

**UNIVERSIDAD DE GRANADA**

**DEPARTAMENTO DE QUÍMICA INORGÁNICA**



**SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE  
METALLOCALIX[n]ARENOS  
INTERACCIÓN CON MONONUCLEOTIDOS Y DNA**

**TESIS DOCTORAL**

**Miguel Ángel Galindo Cuesta**

**Granada, Abril de 2006**

# **SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE METALOCALIX[n]ARENOS INTERACCIÓN CON MONONUCLEOTIDOS Y DNA**

Memoria presentada por el doctorando D. Miguel Angel Galindo Cuesta para aspirar al grado de Doctor por la Universidad de Granada

Granada, Abril de 2006

Fdo. Miguel Ángel Galindo Cuesta

Los directores de la Tesis

Dr. Jorge Andrés Rodríguez Navarro  
Profesor Titular de Química Inorgánica  
de la Universidad de Granada

Dra. M<sup>a</sup> Angustias Romero Molina  
Profesora Titular de Química Inorgánica  
de la Universidad de Granada.



## **AGRADECIMIENTOS**

Sin duda alguna, este trabajo de investigación ha sido realizado gracias al continuo apoyo de muchas personas. No es fácil expresar toda la gratitud que tengo hacia ellas, y tampoco sería posible nombrar a cada una de las personas que me habéis ayudado durante todo este tiempo.

En primer lugar, y de manera muy especial, quiero agradecer el apoyo y la dedicación que mis directores de tesis, Prof. M<sup>a</sup> Angustias Romero y Prof. Jorge A. Rodríguez, me han brindado a lo largo de todos estos años. Ellos me han enseñado a ver el mundo de la investigación de una manera apasionante. Pero sin duda alguna, ha sido su calidad humana la que ha hecho que este tiempo sea recordado de una manera inolvidable.

También quiero agradecer la atención y el compañerismo de todo el departamento de Química Inorgánica. De una manera especial, al Prof. Juan Manuel Salas, Prof. Purificación Sanchez, Prof. Miguel Quirós, y a mis inolvidables compañeros de penas y alegrías, Antonio R., Elisa, Carmen, Jesús, Nati y Antonio M.

Y por supuesto, agradecer el inagotable apoyo y cariño de mis padres, Miguel y M<sup>a</sup> Carmen, y hermanos/as Aida, Rubén, Víctor y Miriam. Sin olvidar a todos los amigos que siempre están presentes y hacen que los momentos mas difíciles se conviertan en simples anécdotas para recordar, con una sonrisa, en el futuro.

Por último, agradecer al Ministerio de Ciencia y Tecnología su ayuda económica a través de una beca de Formación de Profesional Investigador (FPI) y por financiar los proyectos BQU-2001-2955-CO2-01, y a la Junta de Andalucía por aportar fondos al grupo de investigación FQM-195.

## Abreviaturas

4,7-fen: 4,7-fenantrolina

Hpymo: 2-hidroxipirimidina

Hmpymo: 4-metil-2-hidroxipirimidina

Hdmpymo: 4,6-dimetil-2-hidroxipirimidina

F-Hpymo: 5-fluor-2-hidroxipirimidina

Cl-Hpymo: 5-cloro-2-hidroxipirimidina

Br-Hpymo: 5-bromo-2-hidroxipirimidina

I-Hpymo: 5-iodo-2-hidroxipirimidina

f-Hpymo: 5-etinilferroceno-2-hidroxipirimidina

capym: 5-carboxipirimidina

bp: 4,4'-bipiridina

abp: 4,4'-azopiridina

t-bpe: trans-1,2-bis(4-piridil)-eteno

en: etilendiamina (1,2-etanodiamina)

R,R-dach: R,R-1,2-diaminociclohexano

S,S-dach: S,S-1,2-diaminociclohexano

fba: ferrocenilmetilbis(2-piridil)amina

bfba: 2,2'-bis(1-ferrocenilmetilpiridil)amina

AMP: adenosina 5'-monofosfato

CMP: citidina 5'-monofosfato

TMP: timidina 5'-monofosfato

GMP: guanosina 5'-monofosfato

DNA: ácido desoxirribonucleico

AE: análisis elemental

IR: infrarrojo

RMN: resonancia magnética nuclear

2D-NOESY: 2 dimensiones- Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy

MeOD: metanol deuterado

D<sub>2</sub>O: agua deuterada

DMSO: dimetil sulfoxido deuterado

CD: dicroísmo circular

LD: dicroísmo linear

UV-Vis: ultravioleta visible

AFM: microscopía de fuerzas atómicas

## ÍNDICE

<b>1.- RESUMEN</b>	<b>1</b>
<b>2.- INTRODUCCION</b>	<b>5</b>
2.1.- Antecedentes y situación actual del tema de investigación	5
2.2.- Estrategia de síntesis: síntesis dirigida de oligómeros cíclicos por el método de arquitectura molecular.	13
<b>3.- JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS</b>	<b>21</b>
3.1.- Justificación	21
3.2.- Objetivos	21
<b>4.- DISCUSIÓN DE RESULTADOS</b>	<b>23</b>
4.1.- Oligómeros cíclicos con ligandos 4,7-fenantrolina puente.	23
4.1.1.- Difracción de Rayos X	24
4.1.2.- Resonancia Magnética Nuclear ( <sup>1</sup> H RMN)	33
4.2.- Oligómeros cíclicos con ligandos pirimidínicos puente.	41
4.2.1.- Difracción de Rayos X	42
4.2.2.-Resonancia Magnética Nuclear ( <sup>1</sup> H RMN)	46
4.3.- Oligómeros cíclicos heterotópicos: modulación del tamaño de los ciclos.	55
4.3.1.- Oligómeros heterotópicos con ligandos angulares: 4,7-fenantrolina y derivados de la 2-hidroxipirimidina.	55
4.3.1.1.- Difracción de Rayos X	59
4.3.1.2.- Resonancia Magnética Nuclear ( <sup>1</sup> H RMN)	64
4.3.2.- Oligómeros heterotópicos mixtos con ligandos angulares y lineales.	79

4.4.- Funcionalización de los oligómeros cíclicos con sustituyentes electroquímicamente activos.	81
4.4.1.- Funcionalización de los ligandos puente con grupos ferroceno	82
4.4.2.- Funcionalización de los grupos protectores con grupos ferroceno	86
4.4.3.- Síntesis de oligómeros cíclicos a partir de lo ligandos y fragmentos metálicos funcionalizados	94
4.5.- Reconocimiento molecular de mononucleótidos. Interacción con DNA.	99
4.5.1.- Reconocimiento molecular de mononucleótidos.	99
4.5.2.- Estudios de interacción con ct-DNA	111
4.5.2.1.- Espectroscopía de absorción UV-vis	111
4.5.2.2.- Dicroísmo Circular (CD) y Lineal (LD)	115
4.5.2.3.- Fluorescencia. Interacción competitiva con bromuro de etidio	122
4.5.2.4.- Electroforesis en Gel de Agarosa	127
4.5.2.5.- Microscopía de Fuerza Atómica (AFM)	130
<b>5.- CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN</b>	<b>135</b>
5.1.- Conclusiones	135
5.2.- Perspectivas del Trabajo de Investigación	138
<b>6.- BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>141</b>
<b>ANEXO I</b>	
<b>ANEXO II</b>	
<b>ANEXO III</b>	
<b>ANEXO IV</b>	
<b>ANEXO V</b>	
<b>ANEXO VI</b>	

# SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE METALCALIX[n]ARENOS. INTERACCIÓN CON MONONUCLEOTIDOS Y DNA

## 1.- RESUMEN

La presente memoria de Tesis Doctoral pretende conseguir un doble cometido:

i) de un lado, llevar a cabo una aproximación inorgánica a la química supramolecular de los calixarenos a través de compuestos de coordinación cíclicos estructural y conformacionalmente relacionados con los calixarenos clásicos y que sean capaces de actuar como receptores moleculares y sensores de aniones de interés biológico.

ii) y de otro lado, estudiar la capacidad de estos sistemas para interactuar con el DNA de una forma supramolecular.

A continuación, se exponen los resultados de la síntesis, caracterización estructural, comportamiento como receptores moleculares y estudio de la interacción con el DNA de metalocalixarenos.

La estrategia de síntesis diseñada para obtener los compuestos de coordinación a los que hace referencia este resumen, se basa en procesos de auto-asociación espontánea entre ligandos orgánicos, 4,7-fenantrolina (4.7-fen), 2-hidroxi pirimidina (Hpymo), 4-metil-2-hidroxi pirimidina (Hmpymo), 4,6-dimetil-2-hidroxi pirimidina (Hdmpymo), 5-fluoro-2-hidroxi pirimidina (F-2Hpymo), 5-cloro-2-hidroxi pirimidina (Cl-Hpymo), 5-bromo-2-hidroxi pirimidina (Br-Hpymo), 5-iodo-2-hidroxi pirimidina (I-Hpymo), 5-etinilferroceno-2-hidroxi pirimidina (f-Hpymo), 5-carboxi pirimidina (capym), 4,4'-bipiridina (bp), la 4,4'-azopiridina (abp) y la trans-1,2-bis(4-piridil)-eteno (t-bpe) y fragmentos metálicos cis- protegidos de paladio(II) y platino(II) con etilendiamina (en), R,R-1,2-diaminociclohexano (R,R-dach), S,S-1,2-diaminociclohexano (S,S-dach), ferrocenilmetilbis(2-piridil)amina (fbpa) y alilo o fragmentos metálicos fac- protegidos de rutenio (II) con un grupo cimeno.



La combinación de fragmentos metálicos planocuatros cis protegidos y el ligando angular 4,7-fen, conduce a la formación de especies cíclicas de tipo metalocalix[3]areno. De esta manera se han obtenido las especies cíclicas de tipo  $[(en)M(4,7-fen-N^4, N^7)]_3(NO_3)_6$  ( $M^{2+} = Pd$  (1Pd),  $Pt$  (1Pt)) y las especies homquirales cíclicas  $[(R,R-dach)Pd(4,7-fen-N^4, N^7)]_3(NO_3)_6$  (2a) y  $[(S,S-dach)Pd(4,7-fen-N^4, N^7)]_3(NO_3)_6$  (2b). La especie 1Pd se ha encontrado en forma cristalina en tres fases diferentes que contienen en todos los casos aniones nitrato localizados en las cavidades superior e inferior y que ponen de manifiesto la capacidad de este tipo de compuestos para dar lugar a procesos de reconocimiento molecular.

De manera análoga, la combinación del ión metálico octaédrico fac-cimeno-rutenio (II) y el ligando 4,7-fen conduce a la formación de la especie tetranuclear rectangular  $[(\eta^6-p-cimeno)_4Ru_4(4,7-fen-N^4, N^7)_2(OH)_4]^{4+}$  (3). Esta especie se encuentra disociada parcialmente en disolución en la especie dinuclear  $[(\eta^6-p-cimeno)_2Ru_2(4,7-fen-N^4, N^7)(H_2O)_2]^{4+}$  (3d).

Por otro lado, la reacción en medio acuoso entre el fragmento metálico *cis*-protegido etilendiaminadiacuoplatino (II) y los ligandos angulares pirimidínicos X-Hpymo ( $X = F, Cl, Br, I$ ) y Hcapym, ha dado lugar a la formación de las especies tetranucleares cíclicas de tipo metalocalix[4]areno  $[(en)Pt(X-pymo-N^1, N^3)]_4(NO_3)_4$  ( $X = F$  (4F),  $Cl$  (4Cl),  $Br$  (4Br),  $I$  (4I),) y  $[(en)Pt(capym-N^1, N^3)]_4(NO_3)_4$  (5).

Con el objeto de obtener un oligómero cíclico con carga neutra se llevó a cabo la reacción, en acetona, entre el fragmento metálico *cis*- $\eta^3$ -alilodiacuopaladio (II) y el ligando pirimidínico 2-Hpymo, condujo a la formación de la especie  $[(\eta^3-alil)Pd(Hpymo-N^1, O^2)]_2(SO_3CF_3)_2$  (6) en acetona. Esta especie, al disolverla en medio acuoso, evoluciona hacia una especie cíclica del tipo  $[(\eta^3-alil)Pd(pymo-N^1, N^3)]_4$  (6').

También se ha llevado a cabo la modulación del tamaño de los oligómeros cíclicos obtenidos anteriormente. Para ello se ha llevado a cabo una reacción multicomponente entre el grupo etilendiaminadiacuopaladio(II) y los ligandos angulares 4,7-fen y los ligandos Hpymo y sus derivados metilados (Hmpymo, Hdmpymo), conduciendo a una gran gama de especies homo y heterotópicas

cíclicas de tipo metalocalix[n]areno de distinta funcionalización y tamaño con fórmula general  $[\text{Pd}_n(\text{en})_n(\text{L}-\text{N}^1, \text{N}^3)_m(4,7\text{-fen}-\text{N}^4, \text{N}^7)_{n-m}]^{(2n-m)+}$  [ $n=3, m=3$  (1Pd),  $n=4, m=4$  (4H),  $n=3, m=1$  (7);  $n=4, m=2$  (8);  $n=6, m=4$  (9)]. La formación de las distintas especies posibles está determinada por la cinética, termodinámica y las condiciones experimentales de la reacción así como por el tipo de funcionalización existente en los derivados de la Hpymo.

Para la modulación del tamaño de los ciclos también se han utilizado combinaciones de ligandos lineales, como la 4,4-bipiridina con la Hpymo. Por ejemplo, la reacción llevada a cabo entre los compuestos cíclicos  $[\text{Pd}(\text{en})(\text{pymo}-\text{N}^1, \text{N}^3)]_4^{4+}$  y  $[\text{Pd}(\text{en})(\text{bp}-\text{N}^4, \text{N}^{4'})]_4^{8+}$ , en medio acuoso y seguida por espectroscopia  $^1\text{H}$  RMN, ha dado lugar a una especie heterotópica con ligandos 2-pymo y 4,4'-bipiridilo.

Los compuestos anteriormente mencionados han sido estudiados mediante espectroscopia 1D y 2D  $^1\text{H}$  RMN y, en los casos que ha sido posible, por difracción de rayos X en monocristal. Dichos estudios han puesto de manifiesto que, el ligando 4,7-fen presenta un modo de coordinación  $\text{N}^4, \text{N}^7$ -exobidentado y los ligandos 2-Hpymo y derivados un modo de coordinación  $\text{N}^1, \text{N}^3$ -exobidentado.

Con objeto de obtener oligómeros cíclicos capaces de dar una respuesta química en presencia de moléculas huésped, se ha llevado a cabo una estrategia de síntesis para funcionalizar dichos complejos con un grupo electroquímicamente activo de ferroceno. De esta manera se ha conseguido funcionalizar con éxito el ligando 2-hpymo en posición 5 con el sustituyente etinilferroceno incorporándolo a un oligómero cíclico a través de una reacción de intercambio de ligandos, obteniendo la especie  $[\text{Pd}_3(\text{en})_3(4,7\text{-fen}-\text{N}^4, \text{N}^7)_2(\text{f-pymo}-\text{N}^1, \text{N}^3)]_5^{5+}$  (10) en disolución.

La funcionalización de los grupos protectores con sustituyentes ferroceno ha conducido hasta el momento a la formación de fragmentos metálicos cis protegidos, y se sigue trabajando para aislar los oligómeros cíclicos funcionalizados a partir de los mismos.

Se han estudiado los procesos de reconocimiento molecular de las especies 1Pd, 1Pt, 2, 7c y 8a frente a aniones de interés biológico como los mononucleótidos adenosina-5'-monofosfato (AMP), citidina-5'-monofosfato (CMP), guanosina-5'-monofosfato (GMP) y timidina-5'-monofosfato (TMP). El estudio de la interacción entre las moléculas receptoras y huésped se ha llevado a cabo mediante espectroscopía de  $^1\text{H}$  RMN en  $\text{D}_2\text{O}$ . Los ensayos realizados demuestran que estas especies dan lugar a un reconocimiento molecular positivo de dichos mononucleótidos. Por ejemplo, se han encontrado constantes de asociación que varían entre de  $85 \pm 6 \text{ M}^{-1}$  para la interacción 1Pd-AMP y  $24 \text{ M}^{-1}$  para la interacción 7c-AMP. Sin embargo, no se ha apreciado una interacción enantioselectiva entre las especies homoquirales 2 y los mononucleótidos.

En todos los casos, tras la interacción con las moléculas huésped, se produjo una ruptura de los metalomacrociclos, excepto para la especie 1Pt, lo que está de acuerdo con la inercia de los enlaces Pt-N.

La capacidad de estos sistemas para reconocer mononucleótidos nos motivo a extender estos estudios a la interacción de estas especies catiónicas de tipo metalocalix[n]areno frente al DNA. Para este estudio se eligió la serie de complejos catiónicos tetranucleares de platino 4H, 4Cl, 4Br y 4I, y DNA de ternero (ct-DNA). Los estudios realizados entre las especies 4H, 4Cl, 4Br y 4I y ct-DNA se han llevado a cabo mediante el uso de técnicas biofísicas (UV-vis, dicroísmo circular (CD), dicroísmo lineal (LD), electroforesis en gel de agarosa, fluorescencia) así como por microscopía de fuerza atómica (AFM). Los resultados obtenidos ponen de manifiesto que se produce una importante interacción de naturaleza supramolecular entre los cuatro metalocalixarenos y el ct-DNA que inducen una secuencia de cambios conformacionales inusuales como resultado de esta interacción. Es interesante destacar que a bajas concentraciones de complejo se produce un enrollamiento de las hebras de DNA alrededor de los metalocalixarenos. Posteriormente en concentraciones más elevadas de complejo este efecto se revierte conduciendo a la formación de hebras extremadamente alargadas.

## 2.- INTRODUCCION

### 2.1.- Antecedentes y situación actual del tema de investigación

La Química Supramolecular se ha definido como “la química mas allá de la molécula, que estudia las entidades organizadas de alta complejidad que resultan de la asociación de dos o más moléculas mediante enlaces intermoleculares no-covalentes”.<sup>1</sup>

Este nuevo concepto de química fue introducido por J. M. Lehn en 1978. Desde entonces, el interés que despierta este nuevo y fascinante punto de vista de la química no ha parado de crecer, dando lugar a nuevas fronteras que conquistar por los investigadores del nuevo milenio.

La química supramolecular estudia las supramoléculas o entidades supramoleculares, con características tan definidas como las propias moléculas. Las supramoléculas son a las moléculas y a los enlaces intermoleculares lo que las moléculas son a los átomos y al enlace covalente.<sup>2</sup> J. M. Lehn dice que el átomo, la molécula y la supramolécula son en química lo que la letra, la palabra y la frase en el lenguaje.

Este nuevo concepto va mas lejos que la química molecular clásica basada en el enlace covalente. En la Química Supramolecular, las especies supramoleculares están caracterizadas tanto por la distribución espacial de sus componentes, su arquitectura o superestructura, como por la naturaleza de los enlaces intermoleculares que mantienen todos esos componentes unidos.<sup>3</sup> Estas supramoléculas poseen propiedades estructurales, conformacionales, termodinámicas, cinéticas y dinámicas bien definidas.

Aunque la química supramolecular moderna emerge del estudio de macrociclos como los éteres corona, ciclofanos, calixarenos, criptando, etc, actualmente esta dominada por motivos biomiméticos de interacciones débiles tales como enlaces de hidrógeno, interacciones de apilamiento  $\pi - \pi$ , fuerzas electrostáticas y de Van der Waals, interacciones hidrofobicas e hidrofílicas, etc.

El reconocimiento molecular constituye el principio básico de la *Química Supramolecular*, ya que la unión selectiva de un substrato específico con su receptor produce una supramolécula y supone un proceso de reconocimiento molecular.<sup>2</sup> Una de las áreas más desarrolladas dentro de la Química Supramolecular concierne a la aplicación específica del reconocimiento molecular, denominada auto-ensamblaje (self-assembly). El auto-ensamblaje es un término amplio que se puede utilizar para designar la evolución hacia un ordenamiento espacial a través de la conexión espontánea de muchos componentes para generar entidades discretas o extendidas.

El auto-ensamblaje, centrado en la química de la coordinación, supone la generación espontánea de arquitecturas supramoleculares bien definidas a partir de ligandos orgánicos e iones metálicos y se presenta como una alternativa esperanzadora, a los métodos de síntesis orgánica convencionales, para obtener moléculas de gran tamaño. Constituye un método de síntesis en pocos pasos de reacción, con elevados rendimientos y en un equilibrio termodinámico entre los constituyentes y el producto final.<sup>4</sup>

En los últimos años se han realizado numerosos trabajos de investigación que ponen de manifiesto la extraordinaria importancia de los metales de transición en estos procesos de auto-asociación y que conducen a la formación de nanoestructuras o compuestos de coordinación poliméricos.<sup>5,6</sup> Igualmente se han publicado interesantes artículos acerca de las propiedades de estos sistemas como receptores moleculares, así como de su aplicación en campos tan diversos como la catálisis,<sup>7</sup> sensores químicos, farmacología,<sup>8</sup> etc.

Uno de los tipos de arquitectura molecular más interesantes son aquellos que presentan una cavidad en su estructura, tipo capsula o cesta molecular (Figura 2.1),<sup>9</sup> capaces de actuar como receptores biomiméticos, de estabilizar especies altamente reactivas en su interior y de llevar a cabo reacciones selectivas confinadas en el interior de sus cavidades.<sup>10</sup>

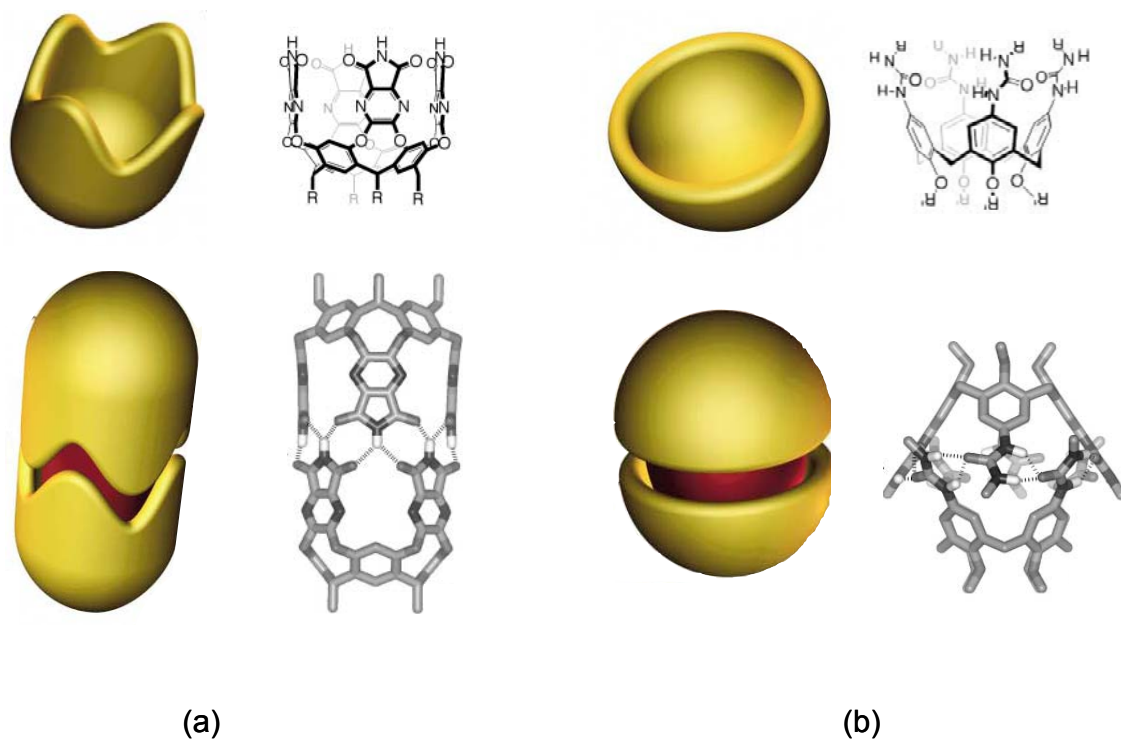


Figura 2.1.- a) Auto-ensamblaje de una cavidad imino sustituida para dar lugar a una cápsula capaz de albergar moléculas huésped.<sup>9b</sup> b) Auto-ensamblaje de un calix[4]areno tetraurea para formar un cápsula capaz de albergar moléculas huésped.<sup>9a</sup>

Los calixarenos orgánicos clásicos, y macrociclos relacionados, constituyen un ejemplo sencillo y muy versátil de estos compuestos tipo capsula o cesta molecular. Los calixarenos se obtienen a partir de una condensación de fenoles, sustituidos en diferentes posiciones, y unidades de formaldehído, dando lugar a ciclos de diferentes tamaños con cavidades bien definidas. El estudio de las propiedades de estas cavidades ha dado lugar a un importante campo de investigación que ha puesto de manifiesto la extraordinaria función de los calixarenos como ligandos y como receptores moleculares para pequeñas moléculas, iones y la unión de metales en su cavidad y en la periferia.<sup>11</sup>

El interés por las cualidades receptoras de los calixarenos clásicos ha despertado un gran interés por el desarrollo y la investigación de sistemas análogos que implementen sus propiedades. Este ímpetu por la búsqueda de nuevos sistemas ha dado lugar a la formación de compuestos de coordinación análogos a los calixarenos, los cuales amplían y mejoran las propiedades de estos

como resultado de las propiedades catalíticas, magnéticas espectroscópicas y esteroquímicas intrínsecas a los iones metálicos.<sup>12</sup>

Los metalocalixarenos poseen una estructura estrechamente relacionada a la de los calixarenos, donde la entidad de unión clásica, normalmente un grupo metileno  $\text{CH}_2$ , ha sido reemplazada por una entidad metálica (Figura 2.3). La obtención de estos compuestos de coordinación se obtiene a partir de un proceso de auto-ensamblaje, con grandes rendimientos y en pocas etapas de reacción, entre una entidad metálica y un ligando orgánico, con átomos donadores, que aporte ángulos de enlace apropiados.

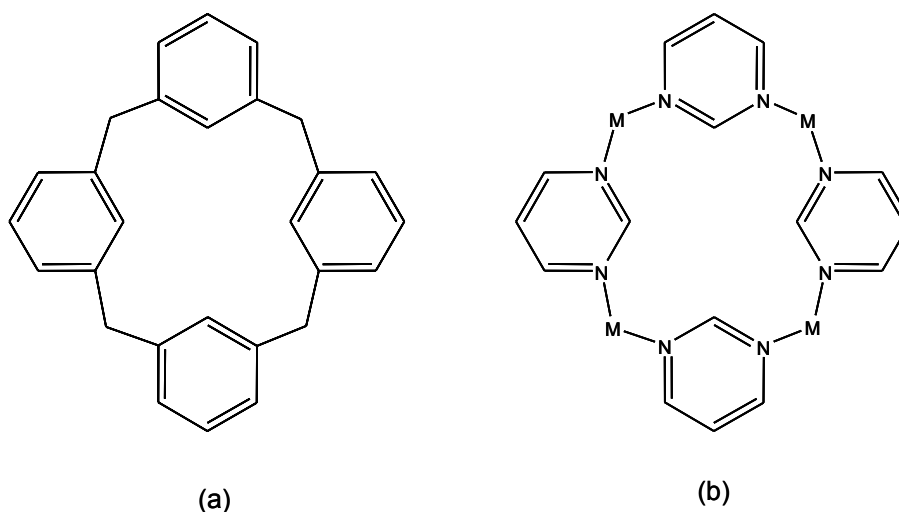


Figura 2.3.- Analogía entre la estructura general de un a) calix[4]areno clásico y b) un metalocalix[4]areno, donde los grupos metileno han sido reemplazados por un metal.

Además, los metalocalixarenos, al igual que los calixarenos clásicos, han demostrado una alta capacidad para albergar moléculas en el interior de sus cavidades (Figura 2.4). Hay que resaltar que la mayoría de estas cavidades están cargadas positivamente, siendo apropiadas para dar interacciones con substratos aniónicos<sup>13</sup>, incluyendo el reconocimiento selectivo de mononucleótidos,<sup>13a,c</sup> y participando, eventualmente, en procesos de plantilla aniónica (anion template process).<sup>14</sup>

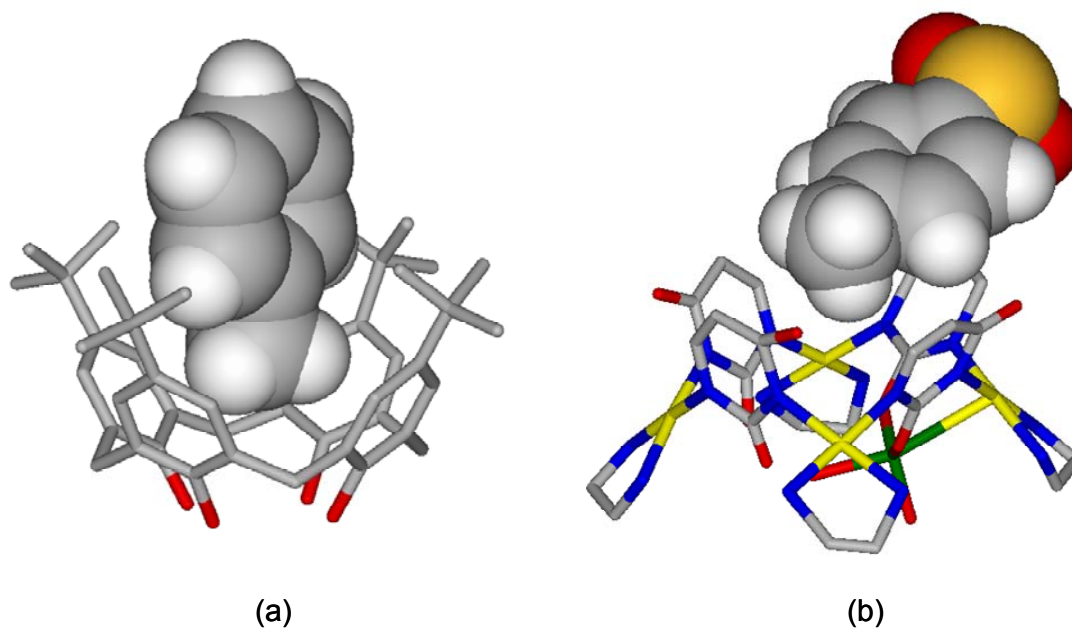


Figura 2.4.- Procesos de reconocimiento molecular en el interior de las cavidades de un a) calix[4]areno y un b) metalocalix[4]arenos  $[(en)_4Pt_4(uracilato)_4Zn(H_2O)_2](Tol-SO_3)NO_3 \cdot nH_2O$ .

### Interacciones Supramoleculares y DNA

El DNA codifica las bases moleculares de la vida, y casi todos los aspectos de la vida se organizan a nivel molecular. A pesar de que el DNA posee la información esencial para la vida, dentro de los sistemas biológicos su estructura y función están reguladas por proteínas.

En la actualidad se han logrado importantes avances que han permitido conocer la secuencia genética de diferentes especies, pero aún se sigue trabajando para llegar a entender los procesos que regulan el código genético y como poder estimular o prevenir dichos procesos. Conseguir este objetivo ofrece importantes beneficios potenciales para la calidad de vida, ya que sería crucial para la lucha contra muchas enfermedades causadas por una alteración del proceso genético, por un daño en el propio DNA o causadas por la presencia de DNAs externos, como por ejemplo el de los virus.



Para lograr el entendimiento de dichos procesos se requiere una gran cantidad de herramientas moleculares que sean capaces de reconocer secuencias específicas del código genético de una manera selectiva. En los sistemas biológicos, este reconocimiento de secuencias específicas es llevado a cabo por la superficie de algunas proteínas, las cuales interaccionan de manera no covalente con el DNA. Esta interacción generalmente se produce en el surco mayor,<sup>15</sup> que es particularmente atractivo para el reconocimiento del DNA ya que contiene mas unidades donadoras y aceptoras de enlaces de hidrógeno que el surco menor, y además posee un tamaño mas adecuado y una forma mas variable con la secuencia de bases.

Actualmente existen entidades artificiales que son capaces de interaccionar con el DNA, y lo hacen esencialmente entre uno de cinco modos diferentes:<sup>16c</sup> covalentemente a las bases del DNA (como el cisplatino), intercalandose entre las bases, uniendose al surco mayor (con la formación de enlaces de hidrógeno), uniendose al surco menor, o uniéndose a los azúcares y grupos fosfatos de la estructura principal.

Algunas biomacromoléculas, como los oligonucleótidos sintéticos y los naturales, reconocen de manera selectiva el DNA a través de la formación de triplexes unidos al surco mayor del DNA.<sup>17a</sup> Otros oligonucleótidos neutros análogos pueden dar lugar a efectos similares de reconocimiento, aunque comúnmente estos lo realizan a través de un desplazamiento de una hebra.<sup>17b</sup>

Este reconocimiento molecular del DNA por medio de biomacromoléculas contrasta con el producido por aquellas moléculas sintéticas de menor tamaño. Normalmente estas pequeñas moléculas capaces de participar en procesos de reconocimiento del DNA, en parte por su pequeño tamaño, lo hacen intercalandose entre los pares de bases<sup>16</sup> de la estructura o uniéndose al surco menor.<sup>18</sup>

La unión de complejos metálicos al DNA a través de la formación de enlaces metal-ligando (por ejemplo, el cisplatino) ha sido ampliamente estudiada y generalmente se centra en la unión al nitrógeno N7 de la guanina o de la adenina.<sup>19</sup> Además, el cisplatino y sus análogos carboplatino, nedaplatino y

osoliplatino, cuyo objetivo parece ser el DNA, han sido los agentes anticancer mas utilizados clínicamente.<sup>19</sup> Sin embargo, la interacción no covalente de los complejos metálicos es un área menos desarrollada y que se centro inicialmente en complejos con unidades planas aptas para ser intercaladas entre las bases. Pero el pequeño tamaño de este tipo de sistemas hace que no sean capaces de alcanzar más de 2 ó 3 pares de bases y por lo tanto no son estructuras apropiadas para reconocer una secuencia específica.

La química supramolecular proporciona una excelente metodología con una gran variedad de posibilidades de síntesis que permite obtener una selección de estructuras sintéticas, a caballo entre las grandes biomoléculas y las pequeñas moléculas, que puedan dar lugar a procesos de reconocimiento molecular del DNA de manera específica. Dentro de este campo, el ensamblaje supramolecular basado en la química de la coordinación es particularmente atractivo para el diseño de entidades que reconozca, de manera no covalente, al DNA,<sup>20</sup> ya que la carga catiónica de los centros metálicos contribuye a la participación de las interacciones de carácter no covalente frente al DNA aniónico.

Los cilindros supramoleculares son un eminente ejemplo de esta hipótesis. Estos compuestos de coordinación, obtenidos a partir de un proceso de auto-ensamblaje de un ión metálico y un ligando orgánico apropiado, interaccionan de manera enantioselectivamente al DNA, produciendo al mismo tiempo alteraciones en su estructura.<sup>21</sup> Estas especies también han dado lugar al reconocimiento supramolecular de la unión de tres hebras de DNA que convergen en un mismo punto (Figura 2.5).<sup>21a</sup>

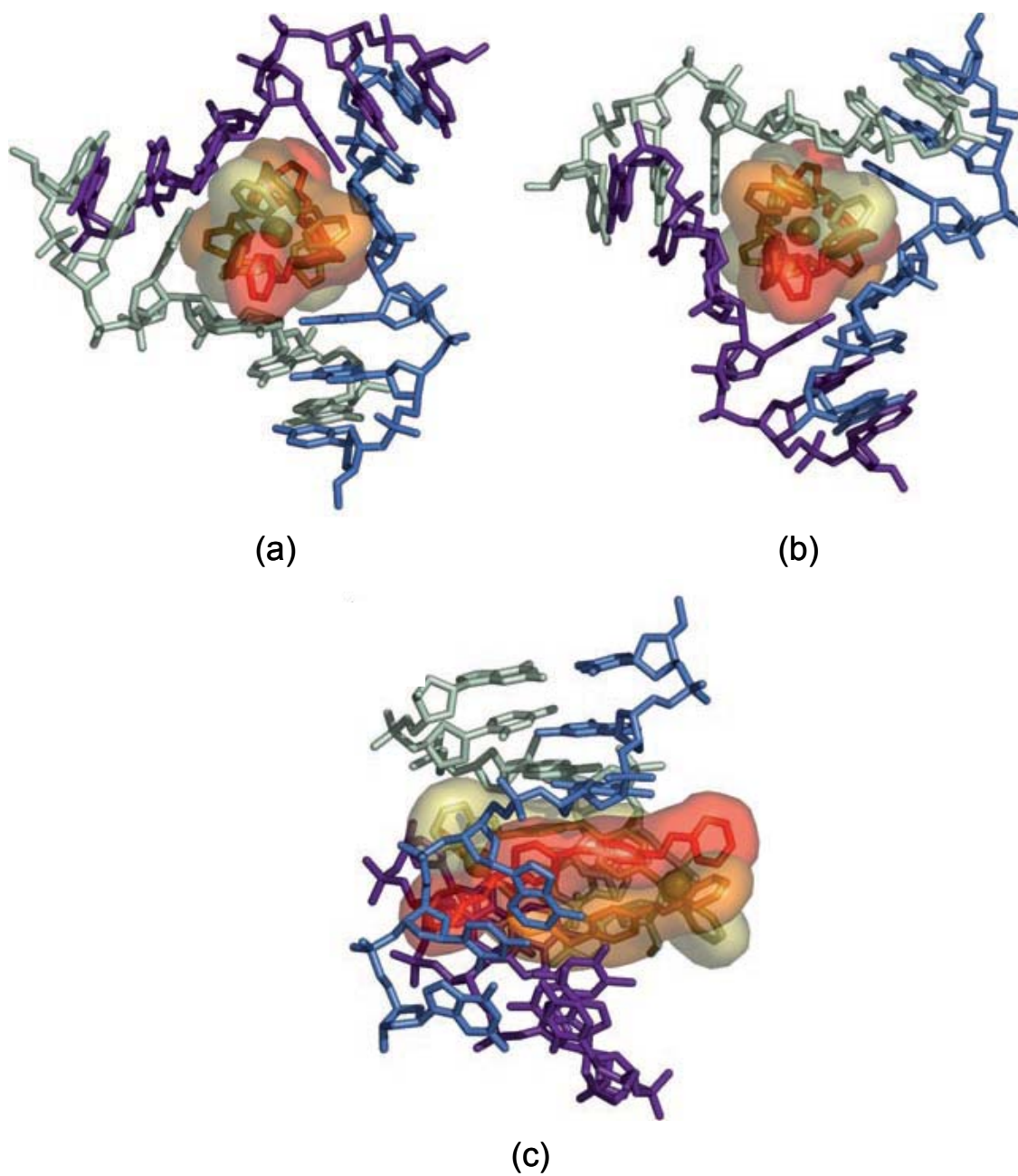


Figura 2.5.- Estructura tridimensional de la interacción supramolecular entre el complejo cilíndrico  $[\text{Fe}_2(\text{C}_{25}\text{H}_{20}\text{N}_4)_3]^{4+}$  y el DNA. El  $\text{Fe}^{2+}$  es representado como esferas. a) Perspectiva del surco menor, b) perspectiva del surco mayor, c) perspectiva lateral.

## 2.2.- Estrategia de síntesis: síntesis dirigida de oligómeros cíclicos por el método de arquitectura molecular.

El método de síntesis de oligómeros cíclicos empleado en este trabajo de investigación se basa en el uso de bloques estructurales precursores de geometría adecuada (fragmentos metálicos y ligandos puente) para la obtención dirigida de compuestos de coordinación polinucleares cíclicos de tamaño y forma predeterminada. Esta estrategia de síntesis se conoce como arquitectura molecular y se basa en el empleo de reactivos de una biblioteca molecular que contengan una información química y estructural predeterminada.<sup>22,5g</sup> Estos sistemas cíclicos se van a obtener a partir de un proceso de autoensamblaje entre fragmentos metálicos y ligandos orgánicos puente con geometría adecuada. En nuestro caso, se van a emplear iones metálicos que tengan algunas posiciones de coordinación protegidas y ligandos orgánicos con posiciones de coordinación dirigidas con el fin de impedir la formación de polímeros, favoreciendo la formación de los oligómeros cíclicos deseados.

Se trata por tanto de un método de síntesis muy versátil y racional en donde la elección de diferentes parámetros de los bloques estructurales precursores nos va a permitir diseñar, modular y funcionalizar adecuadamente los sistemas deseados (Figura 2.6):

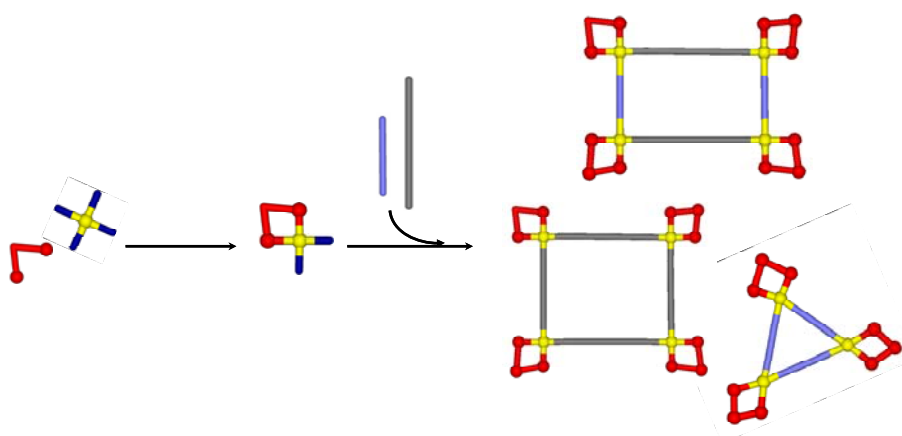


Figura 2.6- Esquema de la síntesis de un oligómero cíclico a partir de iones metálicos (estrellas), grupos protectores (esquinas) y ligandos puente (barras).

Las distintas variables que van a jugar un papel importante a la hora de obtener el producto deseado van a ser las siguientes:

- Ión metálico: hay que tener en cuenta la naturaleza química del mismo así como su estereoquímica que van a condicionar la estabilidad, reactividad y geometría final del sistema.

- Grupos protectores: además de su función como bloqueadores de determinadas posiciones de coordinación, estos grupos pueden aportar características muy importantes al sistema; quiralidad, funcionalidad electrónica (obtención de sensores), polaridad...etc. Su correcta elección determinará muchas de las propiedades de los sistemas sintetizados.

- Ligandos puente: constituyen uno de los parámetros más importantes a la hora de diseñar la estructura. Los ligandos puente van a contener átomos capaces de dar enlaces de coordinación con dos o más iones metálicos. El tamaño, disposición de los átomos donadores y funcionalidad de los mismos permitirán la obtención de una gran variedad de sistemas con diferentes propiedades.

- Efecto plantilla: el disolvente u otros reactivos presentes en el medio de reacción pueden condicionar la forma y el tamaño de los oligómeros.

A continuación se va a hacer un estudio detallado de los puntos anteriores.

## · Bloques Estructurales Precursores de Oligómeros Metálicos Cíclicos

### FRAGMENTOS METÁLICOS PRECURSORES, CON POSICIONES CIS Y FAC BLOQUEADAS.

Se han seleccionado iones metálicos con geometrías planocuadrada y octaédrica para sintetizar distintos tipos de fragmentos metálicos precursores con posiciones *cis* y *fac* bloqueadas.

Los iones Pd(II) y el Pt(II) son un claro ejemplo de la direccionabilidad del fragmento metálico en el proceso de autoensamblaje. La geometría plano cuadrada ( $d^8$ ) de estos iones da lugar a la formación de ángulos de enlace de  $90^\circ$ . Si dos de estas posiciones se protegen con un ligando bidentado adecuado en disposición *cis*- se va a favorecer la formación de oligómeros cíclicos sobre polímeros. Estos iones presentan además una cinética adecuada para este tipo de procesos, en los que el producto final de síntesis es el producto termodinámicamente más estable, sobre todo en el caso del Pd(II), ya que en el caso del ion Pt(II) la cinética puede determinar en algunos casos el producto de la reacción.

Como grupos protectores hemos seleccionado un grupo de ligandos N-dadores, P-dadores y C-dadores que actúen como ligandos polidentados, uniéndose al centro metálico de manera que bloqueen dos posiciones *cis*- del poliedro de coordinación. De esta manera, se han obtenido fragmentos metálicos de tipo *cis*-[ $aM(H_2O)_2$ ] ( $M = Pd, Pt$ ;  $a =$  etilendiamina (en), R,R-1,2-diaminociclohexano (R,R-dach), S,S-1,2-diaminociclohexano (S,S-dach), ferrocenilmetilbis(2-piridil)amina (fbpa), y alilo) (Figura 2.7).

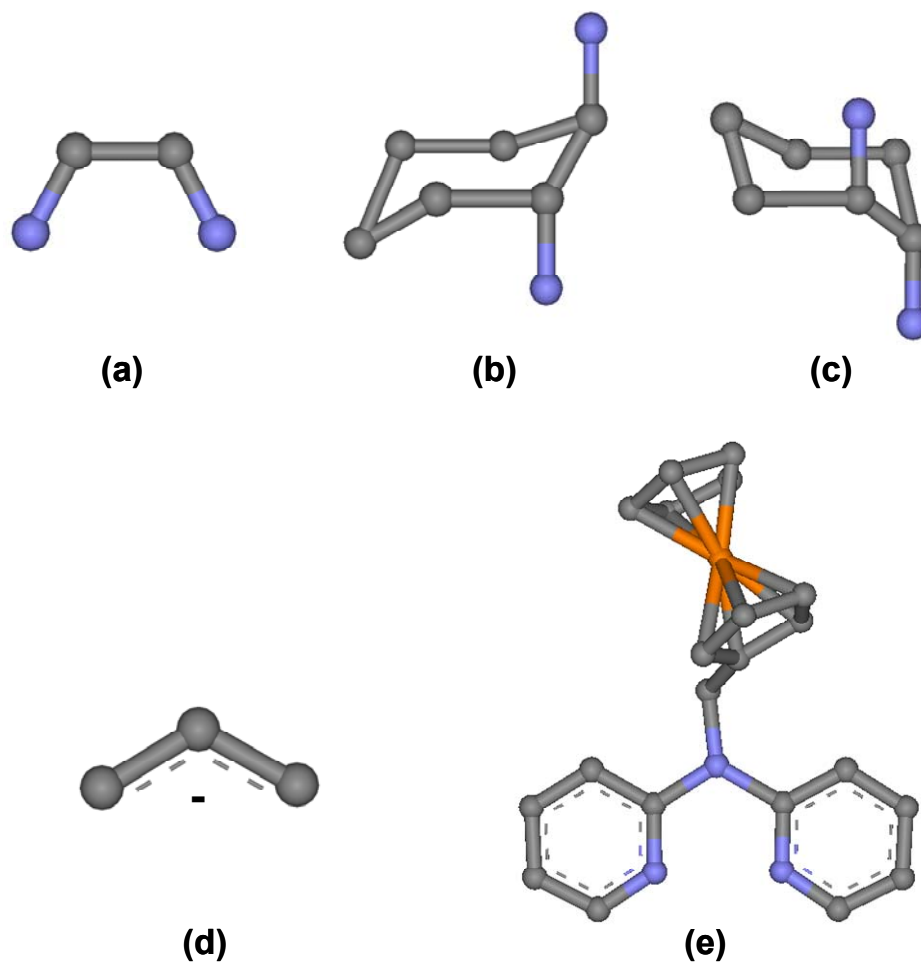


Fig. 2.7- Grupos protectores (a) etilendiamina (en), (b) R,R-1,2-diaminociclohexano (R,R-dach), (c) S,S-1,2-diaminociclohexano (S,S-dach), (d) alilo, (e) ferrocenilmetilbis(2-piridil)amina (fba). Carbono, Nitrógeno, Hierro.

Asimismo, con el fin de conseguir otro tipo de geometrías de los oligómeros cíclicos se llevaron a cabo reacciones con iones metálicos de geometría octaédrica, como el Ru (II) hemos utilizado el fragmento metálico fac-[(cimene)Ru(H<sub>2</sub>O)<sub>3</sub>]<sup>2+</sup>, como precursor de oligómeros cíclicos (Figura 2.8).

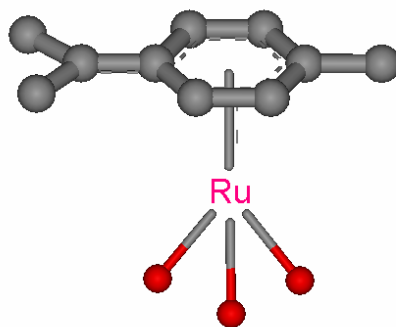


Fig. 2.8- Fragmento fac-[(cimene)Ru(H<sub>2</sub>O)<sub>3</sub>]<sup>2+</sup>. Carbono, Nitrógeno, Oxígeno.

### LIGANDOS PUENTE

El tipo de ligandos que se ha empleado en este trabajo son sistemas N-heterocíclicos, y se pueden clasificar en dos grupos atendiendo a su geometría, i) ligandos lineales y ii) ligandos angulares.

i) Ligandos lineales. Este tipo de ligandos se caracteriza por la disposición de los vectores de los átomos donadores a 180°.

Los ligandos lineales puente utilizados han sido la 4,4'-bipiridna (bp), la 4,4'-azopiridina (abp) y la trans-1,2-bis(4-piridil)-eteno (t-bpe). (Figura 2.9).

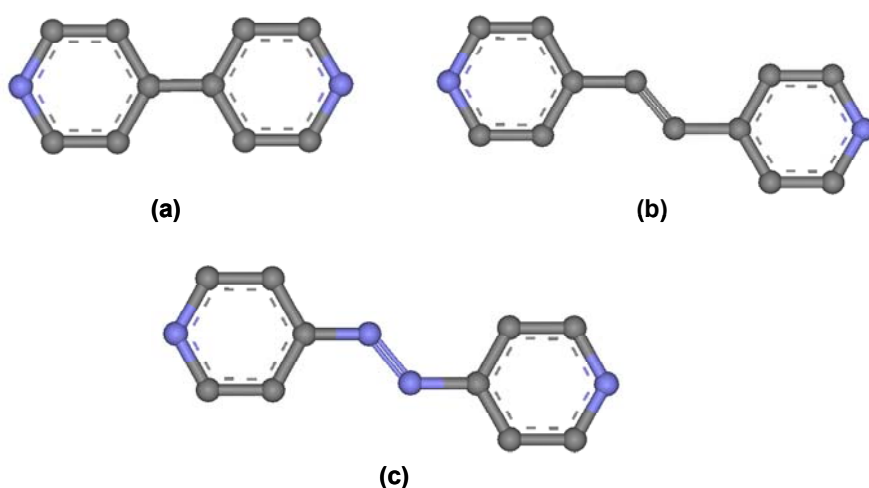


Fig. 2.9.- Ligandos lineales puente (a) 4,4'-bipiridna (bp), (b) 4,4'-azopiridina (abp) y (c) trans-1,2-bis(4-piridil)-eteno (t-bpe). Carbono, Nitrógeno.



Estas estructuras aportan ángulos de  $180^\circ$ , sin embargo es posible que se produzca una isomerización de los dos últimos de la conformación E lineal a la Z-angular (Figura 2.10), lo cual podría tener una influencia muy importante en la estructura final del oligómero cíclico.

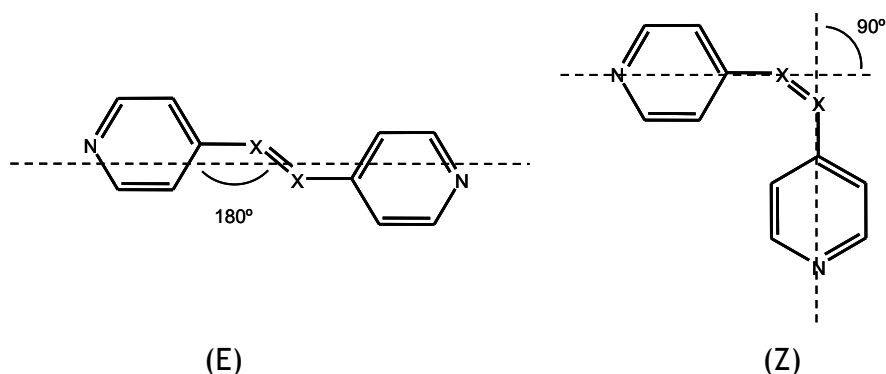


Fig. 2.10.- Representación de los ángulos entre las posiciones de coordinación para los ligandos 4,4'-azobispiridilo ( $X = N$ ) y 1,2-bis(4-piridil)-eteno ( $X = CH$ ) en las conformaciones E y Z.

ii) Ligandos angulares. En este caso los átomos donadores van a tener una disposición distinta de  $180^\circ$ .

Como ligandos angulares se han utilizado una serie de derivados del heterociclo pirimidina y la 4,7-fenantrolina (4,7-fen). La característica principal de ambos sistemas es que presentan ángulos de  $120^\circ$  (Figura 2.11), lo cual va a favorecer en combinación con entidades metálicas adecuados la formación de oligómeros metálicos cíclicos.

Los derivados pirimidínicos utilizados han sido: 2-hidroxipirimidina (Hpymo), 4-metil-2-hidroxipirimidina (Hmpymo), 4,6-dimetil-2-hidroxipirimidina (Hdmpymo) y 5-carboxi-pirimidina (ca-Hpym). Con el fin de estudiar nuevas propiedades en los metalocalix[n]arenos se funcionalizó la Hpymo con nuevos grupos funcionales en posición 5, obteniendo nuevos ligandos; 5-fluoro-2-hidroxipirimidina (F-Hpymo), 5-cloro-2-hidroxipirimidina (Cl-Hpymo), 5-bromo-2-hidroxipirimidina (Br-Hpymo), 5-iodo-2-hidroxipirimidina (I-Hpymo), , 5-etinilferroceno-2-hidroxipirimidina (f-Hpymo) (Figura 2.11).

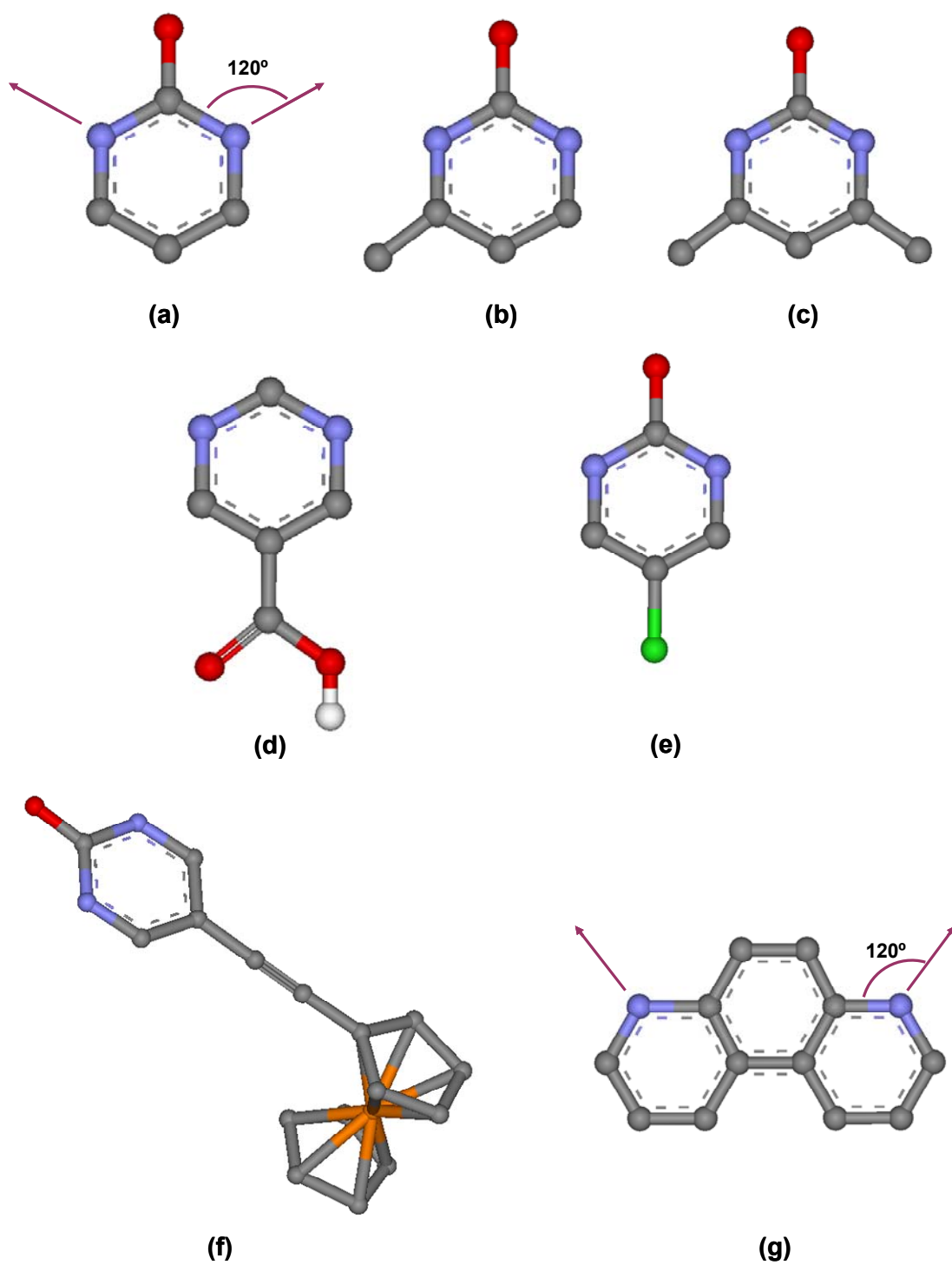


Fig. 2.11.- Representación de los ligandos pirimidínicos (a) 2-hidroxipirimidina (Hpymo), (b) 4-metil-2-hidroxipirimidina (Hmpymo), (c) 4,6-dimetil-2-hidroxipirimidina (Hdmpymo), (d) 5-carboxi-pirimidina(ca-Hpym), (e) 5-X-2-hidroxipirimidina (5X-Hpymo, X = F, Cl, Br, I), (f) 5-etinilferroceno-2-hidroxipirimidina (f-Hpymo), , y de la (g) 4,7-fenantrolina (4,7-fen). Carbono, Nitrógeno, Oxígeno, Hierro, Halógeno.

A priori, los ligandos heterocíclicos anteriormente mencionados proporcionan valores de ángulos concretos que permiten utilizar un método de síntesis dirigido (arquitectura molecular). Se podría esperar obtener ángulos de coordinación rígidos, entre los ligandos puente y los fragmentos metálicos, que nos condujera a una estructura previamente diseñada. Pero, debido a desviaciones de los ángulos de coordinación entre el metal y el ligando (Figura 2.12), geometría del metal, posición del metal en el espacio, ángulos de torsión C-C en los heterociclos, etc,<sup>22b</sup> pueden producirse desviaciones angulares de los valores teóricos por lo que no se obtienen las estructuras inicialmente esperadas sino otras, lo que le da una versatilidad adicional a este método de síntesis.

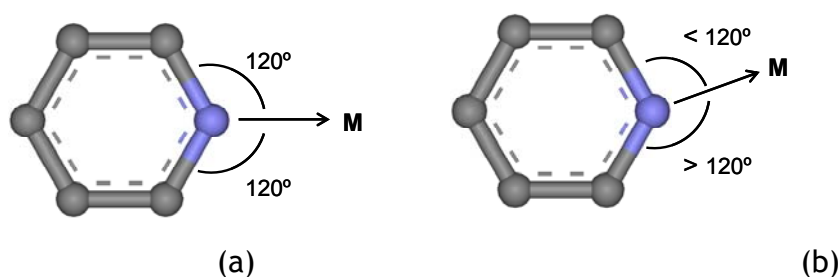


Fig. 2.12.- (a) Ángulos de coordinación esperados y predecibles. (b) Ángulos de coordinación no predecibles, sometidos a desviaciones. Carbono, Nitrógeno.

### 3.- JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

#### 3.1.- Justificación

El diseño racional de compuestos de coordinación cíclicos con una forma, tamaño, selectividad y capacidad de encapsulación determinada que permitan dar procesos de reconocimiento molecular en el interior de sus cavidades es de gran interés debido a su alto potencial de aplicaciones en áreas como la catálisis, el diseño de sensores moleculares, proceso de transferencia de fase, la síntesis de receptores selectivos y la interacción específica y selectiva de moléculas de interés biológico.

Por estos motivos el estudio de sistemas metalomacrocíclicos análogos a los cálix[n]arenos orgánicos clásicos poseedores de nuevas e interesantes propiedades han abierto un prometedor campo de investigación en la síntesis y empleo de los nuevos sistemas para descubrir y estudiar nuevos aspectos de procesos de reconocimiento molecular, especialmente sugerentes en el área de la bioinorgánica con el reconocimiento selectivo y específico del DNA.

#### 3.2.- Objetivos

1. Se va a llevar a cabo la síntesis de oligómeros cíclicos de tipo metalocalixareno tanto homotópicos como heterotópicos. La estrategia de síntesis va a emplear fragmentos metálicos con posiciones de coordinación protegidas de tipo  $\text{cis-[aM(H}_2\text{O)}_2]$  ( $M = \text{Pd, Pt}$ ;  $a = \text{etilendiamina (en), R,R-1,2-diaminociclohexano (R,R-dach), S,S-1,2-diaminociclohexano (S,S-dach), ferrocenilmetilbis(2-piridil)amina (fbpa) y alilo}$ ) y ligandos orgánicos 4,7-fenantrolina, 4,4'-bipiridina, la 4,4'-azobispiridina y/o derivados pirimidínicos (2-hidroxipirimidina (Hpymo), 4-metil-2-hidroxipirimidina (Hmpymo), 4,6-dimetil-2-hidroxipirimidina (Hdmpymo) y 5-carboxi-pirimidina (ca-Hpym), 5-fluoro-2-hidroxipirimidina (F-Hpymo), 5-cloro-2-hidroxipirimidina (Cl-Hpymo), 5-bromo-2-hidroxipirimidina (Br-Hpymo), 5-iodo-2-hidroxipirimidina (I-Hpymo). También se intentarán obtener metalocalix[n]arenos a partir de los fragmentos  $\text{fac-}[(\eta^6-$

cymene)Ru(H<sub>2</sub>O)] y ligandos orgánicos 4,7-fenantrolina y derivados pirimidínicos (Hpymo, Hmpymo, Hdmpymo).

2.- Funcionalización de los metalocalix[n]arenos con el fin de obtener nuevas propiedades electroquímicas en este tipo de sistemas. Para ello se utilizarán fragmentos funcionalizados tipo cis-[aM(Cl)<sub>2</sub>] (M = Pd, a = ferrocenilmetilbis(2-piridil)amina (fba), y un nuevo ligando pirimidínico, 5-etinilferroceno-2-hidroxipirimidina (f-Hpymo). Este estudio se realizó en colaboración con la Universidad de Newcastle Upon Tyne (UK), bajo la supervisión del Prof. Andrew Houston, y con la financiación del Ministerio de Ciencia y Tecnología.

3.- Caracterización de los productos obtenidos mediante técnicas de análisis elemental, técnicas espectroscópicas (<sup>1</sup>H RMN y 2D NOESY, UV-Vis, IR), voltametría cíclica y difracción de rayos X.

4.- Estudio de las propiedades receptoras de los metalocalix[n]arenos sintetizados frente a la sal sódica de adenosina 5'-monofosfato (AMP), timidina 5'-monofosfato (TMP), citidina 5'-monofosfato (CMP) y guanosina 5'-monofosfato (GMP) en medio acuoso mediante la técnica de espectroscopia <sup>1</sup>H RMN.

5.- Estudios de interacción de los metalocalix[n]arenos frente a ct-DNA mediante el uso de técnicas espectroscópicas de dicroísmo circular (CD) y linear (LD), UV-Vis, fluorescencia y estudio de electroforésis en gel de agarosa. Este estudio se realizó en colaboración con la Universidad de Warwick (UK), bajo la supervisión del Prof. Michael J. Hannon fruto de la acción COST-D20 y del Ministerio de Ciencia y Tecnología.

## 4.- DISCUSIÓN DE RESULTADOS

### 4.1.- Oligómeros cíclicos con ligandos 4,7-fenantrolina puente.

En este apartado se describen los resultados obtenidos de la reacción del ligando 4,7-fenantrolina (4,7-fen), con fragmentos metálicos *cis* protegidos de Pd(II) y Pt(II) y *fac* protegidos de Ru(II).

El proceso de auto-ensamblaje entre la 4,7-fenantrolina y los fragmentos metálicos de geometría plano cuadrada *cis* protegidos,  $[(a)M(H_2O)_2]^{2+}$  ( $M^{2+} = Pd, Pt, a = 1,2$ -etilendiamina (en); *R,R*-1,2-diaminociclohexano (*R,R*-dach); *S,S*-1,2-diaminociclohexano (*S,S*-dach), en medio acuoso a 60°C durante 7h y en relación 1:1, da lugar a la formación de las especies cíclicas  $[(en)M(4,7-fen-N^4, N^7)]_3(NO_3)_6$  ( $M^{2+} = Pd$  (1Pd), Pt (1Pt)) y a las especies homquirales cíclicas  $[(R,R-dach)Pd(4,7-fen-N^4, N^7)]_3(NO_3)_6$  (2a) y  $[(S,S-dach)Pd(4,7-fen-N^4, N^7)]_3(NO_3)_6$  (2b) (Figura 4.1.1).

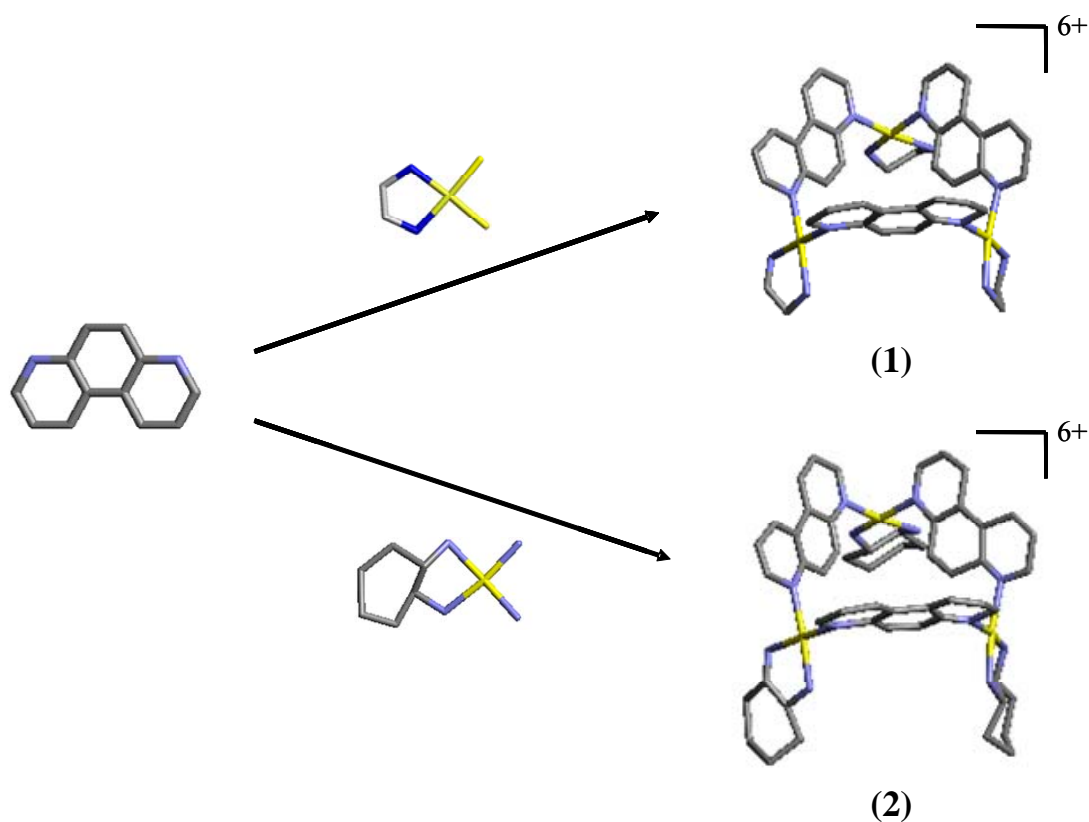


Figura 4.1.1.- Reacción entre la 4,7-fenantrolina, etilendiaminapaladio(II), etilendiaminaplatino(II), (R,R)-dachpaladio(II) y (S,S)-dachpaladio(II), para dar las especies homotópicas **1Pd**, **1Pt**, **2a** y **2b**. Carbono, Nitrógeno, Paladio.

La reacción análoga en medio acuoso de los fragmentos metálicos de geometría octaédrica *fac* protegidos de Ru(II)  $[(\eta^6\text{-p-cimeno})\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$  con la 4,7-fenantrolina a temperatura ambiente, tanto en relación 1:1 como en relación 2:1, da lugar a la formación de la especie tetranuclear cíclica  $[(\eta^6\text{-cymene})_4\text{Ru}_4(4,7\text{-fen-}N^4,N^7)_2(\text{OH})_4]^{8+}$  (**3**) (Figura 4.1.2).

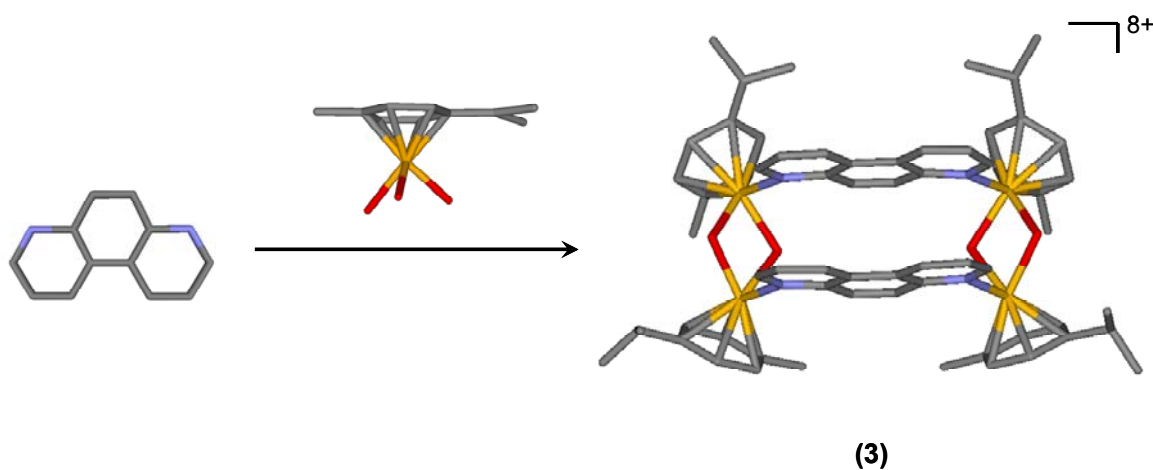


Figura 4.1.2.- Reacción entre la 4,7-fenantrolina y el fragmento metálico *fac* protegido  $[(\eta^6\text{-p-cimeno})\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$  para dar la especie **3**. Carbono, Nitrógeno, Rutenio, Oxígeno.

#### 4.1.1.- Difracción de Rayos X

Se han obtenido cristales adecuados para su estudio mediante difracción de rayos X en monocristal de las especies **1Pd**, **2b** y **3**.

Las especies **1Pd** y **2b** están constituidas por cationes trinucleares de tipo  $[(a)\text{Pd}(4,7\text{-fen-}N^4,N^7)]_3^{6+}$ , contraniones nitrato y moléculas de agua de hidratación. Debe destacarse que en el caso de la especie **1Pd** se han obtenido dos fases cristalinas diferentes a la obtenida por Yu y colaboradores<sup>23</sup> (**1Pd\***) y que a partir de ahora se denominaran **1Pd'** y **1Pd''**. Estas tres fases difieren únicamente en el número de moléculas de agua de cristalización. Una selección

de los parámetros cristalinos de dichas fases cristalinas aparece resumida en la Tabla 4.1.1

De forma análoga la especie 3 se ha obtenido en dos formas cristalinas diferentes, constituidas por cationes tetranucleares  $[(\eta^6\text{-p-cimeno})_4\text{Ru}_4(4,7\text{-fen-N}^4, \text{N}^7)_2(\text{OH})_4]^{8+}$  y contraiones nitrato o triflato. Dichas fases las denominaremos 3N y 3T, refiriendonos a los contraiones presentes en cada una de las especies.

Tabla 4.1.1.- Datos cristalográficos para los compuestos **1Pd\***, **1Pd'**, **1Pd''** y **2b**.

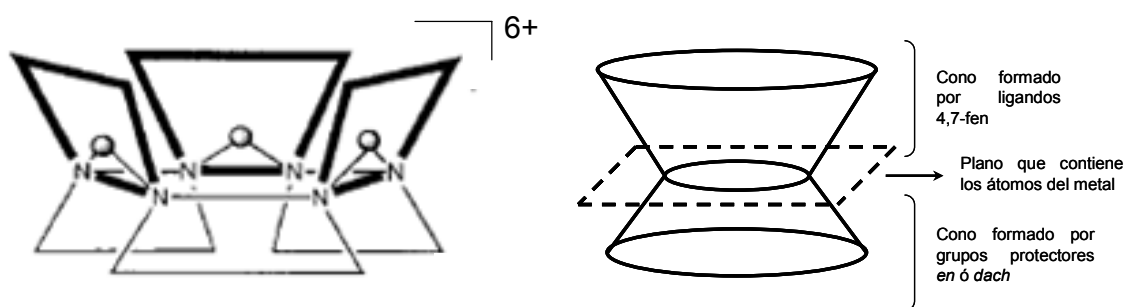
Compuesto	1Pd* <sup>23</sup>	1Pd'	1Pd''	2b
Fórmula	C <sub>42</sub> H <sub>52</sub> N <sub>18</sub> O <sub>20</sub> Pd <sub>3</sub>	C <sub>42</sub> H <sub>58</sub> N <sub>18</sub> O <sub>23</sub> Pd <sub>3</sub>	C <sub>42</sub> H <sub>56</sub> N <sub>18</sub> O <sub>22</sub> Pd <sub>3</sub>	C <sub>54</sub> H <sub>76</sub> N <sub>18</sub> O <sub>23</sub> Pd <sub>3</sub>
M <sub>r</sub>	1736.40	1502.26	1484.27	1664.56
Sistema cristalino	Rómbico	Triclinico	Triclínico	Triclínico
Grupo espacial	Pmn21	P -1	P-1	P-1
a [Å]	21.8807(4)	11.601 (5)	11.680(1)	10.798 (1)
b [Å]	14.7319(3)	20.269 (9)	14.824(1)	14.108 (1)
c [Å]	23.2315(2)	24.040 (1)	16.851(2)	22.088 (2)
α [°]	90	83.077 (1)	99.629(2)	92.363 (2)
β [°]	90	88.622 (1)	96.126(2)	94.118 (2)
γ [°]	90	79.838 (1)	96.232(2)	108.268 (1)
V [Å <sup>3</sup> ]	7488.5(2)	5523.9 (4)	2836.4 (4)	
Z	8	4	2	
ρ <sub>calcd</sub> [mg/m <sup>-3</sup> ]	1.182	1.806	1.718	
μ (Mo-K <sub>α</sub> ) [mm <sup>-1</sup> ]	0.768	1.064	1.03	
T (K)	293(2)	100(2)	100(2)	100(2)
Refins. medidas	19837	64539		
Refins. únicas		24901		
Refins. obs	7874			
Parámetros ref.	648	1439		
R <sub>f</sub> <sup>[a]</sup>	0.1197	0.0682		
wR <sup>2[b]</sup>	0.3421	0.1734		
Goodness of fit	1.744	1.030		
Residuos [eÅ <sup>-3</sup> ]		6.257 / -2.738		



Las estructuras de las especies  $1Pd'$ ,  $1Pd''$  (Figura 4.1.3) y  $2b$  (Figura 4.1.4) ponen de manifiesto que el modo de coordinación de los ligandos de fenantrolina es de tipo exobidentado puente a través de los átomos donadores  $N^4$  y  $N^7$ , lo que conduce a la formación de especies trinucleares cíclicas altamente cargadas ( $6+$ ) de tipo metalocalix[3]areno en conformación cono.

Los tres fragmentos metálicos con geometría plano cuadrada,  $[Pd(en)]^{2+}$  para las especies  $1Pd'$ ,  $1Pd''$  y  $[(S,S-dach)Pd]^{2+}$  para la especie  $2b$ , se disponen en una orientación sin, sin, sin, para dar lugar a las especies  $[(en)Pd(4,7-fen-N^4, N^7)]_3^{6+}$  ( $1Pd'$ ,  $1Pd''$ ) y  $[(S,S-dach)Pd(4,7-fen-N^4, N^7)]_3^{6+}$  ( $2b$ ).

Estos metalocalix[3]arenos se obtienen por la auto-asociación de 6 módulos, tres de los cuales están constituidos por heterocícllos planos y rígidos de fenantrolina y otros tres constituidos por fragmentos metálicos planocuadrados  $[Pd(en)]^{2+}$  para las especies  $1Pd'$ ,  $1Pd''$ , y  $[(S,S-dach)Pd]^{2+}$  para la especie  $2b$ , al igual que la estructura previamente descrita por Yu y colaboradores<sup>23</sup> (Esquema 4.1.1). La disposición de estos módulos da lugar a una estructura de tipo diábolo, constituida por un cono superior de mayor tamaño definido por tres ligandos rígidos de fenantrolina con coordinación exobidentada puente a través de sus nitrógenos  $N^4$  y  $N^7$ , un anillo central conteniendo los centros metálicos y un cono inferior definido por los grupos protectores (*en* ó *dach*) (Esquema 4.1.1). En estos casos el ligando rígido 4,7-fenantrolina constituye los lados de un triángulo equilátero, en cuyos vértices se encuentran los átomos de  $Pd^{2+}$ , a diferencia de un caso previo, descrito en bibliografía,<sup>24</sup> donde este ligando aportaba ángulos de  $60^\circ$  y formaba las esquinas de un triángulo favoreciendo la auto-asociación de tres fragmentos metálicos lineales para dar lugar a otra especie triangular plana.



Esquema 4.1.1.- Estructura esquemática de tipo diábolo de los cationes  $[aPd(fen)]_3^{6+}$  [ $a = en$  ó  $dach$ ] en las especies **1**, **2**.

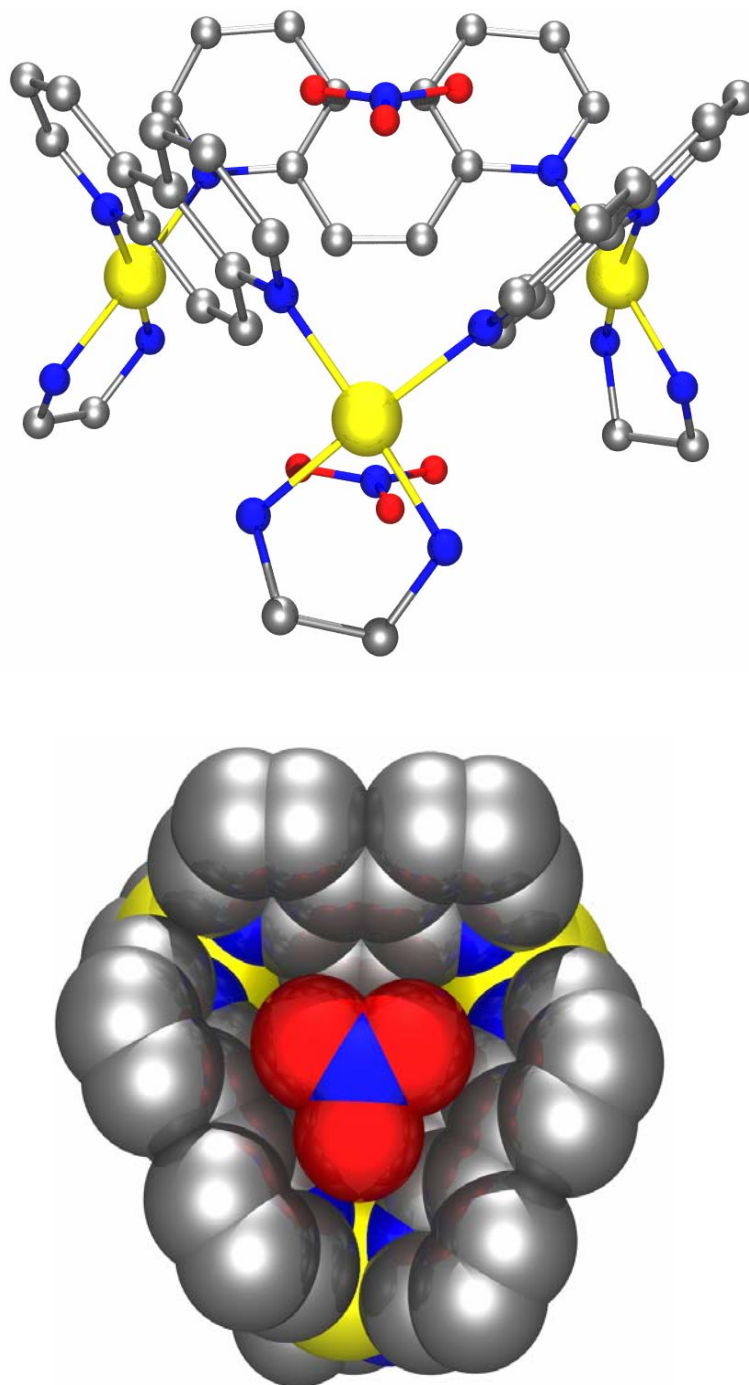


Figura 4.1.3.- Dos perspectivas de la asociación supramolecular  $[(en)Pd(4,7-fen-N^4,N^7)]_3(NO_3)_2^{4+}$  encontrada en las fases cristalinas (**1Pd\***, **1Pd'** y **1Pd''**) determinada por difracción de rayos X en monocristal. Carbono, Nitrógeno, Paladio, Oxígeno. En la figura se muestra la encapsulación de dos grupos nitrato: uno dentro de la cavidad superior formada por los heterociclos de 4,7-fenantrolina y otro en la cavidad inferior formada por los ligandos etilendiamina. Coordenadas de la fase cristalina **1Pd'**.

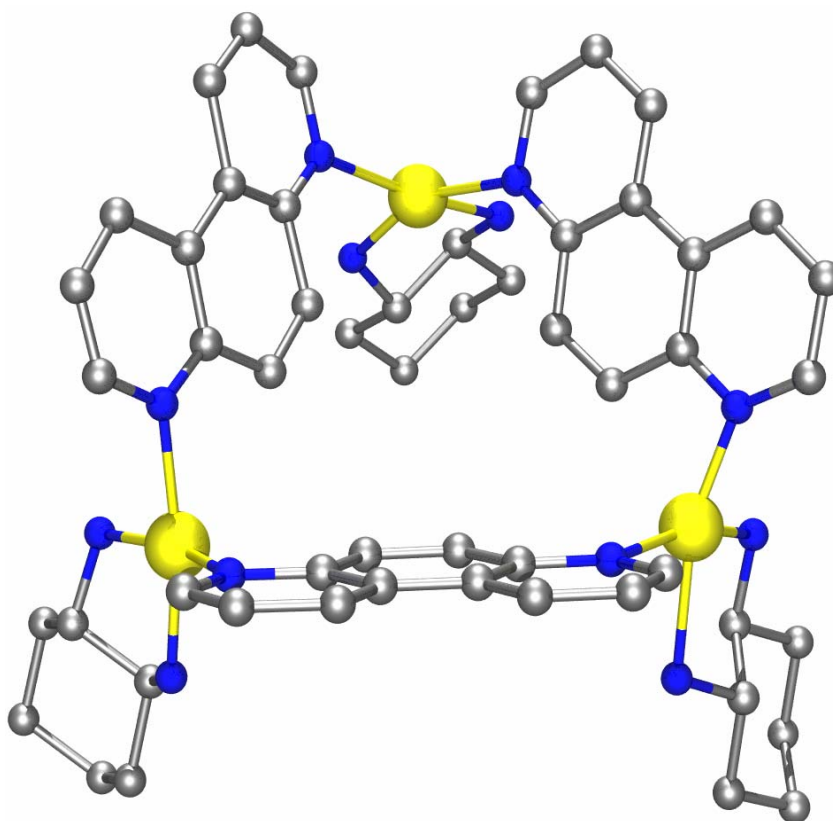


Figura 4.1.4. Perspectiva del catión  $[(S,S\text{-dach})\text{Pd}(4,7\text{-fen-}N^4,N^7)]_3^{6+}$  encontrado en la estructura cristalina de **2b** determinada por difracción de rayos X en monocristal. Carbono, Nitrógeno, Paladio.

Estas estructuras cónicas se pueden comparar con la correspondiente a un calix[3]areno con conformación *cono*,<sup>25</sup> en donde cada fragmento metálico de paladio y cada fenantrolina se pueden relacionar con un grupo metileno y un grupo fenol, respectivamente.

La naturaleza fuertemente aromática de los heterociclos de la fenantrolina y su distribución espacial en estos complejos catiónicos da lugar a una estructura en forma de cono más rígida que las conformaciones trinucleares descritas por Lippert y colaboradores<sup>26,13e,g.</sup> para los sistemas del tipo  $[(\text{en})\text{M}(2,2\text{-bipirazina})]_3^{6+}$ , mas flexibles debido a la posibilidad de rotación del enlace C-C de los ligandos bipirazina. La mayor rigidez conformacional de los sistemas  $[\text{aPd}(4,7\text{-fen-}N^4,N^7)]_3^{6+}$  da lugar a una cavidad altamente preorganizada adecuada para alojar moléculas huésped en su interior, confiriéndole por tanto una mayor capacidad para dar interacciones supramoleculares en el interior de sus

cavidades.<sup>23,13</sup> En este sentido, el encapsulamiento de aniones nitrato, observados en el interior de las cavidades superior e inferior de las especies 1Pd, son indicativas de dicha capacidad para dar lugar a procesos de reconocimiento molecular (Véase Figura 4.1.3).<sup>23</sup>

En las especies 1Pd', 1Pd'' (Figura 4.1.3) los tres átomos de paladio están contenidos en el mismo plano y prácticamente forman un triángulo equilátero con distancias Pd-Pd de 7.63, 7.65 y 7.79 Å para la especie 1Pd', y distancias de 7.64, 7.71, 7.74 Å para la especie 1Pd''. Las dimensiones del cono superior son ligeramente mayores para la especie 1Pd'' con distancias (medidas desde el punto medio de las posiciones de los átomos de carbono C1 y C10) de 7.92, 7.96 y 8.73 Å y una profundidad de 3.59 Å. Para la especie 1Pd' las distancias son de 7.72, 7.88 y 8.15 Å y una profundidad de 3.51 Å.

En las cavidades superior e inferior de las especies 1Pd se encuentran alojados dos de los seis nitratos que actúan como contraiones en la molécula. Las distancias medias Pd-O(NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) son de 4.68 Å (1Pd') y 4.72 Å (1Pd'') en la cavidad superior y de 4.10 Å (1Pd') y 4.57 Å (1Pd'') en la cavidad inferior, las cuales son ligeramente mayores a las descritas por Yu y colaboradores<sup>23</sup> para la especie 1Pd\* (Pd-O(NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) 4.01-3.78 Å) y significativamente mayores a las descritas por Lippert y colaboradores<sup>26b,4c</sup> para oligómeros cíclicos con el ligando 2,2'-bispiridina en los cuales el ión NO<sub>3</sub><sup>-</sup> está situado en el centro de un plano constituido por tres átomos de platino (Pt-O(NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) 3.2-3.5 Å).

La estructura de la especie 2b (Figura 4.1.4) también fue obtenida a partir de medidas de difracción de rayos X en monocristal, aunque en este caso el factor de acuerdo R no es tan bueno como en los casos anteriores debido a la baja calidad de los cristales sintetizados y a la aparición de un pseudo centro de simetría que relaciona los dos cationes [(S,S-dach)Pd(4,7-fen-N<sup>4</sup>,N<sup>7</sup>)]<sub>3</sub><sup>6+</sup> cristalograficamente independientes presentes en la celdilla unidad. A partir de los datos cristalográficos se puede confirmar sin embargo la estrecha relación entre esta estructura y la estructura de las especies quirales [(en)Pd(4,7-fen-N<sup>4</sup>,N<sup>7</sup>)]<sub>3</sub><sup>6+</sup> anteriormente descritas.

