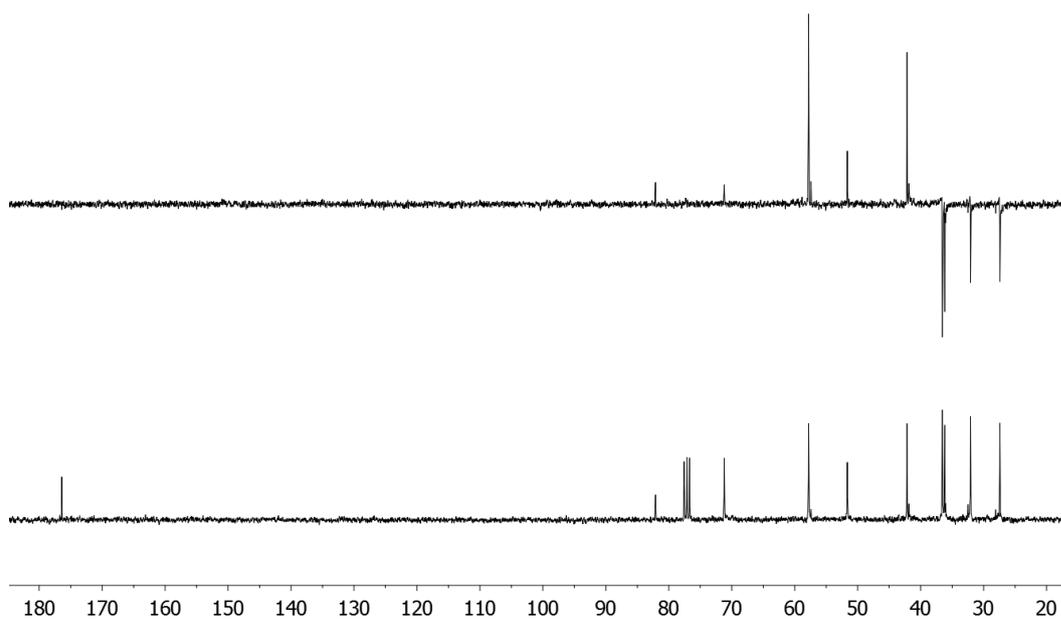
**(1*R*,3*S*)-3-[(2-Nitrobenzenosulfonyl)propargilamino]ciclopentanocarboxilato de metilo (Ns-*L*-propargilN- $\gamma$ -Acp-OMe) (8)**

$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 298K, 300 MHz)



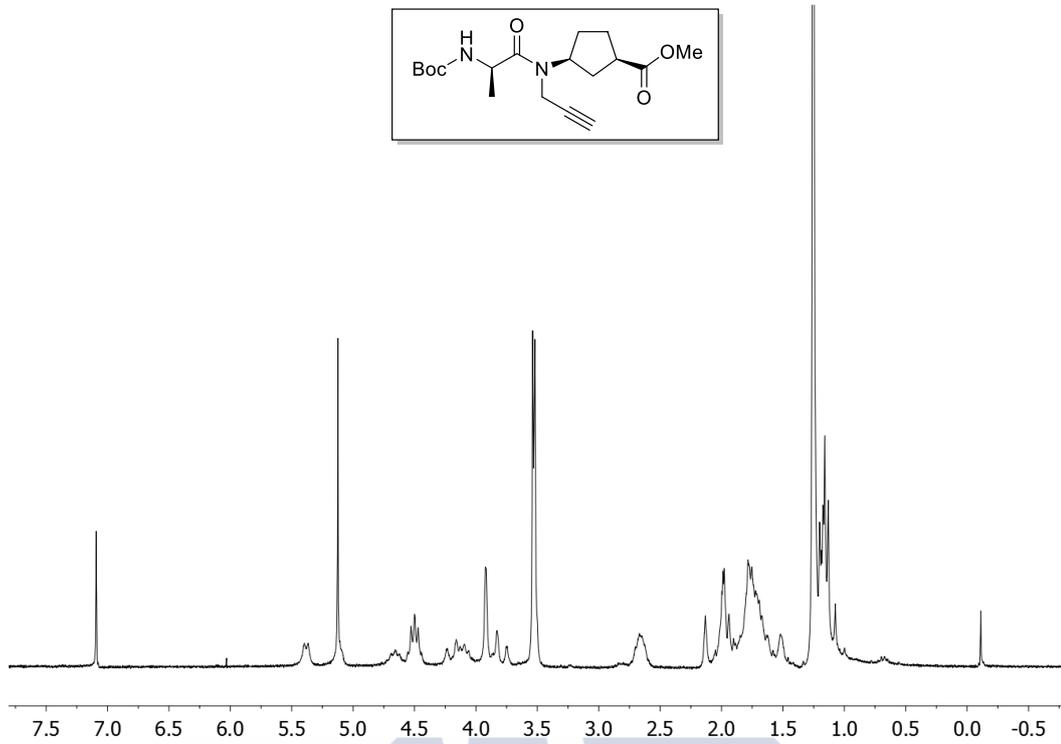
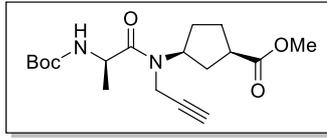
$^{13}\text{C-RMN}$  y DEPT ( $\text{CDCl}_3$ , 298K, 75.4 MHz)



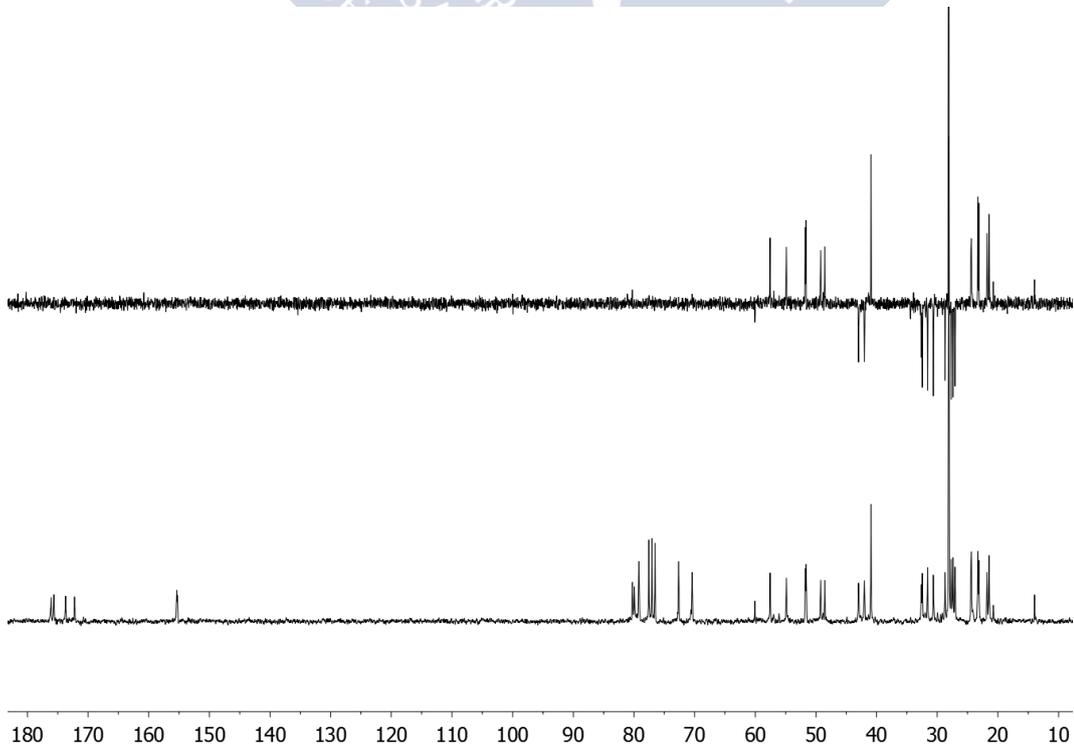
**(1*R*,3*S*)-3-(Propargilamino)ciclopentanocarboxilato de metilo (*L*-propargilN- $\gamma$ -Acp-OMe) (9)**<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 298K, 300 MHz)<sup>13</sup>C-RMN y DEPT (CDCl<sub>3</sub>, 298K, 75.4 MHz)

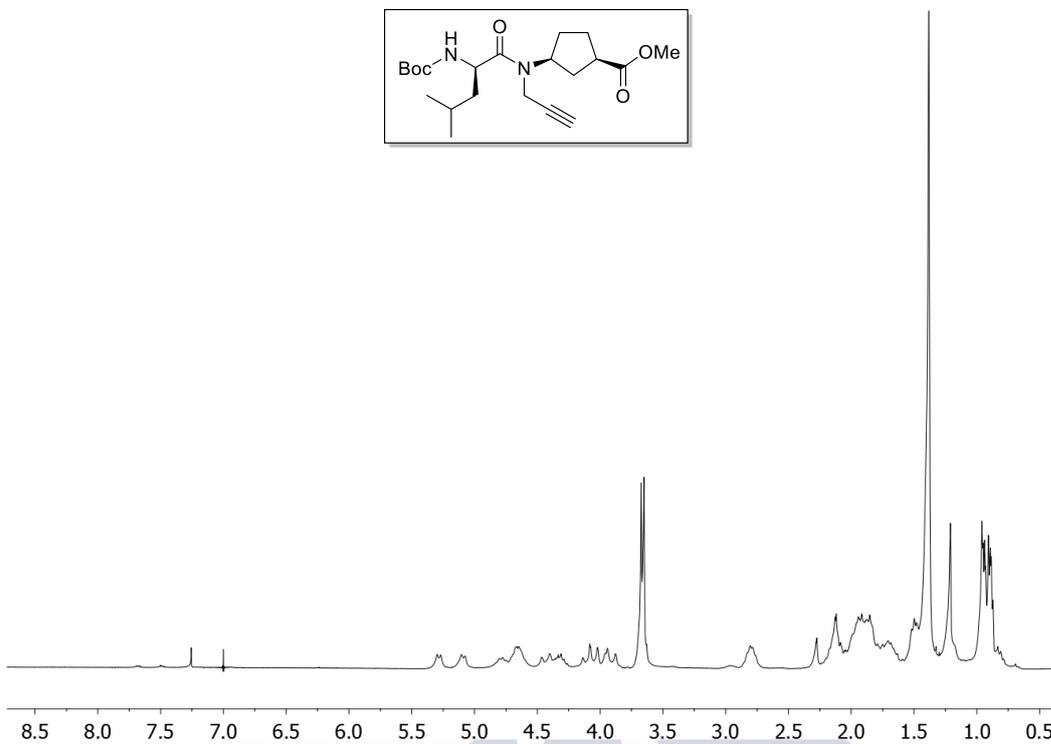
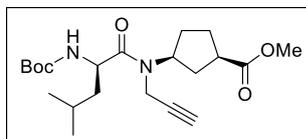
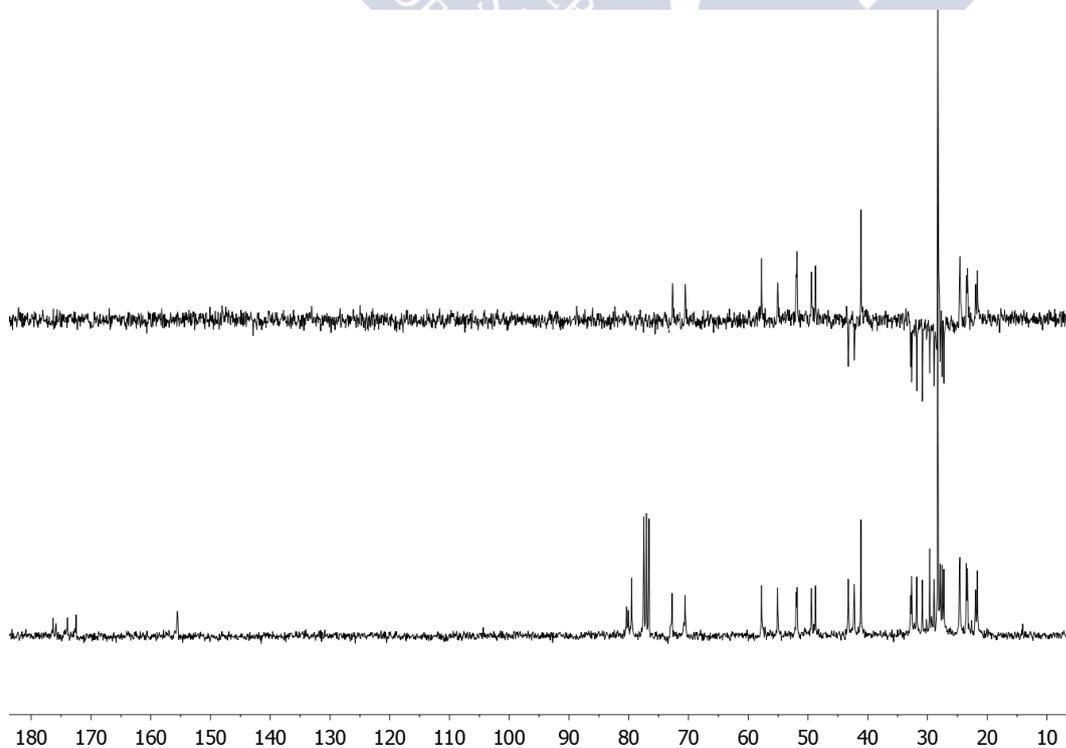
**Boc-D-Ala-L-propargil-N- $\gamma$ -Acp-OMe (dp7)**

$^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 298K, 300 MHz)



$^{13}\text{C}$ -RMN y DEPT ( $\text{CDCl}_3$ , 298K, 75.4 MHz)

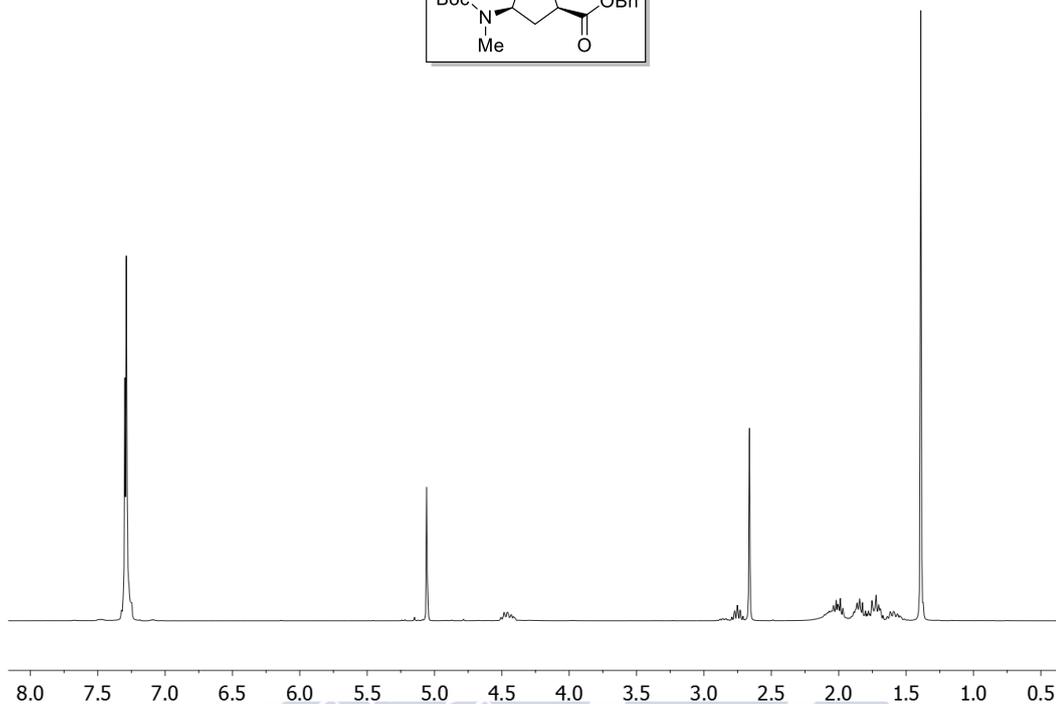
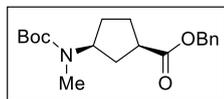


**Boc-D-Leu-L-propargilN-γ-Acp-OMe (dp10)**<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 298K, 300 MHz)<sup>13</sup>C-RMN y DEPT (CDCl<sub>3</sub>, 298K, 75.4 MHz)

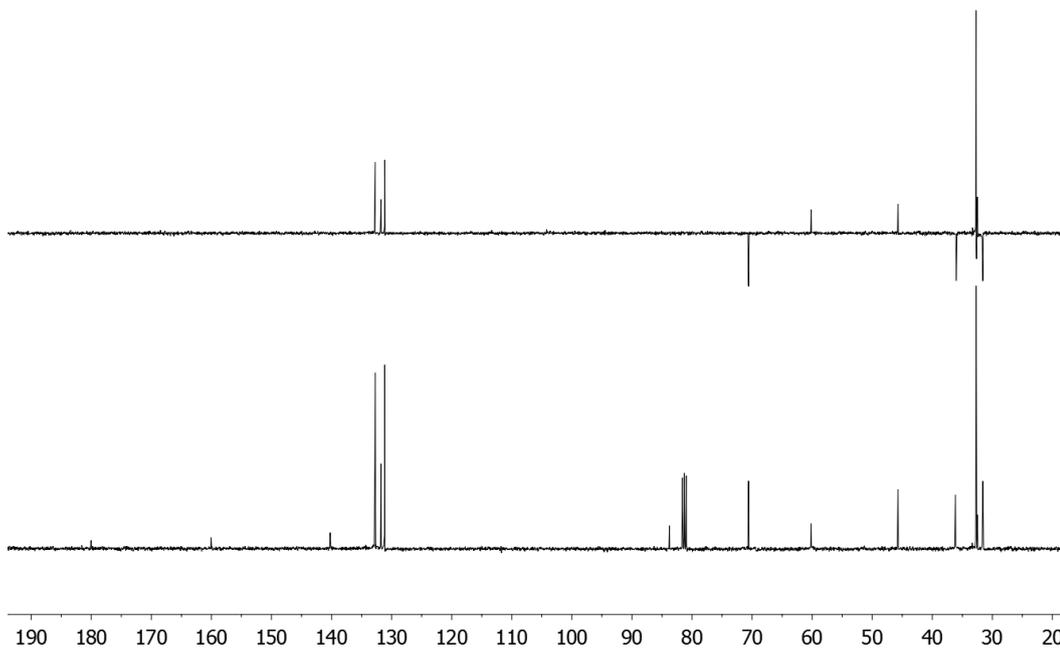
### 3. Espectros de RMN del capítulo 3

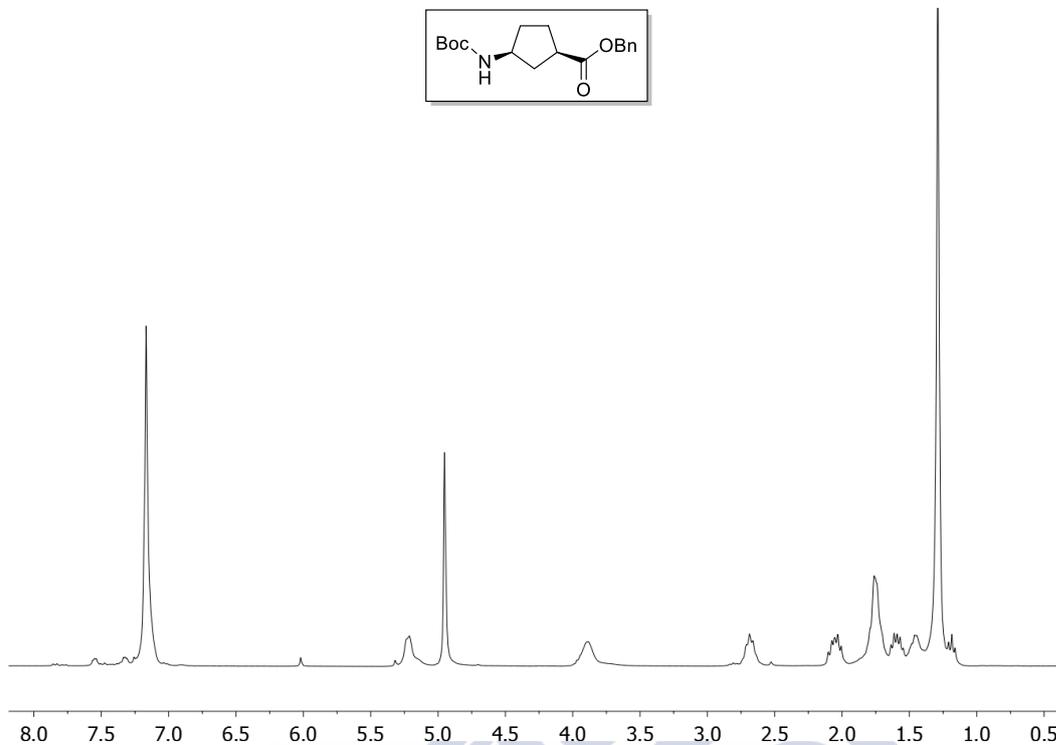
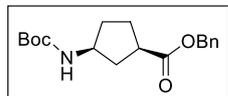
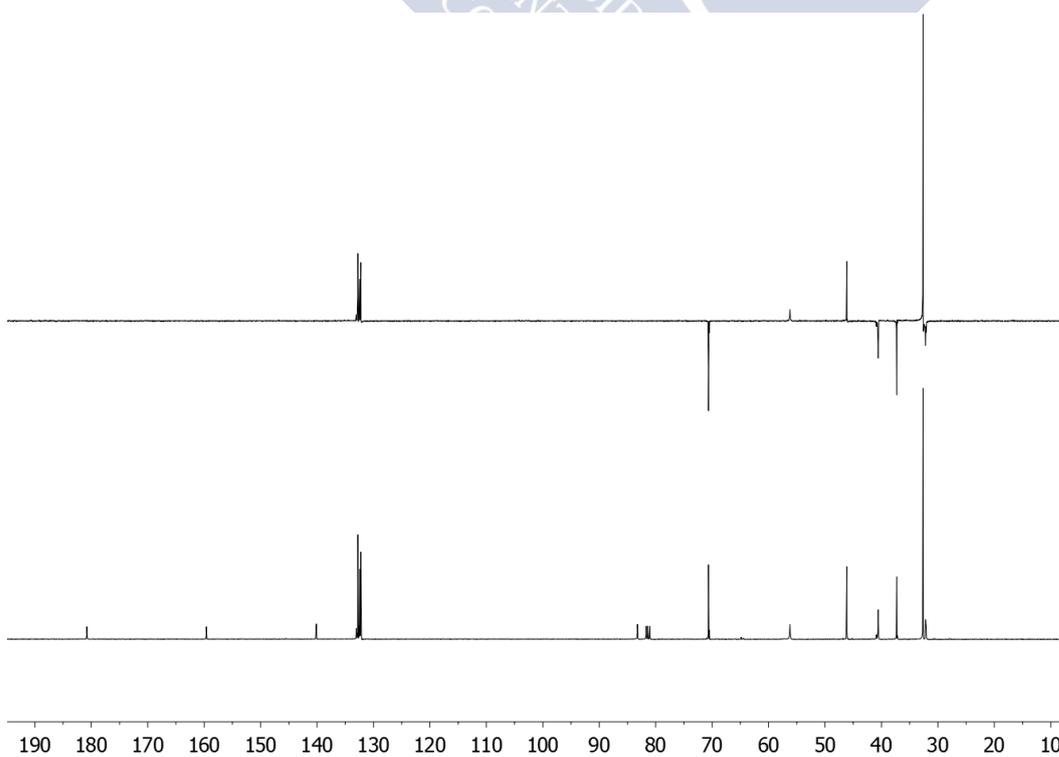
(1*R*,3*S*)-3-[(*tert*-butiloxicarbonil)metilamino]ciclopentanocarboxilato de bencilo (Boc-*L*-MeN- $\gamma$ -Acp-OBn) (10)

