



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

ESTUDIO ELECTROQUIMICO Y DE ^1H -RMN DE LA
ASOCIACION DE FERROCIANURO CON α , β Y γ -AMINO-
CICLODEXTRINAS EN MEDIO ACUOSO

T E S I S

Para obtener el grado de

MAESTRIA EN CIENCIAS QUIMICAS

(FISICOQUIMICA)

P r e s e n t a

I.Q. Luis Arturo Godínez Mora Tovar.

México, D. F.

1997

M-251110



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: DR. MIGUEL SALOMA TERRAZAS
PRIMER VOCAL: DR. EDUARDO DIAZ
SECRETARIO: DR. EUSEBIO JUARISTI
PRIMER SUPLENTE: DR. RAUL ENRIQUEZ
SEGUNDO SUPLENTE: DR. IGNACIO GONZALEZ

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA:

**DEPARTAMENTO DE QUIMICA, UNIVERSIDAD DE MIAMI,
CORAL GABLES, FLORIDA, E.U.A.**

SUSTENTANTE: I.Q. LUIS A. GODINEZ MORA TOVAR

TUTOR DEL TRABAJO: DR. ANGEL KAIFER BRASERO
ASESOR NACIONAL: DR. MAURICIO CASTRO ACUÑA

Con todo el amor que soy capaz de sentir, quiero dedicar este trabajo

a la gente que más quiero; a mi familia.

*Especialmente, a mis padres Ramón y Lorenia,
a mi abuelita Carmen, a mis tíos Jaime y Esmeralda
y a mis hermanos Sergio (CN) y Jaime (HN).*

*Quiero también dedicar este trabajo a mi adorada esposa Sandra
y a mi pequeño bebé Pablo quién es, sin duda,
la luz de nuestra existencia.*

AGRADECIMIENTOS.

Deseo expresar mi más profundo agradecimiento al Dr. Angel Kaifer no sólo por su acertada asesoría, sino por su invaluable apoyo y por darme la oportunidad de trabajar en su grupo.

Especialmente quiero agradecer a mi asesor en la UNAM, el Dr. Mauricio Castro, por su apoyo, por su ayuda y sobre todo por su valiosa amistad.

Se agradece a la DGAPA de la Universidad Nacional Autónoma de México y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por otorgarme el apoyo financiero que hizo posible la realización de este trabajo. También se agradece al departamento de química de la Universidad de Miami por las facilidades prestadas para el desarrollo de este proyecto.

Finalmente, quiero agradecer la entusiasta ayuda de James Lin, al Dr. A. W. Coleman y al Dr. Marc Muñoz (CNRS UPR, Francia) por haber sintetizado las amino-ciclodextrinas que se utilizaron en este trabajo y al Dr. Luis Echegoyen (Universidad de Miami) por habernos facilitado el programa comercial de simulación voltamétrica.

RESUMEN

La asociación del anión hexacianoferrato(II), mejor conocido como ferrocianuro, con tres derivados de ciclodextrina (hexakis(6-deoxi-6-amino)- α -CD (1), heptakis(6-deoxi-6-amino)- β -CD (2), and octakis(6-deoxi-6-amino)- γ -CD (3)) fué estudiada mediante voltametría cíclica y ^1H -RMN en medio acuoso. La interacción del ión ferrocianuro con los tres receptores bajo estudio se detectó por medio del análisis de la respuesta electroquímica del anión en presencia de distintas concentraciones del receptor catiónico. La evaluación de las constantes de estabilidad termodinámica para los distintos complejos se llevó a cabo por medio de la simulación digital de los resultados voltamétricos. Con base en estos resultados ($K=3 - 10 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ y $K=2 - 5 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ para las formas reducida y oxidada del anión respectivamente) se sugiere que el enlace entre el ferrocianuro y las amino-ciclodextrinas es de naturaleza electrostática. Por otro lado, estudios preliminares de espectroscopía de ^1H -RMN sugieren que el anión ferrocianuro y los tres receptores bajo estudio forman complejos de inclusión.

ABSTRACT

The complexation of the hexacyanoferrate(II) or ferrocyanide anion by three modified cyclodextrins [hexakis(6-deoxy-6-amino)- α -CD (1), heptakis(6-deoxy-6-amino)- β -CD (2), and octakis(6-deoxy-6-amino)- γ -CD (3)] was studied by cyclic voltammetry and ^1H NMR techniques in moderately acidic aqueous media. The binding constants of ferrocyanide with the three hosts were estimated by computer simulation of the voltammetric data and were found to fall in the 3×10^5 - 10^6 M^{-1} and $2.5 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ ranges for the reduced and oxidized forms of the anion, respectively. The reduced form (-4 charge) of the guest is always more strongly bound to any of the positively charged amino-cyclodextrins than the oxidized form (-3 charge). This finding, along with the magnitude of the free energies of complexation, suggests that the binding interactions are essentially electrostatic in nature. Based on the ^1H -NMR spectroscopic data, the complexation by all three hosts seems to take place by partial inclusion of the anionic guest inside the cavity of the receptor.

INDICE

	página
Dedicatoria.	i
Agradecimientos.	ii
Resumen.	iii
Abstract.	iv
Indice.	v
Lista de Figuras.	ix
Lista de Tablas.	xiv
I.- Antecedentes.	1
1.- Ciclodextrinas.	1
1.1.- Estructura y propiedades.	4
1.2.- Síntesis.	9
1.3.- Ciclodextrinas modificadas.	11
2.- Fuerzas intermoleculares responsables de la formación de complejos de inclusión.	22
2.1.- Interacciones electrostáticas.	22
2.2.- Puentes de hidrógeno.	25

2.3.- Fuerzas de van der Waals.	26
2.4.- Efecto hidrofóbico.	29
2.5.- Interacciones π - π .	34
II.- Métodos y materiales.	38
1.- Técnicas empleadas en el estudio de los fenómenos de complejación.	38
1.1.- Voltametría cíclica.	40
1.2.- Resonancia magnética nuclear protónica ^1H -RMN.	45
2.- Utilización de las técnicas analíticas en el estudio de complejos de inclusión.	50
2.1.- Detección directa.	50
2.2.- Detección indirecta.	52
2.3.- Detección directa localizada.	55
2.3.1.- Voltametría cíclica en el estudio de complejos de inclusión.	55
2.3.2.- ^1H -RMN en el estudio de complejos de inclusión.	72

III.- Justificación y objetivos.	80
IV.- Resultados y discusión.	84
1.- Titulaciones electroquímicas.	85
2.- Simulaciones digitales.	98
3.- Espectroscopía de ^1H-RMN.	106
V.- Parte experimental.	116
1.- Materiales.	116
2.- Electroquímica.	117
3.- Simulaciones digitales.	119
4.- Espectroscopía de ^1H-RMN.	121

VI.- Conclusiones.	122
VII.- Referencias.	124

LISTA DE FIGURAS

	página
1. Esquema general de los procesos de reconocimiento molecular.	3
2. La estructura de las Ciclodextrinas.	5
3. Representación esquemática de la rotación de una de las unidades sacáridas de un derivado de β -CD.	9
4. Papel catalítico de β -CD en la hidrólisis básica de ésteres de ácidos carboxílicos.	12
5. Sensor fluorescente basado en β -CD.	15
6. Esquema de la preparación de tubos poliméricos de dimensiones moleculares basados en α -CD.	16
7. Sensor electroquímico basado en la modificación de un electrodo de oro con una monocapa de β -CD tiolada.	18
8. Estructura de las amino-ciclodextrinas.	20

9. Representación esquemática del efecto hidrofóbico.	30
10. Modelo de un átomo de carbono en un sistema π .	36
11. Mapa bidimensional de la interacción π - π de dos átomos de carbono de acuerdo al modelo de Saunders y colaboradores.	37
12. Esquema general de las técnicas de detección y análisis de complejos de inclusión.	38
13. Función de excitación para distintas técnicas voltamétricas.	41
14. Voltamograma típico de una especie que intercambia reversiblemente un electrón en solución acuosa.	43
15. Representación esquemática del equipo utilizado en los experimentos de voltametría cíclica.	44
16. Representación esquemática de los componentes de un espectrómetro de RMN.	47
17. Espectro de ^1H -RMN (500 MHz) de una muestra de α -CD en D_2O a 298 K.	49

18. Isoterma de enlace del sistema PF_6^- - β -CD.	54
19. Representación esquemática del cambio en la respuesta electroquímica del sustrato ferrocencarboxilato cuando este es incluido en la cavidad de β -CD.	57
20. Estructura y respuesta electroquímica del receptor <i>N</i> -(2-nitrobencil)-aza-15-corona-5 en ausencia y en presencia de 10 equivalentes de NaClO_4 .	60
21. Equilibrios químicos y electroquímicos de un sustrato electroactivo en presencia de ciclodextrina.	62
22. Voltamogramas simulados para distintos valores de K_{ox} y una relación constante $K_{rd} / K_{ox} = 10^4$ en una mezcla de receptor-sustrato 1:0.5.	71
23. Espectro de ^1H -RMN de una mezcla de dos isómeros traslacionales.	76
24. Poliaminas que Lehn y colaboradores utilizaron para acomplejar ferrocianuro en medio acuoso.	82
25. Titulación potenciométrica de β -amino-CD en medio acuoso.	86

26. VC de $K_4Fe(CN)_6$ 1 mM en (a) ausencia y en presencia de 1.	89
27. VC de $K_4Fe(CN)_6$ 1 mM en (a) ausencia y en presencia de 2.	90
28. VC de $K_4Fe(CN)_6$ 1 mM en (a) ausencia y en presencia de 3.	91
29. Equilibrios relevantes en la titulación de $Fe(CN)_6^{4-}$ con amino-CD's.	94
30. Simulación digital de la VC de $K_4Fe(CN)_6$ 1 mM en (a) ausencia y en presencia de 1.	100
31. Simulación digital de la VC de $K_4Fe(CN)_6$ 1 mM en (a) ausencia y en presencia de 2.	101
32. Simulación digital de la VC de $K_4Fe(CN)_6$ 1 mM en (a) ausencia y en presencia de 3.	102
33. Espectros de 1H -RMN de 1 en (a) ausencia y en (b) presencia de 5 equivalentes de $Fe(CN)_6^{4-}$.	108
34. Estructura del complejo de inclusión entre $Fe(CN)_6^{4-}$ y las ciclodextrinas modificadas 1, 3.	110

35. Representación esquemática de una unidad sacárida de ciclodextrina.	111
36. Espectros de ^1H -RMN de 3 en (a) ausencia y en (b) presencia de 5 equivalentes de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$.	114
37. Representación esquemática de la flexibilidad de 1 .	115

LISTA DE TABLAS

página

1. Propiedades físicas y dimensiones moleculares de las ciclodextrinas. 6
2. Agentes que provocan la precipitación selectiva de las ciclodextrinas 10
durante la degradación enzimática del almidón.
3. Parámetros electroquímicos y termodinámicos de la complejación 97
de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ con α , β y γ -amino-CD.

I.- Antecedentes.

1.- Ciclodextrinas.

Las ciclodextrinas conforman una familia de oligosacáridos de origen natural que, desde su descubrimiento en 1891 por Villiers,¹ han sido objeto de numerosos estudios tanto de corte científico como tecnológico.² Conocidas también como ciclooligoamilosas o ciclomaltooligosacáridos,³ estos compuestos han recibido mucha atención gracias a la relativa selectividad con que pueden acomplejar y disolver compuestos hidrofóbicos en medio acuoso.

La relativa selectividad con que las ciclodextrinas discriminan entre distintos sustratos obedece básicamente a interacciones de tipo van der Waals. Por esta razón, estos compuestos se han dado a llamar agentes complejantes “promiscuos” ya que, a diferencia de receptores específicos como los éteres corona en los que interacciones electrostáticas son básicamente responsables del proceso de asociación, las ciclodextrinas enlazan cualquier molécula que posea el tamaño adecuado para ser incluida en la cavidad hidrofóbica de las mismas.^{4,5}

En términos prácticos, la capacidad de complejación de las ciclodextrinas ha hecho que estos compuestos sean ampliamente utilizados en la actualidad como receptores moleculares para administrar drogas y perfumes,⁶ proteger compuestos de ambientes químicamente agresivos^{6,7} o bien como receptores capaces de simular procesos de catálisis enzimática.^{8,9}

Desde el punto de vista científico, las ciclodextrinas ofrecen la posibilidad de estudiar interacciones de tipo no covalente a través de la formación de los llamados complejos de inclusión.¹⁰ La formación de estos complejos imita de algún modo los importantes mecanismos de *reconocimiento molecular* que forman parte importante de los procesos bioquímicos de catálisis enzimática que se llevan a cabo en los organismos de los seres vivos.¹¹

En la Figura 1, se presentan esquemáticamente los dos grandes grupos en los que se clasifican en general los procesos de reconocimiento molecular.

En el primer caso (Figura 1-a), el receptor o una parte específica de él, posee la forma apropiada para incluir un sustrato dado. De esta manera, el proceso de reconocimiento molecular está caracterizado por una "complementariedad geométrica" entre receptor y sustrato.

En el segundo caso, representado en la Figura 1-b, el receptor no posee un sitio complementario al sustrato *antes* de la formación del complejo. A diferencia del primer grupo de receptores, el sitio de reconocimiento molecular no se encuentra pre-formado, sino que es la interacción misma de ambas especies la que en última instancia provoca la formación del sitio de reconocimiento molecular. Numerosos estudios, sugieren que este tipo de reconocimiento es el que se verifica en los procesos de catálisis enzimática.¹²

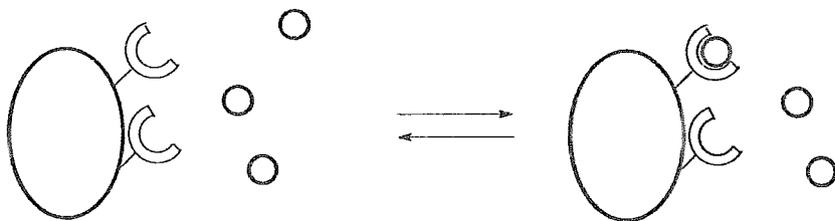
En general, se considera que el tipo de reconocimiento molecular que las ciclodextrinas mimetizan las ubica como miembros del primer grupo de receptores moleculares (Figura 1-a) debido al hecho de que se les visualiza

como moléculas relativamente rígidas en las que el sitio de asociación es la cavidad hidrofóbica de las mismas.^{4, 5}

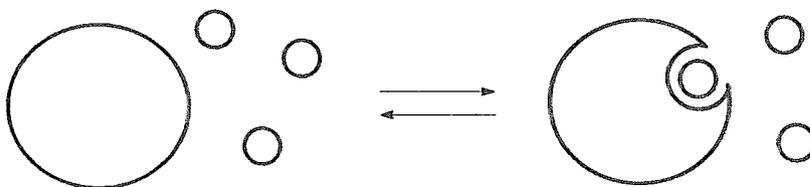
Figura 1

Esquema general de los procesos de reconocimiento molecular.

a)



b)



Esta visión sin embargo no es única, y algunos investigadores piensan que la asociación a ciclodextrinas en medio acuoso se lleva a cabo mediante un mecanismo que tiene características tanto del primer esquema de asociación

como del segundo. Efectivamente, estudios recientes llevados a cabo en distintos laboratorios, sugieren que cuando un sustrato se incluye en la cavidad de la ciclodextrina, esta última sufre un proceso de rearrreglo molecular similar al definido en la Figura 1-b.^{13, 14} Es importante señalar sin embargo, que este proceso de rearrreglo intramolecular es todavía motivo de debate en la comunidad científica.

El interés en las ciclodextrinas y sus diversas aplicaciones es evidente por el hecho de que tan sólo en 1994, fueron publicados 512 artículos con la palabra "cyclodextrin" en el título.¹⁵

Además de la variedad de usos que se han encontrado para estos compuestos, las ciclodextrinas son sustancias relativamente baratas, biodegradables y al menos en concentraciones relativamente bajas no han mostrado ser tóxicas.¹⁶

1.1.- Estructura y propiedades.

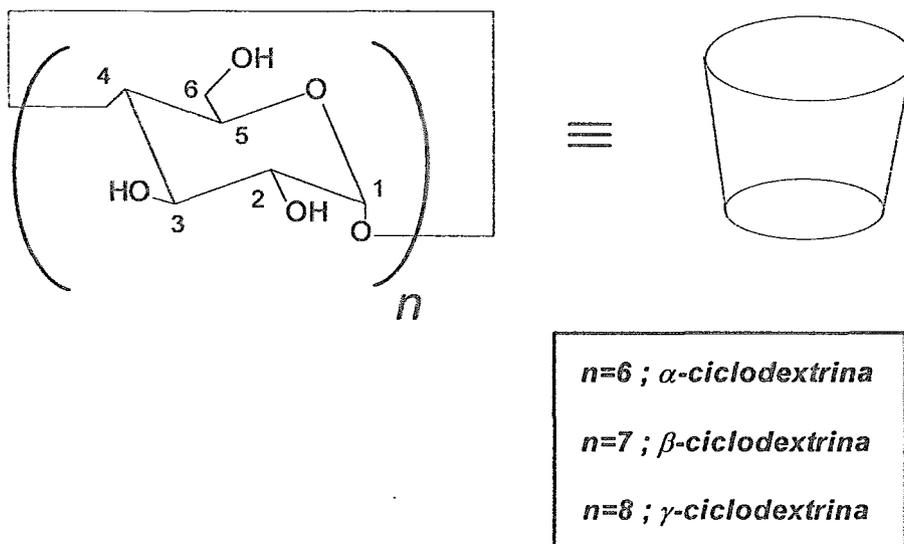
Las ciclodextrinas (CD's) están compuestas por n unidades de D(+) glucopiranososa conectadas entre sí por enlaces α -1-4 (Figura 2). Dependiendo del número n de azúcares que componen el ciclo, las ciclodextrinas son comúnmente referidas en la literatura con los nombres de α -ciclodextrina, β -ciclodextrina y γ -ciclodextrina para n con valores de 6, 7 y 8 respectivamente.¹⁷

Como puede apreciarse en la Figura 2, la estructura cíclica de estos compuestos les da la forma peculiar de "canastas" o cápsulas de dimensiones

moleculares en las que la cavidad del receptor tiene características hidrofóbicas. Por otro lado, los grupos hidroxilo localizados en los bordes de la cavidad (posiciones C-2, C-3 y C-6), dan a la molécula características suficientemente polares como para hacer que estos compuestos sean razonablemente solubles en medio acuoso.¹⁸

Figura 2

La estructura de las Ciclodextrinas.



Los grupos hidroxilo primarios, en la posición C-6 son los más expuestos a la solución y pertenecen al lado angosto de la cavidad. En el extremo opuesto

de la molécula, los grupos OH secundarios en las posiciones C-2 y C-3, se ubican en posición ecuatorial en el lado ancho de la cavidad.¹⁶

Mientras que el grupo OH en el carbono C-2 apunta al interior de la cavidad, el grupo OH en el carbono C-3 lo hace hacia afuera de la cavidad. La distribución asimétrica de los grupos polares de la molécula, es decir los grupos OH, provoca que las ciclodextrinas posean momentos dipolares relativamente altos (alrededor de 5 D).^{19, 20}

Las dimensiones moleculares de las ciclodextrinas, así como algunas otras propiedades físicas de las mismas, son presentadas en la Tabla 1.

Tabla 1

Propiedades físicas y dimensiones moleculares de las ciclodextrinas.²

Propiedad / Dimensión	α -CD	β -CD	γ -CD
Peso molecular	972	1134	1296
Moléculas de agua en la forma cristalina	6-7.57	12	13.3
Solubilidad en agua^a	14.5	1.85	23.2
Diámetro interno^b	4.7-5.3	6.0-6.5	7.5-8.3
Diámetro externo^b	14.2-15.0	15.0-15.8	17.1-17.9
Altura^b	7.9	7.9	7.9

^a En g/100 mL a 298 K. ^b En Å.

Por alguna razón que todavía se desconoce, α -CD y γ -CD son substancialmente más solubles en agua que β -CD. Probablemente los grupos polares de β -ciclodextrina están dispuestos de tal modo en solución, que la formación de puentes de hidrógeno con las moléculas de solvente que la rodean es más deficiente que en el caso de los receptores α -CD y γ -CD.

En general, las ciclodextrinas son muy solubles en solventes polares apróticos tales como dimetilsulfóxido (DMSO), dimetilformamida (DMF), N-N-dimetilacetamida y piridina, mientras que por otro lado son poco solubles en disolventes como etanol y metanol.^{21, 22}

Debido a la naturaleza enzimática de la síntesis de las ciclodextrinas (misma que se discutirá más adelante), todas las unidades sacáridas que constituyen estos compuestos presentan actividad óptica de tipo dextrorrotatorio.²¹

Es interesante señalar que cuando un compuesto que carece de actividad óptica es incluido en la cavidad de una ciclodextrina formando un complejo de inclusión, es posible observar la actividad óptica del complejo a través de dicroísmo circular el cual es un fenómeno que se conoce como actividad óptica rotatoria inducida.

De acuerdo a estudios de rayos X y a cálculos de minimización energética por computadora, la conformación de todas las unidades sacáridas en el mínimo energético para las tres ciclodextrinas es la de C1- silla.²³⁻²⁵ En esta conformación, la molécula se caracteriza por un grupo de simetría C_n en el que los grupos OH de los carbonos 2 y 3 en la abertura ancha de la molécula

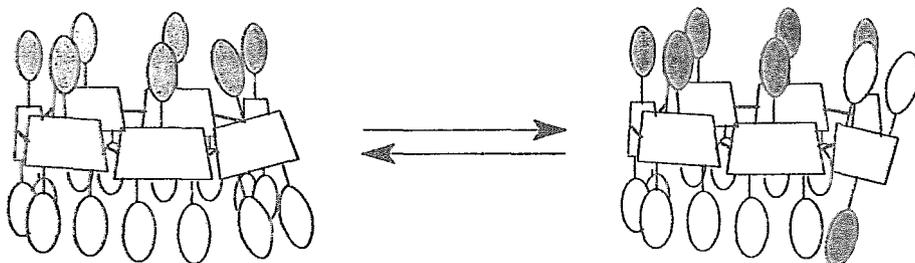
pueden formar un número máximo de puentes de hidrógeno entre ellos.¹⁶ Es importante señalar, que estos puentes estabilizan energéticamente la estructura cónica de la molécula en el estado gaseoso.

En solución sin embargo, la cavidad de la ciclodextrina es ocupada por moléculas de solvente que en el caso del agua no son capaces de formar tantos puentes de hidrógeno como en el seno de la solución. Como consecuencia de esto, las unidades sacáridas de la ciclodextrina en solución acuosa se distorsionan de tal modo que al formar puentes de hidrógeno con las moléculas del solvente que se encuentran dentro de la cavidad, rompen la simetría de la molécula.¹³

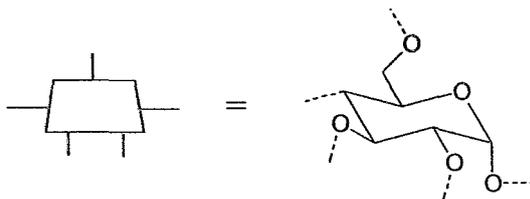
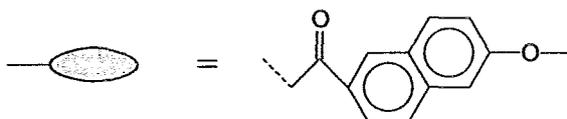
El grado de distorsión que las unidades sacáridas de las ciclodextrinas presentan en solución acuosa es todavía motivo de debate. Por razones estéricas y debido a la equivalencia de los protones en el espectro de resonancia magnética nuclear protónica $^1\text{H-RMN}$, se pensó durante mucho tiempo que la "canasta" que define la geometría de las ciclodextrinas era estrictamente rígida.²⁶⁻²⁸ Estudios recientes sin embargo, tanto de $^1\text{H-RMN}$ de ciclodextrinas modificadas como de rayos X de ciclodextrinas hidratadas, sugieren que estos receptores son mucho más flexibles de lo que se pensaba. En la Figura 3 por ejemplo, puede apreciarse una representación esquemática del fenómeno de rotación de una de las unidades sacáridas de ciclodextrinas modificadas que Lehn y colaboradores observaron en un importante estudio de $^1\text{H-RMN}$.¹⁴

Figura 3

Representación esquemática de la rotación de una de las unidades sacáridas de un derivado de β -CD.¹⁴



En donde:



1.2.- Síntesis.

Las ciclodextrinas se obtienen mediante la precipitación selectiva de la mezcla de productos que resultan de la degradación enzimática del almidón. Las

enzimas responsables de la formación de estos compuestos, así como una serie de polímeros lineales análogos, pertenecen a un grupo de enzimas de origen bacteriano que se conocen con el nombre de ciclodextrina-glucosil-transferasas (CGT).⁶ Por lo general, estas enzimas no actúan selectivamente respecto al número de unidades de glucopiranososa que componen el ciclo.²⁹ Por esta razón, la síntesis de un tipo particular de ciclodextrina se lleva a cabo mediante la extracción continua, por medio de precipitación selectiva, del producto de la mezcla de reacción.⁶

En la Tabla 2, se presentan los solventes utilizados en la precipitación selectiva de cada una de las ciclodextrinas así como el rendimiento global de la síntesis.^{29, 31}

Como puede apreciarse en la Tabla 2, el rendimiento para las tres ciclodextrinas es razonablemente bueno (alrededor de 50%) mientras que por otro lado, la pureza de estos compuestos es particularmente alta (99%).

Tabla 2

Agentes que provocan la precipitación selectiva de las ciclodextrinas durante la degradación enzimática del almidón.

Ciclodextrina	Agente que provoca la precipitación	Rendimiento (%)
α -CD	1-Decanol	40
β -CD	Tolueno	50-60
γ -CD	Ciclohexadeca-8-enona	40-50

Las ciclodextrinas son compuestos particularmente estables. β -CD por ejemplo, tiene una vida media de 1.6 horas en HNO_3 1.15 M a 80°C ⁶. También, en medios fuertemente básicos las ciclodextrinas tienden únicamente a perder el protón del grupo OH en la posición C-2 (el más ácido, $\text{pK}_a=12.2$). Este grupo, a diferencia del hidroxilo secundario en C-3, se encuentra próximo a un oxígeno en el interior de la cavidad que tiende a estabilizar la forma ionizada del hidroxilo.^{28, 32}

1.3.- Ciclodextrinas modificadas.

Debido a que son moléculas polifuncionales, las ciclodextrinas son compuestos que pueden ser modificados de diversas maneras. De este modo, es posible por ejemplo atacar selectivamente el enlace C-1-O-C-4' con un ácido de Lewis en condiciones apróticas.^{33, 34}

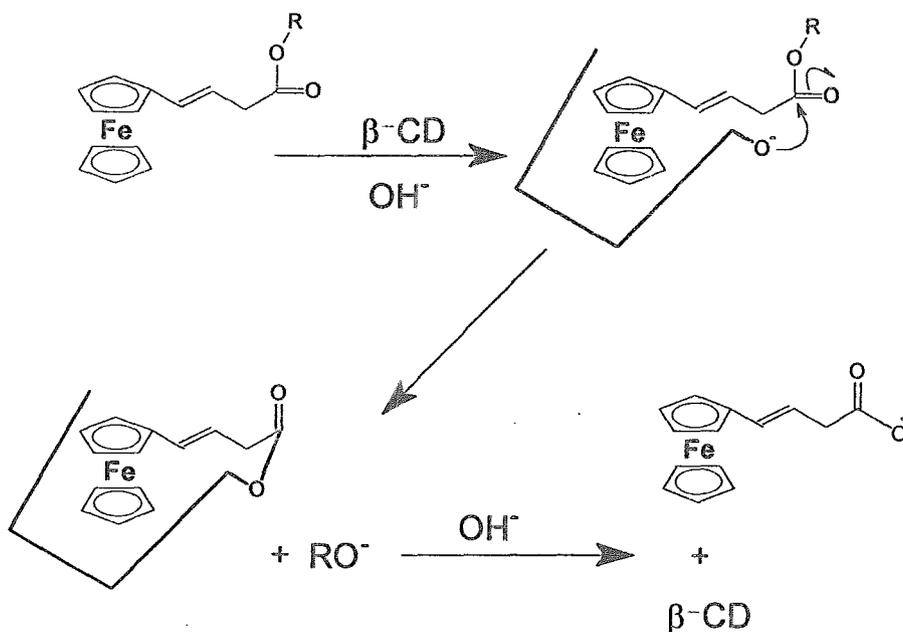
Por otro lado, el uso de N_2O_4 o bien P/O_2 provoca la oxidación selectiva del hidroximetileno en la posición 6 transformándose al ácido carboxílico correspondiente.³⁵

Un caso muy especial de ciclodextrinas modificadas consiste en el comportamiento del receptor en medios fuertemente básicos ($\text{pH}=12$). Como se mencionó anteriormente, en estas condiciones la ciclodextrina tiene deprotonado un hidroxilo secundario que funciona como nucleófilo para reacciones catalíticas interesantes.³⁶ Numerosos estudios llevados a cabo en los últimos años por ejemplo, han reportado las propiedades catalíticas (en medio fuertemente básico) de β -CD en la saponificación de ésteres de ácidos

carboxílicos.³⁷⁻³⁹ Breslow y colaboradores por ejemplo, reportaron un incremento de 10^5 en la velocidad de formación de un alcohol ROH a partir del éster de ferroceno que se presenta en la Figura 4 cuando β -CD se encuentra presente en la solución.⁴⁰⁻⁴²

Figura 4

Papel catalítico de β -CD en la hidrólisis básica de ésteres de ácidos carboxílicos.



