



UNIVERSIDADE DA CORUÑA

Máster en Investigación Química y Química Industrial

Liliana Inés Barravecchia Prado

*DESARROLLO DE HÍBRIDOS VIOLÓGENO-
AMINOÁCIDO PARA LA FUNCIONALIZACIÓN NO
COVALENTE DE PÉPTIDOS*

*DEVELOPMENT OF VIOLOGEN-AMINO ACID HYBRIDS
FOR THE NON-COVALENT FUNCTIONALIZATION OF
PEPTIDES*

**Directores: Carlos Peinador Veira y Marcos Daniel
García Romero**

Centro de investigaciones científicas avanzadas (CICA)

Periodo de evaluación: Julio 2019

AGRADECIMIENTOS

A mis tutores Dr. Marcos D. García Romero y Dr. Carlos Peinador Veira, por la gran ayuda y dedicación en la realización de este trabajo y a su grupo de investigación *QUIMOLMAT 5*.

Gracias a Arturo por su gran paciencia y amabilidad a la hora de resolver todas mis dudas en el laboratorio.

Gracias a Iago por ayudarme desde el primer momento y hacer que todo esto fuera mucho más fácil.

A mis compañeros de siempre, Fabio y Antía por la compañía y los buenos momentos, y en especial a Ana, por seguir sumando.

A mis amigos y familia, por su ayuda y cariño.

ABREVIATURAS

δ desplazamiento químico	M molaridad
C grado centígrado	m multiplete
[] concentración	mL mililitro
¹H RMN resonancia magnética de protón	HRMS <i>High Resolution Mass Spectrometry</i>
¹³C RMN resonancia magnética de carbono	HSQC <i>heteronuclear single quantum correlation</i>
1D unidimensional	g gramo
2D bidimensional	HMBC <i>Heteronuclear Multiple Bond Correlation</i>
Å ångström (10^{-10} m)	ESI <i>electrospray ionization</i>
Fmoc <i>Fluorenylmethyloxycarbonyl</i>	T temperatura
Boc <i>tert</i> -Butyloxycarbonyl	t triplete
COSY <i>correlation spectroscopy</i>	s singulete
Hz hercio	RMN resonancia magnética nuclear
J constante de acoplamiento	dd doble doblete
kJ kilojulio	
d doblete	
mmol milimol	
MS espectrometría de masas	
m/z relación de masa carga	
μL microlitro	
ppm partes por millón	

Índice

1.	Introducción.....	1
1.1.	Química supramolecular.....	2
1.2.	Química receptor-sustrato.....	3
1.3.	Química receptor-sustrato entre CB[n]s y viológenos.....	4
1.4.	Viológenos en la química supramolecular. Antecedentes.....	6
2.	Objetivos.....	9
3.	Discusión de resultados.....	10
3.1.	Estrategia sintética.....	10
3.2.	Síntesis del aminoácido 1a.....	11
3.3.	Síntesis del aminoácido 1b.....	15
3.4.	Síntesis del aminoácido 1c.....	18
3.5.	Estudio supramolecular de complejación entre el compuesto 10·3Br y CB[7].	21
4.	Parte experimental.....	23
4.1.	General.....	23
4.2.	Síntesis del compuesto 2·Br.....	24
4.3.	Síntesis del compuesto 3·Br.....	25
4.4.	Síntesis del compuesto 1a·2Br.....	26
4.5.	Síntesis del compuesto 6.....	27
4.6.	Síntesis del compuesto 8·Cl.....	28
4.7.	Síntesis del compuesto 1b ⁺²	29
4.8.	Síntesis del compuesto 9·2Br.....	30
4.9.	Síntesis del compuesto 10·3Br.....	31
4.10.	Síntesis del compuesto 1c ⁺³	32

RESUMEN

Este trabajo de fin de máster se centra en la síntesis de derivados de viológenos con extremos aminoácido, es decir, derivados dialquilados de 4,4-bipiridina, para su posterior utilización en la síntesis en fase sólida de péptidos. Para ello se llevaron a cabo tres estrategias sintéticas distintas.

En primer lugar, se utilizó una estrategia que implica la dialquilación sucesiva de la 4,4'-bipiridina, comprobándose la dificultad que presenta la obtención de dichos compuestos debido a la sensibilidad del grupo protector Fmoc al medio básico. Seguidamente, se efectuó una nueva aproximación, realizándose en primer lugar la reacción de Zincke entre una diamina monoprottegida como Boc y una sal activada de 4,4'-bipiridinio, seguida de una segunda etapa de alquilación del derivado obtenido. Por último, se propuso una nueva estrategia en la que se introduce el grupo ácido protegido como un éster. La caracterización de los compuestos se llevó a cabo por RMN (mono y/o bidimensional) y por espectrometría de masas.

Palabras clave: química supramolecular, autoensamblaje, química receptor-sustrato, viológenos, aminoácidos.

ABSTRACT

This end-of-master work focuses on the synthesis of new amino acids containing a viologen scaffold on their structures, that is, dialkylated 4,4'-bipyridinium derivatives, for their later use in the solid phase synthesis of peptides. With this goal in mind, three different synthetic strategies were carried out.

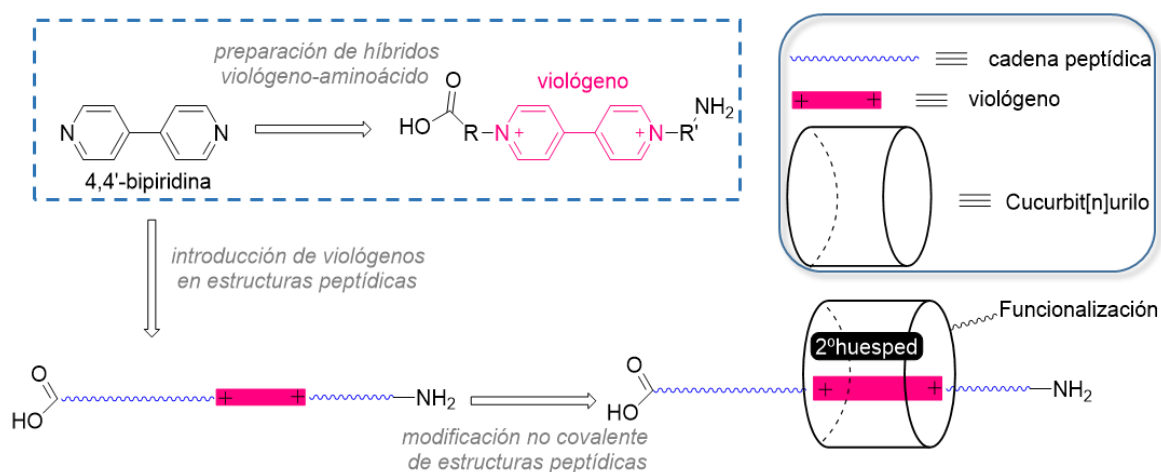
In the first place, a first strategy was employed that implies two successive alkylations on the 4,4'-bipyridine, verifying the difficulty of obtaining this type of compounds due to the sensitivity of the protective group to the basic medium. A new approach was then carried out, using in first place a Zincke reaction between an appropriate diamine monoprotected with Boc group, and an activated 4,4'-bipyridinium salt, followed by a second alkylation step on the obtained derivative. Finally, a new strategy was proposed, in which the protected acid group is introduced as an ester. The characterization of the obtained compounds was carried out by NMR (mono and/or bi-dimensional) and by mass spectrometry, when necessary.

Keywords: supramolecular chemistry, self-assembly, host-guest chemistry, viologens, amino acids.

1. Introducción

Este trabajo de fin de máster aquí presentado se centra dentro del campo de la química supramolecular. En él se recoge la síntesis de híbridos de viológeno-aminoácido como huéspedes moleculares, englobado dentro de un proyecto de investigación del grupo QUIMOLMAT. Dicho proyecto tiene como objetivo la incorporación de estos aminoácidos dentro de estructuras peptídicas, y la modulación de las propiedades de los consiguientes péptidos modificados mediante química receptor-sustrato con el receptor molecular cucurbit[7]urilo (**Esquema 1**).

Teniendo en cuenta lo comentado anteriormente, en la introducción del presente trabajo se recogerán diversos aspectos relacionados con la química supramolecular, y en particular con la química receptor-sustrato entre viológenos y el cucurbit[7]urilo como receptor molecular. Asimismo, se recogerá brevemente los antecedentes en la síntesis de híbridos péptido-viológeno.



Esquema 1: Contextualización del trabajo de fin de máster.

1.1. Química supramolecular

La química supramolecular fue definida por Jean-Marie Lehn, como “la química más allá de la molécula” refiriéndose a “entidades organizadas de gran complejidad que resultan de la asociación de especies químicas unidas mediante diversas fuerzas intermoleculares”.¹ Es decir, es la rama de la química que se encarga del estudio de sistemas constituidos por dos o más unidades, moleculares que se mantienen unidas mediante interacciones débiles. Este tipo de interacciones pueden ser, entre otras, fuerzas de Van der Waals, enlaces de hidrógeno, enlaces de coordinación a centros metálicos, interacciones π - π , interacciones electrostáticas o fuerzas hidrofóbicas.

Este trabajo de fin de máster se centra en el estudio de procesos de reconocimiento molecular. El ejemplo paradigmático de éstos es la formación de los denominados complejos host-guest, donde una molécula de menor tamaño (sustrato o guest) interacciona con un ente de mayor tamaño (receptor o host), dando lugar a un agregado.² El origen de este campo puede remontarse a finales del siglo XIX, cuando se le otorgó el premio Nobel a E. Fischer en 1894 por introducir el concepto “lock and key” en el estudio de las interacciones enzima-sustrato, base conceptual del reconocimiento molecular y la química host-guest. Aún así, el nacimiento formal de esta rama de la química puede centrarse más exactamente a finales de los 60 y principios de los 70, con los diferentes trabajos sobre receptores moleculares de J. Pedersen, J. M. Lehn y D. Cram, ganadores del premio Nobel de química en el año 1987.³ En 1967, Pedersen descubrió las primeras moléculas con capacidad para el reconocimiento molecular, los éteres corona (**Figura 1**) y, en base a este descubrimiento, D. Cram estableció la química host-guest como un nuevo campo de investigación.

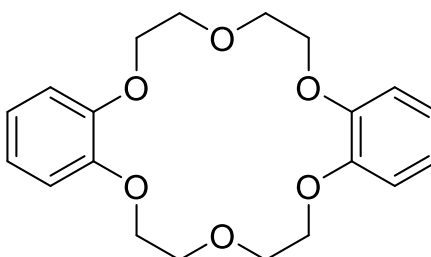


Figura 1: Primer éter corona descubierto por Pedersen.⁴

¹ Lehn, J.-M. *Supramolecular Chemistry*; VCH: Weinheim, **1995**.

² Steed, J. W.; Atwood, J. L. *Supramolecular Chemistry*; Eds. Wiley: Chichester; UK, **2009**.

³ Ariga, K.; Kunitake, T.; *Supramolecular Chemistry- Fundamentals and Application*, s.l.: Springer, **2006**.

⁴ Pedersen, C.J. *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, *89*, 7017.

En la actualidad el campo de la química supramolecular está en pleno desarrollo y cada vez se ha vuelto más complejo, con la incorporación de máquinas moleculares y estructuras autoensambladas.⁵

1.2. Química receptor-sustrato

La química supramolecular es una disciplina de la química que involucra siempre algún tipo de unión no covalente intermolecular. Como se ha comentado, el caso más sencillo de este reconocimiento molecular se corresponde con la formación de agregados receptor-sustrato, y en él se requiere de la introducción de dos factores estructurales íntimamente relacionados: la complementariedad y la preorganización.

En función del tipo de relación que se establece entre sustrato y receptor se pueden distinguir, de forma general, dos tipos de compuestos host-guest: clatratos o cavitandos. Los clatratos son aquellos donde la cavidad es básicamente el espacio situado entre dos o más moléculas de receptor (extramolecular), de forma que solo es relevante en estado sólido. Por otra parte, los cavitandos son aquellos agregados cuyo receptor presenta una cavidad intramolecular, es decir, forma parte de su estructura tanto en estado sólido como en disolución (**Figura 2**).

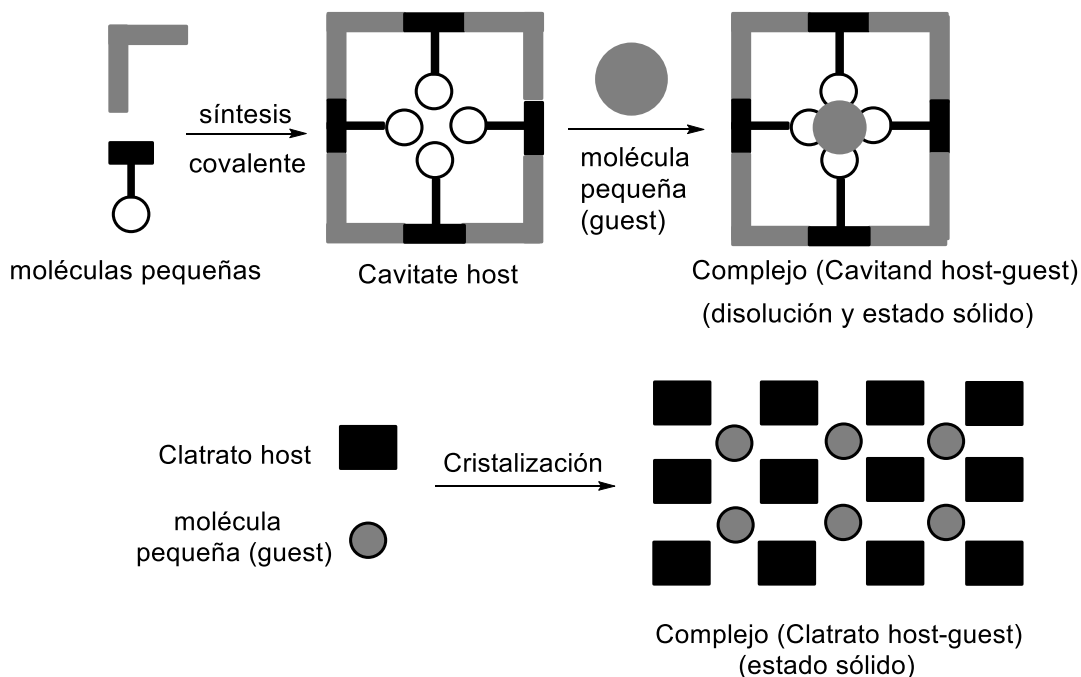


Figura 2: Diferenciación esquemática entre cavitando y clatrato.²

⁵ a) Badjic, J. D.; Ronconi, C. M.; Stoddart J. F.; Balzani, V.; Silvi, S.; Credi, A. *Science*. **2004**, 303, 1845.
b) Chichak, K. S.; Cantrill, S. J.; Pease, A. R.; Chiu, S. H.; Atwood, J. L.; Stoddart, J. F. *Science*. **2004**, 304, 1308.

Existen numerosos tipos de compuestos cuyo diseño les confiere la capacidad de actuar como receptores de sustratos, pudiendo destacar entre ellos moléculas puramente orgánicas como las ciclodextrinas, calixarenos, cucurbiturilos o pilarenos (**Figura 3**).

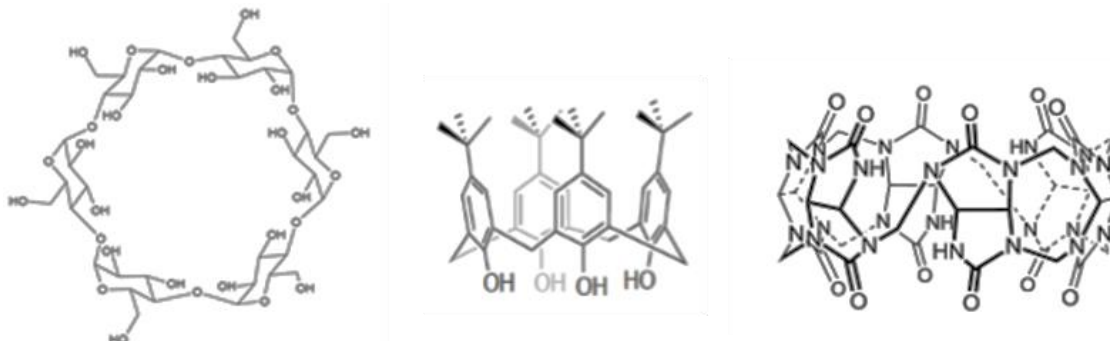


Figura 3: Ejemplos de receptores moleculares, de izquierda a derecha: ciclodextrina, calix[n]areno y cucurbit[n]urilo.

En el contexto del uso prospectivo de los compuestos orgánicos preparados en este trabajo, serán especialmente relevantes los complejos formados entre el cucurbit[7]urilo y las sales derivadas de 4,4'-bipiridinio (viológenos), por lo que su química receptor-sustrato se abordará en el siguiente apartado.

1.3. Química receptor-sustrato entre CB[n]s y viológenos

Los cucurbit[n]urilos se pueden considerar químicamente como oligómeros cíclicos de n unidades de glicolurilo unidos por puentes metileno (**Esquema 2**). El nombre de estas moléculas se debe a su forma y se origina en la palabra latina cucurbitus, que significa calabaza. Los cucurbit[n]urilos se sintetizaron por primera vez en 1905, sin embargo, su estructura era desconocida hasta 1981. Se caracterizan por presentar una cavidad interna hidrofóbica y un exterior más hidrofílico, con varios portales que contienen grupos carbonilo ricos en electrones. Debido a estas características, los CB[n]s son excelentes receptores de una gran cantidad de sustratos orgánicos e inorgánicos.⁶

⁶ a) Barrow, S. J.; Kaseira, S.; Rowland, M. J.; del Barrio, J.; Scherman, O. A. *Chem. Rev.* **2015**, *115*, 12320. b) Svirida, A. D.; Ivanov, D. A.; Kryukov, I. V.; Shandarov, Yu. A.; Petrov, N. Kh.; Alfimov, M. V.; Aleksandrova, N. A.; Sazonov, S. K.; Vedernikov, A. I.; Gromov, S. P. *High Energy Chemistry.* **2019**, *53*, 204.

transferencia de carga entre el viológeno y el sustrato aromático producen una gran estabilización (**Figura 5**).

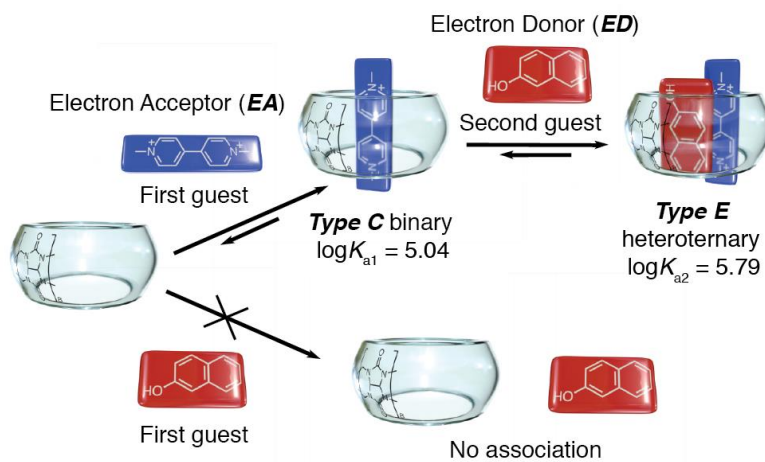
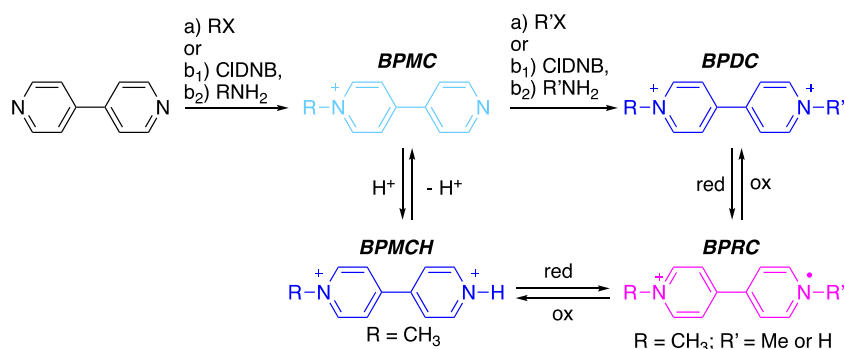


Figura 5: Formación de un complejo de inclusión heteroternario entre el CB[8], un viológeno y un segundo huésped adecuado.⁸

1.4. Viológenos en la química supramolecular. Antecedentes

Los viológenos son compuestos derivados del 4,4-bipiridinio, concretamente compuestos *N,N'*-disustituídos, tal y como se muestra en la Figura 4. Todos ellos se caracterizan por poseer en su estructura anillos piridínicos π -deficientes con dos nitrógenos alquilados.⁹



Esquema 3: Estructura, síntesis y comportamiento red-ox de los viológenos.

Los viológenos han atraído mucha atención en los últimos tiempos debido a su química redox y sus propiedades electrónicas como moléculas aromáticas π -deficientes. Así, estos compuestos pueden experimentar una reducción reversible de un electrón para producir un catión radical, y dos electrones para formar un quinoide neutro. (**Esquema 3**). Debido a este hecho, los viológenos y derivados se han

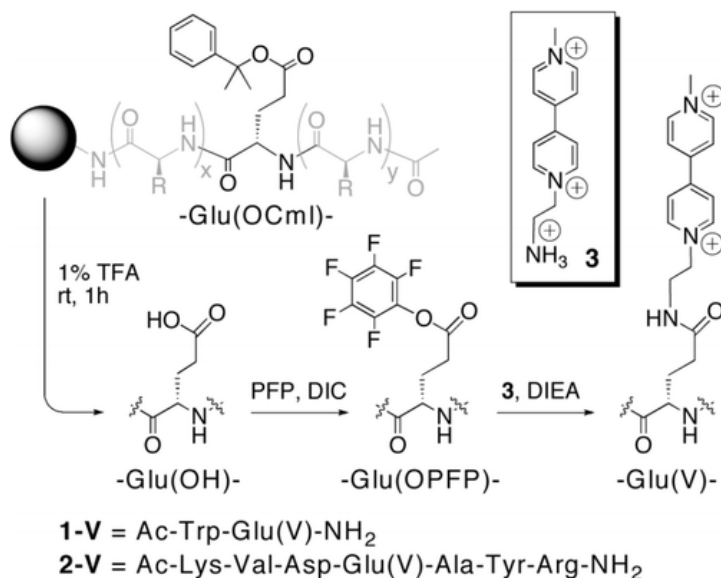
⁸ Pazos, E.; Novo, P.; Peinador, C.; Kaifer, A. E.; García, M. D. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2019**, *58*, 403.

⁹ Orimoto, Y.; Ishimoto, K.; Aoki, Y. *Journal of Physical Chemistry.* **2018**, *122*, 4546.

empleado extensamente como materiales electrocómicos, al cambiar de color como resultado de la oxidación o reducción cuando se aplica un potencial apropiado.

En cuanto a la síntesis, los métodos de preparación de los viológenos son bastante simples, y se pueden lograr diversas modificaciones. Las propiedades de los viológenos se pueden ajustar fácilmente integrándolas con otros materiales funcionales a través de enlaces covalentes o de coordinación.