$^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 298K, 300 MHz)



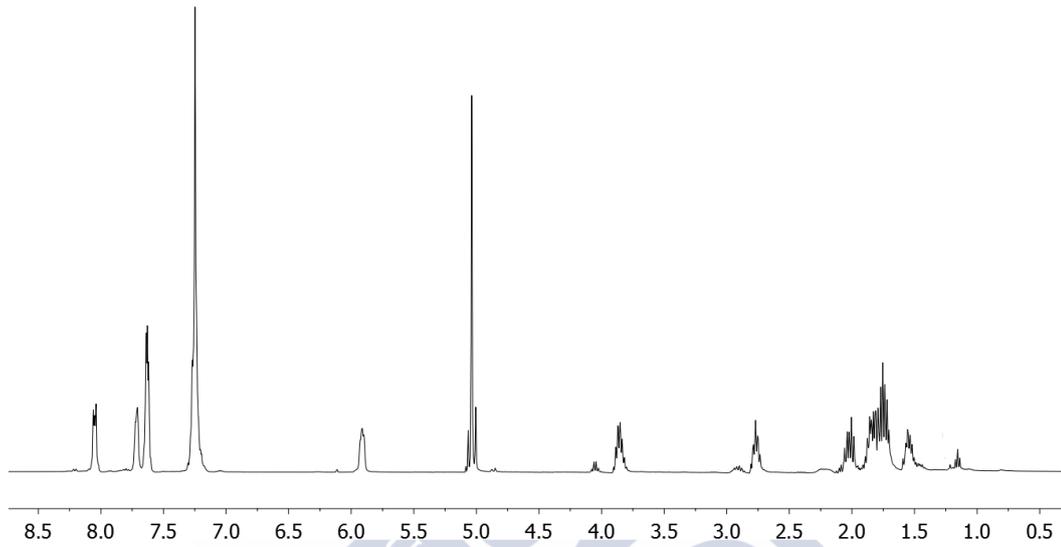
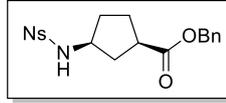
$^{13}\text{C}$ -RMN y DEPT ( $\text{CDCl}_3$ , 298K, 75.4 MHz)



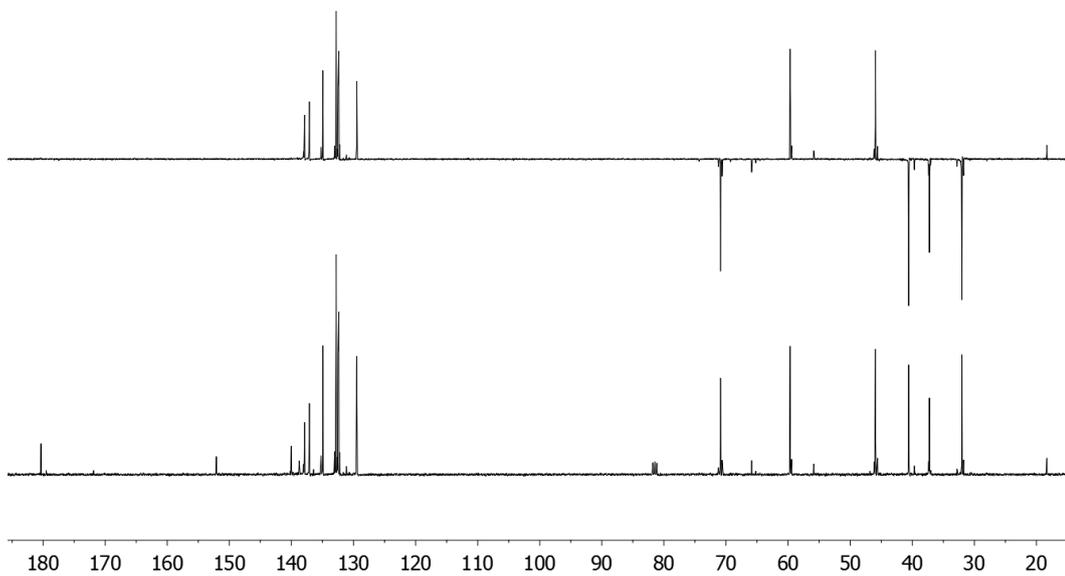
**(1*R*,3*S*)-3-(*tert*-butiloxycarbonilamino)ciclopentanocarboxilato de bencilo (Boc-*L*- $\gamma$ -Acp-OBn) (11)**<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 298K, 300 MHz)<sup>13</sup>C-RMN y DEPT (CDCl<sub>3</sub>, 298K, 75.4 MHz)

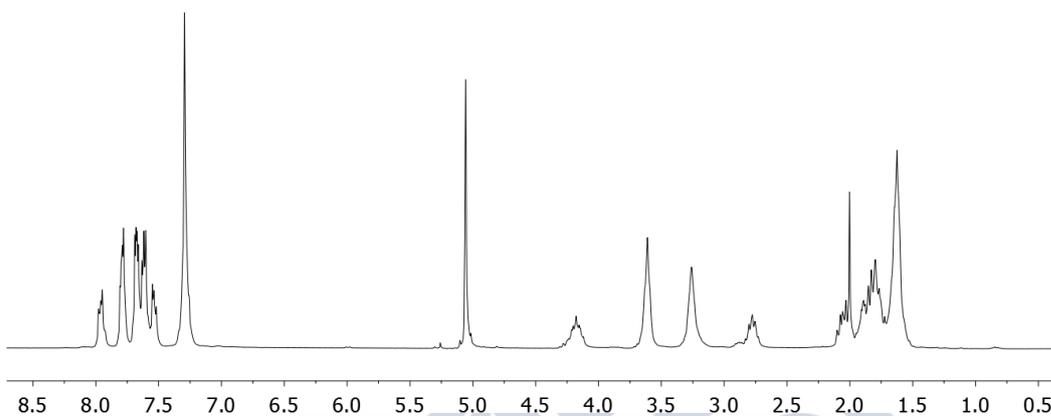
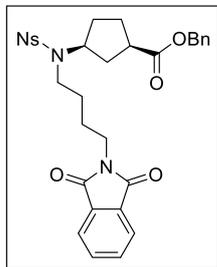
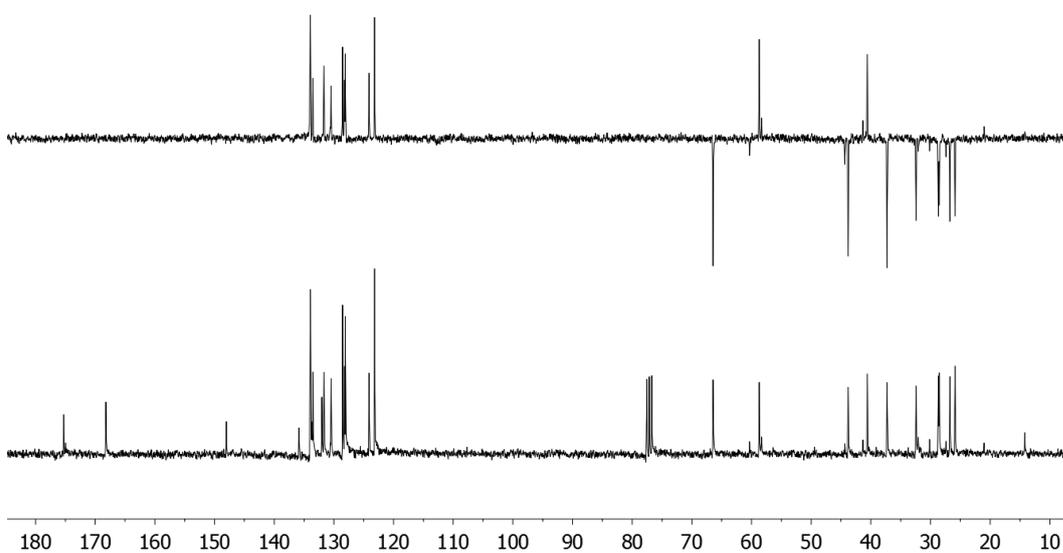
**(1*R*,3*S*)-3-(2-Nitrobenzenosulfonilamino)ciclopentanocarboxilato de bencilo (Ns-*L*- $\gamma$ -Acp-OBn) (12)**

$^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 298K, 300 MHz)



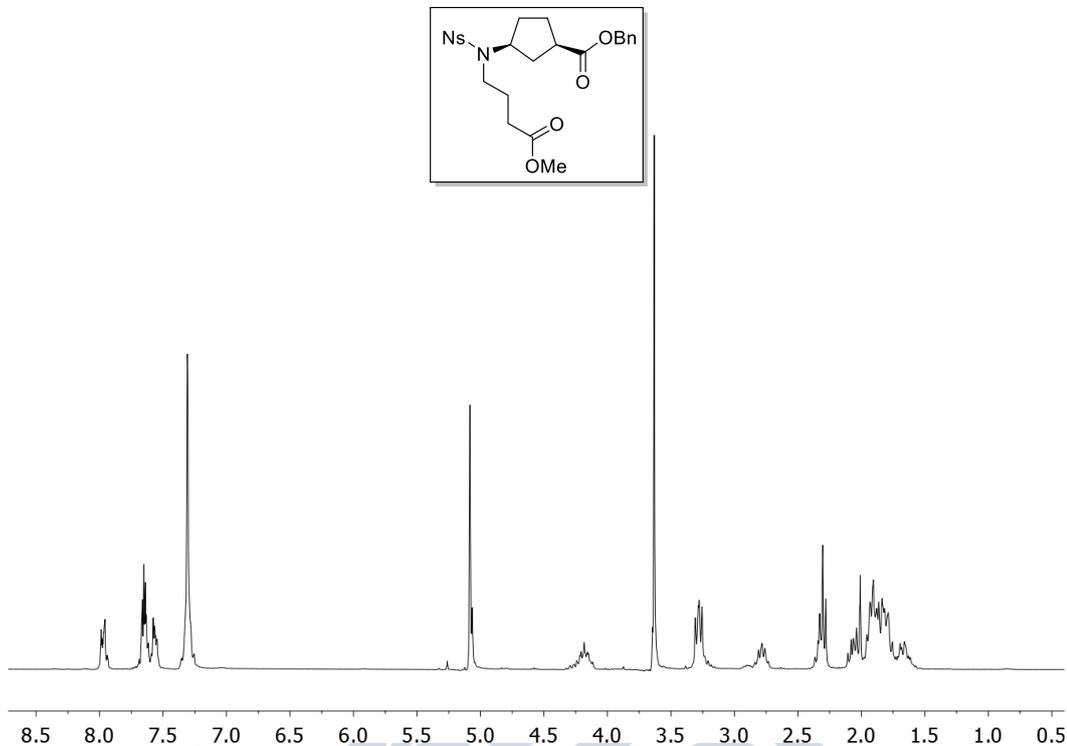
$^{13}\text{C}$ -RMN y DEPT ( $\text{CDCl}_3$ , 298K, 75.4 MHz)



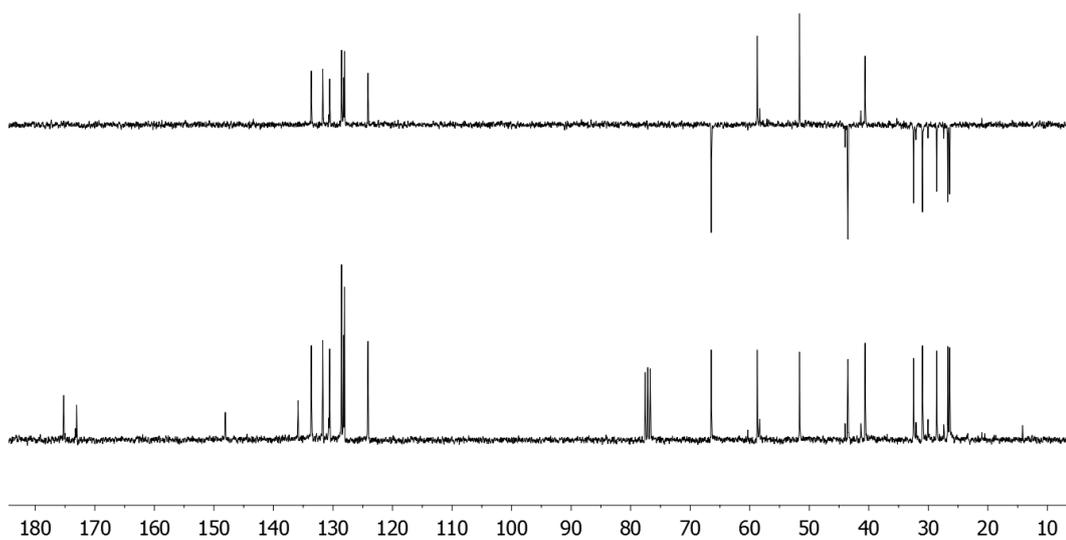
**(1*R*,3*S*)-3-[(2-Nitrobenzenosulfonil)4-ftalimidobutilamino]ciclopentanocarboxilato de bencilo (Ns-*L*-PhthN(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>N- $\gamma$ -Acp-OBn) (13)**<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 298K, 300 MHz)<sup>13</sup>C-RMN y DEPT (CDCl<sub>3</sub>, 298K, 75.4 MHz)

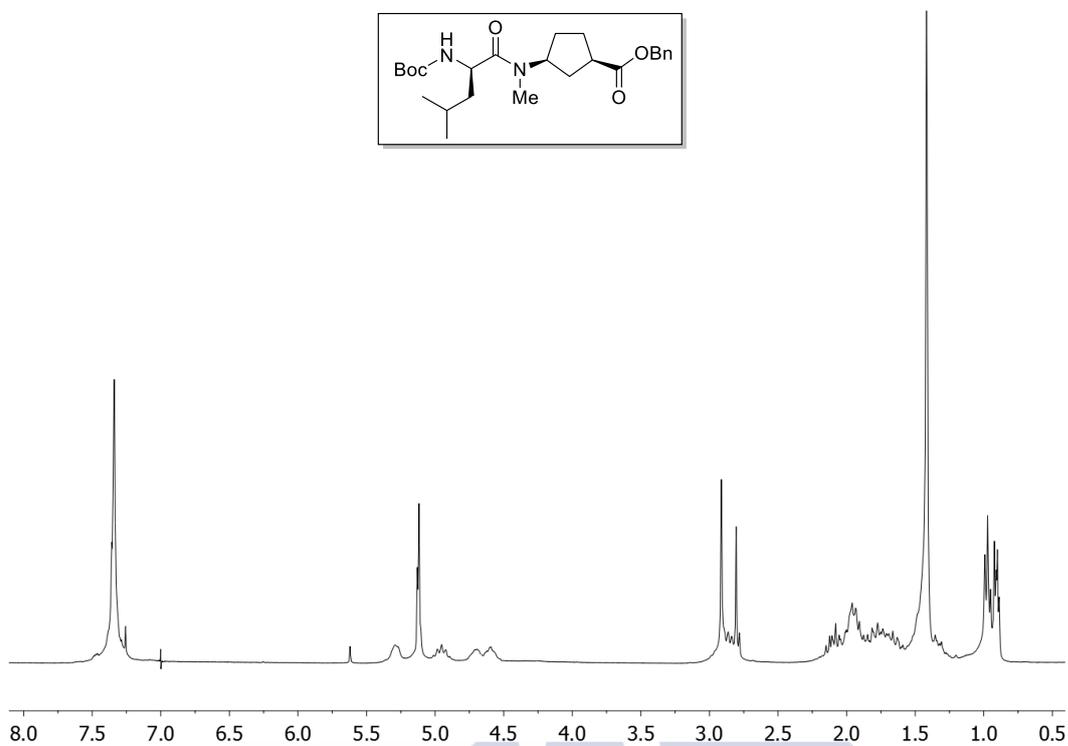
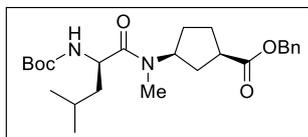
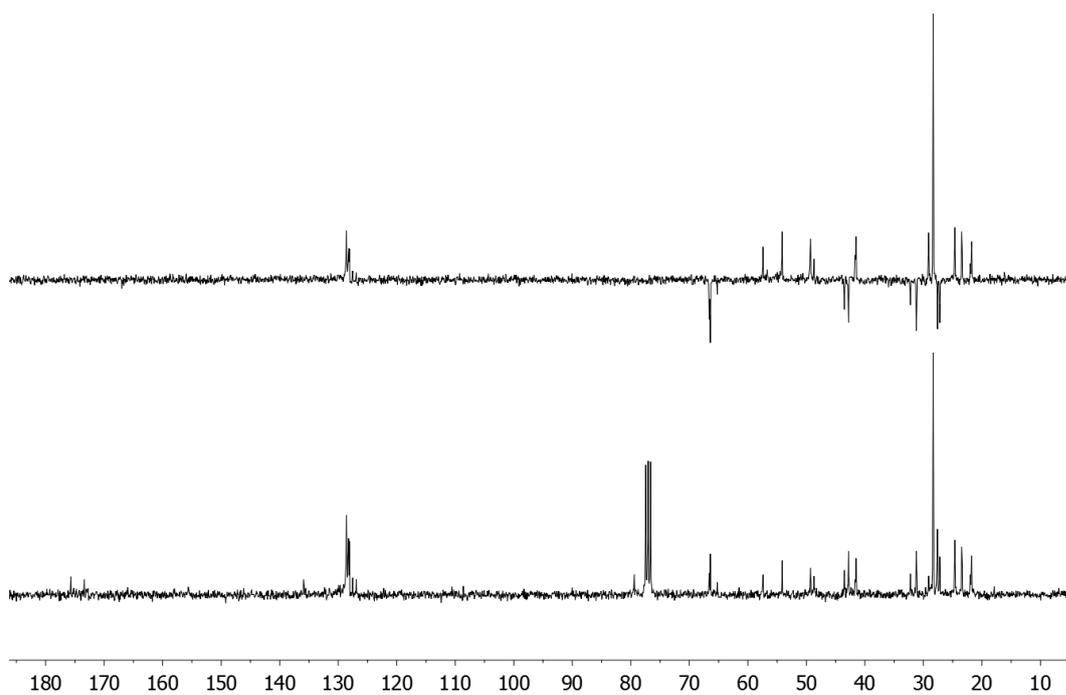
**(1*R*,3*S*)-3-[(2-Nitrobenzenosulfonyl)4-metiloxibutilamino]ciclopentanocarboxilato de bencilo (Ns-*L*-MeO<sub>2</sub>C(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>N- $\gamma$ -Acp-OBn) (14)**

<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 298K, 300 MHz)



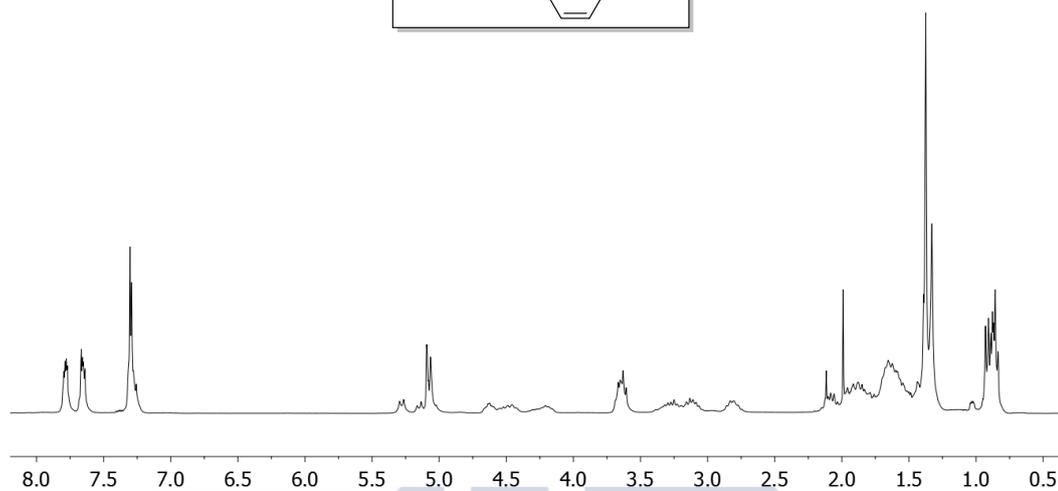
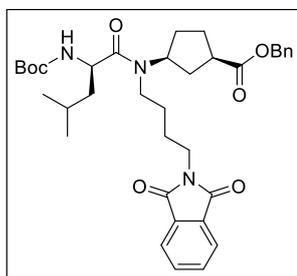
<sup>13</sup>C-RMN y DEPT (CDCl<sub>3</sub>, 298K, 75.4 MHz)