Se presume que debido al pH del medio, un hidroxilo deprotonado (probablemente el ubicado en la posición C-2) hace las veces de nucleófilo en el ataque al carboxilato del sustrato cuando la unidad de ferroceno se encuentra

incluida en la cavidad del receptor formando un complejo de inclusión. El alcohol deprotonado es liberado y el complejo de inclusión hidrolizado para dar lugar a β -CD libre y al ácido carboxílico correspondiente.^{43, 44}

El importante efecto catalítico de esta reacción se debe básicamente a dos factores: la inclusión en la cavidad del receptor de la unidad de ferroceno y la cercanía del carboxilato al oxígeno deprotonado de la ciclodextrina.⁴³ El control topológico de este tipo de reacciones ha provocado que distintos ésteres de ácidos carboxílicos,³⁷⁻³⁹ fosfóricos⁴⁵⁻⁴⁷ y sulfúricos⁴⁸ se hayan sometido a diferentes estudios con el fin de entender y optimizar los procesos catalíticos en los que participan las ciclodextrinas.

La reacción más utilizada para preparar ciclodextrinas modificadas, consiste sin embargo en el ataque electrofílico a los grupos hidroxilo en C-6 y en C-2 en los bordes opuestos de la molécula de CD. De esta forma, éteres y ésteres derivados de ataques con haluros de ácidos sulfónicos,^{49, 50} haluros de alquilo,⁵¹ epóxidos^{52, 53} y haluros de ácidos fosfóricos⁵⁴ han sido preparados.

Los grupos OH susceptibles al ataque electrofílico presentan, debido a su posición, distintos grados de reactividad. Debido a que es el más expuesto a la solución, el hidroxilo primario en C-6 es el más reactivo cuando se utilizan grupos electrofílicos voluminosos.¹⁶

Con respecto a los hidroxilos secundarios y en referencia a lo que se discutió anteriormente, los grupos OH en C-2 son los más ácidos y es posible ionizarlos selectivamente en condiciones anhidras para que subsecuentemente puedan ser modificados mediante un ataque electrofílico.³⁶ Los grupos OH en

C-3 son por otro lado prácticamente inertes y para llevar a cabo un ataque electrofílico en esta posición, es necesario proteger primero los grupos OH en las posiciones C-6 y C-2.⁵⁵

Un ejemplo interesante de la preparación y utilización con fines analíticos de ciclodextrinas modificadas, son los sensores fluorescentes reportados por los grupos de investigación de Guillet en Canadá⁵⁶ y de Ueno en Japón.^{57, 58}

De entre estos trabajos, cabe destacar el de Ueno y colaboradores quienes en 1993 reportaron la preparación y caracterización de una ciclodextrina modificada en la que el cambio en el equilibrio químico, como consecuencia de la presencia de un sustrato cualquiera en solución que se incluye en la cavidad de β -CD, se refleja a través de un cambio en la intensidad fluorescente del receptor modificado que, de este modo, presenta características de sensor molecular.⁵⁸

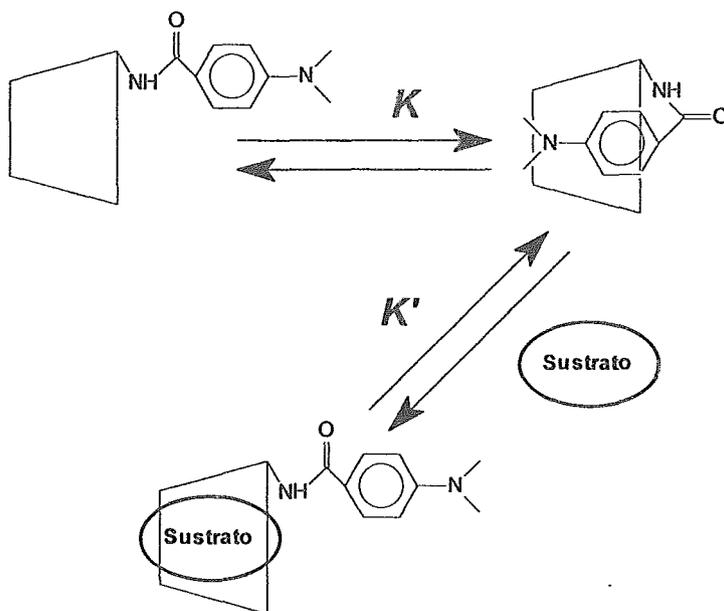
La ciclodextrina modificada en cuestión posee un grupo fluorescente (las ciclodextrinas no modificadas son inactivas en lo que a fluorescencia se refiere) covalentemente unido a una de las unidades sacáridas en el borde ancho de la molécula de β -ciclodextrina.

Como se puede apreciar en la Figura 5, el grupo aromático fluorescente de la molécula puede encontrarse en cualquiera de los siguientes dos estados: o bien incluido en la cavidad del receptor o bien fuera de ella (la fracción con que ambas formas del receptor participan en la emisión depende de la constante de equilibrio K). Dado que ambas formas del receptor fluorescen de diferente manera (con diferentes coeficientes cuánticos), la respuesta

fluorescente de la ciclodextrina modificada en presencia de un sustrato con afinidad por la cavidad del receptor, depende entonces esencialmente de las concentraciones del receptor y del sustrato y del equilibrio definido por la constante K' .

Figura 5

Sensor fluorescente basado en β -CD.

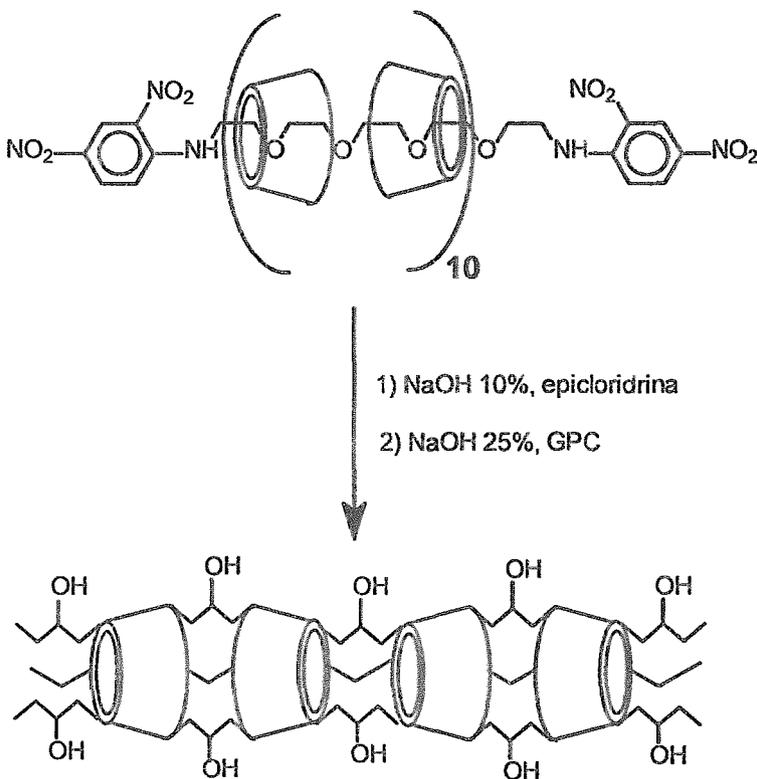


Otro ejemplo clásico de ciclodextrinas modificadas, es el trabajo de Harada y colaboradores en la preparación de tubos de dimensiones moleculares.⁵⁹

En una primera etapa, aproximadamente 20 unidades de α -CD son ensartadas a través de una cadena de unidades etóxido cuyos extremos se bloquean con los grupos aromáticos que se muestran en la Figura 6.

Figura 6

Esquema de la preparación de tubos poliméricos de dimensiones moleculares basados en α -CD.



Posteriormente, el complejo es tratado con epícloridrina en medio básico. De esta manera, mediante el uso de cromatografía de permeación en gel (GPC), el grupo de Harada fue capaz de detectar el tubo polimérico formado por puentes de hidroxipropileno que unían los bordes anchos y angostos de las moléculas de α CD.

Los grupos aromáticos en los extremos de la cadena que funciona como armazón fueron posteriormente removidos en medio básico y la cadena fué subsecuentemente extraída mediante GPC. De esta manera, un tubo polimérico basado en α -CD de aproximadamente quince unidades y de dimensiones moleculares fué construido por primera vez.

Otro ejemplo clásico de la utilización de las propiedades de reconocimiento molecular de CD's modificadas sintéticamente, es el diseño y construcción de sensores electroquímicos basados en la preparación de electrodos modificados con ciclodextrinas. En 1995, Kaifer y colaboradores reportaron las propiedades de reconocimiento molecular de ferroceno en el que electrodos de oro modificados con una monocapa de β -CD tiolada (HS- β -CD), presentan en medio acuoso (en la Figura 7 se puede apreciar un esquema simplificado de dichos electrodos).⁶⁰

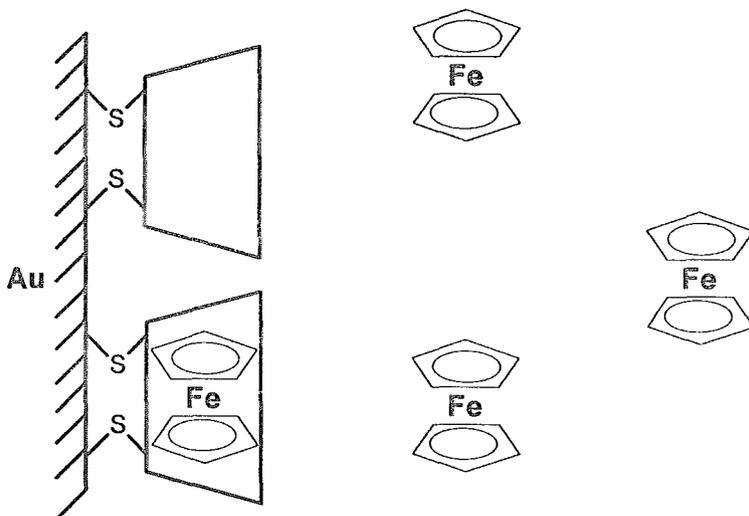
Debido a que en general los tioles pueden adsorberse químicamente sobre superficies de oro, las ciclodextrinas modificadas en las que los hidroxilos primarios son sustituidos por grupos -SH resultan ser candidatos ideales para la construcción de electrodos modificados que ostenten sitios de reconocimiento molecular. De esta manera, y a través de la formación de complejos de inclusión

con sustratos electroactivos como el ferroceno (cuya estructura se muestra en la Figura 7), forman sensores moleculares que son capaces de detectar por medio de voltametría cíclica (VC) concentraciones de sustrato en el medio tan bajas como 5×10^{-6} M.

La inclusión de la especie electroactiva en la cavidad hidrofóbica de las CD's adsorbidas en la superficie del electrodo, es detectable no solo a través de la correlación de concentración y corriente Faradaica en el experimento de VC, sino también a través de la forma del voltamograma que, claramente indica el confinamiento del ferroceno en la superficie del electrodo.⁶⁰

Figura 7

Sensor electroquímico basado en la modificación de un electrodo de oro con una monocapa de β -CD tiolada.



Entre las reacciones comúnmente utilizadas para preparar ciclodextrinas modificadas, destaca de forma particular en el contexto de este trabajo la mención del ataque nucleofílico del enlace C-OH en la posición C-6 de las ciclodextrinas.

Esta reacción, que da lugar a ciclodextrinas modificadas del tipo de las amino-ciclodextrinas (amino-CD's), requiere la previa activación del oxígeno mediante un grupo electroatrayente. De esta manera, es posible que compuestos como sales de ciclodextrina-6-O-sulfonato pueden reaccionar con nucleófilos como iones azido,⁶¹⁻⁶³ halógenos,⁶⁴ tioles^{65, 66} o aminas.⁶⁷

Los compuestos α , β , y γ -ciclodextrina-6-azido son un ejemplo del producto de esta reacción en el que la reducción subsecuente seguida de una hidrólisis ácida da lugar a las CD's modificadas hexakis(6-deoxy-6-amino)- α -CD, heptakis(6-deoxy-6-amino)- β -CD y octakis(6-deoxy-6-amino)- γ -CD mejor conocidas como amino-CD's.⁶⁸

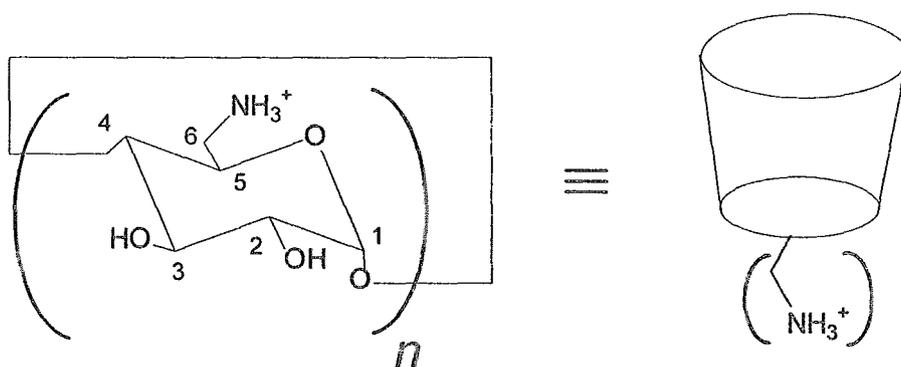
Como puede apreciarse en la Figura 8, la estructura de las amino-CD difiere de la correspondiente a las ciclodextrinas no modificadas, únicamente en los n grupos amino enlazados a los carbonos C-6 de las n unidades sacáridas del receptor. Esta característica, da lugar a diferencias muy importantes en cuanto a la capacidad y selectividad de acomplejamiento que las amino-CD's (1-3) tienen con respecto a sus contrapartes no modificadas.

En primer lugar, las amino-CD's poseen al igual que sus precursores, una cavidad esencialmente hidrofóbica que en este caso particular se encuentra

próxima a una corona densamente cargada por los grupos amino y por lo tanto, fuertemente hidrofílica.

Figura 8

Estructura de las amino-ciclodextrinas.



1; $n=6$; α -aminociclodextrina

2; $n=7$; β -aminociclodextrina

3; $n=8$; γ -aminociclodextrina

En términos generales, es posible decir que estos receptores se caracterizan por cavidades "anfifílicas" que los hacen funcionar en principio, como receptores de compuestos que contengan una zona esencialmente hidrofóbica próxima a una zona hidrofílica cargada negativamente.⁶⁹

Schneider y colaboradores por ejemplo, publicaron en 1994 un estudio completo sobre la asociación de amino-CD's con nucleótidos y nucleósidos.⁷⁰ En este trabajo, se demostró que los receptores aminados son capaces de reconocer sustratos no sólo con base en la estructura del azúcar o de la base del sustrato bajo estudio, sino también en cuanto a la posición del fosfato con respecto a éste.

En 1991 Eliseev y colaboradores estudiaron las interacciones receptor-sustrato que este tipo de receptores aminados presentan con pirocatecolatos en medio acuoso.⁷¹ En este trabajo se encontró que como consecuencia del cálculo de las contribuciones hidrofóbica y electrostática de los enlaces bajo estudio, cada uno de los pares iónicos presentes en la asociación de amino-CD's contribuye con aproximadamente 5 kJ/mol a la energía libre de enlace en este tipo de sistemas. Es importante señalar que este valor numérico no sólo está de acuerdo con resultados obtenidos en otros laboratorios para distintos sistemas estabilizados electrostáticamente,⁷² sino que también implica constantes de asociación de aniones con amino-ciclodextrinas mucho mayores (de hasta $1 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$)⁷³ que las obtenidas hasta el momento entre diferentes aniones y los correspondientes receptores no modificados ($10^2 - 10^3 \text{ M}^{-1}$).⁷⁴⁻⁷⁸

Las amino-ciclodextrinas (1-3), ofrecen una posibilidad interesante para estudiar la asociación de aniones en solución en vista de la corona de cargas positivas que estos receptores poseen en uno de los extremos de la cavidad hidrofóbica. El estudio de dichos sistemas se hace aún más interesante en vista

de la cantidad limitada de receptores sintéticos diseñados específicamente para la asociación de aniones en solución.^{79, 80}

2.- Fuerzas intermoleculares responsables de la formación de complejos de inclusión.

Como se mencionó con anterioridad, la formación de complejos de inclusión es importante desde un punto de vista científico en términos del estudio de las interacciones débiles que intervienen en los procesos de asociación. El entendimiento de estas interacciones, principalmente en medio acuoso no supone un problema sencillo, debido al hecho de que en general en este tipo de procesos de asociación no interviene una fuerza motriz única sino por el contrario una combinación compleja de varios tipos de interacciones. En medio acuoso, estas interacciones pueden dividirse básicamente en cinco categorías.⁸¹

2.1.- Interacciones electrostáticas.

En primer lugar, se encuentran las interacciones de tipo electrostático. Estas interacciones que son por lo general de naturaleza atractiva, se presentan entre el receptor y el sustrato cuando estos poseen grupos ionizados con cargas de signo opuesto. De este modo, la fuerza presente entre ambas moléculas puede ser modelada a través de la ley de Coulomb.⁸²

$$F = \frac{q_1 q_2 r}{\varepsilon |r|^3} \quad (1)$$

En la ecuación (1), q_i es la carga eléctrica de la especie en cuestión, ε es la constante dieléctrica del medio que separa las cargas y r es el vector que representa la distancia entre las mismas.

En términos de energía, que en última instancia es la forma apropiada de representar las interacciones receptor-sustrato, la ley de Coulomb puede escribirse de la siguiente manera.

$$E = -\frac{q_1 q_2}{\varepsilon |r|} \quad (2)$$

Como puede apreciarse en la ecuación (2), la magnitud de la interacción energética depende primordialmente de tres factores. En primer lugar, la magnitud de las cargas juega un papel preponderante. Así por ejemplo, especies con alta densidad de carga en solución acuosa tales como las amino-ciclodextrinas (1-3) (+6,+7 o bien +8 suponiendo ionización completa) o el ión ferrocianuro (-4), presentan interacciones electrostáticas muy fuertes.

En segundo lugar, puede apreciarse en la ecuación (2) que la energía es inversamente proporcional a la distancia entre las especies cargadas. Esta característica, como se discutirá más adelante cuando se compare con las dependencias con la distancia de otro tipo de interacciones, hace que las interacciones electrostáticas sean calificadas como de "largo alcance".

Finalmente es importante señalar que la energía de interacción depende también de la constante dieléctrica ϵ que separa a las especies cargadas. En medios no polares como cloroformo o benceno, las interacciones electrostáticas juegan un papel muy importante ya que la constante dieléctrica del medio es muy baja ($\epsilon \text{ CHCl}_3 = 4.81$, $\epsilon \text{ C}_6\text{H}_6 = 2.27$).⁸³

En estos solventes sin embargo, un efecto adverso se verifica también. Las especies iónicas en este tipo de medios son difícilmente solvatadas dada la pobre polaridad de las moléculas del solvente. Por esta razón, la distancia entre las cargas en solución es necesariamente grande dados los bajos límites de solubilidad de los solutos iónicos.

En medio acuoso se presenta la situación inversa. En este caso, la naturaleza polar del solvente estabiliza las cargas a través del proceso de solvatación permitiendo concentraciones mayores de soluto y provocando que la distancia entre las cargas sea relativamente corta. Por otro lado sin embargo, la energía de interacción disminuye al debilitar el campo eléctrico producido por las cargas en solución como consecuencia del campo inverso generado por los dipolos de las moléculas de solvente ($\epsilon \text{ H}_2\text{O} = 78.5$).⁸³

Es importante señalar también, que las interacciones electrostáticas pueden presentarse entre especies neutras. En estos casos sin embargo, el requisito es que las moléculas en cuestión sean polarizables y consecuentemente capaces de formar dipolos eléctricos de tipo inducido. De esta manera, es posible hablar de las interacciones ión-dipolo o incluso dipolo-dipolo que en ambos casos son mas débiles que las interacciones entre dos

iones.⁸⁴ Un caso típico de este tipo particular de interacciones electrostáticas son los puentes de hidrógeno que se discutirán a continuación.

2.2.- Puentes de hidrógeno.

El segundo tipo de interacción intermolecular a considerar es el llamado puente de hidrógeno. Como se mencionó anteriormente, esta interacción es en esencia, un caso particular de interacción electrostática en la que dos átomos electronegativos (por ejemplo oxígeno y nitrógeno), *comparten* un átomo de hidrógeno.⁸⁵ En términos generales, es posible visualizar esta interacción a través del proceso de formación del “pseudo-enlace” que se representa en el siguiente equilibrio:



Donde R' y R representan dos grupos funcionales orgánicos cualquiera.

Como consecuencia del movimiento térmico en solución, el acercamiento entre las especies que actúan como donante y aceptor de protones toma lugar. En ese momento, el enlace entre el protón y el átomo de oxígeno se debilita y alarga mientras que simultáneamente, la formación del nuevo “enlace” entre el protón y el átomo de nitrógeno, proporciona estabilidad global al sistema.

Valores comunes de la energía involucrada en la formación de puentes de hidrógeno en el vacío se encuentran entre -12 y -24 kJ/mol.⁸⁶

Por otro lado, la formación de puentes de hidrógeno es fuertemente dependiente de la manera con que las especies que participan en el pseudo-enlace se aproximan una a otra. Por razones que no son todavía muy claras, las

geometrías lineales parecen formar el tipo de puentes de hidrógeno más estables.⁸⁷

En general, las especies que funcionan tanto como donantes o receptores de protones en los puentes de hidrógeno son átomos de oxígeno y/o nitrógeno. Estos átomos forman parte de grupos donantes tales como hidroxilos, aminas y amidas, y de grupos receptores como oxígenos carbonílicos y nitrógenos en aminas terciarias.

Es importante señalar que estos átomos se encuentran presentes también en solventes polares comunes como el agua y los alcoholes. Por esta razón (y al igual que en el caso más general de las interacciones electrostáticas) y debido a la competencia efectiva de moléculas de solvente por los sitios potenciales de formación de puentes de hidrógeno tanto en receptores como en sustratos, es difícil encontrar puentes de hidrógeno intermoleculares en medios polares.⁸¹

2.3.- Fuerzas de van der Waals.

El tercer tipo de interacciones a discutir son las interacciones de van der Waals. Este tipo de fuerzas, conocidas también como fuerzas de dispersión de London, son las de naturaleza más general entre las presentes en la formación de complejos de inclusión pues se presentan básicamente entre cualquier conjunto de moléculas *próximas* entre sí.⁸⁸

Las fuerzas de van der Waals por otro lado, son responsables de fenómenos bien conocidos tales como la desviación del comportamiento ideal

de los gases y la licuefacción de los mismos cuando las condiciones de presión y temperatura de una sustancia determinada así lo dictan.

En términos generales, las fuerzas de van der Waals son interacciones producto de dipolos instantáneos inducidos presentes en cualquier átomo o molécula. Estos dipolos, consecuencia de la asimetría instantánea en la distribución de carga de cualquier especie, son capaces de inducir e interactuar con dipolos similares en moléculas relativamente próximas.⁸¹

Debido a la naturaleza general de este tipo de interacciones, las fuerzas de van der Waals entre receptor y sustrato son aproximadamente de la misma magnitud que aquellas presentes entre las moléculas de solvente y las especies que se asocian entre sí.

La magnitud de la energía involucrada en las interacciones de van der Waals para la formación de complejos de inclusión es relativamente modesta y una cifra típica de este tipo de interacción puede ser de alrededor de -1.5 kJ/mol.⁸⁶ Este valor debe sin embargo tomarse con precaución ya que las fuerzas de van der Waals son, al igual que las de origen electrostático, dependientes de la distancia que separa a las especies en cuestión.

De esta manera, el modelo que describe las fuerzas de van der Waals es el correspondiente al del potencial de Lennard-Jones. Este modelo, que se representa en la ecuación (3), consta en esencia de dos términos independientes.⁸⁹

$$E = -\frac{A}{r^6} + \frac{B}{r^{12}} \quad (3)$$

El primero, es una simplificación conveniente que representa la energía de interacción dipolo-dipolo inducido de las moléculas a través de una constante exclusiva A para cada sustancia y una dependencia inversa con la distancia r a la sexta potencia. Este término atractivo es en realidad una simplificación ya que en rigor, las interacciones de van der Waals deben contemplar términos adicionales que describan no sólo las interacciones dipolo-dipolo, sino también las interacciones dipolo-quadrupolo y quadrupolo-quadrupolo.⁸⁹ Estos últimos términos de orden superior, suponen contribuciones de poca magnitud al potencial de Lennard-Jones y en la práctica, la simplificación aceptada en la ecuación (3) que define el perfil del potencial de Lennard-Jones ha mostrado ser suficientemente exacta para describir las fuerzas de interacción de van der Waals.

El segundo término en la ecuación (3) describe la energía de repulsión que aparece cuando las nubes electrónicas de las especies que interactúan comienzan a traslaparse.⁸⁹ De este manera, una segunda constante B dividida entre la distancia r a la doceava potencia, describe una interacción repulsiva (signo positivo) que se refleja en la energía únicamente cuando la distancia intermolecular es sumamente pequeña.

Es importante señalar que debido a los exponentes de r en la ecuación que define el potencial de Lennard-Jones y en referencia a las interacciones electrostáticas, las fuerzas de van der Waals son consideradas interacciones de corto alcance.

Por último cabe señalar que la importancia de las interacciones de van der Waals en un proceso de inclusión cualquiera deberá obedecer tanto al "ajuste" entre el receptor y el sustrato en el complejo, como a la superficie total de contacto entre las moléculas que se asocian.

2.4.- Efecto hidrofóbico.

Hasta hace algunos años, se pensó que la fuerza motriz responsable de la formación de casi todos los complejos de inclusión de moléculas orgánicas no polares en medio acuoso era el llamado efecto hidrofóbico clásico.⁹⁰

En principio, el efecto hidrofóbico no es, como las interacciones discutidas hasta el momento, una interacción favorable entre receptor y sustrato en medio acuoso. Por el contrario, la asociación de especies no polares en agua obedece básicamente a la tendencia de las moléculas de *solvente* a reducir la interacción desfavorable que éstas mantienen con las moléculas del soluto no polar.⁸¹

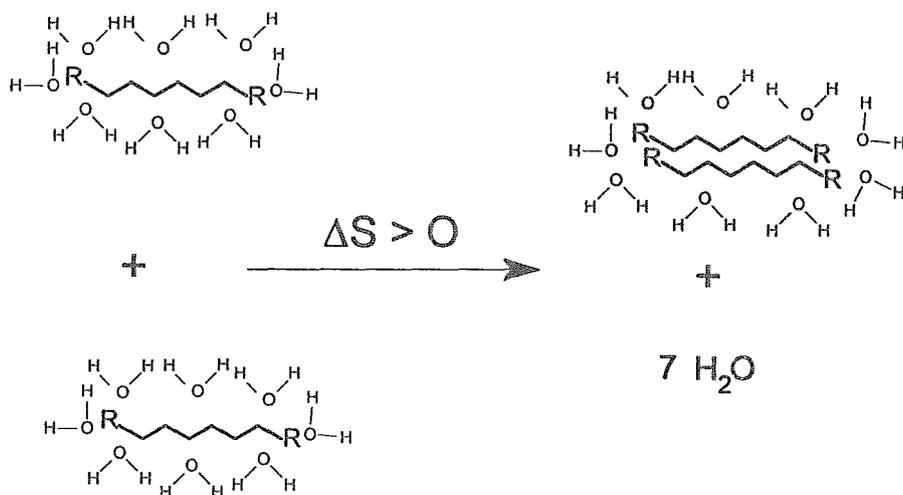
Es bien sabido que el proceso de disolución de moléculas no polares en medio acuoso es un proceso en principio, desfavorable. La regla práctica "semejante disuelve semejante", refleja sin duda esta experiencia. Sin embargo, cuando la concentración es suficientemente baja, una cadena alquílica como butano puede disolverse parcialmente en agua. La adición posterior de más butano a la solución acuosa (si la solubilidad lo permite), provoca la agregación de las moléculas orgánicas cuando la concentración de las mismas alcanza un

cierto valor crítico. Esta agregación, representa un caso típico de asociación de moléculas no polares debida al efecto hidrofóbico.

En la Figura 9, puede apreciarse esquemáticamente el proceso de asociación de dos moléculas orgánicas cualquiera debido al efecto hidrofóbico clásico.

Figura 9

Representación esquemática del efecto hidrofóbico. Agregación de solutos no polares en medio acuoso.



De acuerdo al modelo de Sinanoglu propuesto en 1965, el efecto hidrofóbico clásico puede explicarse en términos de la alta tensión superficial del agua.^{91, 92}

En términos generales, es posible descomponer el proceso de disolución de una molécula no polar en medio acuoso en dos procesos esencialmente independientes. En el primero de ellos, una cavidad es formada en el seno del solvente puro a través de la remoción de unas cuantas moléculas de agua. En la segunda etapa, la molécula de soluto no polar es introducida en la cavidad recién formada.