El acoplamiento de los derivados de viológenos a péptidos, mediante de síntesis en fase sólida, ha sido reportada en la bibliografía con anterioridad, si bien esta metodología está únicamente enfocada a la introducción de la sal orgánica en un grupo lateral de un resto de ácido glutámico (**Esquema 4**).¹⁰ Así, según lo mostrado en el esquema, podemos distinguir cinco pasos para la síntesis de este tipo de conjugados péptido-viológeno: 1) síntesis de la secuencia peptídica deseada e introducción de un residuo de ácido glutámico protegido como un éster, en cada sitio deseado para el grupo viológeno y acetilación de la amina *N*-terminal; 2) desprotección selectiva del éster en disolución ácida, mientras aún está en la resina; 3) activación del ácido carboxílico al éster de pentafluorofenilo; 4) acoplamiento de un aminoalquil-viológeno a los residuos de ácido glutámico activados y 5) división del conjugado del soporte sólido y purificación por HPLC.¹¹



Esquema 4: Estrategia sintética para la introducción de viológenos en estructuras peptídicas a través de la modificación de la cadena lateral de un ácido glutámico.

¹⁰ Jain, V.; Khiterer, M.; Montazami, R.; Yochum, H. M.; Shea, K. J.; Heflin, J. R. *ACS App. Mat. Interf.* **2009**, *83*.

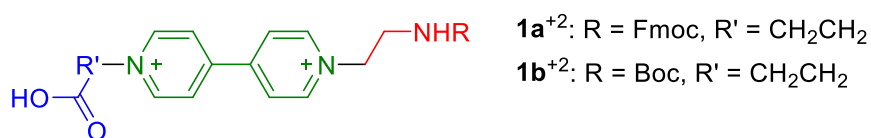
¹¹ Reczek, J. J.; Rebolini, E.; Urbach, A. R. *J. Org. Chem.* **2010**, *75*, 2111.

Por todo lo planteado en esta introducción, se hace muy deseable el establecimiento de nuevas metodologías sintéticas que permitan flexibilizar la síntesis de conjugados viológeno-péptido mediante fase sólida, a través de la preparación de derivados de aminoácido portadores del esqueleto de 4,4'-bipiridinio.

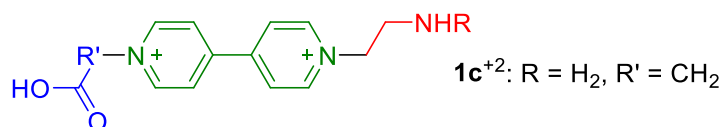
2. Objetivos

Según lo expuesto en la introducción, este trabajo fin de máster se centra en la química de reconocimiento molecular, concretamente en la utilización de nuevos derivados de viológeno como sustratos, en combinación con cucurbit[*n*]urilo como receptores moleculares. Esto constituye una estrategia muy interesante para la preparación de interruptores supramoleculares, sistemas químicos dependientes de estímulos donde las propiedades redox del viológeno permiten el control reversible de la agregación de múltiples bloques de construcción. En este contexto, y dentro de un proyecto más extenso enfocado a la modificación supramolecular de la agregación peptídica, en el presente trabajo fin de máster se proponen como objetivos:

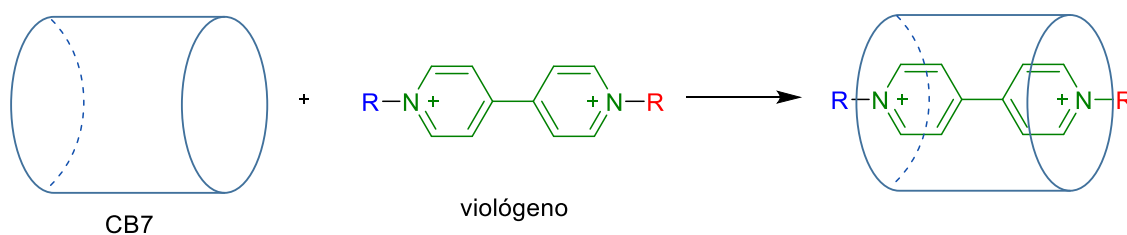
1. Síntesis mediante metodologías bien establecidas de un híbrido viológeno-aminoácido protegido en el grupo amino **1a-b**.



2. Síntesis mediante dialquilación sucesiva de un híbrido viológeno-aminoácido desprotegido **1c**.



3. Estudio supramolecular de complejación entre cucurbit[*n*]urilos e híbridos viológeno-aminoácido mediante RMN-¹H.



3. Discusión de resultados

3.1. Estrategia sintética

En este apartado se describirá el diseño, la síntesis y la posterior caracterización de nuevos aminoácidos basados en estructuras de tipo viológeno (*N,N*-dialquil-4,4'-bipiridina, **Figura 6**).

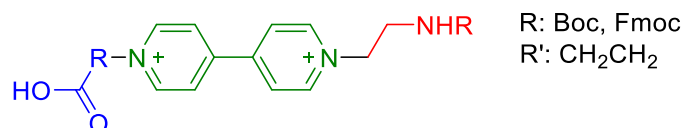
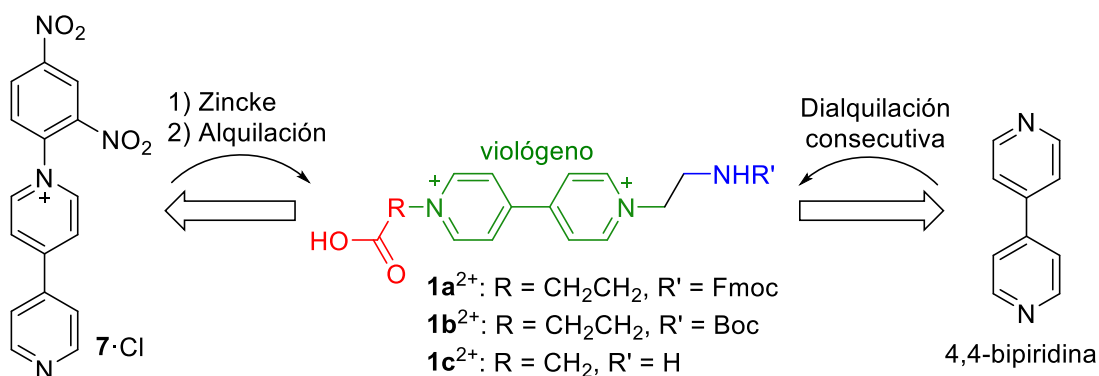


Figura 6: Esqueleto de los aminoácidos objetivo.

La síntesis de derivados asimétricos de viológeno, de acuerdo con lo descrito en la bibliografía y lo mostrado en el **Esquema 4**,¹² puede llevarse a cabo de acuerdo con dos estrategias distintas: a) realización de dos alquilaciones sucesivas sobre la 4,4'-bipiridina y, b) reacción de Zincke,¹³ entre una amina y una sal activada de 4,4'-bipiridinio, seguida de una segunda alquilación del derivado obtenido.



Esquema 4: Esquema retrosintético conducente a los aminoácidos objetivo 1a-c.

¹² Domarco, O.; Neira, I.; Rama, T.; Blanco-Gómez, A.; García, M. D.; Peinador, C.; Quintela, J. M.; *Org. Biomol. Chem.*, **2017**, 15, 3594.

¹³ Zincke, Th. *Justus Liebigs. Ann. Chem.* **1903**, 330, 361.

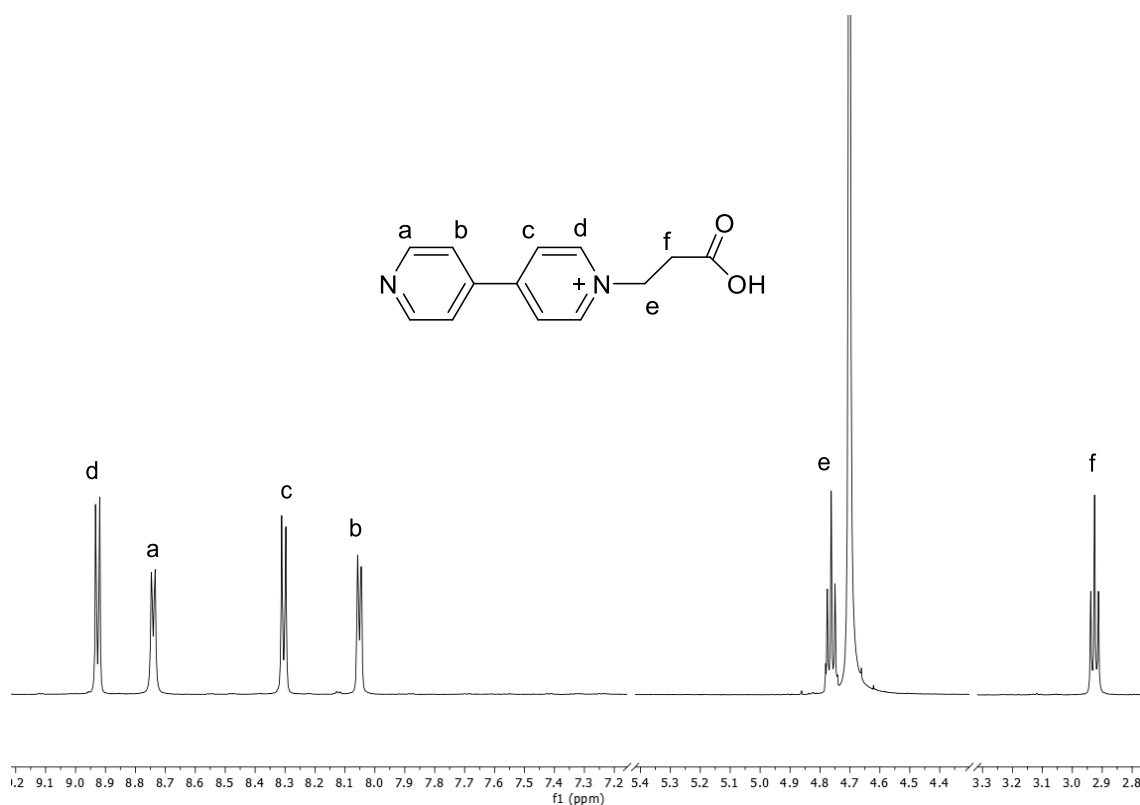
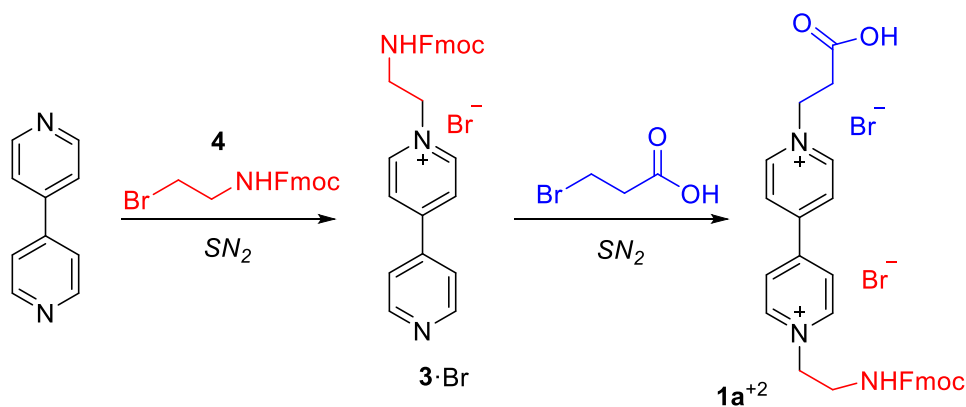


Figura 7: Espectro parcial de RMN- ^1H (D_2O , 500 MHz) del compuesto 2-Br.

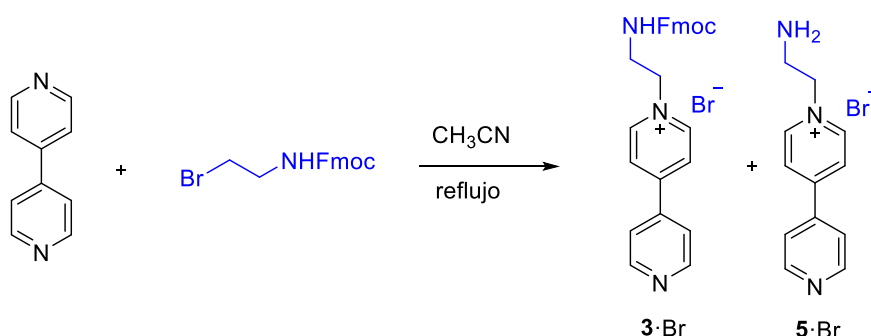
A continuación, siguiendo con la ruta sintética planteada, y tal y como se muestra en **Esquema 5** se procede a llevar a cabo la segunda etapa de alquilación. Para ello se hace reaccionar el ácido carboxílico 2-Br con el compuesto 4 ((9H-fluoren-9-il)metil (2-bromoetil)carbamato). Desafortunadamente, esta segunda etapa no condujo al compuesto objetivo, esto es debido a que el compuesto 2-Br probablemente esté protonado, en el nitrógeno, lo que hace que la sustitución nucleófila no tenga lugar. Esta etapa se llevó a cabo en distintas condiciones y en ninguna de las ocasiones se obtuvo el compuesto deseado. Por ello, se llevó a cabo una nueva ruta sintética en la que la primera etapa consistirá en obtener el derivado monoalquilado portador del grupo amino (3-Br), tal y como se muestra en el **Esquema 6**.



Esquema 6: Segunda ruta sintética para la obtención del aminoácido 1a^{+2} .

La síntesis del derivado monoalquilado **3·Br** se lleva a cabo de forma similar. Así, calentando a ebullición en acetonitrilo se obtiene el compuesto **3·Br** como un sólido marrón con un rendimiento del 10 %. El mecanismo por el cual tiene lugar implica un ataque nucleófilo por parte de la 4,4'-bipiridina y el compuesto **4**, ambos compuestos comerciales. En la reacción se obtiene también la amina desprotegida **5·Br** con un rendimiento del 25 %.

El grupo Fmoc es un grupo protector de aminas que es sensible a medio básico, por lo tanto, al hacer reaccionar el compuesto **4** con la bipiridina, ésta actúa como una base, desprotegiéndose la amina, tal y como se muestra en el **Esquema 7**.



Esquema 7: Obtención del compuesto **3·Br**.

Tras su purificación mediante cromatografía en columna, el compuesto **3·Br** se caracteriza por RMN de ¹H, ¹³C y bidimensionales (COSY, HSQC, HMBC).

Der este modo, en el espectro de RMN-¹H (**Figura 8**), se observan 12 señales, cuatro dobletes que pertenecen a los protones aromáticos de la bipiridina y que aparecen en el intervalo 7.5-9.0 ppm, donde la señal con el mayor desplazamiento se corresponde con los dos protones equivalentes en posición α al nitrógeno cargado. Por otra parte, la señal con el menor desplazamiento se corresponde con los protones equivalentes en la posición β al nitrógeno. Se observan tres tripletes y un doblete que pertenecen a los grupos metileno, y cuatro dobletes que pertenecen a los protones aromáticos de grupo protector.

En el caso del compuesto **5·Br**, se observa que únicamente aparecen cuatro dobletes que pertenecen a los protones aromáticos de la bipiridina, y dos tripletes correspondientes a los grupos metileno, lo que no indica que la amina no se encuentra protegida con el grupo Fmoc.

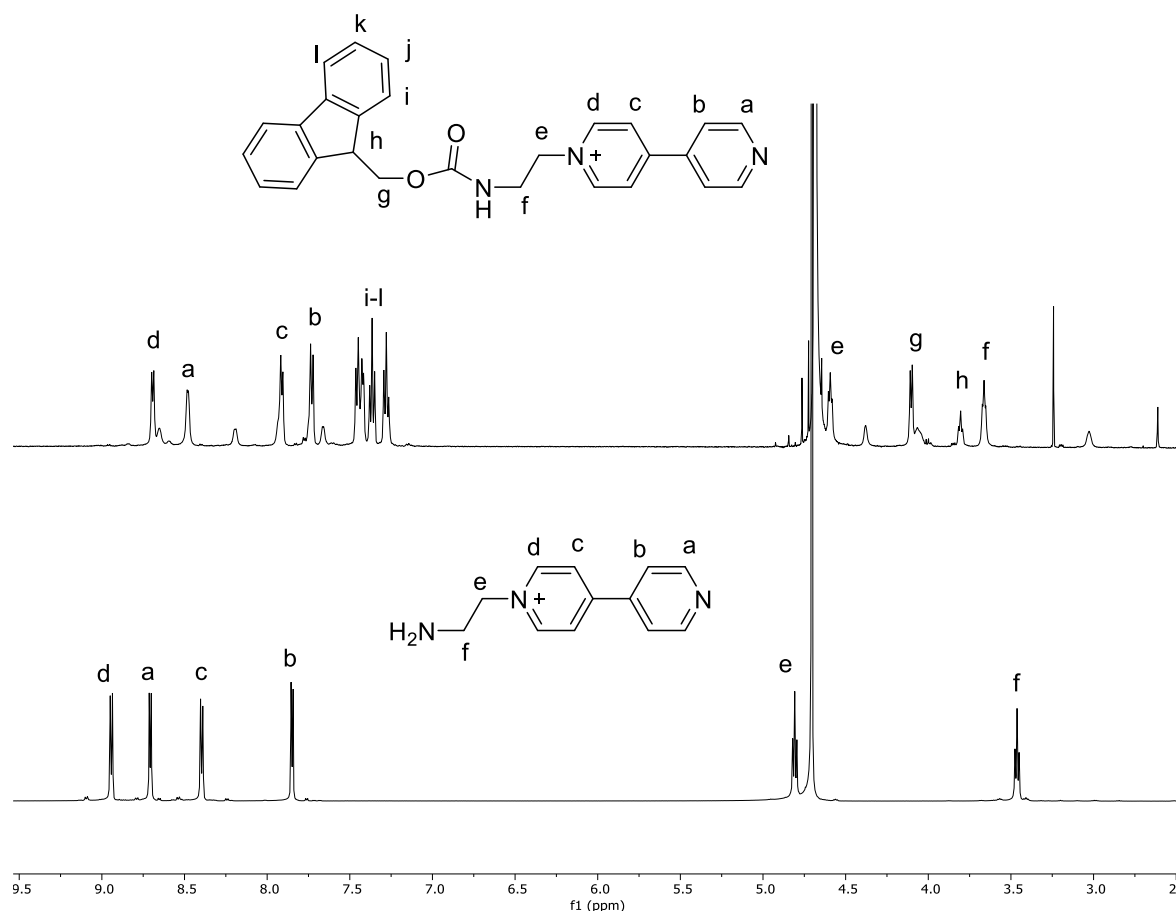


Figura 8: Espectro parciales solapados de RMN- ^1H (D_2O , 500 MHz) de (a) 3-Br y (b) 5-Br.

A continuación, siguiendo con la ruta sintética planteada, y tal y como se muestra en el **Esquema 6** se lleva a cabo la segunda etapa de alquilación. Para ello se hace reaccionar el compuesto **3-Br** con el ácido 4-bromopropanoico. Se obtiene el compuesto deseado (**1a²⁺**) con un rendimiento muy bajo del 15%.

El compuesto es caracterizado por RMN de ^1H (**Figura 9**) y espectrometría de masas. Así, en el espectro obtenido se observan 14 señales, con cuatro dobletes pertenecientes a los protones aromáticos de la 4,4'-bipiridina, tal y como se comentó anteriormente. Por otra parte, aparecen ocho tripletes, que se corresponden a los cuatro grupos metileno y a cuatro protones aromáticos del grupo protector. Por último, aparecen dos dobletes que pertenecen a los protones aromáticos restantes del grupo protector. Además, se realizó un experimento COSY para asignar con más detalle las señales. Por otro lado, el análisis mediante HR-ESI-MS del compuesto, muestra el pico correspondiente a la pérdida del anión PF_6^- [$\text{C}_{30}\text{H}_{29}\text{N}_3\text{O}_4\text{F}_6\text{P}$] $^+$ a 640.1794 (calculado: 640.1800), lo que confirma la obtención del aminoácido deseado.

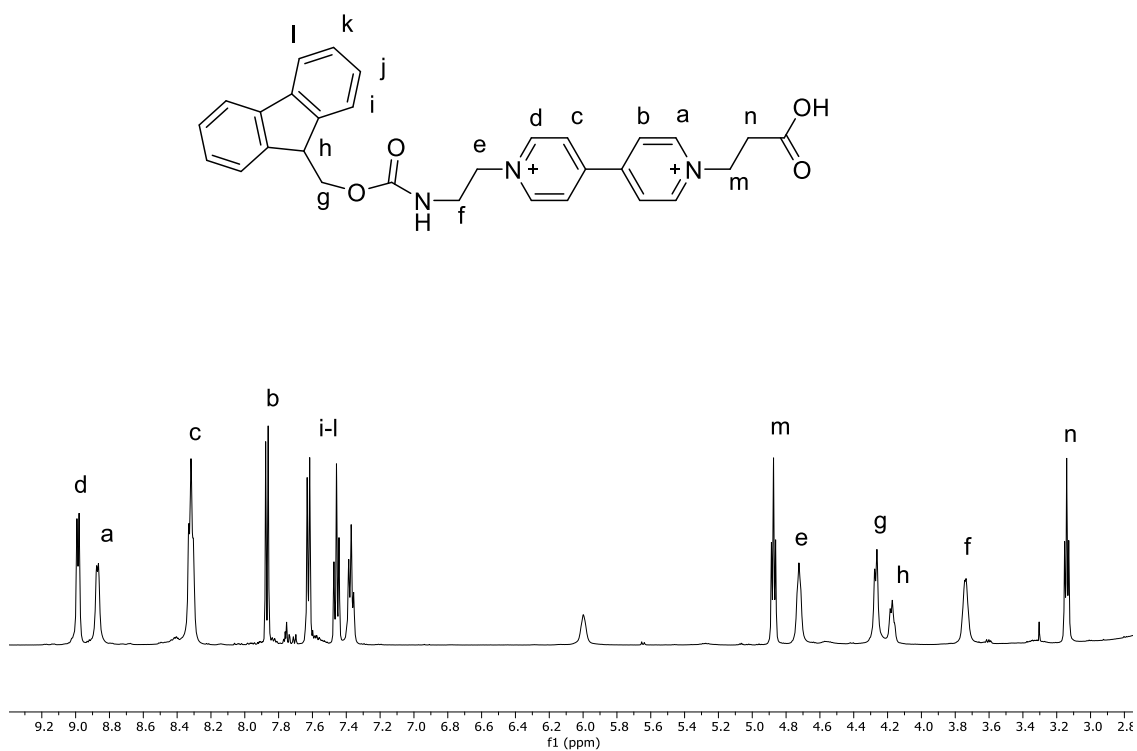
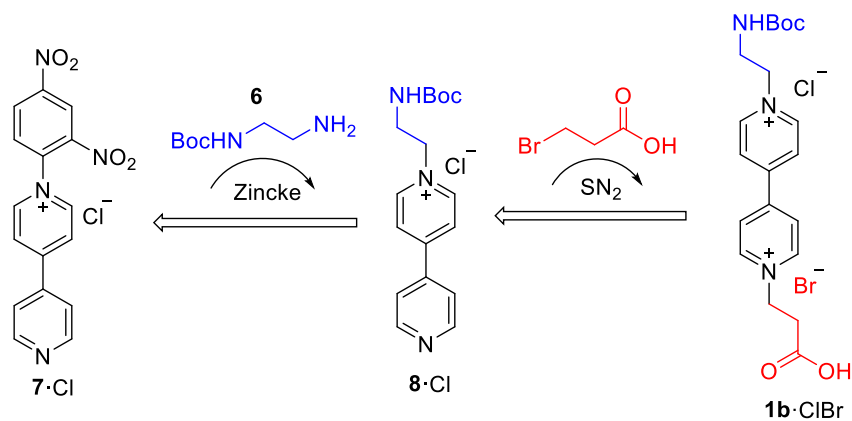


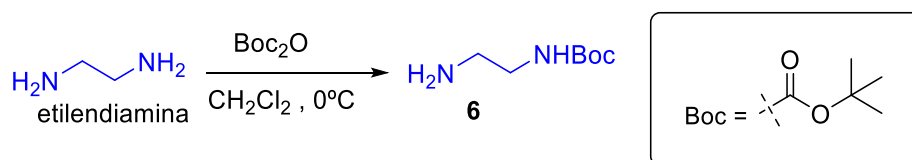
Figura 9: Espectro parcial de RMN-¹H (CD_3CN , 500 MHz) del compuesto **1a**⁺².