La quiralidad del metalocalix[3]areno 2b (al igual que en el compuesto 2a) queda también reflejada en el grupo cristalografico no centrosimetrico P1 en el que cristaliza, así como en la asimetría de sus espectros de  $^1\text{H}$  RMN (sección 4.1.2), y que se debe a la presencia del grupo quiral *dach* coordinado al ión paladio a través de sus nitrógenos como muestra la Figura 4.1.4.

En este compuesto cíclico los tres átomos de paladio vuelven a estar en el mismo plano y a formar prácticamente una triángulo equilátero con distancias Pd-Pd de 7.61, 7.76 y 7.80 Å. Las dimensiones del cono superior (medidas desde el punto medio de las posiciones de C1 y C10) son: 7.72, 7.82 y 8.09 Å mientras que la profundidad del cuenco formado es de 3.42 Å. En este caso la calidad de las medidas no permite establecer si los iones nitrato están alojados en las cavidades o no.

Por otra parte, la utilización de un fragmento metálico con geometría octaédrica *fac* protegido nos ha conducido al sistema cíclico 3 el cual se obtiene en un proceso de auto-asociación entre los fragmentos metálicos  $[(\eta^6\text{-p-cimeno})\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$  y ligandos angulares de 4,7- fenantrolina. La especie 3 se ha obtenido en dos fases cristalinas diferentes, constituidas por cationes tetranucleares  $[(\eta^6\text{-p-cimeno})_4\text{Ru}_4(4,7\text{-fen-}N^4, N^7)_2(\text{OH})_4]^{4+}$  y contraiones nitrato o triflato, que diferenciaremos con la denominación 3N y 3T, respectivamente. Una selección de los parámetros cristalinos de dichas fases cristalinas aparece resumida en la Tabla 4.1.2.

La estructura de esta especie (Figura 4.1.5) pone de manifiesto que dichos ligandos actúan en el modo habitual exobidentado puente a través de los átomos donadores N4 y N7 para unirse al metal.

Tabla 4.1.2.- Datos cristalográficos para los compuestos 3N y 3T.

Compuesto	3N	3T
Fórmula	C <sub>64</sub> H <sub>84</sub> N <sub>8</sub> O <sub>20</sub> Ru <sub>4</sub>	C <sub>68</sub> H <sub>76</sub> F <sub>12</sub> N <sub>4</sub> O <sub>16</sub> Ru <sub>4</sub> S <sub>4</sub>
M <sub>r</sub>	1689.67	1965.85
Sistema cristalino	Monoclinico	Triclinico
Grupo espacial	C 2/c	P -1
<i>a</i> [Å]	32.9293(14)	13.1234(6)
<i>b</i> [Å]	20.2105(9)	18.0169(9)
<i>c</i> [Å]	22.4980(9)	18.6161(9)
$\alpha$ [°]	90	102.806(1)
$\beta$ [°]	105.708(1)	102.335(1)
$\gamma$ [°]	90	107.799(1)
<i>V</i> [Å <sup>3</sup> ]	14413.6(11)	3894.5(3)
<i>Z</i>	8	2
$\rho_{\text{calcd}}$ [mg/m <sup>3</sup> ]	1.557	1.676
$\mu$ (Mo-K $\alpha$ ) [mm <sup>-1</sup> ]	0.897	0.962
<i>T</i> (K)	298 (2)	298 (2)
Reflns. medidas	83214	46093
Reflns. únicas	16838	17722
Parámetros ref.	781	852
<i>R</i> <sub><i>J</i></sub> <sup>[a]</sup>	0.0675	0.0833
<i>wR</i> <sup>2[b]</sup>	0.2340	0.2636
Goodness of fit	1.069	1.072
Residuos [eÅ <sup>-3</sup> ]	1.375 / -0.872	1.874 / -1.208

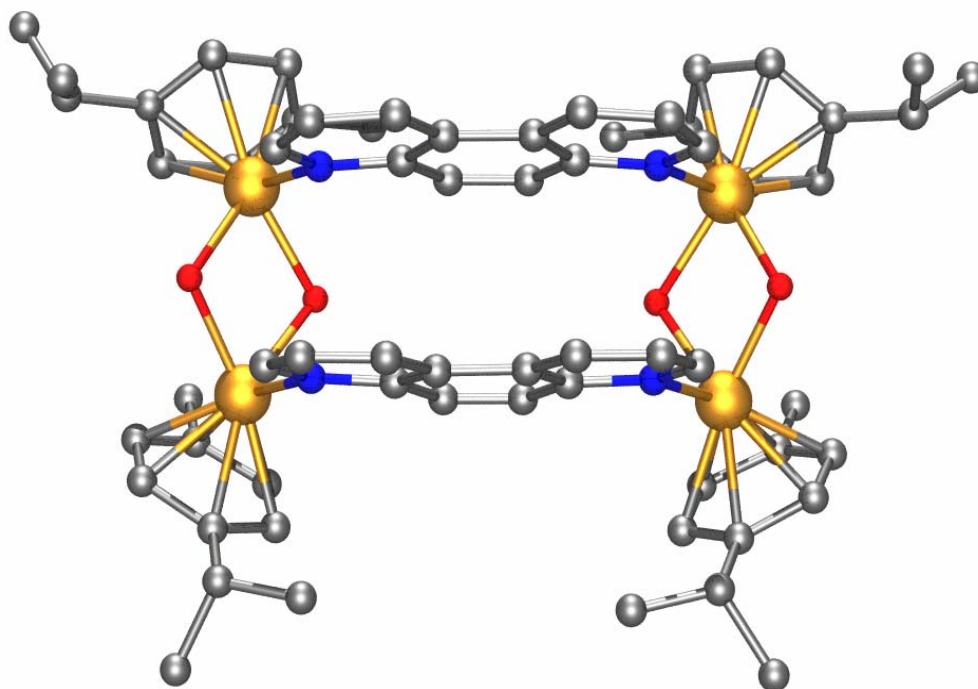


Figura 4.1.5.- Estructura del compuesto  $[(\eta^6\text{-cimeno})_4\text{Ru}_4(4,7\text{-fen-N}^4,\text{N}^7)_2(\text{OH})_4]^{4+}$  (**3T**) obtenida por difracción de rayos X. Carbono, Nitrógeno, Rutenio, Oxígeno.

La disposición de estos fragmentos da lugar a una estructura cíclica rectangular, donde los dos ligandos rígidos de fenantrolina quedan enfrentados a una distancia de 3.50 Å, en disposición cabeza cabeza, lo que da una idea de una fuerte interacción de apilamiento entre ambos heterociclos. Dichos fragmentos Ru-fen-Ru definen los lados largos del rectángulo con distancias Ru··Ru de 8.02 Å, mientras que los lados cortos quedan definidos por los ligandos OH puente con distancias Ru··Ru de 3.31 Å. Las esquinas de dicho rectángulo se encuentran ocupadas por los grupos protectores cimeno. En este compuesto cíclico los cuatro átomos de rutenio se sitúan en un mismo plano como consecuencia de la presencia de un eje binario que relaciona las dos mitades de los rectángulos. El resto del volumen del cristal se encuentra ocupado por aniones nitrato en la especie 3N y aniones triflato en la especie 3T. Dichos aniones y moléculas de agua interaccionan por enlaces de hidrógeno con los cationes de manera extensiva a través de los grupos hidroxilo con distancias O··O de 2.78-2.90 Å para los nitrato, de 2.80 Å para los triflatos y de 2.78-2.84 Å para las moléculas de agua.

#### 4.1.2.- Resonancia Magnética Nuclear (<sup>1</sup>H RMN)

Los espectros de <sup>1</sup>H RMN registrados en agua deuterada están de acuerdo con la estructuras previamente descritas, mostrando que las especies 1, 2 y 3 son estables en disolución acuosa.

Igualmente el seguimiento de la reacción entre el ligando 4,7-fenantrolina y los fragmentos metálicos [(en)Pd(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>]<sup>2+</sup>, [(R,R-dach)Pd(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>]<sup>2+</sup> o [(S,S-dach)Pd(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>]<sup>2+</sup>, a 60°C durante 4h, en medio acuoso, muestran su formación de forma cuantitativa y como únicas especies de 1Pd, 2a y 2b. La especie 1Pt se obtuvo por reacción del ligando 4,7-fenantrolina y el fragmento metálico [(en)Pt(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>]<sup>2+</sup> a 80°C durante 4h. en medio acuoso.

En la Figura 4.1.6 se muestran los espectros de <sup>1</sup>H RMN del ligando libre 4,7-fenantrolina y de los oligomeros cíclicos 1Pd, 2a y 2b en la región aromática. La coordinación de la 4,7-fenantrolina al ión paladio o platino a través de los nitrógenos N4 y N7 se pone de manifiesto por el desplazamiento a campo bajo de todas las señales de la fenantrolina (Tabla 4.1.3), siendo especialmente extensa para los protones H5,H5' ( $\Delta\delta \approx 4$ ppm) debido a su disposición sobre el plano de coordinación del ión d<sup>8</sup> planocuadrado.<sup>27</sup>

Tabla 4.1.3.- Señales de los espectros <sup>1</sup>H RMN (300MHz). Desplazamientos químicos (ppm) y constantes de acoplamiento (Hz) de los protones aromáticos del ligando 4,7-fen y de los compuestos 1Pd', 1Pt, 2a, y 2b (D<sub>2</sub>O, 298K).

Compuesto	H2,2'	H1,1'	H3,3'	H5,5'
<b>4,7-fen</b>	6.70 ( $J_{1,2} = 8.5, J_{2,3} = 4.5$ )	7.29 ( $J_{1,2} = 8.45$ )	7.92 ( $J_{2,3} = 4.5$ )	6.35
<b>1Pt</b>	8.01 ( $J_{1,2} = 8.5, J_{2,3} = 5.3$ )	9.37 ( $J_{1,2} = 8.5$ )	9.89 ( $J_{2,3} = 5.3$ )	10.51
<b>1Pd'</b>	7.94 ( $J_{1,2} = 8.5, J_{2,3} = 5.3$ )	9.24 ( $J_{1,2} = 8.5$ )	9.79 ( $J_{2,3} = 5.3$ )	10.39
<b>2a, 2b</b>	7.93 ( $J_{1,2} = 8.6, J_{2,3} = 5.1$ )	9.23 ( $J_{1,2} = 8.6$ )	9.76, 9.83 ( $J_{2,3} = 5.1$ )	10.32, 10.43 ( $J_{5,5'} = 9.8$ )



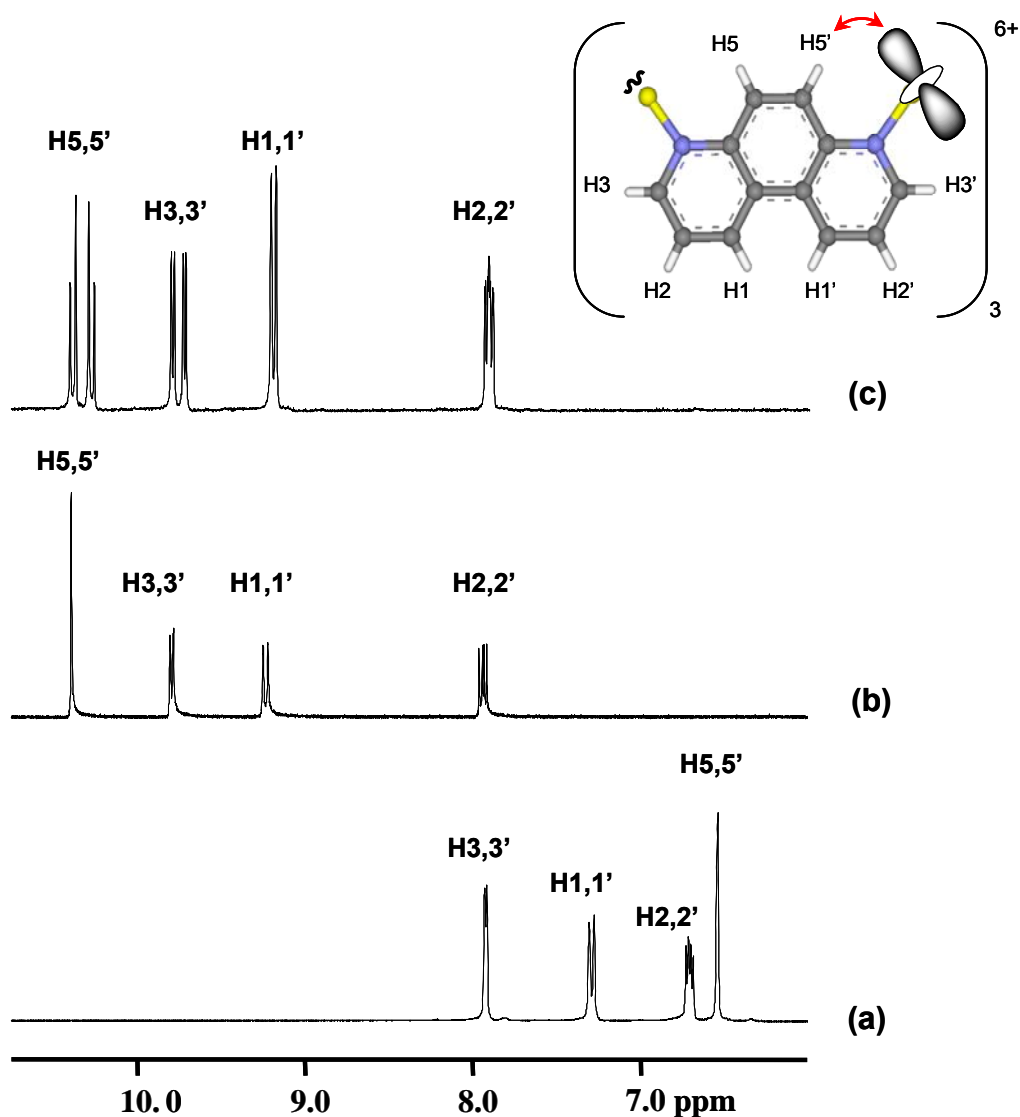


Figura 4.1.6. Espectro de <sup>1</sup>H RMN en la región aromática de la fenantrolina libre (a), de la especie **1Pd** (b), y de las especies **2a**, **2b** (c).

Si observamos el espectro correspondiente al heterociclo de fenantrolina libre (Figura 4.1.6a) vemos que existe una equivalencia entre los átomos H5 y H5', H2 y H2', H1 y H1', y H3 y H3', lo que concuerda con la simetría  $C_{2v}$ . La especie **1Pd** (Figura 4.1.6b) posee una simetría  $C_{3v}$ , con un eje ternario central que contiene 3 planos de simetría. Cada plano contiene un átomo de paladio y divide el metalocalix[3]areno en dos mitades equivalentes, por lo que se mantiene la equivalencia entre las dos mitades de los heterociclos de fenantrolina.

El espectro de  $^1\text{H}$  RMN registrado para la especie 1Pt es similar al registrado para la especie 1Pd, lo que pone de manifiesto la equivalencia de ambas estructuras.

Sin embargo en las especies 2a y 2b, como consecuencia de la disminución de la simetría del metalocalix[3]areno, que pasa de una simetría  $C_{3v}$  a una simetría  $C_3$ , se observa la pérdida de la equivalencia original entre dichas mitades de los heterociclos lo que se manifiesta en el desdoblamiento de las señales correspondientes a los protones H5, 5' y H3,3'.

Esto se explica por la asimetría inducida en el metalocalixareno por la presencia de los grupos protectores quirales (R,R)-dach y (S,S)-dach. En el caso de los protones H1,1' y H2,2' la equivalencia se mantiene en el espectro de  $^1\text{H}$  RMN, lo que se justifica por la mayor distancia de estos protones respecto de los centros quirales.

La señal correspondiente a los grupos  $\text{CH}_2$  de la etilendiamina (*en*) aparecen como un par de dobletes a un desplazamiento aproximado  $\delta = 3\text{ppm}$ , lo cual indica que existe un ambiente químico diferente para los protones de la etilendiamina. Esto es característico de una conformación tipo cono, como ocurre para el compuesto *p*-tert-butilcalix[4]areno<sup>28</sup>, mas que de una conformación metalocalix[4]areno donde existen otros isómeros (conformación 1,3-alternada y cono) o una conformación metalocalix[3]areno (cono parcial).<sup>29</sup>

En el caso de la especie 3, la reacción llevada a cabo entre el ligando 4,7-fenantrolina y el fragmento metálico  $[(\eta^6\text{-p-cimeno})\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ , tanto en relación 1:1 como en relación 1:2, en medio acuoso y a temperatura ambiente, da lugar a la formación de la especie tetranuclear  $[(\eta^6\text{-p-cimeno})_4\text{Ru}_4(4,7\text{-fen-N}^4, \text{N}^7)_2(\text{OH})_4]^{4+}$  (3). El fragmento metálico se obtuvo utilizando dos sales de plata diferentes,  $\text{AgNO}_3$  y  $\text{AgCF}_3\text{SO}_3$ , para eliminar los iones cloruro del fragmento metálico de partida  $[(\eta^6\text{-p-cimeno})\text{Ru}(\text{Cl})_2]_2$ . De esta manera, se obtuvieron dos especies, una con contraiones nitrato (3N) y otra con contraiones triflato (3T) como ya se indicó en la sección 4.1.1.

El espectro de  $^1\text{H}$  RMN de la especie **3N** disuelta en MeOD muestra, de manera inesperada, la existencia de dos heterociclos de fenantrolina no equivalentes (Figura 4.1.7b). Además, aparecen seis dobletes para los protones del anillo del grupo cimeno, cuando se esperaría obtener dos dobletes en la región comprendida entre  $\delta = 5\text{-}6$  ppm característicos de este tipo de fragmentos metálicos.<sup>30</sup> Estos hechos sugieren la existencia de dos especies en disolución metanólica. Las señales de la fenantrolina, pertenecientes a las dos especies en disolución, sufren desplazamientos respecto del ligando libre (Figura 4.1.7a), manteniendo la simetría original del heterociclo, lo cual está de acuerdo con un modo de coordinación simétrico de las fenantrolinas a través de sus nitrógenos N4 y N7, actuando como ligandos puente para unirse a dos fragmentos metálicos del tipo  $[(\eta^6\text{-p-cimeno})\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ .

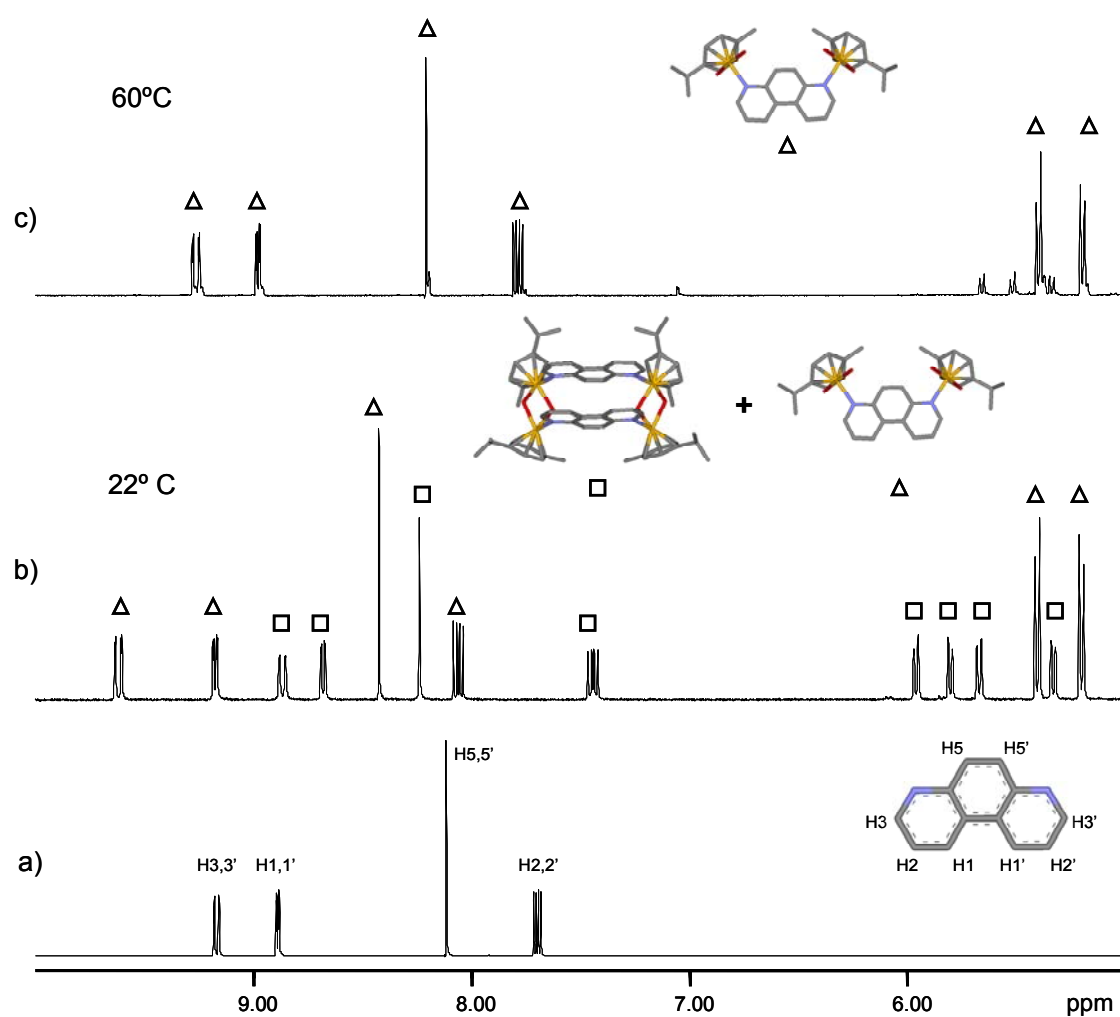


Figura 4.1.7. Espectro de  $^1\text{H}$  RMN en MeOD para la región aromática de a) la 4,7-fenantrolina, b) la especie **3N** a 22°C y c) la especie **3N** a 60°C.

Con el fin de verificar en detalle la existencia de las dos especies en disolución metanólica se registró el espectro de  $^1\text{H}$  RMN en MeOD a  $60^\circ\text{C}$ . A esta temperatura el espectro de  $^1\text{H}$  RMN muestra la existencia de una única especie (Figura 4.1.7c). Estos hechos se pueden explicar como resultado de la disociación parcial de la especie tetranuclear  $[(\eta^6\text{-p-cimeno})_4\text{Ru}_4(4,7\text{-fen-N}^4, \text{N}^7)_2(\text{OH})_4]^{4+}$  (3) a una especie dinuclear del tipo  $[(\eta^6\text{-p-cimeno})_2\text{Ru}_2(4,7\text{-fen-N}^4, \text{N}^7)(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$  (3d).

En la especie tetranuclear 3 las dos fenantrolinas están enfrentadas (como se discutió en la Sección 4.1.1) a una distancia media de  $3.5 \text{ \AA}$ , lo que da lugar a interacciones de apilamiento entre los anillos aromáticos de los heterociclos favoreciendo la unión de los fragmentos Ru-fen-Ru a través de puentes OH entre sus átomos de rutenio. Estas interacciones de apilamiento producen un apantallamiento de los protones de la fenantrolina, como se observa en los espectros de  $^1\text{H}$  RMN (Figura 4.1.7.b). En la estructura de esta especie los grupos cimeno, coordinados a los rutenios de los fragmentos Ru-fen-Ru de las dos mitades de la molécula, se encuentran enfrentados y muy próximos en el espacio, lo cual impide el libre movimiento de estos grupos sobre el metal. Esta situación da lugar a una pérdida de la simetría original de los grupos cimeno, lo que justificaría la aparición de cuatro dobletes en el espectro de  $^1\text{H}$  RMN (Figura 4.1.7.b).

En la especie dinuclear la fenantrolina está coordinada a dos fragmentos  $[(\eta^6\text{-p-cimeno})\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$  (Figuras 4.1.7.b y c). En esta nueva situación los protones de la fenantrolina no poseen interacciones de apilamiento y sus protones se encuentran más desapantallados, desplazando sus señales a campo bajo (Tabla 4.1.4). En esta especie los grupos cimeno poseen una mayor libertad de rotación sobre el metal de rutenio y como resultado se observa la aparición típica de dos dobletes para los cimenos. El aumento de la temperatura en MeOD produce la casi total disociación de la especie tetranuclear 3 en la especie dinuclear 3d (Figura 4.1.7c).

Tabla 4.1.4.- Señales de los espectros  $^1\text{H}$  RMN (300MHz). Desplazamientos químicos (ppm) de los protones aromáticos del ligando 4,7-fen libre, y del ligando 4,7-fen y grupo cimeno en el compuesto **3N** y en la especie dinuclear **3d** (MeOD, 295K).

Compuesto	H2,2'	H1,1'	H3,3'	H5,5'	a <sub>1</sub>	a <sub>2</sub>
<b>4,7-fen</b>	7.7	8.89	9.17	8.11		
<b>3</b>	7.44	8.69	8.86	8.24	5.96 5.80	5.67 5.33
<b>3d</b>	7.79	8.98	9.26	8.21	5.40	5.20

También se ha estudiado el efecto del disolvente en estas especies. Para ello se registraron espectros de  $^1\text{H}$  RMN en  $\text{D}_2\text{O}$ , a temperatura ambiente, 45°C, 75°C y 90°C. (Figura 4.1.8). Los resultados demuestran, al igual que en el caso anterior, la co-existencia de dos especies en disolución a temperatura ambiente, pero en este caso se observa una mayor proporción de la especie tetranuclear que en disolución metanólica. Esto está de acuerdo con la mayor fortaleza de las interacciones de apilamiento en disolución acuosa entre los heterociclos de fenantrolina, lo cual favorece la formación de la especie tetranuclear en detrimento de la especie dinuclear. A temperaturas mas elevadas se observa el predominio de la especie dinuclear.

Se debe destacar que este proceso es reversible. Así, al bajar la temperatura el espectro de  $^1\text{H}$  RMN vuelve a la situación original.

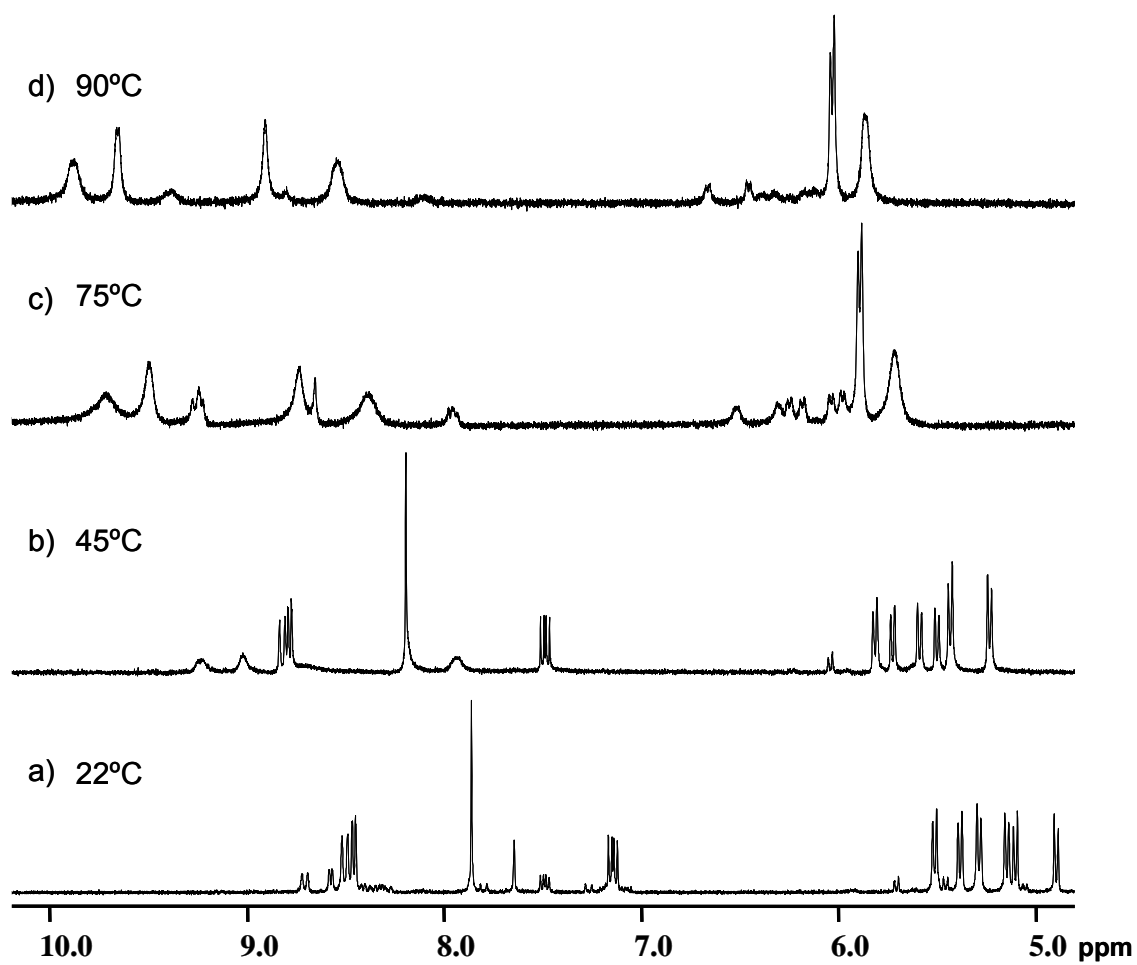


Figura 4.1.8. Región aromática del espectro de  $^1\text{H}$  RMN de la especie **3N** a diferentes temperaturas a) 22°C, b) 45°C, c) 75°C d) 90°C.



## 4.2.- Oligómeros cíclicos con ligandos pirimidínicos puente.

En este apartado se describen los resultados obtenidos de la interacción de los fragmentos metálicos *cis* protegido (en)Pt(II) y (alil)Pd(II) y los ligandos 5-ca-Hpym y X-Hpymo (X = H, F, Cl, Br, I).

La reacción en relación 1:1 entre el fragmento metálico de geometría plano cuadrada *cis* protegido  $[(en)Pt(H_2O)_2]^{2+}$  y los ligandos pirimidínicos 5-X-Hpymo (X = F, Cl, Br, I) en medio acuoso a 60°C durante 4h, da lugar a la formación de las especies cíclicas  $[(en)Pt(X-pymo-N^1, N^3)]_4(NO_3)_4$  (X = F (4F), Cl (4Cl), Br (4Br), I (4I),) y  $[(en)Pt(5-Capym-N^1, N^3)]_4(NO_3)_4$  (5) (Figura 4.2.1)

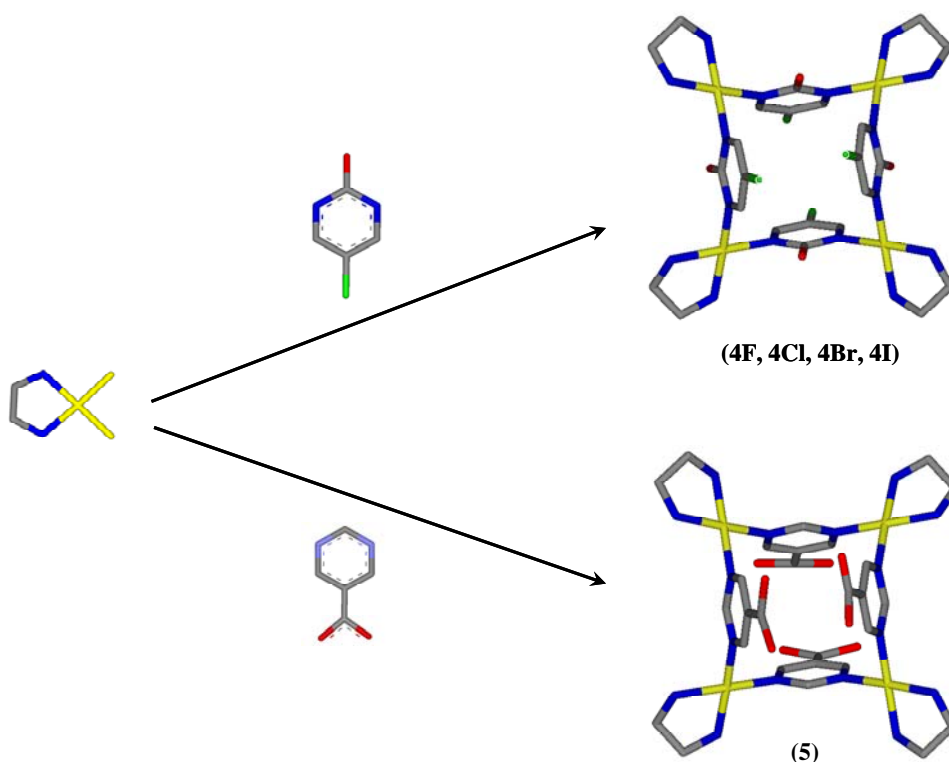


Figura 4.2.1.- Reacción entre el fragmento metálico etilendiaminapaladio(II) y los ligandos 5-X-2-hidroxipirimidina (X = F, Cl, Br, I, COOH) para dar las especies 4F, 4Cl, 4Br, 4I, 5. Carbono, Nitrógeno, Paladio, Oxígeno, Fluoró Cloro ó Bromo ó Iodo.



Por otro lado, la reacción en acetona entre el fragmento organometálico  $[(\eta^3\text{-alil})\text{Pd}(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$  y el ligando 2-Hpymo en relación 1:1 y a temperatura ambiente, da lugar a la formación de la especie  $[(\eta^3\text{-alil})\text{Pd}(\text{Hpymo-}N^1, O^2)]_2$   $(\text{SO}_3\text{CF}_3)_2$  (6) durante 24h. Esta especie, al disolverla en medio acuoso, evoluciona hacia una especie cíclica del tipo  $[(\eta^3\text{-alil})\text{Pd}(\text{pymo-}N^1, N^3)]_4^{4+}$  (6') (Figura 4.2.2).

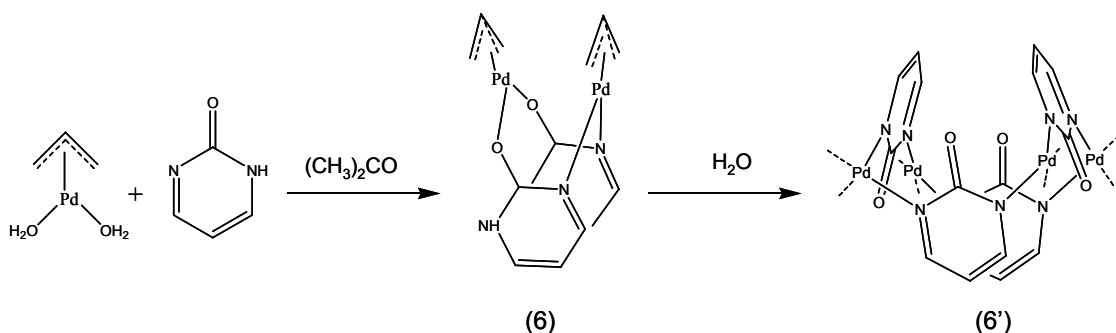


Figura 4.2.2.- Reacción entre el fragmento metálico alilpaladio(II) y el ligando 2-hidroxipirimidina para dar la especie 6 en acetona que evoluciona a la especie cíclica 6' en medio acuoso. Carbono, Nitrógeno, Paladio, Oxígeno.

#### 4.2.1.- Difracción de Rayos X

Las especies 4F, 4Cl, 4Br y 4I se caracterizaron mediante métodos de difracción de rayos X en polvo (DRXP) con objeto de verificar si su estructura es isomorfa, o no, con la estructura homóloga  $[(\text{en})\text{Pt}(\text{pymo-}N^1, N^3)]_4(\text{NO}_3)_4$  (4H).<sup>31</sup>

La similitud de los diagramas de difracción de rayos X en polvo de los compuestos 4F, 4Cl y 4H sugiere que se trata de estructuras isomorfas (Figura 4.2.3). Por tanto la estructura en fase sólida de las especies 4F y 4Cl debe estar constituida por fragmentos metálicos  $[\text{enPt}]^{2+}$  unidos entre sí por ligandos pirimidínicos puente N1, N3, para dar lugar a un estructura tetranuclear de tipo metalocalix[4]areno con una conformación 1,3-alternada. Los diagramas de DRXP de las especies compuesto 4Br y 4I muestran que la cristalinidad de estos materiales disminuye drásticamente, siendo únicamente apreciable un patrón de difracción en la especie 4Br. Al contrario que en los casos anteriores, los

resultados muestran que esta especie no es isomorfa con las anteriores, al menos en fase sólida, aunque la poca cristalinidad de la misma no permite extraer información estructural.

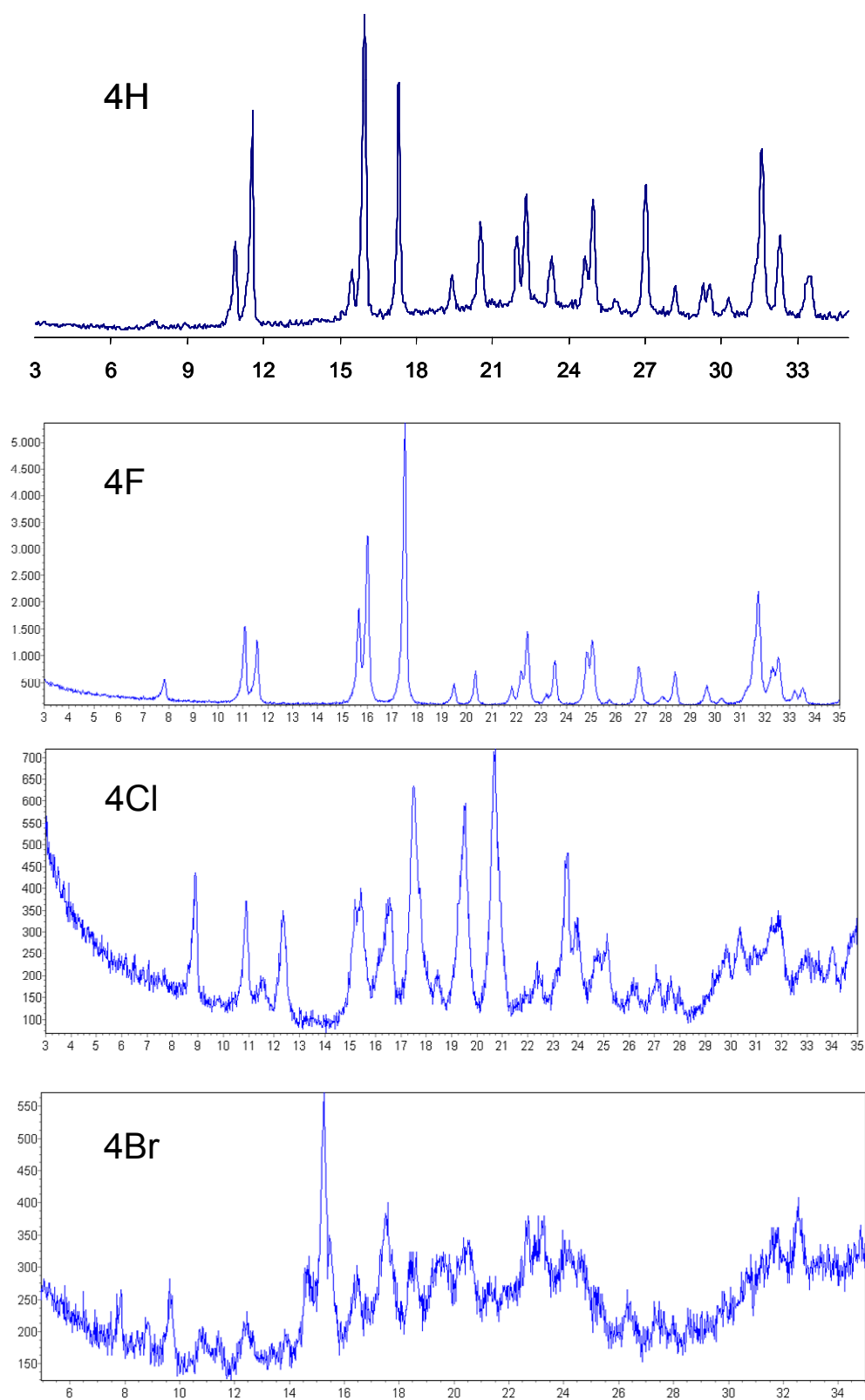


Figura 4.2.3.- Diagramas de DRXP ( $\text{CuK}\alpha = 1.5414 \text{ \AA}$ ) de los compuestos **4H**, **4F**, **4Cl** y **4Br**.

La especie 5 se aisló, al igual que en los casos anteriores, en forma policristalina (véase Figura 4.2.4). Actualmente se está trabajando en su resolución estructural en colaboración con la Dr. Galli (Università dell' Insubria).

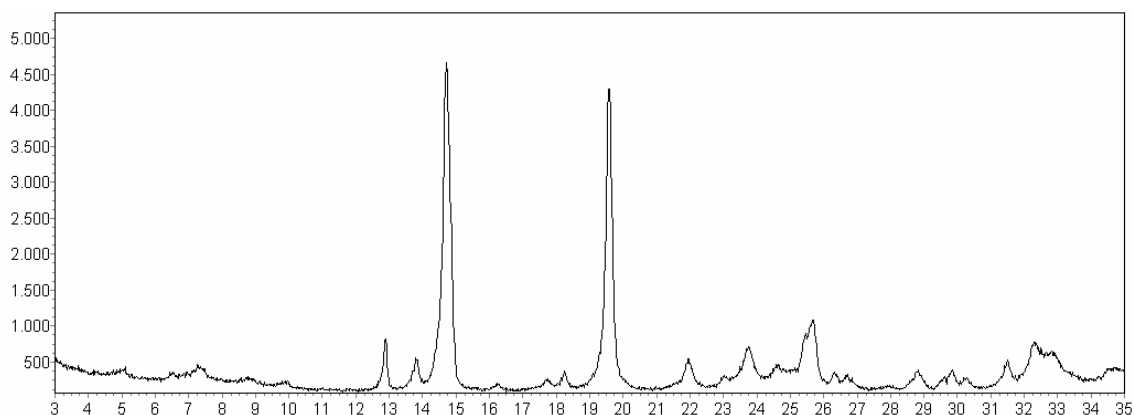


Figura 4.2.4.- Diagrama de DRXP ( $\text{CuK}\alpha = 1.5414 \text{ \AA}$ ) del compuesto **5**.

La especie 6 se obtuvo en forma de monocristales aptos para ser estudiados mediante difracción de rayos X. Una selección de los parámetros cristalinos de dichas fases cristalinas aparece recogida en la Tabla 4.2.1. Sin embargo, la especie 6' no pudo aislarse en estado sólido.

Tabla 4.2.1.- Datos cristalográficos para el compuestos **6**.

Compuesto	6
Fórmula	$\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_8\text{Pd}_2\text{S}_2\text{F}_6$
$M_r$	785.30
Sistema cristalino	Triclínico
Grupo espacial	P-1
$a$ [Å]	8.559 (1)
$b$ [Å]	8.581 (2)
$c$ [Å]	18.096 (2)
$\alpha$ [°]	87.110 (2)
$\beta$ [°]	77.550 (1)
$\gamma$ [°]	80.410 (1)

Los resultados de difracción de rayos X en monocristal ponen de manifiesto que la especie **6** posee una estructura constituida por cationes dinucleares  $[(\eta^3\text{-alil})\text{Pd}(\text{Hpymo-}N^1, O^2)]_2^{2+}$  y contraniones triflato (Figura 4.2.5). Los cationes  $[(\eta^3\text{-alil})\text{Pd}(\text{Hpymo-}N^1, O^2)]_2^{2+}$  están constituidos por dos fragmentos metálicos  $[(\eta^3\text{-alil})\text{Pd}]^{2+}$  conectados entre sí por ligandos puente Hpymo-N1,O2 (distancia media Pd $\cdots$ N1 de 2.09 Å y (distancia media Pd $\cdots$ O2 de 2.10 Å en disposición cabeza-cabeza. Este modo de actuación de los ligandos Hpymo da lugar a un contacto corto Pd $\cdots$ Pd de 3.00 Å. Es necesario resaltar que el modo de coordinación encontrado para este ligando en la forma  $\mu\text{-pymo-}N^1, O^2$  es la primera vez que aparece descrito en la bibliografía. El modo habitual de actuación de este ligando como puente es el aniónico<sup>32</sup>  $\mu\text{-pymo-}N^1, N^3$ , aunque en algunos casos nuestro grupo de investigación ha descrito algunos ejemplos de coordinación  $\mu\text{-pymo-}N^1, O^2$  para 5-nitro-2-hidroxipirimidina en su forma anionica.<sup>33</sup> El modo de coordinación inusual observado en la especie **6** se debe a que dicha situación se ve estabilizada por la formación de enlaces de hidrógeno fuertes entre el protón ácido del nitrógeno N3 de la pirimidina con los oxígenos de los contraniones (distancia N3H $\cdots$ O(CF<sub>3</sub>SO<sub>2</sub>) de 2.7 Å).

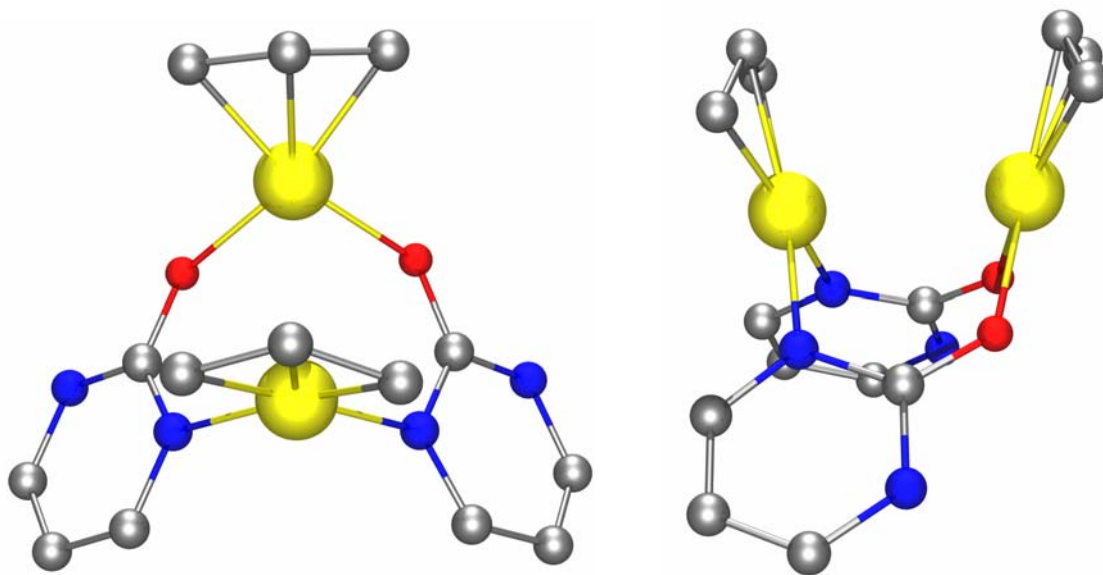


Figura 4.2.5.- Dos perspectivas del catión  $[(\eta^3\text{-alil})\text{Pd}(\text{pymo-}N^1, O^2)]_2^{2+}$  libre encontrado en la fase cristalina (**6**) determinada por difracción de rayos X en monocristal. Carbono, Nitrógeno, Paladio, Oxígeno.

### 4.2.2.-Resonancia Magnética Nuclear ( $^1\text{H}$ RMN)

Los espectros de  $^1\text{H}$  RMN registrados para las especies **4F**, **4Cl**, **4Br**, **4I**, y **5** en agua deuterada muestran la existencia de una única especie en disolución. Por otro lado el seguimiento de la reacción por  $^1\text{H}$  RMN muestra que la formación de los oligómeros es cuantitativa y que el modo de coordinación de los ligandos pirimidínicos al fragmento metálico  $[\text{enPt}]^{2+}$  se produce a través de los nitrógenos N1 y N3, con la retención de la equivalencia original de los protones H4 y H4', al igual que ocurre en la especie **4H**. De este modo, los espectros de  $^1\text{H}$  RMN muestran una única señal singulete en la región aromática correspondiente a los protones H4 y H4'. La sustitución de los protones ácidos, de los nitrógenos endocíclicos N1,N3 en los ligandos pirimidínicos, por dos entidades metálicas produce un desplazamiento significativo a campo alto de las señales de los protones H4, H4' respecto de los ligandos libres protonados. Por otro lado, los señales H4, H4' se desplazan hacia campo bajo a lo largo de la serie **4H**, **4Cl**, **4Br** **4I** y **4F** siguiendo la secuencia esperada (Tabla 4.2.2). Los espectros también muestran que los compuestos no se descomponen en disolución acuosa con el tiempo y en un amplio rango de pH (1-13), lo que esta de acuerdo con la naturaleza altamente inerte de los enlaces Pt-N.

Tabla 4.2.2.- Señales de los espectros  $^1\text{H}$  RMN (300MHz). Desplazamientos químicos (ppm) de los protones aromáticos H4,H4' para los ligandos libre y para los compuestos **4H**, **4F**, **4Cl**, **4Br**, **4I**, y **5** ( $\text{D}_2\text{O}$ , 298K).

Compuesto	H4,4'	Ligando libre	H4,4'
<b>4H</b>	8.35	<b>2-Hpymo-HCl</b>	8.40
<b>4F</b>	8.73	<b>5F-Hpymo</b>	8.33
<b>4Cl</b>	8.43	<b>5Cl-Hpymo</b>	8.33
<b>4Br</b>	8.49	<b>5Br-Hpymo</b>	8.40
<b>4I</b>	8.53	<b>5I-Hpymo</b>	8.44

La analogía estructural entre los cálix[4]arenos orgánicos clásicos<sup>31</sup> y los metalocalixarenos 4 sugiere que, al igual que ellos, los metalocalixarenos pueden ser conformacionalmente flexibles. Según Gutsche,<sup>25</sup> los cálix[4]arenos orgánicos clásicos pueden existir en cuatro conformaciones principales denominadas conformación cono, cono parcial, 1,2-alternada y 1,3-alternada. Aunque los cálix[4]arenos parecen mostrar una gran tendencia a mostrar una conformación tipo cono en estado sólido, se ha comprobado, mediante espectroscopia de <sup>1</sup>H RMN, que a alta temperatura se produce una interconversión hacia la conformación opuesta<sup>34</sup> pasando por una conformación cono parcial y una conformación alternada<sup>35</sup>. La barrera de energía de la inversión de los anillos depende considerablemente del disolvente y de los sustituyentes del anillo fenólico.

En nuestro caso, los espectros de <sup>1</sup>H RMN registrados a temperatura ambiente para las especies 4F, 4Br, 4Cl y 4I muestran la presencia de un solo grupo de señales de resonancia para los protones de los ligandos pirimidínicos puente, lo cual indica la equivalencia de todas las entidades aromáticas. Este resultado puede ser debido a dos situaciones diferentes:

1) A una rápida rotación (en la escala de tiempo de RMN) de los anillos pirimidínicos sobre los enlaces Pt-N1 y Pt-N3 con la consiguiente flexibilidad conformacional (Figura 4.2.6).

2) A que una única conformación de las posibles se encuentra congelada.

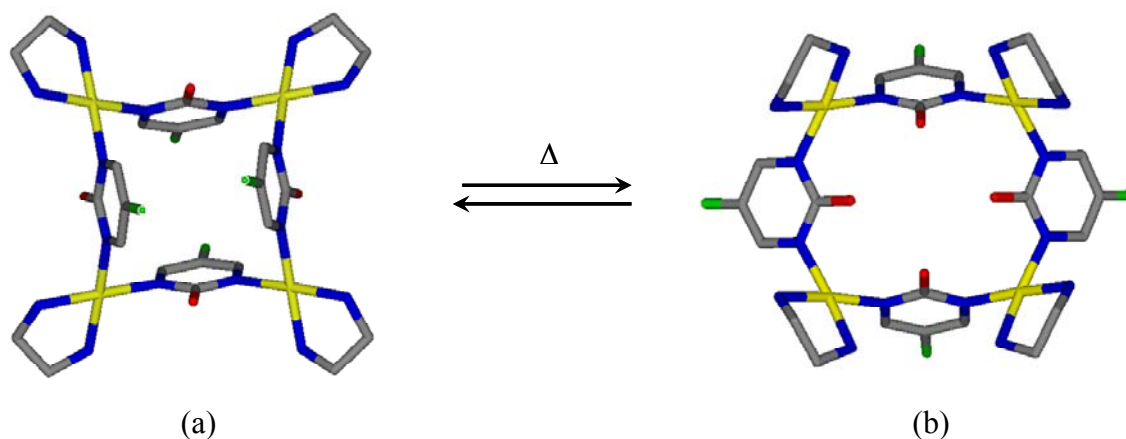


Figura 4.2.6.- Cambio de conformación, de una forma 1,3-alternada (a) a una conformación tipo cono (b), con el aumento de temperatura para los compuesto 4Br y 4I. Las conformaciones intermedias 1,2-alternada y cono parcial serian también posibles. Carbono, Nitrógeno, Paladio, Oxígeno.

Los experimentos de  $^1\text{H}$  RMN que se hicieron a temperatura variable (22-85°C en  $\text{D}_2\text{O}$ ) no mostraron ninguna variación en los espectros de las especies 4F y 4Cl, lo que está de acuerdo con una conformación altamente flexible para estos metalocalix[4]arenos, al igual que ocurre en el oligómero cíclico 4H.<sup>31</sup> Sin embargo, para las especies 4I y 4Br los experimentos de  $^1\text{H}$  RMN a temperatura variable muestran la aparición de una señal para una conformación predominante a temperatura ambiente. Con el aumento de la temperatura esta señal sufre un desplazamiento a campo bajo, y además, comienzan a aparecer nuevas señales a campo alto (Figura 4.2.7.a), lo que está de acuerdo con un cambio conformacional relativamente impedido. Concretamente, en el espectro de  $^1\text{H}$  RMN variable con la temperatura para la especie 4Br (Figura 4.2.7) se observa la aparición de 3 nuevas señales para los protones H4,H4' del ligando pirimidínico puente 5Br-pymo conforme aumenta la temperatura, debido, probablemente, a una interconversión de la conformación 1,3-alternada en las otras conformaciones posibles. El hecho de que las señales más intensas sean la más desapantallada y la más apantallada sugieren que las conformaciones 1,3-alternada y cono se encuentran en una mayor proporción a las intermedias 1,2-alternada y cono parcial.

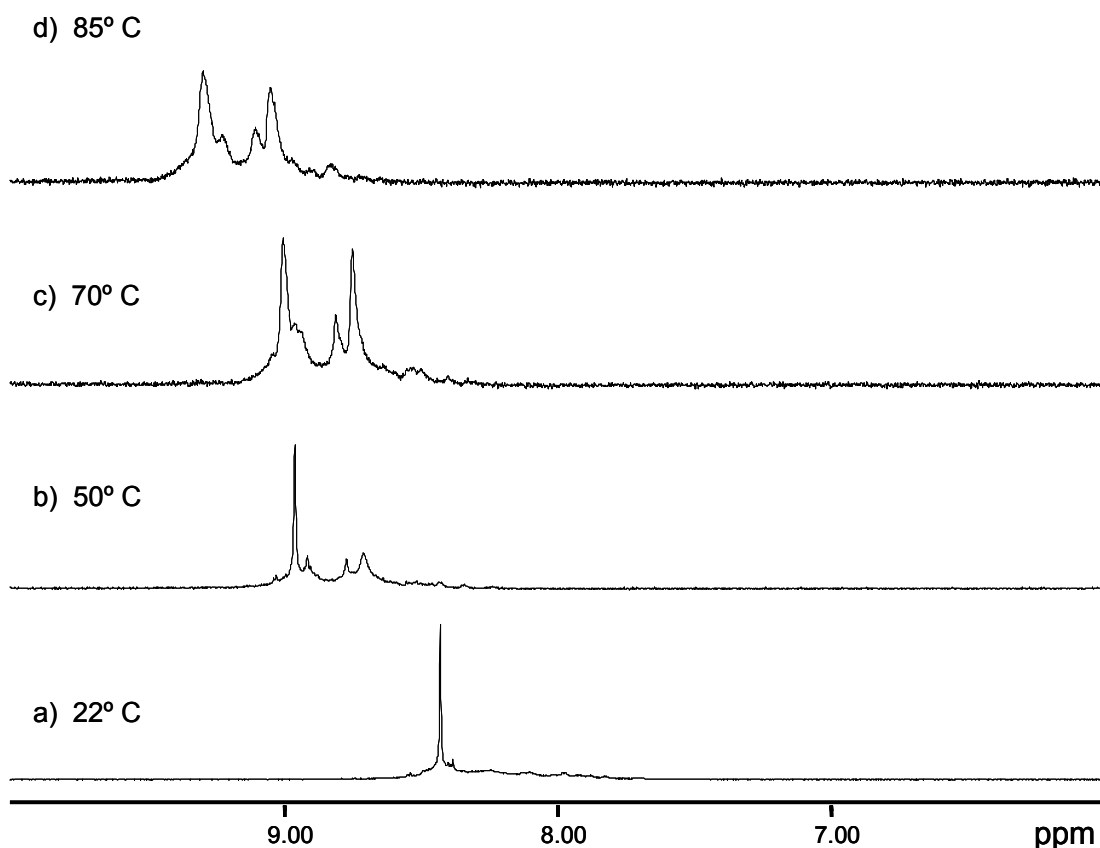


Figura 4.2.7.- Espectro de  $^1\text{H}$  RMN en  $\text{D}_2\text{O}$  variable con la temperatura para la especie  $[(\text{en})\text{Pt}(5\text{-Br-pymo-}N^1,N^3)_4]^{4+}$  (**4Br**).

La dependencia de la flexibilidad conformacional con los distintos sustituyentes de los anillos pirimidínicos puede relacionarse con los tamaños y masas atómicas de los halógenos. Así, el mayor volumen y masa atómica de los átomos de bromo y yodo en comparación con el flúor y el cloro dan lugar a una rotación impedida de los anillos pirimidínicos sobre los enlaces Pt-N en las especies **4Br** y **4I**, lo que produce una lenta interconversión de unos conformeros a otros, y de ahí que se observen señales de resonancia individuales para cada uno de los distintos conformeros. Una situación más dramática tiene lugar en el metalocalix[4]areno  $[\text{enPt}(\text{uracilato-}N^1,N^3)]_4^{4+}$  donde la rotación sobre los enlaces Pt-N1 y Pt-N3 se encuentra impedida por la presencia de oxígeno del uracilo en posición 4 y que permite una reactividad ácido-base y de coordinación diferenciada para los conformeros 1,3-alternada y cono.<sup>36,13f</sup>



El espectro de  $^1\text{H}$  RMN correspondiente a la especie  $[(\text{en})\text{Pt}(5\text{-capym-}N^1,N^3)]_4(\text{NO}_3)_4$  (**5**) muestra una única señal para los protones H4,H4' (el protón H2 se intercambia con el deuterio) demostrando la presencia de una única especie en disolución. Esta señal aparece desplazada a campo bajo, con respecto al ligando libre, con un desplazamiento de 8.28 ppm. La conservación de la simetría original del ligando sugiere que el modo de coordinación de los ligandos 5-Capym es de tipo puente N1,N3 al igual que ocurre en las especies 4 homólogas. (Sección 4.2.1).

Los espectros de  $^1\text{H}$  RMN registrados para la especie **6** en  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$  y  $\text{D}_2\text{O}$  mostraron un diferente comportamiento de esta especie con el cambio de disolvente, dando lugar a una nueva especie **6'** en disolución acuosa (Figura 4.2.8).

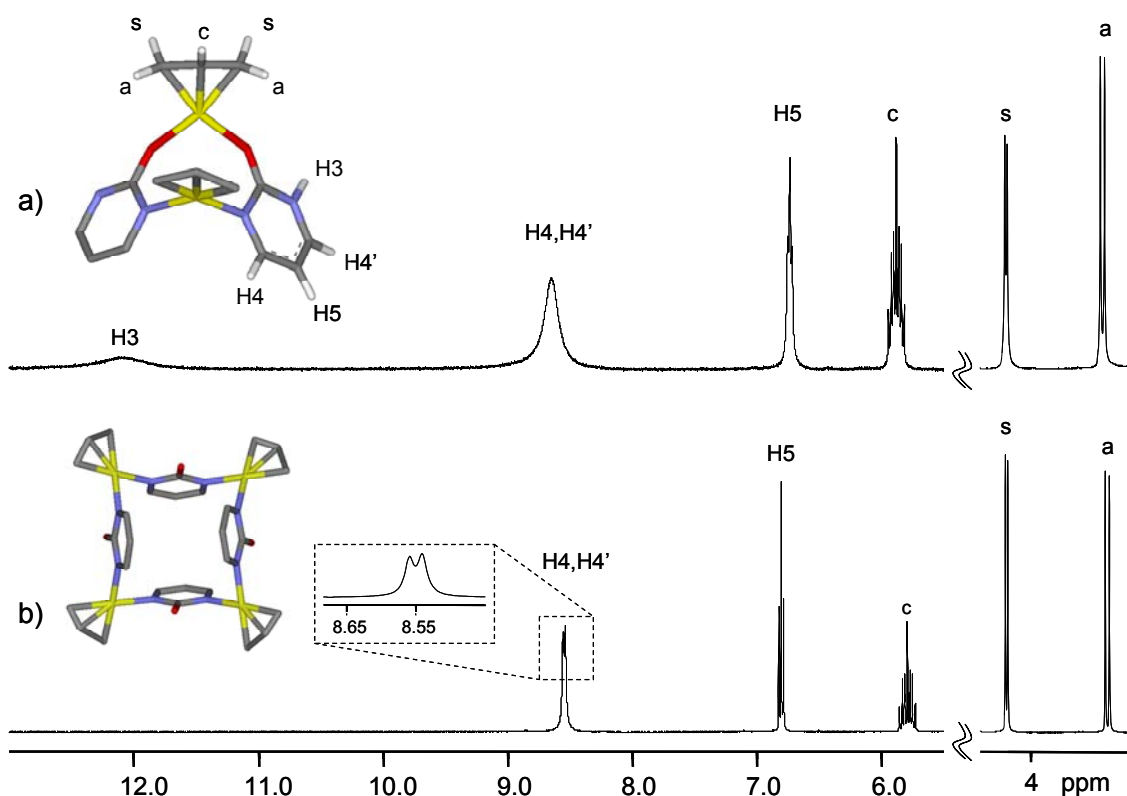


Figura 4.2.8.- Espectros de  $^1\text{H}$  RMN para la especie a) **6** en acetona deuterada (estructura resuelta por difracción de rayos X en monocristal) y b) **6'** en agua deuterada (estructura propuesta). Carbono, Nitrógeno, Paladio, Oxígeno.

El espectro de  $^1\text{H}$  RMN registrado en  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$  (Figura 4.2.8a) sugiere que la especie **6** en disolución se encuentra como una especies dinuclear  $[(\eta^3\text{-alil})\text{Pd}(\text{Hpymo-}N^1, O^2)]_2^{2+}$  pero en una disposición cabeza-cola de los ligandos puente en lugar de la cabeza-cabeza encontrada en fase sólida Sección 4.2.1. El espectro de RMN muestra la aparición de una señal ancha a 12.15 ppm correspondiente a los protones ácidos de los nitrógenos N3 de la pirimidina. En la región aromática aparece una señal muy ensanchada a un desplazamiento de 8.6 ppm correspondiente a los protones aromáticos H4, H4' y otra más estrecha a 6.63 ppm correspondiente al protón H5 (Tabla 4.2.2). Para el grupo  $\pi$ -alilo aparecen tres señales de resonancia debido a la presencia de tres tipos de protones: el central, los dos syn y los dos anti. La equivalencia entre los dos fragmentos  $[(\eta^3\text{-alil})\text{Pd}]^{2+}$  se puede justificar por una disposición cabeza-cola de los ligandos puente Hpymo- $N^1, O^2$  al contrario de lo observado en fase sólida (Apartado 4.2.1). Este tipo de isomerización es típico en compuestos dinucleares de este tipo.<sup>37</sup> Por otro lado el ensanchamiento de la señal correspondiente a los protones H4, H4' se puede justificar teniendo en cuenta una cierta fluxionalidad de la especie dinuclear posiblemente relacionada con la hemilabilidad de los ligandos puente Hpymo- $N^1, O^2$ .

Tabla 4.2.2.- Señales de los espectros  $^1\text{H}$  RMN (300MHz). Desplazamientos químicos (ppm) de los protones del ligando pirimidínico y del grupo protector alilo para los compuestos **6** ( $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ ) y **6'** ( $\text{D}_2\text{O}$ ). (298K).

Compuestos	N3-H	H4,4'	H5	s	a	c
<b>6</b>	12.15	8.6	6.63	4.24 ( $J_{a,c} = 6.8$ Hz)	3.29 ( $J_{a,c} = 12.8$ Hz)	5.88
<b>6'</b>		8.61 ( $J_{4,5}=5.3$ )	6.87	4.24 ( $J_{a,c} = 6.8$ Hz)	3.25 ( $J_{a,c} = 12.8$ Hz)	5.86

En general en los complejos alilo en la forma  $\eta^3$ , este ligando muestra una distribución simétrica hacia el metal y los cinco protones del ligando pueden ser divididos en tres grupos: central (1H), syn (2H) y anti (2H), correspondiente a un sistema  $A_2M_2X$ . Habitualmente estos protones no son equivalentes y presentan señales de resonancia individuales en los espectros de RMN, aunque en algunos casos en presencia de una base de Lewis (por ejemplo un disolvente nucleofílico) se produce un comportamiento dinámico que hace equivalentes a los protones terminales syn-anti. Un mecanismo para explicar este fenómeno sería una rápida conversión  $\pi$ - $\sigma$ - $\pi$ , donde el estado  $\sigma$  permite una libre rotación de los enlaces C-C y M-C. De esta manera los protones syn y anti cambiarían sus posiciones y el espectro de RMN sería el correspondiente a un sistema  $AX_4$  (Figura 4.2.9).<sup>38</sup>

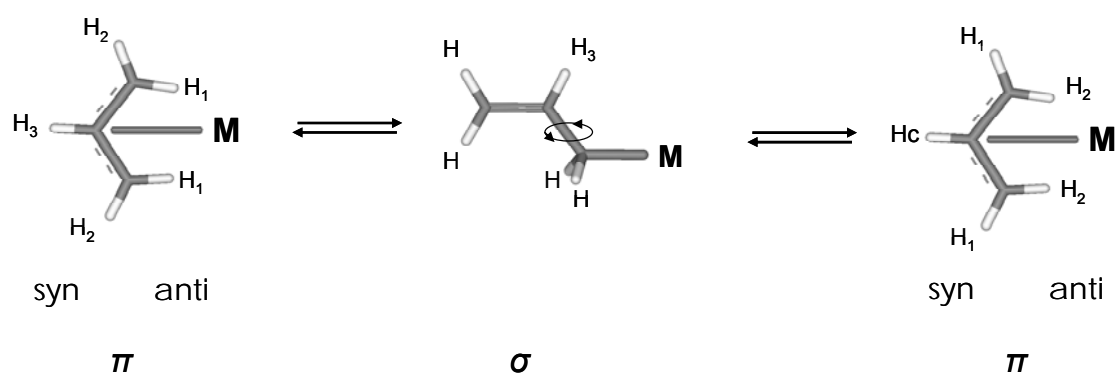


Figura 4.2.9.- Esquema del mecanismo de conversión  $\pi$ - $\sigma$ - $\pi$  para complejos  $\eta^3$ -alilo .

Con objeto de estudiar el comportamiento dinámico del grupo  $\pi$ -alilo en un disolvente nucleofílico se registró el espectro de  $^1\text{H}$  RMN de la especie 6 en  $\text{D}_2\text{O}$  (Figura 4.2.8b). El espectro muestra el mismo número de señales de resonancia correspondientes a un sistema  $A_2M_2X$ , lo que pone de manifiesto que no se produce la formación de la especie  $\sigma$  ( $\eta^1$ ) en medio acuoso y que además existe una equivalencia entre los dos fragmentos metálicos  $[(\eta^3\text{-alil})\text{Pd}]^{2+}$ . Los cambios más significativos tienen lugar sin embargo en las señales correspondientes al los ligandos Hpymo. En este disolvente, las señales pertenecientes a los protones aromáticos H4,4' aparecen como un doblete bien definido a un desplazamiento de 8.61 ppm y la aparición del protón H5 como un triplete a 6.87 ppm, lo que está de acuerdo con la conservación de la simetría  $C_{2v}$  original del ligando pymo (Figura 4.2.8b). Estos resultados estarían de acuerdo con una actuación de los ligandos pymo en el modo habitual anionico puente

pymo-*N1,N3* con la consiguiente formación de un oligómero cíclico metalocalix[n]areno del tipo  $[(\eta^3\text{-alil})\text{Pd}(\text{pymo-}N^1, N^3)]_n$ . Esto se puede justificar ya que en disolución acuosa el protón ácido localizado en el nitrógeno N3 puede ser cedido al medio, donde el agua actúa como base. La desprotonación del nitrógeno N3 permite la formación del oligómero cíclico con una distribución similar a las especies 4. Una diferencia importante con las especies cationicas anteriores es que la especie 6' es neutra debido a la carga negativa aportada por los ligandos alilo.



### 4.3.- Oligómeros cíclicos heterotópicos: modulación del tamaño de los ciclos.

En este apartado se van a discutir los resultados obtenidos en la reacción multicomponente entre el fragmento metálico *cis* protegido enPd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> y combinaciones de dos ligandos puente diferentes. Los ligandos puente empleados han sido tanto lineales (bp, abp y t-bpe) como angulares (4,7-fen, Hpymo y sus derivados) (Véase apartado 2.2).

#### 4.3.1.- Oligómeros heterotópicos con ligandos angulares: 4,7-fenantrolina y derivados de la 2-hidroxipirimidina.

La reacción multicomponente llevada a cabo entre el grupo *cis* protegido [(en)Pd(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>]<sup>2+</sup>, el ligando 4,7-fenantrolina y los ligandos 2-hidroxipirimidina y sus derivados metilados (a = Hpymo, b = Hmpymo, c = Hdmpymo) puede dar lugar a una gran gama de especies homo y heterotopicas cíclicas de tipo metalocalix[n]areno de distinta funcionalización y tamaño con fórmula general [Pd<sub>n</sub>(en)<sub>n</sub>(L-N<sup>1</sup>,N<sup>3</sup>)<sub>m</sub>(4,7-fen-N<sup>4</sup>,N<sup>7</sup>)<sub>n-m</sub>]<sup>(2n-m)+</sup> [n=3, m=3 (1), n=4, m=4 (4H)<sup>39</sup>, n= 3, m= 1 (7); n= 4, m= 2 (8); n= 6, m=4 (9)] (Figura 4.3.1).

Sin embargo, la formación de las distintas especies posibles va a venir determinada por la cinética, termodinámica y las condiciones experimentales de la reacción así como por el tipo de funcionalización existente en los derivados de la Hpymo.

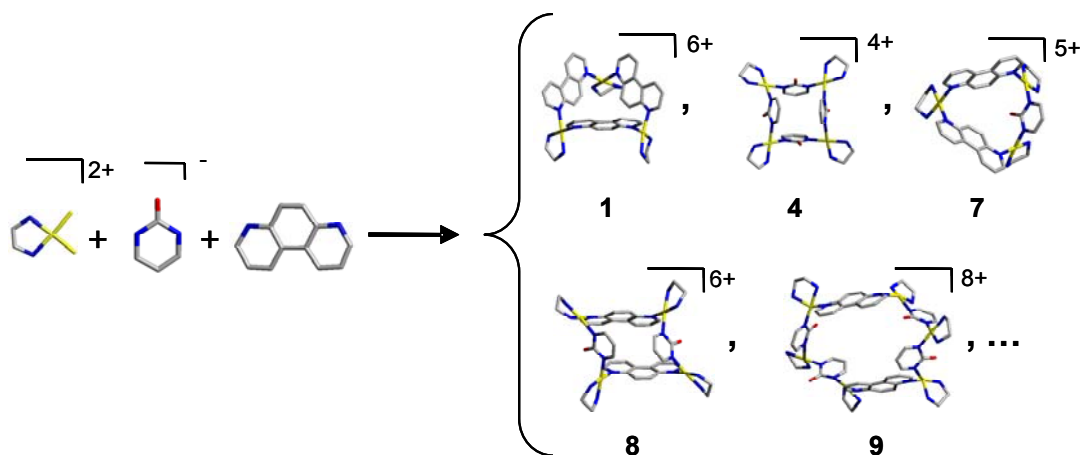


Figura 4.3.1.- Esquema de algunas de las especies que se pueden formar en la reacción multicomponente de  $[(en)Pd(H_2O)_2]^{2+}$  con los ligandos puente 4,7-fen y la Hpymo y sus derivados metilados. Carbono, Nitrógeno, Paladio, Oxígeno.

En la figura 4.3.2 se presenta un esquema que resume la síntesis y reactividad de las especies homo y heterotópicas que se han podido aislar en estado sólido o en su caso caracterizar por espectroscopia de  $^1H$  RMN en disolución.

Las especies heterotópicas más simples de esta síntesis corresponden a los metalocalix[3]arenos de tipo  $[Pd_3(en)_3(L-N^1, N^3)(4,7-fen-N^4, N^7)_2]^{5+}$  [L= pymo (7a); mpymo (7b); dmpymo (7c)]. Un resultado interesante del estudio de la reactividad de estas especies es que pueden ser sintetizadas por cuatro caminos de reacción diferentes (Figura 4.3.2):

- i. por reacción directa de una mezcla 3:1:2 de los fragmentos de etilendiaminapaladio(II), ligando Hpymo o sus derivados metilados (L) y el ligando 4,7-fen (esta ruta no está incluida en la Figura 4.3.2).
- ii. por intercambio de un ligando 4,7-fen de la especie  $[Pd_3(en)_3(4,7-fen-N^4, N^7)_3]^{6+}$  (1Pd) por un derivado de la Hpymo.
- iii. por reacción de una mezcla 3:8 de las especies homotópicas  $[Pd_4(en)_4(L-N^1, N^3)_4]^{4+}$  (4) y  $[Pd_3(en)_3(4,7-fen-N^4, N^7)_3]^{6+}$  (1Pd).

- iv. por reacción de desproporción de las especies tetranucleares de tipo  $[\text{Pd}_4(\text{en})_4(\text{L}-\text{N}^1, \text{N}^3)_2(4,7\text{-fen}-\text{N}^4, \text{N}^7)_2]^{6+}$  (8).

La especie heterotópica tetranuclear  $[\text{Pd}_4(\text{en})_4(\text{L}-\text{N}^1, \text{N}^3)_2(4,7\text{-fen}-\text{N}^4, \text{N}^7)_2]^{6+}$  (8a) sólo pudo obtenerse por reacción de una mezcla 2:1:1 de los fragmentos  $[\text{enPd}(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$ , Hpymo (L) y 4,7-fen (Figura 4.3.2). Los derivados metilados de la Hpymo en posición 4 (Hmpymo) y dimetilados en posición 4,4' (Hdmpymo) no dan lugar a la formación de este compuesto. Este resultado puede relacionarse con efectos estéricos. El intento de síntesis de esta especie a través de otros caminos de reacción ha sido infructuoso. Por ejemplo, la reacción en relación 3:4 entre los oligómeros cíclicos homotópicos 4H y 1Pd no da lugar a cantidades significativas de la especie 8a, sino sólo una mínima cantidad.

La síntesis de las especies heterotópicas hexanucleares del tipo  $[\text{Pd}_6(\text{en})_6(\text{L}-\text{N}^1, \text{N}^3)_4(4,7\text{-fen}-\text{N}^4, \text{N}^7)_2]^{8+}$  (9) tiene lugar a través de dos caminos de reacción diferentes (Figura 4.3.2):

- i. a partir de mezcla de reacción 3:4 de los compuestos homotópicos  $[\text{Pd}_4(\text{en})_4(\text{L}-\text{N}^1, \text{N}^3)_4]^{4+}$  (4) y  $[\text{Pd}_3(\text{en})_3(4,7\text{-fen}-\text{N}^4, \text{N}^7)_3]^{6+}$  (1Pd).
- ii. por la desproporción de la especie  $[\text{Pd}_4(\text{en})_4(\text{L}-\text{N}^1, \text{N}^3)_2(4,7\text{-fen}-\text{N}^4, \text{N}^7)_2]^{6+}$  (8).

De las posibles especies hexanucleares sólo se pudo obtener la especie  $[\text{Pd}_6(\text{en})_6(\text{pymo}-\text{N}^1, \text{N}^3)_4(4,7\text{-fen}-\text{N}^4, \text{N}^7)_2]^{8+}$  (9a), y ninguna especie con la Hpymo funcionalizada. Este hecho se puede relacionar con los impedimentos estéricos de los grupos metilo en posición 4.



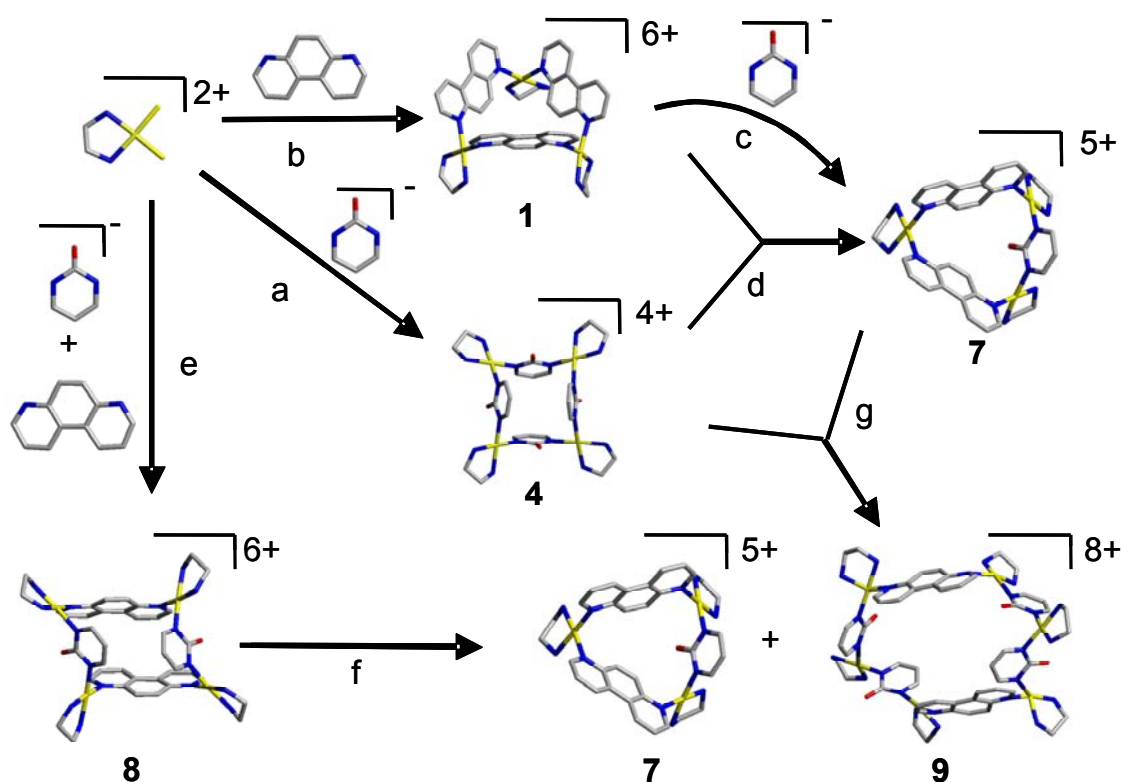


Figura 4.3.2.- Resumen esquemático de la síntesis y reactividad de especies cíclicas obtenidas a partir de una reacción multicomponente de los fragmentos de  $[\text{enPd}(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$ , 4,7-fen y Hpymo y sus derivados metilados. a) Referencia 39; b) Referencia 23; c) compuesto **1Pd** + Hpymo 2h a  $60^\circ\text{C}$  da el compuesto **7** mas fragmentos de 4,7-fen libre; d) mezcla 3:8 de los compuestos **1Pd** y **4H** durante 2h a  $80^\circ\text{C}$  da doce moléculas del compuesto **7**; e)  $[\text{enPd}(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$ , Hpymo, 4,7-fen, en proporción 4:2:2 durante 24h a  $80^\circ\text{C}$  da el compuesto **8**; f) compuesto **8** a 24h a  $80^\circ\text{C}$  da una mezcla 2:1 de los compuestos **7** y **9**. g) reacción de compuesto **4H** y **7** en exceso durante 24h a  $80^\circ\text{C}$  da el compuesto **9** y parte del compuesto **7** que no ha reaccionado. Carbono, Nitrógeno, Paladio, Oxígeno.

#### 4.3.1.1.- Difracción de Rayos X

Se obtuvieron cristales adecuados para su estudio mediante difracción de rayos-X para la especie trinuclear  $[\text{Pd}_3(\text{en})_3(\text{dmpymo-}N^1, N^3)(4,7\text{-fen-}N^4, N^7)_2]^{5+}$  (7c) y tetranuclear  $[\text{Pd}_4(\text{en})_4(\text{pymo-}N^1, N^3)_2(4,7\text{-fen-}N^4, N^7)_2]^{6+}$  (8a). Una selección de los parámetros cristalinos de dichos compuestos aparece resumida en la tabla 4.3.1.

Los resultados de difracción de rayos-X en monocristal para la especie 7c (Figura 4.3.3) ponen de manifiesto que la estructura está constituida por cationes trinucleares de tipo  $[\text{Pd}_3(\text{en})_3(\text{dmpymo-}N^1, N^3)(4,7\text{-fen-}N^4, N^7)_2]^{5+}$ , contraniones nitrato y moléculas de agua de hidratación. La disposición estructural de esta especie está de acuerdo con la forma cónica característica de los oligómeros trinucleares estudiados previamente. El análisis de rayos X en monocristal muestran que el modo de coordinación de los ligandos es de tipo puente, a través de los átomos donadores N4 y N7 para el ligando 4,7-fen, y a través de los átomos donadores N1 y N3 para el ligando dmpymo. Estos ligandos están unidos entre sí por tres unidades  $[\text{Pd}(\text{en})]^{2+}$ , que constituyen las esquinas de la estructura triangular final, con átomos de paladio que muestran una coordinación plano cuadrada ligeramente distorsionada, para dar lugar a un metalocalix[3]areno heterotópico.

El pequeño tamaño del ligando pirimidínico, comparado con los ligandos 4,7-fen, da lugar a una geometría substancialmente diferente a la del precursor  $[\text{Pd}_3(\text{en})_3(4,7\text{-fen-}N^4, N^7)_3]^{6+}$  (1Pd) descrita previamente en la Sección 4.1. De hecho, en la estructura de 1Pd los tres átomos de paladio definen un triángulo equilátero con lados de 7.61, 7.76 y 7.80 Å, mientras que en esta nueva estructura los tres átomos de paladio forman un triángulo isósceles con distancias Pd-Pd de 5.71, 7.56 y 7.60 Å. Esto da lugar a un metalocalix[3]areno con cavidades de menor dimensión a las obtenidas en la especie 1Pd. Las dimensiones del cono superior (medidas desde el punto medio de las posiciones de C1 y C10 de la 4,7-fen y C5 de la pymo) son: 6.84 y 7.20 Å y de 7.64 Å entre los puntos medio entre C1 y C10 de las dos fenantrolinas. La profundidad de dicha cavidad es de 3.21 Å.

Tabla 4.3.1.- Datos cristalográficos para los compuestos  $[\text{Pd}_3(\text{en})_3(\text{dmpymo-}N^1, N^3)(4,7\text{-fen-}N^4, N^7)_2](\text{NO}_3)_5(\text{H}_2\text{O})_7$  (**7c**) y  $[\text{Pd}_4(\text{en})_4(\text{pymo-}N^1, N^3)_2(4,7\text{-fen-}N^4, N^7)_2](\text{NO}_3)_6 \cdot \text{H}_2\text{O}$  (**8a**).

Compuesto	<b>7c</b>	<b>8a</b>
Fórmula	$\text{C}_{36}\text{H}_{61}\text{N}_{17}\text{O}_{23}\text{Pd}_3$	$\text{C}_{40}\text{H}_{56}\text{N}_{22}\text{O}_{21}\text{Pd}_4$
$M_r$	1419.2	1606.7
Sistema cristalino	Triclinico	Monoclinico
Grupo espacial	P-1	<b>C2/c</b>
$a$ [Å]	9.299(1)	28.183(3)
$b$ [Å]	15.475(2)	17.702(2)
$c$ [Å]	19.802(2)	11.992(1)
$\alpha$ [°]	94.48(2)	
$\beta$ [°]	94.73(2)	111.05(1)
$\gamma$ [°]	106.46(2)	
$V$ [Å <sup>3</sup> ]	2708(1)	5583(1)
$Z$	2	4
$\rho_{\text{calcd}}$ [mg/m <sup>3</sup> ]	1.740	3208
$\mu$ (Mo-K $\alpha$ ) [mm <sup>-1</sup> ]	1.079	1.365
$T$ (K)	298(2)	298(2)
Morfología cristal	Prisma	Prisma
Reflns. medidas	26280	19053
Reflns. únicas	9518	3664
Parámetros ref.	629	367
$R_I$ <sup>[a]</sup>	0.055	0.406
$wR^2$ <sup>[b]</sup>	0.175	0.102
Goodness of fit	1.029	1.018

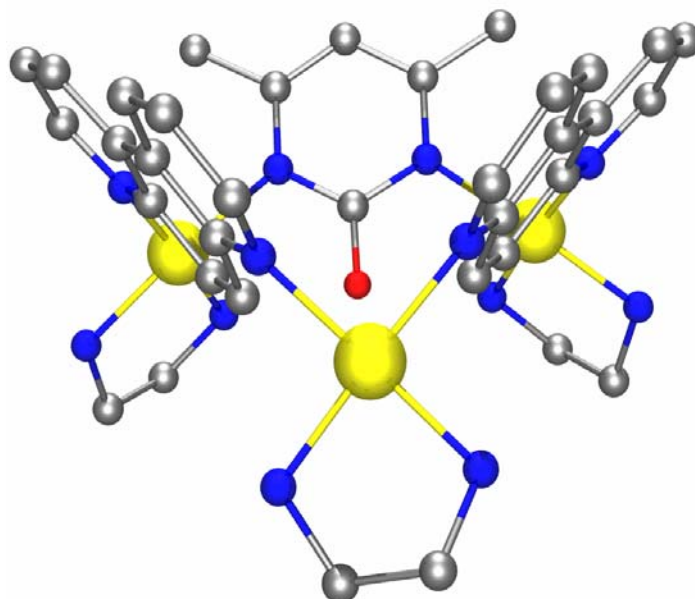


Figura 4.3.3.- Dos perspectivas de la estructura del catión  $[\text{Pd}_3(\text{en})_3(\text{dmpymo-}N^1,N^3)(4,7\text{-fen-}N^4,N^7)_2]^{5+}$  (**7c**) obtenida por difracción de rayos X en monocristal. Carbono, Nitrógeno, Paladio, Oxígeno.

El empaquetamiento de los cationes de la especie **7c** genera canales a lo largo de la dirección  $[1\ 0\ 0]$ , pero en este caso, a diferencia de las especies **1Pd\*** y **1Pd'**, los aniones nitrato no se encuentran albergados en el interior de las cavidades catiónicas sino que todos ellos están localizados alrededor de las mismas. Sin embargo, tres moléculas de agua (ordenadas) se encuentran en la entrada de las cavidades lo cual indica el carácter hidrofílico de las mismas, al igual los calix-resorcinarenos orgánicos.<sup>40</sup> Una de estas moléculas de agua forma enlaces de hidrógeno con los dos átomos de nitrógeno de un grupo entilendiamina de un metalocalix[3]areno adyacente con distancias  $\text{O}\cdots\text{N}$  de 2.92 y 2.99 Å, mientras que las otras dos moléculas de agua interaccionan entre si y con un grupo nitrato situado encima de la cavidad. El resto de moléculas de agua (desordenadas) interaccionan extensivamente por enlaces de hidrógeno entre ellas y con los aniones nitrato.