De acuerdo al modelo de Sinanoglu, la asociación de moléculas no polares disminuye el tamaño efectivo de la cavidad en el solvente y estabiliza energéticamente al sistema al disminuir la energía superficial del mismo. La tendencia a la disminución en el tamaño de la cavidad formada en el seno del solvente es por definición proporcional a la tensión superficial del mismo y puede explicarse en términos del estado energético de las moléculas de agua en contacto con la superficie del soluto que se encuentran, al igual que aquellas en una interfase agua-aire, en un estado energético alto y "tenso" debido a la ausencia de puentes de hidrógeno potenciales que pueden formar con otras moléculas de solvente en el seno de la solución.

Es importante señalar que el modelo de Sinanoglu que explica la fuerza motriz de asociación como un reflejo de la tensión superficial del agua, puede extenderse para el estudio de fenómenos similares en medios distintos al acuoso. De esta manera, el efecto hidrofóbico es conocido en un contexto mas amplio con le nombre de "efecto solvofóbico".⁹³

Un modelo alternativo al de Sinanoglu y sin duda de más alcance en su interpretación es aquel propuesto por Frank y Evans en 1945.⁹⁴

Este modelo, conocido con el sobrenombre de "iceberg", postula que las moléculas de solvente alrededor del soluto se encuentran en un estado de rigidez semejante al del agua en estado sólido. La tensión que caracteriza a estas moléculas, no solo explica el hecho experimental de que el ΔC_p del proceso de agregación resulte de signo negativo (debido al hecho de que antes de que la asociación se lleve a cabo un número mayor de moléculas de agua, con una C_p más alta, se encuentran en contacto con el soluto), sino que explica también la naturaleza *entrópica* del efecto hidrofóbico clásico que es sin duda, la característica principal de este tipo de procesos de asociación.

Un análisis de los cambios sufridos por las moléculas de soluto, en términos del modelo de Frank y Evans, puede explicar el cambio entrópico positivo que caracteriza al efecto hidrofóbico. Debido al proceso mismo de agregación, un cambio entrópico negativo se verifica desde el punto de vista de las moléculas que se asocian. Por otro lado, un cambio entrópico de signo contrario no sólo cancela esta contribución, sino que domina el proceso global. Este cambio positivo obedece a la "liberación" de moléculas de solvente que se incorporan al seno de la solución cuando la superficie efectiva del soluto disminuye.

En el esquema que se presenta en la Figura 9 son las siete moléculas de agua, "liberadas" cuando las cadenas hidrofóbicas se asocian, las que en realidad controlan la termodinámica del proceso global.

En los procesos de asociación definidos por el efecto hidrofóbico, las interacciones entre receptor y sustrato son básicamente débiles (por ejemplo

fuerzas de van der Waals) y la contribución entálpica al proceso de agregación es pequeña comparada con la contribución de origen entrópico.⁸⁶ Esto se debe a que la "tensión" o rigidez que experimentan las moléculas de solvente en contacto con el soluto implica necesariamente la formación de un número máximo de puentes e hidrógeno entre ellas. Este número, es en principio comparable con aquel con el que estas mismas moléculas se enlazan con otras una vez que han sido liberadas e incorporadas al seno de la solución.

Es importante señalar, que en el caso de la inclusión de compuestos no polares en la cavidad hidrofóbica de las ciclodextrinas debe existir, por definición, una contribución debida al efecto hidrofóbico que, sorpresivamente, resulta no ser la fuerza motriz del proceso.

Eftink y colaboradores estudiaron la complejación de adamantencarboxilato y β -CD en mezclas de etanol-agua con el objeto de identificar y cuantificar la contribución hidrofóbica del proceso de asociación.⁹⁶ Los resultados de su estudio, mostraron que el efecto hidrofóbico, aunque presente, contribuye de forma relativamente pobre (alrededor de 30%) a la energía libre de enlace.

Numerosos estudios termodinámicos llevados a cabo en los últimos quince años, han corroborado estos resultados y mostrado que la energía libre de formación de complejos de inclusión con ciclodextrinas tiene componentes entálpicos muy negativos y entropías no solo cercanas a cero sino que incluso negativas en algunos casos.^{10, 78, 93, 95} Los argumentos propuestos para explicar dichas observaciones contemplan ideas que van desde el rearreglo

intramolecular del receptor,¹³ hasta el efecto entálpico de las moléculas de solvente que, originalmente ubicadas en la cavidad del receptor, son capaces de formar más puentes de hidrógeno en el seno de la solución que en el interior de la ciclodextrina.⁹⁶

Estos argumentos, motivo de intenso debate aún hoy, han probado no ser concluyentes y una visión ampliamente aceptada acerca de la termodinámica de complejación de las ciclodextrinas es todavía inexistente.

2.5.- Interacciones π - π .

Las interacciones π - π son fuerzas atractivas entre sistemas no saturados que se conocen desde hace poco más de cincuenta años.⁹⁷

Este tipo de interacción es responsable de una gran variedad de fenómenos entre los que destacan las fuerzas que estabilizan la estructura de la doble hélice del ADN, el empaquetamiento en cristales de compuestos aromáticos, el intercalamiento de drogas entre las bases de la molécula del ADN, la estructura terciaria de las proteínas y la agregación de porfirinas en solución.⁹⁷

La energía envuelta en las interacciones π - π depende en forma importante tanto de la geometría de empaquetamiento entre las moléculas, como de la superficie aromática efectiva de las moléculas que participan en la agregación. En el caso particular de la asociación de porfirinas en diclorometano, se han medido energías de hasta -45 kJ/mol.⁹⁸

Un buen número de modelos han sido propuestos para explicar tanto observaciones experimentales como para predecir la geometría de agregados de moléculas aromáticas. Entre estos modelos, destacan el modelo de "donante-aceptor de electrones", el modelo de "carga atómica" y el ya mencionado efecto solvofóbico.⁹⁷ Ninguno de estos modelos sin embargo, ha sido capaz de explicar por sí mismo todas las observaciones experimentales en este tipo de sistemas. Por otro lado, simulaciones *ab-initio* han mostrado ser suficientemente exactas, pero la complejidad inherente en este tipo de trabajos ha permitido trabajar únicamente con sistemas muy simples.

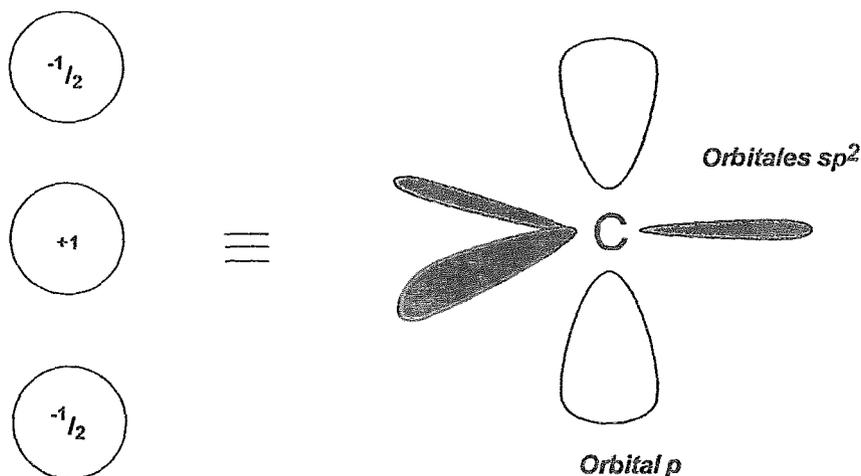
En 1990 Sanders y colaboradores propusieron un modelo para explicar la naturaleza de las interacciones π - π con base en estudios previos sobre la agregación de porfirinas en solución.⁹⁷ En este artículo, ahora considerado como clásico, los autores elaboran un modelo simple de las interacciones π - π con base en la separación de las contribuciones σ y π en los enlaces de la molécula aromática.

La Figura 10 muestra la representación esquemática de un átomo de carbono simplificado de acuerdo al modelo de Sanders en un sistema π .

Con base en esta simplificación, es posible calcular las contribuciones energéticas responsables de las interacciones π - π que resultan ser un caso particular, debido a imposiciones geométricas, de interacciones electrostáticas y fuerzas de van der Waals.⁹⁷ De esta manera y con base en los resultados del modelo propuesto por Saunders, en la Figura 11 se presenta un mapa de interacción entre dos átomos que participan en enlaces π .⁹⁹

Figura 10

Modelo de un átomo de carbono en un sistema π .

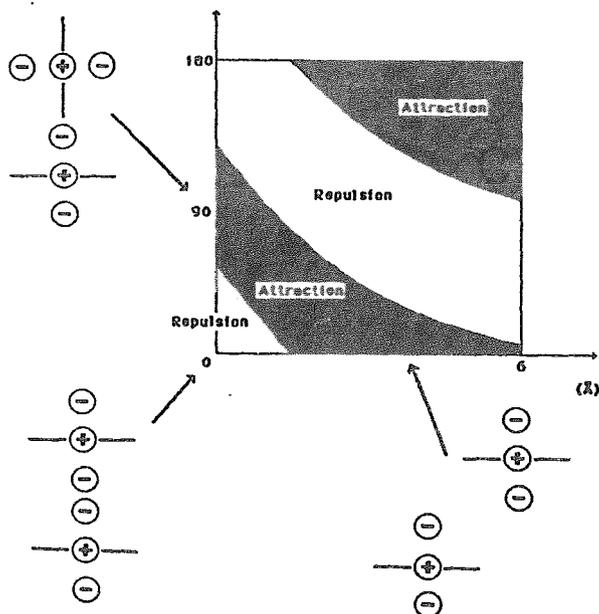


En esta representación, el átomo se muestra desde un enfoque perpendicular al plano que define una molécula insaturada.

Como puede apreciarse en la Figura 11, la energía de interacción puede ser atractiva o repulsiva dependiendo de la geometría con la que los sistemas π se aproximan. De este modo, en el caso de moléculas aromáticas que se agregan con traslape perfecto, (que sería la predicción geométrica más razonable para un proceso controlado por el efecto hidrofóbico) la repulsión π - π domina la interacción. Por otro lado, la energía de atracción π - σ domina en las geometrías de agregación en las que los planos de las moléculas se encuentran ya sea perpendiculares uno con otro, o bien paralelos pero ligeramente desplazados de tal modo que no se verifique un traslape perfecto.

Figura 11

Mapa bidimensional de la interacción π - π de dos átomos de carbono de acuerdo al modelo de Saunders y colaboradores.



Las observaciones experimentales sobre la geometría de agregación de porfirinas por ejemplo, concuerdan bien en términos tanto energéticos como geométricos con las predicciones del modelo de Sanders y colaboradores.⁹⁷

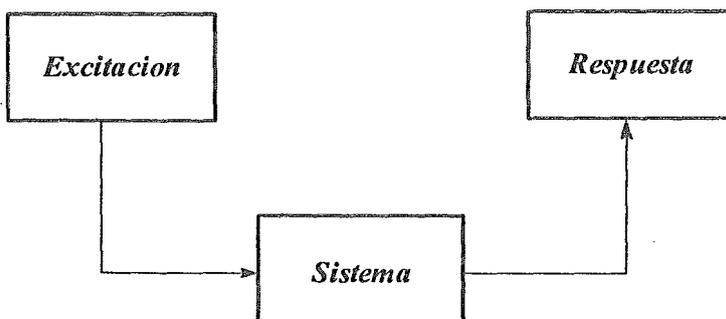
II.- Métodos y materiales.

1.- Técnicas empleadas en el estudio de los fenómenos de asociación.

Las técnicas analíticas que se utilizan en el estudio de los fenómenos de asociación son en general variadas y es frecuente que experimentos de calorimetría,^{4, 5, 78, 93, 100} voltametría cíclica,^{101, 102} conductimetría^{103, 104} y espectroscopía en sus diversas formas (IR, UV-vis, ¹H-RMN, fluorescencia y dicroísmo circular)¹⁰⁵⁻¹⁰⁹ sean citados en publicaciones relativas al tema del estudio de complejos de inclusión. Sin embargo, todas ellas se encuentran fundamentadas en el concepto básico que se presenta en la Figura 12.

Figura 12

Esquema general de las técnicas de detección y análisis de complejos de inclusión.



La señal de excitación tiene por objeto perturbar al sistema bajo estudio que consiste en una mezcla en equilibrio del complejo y de sus componentes en solución. Esta perturbación, provoca una respuesta característica que ofrece información indirecta no sólo sobre la naturaleza del complejo, sino también sobre las cantidades del sustrato libre en solución, del receptor o bien del complejo mismo.

La señal de excitación es por lo general de naturaleza energética y puede consistir de formas tan variadas como campo eléctrico aplicado,¹⁰¹⁻¹⁰⁴ radiación electromagnética¹⁰⁵⁻¹⁰⁹ o bien bombardeo con neutrones.¹¹⁰

La perturbación puede estar en principio dirigida a cualquiera de los componentes de la mezcla o a una parte específica de alguno de ellos. De este modo, es posible por ejemplo excitar selectivamente mediante espectroscopía (en la región UV del espectro) los grupos aromáticos de una molécula de antraceno⁸⁵ o bien, observar la señal característica de un protón perteneciente a un grupo OH en una ciclodextrina en un espectro de resonancia magnética nuclear de hidrógeno (¹H-RMN).⁷⁷

Por otro lado, la señal de respuesta es en general de la misma naturaleza que la de excitación y como se mencionó anteriormente, ofrece información cuantitativa y cualitativa sobre el complejo en cuestión. La racionalización de la señal de respuesta a través de métodos matemáticos específicos, no sólo permite evaluar la termodinámica de asociación, sino que en muchos casos es posible también identificar la naturaleza del enlace, la geometría del complejo y consecuentemente la fuerza motriz de asociación.

Con referencia no sólo a este trabajo de tesis, sino a la frecuencia con que son citadas en la literatura, dos técnicas analíticas destacan entre todas las demás en cuanto a su uso en la investigación en química: la voltametría cíclica (VC)¹¹¹ y la resonancia magnética nuclear de hidrógeno (¹H-RMN).¹¹²

En la siguiente sección, los fundamentos de ambas técnicas y el contexto en que éstas son utilizadas en el estudio de complejos de inclusión, serán discutidos en detalle.

1.1.- Voltametría cíclica.

En general, las variables que se utilizan en las técnicas electroquímicas como señales de excitación y/o de respuesta, son la corriente Faradaica y el potencial eléctrico en la interfase que conforman el electrodo de trabajo y la solución electrolítica en la que se encuentran una o más especies electroactivas.

En el caso particular de las técnicas de voltametría, la señal de excitación es la diferencia de potencial eléctrico en la interfase de trabajo. De este modo, las distintas técnicas voltamétricas se diferencian unas de otras por la forma en la que la señal de excitación cambia con respecto al tiempo.¹¹³

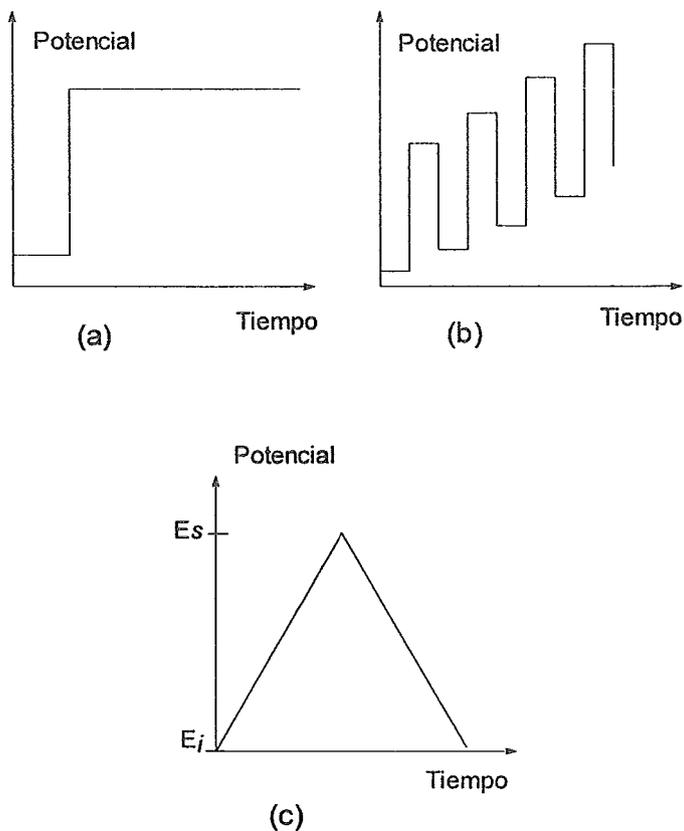
En la Figura 13 la llamada función de excitación (que describe precisamente la dependencia del potencial en la interfase de trabajo con respecto al tiempo), se presenta para algunas de las técnicas voltamétricas más populares.

Como puede apreciarse en la Figura 13-(c), la voltametría cíclica se caracteriza por una función de excitación en la que el potencial es barrido

linealmente desde un valor inicial E_i hasta uno que se denomina potencial de "switch" E_s . En este punto, la dirección de barrido se modifica de tal modo que el potencial cambia de la misma manera con respecto al tiempo pero en sentido contrario al original.

Figura 13

Función de excitación para distintas técnicas voltamétricas.



(a) Voltametría de pulso, (b) Voltametría de pulso cuadrado, (c) Voltametría cíclica.

El ciclo se completa entonces cuando el potencial ha regresado a su valor inicial.

En general, y de acuerdo al tipo de información que se esté buscando, el experimento de voltametría cíclica no se encuentra limitado a un solo ciclo y en principio este puede contemplar tantos ciclos como se desee.

Por otro lado, la señal de respuesta en las técnicas de voltametría es la corriente Faradaica que por definición refleja la interconversión electroquímica neta de especies electroactivas a través de la oxidación o reducción de las mismas.¹¹³

La ecuación 4 muestra esta igualdad en donde dC/dt representa el cambio diferencial en la concentración de la especie electroactiva en la interface con respecto al tiempo, n es el número de electrones involucrados en el proceso redox, F es la constante Faraday ($F = 96484 \text{ C/eq}$ que es igual a la carga de un mol de electrones) e i es la corriente Faradaica en amperes.¹¹³

$$\frac{dC}{dt} = nFi \quad (4)$$

El diagrama resultante de el experimento de VC se conoce como curva corriente-potencial o voltamograma y este es presentado en general como una correlación lineal de las señales de excitación y respuesta.

En la Figura 14 se presenta la respuesta típica corriente-potencial de un ciclo completo para un sistema electroquímicamente reversible en solución.¹¹⁴

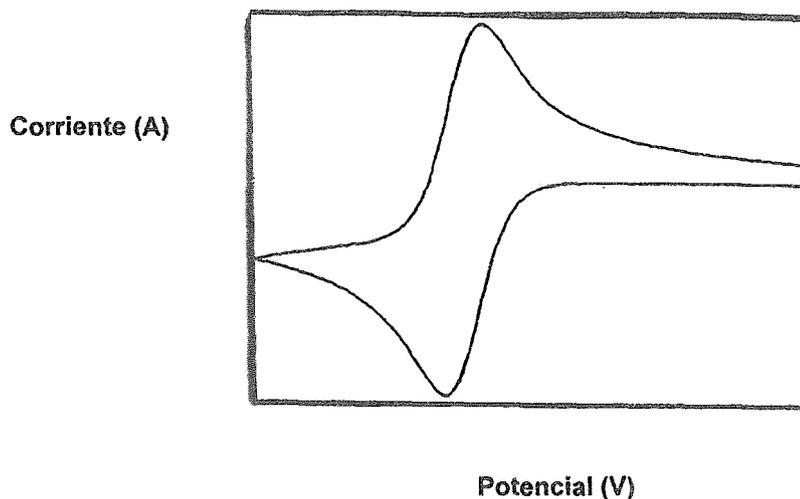
La información que se extrae de las curvas corriente-potencial de una determinada solución electrolítica es variada. Sin embargo, para sistemas

simples que se comportan reversiblemente se verifican algunas relaciones clásicas.

En primer lugar y de acuerdo a la Figura 14, la relación de corrientes de pico anódica y catódica es igual a la unidad.¹¹³

Figura 14

Voltamograma típico de una especie que intercambia reversiblemente un electrón en solución acuosa.



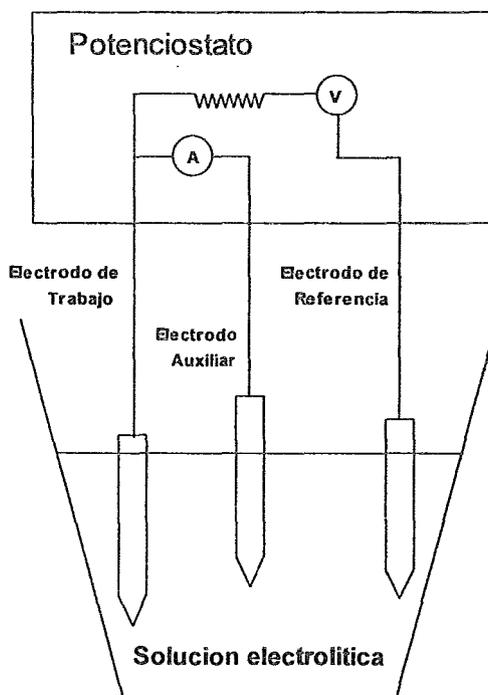
En términos de potencial, la separación de los picos de oxidación y de reducción es de $57 \text{ mV}/n$ donde n corresponde al número de electrones intercambiados en el proceso redox.¹¹³

Por otro lado, el dispositivo experimental con el que se llevan a cabo los experimentos de voltametría cíclica se presenta en la Figura 15. En términos

generales, el potencióstato, que puede definirse como un controlador de potencial, es el aparato que se encarga de aplicar con precisión el potencial a través de la interfase de trabajo, de manipular el cambio de esta variable con respecto al tiempo (de acuerdo a una forma previamente programada) y de medir y registrar la corriente resultante con el fin de construir posteriormente la curva corriente-potencial.¹¹¹

Figura 15

Representación esquemática del equipo utilizado en los experimentos de voltametría cíclica.



Debido a que en los experimentos de voltametría cíclica la señal de excitación es el potencial aplicado, es de suma importancia controlar con precisión esta variable. Por esta razón, y debido a que únicamente es posible medir diferencias de potencial entre al menos dos interfases, un electrodo de referencia es siempre utilizado en los experimentos de voltametría cíclica.

El requisito principal que debe cumplir un electrodo de referencia es que el potencial eléctrico que lo caracteriza debe ser constante y en la medida de lo posible, independiente de la corriente eléctrica que circula a través del mismo. La resistencia representada en la Figura 15, usualmente en el nivel de los $M\Omega$, (mega ohms) tiene por objeto precisamente reducir al mínimo la corriente eléctrica que circula a través del electrodo de referencia.

Por otro lado y con el objeto de no limitar la corriente Faradaica que circula a través del electrodo de trabajo, un electrodo auxiliar, generalmente de platino, tiene como función única transportar la corriente eléctrica en el circuito que conforman el potencióstato, los electrodos de trabajo y auxiliar y la solución electrolítica. Finalmente es importante señalar que es precisamente la corriente que circula a través del electrodo auxiliar la que se registra en el amperímetro incluido en el potencióstato y la que se utiliza para construir las curvas de corriente-potencial del sistema bajo estudio.

1.2.- Resonancia magnética nuclear de hidrógeno 1H -RMN.

La resonancia magnética nuclear (RMN), es probablemente la técnica más utilizada por los químicos para la identificación y estudio estructural de

moléculas orgánicas.¹¹² Sin embargo, esta técnica ha encontrado también uso frecuente en estudios de corte cinético, difusional, o bien para el estudio de procesos de asociación en general.^{106, 112}

La RMN es una técnica espectroscópica de absorción que le valió a sus inventores, Bloch y Purcell, el premio Nobel de Física en 1952.¹¹² Los grupos de ambos investigadores, descubrieron simultáneamente que bajo la influencia de un campo magnético externo ciertos núcleos son capaces de absorber radiación electromagnética en la región de radio-frecuencia (rf) a longitudes de onda características no sólo de los núcleos en cuestión sino también del ambiente electrónico de los mismos.

Entre los núcleos que poseen una distribución asimétrica de carga (caracterizados por un número cuántico $I=1/2$) y que en consecuencia son susceptibles de absorber radiación en el experimento de RMN, se encuentran el ^{15}N , ^{31}P , ^{13}C y el ^1H . Este último debido no sólo a su abundancia natural (99%) sino también a la alta sensibilidad a ambientes electrónicos que lo caracteriza, es por mucho, el más utilizado en estudios de RMN¹¹² (es importante señalar que en el caso particular de la resonancia magnética nuclear de hidrógeno o protónica, la abreviatura comunmente utilizada es ^1H -RMN).

En el caso de la RMN y de modo similar al de otras técnicas espectroscópicas, el proceso de excitación consiste en la exposición de la muestra a una perturbación en forma de radiación electromagnética.

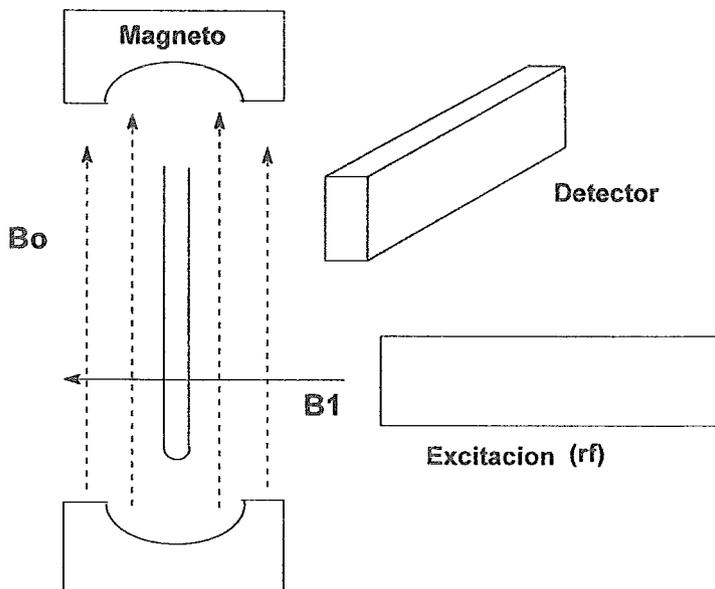
En este caso particular, la perturbación posee la forma de un pulso B_1 que, por regla general se aplica en ángulo recto con respecto a un segundo

campo magnético B_0 al que de forma constante, la muestra se somete durante todo el experimento.¹¹⁵

En la Figura 16 se presenta el esquema general del espectrómetro de RMN en el que se pueden apreciar las disposiciones de la muestra, de la bobina que aplica la señal de excitación B_1 , de la bobina que funciona como detector y de la dirección del campo magnético aplicado B_0 .¹¹²

Figura 16

Representación esquemática de los componentes de un espectrómetro de RMN.



Como consecuencia de la aplicación del pulso de excitación B_1 , la población de espines que en presencia del campo magnético aplicado B_0 tiene una distribución particular, se modifica por efecto de esta excitación.

Una vez de que el pulso de excitación B_1 ha cesado, los núcleos en cuestión experimentan un proceso de relajación que los lleva al estado poblacional inicial definido únicamente por la presencia constante del campo B_0 . La señal de respuesta en el experimento de RMN, corresponde entonces al proceso de absorción energética que la muestra experimenta antes de regresar al estado inicial (relajación).¹¹²

Es muy importante aclarar que como se mencionó anteriormente, la señal de respuesta del sistema depende en gran medida del ambiente electrónico de los núcleos bajo estudio. De este modo, una gráfica de la frecuencia de absorción de la radiación electromagnética contra la intensidad de dicha absorción constituye un espectro de resonancia magnética nuclear.¹¹⁵

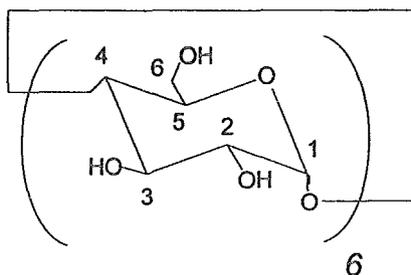
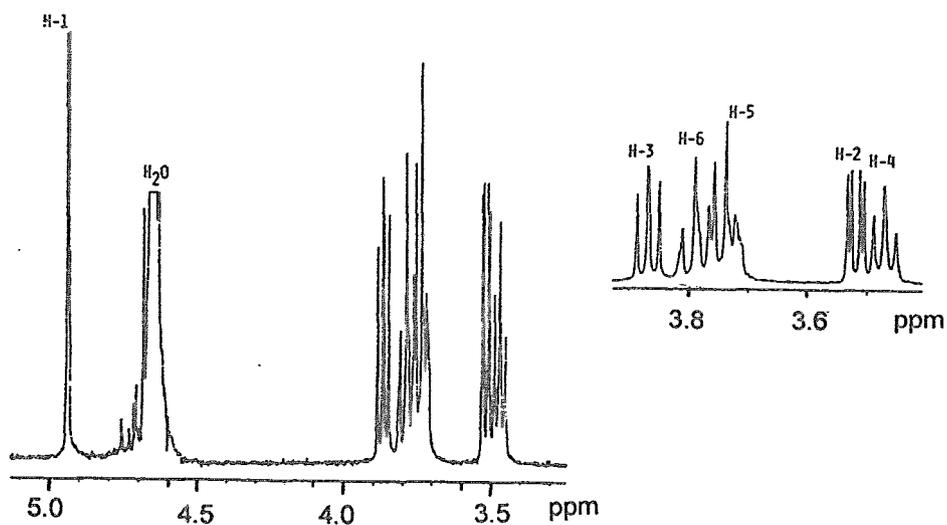
A modo de ejemplo, en la Figura 17 se muestra el espectro de ^1H -RMN de una solución de α -CD en agua deuterada (D_2O) que incluye la asignación de los diferentes picos a cada uno de los protones del receptor.¹¹⁶ Como puede apreciarse en la figura, las señales de los distintos protones son fácilmente distinguibles debido al hecho de que los hidrógenos en cada parte de la molécula se encuentran sujetos a distintos ambientes electrónicos.