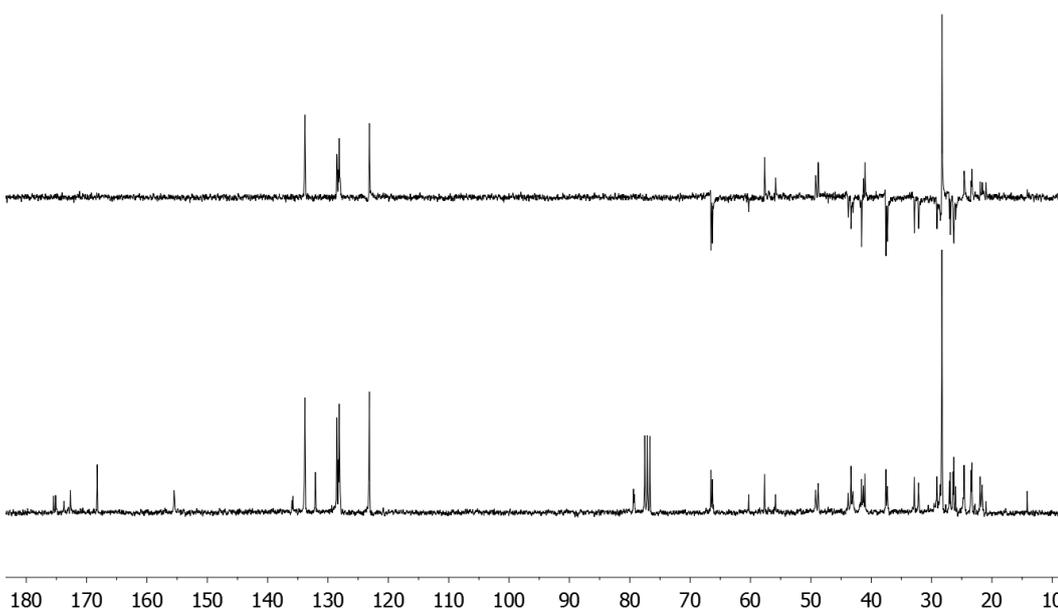
**Boc-D-Leu-L-MeN- $\gamma$ -Acp-OBn (dp13)** $^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 298K, 300 MHz) $^{13}\text{C}$ -RMN y DEPT ( $\text{CDCl}_3$ , 298K, 75.4 MHz)

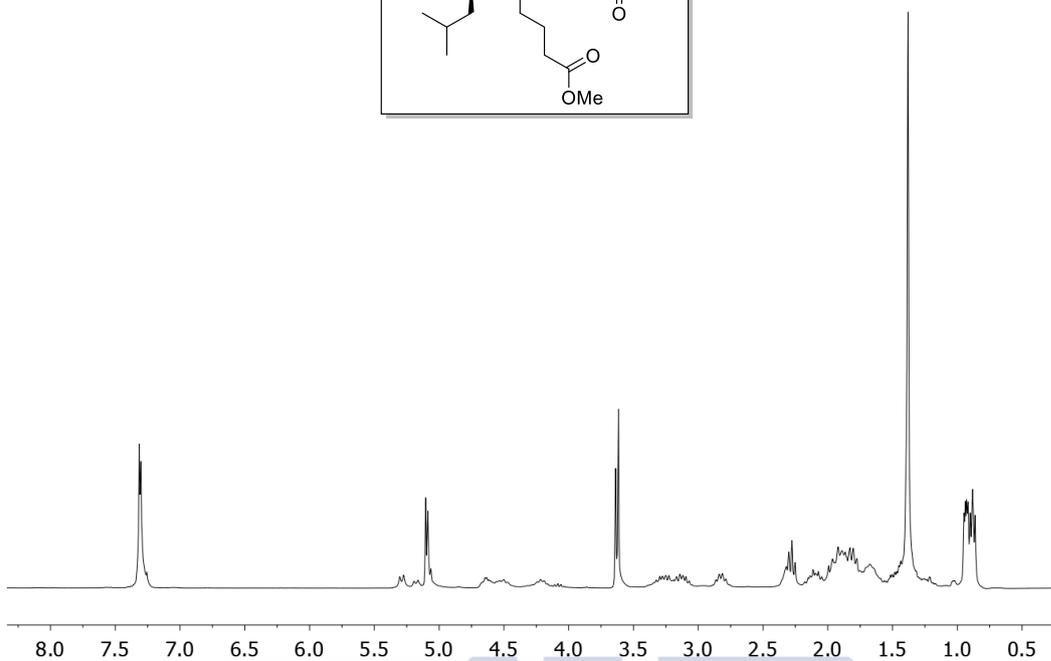
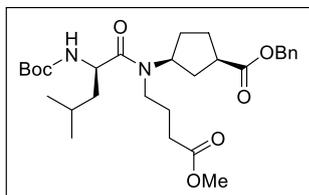
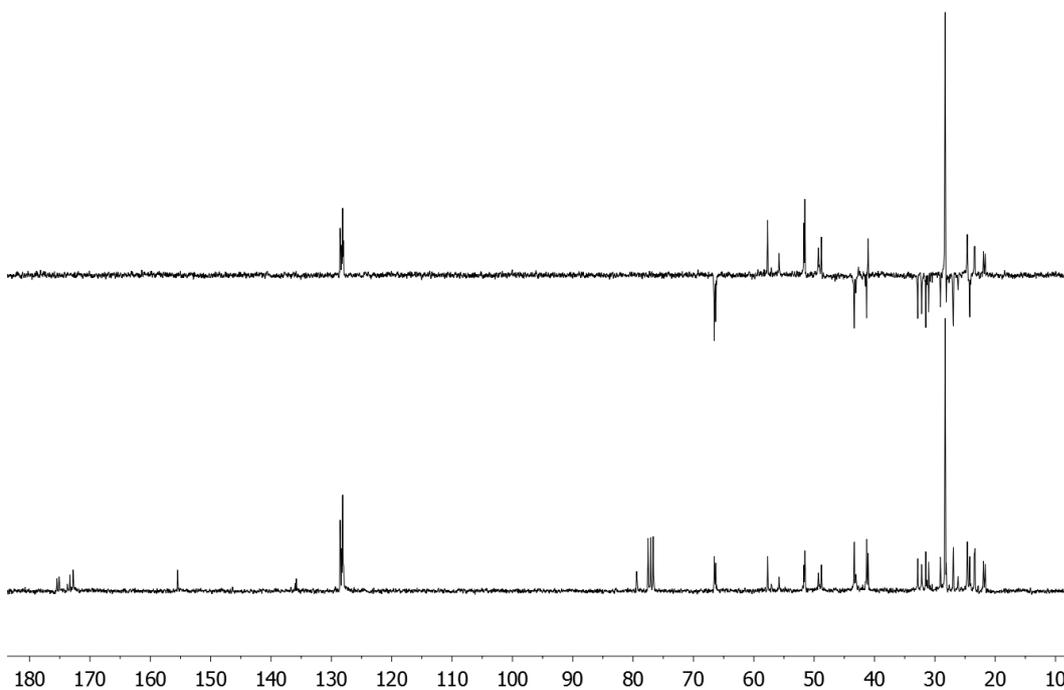
**Boc-D-Leu-L-<sup>Phth</sup>N(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>N-γ-Acp-OBn (dp14)**

<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 298K, 300 MHz)



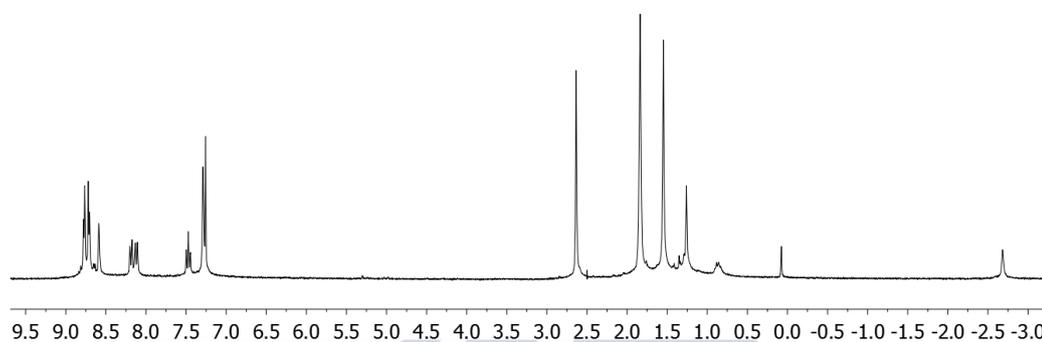
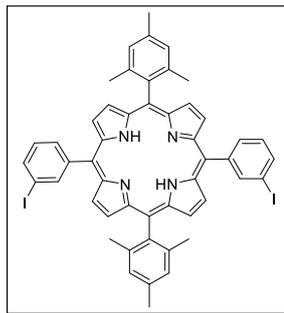
<sup>13</sup>C-RMN y DEPT (CDCl<sub>3</sub>, 298K, 75.4 MHz)



**Boc-D-Leu-L-MeO<sub>2</sub>C(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>N-γ-Acp-OBn (dp15)**<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 298K, 300 MHz)<sup>13</sup>C-RMN y DEPT (CDCl<sub>3</sub>, 298K, 75.4 MHz)

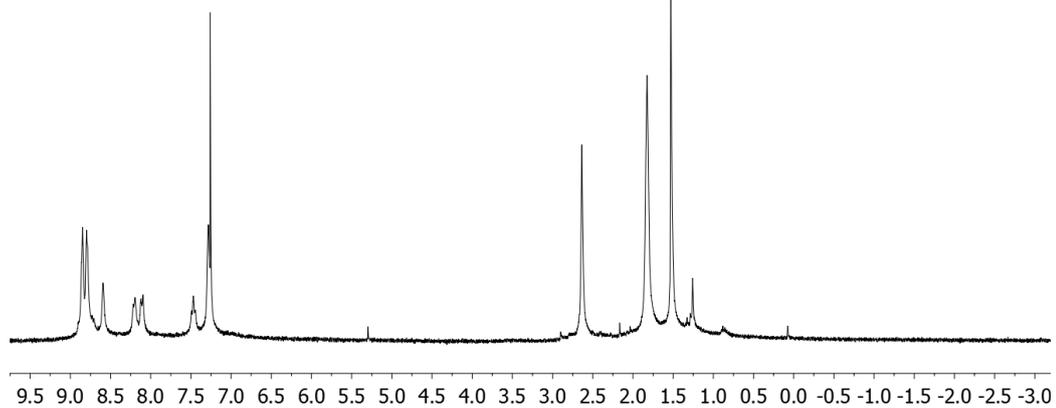
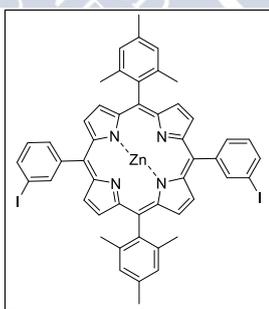
**5,15-bis(3-yodofenil)-10,20-dimesitilporfirina (18)**

$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 298K, 300 MHz)

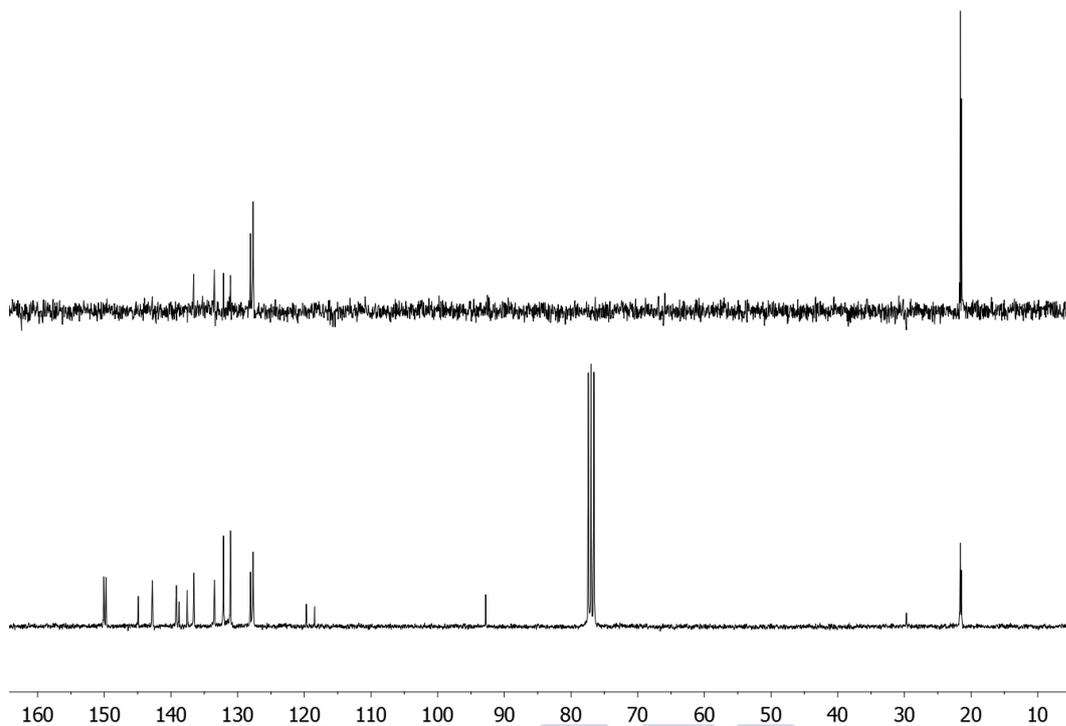


**5,15-bis(3-yodofenil)-10,20-dimesitilporfirinato-zinc(II) (19)**

$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 298K, 300 MHz)

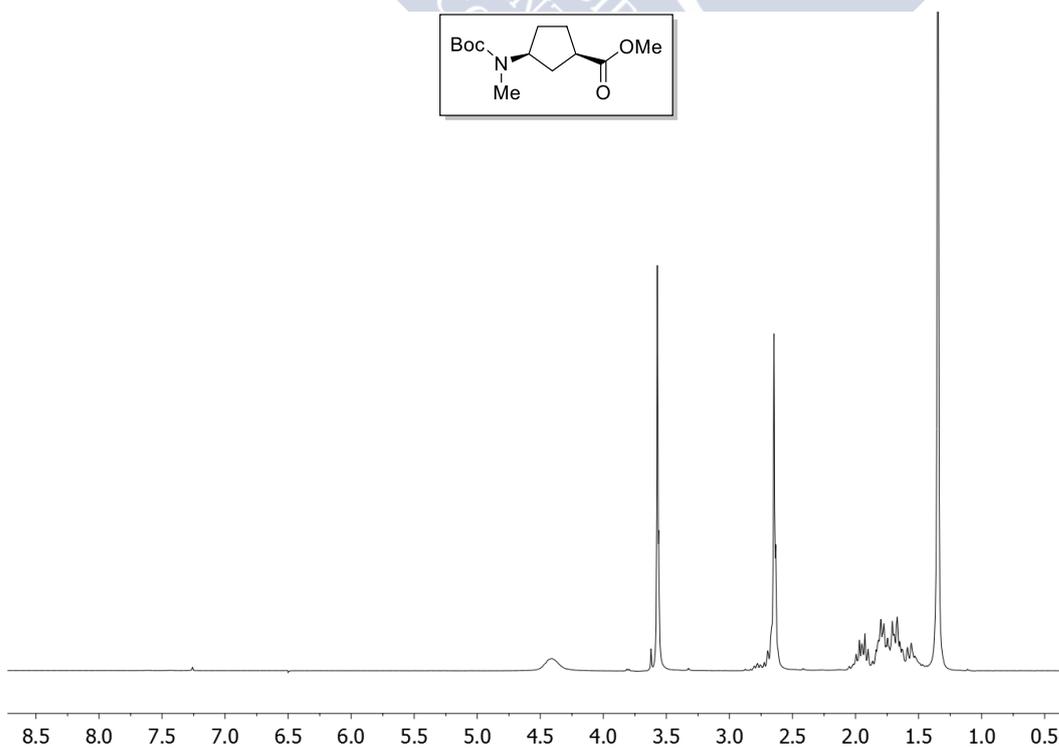
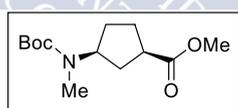


$^{13}\text{C}$ -RMN y DEPT ( $\text{CDCl}_3$ , 298K, 75.4 MHz)

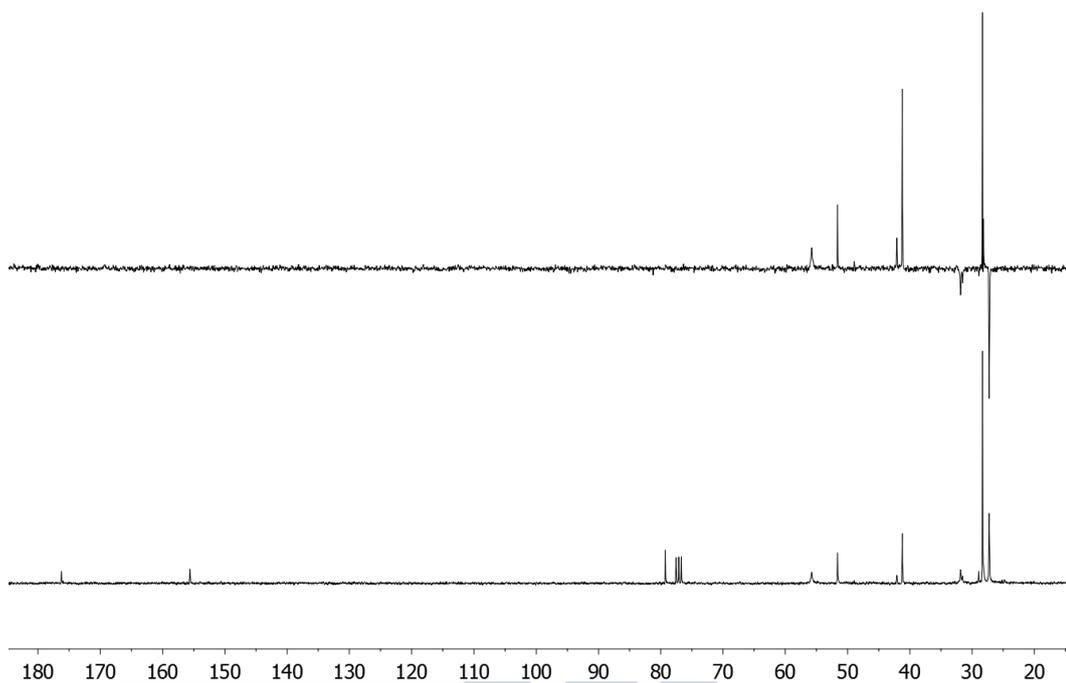


**(1*R*,3*S*)-3-[(*tert*-butyloxycarbonyl)metilamino]ciclopentanocarboxilato de metilo (Boc-*L*-MeN- $\gamma$ -Acp-OMe) (20)**

$^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 298K, 300 MHz)

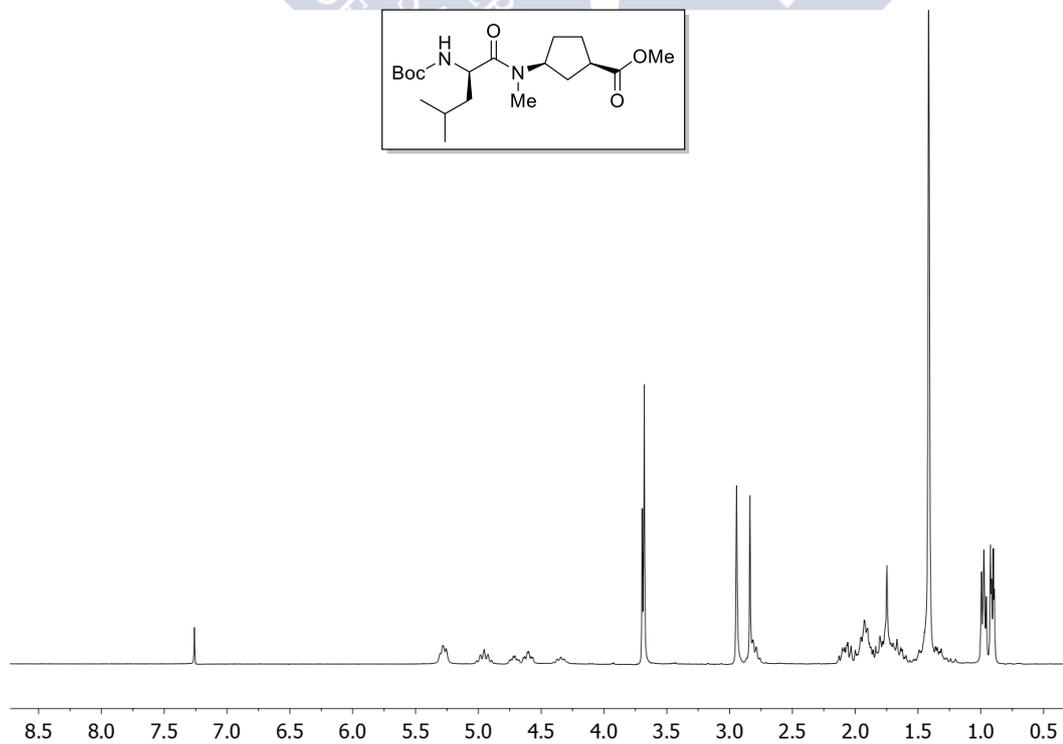
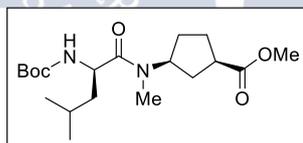


$^{13}\text{C}$ -RMN y DEPT ( $\text{CDCl}_3$ , 298K, 75.4 MHz)