Por otro lado, los resultados de difracción de rayos X en monocristal para la especie **8a** (Figura 4.3.4) ponen de manifiesto que la estructura está constituida por cationes tetranucleares  $[\text{Pd}_4(\text{en})_4(\text{pymo-}N^1,N^3)_2(4,7\text{-fen-}N^4,N^7)_2]^{6+}$  de simetría  $C_2$ , aniones nitrato y moléculas de agua de hidratación.

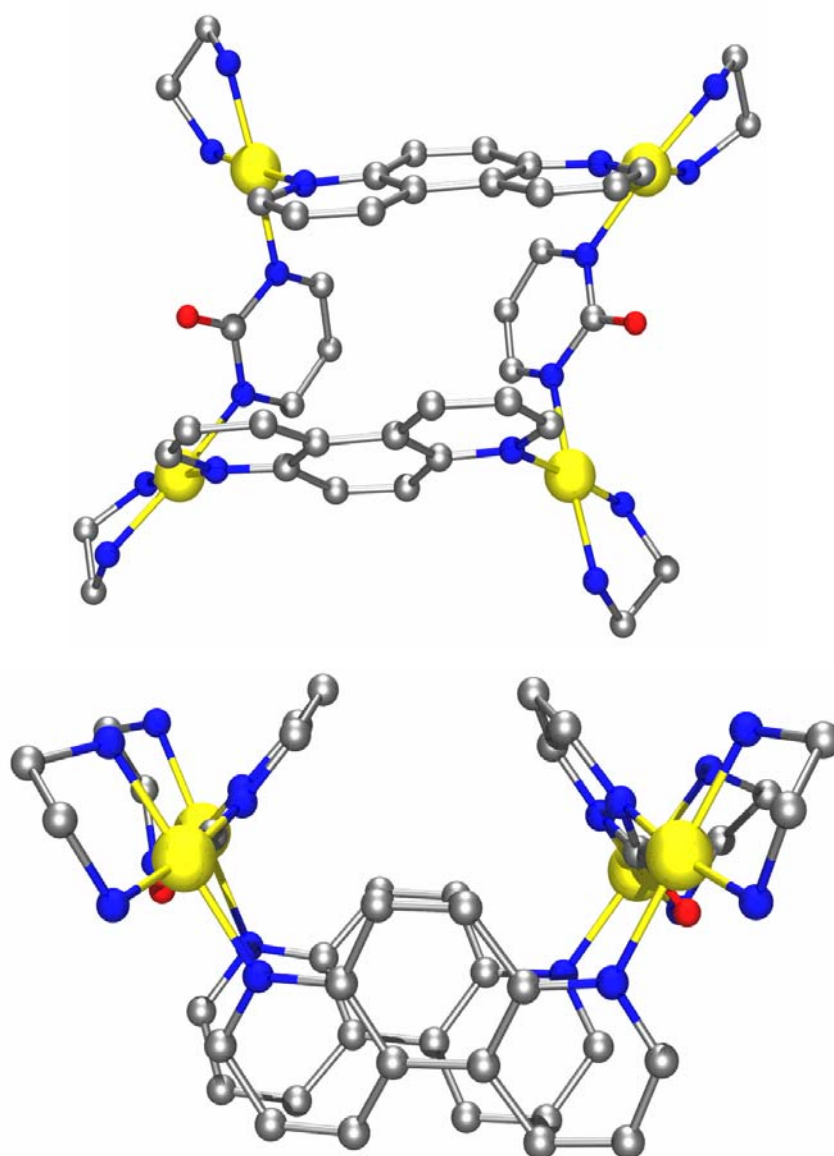


Figura 4.3.4.- Dos perspectivas de la estructura del compuesto  $[\text{Pd}_4(\text{en})_4(\text{pymo-}N^1,N^3)_2(4,7\text{-fen-}N^4,N^7)_2]^{6+}$  (**8a**). Carbono, Nitrógeno, Paladio, Oxígeno.

En esta especie los átomos de paladio también presentan una geometría plano cuadrada ligeramente distorsionada. Los ligandos de pirimidina y fenantrolina actúan de manera similar a las estructuras descritas anteriormente, coordinándose en un modo exobidentado puente a través de sus átomos de nitrógeno. A diferencia de las especies trinucleares descritas anteriormente, en esta especie los ligandos se encuentran en una conformación 1,3-alternada. Esto da lugar a una cavidad considerablemente mas pequeña respecto de las especies

trinucleares 1 y 7c, ya que las distancias mínima entre los fragmentos de pirimidina opuestas es de tan sólo de 3.76 Å (distancias C··C mas corta) y entre las fenantrolinas enfrentadas de 4.04 Å (valor medio de las distancias C··C mas cortas), resultando una cavidad mas pequeña para poder alojar moléculas en el interior.

La geometría de la especie 8a se puede comparar con la geometría de la especie tetranuclear de  $[\text{Pd}_4(\text{en})_4(\text{pymo-}N^1,N^3)_4]^{4+}$  (4H) la cual también muestra una conformación 1,3-alternada, con los átomos de paladio situados en los vértices de un cuadrado, y con distancias Pd··Pd de aproximadamente 5.9 Å. <sup>¡Error! Marcador no definido.</sup> Por el contrario, en la especie 8a, debido al diferente tamaño de sus ligandos puente dmpymo y 4,7-fen, aparecen dos distancias Pd··Pd claramente diferentes de 5.81 y 7.60 Å, dando lugar a un paralelogramo.

El empaquetamiento de los cationes de la especie 8a da lugar a una disposición ondulada de las especies en la dirección [1 0 0] (Figura 4.3.5) y en forma de columnas en la dirección [0 1 0] (Figura 4.3.6). En este caso, ni los aniones nitrato ni las moléculas de agua ocupan las cavidades cationicas, sino que se localizan en los alrededores de los metalocalix[4]arenos dando lugar a enlaces de hidrógeno con el oxígeno exocíclico de los ligandos pymo,

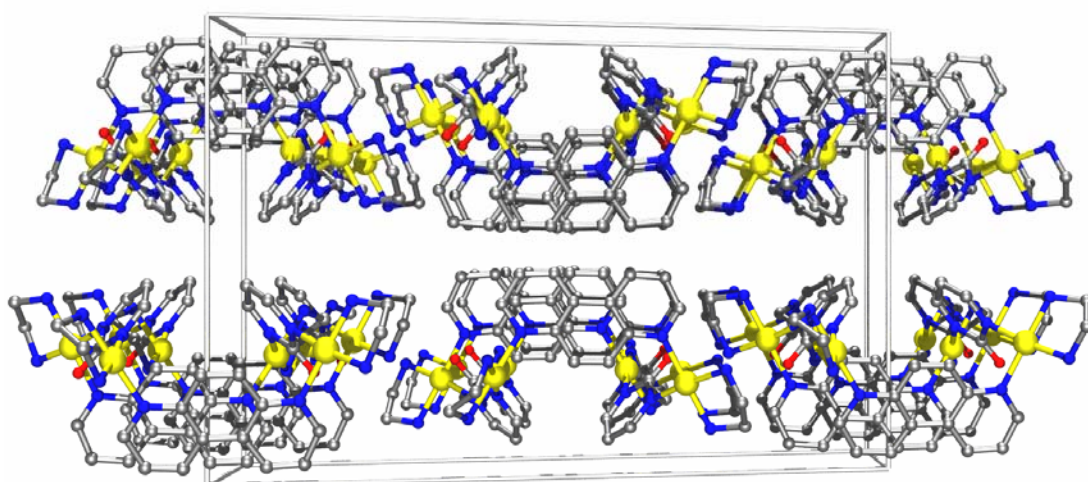


Figura 4.3.5.- Perspectivas del empaquetamiento de la estructura del compuesto  $[\text{Pd}_4(\text{en})_4(\text{pymo-}N^1,N^3)_2(4,7\text{-fen-}N^4,N^7)_2]^{6+}$  (**8a**) visto desde la dirección [0 0 1]. Carbono, Nitrógeno, Paladio, Oxígeno.

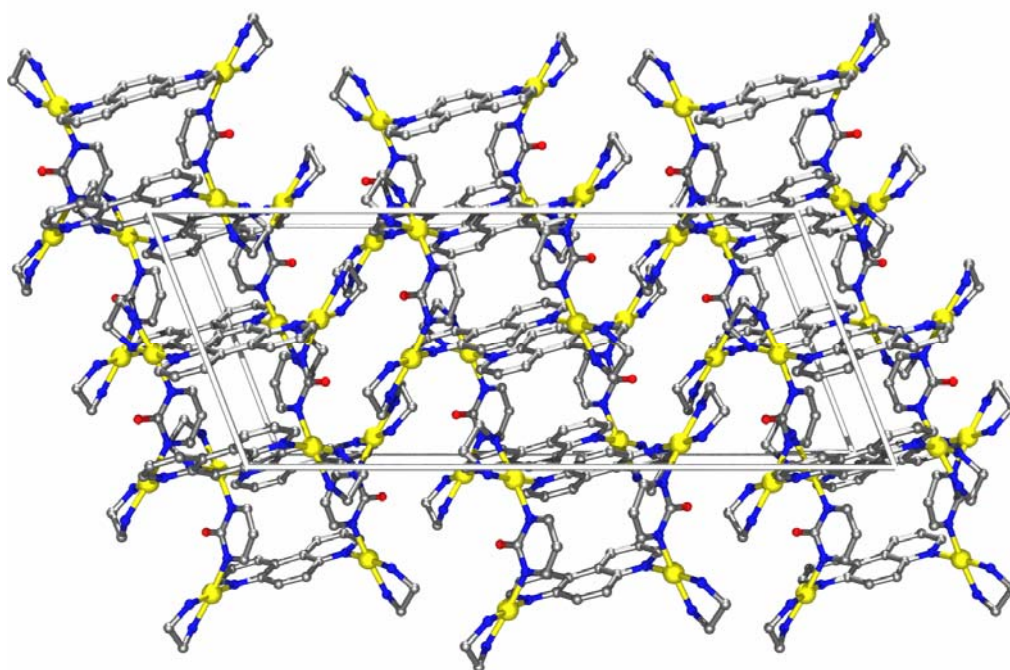


Figura 4.3.6.- Perspectivas del empaquetamiento de la estructura del compuesto  $[\text{Pd}_4(\text{en})_4(\text{pymo-}N^1,N^3)_2(4,7\text{-fen-}N^4,N^7)_2]^{6+}$  (**8a**) visto desde la dirección  $[0\ 1\ 0]$ . Carbono, Nitrógeno, Paladio, Oxígeno.

#### 4.3.1.2.- Resonancia Magnética Nuclear ( $^1\text{H}$ RMN)

En este apartado vamos a discutir los resultados obtenidos a partir de los espectros de  $^1\text{H}$  RMN llevados a cabo para las especies oligomeras cíclicas trinucleares, tetranucleares y hexanucleares con ligandos 4,7-fen, Hpymo y sus derivados metilados.

Los espectros de  $^1\text{H}$  RMN realizados en  $\text{D}_2\text{O}$  ponen de manifiesto la complejidad del efecto que tiene la funcionalización del anillo de pirimidina en el proceso de formación de los metalocalix[n]arenos.

## METALOCALIX[3]ARENOS

Los espectros de  $^1\text{H}$  RMN de las especies heterotópicas trinucleares 7a, 7b, 7c (Figura 4.3.7) muestran la pérdida de la simetría original  $C_{2v}$  de los ligandos fenantrolina, con respecto a la especie homotópica  $[\text{Pd}(\text{en})(4,7\text{-fen-}N^4, N^7)]_3^{6+}$  (1Pd) como consecuencia de la sustitución de uno de los ligandos fenantrolina por un ligando pirimidínico. En esta nueva situación, los ligandos 4,7-fen de la especie heterotópica ya no tienen ambientes químicos iguales en sus extremos, sino que a un lado poseen un fragmento  $[(\text{en})\text{Pd}]^{2+}$  unido a otra fenantrolina y al otro lado un  $[(\text{en})\text{Pd}]^{2+}$  unido al derivado pirimidínico.

Esta nueva distribución de los ligandos da lugar a un desdoblamiento de las señales del ligando 4,7-fen (Figura 4.3.7), con respecto a la especie 1Pd, donde todos los ligandos eran equivalentes y poseían un entorno químico similar, por lo tanto poseen señales equivalentes (Figura 4.3.7a).

Si nos fijamos detenidamente en los espectros de  $^1\text{H}$  RMN también podemos observar que existe una importante diferencia entre unos compuestos heterotópicos trinucleares y otros, dependiendo del derivado pirimidínico que posean. En primer lugar, en los compuestos con ligandos pymo (7a) y 2-dmpymo (7c) existe un plano de simetría que pasa por un átomo paladio y el centro del derivado pirimidínico, lo que está de acuerdo con el grupo puntual  $C_s$ . En el caso del compuesto con el ligando mpymo (7b) el plano de simetría desaparece, perteneciendo esta especie al grupo de simetría  $C_1$  (Figura 4.3.8).



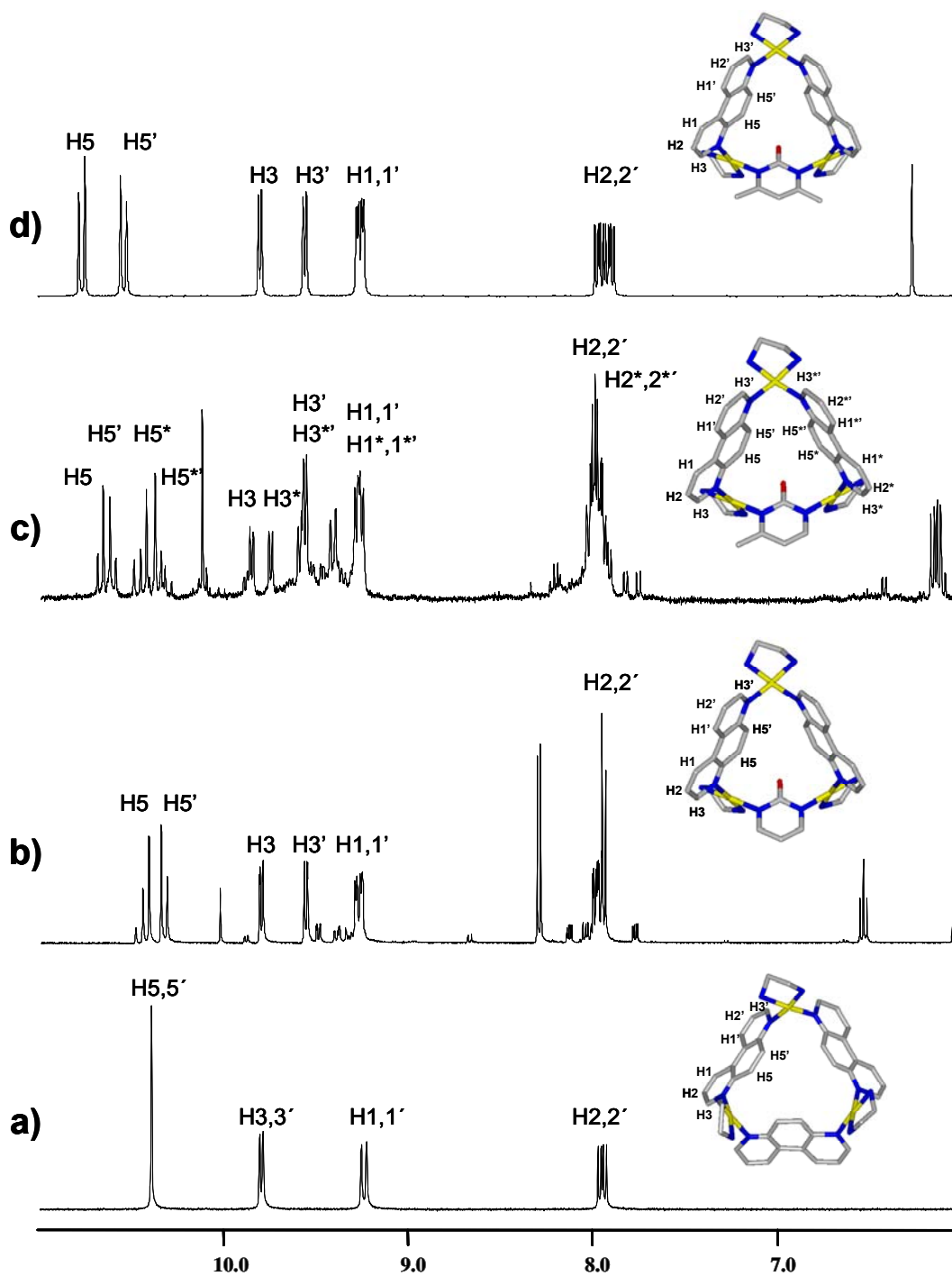


Figura 4.3.7.- Espectros de  $^1\text{H}$  RMN para los metalocalix[3]arenos a)  $[\text{Pd}(\text{en})(4,7\text{-fen-}N^4,N^7)]_3^{6+}$  (**1**), b)  $[\text{Pd}_3(\text{en})_3(\text{pymo-}N^1,N^3)(4,7\text{-fen-}N^4,N^7)_2]^{5+}$  (**7a**), c)  $[\text{Pd}_3(\text{en})_3(\text{mpymo-}N^1,N^3)(4,7\text{-fen-}N^4,N^7)_2]^{5+}$  (**7b**), d)  $[\text{Pd}_3(\text{en})_3(\text{dmpymo-}N^1,N^3)(4,7\text{-fen-}N^4,N^7)_2]^{5+}$  (**7c**). Carbono, Nitrógeno, Paladio Oxígeno.

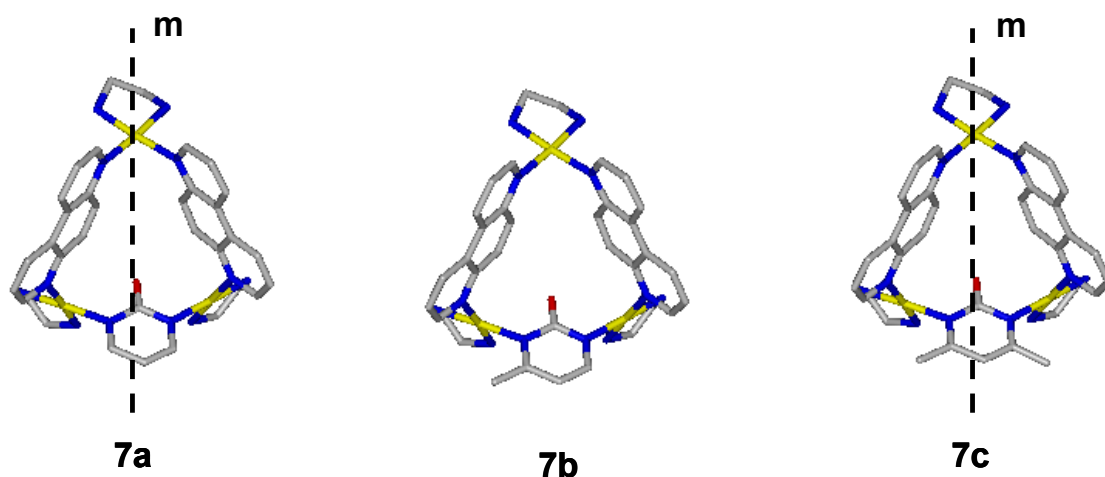


Figura 4.3.8.- Simetría puntual de las especies  $[\text{Pd}_3(\text{en})_3(\text{pymo-}N^l, N^3)(4,7\text{-fen-}N^l, N^7)_2]^{5+}$  (**7a**) ( $C_s$ ),  $[\text{Pd}_3(\text{en})_3(\text{mpymo-}N^l, N^3)(4,7\text{-fen-}N^l, N^7)_2]^{5+}$  (**7b**) ( $C_1$ ) y  $[\text{Pd}_3(\text{en})_3(\text{dmpymo-}N^l, N^3)(4,7\text{-fen-}N^l, N^7)_2]^{5+}$  (**7c**) ( $C_s$ ). Carbono, Nitrógeno, Paladio, Oxígeno.

La disminución de la simetría molecular se pone de manifiesto en los espectros de  $^1\text{H}$  RMN. Como se puede observar los espectros de las especies **7a** y **7c** (Figura 4.3.7.b,d) poseen el mismo número de señales para el ligando 4,7-fen, de acuerdo con su simetría ( $C_s$ ) y con la equivalencia entre las fenantrolinas de una misma molécula. Sin embargo, en el espectro de  $^1\text{H}$  RMN de la especie **7b** (Figura 4.3.7.c) aparecen el doble de señales para el ligando 4,7-fen debido a que cada fenantrolina posee un entorno químico distinto inducido por la presencia de un grupo metilo en posición 4 en el anillo pirimidínico.

La presencia de los nuevos ligandos no solo influye en los desdoblamientos de las señales, sino que también lo hace en los desplazamientos químicos (Tabla 4.3.2 y Tabla 4.3.3). Por ejemplo, en la especie **7a** se producen desplazamientos de las señales del ligando fenantrolina, H1' (+0.03 ppm), H1 (+0.05 ppm), H2,2' (+0.03 ppm), H3' (+0.01 ppm), H3 (+0.23 ppm), H5' (-0.05 ppm) y H5 (+0.04 ppm), respecto de las señales en la especie homotópica 1 del ligando 4,7-fen. Y desplazamientos a campo alto de las señales del ligando 2-hidroxipirimidina, H4,4' (-0.30 ppm) y H5 (-0.50 ppm), respecto de la especie homotópica tetranuclear 4H del ligando pymo.

Tabla 4.3.2.- Señales de los espectros  $^1\text{H}$  RMN (300MHz). Desplazamientos químicos (ppm) y constantes de acoplamiento (Hz) de los protones aromáticos del ligando 4,7-fenatrolina libre y los compuestos **1**, **7a**, **7b** y **7c**. ( $\text{D}_2\text{O}$ , 298K).

Compuestos	H2,2	H1,1'	H3,3'	H5,5'
<b>1</b>	7.94	9.24	9.79	10.39
<b>7a</b>	7.97	9.26(H1) 9.29(H1')	9.80(H3) 9.56(H3')	10.43(H5) 10.34(H5')
<b>7b</b>	7.96 <sup>[a]</sup> (H2,2',2*,2*')	9.28(H1,1') 9.25(H1*,1*')	9.84(H3) 9.75(H3') 9.57 (H3*,3*')	10.68(H5) 10.61(H5') 10.47(H5*) 10.36(H5*')
<b>7c</b>	7.92 (H2,2')	9.27(H1) 9.24(H1')	9.80(H3) 9.55(H3')	10.76(H5) 10.53(H5')

<sup>[a]</sup> Valor promedio para los protones H2,H2',H2\*,H2\*' de la especie **7b**.

Tabla 4.3.3.- Señales de los espectros  $^1\text{H}$  RMN (300MHz). Desplazamientos químicos (ppm) de los protones de los ligandos Hpymo, Hmpymo y Hdmpymo, y los compuestos **7a**, **7b** y **7c**. ( $\text{D}_2\text{O}$ , 298K).

Compuestos	H4	H4'	H5	Me,Me'
<b>Hpymo·HCl</b>	8.72	8.72	7.05	
<b>4</b>	8.25		6.49	
<b>7a</b>	7.93	7.93	6.00	
<b>Hmpymo·HCl</b>	8.08		6.48	2.28
<b>7b</b>	7.90		6.17	2.77
<b>Hdmpymo</b>			6.77	2.58
<b>7c</b>			6.26	2.98

Si comparamos los desplazamientos químicos de las señales de los ligandos pirimidínicos puente en las especies heterotópicas, respecto de estos ligandos libres protonados, observamos que se produce un desplazamiento de los protones aromáticos a campo alto debido a la menor naturaleza polarizante de los iones  $\text{Pd}^{2+}$  en comparación con los protones (Tabla 4.3.3). Para el ligando pymo, en la especie trinuclear 7a, este desplazamiento a campo alto del protón H5 es más acusado que el que presentan sus derivados metilados, mpymo y dmpymo, en las especies 7b y 7c respecto de sus ligando libres. Esto se puede justificar porque el carácter electrón-atrayente (del anillo de pirimidina) del ligando pymo es mayor que el de sus derivados metilados en posición 4 y 4', debido al carácter dador de los grupos metilo y a un efecto  $\delta$  *sin-periplanar* en los derivados metilados 2-mpymo y 2-dmpymo que produce un apantallamiento del protón H5 (Figura 4.3.9).

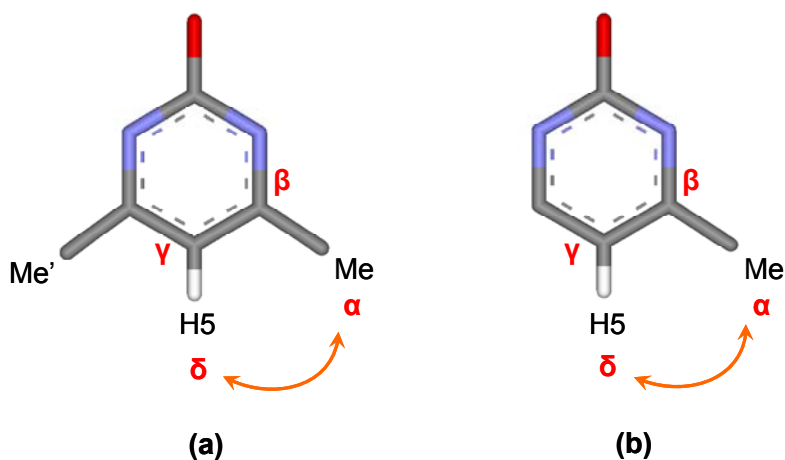


Figura 4.3.9.- Esquema del efecto  $\delta$  *sin-periplanar* en los derivados metilados 2-mpymo y 2-dmpymo. Carbono, Nitrógeno, Oxígeno.

Por otro lado, es interesante destacar el acusado desplazamiento a campo bajo de los grupos metilo Me (+0.49ppm) y Me, Me' (+0.4ppm) en las especies 7b y 7c, respectivamente. Dicho desplazamiento de los grupos metilo a campo bajo en los compuestos 7b y 7c se puede explicar como consecuencia de su localización sobre el plano de coordinación de un ión  $d^8$  y es una prueba adicional del modo

de coordinación N,N'-exo-bidentado puente de estos ligandos.<sup>41,42</sup> Puede ser incluso indicativo de una débil interacción M··H-C agóstica no clásica,<sup>43</sup> de “tres-centros cuatro-electrones”<sup>44</sup> ya que en la especie 7c hay una corta distancia M··H de alrededor de 2.6 Å.

También se ha llevado a cabo el espectro bidimensional de <sup>1</sup>H RMN de tipo NOESY para la especie 7a, que pone de manifiesto la presencia simultánea de los dos tipos de ligandos, 4,7-fen y pymo, en este metalocalix[3]areno heterotópico.

El NOESY representado de la Figura 4.3.10 corresponde a la desproporción de la especie 8a para dar lugar a la especie trinuclear 7a y la hexanuclear 9a. Ahora estudiaremos los datos referentes a la especie 7a, mientras que la especie 9a se estudiara más adelante. En el espectro bidimensional podemos observar los picos de cruce entre los protones H4,4' de la 2-hidroxipirimidina y el protón H3 de una mitad de la fenantrolina, confirmando la proximidad espacial de este lado de la fenantrolina y el ligando pirimidínico. No se observan interacciones entre los protones entre los protones H5 de las fenantrolinas y los H4,4' del ligando pirimidínico, lo cual indica que la estructura del metalocalix[3]areno es una estructura cíclica rígida de tipo cono. También se pone de manifiesto la distribución asimétrica de la densidad electrónica existente en la fenantrolina, siendo más pronunciada hacia el lado de la 2-hidroxipirimindina que hacia el otro lado. El resto de picos que aparecen en el espectro bidimensional corresponden a los picos de cruce ente los protones de la propia fenantrolina.

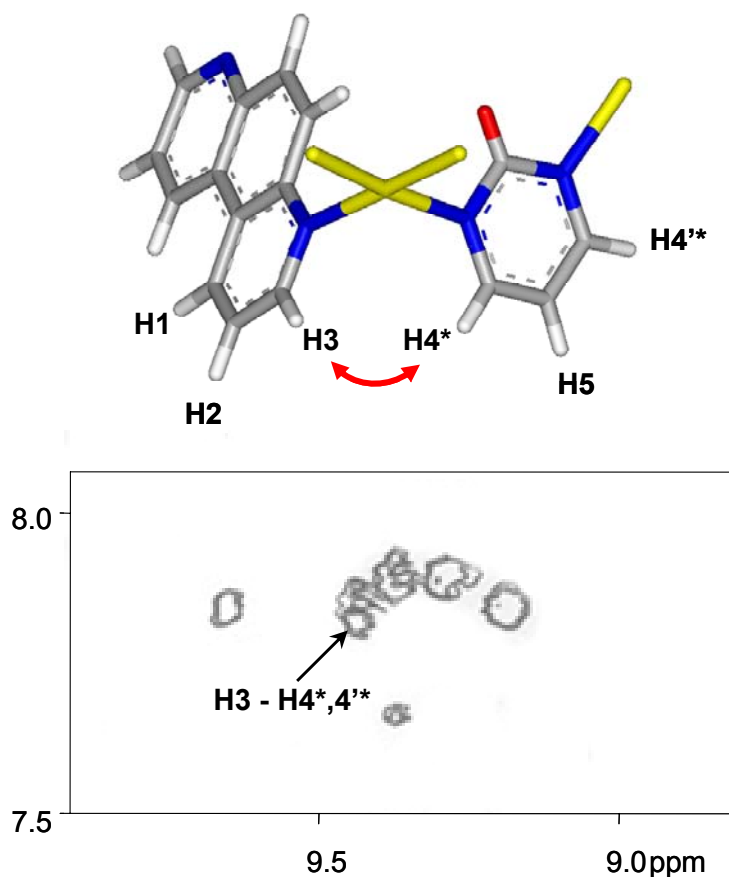


Figura 4.3.10.- Espectro bidimensional NOESY donde se observa al pico de cruce entre el protón H3 de la 4,7-fen y los protones H4\*,4'' de la 2-pymo en la especie **7a**. Y representación esquemática de dicha interacción espacial en la **7a**. Carbono, **Nitrógeno**, **Paladio**, **Oxígeno**.

### METALOCALIX[4]ARENOS

Como se indicó anteriormente, de las especies heterotópicas tetranucleares de tipo  $[\text{Pd}_4(\text{en})_4(\text{L}-N^1, N^3)_2(4,7\text{-fen}-N^4, N^7)_2]^{6+}$  sólo pudo obtenerse el compuesto  $[\text{Pd}_4(\text{en})_4(\text{pymo}-N^1, N^3)_2(4,7\text{-fen}-N^4, N^7)_2]^{6+}$  (**8a**). Los espectros de  $^1\text{H}$  RMN de esta especie están de acuerdo con la estructura obtenida por difracción de rayos X en monocristal, descrita en la Sección 4.3.1.1. El hecho más significativo que se observa en los espectros de  $^1\text{H}$  RMN es la simetría original  $C_{2v}$  de los ligandos 4,7-fen y de la pymo, que se pone de manifiesto en el espectro de  $^1\text{H}$  RMN con la equivalencia entre las señales de los protones H5 y H5', H3 y H3',

H1 y H1', y H2 y H2' de la fenantrolina y la equivalencia entre los protones H4 y H4' del ligando pirimidínico (Figura 4.3.11). Todo esto concuerda igualmente con la simetría  $C_{2v}$  del metalocalix[4]areno en disolución.

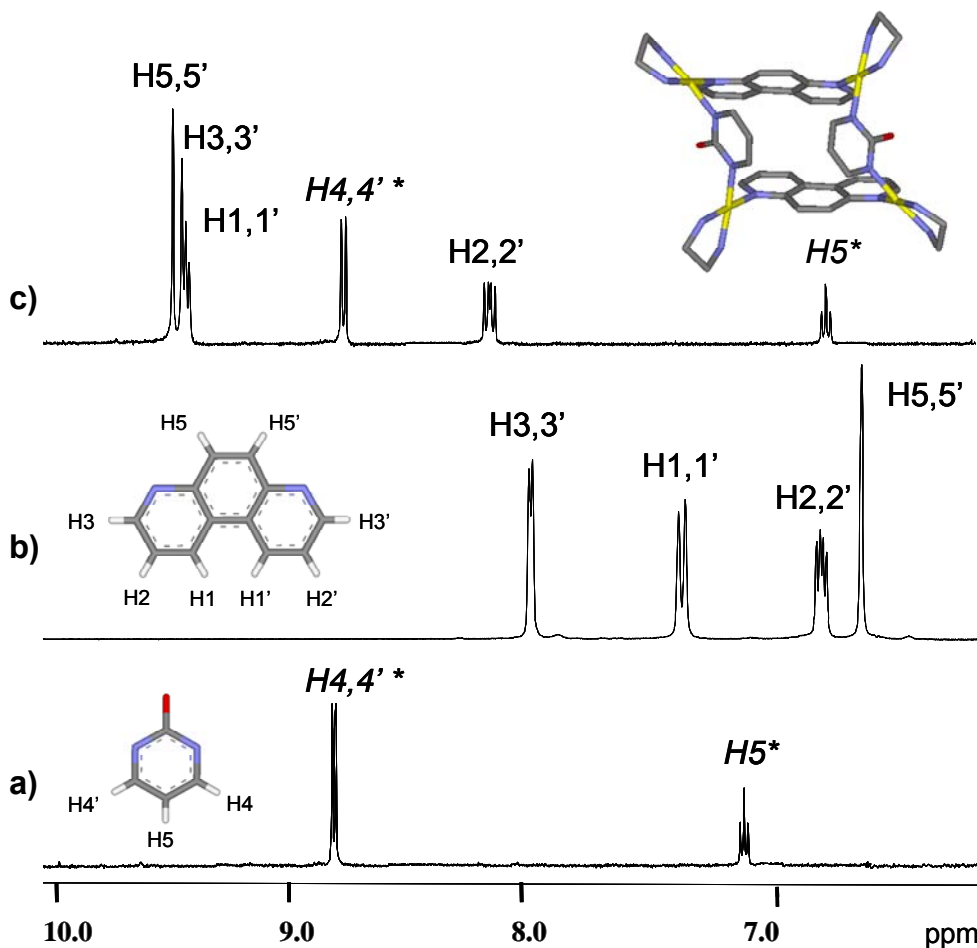


Figura 4.3.11.- Comparación de los espectros de  $^1\text{H}$  RMN de: a) clorhidrato de la Hpyrmo, b) 4,7-fen libre, c) metalocalix[4]areno  $[\text{Pd}_4(\text{en})_4(\text{pymo-}N^1, N^3)_2(4,7\text{-fen-}N^4, N^7)_2]^{6+}$  (**8a**) obtenido a partir de la reacción de  $[(\text{en})\text{Pd}(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$ , Hpyrmo y 4,7-fen. Los asteriscos denotan las señales de la 2-hidroxipirimidina. Carbono, Nitrógeno, Paladio, Oxígeno.

Las señales de los protones de los ligandos pyrmo se desplazan a campo bajo, H4,4' (+0.4 ppm) y H5 (+0.1 ppm) respecto de las señales que aparecen en la especie  $[\text{Pd}(\text{en})(\text{pymo-}N^1, N^3)]_4(\text{NO}_3)_4$  (4H). Además, también se producen desplazamientos de los protones aromáticos de la 4,7-fenantrolina, H1,1' (-0.05

ppm), H2,2' (-0.04 ppm), H3,3' (-0.6 ppm) y H5,5' (-1.13 ppm), respecto de su la especie homotópica [Pd(en)(4,7-fen- $N^4, N^7$ )]<sub>3</sub>(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> (1Pd).

Tabla 4.3.4.- Señales de los espectros <sup>1</sup>H RMN (300MHz). Desplazamientos químicos (ppm) y constantes de acoplamiento (Hz) de los protones aromáticos de la 4,7-fen libre, las especies homotópicas **1Pd** y **4H**, y el compuesto heterotópico **8a**.

Compuestos	H2,2'	H1,1'	H3,3'	H5,5'	H4,4'	H5
<b>4,7-fen</b>	6.70 ( $J_{1,2} = 8.5, J_{2,3} = 4.5$ )	7.29 ( $J_{1,2} = 8.45$ )	7.92 ( $J_{2,3} = 4.5$ )	6.35		
<b>1Pd</b>	7.94	9.24	9.79	10.39		
<b>4H</b>					8.25 ( $J_{4,5} = 5.7$ )	6.49 ( $J_{4,5} = 5.7$ )
<b>8a</b>	7.9 ( $J_{1,2} = 8.5, J_{2,3} = 5.6$ )	9.19-9.22	9.19-9.22	9.26	8.65 ( $J_{4,5} = 5.5$ )	6.6 ( $J_{4,5} = 5.5$ )

El desplazamiento a campo bajo de las señales del ligando pymo en la especie **8a** respecto de la especie **4H** se puede explicar debido a la longitud del ligando 4,7-fen que impide una posible interacción de apilamiento entre las dos pirimidinas enfrentadas en la especie **8a** y a la conformación 1,3-alternada de los ligandos puente.

Los espectros 2D <sup>1</sup>H <sup>1</sup>H NOESY de este metalocalix[4]areno heterotópico (Figura 4.3.12) muestran picos de intercambio entre los protones H1,1', H3,3' y H5,5' de la 4,7-fenantrolina y los protones H4,4' del ligando pirimidínico, como consecuencia de un contacto espacial entre los heterociclos adyacentes. La existencia de dichos contactos espaciales entre los protones de los dos heterociclos demuestran que la estructura es conformacionalmente flexible, probablemente con libertad rotacional del enlace Pd-N(pymo). Este hecho también queda reflejado en las interacciones de reconocimiento molecular de esta especie (Apartado 4.5.1).



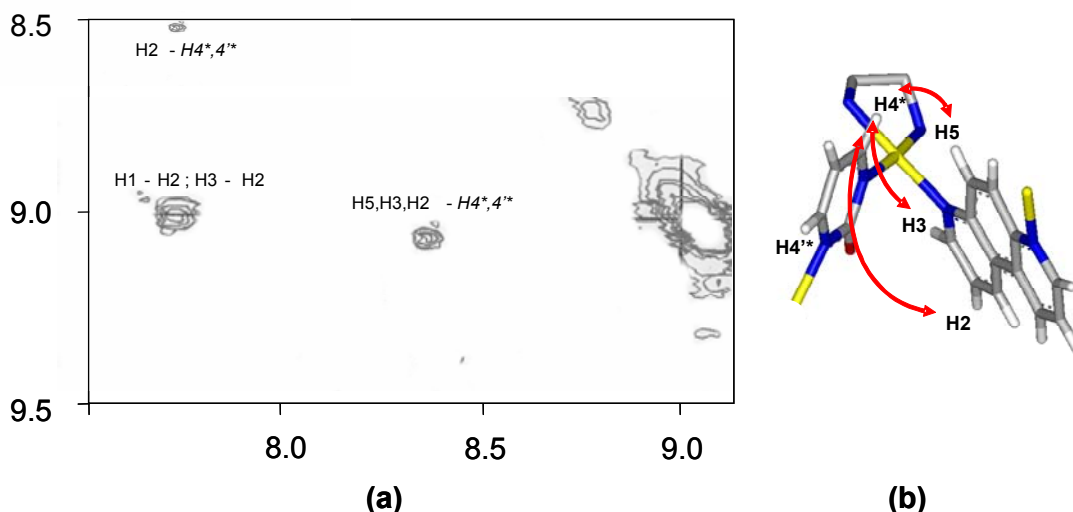


Figura 4.3.12.- Espectro 2D <sup>1</sup>H <sup>1</sup>H NOESY de la especie [Pd<sub>4</sub>(en)<sub>4</sub>(pymo-*N*<sup>1</sup>,*N*<sup>3</sup>)<sub>2</sub>(4,7-fen-*N*<sup>4</sup>,*N*<sup>7</sup>)<sub>2</sub>]<sup>6+</sup> (**8a**). Picos de cruce de los protones H1,1', H3,3' y H5,5' de la 4,7-fenantrolina y los protones H4,4' del ligando pirimidínico, como consecuencia de un contacto espacial entre los heterociclos adyacentes. Los asteriscos indican señales correspondientes a la pymo. Carbono, Nitrógeno, Paladio.

## METALOCALIX[6]ARENOS

Como se indicó al comienzo de esta sección, de las posibles especies hexanucleares sólo se pudo obtener la especie [Pd<sub>6</sub>(en)<sub>6</sub>(pymo-*N*<sup>1</sup>,*N*<sup>3</sup>)<sub>4</sub>(4,7-fen-*N*<sup>4</sup>,*N*<sup>7</sup>)<sub>2</sub>]<sup>8+</sup> (**9a**). Al igual que en las especies tetranucleares esto se puede explicar por la menor funcionalización del ligando pymo respecto de sus derivados metilados en posición 4,4', los cuales presentan mayor impedimento estérico. No se pudo aislar la especie **9a** en estado sólido, por lo que los estudios de caracterización se realizaron únicamente en disolución.

La especie **8a**, anteriormente estudiada, no es termodinámicamente estable en disolución durante un largo tiempo de reacción. Los estudios de <sup>1</sup>H RMN muestran la desproporción de esta especie después de 10 días a temperatura ambiente para dar lugar a una mezcla 1:2 de una nueva especie hexanuclear del tipo [Pd<sub>6</sub>(en)<sub>6</sub>(pymo-*N*<sup>1</sup>,*N*<sup>3</sup>)<sub>4</sub>(4,7-fen-*N*<sup>4</sup>,*N*<sup>7</sup>)<sub>2</sub>]<sup>8+</sup> (**9a**) y la especie trinuclear previamente estudiada [Pd<sub>3</sub>(en)<sub>3</sub>(pymo-*N*<sup>1</sup>,*N*<sup>3</sup>)(4,7-fen-*N*<sup>4</sup>,*N*<sup>7</sup>)<sub>2</sub>]<sup>5+</sup> (**7a**) (Figura

4.3.13). La reacción de desproporción es más rápida cuando una disolución de la especie **8a** se hace reaccionar a una temperatura de 80 °C durante 24h. Otra forma de obtener la especie **9a** es a partir de una mezcla de reacción 3:4 de las especies homotópicas **1** y **4**, a una temperatura de 80 °C. La evolución de esta reacción se ha seguido por espectroscopia <sup>1</sup>H RMN tal y como se muestra en la Figura 4.3.14.

Este proceso de desproporción y posterior reorganización de las moléculas para dar lugar a una nueva especie se pueden explicar por la naturaleza labil de los enlaces Pd-N en disolución. Similares procesos han sido descritos para la mezcla 1:2 de complejos de paladio con ligandos 4,4'-bipyridyl y 4,4'-(4-piridilimetilbifenilo).<sup>45</sup>

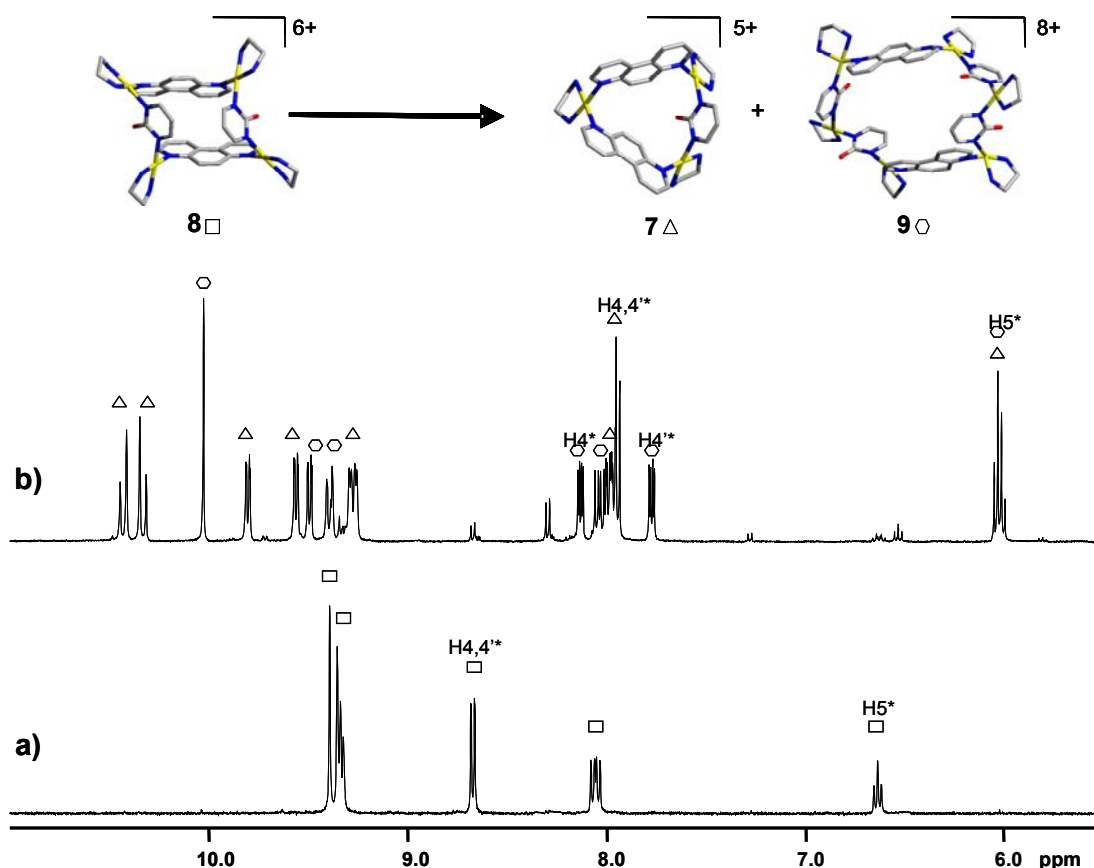


Figura 4.3.13.- Espectros de <sup>1</sup>H RMN de la especie: a)  $[\text{Pd}_4(\text{en})_4(\text{pymo-}N^1, N^3)_2(4,7\text{-fen-}N^4, N^7)_2]^{6+}$  (**8a**), b) producto de la desproporción de **8a** para dar las especies  $[\text{Pd}_3(\text{en})_3(\text{pymo-}N^1, N^3)(4,7\text{-fen-}N^4, N^7)_2]^{5+}$  (**7a**) y  $[\text{Pd}_6(\text{en})_6(\text{pymo-}N^1, N^3)_4(4,7\text{-fen-}N^4, N^7)_2]^{8+}$  (**9a**). Los cuadrados indican la especie tetranuclear **8a**, triángulos la especie trinuclear **7a**, y los hexámeros la especie **9a**. Los asteriscos indican señales de la pymo. Carbono, Nitrógeno, Paladio, Oxígeno.

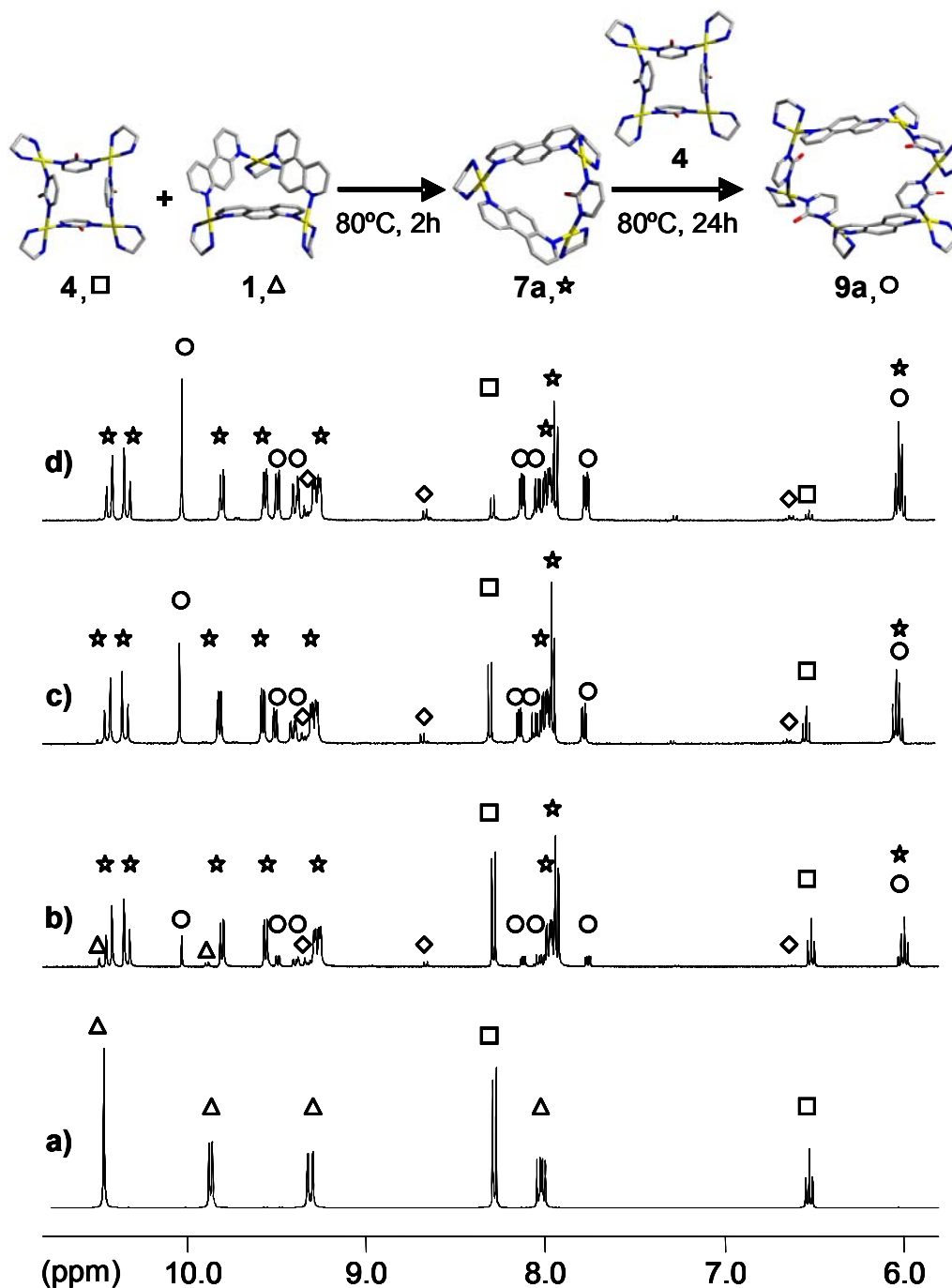


Figura 4.3.14.- Evolución a 80°C de la mezcla de reacción 3:4 de las especies homotópicas  $[\text{Pd}(\text{en})(\text{pymo-}N^l, N^3)]_4^{4+}$  (**4H**) y  $[\text{Pd}(\text{en})(4,7\text{-fen-}N^l, N^7)]_3^{3+}$  (**1**) seguida por espectroscopía de <sup>1</sup>H RMN. a) t = 0; b) t = 2h; c) t = 5h; d) t = 24h. Los cuadrados indican la especie  $[\text{Pd}(\text{en})(\text{pymo-}N^l, N^3)]_4^{4+}$  (**4H**), los triángulos la especie  $[\text{Pd}(\text{en})(4,7\text{-fen-}N^l, N^7)]_3^{3+}$  (**1**), las estrellas la especie  $[\text{Pd}_3(\text{en})_3(\text{pymo-}N^l, N^3)(4,7\text{-fen-}N^l, N^7)_2]^{5+}$  (**7a**), los rombos la especie  $[\text{Pd}_4(\text{en})_4(\text{pymo-}N^l, N^3)_2(4,7\text{-fen-}N^l, N^7)_2]^{6+}$  (**8a**), los círculos la especie  $[\text{Pd}_6(\text{en})_6(\text{pymo-}N^l, N^3)_4(4,7\text{-fen-}N^l, N^7)_2]^{8+}$  (**9a**). Carbono, Nitrógeno, Paladio, Oxígeno.

Los espectros de  $^1\text{H}$  RMN demuestran la formación de la estructura hexanuclear propuesta, donde dos ligandos de pymo se alternan con un ligando de 4,7-fen quedando estos últimos uno enfrente del otro (Figura 4.3.15).

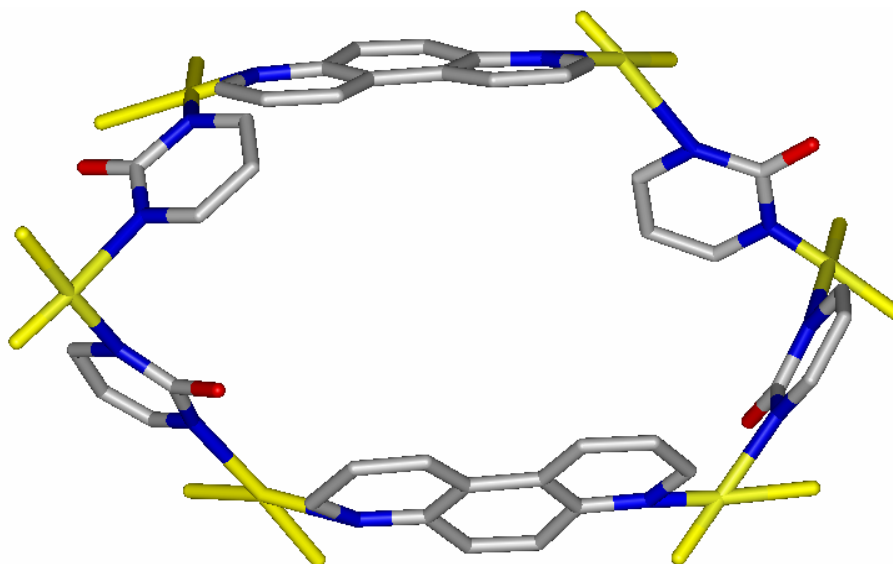


Figura 4.3.15.- Estructura propuesta para la especie  $[\text{Pd}_6(\text{en})_6(\mu\text{-}N,N'\text{-}2\text{-pymo})_4(\mu\text{-}N,N'\text{-}4,7\text{-fen})_2]^{8+}$  (**9a**). Carbono, Nitrógeno, Paladio, Oxígeno.

El espectro de la especie 9a (Figuras 4.3.13 y 4.3.14) muestra la pérdida de la equivalencia entre los dos protones H4 y H4' de los ligandos pirimidínicos, indicando entornos distintos en cada mitad de la 2-pymo: por un lado interacciona con una molécula de 4,7-fen y por el otro con una de 2-pymo. Sin embargo, se mantiene la equivalencia entre las dos mitades los ligandos de fenantrolina, que están de acuerdo con la permanencia de la simetría original  $C_{2v}$ .

Para la especie hexanuclear 9a las señales de la fenantrolina están desplazadas, H1,1' (+0.11 ppm), H2,2' (+0.15 ppm), H3,3' (-0.30 ppm) y H5,5' (-0.40 ppm), en comparación con las señales de la fenantrolina en la especie homotópica 1. En el caso del ligando pymo las señales están desplazadas a campo alto, H4 (-0.15 ppm), H4' (-0.52 ppm) y H5 (-0.50 ppm), con respecto a la especie homotópica 4H.

También se realizaron espectros  $^2D\ ^1H\ ^1H$  NOESY para caracterizar mejor el complejo **9a** (Figura 4.3.16). En estos espectros se observan picos de cruce entre los protones H3,3' (4,7-fen), H4' (2-pymo) y H2,2' (4,7-fen), H4 (2-pymo), lo que esta de acuerdo con la proximidad de los diferentes heterociclos. Además, también se observan picos de cruce entre los protones H4 y H4' de la pymo, que concuerda con la proximidad de dos hidroxipirimidinas y una naturaleza conformacionalmente flexible del metalomacrociclo.

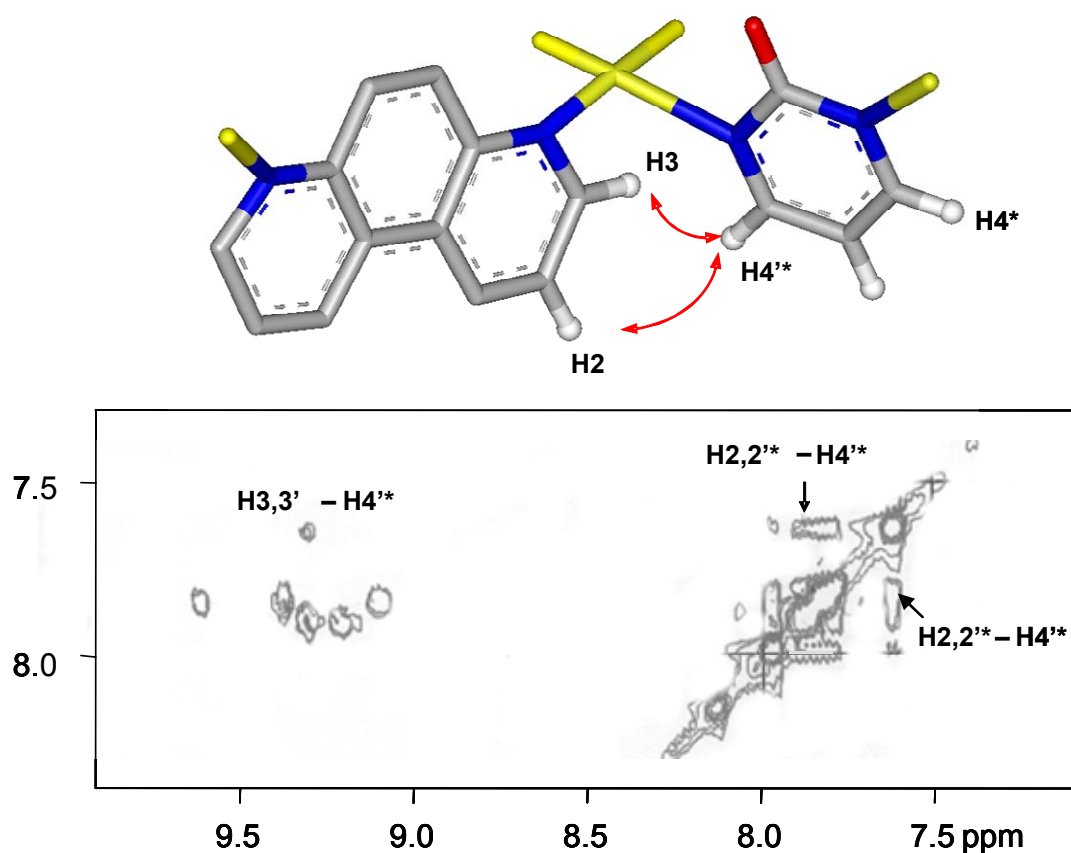


Figura 4.3.16.- Sección del espectro de 2D NOESY correspondiente a la  $[Pd_6(en)_6(pymo-N^1,N^3)_4(4,7-fen-N^4,N^7)_2]^{8+}$  (**9a**), obtenido a partir de la evolución a 80°C de la mezcla de reacción 3:4 de las especies homotópicas  $[Pd(en)(pymo-N^1,N^3)]_4^{4+}$  (**4H**) y  $[Pd(en)(4,7-fen-N^4,N^7)]_3^{6+}$  (**1**). Picos de cruce picos de cruce entre los protones H3,3' (4,7-fen), H4' (pymo) y H2,2' (4,7-fen), H4 (pymo). Carbono, **Nitrógeno**, **Paladio**, **Oxígeno**.

### 4.3.2.- Oligómeros heterotópicos mixtos con ligandos angulares y lineales.

La reacción multicomponente llevada a cabo entre los compuestos cíclicos  $[\text{Pd}(\text{en})(\text{pymo-}N^1, N^3)]_4^{4+}$  (4H) y  $[(\text{en})\text{Pd}(\text{bp-}N^4, N^{4'})]_4^{4+}$  (4bp)<sup>46</sup>, en disolución acuosa, a 70°C durante 2h, da lugar a diferentes compuestos heterotópicos tipo metalocalix[n]areno  $[\text{Pd}_n(\text{en})_n(\text{pymo-}N^1, N^3)_m(\text{bp-}N^4, N^{4'})_{n-m}]^{(2n-m)+}$ .

De la misma manera, una reacción llevada a cabo entre el compuesto cíclico 4bp y el ligando Hdmpymo dio lugar a la formación de una especie heterotópica de tipo  $[\text{Pd}_n(\text{en})_n(\text{dmpymo-}N^1, N^3)_m(\text{bp-}N^4, N^{4'})_{n-m}]^{(2n-m)+}$ .

Estas reacciones se han estudiado mediante espectroscopia de <sup>1</sup>H RMN. Por ejemplo, los espectros de la reacción entre las especies 4H y 4bp muestran la evolución de la reacción, la cual da lugar a la aparición de nuevas señales correspondientes a nuevos compuestos (Figura 4.3.17). Hasta ahora, no se han podido identificar y aislar las diferentes especies en disolución, pero tras los estudios de reactividad realizados anteriormente (Apartado 4.3.1) podemos intuir la formación de especies heterotópicas de fórmula general  $[\text{Pd}_n(\text{en})_n(\text{pymo-}N^1, N^3)_m(\text{bp-}N^4, N^{4'})_{n-m}]^{(2n-m)+}$ , con el ligando lineal bp y angular pymo.

Actualmente se sigue trabajando en para aislar estos productos y obtener sistemas cíclicos heterotópicos de tipo metalocalix[n]areno con ligandos angulares y lineales puente.

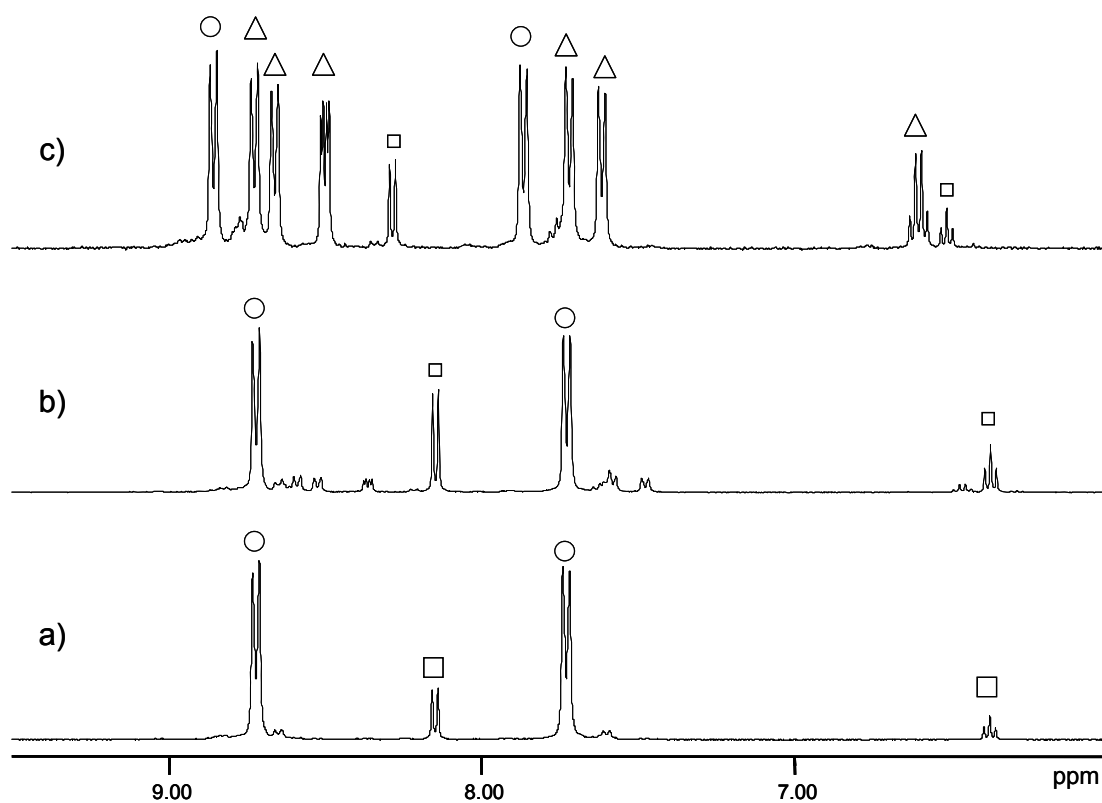


Figura 4.3.17.- Evolución a 60°C de la mezcla de reacción 1:1 de las especies homotópicas  $[\text{Pd}(\text{en})(\text{pymo-}N^I, N^3)]_4^{4+}$  (**4H**) y  $[(\text{en})\text{Pd}(\text{bpy-}N^I, N^{I'})]_4^{4+}$  (**4bp**) seguida por espectroscopía de  $^1\text{H}$  RMN. a)  $t = 0$ ; b)  $t = 1\text{h}$ ; c)  $t = 4\text{h}$ . Los cuadrados indican la especie  $[\text{Pd}(\text{en})(\text{pymo-}N^I, N^3)]_4^{4+}$  (**4H**), los círculos la especie  $[(\text{en})\text{Pd}(\text{bpy-}N^I, N^{I'})]_4^{4+}$  (**4bp**), los triángulos la especie  $[\text{Pd}_n(\text{en})_n(\text{L-}N^I, N^3)_m(\text{bpy-}N^I, N^{I'})_{n-m}]^{(2n-m)+}$ .

#### 4.4.- Funcionalización de los oligómeros cíclicos con sustituyentes electroquímicamente activos.

En este apartado se describen las distintas estrategias de síntesis empleadas con el fin de introducir un grupo electroquímicamente activo en los oligómeros cíclicos previamente descritos en esta memoria, con la idea de utilizar dichos materiales como sensores electroquímicos.

Teniendo en cuenta la estructura de los oligómeros cíclicos, existen dos posibilidades a la hora de funcionalizarlos con la introducción de un grupo activo a) en los ligandos puente, ó b) en los grupos protectores (Veáse Figura 4.4.1)

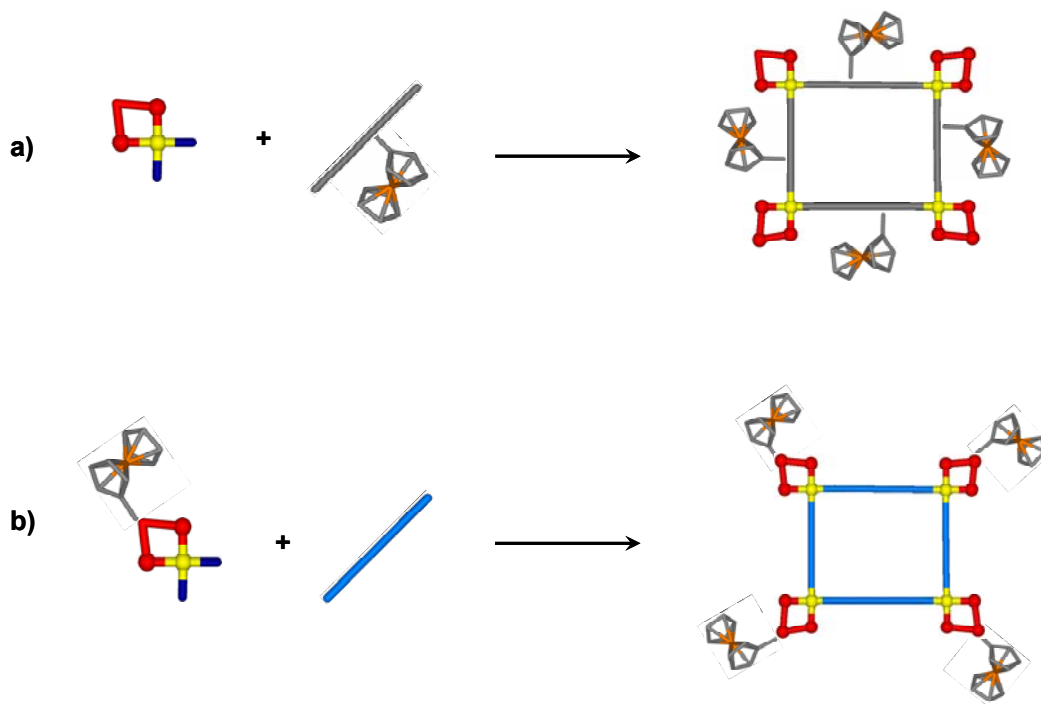


Figura 4.4.1.- Esquema de las estrategias de síntesis para introducir el grupo ferroceno en los oligómeros cíclicos. a) a través de los ligandos puente funcionalizados, b) a través de los fragmentos metálicos funcionalizados.



#### 4.4.1.- Funcionalización de los ligandos puente con grupos ferroceno

Como se ha visto anteriormente (Apartado 4.3), la especie trinuclear  $[(enPd(4,7-phen))]_3^{6+}$  (1Pd) da lugar a reacciones de intercambio de ligandos 4,7-fen con derivados de la 2-Hpymo, en condiciones de reacción muy suaves (ver Figura 4.3.2). Esta reacción de intercambio de ligandos nos sugirió la posibilidad de introducir, de esta manera, ligandos puente previamente funcionalizados.

Los derivados pirimidínicos con un grupo halógeno en posición 5 como el 5-yodo-uracilo o la 5-yodo-citosina, han sido funcionalizados con éxito con un grupo electroquímicamente activo por reacción con derivados del tipo del vinilferroceno o etinilferroceno.<sup>47</sup> Siguiendo una estrategia similar se escogió el derivado 5-yodo-2-hidroxypyrimidina (l-Hpymo), que se hizo reaccionar con el etinilferroceno para obtener el derivado 5-etinilferroceno-2-hidroxipirimidina (f-Hpymo).

La síntesis del derivado pirimidínico f-Hpymo se ha llevado a cabo mediante una reacción de acoplamiento Sonogashira<sup>48</sup> entre el 5I-Hpymo y el etinilferroceno en relación 1:1 en piperidina seca (base y disolvente) y utilizando una mezcla de  $Pd(PPh_3)_4$  y CuI como catalizadores y una atmósfera reductora de  $H_2$ . La mezcla de reacción se mantuvo a  $80^\circ C$  durante 5h obteniéndose el producto deseado con un rendimiento del 35% (Figura 4.4.2).

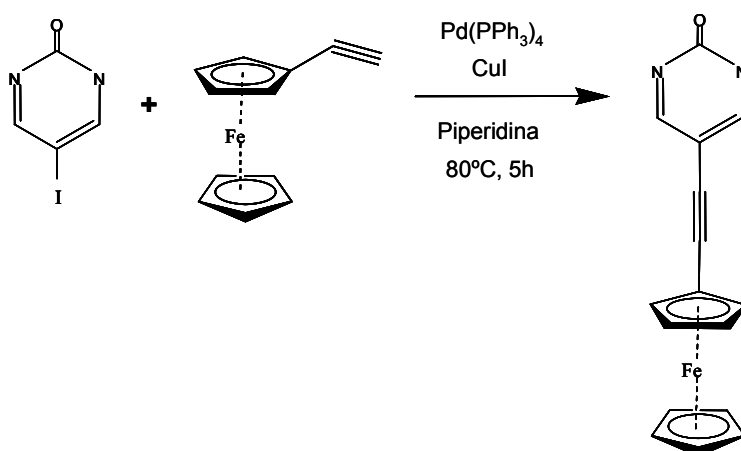


Figura 4.4.2.- Reacción de Sonogashira para la obtención del ligando f-Hpymo. (1equiv 5I-Hpymo, 1equiv Etinilferroceno, 15% CuI, 10%  $Pd(PPh_3)_4$ , piperidina).

El nuevo ligando funcionalizado fue aislado y caracterizado por ESI-MS,  $^1\text{H}$  NMR, análisis elemental (AE), voltametría cíclica. El producto recristalizado en MeOH permitió que se realizase su análisis estructural por difracción de rayos-X en monocristal. La estructura cristalina muestra la unión del grupo etinilferroceno a la posición 5 del anillo pirimidínico. La presencia de grupo etinilo da lugar a una separación de 4.05 Å entre el anillo pirimidínico y el grupo ferroceno (Figura 4.4.3). Una selección de los parámetros cristalinos del nuevo ligando aparece resumida en la Tabla 4.4.1

Tabla 4.1.1.- Datos cristalográficos para el ligando f-Hpymo.

Compuesto	f-Hpymo
Fórmula	$\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{FeN}_2\text{O}_3$
$M_r$	354.18
Sistema cristalino	triclinic
Grupo espacial	$\bar{P}1$
$a$ [Å]	6.022(4)
$b$ [Å]	9.912(6)
$c$ [Å]	12.964(8)
$\alpha$ [°]	78.772(7)
$\beta$ [°]	77.213(6)
$\gamma$ [°]	77.793(6)
$V$ [Å <sup>3</sup> ]	728.6(8)
$Z$	2
$\rho_{\text{calcd}}$ [mg/m <sup>3</sup> ]	1.614
$\mu$ (Mo-K $\alpha$ ) [mm <sup>-1</sup> ]	1.052
$T$ (K)	120(2)
Reflns. medidas	5337
Reflns. únicas	2541
$R_1$ <sup>[a]</sup>	0.0795
$wR^2$ <sup>[b]</sup>	0.2096
Goodness of fit	1.058
Residuos [eÅ <sup>-3</sup> ]	1.49 / -1.01

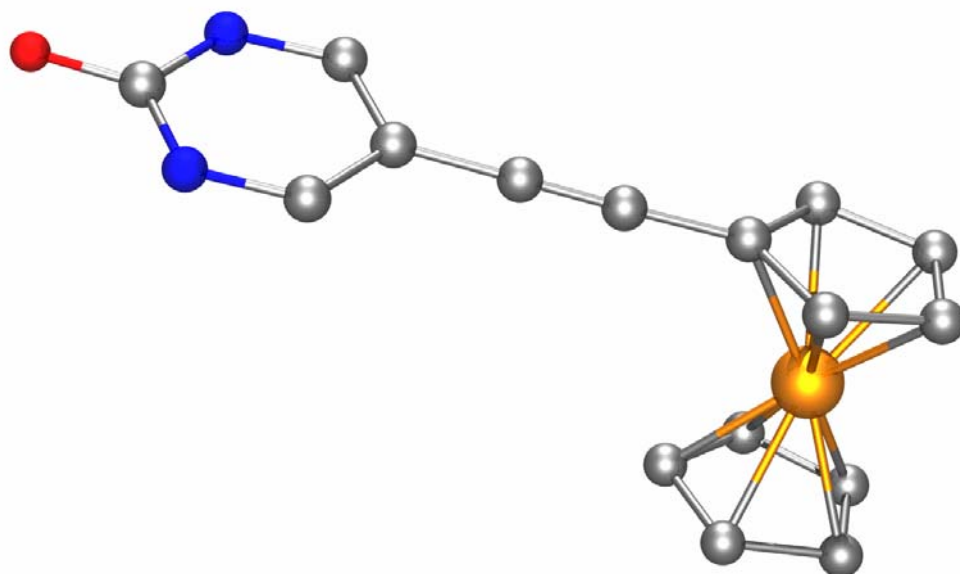


Figura 4.4.3.- Perspectiva de la estructura del ligando f-Hpymo obtenida por difracción de rayos X en monocristal. **Carbón**, **Nitrógeno**, **Oxígeno**, **Hierro**.

Los resultados de ESI-MS muestran un máximo centrado a  $M = 304$  que corresponde al peso molecular del nuevo ligando funcionalizado. El espectro de  $^1\text{H}$  RMN muestra una señal a 8.3 ppm correspondiente a los protones H4,4' del anillo de pirimidina y tres señales localizadas entre 4 y 4.4 ppm correspondientes al grupo etinilferroceno (Figura 4.4.4).

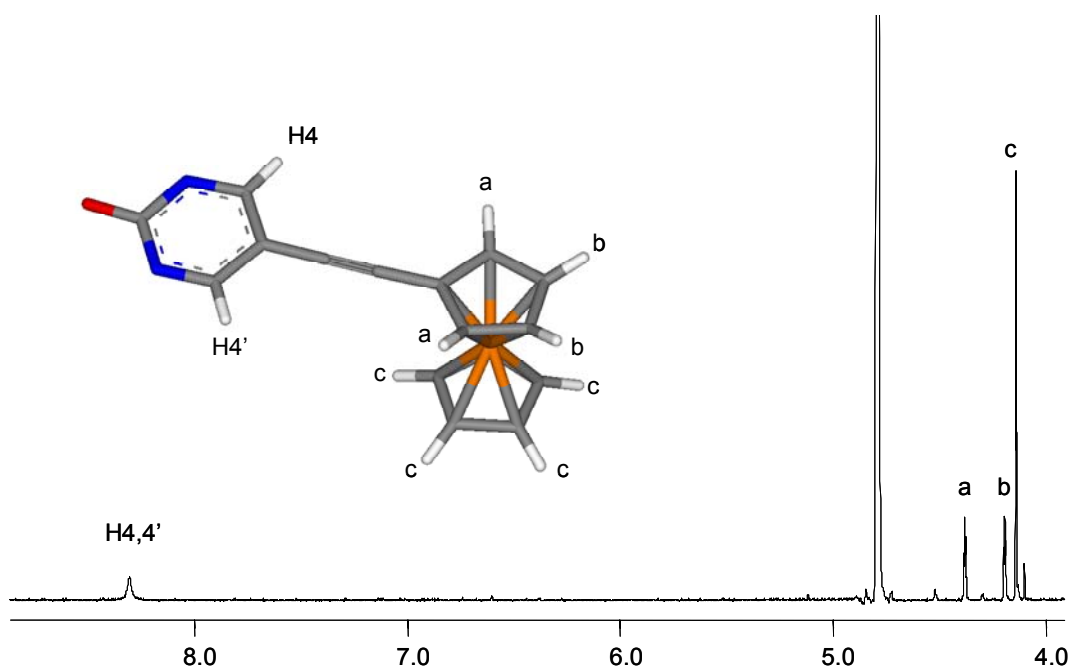


Figura 4.4.4.- Espectro de  $^1\text{H}$  RMN registrado para la especie f-Hpymo (MeOD, 293K). **Carbón**, **Nitrógeno**, **Oxígeno**, **Hierro**.

La voltametría cíclica registrada para el ligando f-Hpymo muestra un proceso reversible de oxidación-reducción ( $\text{Fe}^{2+} \leftrightarrow \text{Fe}^{3+}$ ) correspondiente al grupo etinilferroceno unido al anillo, cuyo potencial  $E^\circ$  se desplaza +105 mV respecto al sistema ferroceno-ferrocinio y -195 mV respecto al etinilferroceno-etinilferrocinio del grupo etinilferroceno libre (Figura 4.4.5). Esto revela la mayor facilidad de oxidación del grupo etinilferroceno cuando esta unido al anillo pirimidínico que el precursor etinilferroceno, lo que esta de acuerdo con la naturaleza electrón donadora del residuo pirimidínico. Sin embargo, en ambos casos la oxidación del hierro es más difícil que la del grupo ferroceno libre.

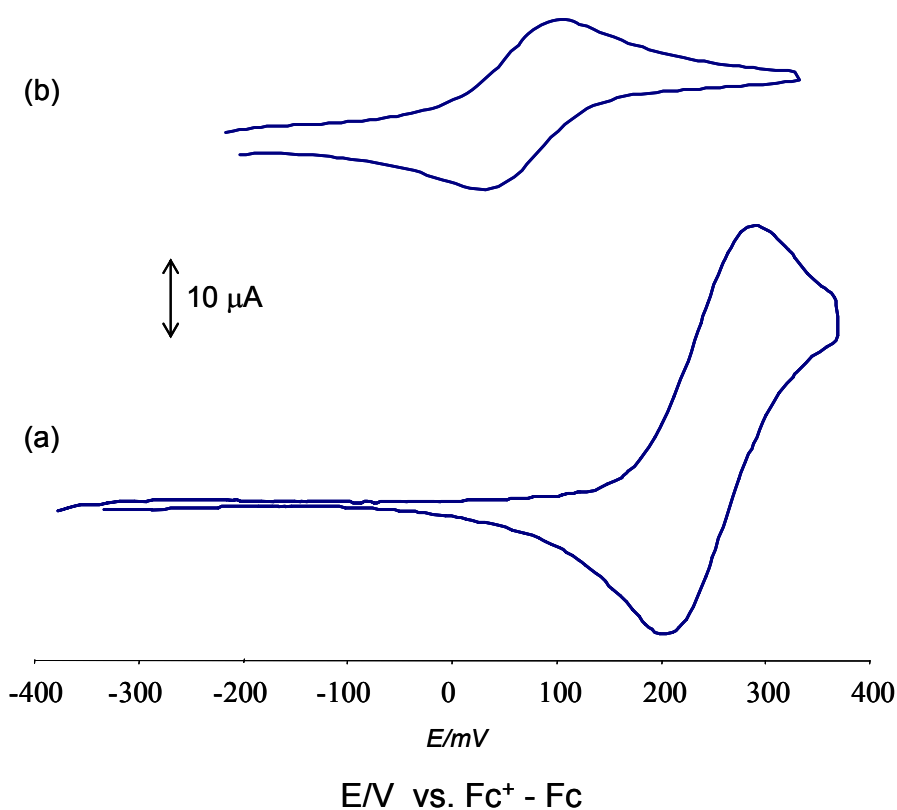


Figura 4.4.5.- Voltametría cíclica del (a) etinilferroceno libre y (b) del ligando f-Hpymo. Condiciones: 1.2mM de muestra , 120 mM  $\text{LiClO}_4$  en acetonitrilo, temperatura ambiente, electrodo de trabajo de Au.

#### 4.4.2.- Funcionalización de los grupos protectores con grupos ferroceno

Como se había indicado anteriormente, una segunda alternativa a la hora de funcionalizar los oligómeros cíclicos es la de introducir el grupo electroquímicamente activo en los vértices de los metalomacrocílicos. Esta estrategia de síntesis ha sido utilizada con éxito por otros grupos de investigación para obtener nuevos sistemas cíclicos en cuyas esquinas se localizan los grupos electroquímicamente activos, como el ferroceno coordinado al metal a través de grupos difenilfosfina.<sup>49</sup>

En nuestro caso, se ha escogido el ligando 2,2'-dipiridilamina ya que ha demostrado ser un buen grupo protector de las posiciones cis de diferentes metales,<sup>50</sup> habiendo sido utilizado previamente con éxito en la obtención de oligómeros cíclicos de platino con ligandos uracilo o citosina puente.<sup>51</sup> Otra característica de este sistema es que posee un grupo amino susceptible de ser funcionalizado.<sup>50b</sup> De hecho, sus derivados *N,N'*-bis(2-piridiletil)amina y *N,N'*-bis(2-piridilmetil)amina) han sido funcionalizados con éxito, con un grupo metilferroceno, a partir del ioduro de ferrocenilmetiltrimetilamonio<sup>52</sup> o acilferroceno.<sup>53</sup> Con esta idea, se llevo a cabo la síntesis de un nuevo sistema quelato funcionalizado, ferrocenilmetilbis(2-piridil)amina (fba), que se utilizó para obtener los fragmentos metálicos precursores (fba)PdCl<sub>2</sub> y (fba)PtCl<sub>2</sub>.

La síntesis del grupo quelato funcionalizado, ferrocenilmetilbis(2-piridil)amina (fba), se llevo a cabo por reacción 1:1 en acetronitrilo entre la 2,2'-bispiridilamina y ioduro de ferrocenilmetiltrimetilamonio, en medio básico (KOH), y durante 24h a 90°C en atmósfera de nitrógeno (Figura 4.4.6). Cuando esta reacción se lleva a cabo utilizando una base mas suave, como el carbonato de sodio anhidro, se obtiene el producto ioduro de 2,2'-bis(1-ferrocenilmetilpiridil)amina (bfba), que no es apto para utilizarlo como ligando quelato para bloquear las posiciones cis del metal.

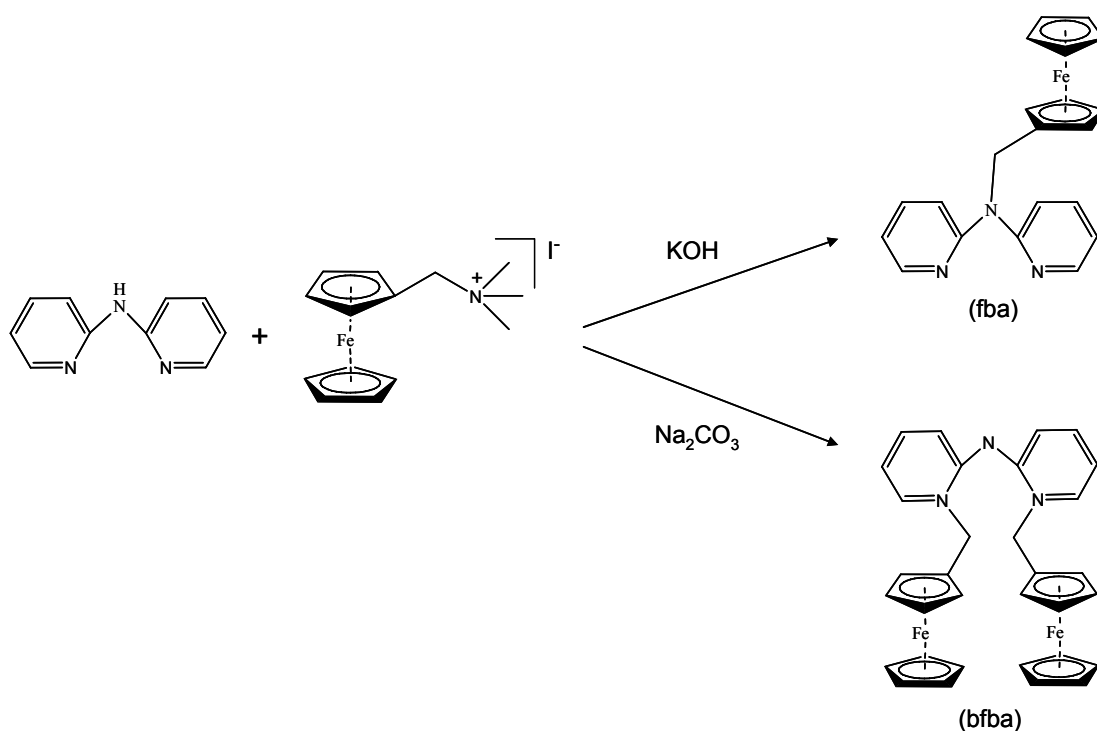


Figura 4.4.6.- Síntesis del grupo ferrocenilmetilbis(2-piridil)amina (fba) a partir de la 2,2'-bispiridilamina, ioduro de ferrocenilmetiltrimetilamonio y KOH. Cuando se utiliza Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> para poner medio básico se obtiene el producto ioduro de 2,2'-bis(1-ferrocenilmetilpiridil)amina (bfba).

Ambos productos se aislaron y caracterizaron por <sup>1</sup>H RMN, AE, voltametría cíclica y se obtuvieron cristales de los productos fba y bfba aptos para ser estudiados por difracción de rayos X en monocristal (Tabla 4.4.2). Una perspectiva de la estructura de ambas moléculas se muestra en la Figura 4.4.7. En dicha figura se observa la unión del grupo metilferroceno al grupo amino en la especie fba, y la unión de dos grupos metilferroceno a los nitrógenos de los anillos heterocíclicos.