Es importante señalar que aunque la posición de la señal correspondiente a cada protón en el espectro de RMN es función de su ambiente electrónico, la multiplicidad de la señal (señal simple, doble, triple o múltiple) depende

únicamente de la presencia (en general hasta un máximo de tres enlaces) de otros núcleos activos.¹¹⁵

Figura 17

Espectro de ^1H -RMN (500 MHz) de una muestra de α -CD en D_2O a 298 K.¹¹⁶



Es común considerar que, tomando como referencia al estándar $(\text{CH}_3)_3\text{Si}-(\text{CH}_2)_3\text{SO}_3\text{Na}$ (DSS) en agua deuterada (D_2O), los protones

correspondientes a los grupos metilo en una cadena alifática se ubican en la región de las 1-1.5 ppm mientras que por otro lado, los protones presentes en sistemas aromáticos se encuentran en el intervalo de 6.5-9.5 ppm.¹¹⁵

2.- Utilización de las técnicas analíticas en el estudio de complejos de inclusión.

Como se mencionó con anterioridad, en el estudio de los fenómenos de asociación es común analizar resultados de experimentos muy variados entre los que destacan la voltametría cíclica y la ¹H-RMN. La utilización de estas técnicas en el análisis y la detección de fenómenos de asociación se lleva a cabo sin embargo en un contexto de estudio que en general pertenece a alguno de los tres esquemas que se discuten a continuación.

2.1.- Detección directa.

El primer esquema, siendo el más directo y por lo tanto el más exacto, se caracteriza por la detección de alguna propiedad *producto* del fenómeno de asociación entre receptor y sustrato.

Un ejemplo típico, es el análisis calorimétrico del proceso de complejación entre ciclodextrinas y sustratos diversos en el que se mide *directamente* el calor de la reacción de asociación.¹¹⁷

La determinación de los calores de reacción a distintas concentraciones de receptor y sustrato permiten en primera instancia obtener mediante una

regresión no lineal tanto la entalpía de asociación como la constante de equilibrio del sistema.¹⁰⁰

Es importante destacar que en el caso de estudios de corte calorimétrico, la detección del complejo se verifica *durante* el proceso de formación del mismo.

Un segundo ejemplo de este primer esquema de análisis en el que la detección se lleva a cabo una vez que el sistema se encuentra en equilibrio, es el caso común en espectroscopía visible de la detección y análisis de la banda de transferencia de carga que refleja la presencia de un complejo en el que una de las especies es electroatrayente y la otra electrodonante.

En términos básicos, la banda de transferencia de carga es consecuencia de la absorción de radiación que promueve electrones a niveles cuánticos presentes únicamente en el complejo. De esta manera y nuevamente a través de una titulación que en este caso no es calorimétrica sino espectroscópica, la constante de equilibrio del sistema puede ser evaluada a través del análisis de la intensidad de la banda de transferencia de carga de un complejo dado a distintas concentraciones de receptor y de sustrato.¹¹⁸

Es interesante señalar que al igual que en el caso de la calorimetría, es necesario emplear un análisis de regresión no lineal de los datos espectroscópicos para obtener la constante de equilibrio del sistema.

Cabe mencionar por otro lado que una aproximación lineal de ajuste para las ecuaciones espectroscópicas es también posible en el caso en el que las constantes de equilibrio sean bajas. El método en cuestión fué propuesto en

1945 por los investigadores Benesi y Hilderbrand y desde entonces ha gozado de mucha popularidad.¹¹⁹

2.2.- Detección indirecta.

En el segundo esquema de análisis, la detección del complejo se lleva a cabo de un modo *indirecto*. En este caso, el proceso de asociación entre un sustrato "X" y el receptor en cuestión se detecta a través de la señal de respuesta de un segundo sustrato "Y" que también se encuentra presente en el medio. Este segundo sustrato funciona como una referencia efectiva y en general las propiedades de asociación de esta especie con el receptor son bien conocidas.

Un requisito básico en la utilización de este esquema de análisis es por supuesto que la señal de respuesta del sustrato de referencia debe cambiar de forma importante cuando pasa desde un estado libre en solución a un estado de asociación con el receptor. La idea es entonces que cuando se agrega a una solución cualquiera de receptor y sustrato de referencia "Y" una cierta cantidad del sustrato de interés "X", la competencia entre ambas sustancias por la asociación con el único receptor presente en el medio permite la posibilidad de analizar indirectamente el proceso de asociación de interés a través de la señal del sustrato de referencia "Y".

Un ejemplo típico de este segundo esquema de análisis, es el estudio por fluorescencia del enlace de ciclodextrinas con aniones inorgánicos complejos

como hexafluorofosfato o triflato mediante el desplazamiento del sustrato de referencia 1, 8-anilín naftalén sulfonato de sodio (ANS).¹²⁰

Por un lado, es bien sabido que la especie ANS fluoresce fuertemente en medio acuoso a niveles de concentración micromolares. Por otro lado, también se sabe que la inclusión de esta molécula en la cavidad de β -CD ($K= 81 \text{ M}^{-1}$) da lugar a un incremento importante en la intensidad de la fluorescencia de ANS.¹⁰⁵

El efecto del incremento en la intensidad de emisión de ANS como consecuencia de la formación del complejo de inclusión, se debe al hecho de que en la cavidad del receptor el estado excitado de la molécula fluorescente (el singlete responsable en última instancia de la fluorescencia de ANS) se estabiliza como consecuencia de que las moléculas de solvente no pueden colisionar con el sustrato y de este modo, desactivarlo.

Como las propiedades fluorescentes, i.e. la emisión cuántica de ambas formas de ANS (libre y enlazada con β -ciclodextrina) son conocidas, la fluorescencia de una solución que contiene una mezcla de ANS y β -CD da información exacta sobre la fracción libre de ANS presente en el medio.

La adición de un segundo sustrato ("X") a la mezcla en equilibrio de β -CD y ANS provoca un cambio en la fluorescencia de la solución debido al desplazamiento de las moléculas de ANS de la cavidad del receptor por aquellas del sustrato de interés "X".

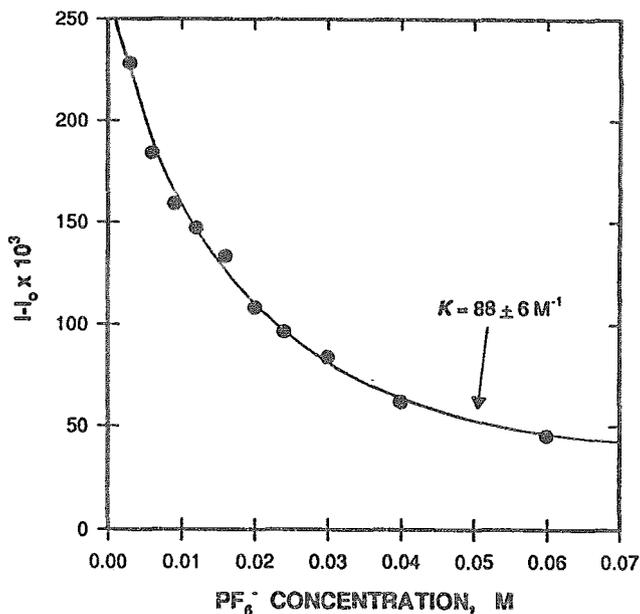
El análisis subsecuente por medio de una regresión no lineal de la fluorescencia de la solución de β -CD y ANS a diferentes concentraciones del

sustrato "X", da lugar a la evaluación de la constante de equilibrio del sistema en cuestión.

En la Figura 18, se presenta una isoterma de enlace de β -CD- PF_6^- en la que la variable que se mide contra la concentración del anion complejo es la intensidad fluorescente de la molécula de ANS (sustrato de referencia "Y").¹²⁰

Figura 18

Isoterma de enlace del sistema PF_6^- - β -CD que muestra la utilización de experimentos de desplazamiento para evaluar constantes de equilibrio.



La solución inicial, i.e. la solución antes de la adición del sustrato KPF_6 contiene una mezcla de ANS y β -CD en concentraciones $5 \mu\text{M}$ y 1.0 mM respectivamente. Por otro lado, la línea que pasa por los puntos de la titulación (de la que es posible extraer una constante de asociación de 88 M^{-1} para este

sistema en particular), resulta de la simulación digital del experimento de desplazamiento.

Es importante señalar que este tipo de estudios, por ser en esencia indirectos, son utilizados únicamente cuando no es posible detectar la complejación por medios directos como es el caso de los discutidos en la primera sección.

2.3.- Detección directa localizada.

En el tercer esquema de análisis, se explota el hecho de que como consecuencia de la asociación el "ambiente químico o electrónico" de toda o de una parte específica de las moléculas que participan en el complejo cambia de una forma importante. La información particular sobre la naturaleza del complejo de inclusión se sigue entonces a través de la señal de respuesta de alguna de las moléculas participantes en el complejo con referencia a la respuesta, de la misma molécula, en estado libre.

Este tipo de metodología de análisis es de particular importancia en esta tesis ya que las técnicas empleadas en este trabajo, Voltametría Cíclica y $^1\text{H-RMN}$, fueron utilizadas en el contexto de este esquema de estudio.

2.3.1.- Voltametría cíclica en el estudio de complejos de inclusión.

En el contexto del esquema de análisis que se discute, la voltametría cíclica requiere primordialmente que la especie electroactiva (o sitio electroactivo

de la molécula) cambie de ambiente electrónico cuando el proceso de asociación tiene lugar.

En la Figura 19 por ejemplo, se representa esquemáticamente el cambio en la respuesta electroquímica en medio acuoso del sustrato orgánico ferrocencarboxilato cuando un exceso de β -CD se encuentra presente solución.¹⁰¹ De este modo, el voltamograma "A" corresponde al derivado de ferroceno en ausencia de CD y el "B" a la misma especie en presencia de 5 equivalentes del receptor.

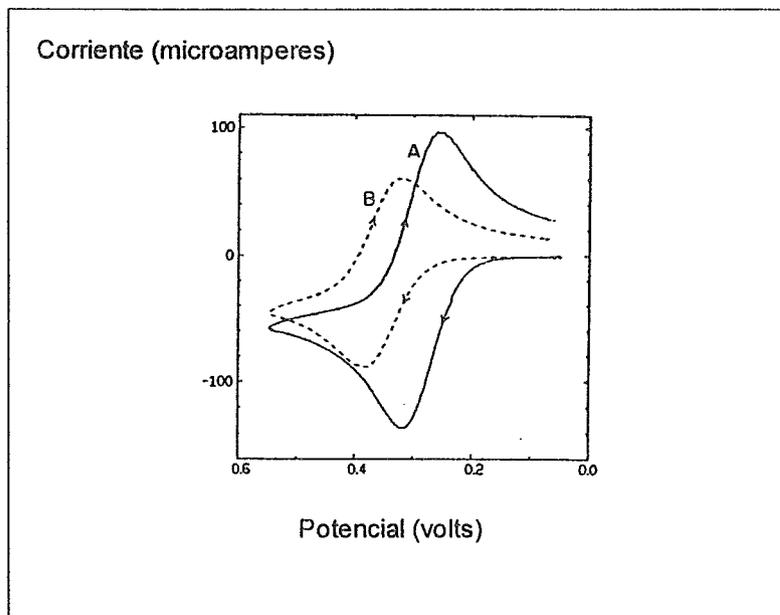
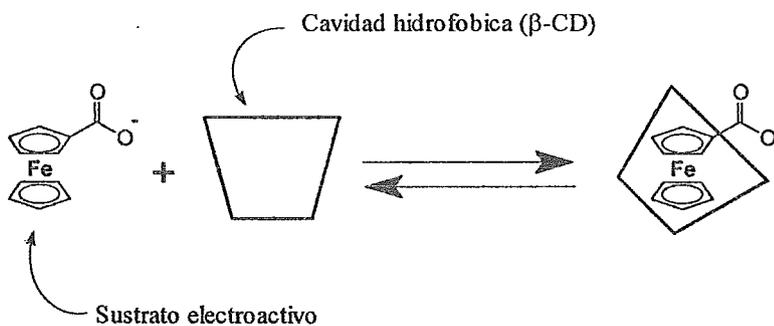
Como puede apreciarse en la figura, la asociación del sustrato da lugar a cambios característicos en el voltamograma tales como el desplazamiento del potencial de media onda ($E_{1/2}$) y la reducción en el valor de las corrientes de pico. En este caso particular, el desplazamiento positivo del potencial $E_{1/2}$ refleja el hecho de que la cavidad hidrofóbica del receptor estabiliza la forma reducida del sustrato y hace consecuentemente más difícil la oxidación del derivado de ferroceno. Por otro lado, la reducción observada en las corrientes de pico se debe a que el sustrato en la forma complejada se caracteriza por un coeficiente de difusión substancialmente menor que el correspondiente a la forma libre.¹⁰¹

En el caso particular de los estudios de complejacion de CD's mediante VC, el sustrato resulta ser la única especie electroactiva en el medio dado que las CD' son electroquímicamente inertes.

Cabe señalar, por otro lado, que en el caso más general de que receptor y el sustrato sean electroactivos la detección del complejo también se lleva a cabo siguiendo la señal del sustrato. Esto se debe a que es esta especie

Figura 19

Respuesta electroquímica del sustrato ferrocencarboxilato (a) en ausencia y (b) en presencia de 5 equivalentes de β -CD.



la que, como consecuencia de la *inclusión* en una cavidad que posee un ambiente electrónico distinto al de la esfera de solvatación, experimenta el cambio de ambiente más radical cuando el fenómeno de asociación se lleva a cabo.¹¹⁷

Aunque la influencia que la asociación ejerce en el ambiente electrónico de los receptores es en general menor que la correspondiente a los sustratos, esta es suficiente para generar cambios en la respuesta electroquímica. De esta manera, es importante señalar que es posible encontrar en la literatura estudios electroquímicos en los que la complejación se detecta mediante la VC de un receptor electroactivo. Un ejemplo típico de este tipo de estudios, lo constituye el trabajo de Kaifer y colaboradores sobre la detección de complejos de inclusión del receptor electroactivo *paraquat-4,4* bipyridin-ciclofano con sustratos electrodonantes como bifenol (4, 4'-bifenol) o (4, 4'-diamino-difenilo).¹²¹

Una excepción interesante a la regla de que el sitio electroactivo de sustratos (o receptores) debe participar en el proceso de asociación, la constituyen los éteres corona modificados con unidades electroactivas. Estos receptores se caracterizan por la afinidad que el macrociclo (éter corona) posee por determinados cationes como sodio o potasio en solventes polares como acetonitrilo. De esta manera, la respuesta electroquímica del sistema puede ser monitoreada convenientemente a través de una unidad electroactiva enlazada covalentemente al macrociclo.¹²²

En la Figura 20 por ejemplo, se representan la estructura y los voltamogramas del receptor modificado *N*-(2-nitrobencil)aza-15-corona-5 en ausencia (a) y en presencia (b) de 1 equivalente de NaClO₄ en acetonitrilo.

Como puede apreciarse en la figura, la característica principal del sistema en cuestión es que el sitio electroactivo (anillo aromático) no coincide con el de asociación. A pesar de esto y debido a la cercanía espacial de los sitios electroactivo y de asociación, la respuesta electroquímica del receptor experimenta cambios importantes cuando un catión se asocia con el macrociclo del receptor.

En primer lugar, el potencial de media onda ($E_{1/2}$) se desplaza a valores más positivos indicando que el receptor es más fácil de reducir en la forma acomplejada que en la forma libre.

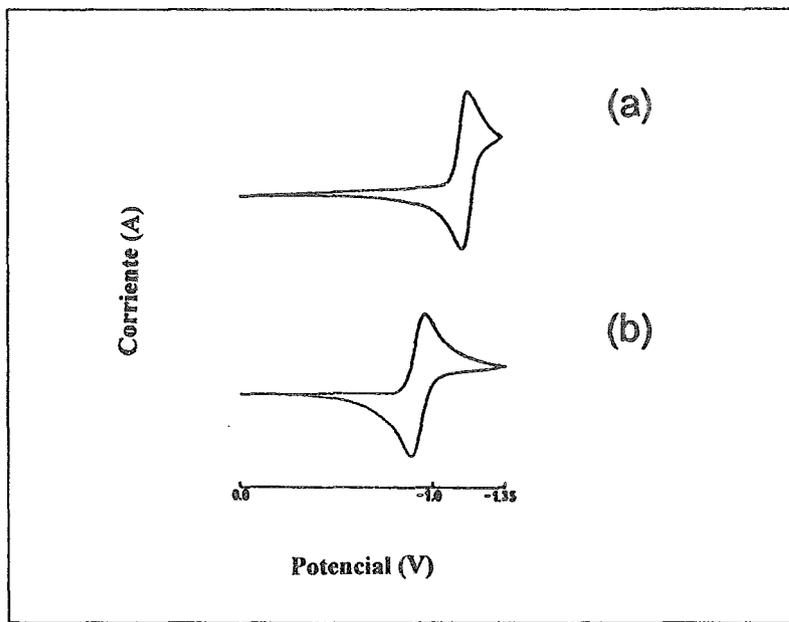
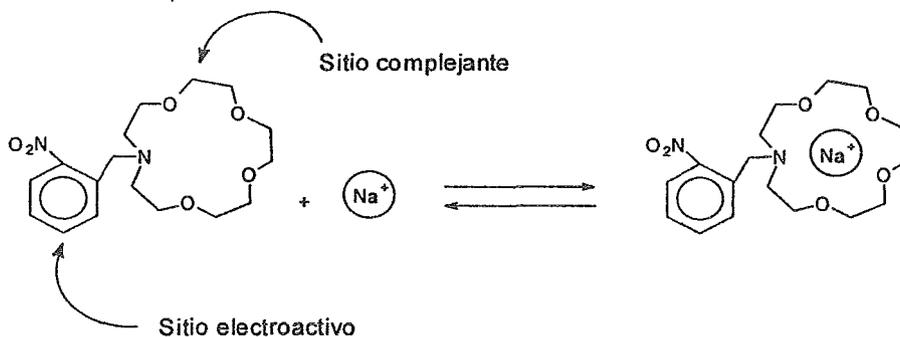
Este resultado es por otro lado congruente con la estabilización a *distancia* que la carga positiva del catión ejerce sobre el sitio electroactivo reducido.

En términos de las corrientes de pico, el cambio de la señales correspondientes a las especies libre y acomplejada no es muy pronunciado debido a la similitud que ambas especies tienen en cuanto a tamaño y consecuentemente, en cuanto a coeficientes de difusión.

Fruto de estudios electroquímicos con receptores en los que el sitio electroactivo no coincide con el de complejación, se ha establecido con rigor que la sensibilidad electroquímica de dichos agentes complejantes depende en forma importante de la *cercanía espacial* que garantiza una especie de

Figura 20

Estructura y respuesta electroquímica del receptor *N*-(2-nitrobenzil) aza-15-corona-5 (a) en ausencia y (b) en presencia de 1 equivalente de NaClO_4 .



“comunicación” intramolecular entre la zona electroactiva del receptor y el sitio donde se verifica el proceso de complejación.¹²³

Con el fin de racionalizar en detalle la respuesta electroquímica de sustratos redox en presencia de receptores en solución, es necesario considerar los equilibrios químicos y electroquímicos presentes en el sistema. En el caso simple de un sustrato caracterizado por un comportamiento electroquímico reversible que forma un complejo 1:1 con CD, es posible construir el ciclo termodinámico que se presenta en la Figura 21.

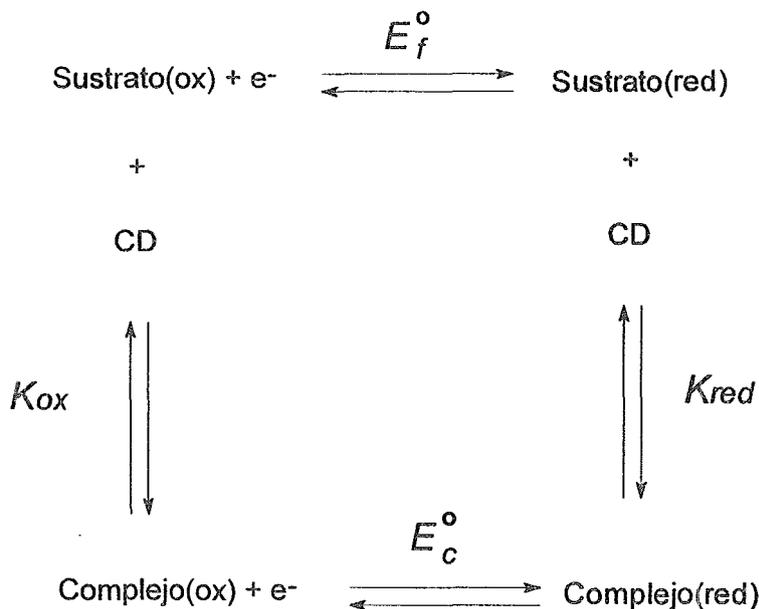
En un principio, una solución compuesta únicamente por el sustrato (ox) (la especie electroactiva en su forma oxidada) disuelto en una solución del electrolito soporte, deberá mostrar como resultado de un experimento de VC una respuesta similar a la de la Figura 14. De este voltamograma, parámetros característicos como las corrientes de pico anódico y catódico así como el potencial formal del sustrato E°_f pueden ser determinados.

La adición del receptor a la solución anterior (en este caso ciclodextrina) en cantidades subequivalentes, genera el establecimiento de los equilibrios restantes que se presentan en la Figura 21.

El cambio en la respuesta electroquímica del sistema como consecuencia de la presencia de estos “nuevos” equilibrios, se lleva a cabo en distintos niveles. En primer lugar, la forma del voltamograma se altera de forma importante. Dicho cambio no es siempre el mismo y como se discutirá más adelante, depende de los valores de los parámetros termodinámicos E°_f , E°_c , K_{ox} y K_{red} .

Figura 21

Equilibrios químicos y electroquímicos de un sustrato electroactivo en presencia de ciclodextrina.



En algunos casos (por ejemplo el representado en la Figura 20), es posible observar la aparición de una nueva onda redox debida a los procesos de oxidación y reducción electroquímica del complejo.¹²²

En otro tipo de situaciones, la onda redox correspondiente al complejo no aparece y en su lugar la onda original se desplaza a potenciales más positivos o más negativos dependiendo de la naturaleza del sitio del receptor¹⁰¹ (este es el caso presentado en la Figura 19).

En términos de corriente Faradaica, la adición del receptor en cantidades subequivalentes a una solución de sustrato, origina una disminución de la conversión electroquímica neta. Este efecto, se debe a que la presencia del complejo en el medio supone no sólo que la concentración efectiva de la forma libre del sustrato disminuye (y consecuentemente la corriente asociada con ella), sino también que la fracción del sustrato que se encuentra acomplejada posee un coeficiente de difusión menor con respecto al correspondiente al sustrato libre y en consecuencia un transporte a la superficie del electrodo menos eficiente.

Como consecuencia del ciclo termodinámico definido en la Figura 21, el potencial formal del sustrato en la forma reducida se modifica de acuerdo a la ecuación 5.¹²²

$$E_f^{\circ} = E_c^{\circ} + \frac{RT}{nF} \ln \frac{K_{ox}}{K_{rd}} \quad (5)$$

Donde E_f° , E_c° , K_{ox} y K_{red} son los potenciales formales (V) y las constantes termodinámicas definidas en la Figura 21, R es la constante universal de los gases (J/molK), n es el número de electrones transferidos en el proceso redox (eq/mol) y F es la constante de Faraday (C/eq).

De acuerdo a esta ecuación (en la que se considera que todos los procesos son rápidos con respecto a la escala de tiempo experimental), cuanto más distintas sean las constantes de equilibrio K_{ox} y K_{red} , más grande será la diferencia del potencial formal del sustrato en sus formas libre y acomplejada E_f° , E_c° .

Es importante señalar, que uno de los requisitos principales para que sea posible detectar por medio de VC la presencia del complejo de inclusión es precisamente que la diferencia de potenciales $[E^{\circ}_f - E^{\circ}_c]$ debe ser relativamente grande (al menos 90 mV).

Este requisito, se encuentra directamente relacionado con el correspondiente al cambio de ambiente electrónico que el sitio electroactivo debe experimentar cuando la asociación se lleva a cabo. De esta manera, en el caso de que el ambiente electrónico del sustrato no cambie de forma importante durante el proceso de asociación, no habrá una mayor dificultad para incorporar un electrón al complejo con respecto al sustrato libre (en el caso de un proceso de reducción) y en consecuencia, será prácticamente imposible detectar un cambio en términos de potencial con respecto al voltamograma del sustrato libre.

Es interesante hacer notar que dos sistemas con constantes de asociación (equilibrio químico) del sustrato oxidado K_{ox} tan distintas como 10^2 y 10^5 , pueden tener la misma diferencia entre los potenciales formales redox del sustrato si las constantes de complejación del mismo en la forma reducida K_{red} son por ejemplo 10^4 y 10^7 . En otras palabras, sistemas con constantes de equilibrio químico K_{ox} y K_{red} muy diferentes pero con relaciones K_{ox} / K_{red} iguales, deberán tener los mismos potenciales formales redox para el sustrato en sus formas libre y acomplejada si el sustrato es para ambos sistemas, la misma especie electroactiva.

La diferencia en los potenciales formales del sustrato no es sin embargo la única información que se puede extraer de un experimento de voltametría cíclica de una mezcla de sustrato y receptor (este último en cantidades subequivalentes). Como se mencionó con anterioridad, la forma del voltamograma de dicha mezcla no es necesariamente única y depende en forma importante de los valores absolutos de las constantes de equilibrio químico definidas en la Figura 21.

En el caso general de la asociación de sustratos electroactivos con CD's, y para una relación K_{ox} / K_{red} fija y suficientemente grande como para observar una diferencia de potenciales que permita detectar el complejo de inclusión, es posible distinguir tres tipos de comportamiento electroquímico durante la titulación voltamétrica de un sustrato electroactivo con un receptor cualquiera.¹²²

i.- K_{ox} muy grande.

ii.- K_{ox} muy baja.

iii.- K_{ox} intermedia.

El primer caso es probablemente el más directo y se caracteriza por una constante de equilibrio químico K_{ox} muy grande. Al principio de una titulación voltamétrica, sólo una onda redox correspondiente a la especie electroactiva se identifica en la respuesta del experimento de VC. Al agregar alícuotas de una solución concentrada del receptor a la solución, y debido al valor grande de K_{ox} , es de esperarse que la totalidad de las moléculas de este último se encuentren participando en la formación del complejo de inclusión en tanto que la

concentración de receptor sea menor que la de sustrato. El complejo recién formado, es también una especie electroactiva y deberá poseer un potencial redox distinto al del sustrato libre.

De este modo, la titulación voltamétrica de una solución de sustrato mediante la adición del receptor en cantidades subequivalentes, provoca la aparición de una nueva onda redox en el voltamograma que crece conforme la fracción del complejo aumenta en solución.

Cuando un equivalente de receptor se ha agregado, solamente una onda redox correspondiente a la totalidad de sustrato en forma de complejo, se identifica en el voltamograma. La subsecuente adición de receptor a esta solución, no cambia substancialmente la forma o posición en la escala de potencial de la señal voltamétrica.

A partir del análisis de los voltamogramas experimentales al inicio y al final de la titulación, es posible obtener directamente los potenciales formales E°_r y E°_c . La determinación posterior de alguna de las constantes K_{ox} o K_{red} mediante un método independiente, permite a través de la ecuación 5 la evaluación del resto de las constantes termodinámicas que definen al sistema.

Finalmente cabe señalar que la forma particular de los voltamogramas que caracteriza a este tipo de sistemas, ha hecho que se les conozca comúnmente como sistemas que siguen el comportamiento de "dos ondas".

El segundo caso (*ii*), se caracteriza por una constante de asociación K_{ox} muy baja. A diferencia del caso anterior, la adición del receptor a la solución de sustrato provoca el desplazamiento del potencial de media onda en alguna

dirección (determinada por la estabilidad termodinámica del complejo con respecto a la especie libre) y no la aparición de una segunda onda.

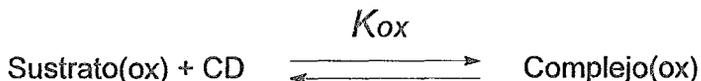
Por esta razón, y a diferencia de los sistemas de "dos ondas" que se discutieron en la sección (I), se dice que estos sistemas siguen el comportamiento característico de "una onda".