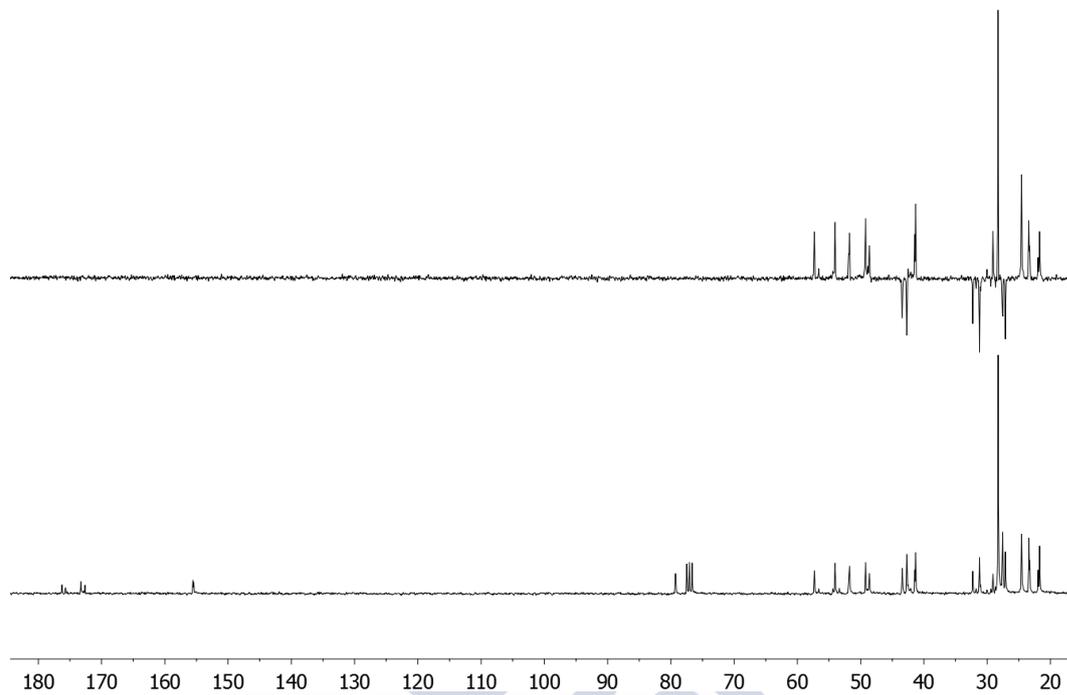


**Boc-D-Leu-L-MeN- $\gamma$ -Acp-OMe (dp19)**

$^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 298K, 300 MHz)

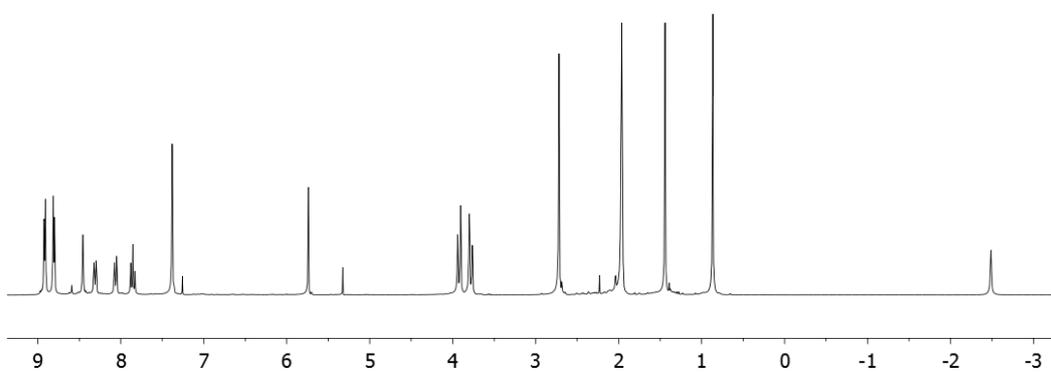
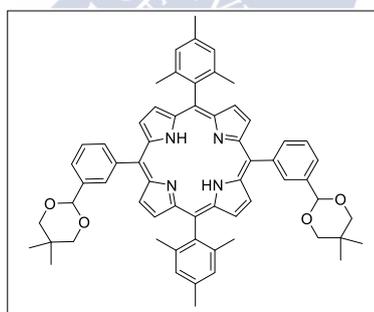


$^{13}\text{C}$ -RMN y DEPT ( $\text{CDCl}_3$ , 298K, 75.4 MHz)

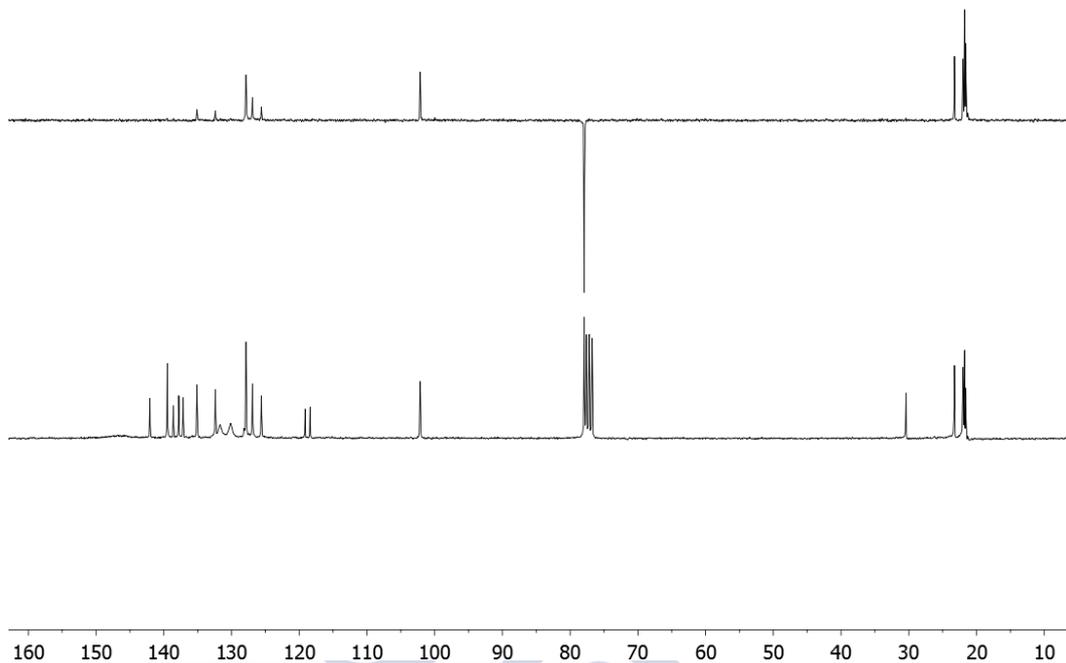


**5,15-bis[3-(5,5-dimetil-1,3-dioxan-2-il)fenil]-10,20-dimesitilporfirina (23)**

$^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 298K, 300 MHz)

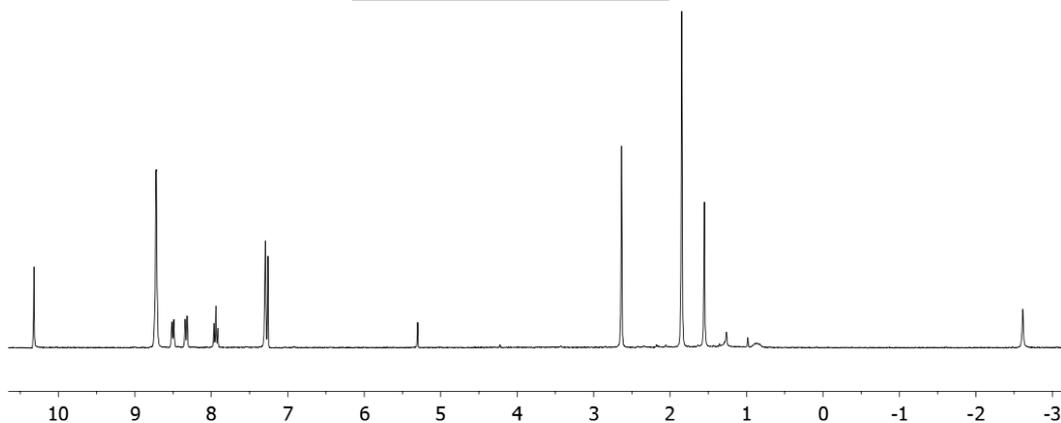
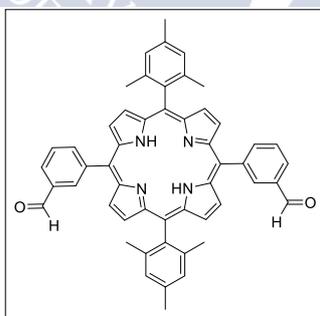


$^{13}\text{C}$ -RMN y DEPT ( $\text{CDCl}_3$ , 298K, 75.4 MHz)

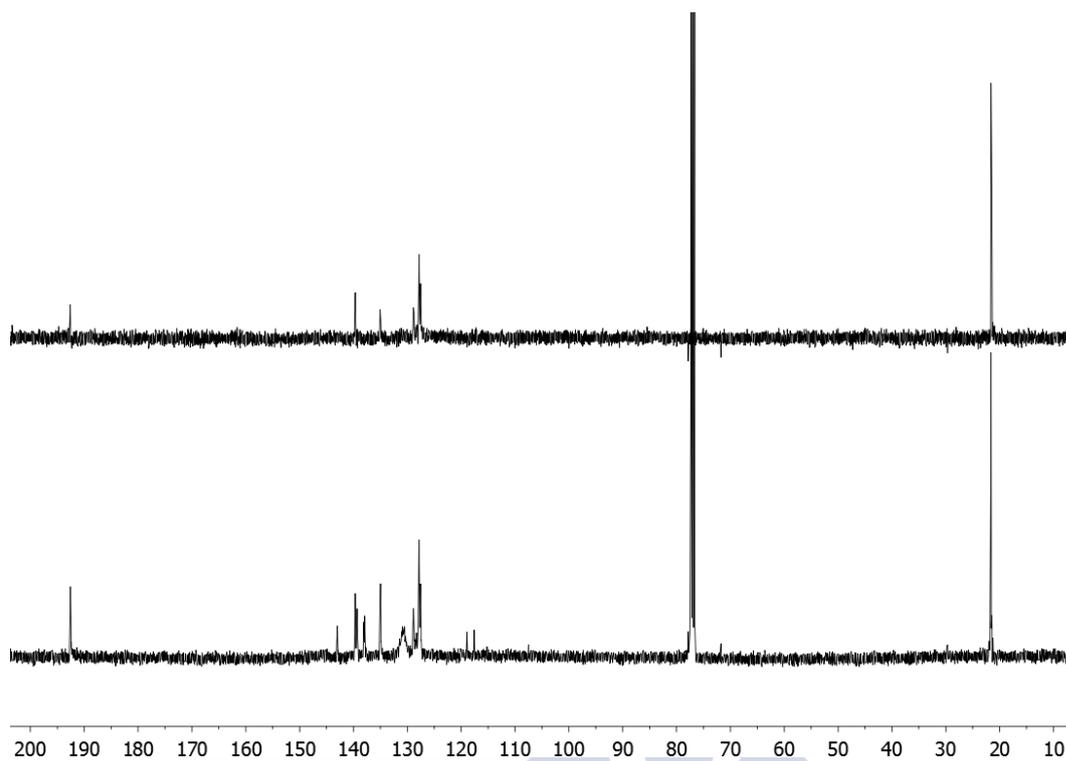


**5,15-bis(3-formilfenil)-10,20-dimesitilporfirina (24)**

$^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 298K, 300 MHz)

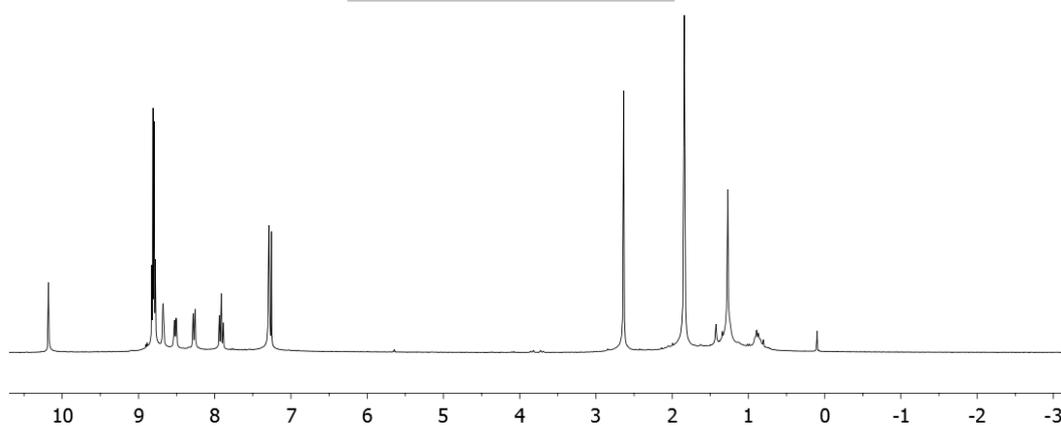
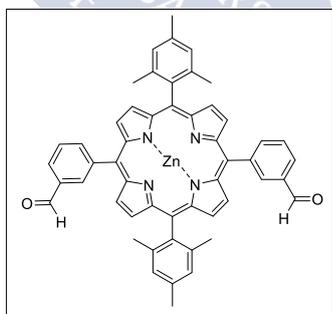


$^{13}\text{C}$ -RMN y DEPT ( $\text{CDCl}_3$ , 298K, 75.4 MHz)

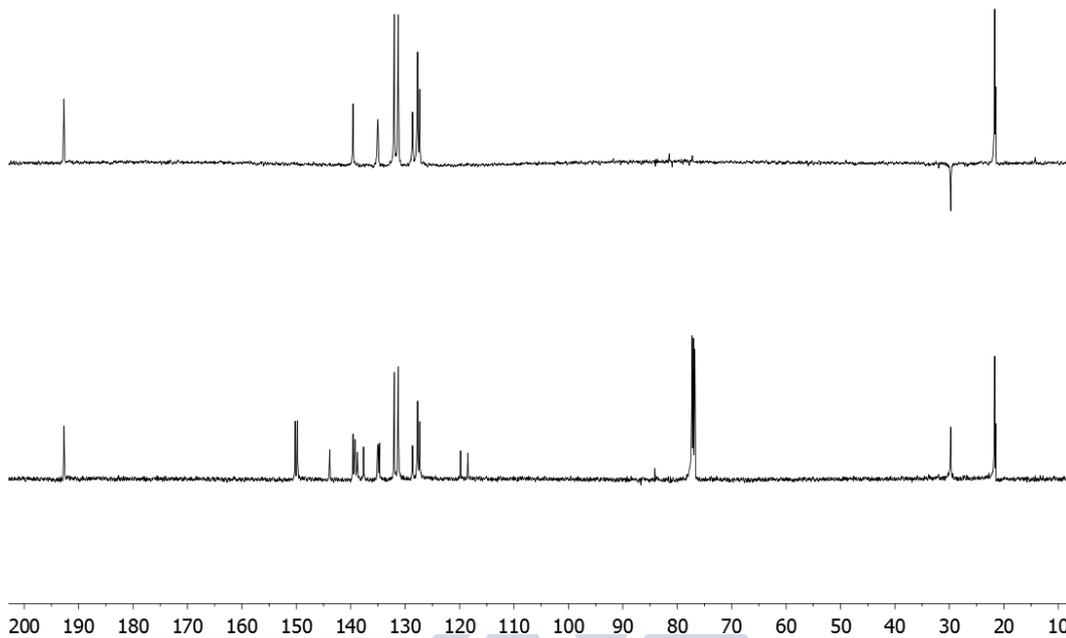


**5,15-bis(3-formilfenil)-10,20-dimesitilporfinatozinc(II) (25)**

$^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 298K, 300 MHz)

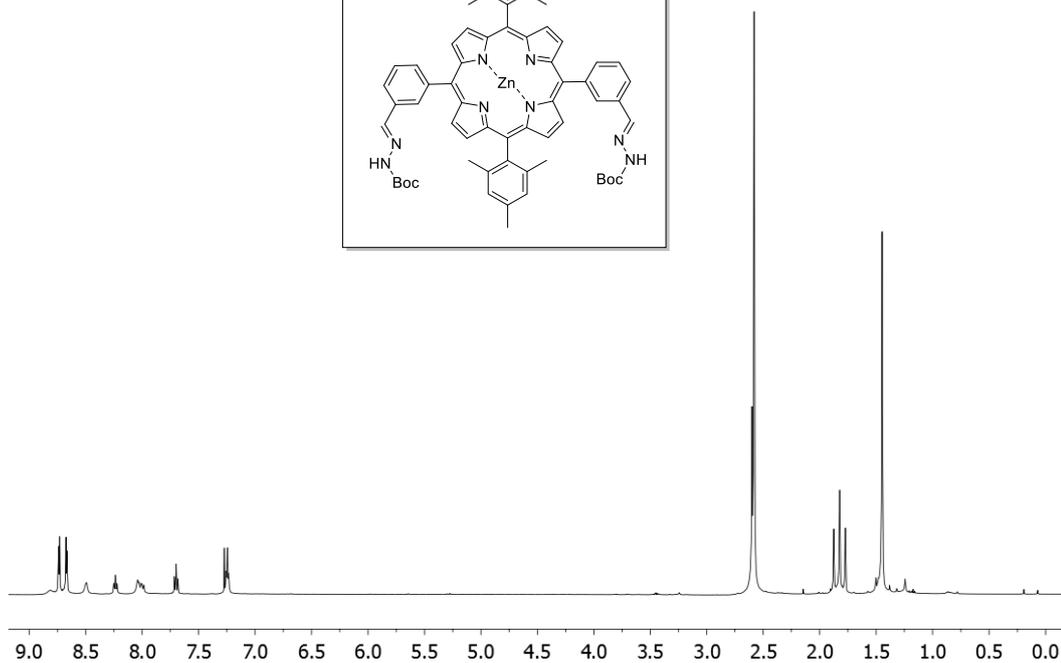
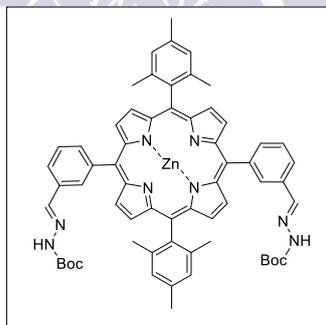


$^{13}\text{C}$ -RMN y DEPT ( $\text{CDCl}_3$ , 298K, 75.4 MHz)

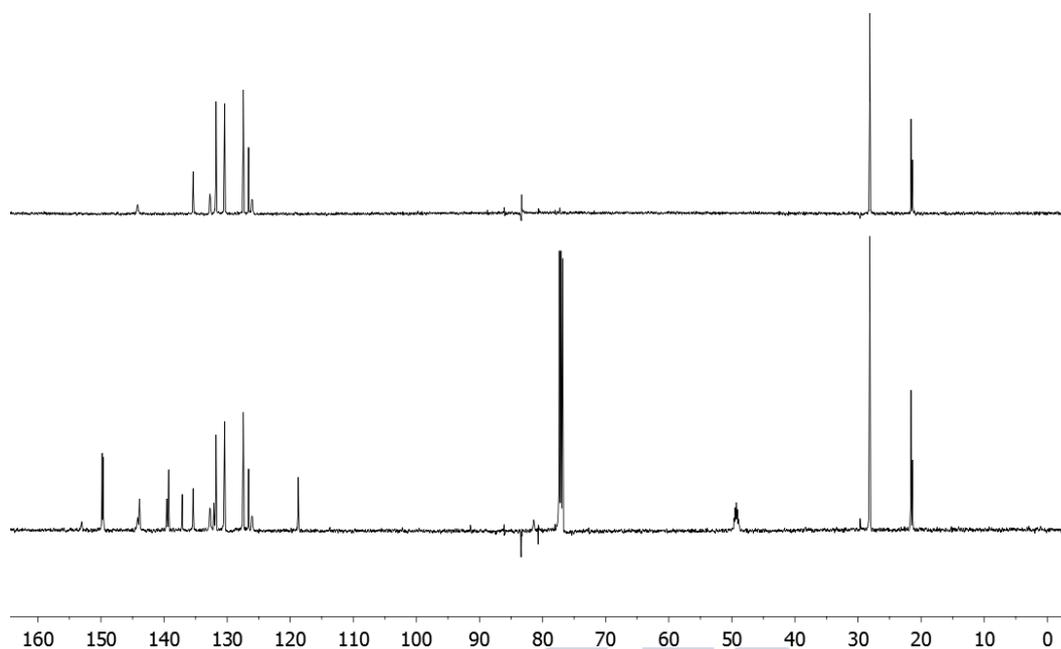


**5,15-bis[3-[(2-*tert*-butoxicarbonil)-hidrazono-il]fenil]-10,20-dimesitilporfinatozinc(II) (26)**

$^1\text{H}$ -RMN (10%  $\text{MeOH-d}_3/\text{CDCl}_3$ , 298K, 500 MHz)

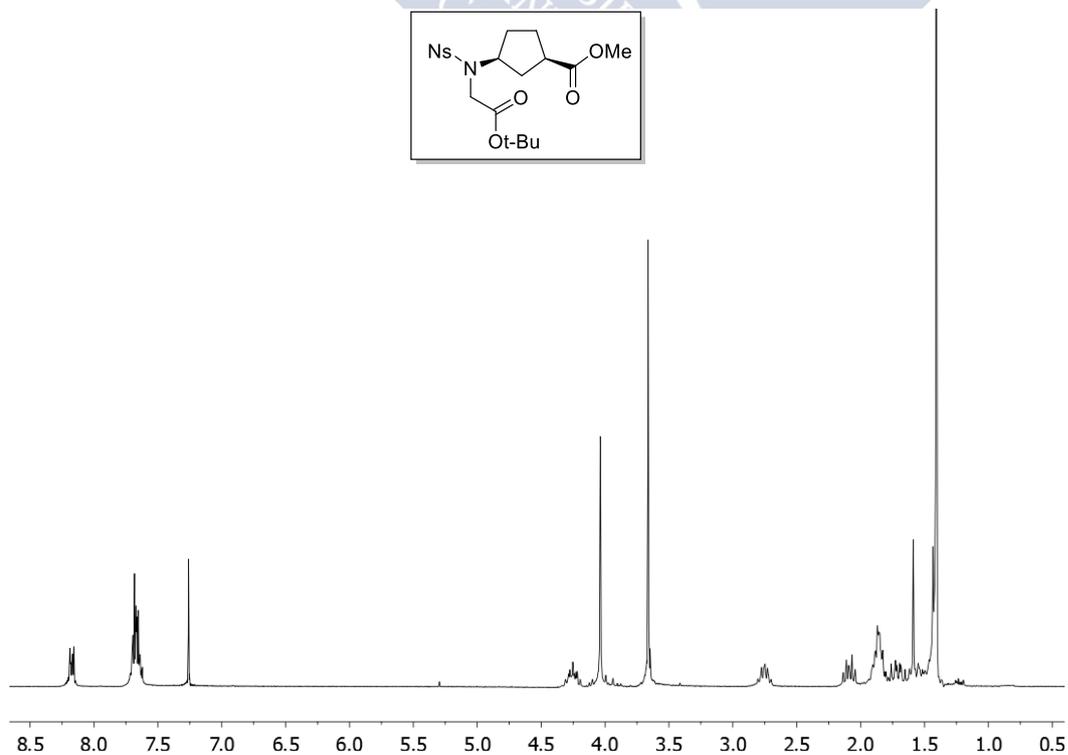
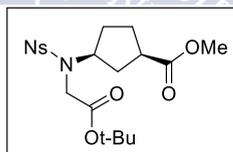