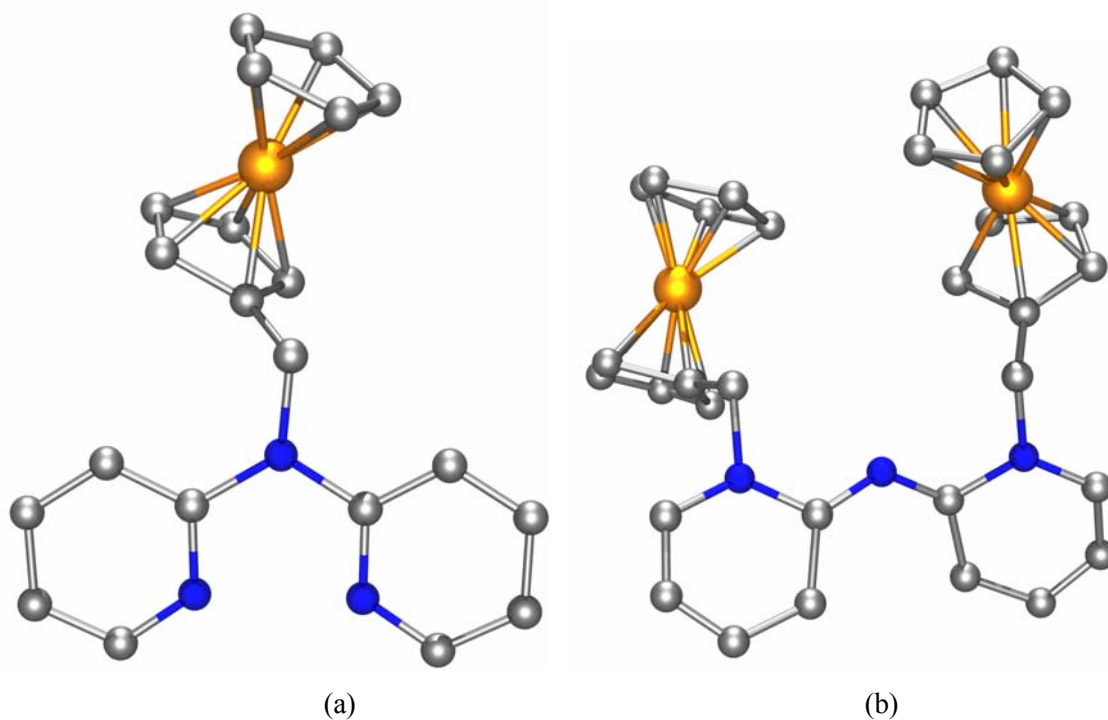


Figura 4.4.7.- Perspectiva de la estructura de las moléculas a) fba y b) bfba resuelta por difracción de rayos X en monocristal. Carbono, Nitrógeno, Hierro.

Tabla 4.4.2.- Datos cristalográficos para las especies fba y bfba. (datos cogidos de .res ó .lst)

Compuesto	fba	bfba
Fórmula	C <sub>21</sub> H <sub>19</sub> N <sub>3</sub> Fe	C <sub>32</sub> H <sub>29</sub> N <sub>3</sub> Fe <sub>2</sub>
M <sub>r</sub>		
Sistema cristalino		
Grupo espacial	P-1	P-1
a [Å]	8.3626 (1)	11.4063 (1)
b [Å]	10.6073 (2)	11.5299 (1)
c [Å]	11.2583 (2)	12.3089 (1)
α [°]	62.747 (2)	98.038 (1)
β [°]	74.019 (2)	94.950 (1)
γ [°]	79.564 (2)	114.741 (1)
V [Å <sup>3</sup> ]	851.72	1436.75
Z		2
ρ <sub>calcd</sub> [mg/m <sup>-3</sup> ]	1.440	
μ (Mo-K <sub>α</sub> ) [mm <sup>-1</sup> ]	0.89	4.26
T (K)	298	298

La obtención de complejos precursores de fragmentos metálicos del tipo [(quelato funcionalizado)M]<sup>2+</sup> se llevo a cabo por reacción del nuevo ligando sintetizado fba y Na<sub>2</sub>PdCl<sub>4</sub> ó K<sub>2</sub>PtCl<sub>4</sub>, en relación 1:1, disueltos en DMF y agitando durante 2h a 70°C. Posteriormente la mezcla de reacción se dejo enfriar a temperatura ambiente para obtener un precipitado de [(fba)PdCl<sub>2</sub>] y [(fba)PtCl<sub>2</sub>], respectivamente. Los productos fueron aislados y caracterizados por espectroscopia infrarroja, AE y se obtuvieron cristales del precursor del fragmento metálico de paladio, en una mezcla DMF/CH<sub>3</sub>CN, adecuados para ser estudiados por difracción de rayos X en monocristal. La misma reacción llevada a cabo en disolución acuosa entre el ligando fba y Na<sub>2</sub>PdCl<sub>4</sub>, dio lugar a la formación de la especie [Pd(fba)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>].

El espectro de <sup>1</sup>H RMN registrado para la especie fba y [(fba)PdCl<sub>2</sub>] (Figura 4.4.8) muestra el desplazamiento de las señales aromáticas del ligando 2,2'-bispiridilamina y la desaparición del protón del grupo amino, respecto del ligando 2,2'-bispiridilamina libre. Por otro lado, se observa un mayor desplazamiento para las señales de los anillos aromáticos y para el grupo ferroceno en el complejo [(fba)PdCl<sub>2</sub>] como consecuencia de la coordinación del ligando al paladio (II) (Tabla 4.4.3).

Tabla 4.4.3.- Señales de los espectros <sup>1</sup>H RMN (300MHz). Desplazamientos químicos (ppm) y de los protones de la 2,2'-dipiridilamina, el ligando bfa y del complejo (fba)PdCl<sub>2</sub>.

Compuestos	H3,3'	H4,4'	H5,5'	H2,2'	H8	a	b	c
<b>2,2'-bispiridilamina</b>	6.84	7.63	7.72	8.2				
<b>fba</b>	6.93	7.61	7.09	8.32	5.12	4.16	3.99	4.0
<b>[(fba)PdCl<sub>2</sub>]</b>	7.27	8.02	7.63	8.58	5.16	4.46	4.11	4.22



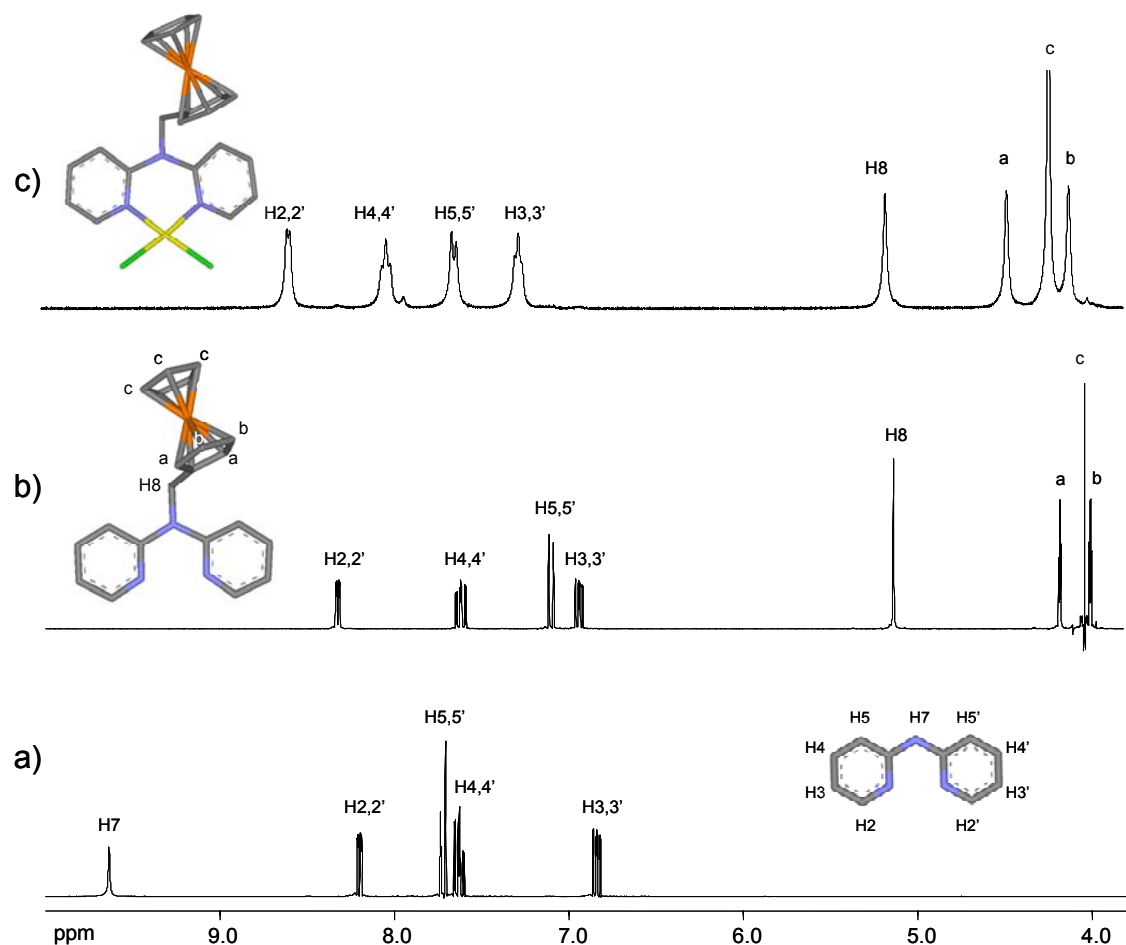


Figura 4.4.8.- Espectro de  $^1\text{H}$  RMN registrado para la especie a) 2,2'-bispiridilamina, b) bfa, c) [(fba)PdCl<sub>2</sub>]. (DMSO, 293K). Carbón, Nitrógeno, Hierro, Paladio, Cloro.

La Figura 4.4.9 muestra una perspectiva de estructura del complejo metálico [(fba)PdCl<sub>2</sub>] resuelta por difracción de rayos X, lo cual corrobora la actuación del ligando bfa como grupo quelato coordinado a un átomo de paladio. La distancia del átomo de paladio a los nitrógenos de los anillos aromáticos es de 2.03 Å, y entre el centro metálico de paladio y el de hierro es de 6.70 Å. Una selección de los parámetros cristalinos aparece resumida en la Tabla 4.4.4.

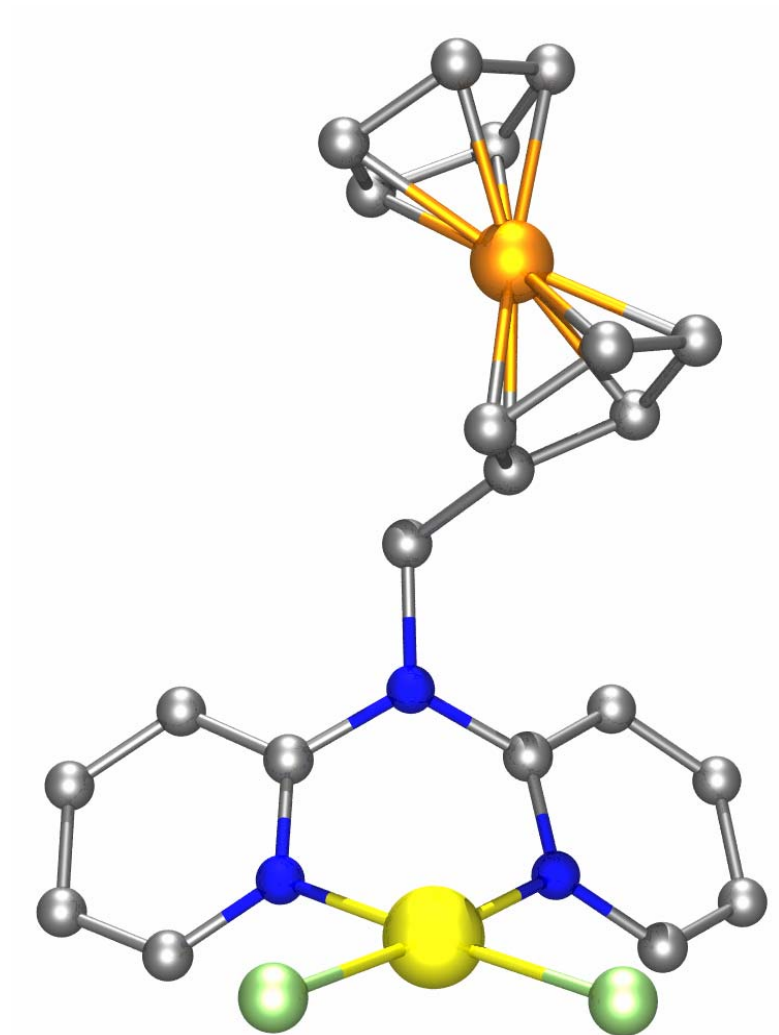


Figura 4.4.9.- Perspectiva de la estructura del complejo  $[(fba)PdCl_2]$  resuelta por difracción de rayos X en monocristal. Carbón, Nitrógeno, Hierro, Cloro.

Tabla 4.4.4.- Datos cristalográficos para las especies [(fba)PdCl<sub>2</sub>] y [Cu(fba)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)](ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>.

Compuesto	[(fba)PdCl <sub>2</sub> ]	[Cu(fba) <sub>2</sub> (H <sub>2</sub> O)](ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>
Fórmula	C <sub>21</sub> H <sub>19</sub> Cl <sub>2</sub> FeN <sub>3</sub> Pd	C <sub>42</sub> H <sub>40</sub> N <sub>6</sub> O <sub>9</sub> Fe <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> Cu
M <sub>r</sub>	546.54	1018.94
Sistema cristalino	orthorhombic	
Grupo espacial	Pbca	
a [Å]	15.940(4)	17.2737 (2)
b [Å]	14.7314(19)	12.2556 (2)
c [Å]	17.6731(11)	20.4457 (3)
α [°]	90°	90.000 (0)
β [°]	90°	107.822 (3)
γ [°]	90°	90.000 (0)
V [Å <sup>3</sup> ]	4150.0(11)	
Z	8	4
ρ <sub>calcd</sub> [mg/m <sup>-3</sup> ]	1.749	
μ (Mo-K <sub>α</sub> ) [mm <sup>-1</sup> ]	1.835	
T (K)	150(2)	100 (2)
Reflns. medidas	28716	
Reflns. únicas	3627	
R <sub>1</sub> <sup>[a]</sup>	0.0408	
wR <sup>2</sup> [b]	0.0979	
Goodness of fit	1.048	
Residuos [eÅ <sup>-3</sup> ]	0.67 / -1.23	

Con objeto estudiar las propiedades electroquímicas del complejo [(fba)PdCl<sub>2</sub>] y del ligando libre fba se registró la voltametría cíclica de dichos productos (Figura 4.4.10). Ambas voltametrías muestran un proceso reversible de oxidación reducción (Fe<sup>2+</sup> ↔ Fe<sup>3+</sup>), que para el ligando libre fba presenta un potencial E° similar al del sistema ferroceno-ferrocinio. Sin embargo, cuando este ligando esta coordinado al átomo de paladio, en el complejo [(fba)PdCl<sub>2</sub>], su potencial E° se desplaza 116 mV respecto del sistema ferroceno-ferrocinio, indicando una mayor facilidad para oxidarse.

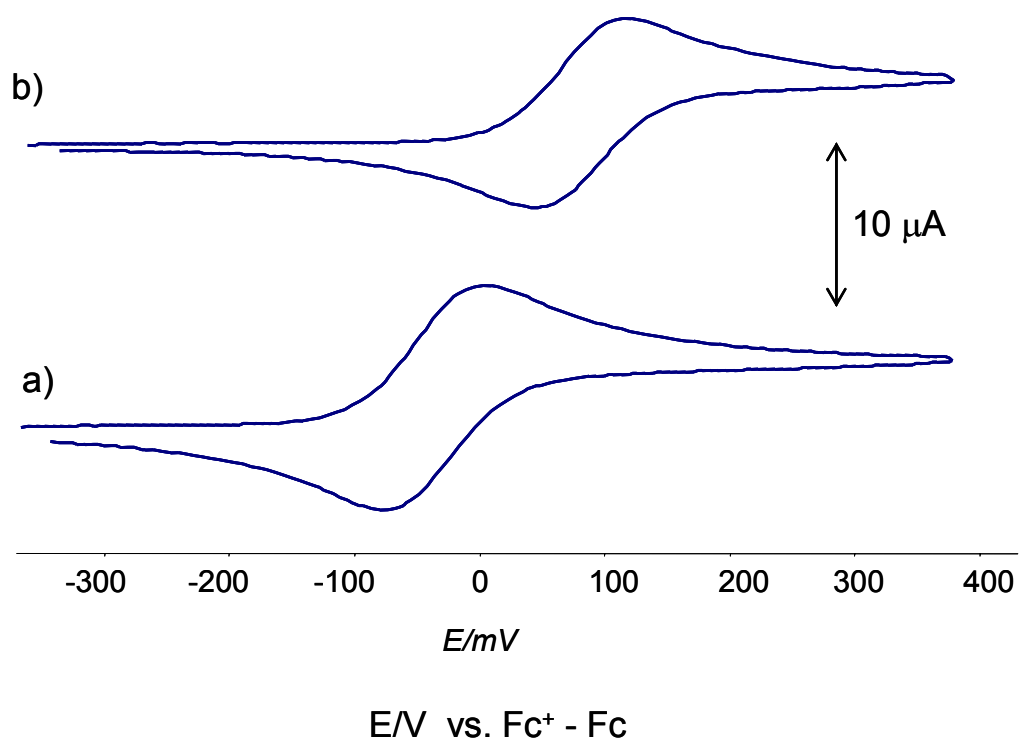


Figura 4.4.10.- Voltametría cíclica del a) ligando fba, y b) del complejo  $[(fba)PdCl_2]$ . Condiciones: 1.2mM de muestra , 120 mM  $LiClO_4$  en acetonitrilo, temperatura ambiente, electrodo de trabajo de Au.

También se intentó obtener un complejo precursor de un fragmento de Cu(II) del tipo  $[(fba)Cu(H_2O)_2]^{2+}$ . Para ello se llevo a cabo la reacción entre el ligando fba y el  $Cu(ClO_4)_2$ , en relación 1:1, en medio metanólico durante 1h a temperatura ambiente. El AE el sólido obtenido demostró que la composición del mismo era  $Cu(fba)_2(ClO_4)_2(H_2O)$ , en lugar de la buscada. El estudio por difracción de rayos X en monocristal demostró que se trata de una especie del  $[Cu(fba)_2(H_2O)](ClO_4)_2$  en la que los átomos de cobre se encuentran coordinados a dos quelatos de fba y a una molécula de agua. Dos perspectivas de la estructura de dicha especie se presentan en la Figura 4.4.11, y una selección de los parámetros cristalinos aparece resumida en la Tabla 4.4.4.

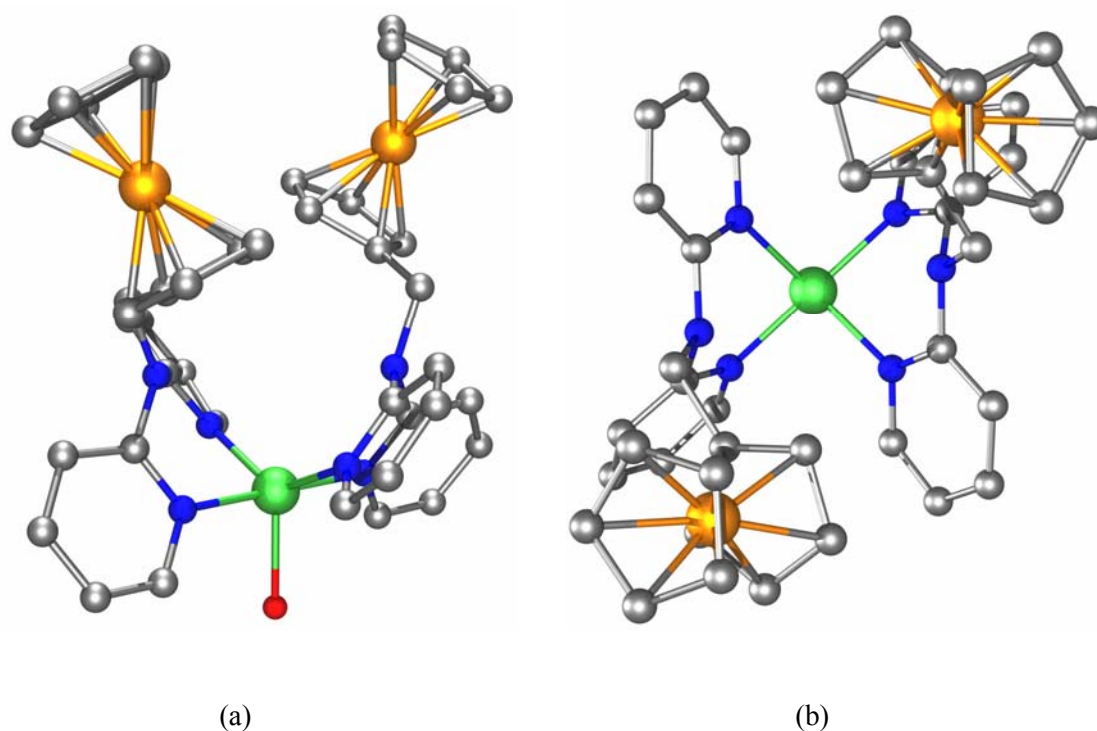


Figura 4.4.11.- Dos perspectivas de la estructura del compuesto  $[\text{Cu}(\text{fba})_2(\text{H}_2\text{O})](\text{ClO}_4)_2$  resuelta por difracción de rayos X en monocristal. Carbono, Nitrógeno, Hierro, Cobre, Oxígeno.

#### 4.4.3.- Síntesis de oligómeros cíclicos a partir de los ligandos y fragmentos metálicos funcionalizados

La reacción llevada a cabo entre el oligómero cíclico trinuclear  $[\text{enPd}(4,7\text{-phen})]_3^{6+}$  (1Pd) y el ligando 5-etnilferroceno-2-hidroxipirimidina (f-Hpymo), en una disolución agua:metanol 3:1 a  $50^\circ\text{C}$  durante 2h, da lugar a la reacción de intercambio de ligandos de un ligando 4,7-fen por un ligando f-pymo, dando lugar a la especie mixta  $[\text{Pd}_3(\text{en})_3(4,7\text{-fen-}N^4, N^7)_2(\text{f-pymo-}N^1, N^3)]^{5+}$  (10) (Figura 4.4.12).

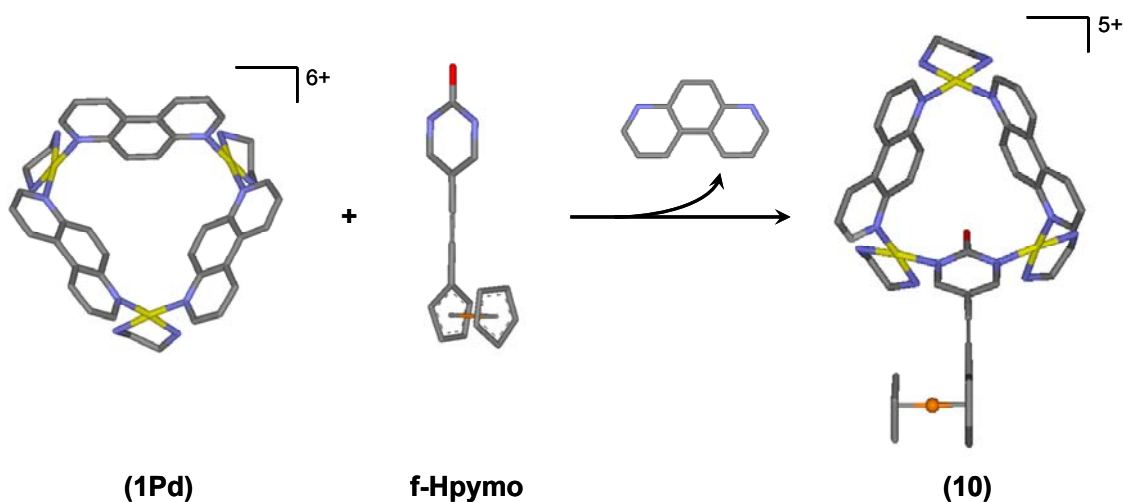


Figura 4.4.12.- Desplazamiento de un ligando 4,7-fen de la especie **1Pd** por el ligando f-pymo, para dar lugar al compuesto **10**.

Alternativamente, esta especie también se puede obtener por reacción directa de una mezcla 3:2:1 de  $[\text{enPd}(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$ , 4,7-fen y f-Hpymo. Sin embargo esta reacción necesita una temperatura de activación más alta, de aproximadamente 65 °C que puede dar lugar a la descomposición de los derivados f-Hpymo.

Los espectros de  $^1\text{H}$  NMR registrados en el transcurso de la reacción entre 1Pd y f-Hpymo (Figura 4.4.13) muestran la formación del compuesto 10 en disolución y la presencia de 4,7-fen libre como consecuencia de la reacción de intercambio de ligandos. La formación de la nueva especie produce la pérdida de la simetría original  $C_{2v}$  de los ligandos de 4,7-fen en el trímero 1Pd, produciéndose un desdoblamiento de las señales de 4,7-fen en 10 de forma similar a las especies heterotópicas trinucleares 7a, 7b y 7c descritas anteriormente (Apartado 4.3). Al igual que en estos compuestos se mantiene la equivalencia entre las dos fenantrolinas dentro de la estructura, de acuerdo con su simetría  $C_s$ . Por otro lado, el ligando f-pymo mantiene su simetría  $C_{2v}$  observándose un desplazamiento a campo alto de los protones H4,4' ( $\Delta\delta = 0,18$  ppm) en la especie 10 con respecto de las señales en el ligando libre (Tabla 4.4.5). Ambos hechos están de acuerdo con una actuación del ligando f-pymo de tipo puente, a través de sus átomos donadores N1 y N3.

Con el objeto de caracterizar e identificar el compuesto **10**, de una manera más concreta, se realizaron experimentos de ESI-MS. Desafortunadamente, la naturaleza lábil de los enlaces de coordinación entre los fragmentos metálicos  $[\text{enPd}]^{2+}$  y los ligandos heterocíclicos puente no permitió registrar picos significativos de dicha estructura, aunque si se registraron señales pertenecientes a pequeños fragmentos aislados y a sus ligandos heterociclos. Tampoco ha sido posible aislar en estado sólido la especie **10** hasta el momento. El trabajo de investigación se sigue realizando para aislar este compuesto y estudiar sus propiedades electroquímicas.

Tabla 4.4.5.- Señales de los espectros  $^1\text{H}$  RMN (300MHz). Desplazamientos químicos (ppm) de los protones aromáticos de los ligandos protonados y el compuesto **10**.

Compuestos	H2,2'	H1,1'	H3,3'	H5,5'	H4,4'
<b>f-Hpymo</b>					8.3
<b>10</b>	7.87	9.28 9.26	9.78 9.53	10.58 10.46	8.12

Como se dijo anteriormente, también se llevó a cabo la síntesis de fragmentos metálicos funcionalizados con un grupo ferroceno,  $(\text{fba})\text{PdCl}_2$  y  $(\text{fba})\text{PtCl}_2$ , con el fin de introducir un grupo electroquímicamente activo en los vértices de los oligómeros cíclicos.

Cuando estos complejos se hicieron reaccionar con las sales  $\text{AgNO}_3$ ,  $\text{AgCF}_3\text{SO}_3$  en agua, metanol o etanol, para eliminar los átomos de cloro y obtener los fragmentos metálicos  $[(\text{fba})\text{M}]^{2+}$ , se produjo la descomposición del ligando fba, pasando de una disolución anaranjada a una disolución azulada, característica de los cationes ferrocinio, y con la posterior aparición de un precipitado marrón en la disolución. Dicha oxidación puede atribuirse a la reducción de los iones  $\text{Ag}^+$  a  $\text{Ag}^0$ . La descomposición posterior del ligando libre

oxidado se atribuye a un ataque nucleofílico de los nitrógenos donadores de la 2,2'-bispiridilamina o del disolvente al ferrocenio. En bibliografía pueden encontrarse evidencias de esta descomposición del ión ferrocenio por reactivos nucleofílicos incluyendo cloruros, bromuros y ligandos pirimidínicos.<sup>54,52</sup>

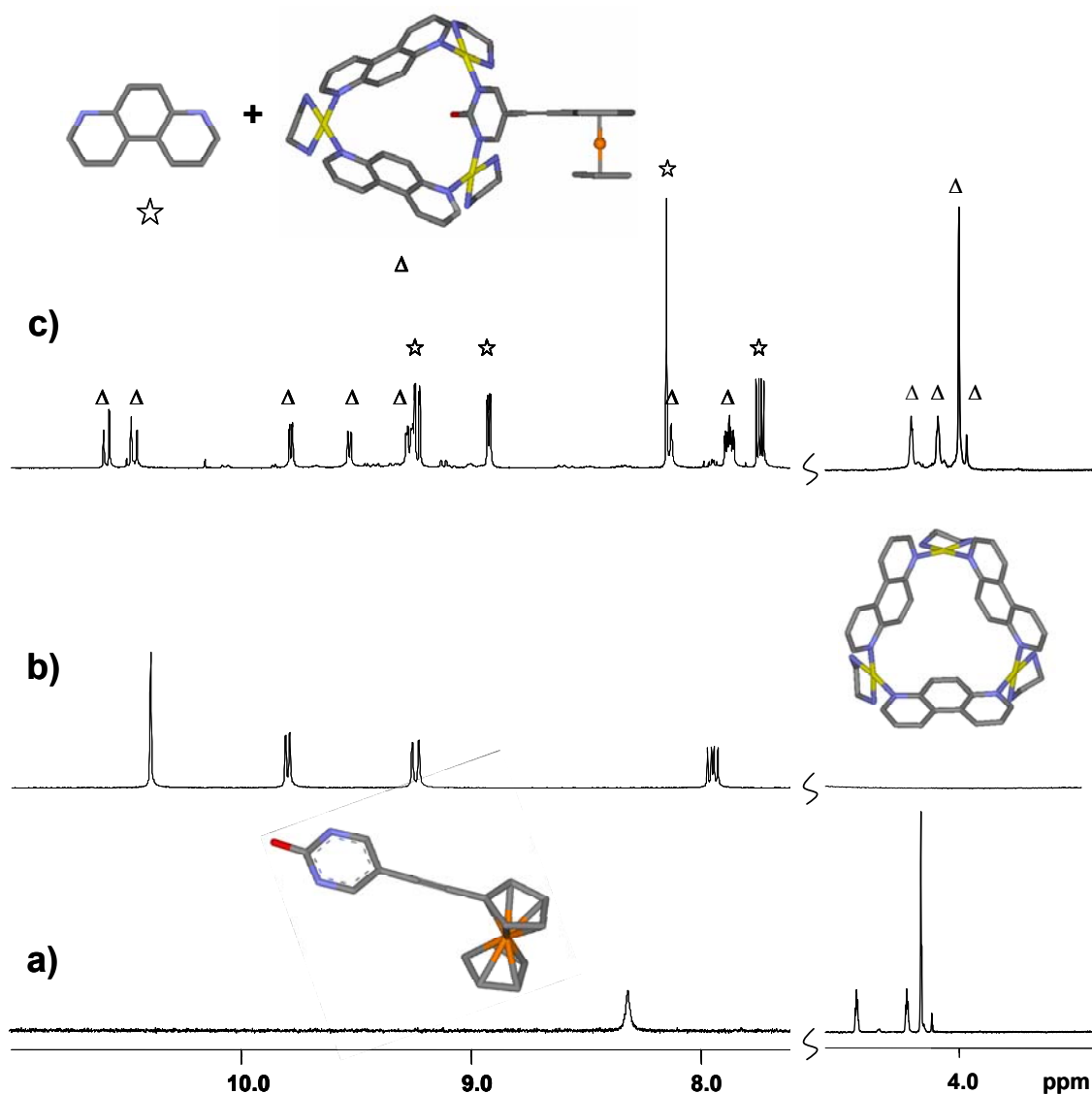


Figura 4.4.13.- Región aromática de a) f-Hpymo, b) especie homotópica  $[\text{Pd}_3(\text{en})_3(4,7\text{-phen})_3]^{6+}$  (**1Pd**), c)  $[\text{Pd}_3(\text{en})_3(4,7\text{-fen-}N^d,N^7)_2(\text{f-pymo-}N^1,N^3)]^{5+}$  (**10**) obtenido a partir de una reacción 1:1 entre la especie **1Pd** y el ligando f-Hpymo después de 4 h a 50°C. ( $\text{D}_2\text{O}:\text{MeOD}$  1:3, 293 K, 400 MHz).



Con objeto de evitar la acción oxidante de los iones  $\text{Ag}^+$  se utilizaron sales de talio(I), como  $\text{TlNO}_3$  y  $\text{Tl}(\text{CH}_3\text{COO})$ . Cuando se hizo reaccionar el complejo  $[(\text{fba})\text{PdCl}_2]$  con el nitrato de talio, en disolución acuosa y a temperatura ambiente durante 2h, se observaron los mismos resultados que los obtenidos con las sales de plata. Este comportamiento se explica debido al potencial de oxidación de los iones nitrato capaces de oxidar el grupo ferroceno a ferrocinio. Sin embargo, usando el acetato de talio y en disolución metanólica la reacción dio lugar a una disolución anaranjada y transparente con un precipitado blanco atribuido al cloruro de talio.

Actualmente se están llevando a cabo reacciones con los ligandos 2-hpymo, 4,7-fenantrolina y 4,4'-bispíridilo y el fragmento metálico  $[(\text{fba})\text{Pd}(\text{CH}_3\text{COO})_2]$ , pero los resultados no han podido ser expuestos en esta memoria de Tesis.

#### 4.5.- Reconocimiento molecular de mononucleótidos. Interacción con DNA.

En este apartado se discuten los resultados obtenidos para los estudios de reconocimiento molecular realizados entre los metalocalixarenos [(en)M(4,7-fen- $N^4, N^7$ )]<sub>3</sub><sup>6+</sup> ( $M^{2+}$  = Pd (1Pd'), Pt (1Pt)), [aPd(4,7-fen- $N^4, N^7$ )]<sub>3</sub><sup>6+</sup> (a = R,R-dach (2a), S,S-dach (2b)), [Pd<sub>3</sub>(en)<sub>3</sub>(dmpymo- $N^1, N^3$ )(4,7-fen- $N^4, N^7$ )<sub>2</sub>]<sup>5+</sup> (7c) y [Pd<sub>4</sub>(en)<sub>4</sub>(pymo- $N^1, N^3$ )<sub>2</sub>(4,7-fen- $N^4, N^7$ )<sub>2</sub>]<sup>6+</sup> (8a) y los mononucleótidos adenosina-5'-monofosfato (AMP), citidina-5'-monofosfato (CMP), guanosina-5'-monofosfato (GMP) y timidina-5'-monofosfato (TMP). El estudio de la interacción entre las moléculas receptoras y huésped se ha llevado a cabo mediante espectroscopía de <sup>1</sup>H RMN en D<sub>2</sub>O.

También se discuten los resultados obtenidos para los estudios de interacción realizados entre los metalocalix[4]arenos [(en)Pt(5-X-pymo- $N^1, N^3$ )]<sub>4</sub><sup>4+</sup> (X = H (4H), Cl (4Cl), Br (4Br), I (4I),) y calf thymus DNA, llevados a cabo mediante el uso de técnicas de espectroscopia UV-vis, dicroísmo circular (CD), dicroísmo lineal (LD), electroforesis en gel de agarosa, fluorescencia y microscopía de fuerza atómica (AFM).

##### 4.5.1.- Reconocimiento molecular de mononucleótidos.

La naturaleza aromática de la 4,7-fenantrolina junto con su disposición geométrica en los anillos cíclicos cationicos de los compuestos 1Pd', 2a y 2b en forma de cono dan lugar a unas estructuras rígidas adecuada para dar interacciones supramoleculares en el interior de sus cavidades. De hecho, la presencia de dos nitratos en las cavidades superior e inferior en el compuesto 1Pd' demuestra la afinidad de estas especies para la encapsulación de especies aniónicas (Apartado 4.1.1). Esta propiedad, junto con las características aromáticas del ligando 4,7-fenantrolina para dar interacciones de apilamiento  $\pi$ - $\pi$ ,<sup>55</sup> nos llevo a estudiar las propiedades receptoras de estas especies frente a mononucleotidos en disolución acuosa. Así mismo, el tamaño de la cavidad superior de las especies (1Pd'= 7.72, 7.88 y 8.15 Å, profundidad de 3.51 Å; 2b=

7.72, 7.82 y 8.09 Å, profundidad de 3.42 Å) hace pensar que sería suficiente para permitir la inclusión de moléculas huésped del tamaño de los mononucleotidos.

Para el estudio de las propiedades receptoras de las especies 1Pd', 2a y 2b en disolución acuosa se han utilizado las sales sódicas de los mononucleotidos adenosina-5'-monofosfato (AMP), citidina-5'-monofosfato (CMP), guanosina-5'-monofosfato (GMP) y timidina-5'-monofosfato (TMP), cuyas estructuras se recogen en la Figura 4.5.1.

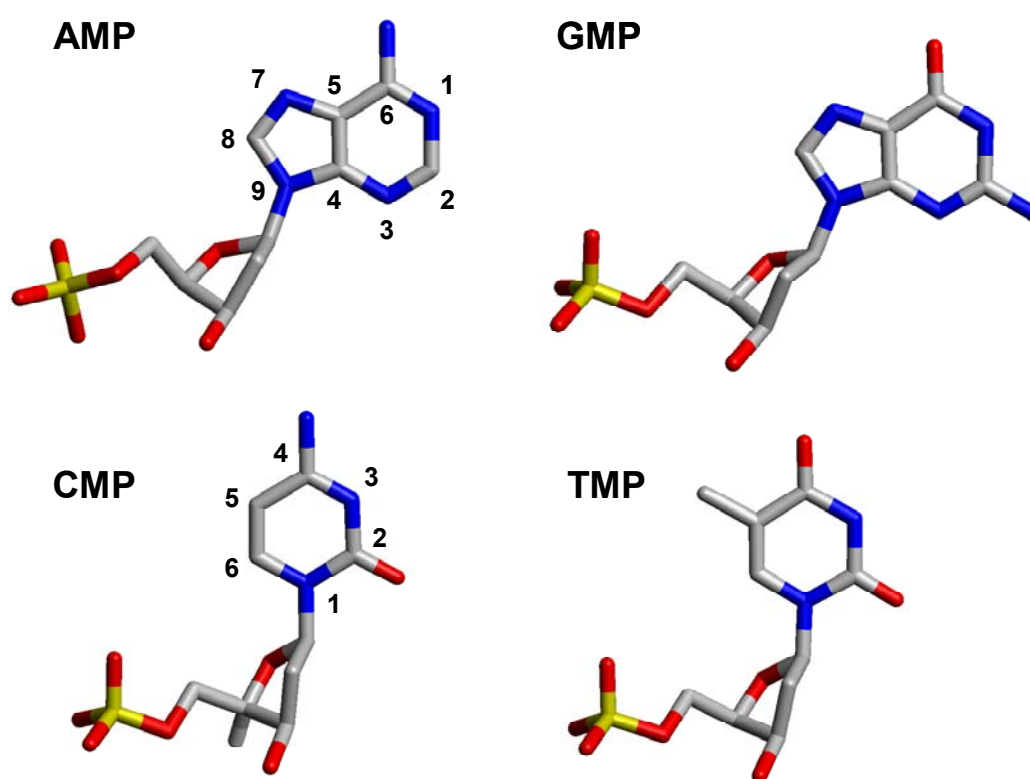


Figura 4.5.1.- Estructura de los mononucleotidos, adenosina monofosfato adenosina-5'-monofosfato (AMP), citidina-5'-monofosfato (CMP), guanosina-5'-monofosfato (GMP) y timidina-5'-monofosfato (TMP). Carbono, Nitrógeno, Oxígeno, Fósforo.

Los espectros de  $^1\text{H}$  RMN, llevados a cabo en  $\text{D}_2\text{O}$  para estudiar la interacción de las especies 1Pd', 2a y 2b con los mononucleotidos, muestran un desplazamiento significativo, de los protones de la 4,7-fenantrolina, con la adición de las moléculas huésped, debido a las interacciones  $\pi$ - $\pi$  que se producen

entre los anillos aromáticos de los mononucleotidos y la 4,7-fenantrolina. El mayor desplazamiento en las señales de la 4,7-fen tiene lugar para los protones H1,1', localizados en la cavidad superior de los metalocalix[3]arenos, lo cual pone de manifiesto la mayor accesibilidad de dicha cavidad para el alojamiento de estas especies. Cuando la molécula huésped es AMP o GMP se produce un desplazamiento mayor a campo alto en la señales de los protones H1,1' que cuando el huésped es CMP o TMP. Esto nos sugiere que las interacciones  $\pi$ - $\pi$  son, como es de esperar, mayores en aquellos mononucleotidos que poseen anillos de purina (AMP,GMP), y menores en los mononucleotidos que poseen anillos de pirimidina (CMP,TMP), con un concomitante efecto en las constantes de asociación (ver mas abajo).<sup>56</sup>

Igualmente se observa un importante, e incluso mayor, desplazamiento de las señales correspondientes a los protones de los anillos aromáticos de los mononucleotidos, que concuerda con la inclusión de dichas especies en la cavidad del metalocalixareno. Por ejemplo, la inclusión del AMP en el compuesto 1Pd', los protones H2 y H8 del mononucleotido sufren un desplazamiento a campo alto de hasta 0.75 ppm y 0.36 ppm respectivamente (Figura 4.5.2). Un efecto similar también se produce para los compuestos 2, dando desplazamientos de 0.62 ppm y 0.28 ppm en los protones H2 y H8 respectivamente (Figura 4.5.3). Además, el desplazamiento de las señales del AMP es también indicativo de la geometría del ensamblaje entre los metalocalix[3]arenos y los mononucleotidos, que está de acuerdo con la mayor inclusión del anillo de pirimidina de los heterociclos de purina. Este hecho es ilustrado por un mayor desplazamiento del protón H2 de los anillos de purina, respecto del protón H8, cuando se produce la interacción entre los metalocalix[3]arenos y los mononucleotidos que contienen heterociclos de purina (Figura 4.5.2 y Figura 4.5.3).

La inclusión de los mononucleotidos pirimidínicos (CMP, TMP) en los compuestos 1Pd' y 2 producen un desplazamiento a campo alto de las señales de los protones H5 y H6 o H6 y grupo metilo para el CMP y TMP respectivamente, de alrededor de 0'3 ppm. Este desplazamiento estaría de acuerdo con una interacción significativa entre el anfitrión y huésped, aunque menor que la producida con los mononucleotidos púricos (AMP, GMP)

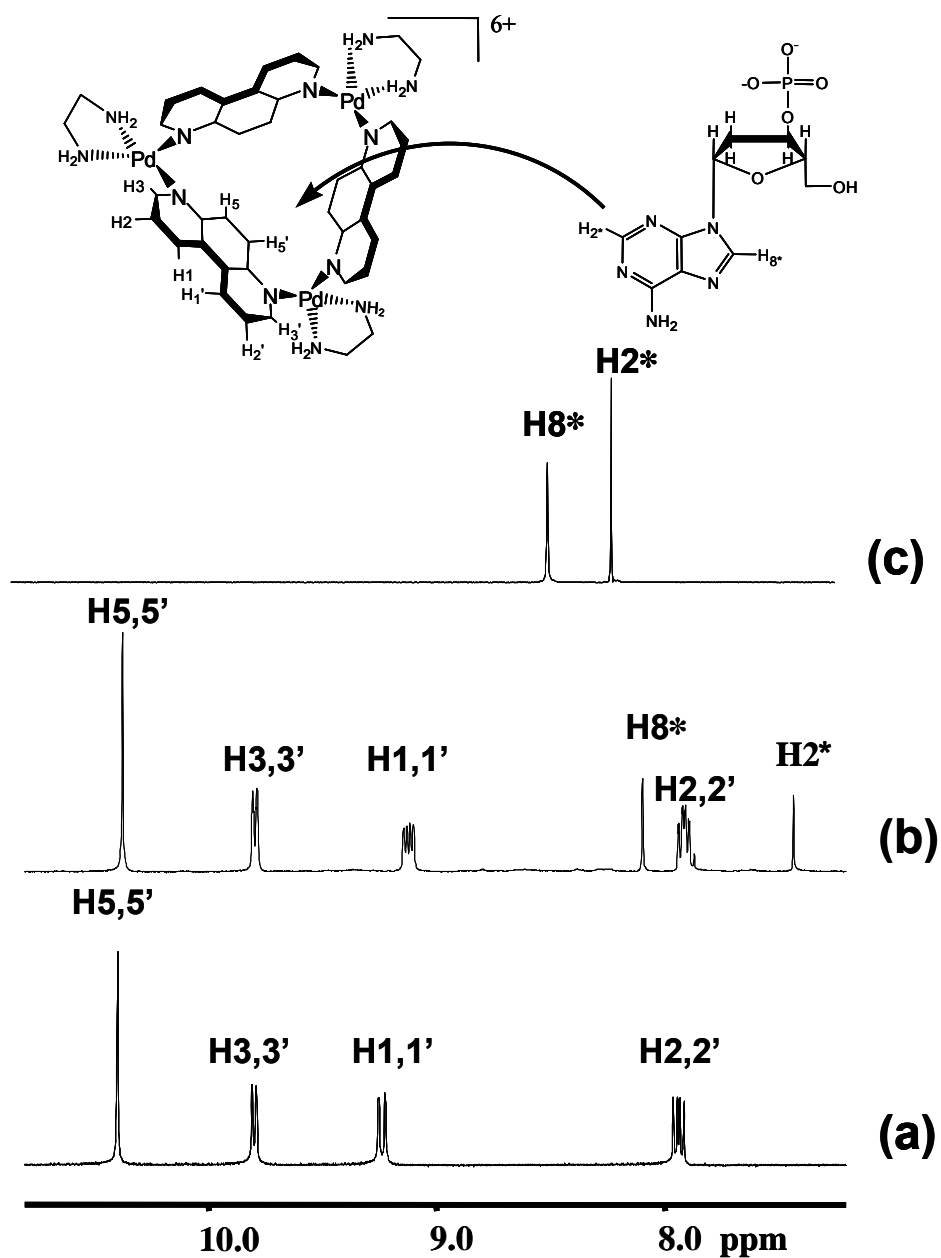


Figura 4.5.2.- Ensayos de <sup>1</sup>H RMN que ponen de manifiesto el efecto producido por las interacciones supramoleculares entre [Pd(en)(4,7-fen-*N<sup>d</sup>*,*N<sup>7</sup>*)]<sub>3</sub>(NO<sub>3</sub>)<sub>6</sub> (**1Pd<sup>3</sup>**) y la adenosina monofosfato (AMP). a) Compuesto libre **1Pd<sup>3</sup>**; b) Adición de 3 equiv. de AMP; c) Adenosina monofosfato libre (AMP). Los asteriscos denotan las señales del AMP.

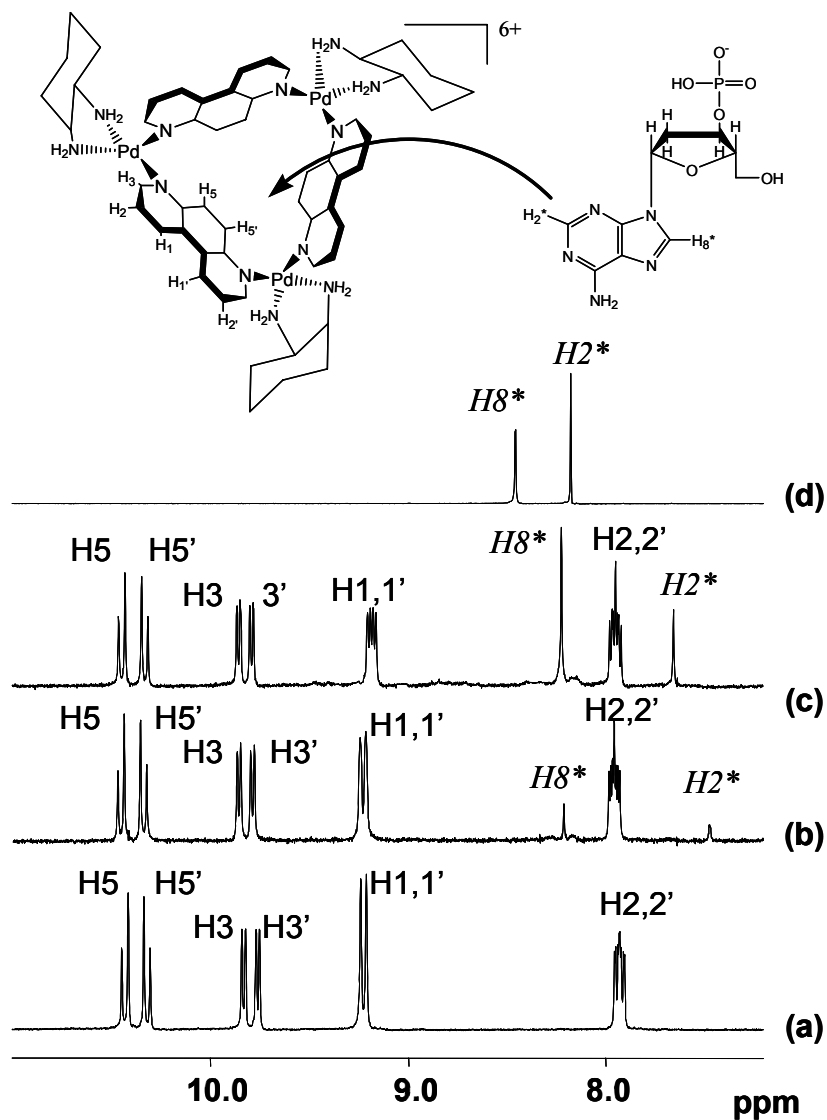


Figura 4.5.3.- Ensayos de <sup>1</sup>H RMN que ponen de manifiesto el efecto producido por las interacciones supramoleculares entre [Pd((S,S)-dach)(fen-*N'*,*N''*)]<sub>3</sub>(NO<sub>3</sub>)<sub>6</sub> (**2b**) y la adenosina monofosfato (AMP). a) Compuesto libre **2b**; b) Adición de 1 equiv. de AMP; c) Adición de 3 equiv. de AMP d) Adenosina monofosfato libre (AMP). Los asteriscos denotan las señales del AMP.

Además del desplazamiento que se produce en las señales de los protones del ligando 4,7-fen de los metalocalix[3]arenos y en la de los protones de los mononucleótidos, es preciso comentar que los espectros de <sup>1</sup>H RMN muestran un cambio de multiplicidad para los protones H1,1' de la 4,7-fen con la adicción de las moléculas huésped. Esto pone de manifiesto la pérdida de simetría de la

molécula receptora con la inclusión de los mononucleotidos, lo cual puede estar relacionado con intercambio, relativamente lento, de las moléculas huésped.

El desplazamiento a campo alto de las señales de la molécula huésped y receptora, debido a las interacciones  $\pi$ - $\pi$  que tienen lugar en el interior de la cavidad del receptor, pueden ser relacionadas con los procesos de reconocimiento molecular del triangulo homoquiral del tipo  $[\text{Cp}^*\text{Rh}(2'\text{-deoxiadenosina})]_3^{3+}$  descrito por Fish y colaboradores,<sup>57</sup> el cual actúa como un  $^1\text{H}$  RMN *shift reagent*.<sup>58</sup>

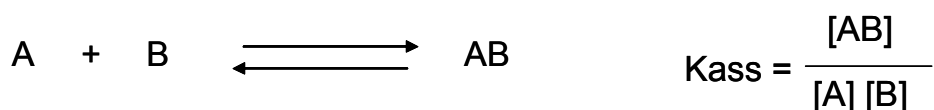
En el caso de los compuestos 2a y 2b esperábamos algún grado de enantioselectividad que pudiera dar una resolución de racémicos, al igual que ocurre para las especies sintetizadas previamente en nuestro grupo de investigación  $[(\text{R,R-dach})\text{Pd}(\text{dmpymo-}N^1,N^3)]_4(\text{NO}_3)_4$  y  $[(\text{S,S-dach})\text{Pd}(\text{dmpymo-}N^1,N^3)]_4(\text{NO}_3)_4$ , capaces de dar una interacción supramolecular enantioselectiva frente al AMP.<sup>13c</sup> Sin embargo, los ensayos realizados para los compuestos 2a y 2b no mostraron dicha actividad. Así, cuando se registraron espectros de  $^1\text{H}$  RMN añadiendo los diferentes mononucleotidos a una mezcla 1:1 de los compuestos 2a y 2b no se observó una interacción más significativa con uno de ellos, sino que la interacción fue muy parecida para ambos, no produciéndose la resolución del racémico. La resolución hubiera dado un desdoblamiento de las señales del racémico,<sup>13c</sup> cosa que no ocurrió. Este resultado se puede explicar debido a la gran separación que existe entre el centro quiral y los protones H1,1' de la fenantrolina, situados en la cavidad superior y que son los que sufren la mayor interacción con los mononucleotidos.

En todos los casos, tras la interacción con las moléculas huésped, se produjo una ruptura de los metalomacrociclos, la cual tiene lugar después de 1 hora para el AMP, CMP y TMP, y al cabo de 20 minutos en el caso de añadir la guanosina-5'-monofosfato (GMP), formando un complejo del tipo  $[\text{aPd}(\text{fen})(\text{mononucleotido})]^+$  de acuerdo con lo que cabía esperar debido a la tendencia de los metales con configuración  $d^8$  a unirse a nucleobases.<sup>19b</sup>

La constante de asociación ( $K_{ass}$ ) entre los mononucleotidos y los metalocalixarenos se calculó mediante una valoración y se monitorizó por  $^1H$  RMN. Los resultados ponen de manifiesto que este tipo de metalocalixarenos actúan como receptores para aniones de relevancia biológica en disolventes como el agua.

Para el calculo de la Kass se registraron 10 espectros de  $^1H$  RMN, manteniendo constante la concentración de metalocalixareno e incrementando las concentraciones de la sal sódica de los mononucleotidos, en relación metalocalixareno:mononucleotido desde 1:1 a 1:10. Los resultados muestran un desplazamiento a campo alto en los protones aromáticos H1 y H1' de la 4,7-fenantrolina a medida que aumenta la concentración de mononucleotido. Dicho desplazamiento se analizó usando una regresión no lineal de mínimos cuadrados, cuya ecuación se deduce de la siguiente manera:

Suponemos un sistema donde A y B dan lugar a una asociación AB:



La determinación de la constante de asociación Kass se determina aumentando la concentración de B en una disolución con concentración constante de A.

$$\delta_{obs} = \delta_o \frac{[A]}{[A]_{tot}} + \delta_{\infty} \frac{[AB]}{[A]_{tot}} \quad (1)$$

$\delta_{obs}$  = desplazamiento químico observado.

$\delta_o$  = desplazamiento químico de A a  $[B] = 0$ .

$\delta_{\infty}$  = desplazamiento químico de A a  $[B] = \infty$ .

$[A]$  = concentración de la especie A libre.

$[A]_{tot}$  = concentración total de la especie A, libre y asociada.



Sabiendo que  $[A] = [A]_{tot} - [AB]$  (2)

Sustituimos la ecuación (2) en la (1) y nos queda

$$\delta_{obs} = \delta_o + (\delta_{\infty} - \delta_o) \frac{[AB]}{[A]_{tot}} \quad (3)$$

Sabiendo también que  $[B] = [B]_{tot} - [AB]$  (4)

$$K_{ass} = \frac{[AB]}{[A][B]} \quad (5)$$

Sustituyendo (2) y (4) en la ecuación (5), y despejando [AB] obtenemos:

$$[AB] = \frac{([A]_{tot} + [B]_{tot} + 1/K_{Kass}) - \sqrt{([A]_{tot} + [B]_{tot} + 1/K_{Kass})^2 - 4[B]_{tot}[A]_{tot}}}{2} \quad (6)$$

Sustituyendo la ecuación (6) en la ecuación (3) obtenemos la ecuación:

$$\delta_{obs} = \delta_o + (\delta_{\infty} - \delta_o) \frac{([A]_{tot} + [B]_{tot} + 1/K_{Kass}) - \sqrt{([A]_{tot} + [B]_{tot} + 1/K_{Kass})^2 - 4[B]_{tot}[A]_{tot}}}{2[A]_{tot}}$$

Esta última ecuación tiene dos parámetros desconocidos,  $\delta_{\infty}$  y  $K_{ass}$ , los cuales se pueden calcular por una regresión de mínimos cuadrados.

Los resultados obtenidos de la  $K_{ass}$  para la interacción entre los distintos mononucleótidos y los compuestos 1Pd' y 2 se recogen en la Tabla 4.5.2. Las mayores interacciones se producen para la sal sódica del mononucleótido adenosina 5-monofosfato (AMP), seguido de la histidina-5'-monofosfato (CMP) y la timidina-5'-monofosfato (TMP).

Tabla 4.5.2.- Constantes de asociación  $K_{\text{ass}}$  ( $M^{-1}$ ) para las interacciones supramoleculares entre mononucleotidos y los metalocalix[3]arenos **1Pd'** y **2** en disolución acuosa. Los arteriscos denotan la formación de un complejo del tipo  $[aPd(\text{fen})(\text{mononucleotido})]^+$  observado a los pocos minutos, que impide la estimación de la  $K_{\text{ass}}$  para este mononucleótido.

<b>Interacción</b>	<b><math>K_{\text{ass}}</math></b>
<b>1Pd'+GMP</b>	*
<b>1Pd'+AMP</b>	85±6
<b>1Pd'+CMP</b>	56±4
<b>1Pd'+TMP</b>	37±4
<b>2+GMP</b>	*
<b>2+AMP</b>	67±3
<b>2+CMP</b>	55±3
<b>2+TMP</b>	34±4

Estos resultados nos llevaron a estudiar las propiedades receptoras de metalocalixarenos del mismo tipo pero con cavidades moduladas, con el objeto de estudiar el efecto del tamaño y la funcionalización de las cavidades en el reconocimiento supramolecular.

Con este objetivo se estudiaron las propiedades receptoras de las especies, previamente descritas en esta memoria (Apartado 4.3),  $[Pd_3(\text{en})_3(\text{dmpymo-}N^1, N^3)(4,7\text{-fen-}N^4, N^7)_2]^5+$  (7c) y  $[Pd_4(\text{en})_4(\text{pymo-}N^1, N^3)_2(4,7\text{-fen-}N^4, N^7)_2]^6+$  (8a).

En la especie 7c, la naturaleza aromática de la 4,7-fenantrolina y de la 4,6-dimetil-2-hidroxipirimidina, junto con la disposición geométrica de estos ligandos dan lugar a una estructura heterotópica en forma de cono, con una cavidad ligeramente mas pequeña que la de las especies 1Pd' y 2b (6.84, 7.20, 7.64 Å, profundidad de 3.21 Å), pero igualmente adecuada para dar interacciones moleculares en el interior de sus cavidades. Además, de acuerdo con antecedentes bibliográficos, pensamos que los sustituyentes metilo en la estructura podrían mejorar las propiedades receptoras del sistema, al igual que ocurre con las propiedades receptoras de los metalocalix[4]arenos obtenidos con

la dmpymo respecto de los obtenidos con la pymo, y que han sido estudiados previamente por nuestro grupo de investigación.<sup>13c</sup> Un comportamiento similar aparece en los calix[n]arenos clásicos, donde los anillo sustituidos (por ejemplo con grupos tert-butilo) poseen mejores propiedades receptoras que aquellos no sustituidos.<sup>11a,c,d;25;59</sup>

El estudio de las propiedades receptoras de las especies heterotópica 7c en disolución acuosa, se llevo a cabo utilizando como molécula huésped la sal sódica del mononucleotido AMP. La valoración de la especie 7c con AMP mostró desplazamientos a campo alto de las señales de los protones H1, H1' de la la 4,7-fenantrolina, lo que esta de acuerdo con la inclusión del heterociclo de la adenina en el interior de la cavidad superior del metalocalix[3]areno. El cálculo de la constante de asociación  $K_{ass}$  nos dio un valor de  $24 \text{ M}^{-1}$ , que es mas bajo que los resultados de las constantes de asociación obtenidas para las especies 1Pd' y 2. Esto puede explicarse por el menor tamaño de la cavidad de la especie 7c respecto de las especies 1Pd', 2. Con el tiempo, la interacción del mononucleotido con el complejo 7c da lugar a una descomposición del metalocalix[3]areno, al igual que ocurría con las especies homotópicas 1Pd' y 2.

En la especie tetranuclear 8a, al igual que en los casos anteriores, la naturaleza aromática de los ligandos, 4,7-fenantrolina y 2-hidroxipirimidina, junto con la disposición geométrica rectangular, pueden dar lugar a cavidades adecuadas para el reconocimiento molecular. El tamaño de estas cavidades nos llevo a estudiar las propiedades receptoras de la especie 8a en disolución acuosa, utilizando como moléculas huésped el mononucleotido AMP y moléculas huésped no aniónicas de tipo metalocalix[n]areno. Como especie no aniónica elegimos el compuesto  $[\text{enPt}(\text{pymo-}N^1, N^3)]_4^{4+}$  (4H).

En los espectros de  $^1\text{H}$  RMN correspondientes a la valoración de la especie 8a con el mononucleotido AMP se observó un ensanchamiento de las señales del mononucleotido, lo cual se justifica por un proceso de interacción molecular de cinética lenta. Este hecho pone de manifiesto la existencia de la interacción entre las dos especies, pero no permite estimar la constante de asociación  $K_{ass}$ .

El estudio de la interacción entre las especies **8a** y **4H** se llevo a cabo por medio de experimentos de 2D NOESY. En la Figura 4.5.4 se muestran los picos de cruce entre los protones H2,2' (4,7-fen de la especie **8a**) y H4,4' (2-pymo de la especie **4H**). Adicionalmente se observaron picos de cruce entre los protones H5,5' (2-pymo de la especie **8a**) y H5,5' (2-pymo de la especie **4H**). Estos resultados sugieren la formación de una asociación supramolecular entre los dos metalocalix[4]arenos de la forma que aparece representada en la Figura 4.5.4b, pese a la naturaleza catiónica de ambos. De esta forma se pone de manifiesto que el reconocimiento molecular con los metalocalix[n]arenos no esta sólo restringido a especies aniónicas. Para verificar que la aparición de picos de cruce NOE no se deben a procesos de intercambio de ligandos se realizo el mismo ensayo pero con un análogo de platino de la especie **4H**,  $[\text{Pt}(\text{en})(\text{pymo-}N^1,N^3)]_4^{4+}$ . Los picos de cruce del espectro 2D NOESY entre ambas especies pusieron de manifiesto la formación de una especie supramolecular resultante de la interacción de los dos metalocalix[4]arenos.

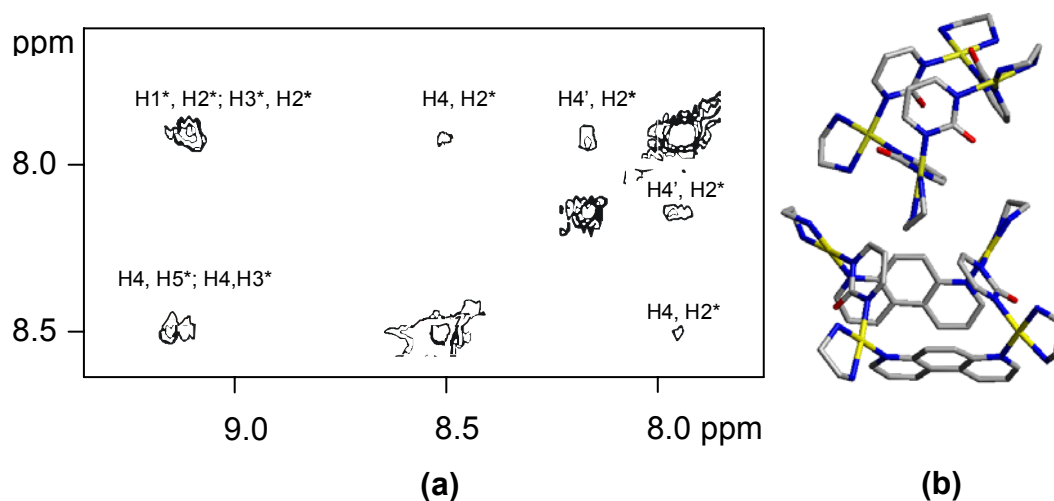


Figura 4.5.4.- a) Sección del espectro de 2D NOESY de una disolución que contiene una mezcla 1:1 de las especies **8a** y **4H**, donde se observan los picos de cruce entre los protones H4' (2-pymo de **4H**) y H2\* (4,7-fen de **8a**) que están de acuerdo con la interacción producida entre ambas especies en disolución. Los *asteriscos* indican los protones de la 4,7-fen de la especie **8a**. Las *primas* indican los protones de la 2-pymo de la especie **4H**. El resto de señales corresponde a la 2-pymo de la especie **8a**. Carbono, Nitrógeno, Paladio, Oxígeno.

Los resultados anteriores nos ponen de manifiesto que tras la interacción de reconocimiento molecular de los mononucleotidos por los metalocalixarenos de Pd se produce, al cabo del tiempo, una ruptura del metalomacrociclo. Esto nos llevo a la búsqueda de un sistema que fuera menos lábil. Por tanto, considerando que los enlaces Pt-N son mas inertes que aquellos de Pd-N, se realizaron valoraciones para estudiar el reconocimiento molecular del AMP con la especie análoga de platino [(*en*)Pt(4,7-fen-*N*<sup>4</sup>,*N*<sup>7</sup>)]<sub>3</sub><sup>6+</sup> (1Pt), y estudiar también la estabilidad en D<sub>2</sub>O de la asociación entre ambas especies a lo largo del tiempo. Los espectros de <sup>1</sup>H RMN realizados no mostraron ninguna variación a lo largo del tiempo, poniendo de manifiesto la mayor estabilidad del sistema 1Pt para dar interacciones supramoleculares con moléculas huésped como los mononucleotidos.

## 4.5.2.- Estudios de interacción con ct-DNA

En este apartado se van a describir los resultados de interacción de tipo supramolecular de los metalocalixarenos con el DNA. Como se ha visto anteriormente la interacción de los metalocalixarenos de paladio con los mononucleotidos da lugar a una primera fase de reconocimiento molecular de naturaleza no covalente seguida de una reacción de intercambio de ligandos que conduce a la formación de enlaces de coordinación Pd-mononucleotido y diversas reacciones de degradación. La mayor inercia de los enlaces Pt-N en los metalocalixarenos hace que la interacción metalocalixareno-mononucleotido sea de naturaleza exclusivamente supramolecular. Este motivo nos llevo a utilizar metalocalixarenos catiónicos tetranucleares de platino [(en)Pt(5-X-pymo- $N^1,N^3$ )] $_4^{4+}$  (X = H (4H), Cl (4Cl), Br (4Br), I (4I)) para estudiar los procesos de reconocimiento molecular, con este tipo de sistemas, frente al ct-DNA. Estos complejos presentan además una importante flexibilidad conformacional en disolución (Apartado 4.2.2). Estas propiedades hacen a esta serie ideal para llevar a cabo los estudios de interacción supramolecular con el DNA. Por otro lado, la distinta funcionalización de los ligandos pymo en posición 5 con sustituyentes H, Cl, Br y I permite evaluar la influencia de pequeñas variaciones en la estructura de estos sistemas en su interacción con el DNA.

### 4.5.2.1.- Espectroscopía de absorción UV-vis

Los espectros de absorción UV-vis de disoluciones acuosas de 4H, 4Cl, 4Br, 4I, DNA libre, y de diferentes relaciones DNA(bases):complejo se registraron en un amplio rango de longitudes de onda (700-200nm). Las disoluciones acuosas de estas últimas fueron incubadas durante 12h a 37°C, manteniendo la concentración de DNA constante (300 $\mu$ M).

Los espectros de absorción UV-Vis de los complejos 4H, 4Cl, 4Br y 4I muestran una única banda de absorción que corresponde a una transición *ligando - ligando*, situada a 323nm (4H,  $\epsilon$ = 14400), 348nm (4Cl,  $\epsilon$ = 34000), 350nm (4Br,

$\epsilon= 27500$ ) y 358nm (4I,  $\epsilon= 13000$ ). Los espectros de absorción de los ligandos libres poseen la banda de absorción ligeramente desplazada a menor longitud de onda respecto a la banda de absorción de sus complejos correspondientes. En el espectro de absorción registrado para el DNA se observó una banda centrada a 260 nm ( $\epsilon= 6600$ ) característica de esta molécula en la conformación B-DNA.

Para las mezclas DNA:complejo, los espectros UV-Vis muestran dos máximos de absorción a las longitudes de onda correspondientes al DNA y al complejo libre. Los estudios realizados ponen de manifiesto que en todos los casos la adición de los complejos 4H, 4Cl, 4Br y 4I produce variaciones en la intensidad de la banda de absorción del DNA, lo cual se puede explicar en base a los cambios estructurales que se producen en la doble hélice como resultado de la interacción con dichos complejos (Véase Apéndice VI).

El espectro de absorción UV-vis para la valoración de DNA con 4H (Figura 4.5.5) muestra una secuencia de variación en la intensidad de la banda de DNA, que parece ser debidas a una secuencia de cambios conformacionales inusuales en la doble hélice. Así, se observa que la adición del complejo produce una disminución inicial de la intensidad de la banda de absorción del DNA hasta llegar a una relación DNA:4H de 10:1, a partir de la cual a concentraciones más elevadas de complejo se produce el efecto contrario con un aumento de la intensidad de la banda de DNA.

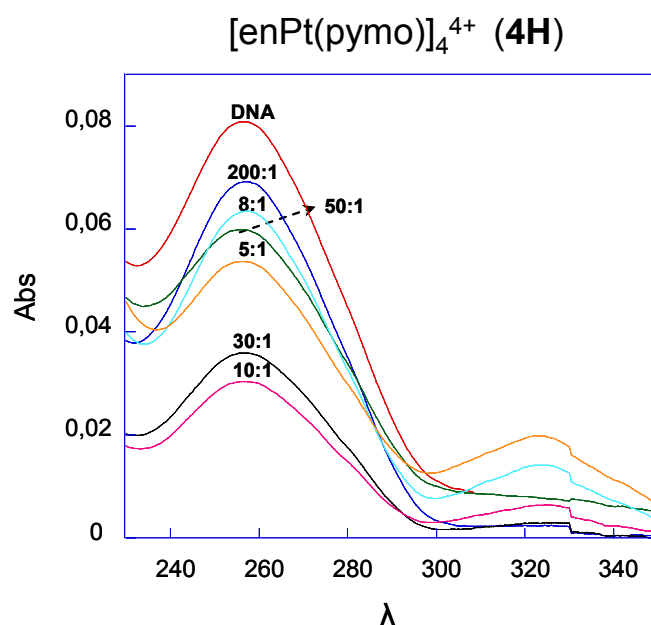


Figura 4.5.5.- Espectro UV-vis para ct-DNA (300 $\mu$ M) libre y relaciones DNA:**4H** desde 200:1 hasta 5:1.

La disminución inicial de la intensidad de la banda de DNA pone de manifiesto que la especie **4H** no se intercala en la doble hélice, como se puede prever por su naturaleza no plana, ya que este modo de interacción induciría un alargamiento de la estructura y, consecuentemente, un aumento de la intensidad de la banda de DNA. La disminución de la intensidad se atribuye a una compactación o enrollado de la estructura del DNA, inducido por las interacciones supramoleculares que tienen lugar entre el complejo y el DNA y que es parecido al efecto producido en el DNA como consecuencia de su interacción supramolecular con metalocilindros.<sup>21a,b,e,g</sup> El comportamiento inusual de la interacción de los metalocalix[4]areños con el DNA es que este proceso de compactación es reversible a altas concentraciones de complejo, apareciendo un aumento de la intensidad de la banda del DNA, lo cual se asocia con un alargamiento de las hebras de DNA. El resto de la serie **4Cl**, **4Br** y **4I** da lugar a resultados similares (Figura 4.5.6), sin embargo, la precipitación del DNA a lo largo de la valoración con los complejos impide que se pueda realizar un estudio detallado de su comportamiento.



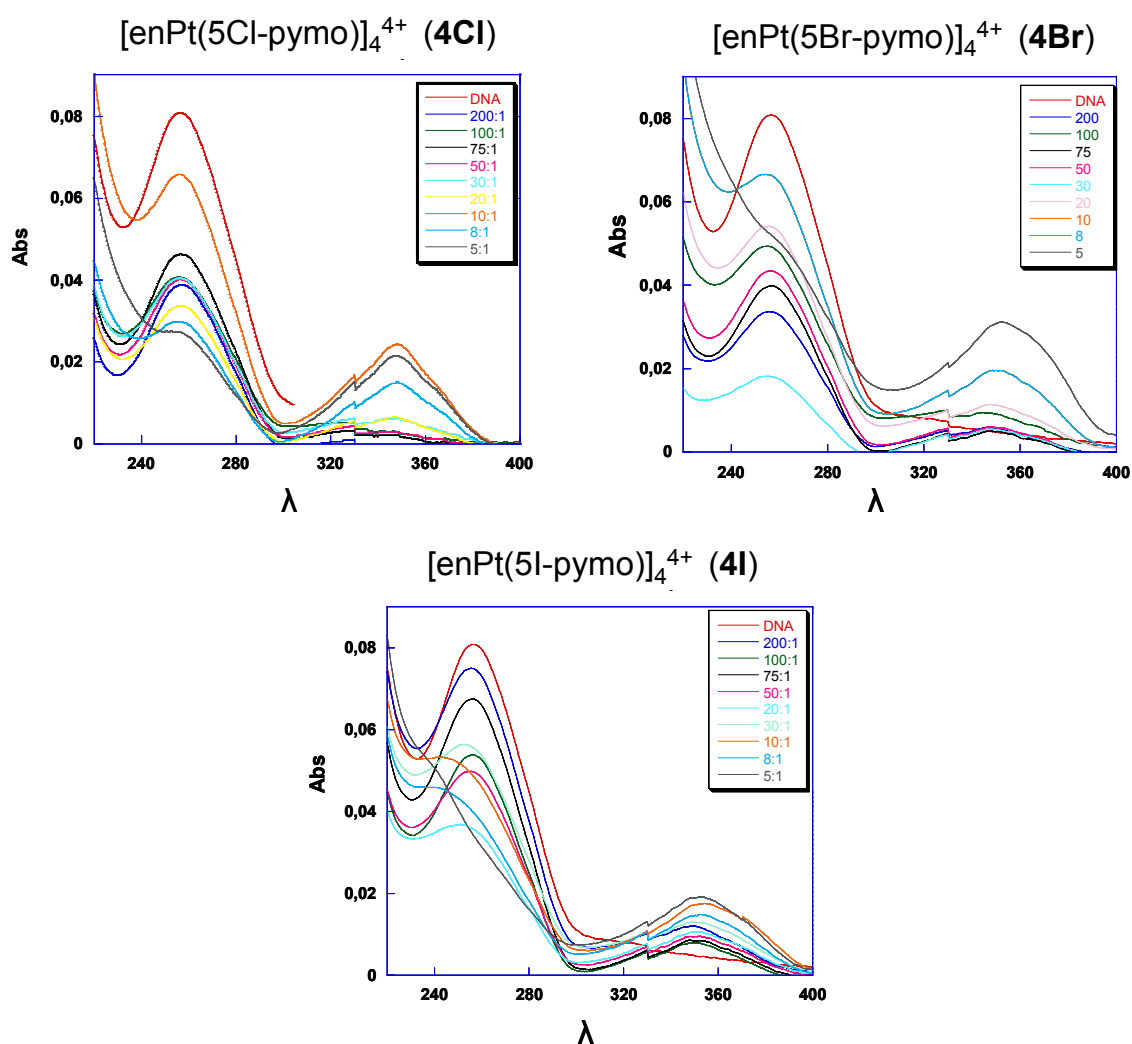


Figura 4.5.6.- Espectros UV-vis para cf-DNA (300 $\mu$ M) libre y relaciones DNA:complejo (**4CI**, **4Br** ó **4I**) desde 200:1 hasta 5:1.

Finalmente, hay que indicar que no se produce una interacción de tipo covalente entre el DNA y las especies **4H**, **4CI**, **4Br** y **4I** ya que la naturaleza inerte de los enlaces Pt-N en estas especies evita la ruptura de los metalocalixarenos y la posterior formación de productos de entrecruzamiento. Como se discutió en la Sección 4.5.1, los estudios de interacción de mononucleótidos con metalocalixarenos que contienen paladio muestran un proceso de reconocimiento molecular seguido por una coordinación del paladio al mononucleotido, y la consecuente descomposición del oligómero cíclico. Esto no sucedió para los metalocalixarenos análogos de platino. Por otro lado, la estabilidad de los metalocalixarenos de platino se pone de manifiesto por la ausencia de cambios en las bandas correspondientes a los complejos en los

espectros de absorción UV-vis registrados para la asociación DNA:complejo. Como se verá posteriormente estos resultados obtenidos a partir de los estudio de espectroscopia de absorción UV-vis se apoyan por los estudios realizados con otras técnicas biofísicas y por AFM (Apartado 4.5.2.5).

#### 4.5.2.2.- Dicroísmo Circular (CD) y Lineal (LD)

##### DICROISMO CIRCULAR (CD)

Los espectros de CD se registraron para los complejos 4H, 4CI, 4Br, 4I, el DNA libre y para una relación DNA(bases):complejo de 20:1. En el caso del complejo 4CI se realizó una valoración completa del ct-DNA con esta especie.

Los espectros de CD de los complejos aquirales 4H, 4CI, 4Br y 4I no mostraron señal de CD. Por lo tanto, cualquier señal que aparezca en la región espectroscópica de los complejos será consecuencia de la quiralidad inducida por una interacción con el DNA. El espectro de CD característico de la molécula de DNA posee una señal sinusoidal entre 220nm y 300nm, y carece de señal desde 300nm a 750nm (Figura 4.5.7).

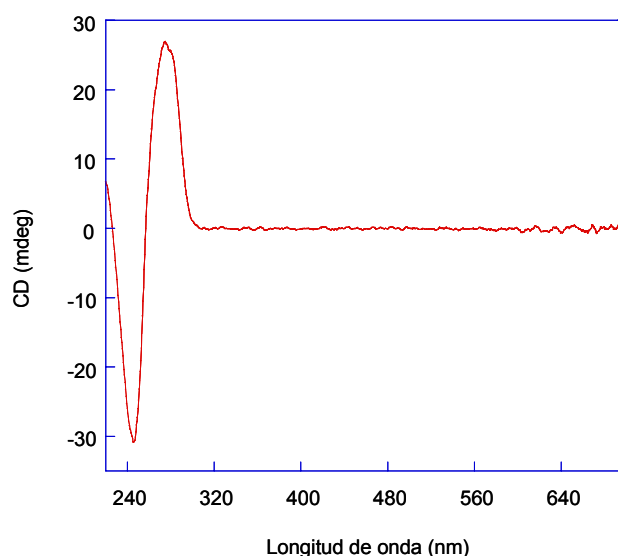


Figura 4.5.7.- Espectro de CD de ct-DNA libre (300  $\mu$ M).

Como primera experiencia se llevo a cabo un estudio de interacción entre la molécula de DNA y los complejos 4H, 4Cl, 4Br y 4I, en una relación 20:1, registrando los espectros inmediatamente después de la adición del complejo. Los espectros de CD mostraron la aparición de una banda de CD inducida (ICD) localizada entre 300-400nm, que pone de manifiesto la interacción en todos los casos con el DNA. Todas las señales ICD fueron negativas y centradas en la longitudes de onda de los máximos de absorción de cada uno de los complejos en los espectros UV-vis (Sección 4.5.2.1), siendo especialmente intensa para la especie  $[\text{enPt-5Clpymo}]_4^{4+}$  (4Cl). Por este motivo se escogió esta especie para realizar una valoración del DNA. Dicha valoración se realizó con una concentración constante de DNA ( $300\mu\text{M}$ ) y concentraciones crecientes del complejo, con relaciones DNA(bases):complejo entre 200:1 y 3:1 (Para relaciones superiores a 20:1 se produjo la precipitación del DNA).

El espectro de CD registrado para dicha valoración se muestra en la Figura 4.5.8. La banda de CD del DNA (220-300nm) confirma que el DNA permanece en una conformación B. Sin embargo, los cambios de intensidad que se producen con la adición de complejo refleja que se producen ligeros cambios en la estructura de la doble hélice. Por otro lado, la aparición de una banda decreciente a 348nm, pone de manifiesto que se produce una interacción entre la especie 4Cl y el DNA.

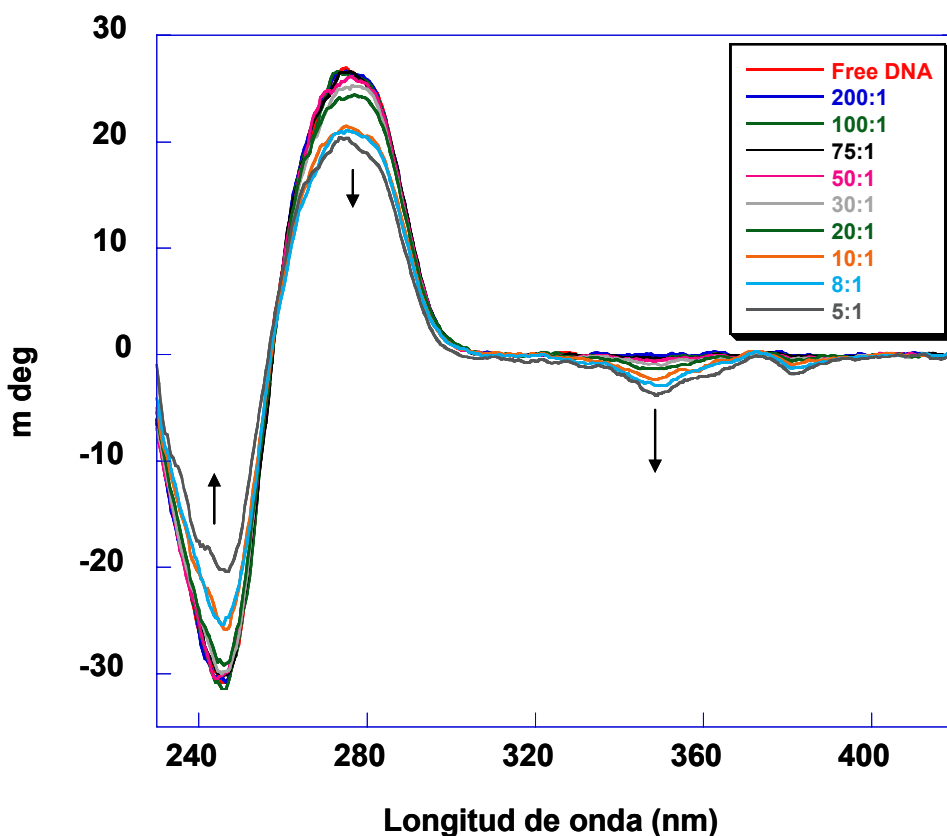


Figura 4.5.8.- Espectro de CD de ct-DNA libre (300  $\mu$ M) y relaciones DNA:4Cl desde 200:1 hasta 5:1.

En el transcurso de la valoración se observaron procesos de precipitación del DNA para relaciones superiores a 20:1, lo cual no permite hacer una representación de la señal ICD a 348nm frente a la concentración de complejo utilizada con objeto de estudiar el número de modos de interacción entre ambas especies.

### DICROISMO LINEAR (LD) EN FLUJO

Los espectros de LD en flujo se registraron para los complejos 4H, 4Cl, 4Br y 4I, DNA libre, y para las valoraciones del DNA con dichos complejos. Al igual que en el caso anterior, los complejos estudiados carecen de señal de LD en flujo, por lo que cualquier señal obtenida diferente de la característica del DNA,

es decir, a longitudes de onda mayores de 300nm, sería consecuencia de la interacción de los complejos con el DNA. El espectro de LD característico de la molécula de DNA posee una señal negativa entre 220nm y 300nm, debido a la orientación de sus bases, perpendiculares al eje de la hebra, y carece de señales desde 300nm hasta 700nm (Figura 4.5.9).

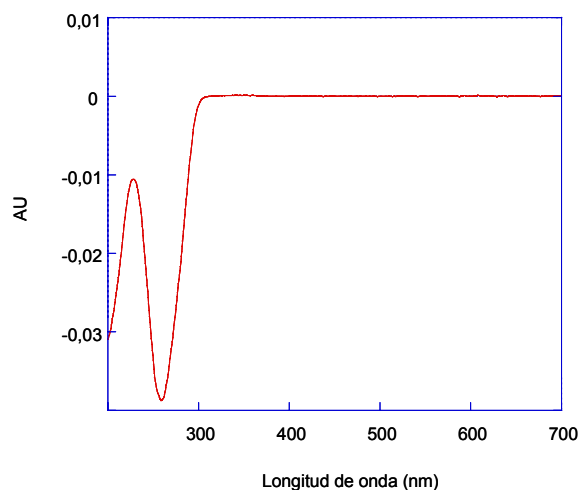
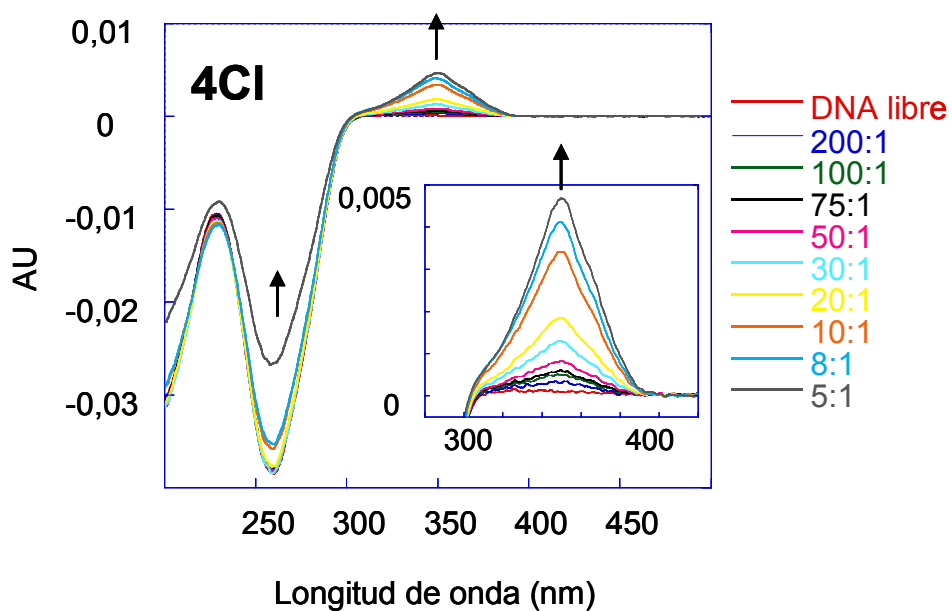
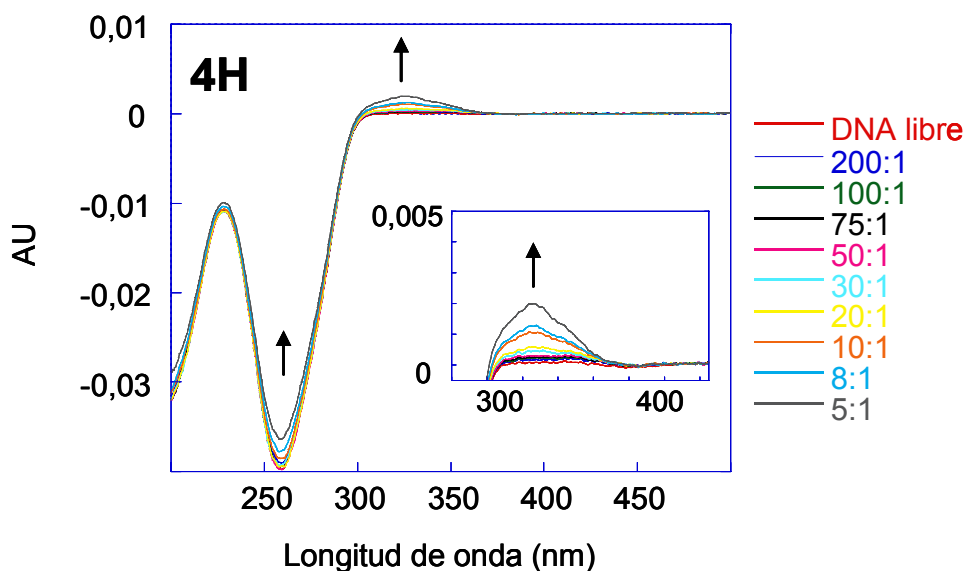


Figura 4.5.9.- Espectro de LD para ct-DNA libre (300  $\mu$ M).