Al igual que en el caso anterior, el voltamograma correspondiente a la solución inicial que únicamente contiene el sustrato (ox), permite la determinación del potencial de media onda E°_f del sustrato libre. La adición posterior del receptor a esta solución, provoca por otro lado el establecimiento del equilibrio definido por la constante K_{ox} que, al ser baja, obliga a la existencia en la solución de una fracción importante del receptor en forma libre. Suponiendo que en este caso particular el potencial formal redox del sustrato acomplejado E°_c es más negativo que el correspondiente a la forma libre E°_f , la especie electroactiva (sustrato(ox)) será consumida primero cuando el potencial sea barrido en dirección negativa durante el experimento de VC.

De este modo, cuando el potencial en la interfase de trabajo alcanza el potencial de pico catódico del sustrato libre (sustrato (ox)) que es por definición, el potencial en el que la concentración interfacial de la especie oxidada es cero, el equilibrio químico de complejación definido por K_{ox} interviene *supliendo* la forma libre del sustrato(ox) a la interfase y desplazando consecuentemente la posición del potencial de pico catódico.

Es importante señalar que este efecto es una consecuencia directa del principio de Le Chatelier en el que la reacción electroquímica que *consume* a la

especie sustrato(ox) en la interfase de trabajo desplaza el equilibrio químico de una de las reacciones definidas en el ciclo termodinámico de la Figura 21.¹²³



La situación opuesta a la que se acaba de analizar corresponde a aquella en la que el potencial formal redox del sustrato acomplejado E°_c es más positivo que el correspondiente a la forma libre E°_f . En este caso, el barrido de potencial en dirección negativa supone que la especie consumida primero en la interfase del electrodo de trabajo es el sustrato en la forma acomplejada.

Nuevamente, la desaparición del complejo en la interfase de trabajo cuando el potencial alcanza el valor correspondiente al potencial de pico catódico, no dará lugar a la aparición de un máximo en el voltamograma. Al igual que en el caso anterior, la tendencia del sistema a mantener el equilibrio químico (definido por la constante K_{ox}), dará lugar a la formación del complejo cuando este último se consume en la interfase del electrodo. De esta manera, el efecto observado será el desplazamiento de la onda redox del sustrato oxidado.

Como es evidente, en situaciones de este tipo el cambio en la forma del voltamograma no cesa cuando se ha agregado un equivalente de receptor a la solución. En cambio, el desplazamiento de la onda redox se hace más grande mientras mayor sea la cantidad de receptor que se adicione a la solución electrolítica y es común que excesos tan grandes como 10 equivalentes provoquen desplazamientos en el potencial de media onda ($E_{1/2}$).¹²²

En el contexto del cálculo de los valores termodinámicos de asociación, la determinación del potencial formal del sustrato en la forma de complejo E°_c se hace muy difícil ya que es prácticamente imposible ubicar el punto en el que la totalidad del sustrato se encuentra acomplejado. Como consecuencia de esto, el uso de la ecuación 5 se hace imposible debido a que tres (E°_c , K_{ox} y K_{rd}) de las cuatro variables que la definen (E°_f , E°_c , K_{ox} y K_{red}) son desconocidas.

Una aproximación sin embargo, permite el tratamiento matemático de este tipo de problemas en los que la constante K_{ox} es pequeña. Dicha aproximación consiste en considerar que el sistema se comporta de acuerdo al mecanismo E-C (electroquímico-químico), es decir, se trata como una especie electroactiva en la que un proceso redox en la interfase del electrodo genera una especie que participa en un equilibrio subsecuente de asociación con alguna otra especie que se encuentra presente en el medio. Cabe señalar, que es legítimo emplear esta aproximación únicamente cuando la concentración del receptor es por lo menos 10 veces mayor que la concentración del sustrato electroactivo.

Estudios electroquímicos clásicos sobre este tipo de mecanismo, han derivado la siguiente ecuación que relaciona el potencial de media onda observado durante la titulación E°_{app} con la actividad del receptor en solución.¹²⁴

$$E^{\circ}_{app} = E^{\circ}_f + \frac{RT}{nF} \ln K_{rd} + \frac{RT}{nF} \ln [CD] \quad (6)$$

En esta ecuación, todas las variables corresponden a aquellas definidas en la Figura 21. El término $[CD]$, representa la actividad del receptor (que en este caso es alguna ciclodextrina) que en tanto no esté asociada a una concentración muy alta, puede considerarse aproximadamente igual a la concentración del receptor en solución.

Finalmente cabe señalar que la aproximación empleada en esta ecuación ha sido ampliamente corroborada mediante simulaciones digitales de experimentos de voltametría cíclica.¹²²

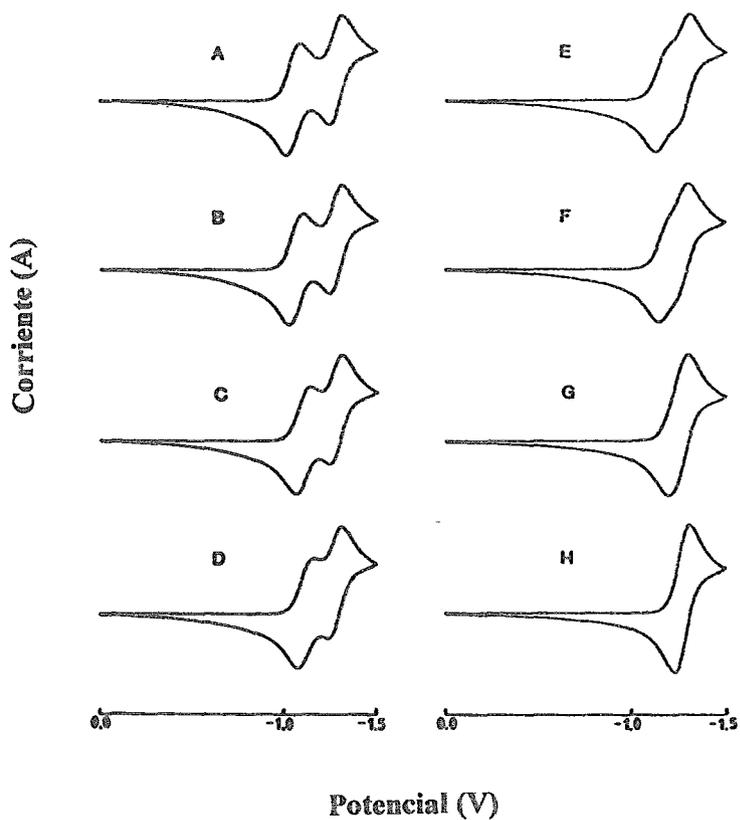
El tercer caso a discutir (*iii*), comprende situaciones intermedias entre los dos casos descritos anteriormente. En este grupo, se ubican sistemas para los cuales la constante de equilibrio K_{ox} es lo suficientemente grande como para observar dos ondas en el voltamograma de una mezcla de sustrato y receptor, este último en cantidades subequivalentes, y por otro lado lo suficientemente pequeña como para que la adición de receptor en exceso, muestre en el voltamograma una onda redox correspondiente al complejo que continuamente se desplaza en una dirección determinada.

Una característica importante de la señal electroquímica que este tipo de sistemas presentan en el experimento de VC consiste en la "forma" con que las ondas redox del sustrato en sus formas libre y acomplejada se presentan como consecuencia de la "mezcla" de los comportamientos de una y dos ondas redox.

Este efecto, puede apreciarse con claridad en las simulaciones digitales que se presentan en la Figura 22.¹²² En dichas simulaciones, un receptor

Figura 22

Voltamogramas simulados para distintos valores de K_{ox} y una relación constante $K_{red}/K_{ox} = 10^4$ en una mezcla de receptor-sustrato 1:0.5.



a) $K_{ox} = 1000$, b) $K_{ox} = 500$, c) $K_{ox} = 100$, d) $K_{ox} = 50$,
e) $K_{ox} = 10$, f) $K_{ox} = 5$, g) $K_{ox} = 1$, h) $K_{ox} = 0.1$

electroactivo se acompleja con algún tipo de sustrato dando lugar a una especie cuyo potencial formal redox es más positivo que el de la forma libre del receptor.

Para cada uno de los voltamogramas, la relación de constantes de equilibrio K_{red} / K_{ox} es fija (nótese que como consecuencia del ciclo termodinámico de la Figura 21 y de acuerdo a la ecuación 5, la diferencia de potenciales $E^{\circ}_f - E^{\circ}_c$ también es fija) y la proporción de sustrato con respecto al receptor electroactivo es en todos los casos 0.5. Por otro lado, las diferentes respuestas de la VC corresponden a distintos valores de la constante de equilibrio de complejación del sustrato(ox) K_{ox} .

Es interesante señalar que para la relación de constantes de equilibrio $K_{red} / K_{ox} = 10^4$, una constante $K_{ox} = 10^3$ es lo suficientemente grande como para observar con claridad un comportamiento típico de dos ondas.

Conforme el valor de K_{ox} disminuye, la onda correspondiente al complejo comienza a desplazarse hacia potenciales más negativos (ver Figura 22-a-d) hasta el punto en que ambas ondas convergen en una sola (Figura 22-e-h). En este punto, el comportamiento del sistema es claramente el correspondiente al de una sola onda redox.

2.3.2.- 1H -RMN en el estudio de complejos de inclusión.

El estudio de fenómenos de complejación mediante RMN no constituye un enfoque nuevo en el campo de la química supramolecular. El primer reporte acerca de la evaluación de una constante de asociación mediante esta técnica se debe a Huggins y colaboradores y data de 1955.¹²⁵

En principio, la ^1H -RMN tiene dos ventajas importantes sobre las otras técnicas espectroscópicas utilizadas en el estudio de complejos de inclusión. En primer lugar, la ^1H -RMN no está sujeta a una dependencia importante con la presencia de pequeñas cantidades de impurezas orgánicas. Esto se debe básicamente a que en el espectro de ^1H -RMN y a diferencia de las otras técnicas espectroscópicas como la fluorescencia y la espectroscopía de UV, las señales de las distintas partes de la molécula son claramente identificables y en consecuencia los protones correspondientes a impurezas de tipo orgánico pueden ser discriminados.¹⁰⁶

En segundo lugar, y debido también a que es posible observar las señales de los protones presentes en las distintas zonas de las moléculas que participan en el proceso de asociación, esta técnica permite elucidar los sitios de interacción entre el receptor y el sustrato y en consecuencia obtener información sobre la geometría del complejo de inclusión¹⁰⁶.

El experimento clásico de ^1H -RMN que se utiliza para evaluar constantes de asociación de complejos de inclusión, consiste por lo general en una titulación del sustrato con el receptor en un medio de fuerza iónica controlada. Los cambios que la señal de los distintos protones del sustrato presentan cuando el receptor acompleja a este último, son utilizados para obtener no sólo la constante de asociación del sistema¹¹⁷, sino también la entalpía y la entropía a través de la determinación de energías libres a distintas temperaturas.¹⁰⁸

En un experimento de titulación típico, el espectro de ^1H -RMN de una solución 1.0 mM del sustrato se obtiene y la asignación de cada uno de los

protones de la molécula se lleva a cabo. La adición posterior de distintas cantidades del receptor a la solución del sustrato, provoca un cambio en la posición en el espectro de las señales de los protones de este último debido a que dichos átomos se encuentran necesariamente cerca del sitio de asociación (como se mencionó con anterioridad, la posición de los picos correspondientes a átomos de hidrógeno en un espectro de ^1H -RMN depende en forma importante del ambiente electrónico de éstos). De esta manera, la asociación del sustrato por parte del receptor se detecta a través del desplazamiento de los picos correspondientes a los protones cuyo ambiente electrónico se modifica por la presencia del receptor.

Es importante señalar que la elección de los agentes que fungen como titulante y titulado se debe al hecho de que es precisamente el sustrato la especie para la cual el cambio en el ambiente electrónico es más radical y homogéneo cuando la asociación de las especies se lleva a cabo. En este tipo de titulaciones espectroscópicas sin embargo, es común observar alguno de los dos casos siguientes.

En el primer caso, el espectro de ^1H -RMN de una mezcla de sustrato y receptor contempla dos conjuntos de picos. El primer conjunto, corresponde al sustrato en la forma libre y el segundo grupo grupo se encuentra asociado a la presencia del sustrato acomplejado. En la Figura 23 por ejemplo, se puede apreciar un espectro que muestra el caso en el que los picos de ambas formas del sustrato en solución son claramente distinguibles.¹²⁶

En general, es posible correlacionar el área bajo cada uno de los picos en el espectro de ^1H -RMN con la cantidad de protones del sustrato en las formas libre y asociada. Si por otro lado se considera un sistema simple en el que la asociación del sustrato y del receptor se ajustan a una estequiometría 1:1, es posible plantear la siguiente ecuación que define la constante de asociación.

$$K_{com} = \frac{[\text{Com}]}{[\text{Rec}] [\text{Sus}]} \quad (7)$$

Donde K_{com} representa la constante de asociación del sistema y $[\text{Com}]$, $[\text{Rec}]$ y $[\text{Sus}]$ representan las actividades del complejo, del receptor libre y del sustrato libre respectivamente.

De esta manera, utilizando la ecuación 7 y el balance de materia del receptor, es posible extraer el valor de la constante de asociación para el sistema bajo estudio si se supone que la integral del área bajo los picos es proporcional a la actividad de cada una de las especies en solución.

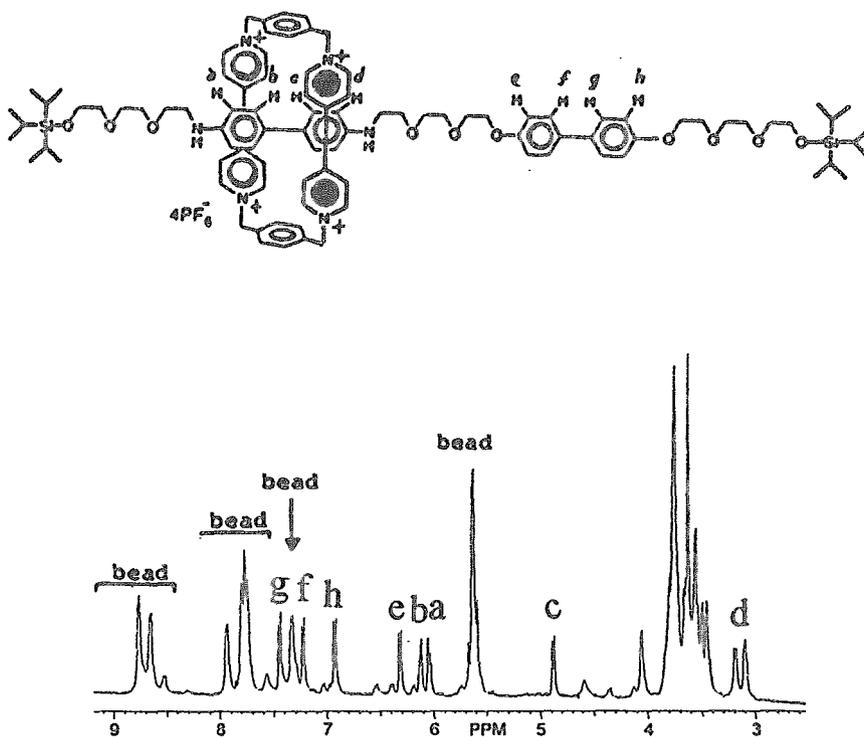
Es importante señalar que esta situación (la presencia de dos conjuntos de picos para la señal del sustrato) se presenta únicamente cuando la escala de tiempo del experimento de ^1H -RMN es menor que la correspondiente al proceso de asociación-disociación del complejo.¹¹⁷ En otras palabras, es posible observar la presencia independiente de las fracciones de sustrato libre y acomplejado siempre y cuando el experimento de detección se lleve a cabo de forma mas rápida que el proceso de asociación-disociación del complejo.

Debido a que la escala de tiempo de este último proceso es, a diferencia de la correspondiente al experimento de ^1H -RMN, dependiente de la

temperatura, es posible en principio estudiar la velocidad de asociación-disociación del complejo a partir de espectros de ^1H -RMN a distintas temperaturas.¹²⁶

Figura 23

Espectro de ^1H -RMN de una mezcla de isómeros traslacionales (CD_3CN , 229 K) en el que la señal primordial corresponde al isómero en el que el ciclofano se encuentra en la estación de la bencidina.¹²⁶



Los picos grandes corresponden al isómero que se presenta en la figura. Los picos pequeños corresponden al isómero en el que el ciclofano se encuentra en la estación del bifenol.

En general es posible observar que en el caso de un sistema en que ambos conjuntos de picos del sustrato son claramente distinguibles, la separación de los mismos comienza a disminuir a medida que la temperatura del sistema aumenta. De este modo, la temperatura a la cual ambos picos se fusionan para dar lugar a uno *promedio* (la temperatura para la cual la velocidad de asociación-disociación es igual a la escala de tiempo del experimento de ^1H -RMN), se conoce con el nombre de temperatura de coalescencia.

En la mayor parte de los sistemas estudiados en el área de química supramolecular, la temperatura ambiente corresponde a un valor muy por encima de la temperatura de coalescencia. En consecuencia, es común observar en estudios de ^1H -RMN que la adición de receptor a una solución de sustrato provoca en el espectro un *desplazamiento* del pico original del sustrato libre en lugar de la aparición de una segunda señal correspondiente al sustrato asociado. Este tipo de comportamiento, que es como ya se mencionó el más comúnmente encontrado en el estudio de fenómenos de asociación por ^1H -RMN, define el segundo tipo de comportamiento a discutir.

A diferencia del primer caso, este tipo de situaciones no contemplan la aparición de un nuevo pico que representa al sustrato en la forma acomplejada. En su lugar, el pico original del sustrato libre se desplaza en una dirección determinada.

Debido a que la velocidad de asociación-disociación del receptor y el sustrato es mayor que la escala de tiempo del experimento de ^1H -RMN, estos picos representan un *promedio* efectivo entre la cantidad de protones en la

forma libre (correspondiente a la posición original en el espectro de $^1\text{H-RMN}$) y la forma acomplejada del sustrato.

De este modo, es posible plantear la ecuación 8 que expresa la posición del pico observado (δ_{obs}) como función de la contribución normalizada de cada una de las posiciones de los picos del sustrato libre (δ_{libre}) y del sustrato acomplejado (δ_{com}).

$$\delta_{\text{obs}} = m_{\text{libre}} \delta_{\text{libre}} + m_{\text{comp}} \delta_{\text{comp}} \quad (8)$$

Donde las m 's corresponden a la fracción molar de sustrato libre y acomplejado. Como consecuencia de los balances de materia en el sistema, las fracciones molares de cada una de las especies en solución deben sumar uno y debido a que el sustrato sólo se encuentra en alguna de las dos formas: libre o acomplejado, es posible escribir a ecuación 8 de la siguiente manera.¹¹⁷

$$\delta_{\text{obs}} = (1 - m_{\text{comp}}) \delta_{\text{libre}} + m_{\text{comp}} \delta_{\text{comp}} \quad (9)$$

La ecuación 9, permite en principio determinar la fracción de sustrato complejoado m_{comp} a partir de las posiciones en el espectro de $^1\text{H-RMN}$ de los protones correspondientes al sustrato libre (δ_{libre}) y al sustrato *completamente* asociado con el receptor (δ_{com}).

A partir de la fracción molar de cualquiera de las dos formas del sustrato, es posible utilizar el balance de materia de todas las especies en solución para calcular la constante de asociación del complejo K_{com} .

Es importante hacer notar que con el objeto de utilizar la ecuación 9, es necesario determinar exactamente las posiciones en el espectro de las señales del sustrato en las formas libre (δ_{libre}) y acomplejada (δ_{com}).

Por un lado, la posición correspondiente al sustrato libre (δ_{libre}), puede conocerse directamente a partir del espectro original; antes de que se efectúe la primera adición del receptor a la solución del sustrato. La posición correspondiente al sustrato *totalmente* complejado (δ_{com}), propone sin embargo un problema importante.

En este caso, un procedimiento aparentemente viable consiste en agregar a la solución titulada un exceso suficiente de receptor para complejar la totalidad del sustrato y poder de esta manera, medir directamente la posición en el espectro de los protones en cuestión. La cantidad de receptor necesaria para complejar la totalidad del sustrato, es sin embargo función de la constante de asociación y este es precisamente un valor desconocido.

De esta manera, el espectro de $^1\text{H-RMN}$ una mezcla de sustrato y receptor en una proporción cualquiera no proporciona información suficiente para determinar la constante de equilibrio del sistema. Por el contrario, una titulación formal del sustrato con el receptor en la que al menos 10 puntos son determinados, puede dar la información deseada a través de un análisis de mínimos cuadrados en el que las ecuaciones empleadas en el ajuste sean precisamente las ecuaciones 7 y 9.¹¹⁷

Otro punto importante en el análisis de complejos de inclusión por $^1\text{H-RMN}$, corresponde a la sensibilidad del experimento. Como se mencionó



V U I N I C A
D.E.P.O.

anteriormente, la magnitud del desplazamiento de los protones del sustrato como consecuencia del proceso de asociación depende de que tanto cambia el ambiente electrónico de estos protones. De este modo, es común que en un sistema dado en el que el sustrato posee protones en distintos ambientes electrónicos y a distintas distancias del sitio de asociación, el desplazamiento que sufren las señales en el espectro cuando la asociación se lleva a cabo sea diferente para cada protón. Es muy importante hacer notar que los métodos de cálculo de las constantes de complejación que se han discutido deben ser utilizados con sumo cuidado ya que es posible que debido a la distinta sensibilidad de cada protón, el análisis de diferentes picos en un mismo experimento de titulación de lugar a distintas constantes de equilibrio.¹⁰⁶

III.- Justificación y objetivos.

Del estudio en profundidad de la asociación no covalente de sustratos y receptores como las ciclodextrinas, depende no sólo la comprensión detallada de las fuerzas que gobiernan los procesos de reconocimiento molecular, sino también el diseño y fabricación de estructuras con dimensiones moleculares que lleven a cabo funciones específicas entre las que destacan el almacenamiento de información, el diseño de drogas que bloqueen sitios activos de biomoléculas, el transporte y estabilización de drogas hidrofóbicas en medios acuosos y la modificación de electrodos que lleven a cabo funciones de sensores químicos.

Durante las últimas tres décadas, diversos grupos de investigación han estudiado los procesos de asociación de las ciclodextrinas con una gran variedad de sustratos. En los años recientes sin embargo, la atención de los investigadores en este campo se ha dirigido principalmente al estudio de las propiedades de asociación de ciclodextrinas modificadas. Entre estas últimas, destacan las amino-CD's (presentadas en la Figura 8) que poseen una corona de cargas positivas en el lado angosto de la cavidad hidrofóbica del receptor. El arreglo molecular que las define, ha motivado a diversos grupos de investigación a estudiar la asociación de estos receptores con sustratos que poseen zonas hidrofóbicas en proximidad con regiones hidrofílicas caracterizadas por cargas negativas.

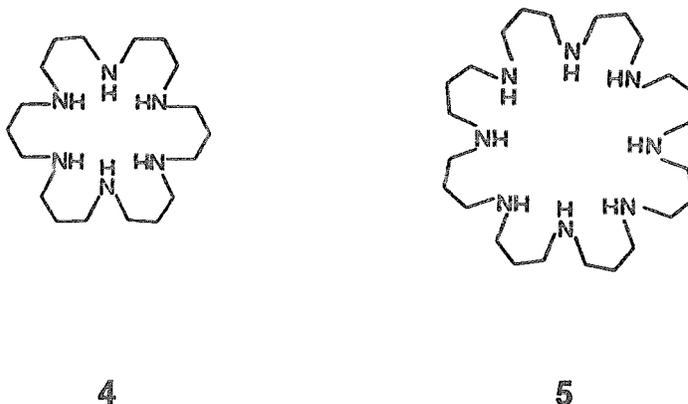
Otra característica que hace interesante el estudio de la asociación de las amino-CD's, es la dependencia que la carga de los grupos amino presentan con el pH del medio. De esta manera, debido al enlace de naturaleza electrostática, debería ser posible en principio controlar la fuerza de la asociación con un sustrato dado mediante el control de la densidad de carga en la corona angosta de la cavidad a través del pH del medio. Los sistemas en los que la capacidad de asociación depende en forma importante de alguna variable externa como por ejemplo el pH del medio, se conocen comúnmente como "interruptores" moleculares.⁸⁵

La naturaleza cargada de las poliaminas que caracterizan a las ciclodextrinas modificadas 1-3, hace que estos receptores sean ideales para acomplejar sustratos con alta densidad de carga como por ejemplo el anión

fosfato.¹²⁷ Entre estos últimos, destaca por varias razones el ión ferrocianuro ($\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$) que posee una carga de -4. Este anión, no sólo presenta un comportamiento electroquímico reversible bien caracterizado en el que un electrón puede ser extraído de la molécula para formar la especie ferricianuro ($\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$), sino que también se han reportado trabajos en los que se ha estudiado la asociación de este anión complejo con poliaminas en medio acuoso.^{128, 129} Lehn y colaboradores por ejemplo, reportaron constantes de asociación tan altas como 10^6 M^{-1} para el ión ferrocianuro y la poliamina 5 que se presenta en la Figura 24.¹²⁹

Figura 24

Poliaminas que Lehn y colaboradores utilizaron para acomplejar el ión ferrocianuro en medio acuoso.



La alta densidad de carga que caracteriza tanto a las amino-CD's como al ión ferrocianuro, hacen que este sistema sea además de interesante, un candidato ideal para detectar y cuantificar un enlace no covalente de naturaleza electrostática. Por otro lado, la reversibilidad electroquímica que caracteriza al ión ferrocianuro, hace que este sistema pueda ser estudiado no sólo mediante técnicas espectroscópicas sino también electroquímicas.

En este trabajo de tesis, se presentarán resultados concernientes al estudio de la asociación del ión ferrocianuro con las tres ciclodextrinas modificadas hexakis(6-deoxy-6-amino)- α -CD (1), heptakis(6-deoxy-6-amino)- β -CD (2) y octakis(6-deoxy-6-amino)- γ -CD (3) (α -amino-CD, β -amino-CD y γ -amino-CD, respectivamente) en medio ligeramente ácido. Las técnicas a utilizar, comprenderán básicamente voltametría cíclica (VC) y espectroscopía de ^1H -RMN. En principio, se pretende obtener los valores de las constantes de equilibrio de asociación de los complejos de las tres ciclodextrinas con los aniones ferrocianuro y ferricianuro. En una etapa subsecuente, y a través de los estudios exploratorios de ^1H -RMN, se pretende también identificar el sitio de asociación y en consecuencia obtener información preliminar sobre la geometría del complejo de inclusión.

Por otro lado, y dependiendo de la diferencia entre las constantes de asociación del ión ferrocianuro en sus formas oxidada y reducida con las distintas ciclodextrinas, será posible identificar las posibles propiedades de "interruptor" molecular que estos sistemas pudieran presentar.

IV.- Resultados y discusión.

Como se mencionó anteriormente, en esta tesis se pretende detectar y estudiar la complejación del ión ferrocianuro con las ciclodextrinas modificadas 1-3. En un principio, y basados en estudios previos con poliaminas, se supone que la interacción principal entre el anión complejo y los receptores aminados debe ser de naturaleza primordialmente electrostática.

Con el fin de maximizar la interacción responsable del proceso de asociación, fué necesario utilizar un pH que asegurara contar con la mayor densidad de carga en las moléculas que participan en la formación del complejo.

Por un lado, es posible considerar que en medio acuoso el ión ferrocianuro es una especie densamente cargada que a valores de pH tan bajos como 3 no se encuentra protonada.¹³⁰

En cuanto a los receptores, y debido a que no hay información publicada a la fecha sobre la acidez de las amino-CD's, una titulación potenciométrica ácido-base se llevó a cabo para β -amino-CD de acuerdo al método de Martell y Motekaitis.¹³¹ En la Figura 25, pueden apreciarse tanto la curva de titulación de β -amino-ciclodextrina (2) como los pK_a 's resultantes del análisis de los datos experimentales que se obtuvieron utilizando el programa de simulación descrito en la referencia 131.

Con base en estos resultados y de acuerdo a determinaciones similares para poliaminas del mismo tipo,¹²⁸ se consideró en este trabajo que a un pH de 5.5 o menor, las tres amino-CD's bajo estudio 1-3 se encuentran completamente protonadas.

Con base en los argumentos anteriores, las propiedades de asociación de los sistemas en cuestión fueron investigadas en una solución acuosa amortiguadora de amino-acetonitrilo ($\text{NH}_2\text{-CH}_2\text{-CN}$ / $\text{NH}_3^+\text{-CH}_2\text{-CN}$, $\text{pK}_a=5.3$ de fuerza iónica $I=0.1$, ver la sección experimental) en el que es posible asegurar tanto la protonación total de las amino-CD's, como la máxima densidad de carga en el anión complejo.

Es importante señalar que la elección de la solución amortiguadora de amino-acetonitrilo no se hizo únicamente como función de los pK_a 's de las especies participantes en los equilibrios de interés, sino también tomando en cuenta que ninguna de las dos formas de la solución amortiguadora en solución acuosa poseen cargas negativas que potencialmente pudieran generar una interacción no deseada con los receptores aminados catiónicos.