$^{13}\text{C}$ -RMN y DEPT (10% MeOH- $d_3$ /CDCl $_3$ , 298K, 75.4 MHz)

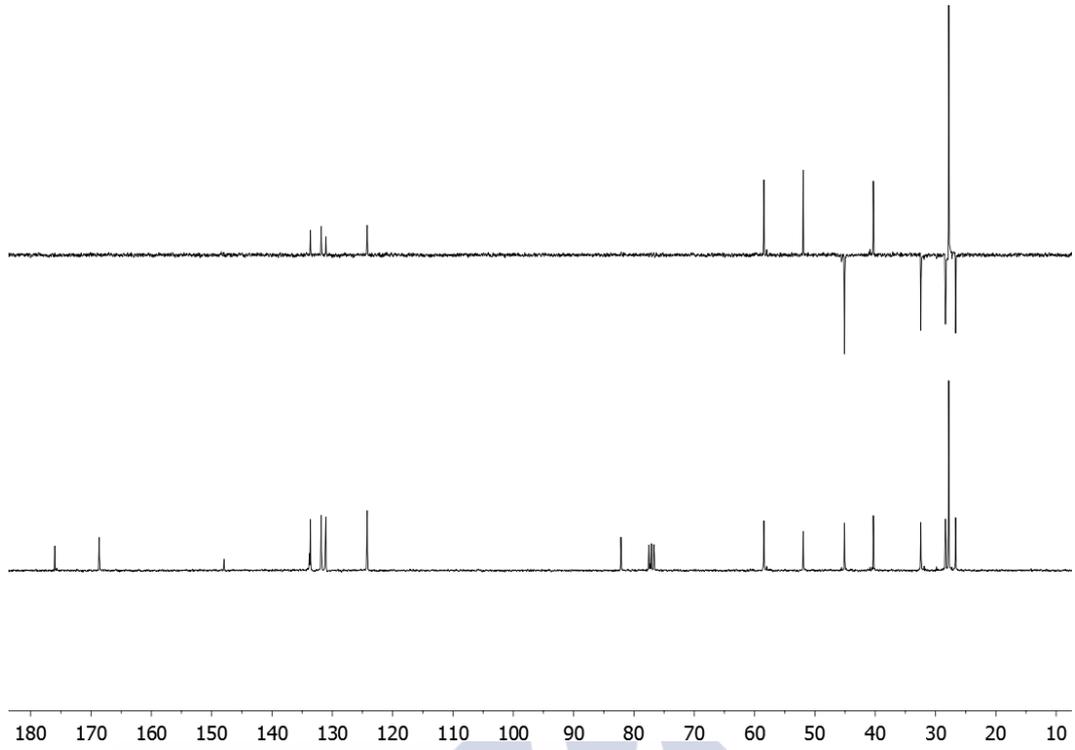


**(1*R*,3*S*)-3-[(2-Nitrobenzenosulfonyl)*tert*-butilacetilamino]ciclopentanocarboxilato metilo (Ns-*L*-*t*-BuOAcN- $\gamma$ -Acp-OMe) (27)** de

$^1\text{H}$ -RMN (CDCl $_3$ , 298K, 300 MHz)

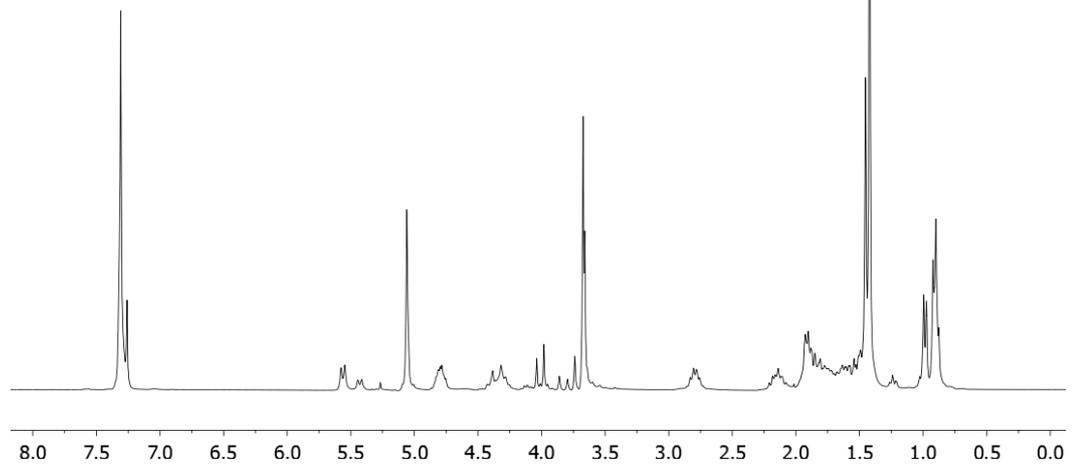
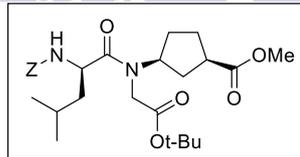


$^{13}\text{C}$ -RMN y DEPT ( $\text{CDCl}_3$ , 298K, 75.4 MHz)

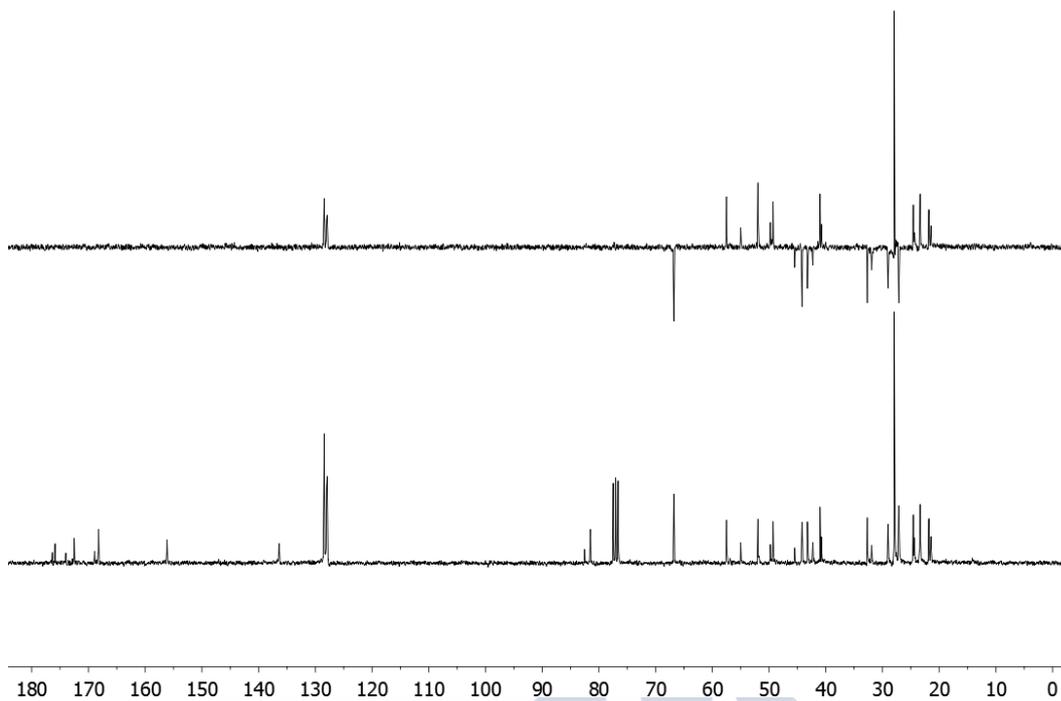


**Z-D-Leu-L-*t*-BuOAcN- $\gamma$ -Acp-OMe (dp21)**

$^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 298K, 300 MHz)

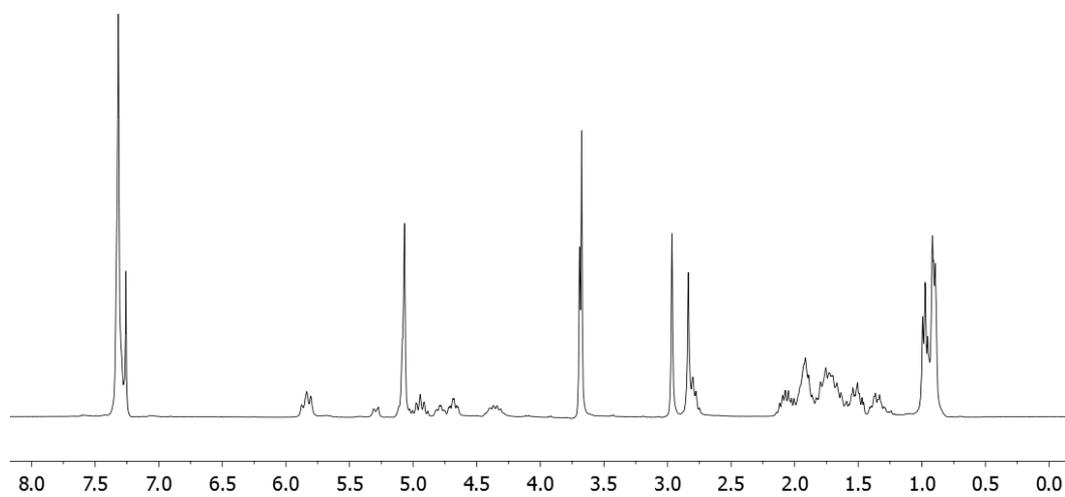
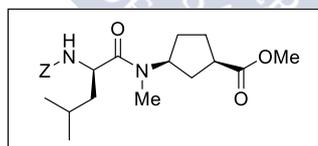


$^{13}\text{C}$ -RMN y DEPT ( $\text{CDCl}_3$ , 298K, 75.4 MHz)

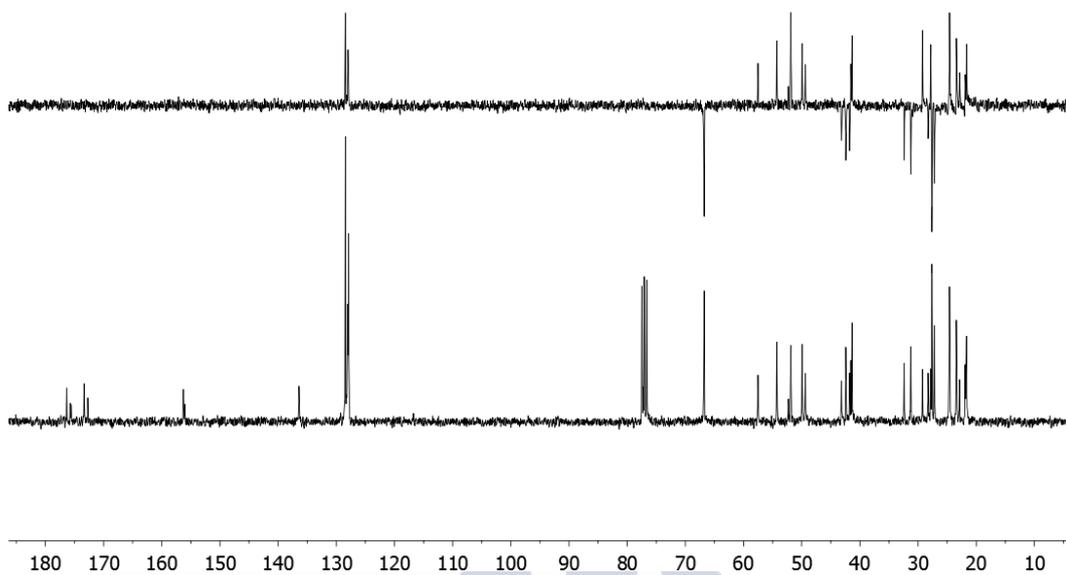


**Z-D-Leu-L-MeN- $\gamma$ -Acp-OMe (dp23)**

$^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 298K, 300 MHz)

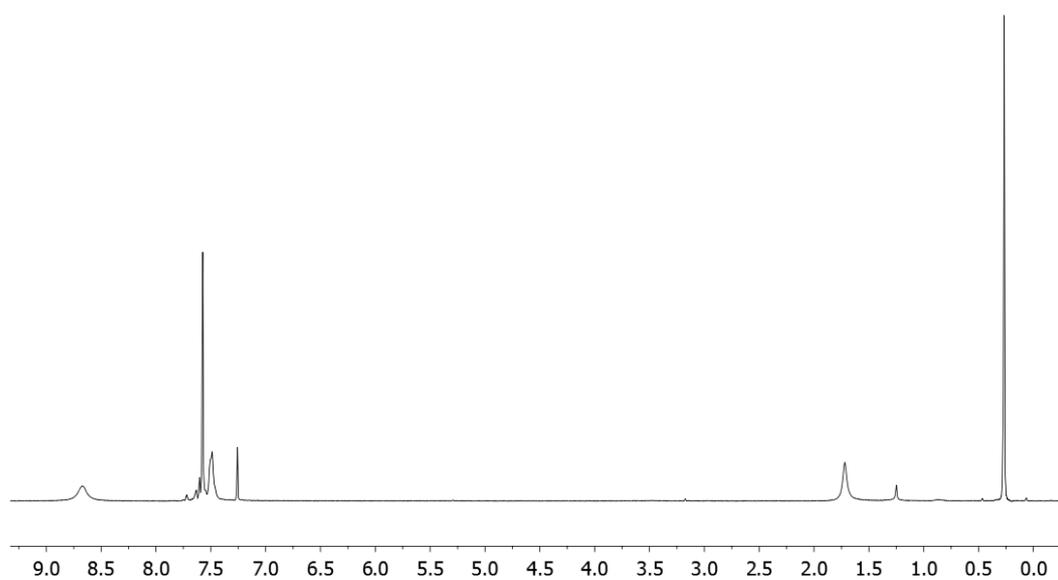
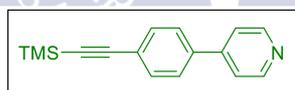


$^{13}\text{C}$ -RMN y DEPT ( $\text{CDCl}_3$ , 298K, 75.4 MHz)

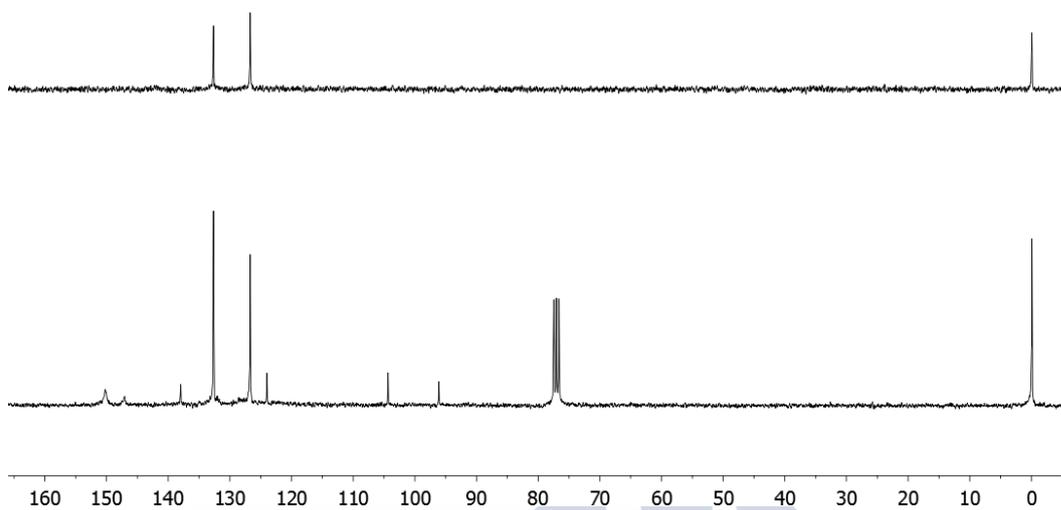


**4-{4-[(Trimetilsilil)etnil]fenil}piridina (L1c)**

$^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 298K, 300 MHz)

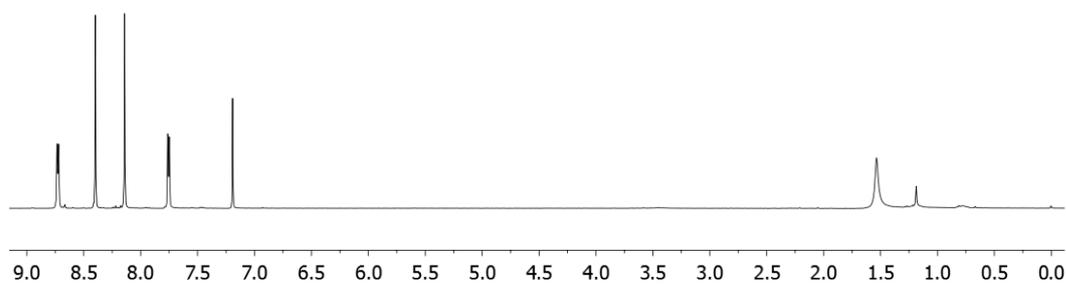
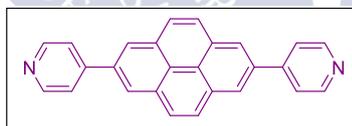


$^{13}\text{C}$ -RMN y DEPT ( $\text{CDCl}_3$ , 298K, 75.4 MHz)

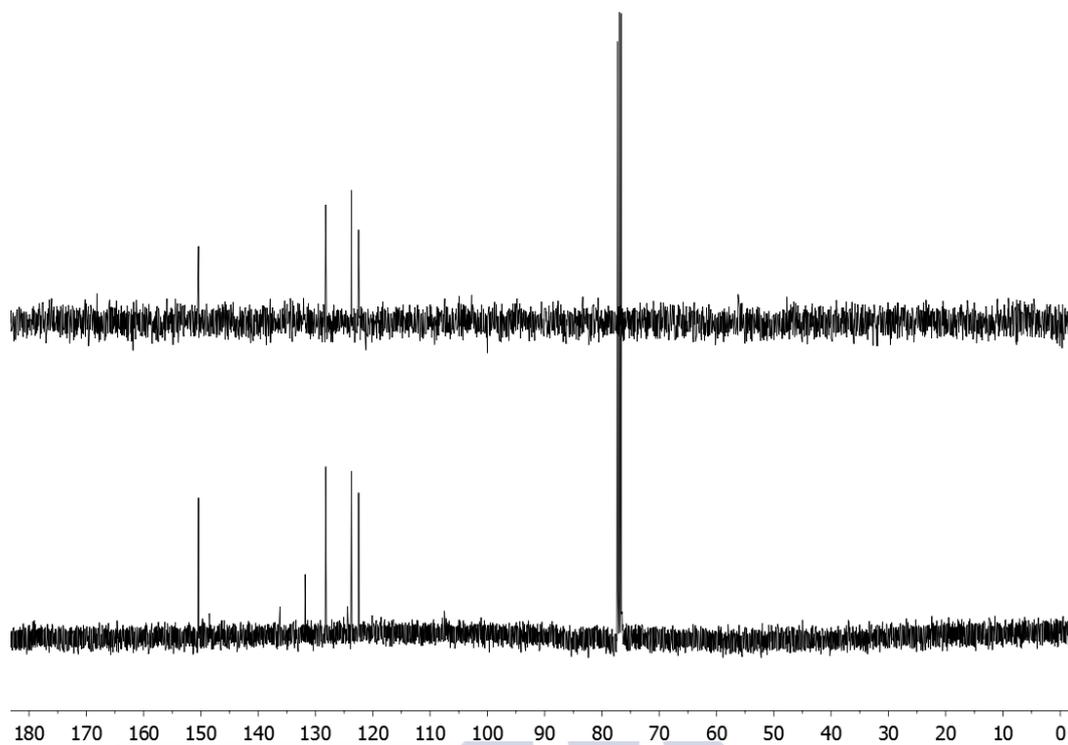


**2,7-di(piridin-4-il)pireno (L3)**

$^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 298K, 400 MHz)

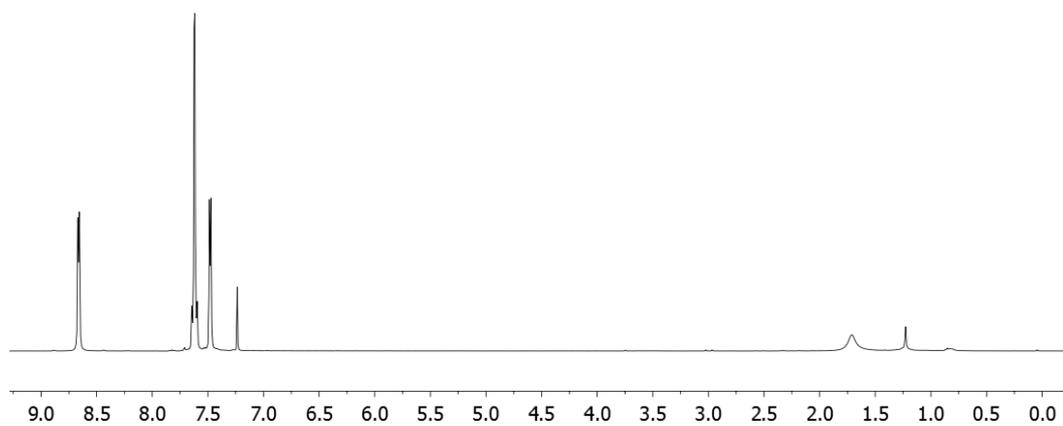


$^{13}\text{C}$ -RMN y DEPT ( $\text{CDCl}_3$ , 298K, 75.4 MHz)