3.3. Síntesis del aminoácido **1b**



Esquema 8: Ruta sintética para el ligando **1b-ClBr**.

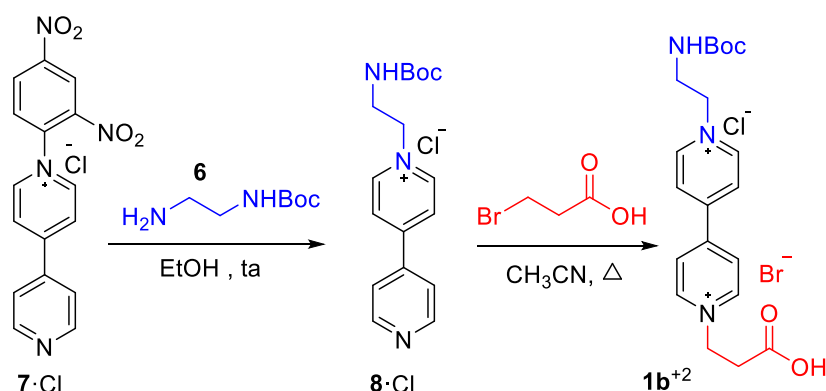
Según lo mostrado en el **Esquema 8**, la primera etapa para la obtención del aminoácido **1b**⁺² consiste en la protección de uno de los grupos amino de la etilendiamina, a continuación, la etapa clave de la síntesis, la reacción de Zincke¹³, entre el compuesto **6** y la sal de bipyridina. Por último, tiene lugar una sustitución nucleófila entre el compuesto **8-Cl** y el ácido 3-bromopropanoico.



Esquema 9: Síntesis del compuesto 6.

Tal y como se muestra en el **Esquema 9**, en la primera etapa, se procedió a la monoprotección de la etilendiamina como carbamato de *tert*-butilo (Boc), según las condiciones establecidas en la bibliografía.¹⁴ De esta forma, se hace reaccionar la etilendiamina con el dicarbonato de di-*tert*-butilo en diclorometano a 0 °C, obteniéndose el compuesto deseado **6** como un sólido blanco con un rendimiento del 70%. El compuesto se caracteriza por RMN ¹H, mostrando datos espectroscópicos coincidentes con los descritos en la bibliografía.¹⁴

A continuación, se lleva a cabo una de las etapas clave para la síntesis del ligando **1b⁺²** (**Esquema 10**), la reacción de Zincke que tendrá lugar entre el grupo de la amina libre del compuesto **6** como nucleófilo, y el derivado activado de 4,4'-bipiridina **7-Cl** como electrófilo. Esta reacción permite la síntesis de sales de *N*-alquil/arilpiridinio de manera eficiente que no pueden ser preparadas mediante la alquilación directa de la 4,4'-bipiridina. El mecanismo de la reacción de Zincke implica un ataque nucleófilo por parte de una amina primaria (etilendiamina) sobre la sal de bipiridina que tras una transferencia de protones produce la apertura del anillo de piridina. Seguidamente, tras un equilibrio ácido-base, se produce un segundo ataque nucleófilo de la amina primaria que desplaza el grupo dinitrobenceno, originándose como subproducto principal la 2,4-dinitroanilina.



Esquema 10: Síntesis propuesta para la obtención del aminoácido **1b⁺²**.

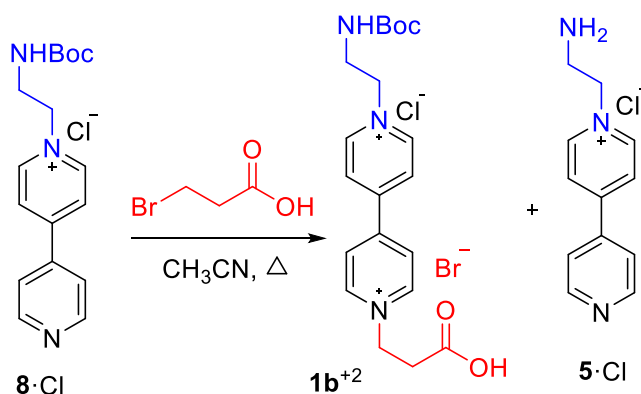
¹⁴ Wu, G.; Zeng, F.; Yu, C.; Wu, S.; Li, W. *J. Mater. Chem. B*. **2014**, 2, 8528.

La reacción de Zincke transcurre de manera satisfactoria, obteniéndose el compuesto **8**-Cl con un rendimiento del 70 %. El producto obtenido se caracteriza por RMN de ^1H , ^{13}C y bidimensionales (COSY, HSQC, HMBC).

En el espectro de RMN de ^1H se observan 7 señales, cuatro dobletes que corresponden a protones aromáticos en el intervalo 6.5-8.5 ppm, con la señal con el mayor desplazamiento perteneciendo a los protones equivalentes en posición α al nitrógeno con carga positiva. Las otras tres señales características son: dos tripletes de los grupos metileno, apareciendo a campo más bajo el más próximo al nitrógeno, y un singulete que pertenece al grupo *tert*-butilo.

Por último, tendrá lugar la sustitución nucleófila entre el compuesto **8**-Cl y el ácido 3-bromopropoico, la cual es llevada a cabo en CH_3CN a reflujo. Desafortunadamente, esta reacción no tiene lugar, debido a que se produce la desprotección de la amina.

El grupo Boc es un grupo protector de aminas sensible a medio ácido, por lo tanto, al hacer reaccionar el compuesto **8**-Cl con el ácido carbox, la amina se desprotege, obteniéndose el compuesto **5**-Cl, tal y como se muestra en el **Esquema 11**.



Esquema 11: Desprotección de la amina del compuesto **8**-Cl.

Ambos compuestos se caracterizaron por RMN de ^1H y espectrometría de masas.

En el espectro de ^1H -RMN del compuesto **5**-Cl los tripletes pertenecientes a los grupos metileno que se veían en el espectro del compuesto precursor (**8**-Cl) aparecen más desapantallados (**Figura 10**). Por otra parte el singulete correspondiente al grupo *tert*-butilo ya no aparece, lo que nos confirma la desprotección de la amina.

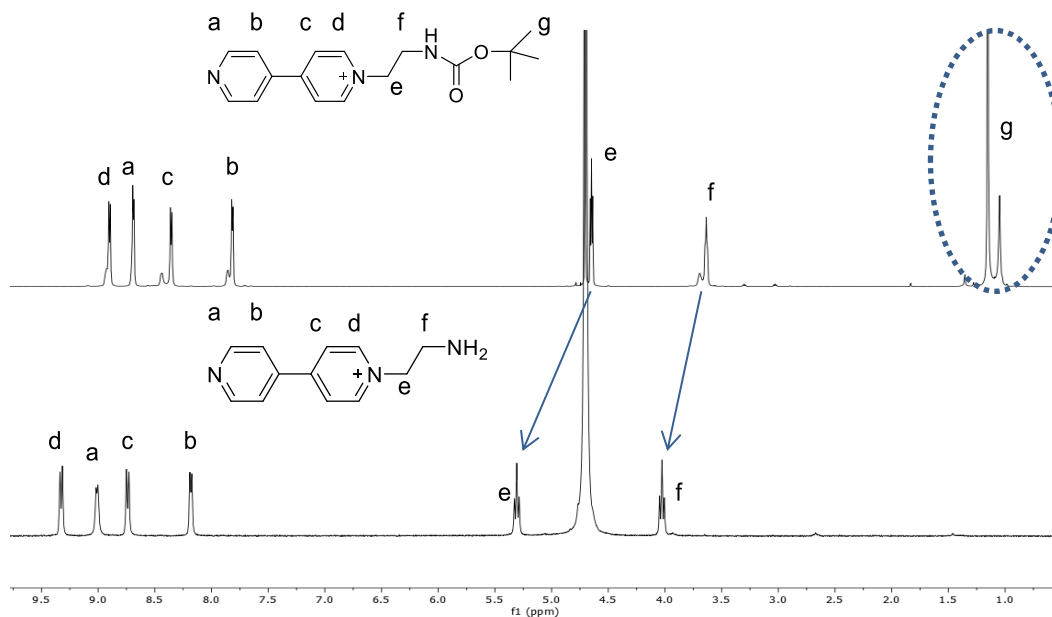
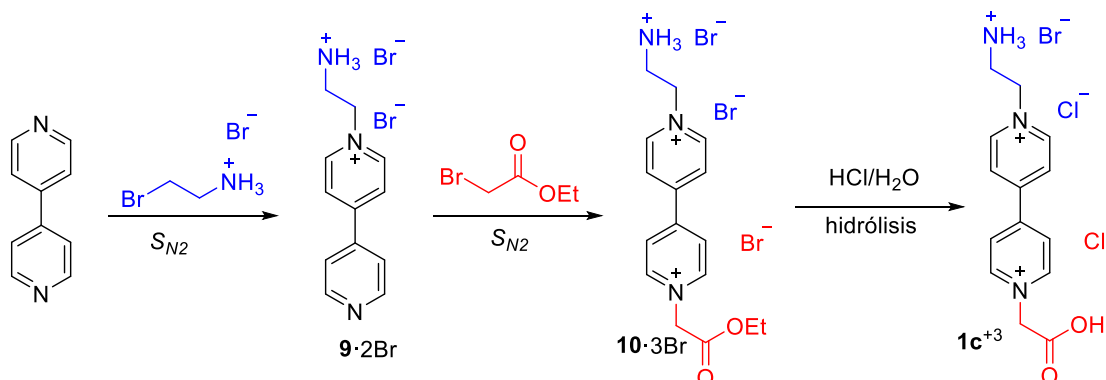


Figura 10: Espectros parciales solapados de RMN-¹H de (a) compuesto 8-Cl y (b) compuesto 5-Cl.

3.4. Síntesis del aminoácido 1c

Debido a los problemas asociados al grupo ácido del agente alquilante en la anterior aproximación, se planteó una nueva ruta sintética en la que se introduce dicho grupo protegido como un éster. Para ello, la primera etapa para la obtención del aminoácido **1c**⁺² consiste en una alquilación, tal y como se muestra en el **Esquema 12**, para obtener el derivado monoalquilado portador del grupo amino (**9·Br**) esta vez desprotegido. La segunda etapa consiste en una nueva alquilación, introduciéndose el éster (**10·2Br**). Por último se lleva a cabo la hidrólisis para así obtener el aminoácido deseado.



Esquema 12: Estrategia sintética para la obtención del aminoácido **1c**⁺².

Para llevar a cabo la primera etapa se hace reaccionar la 4,4'-bipiridina con el bromuro de bromoetilamonio. Así, calentando la mezcla en acetonitrilo se obtiene el compuesto **9·Br** con 85 % de rendimiento. Se caracteriza por RMN de ^1H , ^{13}C y bidimensionales (COSY, HSQC, HMBC).

Así, en el espectro RMN de ^1H se observan 6 señales: 4 dobletes que pertenecen a los protones aromáticos y 2 tripletes correspondientes a los grupos metileno, y en el espectro de RMN- C^{13} se observan 8 señales en buen acuerdo con lo esperado. Además, el análisis mediante HR-ESI-MS del compuesto muestra el pico correspondiente al ion molecular a $m/z = 200.1190$, confirmando la obtención del compuesto **9·Br**.

A continuación, se realiza la segunda alquilación haciendo reaccionar el compuesto **9·Br** con el bromoacetato de etilo en DMF. El compuesto deseado (**10·3Br**) precipita en el medio de reacción con un 45 % de rendimiento. Por último se lleva a cabo la hidrólisis, en una mezcla de $\text{H}_2\text{O}/\text{HCl}$ (1:1). El aminoácido deseado **1c⁺³** se obtiene con un rendimiento del 90 %. La caracterización de ambos compuestos se realiza de la misma forma que para el compuesto **9·Br**.

En el espectro de RMN de ^1H para el compuesto **10·3Br** (**Figura 11**) se observan 9 señales. Cuatro dobletes pertenecientes a los protones aromáticos de la bipiridina. Tres tripletes, dos que corresponden a los grupos metileno y otro correspondiente al metilo del grupo éster. Por último, un singulete perteneciente al grupo metileno y un cuadruplete perteneciente a otro grupo metileno, ambos de la cadena del grupo éster.

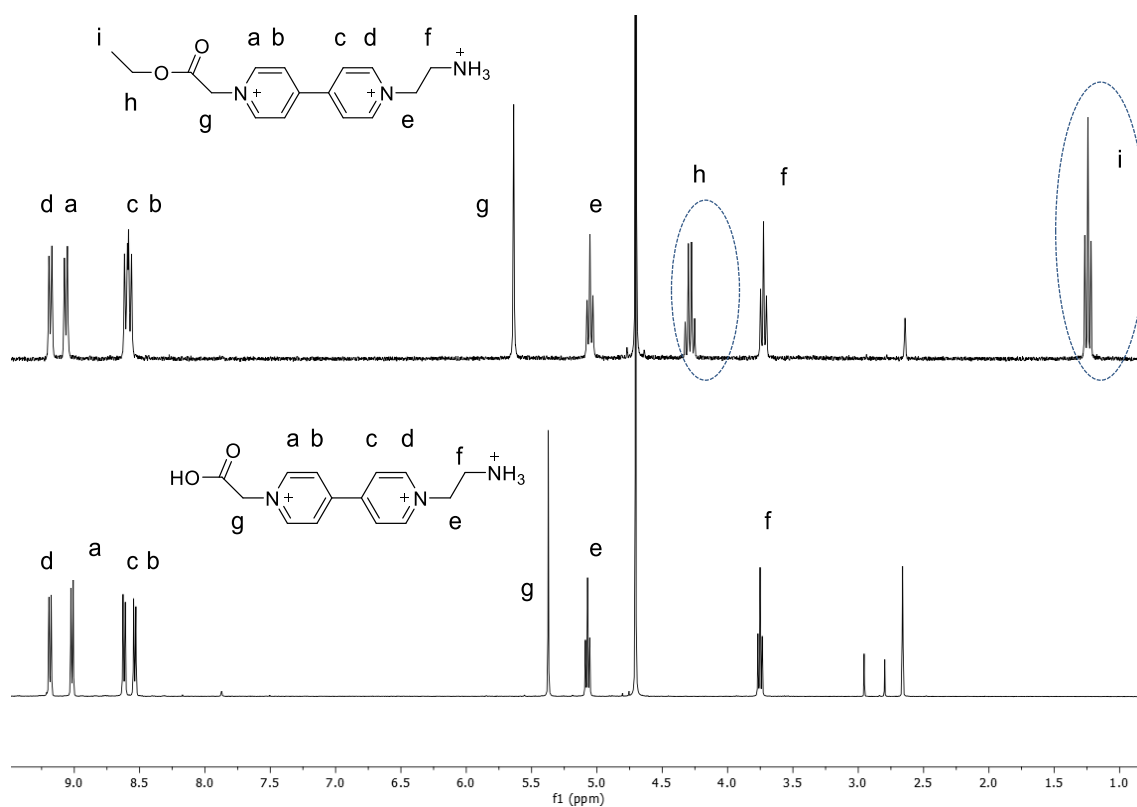


Figura 11: Espectros parciales solapados de RMN- ^1H de (a) compuesto 10-3Br y (b) compuesto 1c.

3.5. Estudio supramolecular de complejación entre el compuesto 10-3Br y CB[7].

Como se ha comentado en la introducción, el uso de cucurbit[n]uril como receptor molecular es una estrategia útil para la creación de sistemas químicos dinámicos, debido a su capacidad para formar complejos homo y heteroternarios en medios acuosos con sustratos adecuados que puedan utilizarse como interruptores moleculares. Con el fin de introducir estos interruptores moleculares en el interior de los péptidos, se lleva a cabo un estudio por RMN de ^1H de la unión entre el cucurbit[7]urilo y el compuesto 10-3Br (**Figura 12**).

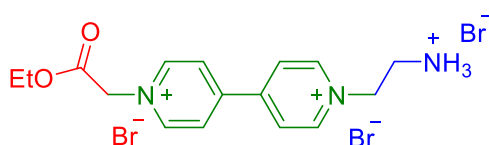


Figura 12: Compuesto 10-3Br.

Para ello, se realizan dos experimentos, en el primero se adicionan 0,5 equivalentes de CB[7] y en el segundo se adiciona 1 equivalente de CB[7]. De cada uno de los experimentos se realiza el RMN de ^1H en D_2O (300 MHz).

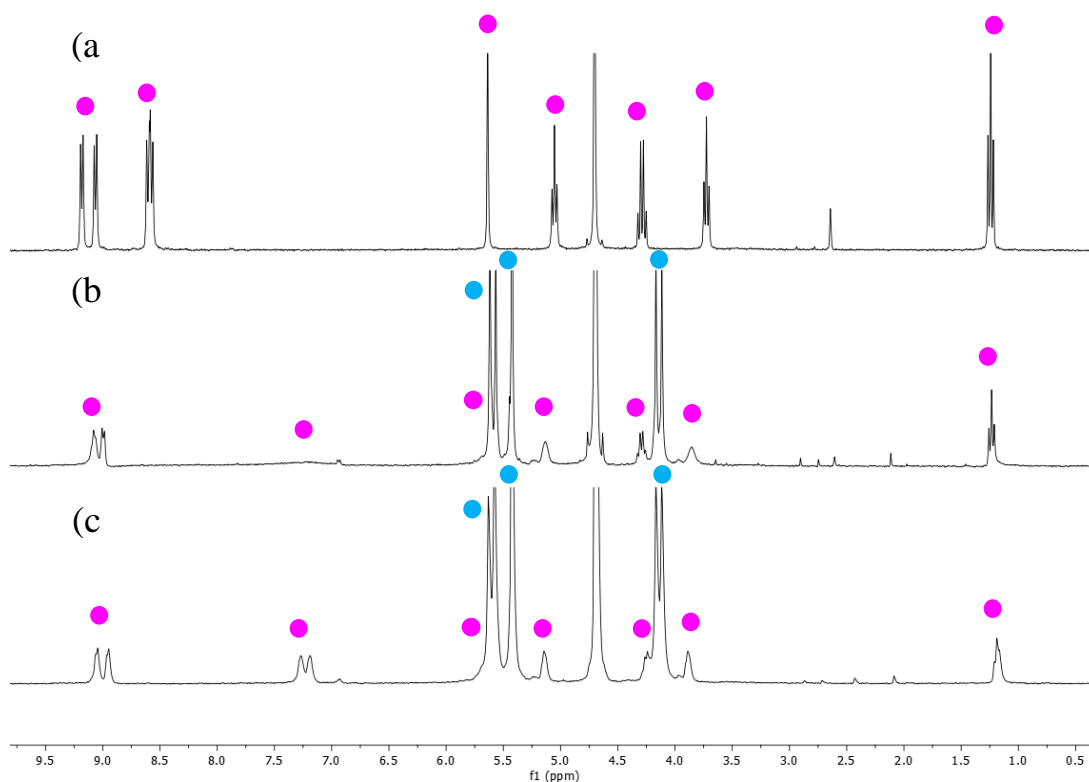


Figura 13: Espectros parciales RMN- ^1H (D_2O , 300 MHz): (a) 10-2Br (b) 10-2Br + 0.5 equiv CB[7] (c) 10-2Br + 1 equiv CB[7].

Tal y como se muestra en la **Figura 13** se observa que las señales pertenecientes a los protones aromáticos en posiciones β a los nitrógenos alquilados se apantallan, mientras que las señales correspondientes a los protones de los extremos ácido y amino permanecen inalterados. Esto nos indica la formación de un complejo 1:1 donde el cucurbit[7]urilo se encuentra situado en la parte central del viológeno, como se muestra en la **Figura 14**.

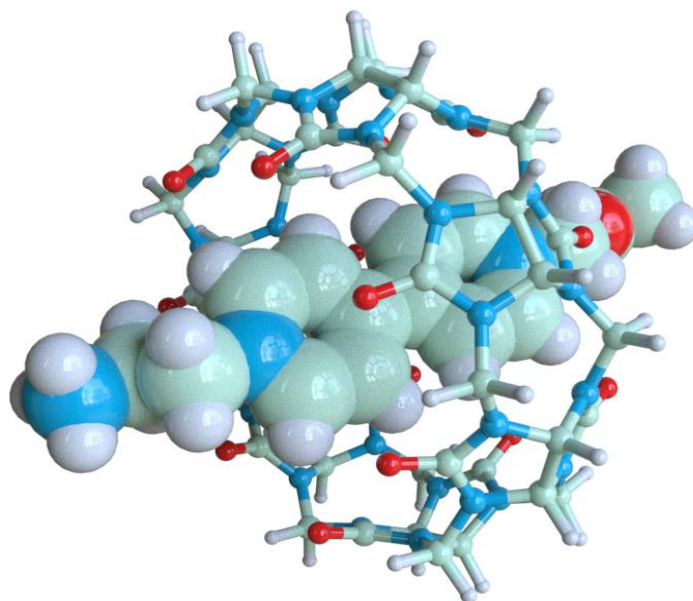


Figura 14: Representación del complejo de inclusión CB[7]:10-3Br.

4. Parte experimental

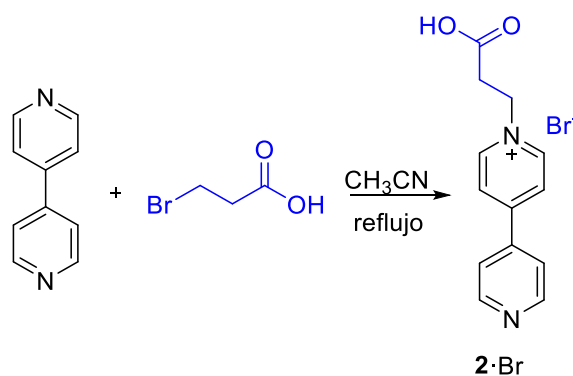
4.1. General

Se han utilizado reactivos comerciales sin ninguna purificación adicional. El agua empleada, de calidad mili-Q, fue obtenida mediante un aparato Millipore Gradient A1.