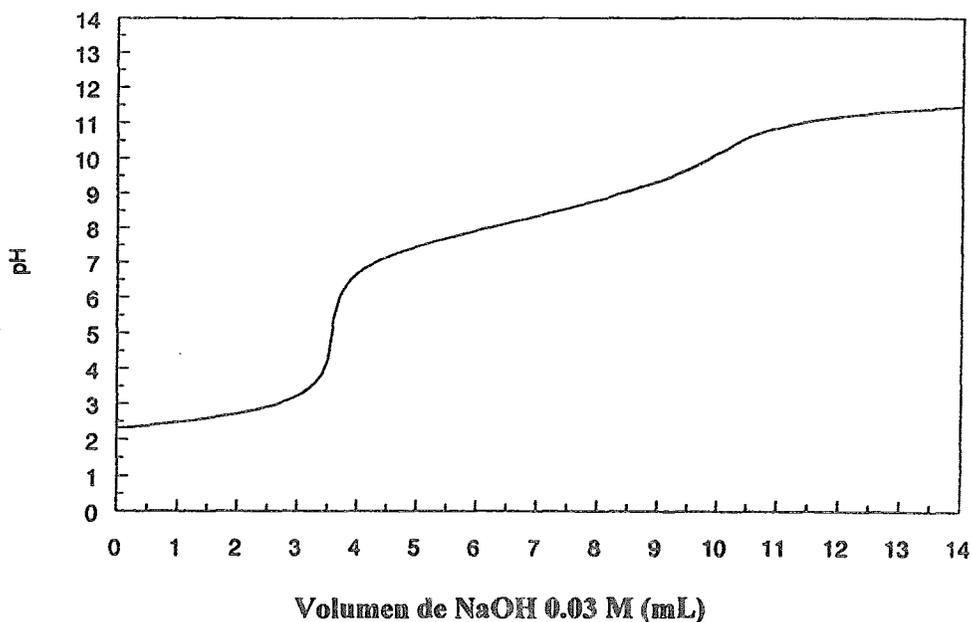
1.- Titulaciones electroquímicas.

Como se mencionó con anterioridad, la electroquímica reversible del ión ferrocianuro es utilizada frecuentemente para detectar y cuantificar por medios electroquímicos procesos de asociación en los que este anión participa. En general, la asociación de esta especie con receptores positivamente cargados provoca cambios importantes en los parámetros característicos de la señal electroquímica del sustrato (corrientes de pico (i_p) y el potencial formal (E^0)). En condiciones óptimas, dichos cambios permiten no sólo la detección del proceso de asociación, sino también la evaluación de parámetros termodinámicos de

interés tales como las constantes de asociación y consecuentemente las energías libres de asociación.

Figura 25

Titulación potenciométrica de β -amino-CD en medio acuoso y valores de los pK_a 's correspondientes.



pK_a 's = 7.0, 7.7, 7.8, 8.4, 9.0, 9.3, 12.4

De este modo, en una primera etapa se hizo uso de la voltametría cíclica para estudiar el comportamiento del ión ferrocianuro en presencia de las tres amino-CD's (1-3). Las titulaciones voltamétricas correspondientes, se llevaron a cabo utilizando un electrodo de platino ($A= 0.0078 \text{ cm}^2$) como electrodo de

trabajo. Las adiciones del receptor, contemplaron el rango de 0.0 a 3.0 equivalentes de ciclodextrina modificada en intervalos de aproximadamente 0.2 equivalentes cada uno. Los detalles experimentales de las titulaciones se especifican en la sección experimental de este trabajo de tesis.

Las Figuras 26-28, presentan los voltamogramas experimentales de soluciones de ferrocianuro en presencia de 0, 0.57, y 1.34 equivalentes de cada una de las amino-CD's (1-3) a una velocidad de barrido de 50 mV/s.

La forma que caracteriza a los voltamogramas experimentales, resultó ser independiente de la velocidad de barrido en todos los casos. De esta observación, se sugiere que la interpretación de los voltamogramas bajo estudio puede efectuarse ignorando factores cinéticos.

Por otro lado, es posible apreciar en las Figuras 26-28 que el mismo patrón de asociación se verifica para la interacción del ión ferrocianuro y las tres distintas amino-CD's (1-3). En términos generales, la presencia del receptor en solución en el intervalo de 0-1.2 equivalentes, provoca la aparición de una segunda onda redox en el voltamograma del sistema.

La primera onda, caracterizada por un potencial $E_{1/2}$ con respecto a Ag/AgCl de 0.222 V, corresponde a los procesos redox del ión ferrocianuro en solución. Este valor de potencial se obtuvo como el promedio de los potenciales de pico anódico y catódico que, como era de esperarse para una especie electroquímicamente reversible que únicamente intercambia un electrón en la ventana de potencial bajo estudio, mostraron una separación de potencial de aproximadamente 60 mV. Es importante señalar que una separación de

potenciales de pico de alrededor de 60 mV para este tipo de procesos ($n=1$ en este caso en particular) revela que la caída óhmica no juega un papel importante en estas medidas. Por esta razón, ninguno de los potenciales de media onda experimentales que se describen en este trabajo fueron corregidos con compensación óhmica.

Por otro lado, la segunda onda redox ubicada a potenciales más positivos se encuentra relacionada con el complejo de ferrocianuro y la amino-CD correspondiente.

La asignación de los picos correspondientes a las formas libre y complejada del $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ en los voltamogramas presentados en las Figuras 26-28, se apoya en las observaciones experimentales a lo largo de la titulación. En primer lugar, la adición de la ciclodextrina modificada a la solución del anión provoca en todos los casos un incremento en las corrientes de la segunda onda redox y una disminución proporcional en las corrientes asociadas a la primera onda.

Por otro lado, cuando 1.2 equivalentes de el receptor han sido agregados a la solución de ferrocianuro, la primera onda desaparece por completo y sólo la señal ubicada a potenciales más positivos prevalece. Aún más, la adición de un exceso (cualquier cantidad superior a 1.2 equivalentes de ciclodextrina) de cualquiera de los receptores bajo estudio a la solución de ferrocianuro, no provoca ningún cambio importante en la respuesta electroquímica del anión asociado.

Figura 26

VC de $K_4Fe(CN)_6$ 1 mM en (a) ausencia y en presencia de **1** en concentraciones (b) 0.57 mM y (c) 1.34 mM. Velocidad de barrido 0.05 V/s.

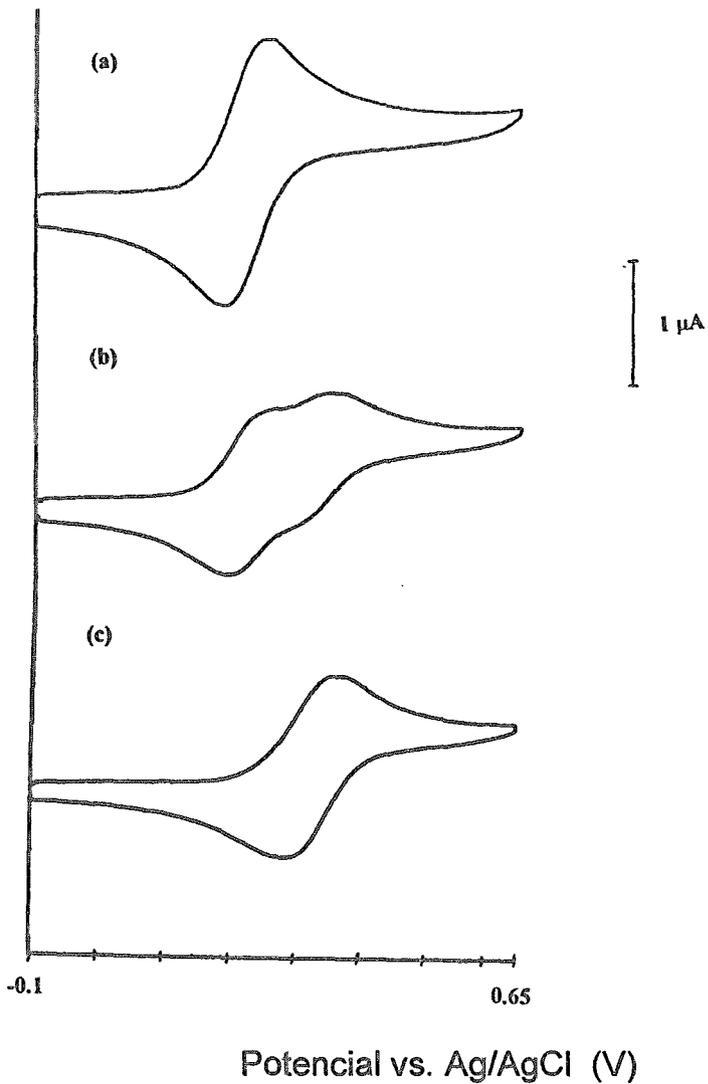


Figura 27

VC de $K_4Fe(CN)_6$ 1 mM en (a) ausencia y en presencia de 2 en concentraciones (b) 0.57 mM y (c) 1.34 mM. Velocidad de barrido 0.05 V/s.

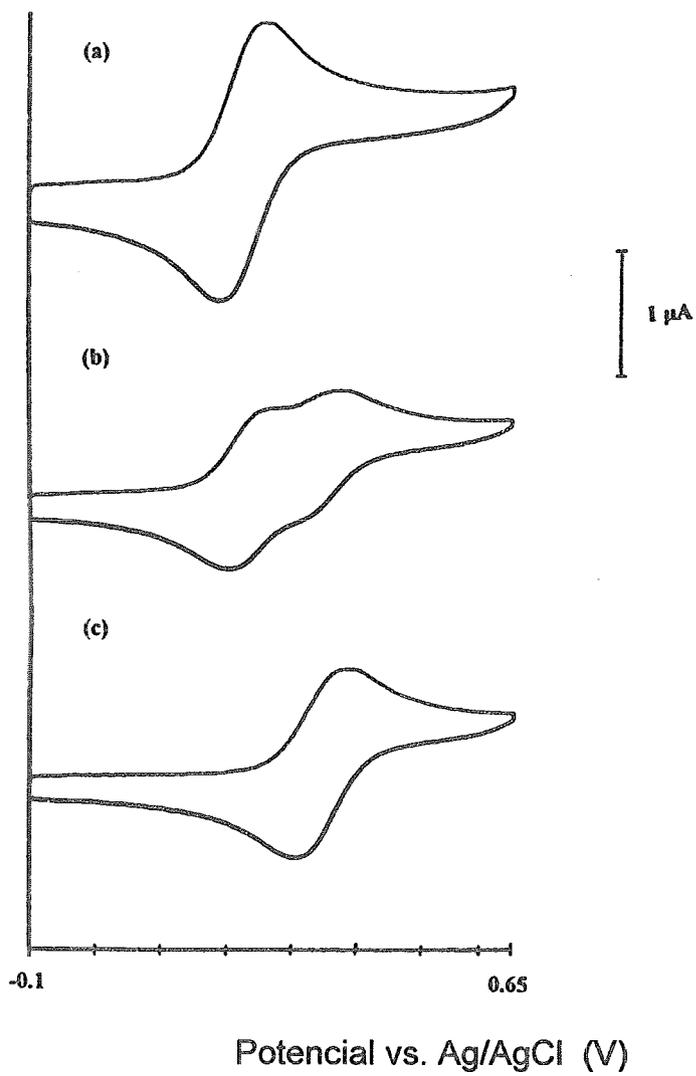
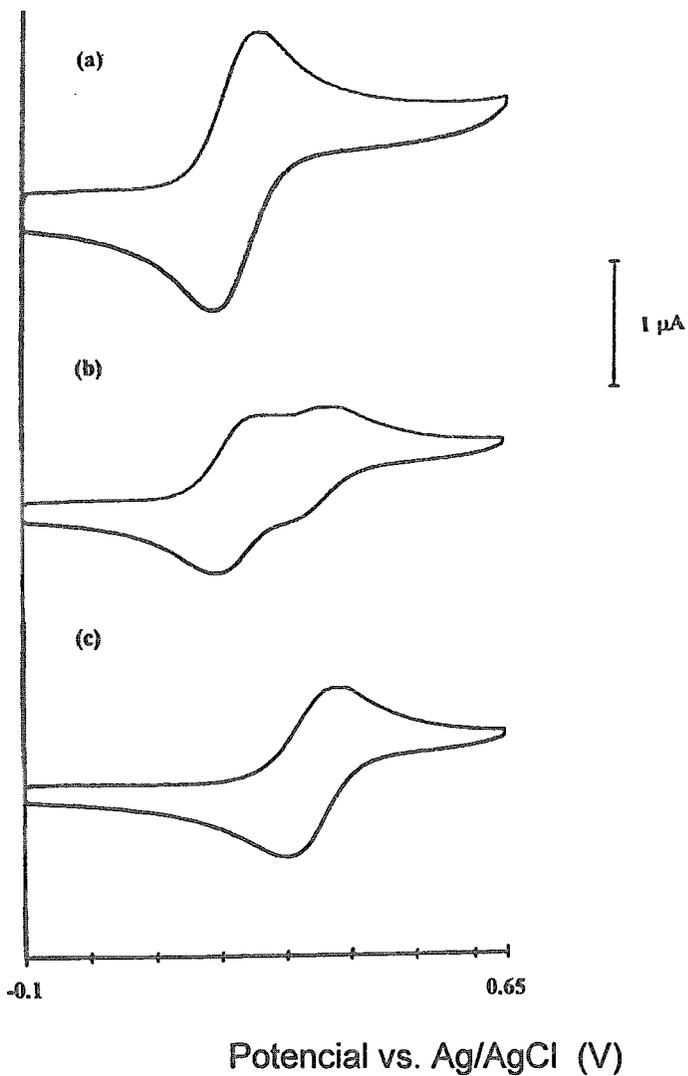


Figura 28

VC de $K_4Fe(CN)_6$ 1 mM en (a) ausencia y en presencia de **3** en concentraciones (b) 0.57 mM y (c) 1.34 mM. Velocidad de barrido 0.05 V/s.



Cabe señalar que el comportamiento y la interpretación correspondiente a las titulaciones voltamétricas de los tres sistemas bajo estudio, es muy similar al observado por Lehn y colaboradores en el estudio de la complejación de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ con las poliaminas macrocíclicas representadas en la Figura 24.¹²⁹

Como se discutió con anterioridad, la observación de dos ondas redox en los voltamogramas de las Figuras 26-28 cuando el receptor se encuentra en cantidades subequivalentes, es característica de sistemas en los que la afinidad de la especie electroactiva, en este caso el sustrato, por el receptor es muy grande.¹²²

La presencia de una segunda onda redox a potenciales más positivos respecto a la del sustrato libre en solución cuando el receptor se encuentra en cantidades subequivalentes, es consistente con el hecho de que el sustrato complejado debe ser más *difícil* de oxidar que su contraparte libre debido a la estabilización electrostática que el anión gana al asociarse con el receptor catiónico. Por esta razón es posible razonar que debido a que las cargas positivas de las amino-CD deben interactuar de modo importante con el sustrato aniónico en el complejo de inclusión, éstas deben formar parte del *sitio de asociación*.

Por otro lado, los valores relativos de los potenciales redox de ambos pares sugieren que la forma libre del sustrato ($\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$) se encuentra más fuertemente ligada al receptor catiónico (para cualquiera de los receptores bajo estudio) que su contraparte oxidada $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$. Este hecho, es consistente también con la idea de que la interacción electrostática entre receptor y sustrato

juega un papel primordial en la estabilidad de este grupo de complejos de inclusión.

En la Figura 29, se puede apreciar la representación esquemática de los equilibrios que participan en los sistemas bajo estudio una vez que la titulación ha comenzado a llevarse a cabo mediante la adición del receptor catiónico a la solución de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$. Como se mencionó con anterioridad, son básicamente dos los factores que definen la observación del comportamiento electroquímico de dos ondas representado en las Figuras 26-28.

En primer lugar, es necesario que la diferencia entre las constantes de asociación de las formas oxidada y reducida del ión $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ con las amino-CD's sea relativamente grande. En otras palabras, es necesario que la diferencia de potenciales redox entre ambas formas del sustrato ($E^{\circ}_c - E^{\circ}_f$) sea lo suficientemente alta como para distinguir claramente las dos señales voltamétricas.

En general se considera que la mínima diferencia necesaria entre los potenciales de media onda ($E^{\circ}_c - E^{\circ}_f$), para resolver claramente las dos señales redox de la especie electroactiva libre y la complejada es de 90 mV.¹³²

Es importante señalar que aún cuando la diferencia entre los potenciales redox del sistema ($E^{\circ}_c - E^{\circ}_f$) sea alta, el valor de la constante de equilibrio K_{red} debe ser relativamente grande también si se observan en el voltamograma dos ondas claramente definidas.

Es interesante señalar que si por el contrario la constante de equilibrio K_{red} tiene un valor de 10^3 M^{-1} o menor, el comportamiento que caracterizara al sistema bajo estudio será el de una onda única que se desplaza gradualmente a potenciales más positivos cuando el receptor se adiciona a la solución electrolítica.

En el caso particular de los sistemas contemplados en este estudio el comportamiento electroquímico observado en las titulaciones voltamétricas (Figuras 26-28), obedece claramente al caso de dos ondas redox. Por otro lado, la diferencia entre los potenciales de semi-onda de ambas formas del sustrato (libre y acomplejada con amino-CD) es de por lo menos 100 mV en cada caso.

En referencia a los equilibrios definidos en la Figura 29, puede observarse que la presencia de un segundo pico correspondiente a la oxidación del complejo $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ - amino-CD, depende en gran medida de la estabilidad del complejo y consecuentemente sugiere un valor grande de la constante de equilibrio K_{red} .¹³⁴

Durante el barrido voltamétrico en dirección positiva, y a valores de potencial aplicado cercanos al potencial de media onda del ferrocianuro libre $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$, la concentración del anión libre en la interfase disminuye drásticamente debido al proceso de oxidación electroquímica que lo transforma en ferricianuro $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$. Una constante de asociación del complejo alta, implica que en la interfase del electrodo de trabajo el complejo *no* se disocia en forma apreciable cuando el equilibrio químico tiende a desplazarse en este sentido con el fin de compensar por la desaparición del ión $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ libre.

Basado en estas observaciones, es posible sugerir en una primera instancia que la constante de asociación del ión $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ con cada una de las amino-CD consideradas K_{red} es de por lo menos 10^5 M^{-1} .

Por otro lado, el hecho de que la diferencia entre las constantes de asociación del sustrato K_{red} y K_{ox} sea alta (como consecuencia de la diferencia $(E^{\circ}_c - E^{\circ}_f) > 100 \text{ mV}$), apoya también la hipótesis de que la fuerza motriz de asociación en todos los casos es básicamente electrostática. De esta manera, cuando el ión ferrocianuro ($\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$) es oxidado al ión ferricianuro ($\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$), la estabilidad del enlace con el receptor catiónico disminuye drásticamente debido a que la densidad de carga negativa en el anión también disminuye.

Como se ha discutido hasta el momento, es posible interpretar la respuesta electroquímica de la titulación del ión $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ con las tres ciclodextrinas modificadas en términos puramente termodinámicos. Ciertamente una interpretación de tipo cinético en la que la constante de velocidad correspondiente a la disociación del complejo sea extremadamente pequeña, podría también explicar el comportamiento experimental de dos ondas observado en este trabajo. Sin embargo, tanto la escala de tiempo del experimento de voltametría cíclica (15 segundos durante el barrido de un medio ciclo en cualquiera de los voltamogramas experimentales presentados en las Figuras 26-28), como la independencia de la forma de los voltamogramas con la velocidad de barrido y los experimentos subsecuentes de ^1H -RMN, han demostrado que una interpretación de corte cinético no es apropiada para ninguno de los complejos estudiados.

Durante la titulación del ión $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ con las tres diferentes amino-CD's, fué posible observar que la forma característica de los voltamogramas no cambia apreciablemente cuando se compara un receptor con otro. Por otro lado, como se puede apreciar en la Tabla 3, el potencial de media onda del complejo del $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ con α -amino-CD (1) es distinto al potencial redox correspondiente a los complejos del mismo anión con β -amino-CD (2) y γ -amino-CD (3) que, curiosamente son iguales entre ellos si se acepta que el rango de potencial correspondiente al error experimental es de 10 mV.

Tabla 3

Parámetros electroquímicos y termodinámicos de la asociación de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ con α , β y γ -amino-CD en una solución acuosa amortiguadora de amino-acetonitrilo 0.1 M, pH=5.3 a 298 K.

Receptor	$K_{ox} (M^{-1})^a$	$K_{red} (M^{-1})^a$	$E^{\circ}_c (V)^b$	$D_c (cm^2 s^{-1})$
α -amino-CD	2×10^3	3×10^5	0.341	$2.1 \times 10^{-6} (b)$
β -amino-CD	4×10^3	8×10^5	0.357	$1.7 \times 10^{-6} (a)$
γ -amino-CD	5×10^3	1×10^6	0.358	$1.2 \times 10^{-6} (a)$

^a Valores obtenidos de las simulaciones digitales.

^b Valores obtenidos de voltamogramas experimentales.

De acuerdo a la ecuación 5 descrita en la sección de antecedentes (y que es también una consecuencia directa de los equilibrios definidos en la Figura 29), es posible correlacionar logarítmicamente la diferencia entre los potenciales de media onda del $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ en sus formas libre y acomplejada ($E^{\circ}_c - E^{\circ}_f$) con

la relación de las constantes de equilibrio de asociación del anión en los dos estados de oxidación con el receptor bajo estudio (K_{red} / K_{ox}). De esta manera, la razón de las constantes de equilibrio K_{red} / K_{ox} para el complejo con β -amino-CD resultó ser 200 mientras que el valor correspondiente para los otros dos complejos (con α -amino-CD y γ -amino-CD), resultó ser 150.

De estos valores se desprende que, como era de esperarse, el complejo formado con la ciclodextrina con menor densidad de carga positiva (α -amino-CD) es la especie que se afecta más cuando la carga del sustrato (asociada con el estado de oxidación del anión $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$) cambia a través de la oxidación electroquímica desde un valor de -4 a uno de -3.

Por otro lado, aunque la relación de las constantes de equilibrio del anión con los receptores más grandes (β -amino-CD y γ -amino-CD) es igual en ambos casos, los valores específicos de las constantes no tienen porque ser los mismos y de hecho, deberán ser distintos si el enlace es, como se supone, esencialmente electrostático. Con el objeto de determinar no sólo las relaciones exactas de las constantes de equilibrio que definen los sistemas bajo estudio, sino también los valores específicos de dichas constantes, se procedió a hacer simulaciones digitales de las respuestas asociadas a los experimentos de titulación electroquímica.

2.- Simulaciones digitales.

Las simulaciones digitales de los experimentos discutidos en la sección anterior, se hicieron utilizando el programa comercial "Digi-sim™ 2.0" para

"Windows". Como se menciona en la sección experimental de este trabajo, este programa no es sólo capaz de calcular las concentraciones de cada especie en equilibrio en la interfase del electrodo de trabajo en cualquier momento durante un experimento de VC, sino también la evolución de las concentraciones al paso del tiempo a través del cálculo de los perfiles de concentración de cada una de las especies que participan en el experimento de VC.

La información necesaria para llevar a cabo la simulación del experimento (y consecuentemente obtener los voltamogramas correspondientes) consiste en los valores de las constantes de equilibrio (K_{red} y K_{ox}), las concentraciones iniciales de cada una de las especies en el sistema bajo estudio, los potenciales de media onda de cada molécula electroactiva (E°_c y E°_f) y los coeficientes de difusión de todas las especies en la solución electrolítica.

En las Figuras 30-32, se presentan los voltamogramas simulados que mejor se ajustan a los obtenidos experimentalmente mediante las titulaciones voltamétricas correspondientes a las Figuras 26-28.

Como puede observarse a través de la comparación, las simulaciones digitales son prácticamente iguales a las señales experimentales en cuanto a la forma y a los valores de potencial que caracterizan a cada uno de los sistemas.

A pesar de que en esta discusión se presentan únicamente tres voltamogramas para cada sistema, es importante señalar que las simulaciones se llevaron a cabo para todos los puntos experimentales de la titulación voltamétrica con resultados satisfactorios en cada uno de los tres casos bajo estudio.

Figura 30

Simulación digital de la VC de $K_4Fe(CN)_6$ 1.0 mM en (a) ausencia y en presencia de 1 en concentraciones (b) 0.57 mM y (c) 1.34 mM. Velocidad de barrido 0.05 V/s.

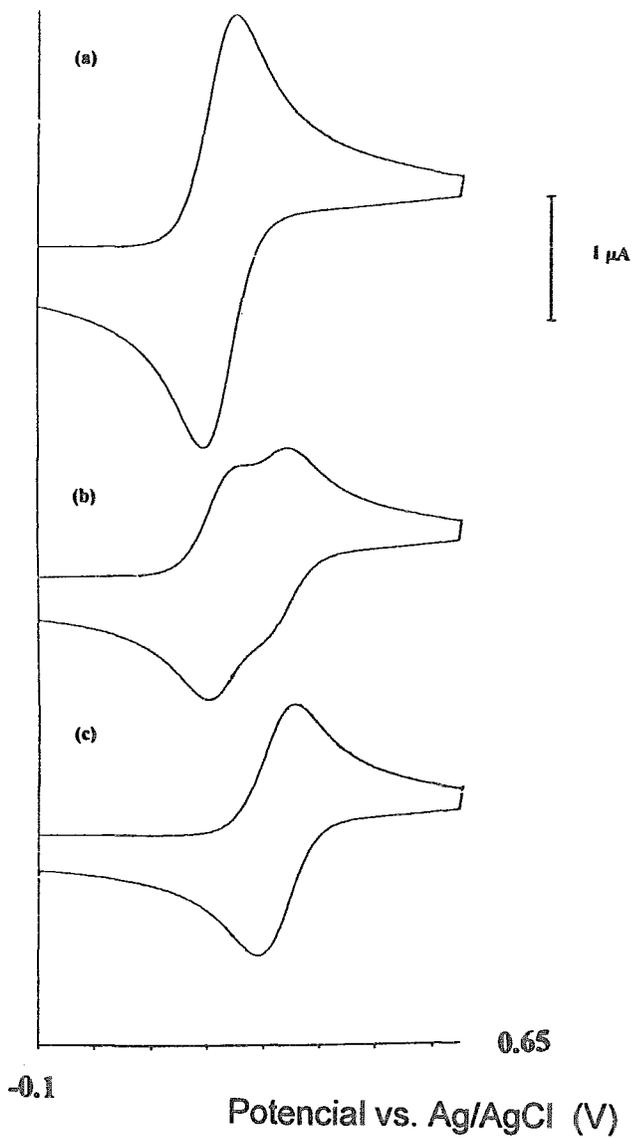


Figura 31

Simulación digital de la VC de $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ 1.0 mM en (a) ausencia y en presencia de 2 en concentraciones (b) 0.57 mM y (c) 1.34 mM. Velocidad de barrido 0.05 V/s.

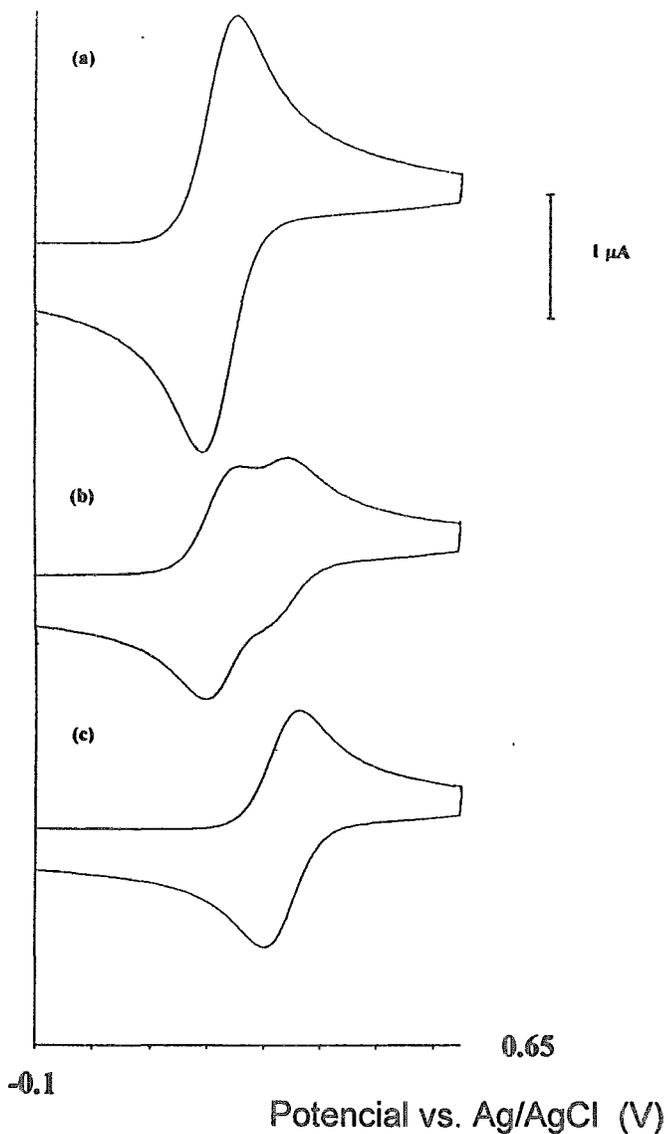
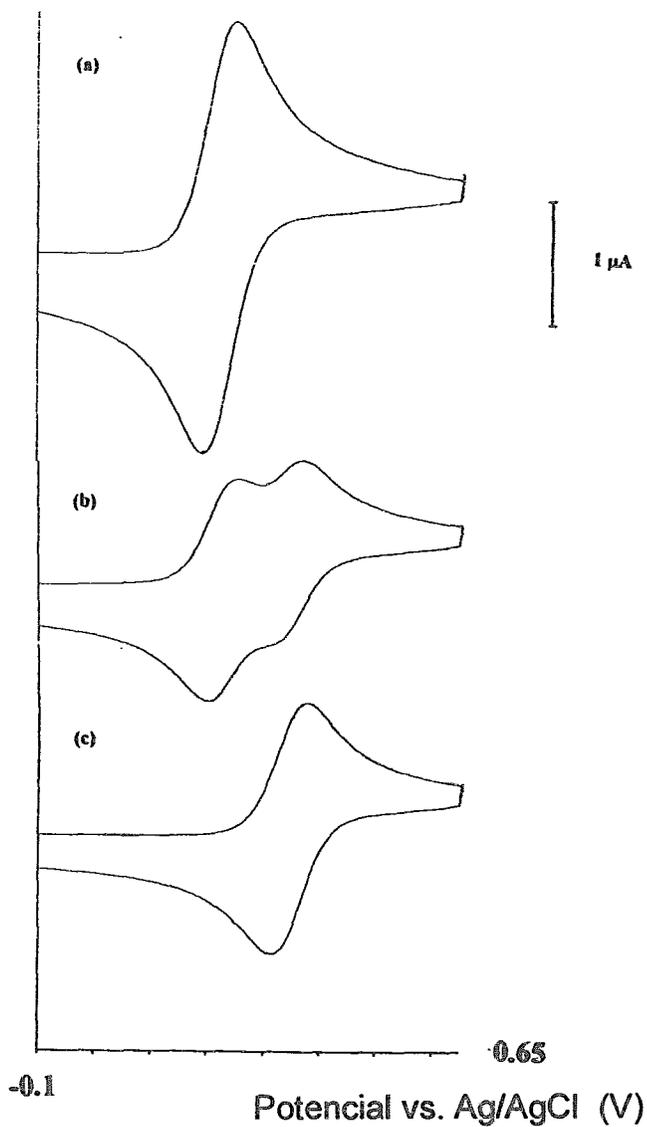


Figura 32

Simulación digital de la VC de $K_4Fe(CN)_6$ 1.0 mM en (a) ausencia y en presencia de **3** en concentraciones (b) 0.57 mM y (c) 1.34 mM. Velocidad de barrido 0.05 V/s.