Como primera experiencia se llevo a cabo un estudio de la interacción entre la molécula de DNA y los metalocalix[4]arenos, en una relación DNA(bases):complejo de 20:1. En todos los espectros se observó la señal negativa entre 220-300nm característica del DNA y una señal positiva inducida (ILD) por encima de 300nm, como consecuencia de la interacción entre el DNA y los metalocalix[4]arenos correspondientes. Las señales ILD están centradas en la misma longitud de onda de la banda de absorción en el espectro UV-Vis de cada uno de los complejos.

Para estudiar en detalle la interacción DNA:complejo se llevo a cabo la valoración del DNA con los diferentes metalocalix[4]arenos utilizando relaciones DNA(bases):complejo desde 200:1 hasta 3:1, y manteniendo la concentración de DNA constante (300 $\mu$ M). Los resultados de la valoración, para cada metalocalix[4]areno, muestran cambios en la intensidad de la banda del DNA y la aparición de una señal ILD en la región comprendida entre 300nm y 390nm

(Figura 4.5.10), al igual que ocurría en las experiencias de CD (explicadas anteriormente). Esto apoya los resultados obtenidos de las experiencias en CD y pone de manifiesto que cada complejo se une al DNA de una manera específica y no lo hace al azar.<sup>21</sup>



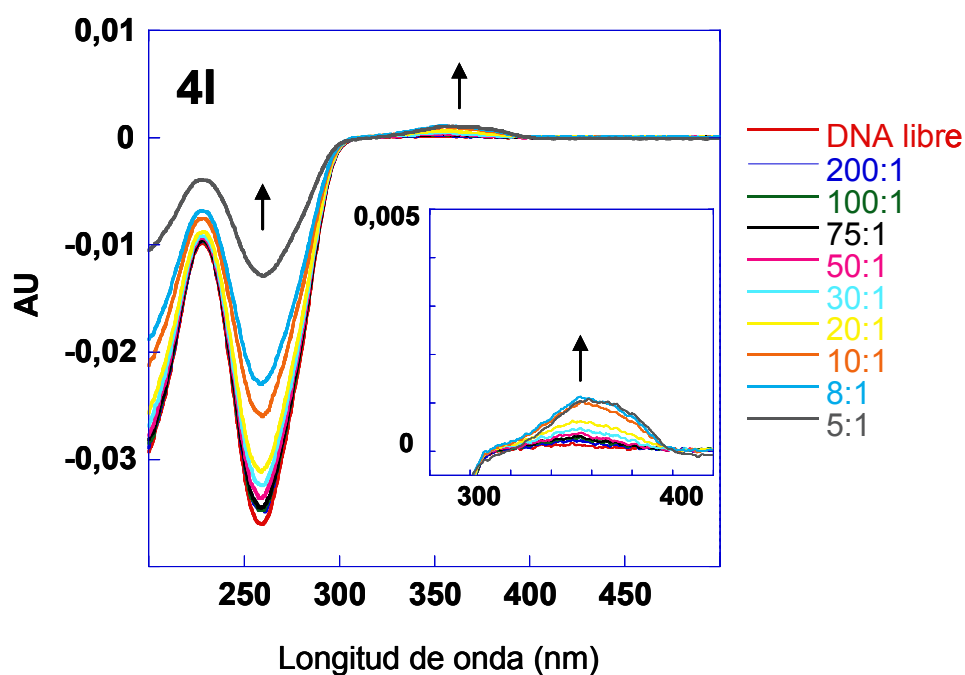
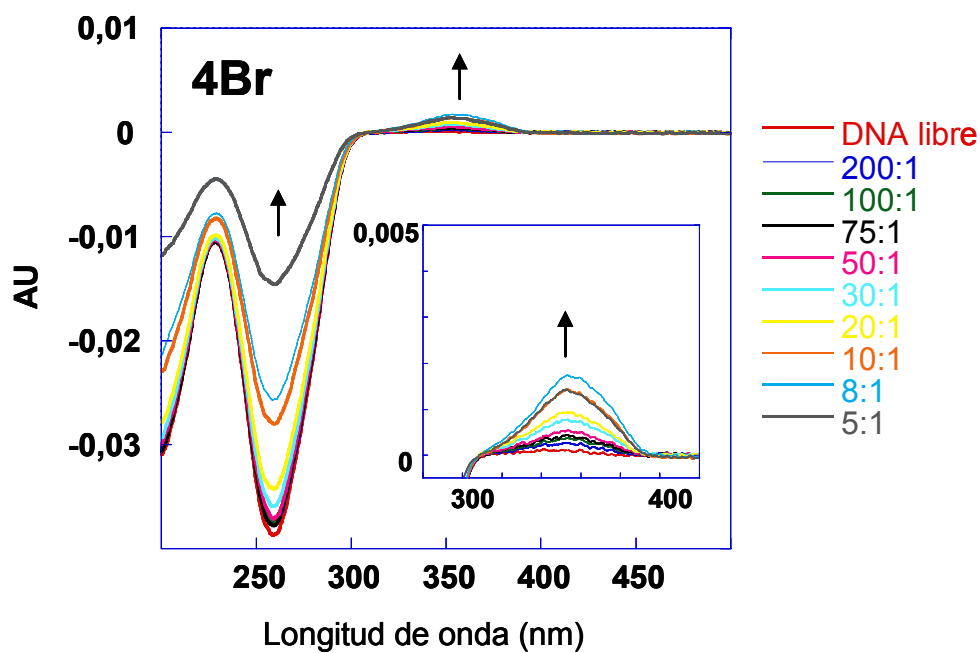


Figura 4.5.10.- Espectros de CD para el ct-DNA libre (300 $\mu$ M) y relaciones DNA:complejo (4H, 4Cl, 4Br y 4I). Relaciones indicadas en la figura.

La disminución de la intensidad de la banda del DNA en los espectros de LD (Figura 4.5.10) pone de manifiesto que se producen cambios conformacionales en la doble hélice del DNA como consecuencia de la interacción de los complejos. Como se deduce de los espectros de LD, y como mas tarde lo apoyaran los resultados de AFM (Apartado 4.5.2.5), estos cambios estructurales en el DNA son

mas dramáticos en presencia de las especies 4Br y 4I, y especialmente a partir de unas relaciones DNA:complejo superiores a 10:1 (Figura 4.5.10).

Al igual que en las conclusiones extraídas de los resultados de espectroscopía UV-vis (Sección 4.5.2.1), se descarta la intercalación de las especies como modo de interacción, ya que este modo de interacción normalmente está asociado a un incremento de la intensidad de la banda de DNA en los espectros de LD. La disminución de la intensidad que observamos en los espectros de LD a 260nm está comúnmente asociada a una pérdida de la orientación de la molécula de DNA, probablemente inducida por un enrollamiento o compactamiento de la estructura. Este efecto ha sido observado, aunque de una manera mas dramática, cuando cilindros catiónicos supramoleculares interaccionan con el DNA.<sup>21a,b,e,g</sup> Las señales por encima de 300nm, correspondientes a la interacción de los distintos complejos con el DNA, son positivas y crecientes conforme aumenta la concentración de complejo. Las señales ILD positivas en los espectros sugieren que el modo de interacción de las especies con el DNA se produce de una manera más paralela que perpendicular al eje de orientación del DNA.

Con objeto de estudiar los modos de interacción entre el complejo 4H y el DNA se hizo una representación de la intensidad de la señal ILD a 322nm frente a la concentración de complejo utilizada (Figura 4.5.11). Este estudio no se pudo realizar para las especies 4Cl, 4Br y 4I, ya que a relaciones DNA:complejo superiores a 20:1 comenzaron a producirse procesos de precipitación.



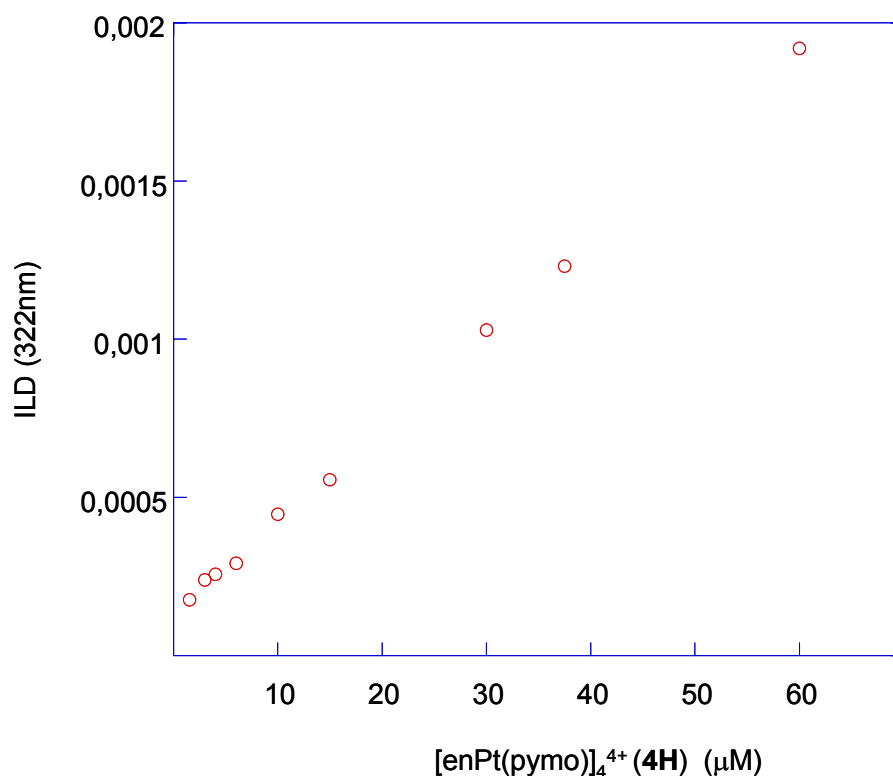


Figura 4.5.11.- Representación de la intensidad de la señal ILD a 348nm frente a la concentración de complejo **4H**. Datos obtenidos de la gráfica 4.5.10 para la especie **4H**.

La representación de la intensidad de la señal ILD a 322nm frente a la concentración de complejo, mostrada en la figura 4.5.11, muestra como la señal ILD experimenta una progresión lineal con la adición de complejo 4H, lo que refleja un único modo de interacción del complejo al DNA.

#### 4.5.2.3.- Fluorescencia. Interacción competitiva con bromuro de etidio

Los ensayos de interacción competitiva se han llevado a cabo utilizando bromuro de etidio (EtBr) intercalado en el DNA y estudiando el efecto de la adición de los metalocalixarenos 4H, 4Cl, 4Br y 4I en la emisión fluorescente del bromuro de etidio. En este caso, a diferencia de las experiencias anteriores, no se observó la precipitación del DNA cuando se realizaron los ensayos en presencia de los metalocalixarenos.

Se preparo una disolución de ct-DNA con suficiente bromuro de etidio (relación DNA:EtBr de 4:5  $\mu\text{M}$ ) para saturar todos los lugares de unión en la estructura de doble hélice. Cuando el EtBr está unido al DNA su fluorescencia aumenta, y cuando es desplazado por una molécula que compite por los sitios de unión, el EtBr queda libre y su fluorescencia disminuye (Apéndice VI). Aunque las experiencias en espectroscopia UV-vis, LD y CD ponen de manifiesto que los complejos 4H y 4Cl se unen al DNA (Apartados 4.5.2.1y2), los resultados obtenidos en los ensayos de fluorescencia muestran una tenue disminución de la emisión fluorescente con la adición de estas especies (Figura 4.5.12), lo que pone de manifiesto que los compuestos 4H y 4Cl no se unen al DNA con la fortaleza suficiente como para desplazar al EtBr. Esto revela que la constante de asociación de las especies 4H y 4Cl es más baja que la del EtBr ( $9,5 \cdot 10^6 \text{ M}^{-1}$ ).

Sin embargo, para los complejos 4Br y 4I, los espectros de emisión fluorescente reflejan una importante disminución de la intensidad de la banda de emisión fluorescente del EtBr intercalado en el DNA, centrada a 600nm, a medida que aumenta la concentración de los complejos (Figura 4.5.13), lo que pone de manifiesto el desplazamiento del EtBr por estos metalocalix[4]arenos y una constante de asociación mayor que la del bromuro de etidio. Hay que destacar que para relaciones DNA:complejo superiores a 10:1 se produce una disminución de la fluorescencia de manera más acusada, debido posiblemente, a los cambios estructurales que se ponían de manifiesto en los ensayos de espectroscopia UV-vis a altas relaciones DNA:complejo (superiores a 10:1), y que pueden afectar de manera significativa a la emisión del EtBr unido al DNA.

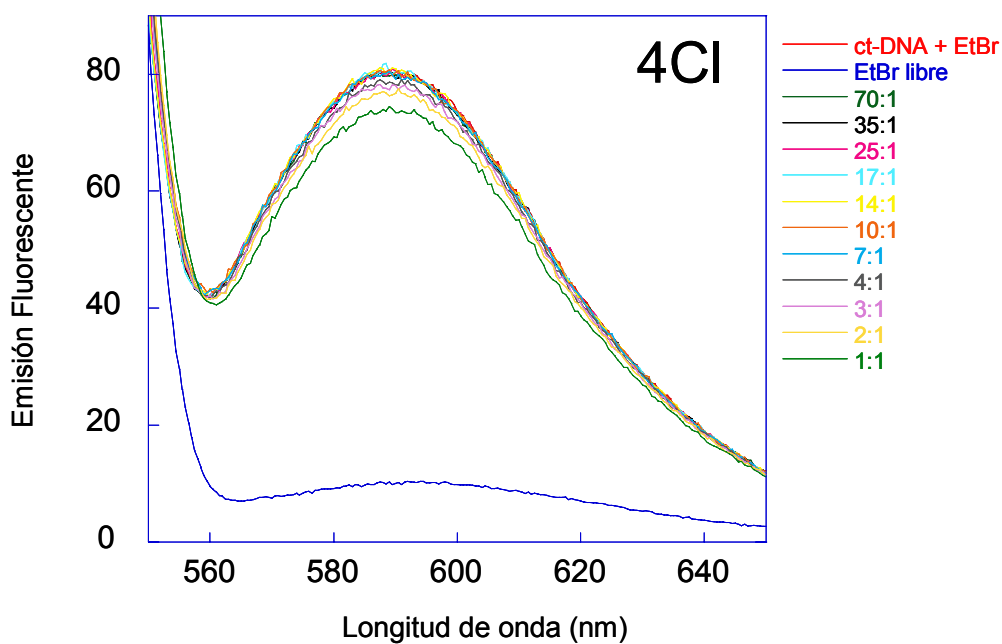
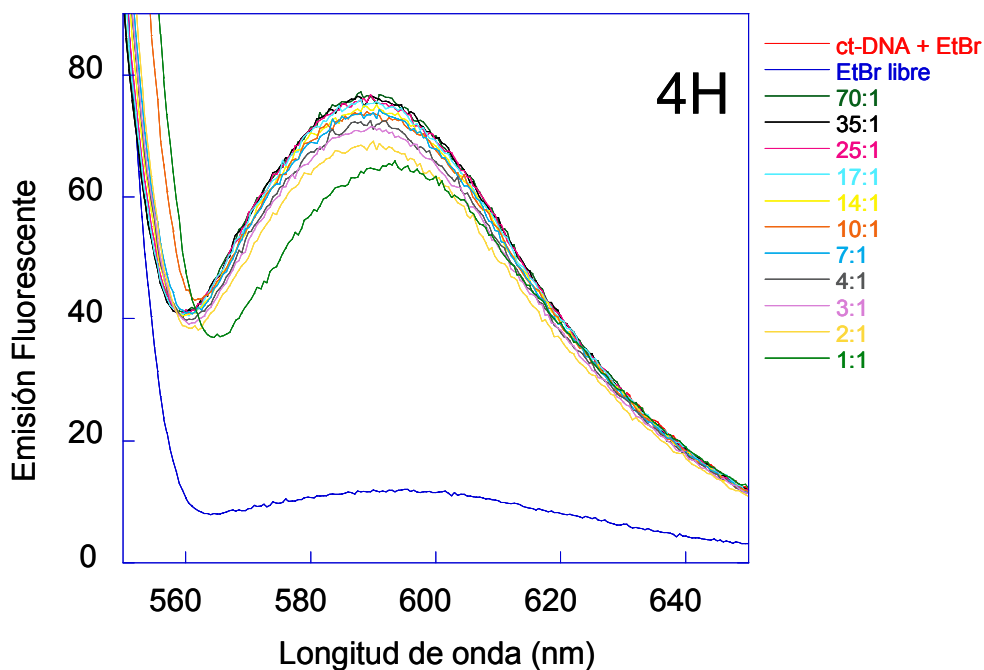


Figura 4.5.12.- Espectros de fluorescencia para 5  $\mu\text{M}$  de EtBr y 4  $\mu\text{M}$  de DNA en presencia de los complejos **4H** y **4Cl**. Relaciones DNA:metalocalixarenos indicada en la figura.

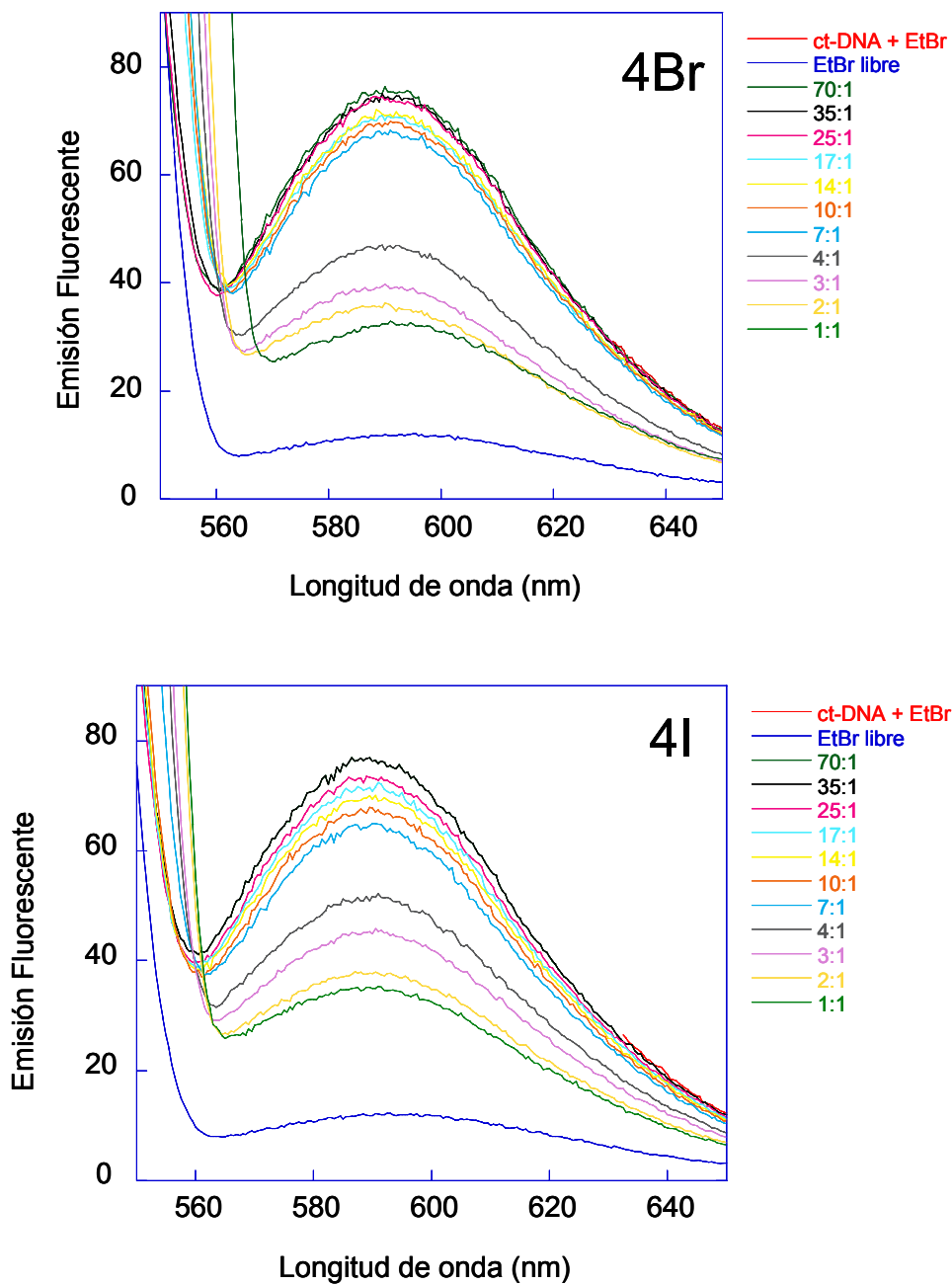


Figura 4.5.13.- Espectros de fluorescencia para 5  $\mu\text{M}$  de EtBr y 4  $\mu\text{M}$  de DNA en presencia de los complejos **4Br** y **4I**. Relaciones DNA:metalocalixarenos indicadas en la figura.

La mayor afinidad de los complejos **4Br** y **4I**, con respecto a **4H** y **4Cl**, se puede relacionar con su diferente flexibilidad conformacional (Apartado 4.2.2). Es presumible que la interacción con el DNA sea mas intensa para las especies **4I** y **4Br** por la unión de un conformero particular, de los posibles encontrados, con el consecuente mejor ajuste en la superficie del DNA.

Una representación de la emisión fluorescente a 590nm frente a la concentración de los complejos **4Cl** y **4I** utilizada (Figura 4.5.14) pone de manifiesto una disminución lineal de la intensidad de la emisión hasta concentraciones de 1.5  $\mu\text{M}$  (relación 3:1). A partir de dicha concentración la intensidad disminuye de manera mucho menos acusada debido, posiblemente, a la saturación de los sitios de unión al DNA.

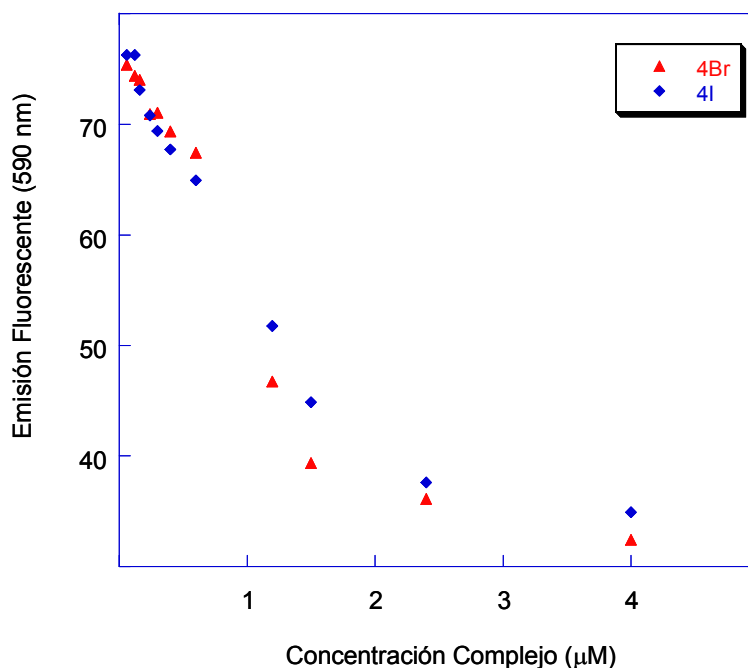


Figura 4.5.14.- Representación de la intensidad de la emisión fluorescente a 590 nm para la mezcla EtBr:DNA (5:4  $\mu\text{M}$ ) frente a la concentración de los complejos **4Br** y **4I** añadida.

#### 4.5.2.4.- Electroforesis en Gel de Agarosa

Los experimentos de electroforesis en gel de agarosa se realizaron para el ct-DNA y el plásmido pBR322 en presencia de las especies 4H, 4Cl, 4Br y 4I.

Los resultados de la electroforesis de ct-DNA en presencia de la especie 4H (Figura 4.5.15) muestran un ligero descenso de la migración del DNA para relaciones DNA(bases):complejo entre 200:1 y 30:1. A concentraciones mas elevadas de complejo la migración del DNA disminuye de manera mas dramática, e incluso no se produce migración alguna para una relación 5:1. El ligero descenso de la migración del DNA, para relaciones inferiores a 30:1, puede atribuirse a la disminución de la carga negativa del DNA como consecuencia de la unión del compuesto catiónico tetranuclear 4H. Por otro lado, el dramático descenso de la migración para relaciones entre 30:1 a 5:1 se atribuye a una elongación de las hebras, tal como se puso de manifiesto en los estudios espectroscópicos de los apartados anteriores. La formación de una estructura de este tipo más rígida y alargada (Ver estudios de AFM, Sección 4.5.2.5) explica el descenso dramático en la migración del DNA a través del gel de agarosa.

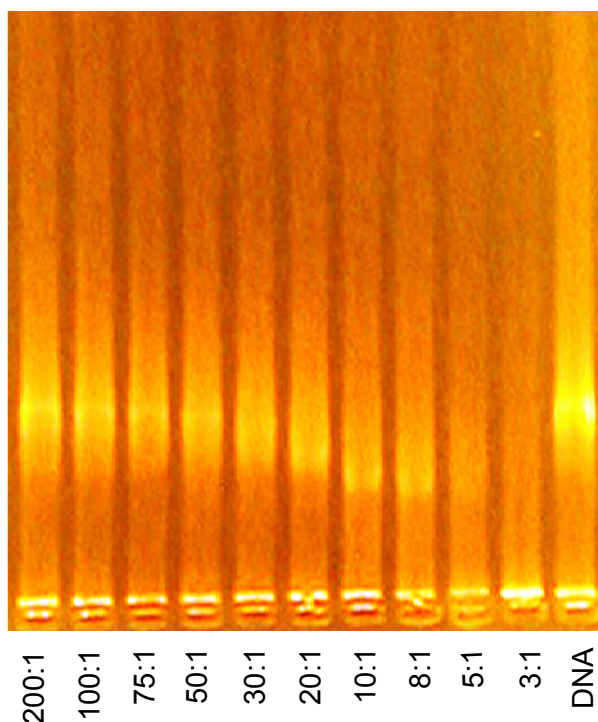


Figura 4.5.15.- Electroforesis en gel de agarosa para la interacción ct-DNA:4H. Relaciones indicadas en la figura.

También se realizaron experiencias de electroforesis en gel de agarosa para estudiar la migración del plásmido pBR322. Los resultados concuerdan con los obtenidos para el ct-DNA, produciéndose una migración mas lenta del plásmido conforme aumenta la concentración de los complejos. Además se observa una disminución de la intensidad del EtBr (utilizado como revelador), a medida que aumenta la concentración del complejo correspondiente (Figura 4.5.16). Esta disminución de la intensidad del EtBr es mas acusada en presencia de las especies 4Br y 4I, posiblemente debido a la mayor constante de asociación al DNA de estos compuestos con respecto al EtBr. Estos hechos están de acuerdo con los resultados obtenidos de interacción competitiva por fluorescencia (Apartado 4.5.2.4).

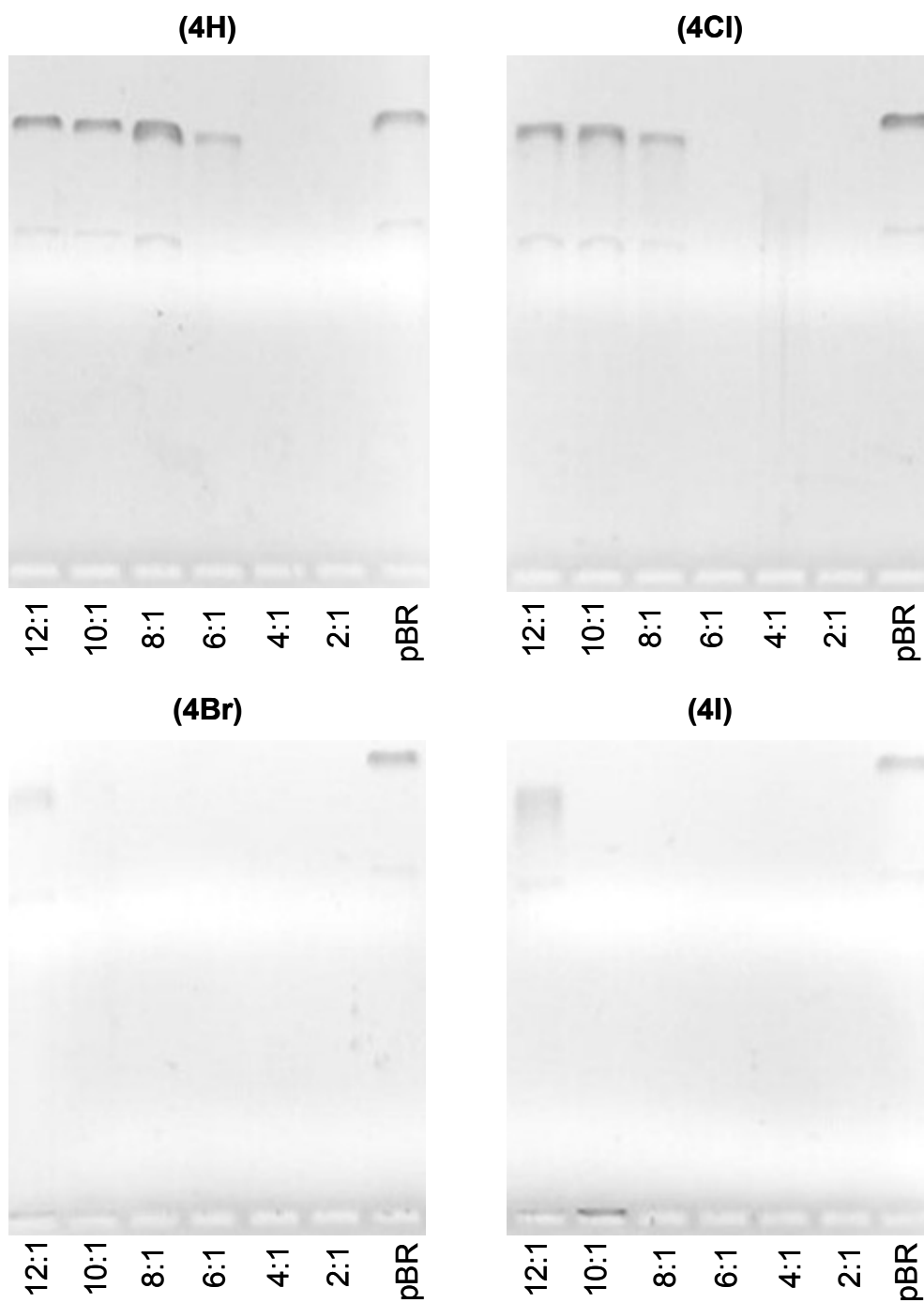


Figura 4.5.16.- Electroforesis en gel de agarosa para las mezclas a) pBR322:**4H**, b) pBR322:**4Cl**, c) pBR322:**4Br** y d) pBR322:**4I**.



#### 4.5.2.5.- Microscopía de Fuerza Atómica (AFM)

Con objeto de clarificar los efectos estructurales de la valoración del DNA con las especies 4H, 4Cl, 4Br y 4I, se llevaron a cabo estudios de la interacción DNA:complejo a través de microscopía de fuerza atómica.

En la Figura 4.5.17 se muestra una imagen de varias hebras de ct-DNA libre (blanco) adsorbidas sobre una superficie de mica y usando  $MgCl_2$ . La altura de dichas moléculas es de  $\sim 1\text{nm}$  y la longitud entre 300 y 2000 nm correspondiendo a los valores típicos encontrado en imágenes de microscopía de fuerzas atómicas.<sup>60</sup>

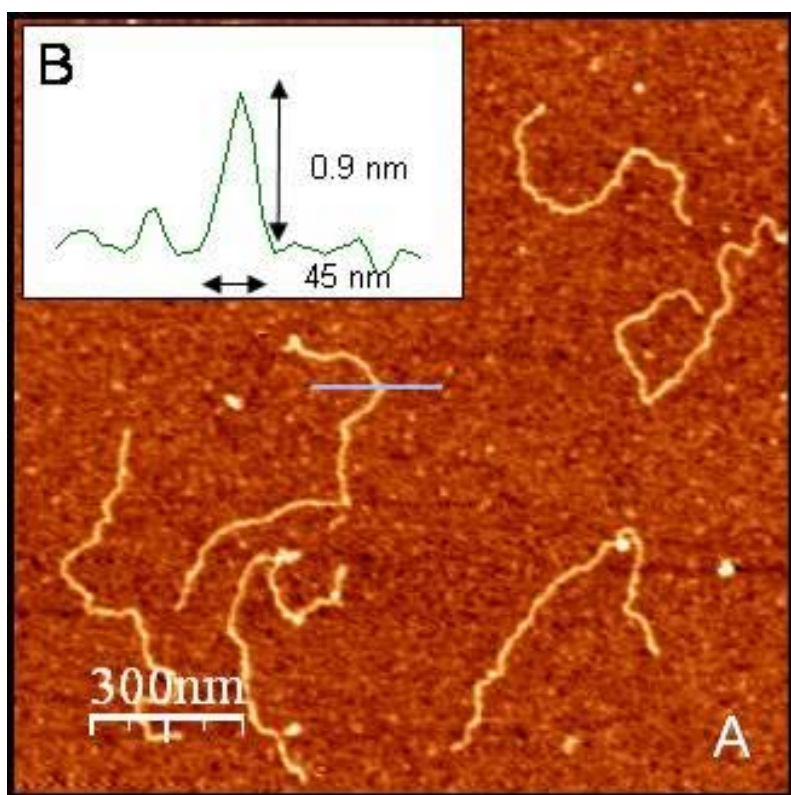


Figura 4.5.17.- Topografía de AFM que muestra la doble hebra de DNA adsorbida sobre mica usando el método clásico de adición de  $MgCl_2$ .

Cuando el DNA es incubado con la especie 4H en relación 10:1 (DNA:complejo) se produce un estiramiento de la doble hélice, y se observan filamentos de DNA con longitudes mayores a los  $15\ \mu\text{m}$  y una altura de 0.8 nm,

superando los valores de longitud del DNA de referencia (Figura 4.5.18.A y B). Por otro lado se observan unas manchas a lo largo de las fibras de DNA, con una altura de 2.5nm, que se atribuyen a la unión de metalocalix[4]arenos al DNA (ampliación en la Figura 4.5.18.B). Las figuras de AFM también muestran como las manchas aparecen inespecíficamente adsorbidas sobre la superficie de mica.

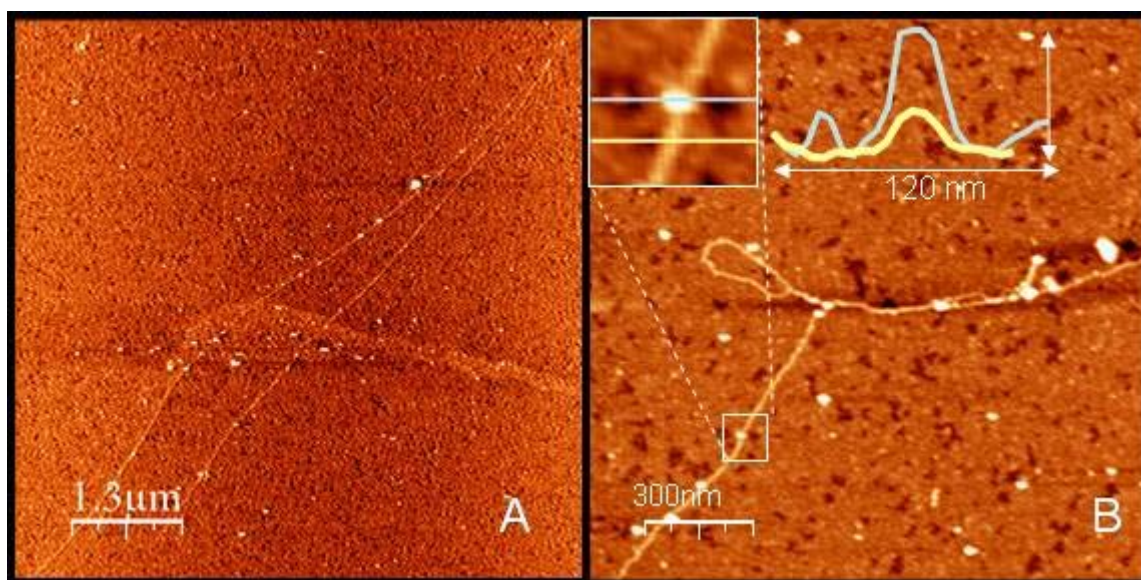


Figura 4.5.18.- Topografía de AFM para el DNA incubado con el metalocalix[4]areno **4H** en relación 10:1 y adsorbido sobre mica. a) Hebras de DNA con longitudes superiores a 15 μm. b) Hebras de DNA con una altura típica de 0.8 nm. Las manchas localizadas a lo largo del DNA se atribuyen a la interacción supramolecular con la especie **4H**.

Cuando el DNA es incubado con una concentración mas baja de la especie 4H, en una relación de 30:1, también se observa la adsorción de los metalocalix[4]arenos en la superficie de mica y a lo largo de las moléculas de DNA (Figura 4.5.19). Sin embargo en este caso no se observa un efecto del alargamiento de las fibras como ocurre para relaciones DNA:complejo más elevadas, si no que las imágenes de AFM muestran una marcada disminución de las longitudes de dichas fibras. Esta reducción de las longitudes sugiere que el DNA sufre un mayor enrollamiento o compactamiento como se dedujo de los resultados obtenidos por espectroscopia (Secciones 4.5.2.1-3).

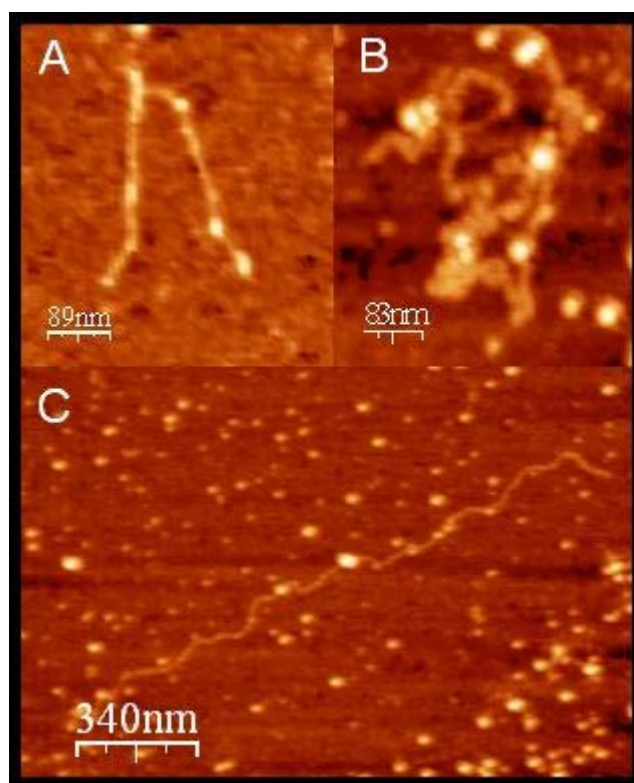


Figura 4.5.19.- Topografía de AFM para el DNA incubado con el metalocalix[4]areno **4H** en relación 30:1 y adsorbido sobre mica. Las manchas localizadas a lo largo del DNA se atribuyen a la interacción supramolecular de la especie **4H** con un incremento de la altura de las hebras de 0.6nm a aproximadamente 2nm.

Cuando se utiliza la especie 4I en lugar de la especie 4H, se observan cambios estructurales similares pero de manera más drástica. Así cuando el DNA se incuba con la especie 4I en una relación 10:1 se observan estructuras más elongadas. La Figura 4.5.20.B sugiere que las interacciones DNA:4I, en relación 10:1, dan lugar a largos filamentos de una importante longitud con una estructura granular cuasi-monodimensional. Este comportamiento está de acuerdo con la mayor afinidad de la especie 4I por el DNA, como se dedujo de los estudios de espectroscopia (Secciones 4.5.2.1-3). En este caso, la unión del complejo 4I al DNA da lugar a la formación de fibras que, en algunos casos (ampliación en la Figura 4.5.20.A), conducen a la formación de redes bidimensionales. En el centro de la Figura 4.5.20.A se puede observar como, presumiblemente, moléculas individuales de DNA dan lugar a dichas fibras.

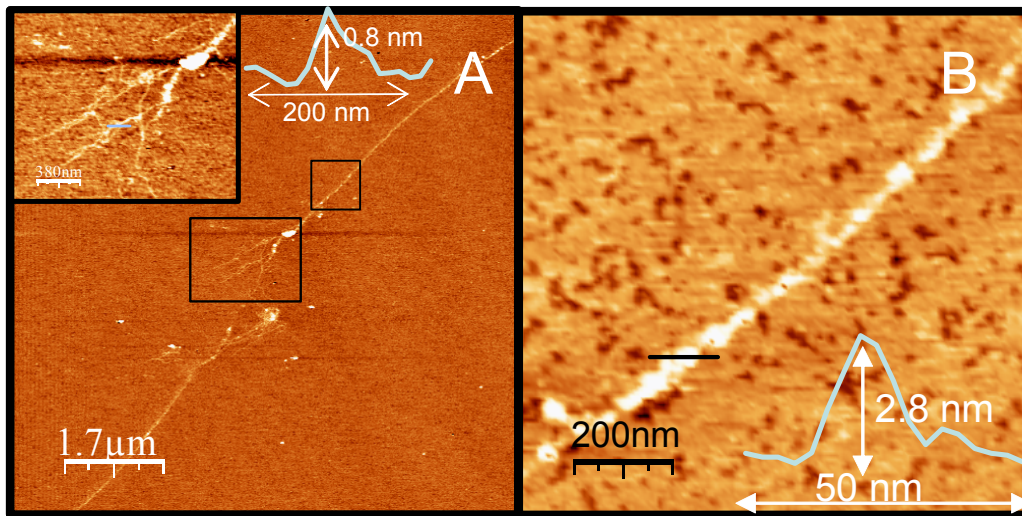


Figura 4.5.20.- Topografía de AFM para el DNA incubado con el metalocalix[4]areno **4I** en relación 10:1 y adsorbido sobre mica. Varias hebras de DNA con una altura de 0.8 nm, indicando la estructura mas larga es un conjunto de hebras de DNA y metalocalix[4]arenos unidos, con una altura de 2.8 nm, la cual es mucho mas larga que la altura de hebras individuales de DNA medidas con AFM. B) Ampliación de una imagen recuadrada en la figura A.



## **5.- CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN**

### **5.1.- Conclusiones**

En esta memoria de Tesis Doctoral, tal como se planteó al inicio de la misma, se ha pretendido realizar una aproximación inorgánica a la Química Supramolecular de los calixarenos orgánicos clásicos a través de los ejemplos descritos de compuestos de coordinación cíclicos que actúen como receptores de aniones.

Se ha realizado un estudio de la modulación del tamaño de los compuestos cíclicos con el fin de optimizar el tamaño, la forma y de las cavidades en las que van a tener lugar los procesos de reconocimiento molecular. Igualmente, dichos compuestos de coordinación se han funcionalizado con un grupo electroquímicamente activo, como el ferroceno, con el fin de utilizar dichos compuestos como sensores electroquímicos. En este caso, los compuestos obtenidos sólo se han podido estudiar en disolución, ya que no se han podido aislar en estado sólido.

Por otra parte, se llevado a cabo un estudio de interacción, de estos compuestos de coordinación, frente al DNA y se han estudiado los cambios que dicha interacción induce sobre la estructura de la doble hélice.

A continuación, se exponen las conclusiones y resultados más relevantes que se han obtenido de este trabajo de investigación.

La estrategia de síntesis llevada a cabo en esta memoria de investigación ha dado lugar a una gran variedad de compuestos de coordinación cíclicos con diferentes características estructurales y propiedades. Esta estrategia de síntesis se basa en hacer reaccionar ligandos orgánicos heterocíclicos con átomos de nitrógeno donadores, tales como la 2-hidroxipirimidina y sus derivados, la 4,4-bipiridina y la 4,7-fenantrolina, y fragmentos metálicos de geometría plano cuadrada y octaédrica.

En este sentido se deben destacar algunos de los complejos obtenidos, cuyas propiedades son especialmente llamativas:

En primer lugar, se ha conseguido sintetizar exitosamente oligómeros cíclicos catiónicos de tipo metalocalix[3]areno de forma enantioselectiva a partir de la reacción entre el ligando 4,7-fenantrolina y los fragmentos metálicos cis protegidos R,R-dach-, y S,S-dach-diacuopaladio(II). De esta manera se obtuvieron las especies homoquirales cíclicas [(R,R-dach)Pd(4,7-fen- $N^4, N^7$ )]<sub>3</sub>(NO<sub>3</sub>)<sub>6</sub> (2a) y [(S,S-dach)Pd(4,7-fen- $N^4, N^7$ )]<sub>3</sub>(NO<sub>3</sub>)<sub>6</sub> (2b). En estas especies, el ligando 4,7-fen actúa como ligando puente coordinado de un modo exobidentado, a través de sus átomos de nitrógeno donadores N4 y N7 a los iones paladio.

La reacción análoga entre el fragmento fac protegido  $\eta^6$ -cimenotriacurrutenio(II) y el ligando 4,7-fenantrolina ha dado lugar a la formación de una especie tetranuclear rectangular [( $\eta^6$ -p-cymene)<sub>4</sub>Ru<sub>4</sub>(4,7-fen- $N^4, N^7$ )<sub>2</sub>(OH)<sub>4</sub>]<sup>4+</sup> (3).

Por otro lado, se han conseguido sintetizar oligómeros cíclicos catiónicos de tipo metalocalix[4]areno a partir de la reacción entre los ligandos pirimidínicos X-Hpymo (X = F, Cl, Br, I) y Hcapymo y el fragmento metálico etilendiaminadiacuoplatino(II), la cual ha conducido a la formación de las especies [(en)Pt(X-pymo- $N^1, N^3$ )]<sub>4</sub>(NO<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (X = F (4F), Cl (4Cl), Br (4Br), I (4I),) y [(en)Pt(capym- $N^1, N^3$ )]<sub>4</sub>(NO<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (5)). En estas especies, los ligandos pirimidínicos actúan como ligandos puente exobidentados coordinados a través de sus átomos de nitrógeno donadores N1 y N3 a los iones de platino.

Una reacción similar entre el ligando 2-Hpymo y el fragmento metálico  $\eta^3$ -alildiacuopaladio(II) ha conducido a la formación de una especie dinuclear del tipo [( $\eta^3$ -alil)Pd(Hpymo- $N^1, O^2$ )]<sub>2</sub> (SO<sub>3</sub>CF<sub>3</sub>)<sub>2</sub> (6) que se reorganiza en disolución acuosa en la especie cíclica neutra [( $\eta^3$ -alil)Pd(pymo- $N^1, N^3$ )]<sub>4</sub>.

Se ha conseguido de manera exitosa modular el tamaño de las cavidades de los oligómeros cíclicos, a través de una reacción multicomponente directa entre los fragmentos etilendiaminadiacuopaladio (II), el ligando 4,7-fenantrolina y los ligandos 2-hidroxipirimidina y sus derivados metilados (a = Hpymo, b =

Hmpymo, c = Hdmpymo). De esta manera se han obtenido los oligómeros cíclicos, homotópicos y heterotópicos, de tipo metalocalix[3,4,6]areno  $[\text{Pd}_n(\text{en})_n(\text{L}-\text{N}^1, \text{N}^3)_m(4,7\text{-fen}-\text{N}^4, \text{N}^7)_{n-m}]^{(2n-m)+}$  [ $n=3, m=3$  (1),  $n=4, m=4$  (4H)<sup>Error! Marcador no definido.</sup>,  $n=3, m=1$  (7);  $n=4, m=2$  (8);  $n=6, m=4$  (9)]. En estas especies, los ligando 4,7-fen y Hpymo y sus derivados actúan como ligando puente coordinados de un modo exobidentado, a través de sus átomos de nitrógeno donadores N4,N7 y N1,N3 respectivamente, a los iones paladio.

El estudio de reactividad realizado ha demostrado que algunas de estas especies se pueden obtener por vías alternativas, a través de reacciones de intercambio de ligandos o a través de una reacción de desproporción. Así por ejemplo, las especies de tipo  $[\text{Pd}_3(\text{en})_3(\text{L}-\text{N}^1, \text{N}^3)(4,7\text{-fen}-\text{N}^4, \text{N}^7)_2]^{5+}$  [L= pymo (7a); mpymo (7b); dmpymo (7c)] se pueden obtener a partir de *i*) una reacción directa de los fragmentos de etilendiaminapaladio(II), ligando Hpymo y sus derivados metilados, *ii*) por intercambio de un ligando 4,7-fen de la especie  $[\text{Pd}_3(\text{en})_3(4,7\text{-fen}-\text{N}^4, \text{N}^7)_3]^{6+}$  (1Pd) por un derivado de la Hpymo, *iii*) por reacción de una mezcla 3:8 de las especies homotópicas  $[\text{Pd}_4(\text{en})_4(\text{L}-\text{N}^1, \text{N}^3)_4]^{4+}$  (4) y  $[\text{Pd}_3(\text{en})_3(4,7\text{-fen}-\text{N}^4, \text{N}^7)_3]^{6+}$  (1Pd), ó *iv*) por reacción de desproporción de las especies tetranucleares de tipo  $[\text{Pd}_4(\text{en})_4(\text{L}-\text{N}^1, \text{N}^3)_2(4,7\text{-fen}-\text{N}^4, \text{N}^7)_2]^{6+}$  (8).

La estrategia de síntesis por intercambio de ligandos se ha utilizado de forma exitosa para funcionalizar con un grupo ferroceno la especie trinuclear cíclica de tipo metalocalix[3]areno  $[\text{Pd}_3(\text{en})_3(\text{f-pymo}-\text{N}^1, \text{N}^3)(4,7\text{-fen}-\text{N}^4, \text{N}^7)_2]^{5+}$  (10).

También se han podido sintetizar fragmentos metálicos cis-protegidos funcionalizados con ferroceno del tipo (fba)PdCl<sub>2</sub> y (fba)PtCl<sub>2</sub>. Los intentos realizados para obtener especies oligoméricas han sido infructuosos hasta el momento debido a la estabilidad de las especies [(fba)<sub>2</sub>M]Cl<sub>2</sub>.

Los estudios de las propiedades de los metalocalix[n]arenos como receptores moleculares frente a los mononucleótidos han demostrado la existencia de una interacción supramolecular significativa entre las especies 1Pd, 1Pt, 2, 7c y 8a y los mononucleótidos AMP, CMP y TMP.



La interacción entre las especies cationicas 8a y 4H ha demostrado que el reconocimiento molecular de los metalocalix[n]arenos no esta sólo restringido a especies aniónicas.

Por último los ensayos de interacción realizados entre las especies 4H, 4Cl, 4Br y 4I, y el ct-DNA, demuestra la capacidad de estas especies cíclicas para dar procesos de reconocimiento molecular de especies de gran relevancia biológica. Además, dicha interacción da lugar a importantes e inusuales cambios conformacionales en la estructura del DNA que sugieren una interacción selectiva y secuencial de dichos complejos a la doble hélice.

## **5.2.- Perspectivas del Trabajo de Investigación**

1.- La gran versatilidad de la estrategia de síntesis utilizada en esta memoria sugiere un importante abanico de posibilidades para seguir obteniendo y mejorando las propiedades de los oligómeros cíclicos de tipo metalocalix[n]areno. En este sentido se sigue trabajando para obtener nuevos compuestos con cavidades de diferente tamaño, carga y polaridad que permitan optimizar los procesos de reconocimiento molecular. Por otro lado, uno de los objetivos principales, y más interesantes, en los que se continua trabajando, es la síntesis de complejos cíclicos quirales que den lugar a un reconocimiento molecular enantioselectivo.

También se continua estudiando la adecuada funcionalizando de las cavidades para utilizar dichos sistemas como sensores electroquímicos o fluorescentes.

2.- Por otro lado, la obtención de ligandos puente que permita la unión de de las cavidades de dos compuestos cíclicos daría lugar a una estructura en forma de cápsula apta para llevar a cabo estudios de reconocimiento molecular y de reactividad en su interior. En este sentido se esta trabajando en la síntesis orgánica de nuevos ligandos adecuados para llevar a cabo tal propósito.

3.- El estudio llevado a cabo para la interacción entre los compuestos de platino de tipo metalocalix[4]areno frente al ct-DNA sugiere que los cambios conformacionales inducidos por los metalocalixarenos, de forma similar a las proteínas que se unen a los ácidos nucleicos, deben tener una relevancia biológica. Por tanto va a ser de un gran interés el dilucidar el efecto biológico de dicha interacción supramolecular que podría conducir al desarrollo de nuevos agentes quimioterapéuticos.

## 6.- BIBLIOGRAFÍA

- 
- <sup>1</sup> J. -M. Lehn, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 1988, 27, 89.
- <sup>2</sup> J. Ribas, “Química de Coordinación”, Ediciones Omega S. A., Barcelona, 2001.
- <sup>3</sup> J. -M. Lehn, “Supramolecular Chemistry”, VCH, 1995.
- <sup>4</sup> (a) M. Fujita, K. Umemoto, M. Yoshizawa, N. Fujita, T. Kusukawa and K. Biradha, *Chem Commun.*, 2001, 509-518. (b) M. Fujita, *Struct. Bonding*, 2000, 96
- <sup>5</sup> (a) F. Hof, S. L. Craig, C. Nuckolls, J. Rebeck, Jr. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2002, 41, 1488; (b) M. Fujita, K. Umemoto, M. Yoshizawa, N. Fujita, T. Kusukawa, K. Biradha, *Chem. Comm.* 2001, 509; (c) G. F. Swiegers, T. J. Malefetse, *Chem. Rev.* 2000, 100, 3483; (d) R. W. Saalfrank, E. Uller, D. Demleitner, I. Bernt, *Struct. Bonding*, Berlín, 2000, 96, 149; (e) S. Leininger, B. Olenyuk, P. J. Stang, *Chem. Rev.* 2000, 100, 853; (f) D. L. Caulder, K. N. Raymond, *Acc. Chem. Res.* 1999, 32, 975; (g) P. J. Stang, *Chem. Eur. J.* 1998, 4, 19; (h) V. L. Pecoraro, A. L. Stemmler, B. R. Gibney, J. J. Bodwin, H. Wang, J. W. Kampf, A. Barwinski, *Prog. Inorg. Chem.* 1997, 45, 83.
- <sup>6</sup> Véase: Special issue of PNAS (Supramolecular Chemistry and Self-Assembly), 2002, 99 (8).
- <sup>7</sup> (a) G. A. Ardizzoia, S. Brenna, S. Cenini, G. LaMonica, N. Masciocchi, A. Maspero, *J. Mol. Catal. A. Chem.* 2003, 204-205, 333. (b) F. Adrian, M. I. Burguete, J. M. Fraile, J. I. García, J. García, E. García-España, S. V. Luis, J. A. Mayoral, A. J. Royo, M. C. Sánchez, *Eur. J. Inorg. Chem.* 1999, 2347.
- <sup>8</sup> (a) J. L. Atwood, L. J. Barbour, A. Jerga, *PNAS* 2002, 99, 4837; (b) Y. Kubota, S. Sakamoto, K. Yamaguchi, M. Fujita, *PNAS* 2002, 99, 4854.
- <sup>9</sup> a) F. H. Zelder, R. Salvio, J. Rebek, *Chem. Commun.* 2006, 12, 1280. b) R. M. McKinlay, P. K. Thallapally, G. W. V. Cave, J. L. Atwood, *Angew. Chem. Int. Ed.* 2005, 44, 5733-5736. c) R. M. McKinlay, G. W. V. Cave, J. L. Atwood, *PNAS* 2005,

---

17, 5944-5948. d) M. Yoshizawa, K. Kumazawa, M. Fujita, *J. Am. Chem. Soc.* 2005, 127, 13456-13457. e) S-H. Li, H-P. Huang, S-Y. Yu, Y-Z. Li, H. Huang, Y. Sei, K. Yamguchi, *Dalton Trans.*, 2005, 2346-2348. f) F. Hof, L. Trembleau, E. C. Ullrich, J. Rebek, *Angew. Chem. Int. Ed.* 2003, 42, 3150. g) F. Hof, S. L. Craig, C. Nuckolls, J. Rebek Jr, *Angew. Chem. Int. Ed.* 2002, 41, 1488-1508. h) T. Heinz, D. M. Rudkevich, J. Rebek Jr, *Nature* 1998, 394, 764. i) M. M. Coon, J. Rebek Jr, *Chem. Rev.* 1997, 97, 1647. j) K. D. Shimizu, J. Rebek Jr, *PNAS* 1995, 92, 12403.

<sup>10</sup> a) M. Yoshizawa, M. Tamura, M. Fujita, *Science* 2006, 312 (5771), 251-254. b) R. H. Hooley, J. Rebek Jr, *J. Am. Chem. Soc.* 2005, 127, 11904-11905. c) B. W. Purse, J. Rebek, *J. Am. Chem. Soc.* 2005, 127, 11222-11223. d) M. Yoshizawa, K. Kumazawa, M. Fujita, *J. Am. Chem. Soc.* 2005, 127, 13456-13457. e) M. Yoshizawa, Y. Takeyama, T. Susukawa, M. Fujita, *Angew. Chem. Int. Ed.* 2002, 41, 1347.

<sup>11</sup> a) G. D. Enright, K. A. Udachin, I. L. Moudrakovski, J. A. Ripmeester, *J. Am. Chem. Soc.* 2003, 125, 9896. b) L. Pirondini, F. Bertolini, B. Cantadori, F. Ugozzoli, C. Massera, E. Dalcanale, *PNAS* 2002, 99, 4911. c) M. H. K. Ebbing, M. J. Villa, J. M. Valpuesta, P. Prados, J. de Mendoza, *PNAS* 2002, 99, 4962. d) J. Rebek Jr, *Chem. Comm.* 2000, 637. e) J. J. Bodwin, A. D. Cutland, R. G. Malkani, V. L. Pecoraro, *Coordination Chemical Reviews*, 2001, 216-217, 489-512. f) C. Wieser, C. B. Dieleman, D. Matt, *Coordination Chem. Rev.* 1997, 165, 93-161. g) I. Aoki, T. Sakaki, S. Shinkai, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* 1992, 730. f) G. E. Hofmeister, E. Alvarado, J. A. Leary, D. I. Yoon, S. F. Pedersen, *J. Am. Chem. Soc.* 1990, 112, 8843. g) G. Andreotti, R. Ungaro, A. Pochini, *J. C. S. Chem. Comm.* 1979, 1005.

<sup>12</sup> a) H. Abourahman, A. W. Coleman, B. Moulton, B. Trather, P. Shahgaldian, M. J. Zaworotko, *Chem. Comm.* 2001, 2380. b) J. Lu, A. Mondal, B. Moulton, M. J. Zaworotko, *Angew. Chem. Int. Ed.* 2001, 40, 2113. a) S. Leininger, B. Olenyuk, P. Stang, *Chem. Rev.* 2000, 100, 853-907. b) M. A. Shipman, C. Price, A. E. Gibson, M. R. J. Elsegood, W. Clegg, A. Houlton, *Chem. Eur. J.* 2000, 6, 4371-4378. c) R. Balchtiar, H. Chen, S. Ogo, R. H. Fish, *Chem. Commun.* 1997, 3135-3136.

---

<sup>13</sup> a) M. A. Galindo, J. A. R. Navarro, M. A. Romero, M. Quiros, Dalton Trans., 2004, 1563-1566, b) M. A. Galindo, S. Galli, J. A. R. Navarro, M. A. Romero, Dalton Trans., 2004, 2780-2785. c) E. Barea, J. A. R. Navarro, J. M. Salas, M. Quiros, M. Willermann, B. Lippert, Chem. Eur. J. 2003, 9, 4414-4421. d) J. J. Bodwin, A. D. Cutland, R. G. Malkani, V. L. Pecorano, Coord. Chem. Rev., 2001, 216-217, 489. e) R. D. Schnebeck, E. Freisinger, B. Lippert, J. Am. Chem. Soc. 2000, 122, 1381. f) J. A. R. Navarro, M. B. L. Janik, E. Freisinger, B. Lippert, Inorg. Chem. 1999, 38, 426. g) R. D. Schnebeck, E. Freisinger, B. Lippert, Angew. Chem. Int. Ed. 1999, 38, 168.

<sup>14</sup> R. Vilar, Angew. Chem. Int. Ed., 2003, 42, 1460.

<sup>15</sup> a) J. M. Berg, J. L. Tymoczko, L. Stryer, Biochemistry, 2002, 5<sup>th</sup> Ed. , Freeman, New York. b) C. Branden, J. Tooze, Introduction to Protein Structure, 1999, Garland, New York, 2<sup>nd</sup> Ed. c) R. E. Dickerson, Nucleic Acids. Res., 1998, 26, 1906-1926. d) R. R Sinden, DNA Structure and Function, 1994, Academic, London.

<sup>16</sup> a) P. B. Glover, P. R. Ashton, L. J. Childs, A. Rodger, M. Kercher, R. M. Williams, L. De Cola, Z. Pikramenou, J. Am. Chem. Soc. 2003, 125, 9918-9919. b) H. -L. Chan, D. -L. Ma, M. Yang, C. -M. Che, J. Biol. Inorg. Chem. 2003, 7, 761. c) S. J. Lippard, J. M. Berg, Principles of Bioinorganic Chemistry, University Science Books, Mill Valley, CA. 1994. d) B. C. Baguley, Anti-Cancer Drug. Des. 1991, 6, 1-35.

<sup>17</sup> a) N. T. Thuong, C. Helene, Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 1993, 32, 666-690. b) P. E. Nielsen, G. Haaima, Chem. Soc. Rev. 1997, 26, 73-78.

<sup>18</sup> a) P. B. Dervan, Bioorg. Med. Chem. 2001, 9, 2215-2235. b) P. D. Dervan, B. S. Edelson, Curr. Opin. Struc. Biol. 2003, 13, 284-299.

<sup>19</sup> a) Z. J. Guo, P. J. Sadler, Adv. Inorg. Chem. 2000, 49, 183-306. b) B. Lippert, Cisplatin, Chemistry and Biochemistry of a Leading Anti-Cancer Drug, 1999, Wiley-VCH, Weinheim, Germany.

- 
- <sup>20</sup> B. Schoentjes, J. -M. Lehn, *Helv. Chim. Acta*, 1995, 79, 1-12.
- <sup>21</sup> a) A. Oleksi, A. G. Blanco, R. Boer, I. Usón, J. Aymamí, A. Rodger, M. J. Hannon, M. Coll, *Angew. Chem. Int. Ed.* 2006, 45, 1227-1231. b) C. Uerpmann, J. Malina, M. Pascu, G. J. Clarkson, V. Moreno, A. Rodger, A. Grandas, M. J. Hannon, *Chem. Eur. J.* 2005, 11, 1750-1756. c) M. J. Hannon, L. J. Childs, *Supramolecular Chemistry* 2004, 16, 7-22. d) E. Moldrheim, M. J. Hannon, I. Meistermann, A. Rodger, E. Sletten, *J. Bio. Inorg. Chem.* 2002, 7, 770-780. e) I. Meistermann, V. Moreno, M. J. Prieto, E. Moldrheim, E. Sletten, S. Khalid, P. M. Rodger, J. C. Peberdy, C. J. Isaac, A. Rodger, M. J. Hannon, *PNAS* 2002, 99, 5069-5074. f) K. K. Patel, E. A. Plummer, M. Darwish, A. Rodger, M. J. Hannon, *J. Inorg. Biochem.* 2002, 91, 220-229. g) M. J. Hannon, V. Moreno, M. J. Prieto, E. Moldrheim, E. Sletten, I. Meistermann, C. J. Isaac, K. J. Sanders, A. Rodger, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 2001, 40, 879-884.
- <sup>22</sup> P. J. Stang, B. Olenyuk, *Acc. Chem. Res.* 1997, 30, 502-518.
- <sup>23</sup> S-Y. Yu, H. Haung, H-B. Lui, Z-N. Chen, R. Zhang, M. Fujita, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2003, 42, 686-670.
- <sup>24</sup> J. R. Hall, Stephen J. Loeb, G. K. H. Shimizu, G. P. A. Yap, *Angew. Chem. Int. Ed.* 1998, 37, 121-123.
- <sup>25</sup> C. D. Gutsche, *Calixarenes*, Royal Society of Chemistry, Cambridge, 1989.
- <sup>26</sup> R. D. Schnebeck, L. Randaccio, E. Zangrando, B. Lippert, *Angew. Chem. Int. Ed.* 1998, 37, 119-121.
- <sup>27</sup> a) A. Albinati, P. S. Pregosin and F. Wombacher, *Inorg. Chem.*, 1990, 29, 1812; b) J. A. R. Navarro, M. A. Romero, J. M. Salas, M. Quiros, J. El Bahraoui and J. Molina, *Inorg. Chem.*, 1996, 35, 7829.
- <sup>28</sup> C. D. Gutsche, *Large Ring Molecules* (Ed. J.A. Semlyen), Wiley, New York, 1996, 309-343.

- 
- <sup>29</sup> S. W. Lai, M. C. W. Chan, S. M. Peng, C. M. Che, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 1999, 111, 708-710.
- <sup>30</sup> R. Fernández, M. Melchart, A. Habtemariam, S. Parsons, P. J. Sadler, *Chem. Eur. J.* 2004, 10, 5173-5179.
- <sup>31</sup> J. A. R. Navarro, E. Freisinger, B. Lippert, *Inorg. Chem.* 2000, 39, 2301.
- <sup>32</sup> E. Barea, J. A. R. Navarro, J. M. Salas, N. Masciocchi, S. Galli, A. Sironi, *J. Am. Chem. Soc.*, 2004, 126, 3014
- <sup>33</sup> E. Barea, M. A. Romero, J. A. R. Navarro, J. M. Salas, N. Masciocchi, S. Galli, A. Sironi, *Inorg. Chem.*, 2005, 44, 1472
- <sup>34</sup> L. C. Groenen, J. D. Van Loon, W. Verboom, S. Harkema, A. Casnati, R. Ungaro, A. Pochini, F. Ugozzoli, D. N. Reinhoudt, *J. Am. Chem. Soc.*, 1991, 113, 2385.
- <sup>35</sup> P. D. J. Grootenhuys, P. A. Kollman, L. C. Groenen, D. N. Reinhoudt, G. J. Van Hummel, F. Ugozzoli, G.D Andreetti, *J. Am. Chem. Soc.*, 1990, 112, 4165.
- <sup>36</sup> a) H. Rauter, E. C. Hillgeris, A. Erxleben, B. Lippert, *J. Am. Chem. Soc.* 1994, 116, 616. (b) J. A. R. Navarro, E. Freisinger, B. Lippert, *Eur. J. Inorg. Chem.* 2000, 147.
- <sup>37</sup> W-Z. Shen, D. Gupta, B. Lippert, *Inorg. Chem.* 2005, 44, 8249.
- <sup>38</sup> a) C. Elschenbroich, A. Salzer, "Organometalics", Second Edition, VCH Weinheim, 1992. b) D. Astruc, *Química Organometálica*, Editorial Reverte, 2003.
- <sup>39</sup> a) J.A.R. Navarro, M. B. L. Janik, E. Freisinger, B. Lippert, *Inorg. Chem.*, 2000, 39, 2301-2305.

- 
- <sup>40</sup> a) K. N. Rose, L. J. Barbour, G. W. Orr, J. L. Atwood, *Chem. Comm.* 1998, 3, 407-408. b) L. R. MacGillivray, J. L. Atwood, *Nature*, 1997, 389, 469.
- <sup>41</sup> J.A.R. Navarro, M.A. Romero, J.M. Salas, M. Quirós, *Inorg. Chem.* 1997, 36, 3277.
- <sup>42</sup> J.A.R. Navarro, M.A. Romero, J.M. Salas, M. Quirós, J. el Bahraoui, J. Molina, *Inorg. Chem.* 1996, 35, 7829.
- <sup>43</sup> a) R.G. Millar, R.D. Stauffer, D.R. Fahey, D.R. Parnell, *J. Am. Chem. Soc.* 1970, 92, 1511-1521. b) A. Albinati, P.S. Pregosin, F. Wombacher, *Inorg. Chem.* 1990, 29, 1812-1817. c) G. Frommer, F. Lianza, A. Albinati, B. Lippert, *Inorg. Chem.* 1992, 31, 2434-3439.
- <sup>44</sup> T. Kawamoto, Y. Nagasawa, H. Kuma, Y. Kushi, *Inorg. Chem.* 1996, 35, 2427-2432
- <sup>45</sup> A. Hori, K. Kumazawa, T. Kusukawa, D. K. Chand, M. Fujita, S. Sakamoto y K. Yamaguchi, *Chem. Eur. J.* 2001, 7, No. 9, 4142-4149.
- <sup>46</sup> M. Fujita, J. Yazaki, K. Ogura, *J. Am. Chem. Soc.* 1990, 112, 5645-5647.
- <sup>47</sup> a) A. R. Pike, L. C. Ryder, B. R. Horrocks, W. Clegg, M. R. J. Elsegood, B. A. Connolly, A. Houlton, *Chem. Eur. J.*, 2002, 8, 2891-2899. b) E. Coutouli-Argyropoulou, M. Tsitabani, G. Petrantonakis, A. Terzis, C. Raptopoulou, *Org. Biomol. Chem.*, 2003, 1, 1382-1388. c) A. R. Pike, L. C. Ryder, B. R. Horrocks, W. Clegg, B. A. Connolly, A. Houlton, *Chem. Eur. J.*, 2005, 11, 344-353.
- <sup>48</sup> a) D. Astruc, *Química Organometálica (Capítulo 5)*, Ed. Reverté, S. A., 2003. b) S. Takahashi, Y. Kuroyama, K. Sonogashira, N. Nagihara, *Synthesis-Stuttgart*, 1980, 627. c) K. Sonogashira, Y. Tohda, N. Nagihara, *Tetraherdron Lett.* 1975, 4467.



---

<sup>49</sup> S-S. Sun, Jason A. Anspach, A. J. Lees, *Inorg. Chem.* 2002, 41, 1862-1869. P. J. Stang, B. Olenyuk, J. Fan, A. M. Arif, *Organometallics* 1996, 15, 904.

<sup>50</sup> a) S. Kar, N. Chanda, S. M. Mobin, F. A. Urbanos, M. Niemeyer, V. G. Puranik, R. Jimenez-Aparicio, G. K. Lahiri, *Inorg. Chem.* 2005, 44, 1571-1579. b) M. J. Rauterkus, S. Fakih, C. Mock, I. Puscasu, B. Krebs, *Inorganica Chimica Acta*, 2003, 350, 355-365. c) M. Burgos, O. Crespo, M. C. Gimeno, P. G. Jones, A. Laguna, *Eur. J. Inorg. Chem.* 2003, 2170-2174. d) M. Du, Y-M. Guo, S-T. Chen, X-H- Bu, J. Ribas, *Inorganica Chimica Acta* 2003, 346, 207-214.

<sup>51</sup> J. M. Rauterkus, B. Krebs, *Angew. Chem. Int. Ed.* 2004, 43, 1300-1303.

<sup>52</sup> A. J. Evans, S. E. Watkins. D. C. Craig, S. B. Colbran, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 2002, 983-994.

<sup>53</sup> Javier E. Aguado Sevilla, *Diseño de nuevos ligandos con la unidad ferroceno para los elementos del grupo 11*, Tesis Doctoral, 2005.

<sup>54</sup> a) R. Prins, A. R. Korswagen, A. G. T. G. Kortbeed, *J. Organomet. Chem.*, 1972, 39, 335-344. b) J. K. Baskin, P. J. Kinlen, *Inorg. Chem.*, 1990, 29, 4507-4509.

<sup>55</sup> K. Akdi, R. Vilaplana, S. Kamah, J. A. R. Navarro, J. M. Salas and F. Gonzalez-Vilchez, *J. Inorg. Biochem.*, 2002, 90, 51.

<sup>56</sup> W. Saenger, *Principles of Nucleic Acid Structure*, Springer-Verlag, New York, 1984.

<sup>57</sup> a) R. H. Fish, *Coord. Chem. Rev.*, 1999, 186, 569. b) H. Chen, S. Ogo, R. H. Fish, *J. Am. Chem. Soc.* 1996, 118, 4993.

<sup>58</sup> S. Ogo, S. Nakamura, H. Chen, K. Isobe, Y. Watanabe, R. H. Fish, *J. Org. Chem.* 1998, 63, 7151.

---

<sup>59</sup> a) V. Bohmer, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 1995, 34, 713-745. b) A. Ikeda, S. Shinkai, *Chem. Rev.* 1997, 97, 1713-1734.

<sup>60</sup> a) H. G. Hansma, R. L. Sinsheimer, M. Q. Li, P. K. Hansma, *Nucleic Acids Res.* 1992, 20, 3585-3590. b) J. A. Abels, F. Moreno-Herrero, T. van der Heijden, C. Dekker, N. H. Dekker, *Biophysical Journal* 2005, 88, 2737-2744.

# **ANEXO I**

## **TÉCNICAS Y MÉTODOS PARA LOS ESTUDIOS BIOLÓGICOS**

- A.1.1.- Espectroscopia de absorción Ultravioleta visible (UV-Vis)
- A.1.2.- Dicroísmo Circular (CD) y Dicroísmo Linear (LD)
- A.1.3.- Electroforesis en gel de agarosa
- A.1.4.- Fluorescencia. Interacción competitiva con el bromuro de etidio
- A.1.5.- Microscopía de fuerzas atómicas (AFM)

### **A.1.1- ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ULTRAVIOLETA-VISIBLE (UV-VIS).**

La absorción de luz UV-Vis es una característica del DNA, que se puede usar eficientemente para su identificación, cuantificación y caracterización.

Los ácidos nucleicos absorben eficientemente luz ultravioleta debido a la presencia de bases aromáticas nitrogenadas. Estas son estructuras aromáticas con una distribución electrónica muy compleja y con una total falta de simetría. Por tanto, el principal componente de su absorción son las transiciones  $\pi \rightarrow \pi^*$ . Además, los electrones de los átomos de nitrógeno aromáticos y los del doble enlace de los C=O serán responsables de transiciones tipo  $n \rightarrow \pi^*$ , aunque la contribución de éstas últimas es muy pequeña.

Cada una de las bases tiene su propio y único espectro de absorción y por lo tanto contribuyen de manera diferente a la propiedad total de absorción UV-Vis del DNA. Como resultado de todo ello, la característica espectral más significativa del DNA es una banda de absorción centrada sobre 260 nm.

Lo que determina el espectro del DNA es la estructura que éste adopte, pues cambian las relaciones espaciales entre sus cromóforos, y entre éstos y los grupos azúcar y fosfato así como con el disolvente.

El DNA, en forma de doble hélice, debido al apilamiento de las bases en el interior de dicha estructura, manifiesta un marcado efecto hipocrómico (el polímero absorbe menos que la suma de las absorbancias de sus monómeros constituyentes). Así, cuando el DNA se desnaturaliza, y se separan sus dos hebras, se producen hebras monocatenarias, desapareciendo, en gran parte, el efecto hipocrómico. Es decir, su absorbancia a 260 nm se incrementa.

El estudio de la interacción de moléculas con el DNA es de gran interés, ya que permite profundizar en el conocimiento de sus relaciones estructura-función y además son la base de numerosas aplicaciones, como puede ser el diseño de fármacos. La interacción de un ligando (molécula orgánica, complejo, etc) con el DNA puede tener lugar según tres patrones diferentes: unión covalente, unión no

covalente a uno de sus surcos, o intercalación entre sus bases. Casi siempre, esta unión se acompaña de cambios tanto en el espectro del ácido nucleico como en el del ligando. Estas variaciones son las que se pueden utilizar para estudiar las características moleculares de su interacción .

### A.1.2. - DICROISMO

La luz está constituida por campos eléctricos y magnéticos que oscilan en ángulos rectos uno con respecto al otro, y también perpendicularmente a la dirección de propagación. La luz se puede describir como una onda transversal cuya polarización se define por la dirección de su campo eléctrico.

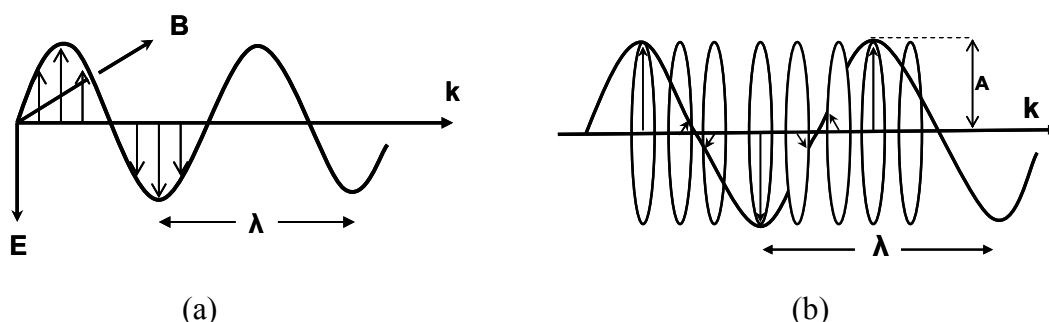


Figura A1.- Radiación electromagnética (a) linealmente y (b) circularmente polarizada. La flechas representan al vector del campo eléctrico de la radiación. (  $B$  = campo magnético,  $E$  = campo eléctrico,  $A$  = amplitud,  $\lambda$  = longitud de onda,  $k$  = dirección de propagación)

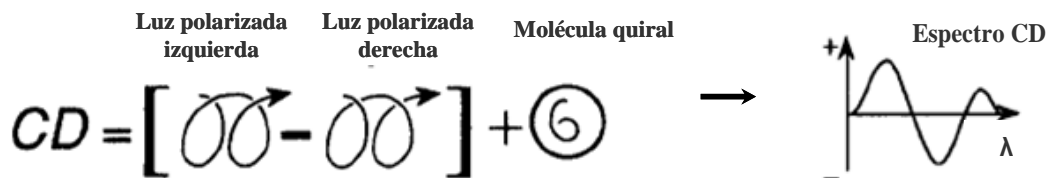
Nos vamos a referir a dos tipos de polarización; linear y circular. En un rayo de luz linealmente polarizada todos los fotones tienen su campo eléctrico,  $E$ , oscilando en el mismo plano (Figura A1,a), mientras que en un rayo de luz circularmente polarizado el vector del campo eléctrico mantiene una magnitud constante pero traza hélices sobre la dirección de propagación (Figura A1,b). En este último caso y visto de frente, los vectores del campo eléctrico formarían un círculo con un ángulo que fluctúa entre cero y el máximo de amplitud  $A$  (Figura A2).



Figura. A2

## - DICROISMO CIRCULAR

Una molécula quiral (la que carece de eje de rotación reflexión) tiene coeficientes de absorción diferentes para la luz polarizada circularmente a la derecha y a la izquierda a cualquier longitud de onda dada. Un espectro de dicroísmo circular es una representación de la diferencia de los coeficientes de absorción molar para la luz polarizada circularmente a la derecha y a la izquierda frente a la longitud de onda:  $CD = A_i - A_d$



La teoría de CD fue desarrollada por Biot y Fresnel en 1825. En las últimas décadas se ha incrementado el interés por el dicroísmo circular y lineal como técnica para el estudio de la anisotropía y actividad óptica de las moléculas.

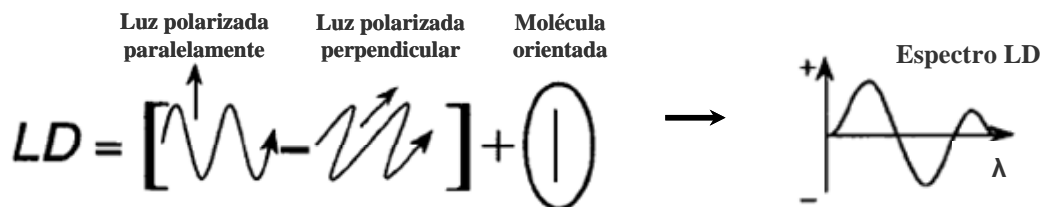
El dicroísmo circular es hoy en día una herramienta de rutina en muchos laboratorios. Los usos más comunes de esta técnica es probar la quiralidad de las moléculas, la pureza de enantiómeros, la resolución de estructuras de macromoléculas biológicas, y la determinación de la estructura de  $\alpha$ -hélice presente en las proteínas. También se utiliza para demostrar la interacción del

DNA con pequeñas moléculas, especialmente moléculas aquirales cuya señal de CD es debida únicamente a su interacción con el DNA.

La quiralidad del DNA es debida a la presencia de los azúcares que forman parte de su estructura principal. En el espectro de CD, por encima de los 180 nm, aparecen los efectos producidos por las bases apiladas en la doble hélice. Muchas moléculas capaces de interactuar con el DNA son aquirales, pero la misma interacción con el DNA induce una señal de CD (ICD) que es característica de la propia interacción. El CD se convierte entonces en una herramienta muy útil para el estudio de dicha interacción.

### - DICROISMO LINEAL

El dicroísmo lineal (LD) se define como la diferencia de absorción de la luz linealmente polarizada paralela y perpendicularmente a un eje de orientación de la muestra:  $LD(\lambda) = A_{||}(\lambda) - A_{\perp}(\lambda)$



En este caso estudiamos la orientación de las transiciones electrónicas de una molécula respecto de la luz incidente. Para ello necesitamos que la molécula este orientada.

Para entender que significa esto estudiaremos el siguiente ejemplo. Imaginemos que tenemos una muestra donde todas las moléculas están orientadas de la misma manera. Si primero medimos la absorción de la luz orientada paralelamente a la orientación de la moléculas de la muestra, y después la absorción de la luz orientada perpendicularmente respecto de la

orientación de las moléculas de la muestra, la diferencia de los dos espectros de absorción nos dará un espectro de LD. Los dos casos extremos se ilustran en la Figura A3:

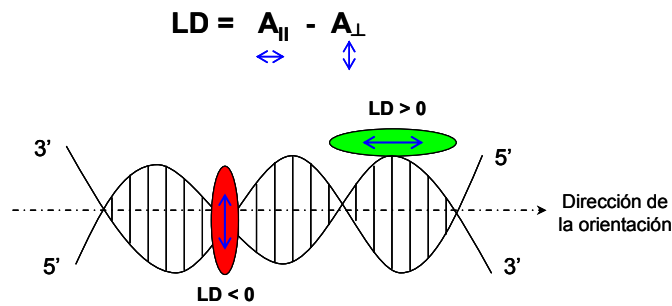


Figura A3.- Representación de la interacción de moléculas frente a una molécula de DNA orientada y su interpretación en LD.

- Caso molécula verde: si la polarización de las transiciones que estamos estudiando es perfectamente paralela a la orientación de las moléculas de la muestra, entonces:

$$LD = A_{||} - A_{\perp} = A_{||} \quad (> 0)$$

- Caso molécula roja: si la polarización de las transiciones que estamos estudiando es perfectamente perpendicular a la orientación de las moléculas de la muestra, entonces:

$$LD = A_{||} - A_{\perp} = -A_{\perp} \quad (< 0)$$

Para polarizaciones intermedias el espectro de LD será el resultado de los diferentes modos de interacción y por lo tanto de la orientación (Figura A4).



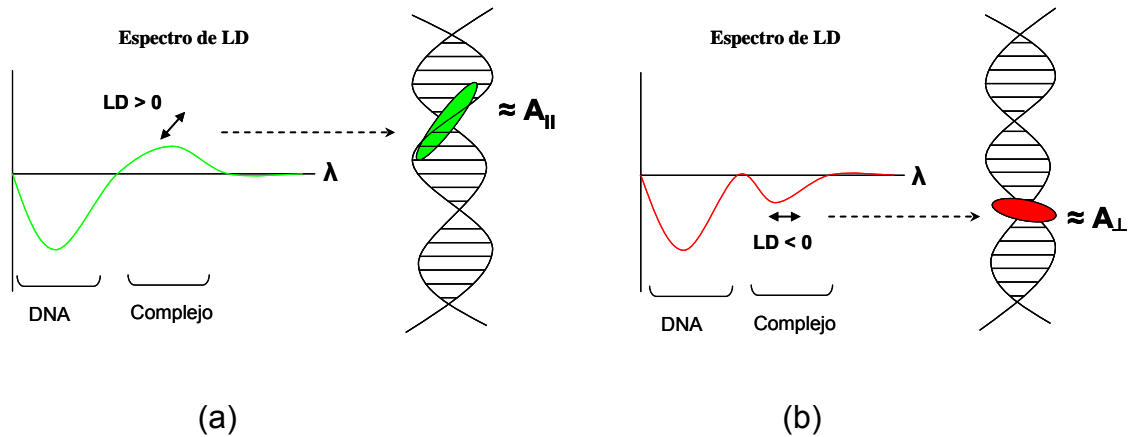


Figura A4.- Ejemplo del significado del valor positivo (a) o negativo (b) en el espectro de LD para diferentes modo de interacción de moléculas con el DNA.

Como se dijo anteriormente, la orientación de la molécula es un requerimiento imprescindible para poder llevar a cabo medidas de LD. Hay varios métodos para orientar moléculas y uno de ellos consiste en la orientación en flujo en una cubeta diseñada para ello.

Este método consiste en una cubeta que posee un cilindro rotatorio central de cuarzo que deja un canal en el que se deposita la muestra que contenga las moléculas que van a ser orientadas. El cilindro gira, a unas revoluciones por minuto determinadas, orientando la molécula entre las dos paredes del canal y permitiendo llevar a cabo medidas de LD (Figura A5).

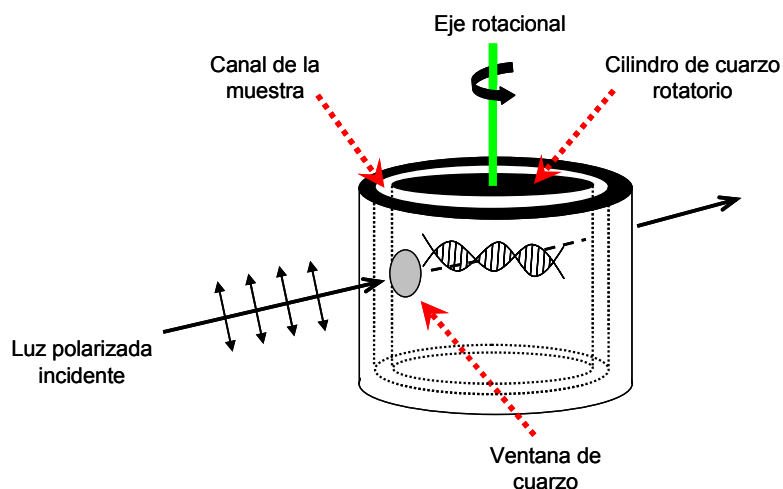


Figura A5.- Cubeta de cuarzo con cilindro rotatorio para la orientación molecular.

La velocidad de giro debe ser suficientemente rápida como para orientar la molécula, pero no debe ser excesivamente rápida para evitar turbulencias en el flujo.

Este método se usa, normalmente, para moléculas de gran tamaño como el DNA, con un mínimo de longitud de ~ 1000 pares de bases para obtener una orientación significativa.

### **A.1.3.- ELECTROFORESIS EN GEL DE AGAROSA.**

La electroforesis en gel de agarosa es un método que se utiliza para la separación e identificación de macromoléculas. Esta técnica se basa en el estudio de la velocidad de migración que presentan las moléculas cargadas al propagarse bajo la influencia de un campo eléctrico. La separación efectiva de las moléculas depende de su relación carga/tamaño, ya que la migración se produce bajo la presencia de un campo eléctrico y a través de un gel que ofrece una notable resistencia al avance de las moléculas de mayor tamaño. Como las moléculas poseen diferente carga y tamaño tendrán una velocidad de migración diferente y se separaran en fracciones diferentes.

Los ácidos nucleicos son macromoléculas cargadas negativamente, debido a la presencia de grupos fosfato en su estructura. La separación efectiva de los fragmentos de DNA dependerá tanto de la masa como de la carga de los distintos fragmentos (relación carga/masa). Pero como cada nucleótido aporta una carga negativa, procedente del grupo fosfato, la relación carga/masa es prácticamente idéntica para todas las moléculas, independientemente de su tamaño. Por tanto, en un soporte no restrictivo todas las fracciones se moverían a la misma velocidad; pero en soportes restrictivos (gel) la situación cambia por las diferencias de tamaños. De modo que los fragmentos de DNA migraran en función de su tamaño, pudiendo influir su conformación y su carga neta. La interacción del DNA con otras moléculas provoca cambios en su conformación y estructura, y por tanto alteraciones en la velocidad de migración través del gel.