El seguimiento de las reacciones de síntesis se ha realizado mediante cromatografía en capa fina, haciendo uso de cromatofolios de gel de sílice Merck 60 F254 y radiación ultravioleta (254 y 360 nm) como revelador. En la cromatografía en columna a presión se empleó gel de sílice Merck 60(230-400 mesh).

La caracterización mediante RMN se realizó con los espectrómetros Bruker Avance 500 (500 MHz para ^1H y 125 MHz para ^{13}C con criosonda dual para ^1H y ^{13}C en experimentos de alta sensibilidad y sonda inversa BBI en experimentos a baja temperatura), y Bruker Avance 300 (300 MHz para ^1H y 75 MHz para ^{13}C). Para la preparación de las muestras a analizar, se han empleado agua deuterada (D_2O) y cloroformo deuterado (CDCl_3) y se utilizó como referencia la señal del disolvente protonado residual. Los análisis por EM se realizaron en el SAI (Servicios de Apoyo á Investigación) de la Universidade da Coruña, empleando el espectrómetro LC-Q-q-TOF Applied Biosystems QSTAR Elite para ES de alta y baja resolución.

4.2. Síntesis del compuesto 2·Br



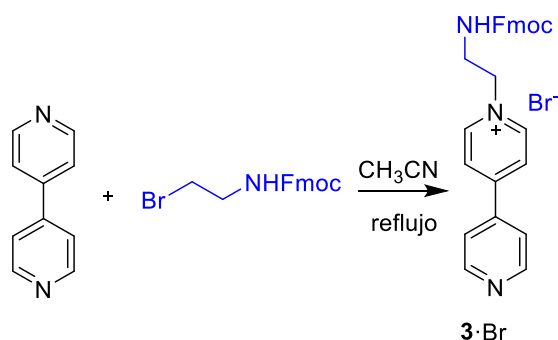
Se disuelve la 4,4-bipiridina (398 mg, 2.54 mmol) en 30 mL de CH₃CN, y sobre esta disolución se añade el ácido 3-bromopropanoico (209 mg, 1.37 mmol). Se calienta la mezcla durante 24 horas. Una vez finalizada la reacción se filtra a vacío, lavando el sólido con acetonitrilo. Se obtiene el compuesto **2·Br** como un sólido amarillo (383 mg, rendimiento = 90%), que se empleó para la siguiente reacción sin mayor purificación.

RMN-¹H (D₂O, 500 Hz, 25°C), δ (ppm): 8.98 (d, J = 6.4 Hz, 2H), 8.81 (d, J = 6.4 Hz, 2H), 8.35 (d, J = 6.4 Hz, 2H), 8.16 (d, J = 6.4 Hz, 2H), 4.82 (t, J = 6.4 Hz, 2H), 3.01 (t, J = 6.4 Hz, 2H).

RMN-¹³C (D₂O, 125 MHz, 25°C), δ (ppm): 174.07 (C), 151.48 (CH), 146.89 (CH), 144.85 (C), 125.62 (C), 124.06 (CH), 123.82 (CH), 56.90 (CH₂), 35.01 (CH₂).

HR-ESI-MS (m/z) calculado para [C₁₃H₁₃N₂O₂]⁺ 229.0971; encontrado 229.0975.

4.3. Síntesis del compuesto 3-Br

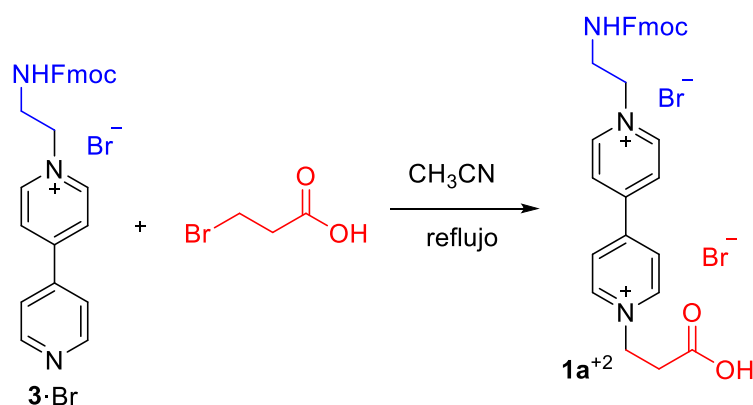


Se disuelve la 4,4-bipiridina (67.6 mg, 0.43 mmol) en 20 mL de CH₃CN, y sobre esta disolución se añade el carbamato de fluorenilmetil *N*-(2-bromoetilo) (100 mg, 0.28 mmol). Se calienta la mezcla durante 72 horas. La reacción se sigue por cromatografía en capa fina (Eluyente: mezcla 12:3:3 CH₃CN/MeOH/NaCl(0.6 M)) Una vez transcurrida la reacción se añade AcOEt provocando la precipitación de un sólido. Éste se filtra a vacío, lavándolo con AcOEt varias veces. La purificación del sólido obtenido, tras concentrar a sequedad, se llevó a cabo por cromatografía en columna empleando la mezcla 12:3:3 CH₃CN/MeOH/NaCl(0.6 M) como eluyente. Las fracciones que contienen el producto se concentran a presión reducida, obteniéndose el compuesto compuesto **3-Br** como un sólido marrón (64.4 mg, rendimiento = 10%).

RMN-¹H (CD₃CN, 500 Hz, 25°C), δ (ppm): 8.69 (d, J = 6.4 Hz, 2H), 8.48 (d, J = 5.5 Hz, 2H), 7.91 (d, J = 6.4 Hz, 2H), 7.73 (d, J = 7.5 Hz, 2H), 7.44 (m, 2H), 7.36 (t, J = 7.5 Hz, 2H), 7.28 (t, J = 7.5 Hz, 2H), 4.59 (t, J = 5.5 Hz, 2H), 4.10 (d, J = 6.4 Hz, 2H), 3.80 (t, J = 6.4 Hz, 1 H), 3.66 (t, J = 5.5 Hz, 2H).

HR-ESI-MS (m/z) calculado para [C₂₃H₂₄N₃O₂]⁺ 422.1863; encontrado 422.1889.

4.4. Síntesis del compuesto 1a-2Br

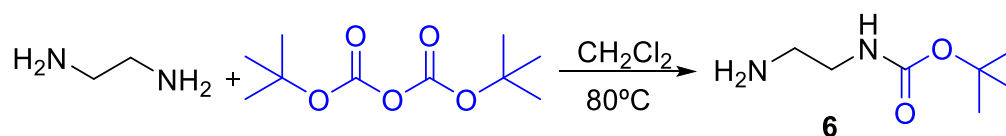


Se disuelve el compuesto **3-Br** (64.4 mg, 0.128 mmol) en 15 mL de CH₃CN, y sobre esta disolución se añade el ácido 3-bromopropánico (29.2 mg, 0.192 mmol). Se calienta la mezcla durante 48 horas. La reacción se sigue por cromatografía en capa fina (eluyente: mezcla 12:3:3 CH₃CN/MeOH/NaCl(0.6 M)). Una vez transcurrida la reacción se filtra a vacío, lavando el sólido con acetonitrilo y éter varias veces. Se obtiene el compuesto **1c-2Br** como un sólido naranja (15.8 mg, rendimiento = 15 %).

RMN-¹H (CD₃CN, 500 Hz, 25°C), δ (ppm): 8.98 (d, J = 6.4 Hz, 2H), 8.86 (d, J = 5.5 Hz, 2H), 8.31 (d, J = 6.4 Hz, 4H), 7.87 (d, J = 7.5 Hz, 2H), 7.62 (d, J = 7.5 Hz, 2H), 7.44 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 7.34 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 4.87 (t, J = 6.4 Hz, 2H), 4.72 (t, J = 5.5 Hz, 2H), 4.26 (d, J = 6.4 Hz, 2H), 4.17 (t, J = 6.4 Hz, 1H), 3.73 (t, J = 6.4 Hz, 2H), 3.14 (t, J = 6.4 Hz, 2H).

HR-ESI-MS (m/z) calculado para [C₃₀H₂₉N₃O₄F₆P]⁺ 640.1794; encontrado 640.1790.

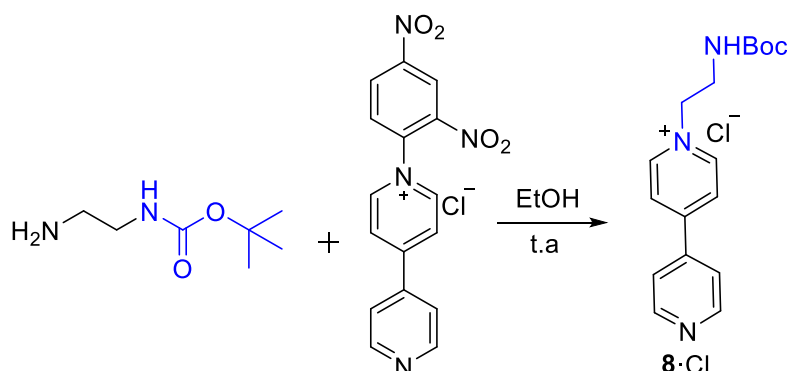
4.5. Síntesis del compuesto 6



La reacción se lleva a cabo según las condiciones establecidas en la bibliografía.¹⁴ Se disuelve la etilendiamina (4.2 mL, 62.45 mmol) en CH₂Cl₂ (50 mL) y se agita en un baño de hielo/NaCl 3:1 durante 15 minutos. A continuación se añade gota a gota una disolución de Boc₂O (1.22 g, 5.60 mmol) en CH₂Cl₂ (30 mL). Tras transcurrir 24 horas de reacción se filtra a vacío, lavando el sólido obtenido con diclorometano. Se evapora el disolvente a presión reducida. El crudo se redisuelve en 20 mL de una disolución de NaHCO₃ saturada. Se extrae con diclorometano (3x20 mL) y se seca la fase orgánica con MgSO₄. Se evapora el disolvente a presión reducida, obteniéndose el compuesto **6** como un precipitado blanco (627.6 mg, rendimiento = 70 %). Datos espectroscópicos coincidentes con los descritos en la bibliografía.¹⁴

RMN-¹H (CDCl₃, 300 Hz, 25°C), δ (ppm): 3.14 (t, J = 6.4 Hz, 2H), 2.77 (t, J = 6.4 Hz, 2H), 1.42 (s, 9H).

4.6. Síntesis del compuesto 8·Cl



Sobre una disolución de cloruro de 1-(2,4-dinitrofenil)-[4,4'-bipiridin]-1-io (899.5 mg, 2.51 mmol) en etanol (5 mL), se añade una disolución del compuesto **6** (603.4 mg, 3.77 mmol), en la mínima cantidad de etanol (5 mL). La mezcla se mantiene en agitación constante a temperatura ambiente durante 15 minutos, dándose por terminada la reacción al observar la desaparición del reactivo limitante mediante cromatografía en capa fina, empleando como eluyente mezcla 12:3:3 de CH₃CN/MeOH/NaCl(0.6 M)).

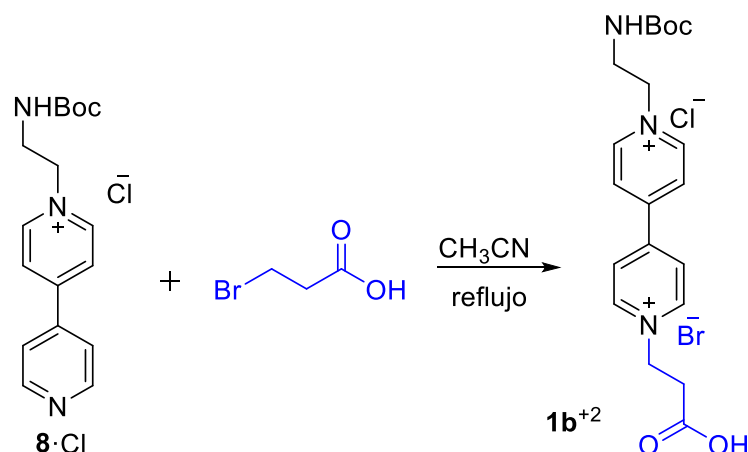
A continuación, el disolvente se evapora a presión reducida y el crudo se redisuelve en la mínima cantidad de agua, lavándose la fase acuosa con AcOEt (3 x 10 mL). La purificación del sólido obtenido, tras concentrar la fase acuosa a sequedad, se llevó a cabo por cromatografía en columna empleando una mezcla 12:3:3 CH₃CN/MeOH/NaCl(0.6 M)) como eluyente. Las fracciones que contienen el producto se concentran a presión reducida, obteniéndose el compuesto **8·Cl** como un aceite marrón (570 mg, rendimiento = 68 %)

RMN-¹H (D₂O, 300 MHz, 25°C), δ (ppm): 8.93 (d, J = 6.4 Hz, 2H), 8.74 (d, J = 5.5 Hz, 2H), 8.39 (d, J = 6.4 Hz, 2H), 7.86 (d, J = 5.5 Hz, 2H), 4.69 (t, J = 5.3 Hz, 2H), 3.64 (t, J = 5.3 Hz, 2H) 1.16 (s, 9H).

RMN-¹³C (D₂O, 125 MHz, 25°C), δ (ppm): 157.32 (C), 152.18 (C), 150.08 (CH), 145.39 (CH), 142.02 (C), 126.16 (CH), 122.24 (CH), 81.01 (C), 61.40 (CH₂), 40.42 (CH₂), 27.29 (CH₃).

HR-ESI-MS (m/z) calculado para [C₁₇H₂₂N₃O₂]⁺ 300.1706; encontrado 300.1713.

4.7. Síntesis del compuesto $1b^{+2}$

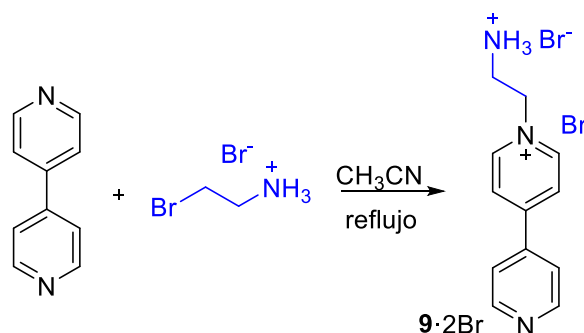


Sobre una disolución de **8-Cl** (157.9 mg, 0.47 mmol) en CH_3CN (30 mL), se añade ácido 3-bromopropanoico (166 mg, 0.98 mmol). La mezcla se deja a reflujo con agitación durante 24 horas. La reacción se sigue por cromatografía en capa fina empleando como eluyente (mezcla 12:3:3 $\text{CH}_3\text{CN}/\text{MeOH}/\text{NaCl}(0.6 \text{ M})$) hasta la completa desaparición del reactivo limitante. Tras completarse la reacción, el sólido obtenido se filtra a vacío y se lava con acetonitrilo y éter. La purificación del sólido obtenido, tras concentrar a sequedad, se llevó a cabo por cromatografía en columna empleando mezcla 12:3:3 $\text{CH}_3\text{CN}/\text{MeOH}/\text{NaCl}(0.6 \text{ M})$ como eluyente. Las fracciones que contienen el producto se concentran a presión reducida, obteniéndose el compuesto **1b⁺²** como un sólido marrón (96.2 mg, rendimiento = 40 %).

RMN-¹H (D_2O , 500 Hz, 25°C), δ (ppm): 9.11 (d, $J = 6.5 \text{ Hz}$, 2H), 9.06 (d, $J = 6.4 \text{ Hz}$, 2H), 8.49 (d, $J = 6.3 \text{ Hz}$, 2H), 8.46 (d, $J = 6.3 \text{ Hz}$, 2H), 4.89 (t, $J = 6.4 \text{ Hz}$, 2H), 4.72 (t, $J = 5.3 \text{ Hz}$, 2H), 3.68 (t, $J = 5.3 \text{ Hz}$, 2H), 3.02 (t, $J = 6.4 \text{ Hz}$, 2H), 1.19 (s, 9H).

RMN-¹³C (D_2O , 125 MHz, 25°C), δ (ppm): 171.63 (C), 157.31 (C), 150.33 (C), 146.08 (CH), 145.81 (CH), 136.27 (C), 130.29 (CH), 129.13 (CH), 127.15 (C), 126.85 (CH), 81.28 (C), 62.29 (CH_2), 64.27 (CH_2), 40.36 (CH_2), 27.07 (CH_3).

4.8. Síntesis del compuesto 9·2Br



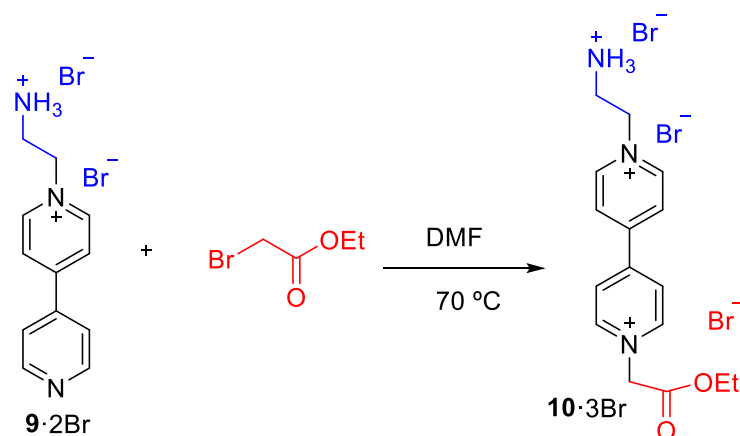
Se disuelve la 4,4-bipiridina (653.1 mg, 4.18 mmol) en 35 mL de CH₃CN, y sobre esta disolución se añade el bromuro de 2-bromoetilamonio (571.2 mg, 2.79 mmol). La mezcla se deja a reflujo con agitación durante 48 horas, siguiendo la reacción por cromatografía en capa fina. Una vez transcurrida la reacción se filtra a vacío, lavando el sólido con acetonitrilo varias veces. Se obtiene el compuesto **9·2Br** como un sólido marrón (923.7 mg, rendimiento = 85%), que se empleó para la siguiente reacción sin mayor purificación.

RMN-¹H (D₂O, 500 Hz, 25°C), δ (ppm): 8.98 (d, J = 6.4 Hz, 2H), 8.70 (d, J = 6.4 Hz, 2H), 8.41 (d, J = 6.4 Hz, 2H), 7.85 (d, J = 6.4 Hz, 2H), 4.95 (t, J = 6.5 Hz, 2H), 3.65 (t, J = 6.5 Hz, 2H).

RMN-¹³C (D₂O, 125 MHz, 25°C), δ (ppm): 155.08 (C), 149.68 (CH), 145.24 (CH), 142.28 (C), 126.65 (CH), 122.45 (CH), 57.51 (CH₂), 38.92 (CH₂).

HR-ESI-MS (m/z) calculado para [C₁₂H₁₄N₃]⁺ 200.1190; encontrado 200.1182.

4.9. Síntesis del compuesto 10·3Br

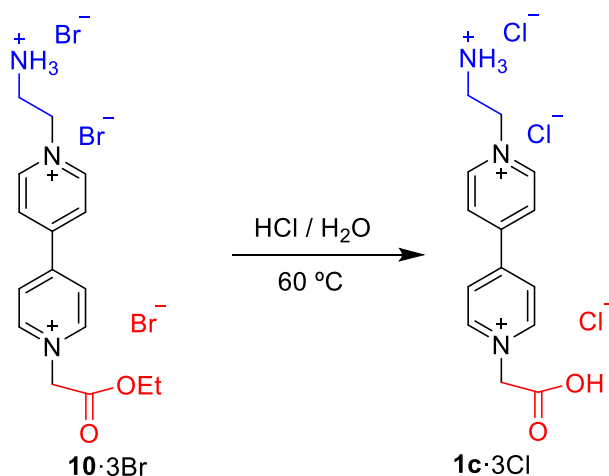


Se disuelve el compuesto **9·2Br** (304.0 mg, 0.84 mmol) en 20 mL de DMF, y se añade sobre esta disolución bromoacetato de etilo (185 μ L, 1.67 mmol). Se calienta a 70 °C con agitación durante 48 horas. El seguimiento de la reacción se lleva a cabo por cromatografía en capa fina. Tras completarse la reacción, se filtra a vacío y se lava el sólido obtenido con éter. Se obtiene el compuesto **10·3Br** como un sólido amarillo (127.0 mg, rendimiento = 45 %). Se empleó para la siguiente reacción sin mayor purificación.

RMN-¹H (D₂O, 500 Hz, 25°C), δ (ppm): 9.19 (d, J = 6.4 Hz, 2H), 9.07 (d, J = 6.4 Hz, 2H), 8.61 (d, J = 6.4 Hz, 2H), 8.58 (d, J = 6.4 Hz, 2H), 5.64 (s, 2H), 5.06 (t, J = 6.4 Hz, 2H), 4.29 (c, J = 7.1 Hz, 2H), 3.73 (t, J = 6.4 Hz, 2H), 1.24 (t, J = 7.1 Hz, 3H).

RMN-¹³C (D₂O, 125 MHz, 25°C), δ (ppm): 166.7 (C), 151.12 (C), 150.95 (C), 146.97 (CH), 145.95 (CH), 127.70 (CH), 126.99 (CH), 64.16 (CH₂), 61.05 (CH₂), 58.10 (CH₂), 38.94 (CH₂), 13.05 (CH₃).

4.10. Síntesis del compuesto $1c^{+3}$



Se disuelve el compuesto **9·3Br** (150.0 mg, 0.29 mmol), en 12 mL de una mezcla HCl/H₂O (1:1) y se deja con agitación calentando a 60 °C durante 5 horas. La reacción se sigue por cromatografía en capa fina. Una vez completada la reacción se concentra a sequedad. Se obtiene el compuesto **1c·3Cl** como un sólido amarillo (50.8 mg, rendimiento = 95 %).

RMN-¹H (D₂O, 500 Hz, 25°C), δ (ppm): 9.18 (d, J = 6.4 Hz, 2H), 9.02 (d, J = 6.4 Hz, 2H), 8.62 (d, J = 6.4 Hz, 2H), 8.54 (d, J = 6.4 Hz, 2H), 5.37 (s, 2H), 5.07 (t, J = 6.6 Hz, 2H), 3.75 (t, J = 6.6 Hz, 2H).

RMN-¹³C (D₂O, 125 MHz, 25°C), δ (ppm): 169.76 (C), 151.45 (CH), 149.99 (CH), 146.62 (CH), 146.13 (CH), 127.50 (CH), 126.52 (CH), 63.15 (CH₂), 58.02 (CH₂), 38.94 (CH₂).

HR-ESI-MS (m/z) calculado para [C₁₄H₁₇N₃O₂]⁺³ 259.1304; encontrado 259.1290.