Los valores de los parámetros electroquímicos y termodinámicos usados en las simulaciones digitales que mejor representan los resultados experimentales para cada una de las amino-CD's, se presentan también en la Tabla 3.

Como era de esperarse para una serie de complejos cuya interacción principal corresponde a la estabilización electrostática de un anión densamente cargado, la ciclodextrina que posee la mayor cantidad de grupos amino positivos, en este caso γ -amino-CD, es la que enlaza más fuertemente al sustrato electroactivo ($K_{red} = 1 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$).

Es interesante señalar que el valor de la constante de asociación del ión $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ con γ -amino-CD (3) resulta ser particularmente alta y muy similar a los valores encontrados por Lehn y colaboradores para los sistemas de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ y las poliaminas cíclicas presentadas en la Figura 24 en solución acuosa.¹²⁹

Siguiendo la misma línea de razonamiento, β -amino-CD (2) enlaza al ión $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ con menor fuerza que γ -amino-CD (3) ($K_{red} = 8 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$) pero muestra una interacción mayor que la correspondiente al receptor menos densamente cargado α -amino-CD (1) ($K_{red} = 3 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$).

Es interesante señalar, que la hipótesis acerca de la naturaleza electrostática del enlace que define estos sistemas, es apoyada no sólo por los valores relativos de las constantes de asociación de un receptor con respecto a otro, sino también por el intervalo de los valores de las constantes de asociación del sustrato reducido K_{red} ($3 \times 10^5 - 1 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$) que son por lo menos un orden

de magnitud mayores que aquellos que caracterizan el enlace de ciclodextrinas no modificadas con distintos tipos de sustratos.^{10, 78, 93}

Como se mencionó en la sección de antecedentes, la complejación de ciclodextrinas no modificadas en medio acuoso se caracteriza por una interacción que se supone está definida por la suma de las contribuciones correspondientes al efecto hidrofóbico y a un rearrreglo intramolecular del receptor cuando la cavidad de este último es ocupada por un sustrato lipofílico.⁹³ En cualquier caso, estas interacciones son consideradas siempre como más debiles ($K = 1 \times 10^3 - 5 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$) que aquellas debidas a una atracción receptor-sustrato de tipo electrostático.¹²⁹

Con el objeto de reproducir adecuadamente la forma de los voltamogramas experimentales, fué necesario conocer los coeficientes de difusión de todas las especies en solución. En la última columna de la Tabla 3 pueden apreciarse los valores utilizados en las simulaciones presentadas en las Figuras 30-32. Cabe señalar, que estos valores son comparables con aquellos encontrados en estudios previos de complejos de inclusión de ciclodextrinas no modificadas.¹⁰¹

El coeficiente de difusión del ión $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ en la solución acuosa amortiguadora resultó ser $6.2 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$ de acuerdo a la determinación de la corrientes de pico anódico de una solución 1.0 mM del anión a distintas velocidades y a la utilización de la ecuación de Randles-Sevick.¹¹³

$$i_p = 2.69 \times 10^5 \frac{n^{5/2} A^{1/2} v^{1/2} D^{1/2} C_0}{\text{A}} \quad (10)$$

En la ecuación 10, i_p corresponde a la corriente de pico anódico en μA , n es el número de electrones intercambiados en el proceso de oxidación (en este caso $n=1$), A corresponde al área del electrodo en cm^2 , v representa la velocidad de barrido de potencial en V/s y C_o esta asociado a la concentración de la especie electroactiva en el seno de la solución en mmol/L .

Finalmente es conveniente comentar acerca de las diferencias entre los valores obtenidos para las constantes de asociación del sustrato en sus formas oxidada y reducida.

Como puede apreciarse al comparar las primeras dos columnas de la Tabla 3, la forma reducida del anión complejo ($\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$) enlaza al receptor aminado con mayor fuerza que la forma oxidada del mismo ($\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$). Como era de esperarse, la diferencia de una carga negativa (entre -4 y -3) en el sustrato es suficiente para provocar una diferencia apreciable entre las constantes de estabilidad termodinámica para todos los complejos bajo estudio.

La diferencia entre las constantes de asociación con amino-CD's del sustrato en la forma reducida y en la forma oxidada, resulta ser sin embargo de por lo menos dos órdenes de magnitud para todos los casos. Esta característica en particular, hace que estos sistemas puedan ser considerados en términos prácticos como "interruptores" moleculares-redox, es decir, sistemas para los cuales el estado de oxidación del ferrocianuro define de algún modo si el anión se encuentra libre en solución ($\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$) o bien formando un complejo de inclusión (amino-CD- $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$) con alguna de las ciclodextrinas modificadas presente en el medio.

Cabe señalar que la diferencia entre las constantes de equilibrio del sustrato en sus dos estados de oxidación, apoya también la hipótesis de que la fuerza responsable de la formación del complejo es básicamente electrostática. Como se mencionó anteriormente, solo una interacción de este tipo es capaz de explicar el hecho de que la oxidación del sustrato provoque un cambio tan grande en la estabilidad del complejo.

3.- Espectroscopía de ^1H -RMN.

Las titulaciones voltamétricas y la simulación digital de la respuesta electroquímica de los sistemas bajo estudio, hicieron posible no sólo la detección de la interacción entre el ión $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ y las amino-CD's 1-3, sino también la evaluación de las constantes de estabilidad termodinámica de cada uno de los complejos en cuestión.

Con el objeto de obtener información estructural preliminar de los complejos bajo estudio, se optó por utilizar la espectroscopía de ^1H -RMN en D_2O a $\text{pD}=5$.

Como puede apreciarse en la Figura 33-a, el espectro de ^1H -RMN del receptor α -amino-CD (1) presenta seis señales independientes además del pico de DHO ubicado a 4.65 ppm.

Con base en resultados previamente reportados en la literatura sobre α -CD ¹¹⁶ (en la Figura 17 se muestra el espectro de α -CD no modificada en medio acuoso) y a estudios recientes de α -amino-CD utilizando espectroscopía de correlación COSY, ^{70, 135} las asignaciones correspondientes a cada uno de los

picos asociados a los protones de la molécula del receptor aminado, se llevaron a cabo y se presentan también en la Figura 33.

Con respecto al espectro de α -CD presentado en la Figura 17, es lógico suponer que la presencia de grupos amino en constante rotación y enlazados al carbono C-6 del receptor, afectarán de forma importante la posición en el espectro de los picos correspondientes a los protones H-6, H-5, H-4 y H-1. Esto se debe a que son precisamente estos protones los que se encuentran más cercanos al OH primario en la ciclodextrina no modificada.

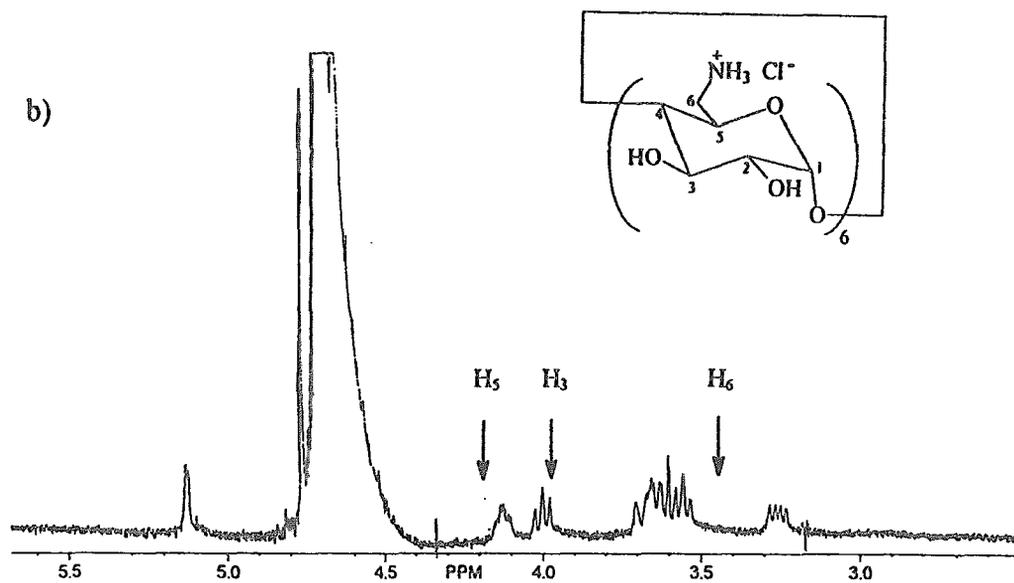
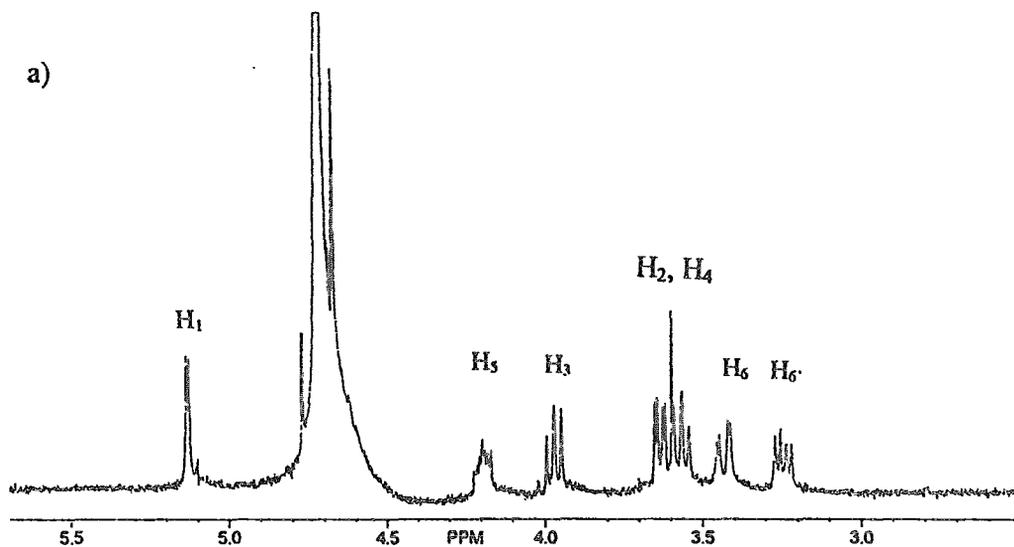
Los protones en las posiciones C-2 y C-3 por otro lado, deberán aparecer relativamente cerca del valor de δ (posición en la escala de RMN) en la señal de los protones de la ciclodextrina no modificada ya que, al estar ubicados en el lado ancho de la cavidad, se encuentran relativamente lejos del sitio de modificación.

Como se mencionó en la sección de antecedentes, la asociación de amino-CD's con ferrocianuro puede detectarse convenientemente mediante la comparación de los espectros del receptor en ausencia, y en presencia del sustrato aniónico. De este modo, en la Figura 33-b se muestra el espectro de α -amino-CD (1) cuando se han agregado 5 equivalentes de $K_4Fe(CN)_6$ a la solución.

Como se puede apreciar, mediante la comparación de los espectros en la Figura 33, las señales correspondientes a los protones H-6, H-5 y H-3 se desplazan ligeramente con respecto a sus posiciones originales.

Figura 33

Espectros de ^1H -RMN de **1** en (a) ausencia y en (b) presencia de 5 equivalentes de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$.



Cabe señalar que debido a los diversos factores que afectan las posiciones de los diferentes picos en el espectro de ^1H -RMN en la forma libre y en el complejo, la magnitud y dirección del desplazamiento es difícil de asociar con algún tipo de información estructural específica. Sin embargo, es posible afirmar que el desplazamiento de señales específicas debe asociarse con interacciones consecuencia del fenómeno de asociación.

El desplazamiento de las señales correspondientes a los protones de las posiciones C-5 y C-6 sugiere que, como se esperaba, el sitio primordial de complejación es la corona de cargas positivas en el lado angosto de la cavidad del receptor aminado. El pequeño desplazamiento de H-3, sugiere por otro lado que el sustrato aniónico se encuentra parcialmente incluido en la cavidad del receptor y no formando un par iónico en el que tanto el receptor catiónico como el ión $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ se encuentran perfectamente solvatados. Con base en estos argumentos, en la Figura 34 se representa esquemáticamente la estructura del complejo entre el anión ferrocianuro y las ciclodextrinas modificadas 1y 3.

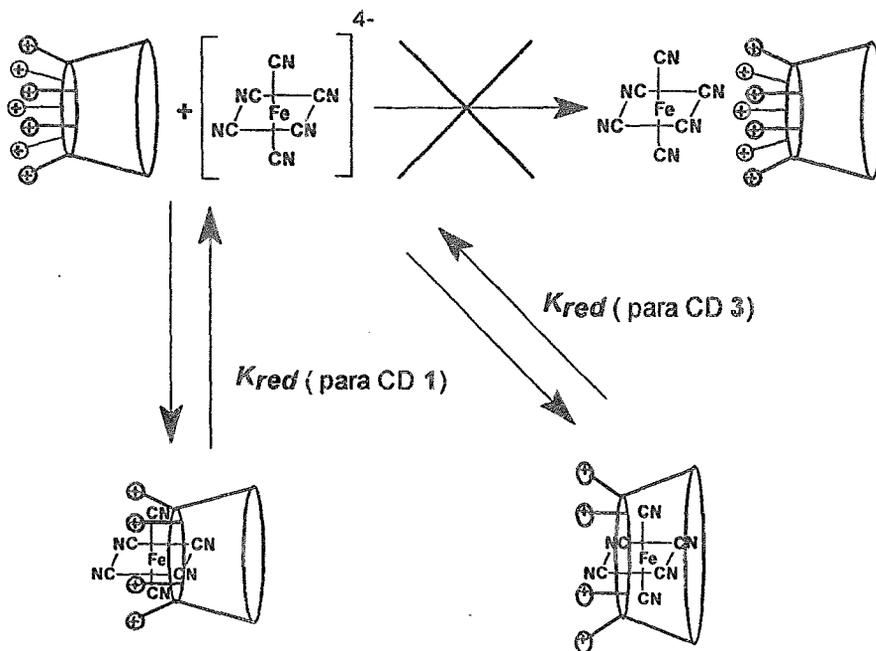
Es importante señalar que el desplazamiento de la señal correspondiente a los protones en C-5 y C-3 es consistente con la hipótesis de la inclusión del sustrato en la cavidad del receptor en tanto que son estos protones precisamente los que se encuentran apuntando hacia adentro de la cavidad hidrofóbica del receptor.

Como puede apreciarse en la Figura 35, que representa una de las unidades sacáridas de las amino-CD's, los protones en C-3 se encuentran en el borde ancho de la cavidad apuntando hacia adentro mientras que los protones

en C-2 cuya señal no se desplaza en lo absoluto, se encuentran a la misma altura que los de C-3 pero apuntando hacia afuera de la cavidad.

Figura 34

Estructura del complejo de inclusión entre $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ y las ciclodextrinas modificadas 1, 3.

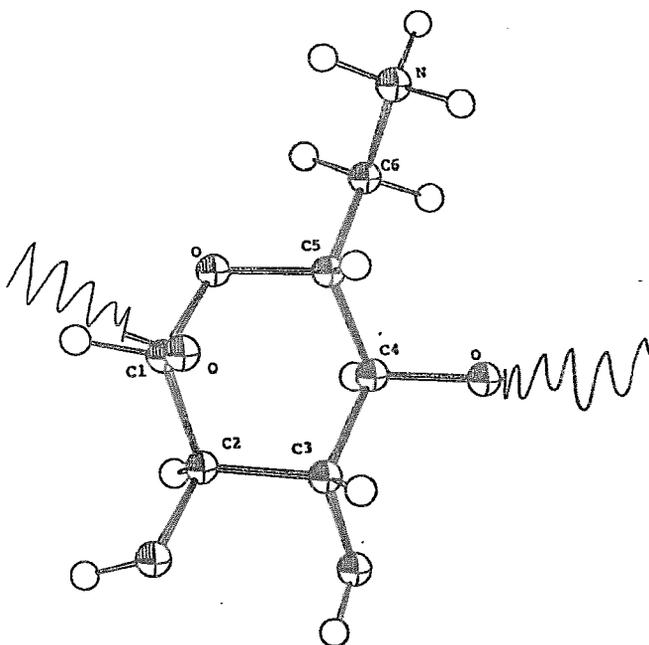


La idea de la inclusión parcial del sustrato en la cavidad del receptor es también consistente con el hecho de que el radio reportado del ión ferrocianuro en medio acuoso es de aproximadamente 6 Å.¹³⁶ En este sentido,

el diámetro de la cavidad del receptor α -CD ($4.7\text{-}5.2 \text{ \AA}$)² resulta muy pequeño para una penetración total pero suficientemente grande para una inclusión parcial desde el lado angosto de la cavidad hidrofóbica (ver Figura 34).

Figura 35

Representación esquemática de una unidad sacárida de amino-ciclodextrina.



En una segunda etapa y con el fin de estudiar la dependencia que el desplazamiento de las señales correspondientes a los protones del receptor pudiera tener con el tamaño de la cavidad, una titulación espectroscópica similar a la presentada en la Figura 33 fué llevada a cabo para estudiar la complejación del ión ferrocianuro con el receptor γ -amino-CD.

Debido al tamaño de la cavidad de este receptor (aproximadamente 2.7 Å mayor que la cavidad de α -amino-CD)², es de esperarse que en este caso una inclusión "total" del anión en la cavidad del receptor se verifique. Un modelo de dicha inclusión se presenta también en la Figura 34.

La idea de una inclusión total para este sistema se apoya también por el hecho de que de entre todos los sistemas bajo estudio, éste precisamente es el que presenta la mayor estabilidad termodinámica (ver Tabla 3).

En la Figura 36 se presenta el espectro de γ -amino-CD (3) en ausencia (36-a) y en presencia (36-b) de 5 equivalentes del sustrato electroactivo $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ en NaCl 0.1 M (D2O) a pD=5.

En principio, es posible observar algunas diferencias interesantes en relación al desplazamiento de las señales correspondientes en la complejación del ión ferrocianuro con el receptor α -amino-CD(1).

En primer lugar, el desplazamiento de los protones correspondientes a C-6 cuando γ -amino-CD se asocia con el ión ferrocianuro ocurre en dirección opuesta al desplazamiento que caracteriza la complejación con α -amino-CD (1). Como se mencionó con anterioridad, este efecto no es particularmente extraño en vista de que la disposición espacial del anión con respecto a los protones del receptor debe ser distinta en ambos casos. De esta manera, es el desplazamiento de la señal y no la dirección del mismo (ya que este último depende en forma compleja del ambiente electrónico promedio del protón) la que indica que protones específicos participan en el sitio de asociación (ver Figura 34).

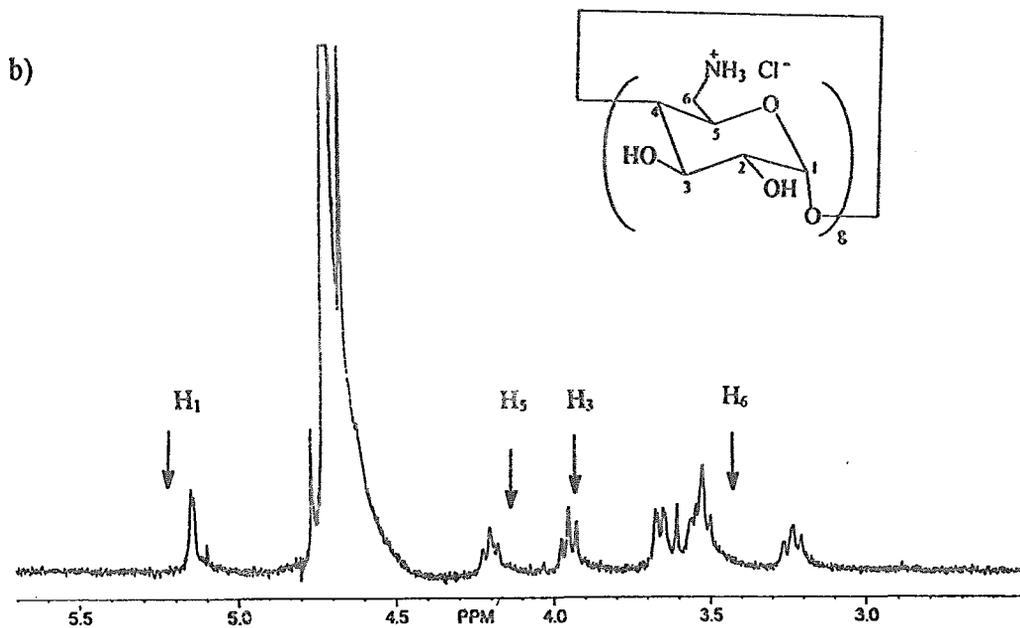
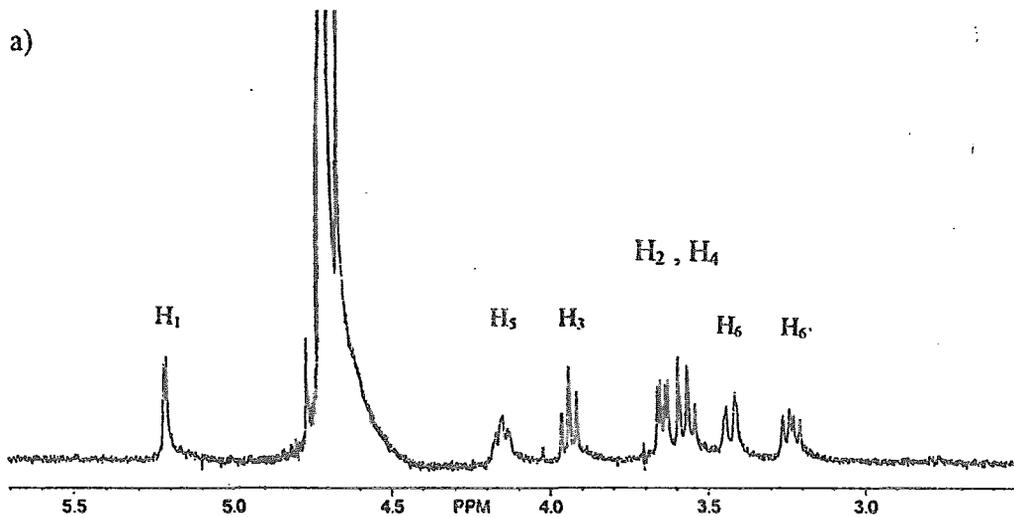
Como puede observarse al comparar las Figuras 33 y 36, el desplazamiento de los protones correspondientes a C-3 es menor cuando el ión ferrocianuro se acompleja con γ -amino-CD (3) que cuando la asociación se verifica con α -amino-CD (1). Esta diferencia sin embargo podría indicar únicamente que la distancia promedio entre el anión y los protones C-3 en el lado interno de la cavidad del receptor es ligeramente mayor en el caso de γ -amino-CD que en el caso del derivado de α -CD.

Una diferencia importante en los cambios que las señales de los protones de las amino-CD's estudiadas sufren cuando se acomplejan con ferrocianuro, es el desplazamiento del protón correspondiente a la posición C-1 en el caso del complejo entre γ -amino-CD y $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ que, como puede apreciarse en la Figura 35, se encuentra apuntando hacia *afuera* de la cavidad del receptor.

Este resultado, sorprendente en primera instancia, confirma de algún modo las observaciones hechas por Lehn y otros en lo referente a la relativa flexibilidad que caracteriza a las ciclodextrinas.¹³⁻¹⁴ Como se mencionó en la sección de antecedentes, una fracción importante de investigadores en el tema de la complejación con ciclodextrinas opina que las unidades sacáridas de estos receptores son capaces de girar sobre la unión C-1 - C-4 y romper de este modo la simetría de la molécula. Debido a impedimentos estéricos, es posible argumentar que el mayor grado de flexibilidad debe caracterizar a las ciclodextrinas más grandes. Aún más, en el caso particular de las ciclodextrinas modificadas que competen a este trabajo, es razonable pensar que el giro de alguna(s) de las unidades sacáridas de γ -amino-CD es favorecido no sólo por el

Figura 36

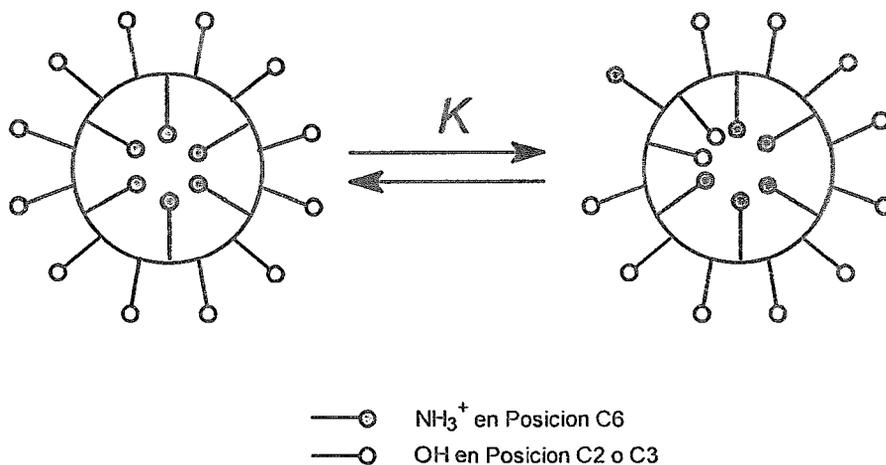
Espectros de ^1H -RMN de **3** en (a) ausencia y en (b) presencia de 5 equivalentes de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$.



número mayor de azúcares (8 en este caso), sino por la alta densidad de carga en el lado angosto de la cavidad que necesariamente debe desestabilizar la conformación simétrica. De esta manera, el giro(s) de alguna(s) de las unidades sacáridas del receptor γ -amino-CD explica el desplazamiento de la señal correspondiente al protón en la posición C-1 que en *promedio* no se encuentra apuntando todo el tiempo hacia el exterior de la cavidad del receptor sino que en algún momento puede hallarse apuntando hacia el interior de la misma. Una representación esquemática de este fenómeno para la ciclodextrina modificada 1 se presenta en la Figura 37.

Figura 37

Representación esquemática de la flexibilidad de 1 en solución acuosa.



Este argumento sin embargo no explica la ausencia de desplazamiento en los protones correspondientes a C-2, por lo que se requerirán investigaciones

más profundas al respecto de la geometría de los complejos de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ con las tres amino-CD's bajo estudio, y especialmente con γ -amino-CD.

V.- Parte experimental.

1.- Materiales.

Las ciclodextrinas modificadas: hexakis(6-deoxy-6-amino)- α -CD, heptakis(6-deoxy-6-amino)- β -CD y octakis(6-deoxy-6-amino)- γ -CD fueron sintetizadas y purificadas por el grupo del Dr. Coleman de acuerdo a métodos ya reportados en la literatura⁶⁸. Los pesos moleculares utilizados en la preparación de las soluciones de CD's utilizadas en este trabajo, correspondieron a los de los compuestos secos (α -amino-CD (1) 1185.7 g/mol, β -amino-CD (2) 1385.3 g/mol y γ -amino-CD (3) 1580.9 g/mol).