La electroforesis de DNA se lleva a cabo en geles de agarosa. La agarosa es un polisacárido cuyas disoluciones poseen la propiedad de permanecer líquidas por encima de aprox. 50°C y formar un gel, semisólido, al enfriarse. Este gel está constituido por una matriz tridimensional de fibras poliméricas, que retiene en gran cantidad de disolvente, que retarda el paso de las moléculas a través de él.

El modelo habitual para llevar a cabo este tipo de electroforesis es utilizar una cubeta horizontal. Consiste en una electroforesis submarina ya que el tampón cubre totalmente el gel. El gel se prepara sobre una pequeña bandeja, colocando perpendicularmente un peine de menor profundidad que la bandeja, para dejar unos pocitos donde alojar la muestra (Figura A6,a ). Cuando el gel esta preparado en la bandeja ésta se coloca en el centro de la cubeta y se llena de la disolución tampón de electroforesis. Los electrodos se colocan en los depositos del tampón (Figura A6).

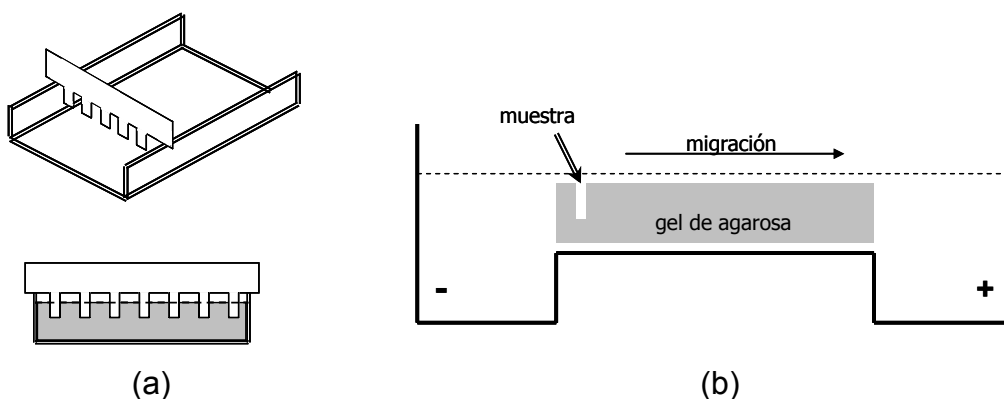


Figura A6.- (a) Molde donde se realiza el gel de agarosa, y peine utilizado para elaborar los surcos donde se depositara la muestra. (b) Cubeta horizontal de electroforesis donde se aloja el gel de agarosa (los signos + y - corresponden a los electrodos)

La disolución de DNA, a la que se le incrementa la densidad y se le añade un marcador, se carga en los pocillos. El aumento de la densidad permitirá depositar la muestra en los pocillos que están cubiertos por el tampón (Figura A7,b). Para aumentar la densidad se utiliza sacarosa (40% p/v), glicerol (30% p/v) o Ficoll (15% V). Como marcadores para seguir el progreso de la electroforesis se utiliza Azul de Bromofenol (0.25%) y Glicoxileno (0.25%).

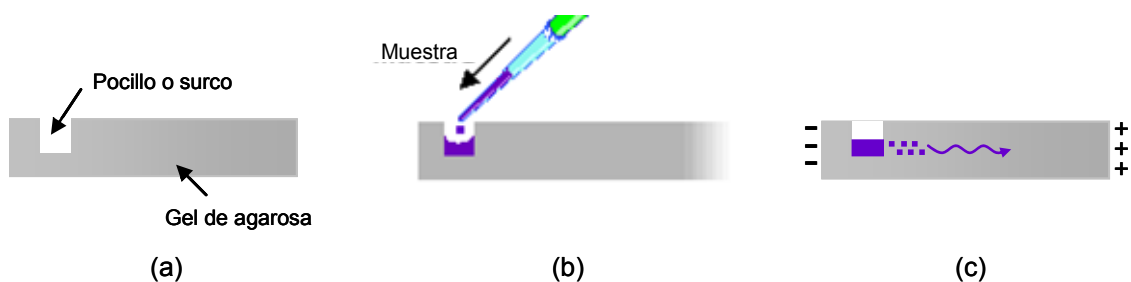


Figura A7.- Representación de: (a) gel de agarosa con pocillos, (b) colocación de la muestra en los pocillos, (c) movimiento de la muestra a través del gel cuando se aplica un campo eléctrico.

Posteriormente se aplica un campo eléctrico que producirá la migración de las especies cargadas hacia el polo opuesto. La velocidad de migración ( $V$ ) de la partícula es directamente proporcional al producto de su carga efectiva ( $q$ ) y el gradiente de potencial eléctrico ( $E$ ) e inversamente proporcional al coeficiente de fricción ( $f$ ) relativo a la talla y forma de la molécula, o sea, a la resistencia que le ofrece el medio.

$$V = \frac{q (\pm) \cdot E}{f}$$

Suponiendo dos partículas A y B, donde el coeficiente de fricción de A es mayor que el de B ( $f_A > f_B$ ), y donde las dos poseen igual carga negativa ( $q_A = q_B$ ). Si aplicamos un campo eléctrico la especie B migrará mas rápidamente que la especie A, y la distancia de migración de B será mas grande que la distancia de migración de A ( $D_B > D_A$ ) (Figura A8).

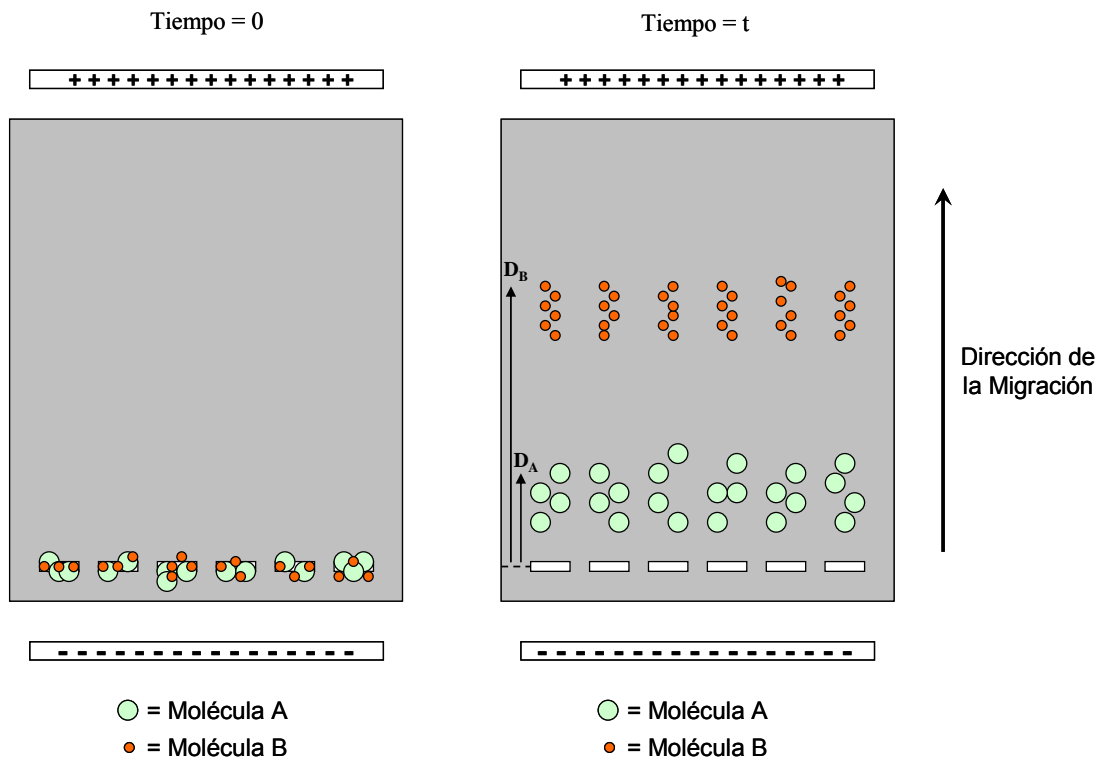


Figura A8.- Electroforesis en gel de agarosa, a tiempo 0 y después de un tiempo t.

Una vez finalizada la migración de la muestra se procede al revelado. Generalmente el revelado se realiza mediante una tinción con bromuro de etidio (EtBr). El bromuro de etidio es una molécula plana (Figura A9) que se intercala fácilmente en la doble cadena del DNA, ubicándose entre las bases de pares apilados en la doble hélice. Se caracteriza por emitir fluorescencia, la cual es mayor cuando el bromuro de etidio se encuentra intercalado en la estructura del DNA, como se explica en la sección A.1.4. Por ello se utiliza habitualmente como revelador del DNA en los experimentos de electroforesis en gel.

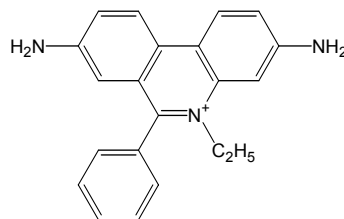


Figura A9.- Estructura del bromuro de etidio

#### **A.1.4- FLUORESCENCIA. INTERACCIÓN COMPETITIVA CON BROMURO DE ETIDIO**

Algunas moléculas son capaces de emitir luz tras haberse excitado electrónicamente mediante la absorción de radiación. La fluorescencia es uno de estos fenómenos de emisión de luz, cuyo estudio proporciona información sobre aspectos estructurales de la molécula responsable, o de su relación con el medio que la rodea.

Cuando una molécula absorbe un fotón procedente de una radiación electromagnética, un electrón de la molécula pasa desde el estado fundamental a un estado excitado. Virtualmente todas las moléculas orgánicas, excepto los radicales libres, tienen estados fundamentales singlete,  $S_0$ . La excitación normalmente conduce a estados excitados singlete más que a estados triplete porque la transición  $S_0 \rightarrow T_1$  implica un cambio en la multiplicidad de espín y está altamente prohibida.

El proceso de excitación lleva a la molécula desde un estado fundamental, en el nivel vibracional más bajo en el que se encuentra habitualmente, a un modo vibracional de alta energía de un estado singlete excitado, de los diversos estados singletes excitados probables  $S_1$ ,  $S_2$ , etc. Los rápidos procesos de relajación (relajación vibracional) hacen que el sistema evolucione hacia el modo vibracional de menor energía del estado excitado. La vuelta al estado fundamental se podrá realizar emitiendo un fotón. A este proceso de relajación radiativa se le denomina fluorescencia.

La fluorescencia tiene lugar habitualmente desde el estado vibracional más bajo  $S_1$ , hasta un nivel vibracional excitado del estado fundamental (Principio de Frank-Condon). El resultado es que el fotón emitido por fluorescencia tiene menos energía que el fotón absorbido. Como consecuencia, la emisión fluorescente está así desplazada hacia el rojo, con respecto a la luz absorbida (Figura A10).

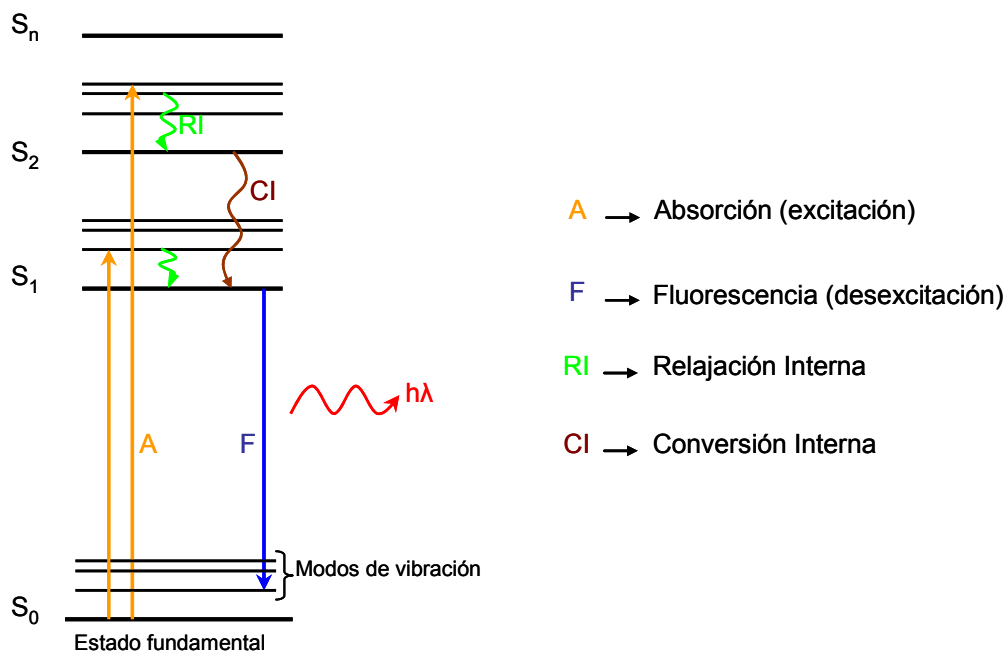


Figura A10.- Transiciones electrónicas entre los distintos niveles energéticos de una molécula.

Para que una molécula pueda llegar a emitir fluorescencia previamente tiene que ser capaz de absorber luz. Es necesario, por tanto, que posea grupos cromóforos responsables de dicha absorción de luz. Pero el grupo cromóforo no implica necesariamente que la molécula pueda emitir fluorescencia. Para ello es necesario que la energía de los modos vibracionales de los estados implicados en la transición posibiliten el fenómeno fluorescente. Cuando ello ocurre el grupo cromóforo es capaz de emitir fluorescencia, y se denomina fluoróforo.

El DNA no posee fluoróforos intrínsecos. Aunque las bases nitrogenadas son cromóforos en la región UV-vis próximo, no poseen un rendimiento cuántico de fluorescencia suficiente para detectar su emisión.

Un hecho interesante ocurre cuando el bromuro de etidio (EtBr) interacciona con el DNA. El etidio es un compuesto heterocíclico (Figura A9) con un rendimiento cuántico de fluorescencia pequeño en disolución (emisión a 590nm), debido al corto tiempo de vida natural de su estado excitado y a la desactivación producida por el oxígeno molecular. Esta molécula se asocia al DNA intercalándose entre pares de bases consecutivos de la doble hélice de DNA. Este

modo de interacción provoca importantes cambios en las propiedades de emisión fluorescente del EtBr: a) aumenta el tiempo de vida natural, aumentando la probabilidad de la emisión fluorescente frente a otros modos de relajación no radiativos, b) los pares de bases protegen la estructura del bromuro de etidio disminuyendo la desactivación por el O<sub>2</sub> a la que se ve sometido cuando esta libre en disolución. Por estas propiedades, el EtBr se utiliza como grupo fluoróforo extrínseco del DNA.

A pesar de la protección que ejercen los pares de bases del DNA sobre la molécula de EtBr, sus propiedades fluorescentes se pueden alterar por la asociación de otras moléculas al DNA. Por ello, a través del estudio de la emisión fluorescente del EtBr se pueden extraer conclusiones acerca de la forma e intensidad de las interacciones de distintas moléculas con el DNA. Las moléculas capaces de interactuar con el DNA competirán con el EtBr por los lugares de unión a la doble hélice, pudiendo llegar a desplazarlo. Al ir aumentando la concentración de moléculas capaces de desplazar al EtBr se observará una disminución en la emisión fluorescente del mismo, ya que éste pasaría a la disolución y podría relajarse por interacción con el O<sub>2</sub>. (Figura A11).

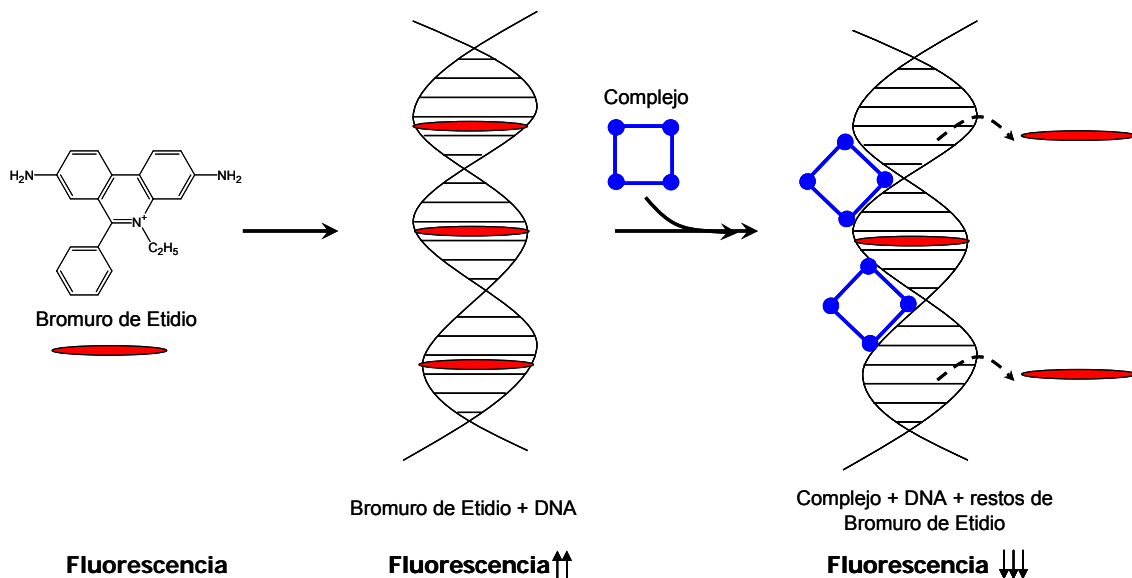


Figura A11.- Esquema de la interacción del EtBr con el DNA y el desplazamiento producido por complejo capaz de interactuar con la doble hélice.



### **A.1.5.- MICROSCOPIA DE FUERZA ATÓMICA (AFM)**

La Microscopia de Fuerza Atómica (AFM) permite magnificar imágenes de materiales con una extraordinaria resolución espacial. Su funcionamiento se basa en la detección de las minúsculas fuerzas atómicas o moleculares de interacción entre una punta de aluminio y la superficie del material a estudiar. Explicado de forma sencilla, se trata de una aguja minúscula (de unos pocos nanómetros) que va recorriendo a cierta distancia la superficie de un material y midiendo la fuerza de su interacción con los átomos del material.

La ventaja que presenta la microscopia de fuerza atómica frente a otras técnicas, es que permite elaborar con facilidad mapas topográficos en tres dimensiones, con resolución nanométrica en el plano de la muestra y resolución atómica en la dirección perpendicular a la misma. Ésta técnica es muy versátil y permite, entre otras posibles aplicaciones, visualizar las hebras de DNA así como la interacción de las mismas con diversos ligandos.

## **ANEXO II**

**Mononucleotide recognition by cyclic trinuclear palladium (II) complexes containing 4,7-phenanthroline N,N bridges**

(Dalton Trans., 2004, 1563-1566)

# Mononucleotide recognition by cyclic trinuclear palladium(II) complexes containing 4,7-phenanthroline N,N bridges †

Miguel A. Galindo, Jorge A. R. Navarro,\* M. Angustias Romero\* and Miguel Quirós  
Departamento de Química Inorgánica, Universidad de Granada, Av. Fuentenueva S/N,  
E-18071 Granada, Spain

Received 19th February 2004, Accepted 5th April 2004  
First published as an Advance Article on the web 23rd April 2004

Reaction of [(dach)Pd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>] entities (dach = (*R,R*)-1,2-diaminocyclohexane, (*S,S*)-1,2-diaminocyclohexane) and 4,7-phenanthroline (phen) providing, respectively, 90 and 120° bond angles, leads to the formation of two novel positively charged homochiral cyclic trinuclear metallacalix[3]arene species [(*R,R*)-1,2-diaminocyclohexane)-Pd(phen)]<sub>3</sub>(NO<sub>3</sub>)<sub>6</sub> (**2a**) and [(*S,S*)-1,2-diaminocyclohexane)Pd(phen)]<sub>3</sub>(NO<sub>3</sub>)<sub>6</sub> (**2b**). These species have been characterised by <sup>1</sup>H NMR and X-ray diffraction methods (**2b**), showing that they possess accessible cavities suited for supramolecular recognition processes. We prove, indeed, from <sup>1</sup>H NMR studies the inclusion of mononucleotides inside the cavity of the trinuclear species [(ethylenediamine)Pd(phen)]<sub>3</sub><sup>6+</sup> (**1**), [(*R,R*)-1,2-diaminocyclohexane)-Pd(phen)]<sub>3</sub><sup>6+</sup> (**2a**) and [(*S,S*)-1,2-diaminocyclohexane)Pd(phen)]<sub>3</sub><sup>6+</sup> (**2b**) in aqueous solution. Association constants (*K*<sub>ass</sub>) range from 85 ± 6 M<sup>-1</sup> for the interaction between [(ethylenediamine)Pd(phen)]<sub>3</sub><sup>6+</sup> and adenosine monophosphate to 37 ± 4 M<sup>-1</sup> for the interaction between [(1,2-diaminocyclohexane)Pd(phen)]<sub>3</sub><sup>6+</sup> and thymidine monophosphate. We invoke the synergy of electrostatic, anion-π and π-π interactions to explain the recognition of mononucleotides inside the cavity of the metallacalix[3]arenes.

## Introduction

Molecular recognition processes are the key step for the development of sensors and drugs that target biorelevant molecules.<sup>1</sup> In this context, the biological importance of nucleic acids and their fragments results in a pronounced interest for the design of selective receptors.<sup>2-4</sup> Metal ions are especially efficient for driving self-assembly processes that give nanosized molecular architectures with accessible cavities ready for sensing and catalysis.<sup>5-9</sup> Moreover, it should be noted that the majority of the known metal containing cavities are positively charged, suiting them to give interactions with anionic substrates<sup>10-13</sup> and eventually anion template processes.<sup>14</sup> Host-guest interactions with anions in polar solvents such as water are however rather weak and only a few hosts are known to give significant interactions in this solvent.<sup>10,11,15-17</sup>

We have proven that metallacalixarenes built of metal ions and bridging pyrimidine ligands are suited for giving efficient interactions with anions in water.<sup>10</sup> Moreover, we have, also, very recently reported a group of chiral metallacalixarenes which show, although weak, enantioselective interactions with adenosine monophosphate.<sup>18</sup> With the aim of producing similar receptors of biorelevant anionic substrates, we have now selected the 4,7-phenanthroline (phen) heterocycle which can be considered, on the basis of its geometrical coordination requirements, an extended pyrimidine ring<sup>19</sup> and has recently been reported to form metallacalixarenes of type [(en)M(phen)]<sub>3</sub><sup>6+</sup> (**1**) (en = ethylenediamine) with M = Pd, Pt.<sup>20</sup>

The results here reported show the formation of the homochiral trinuclear cyclic species [(*R,R*)-1,2-diaminocyclohexane)Pd(phen)]<sub>3</sub><sup>6+</sup> (**2a**) and [(*S,S*)-1,2-diaminocyclohexane)-Pd(phen)]<sub>3</sub><sup>6+</sup> (**2b**). In addition, we report the behavior of **1**, **2a** and **2b** species as efficient receptors of adenosine monophosphate (AMP), guanosine monophosphate (GMP), cytidine monophosphate (CMP) and uridine monophosphate (UMP) anions in aqueous solution.

## Results and discussion

The self-assembly process between [(dach)Pd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>] (dach = (*R,R*)-1,2-diaminocyclohexane ((*R,R*)-dach) or (*S,S*)-1,2-diaminocyclohexane ((*S,S*)-dach)) and 4,7-phenanthroline (phen) in aqueous media leads to the formation of homochiral trinuclear cyclic species [(*R,R*)-dach)Pd(phen)]<sub>3</sub><sup>6+</sup> (**2a**) and [(*S,S*)-dach)Pd(phen)]<sub>3</sub><sup>6+</sup> (**2b**) (Scheme 1).

X-Ray crystallographic studies performed on **2b**,<sup>21</sup> even if not fully satisfactory due to poor quality of crystals and the appearance of a pseudo-symmetry centre (see ESI †), confirm its trinuclear nature and its close relation to non-chiral [(en)Pd(phen)]<sub>3</sub>(NO<sub>3</sub>)<sub>6</sub> (**1**).<sup>20</sup>

The <sup>1</sup>H NMR spectra of **2a** (Fig. 1) agree with the presence of a single species in solution and the expected N<sup>4</sup>,N<sup>7</sup> bridging mode for the phenanthroline ligands. In contrast to **1**, the <sup>1</sup>H NMR spectra of **2a** and **2b** show the loss of the original

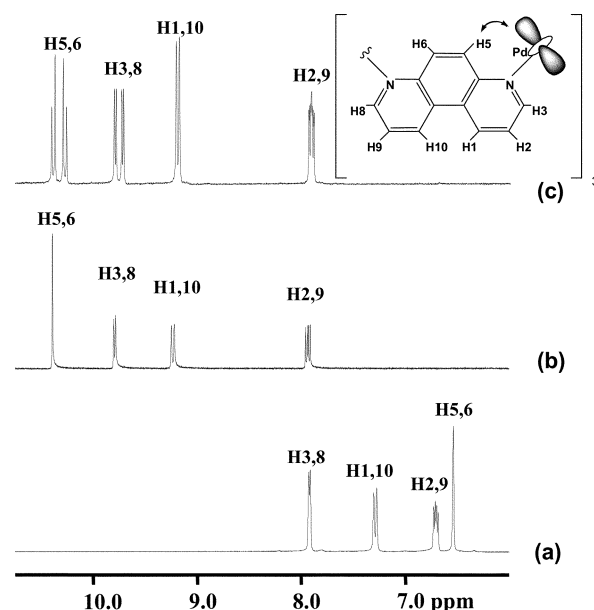
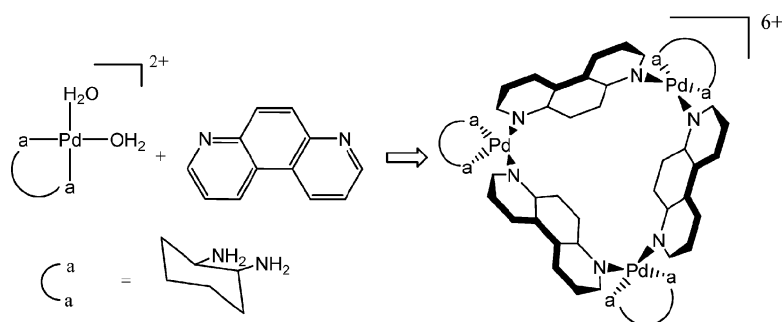


Fig. 1 <sup>1</sup>H NMR spectra (400 MHz, D<sub>2</sub>O, 293 K) in the aromatic region of free 4,7-phenanthroline (a) and species **1** (b) and **2a** (c).

† Electronic supplementary information (ESI) available: ORTEP view of the [(*S,S*)-dach)Pd(4,7-phen)]<sub>3</sub><sup>6+</sup> cations in the crystal structure of **2b**. Experimental details of the partial crystal structure solution of **2b**. See <http://www.rsc.org/suppdata/dt/b4/b402602k/>

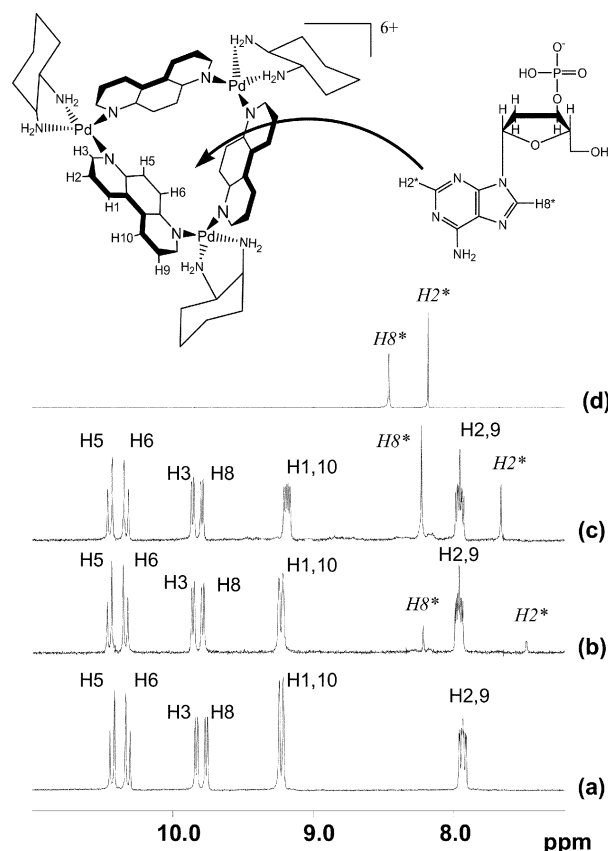


**Scheme 1** Self-assembly process between (dach)Pd<sup>II</sup> entities and 4,7-phenanthroline to give cyclic [a<sub>2</sub>Pd(phen)]<sub>3</sub><sup>6+</sup> species.

equivalence of the two halves of the heterocycle. This is illustrated by the lowering of the symmetry of the complex cations from  $C_{3v}$  to  $C_3$  due to the chiral nature of the ancillary dach ligands. Thus, for the latter species, the H3,8 and H5,6 resonances split into two signals (Fig. 1). This effect is, however, not extended to the H1,10 and H2,9 resonances which can be related to the larger separation of H1, H2, H9 and H10 hydrogen atoms from the chiral centres. There are also additional features in the <sup>1</sup>H NMR spectra that should be highlighted. For instance, there is an unusual large low field shift for the H5,6 resonances ( $\Delta\delta = +3.9$  ppm) which can be related to the disposition of the H5 and H6 protons over the metal coordination plane.<sup>22</sup>

The extended aromatic nature of the phenanthroline heterocycles together with their cone arrangement in the complex cations result in a more rigid molecular vase than the conformationally flexible molecular triangle [(en)Pd(2,2-bipyrazine)]<sub>3</sub><sup>3+</sup> reported by Lippert and co-workers<sup>11</sup> which make the here reported species more suitable for giving supramolecular interactions inside their cavities. In fact, the presence of two nitrate anions, one included in the cone cavity and the other one placed below the lower rim of the molecular vase in the crystal structure of [(en)M(phen)]<sub>3</sub>(NO<sub>3</sub>)<sub>6</sub><sup>20</sup> proves its affinity for the encapsulation of anionic species. This property together with the suitability of the phenanthroline rings for giving  $\pi$ - $\pi$  interactions<sup>23</sup> prompted us to assay the receptor abilities of **1**, **2a** and **2b** towards mononucleotides in aqueous solution. Moreover, the fact that these systems are always found in their cone conformation, with an upper rim opening of *ca.* 8.5 Å, facilitates the inclusion of guest molecules of this size.

The <sup>1</sup>H NMR experiments, run in deuterium oxide, are indicative of a shielding of the phenanthroline ring upon mononucleotide addition which agrees with the expected  $\pi$ - $\pi$  interactions. The largest effect on the host resonances, upon guest addition, is on the resonances of the H1 and H10 phenanthroline protons, which are placed on the easily accessible upper rim of the metallacalix[3]arene cavity and are highfield shifted (Fig. 2). The  $\pi$ - $\pi$  interactions are, as expected, larger for the purine mononucleotides than for the pyrimidine mononucleotides with the concomitant effect on the association constant values (see below).<sup>2</sup> The mononucleotide inclusion inside the complex cavity is further illustrated by the much larger shielding of the mononucleotide aromatic protons than the receptor signals (Fig. 2). Moreover, the shifting of the AMP signals is also indicative of the geometry of the host-guest assembly which agrees with the deeper inclusion of the pyrimidine moiety of the purine heterocycle. This feature is illustrated by the much larger shifting of the H2 signal than the H8 one upon exposure of the metallacalix[3]arene host to the purine containing mononucleotides (Fig. 2). In addition to the up-field shift of the proton signals for both the metallacalixarene host and the mononucleotide guest a change in the multiplicity of the H1,10 resonances upon guest addition is noteworthy. This may be indicative of lowering of the host symmetry upon guest inclusion related to a relative slow guest exchange rate. The up-field shift of both host and guest molecules due to  $\pi$ - $\pi$



**Fig. 2** Effect of the supramolecular recognition process between [(*S,S*)-dach]Pd(phen)<sub>3</sub><sup>6+</sup> and AMP (pD = 7.1) on the <sup>1</sup>H NMR spectrum. (a) Free [(*S,S*)-dach]Pd(phen)<sub>3</sub><sup>6+</sup> ( $2.5 \times 10^{-3}$  M); (b) addition of 1 eq. of AMP; (c) addition of 3 eq. of AMP; (d) free AMP ( $2.5 \times 10^{-3}$  M). The asterisk denotes the AMP signals. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz) run in D<sub>2</sub>O at 293 K.

interactions taking place inside the host cavity can be related to the molecular recognition processes of the homochiral triangle [Cp\**Rh*(2'-deoxyadenosine)]<sub>3</sub><sup>3+</sup> reported by Fish and co-workers,<sup>13a,b</sup> which acts as a <sup>1</sup>H NMR shift reagent.<sup>24</sup>

The <sup>1</sup>H NMR titrations of the metallacalixarenes have permitted the determination of the association constants for this type of supramolecular interactions, in aqueous solution, (Table 1) showing that this kind of metallacalixarenes act as receptors for biologically relevant anions in a competitive solvent such as water. In the case of the chiral species **2a** and **2b**, we expected some degree of enantioselectivity. This phenomenon is, however, not large enough to be revealed in the <sup>1</sup>H NMR experiments. Thus, when we added different mononucleotides to a 1 : 1 mixture of **2a** and **2b** no resolution of the racemate is observed in the <sup>1</sup>H NMR spectra.<sup>18</sup> This result may be related to the relative long separation between phenanthroline H1 and H10 protons, which are the most affected by the supramolecular interactions with mononucleotides, and the chiral residues.

**Table 1** Association constants  $K_{\text{ass}}$  ( $\text{M}^{-1}$ ) for the supramolecular interactions between mononucleotides and metallacalix[3]arenes in aqueous solution calculated from  $^1\text{H}$  NMR titrations at 293 K and pD 7.1

Interaction	$K_{\text{ass}}$
<b>1</b> + GMP	<sup>a</sup>
<b>1</b> + AMP	$85 \pm 6$
<b>1</b> + CMP	$56 \pm 4$
<b>1</b> + TMP	$37 \pm 4$
<b>2a</b> + GMP	<sup>a</sup>
<b>2a</b> + AMP	$67 \pm 3$
<b>2a</b> + CMP	$55 \pm 3$
<b>2a</b> + TMP	$34 \pm 4$

<sup>a</sup> Formation of a crosslinking adduct of type  $[\text{a}_2\text{Pd}(\text{phen})(\text{GMP})]^+$  is observed after a few minutes.

It should be noted that all mononucleotides induce decomposition of the cyclic structure of the metallacalixarenes over several hours for CMP, TMP and AMP to 30 min in the case of GMP to give adducts of type  $[\text{a}_2\text{Pd}(\text{phen})(\text{mononucleotide})]^+$  as suggested from the  $^1\text{H}$  NMR spectra. This result agrees with the tendency of  $\text{d}^8$  metal ions to bind nucleobases.<sup>25</sup>

As a conclusion, we invoke the synergistic effect exerted by a mixture of electrostatic, anion- $\pi$ <sup>26</sup> and  $\pi$ - $\pi$  interactions taking place inside the metallacalix[3]arenes cavities here described to explain the molecular recognition processes. Work is in progress in order to functionalise these systems with sensing active substituents and to study their possible use as DNA targeting drugs.

## Experimental

### Materials and methods

$[(\text{en})\text{PdCl}_2]$ ,  $[(\text{R,R-dach})\text{PdCl}_2]$ ,  $[(\text{S,S-dach})\text{PdCl}_2]$ <sup>18</sup> and  $[(\text{en})\text{Pd}(\text{phen})_3(\text{NO}_3)_6]$ <sup>20</sup> were prepared as previously reported. 4,7-Phenanthroline and monosodium salts of adenosine 5'-monophosphate (AMP), thymidine 5'-monophosphate (TMP), cytidine 5'-monophosphate (CMP) and guanosine 5'-monophosphate (GMP) were used as received (Aldrich).

### $^1\text{H}$ NMR titrations

$^1\text{H}$  NMR experiments carried out for studying the interaction between metallacalix[3]arenes and mononucleotides were performed in  $\text{D}_2\text{O}$  solutions at pD 7.1 in a 5 mm NMR tube on a BRUKER ARX 400 (400 MHz) instrument with 2.5 mM metallacalix[3]arene concentration.  $^1\text{H}$  NMR spectra were recorded for 10 different mixtures of increasing quantities of solid monosodium mononucleotide salts and the shifts of the H<sub>1,10</sub> resonances were analyzed using a non linear least-squares method to determine the association constant  $K_{\text{ass}}$  values.<sup>27</sup>

### Preparation of $[(\text{dach})\text{Pd}(\text{phen})_3(\text{NO}_3)_6]$ (**2a**: dach = (R,R)-dach; **2b**: dach = (S,S)-dach)

$[(\text{dach})\text{PdCl}_2]$  (2 mmol) was suspended on an aqueous solution of  $\text{AgNO}_3$  (0.68 g, 4 mmol) in water (25 mL), and the suspension was stirred in the dark at 40 °C overnight. The resulting mixture was kept at 4 °C for 1 h before the  $\text{AgCl}$  precipitate was filtered off. Afterwards, a solution containing 4,7-phenanthroline (2 mmol in 20 mL of water) was added to the filtrate and the resulting pale yellow solution was allowed to react at 60 °C for 7 h giving quantitatively the corresponding  $[(\text{dach})\text{Pd}(\text{phen})_3(\text{NO}_3)_6]$  compounds. Crystallisation of the compounds can be achieved by subsequent concentration of the solution to 15 mL by rotary evaporation after seven days at room temperature.

$[(\text{dach})\text{Pd}(\text{phen})_3(\text{NO}_3)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}]$  (**2a**: (R,R)-dach, **2b**: (S,S)-dach). Elemental analysis (%). calc. for  $\text{Pd}_3\text{C}_{54}\text{H}_{76}\text{N}_{18}\text{O}_{23}$

(1664.5): C 38.96, H 4.60, N 15.15; found: C 39.1, H 4.8, N 15.1. Yield 65%.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ , 25 °C, TMA):  $\delta$  1.01–1.55 (m, 4H; dach), 1.55–1.75 (m, 2H; dach), 1.90–2.10 (m, 2H; dach), 2.80–3.10 (m, 2H; dach), 7.93 (dd,  $J_{1,2} = 8.6$  Hz,  $J_{2,3} = 5.1$  Hz, 2H; H<sub>2,9</sub>), 9.23 (d,  $J_{1,2} = 8.6$  Hz, 2H; H<sub>1,10</sub>), 9.76 (d,  $J_{2,3} = 5.1$  Hz, 1H; H<sub>3</sub>), 9.83 (d,  $J_{9,8} = 5.1$  Hz, 1H; H<sub>8</sub>), 10.32 (d,  $J_{5,6} = 9.8$  Hz, 1H; H<sub>5</sub>), 10.43 (d,  $J_{5,6} = 9.8$  Hz, 1H; H<sub>6</sub>).

## Acknowledgements

This work has been supported by the Spanish Ministry of Science and Technology (project: BQU2001-2955-CO2-01) and the Junta de Andalucía (FQM 195). M. A. G. thanks the Spanish Ministry of Science and Technology for a PhD fellowship. J. A. R. N. thanks Johnson Matthey for a generous loan of  $\text{K}_2\text{PdCl}_4$ .

## References

- J. M. Lehn, *Supramolecular Chemistry: Concepts and Perspectives*, VCH, Weinheim, 1995.
- W. Saenger, *Principles of Nucleic Acid Structure*, Springer-Verlag, New York, 1984.
- (a) J. J. Lavigne and E. Anslyn, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2001, **40**, 3118; (b) P. D. Beer and D. K. Smith, *Prog. Inorg. Chem.*, 1997, **46**, 1; (c) J. H. Hartley, T. D. James and C. J. Ward, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 2000, 3155.
- (a) S. R. Waldvogel, R. Fröhlich and C. A. Schalley, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2000, **39**, 2472; (b) M. T. Albelda, J. Aguilar, S. Alves, R. Aucejo, P. Diaz, C. Lodeiro, J. C. Lima, E. Garcia-España, F. Pina and C. Soriano, *Helv. Chim. Acta*, 2003, **86**, 3118; (c) I. Meistermann, V. Moreno, M. J. Prieto, E. Mordrhein, E. Sletten, S. Khalid, P. M. Rodger, J. C. Pberdy, C. J. Isaac, A. Rodger and M. J. Hannon, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2002, **99**, 5069.
- S. Leininger, B. Olenyuk and P. J. Stang, *Chem. Rev.*, 2000, **100**, 853.
- Y. Kubota, S. Sakamoto, K. Yamaguchi and M. Fujita, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2002, **99**, 4854.
- C.-C. You and F. Würthner, *J. Am. Chem. Soc.*, 2003, **125**, 9716.
- R. W. Saalfrank, E. Uller, D. Demleitner and I. Bernt, *Struct. Bonding (Berlin)*, 2000, **96**, 149.
- (a) T. Kusukawa and M. Fujita, *J. Am. Chem. Soc.*, 1999, **121**, 1397; (b) M. Yoshizawa, T. Kusukawa, M. Fujita and K. Yamaguchi, *J. Am. Chem. Soc.*, 2000, **122**, 6311.
- J. A. R. Navarro, M. B. L. Janik, E. Freisinger and B. Lippert, *Inorg. Chem.*, 1999, **38**, 426.
- (a) R.-D. Schnebeck, E. Fresisinger and B. Lippert, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 1999, **38**, 168; (b) R.-D. Schnebeck, E. Fresisinger and B. Lippert, *J. Am. Chem. Soc.*, 2000, **122**, 1381.
- J. J. Bodwin, A. D. Cutland, R. G. Malkani and V. L. Pecoraro, *Coord. Chem. Rev.*, 2001, **216–217**, 489.
- (a) R. H. Fish, *Coord. Chem. Rev.*, 1999, **186**, 569; (b) H. Chen, S. Ogo and R. H. Fish, *J. Am. Chem. Soc.*, 1996, **118**, 4993; (c) Z. Qin, M. C. Jennings and R. J. Puddephatt, *Inorg. Chem.*, 2002, **41**, 3967; (d) H. A. Burkill, R. Vilar, A. J. P. White and D. J. Williams, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 2002, 837; (e) C. S. Campos-Fernández, R. Clérac, J. M. Koomen, D. H. Russell and K. R. Dunbar, *J. Am. Chem. Soc.*, 2001, **123**, 773.
- R. Vilar, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2003, **42**, 1460.
- M. Staffilani, K. S. B. Hancock, J. W. Steed, K. T. Holman, J. L. Atwood, R. K. Juneja and R. S. Burkharter, *J. Am. Chem. Soc.*, 1997, **119**, 6324.
- L. C. Tabares, J. A. R. Navarro and J. M. Salas, *J. Am. Chem. Soc.*, 2001, **123**, 383.
- F. Z. Schmidtschen and M. Berger, *Chem. Rev.*, 1997, **97**, 1609.
- E. Barea, J. A. R. Navarro, J. M. Salas, M. Quiros, M. Willermann and B. Lippert, *Chem. Eur. J.*, 2003, **9**, 4414.
- J. M. Knaust, S. Lopez, C. Inman and S. W. Keller, *Polyhedron*, 2003, **22**, 3015, and references therein.
- S. Y. Yu, H. Huang, H. B. Liu, Z. N. Chen, R. B. Zhang and M. Fujita, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2003, **42**, 686.
- Crystal data: triclinic;  $P1$ ;  $a = 10.799(1)$ ,  $b = 14.109(1)$ ,  $c = 22.088(1)$  Å;  $\alpha = 92.363(2)$ ,  $\beta = 94.118(2)$ ,  $\gamma = 108.268(1)^\circ$ ;  $Z = 2$ .
- (a) A. Albinati, P. S. Pregosin and F. Wombacher, *Inorg. Chem.*, 1990, **29**, 1812; (b) J. A. R. Navarro, M. A. Romero, J. M. Salas, M. Quirós, J. El Bahraoui and J. Molina, *Inorg. Chem.*, 1996, **35**, 7829.
- K. Akdi, R. Vilaplana, S. Kamah, J. A. R. Navarro, J. M. Salas and F. Gonzalez-Vilchez, *J. Inorg. Biochem.*, 2002, **90**, 51.

---

24 S. Ogo, S. Nakamura, H. Chen, K. Isobe, Y. Watanabe and R. H. Fish, *J. Org. Chem.*, 1998, **63**, 7151.  
25 B. Lippert, in *Cisplatin*, ed. B. Lippert, Wiley-VCH, Weinheim, 1999.

26 D. Quiñonero, C. Garau, C. Rotger, A. Frontera, P. Ballester, A. Costa and P. M. Deyà, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2002, **41**, 3389.  
27 H. Sigel, K. H. Scheller, V. M. Rheinberger and B. E. Fischer, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1980, 1022.

## **ANEXO III**

**Formation of heterotopic metallacalix[n]arenes (n = 3, 4, 6) containing ethylenediaminepalladium (II) metal fragments and 4,7-phenanthroline and 2-pyrimidinolate bridges. Synthesis, structure and host-guest chemistry**

(Dalton Trans., 2004, 2780-2785)

# Formation of heterotopic metallacalix[*n*]arenes (*n* = 3, 4, 6) containing ethylenediaminepalladium(II) metal fragments and 4,7-phenanthroline and 2-pyrimidinolate bridges. Synthesis, structure and host–guest chemistry

Miguel A. Galindo,<sup>a</sup> Simona Galli,<sup>b</sup> Jorge A. R. Navarro<sup>\*a</sup> and M. Angustias Romero<sup>\*a</sup>

<sup>a</sup> Departamento de Química Inorgánica, Universidad de Granada, Av. Fuentenueva S/N, E-18071 Granada, Spain. E-mail: [jarn@ugr.es](mailto:jarn@ugr.es); [maromero@ugr.es](mailto:maromero@ugr.es); [miangel@ugr.es](mailto:miangel@ugr.es); Fax: (+34)958248526

<sup>b</sup> Dipartimento di Scienze Chimiche ed Ambientali, Università degli Studi dell'Insubria, via Valleggio 11, I-22100 Como, Italy. E-mail: [simona.galli@uninsubria.it](mailto:simona.galli@uninsubria.it)

Received 9th June 2004, Accepted 6th July 2004

First published as an Advance Article on the web 3rd August 2004

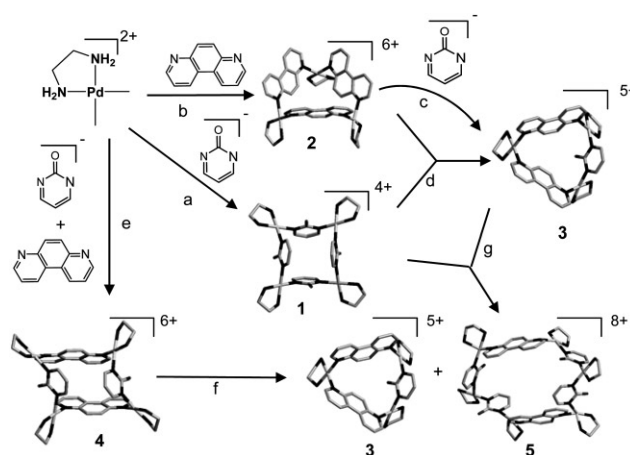
A multicomponent reaction involving ethylenediaminepalladium(II), 2-pyrimidinol derivatives (L) [L = 2-pyrimidinol (**a**); 4-methyl-2-pyrimidinol (**b**); 4,6-dimethyl-2-pyrimidinol (**c**)] and 4,7-phenanthroline (4,7-phen) leads to the formation of heterotopic cyclic metallamacrocycles of the type  $[\text{Pd}_n(\text{en})_n(\mu\text{-}N,N'\text{-}L)_m(\mu\text{-}N,N'\text{-}4,7\text{-phen})_{n-m}]^{(2n-m)+}$  [*n* = 3, *m* = 1 (**3**); *n* = 4, *m* = 2 (**4**); *n* = 6, *m* = 4 (**5**)]. These species can be obtained by different reaction pathways, including: (i) reaction of ethylene diaminepalladium(II), L and 4,7-phen building blocks and (ii) reaction of the homotopic species  $[\text{Pd}_4(\text{en})_4(\mu\text{-}N,N'\text{-}L)_4]^{4+}$  (**1**) and  $[\text{Pd}_3(\text{en})_3(\mu\text{-}N,N'\text{-}4,7\text{-phen})_3]^{6+}$  (**2**). The resulting heterotopic metallamacrocycles have been characterised by 1D and 2D <sup>1</sup>H NMR spectroscopy. Additionally, species **3c** and **4a** have been studied by X-ray crystallography. The former one contains almost isosceles triangles of  $[\text{Pd}_3(\text{en})_3(\mu\text{-}N,N'\text{-}4,6\text{-dimethyl-2-pyrimidinolate})(\mu\text{-}N,N'\text{-}4,7\text{-phen})_2]^{5+}$  formulation, exhibiting a pinched-cone conformation. **4a** contains a tetranuclear parallelogram  $[\text{Pd}_4(\text{en})_4(\mu\text{-}N,N'\text{-}2\text{-pyrimidinolate})_2(\mu\text{-}N,N'\text{-}4,7\text{-phenanthroline})_2]^{6+}$ , exhibiting a 1,3-alternate conformation. The host–guest properties of the here reported species have been studied, showing that they are able to interact with cationic as well as with anionic species.

## Introduction

Organic synthesis of complex molecular architectures normally implies the use of protecting groups and multiple reaction steps, tedious separations and low yields. Such inconveniences can be overcome by employing self-assembly processes involving metal ions and organic ligands of suitable geometry to build multicomponent complex molecular architectures in a single step.<sup>1,2</sup> Selection of a target product can be made by the convenient choice of metal fragment and ligand geometries, as well as the presence of templating agents<sup>3</sup> or ligand functionalization.<sup>4</sup> Small-protein-sized molecules have been synthesized in this way,<sup>3</sup> and there are numerous reports on exciting host–guest chemistry of such systems and interesting applications relevant to sensing and selective catalytic reactions in the confined space of a capsule.<sup>5</sup>

Others and ourselves have previously shown the suitability of combining protected metal ions and N-heterocycles providing bent bond angles to build metal analogues of calix[*n*]arenes with *n* = 3, 6–8 4,<sup>9</sup> 6,<sup>10,11</sup> In this context, we have proven that reaction of the ethylenediaminepalladium(II) metal fragment with 2-pyrimidinol (2-Hpymo) or its methylated derivative 4,6-dimethyl-2-pyrimidinol (2-Hdmpymo) quantitatively yields tetranuclear metallacalix[4]arenes of the type  $[\text{Pd}(\text{en})(\mu\text{-}N,N'\text{-}2\text{-pymo})_4]^{4+}$  (**1**).<sup>9c,d</sup> With a similar approach, Yu *et al.*<sup>6</sup> employed 4,7-phenanthroline (4,7-phen) to build a metal analogue of calix[3]arene of the  $[\text{Pd}(\text{en})(\mu\text{-}N,N'\text{-}4,7\text{-phen})_3]^{6+}$  type (**2**).

The similar geometric requirements of 2-pyrimidinol derivatives and 4,7-phenanthroline prompted us to explore the possible formation of heterotopic metallamacrocycles containing these two types of *N,N'*-*exo*-bidentate ligands with the concomitant possibility of engineering the shape and size of these species. Thus, in this manuscript, we report a multicomponent reaction involving *cis*-protected palladium(II) metal fragments, 2-pyrimidinol derivatives and 4,7-phenanthroline. Such a complex reaction mixture can lead to the formation of a wide variety of species, such the novel heterotopic trinuclear (**3**), tetranuclear (**4**) and hexanuclear (**5**) species depicted in Scheme 1. However, depending on reaction conditions,



**Scheme 1** Summary of the cyclic species that can be obtained containing ethylenediaminepalladium(II), 4,7-phen and 2-pymo derivatives.  $R_{1,2} = \text{H}$ ,  $\text{CH}_3$ . (a) Ref. 9(d),(e); (b) ref. 6; (c) **2** + 2-pymo, 2 h at 60 °C, gives **3** + free 4,7-phen; (d) a 3 : 8 mixture of **1** and **2**, for 2 h at 80 °C, gives **3** (12 equivalents); (e)  $\text{enPd}^{\text{II}}$  + 2-pymo + 4,7-phen, in the ratio 4 : 2 : 2, for 24 h at 80 °C, give **4**; (f) **4**, 24 h at 80 °C, gives a 2 : 1 mixture of **3** and **5**; (g) **1** + **3** (excess), 24 h at 80 °C, gives **5** + unreacted **3**.

stoichiometry and pyrimidine functionalisation, selection of a specific product can be made.

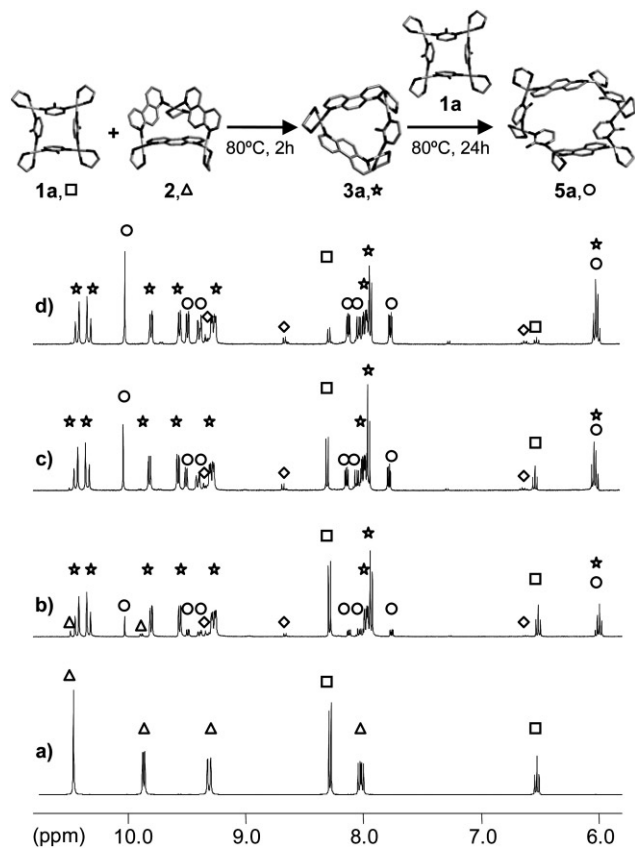
## Results and discussion

### Trinuclear species of type $[\text{Pd}_3(\text{en})_3(\mu\text{-}N,N'\text{-}L)(\mu\text{-}N,N'\text{-}4,7\text{-phen})_2]^{5+}$ (**3**)

The simplest heterotopic species of this series, of  $[\text{Pd}_3(\text{en})_3(\mu\text{-}N,N'\text{-}L)(\mu\text{-}N,N'\text{-}4,7\text{-phen})_2]^{5+}$  type [L = 2-pymo (**3a**); 4-methyl-2-pymo (**3b**); 4,6-dimethyl-2-pymo (**3c**)], can be obtained by three different reaction pathways, irrespectively of the pyrimidine ring functionalisation: (i) by direct reaction from a 3 : 1 : 2 mixture of ethylenediaminepalladium(II), L and 4,7-phen building blocks (not included



in Scheme 1); (ii) by ligand exchange of one 4,7-phen moiety in **2** by L (pathway *c* in Scheme 1); (iii) by reaction of species **1** and **2** in the proper stoichiometry (pathway *d* Scheme 1 and Fig. 1). Additionally, **3a** can also be obtained by disproportionation of **4a** (see below and pathway *f* in Scheme 1).

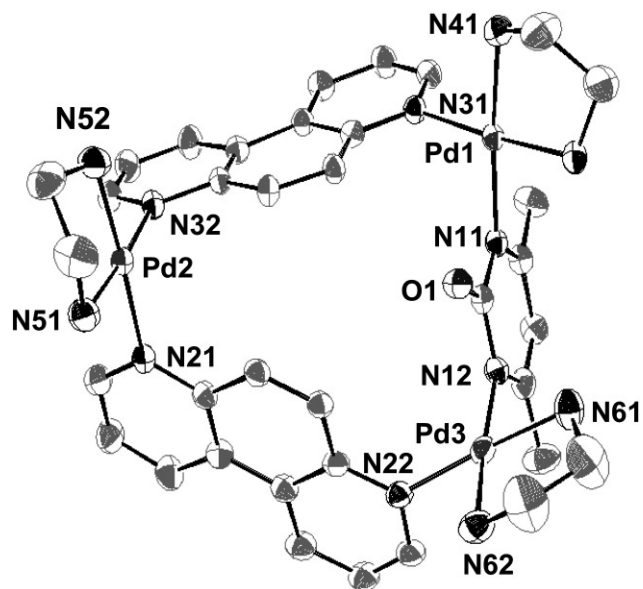


**Fig. 1** Evolution, at 80 °C, of a 3:4 reaction mixture of homotopic  $[\text{Pd}(\text{en})(\mu\text{-}N,N'\text{-}2\text{-pymo})]_4^{4+}$  (**1a**) and  $[\text{Pd}(\text{en})(\mu\text{-}N,N'\text{-}4,7\text{-phen})]_6^{6+}$  (**2**) followed by  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{D}_2\text{O}$ , 293 K, 400 MHz). (a)  $t=0$ , (b) 2, (c) 5, (d) 24 h. **1a** (squares), **2** (triangles),  $[\text{Pd}_3(\text{en})_3(\mu\text{-}N,N'\text{-}2\text{-pymo})(\mu\text{-}N,N'\text{-}4,7\text{-phen})_2]^{5+}$  (**3a**, stars),  $[\text{Pd}_4(\text{en})_4(\mu\text{-}N,N'\text{-}2\text{-pymo})_2(\mu\text{-}N,N'\text{-}4,7\text{-phen})_2]^{6+}$  (**4a**, diamonds),  $[\text{Pd}_6(\text{en})_6(\mu\text{-}N,N'\text{-}2\text{-pymo})_4(\mu\text{-}N,N'\text{-}4,7\text{-phen})_2]^{8+}$  (**5a**, circles).

The most significant feature on the  $^1\text{H}$  NMR spectra of species **3a**, **3b** and **3c** (Fig. 1) is the loss of the original equivalence of the two halves of the 4,7-phenanthroline moieties after ligand exchange of one of them in **2** by L, concomitant to a symmetry lowering from the  $C_{3v}$  of **2** to  $C_s$  of species **3a** and **3c** and  $C_1$  of **3b**. For instance, in the case of **3a**, the 2-pymo signals are high field shifted,  $\text{H}_{4,4'}$  (−0.30 ppm) and  $\text{H}_5$  (−0.50 ppm), compared to the parent species **1a**. The 4,7-phen resonances split and shift to high field,  $\text{H}_1$  (−0.02 ppm),  $\text{H}_1'$  (−0.07 ppm),  $\text{H}_{2,2'}$  (0.0 ppm),  $\text{H}_3$  (−0.10 ppm),  $\text{H}_3'$  (−0.35 ppm),  $\text{H}_5'$  (−0.05 ppm) and  $\text{H}_5$  (−0.15 ppm), compared to the parent homotopic species **2**. 2D NOESY  $^1\text{H}$  NMR spectra were also run in order to investigate the complex structure of these heterotopic metallacalix[3]arenes. The results show exchange peaks between the  $\text{H}_{4,4'}$  pyrimidine ring resonances and the  $\text{H}_2$  and  $\text{H}_3$  protons of the shielded half of the 4,7-phenanthroline, confirming the simultaneous presence of both ligands  $N,N'$ -bridges in each **3** species. The 2D spectra also prompt for an asymmetric distribution of the 4,7-phen electron density, the latter being more pronounced toward the basic 2-pymo ligand than toward the side close to the other, electron withdrawing, 4,7-phen. In addition, the shielding of pyrimidine ring resonances, compared to those of the 1,3-alternate homotopic species **1**, and the observed exchange peaks of the NOE experiments suggest, for species **3**, a rigid cone conformation.

Suitable single crystals for conventional X-ray diffractometry were obtained for **3c**, unequivocally confirming that it consists of cyclic trinuclear  $[\text{Pd}_3(\text{en})_3(\mu\text{-}N,N'\text{-}4,6\text{-dimethyl-}2\text{-pymo})(\mu\text{-}N,N'\text{-}4,7\text{-phen})_2]^{5+}$  cations, nitrate counter ions and water molecules. Crystallographic, data collection and refinement details

are gathered in Table 1. The three, crystallographically independent metal ions show slightly distorted square planar coordination and are bridged by the organic moieties in the  $N,N'$ -*exo*-bidentate fashion, thus defining a metallacalix[3]arene. The smaller size of the pyrimidinic moiety and of its bite is reflected by a metal geometry substantially different from that of the precursor  $[\text{Pd}_3(\text{en})_3(\mu\text{-}N,N'\text{-}4,7\text{-phenanthroline})_2]^{6+}$  (**2**) reported by Yu *et al.*<sup>6</sup> Actually, in **2**, the three palladium atoms define an almost equilateral triangle with edges of 7.64 and 7.69 Å,<sup>6</sup> whereas in **3c** they describe an almost isosceles triangle, with edges of 7.56, 7.60 and 5.71 Å, this resulting in a concomitant smaller opening of the metallacalixarene cavity. Nonetheless, in **3c**, the ligands display a pinched-cone disposition, a conformation which, in principle, could allow inclusion of guest molecules even in the solid. The cationic units stack generating channels running along [1 0 0] (Fig. 3). Unexpectedly, no nitrate anions are hosted by the cationic cavities, all of them being distributed around the channels. At variance, three (ordered) water molecules lie at the entrance of the cavity, which thus must be considered slightly hydrophilic: one forms hydrogen-bonds with two en N atoms (2.92 and 2.99 Å), while the other two interact with each other and with a nitrate group sitting above the cavity. The three water oxygens thus realise the maximum possible number of bonding and non-bonding interactions. The remaining (disordered) water molecules are involved in hydrogen-bond interactions with either each other or nitrate groups.



**Fig. 2** Ortep representation, at 30% probability, of the metallacalix[3]arene in  $[\text{Pd}_3(\text{en})_3(\mu\text{-}N,N'\text{-}4,6\text{-dimethyl-}2\text{-pymo})(\mu\text{-}N,N'\text{-}4,7\text{-phen})_2](\text{NO}_3)_5 \cdot (\text{H}_2\text{O})_7$ , **3c**. Hydrogen atoms omitted for clarity. Significant bond distances (Å) and angles (°) at the metals follow (esds in parentheses): Pd(1)–N(11) 2.038(5), Pd(1)–N(31) 2.056(5), Pd(1)–N(41) 2.027(5), Pd(1)–N(42) 2.023(5), Pd(2)–N(21) 2.036(5), Pd(2)–N(32) 2.046(5), Pd(2)–N(51) 2.023(6), Pd(2)–N(52) 2.012(6), Pd(3)–N(12) 2.052(5), Pd(3)–N(22) 2.059(5), Pd(3)–N(61) 2.017(6), Pd(3)–N(62) 2.028(6); N(11)–Pd(1)–N(31) 92.9(2), N(11)–Pd(1)–N(41) 174.2(2), N(11)–Pd(1)–N(42) 90.4(2), N(31)–Pd(1)–N(41) 91.9(2), N(31)–Pd(1)–N(42) 175.7(2), N(41)–Pd(1)–N(42) 83.8(2), N(21)–Pd(2)–N(32) 89.0(2), N(21)–Pd(2)–N(51) 94.3(2), N(21)–Pd(2)–N(52) 177.0(2), N(32)–Pd(2)–N(51) 176.2(2), N(32)–Pd(2)–N(52) 92.7(2), N(51)–Pd(2)–N(52) 84.0(2), N(12)–Pd(3)–N(22) 92.6(2), N(12)–Pd(3)–N(61) 90.8(2), N(12)–Pd(3)–N(62) 173.9(2), N(22)–Pd(3)–N(61) 176.5(2), N(22)–Pd(3)–N(62) 93.4(2), N(61)–Pd(3)–N(62) 83.2(3).

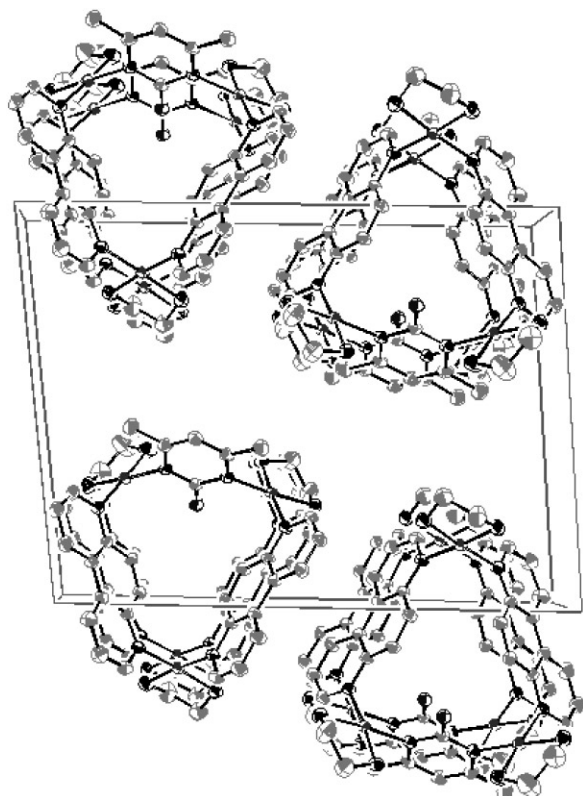
#### Tetranuclear species of type $[\text{Pd}_4(\text{en})_4(\mu\text{-}N,N'\text{-}L)_2(\mu\text{-}N,N'\text{-}4,7\text{-phen})_2]^{6+}$ (**4**)

We have further explored the formation of additional heterotopic polynuclear cyclic species. Our results show that reaction of a 2:1:1 mixture of ethylenediaminepalladium(II), L and 4,7-phen building blocks leads to the sequential formation of tetranuclear **4** and hexanuclear species **5** (see pathways *e* and *f* in Scheme 1) only for the *unsubstituted* 2-pyrimidinol heterocycle. In contrast to the synthesis of the type **3** species, reaction of homotopic **1a** and **2**

**Table 1** Crystallographic data and refinement details for compounds  $[\text{Pd}_3(\text{en})_2(\mu\text{-}N,N'\text{-}4,6\text{-dimethyl-}2\text{-pymo})(\mu\text{-}N,N'\text{-}4,7\text{-phen})_2](\text{NO}_3)_5(\text{H}_2\text{O})_7$ , **3c**, and  $[\text{Pd}_4(\text{en})_4(\mu\text{-}N,N'\text{-}2\text{-pymo})_2(\mu\text{-}N,N'\text{-}4,7\text{-phen})_2](\text{NO}_3)_6\cdot\text{H}_2\text{O}$ , **4a**

	<b>3c</b>	<b>4a</b>
Empirical formula	$\text{C}_{36}\text{H}_{61}\text{N}_{17}\text{O}_{23}\text{Pd}_3$	$\text{C}_{40}\text{H}_{56}\text{N}_{22}\text{O}_{21}\text{Pd}_4$
Formula weight/ $\text{g mol}^{-1}$	1419.2	1606.7
Crystallographic system	Triclinic	Monoclinic
Space group	$P\bar{1}$	$C2/c$
$a/\text{\AA}$	9.307(3)	28.183(3)
$b/\text{\AA}$	15.464(5)	17.702(2)
$c/\text{\AA}$	19.806(7)	11.992(1)
$\alpha/^\circ$	94.337(2)	90.0
$\beta/^\circ$	94.914(2)	111.05(1)
$\gamma/^\circ$	106.446(2)	90.0
$Z$	2	4
$\mu/\text{mm}^{-1}$	1.08	1.36
Temperature/K	298(2)	298(2)
Measured reflections	26280	18698
Unique reflections	9518	3664
$R_{\text{int}}, R_{\sigma}^a$	0.018, 0.020	0.099, 0.072
$R(F)$ and $wR(F^2)$ , for $I > 2\sigma(I)^c$	0.055, 0.175	0.047, 0.102
$R(F)$ and $wR(F^2)$ , for all data <sup>c</sup>	0.059, 0.182	0.088, 0.120

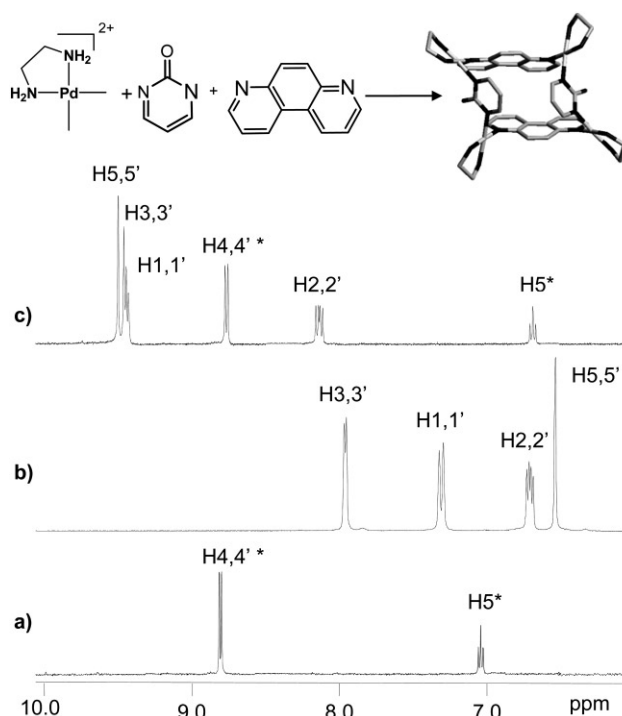
<sup>a</sup> $R_{\text{int}} = \sum |F_o^2 - F_{\text{mean}}^2| / \sum |F_o^2|$ ;  $R_{\sigma} = \sum |\sigma(F_o^2)| / \sum |F_o^2|$ . <sup>b</sup> $S(F^2) = [\sum w(F_o^2 - F_c^2)^2 / (n - p)]^{1/2}$  where  $n$  is the number of reflections,  $p$  the number of parameters and  $w = 1 / [\sigma^2(F_o^2) + (0.019P)^2 + 1.88P]$  with  $P = (F_o^2 + 2F_c^2) / 3$ . <sup>c</sup> $R(F) = \sum ||F_o| - |F_c|| / \sum |F_o|$  and  $wR(F^2) = [\sum w(F_o^2 - F_c^2)^2 / \sum wF_o^4]^{1/2}$ .



**Fig. 3** Ortep representation, at 30% probability, of the packing motif in  $[\text{Pd}_3(\text{en})_2(\mu\text{-}N,N'\text{-}4,6\text{-dimethyl-}2\text{-pymo})(\mu\text{-}N,N'\text{-}4,7\text{-phen})_2](\text{NO}_3)_5(\text{H}_2\text{O})_7$ , **3c**, as viewed down  $[1\ 0\ 0]$ . Hydrogen atoms, nitrate anions and water molecules omitted for clarity.

metallacalixarenes in the proper stoichiometry (3 : 4) only leads to the formation of a minimum amount of **4a** (Fig. 1).

The  $^1\text{H}$  NMR studies agree with the formation of the heterotopic tetranuclear species  $[\text{Pd}_4(\text{en})_4(\mu\text{-}N,N'\text{-}2\text{-pyrimidinolate})_2(\mu\text{-}N,N'\text{-}4,7\text{-phenanthroline})_2]^{6+}$  (**4a**) by direct reaction of the building blocks in a 2 : 1 : 1 ratio (Fig. 4). It should be noted, however, that the attempts to obtain the related **4b** and **4c** species containing the methylated derivatives of 2-pymo were fruitless. For instance, reaction of a mixture of species **1c** and **2**, in the proper stoichiometry, leads to formation of the trinuclear species **3c** in addition to an excess of unreacted **1c**.

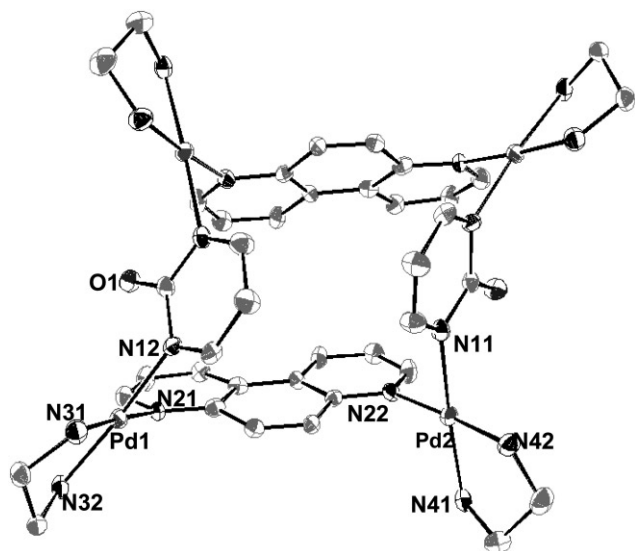


**Fig. 4** Schematic reaction between the entries ethylenediamine-palladium(II), 4,7-phen and 2-pymo to give heterotopic  $[\text{Pd}_4(\text{en})_4(\mu\text{-}N,N'\text{-}2\text{-pymo})_2(\mu\text{-}N,N'\text{-}4,7\text{-phen})_2]^{8+}$  (**4a**) as a single product (above).  $^1\text{H}$  NMR spectra of (a)  $\text{H}_2\text{-pymo}^+$ , (b) free 4,7-phen and (c)  $[\text{Pd}_4(\text{en})_4(\mu\text{-}N,N'\text{-}2\text{-pymo})_2(\mu\text{-}N,N'\text{-}4,7\text{-phen})_2]^{8+}$  (**4a**). Asterisks denote the pymo resonances. The high down field shift of the 4,7-phen  $\text{H}_{5,5'}$  resonances upon metal coordination should be highlighted (see ref. 8).

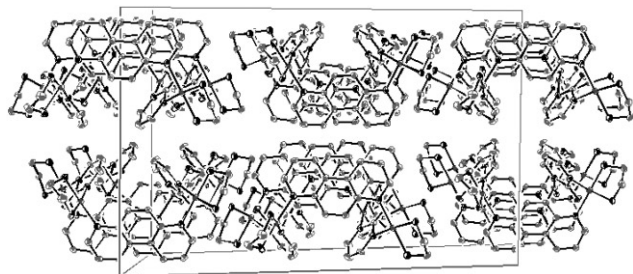
The most significant feature on the  $^1\text{H}$  NMR spectra of species **4a** is that the original equivalence of the two halves of both the 4,7-phen and 2-pymo moieties are maintained (Fig. 4), in contrast to what was previously observed for **3a** (see above). In addition, the 2-pymo signals are down field shifted,  $\text{H}_{4,4'}$  (+0.43 ppm) and  $\text{H}_5$  (+0.05 ppm), compared to the parent species **1a**, whereas the 4,7-phen resonances are shifted,  $\text{H}_{1,1'}$  (+0.10 ppm),  $\text{H}_{2,2'}$  (+0.20 ppm),  $\text{H}_{3,3'}$  (-0.40 ppm) and  $\text{H}_{5,5'}$  (0 ppm), compared to the parent homotopic species **2**. The down field shift of the 2-pymo resonances, compared to the homotopic species **1**, can be related to the length of the 4,7-phen preventing any stacking interaction between the two 2-pymo, to a 1,3-alternate conformation of the bridging ligands and to the electron withdrawing nature of the 4,7-phen bridges. 2D NOESY  $^1\text{H}$   $^1\text{H}$  NMR spectra were also run in order to investigate the complex structure of this heterotopic metallacalix[4]arene. The results show exchange peaks between the 4,7-phenanthroline  $\text{H}_{2,2'}$ ,  $\text{H}_{3,3'}$  and  $\text{H}_{5,5'}$  resonances and the pyrimidine  $\text{H}_{4,4'}$  ones, as happens of spatial contacts between the adjacent heterocycles in a conformationally flexible species. Thus, at variance with **3a** (see above), **4a** possesses a conformationally flexible nature similar to that of the parent  $[\text{Pd}_4(\text{en})_4(\mu\text{-}N,N'\text{-}2\text{-pymo})_4]^{4+}$  (**1a**) species.<sup>9d</sup>

The nature of **4a** has been definitely established by conventional single crystal X-ray diffractometry: pertinent crystallographic, data collection and refinement details are gathered in Table 1. **4a** consists of cyclic  $[\text{Pd}_4(\text{en})_4(\mu\text{-}N,N'\text{-}2\text{-pymo})_2(\mu\text{-}N,N'\text{-}4,7\text{-phen})_2]^{6+}$  units (Fig. 5), of crystallographic  $C_2$  symmetry, nitrate counter ions and water molecules. The two independent metal ions show slightly distorted square planar coordination, while both independent 2-pymo and 4,7-phen ligands act, as in **3c**, in the  $N,N'$ -*exo*-bidentate bridging mode. In the tetranuclear cations, the pyrimidine and phenanthroline moieties alternate along the metallamacrocycle. Yet, quite unexpectedly, the metal ions lie at the vertices of a *parallelogram*, rather than at those of a rectangle. Moreover, the metallacalix[4]arene exhibits a 1,3-alternate conformation, which results in a cavity markedly too small to allow guest molecules inclusion in the solid: indeed, apertures are present of 3.76 Å on the side of 2-pymo ligands (defined as the shortest  $\text{C}\cdots\text{C}$  contact) and of 4.04 Å for the 4,7-phenanthroline ones (defined as the average value

among the shortest C...C contacts). The geometry of the tetranuclear species **4a** can be compared to that of the parent  $[\text{Pd}_4(\text{en})_4(\mu\text{-}N,N'\text{-}2\text{-pymo})_4]^{4+}$  one (**1**),<sup>9d</sup> showing as well a 1,3-alternate conformation, with the palladium atoms defining a nearly regular square with edges of about 5.9 Å; at variance, in **4a**, due to the different size of 2-pymo and 4,7-phen bridges, two markedly distinct edges are present [5.81 and 7.60 Å]. The cationic units pack in such a way to create a wavy motif about [1 0 0] and columnar entities about [0 1 0] (Fig. 6). In this case, neither nitrate anions nor water molecules occupy the cationic cavities, even if the independent water molecule is located in the vicinity of the metallacalix[4]arene, thus making a hydrogen-bond with an ethylenediamine N atom (3.06 Å). The latter interaction, together with a further hydrogen-bond with a nearby nitrate, grants the water oxygen its maximum number of bonding and non-bonding interactions.



**Fig. 5** Ortep representation, at 30% probability, of the metallacalix[4]arene in  $[\text{Pd}_4(\text{en})_4(\mu\text{-}N,N'\text{-}2\text{-pymo})_2(\mu\text{-}N,N'\text{-}4,7\text{-phen})_2](\text{NO}_3)_6\cdot\text{H}_2\text{O}$ , **4a**. Hydrogen atoms omitted for clarity. Significant bond distances (Å) and angles (°) at the metals follow (esds in parentheses): Pd(1)–N(12) 2.037(7), Pd(1)–N(21) 2.047(7), Pd(1)–N(31) 2.022(7), Pd(1)–N(32) 2.028(7), Pd(2)–N(11) 2.034(7), Pd(2)–N(22) 2.044(7), Pd(2)–N(41) 2.014(8), Pd(2)–N(42) 2.003(7), N(12)–Pd(1)–N(21) 90.6(3), N(12)–Pd(1)–N(31) 91.5(3), N(12)–Pd(1)–N(32) 174.2(3), N(21)–Pd(1)–N(31) 177.3(3), N(21)–Pd(1)–N(32) 94.6(3), N(31)–Pd(1)–N(32) 83.4(3), N(11)–Pd(2)–N(22) 92.2(3), N(11)–Pd(2)–N(41) 173.7(3), N(11)–Pd(2)–N(42) 90.4(3), N(22)–Pd(2)–N(41) 94.2(3), N(22)–Pd(2)–N(42) 177.2(3), N(41)–Pd(2)–N(42) 177.2(3).



**Fig. 6** Ortep representation, at 30% probability, of the packing motif in  $[\text{Pd}_4(\text{en})_4(\mu\text{-}N,N'\text{-}2\text{-pymo})_2(\mu\text{-}N,N'\text{-}4,7\text{-phen})_2](\text{NO}_3)_6\cdot\text{H}_2\text{O}$ , **4a**, as viewed down [0 0 1]. Hydrogen atoms, nitrate anions and water molecules omitted for clarity.

It should be noted that species **4a** is not thermodynamically stable, in solution, for a long time. The <sup>1</sup>H NMR studies reveal that it disproportionates, after 10 days in solution at room temperature, into a 1:2 mixture of a novel hexanuclear species of type  $[\text{Pd}_6(\text{en})_6(\mu\text{-}N,N'\text{-}2\text{-pyrimidinolate})_4(\mu\text{-}N,N'\text{-}4,7\text{-phenanthroline})_2]^{8+}$  (**5a**) and the previously mentioned trinuclear species  $[\text{Pd}_3(\text{en})_3(\mu\text{-}N,N'\text{-}2\text{-pyrimidinolate})(\mu\text{-}N,N'\text{-}4,7\text{-phenanthroline})_2]^{5+}$  (**3a**) (see pathway *f* in Scheme 1). The disproportionation reaction time can be shortened to *ca.* 24 h when the **4a** solution is heated at 80 °C.

Roughly speaking, this would imply an activation energy of *ca.* 40 kJ mol<sup>-1</sup>. Additionally, **5a** can also be obtained from a 3:4 reaction mixture of the homotopic species **1a** and **2**, which shows the sequential formation of heterotopic **3a** (after 2 h of reaction at 80 °C) and the subsequent reaction of the latter with unreacted **1a** to give **5a** (after 24 h of reaction at 80 °C) (see Fig. 1).

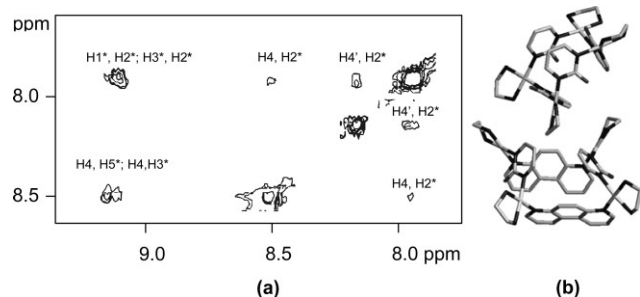
#### Hexanuclear species of type $[\text{Pd}_6(\text{en})_6(\mu\text{-}N,N'\text{-}L)_4(\mu\text{-}N,N'\text{-}4,7\text{-phen})_2]^{8+}$ (**5**)

Species **5a** has been characterised in solution by 1D <sup>1</sup>H NMR and 2D NOESY <sup>1</sup>H <sup>1</sup>H NMR spectra. The results agree with the formation of a novel heterotopic species containing ethylenediaminepalladium(II), 2-pyrimidinolate and 4,7-phenanthroline moieties in a 3:2:1 ratio. The spectra show the loss of the original equivalence of the two halves of the 2-pyrimidinolate ligands and the maintenance of the *C*<sub>2v</sub> symmetry for the 4,7-phenanthroline ligands. In addition, the phenanthroline resonances are shifted, H<sub>1,1'</sub> (+0.11 ppm), H<sub>2,2'</sub> (+0.15 ppm), H<sub>3,3'</sub> (–0.30 ppm) and H<sub>5,5'</sub> (–0.40 ppm), compared to the parent homotopic species **2**, whereas the 2-pyrimidinolate signals are high field shifted H<sub>4</sub> (–0.15 ppm), H<sub>4'</sub> (–0.52 ppm) and H<sub>5</sub> (–0.50 ppm), compared to the parent species **1a**. The NOE experiments show H<sub>2,2'</sub> (4,7-phen), H<sub>4</sub> (2-pymo) and H<sub>3,3'</sub> (4,7-phen), H<sub>4</sub> (2-pymo) exchange peaks. The fact that there are exchange peaks between the phenanthroline signals and both sides of pyrimidine ring suggests a folded, conformationally flexible metallacalix[6]arene of type **5** (Scheme 1). This situation is closely related to the one found for the homotopic hexanuclear species  $[\text{Pd}(\text{1,2-diaminecyclohexane})(N,N'\text{-}4,6\text{-dimethyl-2-pyrimidinolate})]^{6+}$ , which presents a folded conformationally flexible cyclic structure.<sup>10</sup> A hexanuclear species of type **5** would agree with both the stoichiometry and its flexible nature, which will also imply shielded phenanthroline and pyrimidinol moieties due to extensive intramolecular π–π interactions.

#### Host–guest chemistry

The tunable nature and size of the cavities of the metallacalix[*n*]arenes here described prompted us to explore their host–guest chemistry. In this regard, we have previously reported the receptor properties of metallacalix[*n*]arenes towards biorelevant mononucleotide anions<sup>8</sup> showing in some cases enantioselectivity.<sup>10</sup> In this respect, titration of **3c** and **4a** with adenosine-5'-monophosphate (AMP) shows high-field shifts in the <sup>1</sup>H NMR spectra of both host and guest resonances, which agrees with partial adenine heterocycle inclusion inside the metallacalix[*n*]arene cavities. It should also be noted that **4a** titration with AMP results in the appearance of broad sets of signals for the AMP resonances, showing the formation of a host–guest assembly with slow guest exchange rate. In this regard, the *ca.* 7.75 Å separation between the bases of the 2-pyrimidinolate residues is optimal for sandwiching the adenine heterocycle. In the case of the interaction of **3c** with AMP, we have a *K*<sub>ass</sub> value of 24 M<sup>-1</sup>, *ca.* three times lower than the one reported by us<sup>8</sup> for the interaction between **2** and AMP, which can be related to the smaller opening of the cavity of **3c**. It should also be noted that, as observed in previous cases, mononucleotide inclusion induces metallacalix[*n*]arene decomposition.<sup>8,10</sup>

The host–guest chemistry of these species is not restricted to anions: actually, we have observed, on the NOE experiments, cross-peaks between the H<sub>2,2'</sub> (4,7-phen of **4a**) and H<sub>4,4'</sub> (2-pymo of **1a**) resonances and the H<sub>5,5'</sub> (2-pymo of **4a**) and H<sub>5,5'</sub> (2-pymo of **1a**) ones (Fig. 7). This result suggests the formation of a supramolecular association of the type **4a–1a** (Fig. 7), in spite of the positive charge of both species. In order to discard that the NOE cross-peaks arise from a dynamic equilibrium between species **4a** and **1a**, we have exposed **4a** to the **1a** inert platinum analogue,  $[\text{Pt}(\text{en})(\mu\text{-}N,N'\text{-}2\text{-pymo})_4](\text{NO}_3)_4$ , and found also NOE cross-peaks between these two species, proving the formation of a supramolecular association of the type **4a–1**. The observed cross-peaks agree with intercalation of one of the 2-pymo residues of **1** into the molecular clip formed by the two 2-pymo residues of **4a**.



**Fig. 7** (a) Section of the 2D  $^1\text{H}$   $^1\text{H}$  NOESY spectrum ( $\text{D}_2\text{O}$ , 293 K, 400 MHz) of a solution containing **4a** and **1a**, showing the cross peaks between the  $\text{H}_4$  (2-pymo) resonances of the homotopic palladium square and the  $\text{H}_2^*$  (4,7-phen) ones of the heterotopic **4a** parallelogram, which are indicative of an association of both species in solution. Asterisk denotes (4,7-phen) resonances of **4a**. The 2-pymo resonances of **1a** are denoted with primes. (b) Proposed **4a**–**1a** assembly.

## Conclusions

In spite of the different nature of 2-pyrimidinolate derivatives and 4,7-phenanthroline bridging ligands, the results presented above prove that the heterotopic cyclic species are favoured over the homotopic ones, which might be related to entropic and statistical reasons as well. Steric factors play also an important role, favouring a specific product from the wide variety of possible ones. Moreover, the investigated reactions proceed almost quantitatively, thus suggesting also an enthalpic driving force. In conclusion, we have shown the possibilities of this strategy for tuning the nature and size of metallamacrocycles cavities for possible selective receptor purposes.