CONCLUSIONES

1. Se llevó a cabo la síntesis de un derivado *N,N'*-dialquil-4,4'-bipiridinio (viológeno) con grupos ácido y amino protegido en el grupo amino con el grupo protector Fmoc (**1a**), mediante reacciones de alquilación sucesiva sobre 4,4'-bipiridina. A pesar de los problemas asociados a la sensibilidad del grupo protector al medio básico, se obtuvo el aminoácido deseado con un bajo rendimiento.
2. Se llevó a cabo la síntesis de un derivado de viológeno con extremos aminoácido protegido en el grupo amino con el grupo protector Boc (**1b**), mediante una nueva estrategia sintética, consistente en una primera reacción de Zincke entre un derivado monoactivado de 4,4'-bipiridina y una diamina convenientemente monoprottegida. Si bien la primera etapa transcurre satisfactoriamente, la sensibilidad del grupo protector al medio ácido impide la formación del aminoácido deseado en alto rendimiento.
3. La utilización de una estrategia alternativa, consistente en dos alquilaciones sucesivas sobre la 4,4'-bipiridina introduciéndose de esta forma el grupo amino desprotegido y un grupo éster, y una posterior hidrólisis, nos lleva a la formación del aminoácido deseado (**1c**) de manera satisfactoria.
4. Se ha estudiado la potencial utilización de los compuestos preparados como sustratos en química receptor-sustrato, mediante el estudio de la interacción entre cucurbit[7]urilo y el compuesto **10-3Br**. Los resultados de ¹H RMN obtenidos se muestran en buen acuerdo con la formación de un complejo de inclusión 1:1.
5. La caracterización estructural mediante técnicas de RMN mono y bidimensional, así como espectrometría de masas, permitió la asignación estructural de los compuestos obtenidos en este trabajo.

CONCLUSIONS

1. In the work presented herein, the synthesis of a new *N,N*-dialkyl-4,4'-bipyridinium derivative (viologen), owning acid and amino groups on both ends of the heterocycle, protected at the amino group with the protecting group Fmoc (**1a**), by using successive alkylation steps. In spite of the problems associated with the sensitivity of the protective group to the basic medium, the desired amino acid was obtained with a low yield.
2. An alternative strategy was intended, consisting on a Zincke reaction as the first step with an *N*-activated 4,4'-bipyridine derivative and an appropriately monoprotected diamine, an strategy that opened the door for the introduction of the acid moiety on the viologen through a second alkylation step. Whilst the first alkylation occurs without problems, the sensitivity of the protective group Boc to the acid medium prevents the formation of the desired amino acid with high yield.
3. An alternative strategy was intended, consisting in two successive alkylations on 4,4'-bipyridine introducing the unprotected amino group and an ester group and a subsequent hydrolysis, leads to the formation of the desired amino acid (**1c**) in a satisfactory way.
4. The potential of the compounds prepared herein as substrates on host:guest chemistry has been analyzed, by studying the interaction between cucurbit[7]uril and compound **10-3Br**. The ¹H NMR obtained is in good agreement with the obtention of a 1:1 inclusion complex.
5. The structural characterization of the compounds obtained throughout this work was successfully achieved, by using NMR techniques as well as mass spectrometry.

Anexo

- Compuesto 2-Br

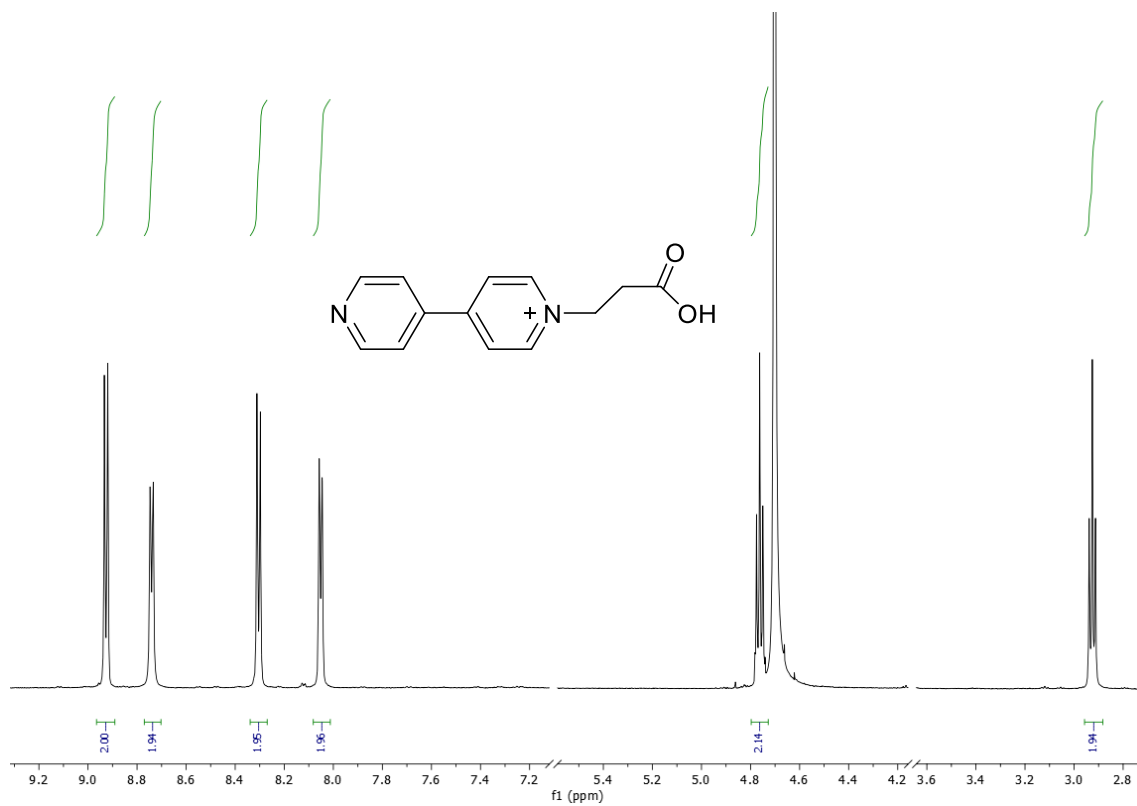


Ilustración 1: Espectro RMN- ^1H (D_2O , 500 Hz, 25°C) del compuesto 2-Br.

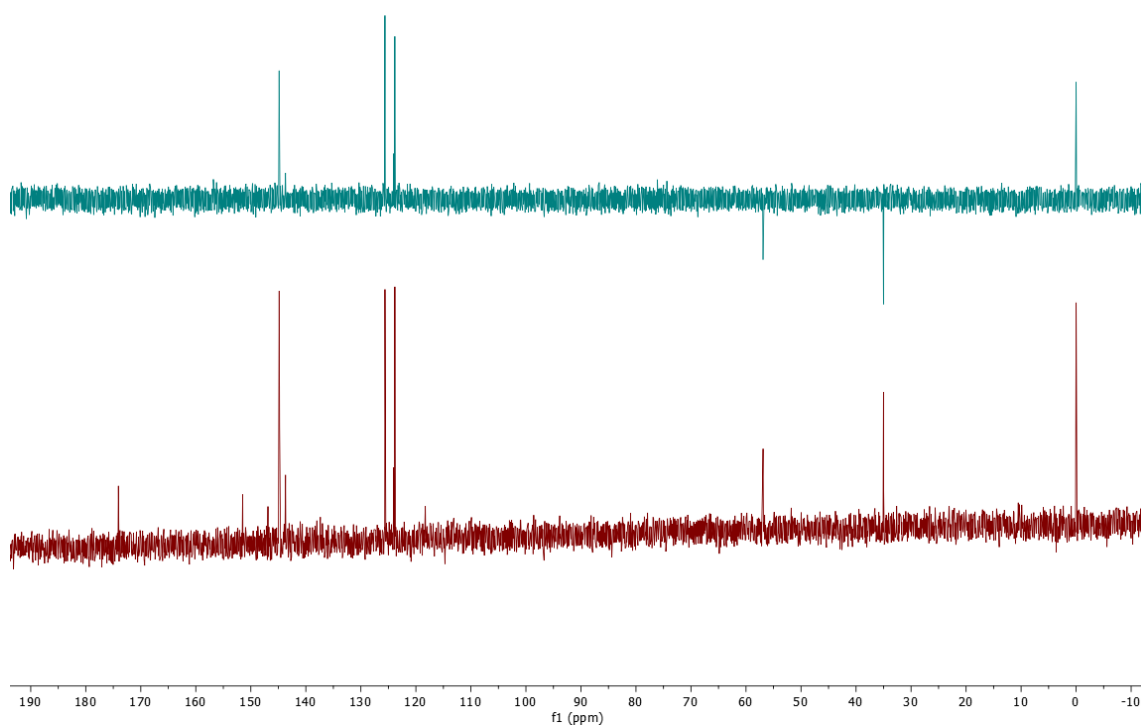


Ilustración 2: Espectro de RMN-¹³C (D_2O , 125 MHz, 25°C) (abajo) y DEPT (arriba) del compuesto 2-Br.

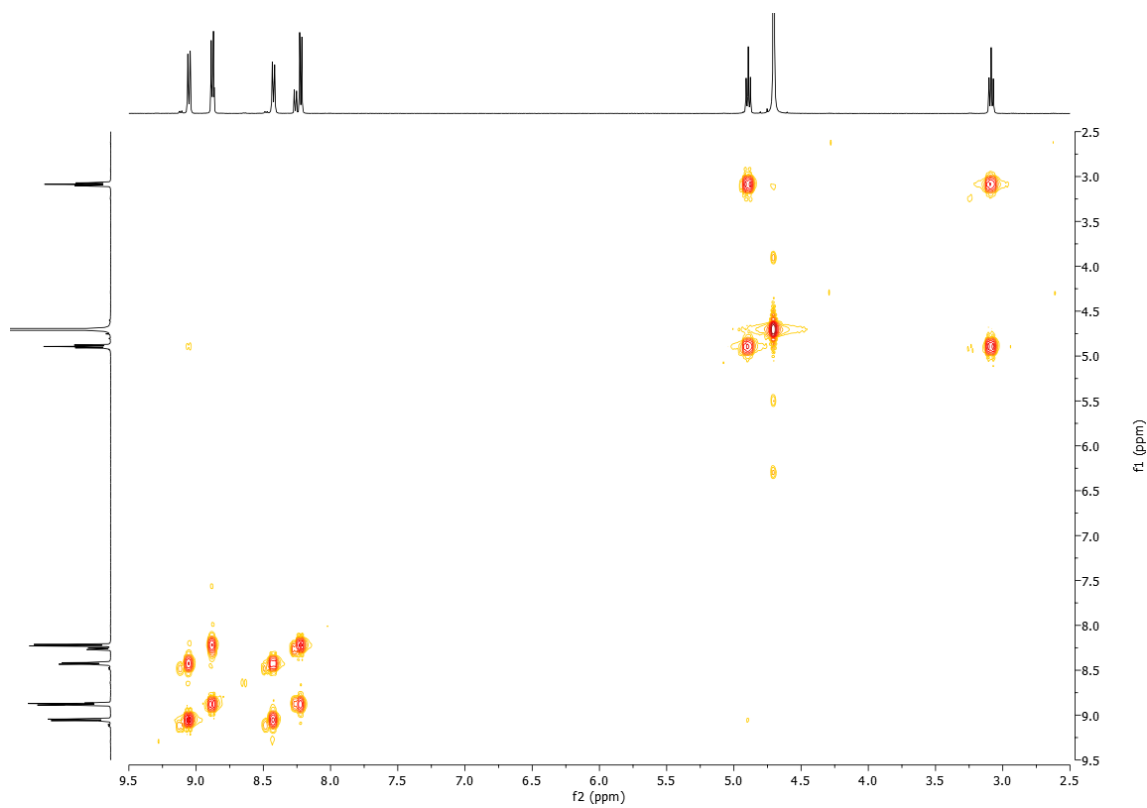


Ilustración 3: Experimento COSY realizado para el compuesto 2-Br.

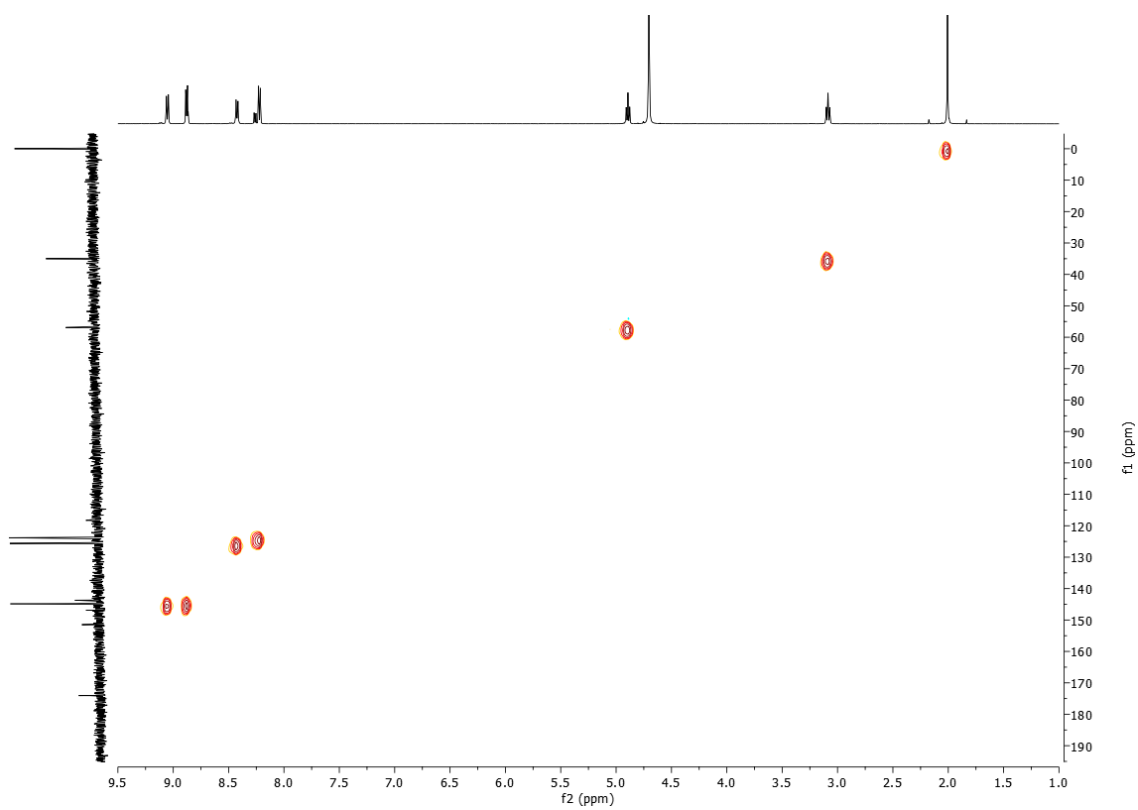


Ilustración 4: Experimento HMBC realizado para el compuesto 2-Br.

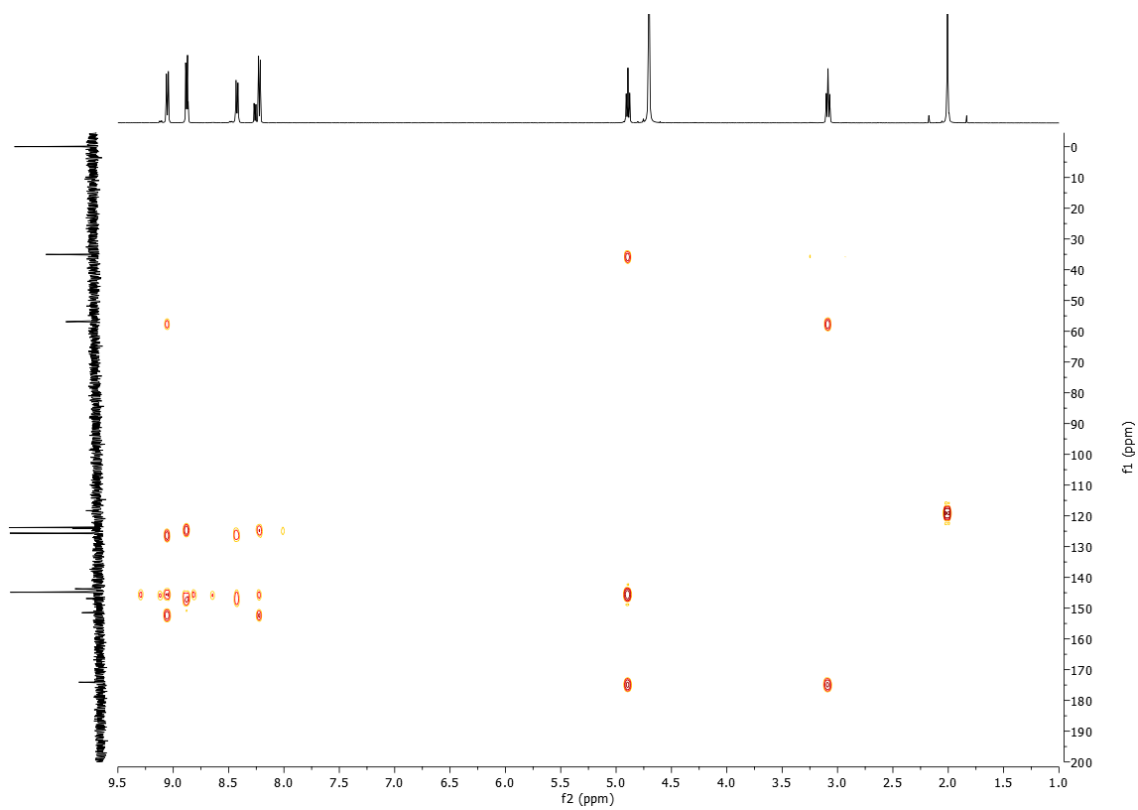


Ilustración 5: Experimento HSQC realizado para el compuesto 2-Br.

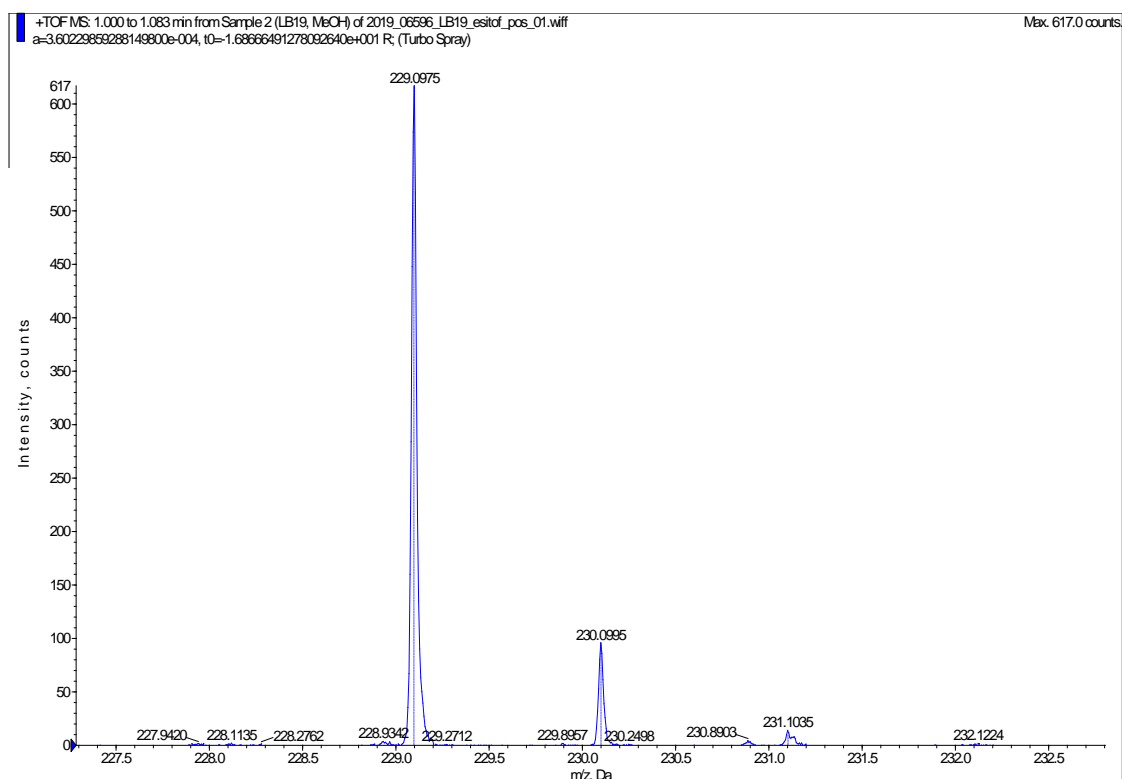


Ilustración 6: Espectro de HR-ESI-MS del compuesto 2-Br.

- Compuesto 3-Br

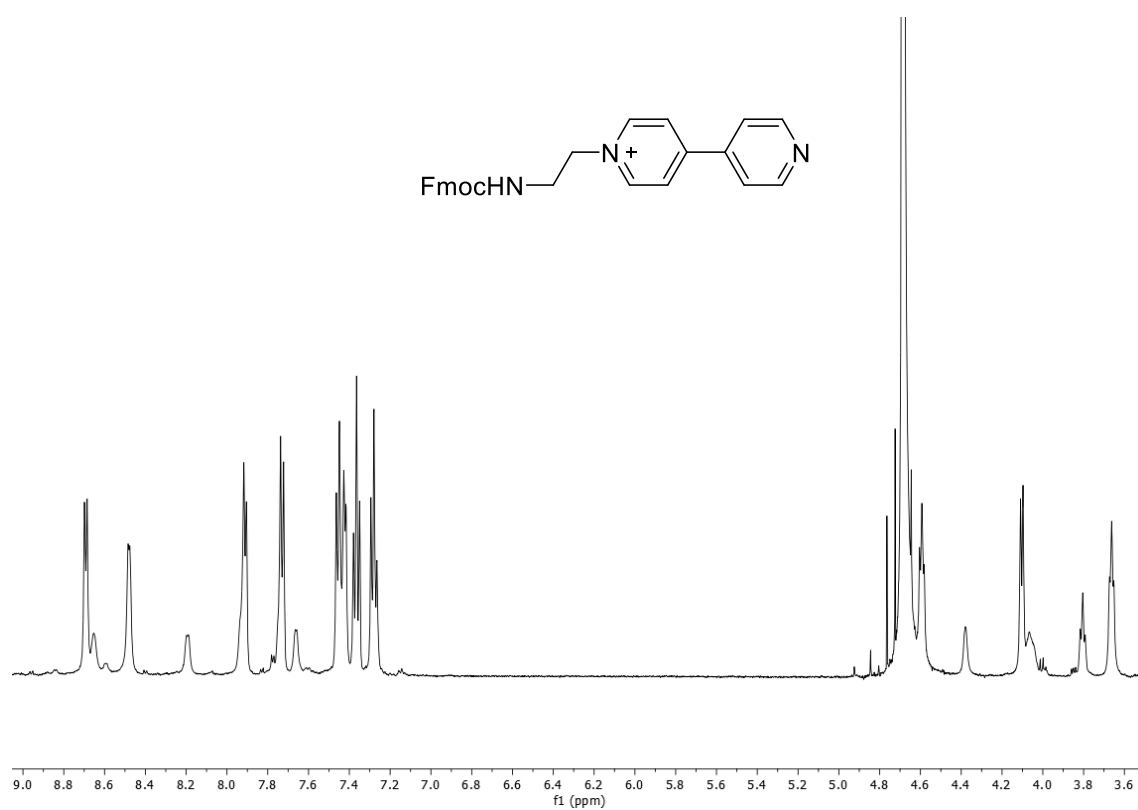


Ilustración 7: Espectro de RMN-¹H (CD₃CN, 500 Hz, 25°C) del compuesto 3-Br.