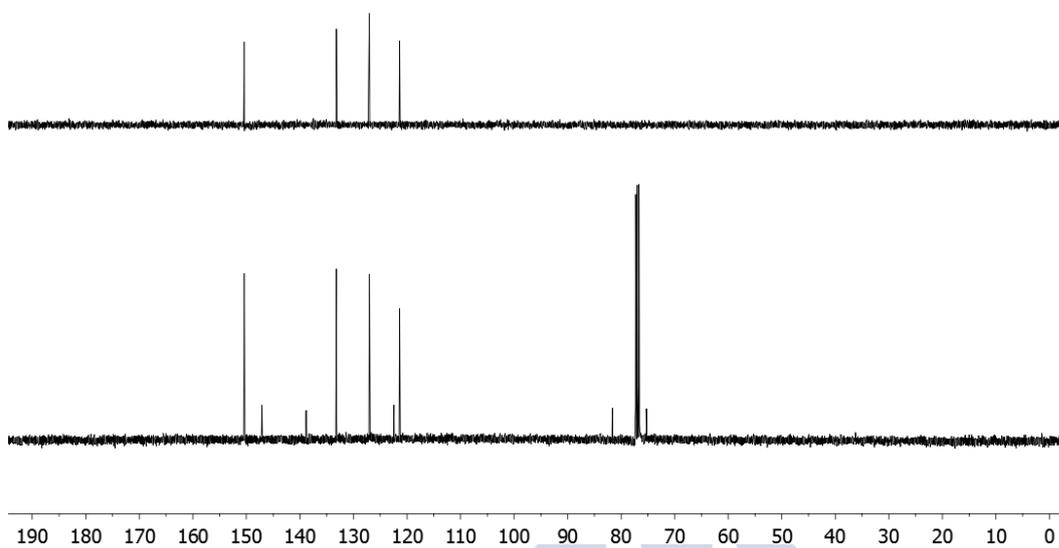


**1,4-bis[4-(piridin-4-il)fenil]buta-1,3-diino (L8)**

$^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 298K, 400 MHz)

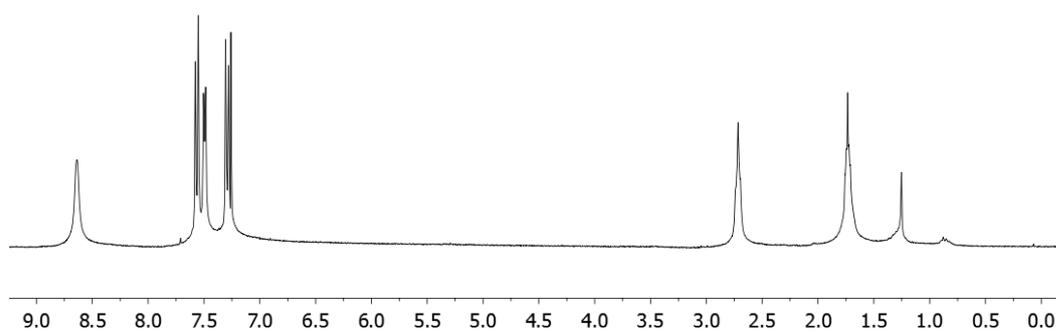
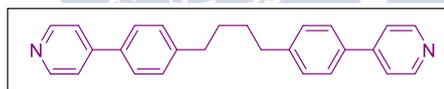


$^{13}\text{C}$ -RMN y DEPT ( $\text{CDCl}_3$ , 298K, 75.4 MHz)

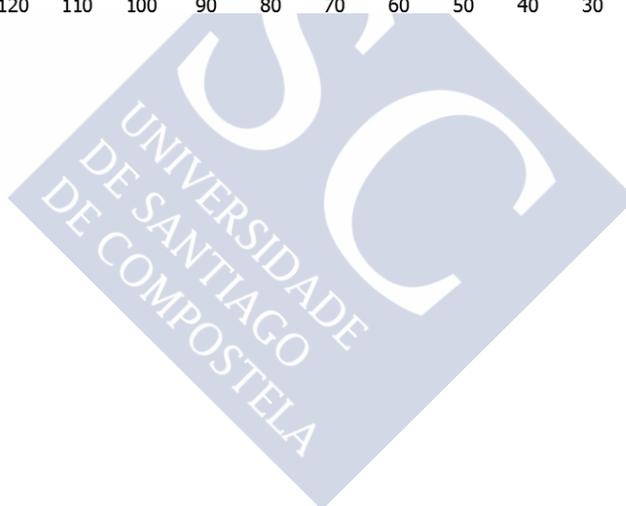
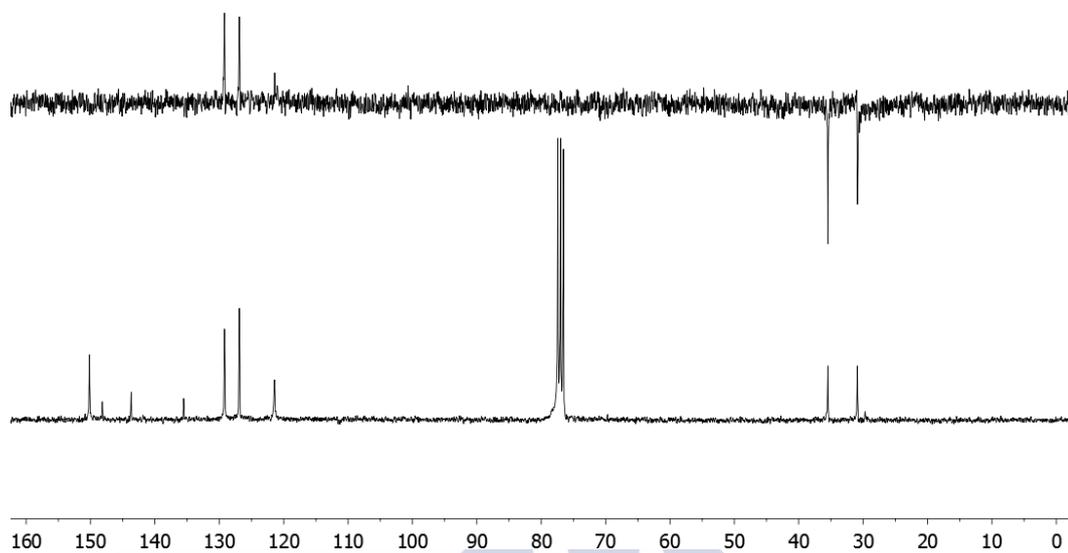


**1,4-bis(4-(piridin-4-il)fenil)butano (L7)**

$^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 298K, 300 MHz)



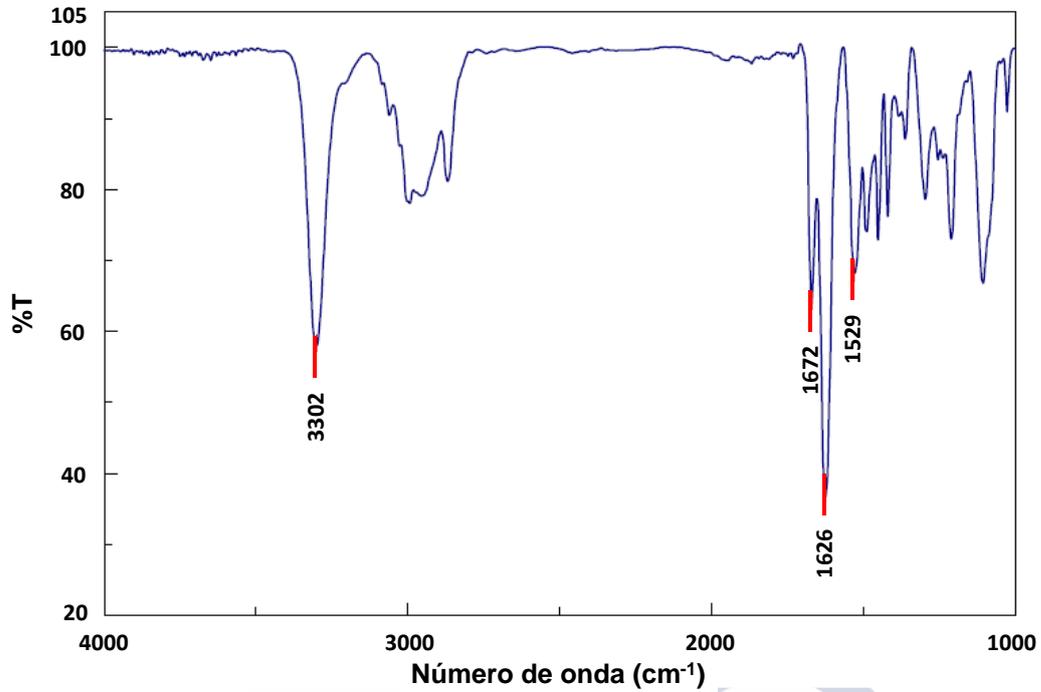
$^{13}\text{C}$ -RMN y DEPT ( $\text{CDCl}_3$ , 298K, 75.4 MHz)



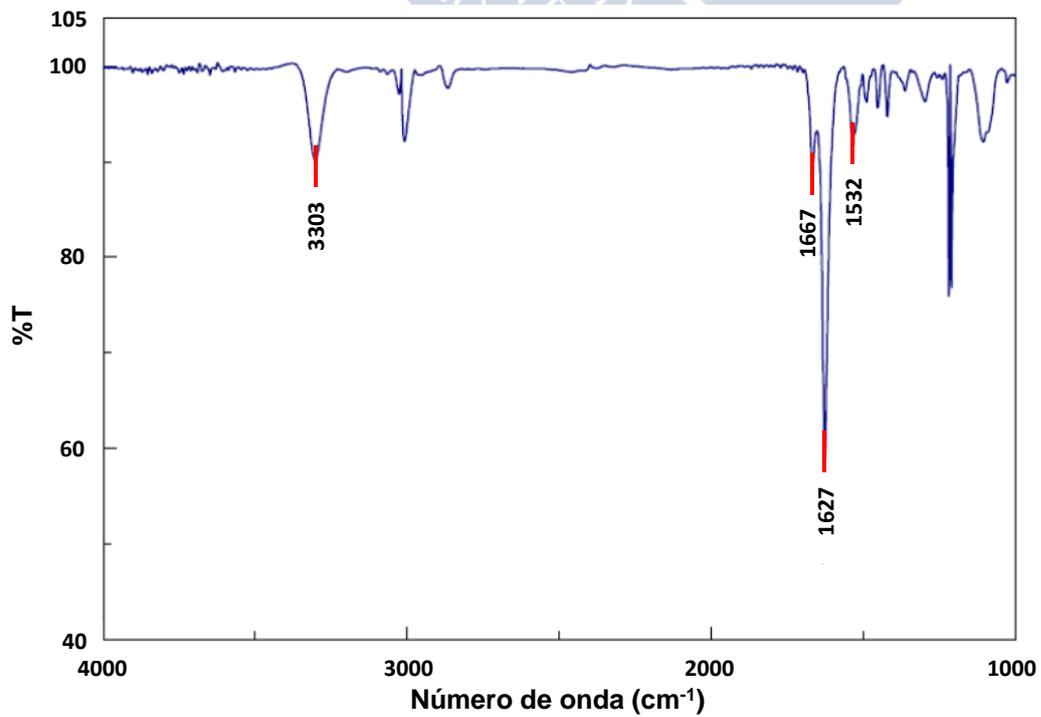
## 4. Espectros de IR de los ciclopéptidos

*c*-[[*D*-Ser(Bn)-*L*-MeN- $\gamma$ -Acp-]<sub>3</sub>] (CP1)

FTIR (pastilla de CaF<sub>2</sub>)

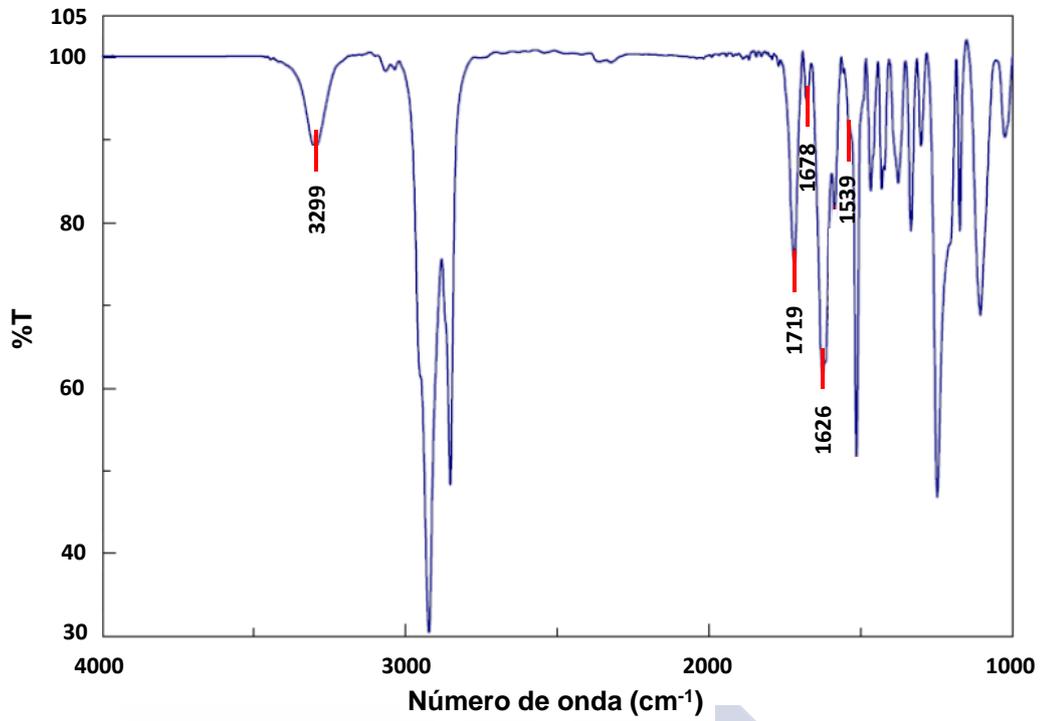


FTIR (1.0 mM, celda de CaF<sub>2</sub>)

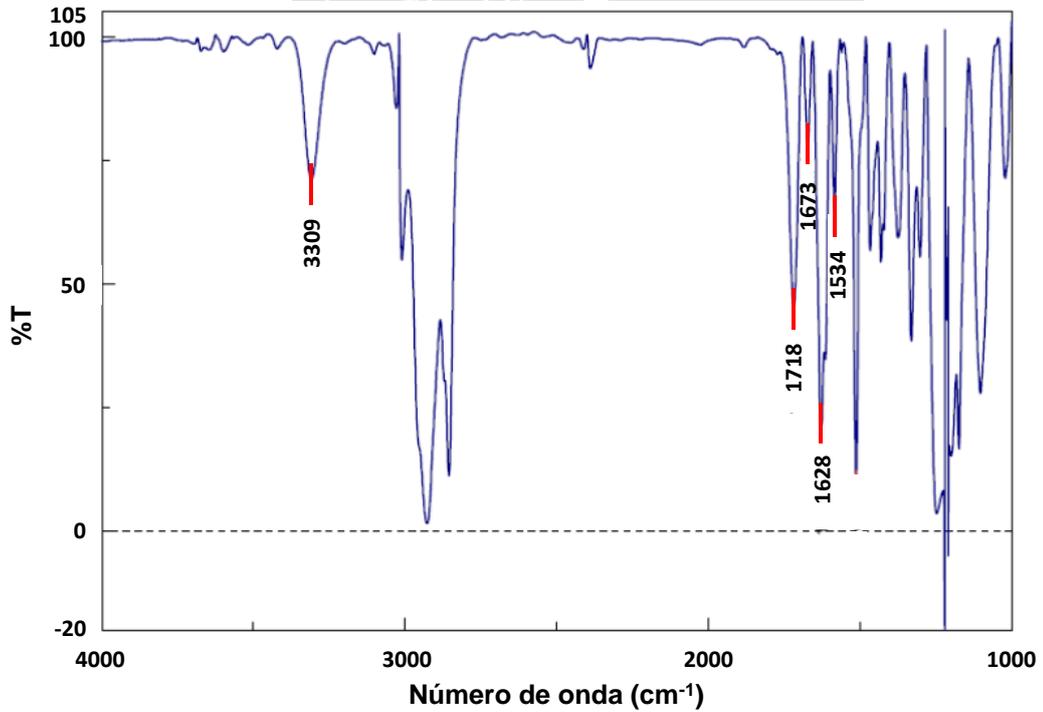


*c*-[*D*-Ser(Dn1)-*L*-<sup>Me</sup>N- $\gamma$ -Acp-]<sub>3</sub> (CP3)

FTIR (pastilla de CaF<sub>2</sub>)

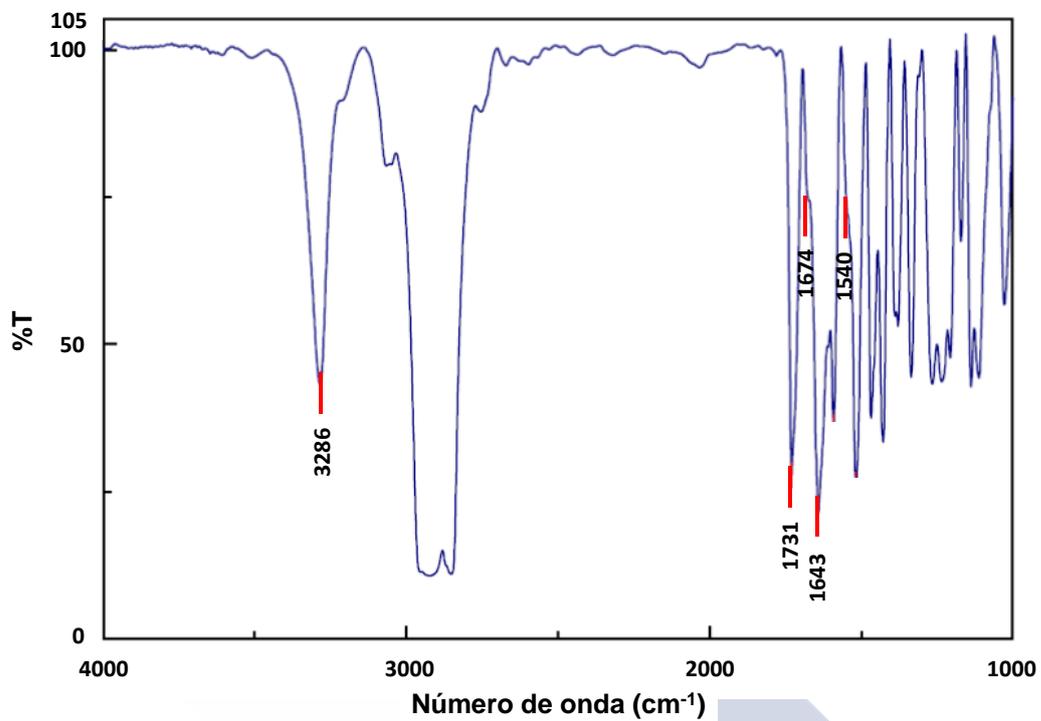


FTIR (5.0 mM, celda de CaF<sub>2</sub>)

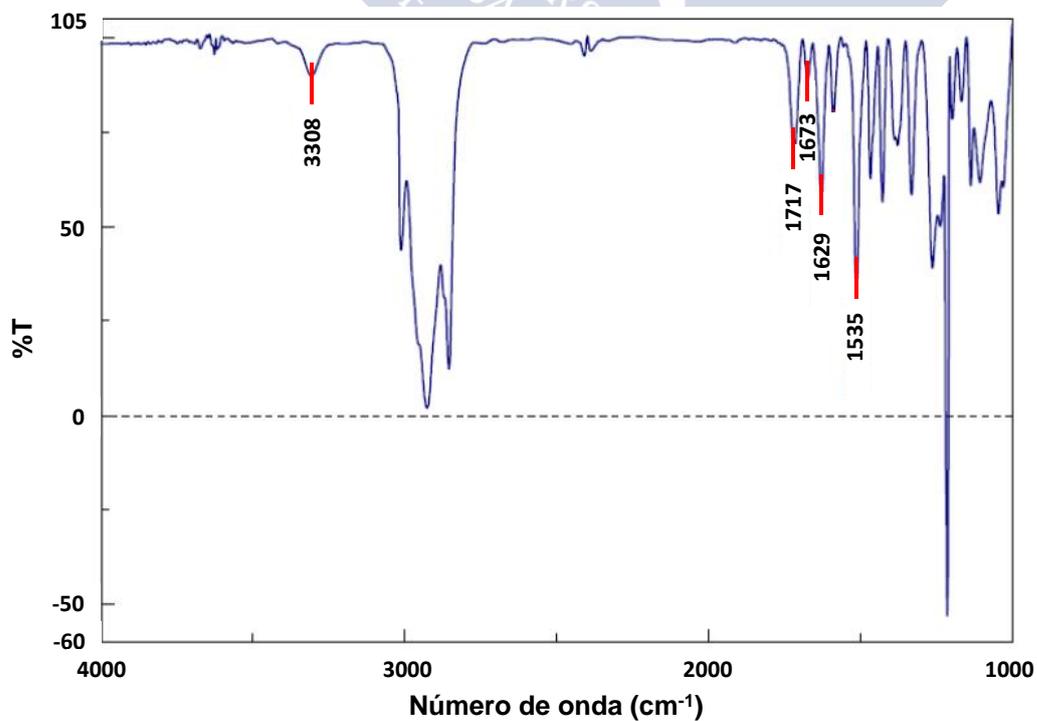


*c*-{[D-Ser(Dn2)-L-MeN-γ-Acp-]<sub>3</sub>} (CP4)

FTIR (pastilla de CaF<sub>2</sub>)

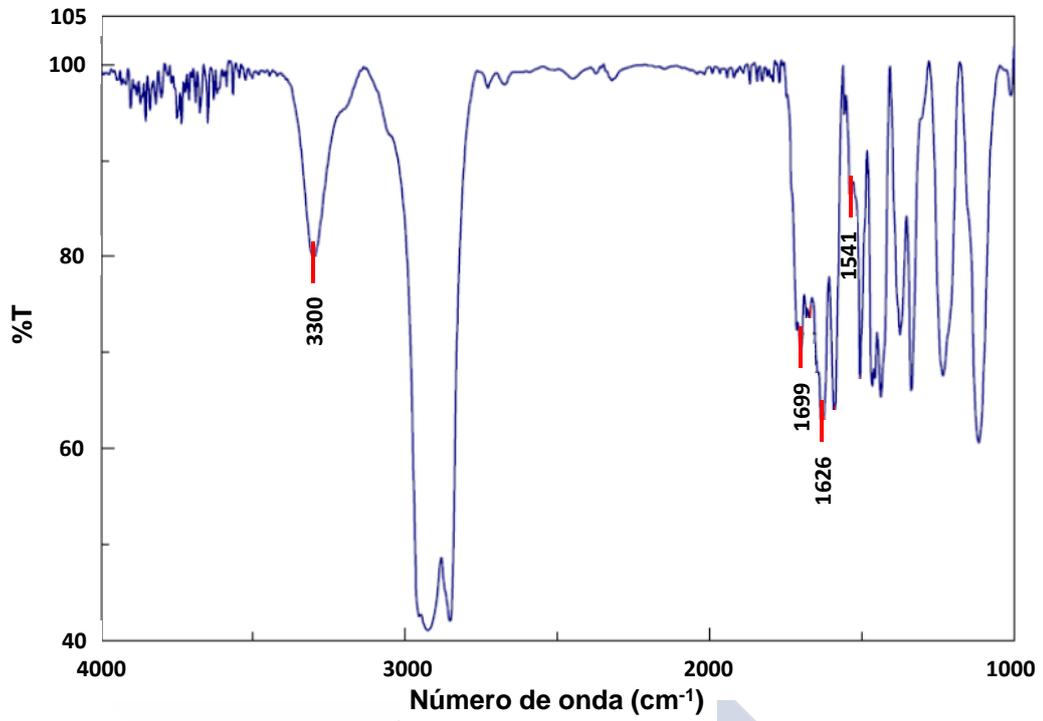


FTIR (2.5 mM, celda de CaF<sub>2</sub>)