## Experimental

$[\text{Pd}(\text{en})(N,N'\text{-L})_4](\text{NO}_3)_4$  with  $\text{L} = 2$ -pyrimidinolate (**1a**), 4-methyl-2-pyrimidinolate (**1b**), 4,6-dimethyl-2-pyrimidinolate (**1c**)<sup>9d,e</sup> and  $[\text{Pd}_3(\text{en})_3(N,N'\text{-4,7-phen})_3](\text{NO}_3)_6$  (**2**)<sup>6</sup> were prepared according to literature methods. 2-pyrimidinol-HCl (2-Hpymo-HCl), 4-methyl-2-pyrimidinol-HCl (2-Hmpymo-HCl), purchased from Aldrich, were converted to the corresponding  $\text{HNO}_3$  adducts by anion exchange in a type 3 ion-exchange resin (Merck) in the nitrate form. 4,6-Dimethyl-2-pyrimidinol (2-Hdmpymo), 4,7-phenanthroline (4,7-phen) and monosodium salts of adenosine 5'-monophosphate (AMP) were used as received.

### Preparation of $[\text{Pd}_3(\text{en})_3(N,N'\text{-L})(N,N'\text{-4,7-phen})_2](\text{NO}_3)_6$ with $\text{L} = 2$ -pyrimidinolate (**3a**), 4-methyl-2-pyrimidinolate (**3b**), 4,6-dimethyl-2-pyrimidinolate (**3c**)

$[(\text{en})\text{PdCl}_2]$  (0.75 mmol) was suspended in an aqueous solution of  $\text{AgNO}_3$  (1.5 mmol) in water (25 mL); the suspension was stirred in the dark at 60 °C overnight. The resulting mixture was kept at 4 °C for some minutes before the  $\text{AgCl}$  precipitate was filtered off.

Afterwards, an aqueous solution (30 mL) containing 4,7-phenanthroline (0.5 mmol) and the corresponding 2-pyrimidinol (0.25 mmol) derivative was added to the filtrate and the pH was adjusted to 7.0 by means of  $\text{NaOH}$  1 M. The resulting pale yellow solution was allowed to react at 60 °C for 5 h. Alternatively, the type **3** species can be obtained from a 3 : 8 mixture of homotopic  $[\text{Pd}(\text{en})(N,N'\text{-L})_4](\text{NO}_3)_4$  and  $[\text{Pd}(\text{en})(N,N'\text{-4,7-phen})_3](\text{NO}_3)_6$  allowed to react at 80 °C for 2 h. Species **3a** to **3c** were characterized by 1D and 2D  $^1\text{H}$  NMR experiments, but only **3c** was isolated as a pure material in the solid state. X-ray quality crystals of **3c** were obtained after one week from the mother liquor.

**3a.**  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ , 25 °C, TMA):  $\delta$  (ppm) = 2.93–3.07 (m, 24H; en), 5.99 (t,  $J_{4,5} = 5.5$  Hz; 1H;  $\text{H}_5$  pymo), 7.93 (d, 2H;  $\text{H}_{4,4'}$  pymo), 7.97 (dd,  $J_{1,2} = 3.2$  Hz,  $J_{2,3} = 5$  Hz; 4H;  $\text{H}_{2,2'}$  phen), 9.26 (d, 2H;  $\text{H}_1$  phen), 9.29 (d, 2H;  $\text{H}_1$  phen), 9.56 (d, 2H;  $\text{H}_3$  phen), 9.8 (d, 2H;  $\text{H}_3$  phen), 10.34 (d,  $J_{5,5'} = 9.7$  Hz, 2H;  $\text{H}_5$  phen), 10.44 (d, 2H;  $\text{H}_5$  phen).

**3b.**  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ , 25 °C, TMA):  $\delta$  (ppm) = 2.93–3.07 (m, 24H; en), 6.17 (d,  $J_{5,6} = 5.8$  Hz; 1H;  $\text{H}_5$  mpymo), 7.90 (d, 1H;  $\text{H}_6$  mpymo), 7.96 (m, 4H;  $\text{H}_{2,2',2'',2''}$  phen), 9.28 (d,  $J_{1,2} = 8.3$  Hz, 4H;  $\text{H}_{1,1',1'',1''}$  phen), 9.57 (m, 2H;  $\text{H}_{3,3'}$  phen), 9.75 (d, 1H;  $\text{H}_3$  phen), 9.84 (d, 1H;  $\text{H}_3$  phen), 10.35 (d,  $J_{5,5'} = 9.6$  Hz, 1H;  $\text{H}_5$  phen), 10.45 (d, 1H;  $\text{H}_5$  phen), 10.60 (d, 1H;  $\text{H}_5$  phen), 10.67 (d, 1H;  $\text{H}_5$  phen).

**3c.** Elemental analysis (%): Calculated for  $\text{C}_{36}\text{H}_{63}\text{N}_{17}\text{O}_{24}\text{Pd}_3$  (1437.3 g mol<sup>-1</sup>): C 30.09, H 4.42, N 16.58. Found: C 30.19, H 4.47, N 16.60. Yield 60%.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ , 25 °C, TMA):  $\delta$  (ppm) = 2.9–3.1 (m, 24H; en), 2.87 (s, 6H;  $\text{CH}_3$  dmpymo), 6.15 (s, 1H;  $\text{H}_5$  dmpymo), 7.82 (dd,  $J_{1,2} = 8.5$  Hz,  $J_{2,3} = 5.2$  Hz; 4H;  $\text{H}_{2,2'}$  phen), 9.13 (d, 2H;  $\text{H}_1$  phen), 9.16 (d, 2H;  $\text{H}_1$  phen), 9.44 (d, 2H;  $\text{H}_3$  phen), 9.69 (d, 2H;  $\text{H}_3$  phen), 10.43 (d,  $J_{5,5'} = 9.6$  Hz, 2H;  $\text{H}_5$  phen), 10.66 ppm (d, 2H;  $\text{H}_5$  phen). The correspondence between single crystals and (re)crystallisation crude product was confirmed by X-ray powder diffraction.

### Preparation of $[\text{Pd}_4(\text{en})_4(N,N'\text{-L})_2(N,N'\text{-4,7-phen})_2](\text{NO}_3)_6$ with $\text{L} = 2$ -pyrimidinolate (**4a**)

$[(\text{en})\text{PdCl}_2]$  (1.5 mmol) was suspended in an aqueous solution of  $\text{AgNO}_3$  (3 mmol) in water (25 mL), and the suspension was stirred in the dark at 60 °C overnight. The resulting mixture was kept at 4 °C for some minutes before the  $\text{AgCl}$  precipitate was filtered off.

Afterwards, an aqueous solution (20 mL) containing 4,7-phenanthroline (0.75 mmol) and 2-Hpymo- $\text{HNO}_3$  (0.75 mmol) was added to the filtrate. Posterior adjustment of the pH to 7.0 by means of  $\text{NaOH}$  1 M and reaction at 80 °C for 24 h affords **4a** quantitatively ( $^1\text{H}$  NMR). Concentration of the solution to 10 mL in the rotavapor at 60 °C gives, after seven days, crystals suitable for X-ray analysis. Elemental analysis (%): Calculated for  $\text{C}_{40}\text{H}_{64}\text{N}_{22}\text{O}_{25}\text{Pd}_4$  (1678.76 g mol<sup>-1</sup>): C 28.62, H 3.84, N 18.35. Found: C 28.25, H 3.86, N 18.82. Yield 80%.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ , 25 °C, TMA):  $\delta$  (ppm) = 2.8–3.0 (m, 32H; en), 6.5 (t,  $J_{4,5} = 5.6$  Hz; 2H;  $\text{H}_5$  pymo), 7.9 (dd,  $J_{1,2} = 8.5$  Hz,  $J_{2,3} = 5.6$  Hz; 4H;  $\text{H}_{2,2'}$  phen), 8.50 (d, 4H;  $\text{H}_{4,4'}$  pymo), 9.19–9.22 (m, 8H;  $\text{H}_{1,1'}$ ,  $\text{H}_{3,3'}$  phen), 9.26 (s, 4H;  $\text{H}_{5,5'}$  phen). The correspondence between single crystals and (re)crystallisation crude product was confirmed by X-ray powder diffraction.

### Preparation of $[\text{Pd}_6(\text{en})_6(N,N'\text{-L})_4(N,N'\text{-4,7-phen})_2]^{8+}$ with $\text{L} = 2$ -pyrimidinolate (**5a**)

**5a** was obtained from a 3 : 4 mixture of homotopic species **1** and **2** which was allowed to react at 80 °C for 24 h. Species **5a** was characterized by 1D and 2D  $^1\text{H}$  NMR experiments. Alternatively, this species can be obtained from heating **4** for 24 h at 80 °C, giving a 2 : 1 mixture of **3a** and **5a**. Attempts to obtain **5a** as a pure material in the solid phase were fruitless.

**5a.**  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ , 25 °C, TMA):  $\delta$  (ppm) = 2.95–3.05 (m, 48H; en), 6.00 (t,  $J_{4,4'} = 5.5$  Hz,  $J_{4,5} = 2.4$  Hz; 4H;  $\text{H}_5$  pymo), 7.75 (dd, 4H;  $\text{H}_4$  pymo), 8.02 (m,  $J_{1,2} = 8.3$  Hz,  $J_{2,3} = 5.0$  Hz; 4H;  $\text{H}_{2,2'}$  phen), 8.12 (dd, 4H;  $\text{H}_4$  pymo), 9.39 (d, 4H;  $\text{H}_{1,1'}$  phen), 9.29 (d, 4H;  $\text{H}_{3,3'}$  phen), 10.03 (s, 4H;  $\text{H}_{5,5'}$  phen).

### $^1\text{H}$ NMR experiments

The  $^1\text{H}$  NMR experiments were recorded in  $\text{D}_2\text{O}$  on a Bruker ARX 400 instrument with tetramethylammonium tetrafluoroborate (TMA) as internal reference (3.18 ppm relative to TMS). 2D NOESY spectra were recorded at 296 K with mixing times in the range between 300 and 1500 ms with a total of 256  $t_1$  increments, each with 2048  $t_2$  complex points, were collected with each FID as the average of 32 or 24 transients.

### $^1\text{H}$ NMR titrations

$^1\text{H}$  NMR experiments carried out for studying the interaction between metallacalix[*n*]arenes and adenosinemonophosphate were performed in  $\text{D}_2\text{O}$  solutions at pD 7.1 in a 5 mm NMR tube

on a BRUKER ARX 400 (400 MHz) instrument with 2.5 mM metallacalix[n]arene concentration. <sup>1</sup>H NMR spectra were recorded for 10 different mixtures of increasing quantities of solid monosodium mononucleotide salts and the shifts of the phenanthroline H<sub>1,1'</sub> resonances were analyzed using a non linear least-squares method to determine the association constants  $K_{\text{ass}}$  value.<sup>12</sup>

## X-ray crystallography

For both **3c** and **4a**, suitable colourless prisms were mounted in air on the glass fibre tip of a goniometer head. Data collections were performed on a Bruker AXS SMART CCD area-detector equipped with graphite-monochromatised Mo K $\alpha$  radiation ( $\lambda = 0.71073$  Å), by applying the  $\omega$ -scan method with  $\Delta\omega = 0.3^\circ$ . For **3c**, 2400 frames were acquired with  $t = 25$  s per frame and sample-detector distance fixed at 4.89 cm. Data reduction within the hemisphere with  $2\theta < 50.1^\circ$  afforded 26280 reflections, of which 9518 unique. For **4a**, 1860 frames were acquired with  $t = 30$  s per frame and sample-detector distance fixed at 3.88 cm. Data reduction within the hemisphere with  $2\theta < 45.1^\circ$  afforded 19053 reflections, of which 3664 unique. An empirical absorption correction was applied in both cases.<sup>13</sup> The structures were solved by direct methods<sup>14</sup> and refined with full-matrix least squares calculations on  $F^2$ .<sup>15</sup> Anisotropic temperature factors were assigned to all atoms but (i) hydrogen atoms, riding their parent atoms with an isotropic temperature factor arbitrarily chosen as 1.2 times that of the parent itself, (ii) all water oxygens and (iii) disordered nitrates. Indeed, due to the presence of disorder heavily affecting both some water molecules and some nitrate groups, the two kinds of oxygens were assigned, each, a common isotropic temperature factor. Moreover, to convey further stability during the refinement stage, nitrate bond lengths and angles were restrained according to literature values (N–O 1.25 Å, O–N–O 120°). In the case of **3c**, (i) the five independent nitrate groups have been modeled as three ordered NO<sub>3</sub><sup>-</sup>s and three disordered NO<sub>3</sub><sup>-</sup>s with sofs adding up to two; (ii) the seven independent water molecules have been described as three ordered H<sub>2</sub>O and ten disordered H<sub>2</sub>O with sofs adding up to four. In the case of **4a**, the four independent nitrate groups have been modeled as two ordered NO<sub>3</sub><sup>-</sup>s and three disordered NO<sub>3</sub><sup>-</sup>s with sofs adding up to two. Water oxygen positions are substantiated by the presence of hydrogen-bond interactions.

CCDC reference numbers 236530, 236531.

See <http://www.rsc.org/suppdata/dt/b4/b408698h/> for crystallographic data in CIF or other electronic format.

## Acknowledgements

This work was supported by the Spanish Ministry of Science and Technology through Project: BQU2001-2955-CO2-01 and the 'Acción Integrada Hispano-Italiana': HI2003-0081). SG deeply thanks professors A. Sironi and N. Masciocchi for their help. JARN thanks Johnson Matthey for a generous loan of PdCl<sub>2</sub>.

## References

- For discrete metal directed assemblies see e.g. (a) Supramolecular Chemistry and Self-Assembly, a special issue of *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2002, **99**(8); (b) D. L. Caulder and K. N. Raymond, *Acc. Chem. Res.*, 1999, **32**, 975–982; (c) R. H. Fish, *Coord. Chem. Rev.*, 1999, **186**, 569–584; (d) S. Lenninger, B. Olenyuk and P. J. Stang, *Chem. Rev.*, 2000, **100**, 853–907; (e) J. A. R. Navarro and B. Lippert, *Coord. Chem. Rev.*, 2001, **222**, 219–250; (f) R. W. Saalfrank, E. Uller, D. Demleitner and I. Bernt, *Struct. Bonding (Berlin)*, 2000, **96**, 149–176; (g) A. Houlton, A. E. Gibson, M. A. Shipman and C. Price, *Chem. Eur. J.*, 2000, **6**, 4371–4378; (h) B. J. Holliday and C. A. Mirkin, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2001, **40**, 2022–2043; (i) J. J. Bodwin, A. D. Cutland, R. G. Malkani and V. L. Pecoraro, *Coord. Chem. Rev.*, 2001, **216**, 489–512; (j) K. Sverin, *Coord. Chem. Rev.*, 2003, **245**, 3–10; (k) F. Würthner, C.-C. Yu and C. R. Saha-Möller, *Chem. Soc. Rev.*, 2004, **33**, 133–146.
- For extended metal organic frameworks see e.g. (a) O. M. Yaghi, M. O'Keefe, N. W. Ockwig, H. K. Chae, M. Eddaoudi and J. Kim, *Nature*, 2003, **423**, 705–714; (b) C. Janiak, *Dalton Trans.*, 2003, 2781–2804; (c) S. L. James, *Chem. Soc. Rev.*, 2003, **32**, 276–288; (d) S. Kitagawa, R. Kitaura and S. Noro, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2004, **43**, 2334–2375.
- (a) Y. Kubota, S. Sakamoto, K. Yamaguchi and M. Fujita, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2002, **99**, 4854–4856; (b) D. Fiedler, D. H. Leung, R. G. Bergman and K. N. Raymond, *J. Am. Chem. Soc.*, 2004, **126**, 3674–3675; (c) M. Albrecht, *J. Inclusion Phenom.*, 2000, **36**, 127–151; (d) R. Vilar, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2003, **42**, 1460–1477.
- (a) Z. Grote, R. Scopelliti and K. Sverin, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2003, **42**, 3821–3825; (b) J. R. Nitschke and J. M. Lehn, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2003, **100**, 11970–11974.
- (a) T. Kusukawa and M. Fujita, *J. Am. Chem. Soc.*, 1999, **121**, 1397–1398; (b) M. Yoshizawa, T. Kusukawa, M. Fujita and K. Yamaguchi, *J. Am. Chem. Soc.*, 2000, **122**, 6311–6312; (c) M. Yoshizawa, Y. Takeyama, T. Kusukawa and M. Fujita, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2002, **41**, 1347–1409.
- S. Y. Yu, H. Huang, H. B. Liu, Z. N. Chen, R. B. Zhang and M. Fujita, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2003, **42**, 686–690.
- (a) H. Chen, S. Ogo and R. H. Fish, *J. Am. Chem. Soc.*, 1996, **118**, 4993–5001; (b) Z. Q. Qin, M. C. Jennings and R. J. Puddephatt, *Inorg. Chem.*, 2002, **41**, 3967–3974; (c) H. Piotrowski, K. Polborn, G. Hilt and K. Sverin, *J. Am. Chem. Soc.*, 2001, **123**, 2699–2700; (d) M. J. Rauterkras and B. Krebs, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2003, **43**, 1300–1303.
- M. A. Galindo, J. A. R. Navarro and M. A. Romero, *Dalton Trans.*, 2004, 1563–1566.
- (a) H. Rauter, E. C. Hillgeris, A. Erxleben and B. Lippert, *J. Am. Chem. Soc.*, 1994, **116**, 616–624; (b) J. A. R. Navarro, M. B. L. Janik, E. Freisinger and B. Lippert, *Inorg. Chem.*, 1999, **38**, 426–432; (c) J. A. R. Navarro, E. Freisinger and B. Lippert, *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2000, 147–151; (d) J. A. R. Navarro, E. Freisinger and B. Lippert, *Inorg. Chem.*, 2000, **39**, 2301–2305; (e) J. A. R. Navarro and J. M. Salas, *Chem. Commun.*, 2000, 235–236.
- E. Barea, J. A. R. Navarro, J. M. Salas, M. Quirós, M. Willermann and B. Lippert, *Chem. Eur. J.*, 2003, **9**, 4414–4421.
- K. Yamanari, S. Yamamoto, R. Ito, Y. Kushi, A. Fuyuhiko, N. Kubota, T. Fukuo and R. Arakawa, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2001, **40**, 2268–2271.
- H. Sigel, K. H. Scheller, V. M. Rheinberger and B. E. Fischer, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1980, 1022–1028.
- G. M. Sheldrick, *SADABS, Program for area detector adsorption correction*, Institute for Inorganic Chemistry, University of Göttingen, Germany, 1996.
- A. Altomare, M. C. Burla, M. Camalli, G. L. Cascarano, C. Giacovazzo, A. Guagliardi, A. G. G. Moliterni, G. Polidori and R. Spagna, *J. Appl. Crystallogr.*, 1999, **32**, 115; *SIR97: package for structure solution by direct methods*, A. Altomare, G. Cascarano, C. Giacovazzo, A. Guagliardi, A. G. G. Moliterni, M. C. Burla, G. Polidori, M. Camalli, R. Spagna, University of Bari, Bari, Italy, 1997.
- G. M. Sheldrick, *SHELX-97, Program for refinement of crystal structures*, University of Göttingen, Germany, 1997.

## **ANEXO IV**

### **Soft functional polynuclear coordination compounds containing pyrimidine bridges**

(Journal of Solid State Chemistry, 2005, 178, 2436-2451)

## Soft functional polynuclear coordination compounds containing pyrimidine bridges

Jorge A.R. Navarro<sup>a,\*</sup>, Elisa Barea<sup>a</sup>, Miguel A. Galindo<sup>a</sup>, Juan M. Salas<sup>a</sup>,  
M. Angustias Romero<sup>a</sup>, Miguel Quirós<sup>a</sup>, Norberto Masciocchi<sup>b,\*\*</sup>,  
Simona Galli<sup>b</sup>, Angelo Sironi<sup>c</sup>, Bernhard Lippert<sup>d,\*\*\*</sup>

<sup>a</sup>Departamento de Química Inorgánica, Universidad de Granada, Av. Fuentenueva S/N, 18071 Granada, Spain

<sup>b</sup>Dipartimento di Scienze Chimiche e Ambientali, Università dell'Insubria, Via Valleggio 11, 22100 Como, Italy

<sup>c</sup>Dipartimento di Chimica Strutturale e Stereochimica Inorganica, Università di Milano and Istituto di Scienze e Tecnologie Molecolari del CNR (ISTM-CNR), Via Venezian 21, 20133 Milano, Italy

<sup>d</sup>Fachbereich Chemie, Universität Dortmund, Otto-Hahn-Strasse 6, D-44221 Dortmund, Germany

Received 8 February 2005; accepted 13 May 2005

Available online 29 June 2005

### Abstract

In this account, we describe the use of simple pyrimidine derivatives in combination with metal ions to build highly structured molecular architectures containing functional nanoenvironments, cavities and surfaces that can interact with additional species. The supramolecular structure of these systems can be rationally controlled by metal fragment geometry, reaction conditions and presence of templating agents. Thus, the use of transition metals with low coordination numbers or blocked bonding positions in combination with pyrimidines (e.g. 2-hydroxypyrimidine, 4-hydroxypyrimidine, 2,4-dihydroxypyrimidine, 2-aminopyrimidine) leads to the formation of either discrete assemblies, 1D polymers or helices. When metal ions with higher coordination possibilities are applied instead, 2D and 3D networks are generated. Some of the assemblies built in this way possess functional cavities, pores and surfaces that can interact with additional species by means of hydrophobic, electrostatic, H-bonding interactions and coordinative bonds to give rise to recognition processes. The latter range from molecular recognition in homogeneous phase as well as clathrate formation, to heterogeneous solid–gas and solid–liquid adsorption phenomena. It should be noted that these materials are not rigid but able to undergo guest-induced reorganisation processes even in the solid state. Finally, some of these materials also combine additional interesting magneto-optical properties. Thus, dual systems can be envisaged in which two or more of these properties are present in the same material.

© 2005 Elsevier Inc. All rights reserved.

**Keywords:** Open metal organic frameworks; Host–guest chemistry; Supramolecular chemistry; Ion pair receptors; Solid–gas sorption; Solid–liquid sorption; Solid-to-solid reaction; Phase transition

### 1. Introduction

Transition metal ions have proven to be extremely important in self-assembly processes leading to discrete nano-sized species or infinite coordination polymers [1]. Small protein-sized molecules have been synthesised in this way [2], and there are numerous reports on exciting host–guest chemistry of such systems and interesting applications relevant to sensing, sieving and catalysis,

\*Corresponding author. Fax: +34 95 824 85 26.

\*\*Corresponding author. Fax: +39 031 2386119.

\*\*\*Corresponding author. Fax: +49 231 755 3797.

E-mail addresses: [jarn@ugr.es](mailto:jarn@ugr.es) (J.A.R. Navarro), [norberto.masciocchi@unisubria.it](mailto:norberto.masciocchi@unisubria.it) (N. Masciocchi), [bernhard.lippert@uni-dortmund.de](mailto:bernhard.lippert@uni-dortmund.de) (B. Lippert).

among others [3]. Molecular capsules have also been used to stabilise highly reactive species (“ship-in-a-bottle” synthetic strategies) and to carry out selective reactions in the confined space of a capsule [4].

Zeolitic nanoporous materials are of great interest in regard of their wide range of technological applications (for example acting as molecular sieves, ion exchangers, catalysts [5] and as supporters of active components [6]). Although they are chemically stable, their functionalisation and preparation, with a rigorous control of the pore size, are difficult. These materials are also limited by the implicit anionic nature of the structure framework. In addition, they lack interesting features such as homochirality or flexibility that are found in the catalytic sites of enzymes. Application of self-assembly processes of suitable building blocks of metal ions and organic ligands is an advantageous way to obtain alternative nanoporous materials [2,3,7]. In addition, this strategy not only increases the range of possible architectures due to the diverse stereochemical properties of metal ions, but also enormously expands the functional properties of these systems. For instance, the resulting materials possess the magnetic, optical, catalytic and structural properties intrinsic to metal ions [8,9] and the flexibility and functionality of the organic linkers [10,11]. Thus, very promising compounds have been developed in this way with properties ranging from the secure storage of highly reactive gases [7,11] to the development of catalysts [9,10].

### 1.1. Molecular architecture with metal ions and pyrimidines

Pyrimidine derivatives, in spite of their simplicity, are very versatile systems. Their ability for giving specific H-bonding patterns as a key step in the storage and transmission of genetic information is a well-known process [12]. Their efficiency in binding metal ions is also well known. Indeed, they are ideally suited for acting as bridges of two or more metal ions to give both discrete and extended polynuclear compounds [13]. Simultaneous presence of coordinative bonds and H-bonding interactions is also an advantageous way for constructing complex supramolecular assemblies [14].

The structure and dimensionality of this type of materials can be controlled from discrete to infinite 3D polymeric open-frameworks, in a rational way, by the right choice of pyrimidine functionalisation, H-bonding donor–acceptor sequences, metal fragment geometries, reaction conditions and presence of templating agents [14].

The synthetic strategy employed by us to build aggregated complexes is very simple. As shown in Fig. 1, considering only the participation of the endocyclic pyrimidine N atoms and simple metal fragment geometries or H-bonds, cyclic open boxes,

planar hexagons, 1D polymeric chains or helices and 2D or 3D extended materials can be obtained. However, it should be noted that we have employed substituted pyrimidines, which lead to additional possibilities to create materials with functionalised cavity surfaces and pores able to interact with other species. Depending on the pyrimidine functionalisation, highly specific molecular recognition processes for cationic, neutral or anionic species by means of a mixture of hydrophobic, electrostatic and H-bonding interactions and coordinative bonds are possible.

The examples described hereafter range from molecular recognition in homogeneous phase to formation of clathrates, as well as heterogeneous solid–gas and solid–liquid adsorption processes. For the latter systems, it should be noted that, in spite of their extended nature, they are not rigid but able to give guest-induced solid-to-solid-phase transitions (see below). Finally, some of these materials also combine additional interesting magneto-optical properties (see below). Thus, dual systems can be envisaged in which two or more of these properties are present in a material.

#### 1.1.1. The pyrimidine ligands

In recent years, we have studied metal complexes formation with simple pyrimidine (pym) derivatives: 2-hydroxypyrimidine (2-Hpymo), 2-hydroxy-5-nitropyrimidine (2-Hnitropymo), 4-hydroxypyrimidine (4-Hpymo), 4,6-dimethyl-2-hydroxypyrimidine (2-Hdmpymo), uracil (UH<sub>2</sub>), 2-aminopyrimidine (Hampym), and the pyrimidine geometrically related heterocycle 4,7-phenanthroline (4,7-Phen) (Fig. 2). We have paid special attention to the programmed construction of aggregates containing functional cavities, channels or surfaces. All these ligands are characterised by their rigid nature, the 120° disposition of the ideal bonding of the endocyclic N atoms and the possibility of additional interactions either through their exocyclic substituents or their  $\pi$ -surface.

#### 1.1.2. The metals

The geometry, reaction kinetics and electronic nature of the metal ions involved in the formation of the supramolecular structure will determine the structure itself, its robustness and its functional properties. Metal ions exhibiting fast reactivity, i.e. first row divalent transition metal ions and Pd<sup>II</sup>, Cd<sup>II</sup>, Ag<sup>I</sup> and Cu<sup>I</sup>, are suited for giving efficient self-assembly processes to build well-structured supramolecular systems. The geometrical preferences of these metal ions, i.e. linear, square-planar, tetrahedral or octahedral stereochemistry or the presence of blocked coordination positions in the metal entity will also determine the type of product to be obtained. Nevertheless, in some cases, deviation from ideal angles will be an added value for the obtention of unexpected novel frameworks.



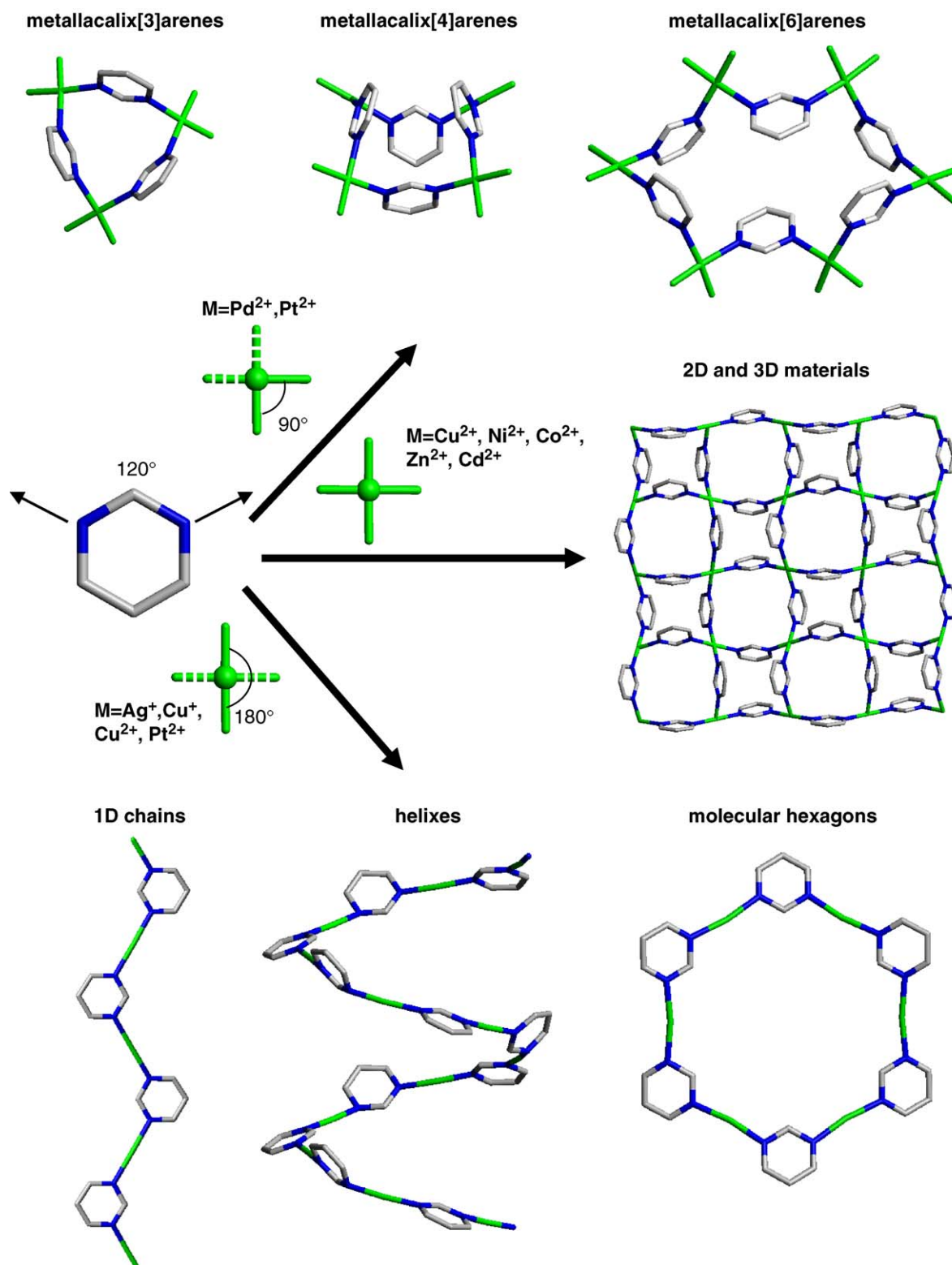


Fig. 1. Framework topologies built upon self-assembly processes involving pyrimidine moieties and metal fragments of different geometric requirements.

Another interesting feature of the systems reported here is that, in spite of the rigid nature of the bridging ligands, they are conformationally flexible even in the

case of extended compounds, due to the possibility of rotation about the metal–N atom bonds. In the following, selected examples originated from our work

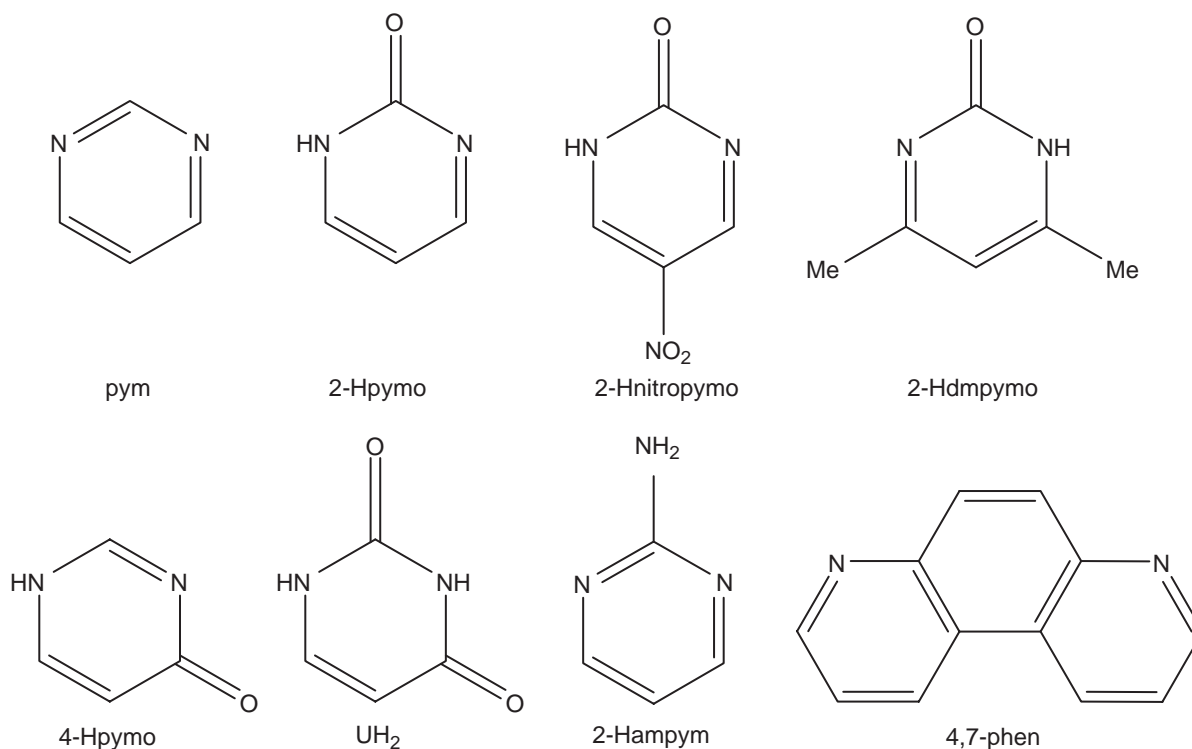


Fig. 2. Pyrimidine (pym), 2-hydroxypyrimidine (2-Hpymo), 2-hydroxy-5-nitropyrimidine (2-Hnitropymo), 4,6-dimethyl-2-hydroxypyrimidine (2-Hdmpymo), 4-hydroxypyrimidine (4-Hpymo), uracil (UH<sub>2</sub>), 2-aminopyrimidine (2-ampym), 4,7-phenanthroline (4,7-Phen).

will be presented and discussed. As it will be pointed out, the high affinity of some of these ligands for more than just one metal ion frequently leads to supramolecular entities that are rich in metal ions, nevertheless, these materials not always are highly charged.

## 2. Metallacalixarenes. *Cis* geometry of the metal

### 2.1. Metallacalixarenes built of pyrimidine ligands

#### 2.1.1. Uracil metallacalix[4]arenes

We have shown that the *cis* blocked metal entity [Pt(en)Cl<sub>2</sub>] reacts with unsubstituted uracil (UH<sub>2</sub>) to give *cis*-[(en)PtCl(UH-N1)] (**1**). Upon hydrolysis of the chloride ligand, the monomeric complex spontaneously tetramerises to the cyclic complex [(en)Pt(μ-UH-N1,N3)]<sub>4</sub><sup>4+</sup> (**2**) [15]. **2** crystallises (as NO<sub>3</sub><sup>-</sup> salt) in a 1,3-alternate arrangement, meaning that oppositely positioned uracil bases adopt pairwise identical orientations, viz. have their O2 groups up and down, respectively. This conformation is strongly stabilised by the formation of short O2H...O4 H-bonding interactions between adjacent uracil heterocycles (Fig. 3).

The resemblance of this compound with purely organic calix[4]arenes [16] is obvious and, consequently, it was termed “metallacalix[4]arene”. In this

calix[4]arene analogue, the phenol and methylene groups have been replaced by the uracil and ethylenediamineplatinum(II) moieties, respectively. As in the calix[4]arenes, the partially hindered rotation of the pyrimidine nucleobases about the Pt–N bonds, permits conformational changes in solution. In the case of **2**, this equilibrium is pH dependent and influenced by the presence of additional transition metal ions. Indeed, the conformers of cation **2** have been proven to be unique in the sense that they can act as both cation binders (due to the availability of exocyclic oxygen donors in 2- and 4-positions in the alternate conformer [17] or to the 2-positions in the case of the cone conformer [18]) and as anion receptors inside the hydrophobic cavity of the cone conformer, both in the solid state and in solution [18]. As an example, Fig. 4. shows the formation of a helix of [(en)<sub>4</sub>Pt<sub>4</sub>(μ<sub>4</sub>-UH-N1,N3,O2,O4)<sub>4</sub>Zn(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>]<sub>n</sub><sup>2n+</sup> formula (**3**) with the **2** residues exhibiting a cone conformation strongly stabilised after [Zn(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>]<sup>2+</sup> binding at their oxo-surface. The charge of this system is partially balanced by Tol–SO<sub>3</sub><sup>-</sup> counterions with their hydrophobic residues pointing inside the metallacalix[4]arene cavities.

#### 2.1.2. Hydroxypyrimidine metallacalix[*n*]arenes

An even closer structural resemblance to calixarenes can be achieved by employing 2-hydroxypyrimidine instead of uracil in [(en)M(2-pymo-N1,N3)]<sub>4</sub><sup>4+</sup> (M = Pd<sup>II</sup>

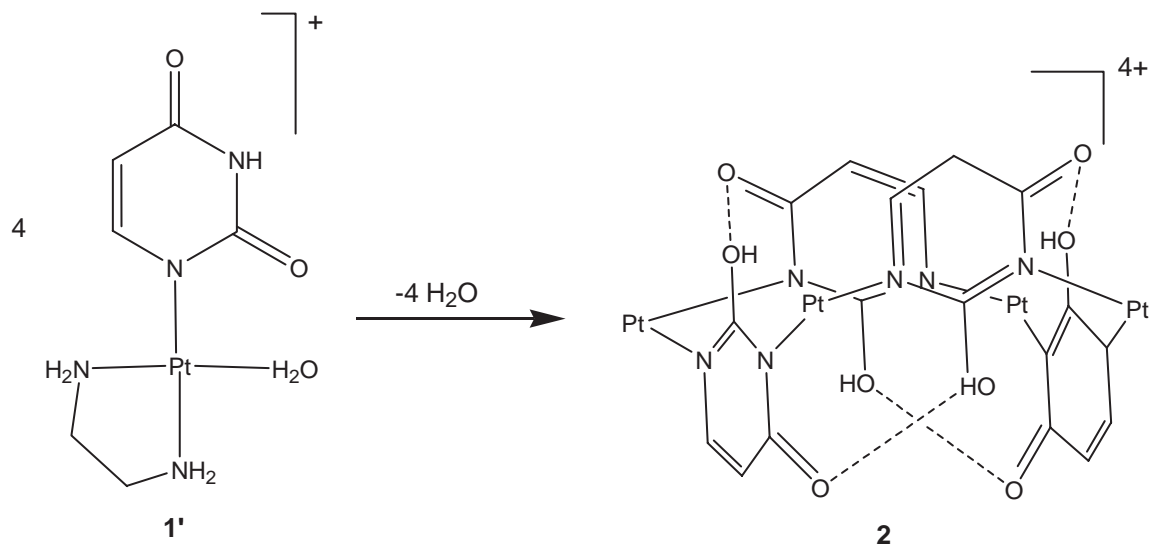


Fig. 3. Self-assembly of  $[(\text{en})\text{Pt}(\text{H}_2\text{O})(\text{UH-N1})]^+$  (**1'**) to the calix[4]arene analogue  $[(\text{en})\text{Pt}(\mu\text{-UH-N1,N3})]_4^{4+}$  (**2**) in its 1,3 alternate conformation [15].

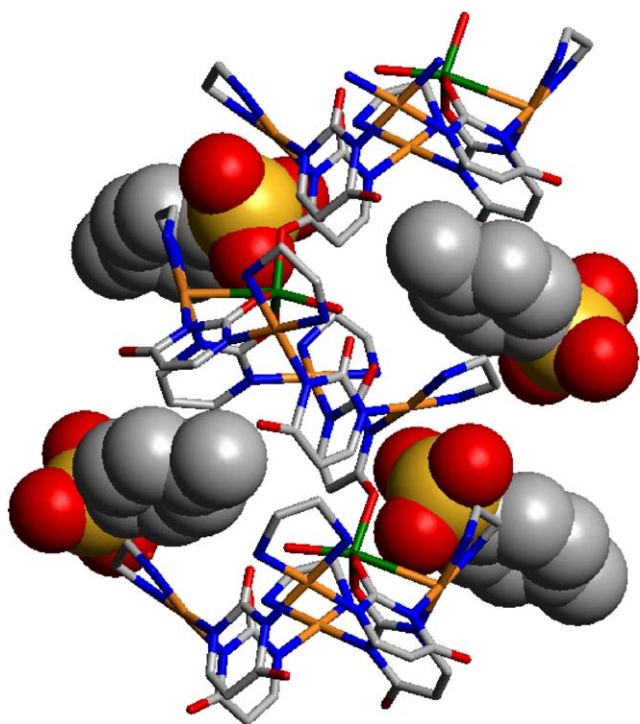


Fig. 4.  $[(\text{en})_4\text{Pt}_4(\text{U-N1,N3,O2,O4})_4\text{Zn}(\text{H}_2\text{O})_2]^{2n+}$  (**3**) helix and  $\text{Tol-SO}_3^-$  counterions (Zn; Pt; S; C; N; O). This result shows the ability of the  $[(\text{en})_4\text{Pt}_4(\text{U-N1,N3})_4]$  (**2**) species as an ion pair receptor. The insertion of the hydrophobic residues of the sulfonate anions in the cone cavities should be noted [18].

(**4**) and  $\text{Pt}^{\text{II}}$  (**5**) systems. The lack of an oxygen in the 4 position results in an almost free rotation about the  $M\text{-N}$  bonds leading to highly conformationally flexible metallacalixarenes. The X-ray crystallographic studies on the nitrate salts of species **4** and **5** show a

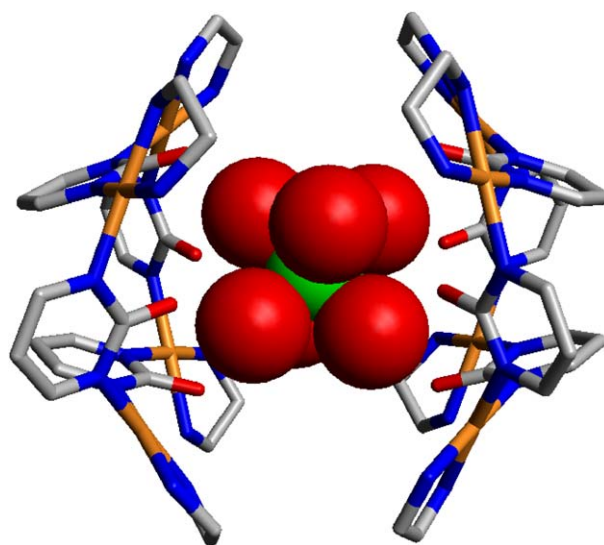


Fig. 5. View of the supramolecular association  $\{[(\text{en})\text{Pt}(2\text{-pymo-N1,N3})_4]_2[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_6]\}^{10+}$  resulting from the molecular recognition of  $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$  ions by the  $[(\text{en})\text{Pt}(2\text{-pymo-N1,N3})]_4^{4+}$  (**5**) oxo-surface (Pt, Cu, C, N, O) [19].

1,3-alternate conformation. However, cocrystallisation of **5** with  $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$  results in two  $[(\text{en})\text{Pt}(2\text{-pymo-N1,N3})]_4^{4+}$  (**5**) moieties sandwiching a  $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$  ion between their oxo surfaces, which adopt a pinched-cone conformation to give the supramolecular  $\{[(\text{en})\text{Pt}(2\text{-pymo-N1,N3})]_4\}_2[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_6]\}^{10+}$  system (Fig. 5) [19]. This result also points to a more reduced basicity of the exocyclic oxygen atoms in **4** and **5** species compared to **2**, which apparently prevents direct coordination of other metal ions to the oxo surface. Indeed, titration of **5** with  $\text{HClO}_4$  does not lead to calix protonation but to

isolation of a  $\text{H}_{20}\text{O}_8^{4+}$  protonated water cluster encapsulated by two **5** cations [19].

On the contrary, by reacting 4,6-dimethyl-2-hydroxypyrimidine and  $[(\text{en})\text{Pd}^{\text{II}}]$  and cocrystallising the resulting metallacalix[4]arene with the hard  $\text{Gd}^{3+}$  metal ion resulted in the formation of the capped metallacalixarene  $[(\text{en})_4\text{Pd}_4(2\text{-dmpymo-}N1,N3,O2)_4\text{Gd}(\text{NO}_3)_2(\text{H}_2\text{O})]^{5+}$  (**6**), which could be fully characterised by X-ray diffraction, showing the simultaneous coordination of the four exocyclic  $O2$  atoms to  $\text{Gd}^{3+}$  (Fig. 6) [20]. The direct interaction of  $\text{Gd}$  with the metallacalixarene oxosurface is also responsible for the cone conformation fixation, which is the most appropriate for giving host–guest interactions.

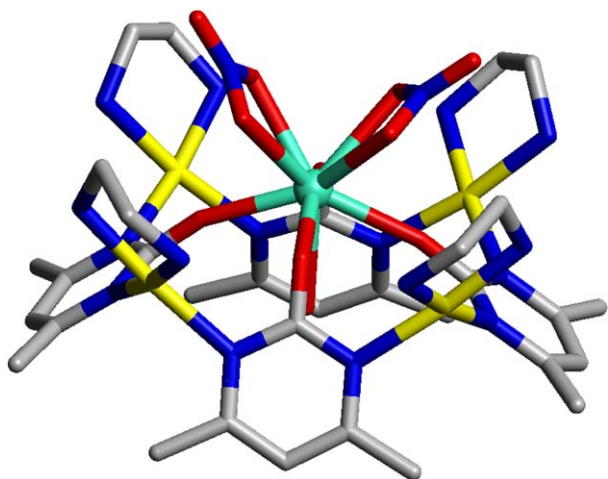


Fig. 6. Structure of  $[(\text{en})_4\text{Pd}_4(2\text{-dmpymo-}N1,N3,O2)_4\text{Gd}(\text{NO}_3)_2(\text{H}_2\text{O})]^{5+}$  (**6**) ( $\text{Gd}$ ,  $\text{Pd}$ ,  $\text{C}$ ,  $\text{N}$ ,  $\text{O}$ ) [20].

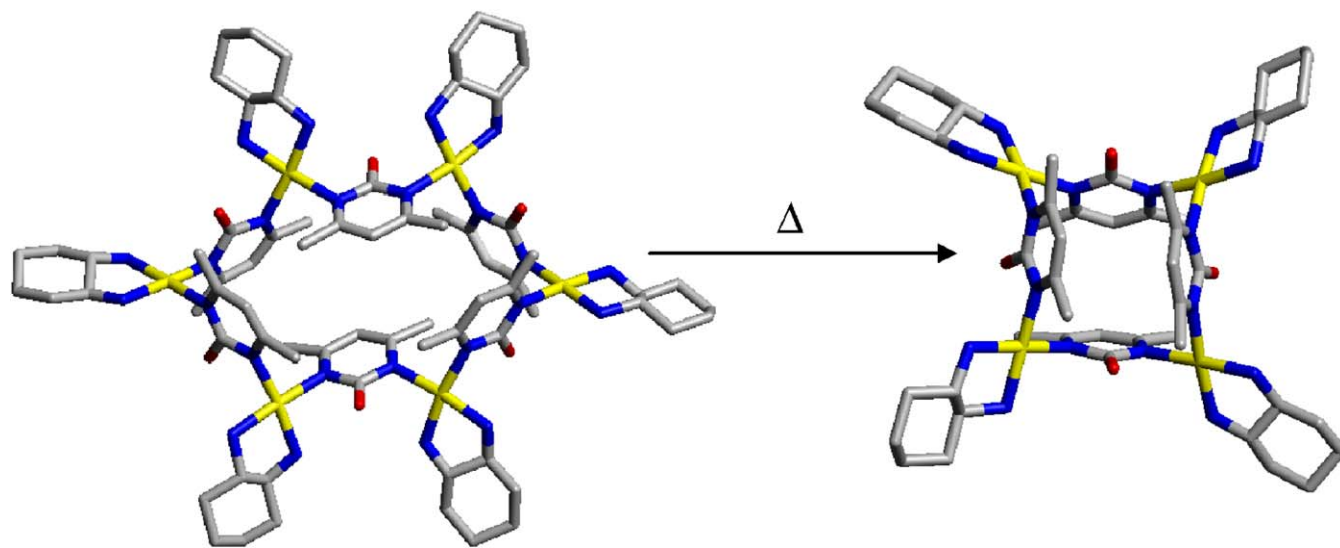


Fig. 7. Conversion of the metallacalix[6]arene  $[(\text{dach})\text{Pd}(2\text{-dmpymo})]_6^{6+}$  (**7**) into the thermodynamically favoured  $[(\text{dach})\text{Pd}(2\text{-dmpymo})]_4^{4+}$  (**8**) metallacalix[4]arene upon heating at  $60^\circ\text{C}$  for 6 h. Coordinates from crystal structures of the nitrate salts of **7** and **8** ( $\text{Pd}$ ;  $\text{C}$ ;  $\text{N}$ ;  $\text{O}$ ) [21].

### 2.1.3. Homochiral metallacalixarenes. Enantioselective recognition of AMP

Enantiopure metallacalix[ $n$ ]arenes can also be synthesised by employing pure  $R,R$ -1,2-diaminecyclohexane ( $R,R$ -dach) or  $S,S$ -1,2-diaminecyclohexane ( $S,S$ -dach), instead of ethylenediamine, as *cis* blocking ligand [21].

The most stable species are the tetranuclear metallacalix[4]arenes, which could be obtained in all cases. However, a hexanuclear species, namely  $[(\text{dach})\text{Pd}(2\text{-dmpymo-}N1,N3)]_6^{6+}$  (**7**), has also been isolated and fully characterised. The  $^1\text{H}$  NMR experiments show, upon heating, a slow conversion process of  $[(\text{dach})\text{Pd}(2\text{-dmpymo-}N1,N3)]_6^{6+}$  (**7**) into the thermodynamically stable species  $[(\text{dach})\text{Pd}(2\text{-dmpymo-}N1,N3)]_4^{4+}$  (**8**) (Fig. 7).

The receptor properties of these metallacalixarenes towards mononucleotides have been explored. The results show that an enantioselective recognition process between  $[(R,R\text{-dach})\text{Pd}(2\text{-dmpymo})]_4^{4+}$  (**8a**) and  $[(S,S\text{-dach})\text{Pd}(2\text{-dmpymo})]_4^{4+}$  (**8b**) towards AMP takes place in aqueous media (Fig. 8).

## 2.2. Metallacalixarenes containing 4,7-phenanthroline bridges

### 2.2.1. Homotopic metallacalixarenes

The versatile host–guest properties of pyrimidine metallacalixarenes prompted us to study related systems. Yu et al. [22] have recently reported the formation of conformationally rigid metallacalix[3]arenes of  $[(\text{en})M(4,7\text{-phen})]_3^{6+}$  type, with  $M = \text{Pd}$  (**9**) and  $\text{Pt}$  (**10**). We have prepared the homochiral species  $[(R,R\text{-dach})\text{Pd}(4,7\text{-phen})]_3^{6+}$  (**11a**) and  $[(S,S\text{-dach})\text{Pd}(4,7\text{-phen})]_3^{6+}$  (**11b**) and studied the receptor properties of **9** and **11** towards mononucleotides (Fig. 9). The results show that

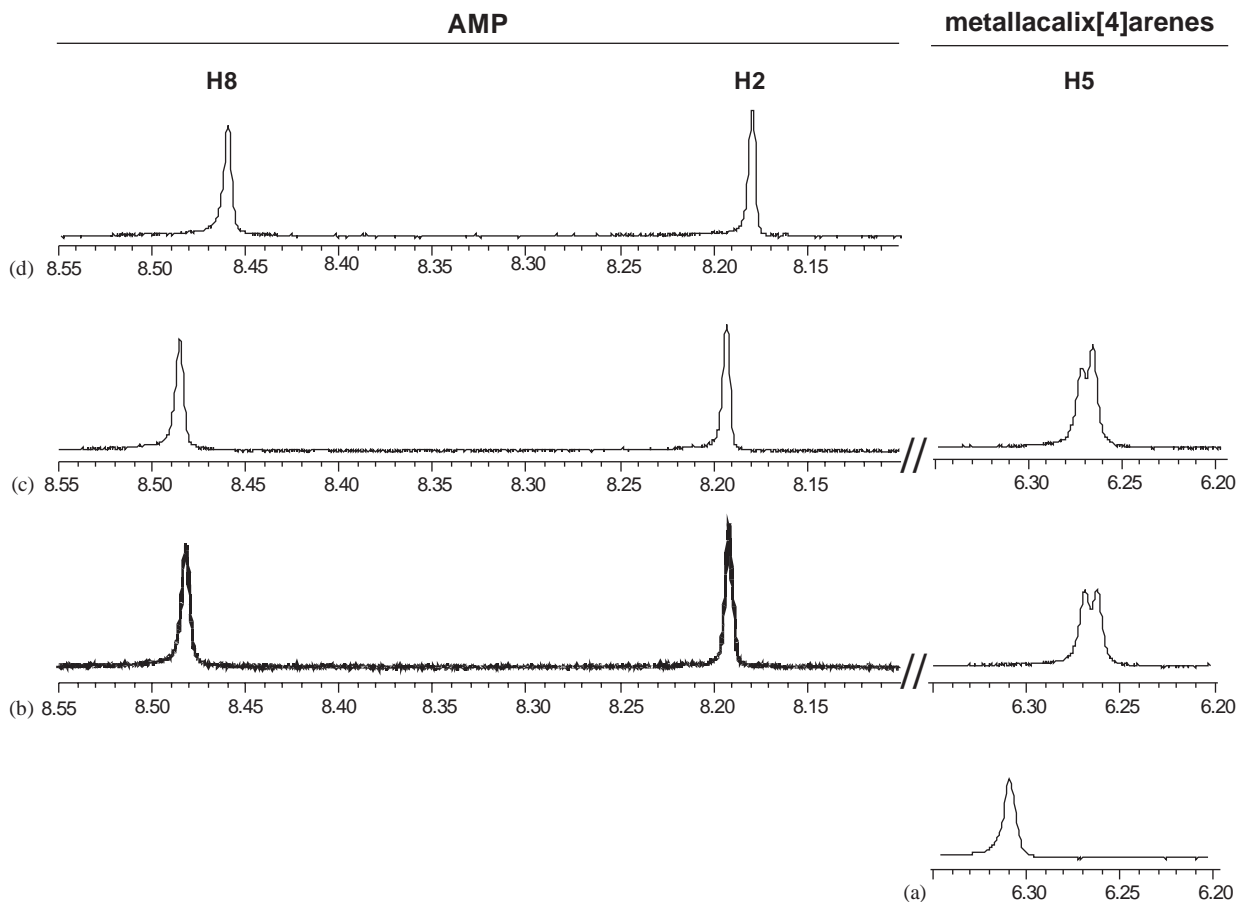


Fig. 8. (a) H5 signal corresponding to a solution containing, simultaneously,  $[(R,R\text{-dach})\text{Pd}(2\text{-dmpymo})_4(\text{NO}_3)_4]$  (**8a**) and  $[(S,S\text{-dach})\text{Pd}(2\text{-dmpymo})_4(\text{NO}_3)_4]$  (**8b**) enantiomers (1:1 ratio). (b) Splitting of the metallacalix[4]arene H5 signal due to the addition of AMP (1:4 ratio). (c) Addition of a larger quantity of the *R,R*-isomer permits unequivocal assignment of the two diastereoisomers. (d) H8 and H2 resonances for free AMP ( $\text{pH}^* 6$ ) [21].

both **9** and **11** undertake stronger interactions with mononucleotides than the pyrimidine metallacalixarenes reported before [23]. This recognition process is however followed by metallacalixarene decomposition after ligand displacement by the corresponding mononucleotide.

### 2.2.2. Heterotopic metallacalixarenes containing pyrimidine and 4,7-phenanthroline bridges

The size and shape of metallacalixarene cavities can be modulated by the simultaneous combination of pyrimidine and 4,7-phenanthroline bridges:  $[(\text{en})_n\text{Pd}_n(2\text{-pymo-}N1,N3)_m(4,7\text{-phen-}N4,N7)_{n-m}]^{(2n-m)+}$  [ $n = 3, m = 1$  (**12**);  $n = 4, m = 2$  (**13**);  $n = 6, m = 4$  (**14**)] [24]. These species can be obtained by different reaction pathways, including: (i) reaction of ethylenediaminepalladium(II), 2-pymo and 4,7-phen building blocks and (ii) reaction of the homotopic species  $[(\text{en})_4\text{Pd}_4(2\text{-pymo-}N1,N3)_4]^{4+}$  (**4**) and  $[(\text{en})\text{Pd}(4,7\text{-phen-}N4,N7)]_3^{6+}$  (**9**). The resulting heterotopic metallamacrocycles have been characterised by 1D and 2D  $^1\text{H}$  NMR spectro-

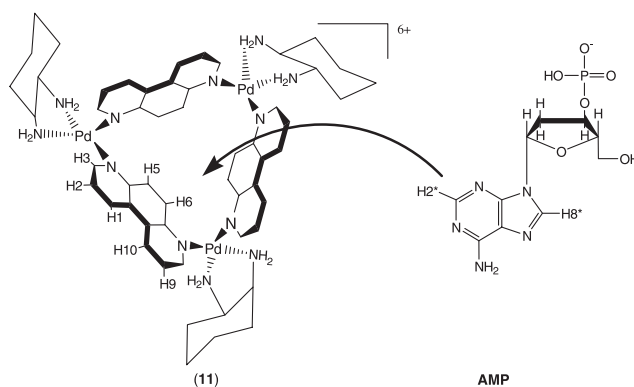


Fig. 9. Mononucleotide recognition process of species **11** towards AMP [23].

scopy. Additionally, species **12** and **13** have been studied by X-ray crystallography (Fig. 10). The former contains an almost isosceles triangle of  $[(\text{en})_3\text{Pd}_3(2\text{-dmpymo-}N1,N3)(4,7\text{-phen-}N4,N7)_2]^{5+}$  formulation, exhibiting a pinched-cone conformation. **13** contains a tetranuclear

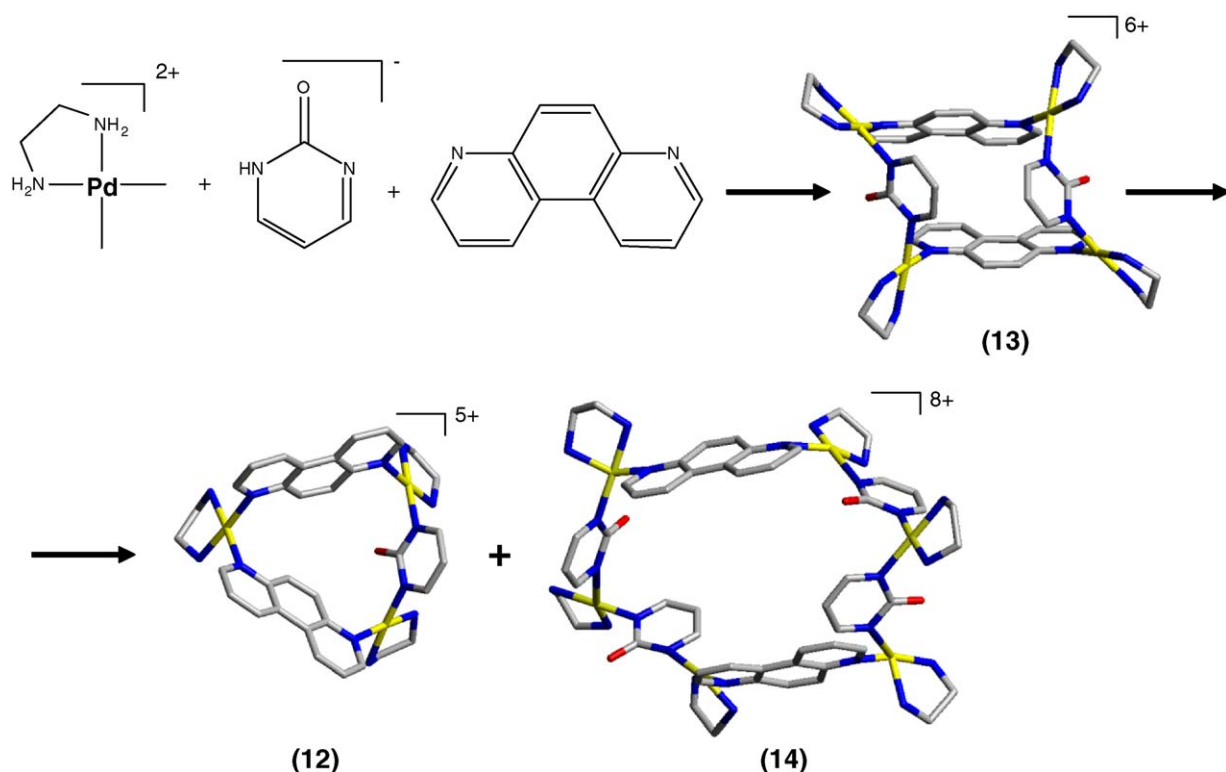


Fig. 10. Reaction of  $[(en)Pd(NO_3)_2]$ , 2-Hpymo and 4,7-phen building blocks to obtain **13** and posterior disproportionation to **12** and **14**. The coordinates of species **12** and **13** have been taken from the crystal structure of their nitrate salts (Pd, C, N, O) [24].

parallelogram  $[(en)_4Pd_4(2-dmpymo-N1,N3)_2(4,7-phen-N4,N7)_2]^{6+}$ , exhibiting a 1,3-alternate conformation. The host–guest properties of these systems towards mononucleotides have also been studied and showed slightly weaker interactions than **9**, which is related to the smaller opening of their cavities.

### 3. 1D polymers and hexagons applying linear metal fragments

Combination of linear metal entities with the  $120^\circ$  bond angles provided by the endocyclic N atoms of pyrimidines is compatible with the formation of zig-zag chains, meanders, helices as well as discrete hexagons (Fig. 1). Although the formation of the latter architecture is entropically favoured over polymeric products [1b], the complexity of the assembly process increases with the number of ring members, implying a considerable degree of rotational freedom in the intermediate structures, which prevents the straightforward isolation of hexagons in most cases. Thus, we have observed the preferential formation of polymeric structures over discrete ones under mild reaction conditions in systems containing linear metal fragments.

In the case of labile  $Cu^{II}$  metal ion in combination with 2-Hdmpymo in aqueous amine solutions, we have

only observed the formation of the infinite zig-zag 1D polymer *trans*- $[(amine)_2Cu(2-dmpymo-N1,N3)]_n^{n+}$  (**15**) [25]. Aoyama and coworkers observed a higher versatility in the *M*/pyrimidine system ( $M = Co^{II}, Cu^{II}, Cd^{II}$ ) for the generation of different 1D polymers and helices as a consequence of metal plasticity [26].

$Ag^I$  and 2-Hpymo in an aqueous amine solution lead to the formation of the neutral 1D zig-zag polymeric material  $[Ag(2-pymo-N1,N3)]_n$  (**16**), which has been characterised by conventional X-ray diffraction methods [27]. Thermal treatment of **16** and study of the X-ray powder diffraction patterns shows the sequential formation of an amorphous material, which recrystallises above  $150^\circ C$  leading to a novel crystalline phase containing the thermodynamically more stable  $[Ag(2-pymo-N1,N3)]_6$  (**17**) hexamers (Fig. 11) [28]. This transformation can also be achieved at r.t. by suspending **16** in ethylorthoformate for 12 h under stirring.

Similarly, we have also reported the formation of a yellow polycrystalline material by reaction of  $[Cu(MeCN)_4]BF_4$  with 2-Hpymo. The ab initio XRPD study has permitted to unravel its complex nature, in which molecular  $[Cu(2-pymo-N1,N3)]_6$  hexagons (**18**) are recognised in the grooves of the polymeric  $[Cu(2-pymo-N1,N3)]_n$  helices (**19**) (Fig. 12) [29]. This result also proves the low-energy barrier between these two different products. Although the individual helices

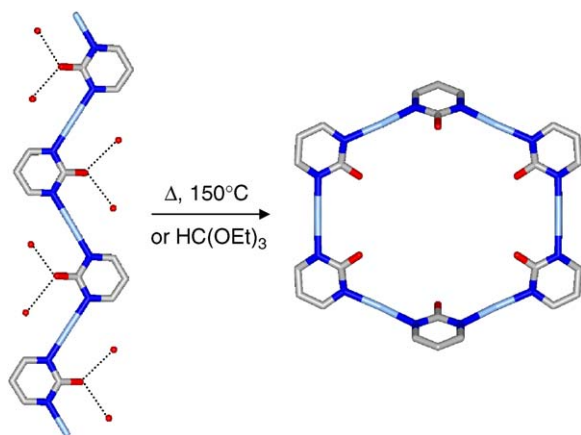


Fig. 11. Conversion of polymeric  $[\text{Ag}(2\text{-pymo-}N1,N3)]_n$  (**16**) into the thermodynamically favoured hexanuclear  $[\text{Ag}(2\text{-pymo-}N1,N3)]_6$  (**17**) species (Ag, C, N, O) [28].

are (obviously) chiral, this compound contains helices of opposite handedness, giving centric crystals. However, we have recently reported that it is possible to obtain acentric SHG active crystals IF 2-nitropymo is employed, affording  $[\text{Ag}(2\text{-nitropymo-}N1,N3)]_n$  (**20**) helices [30]. The non linear optical properties of the Ag/5-nitro-2-hydroxypyrimidine system are likely due to the high hyperpolarisability of the functionalised pyrimidine which is among the largest for 1,4-disubstituted arenes [31]. In contrast to the examples cited above, in this case the formation of cyclic systems has not been observed.

When slow reaction kinetics metals, i.e.  $\text{Pt}^{\text{II}}$  are used, the formation of supramolecular entities, in a sequential manner, is possible. We have employed the inert  $\text{trans}[(\text{NH}_2\text{R})_2\text{Pt}(2\text{-Hpymo-}N1)_2]^{2+}$  (**21**) building block ( $R = \text{H}$ ) in combination with the labile  $\text{Ag}^{\text{I}}$  metal ion to build the heteronuclear 1D polymeric system  $\{\text{trans}[(\text{NH}_2)_2\text{Pt}(2\text{-pymo-}N1,N3)_2\text{Ag}]_n^+\}$  (**22**) (Fig. 13) [32]. It should be noted that its novel meander topology is an additional proof of the high conformational degree of freedom of these materials during their self-assembly process.

Combination of the coordinative bond with the H-bonding possibilities of the organic residues in **21** with other complementary systems is likewise possible. Thus, cocrystallisation of **21** ( $R = \text{Me}$ ) with 2-aminopyrimidine (2-ampym) results in the formation of the H-bonding supported supramolecular hexagon  $\text{trans}[(\text{MeNH}_2)_2\text{Pt}(2\text{-pymo-}N1)(2\text{-Hpymo-}N1) \cdot 2\text{-Hampym}]_2^{4+}$  (**23**) (Fig. 14) [32]. The resulting supramolecular assembly reveals that its formation is associated with a proton transfer from one of the 2-Hpymo residues to one of the endocyclic N atoms of 2-ampym against a  $\text{p}K_{\text{a}}$  gradient of 1.5 units. The consequent loss of the original symmetry of both residues (2-ampym and the two 2-Hpymo) due to this proton transfer is apparently

favoured by a more even distribution of the positive charge along the supramolecular assembly and a more efficient H-bonding pattern, i.e. instead of two pairs of DA:AD hydrogen bonds, a pair of the more favoured DD:AA scheme is generated [33].

#### 4. Functional 2D and 3D coordination polymers containing metal fragments of higher coordination numbers

##### 4.1. Robust frameworks containing metal ions and hydroxypyrimidines

In the recent past, we have prepared a large number of metal(II) diazoles, such as Zn, Cd, Hg, Co or Ni pyrazolates [34] and Cd, Hg, Cu or Ni imidazolates [35]. All these species have invariably shown polymeric structures, ranging from 1D chains of collinear metal atoms, to 2D frameworks (of square meshes or more complex architectures) up to 3D polymers with, or without, large pores or cavities. Typically, the metal ions are tetracoordinated by diazolate ligands acting in the  $N,N'$ -exobidentate fashion, this leading to crystalline coordination polymers lacking counterions in the lattice and possessing unusually high thermal stability (up to  $440^\circ\text{C}$  for the zinc bispyrazolate species [34a]). Worthy of note, a few case structures have been found, such as the copper bisimidazolate system [35b], in which five polymorphic phases were identified (and selectively prepared), and the cadmium and mercury analogues [35a], based upon tightly interpenetrated diamondoid networks.

After having studied the oligonuclear metal complexes reported above, we have turned our attention to the synthesis of  $M(X\text{-pymo})_2$  complexes ( $X = 2, 4$ ) with the 2-Hpymo and 4-Hpymo ligands. Through the occasional intermediacy of hydrated species (which can be easily transformed into the homoleptic polymers by controlled heating, water removal and solid–solid phase-transformation), 3D frameworks of the diamondoid-type  $[M(2\text{-pymo-}N1,N3)_2]_n$  ( $M = \text{Co}$  (**24**), Ni (**25**), Zn (**26**)) were initially obtained [36]. In these coordination polymers, the organic moieties bridge (in the common  $N1,N3$ -exobidentate mode) metal centres surrounded by four nitrogen atoms of four different ligands. Only for the nickel derivative, thanks to the higher stability of the octahedral vs. tetrahedral geometry, ancillary Ni–O2 bonds are present, thus lowering the crystal symmetry, but maintaining the overall network topology. These species can be defined as thermally robust coordination polymers, the zinc derivative decomposing, under nitrogen, only above  $570^\circ\text{C}$ . Their acentric nature was confirmed by second harmonic generation measurements (Kurtz–Perry method [37]), their SHG efficiency, although measurable, falling below that of standard

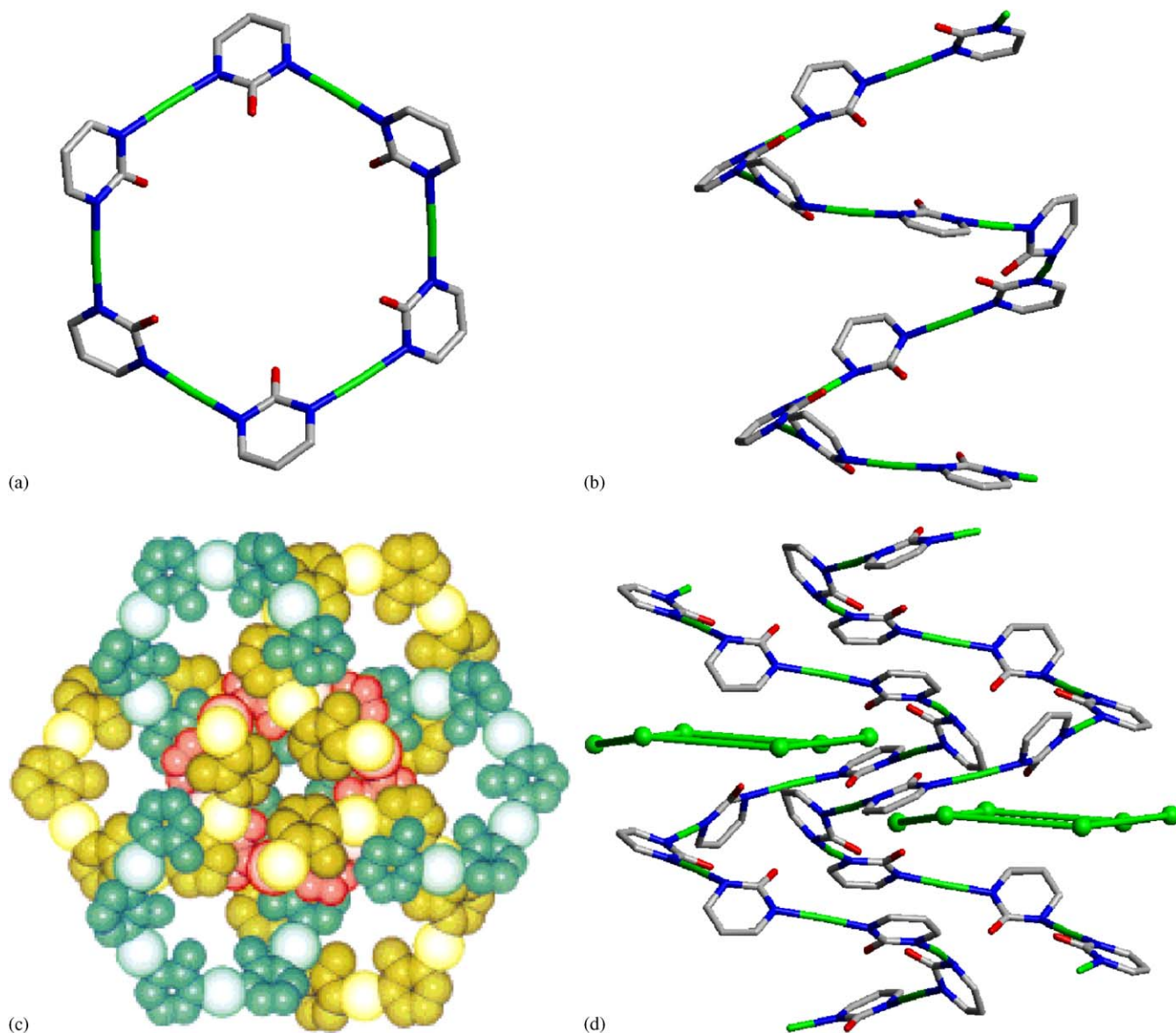


Fig. 12. Crystal structure of the complex phase in which cyclic  $[\text{Cu}(2\text{-pymo})]_6$  (**18**) hexamers (a) and  $[\text{Cu}(2\text{-pymo})]_n$  (**19**) helices (b) (Cu, C, N, O) coexist. (c) Space filling diagram down the crystallographic  $c$  axis. The helices of different handedness are shown in different colours (green and yellow) whereas the hexameric guests are shown in red. (d) Schematic view of two helices of different handedness and hexameric guests hosted in the helices grooves [29].

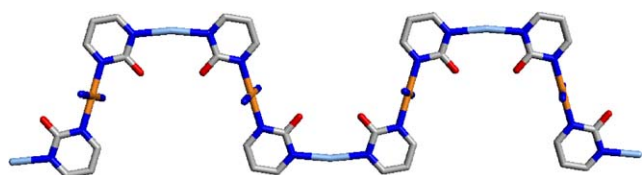


Fig. 13. Crystal structure of the nitrate salt of  $\{\text{trans}(\text{NH}_3)_2\text{Pt}(2\text{-pymo-}N1,N3)_2\text{Ag}\}_n^+$  (**22**) (Pt, Ag, C, N, O) [32].

urea. Moreover, among these coordination polymers, that possessing the most interesting functional properties is  $[\text{Co}(2\text{-pymo-}N1,N3)_2]_n$  (**24**), which, at tempera-

tures below 23 K, magnetically orders and becomes a molecular magnet [38].

On employing the 4-Hpymo ligand, (hydrogen-bonded) hydrated *mononuclear* species  $[M(4\text{-pymo-}N1)_2(\text{H}_2\text{O})_4]$  ( $M = \text{Co}$  (**27**),  $\text{Ni}$  (**28**)) were obtained, which could be easily transformed into polycrystalline coordination polymers by moderate heating. The obtained  $[M(4\text{-pymo-}N1,N3)_2]_n$  ( $M = \text{Co}$  (**29**) [38],  $\text{Ni}$  (**30**) [39]) species are markedly different from the 2-pymo analogues: indeed, the basic topology is based upon 2D sheets of square meshes, where the metals are bridged by 4-pymo ligands in the uncommon  $N1,O4$  mode (with an ancillary long interaction by the  $N3$  atom). The metals



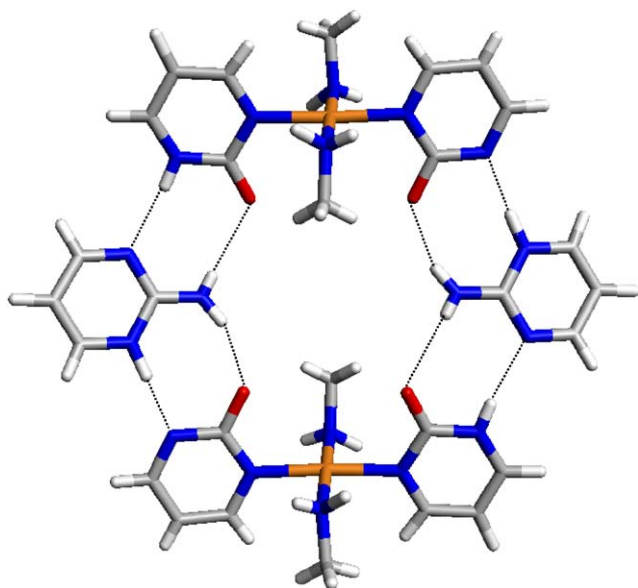


Fig. 14. Crystal structure of the supramolecular hexagon  $\text{trans-}[(\text{MeNH}_2)_2\text{Pt}(2\text{-pymo-N1})(2\text{-Hpymo-N1})\cdot 2\text{-Hampym}]_2^{4+}$  (**23**). The presence of two different H-bonding schemes DA:AD and DD:AA at either side of the 2-ampym moieties arises from a proton transfer against a  $pK_a$  gradient from **22** to ampym (Pt, C, N, O) [32].

are therefore hexacoordinated, in a distorted octahedron of  $C_{2v}$  symmetry. At variance, no hydrated precursor was observed for  $[\text{Zn}(4\text{-pymo-N1,N3})(4\text{-pymo-N1,O4})_n]$  (**31**) [39] and an unprecedented three-dimensional network built upon tetrahedral nodes and 4-pymo bridges of the N1,N3 and N1,O4 type was observed ( $6_26_26_28_26_36_3$ ;  $C_{10} = 426$ ) [40].

More recently, we decided to explore the coordination chemistry of the extremely polarised heterocycle 5-nitro-2-hydroxypyrimidine, aiming to improve the SHG efficiency of these materials adding this function to other desirable properties. We initially studied the  $[\text{Co}(2\text{-nitropymo-N1,N3})(2\text{-nitropymo-N1,O2})_n]$  (**32**),  $[\text{Ni}(2\text{-nitropymo})_2]_n$  (**33**) and  $[\text{Zn}(2\text{-nitropymo-N1,N3})(2\text{-nitropymo-N1,O2})_2]_n$  (**34**) polymers [41], which (owing to the centrosymmetric nature of their structures) afforded inactive SHG species, thus vanishing our first efforts. However, these materials showed interesting magnetic properties and, for the two polycrystalline species (**32,34**), less common  $\text{N}_3\text{O}$  chromophores. Our latest studies, performed on using Ag(I) ions (as discussed above and in Ref. [30]), indicated the formation of acentric SHG active materials, prompting for a more extensive characterisation of other metal organic frameworks based on this ligand.

#### 4.2. Open metal organic frameworks containing metal ions and hydroxypyrimidines

In all the 2D and 3D species presented above, the metals were either tetrahedral or, more rarely, (pseu-

do)octahedral. At variance, square-planar metal centres have been found in the  $[\text{Cu}(X\text{-pymo-N1,N3})_2]_n$  ( $X = 2$  (**35**) [42], 4 (**36**) [43]) species, with open sodalitic frameworks built upon four- and six-membered rings (metalla[4]- and metalla[6]calixarenes and planar molecular hexagons) hinged about the Cu(II) ions (Fig. 15).

These species are easily formed by self-assembling processes, and typically host water or other solvents as well as ions in the large cavities of such their nanoporous framework. In order to probe their functionality, they were submitted to gas sorption and ion pair recognition processes. The hysteresis loops found in the solid-liquid ion pair sorption isotherms were indicative of reversible guest-induced phase transitions (Fig. 16).

The observed guest-induced phase transitions found in **35** and **36** systems were extensively studied by X-ray powder diffraction methods. These species were submitted to heating cycles (testing the reversibility of the hydration/dehydration process) and to exposure to solutions of simple salts in different solvents. The large number of observations gathered in the last years in our laboratories can be summarised as follows, the important structural changes characterised by diffraction methods being illustrated in Fig. 17:

- (a)  $[\text{Cu}(2\text{-pymo-N1,N3})_2]_n$  (**35<sub>R</sub>**), in its hydrated form, contains ca. 2.5 water molecules per Cu(II) ion and the sodalitic framework possesses a pseudocubic

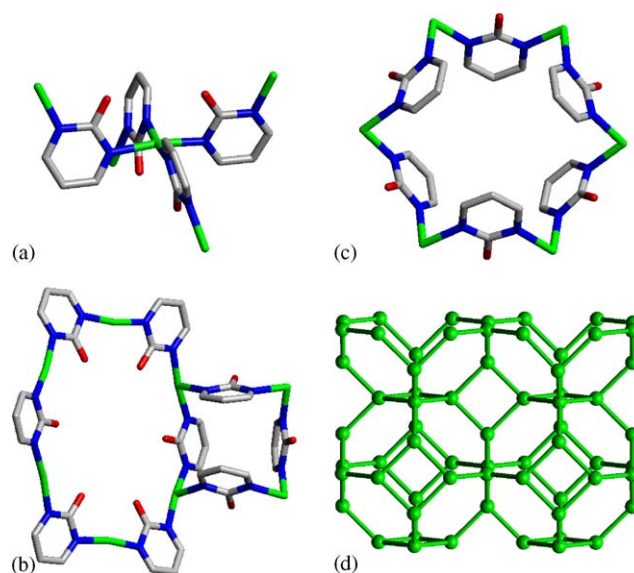


Fig. 15. (a) Coordination about the copper centres in  $[\text{Cu}(2\text{-pymo-N1,N3})_2]_n$  (**35**). (b,c) Planar hexagons, metallacalix[4]arenes and metallacalix[6]arenes basic structural motives interlock to build a highly symmetric 3D sodalitic framework (d). The green balls and rods represents Cu centres and 2-pymo bridges, respectively (Cu, C, N, O).

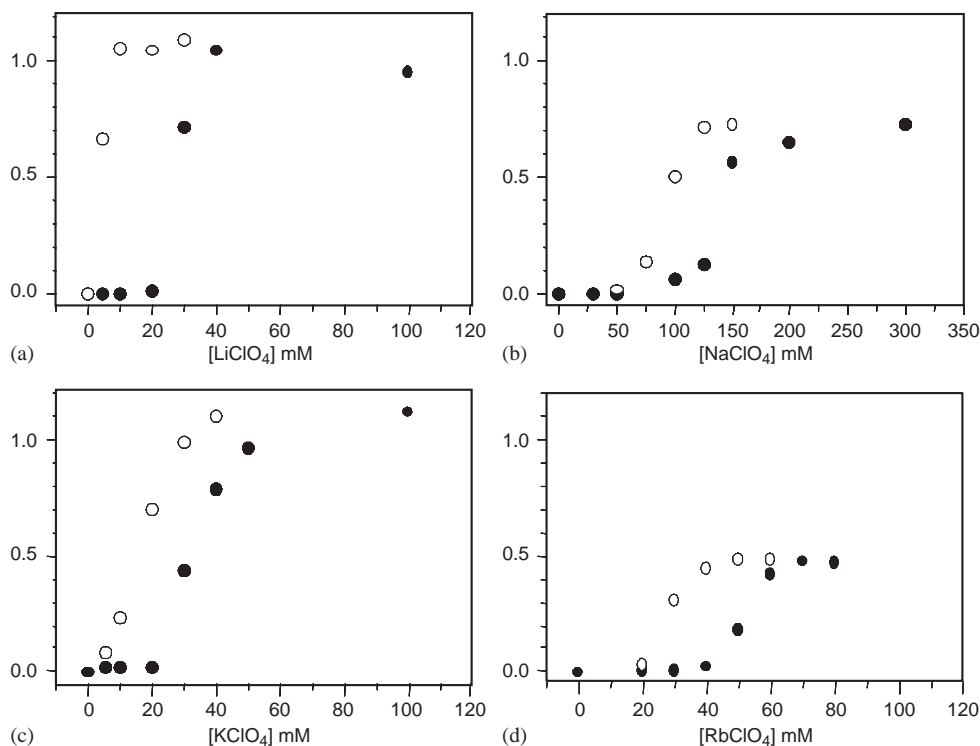


Fig. 16. Sorption isotherms data at 298 K for **35** with group 1 metal perchlorate salts.  $\text{LiClO}_4$  (a);  $\text{NaClO}_4$  (b);  $\text{KClO}_4$  (c);  $\text{RbClO}_4$  (d). Open symbols indicate desorption. It should be noted that in the  $\text{RbClO}_4$  case only partial occupancy is achieved which might be due to  $\text{Rb}^+$  higher size. The observed hysteresis loops are indicative of a guest induced phase transition [42a].

R-3m lattice, with two Cu(II) ions slightly differentiated by distinct  $\text{Cu} \cdot \text{OH}_2$  interactions.

- (b) Upon gentle heating, above  $60^\circ\text{C}$ , water molecules are lost and a truly cubic, evacuated, Pn-3m structure (**35<sub>C</sub>**) is formed (Fig. 18). This species restores the original trigonal one if cooled down to r.t. in moist air. The process, although reversible, shows a remarkable hysteretic effect.
- (c) If crystallised in the presence of alkali metal (and ammonium) *MX* salts of ‘cubic’ anions (such as  $\text{BF}_4^-$ ,  $\text{ClO}_4^-$  and  $\text{PF}_6^-$ ), these ion pairs are ‘recognised’ by the planar hexagonal windows, and highly crystalline species  $[\text{Cu}(2\text{-pymo-}N1,N3)_2 \cdot (\text{MX})_{1/3}]_n$  (**35<sub>C</sub>@MX**), containing stoichiometric amounts of the salts, are obtained (Fig. 19a) [42a].
- (d) Using different solvent mixtures and/or anions, inclusion is still observed, but, when large cations are employed, an irreversible guest-induced phase transformation to an orthorhombic laminar phase  $[\text{Cu}(2\text{-pymo-}N1,N3)_2 \cdot (\text{MX})_{1/2}]_n$  (**35<sub>O</sub>@MX**), is observed, where only metalla[4]calixarene windows in cone conformation are found; in this type of structure, four neighbouring oxygen atoms typically bind the large cations on one side, leaving space for

nitrate (and water) *M*-O2 bonds on the opposite face (Fig. 19b) [42b].

- (e) Removal of the guests intercalated in these ‘muscovitic’ laminae can be achieved by suspending the material in crown ether solutions, affording an empty laminar  $[\text{Cu}(2\text{-pymo-}N1,N3)_2]_n$  (**35<sub>O</sub>**) species, i.e. a true polymorph of the evacuated sodalitic phase [42b].
- (f) At variance, the sodalitic framework  $[\text{Cu}(4\text{-pymo-}N1,N3)_2]_n$  (**36**), in its (tris)hydrated (r.t.) and evacuated ( $140^\circ\text{C}$ ) forms is *persistently* cubic, Pn-3m, but shows a progressive shrinking of the unit cell volume upon heating. The hydration/rehydration process is fully reversible [43].
- (g) The disposition of the oxygen rings, pointing toward different cavities in the 2-pymo or 4-pymo derivatives, significantly modify the hydro-/lipo-philicity of the tunnels, and is clearly responsible for the different low-temperature  $\text{N}_2$  sorption behaviour ( $\sim 10\times$  less effective in **36** than for the *isomorphous* **35** analogue).
- (h) Accordingly, the sorption of ion pairs by **36** is much more limited, and no evidence for stoichiometric species characterised by selective recognition of specific ions and a (more or less) ordered crystal structure was up to now observed.