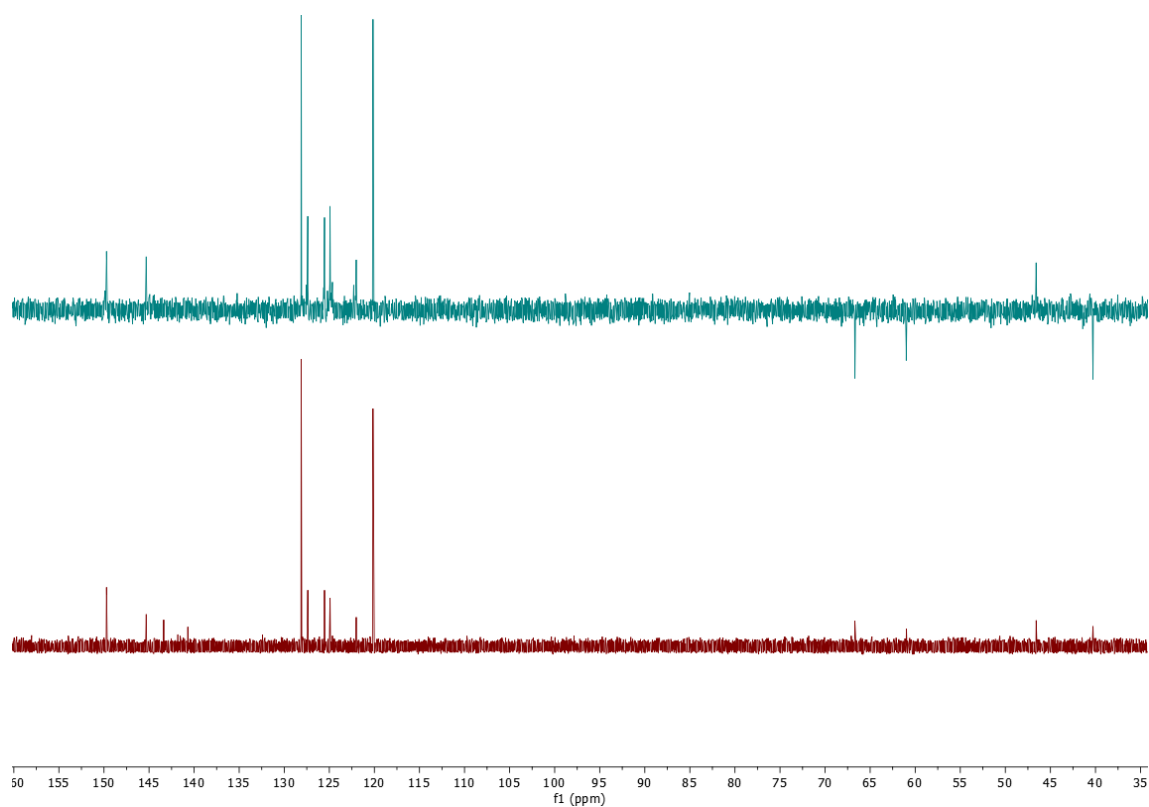


Ilustración 8: Espectro de RMN- ^{13}C (CD_3CN , 125 MHz, 25°C) (abajo) y DEPT (arriba) del compuesto 3-Br.

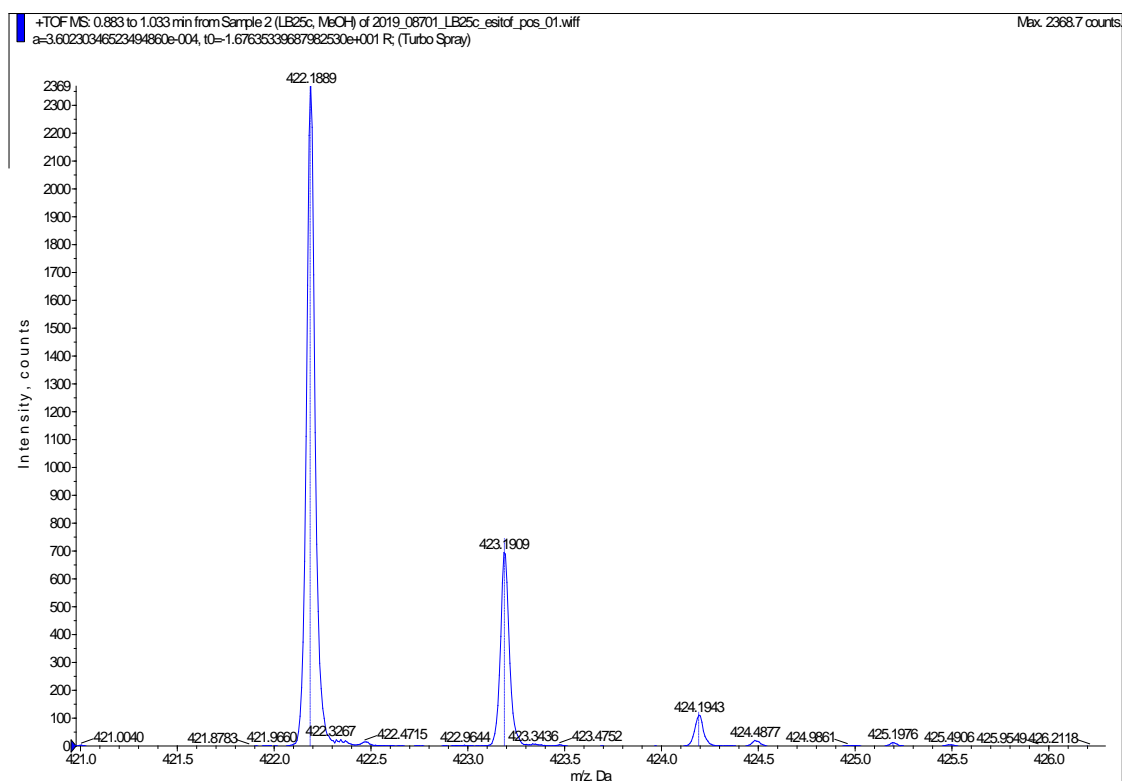


Ilustración 9: Espectro de HR-ESI-MS del compuesto 3-Br.

- Compuesto 5-Br

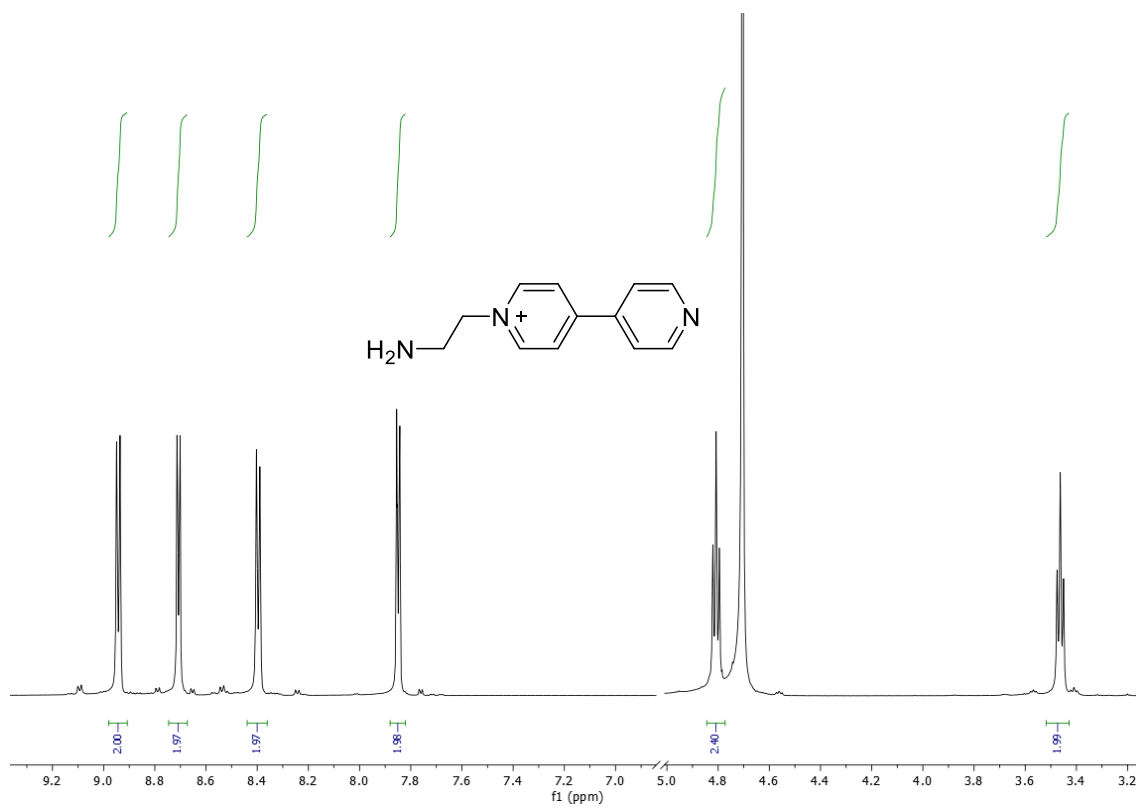


Ilustración 10: Espectro de RMN-¹H (D_2O , 500 MHz, 25°C) del compuesto 5-Br.

- Compuesto 1a-2Br

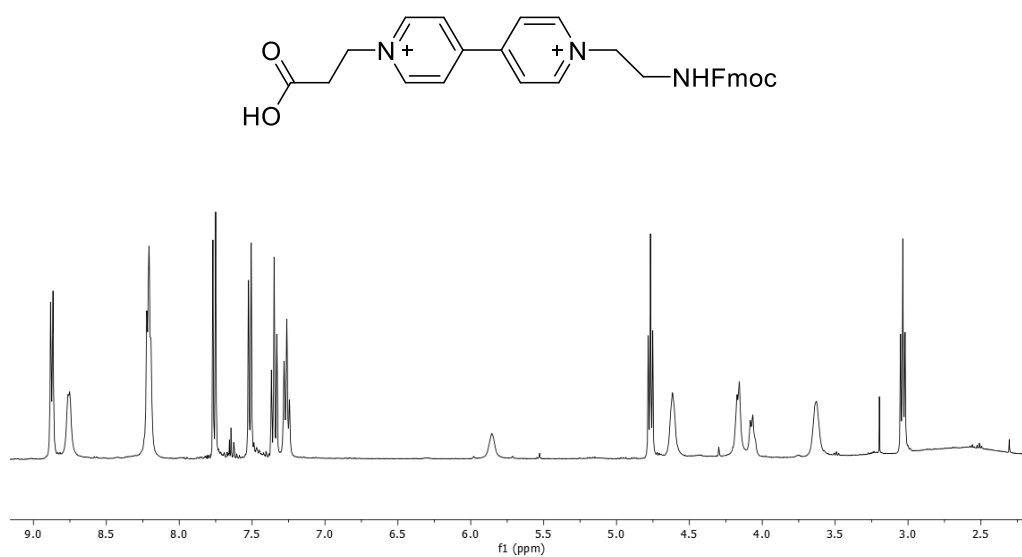


Ilustración 11: Espectro de RMN-¹H (CD_3CN , 500 Hz, 25°C) del compuesto 1a-2Br.

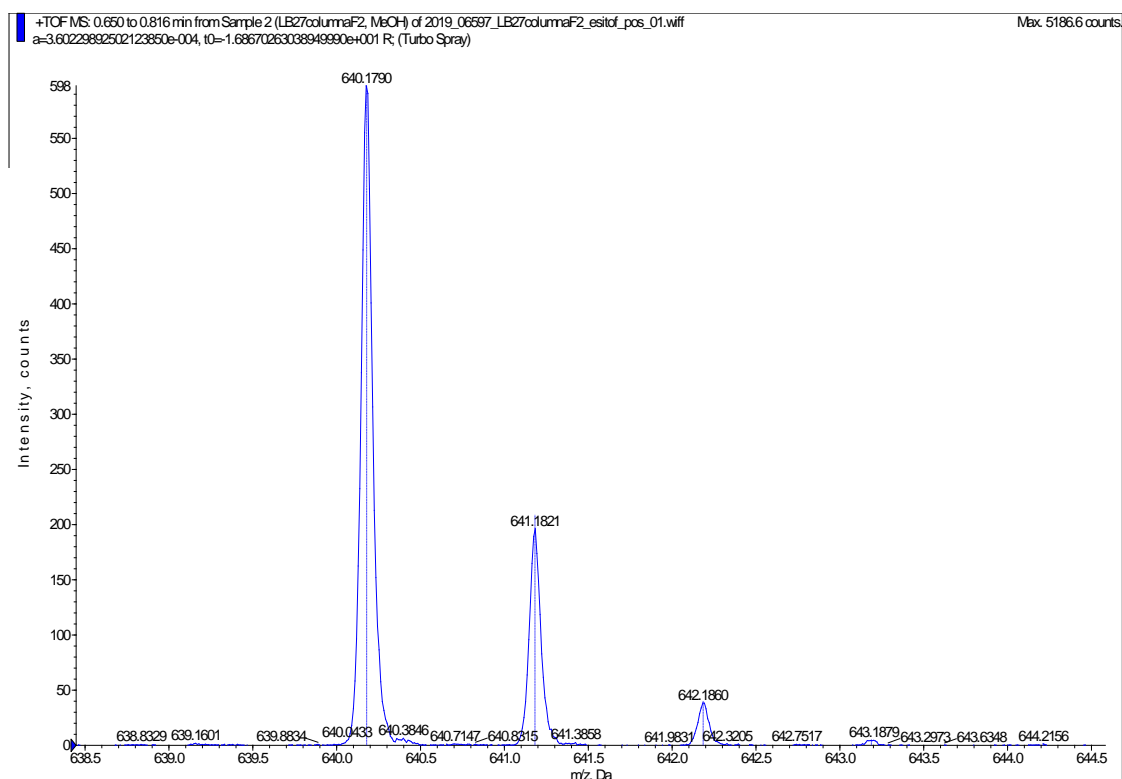


Ilustración 12: Espectro de HR-ESI-MS del compuesto 1a-2Br.

- Compuesto 8-Cl

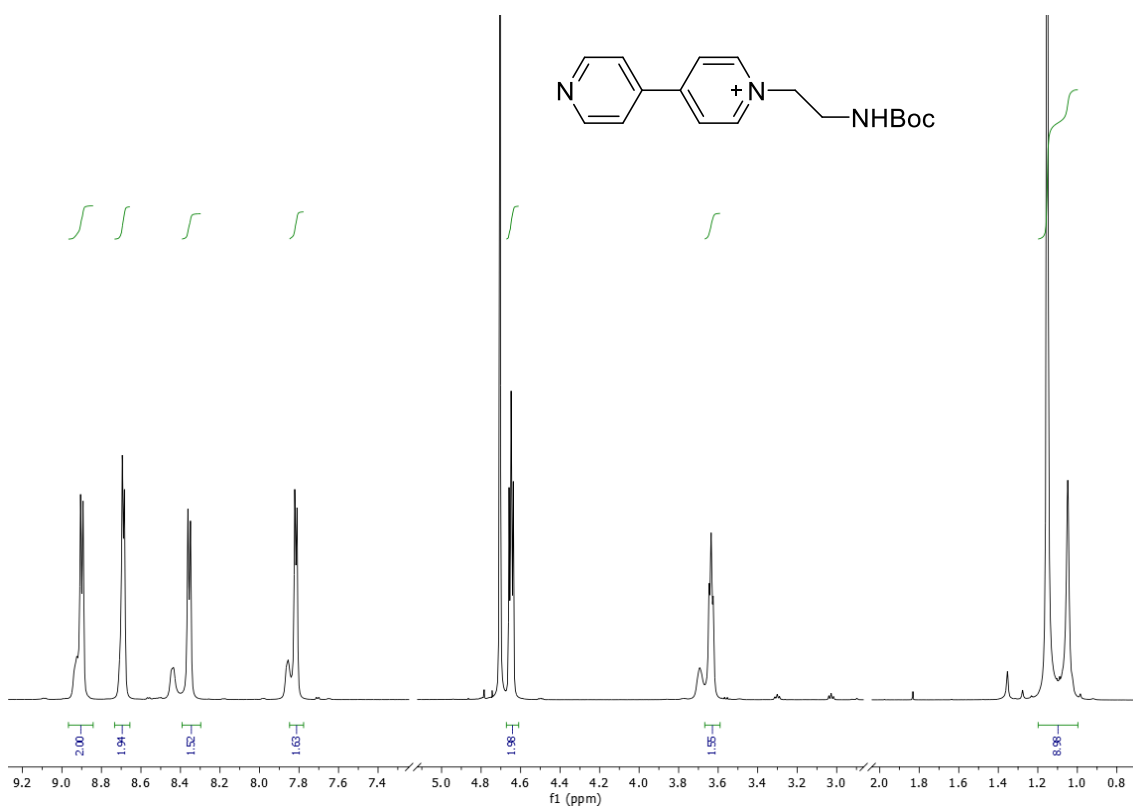


Ilustración 13: Espectro de RMN-¹H (D_2O , 300 Hz, 25°C) del compuesto 8-Cl.

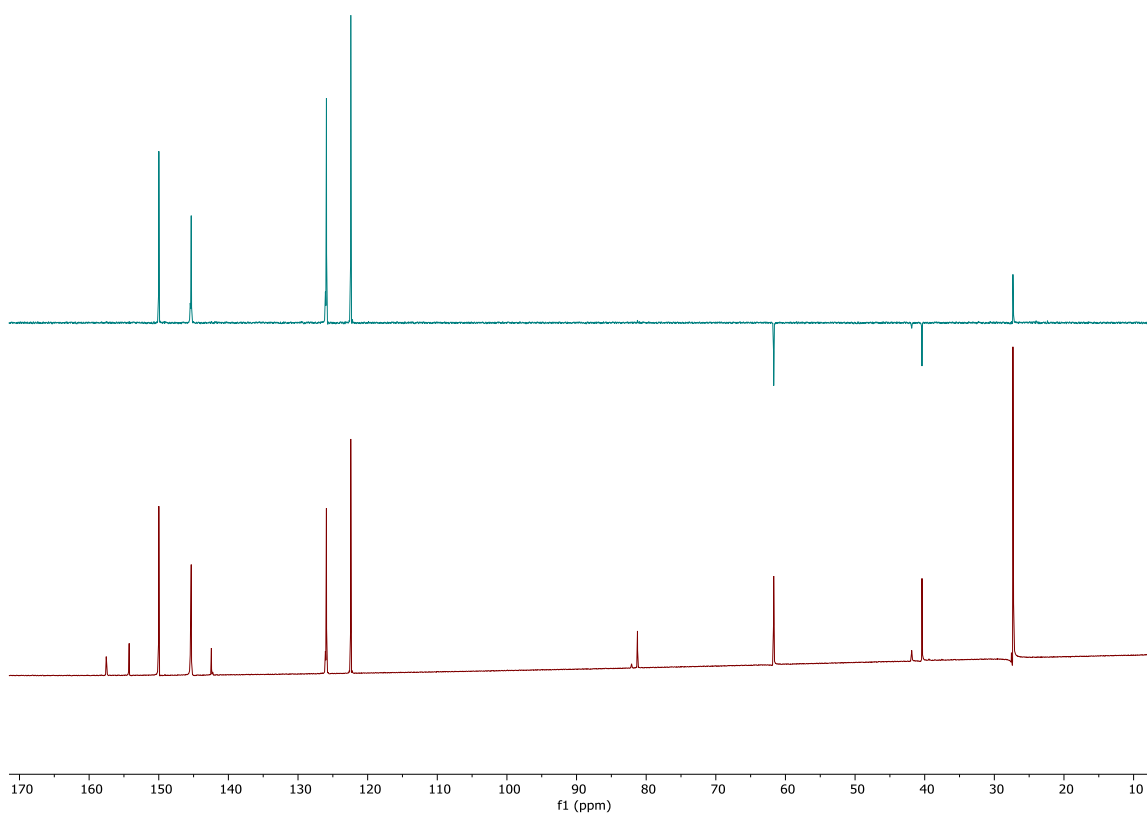


Ilustración 14: Espectro de RMN- ^{13}C (D_2O , 125 MHz, 25°C) (abajo) y DEPT (arriba) del compuesto 8-Cl.

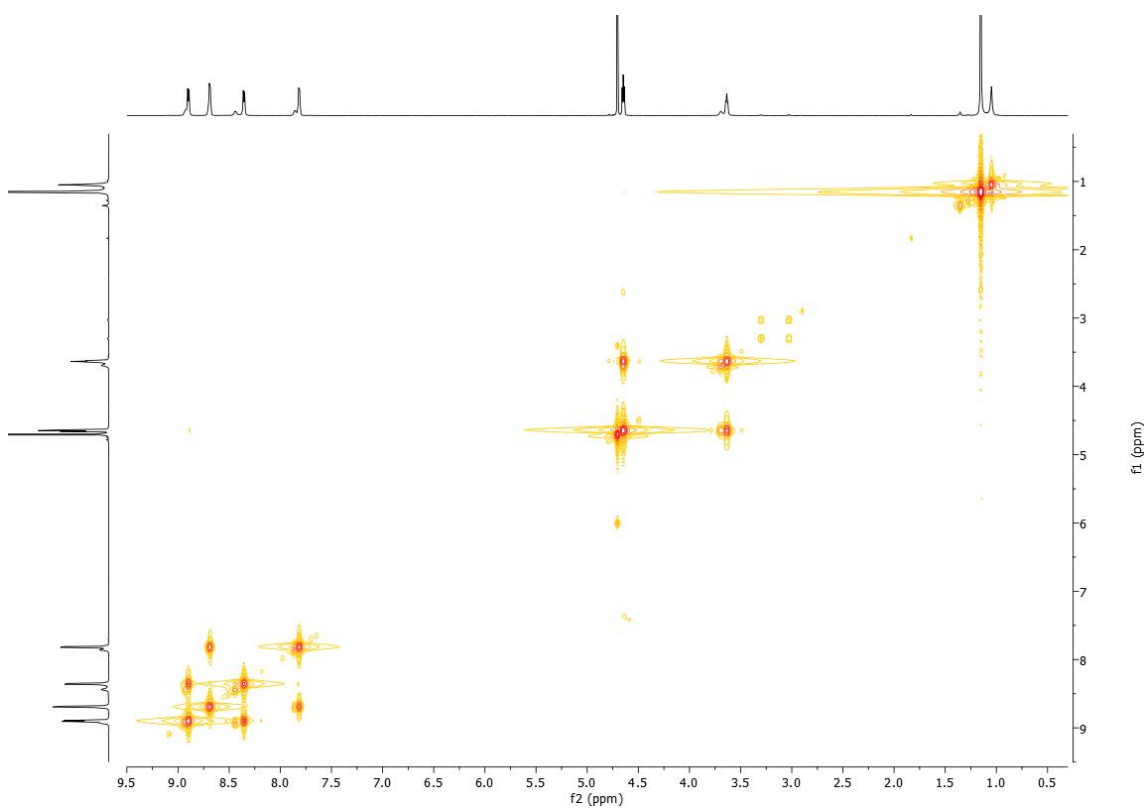


Ilustración 15: Experimento COSY realizado para el compuesto 8-Cl.