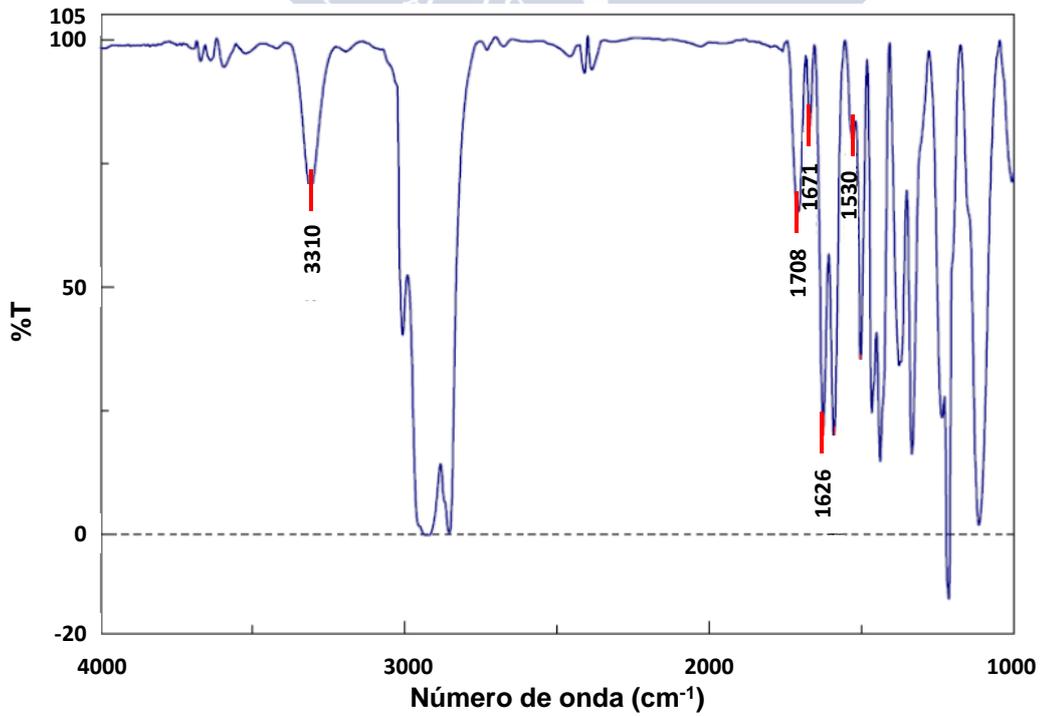


*c*-[[*D*-Ser(Dn3)-*L*-<sup>Me</sup>N- $\gamma$ -Acp-]<sub>3</sub>] (CP5)

FTIR (pastilla de CaF<sub>2</sub>)

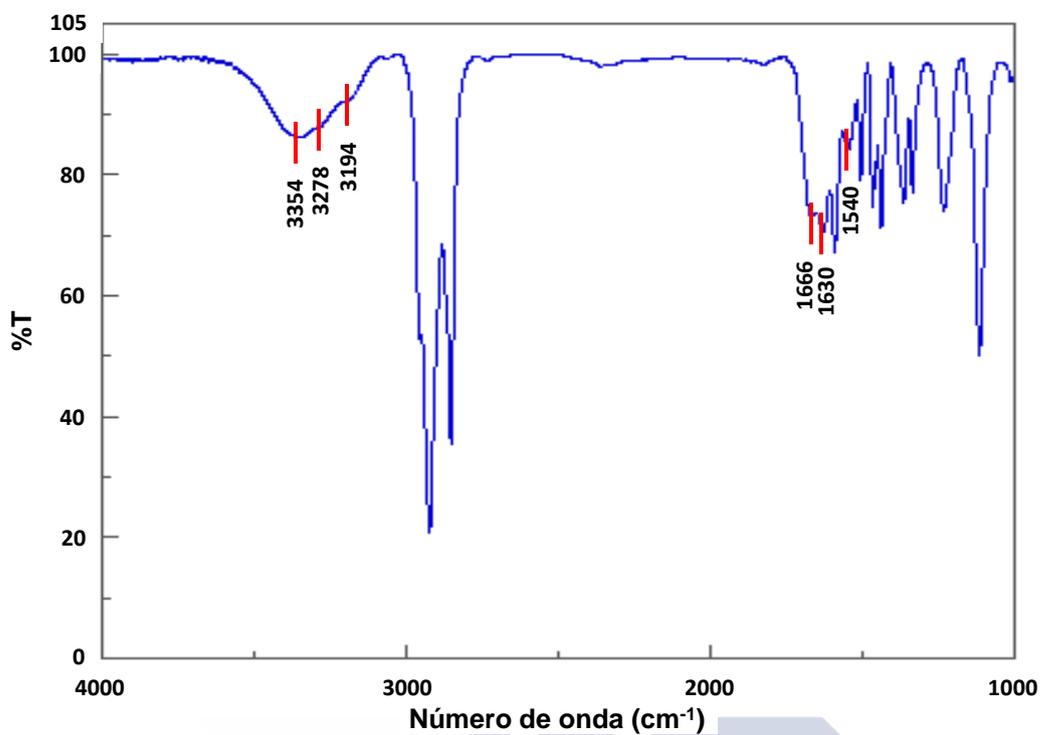


FTIR (5.0 mM, celda de CaF<sub>2</sub>)



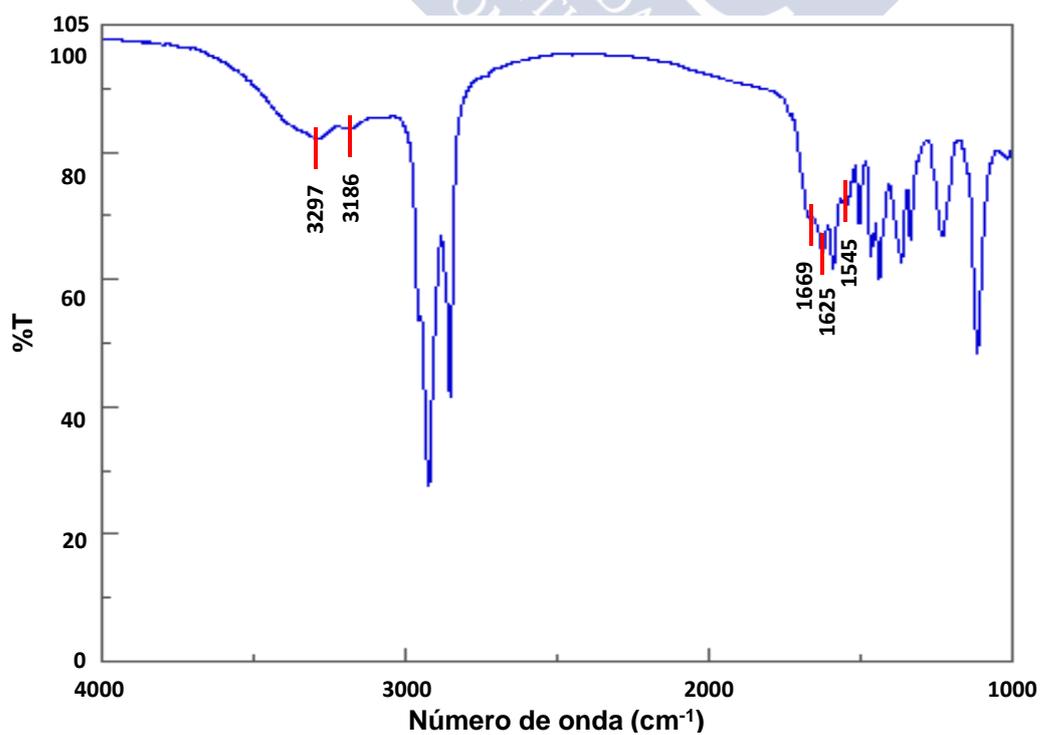
CP7-Dn3

FITR (pastilla de CaF<sub>2</sub>)



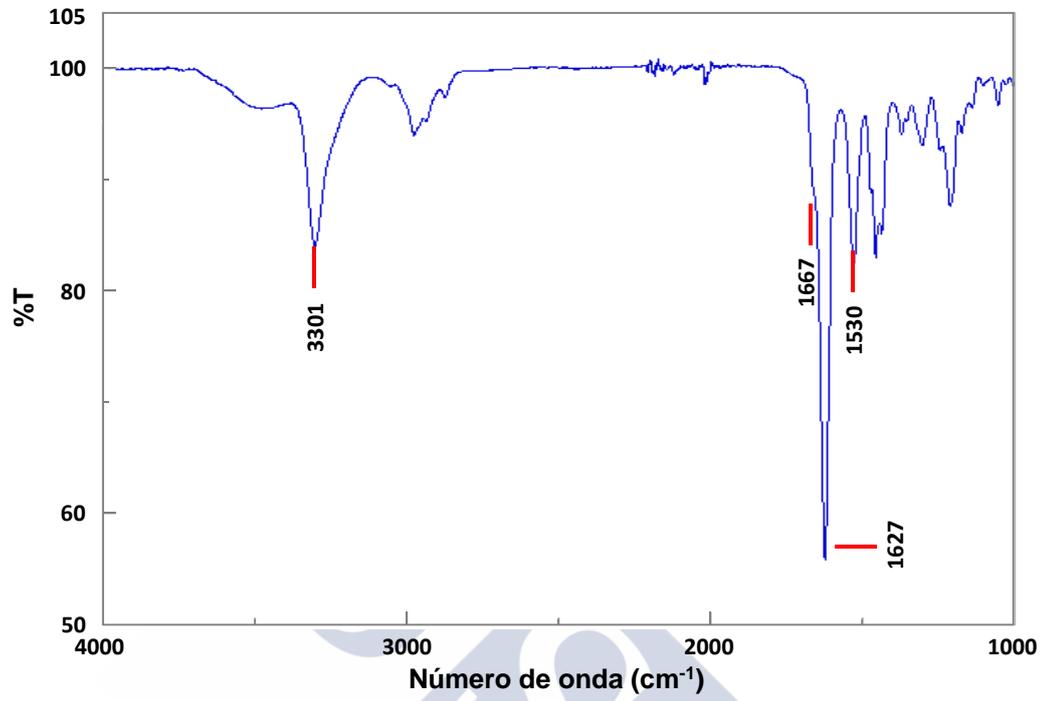
CP9-Dn3

FITR (pastilla de CaF<sub>2</sub>)



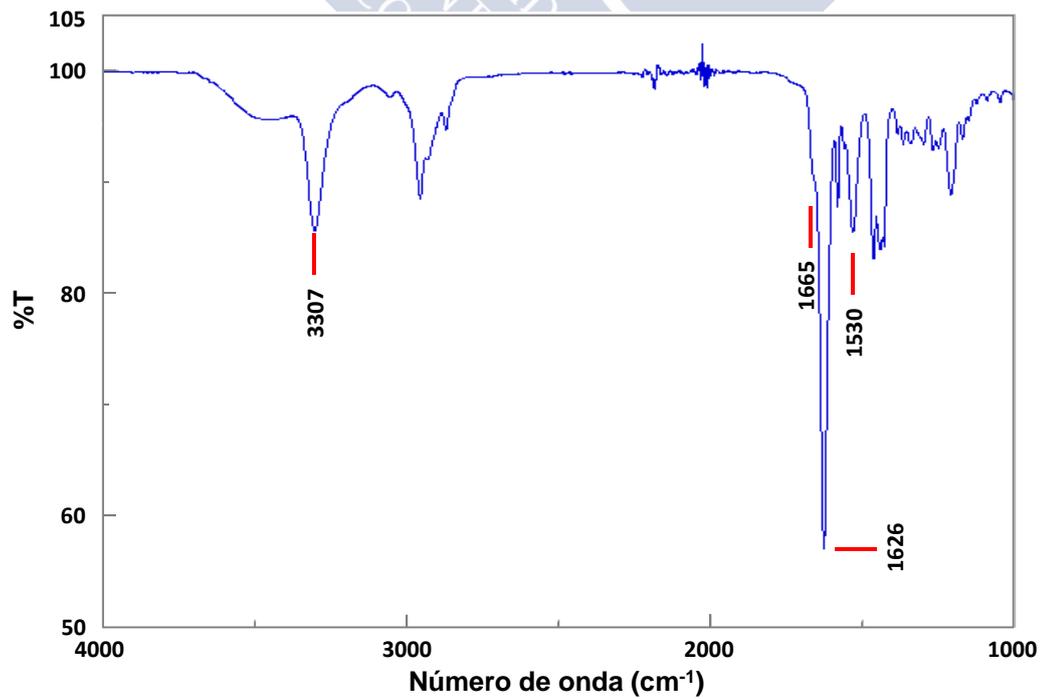
*c*-[(*D*-Ala-*L*-propargil-*N*- $\gamma$ -Acp-)<sub>3</sub>] (CP10)

FTIR (1.0 mM, celda de CaF<sub>2</sub>)



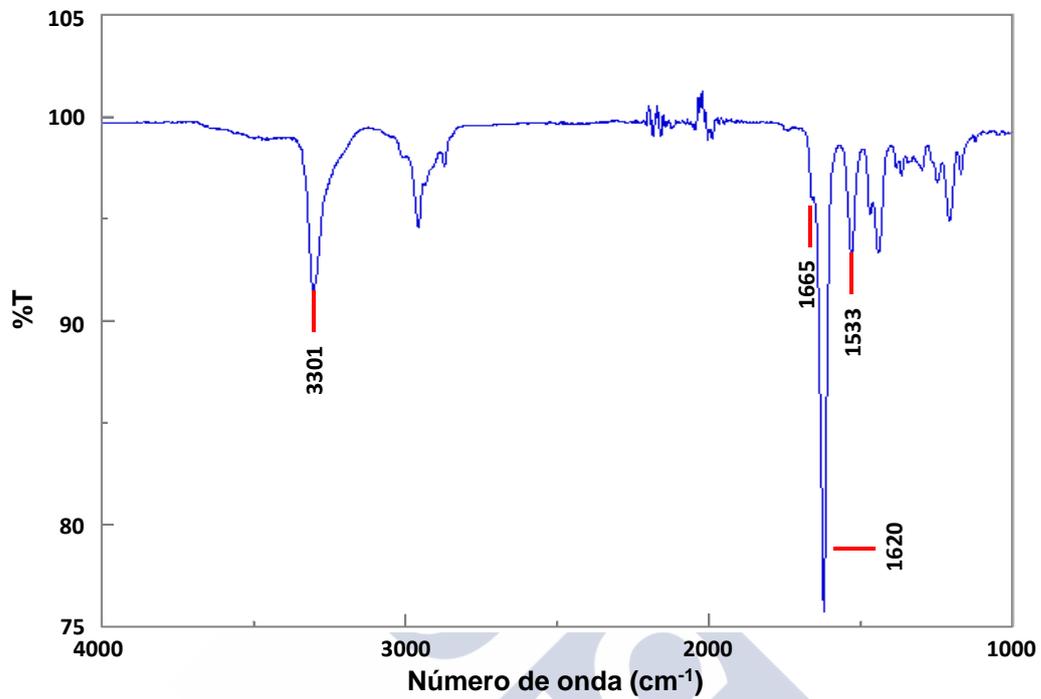
CP11

FTIR (1.0 mM, celda de CaF<sub>2</sub>)



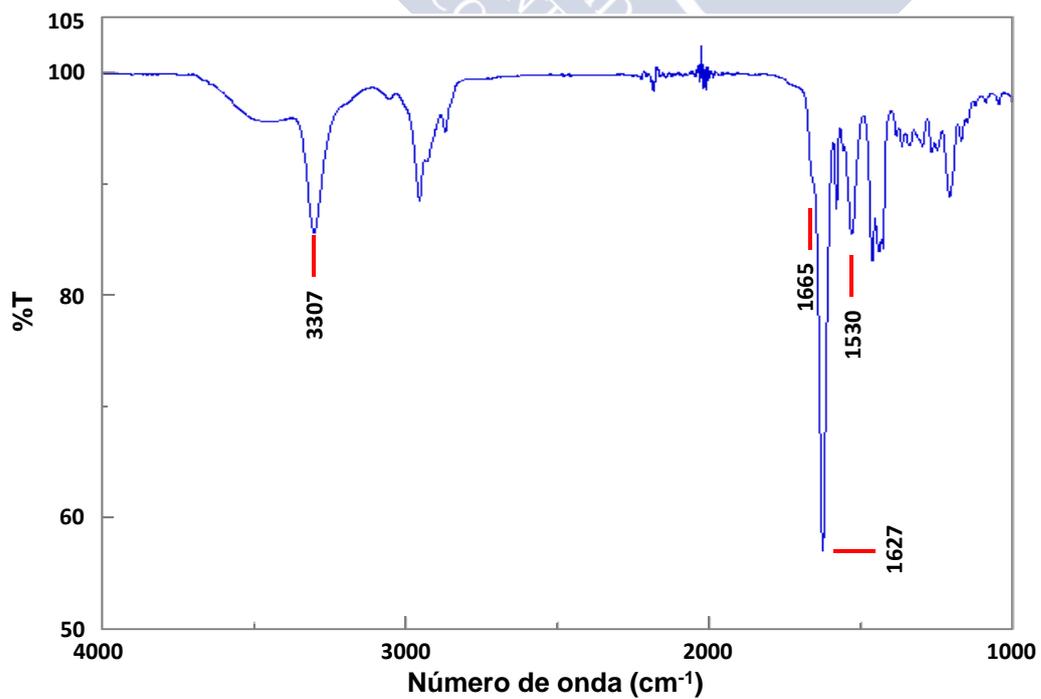
*c*-[(*D*-Leu-*L*-propargil-*N*- $\gamma$ -Acp-)<sub>3</sub>] (CP13)

FTIR (1.0 mM, celda de CaF<sub>2</sub>)



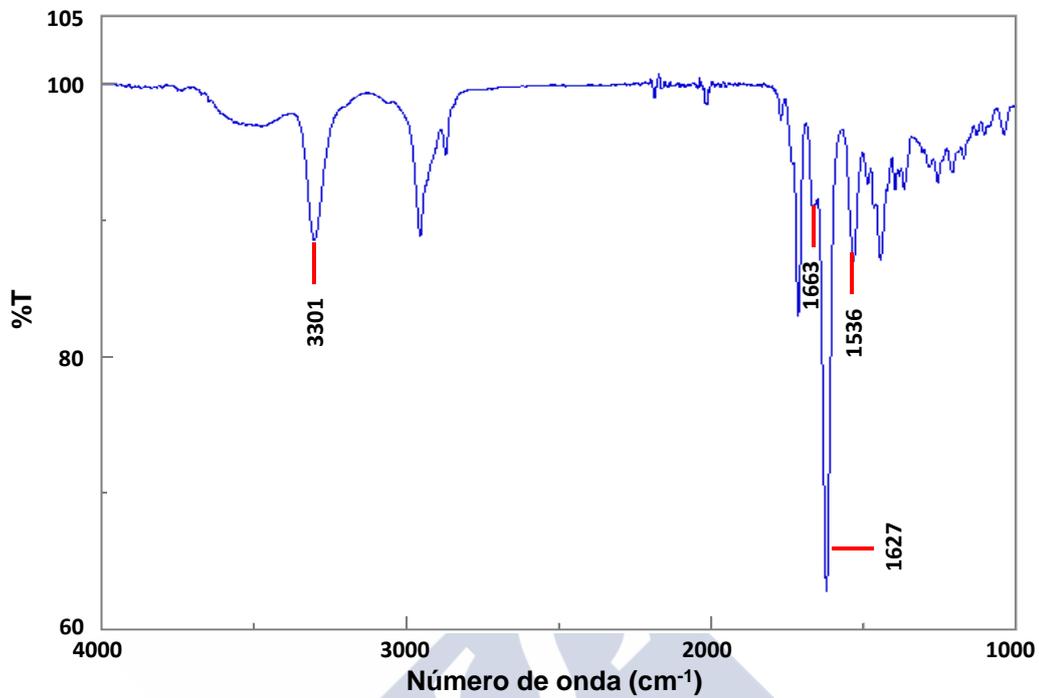
CP14

FTIR (1.0 mM, celda de CaF<sub>2</sub>)