El cloruro de sodio utilizado fué de calidad biológica y se obtuvo de "Fisher scientific". Las sales de ferrocianuro de potasio y clorhidrato de amino-acetonitrilo se obtuvieron de "Aldrich" y fueron utilizadas con la pureza con la que se recibieron. Una solución estandarizada 1.0 M de hidróxido de sodio (obtenida de "Fisher scientific") se utilizó en la preparación de las soluciones amortiguadoras. Dichas soluciones se prepararon a partir de la mezcla de una solución 0.1 M de clorhidrato de amino-acetonitrilo con la cantidad necesaria de NaOH concentrado para obtener lo que sería una concentración final de la base de 0.1 M. De esta manera, la fuerza iónica de la solución resultante es 0.1. Por

otro lado, el pH y la capacidad amortiguadora de la solución se verificó mediante el monitoreo del cambio en el valor del pH al agregar pequeñas alícuotas de soluciones concentradas de HCl ó NaOH.

Todas las soluciones empleadas en los experimentos electroquímicos fueron preparadas con agua deionizada y purificada mediante un filtro "Barnstead Nanopure system" de cuatro cartuchos ($\rho=18 \text{ M}\Omega \text{ cm}$).

Con el objeto de reducir interferencias debidas a efectos de envejecimiento, todas las soluciones fueron preparadas y utilizadas el mismo día en que se llevó a cabo el experimento.

En los experimentos de ^1H -RMN, se utilizó D_2O de "Aldrich" como solvente. El pD y la fuerza iónica de las soluciones se ajustó convenientemente mediante la adición de NaCl y DCl (este último también de "Aldrich").

2.- Electroquímica.

Los experimentos de voltametría cíclica descritos en este trabajo, se llevaron a cabo con un programador universal PAR modelo 175, un potencióstato PAR 173 y un graficador X-Y Soltec modelo VP6423S.

El dispositivo experimental consistió básicamente de una celda de 2 mL acoplada a un electrodo circular de platino ($A= 0.0078 \text{ cm}^2$) que funcionó como electrodo de trabajo. Por otro lado, un alambre de platino hizo las veces de electrodo auxiliar mientras que un electrodo de Ag/AgCl se utilizó como referencia. Tanto los electrodos como la celda se obtuvieron de la compañía "Cypress systems".

El electrodo de trabajo se limpió con abundante agua deionizada y se pulió sobre una superficie aterciopelada con una mezcla de alúmina 0.05 μm /agua antes de cada titulación voltamétrica. Por otro lado, todas las soluciones fueron deoxigenadas por 10 minutos antes de cada titulación y entre adiciones mediante el flujo, dentro de la solución electrolítica, de nitrógeno seco.

Al principio del experimento de voltametría cíclica y después de cada adición de receptor, por lo menos tres voltamogramas en el intervalo de velocidades de barrido de 20-100 mV/s fueron obtenidos. La ventana de potencial estudiada se comprendió el intervalo de -0.1 V a 0.65 V vs. Ag/AgCl.

Todas las soluciones utilizadas en los experimentos de VC se prepararon utilizando una solución amortiguadora de amino-acetonitrilo 0.1 M que funcionó como solvente y al mismo tiempo como electrolito soporte. La elección de dicho sistema, obedeció al hecho de que el pK_a del cloruro de amino-acetonitrilo permitió fijar el pH de la solución en 5.3. (Este valor, corresponde al pH que Lehn y colaboradores utilizaron en el estudio electroquímico de la complejación del ión ferrocianuro con poliaminas cíclicas).¹²⁹

En un experimento típico de titulación voltamétrica, 1.5 mL de una solución de ferrocianuro de potasio 1.0 mM fué colocada en la celda y caracterizada por VC a tres distintas velocidades de barrido. Posteriormente, a esta solución se le adicionaron alíquotas de 0.2 equivalentes de amino-CD hasta que en la celda se alcanzó un exceso de tres equivalentes del receptor. Las alíquotas se tomaron de una solución concentrada de la amino-CD en la que el solvente utilizado fué una solución de ferrocianuro de potasio 1.0 mM en la

solución amortiguadora de amino-acetonitrilo. De esta manera, las adiciones de receptor a la solución original de ferrocianuro no modificaron la concentración efectiva del mismo y en consecuencia su respuesta electroquímica en términos de concentración.

3.- Simulaciones digitales.

Las respuestas electroquímicas de los sistemas estudiados fueron simuladas mediante el uso del programa "BAS-Digisim 2.0 for windows" que está basado en un algoritmo de Rudolph y colaboradores.¹³⁷ Los razonamientos empleados en cada una de las simulaciones digitales fueron las siguientes:

1.- En cualquiera de las dos formas del ión ferrocianuro en solución (forma libre y acomplejada), la especie electroactiva puede intercambiar un solo electrón de modo reversible.

2.- Las constantes de velocidad de los procesos químicos y electroquímicos involucrados en el experimento de VC son lo suficientemente altas con respecto a la escala de tiempo experimental que se considera que el sistema se encuentra equilibrado en todo momento.

3.- La transferencia de especies electroactivas hacia y, desde la superficie del electrodo, se encuentra controlada únicamente por procesos de tipo difusional.

4.- Los coeficientes de difusión de las formas oxidada y reducida del ión ferrocianuro son iguales entre sí. De la misma manera, también los coeficientes

de difusión de las formas oxidada y reducida del complejo formado por el ión ferrocianuro y la amino-CD se consideran iguales entre sí.

En una simulación típica de la respuesta experimental de los sistemas bajo estudio, el potencial formal (contra el electrodo de Ag/AgCl) del ión ferrocianuro libre se especifica como 0.222V. Por otro lado, el potencial formal del anión en la forma de complejo se extrae del valor obtenido en el experimento de VC cuando tres equivalentes de receptor han sido agregados a la solución electrolítica. Los valores específicos utilizados en las simulaciones de este trabajo fueron 0.341 V, 0.358 V y 0.357 V para los complejos de α -amino-CD (1), β -amino-CD (2) y γ -amino-CD (3) respectivamente.

El valor del coeficiente de difusión empleado para el ferrocianuro libre en la solución amortiguadora de amino-acetonitrilo ($6.2 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$) se obtuvo de la ecuación de Randles-Sevick¹¹³ (ver sección *iv.1*) mientras que en el caso de los complejos, los valores del coeficiente de difusión fueron obtenidos directamente de las simulaciones digitales. Estos valores resultaron ser $2.1 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$, $1.7 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$ y $1.2 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$ para las especies correspondientes a los receptores α -amino-CD (1), β -amino-CD (2) y γ -amino-CD (3) respectivamente.

Una vez definidos los valores de potenciales formales y coeficientes de difusión de todas las especies en el sistema, una de las constantes de equilibrio de complejación es supuesta (dado el ciclo termodinámico que define el sistema, la otra constante de equilibrio queda automáticamente definida) y del proceso de simulación digital resulta un voltamograma que se compara con el obtenido experimentalmente. De la forma y de los valores termodinámicos que

caracterizan a dicho voltamograma depende entonces que la simulación digital de la VC continúe repitiéndose con distintos valores de constante de equilibrio hasta que los voltamogramas simulados coincidan con aquellos obtenidos experimentalmente.

Una vez que se consiguió reproducir la forma de alguno de los voltamogramas experimentales, el proceso de simulación se repitió del mismo modo para todos los voltamogramas obtenidos durante la titulación y para cada uno de los tres sistemas bajo estudio.

4.- Espectroscopía de ^1H -RMN.

Información estructural preliminar sobre la complejación del ión ferrocianuro con amino-CD's fué obtenida mediante experimentos de espectroscopía de ^1H -RMN de 400 MHz. Los experimentos se llevaron a cabo en un espectrómetro de RMN Varian VXR-400 usando tubos de 5 mm de diámetro externo.

Las soluciones fueron preparadas a partir de una solución de NaCl (para mantener una fuerza iónica constante durante la titulación $I=0.1$) que se modificó con DCI (también de "Aldrich") para ajustar el pD a un valor de 5. Por otro lado, el solvente utilizado fué agua deuterada 99% (obtenida de "Aldrich").

La referencia utilizada para la escala de todos los espectros fué el pico residual de acetona en 2.17 ppm con respecto a DSS.

VI.- Conclusiones.

En este trabajo de tesis, se ha demostrado que el ión $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ forma complejos con las tres ciclodextrinas modificadas α -amino-CD, β -amino-CD y γ -amino-CD (1-3).

A través de titulaciones electroquímicas del anión complejo con los tres receptores aminados y de simulaciones digitales de los voltamogramas experimentales, fué posible evaluar las constantes de equilibrio, y consecuentemente las energías libres de asociación, de todos los complejos bajo estudio.

En base a estos resultados y a la comparación con energías libres de complejación de sustratos similares con ciclodextrinas no modificadas, la naturaleza electroestática del enlace de las amino-CD-s 1-3 con el ión ferrocianuro fué plenamente identificada.

La estabilidad termodinámica de todos los complejos bajo estudio resultó ser, como se esperaba, función de la cantidad de cargas positivas en el receptor. Esta dependencia sin embargo no fué tan importante como la que todos los sistemas mostraron con respecto al estado de oxidación del ión $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$. De esta manera, se encontró que la oxidación del ión ferrocianuro a ferricianuro disminuye el valor de la constante de equilibrio de complejación en por lo menos dos órdenes de magnitud (el intervalo de constantes de estabilidad termodinámica es de 3×10^5 - $1 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$ para la forma reducida del sustrato y 2×10^3 - $5 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ para la forma oxidada).

En las condiciones de pH del estudio en cuestión las tres amino-CD's se encuentran, en términos prácticos, completamente protonadas. El lado angosto de la cavidad del receptor se encuentra densamente cargado y se convierte por lo tanto en el sitio primario de complejación.

En base a las titulaciones espectroscópicas de ^1H -RMN llevadas a cabo para dos de los complejos bajo estudio, se concluyó que el ión $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ no forma un par iónico con el receptor aminado sino que, al menos parcialmente, el anión complejo se incluye dentro de la cavidad del receptor catiónico.

Estudios detallados sobre la estructura de los complejos en cuestión serán sin embargo necesarios para elucidar completamente la supuesta flexibilidad del complejo formado con el receptor γ -amino-CD (3) y para determinar con exactitud el grado de penetración que el ión ferrocianuro tiene en la cavidad de los tres receptores.

vii.- Referencias.

1. Villiers, A. C. R. *Hebd. Seances Acad. Sci.*, 1981, 112, 536
2. Saenger, W. *Angew. Chem. Int. Ed. Eng.*, 1980, 19, 344.
3. Schardinger, F. *Wien, Klin. Wochenschr.* 1904, 17, 207.
4. Eftink, M. R.; Andy, M. L.; Bystran, K.; Perlmutter, H. D.; Kristol, D.S. *J. Am. Chem. Soc.*, 1989, 11, 6765.
5. Eftink, M. R.; Bysiron, K.; Cranwell, W. C. *J. Phys. Chem.*, 1985, 89, 326.
6. Szejtli, J. "Cyclodextrin technology" in Topics of Inclusion Science, Kluwer, Dordrecht, 1988.
7. Szejtli, J.; Lengyel, M. T. *J. Inclusion Phenom.*, 1985, 3, 1.
8. Cramer, F.; Mackensen, G. *Angew. Chem. Int. Ed. Eng.*, 1966, 5, 601.
9. Breslow, R. "Inclusion Compounds", V. 3, Academic Press, London 1984.
10. Inoue, Y.; Hakushi, T.; Liu, Y.; Tong, L.; Shen, B. J.; Jin, D. *J. Am. Chem. Soc.*, 1993, 115, 475.
11. Lawrence, D. S.; Jiang, T.; Lenett, M. *Chem. Rev.*, 1995, 95, 2229.
12. Koshland, D. E.; Nett, K. E. *Annu. Rev. Biochem.*, 1968, 37, 359.
13. Saenger, W.; Noltemeyer, M.; Manor, P. C.; Hingerty, B.; Klar, B. *Bioorg. Chem.*, 1976, 5, 187.
14. Ludovic, J.; Cancelli, J.; Lacombe, L.; Lehn, J. M. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, 1994, 989.
15. Science Citation Index Data base.
16. Wenz, G. *Angew. Chem. Int. Ed. Eng.*, 1994, 33, 803.

17. Li, S.; Purdi, W. C. *Chem. Rev.*, **1992**, *92*, 1457.
18. Jozwiakowski, M. J.; Connors, K. A. *Carbohydr. Res.*, **1985**, *143*, 51.
19. Kitagawa, M.; Hoshi, H.; Sakurai, M.; Inoue, Y.; Chujo, R. *Carbohydr. Res.*, **1987**, *163*, 1.
20. Kitagawa, M.; Hoshi, H.; Sakurai, M.; Inoue, Y.; Chujo, R. *Carbohydr. Res.*, **1990**, *198*, 181.
21. French, D.; Levine, M. L.; Pazur, J. H.; Norberg, E. *J. Am. Chem. Soc.*, **1949**, *71*, 353.
22. Chatjigakis, A. K.; Donzec, C.; Coleman, A. W.; Cardo, T. P. *Anal. Chem.*, **1992**, *64*, 1632.
23. Chacko, K. K.; Saenger, W. *J. Am. Chem. Soc.*, **1981**, *103*, 1708.
24. Linder, K.; Saenger, W. *Angew. Chem. Int. Ed. Eng.*, **1978**, *17*, 694.
25. Harata, K. *Chem. Lett.*, **1984**, 641.
26. Wood, D. J.; Itruska, F. E.; Saenger, W. *J. Am. Chem. Soc.*, **1977**, *99*, 1735.
27. Vincendon, M. *Bull. Soc. Chim. Fr.*, **1981**, 129.
28. Gelb, R. I.; Schwartz, L. M.; Laufer, D. A. *Bioorg. Chem.*, **1982**, *11*, 274.
29. Duchêne, D. edit. "New Trends in Cyclodextrins and Derivatives", Ed. De Santé, Paris, **1991**.
30. Flaschel, E.; Landert, J. P.; Renken, A., en "Proc. 1st Int. Symp. On Cyclodextrins", Reidel, Dordrecht, *41*, **1982**.
31. Vakaliv, H.; Miskolci-Torok, J. M.; Szejtli, J.; Jarai, M.; Seres, G. *Chem. Abstr.*, **1979**, *91*, 91923.

32. Gelb, R. I.; Schwartz, L. M.; Bradshaw, J. J.; Laufer, D. A. *Bioorg. Chem.*, 1980, 9, 299.
33. Mischnick, P. *Carbohydr. Res.*, 1989, 192, 233.
34. Mischnick, P.; Kreber, R. *Carbohydr. Res.*, 1989, 187, 197.
35. Casu, B.; Scovenna, G.; Cifonelli, A. J.; Perlin, A. S. *Carbohydr. Res.*, 1978, 63, 13.
36. Ron, D.; D'Souza, V. T. *Tetrahedron Lett.*, 1990, 31, 4275.
37. Gramer, F.; Mackensen, G. *Angew. Chem. Int. Ed. Eng.*, 1966, 5, 601.
38. Van-Etten, R. L.; Clowes, G. A.; Sebastian, J. F.; Bender, M. L. *J. Am. Chem. Soc.*, 1967, 89, 3253.
39. Tee, O.; Mazza, C.; Du, X. *J. Org. Chem.*, 1990, 55, 3603.
40. Breslow, R.; Czarniecki, F. *J. Am. Chem. Soc.*, 1978, 100, 7771.
41. Trainor, G. L.; Breslow, R. *J. Am. Chem. Soc.*, 1981, 103, 154.
42. Breslow, R.; Trainor, G. L.; Ueno, A. *J. Am. Chem. Soc.*, 1983, 105, 2739.
43. Matsui, Y.; Nishioka, T.; Fujita, T. *Top. Curr. Chem.*, 1985, 128, 61.
44. D'Souza, V. T.; Bender, M. L. *Acc. Chem. Res.*, 1987, 20, 146.
45. Hennrich, N.; Cramer, F. *J. Am. Chem. Soc.*, 1967, 87, 1121.
46. Komiyama, M. *Carbohydr. Res.*, 1989, 192, 97.
47. Hengee, A. C.; Cleland, W. W. *J. Org. Chem.*, 1991, 56, 1972.
48. Dabis, J. M.; Cameron, D. R.; Kubanek, J. M.; Mizubayi, L.; Thatcher, R. J. *Tetrahedron Lett.*, 1991, 32, 2205.
49. Takahashi, K.; Hattori, K.; Toda, F. *Tetrahedron Lett.*, 1984, 25, 3331.

50. Fujita, K.; Ishizu, T.; Oshiro, K.; Obe, K. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1989**, *62*, 2960.
51. Boger, Y.; Corcoran, R. J.; Lehn, J. M. *Helv. Chim. Acta*, **1978**, *61*, 2190.
52. Müller, B. W.; Brauns, U. *Pharm. Res.*, **1985**, 309.
53. Rao, C. T.; Lindberg, B.; Lindberg, J.; Pitha, J. *J. Org. Chem.*, **1991**, *56*, 1327.
54. Kano, K.; Yoshiyasu, K.; Hashimoto, S. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1989**, *17*, 1278.
55. Canicelli, J.; Jullien, L.; Lacombe, L.; Lehn, J. M. *Helv. Chim. Acta*, **1992**, *75*, 791.
56. Gravett, D. M.; Guillet, J. E. *J. Am. Chem. Soc.*, **1993**, *115*, 5970.
57. Ueno, A.; Kuwabara, T.; Nakamura, A.; Toda, F. *Nature*, **1992**, *356*, 136.
58. Hamasaki, K.; Ikeda, H.; Nakamura, A.; Ueno, A.; Toda, F.; Suzuki, I.; Osa, T. *J. Am. Chem. Soc.*, **1993**, *115*, 5035.
59. Harada, A.; Li, J.; Kamachi, M. *Nature*, **1993**, *364*, 516.
60. Rojas, M. T.; Königer, R.; Stoddart, J. F.; Kaifer, A. E. *J. Am. Chem. Soc.*, **1995**, *117*, 336.
61. Kuroda, Y.; Kobayashi, O.; Suzuki, Y.; Ogoshi, H. *Tetrahedron Lett.*, **1989**, *30*, 7225.
62. Szurmai, Z.; Liptak, A.; Szejtli, J. *Starch/Stärke*, **1990**, *42*, 447.
63. Parrot-López, H.; Ling, C. C.; Zhang, P.; Baszkin, A.; Albrecht, G.; Rango, C. D.; Coleman, A. W. *J. Am. Chem. Soc.*, **1992**, *114*, 5479.

64. Takeo, K.; Uemura, K.; Mitoli, H. *J. Carbohydr. Chem.*, **1988**, *7*, 293.
65. Kamitori, S.; Hirotsu, K.; Higuchi, T.; Fujita, K.; Yamamura, H.; Imoto, T.; Tabushi, I. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, **1987**, *7*.
66. Defaye, J.; Gadelle, A.; Gullier, A.; Darcy, R.; O'Sullivan, T. *Carbohydr. Res.*, **1989**, *192*, 251.
67. Petter, R. C.; Salek, J. S.; Sikorski, C. T.; Kumaravel, G.; Lin, F. T. *J. Am. Chem. Soc.*, **1990**, *112*, 3860.
68. Gadelle, A.; Defaye, J. *Angew. Chem. Int. Ed. Eng.*, **1991**, *30*, 78.
69. Eliseev, A. V.; Schneider, H. J. *Angew. Chem. Int. Ed. Eng.*, **1993**, *32*, 1331.
70. Eliseev, A. V.; Schneider, H. J. *J. Am. Chem. Soc.*, **1994**, *116*, 6081.
71. Yatsimirski, A. K.; Eliseev, A. V. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, **1991**, 1769.
72. Schneider, H. J.; Theis, I. *Angew. Chem. Int. Ed. Eng.*, **1989**, *28*, 753.
73. Eliseev, A. V.; Yatsimirski, A. K. *J. Org. Chem.*, **1994**, *59*, 264.
74. Gelb, R. I.; Schwartz, L. M. *J. Inc. Phen. and Molec. Recog. in Chem.*, **1989**, *7*, 465.
75. Aversa, A.; Etter, W.; Gelb, R. I.; Schwartz, L. M. *J. Inc. Phen. and Molec. Recog. in Chem.*, **1990**, *9*, 277.
76. Gelb, R. I.; Schwartz, L. M.; Radeos, M.; Laufer, D. A. *J. Phys. Chem.*, **1983**, *87*, 3349.
77. Taraszewska, J.; Wojcik, J. *Supramol. Chem.*, **1993**, *2*, 337.

78. Eftink, M. R.; Harrison, J. C. *Bioorg. Chem.*, **1981**, *10*, 388.
79. Valiyaveetil, S.; Engbersen, J. E.; Verboom, W.; Reinhoudt, D. N. *Angew. Chem. Int. Ed. Eng.*, **1993**, *32*, 900.
80. Mody, J. D.; Ford, A. D.; Lynch, V.; Sessler, J. L. *Angew. Chem. Int. Ed. Eng.*, **1992**, *31*, 452.
81. Kaifer, A. E. "Notes of the Course on Supramolecular Physical Chemistry", University of Miami, Coral Gables, FL., **1993**.
82. Alonso, M.; Finn, E. J. "Física", V. 2, Addison-Wesley, Washington-Delaware, **1987**.
83. Lide, R. L. "Handbook of Chemistry and Physics", 71st ed., C. R. C. press, Boca Raton, **1990**.
84. Bockris, J. O' M.; Reddy, A. K. N. "Modern Electrochemistry", V. 1, Plenum press, New York, **1977**.
85. March, J. "Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms and Structures", 3rd ed., John Wiley & Sons, New York, **1985**.
86. Creighton, T. E. "Proteins: Structures and Molecular Principles", Freeman, New York, **1993**.
87. Lehninger, A. L.; Nelson, D. L.; Cox, M. M. "Principles of Biochemistry", Worth publishers, New York, **1993**.
88. Atkins, P. W. "Physical Chemistry", 5th ed., Freeman, New York, **1994**.
89. Castellan, G. W. "Physical Chemistry", 3rd ed., Benjamin Cummings, California, **1983**.
90. Tanford, C. "The Hydrophobic Effect", Wiley Interscience, New York, **1973**.

91. Sinanoglu, O.; Abdalnur, S. *Fed. Proc.*, Supl. 15, **1965**, 24, 5.
92. Sinanoglu, O. "Molecular association in Biology" Pulman, B. Editor, Academic press, New York, **1968**.
93. Eftink, M. R.; Harrison, J. C. *Biopol.*, **1982**, 21, 1153.
94. Frank, H. S.; Evans, M. W. *J. Chem. Phys.*, **1945**, 13, 507.
95. Inoue, Y.; Liu, Y.; Tong, H. L.; Shen, B. J.; Jin, D. S. *J. Am. Chem. Soc.*, **1993**, 115, 10637.
96. Chervenak, M. C.; Toone, E. J. *J. Am. Chem. Soc.*, **1994**, 116, 10533.
97. Hunter, C. A.; Saunders, J. K. M. *J. Am. Chem. Soc.*, **1990**, 112, 5525.
98. Hunter, C. A.; Meah, M. N.; Saunders, J. K. M. *J. Am. Chem. Soc.*, **1990**, 112, 5773.
99. Hunter, C. A. *Chem. Soc. Rev.*, **1994**, 101.
100. Godínez, L. A.; Patel, S.; Criss, C. M.; Kaifer, A. E. *J. Phys. Chem.*, **1995**, 99, 17449.
101. Matsue, T.; Evans, D. H.; Osa, T.; Kobayashi, N. *J. Am. Chem. Soc.*, **1985**, 107, 3411.
102. Zhang, L. T.; Godínez, L. A.; Lu, T.; Gokel, G. W.; Kaifer, A. E. *Angew. Chem. Int. Ed. Eng.*, **1995**, 34, 235.
103. Gelb, R. I.; Schwartz, L. M.; Johnson, R. F.; Laufer, D. A. *J. Am. Chem. Soc.*, **1979**, 101, 1869.
104. Aman, E. S.; Serve, D. *J. Colloid and Interface Sci.*, **1990**, 138, 365.
105. Park, J. W.; Song, H. J. *J. Phys. Chem.*, **1989**, 93, 6454.

106. Wilcox, C. S. "Frontiers in Supramolecular Organic Chemistry and Photochemistry", Schneider, H. J. edit., VCH, Weinheim, Germany, 1991.
107. Van Dienst, E.; Snellik, B. H. M.; Piekartz, J. V.; Engbersen, J. F. S.; Reinhoudt, D. N. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1995, 1151.
108. Staufer, D. A.; Barrans, R. E.; Dougherty, D. A. *J. Org. Chem.*, 1990, 55, 2762.
109. Örstan, A.; Ross, J. B. A. *J. Phys. Chem.*, 1987, 91, 2739.
110. Betzel, C.; Saenger, W.; Hingerty, B. E.; Brown, G. M. *J. Am. Chem. Soc.*, 1984, 106, 7545.
111. Kissinger, P. T.; Heinemman, W. R. "Laboratory Techniques in Electroanalytical Chemistry", Marcel Decker, New York, 1984.
112. Derome, A. E. "Modern NMR Techniques for Chemistry Research", Tetrahedron Organic Chemistry series, Vol. 6, Pergamon press, Oxford, 1987.
113. Bard, A. J.; Faulkner, L. R. "Electrochemical methods", Wiley, New York, 1980.
114. Rahima, I. "Switchable Bimodal Cyclodextrin Complexation of Ferrocene Derivatives for Supramolecular Assemblies", Ph. D. Thesis, University of Miami, Coral Gables, FL, 1992.
115. Silverstein, R. M.; Bassler, G. C.; Morrel, T. C. "Spectroscopic Determination of Organic Compounds", 5th ed., Wiley, New York, 1991.
116. Inoue, Y.; Takahashi, Y.; Chujo, R. *Carbohydr. Res.*, 1986, 148, 109.

117. Connors, A. K. "Binding Constants: A Measurement of Complex Stability", Wiley, New York, 1987.
118. Bernardo, A. R.; Stoddart, J. F.; Kaifer, A. E. *J. Am. Chem. Soc.*, 1992, 114, 10624.
119. Benesi, H.; Hilderbrand, J. H. *J. Am. Chem. Soc.*, 1947, 71, 2703.
120. Godínez, L. A.; Schulze-Fehn, B.; Evanseck, J. E.; Patel, S.; Criss, C. M.; Kaifer, A. E. *Supramol. Chem.*, 1996, 8, 17.
121. Bisell, R.; Córdova, E.; Kaifer, A. E. *J. Org. Chem.*, 1992, 114, 10624.
122. Miller, S. R.; Gustowski, D. A.; Chen, Z. H.; Gokel, G. W.; Echegoyen, L.; Kaifer, A. E. *Anal. Chem.*, 1988, 60, 2021.
123. Kaifer, A. E. "Notes of the Course on Electrochemistry", University of Miami, FL, 1994.
124. Galus, Z. "Fundamentals of Electrochemical analysis", Ellis Horwood, London, 1976.
125. Huggins, C. M.; Pimentel, G. C.; Shoolery, J. N. *J. Chem. Phys.*, 1955, 23, 1244.
126. Córdova, E. "From Rotaxanes to Molecular Shuttles: Novel Rotaxanes Based on the Inclusion Complexation of Phenyl and Biphenyl Guests by Cylobis-paraquat-*p*-phenylene. An Experimental and Theoretical Study", Ph. D. Thesis, University of Miami, Coral Gables, 1995.
127. Godínez, L. A.; Lin, J.; Muñoz, M.; Coleman, A. W.; Kaifer, A. E. *Electroanalysis*, 1996, 8, 1072.

128. Dietrich, B.; Hosseini, M. W.; Lehn, J. M.; Sessions, R. B. *J. Am. Chem. Soc.*, **1981**, *103*, 1282.
129. Peter, F.; Gross, M.; Hosseini, M. W.; Lehn, J. M. *J. Electroanal. Chem.*, **1983**, *144*, 279.
130. (a) Cotton, F. A.; Wilkinson, G. "Advanced Inorganic Chemistry", 3rd ed., Wiley, New York, **1972**. (b) Ramírez, M. T.; Rojas-Hernández, A.; González, I.; *Talanta*, **1997**, *44*, 31.
131. Martell, A.; Motekaitis, R. "Determination and Use of Stability Constants" VCH publishers, New York, **1992**.
132. Myers, R. I.; Shain, I. *Anal. Chem.*, **1969**, *41*, 980.
133. Medina, J. C.; Goodnow, T. T.; Rojas, M. T.; Atwood, J. L.; Lynn, B. C.; Kaifer, A. E.; Gokel, G. W. *J. Am. Chem. Soc.*, **1992**, *114*, 10583.
134. Kaifer, A. E.; Mendoza, S. "Redox-Switchable Receptors" in *Comprehensive Supramolecular Chemistry*, Vol. 1, Gokel, G. W., Pergamon press, London, **1996**.
135. Muñoz, M., DEA Thesis, Université de Paris, **1992**.
136. Sharpe, A. G. "The Chemistry of Cyano Complexes of the Transition Metals", Academic Press, London, **1976**.
137. Rudolph, M.; Reddy, D. P.; Feldberg, S. W. *Anal. Chem.*, **1994**, *66*, 589A.