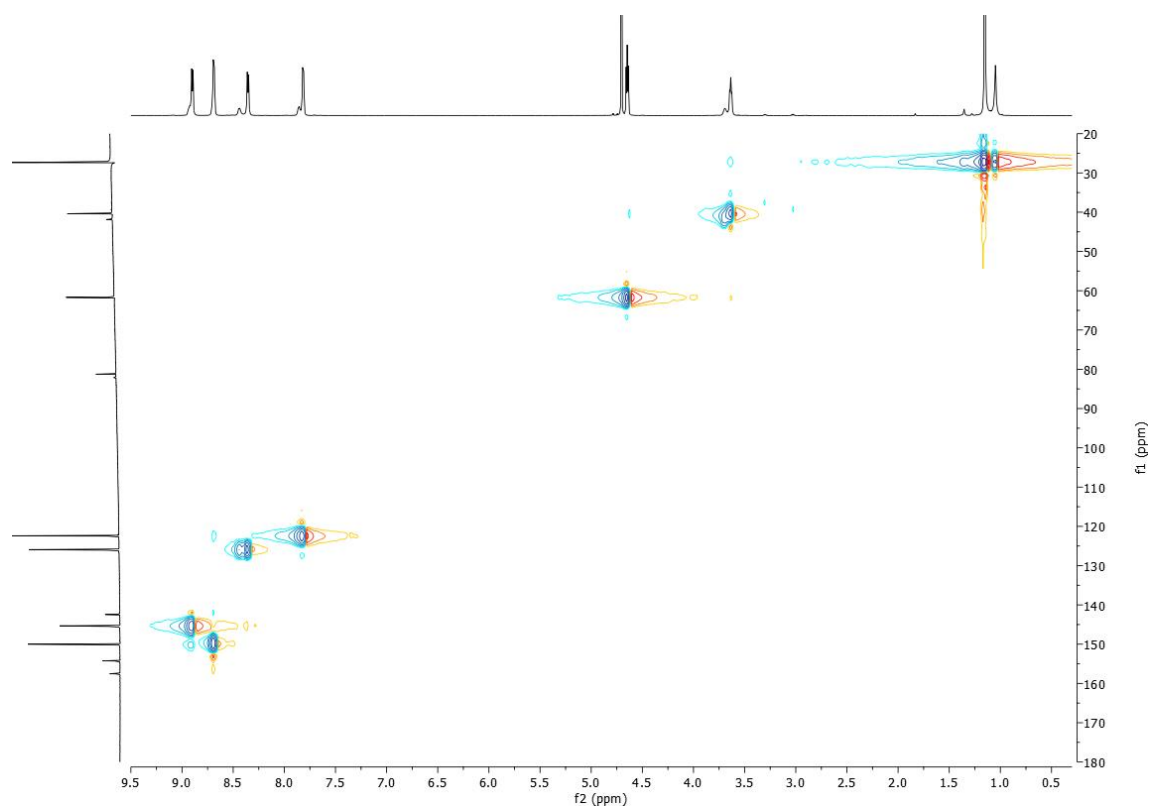


Ilustración 16: Experimento HMBC realizado para el compuesto 8-Cl.

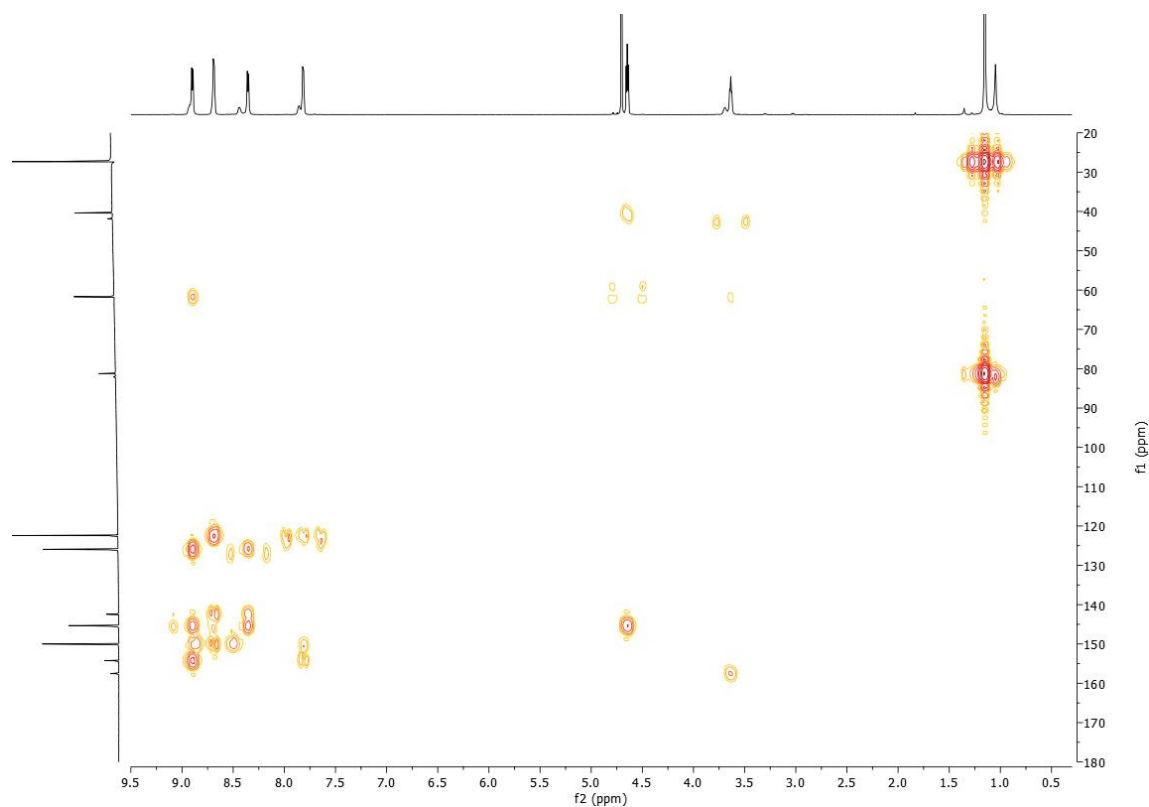


Ilustración 17: Experimento HSQC realizado para el compuesto 8-Cl.

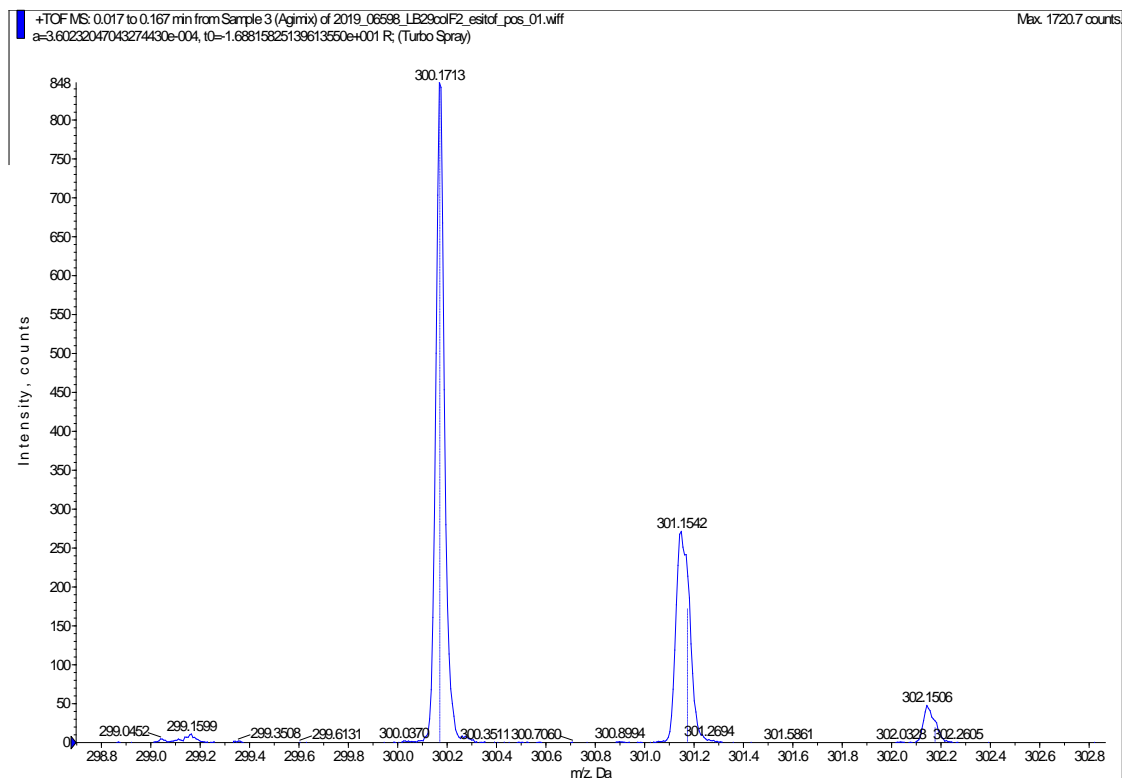


Ilustración 18: Espectro de HR-ESI-MS del compuesto 8-Cl.

- Compuesto **1b**·ClBr

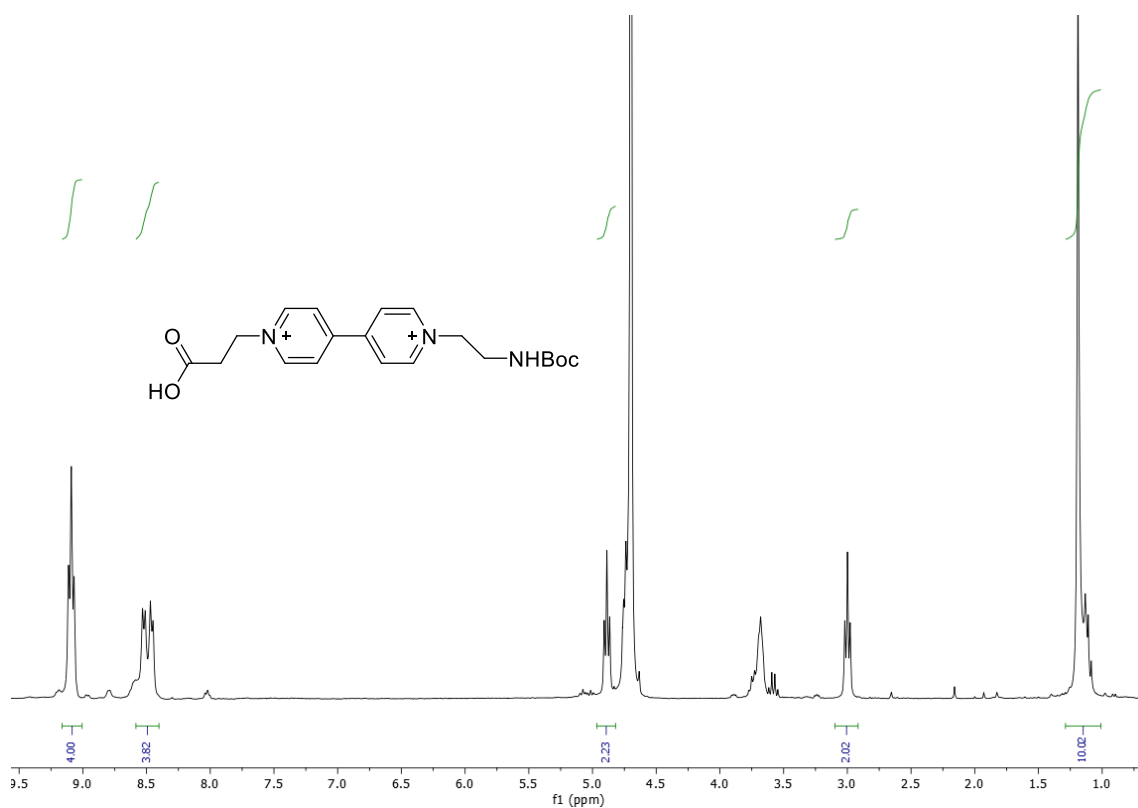


Ilustración 19: Espectro de RMN-¹H (D_2O , 500 Hz, 25°C) del compuesto 1b·ClBr.

- Compuesto 9-2Br

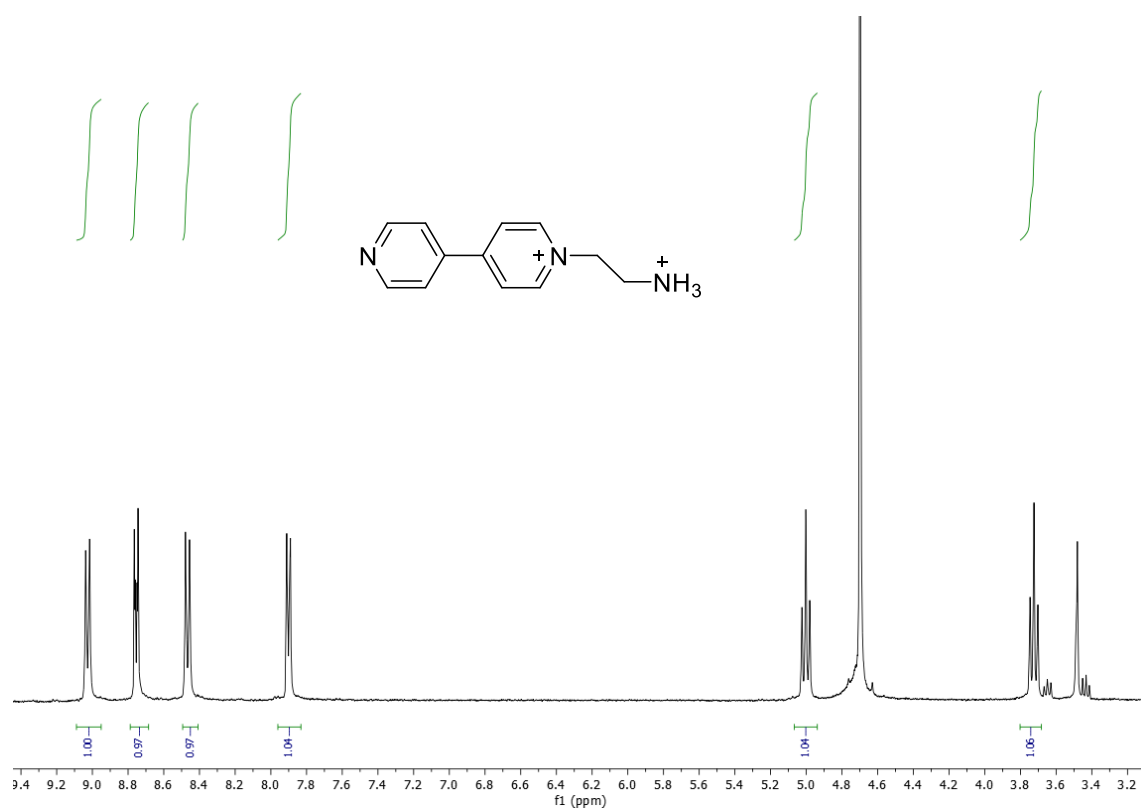


Ilustración 20: Espectro de RMN- ^1H (D_2O , 500 Hz, 25°C) del compuesto 9-2Br.

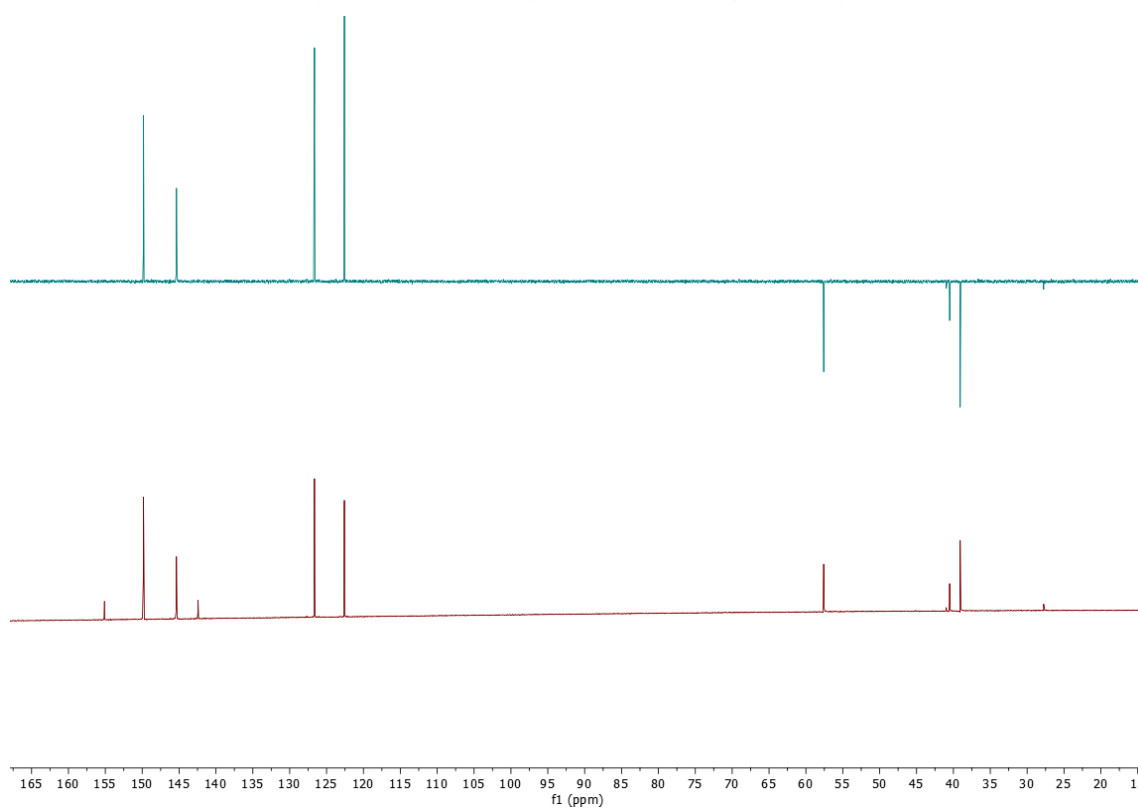


Ilustración 21: Espectro de RMN- ^{13}C (D_2O , 125 MHz, 25°C) (abajo) y DEPT (arriba) del compuesto 9-2Br.

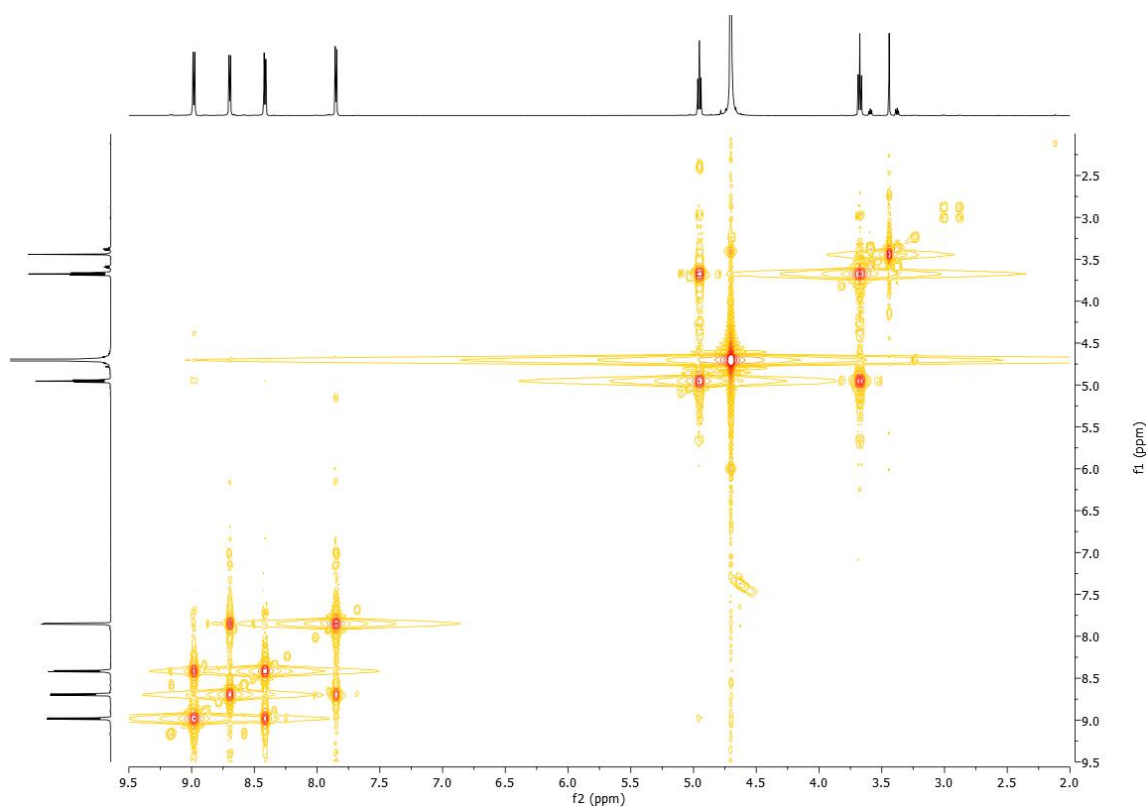


Ilustración 22: Experimento COSY realizado para el compuesto 9-2Br.

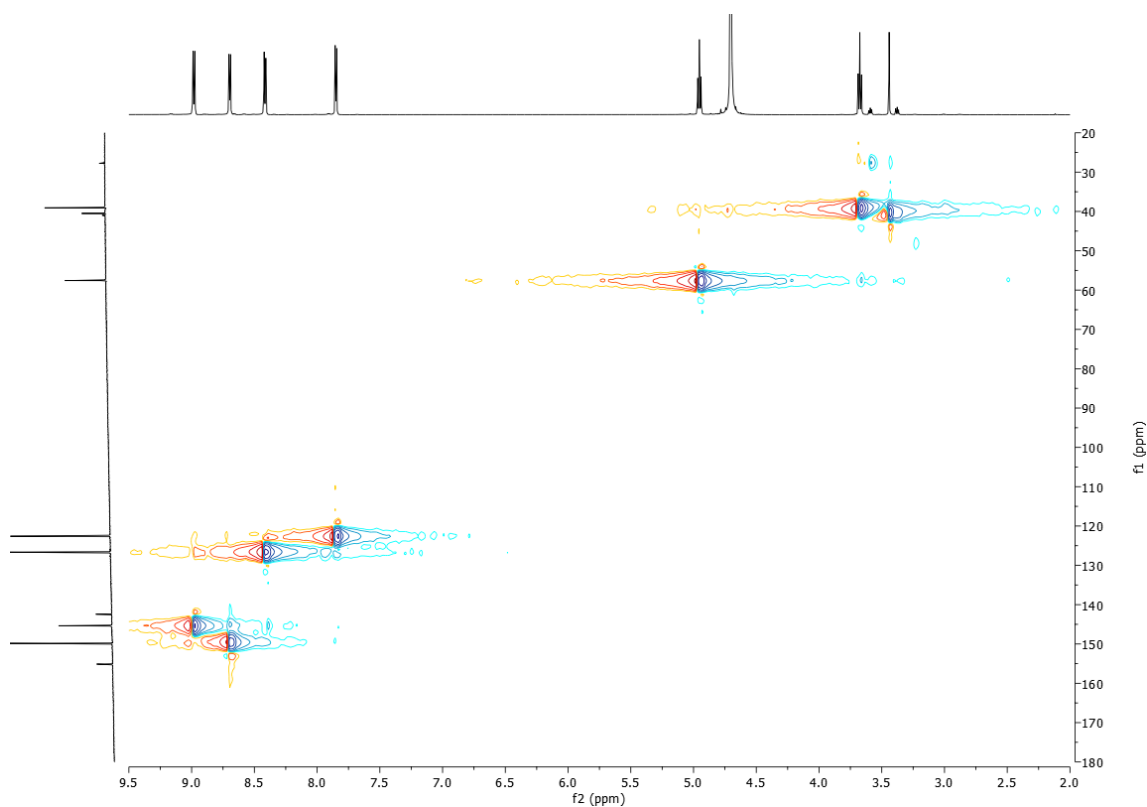


Ilustración 23: Experimento HMBC realizado para el compuesto 9-2Br.