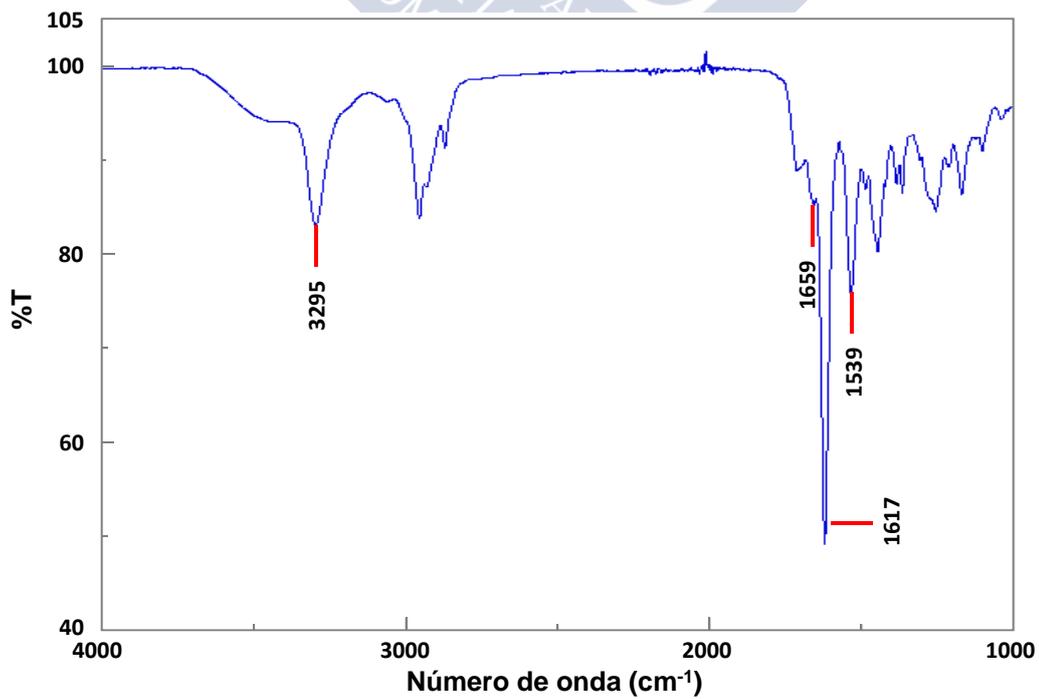
*c*-(D-Leu-L-MeN- $\gamma$ -Acp-D-Leu-L-PhthN(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>N- $\gamma$ -Acp-D-Leu-L-MeN- $\gamma$ -Acp-D-Leu-L-MeO<sub>2</sub>C(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>N- $\gamma$ -Acp-) (CP15)

FTIR (1.0 mM, celda de CaF<sub>2</sub>)

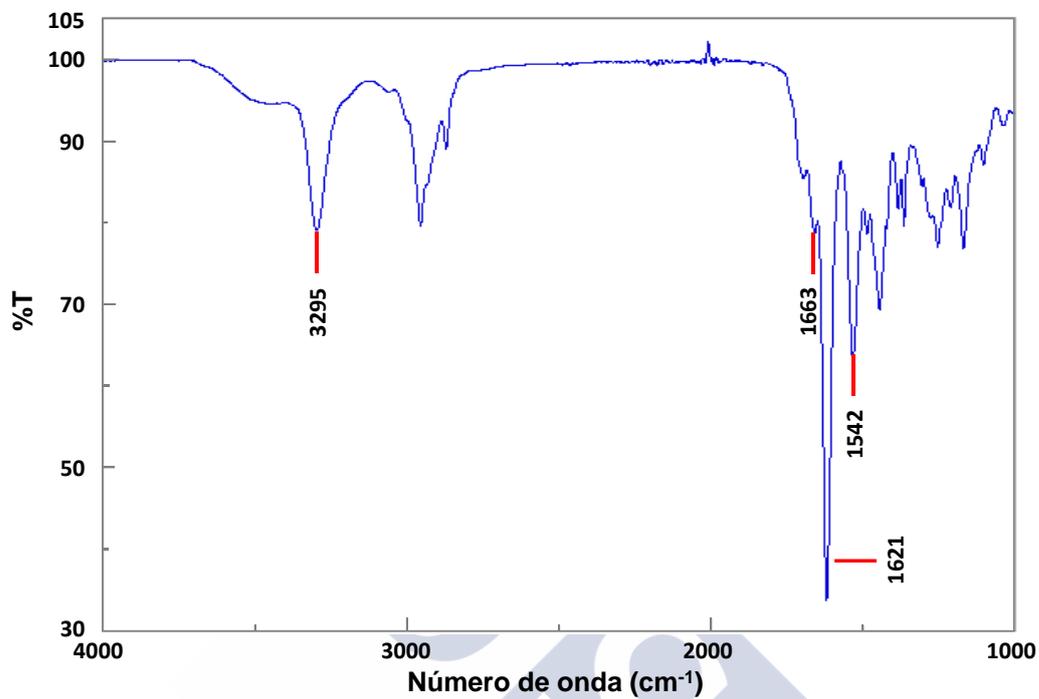
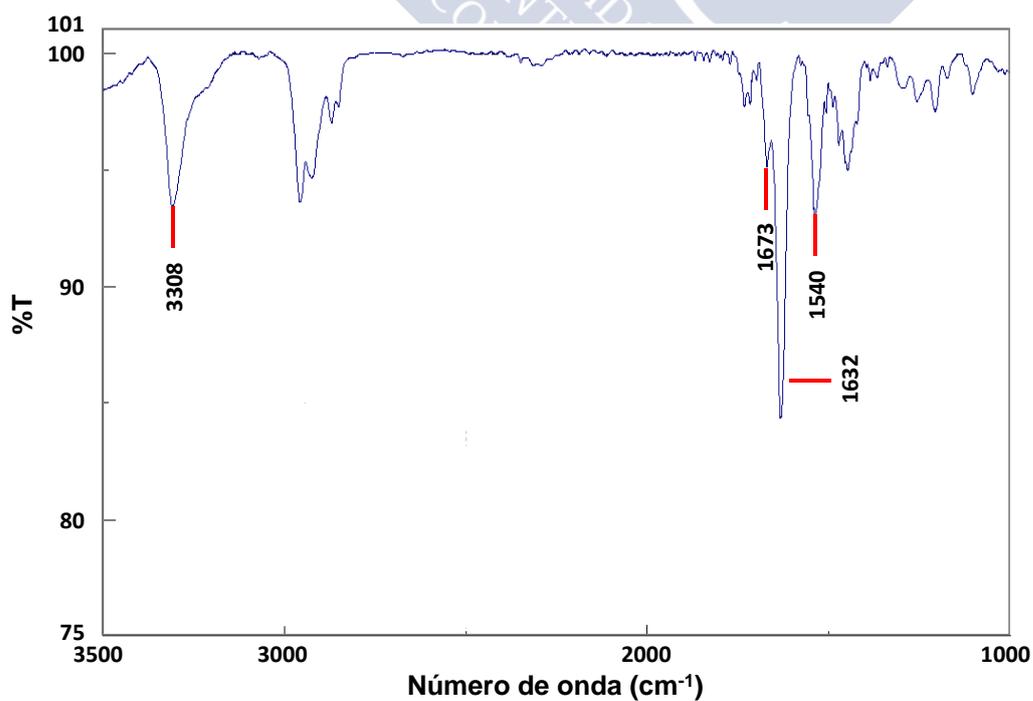


CP17

FTIR (1.0 mM, celda de CaF<sub>2</sub>)

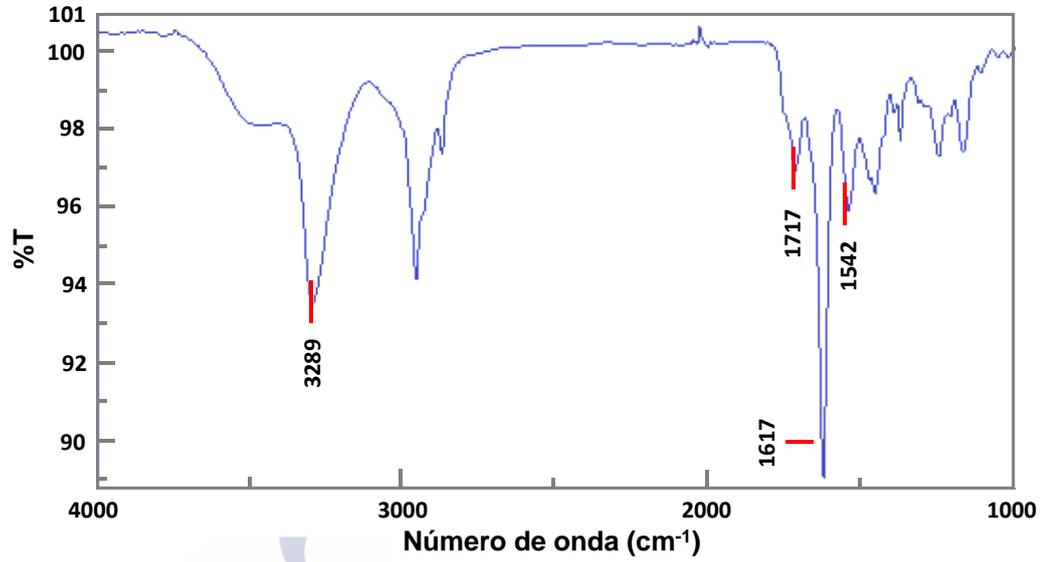


## CP19

FTIR (1.0 mM, celda de CaF<sub>2</sub>)*c*-[(D-Leu-L-MeN-γ-Acp-D-Leu-L-propargilN-γ-Acp-)<sub>2</sub>] (CP21)FTIR (1.0 mM, celda de CaF<sub>2</sub>)

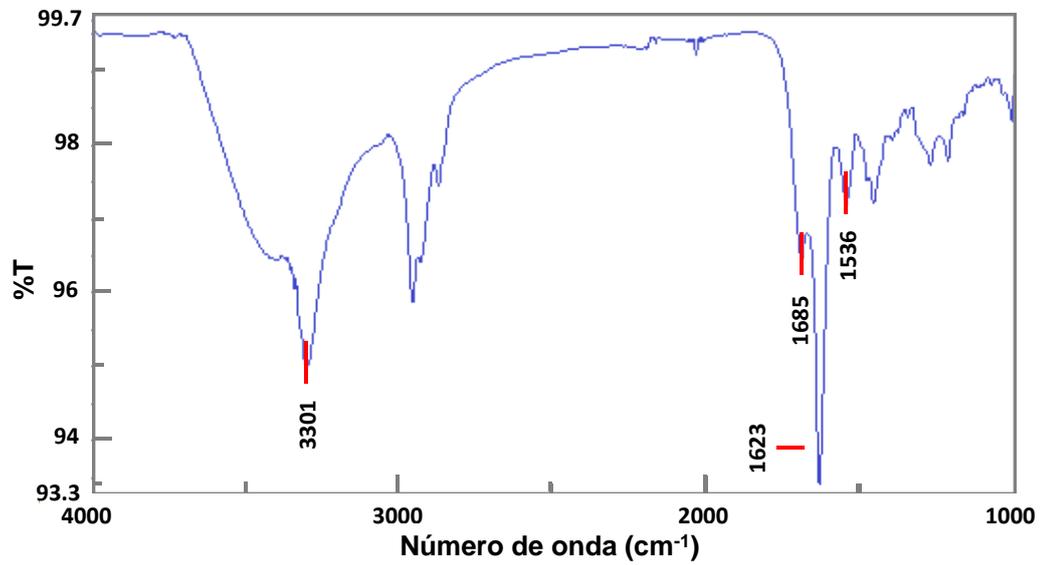
*c*-[(*D*-Leu-*L*-<sup>Me</sup>N- $\gamma$ -Acp-*D*-Leu-*L*-BocNHNHAcN- $\gamma$ -Acp-)]<sub>2</sub> (CP23)

FTIR (1 mM, celda de CaF<sub>2</sub>)



CP25

FTIR (1 mM, celda de CaF<sub>2</sub>)





## **Anexo III: DOSY**



# ÍNDICE

<b>1. Medidas de DOSY</b> .....	5
<b>2. Preparación de las muestras</b> .....	5
2.1. Capítulo 1 .....	5
2.2. Capítulo 2 .....	6
2.3. Capítulo 3 .....	6
<b>3. Medidas de difusión por RMN</b> .....	6
<b>4. Estudios de DOSY con los diamonios S1-3 (Capítulo 2)</b> .....	7





## 1. Medidas de DOSY

El coeficiente de difusión ( $D$ ) se define como la facilidad con la que un soluto en particular se mueve en un disolvente. Este movimiento de traslación depende básicamente de tres factores: el tamaño y la forma del soluto, la temperatura y la viscosidad del disolvente. Existe un gran interés en determinar la velocidad de traslación con la que una molécula difunde, ya que dicho movimiento está relacionado con importantes propiedades moleculares, como el peso molecular o el radio hidrodinámico.

La determinación de los coeficientes de difusión se puede llevar a cabo mediante espectroscopía de resonancia magnética nuclear. La secuencia de pulsos eco de espín con gradientes (PFGSE) es el experimento básico utilizado para determinar el valor de  $D$ .<sup>254</sup> Para ello, se adquieren una serie de espectros de protón utilizando una secuencia basada en PFGSE, donde se aumenta progresivamente la fuerza de los gradientes y se analiza la atenuación de la intensidad de las señales en cada espectro.

El método DOSY (*Diffusion Ordered Spectroscopy*) se utiliza para representar los resultados en un formato pseudo-2D, con el espectro de protón convencional en el eje x y el valor del coeficiente de difusión en el eje y. Esta técnica permite relacionar los coeficientes de difusión con la composición molecular de la mezcla observando los desplazamientos químicos. Así, todas las señales de una especie química se localizan sobre la misma línea horizontal y se correlacionan con las señales en la dimensión de los desplazamientos químicos. Cada línea horizontal representa, por tanto, un determinado coeficiente de difusión. En el caso de mezclas, las señales de cada componente aparecen separadas en distintos planos individuales. Aquellas señales que pertenecen a las moléculas más pequeñas salen en el eje de difusión (y) a un valor mayor que las señales de las moléculas más grandes. También es posible integrar las diferentes señales para conocer la proporción de cada componente en la mezcla. Por tanto, este método permite el análisis de mezclas de compuestos sin tenerlos que separar físicamente. También se utiliza para el estudio de equilibrios (obtención de NOEs intermoleculares, procesos de autoasociación, etc.) o la caracterización de medios heterogéneos (sistemas coloidales, polímeros, etc.).<sup>308</sup>

## 2. Preparación de las muestras

### 2.1. Capítulo 1

En un tubo de RMN, el ciclopeptido (CP7-Dn3 o CP9-Dn3) se disolvió en 10% MeOH- $d_3$ /CDCl<sub>3</sub> (500  $\mu$ L), a una concentración final de 2.5 mM. Se añadió TMS como referencia interna (2.0 mM). Se utilizó una concentración de TMS similar a la del péptido con

---

<sup>254</sup> Johnson, C. S. *Prog. NMR Spectrosc.* **1999**, *34*, 203-256.

<sup>308</sup> Universidad de Santiago de Compostela, Unidad de Resonancia Magnética, <http://desoft03.usc.es/rmnweb/difusion/difusion.htm>

el fin de tener suficiente señal a lo largo de los experimentos de DOSY, ya que se esperaba que la señal del TMS se atenuara más rápido con el incremento de los gradientes que las señales de CP7-Dn3 o CP9-Dn3, debido a la diferencia de tamaño.

## 2.2. Capítulo 2

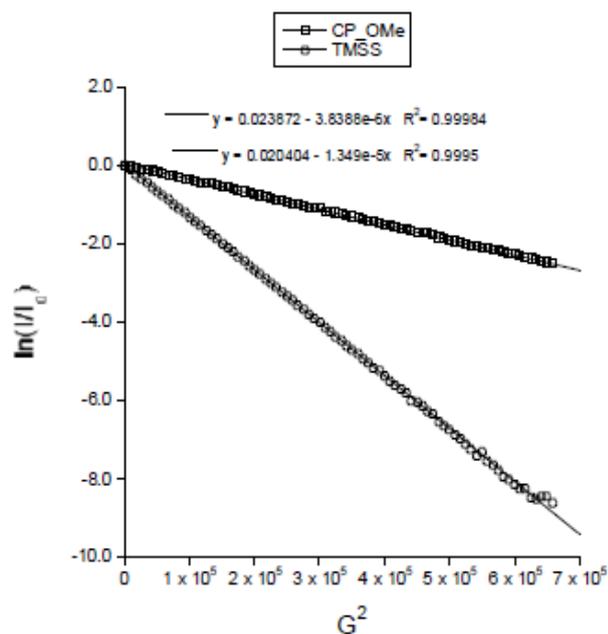
La preparación de las muestras para los estudios de encapsulación de los ligandos (E)-hex-3-enodinitrilo y S1-3 en el interior del homodímero D14 se indica en cada caso en la parte experimental de la tesis.

## 2.3. Capítulo 3

Los experimentos de DOSY con los complejos L3C-D25 y L5C-D25 se llevaron a cabo utilizando muestras preparadas para los estudios de RMN. La preparación de dichas muestras se describe en la parte experimental de la tesis.

## 3. Medidas de difusión por RMN

Todos los experimentos de DOSY fueron realizados en un espectrómetro Varian Inova (500 MHz), a 298 K y sin girar la muestra. Para las medidas de difusión se usó la secuencia Dbppste, optimizándose los parámetros de difusión para cada muestra. La longitud de pulso del gradiente para el espín-eco se fijó en 2 ms y el "delay" de difusión se varió entre 40-80 ms dependiendo de la intensidad de atenuación de cada muestra. Cada muestra se midió al menos dos veces, con ligeras variaciones en los parámetros de difusión, con el fin de comprobar que las velocidades de difusión eran independientes de esos valores. Estos parámetros fueron optimizados para obtener un 90-95% de atenuación de la señal. Se utilizó un conjunto de 30-80 incrementos de los valores de gradiente para asegurar una buena resolución de la escala de difusión. Los gradientes se calibraron justo antes de las medidas. El número de scans se fijó en 16 o 32. La precisión de los gradientes se puede observar por el decimamiento lineal en la representación de  $\ln(I/I_0)$  frente a  $G^2$  (ver figura 1-anexo III como ejemplo). En general, se obtuvieron al menos 10 espectros de DOSY para las 5 muestras diferentes (2 DOSYs completos por muestra).



**Figura 2-anexo III:** Representación de  $\ln(I/I_0)$  frente a la fuerza del gradiente ( $G^2$ ) para una señal del CP2 (señal del OMe) y para el singlete del TMSS.

Todos los experimentos se procesaron con MNova 10.0,<sup>309</sup> así como con el programa DOSY disponible en el software VnmrJ.

#### 4. Estudios de DOSY con los diamonios S1-3 (Capítulo 2)

Para la evaluación cuantitativa de los parámetros de difusión se utilizó la relación entre la velocidad de difusión del estándar interno (TMSS) y el dímero D14. Esta relación compensa las diferencias en la viscosidad de la muestra debido a la presencia de diferentes concentraciones de especies cargadas, ya que el TMSS experimenta la misma viscosidad que el compuesto objeto de estudio. En esta aproximación se asume que el TMSS no interacciona con el ciclopéptido, lo que fue confirmado por la ausencia de efectos nOe intermoleculares. Para los valores cuantitativos se seleccionaron las siguientes señales, tratando de maximizar la relación señal/ruido (señales simples e intensas no superpuestas):

TMSS: singlete a 0.22 ppm

CP14: multiplete centrado a 2.95 ppm (H $\alpha$  Acp)

S1: multiplete centrado a 3.13 ppm (H $\alpha$  al grupo amonio)

S2: multiplete centrado a 3.13 ppm (H $\alpha$  al grupo amonio)

S3: multiplete centrado a 3.21 ppm (H $\alpha$  al grupo amonio)

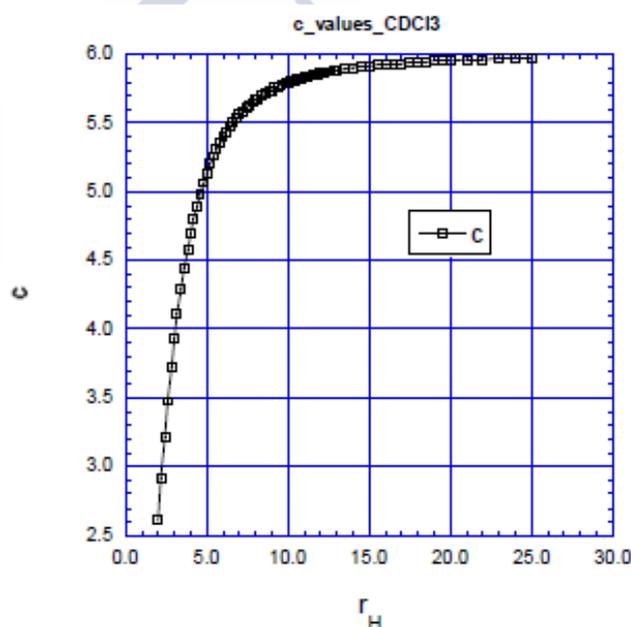
<sup>309</sup> Universidad de Santiago de Compostela, Unidad de Resonancia Magnética, <http://www.usc.es/gl/investigacion/riaidt/rm/software.html>

A partir de los valores de difusión obtenidos para cada muestra se calculó la correspondiente difusividad molar, que se define como el cociente entre el coeficiente de difusión de referencia (TMSS) y el de la molécula o especie formada ( $D_{\text{TMSS}}/D_x$ ) (Tabla 2.5).

A partir de los valores de difusividad molar se estimaron los tamaños moleculares de las diferentes especies en disolución. Dado que esto no es una tarea obvia, decidimos seguir las recomendaciones de Macchioni y colaboradores.<sup>310,311</sup> A partir de la ecuación de Stokes-Einstein, aplicada a la molécula objeto de estudio y a la referencia interna, obtienen la siguiente relación:

$$D_{\text{TMSS}} / D_x = (c_x \cdot r_{H,x}) / (c_{\text{TMSS}} \cdot r_{H,\text{TMSS}})$$

Donde  $r_H$  es el radio hidrodinámico y  $c$  es un factor numérico que depende de la relación entre el tamaño de las especies y el tamaño de las moléculas de disolvente. Usando la ecuación de Wirtz y colaboradores con la corrección empírica de Chen,<sup>Error! Marcador no definido.</sup> generamos una gráfica del valor del factor  $c$  en cloroformo (figura 2-anexo III).



**Figura 2-anexo III:** Gráfica del valor de  $c$  frente al radio hidrodinámico, generada para cloroformo siguiendo la ecuación de Wirtz y colaboradores con la corrección empírica de Chen.

Los valores de  $r_H$  y del factor  $c$  para el TMSS en cloroformo están descritos en la bibliografía.<sup>310</sup> El valor del factor  $c$  para el ciclopéptido **CP14** (5.85, un valor de compromiso entre los esperados para el monómero y los agregados más grandes) se obtuvo a partir de la gráfica anterior. Por tanto, usando estos valores, se calcularon los radios hidrodinámicos de las distintas especies, a partir de la difusividad ( $D_{\text{TMSS}}/D_x$ ) medida para cada muestra.

<sup>310</sup> Macchioni, A.; Ciancaleoni, G.; Zuccaccia, C.; Zuccaccia, D. *Chem. Soc. Rev.* **2008**, *37*, 479-489.

<sup>311</sup> Zuccaccia, D.; Macchioni, A. *Organometallics* **2005**, *24*, 3476-3486.