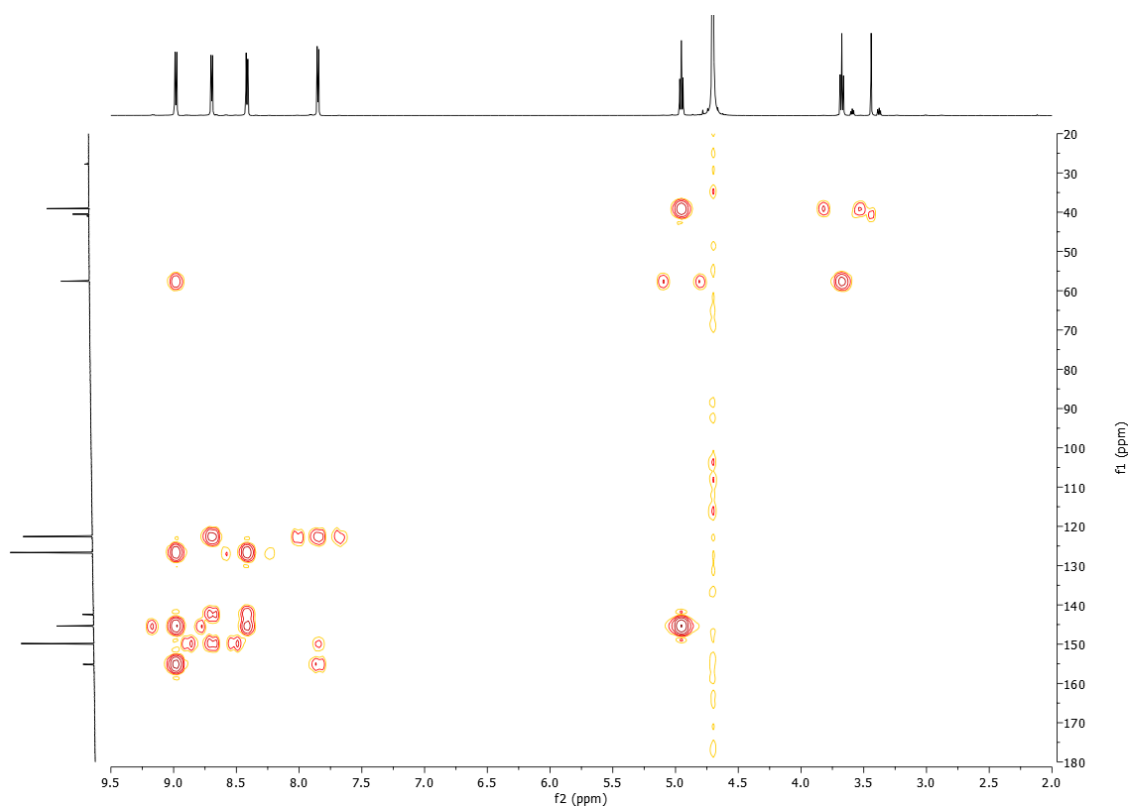


Ilustración 24: Experimento HSQC realizado para el compuesto 9-2Br.

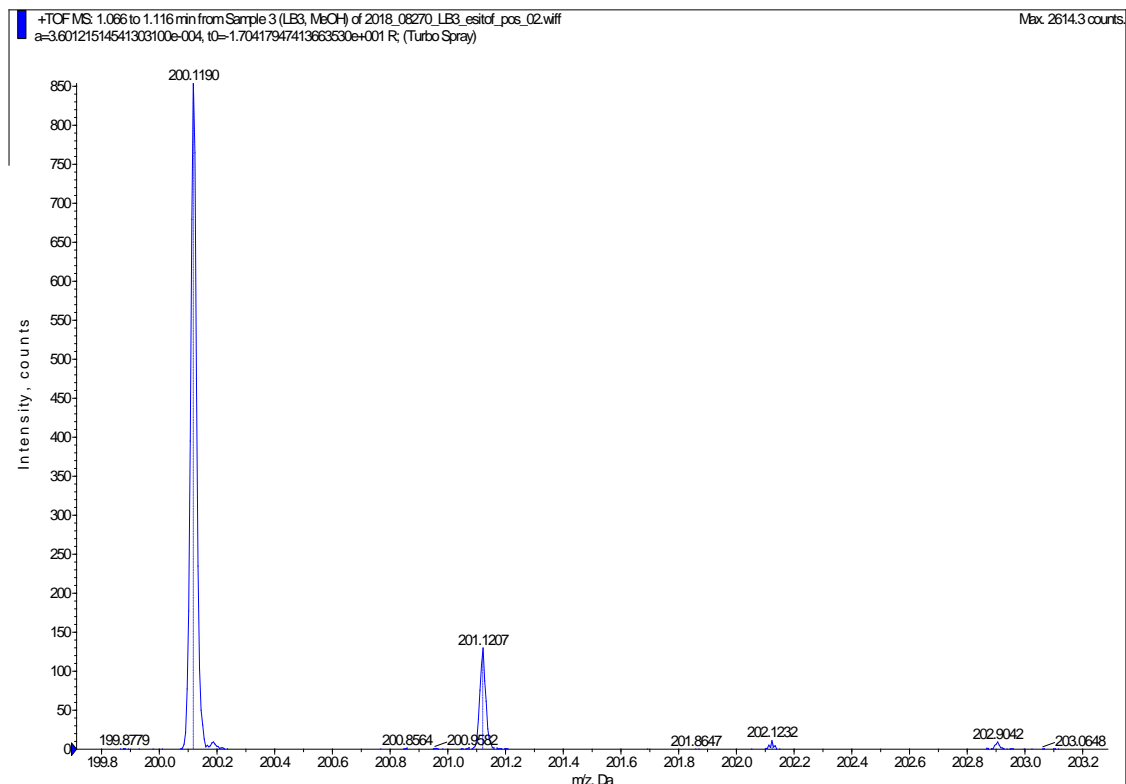


Ilustración 25: Espectro de HR-ESI-MS del compuesto 9-2Br.

- Compuesto **10-3Br**.

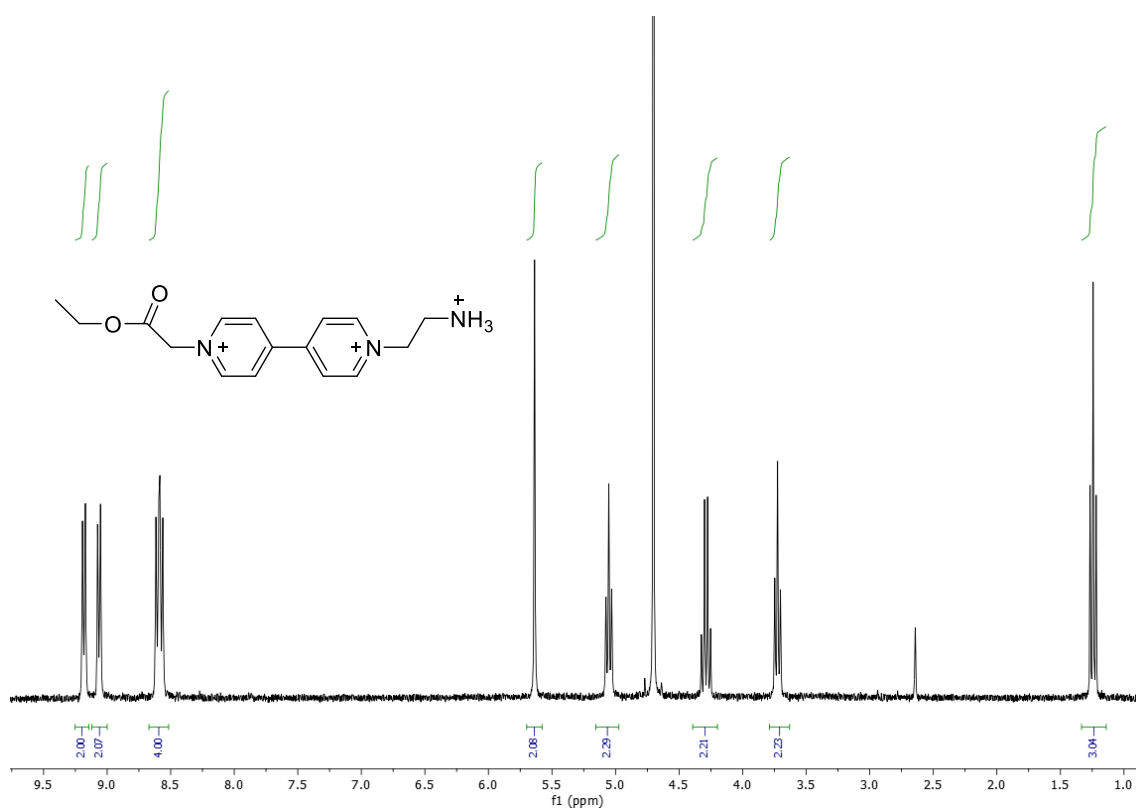


Ilustración 26: Espectro de RMN-¹H (D_2O , 500 Hz, 25°C) del compuesto 10-3Br.

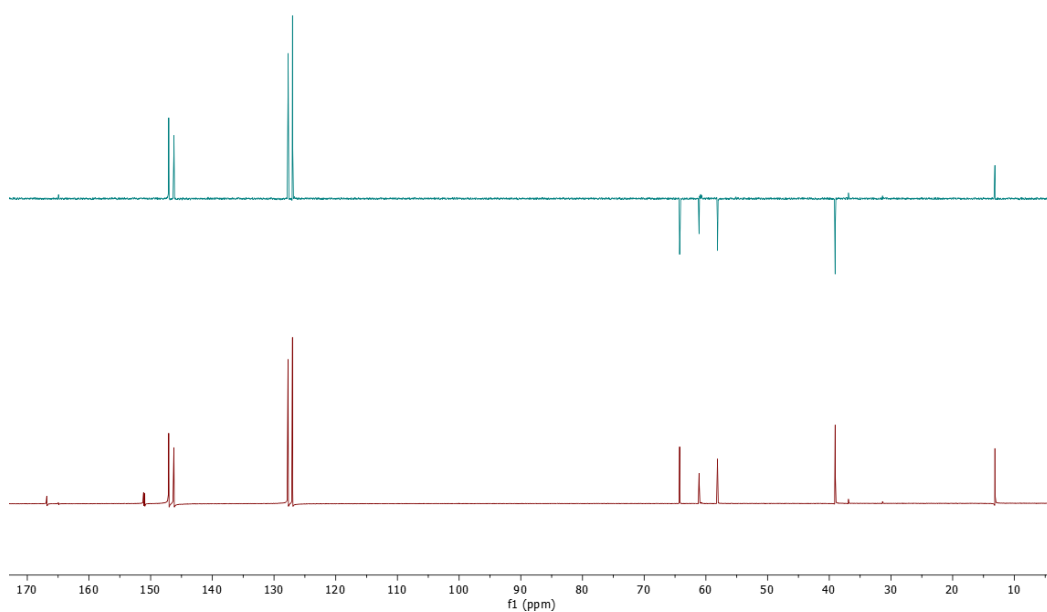


Ilustración 27: Espectro de RMN-¹³C (D_2O , 125 MHz, 25°C) (abajo) y DEPT (arriba) del compuesto 10-3Br.

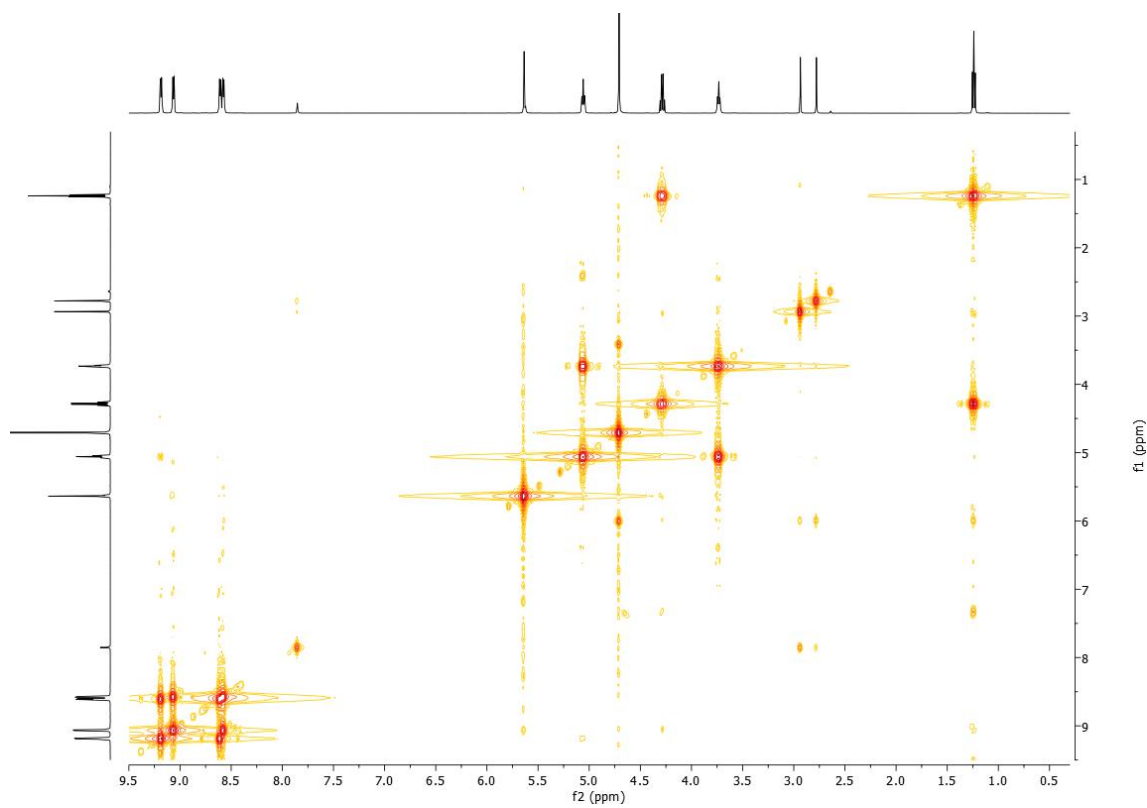


Ilustración 28: Experimento COSY realizado para el compuesto 10-3Br.

- Compuesto **1c**-3Cl

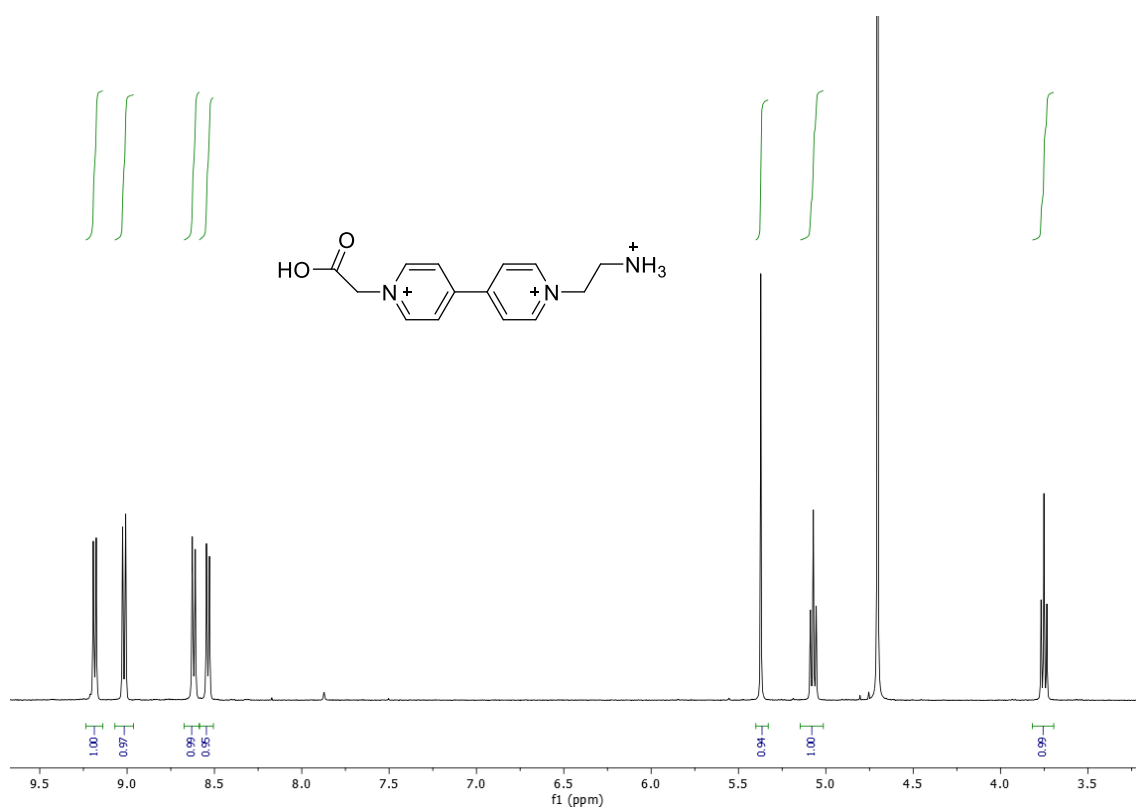


Ilustración 29: Espectro de RMN-¹H (D_2O , 500 Hz, 25°C) del compuesto **1c**-3Cl.

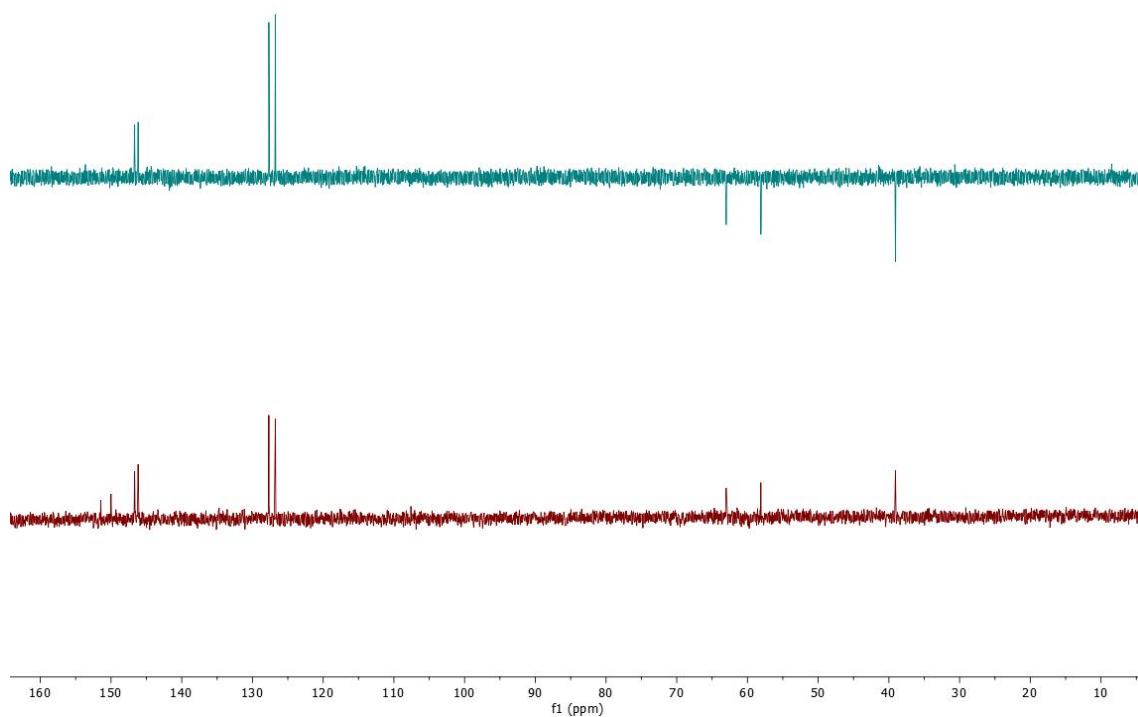


Ilustración 30: Espectro de RMN- ^{13}C (D_2O , 125 MHz, 25°C) (abajo) y DEPT (arriba) del compuesto 1c-3Cl.

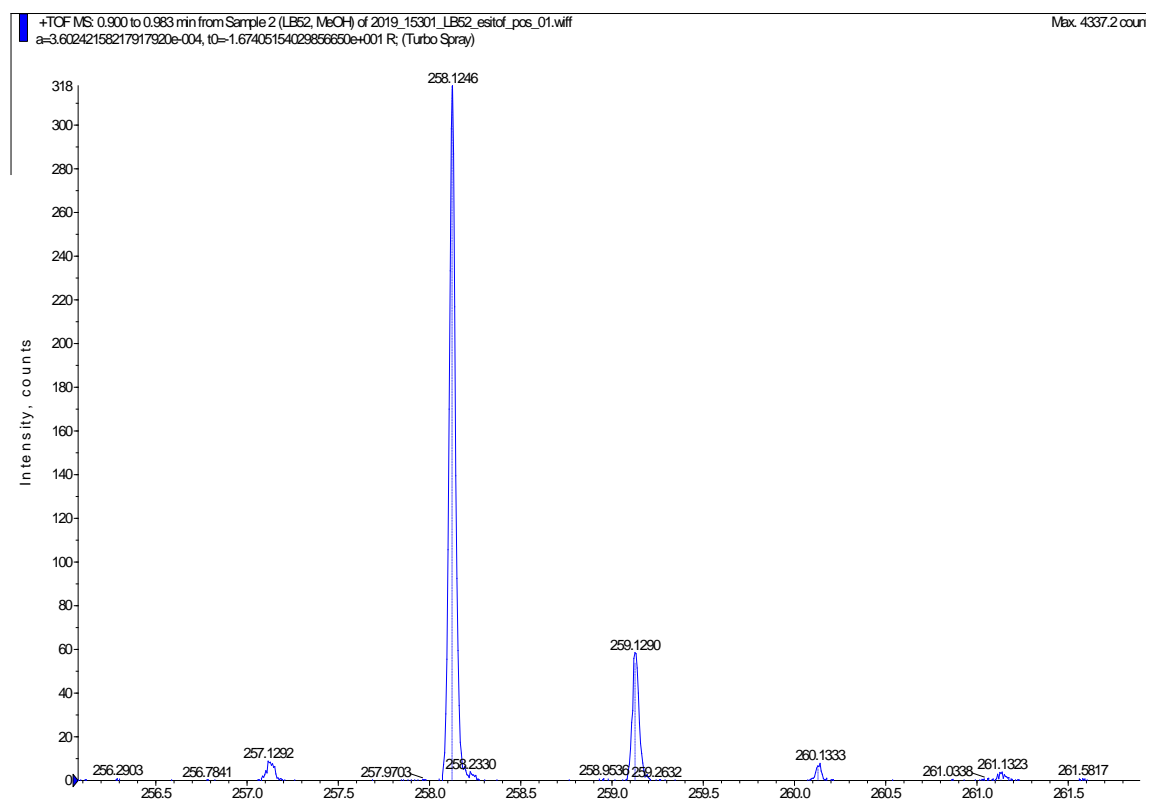


Ilustración 31: Espectro de HR-ESI-MS del compuesto 1c-3Cl.