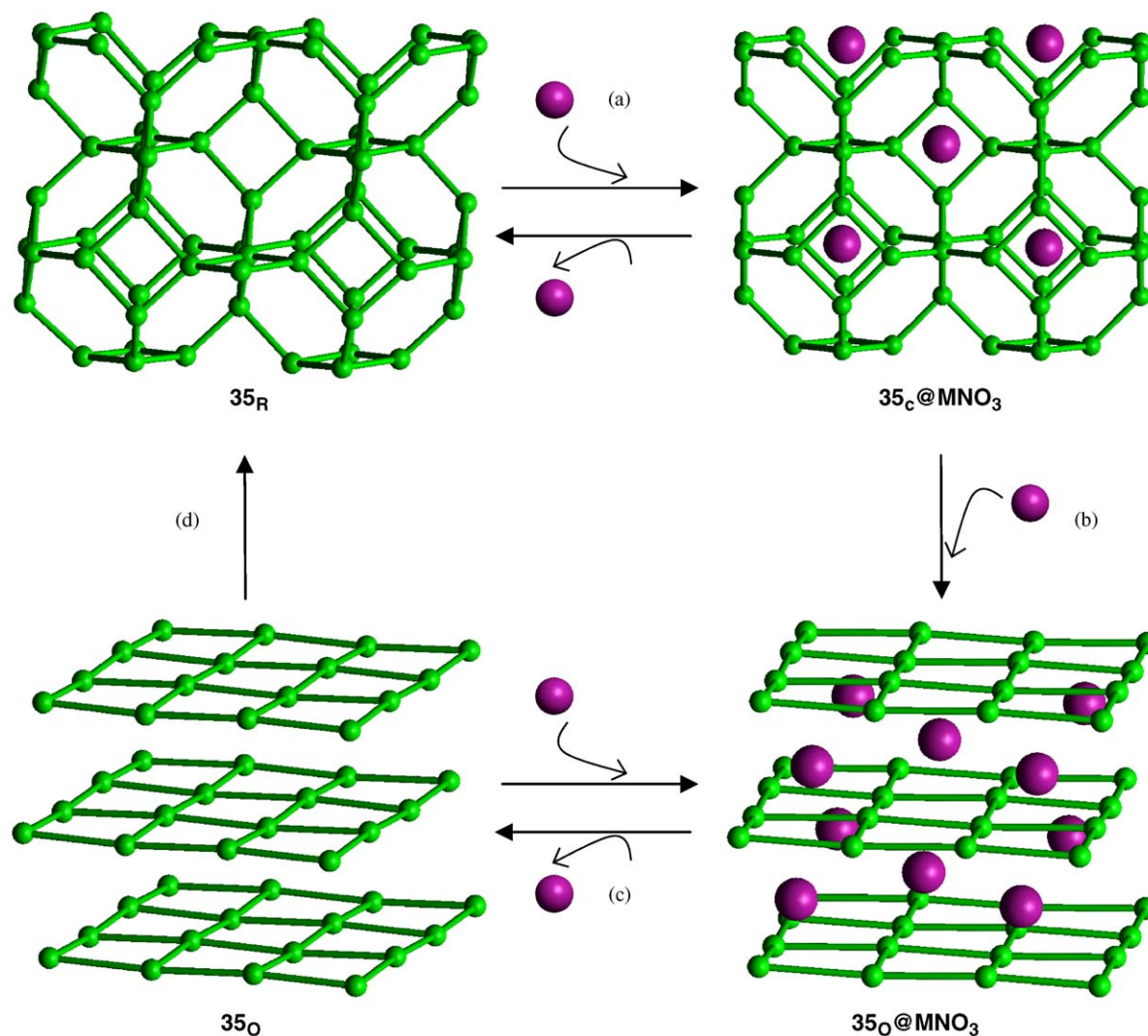


Fig. 17. Guest induced crystal to crystal phase transitions taking place on  $[\text{Cu}(2\text{-pymo-N1,N3})_2]_n$  ( $35_{\text{R}}$ ) upon  $\text{MNO}_3$  ion pair incorporation from water/methanol solutions. (a) Inclusion of  $n/3 \text{ MNO}_3$ ; (b) Additional inclusion of  $n/6 \text{ MNO}_3$ ; (c) removal of  $n/2 \text{ MNO}_3$  guests by treatment with 18-crown-6-ether; (d) Exposition of  $35_{\text{O}}$  to water. Green balls, green rods and purple balls represent copper centres, 2-pymo bridges and  $\text{MNO}_3$  ion pair guests, respectively.

#### 4.3. Mixed ligand layered systems

Formation of mixed ligand extended polymers is also possible. Indeed, we have observed that a one-pot reaction of Cu(II) salts with 2-Hpymo·HCl and 4,4'-bipyridine (4,4'-bpy) leads to the formation of a series of isomorphous extended 2D layered frameworks of  $[\text{Cu}_3(\mu\text{-OH})_2(\mu\text{-Cl})_2(\mu\text{-2-pymo})(\mu\text{-4,4'-bpy})_3]_n \cdot X_n \cdot m\text{H}_2\text{O}$  type, where  $X = \text{NO}_3$  (**37a**), Cl (**37b**),  $\text{ClO}_4$  (**37c**), AcO (**37d**),  $\text{SO}_4/2$  (**37e**) (Fig. 20a), which can be related to the family of clay minerals [44]. Although these materials are not able to include  $\text{N}_2$  at 77 K, their porous nature has been derived from XRPD studies. A swelling response perpendicular to the layers (along a), con-

comitant to aliphatic alcohol inclusion in the interlayer voids, is observed (Fig. 20b). This type of observation further strengthens the mineralomimetic behaviour of these materials.

#### 5. Conclusions and perspectives

The bent bond angles provided by the endocyclic N atoms of the pyrimidine moieties lead to more unpredictable architectures compared to classical rod type spacers. For the latter, the rotation about the  $M\text{-N}$  bonds should not play, in principle, an important role in the resulting architecture. This situation contrasts the

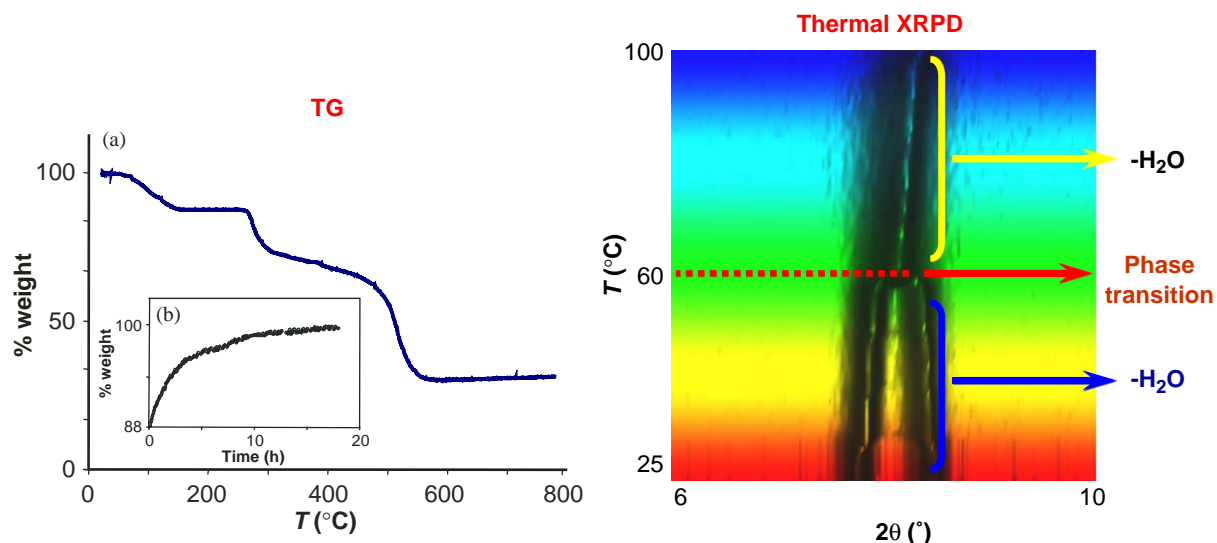


Fig. 18. Thermogravimetric analysis of **35** (left) and rehydration process upon exposition of the evacuated material to moist air (onset on the left) [42a]. Variable temperature XRPD traces in the 6–10°  $2\theta$  range (right), showing the progressive merging of the 110 and 012 peaks of the rhombohedral **35<sub>R</sub>** phase into the 110 reflection of the evacuated cubic **35<sub>C</sub>** ( $a_0 = 15.07 \text{ \AA}$ ) phase. Vertical scale,  $T$  in the 25–100 °C range (bottom to top, 10 scans per 10 °C interval). At each  $T$ , equilibrium is fully reached. Coalescence occurs at 60 °C [42b].

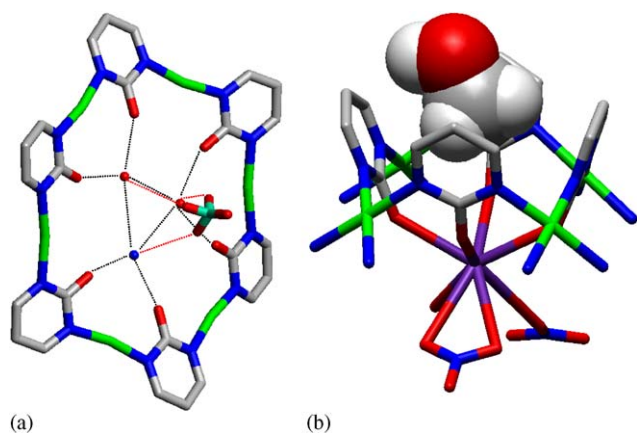


Fig. 19. (a) Supramolecular recognition of  $[\text{NH}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}]\text{ClO}_4$  in the hexagonal windows of the sodalite  $\beta$ -cages in **35<sub>C</sub>@NH<sub>4</sub>ClO<sub>4</sub>**. (b) The metallacalix[4]arene motif in **35<sub>O</sub>@RbNO<sub>3</sub>**: the lower rim recognises  $\text{RbNO}_3(\text{H}_2\text{O})$ , the cone cavity  $\text{MeOH}$ . (Cu, Rb, C, N, O) [42].

one found for bent spacers, in which any rotation about the  $M-N$  bonds will have a dramatic effect on the self-assembly process.

Another interesting feature of this type of bent ligands is that, in spite of their rigid nature, it is possible to obtain flexible frameworks. In contrast to the situation found for plastic materials containing flexible ligands, their plasticity does not arise from the ligands themselves but from the rotation about the  $M-N$  bonds.

The functionalisation of the pyrimidine moieties leads to functional cavities, pores and surfaces able to interact with additional species through coordinative bonds, H-bonding, electrostatic and hydrophobic interactions.

The mineralomimetic nature of the extended systems should be noted. However, important differences arise in the charge and flexibility of the structural frameworks and in the polarity of the cavities. It should also be noted that the structural motives found in the discrete systems are also present in the extended ones. The same situation is found for the active recognition sites. This feature is very important to unequivocally establish, at the molecular level, the recognition processes and guest induced phase transitions taking place in the extended systems.

The extensive use of XRPD methods has been very useful for the characterisation of many of the extended materials obtained *only* in polycrystalline form, from either conventional synthetic methods or solid-to-solid reactions. Without this technique, many structural details of these species and of the structural transformations taking place on them upon guest incorporation would have remained obscured.

Finally, it should be noted that some of these materials combine also additional interesting magneto-optical properties. Thus, further work can be anticipated in the direction of preparing differently substituted Hpymo ligands, to be coupled with a number of transition metal ions, and to the discovery of multi-functional materials, where optical, magnetic and

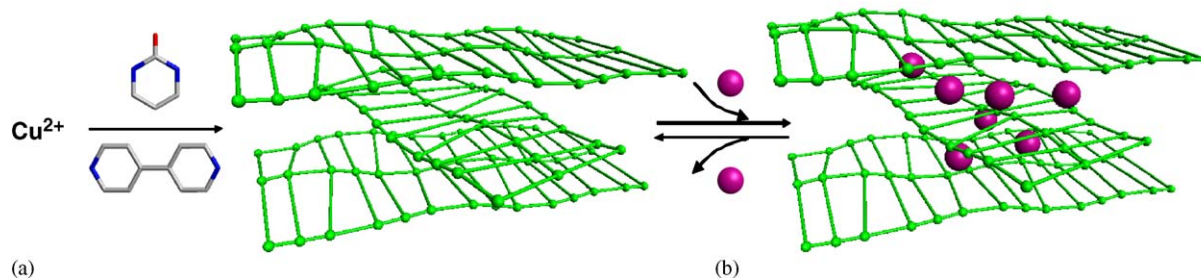


Fig. 20. (a) Synthesis of the 37 isomorphous series. (b) Swelling response to aliphatic alcohols. Cu (green balls), 2-pymo, 4,4'-bpy, Cl and OH bridges (green rods). The purple spheres denote the aliphatic alcohol guests.

nanoporosity properties can be possibly optimised and actively used in applied fields.

## References

- [1] (a) J.M. Lehn, *Supramolecular Chemistry*, VCH, Weinheim, 1995;
- (b) S. Leininger, B. Olenyuk, P.J. Stang, *Chem. Rev.* 100 (2000) 853;
- (c) M. Fujita, K. Umemoto, M. Yoshizawa, N. Fujita, T. Kusukawa, K. Biradha, *Chem. Commun.* (2001) 509;
- (d) G.F. Swiegers, T.J. Malefetse, *Chem. Rev.* 100 (2000) 3483;
- (e) R.W. Saalfrank, E. Uller, D. Demleitner, I. Bernt, *Struct. Bond.* (Berlin) (2000) 96;
- (f) F. Hof, S.L. Craig, C. Nuckolls, J. Rebek, *Angew. Chem. Int. Ed.* 41 (2002) 1488.
- [2] A.J. Petrella, N.J. Roberts, D.C. Craig, C.L. Raston, R.N. Lamb, *Chem. Commun.* (2003) 1014.
- [3] For numerous applications, see, e.g.: Special issue of *PNAS* (*Supramolecular Chemistry and Self-Assembly*), 99:8, 2002.
- [4] (a) T. Kusukawa, M. Fujita, *J. Am. Chem. Soc.* 121 (1999) 1397;
- (b) M. Yoshizawa, T. Kusukawa, M. Fujita, K. Yamaguchi, *J. Am. Chem. Soc.* 122 (2000) 6311;
- (c) M. Yoshizawa, Y. Takeyama, T. Kusukawa, M. Fujita, *Angew. Chem. Int. Ed.* 41 (2002) 1347.
- [5] (a) K.J. Balkus Jr., *Prog. Inorg. Chem.* 50 (2001) 217;
- (b) X. Bu, P. Feng, G.D. Stucky, *Science* 278 (1997) 2080.
- [6] H. Maas, G. Calzaferrri, *Angew. Chem. Int. Ed.* 41 (2002) 2284.
- [7] (a) S. Kitagawa, R. Kitaura, S. Noro, *Angew. Chem. Int. Ed.* 43 (2004) 2334;
- (b) H.K. Chae, D.Y. Siberio-Pérez, J. Kim, Y. Go, M. Eddaoudi, A.J. Matzger, M. O'Keefe, O.M. Yaghi, *Nature* 427 (2004) 523;
- (c) D.V. Soldatov, *J. Inclusion Phenom.* 48 (2004) 3;
- (d) M.J. Rosseinsky, *Micropor. Mesopor. Mater.* 73 (2004) 15;
- (e) C. Janiak, *Dalton Trans.* (2003) 2781;
- (f) S.L. Stuart, *Chem. Soc. Rev.* 32 (2003) 276;
- (g) S. Kitagawa, S. Masaoka, *Coord. Chem. Rev.* 246 (2003) 73;
- (h) B. Moulton, M.J. Zaworotko, *Chem. Rev.* 101 (2001) 1629;
- (i) O.M. Yaghi, H. Li, C. Davis, D. Richardson, T.L. Groy, *Acc. Chem. Res.* 31 (1998) 474;
- (j) S. Kitagawa, M. Kondo, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 71 (1998) 1739.
- [8] E. Coronado, J.R. Galán-Mascarós, C.J. Gómez-García, V. Laukhin, *Nature* 408 (2000) 447.
- [9] R. Kitaura, G. Onoyama, H. Sakamoto, R. Matsuda, S.-I. Noro, S. Kitagawa, *Angew. Chem. Int. Ed.* 43 (2004) 2684.
- [10] (a) S.J. Lee, W. Lin, *J. Am. Chem. Soc.* 124 (2002) 4554;
- (b) J.S. Seo, D. Whang, H. Lee, S.I. Jun, J. Oh, Y.J. Jeon, K. Kim, *Nature* 404 (2000) 982.
- [11] (a) X. Zhao, B. Xiao, A.J. Fletcher, K.M. Thomas, D. Bradshaw, M.J. Rosseinsky, *Science* 306 (2004) 1012;
- (b) R. Kitaura, K. Seki, G. Akiyama, S. Kitagawa, *Angew. Chem. Int. Ed.* 43 (2004) 428;
- (c) X.H. Bu, M.L. Tong, H.C. Chang, S. Kitagawa, S.R. Batten, *Angew. Chem. Int. Ed.* 43 (2004) 192;
- (d) D.N. Dybtsev, H. Chun, S.H. Yoon, D. Kim, K. Kim, *J. Am. Chem. Soc.* 126 (2004) 32;
- (e) R. Kitaura, K. Seki, G. Akiyama, S. Kitagawa, *Angew. Chem. Int. Ed.* 42 (2003) 428;
- (f) N.L. Rosi, J. Eckert, M. Eddaoui, D.T. Vodak, J. Kim, M. O'Keefe, O.M. Yaghi, *Science* 300 (2003) 1127;
- (g) M. Eddaoudi, J. Kim, N. Rosi, D. Vodak, J. Wachter, M. O'Keefe, O.M. Yaghi, *Science* 295 (2002) 469.
- [12] W. Saenger, *Principles of Nucleic Acid Structure*, Springer, New York, 1984.
- [13] S.W. Keller, *Angew. Chem. Int. Ed.* 36 (1997) 247.
- [14] (a) J.A.R. Navarro, B. Lippert, *Coord. Chem. Rev.* 185–186 (1999) 653
- (b) *Coord. Chem. Rev.* 222 (2001) 219.
- [15] (a) H. Rauter, E.C. Hillgeris, B. Lippert, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* (1992) 1385;
- (b) H. Rauter, E.C. Hillgeris, A. Erxleben, B. Lippert, *J. Am. Chem. Soc.* 116 (1994) 616.
- [16] (a) G. Andreotti, R. Ungaro, A. Pochini, *J. Chem. Soc. Chem. Comm.* (1979) 1005;
- (b) C.D. Gutsche, *Calixarenes*, Royal Society of Chemistry, Cambridge, 1989;
- (c) V. Bohmer, *Angew. Chem. Int. Ed.* 34 (1995) 713;
- (d) A. Ikeda, S. Shinkai, *Chem. Rev.* 97 (1997) 1713;
- (e) J. Rebeck Jr., *Chem. Commun.* (2000) 637;
- (f) L. Pirondini, F. Bertolini, B. Cantadori, F. Uguzzoli, C. Massera, E. Dalcanale, *Proc. Nat. Acad. Sci.* 99 (2002) 4911;
- (g) M.H.K. Ebbing, M.J. Villa, J.M. Valpuesta, P. Prados, J. de Mendoza, *Proc. Nat. Acad. Sci.* 99 (2002) 4962.
- [17] J.A.R. Navarro, E. Freisinger, B. Lippert, *Eur. J. Inorg. Chem.* (2000) 147.
- [18] J.A.R. Navarro, M.B.L. Janik, E. Freisinger, B. Lippert, *Inorg. Chem.* 38 (1999) 426.
- [19] J.A.R. Navarro, E. Freisinger, B. Lippert, *Inorg. Chem.* 39 (2000) 2301.
- [20] J.A.R. Navarro, J.M. Salas, *Chem. Comm.* (2000) 235.
- [21] E. Barea, J.A.R. Navarro, J.M. Salas, M. Willermann, B. Lippert, *Chem. Eur. J.* 9 (2003) 4414.
- [22] S.Y. Yu, H. Huang, H.B. Liu, Z.N. Chen, R.B. Zhang, M. Fujita, *Angew. Chem. Int. Ed.* 42 (2003) 686.
- [23] M.A. Galindo, M.A. Romero, J.A.R. Navarro, M. Quirós, *Dalton Trans.* (2004) 1563.
- [24] M.A. Galindo, S. Galli, J.A.R. Navarro, M.A. Romero, *Dalton Trans.* (2004) 2780.

- [25] L.C. Tabares, J.A.R. Navarro, J.M. Salas, *Inorg. Chim. Acta* 318 (2001) 166.
- [26] (a) T. Ezuhara, K. Endo, K. Matsuda, Y. Aoyama, *New J. Chem.* 24 (2000) 609;  
(b) T. Ezuhara, K. Endo, Y. Aoyama, *J. Am. Chem. Soc.* 121 (1999) 3279;  
(c) T. Ezuhara, K. Endo, O. Hayashida, Y. Aoyama, *New J. Chem.* 22 (1998) 183.
- [27] M. Quirós, *Acta Crystallogr. C* 50 (1994) 1236.
- [28] N. Masciocchi, E. Corradi, M. Moret, G.A. Ardizzoia, A. Maspero, G. LaMonica, A. Sironi, *Inorg. Chem.* 36 (1997) 5648.
- [29] N. Masciocchi, G.A. Ardizzoia, G. LaMonica, A. Maspero, A. Sironi, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 37 (1998) 3336.
- [30] S. Galli, N. Masciocchi, E. Cariati, A. Sironi, E. Barea, M.A. Haj, J.A.R. Navarro, J.M. Salas, *Chem. Mater.*, in press.
- [31] J.A. Dean (Ed.), *Large's Handbook of Chemistry*, Section 9, 15th Ed., McGraw-Hill Inc., New York, NY, 1999.
- [32] J.A.R. Navarro, E. Freisinger, B. Lippert, *Inorg. Chem.* 39 (2000) 1059.
- [33] (a) M. Mascal, P.S. Fallon, A.S. Batsanov, B.R. Heynood, S. Champ, M. Colclough, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* (1995) 805;  
(b) W.L. Jorgensen, J. Pranata, *J. Am. Chem. Soc.* 112 (1990) 2008;  
(c) T.J. Murray, S.C. Zimmermann, *J. Am. Chem. Soc.* 114 (1992) 4010.
- [34] (a) N. Masciocchi, G.A. Ardizzoia, A. Maspero, G. La Monica, A. Sironi, *Inorg. Chem.* 38 (1999) 3657;  
(b) N. Masciocchi, G.A. Ardizzoia, S. Brenna, G. LaMonica, A. Maspero, S. Galli, A. Sironi, *Inorg. Chem.* 42 (2003) 6147.
- [35] (a) N. Masciocchi, G.A. Ardizzoia, S. Brenna, F. Castelli, S. Galli, A. Maspero, A. Sironi, *Chem. Commun.* (2003) 2018;  
(b) N. Masciocchi, S. Bruni, E. Cariati, F. Cariati, S. Galli, A. Sironi, *Inorg. Chem.* 40 (2001) 5897;  
(c) N. Masciocchi, F. Castelli, P.M. Forster, M.M. Tafoya, A.K. Cheetham, *Inorg. Chem.* 42 (2003) 6147.
- [36] N. Masciocchi, G.A. Ardizzoia, G. La Monica, A. Maspero, A. Sironi, *Eur. J. Inorg. Chem.* (2000) 2507.
- [37] S.K. Kurtz, T.T. Perry, *J. Appl. Phys.* 39 (1968) 3798.
- [38] N. Masciocchi, S. Galli, A. Sironi, E. Barea, J.A.R. Navarro, J.M. Salas, L. C. Tabares *Chem. Mater.* 15 (2003) 2153.
- [39] E. Barea, J.A.R. Navarro, J.M. Salas, N. Masciocchi, S. Galli, A. Sironi, *Inorg. Chem.* 43 (2004) 473.
- [40] M. O'Keeffe, B.G. Hyde, *Crystal Structures I: Patterns and Symmetry*, Mineralogical Society of America, Washington, 1996.
- [41] E. Barea, M.A. Romero, J.A.R. Navarro, J.M. Salas, N. Masciocchi, S. Galli, A. Sironi, *Inorg. Chem.* 44 (2005) 1472.
- [42] (a) L.C. Tabares, J.A.R. Navarro, J.M. Salas, *J. Am. Chem. Soc.* 123 (2001) 283;  
(b) E. Barea, J.A.R. Navarro, J.M. Salas, N. Masciocchi, S. Galli, A. Sironi, *J. Am. Chem. Soc.* 125 (2004) 3015.
- [43] E. Barea, J.A.R. Navarro, J.M. Salas, N. Masciocchi, S. Galli, A. Sironi, *Polyhedron* 22 (2003) 3051.
- [44] E. Barea, J.A.R. Navarro, J.M. Salas, M. Quirós, *Dalton Trans.* (2005) 1743.

## **ANEXO V**

### **Design and Non-covalent DNA Binding of Platinum(II) Metallacalix[n]arenes**

Chemistry European Journal. (enviado)

## Design and Non-covalent DNA Binding of Platinum(II)

### Metallacalix[n]arenes \*\*

Miguel. A. Galindo, David Olea, M. Angustias Romero, Julio Gómez, Pedro del Castillo, Michael. J. Hannon,\* Alison Rodger,\* Félix Zamora\* and Jorge A. R. Navarro\*

*Dedicated to Prof. Bernhard Lippert on the occasion of his 60<sup>th</sup> birthday*

[\*] Dr. J. A. R. Navarro, Dr. M. A. Romero, Mr. M. A. Galindo  
Departamento de Química Inorgánica, Universidad de Granada,  
Av. Fuentenueva S/N, E-18071 Granada, Spain  
Fax: (+34)958248526  
E-mail: [jarn@ugr.es](mailto:jarn@ugr.es)  
Prof. M.J. Hannon,  
School of Chemistry, The University of Birmingham  
Edgbaston, Birmingham  
B15 2TT, UK  
E-mail: [m.j.hannon@bham.ac.uk](mailto:m.j.hannon@bham.ac.uk)  
Prof. A. Rodger  
Department of Chemistry, University of Warwick  
Gibbet Hill Road, Coventry, CV4 7 AL, UK  
Email: [A.Rodger@warwick.ac.uk](mailto:A.Rodger@warwick.ac.uk)  
Dr. F. Zamora, Dr. D. Olea, Dr. J. Gómez, Dr. P. del Castillo  
Facultad de Ciencias  
Universidad Autónoma de Madrid  
E-28049 Madrid, Spain  
E-mail: [felix.zamora@uam.es](mailto:felix.zamora@uam.es)

[\*\*] The authors acknowledge the Spanish Ministry of Education and Science for grants CTQ2005-00329/BQU, MAT2004-05589-C02-01/02 and NISAN/IST-2001-38052 and for PhD fellowships (MAG). We also thank Junta de Andalucía and COST-D20 Action or funding. This work was conducted within the framework of COST D20 (metal complexes in anti-cancer and anti-viral therapy), working group D20/0010/02 (Non covalent DNA recognition) and which supported an exchange of researchers (M.A.G.).

---



## Abstract

A set of cyclic tetranuclear complexes of the metallacalix[4]arene type with formula  $[\text{enPtL}]_4^{4+}$  (**2**, LH=5-chloro-2-hydroxypyrimidine (5-Cl-Hpymo); **3**, LH=5-bromo-2-hydroxypyrimidine (5-Br-Hpymo); **4**, LH= 5-iodo-2-hydroxypyrimidine (5-I-Hpymo)), have been obtained by reaction of *cis*- protected square-planar  $[\text{enPt}(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$  metal entities and LH in aqueous media. Additionally, the calf thymus-DNA binding properties of **2**, **3**, **4** and of their congener  $[\text{enPtL}]_4^{4+}$  (**1**, LH= 2-hydroxypyrimidine (Hpymo)) have been studied using different techniques including circular and linear dichroism, UV-visible, gel electrophoresis, competitive fluorescence binding studies and atomic force microscopy. The results are consistent with significant non-covalent interactions taking place between the polynuclear cyclic species and DNA. Moreover, DNA titrations with metallacalixarenes and AFM images show DNA coiling at the metallacalixarene low concentration region and posterior DNA uncoiling with concomitant formation of long and stiff DNA structures upon increasing the complex concentration.

## Introduction

The mechanism of interaction of classical DNA targeting metal drugs generally involves covalent binding to nucleobase moieties and a low degree of selectivity.<sup>[1]</sup> Therefore, there is a considerable interest in the design of new DNA binding metal drugs exhibiting enhanced selectivity and novel interaction modes, for instance non-covalent interactions mimicking the interaction mode of proteins.<sup>[2,3]</sup> Metallacalix[n]arenes are a class of container molecules structurally and functionally related to classical organic calixarenes in which the methylene and phenol rings has been respectively replaced by a metal fragment and a bent nitrogen heterocycle. Like their organic analogues, these systems are able to give a rich variety of host-guest interactions which include metal ion, anion and ion pair, recognition.<sup>[4]</sup> In this regard, we and others have shown that their cationic nature leads to a concomitant high affinity for anionic substrates.<sup>[4-6]</sup> In particular, we have observed that metalocalixarenes are specially suited for giving supramolecular interactions with mononucleotides<sup>[7]</sup> with some examples of enantioselective recognition processes.<sup>[8]</sup> These previous results have

prompted us to investigate the possible use of metallacalixarenes as selective DNA binding agents. Thus, in the present contribution, we describe the non-covalent DNA binding properties of a series of platinum(II) based metallacalix[4]arenes (Scheme 1).

## Results and Discussion

The novel metallacalix[4]arenes  $[\text{enPt}(5\text{-X-pymo})]_4(\text{NO}_3)_4$  (**2**, **3**, **4**, see scheme 1) have been obtained by reaction of an aqueous solution of  $[\text{enPt}(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)_2$  with the corresponding 5-halo-2-hydroxypyrimidine (5-X-pymoH) derivative affording, in a single step, tetranuclear metallamacrocycles. From  $^1\text{H}$  NMR spectroscopy, it can be deduced that the reaction is quantitative and diagnostic of a N1, N3 bridging coordination mode of 5-X-pymo derivatives, with retention of the original equivalence of H4 and H4' protons in the 5-X-pymo moieties in a similar way to  $[\text{enPt}(\text{pymo})]_4(\text{NO}_3)_4$  (**1**).<sup>[9]</sup> The most remarkable feature of the  $^1\text{H}$  NMR spectra is that the H4,H4' resonances are downfield shifted on passing from the chloro substituted pymo (8.43 ppm), to the bromo (8.49 ppm) and the iodo (8.53 ppm) derivatives, as expected. The  $^1\text{H}$  NMR also shows that the compounds do not decompose in aqueous solution even during long storage periods and in a wide range of pH (1-13) which is in agreement with the highly inert nature of the Pt-N bonds. Temperature dependence  $^1\text{H}$  NMR experiments (22-85 °C) have been performed for species **1**, **2**, **3** and **4** in order to explore their conformational flexibility (see scheme 1). The results agree with conformational flexibility for species **1** and **2** with the apparition of an unique set of signals in the whole temperature range. At variance, species **3** and **4** show the apparition above 50 °C of a new sets of high field shifted signals which agree with a constricted conformational flexibility between different conformers (Figure 1, Scheme 1). The different behaviour of **1** and **2** compared to **3** and **4** can be related to the bulk and heavy nature of the Br and I substituents. The electronic spectra of **1-4** each show a broad ligand to ligand band in the 300-390 nm region, centred at 323 nm for **1** ( $\epsilon= 14400$ ), 348 nm for **2** ( $\epsilon= 34000$ ), 350 nm for **3** ( $\epsilon= 27500$ ), 358 nm for **4** ( $\epsilon= 13000$ ).

### *DNA binding studies*

UV-visible, Circular dichroism (CD) and flow linear dichroism (LD) titration experiments between the compounds and calf thymus DNA (*ct*-DNA) have been carried

out in aqueous solution with NaCl (20 mM) and sodium cacodylate buffer (1 mM), keeping *ct*-DNA concentration constant (300  $\mu$ M).

The UV-visible titration experiments of DNA with **1** (Figure 2) are consistent with a supramolecular interaction taking place between DNA and the tetracationic **1** species. This interaction appears to be responsible for an unusual sequence of conformational changes in the DNA strands. Thus, in the low metallacalixarene concentration region (200:1 to 30:1 DNA:**1** mixing ratios) a dramatic decrease of the DNA absorption band upon **1** addition has been observed. However, at higher concentrations of **1** (10:1 to 3:1 DNA:**1** mixing ratios) this behaviour is reversed with the DNA absorption band increasing again (see Figure 2). The decrease in the intensity of the DNA band in the metallacalixarene low concentration region appears to exclude intercalation as a binding mode (intercalation stiffens the DNA and is usually associated with an increase in the 260 nm absorption band). Rather such a decrease should be related to DNA coiling induced by the supramolecular interaction in a similar way to metallocylinders.<sup>[2]</sup> What is unusual in the behaviour of metallacalixarenes is that the latter process is reversed at higher concentrations appearing an increasing DNA band which could be associated to DNA stiffening. It should also be noted that any interaction of these systems with DNA should be of supramolecular nature only, since the chemical inertness of the Pt-N bonds in the **1-4** series prevent any covalent binding to DNA.<sup>[10]</sup> This is supported by the absence of any significant changes in the UV-Vis 300-390nm ligand-centred complex bands on addition of the DNA. We have observed a similar conformational sequence for species **2** to **4**, however, a detailed study in these systems is hindered by increasingly DNA precipitation along the series. These results are further supported by the AFM studies (see below).

The achiral complexes **1** to **4** have no intrinsic CD signals as they are achiral. Any CD signals that arise in the spectroscopic regions of the complex are therefore a consequence of their interaction with the DNA. Linear dichroism (LD) is the difference in absorption of linearly polarised light both parallel and perpendicular to a chosen plane and can be used to probe the orientation of molecules. Long molecules, such as DNA (minimum length of  $\sim$  250 base pairs), can be oriented in a flow Couette cell by viscous drag.<sup>[2]</sup> The linearly polarised light is incident radial to the flow cell and perpendicular to the flow direction. Small unbound molecules are not orientated in the experiment and show no signal. Similarly molecules bound randomly to the DNA show no signal. However, molecules bound in a specific orientation with respect to the DNA

will show a signal. Complexes **1-4** are too small to be oriented and thus show no intrinsic signal. Any signals that arise in the spectroscopic regions of the complex on addition of DNA therefore indicate binding of the complex to the DNA in specific orientation(s).

For each of the metallacalix[n]arenes **1-4** we observe bands in the 300-390 nm region in both the LD (Figure 3) and CD (see supporting information) spectra. This confirms that each of these complexes binds to DNA and does so in specific orientation(s) and not randomly.<sup>[2]</sup> The DNA CD bands (220–300 nm) confirm that the DNA remains in a B-DNA conformation, however, some structural changes in DNA are suggested by the decrease in the DNA LD band at 260 nm upon metallacalix[n]arene addition. As previously mentioned, DNA precipitation upon addition of **3** and **4** prevent any detailed study in these cases.

The decrease in LD signal appears to exclude intercalation as a mode of interaction (intercalation stiffens the DNA and is usually associated with an increase in the 260 nm LD band). Rather such a decrease in LD signal is more commonly associated with a loss of DNA orientation perhaps through coiling or kinking or compaction of the DNA. A similar (though more dramatic) effect is seen with tetracationic supramolecular cylinders.<sup>[2]</sup>

Fluorescence binding competition assays have also been performed with ethidium bromide (EB) in order to evaluate the strength of the interaction of the metallacalixarenes **1** to **4** with DNA (Figure 4). It should be noted that in contrast to previous experiments, precipitation does not take place in any case (see above). Although, the UV-visible, LD and CD spectroscopic studies revealed that complexes **1** and **2** interacted with DNA, the strength of this interaction is not large enough to displace intercalated EB (Figure 4a) which is indicative of a lower  $K_{ass}$  than EB. Complexes **3** and **4**, however, strongly interact with DNA. This is manifested by the quenching of the emission of DNA intercalated EB band centred at 600 nm as a consequence of its exchange by the metallacalixarene (Figure 4b). It should also be noted that emission decreases upon complex addition until a concentration of  $\sim 2 \mu\text{M}$  (ratio DNA base pairs:metallacalixarene 3:1) is reached indicating saturation of DNA binding sites and a high  $K_{ass}$  for **3** and **4** (Figure 4b and supporting information). The different behaviour of **3** and **4** compared to **1** and **2** might be related to its different conformational behaviour (see above). Thus, we presume that the interaction with DNA

is enhanced by the fixing of a particular conformer of the possible ones found for **3** and **4** with a concomitant optimal fitting in the DNA surface.

Gel electrophoresis experiments were also performed in the ct-DNA:**1** system to follow the DNA migration when is bound to the complexes. The experiments shows a smooth decrease in the DNA migration rate in for the DNA:**1** 200:1 to 30:1 region (see supporting information). At higher complex concentrations the migration rate diminish dramatically with no migration at all at ratios 5:1. The smooth decrease in the DNA migration rate can be probably attributed to the reduction of its negative charge as a consequence of the interaction with tetracationic metallacalixarenes, however, the dramatic decrease of DNA migration rate at higher complex concentrations can be possibly related to the formation of stiff and long DNA structures (see AFM experiments).

### **AFM studies**

In order to clarify the unusual concentration dependant DNA conformational changes induced by the metallacalixarenes, we have carried out AFM experiments at different DNA:metallacalixarene mixing ratios.

Figure 5 (blank sample) shows an image of several molecules of calf thymus DNA adsorbed on a mica surface using MgCl<sub>2</sub> (see experimental section for details). The molecule height is about 1 nm and a persistence length of *ca.* 50 nm, being these dimensions typical values for Atomic Force Microscopy (AFM) measurements.<sup>[11,12]</sup> The length of the DNA is not well defined ranging between 300 to 2000 nm.

By contrast, Figure 6 shows an AFM topography image where DNA was incubated with **1** at 10:1 mixing ratios in which stiff and long DNA filaments are observed with lengths often higher than 15 μm. Its persistence length is, on average, much longer than in blank DNA. Figure 6B shows DNA strands, with a height of 0.8 nm, with no significant difference with the DNA height observed in the blank sample. The inset in Figure 6B shows a 2.5 nm high spot in the center of a straight DNA fibre. We attribute this spot to a metallacalixarene bound to the DNA. In addition Fig. 6B shows a number of similar spots unspecifically adsorbed on mica surface.

When DNA was incubated with **1** at a lower mixing ratio (30:1), metallacalixanes adsorbed on the surface and along the DNA molecules can be seen (Figure 7). In this case no lengthening effects are observed as is the case on the 10:1 mixing ratio. In addition, the AFM topographies show a marked drop of the persistence length respect to

the 10:1 mixing ratio. This drop on the persistence length suggests a higher degree of coiling as inferred from the spectroscopy data commented above.

When DNA is incubated with **4** (10:1 mixing ratios) the structural changes occurs in the same way as for **1** but in a more drastic way (Figure 8 and S2). This indicates that **4** has higher affinity to DNA than **1** as expected from the spectroscopic studies. Very large structures can be now seen on the mica surface. These structures are likely formed by a mixture of DNA double strands and metallacalixarenes resulting in long fibres that in some cases (Figure 8A inset) give rise to large two dimensional networks.

Figure 8B is a zoom in the marked region of Figure 8A, in this image a quasi one-dimensional granular structure is clearly seen. The image suggests that DNA:metallacalixarene assemblies give rise to the formation of long filaments of high persistence length. It is remarkable that in the central region of Figure 8A several presumably individual DNA molecules can be seen coming out from the fibre (see inset).

## **Conclusions**

We have observed a clear non-covalent interaction of metallacalix[n]arenes with DNA as can be deduced from the chemical inert nature of the platinum containing metallacalix[n]arenes and the spectroscopic and AFM studies. The AFM images clearly show that the essayed compounds **1** and **4** interact with DNA producing supramolecular metallacalixarene:DNA assemblies together with DNA conformational changes. Noteworthy, this type of supramolecular interaction induces DNA coiling in a first stage, in a similar way to metallocylinders, but later on this situation is reversed with the formation of stiff DNA filaments. We presume that low concentrations of tetracationic metallacalixarene induce the DNA coiling about them. This situation is reversed at higher complex concentrations probably as a consequence that a large number of DNA binding sites are occupied with a concomitant DNA uncoiling and stiffening. It remains to be seen the biological relevance of the DNA conformational changes induced by this kind of supramolecular interaction.

## **Experimental Section**

### **Materials**

2-pyrimidinol·HCl (2-Hpymo·HCl) were purchased from Aldrich. 5-chloro-2-

hydroxypyrimidine,<sup>[13]</sup> 5-bromo-2-hydroxypyrimidine and 5-iodo-2-hydroxypyrimidine,<sup>[14]</sup> [enPt(pymo)]<sub>4</sub>(NO<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (**1**),<sup>[9]</sup> was prepared according to literature methods.

**Preparation of [enPtL]<sub>4</sub>(NO<sub>3</sub>)<sub>4</sub>, L= 5-Chloro-2-pyrimidinolate (2), 5-Bromo-2-pyrimidinolate (3), 5-Iodo-2-pyrimidinolate (4).** [(en)PtCl<sub>2</sub>] (1 mmol) was suspended in an aqueous solution of AgNO<sub>3</sub> (2 mmol, 25 mL); the suspension was stirred in the dark at 60 °C overnight. The resulting mixture was kept at 4 °C for some minutes before the AgCl precipitate was filtered off. The resulting filtrate was mixed with an aqueous solution of the corresponding HL (1 mmol in 30 mL), the pH was adjusted to 5.5 by means of NaOH 1 M and allowed to react at 60 °C for 5h. Posterior concentration to 10 mL by means of a rotavapour afforded the corresponding metallacalixarene.

**2:** Elemental analysis (%): Calculated for C<sub>24</sub>N<sub>20</sub>H<sub>40</sub>O<sub>16</sub>Pt<sub>4</sub>Cl<sub>4</sub>·(H<sub>2</sub>O)<sub>8</sub> (1930.96 g mol<sup>-1</sup>): C 14.92, H 2.92, N 14.50. Found: C 14.85, H 2.40, N 14.54. Yield 80%. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, D<sub>2</sub>O, 25 °C, TMA): δ(ppm) = 2.5-2.7 (m, 16H; en), 8.43 (s, 8H; H<sub>4</sub>,H<sub>4</sub>'-5Cl-pymo).

**3:** Elemental analysis (%): Calculated for C<sub>24</sub>N<sub>20</sub>H<sub>40</sub>O<sub>16</sub>Pt<sub>4</sub>Br<sub>4</sub>·(H<sub>2</sub>O)<sub>8</sub> (2108.76 g mol<sup>-1</sup>): C 13.67, H 2.67, N 13.28. Found: C 13.50, H 2.39, N 13.15. Yield 80%. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, D<sub>2</sub>O, 25 °C, TMA): δ(ppm) = 2.5-2.7 (m, 16H; en), 8.49 (s, 8H; H<sub>4</sub>,H<sub>4</sub>'-5Br-pymo).

**4:** Elemental analysis (%): Calculated for C<sub>24</sub>N<sub>20</sub>H<sub>40</sub>O<sub>16</sub>Pt<sub>4</sub>I<sub>4</sub>·(H<sub>2</sub>O)<sub>8</sub> (2296.77 g mol<sup>-1</sup>): C 12.55, H 2.45, N 12.19. Found: C 12.59, H 2.25, N 12.34. Yield 75%. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, D<sub>2</sub>O, 25 °C, TMA): δ(ppm) = 2.5-2.7 (m, 16H; en), 8.53 (s,8H; H<sub>4</sub>,H<sub>4</sub>'-5I-pymo).

### DNA binding studies

Calf-thymus (ct)-DNA was purchased from Sigma/Aldrich. DNA was dissolved in water without any further purification and kept frozen until the day of the experiment. The DNA concentration (moles of bases per liter) were determined spectroscopically by using the molar extinction coefficients at the maximum of the long wavelength absorbance; ct-DNA ε<sub>258</sub>= 6,600 cm<sup>-1</sup>·mol<sup>-1</sup>·dm<sup>3</sup>. Concentrations of stock solutions of the metallacalix[4]arenes were determined from accurately weighed samples of this material. A 100 mM stock sodium cacodylate buffer was prepared by mixing 50 mL of 0.2 M solution of sodium cacodylate [4.24 g of Na(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>AsO<sub>2</sub>·3H<sub>2</sub>O in 100 mL] with

9.3 ml of 0.2 M hydrochloric acid, and diluting to a total of 100 mL. Stock solutions (500  $\mu\text{M}$ ) of metallacalix[4]arene were prepared and the salt, sodium chloride, and all DNA experiments were conducted in sodium cacodylic buffer 1 mM and 20 mM NaCl. Spectroscopic titration series experiments keeping the DNA concentration were undertaken by adding the salt, buffer, water, and metallacalix[4]arene to the DNA. The Circular Dichroism (CD) spectra were run on a Jasco J-715 spectropolarimeter. Linear dichroism (LD) experiments were performed in a Jasco J-715 spectropolarimeter adapted for LD in a 1 mm pathlength coquette flow cell.

Ethydium Bromide (EB) displacement by the metallacalix[4]arenes was measured by measuring the quenching of the EB fluorescence as it leaves the protection of the DNA. A DNA, salts, buffer solution with ethyidium bromide (EB) at a DNA:EB ratio of 4:5 (4  $\mu\text{M}$ : 5  $\mu\text{M}$ ), was prepared. The emission spectrum was recorded as a function of metallacalix[4]arene concentration by using a Perkin-Elmer LS50b and the metallacalix[4]arene concentration was slowly increased for DNA:metal complex ratios from 70:1 to 1:1 keeping the DNA and EB concentrations constant. After each addition the fluorescence and UV-Vis spectra were recorded (Parameters: Emission: 600 nm; Excitation: 540 nm; Excitation Slit: 10.0; Emission Slit: 15.0).

The gel electrophoresis was done using a HE99X Max submarine electrophoresis tray and EPS 3051 power supply from Amersham, UK. The power used was 7.5 V per cm of gel and run in 1x TAE buffer. The gel was 1 % agarose in 1 X TAE buffer. The dye mixture was 0.5% bromophenol blue and 0.5 % xylene cyanole in 30% glycerol / 70 % water. It was visualised using by soaking for 30 mins in a bath of 0.05  $\mu\text{g/ml}$  ethidium bromide followed by 5 mins in a 0.01 M magnesium chloride and irradiated at 312 nm for visualisation.

**Atomic Force Microscopy (AFM).** *Adsorption of blank calf thymus DNA.* Samples were prepared by depositing a drop (10  $\mu\text{L}$ ) of DNA solution (0.001 g/L) containing  $\text{MgCl}_2$  (4 mM) onto a recently cleaved muscovite mica sheet (Electron Microscopy Sciences). After adsorption for 2 min. at room temperature the samples were gently rinsed with Milli-Q quality water and dried with nitrogen. *Incubation of DNA with **1a** and **4**.* Solutions of DNA (0.01 g/L) were incubated at 25  $^\circ\text{C}$  with **1a** and **4** (10 basepairs/metallacalixarene) for one hour. *Adsorption of DNA-platinumcalix[4]arenes.* The DNA-metallacalixarene solutions were diluted 10 times. A drop of these solutions (10  $\mu\text{L}$ ) was deposited onto a recently cleaved sheet of mica for 2 min. The sample was



then rinsed and dried as described above. *Imaging by AFM.* AFM images were acquired in dynamic mode using a Nanotec Electronica system (<http://www.nanotec.es>). Olympus cantilevers were used with a nominal force constant of  $0.75 \text{ Nm}^{-1}$ .

## References

- [1] See for example. B. Lippert (Ed.), *Cisplatin, Chemistry and Biochemistry of A Leading Anti-Cancer Drug*, Wiley–VCH:Weinheim, 1999, and refs. therein.
- [2] C. Uerpmann, J. Malina, M. Pascu, G. J. Clarkson, V. Moreno, A. Rodger, A. Grandas, M. J. Hannon, *Chem. Eur. J.* **2005**, *11*, 1750-1756. ; M. J. Hannon, V. Moreno, M. J. Prieto, E. Molderheim, E. Sletten, I. Meistermann, C. J. Isaac, K. J. Sanders, A. Rodger, *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 903–908; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 880–884; I. Meistermann, V. Moreno, M. J. Prieto, E. Molderheim, E. Sletten, S. Khalid, P.M. Rodger, J. Peberdy, C. J. Isaac, A. Rodger, M. J. Hannon, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2002**, *99*, 5069–5074; A. Oleksi, A.G. Blanco, R. Boer, I. Uson, J. Aymami, A. Rodger, M.J. Hannon, M. Coll *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 1249-1253; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 1227-1231.
- [3] P. B. Glover, P. R. Ashton, L. J. Childs, A. Rodger, M. Kercher, R. M. Williams, L. De Cola, Z. Pikramenou, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 9918–9919; L. A. Levine, C. M. Morgan, K. Ohr, M. E. Williams, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 16764-16765.
- [4] J. A. R. Navarro, E. Barea, M. A. Galindo, J. M. Salas, M. A. Romero, M. Quirós, N. Masciocchi, S. Galli, A. Sironi and B. Lippert, *J. Solid State Chem.* **2005**, *178*, 2436-2451 and references therein.
- [5] S. Y. Yu, H. Huang, H. B. Liu, Z. N. Chen, R. B. Zhang and M. Fujita, *Angew. Chem.* **2003**, *115*, 710-714. *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2003**, *42*, 686-690.
- [6] Z. Q. Qin, M. C. Jennings and R. J. Puddephatt, *Inorg. Chem.* **2002**, *41*, 3967–3974;
- [7] M. A. Galindo, S. Galli, J. A. R. Navarro, M. A. Romero, *Dalton Trans*, **2004**, 2780-2785.
- [8] E. Barea, J. A. R. Navarro, J. M. Salas, M. Quirós, M. Willermann and B. Lippert, *Chem. Eur. J.* **2003**, *9*, 4414-4421.

[9] J. A. R. Navarro, E. Freisinger, B. Lippert, *Inorg. Chem.* **2000**, *39*, 2301-2305.

[10] Previous studies on the interaction of mononucleotides with palladium containing metallacalixarenes have shown that the supramolecular recognition is followed by coordination of Pd to the mononucleotide with the concomitant decomposition of the metallamacrocycle.

[11] H. G. Hansma, R. L. Sinsheimer, M. Q. Li, P. K. Hansma, *Nucleic Acids Res.* **1992**, *20*, 3585-3590.

[12] J. A. Abels, F. Moreno-Herrero, T. van der Heijden, C. Dekker, N. H. Dekker, *Biophysical Journal* **2005**, *88*, 2737-2744.

[13] D. G. Crosby, R. V. Berthold, *J. Org. Chem.* **1960**, *25*, 1916-1919.

[14] S. M. N. Efang, E. M. Alessi, H. C. Shih, Y. C. Cheng, T. J. Bardos, *J. Med. Chem.* **1985**, *28*, 904-910.

## Legends

**Scheme 1.** Metallacalix[4]arenes [enPt(5-X-pymo)]<sub>4</sub><sup>4+</sup> (**1**, X= H; **2**, X= Cl, **3**, X= Br, **4**, X= I) in their 1,3-alternate and cone conformations. Intermediate conformers are also possible.

**Figure 1.** Temperature dependant <sup>1</sup>H NMR spectra of **3** in the aromatic region.

**Figure 2.** UV-visible spectra of free ct-DNA (300 μM) and metallacalix[4]arene **1** at different DNA:**1** mixing ratios.

**Figure 3.** LD spectra of free ct-DNA (300 μM) and in the presence of **1** (a) and **2** (b). DNA base:metallacalixarene mixing ratios range from 200:1 to 1:1. Insets enlargements 4 ×.

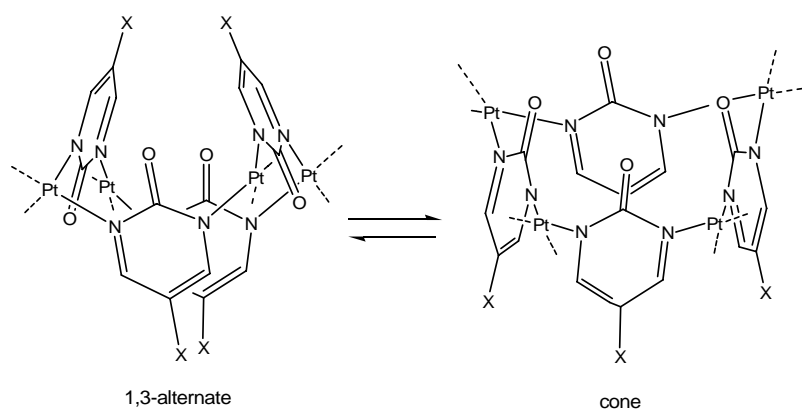
**Figure 4.** Fluorescence quenching of 5 μM ethidium bromide and 4 μM ct-DNA in the presence of **2** (a) and **4** (b). DNA base:metallacalixarene mixing ratios range from 70:1 to 1:1.

**Figure 5.** AFM topography showing DNA double strands adsorbed on a mica substrate using the classical method of adding MgCl<sub>2</sub> to a buffer solution with DNA.

**Figure 6.** AFM topographies of DNA incubated with **1** at mixing ratios (10:1) and adsorbed on mica. Long structures with high persistence length are observed. (A) *ca.* 15 μm DNA strands. (B) DNA strand with a typical height of 0.8 nm. The white dots along the DNA are attributed to metallacalixarene:DNA supramolecular assemblies.

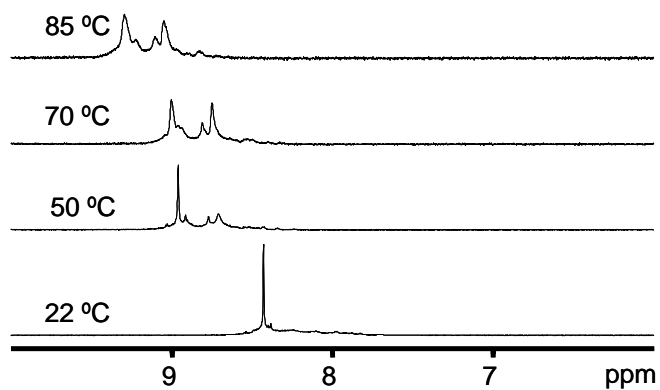
**Figure 7.** AFM topographies of DNA incubated with **1** (30:1 mixing ratio) adsorbed on mica. The white dots along the DNA are attributed to metallacalixarene:DNA supramolecular assemblies with a concomitant increase of the height of the strand from 0.6 nm to *ca.* 2 nm.

**Figure 8.** AFM topography of DNA incubated with **4**. The inset shows several DNA strands with a height of 0.8 nm indicating that the longer structure is a bundle with a height of 2.6 nm, much higher than the usual height measure with AFM on individual DNA strands. (B) is a zoom image taken on the smaller square marked in Fig. A.

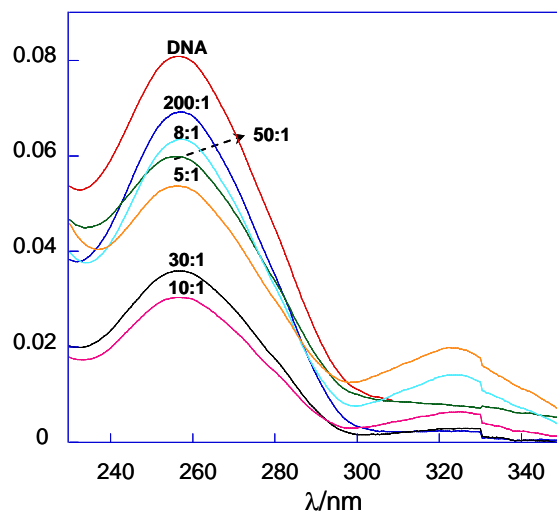


**Scheme 1**

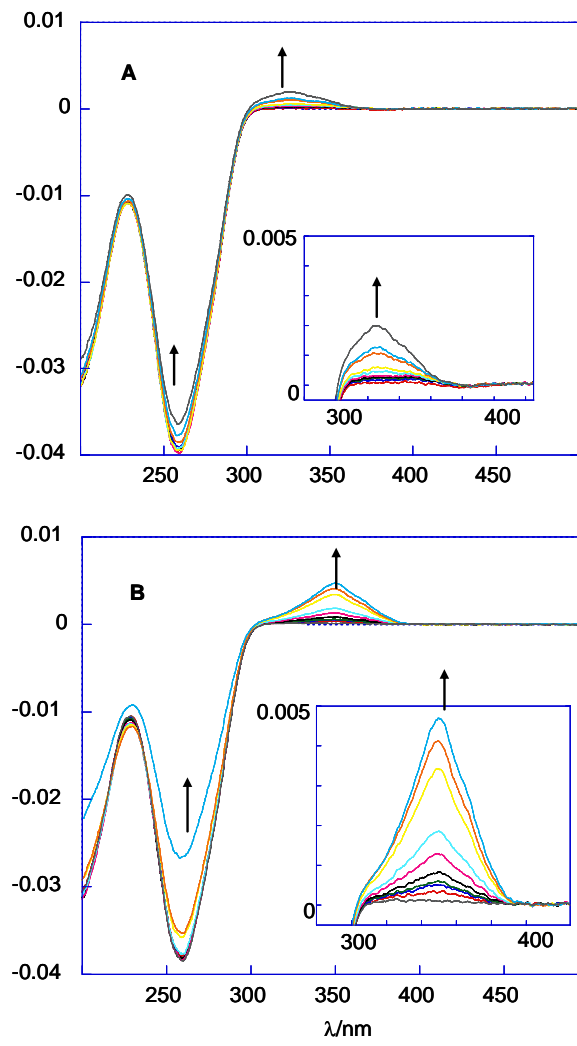
## Figures



**Figure 1**



**Figure 2**



**Figure 3**



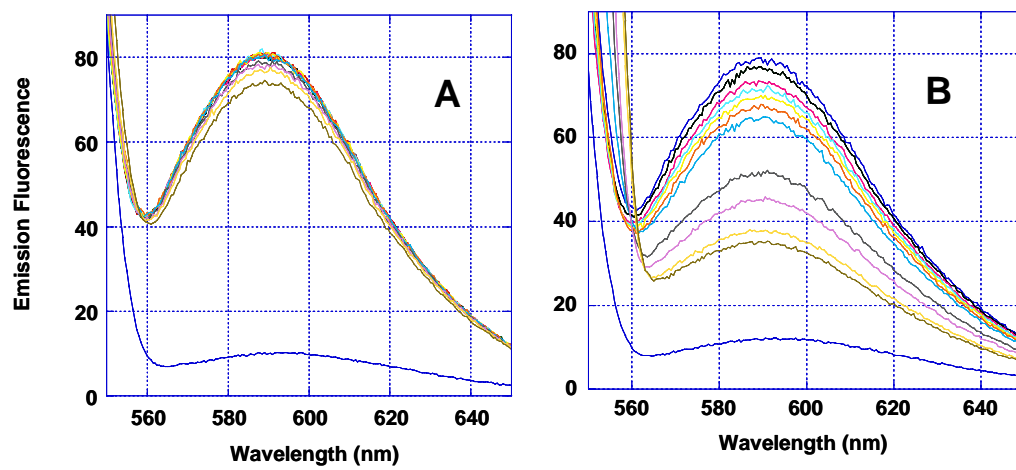
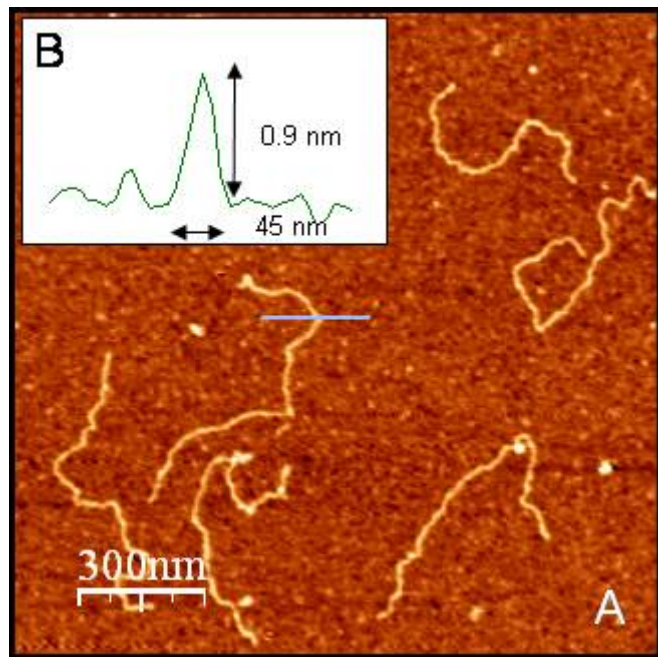
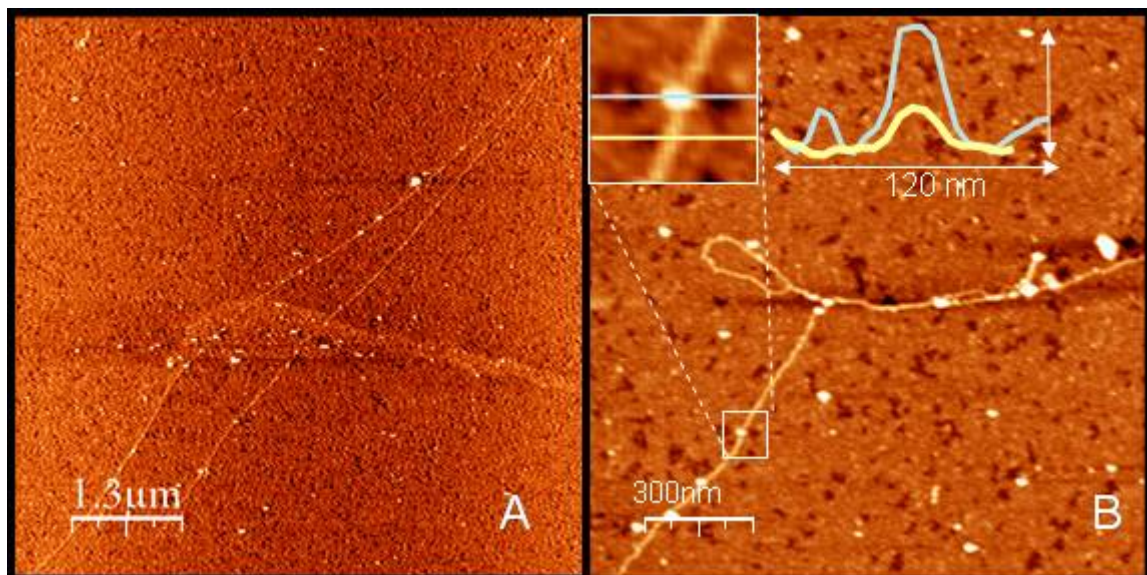


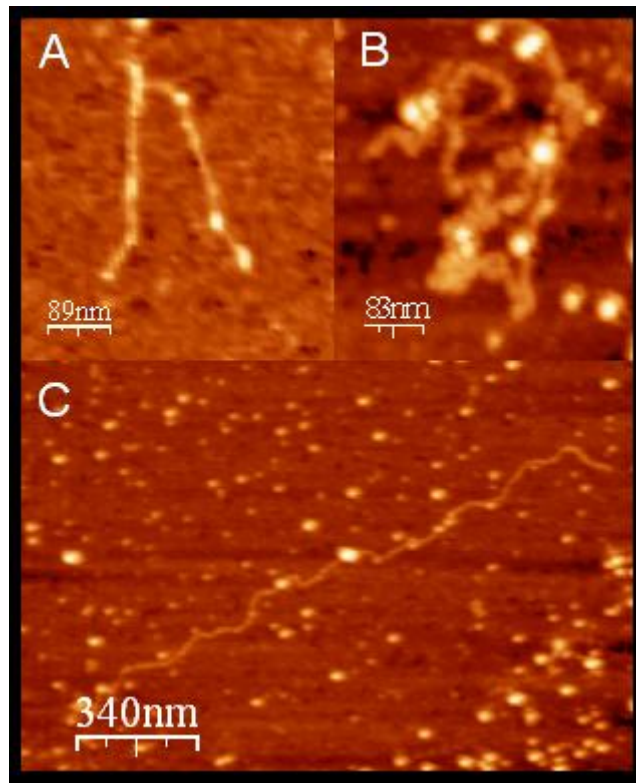
Figure 4



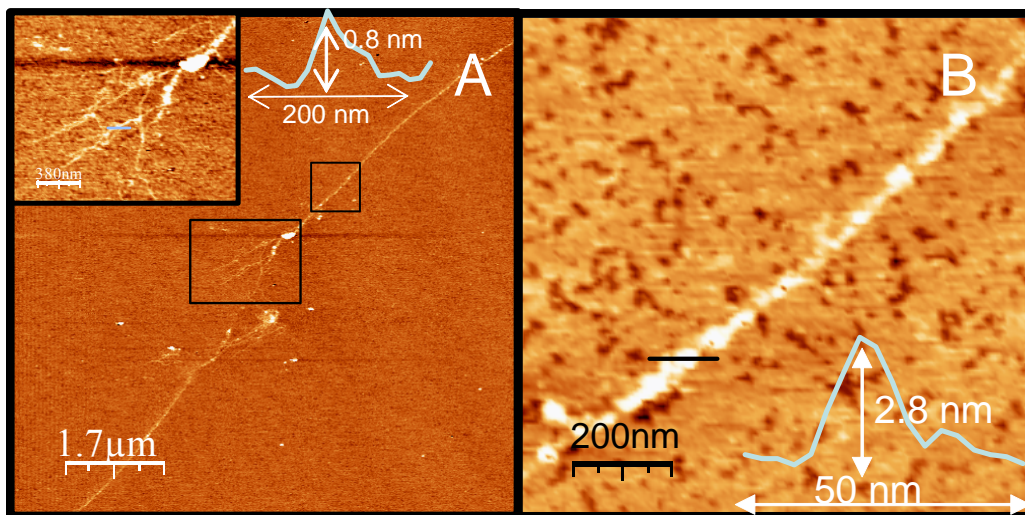
**Figure 5**



**Figure 6**



**Figure 7**



**Figure 8**

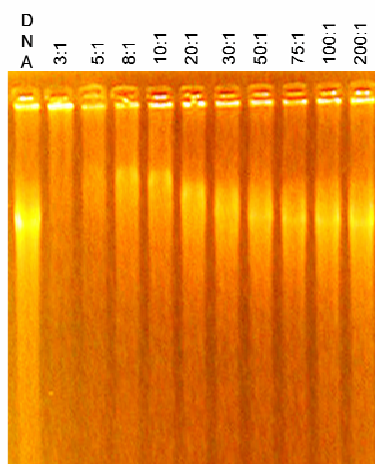


## Design and Non-covalent DNA Binding of Platinum(II)

### Metallacalix[n]arenes \*\*\*

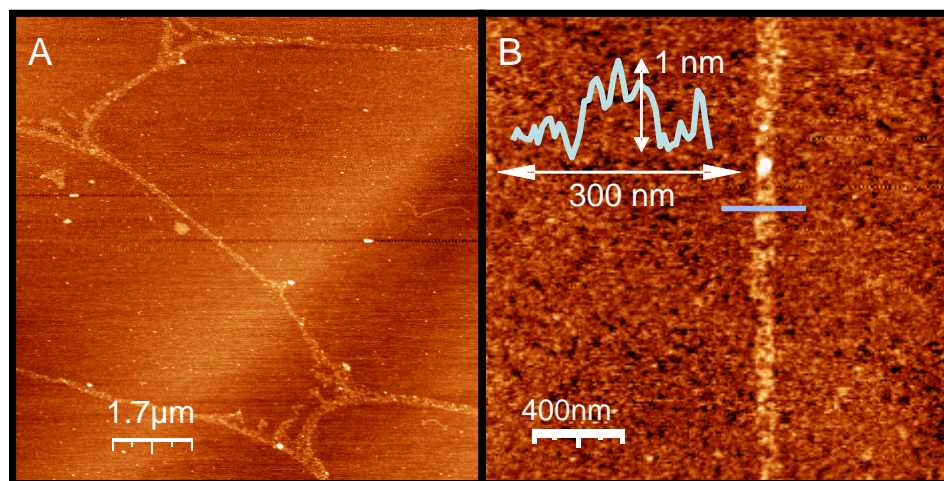
Miguel. A. Galindo, David Olea, M. Angustias Romero, Julio Gómez, Pedro del Castillo, Michael. J. Hannon,\* Alison Rodger,\* Félix Zamora\* and Jorge A. R. Navarro\*

## Supporting Information

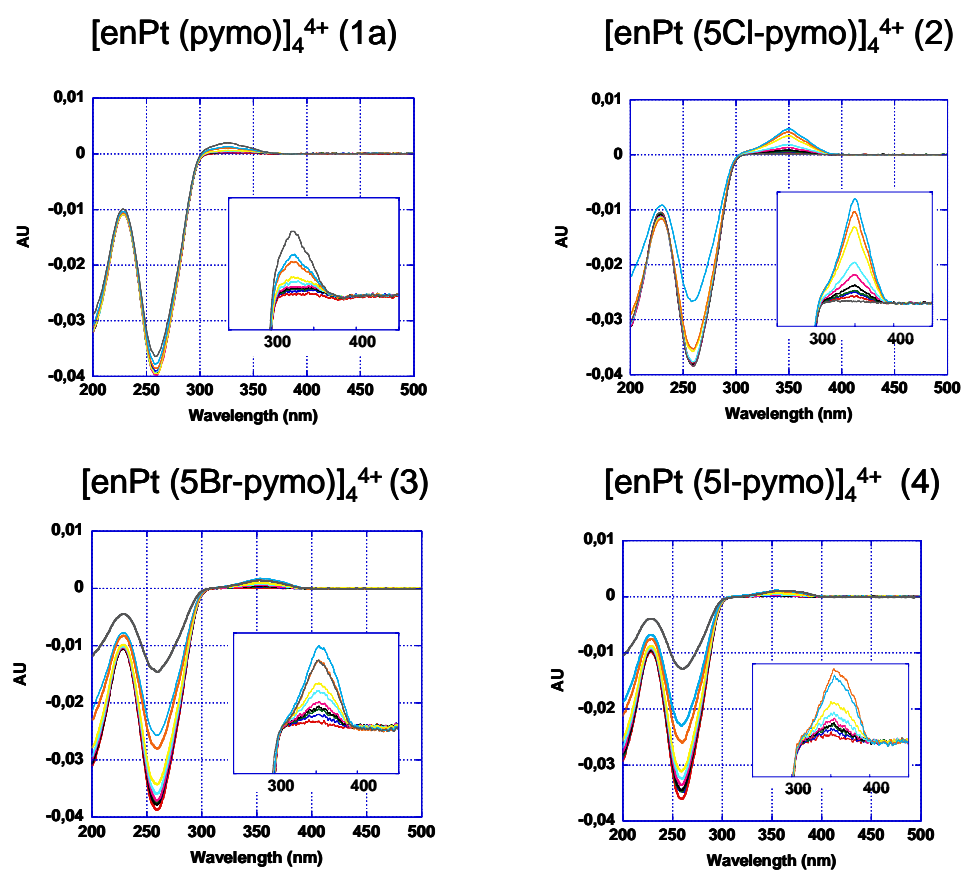


**Figure S1.** Agarose gel electrophoresis experiment of ct-DNA:1 mixtures

---

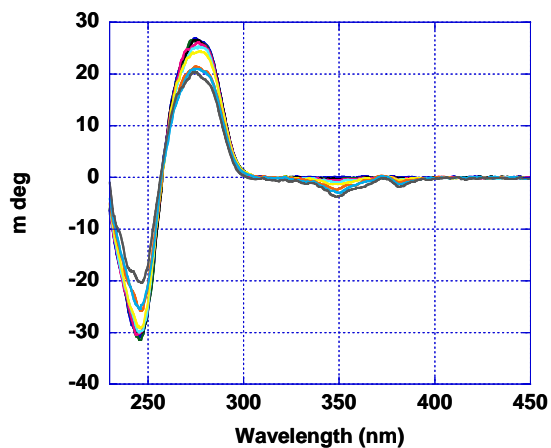


**Figure S2.** AFM topography image showing networks (A). Detail of (A) showing a granular ribbon like structure, and its profile, attributed to DNA chains bound to compound **4** (B).



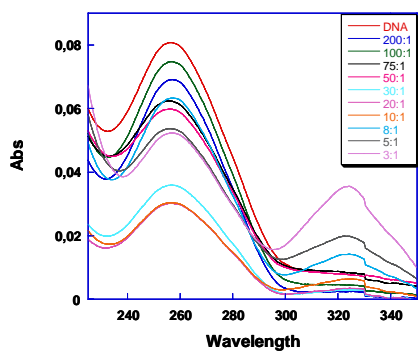
**Figure S3.-** LD spectra of free ct-DNA (300 μM) and in the presence of **1**, **2**, **3** and **4**. DNA:metallacalixarene mixing ratios range from 200:1 to 1:1.

### [enPt (5Cl-pymo)]<sup>4+</sup>

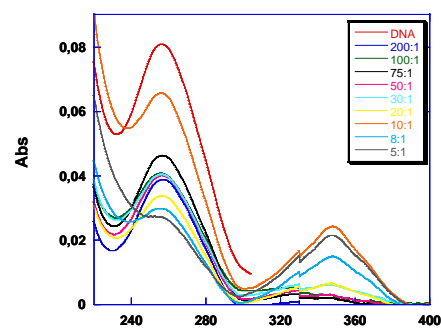


**Figure S4.** - CD spectra of free ct-DNA (300 μM) and in the presence of **2**. DNA:metallacalixarene mixing ratios range from 200:1 to 1:1.

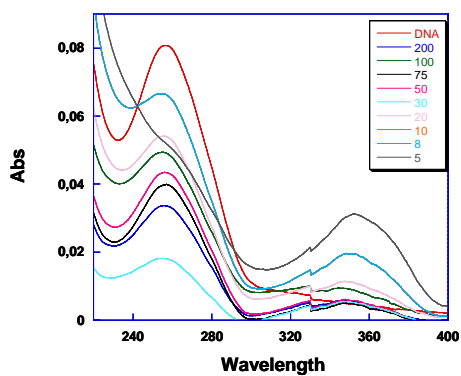
### [enPt(pymo)]<sub>4</sub><sup>4+</sup> (1)



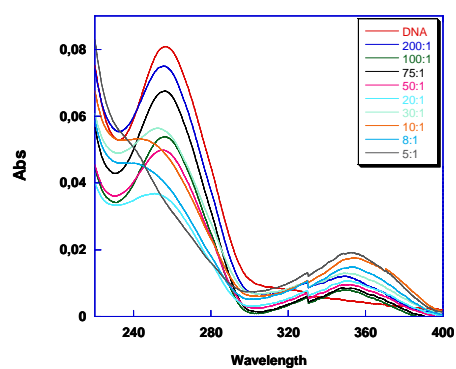
### [enPt(5Cl-pymo)]<sub>4</sub><sup>4+</sup> (2)



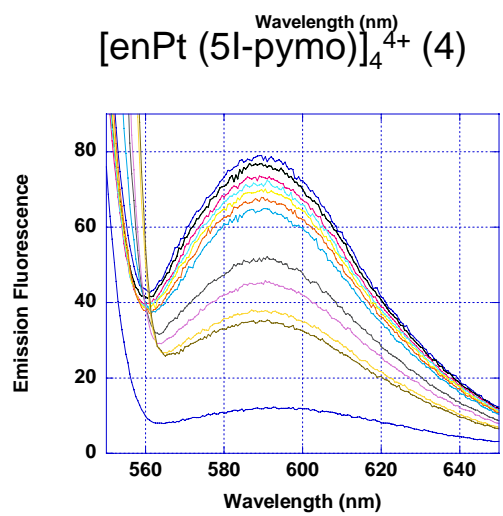
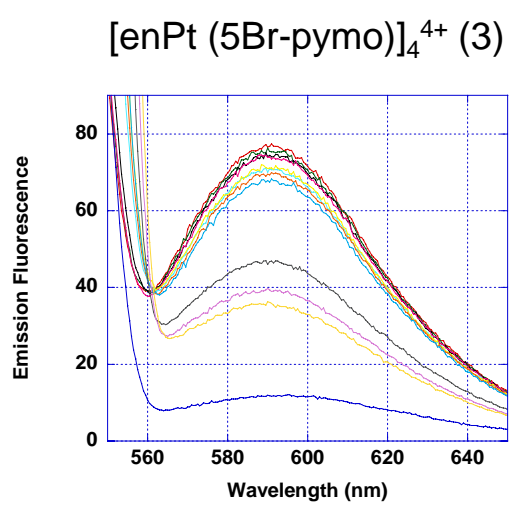
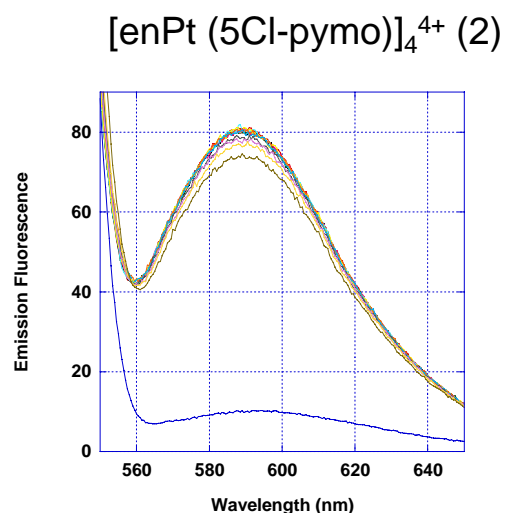
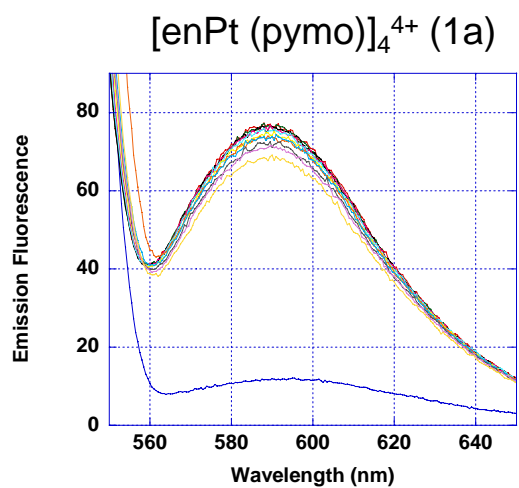
### [enPt(5Br-pymo)]<sub>4</sub><sup>4+</sup> (3)



### [enPt(5I-pymo)]<sub>4</sub><sup>4+</sup> (4)



**Figure S5** UV-visible spectra of free ct-DNA (300 μM) and in the presence of metallacalixarenes. DNA:metallacalixarene mixing ratios range from 200:1 to 1:1.

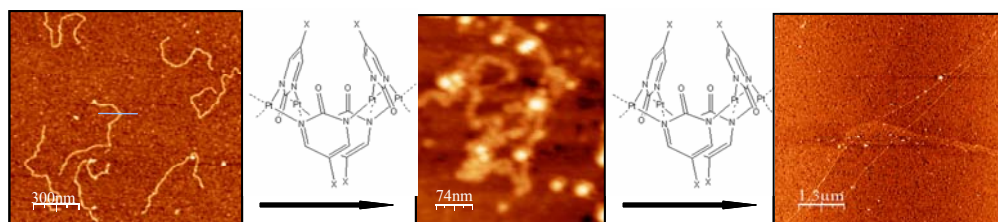


**Figure S6.** Fluorescence quenching of 5  $\mu\text{M}$  ethidium bromide and 4  $\mu\text{M}$  ct-DNA in the presence of **1** - **4** species. DNA:metallacalixarene mixing ratios range from 70:1 to 1:1.



## Table of contents

Supramolecular binding of tetracationic metallacalixarenes to DNA induces DNA coiling in a first stage and later on its uncoiling and stiffening upon increasing the complex concentration.



## **ANEXO VI**

**Electroactive heterotopic metallacalix[3]arenes  
containing 4,7-phenanthroline and 5-  
ethynylferrocene-5-hydroxypyrimidine bridges**

Chem. Comm. (en preparación)

# Electroactive heterotopic metallacalix[3]arenes containing 4,7-phenanthroline and 5-ethynylferrocene-5-hydroxypyrimidine bridges

Miguel A. Galindo,<sup>a</sup> Andrew Houlton<sup>\*b</sup>, R. W. Harrington, Francisco J. Santoyo-Gonzalez<sup>c</sup>, M. Angustias Romero<sup>\*a</sup> and Jorge A. R. Navarro<sup>\*a</sup>

5 Receipt/Acceptance Data [DO NOT ALTER/DELETE THIS TEXT]

Publication data [DO NOT ALTER/DELETE THIS TEXT]

DOI: 10.1039/b000000x [DO NOT ALTER/DELETE THIS TEXT]

[(en)<sub>3</sub>Pd(4,7-phen)<sub>3</sub>]<sup>6+</sup> vase undergoes a ligand exchange reaction with 5-ethynylferrocene-2-hydroxypyrimidine (Hefpymo) to give [(en)<sub>3</sub>Pd(4,7-phen)<sub>2</sub>(efpymo)]<sup>5+</sup>.

Metal ions play a very important role in the self-assembly process of discrete nano-sized species and extended coordination frameworks possessing cavities or channels ready for highly selective sensing, sieving and catalytic processes.<sup>1</sup>

15 Metallacalix[n]arenes are a class of container molecules structurally and functionally closely related to classical organic calixarenes in which the methylene and phenol rings are respectively replaced by a metal fragment and a bent nitrogen heterocycle.<sup>2</sup> Moreover, metallacalixarenes are generally positively charged with a concomitant high affinity for anionic substrates.<sup>3,4</sup>

We have previously shown the straight forward formation of metallacalix[n]arenes in a self-assembly process involving *cis*-protected square planar d<sup>8</sup> metal ions and non-linear nitrogen heterocycles. These systems are able to give host-guest interactions with mononucleotides which in some cases takes place in an enantioselective way. However, these kind of interactions have been proven by <sup>1</sup>H NMR spectroscopy only and therefore their use for sensing purposes is limited.

In a previous report, we have studied the ligand exchange reactions of [Pd<sub>3</sub>(en)<sub>3</sub>(4,7-phen)<sub>3</sub>]<sup>6+</sup> (**1**) with 2-hydroxypyrimidine (Hpymo) derivatives to build heterotopic metallacalix[3]arenes of the type [Pd<sub>3</sub>(en)<sub>3</sub>(4,7-phen)<sub>2</sub>(pyrimidin-2-olate)]<sup>5+</sup> (**2a**)<sup>5</sup> (Scheme 1). This reaction pathway is more advantageous than the direct reaction of enPd<sup>2+</sup>, 4,7-phen and Hpymo building blocks, since it goes under milder conditions. In the present communication, we take advantage of this strategy to prepare electrochemically active metallacalixarenes using the 5-ethynylferrocene-2-hydroxypyrimidine (**3**) derivative.

A convenient route to prepare ferrocene functionalised nucleobases is the use of a coupling reaction between ethynyl- or vinyl-ferrocene and the corresponding iodo-derivatives.<sup>6</sup> Compound **3** has been prepared in a coupling reaction between 5-Iodo-2-hydroxypyrimidine and ethynylferrocene. This novel system has

been characterised by ESI-MS, <sup>1</sup>H NMR, cyclic voltametry, and X-ray diffraction. The X-ray analysis of **3** confirms the attachment of the ethynylferrocene fragment to the C5 position of the pyrimidine ring (Figure 1). Cyclic voltametry of **3** exhibits a reversible one-electron wave with a formal potential E° lying +140 mV versus ferrocene-ferrocinium and -160 mV versus ethynylferrocene-ethynylferrocinium.

Reaction of metallacalix[3]arene **1** with **3** at 50 °C gives rise to the displacement of one of the 4,7-phenanthroline bridging ligands by **3** to give the heterotopic species [Pd<sub>3</sub>(en)<sub>3</sub>(4,7-phen)<sub>2</sub>(5-ethynylpyrimidin-2-olate)]<sup>5+</sup> (**2b**) (see scheme 1 and figure 2). Alternatively, **2b** can also be obtained by direct reaction of a 1:1:2 mixture of [enPd(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>]<sup>2+</sup>, **3** and 4,7-phenanthroline, however, the activation temperature is higher.

The <sup>1</sup>H NMR studies are indicative of the formation of the **2b** species, showing the loosening of the original C<sub>2v</sub> geometry of the phenanthroline ligands as well as a 0.17 ppm upfield shift of aromatic resonances compared to monoprotonated ethynylferrocene.

The cyclic voltametry ????

The Spanish Ministry of Science and Education is acknowledged (project CTQ2005-00329/BQU and a FPI doctoral fellowship (MAG)).

## Notes and references

† 5-ethynylferrocene-2-hydroxypyrimidine (**3**): 5-Iodo-2-hydroxypyrimidine (1mmol, 0.222g) was dissolved in dry and deoxygenated Piperidine. Ethynylferrocene (1mmol, 0.218g), CuI (0.15 mmol, 0.028 g), (PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>PdCl<sub>2</sub> (0.1 mmol, 0.07g) were added sequentially under a N<sub>2</sub>/H<sub>2</sub> atmosphere. The reaction was heated at 60°C during 5h. Yield: 44%.

**3**. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, MeOD-d<sub>4</sub>, 25 °C): δ(ppm) = 4.14 (s, 5H; Fc), 4.20 (m, 2H; Fc), 4.38 (m, 2H; Fc), 8.30 (s, 2H; H<sub>4,4'</sub> efpymo) ESI-MS= 304.6.

† [Pd<sub>3</sub>(en)<sub>3</sub>(4,7-phen)<sub>2</sub>(5-ethynylpyrimidin-2-olate)]<sup>5+</sup> (**2b**): a 5 mL of MeOD solution of 5-ethynylferrocene-2-hydroxypyrimidine (0.005mmol, 1.5mg) was mixed with a D<sub>2</sub>O solution of [Pd<sub>3</sub>(en)<sub>3</sub>(4,7-phen)<sub>3</sub>]<sup>6+</sup> (0.005mmol, 7.1 mg in 1 mL). The solution was heated during 5h at 50°C. Alternatively, **2b** can also be obtained by direct reaction of the enPd(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>, **3** and 4,7-phenanthroline in a mixed solution of H<sub>2</sub>O/MeOH heating at 60°C during 5h.

**2b**. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, MeOD-d<sub>4</sub> / D<sub>2</sub>O, 25 °C): δ(ppm) = 2.93-3.07 (m, 24H; en), 4.00 (s, 5H; Fc), 4.08 (m, 2H; Fc), 4.18 (m, 2H; Fc), 7.87 (dd, J<sub>1,2</sub> = 3.2 Hz, J<sub>2,3</sub> = 5 Hz; 4H; H<sub>2,2'</sub>-phen) 8.13 (s, 2H; H<sub>4,4'</sub> efpymo), 9.27 (d, 2H; H<sub>1</sub> phen), 9.28 (d, 2H; H<sub>1'</sub> phen), 9.53 (d, 2H; H<sub>3</sub> phen), 9.78 (d, 2H; H<sub>3'</sub> phen), 10.47 (d, J<sub>5,5'</sub> = 9.7 Hz, 2H; H<sub>5</sub> phen), 10.59 (d, 2H; H<sub>5'</sub> phen).

† Crystal Data of **3**: [FeC<sub>16</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>O·CH<sub>3</sub>O·H<sub>2</sub>O], M = 354.18, triclinic, space group P  $\bar{1}$ , a = 6.022(4), b = 9.912(6), c = 12.964(8) Å, α =

<sup>a</sup>Departamento de Química Inorgánica, Universidad de Granada, Av. Fuentenueva S/N, Universidad de Granada, Granada, E-18071 Spain. Fax: +34-958248526; Tel: +34-958240442; E-mail: jarn@ugr.es

<sup>b</sup> Department of Chemistry, university of Newcastle, , Newcastle upon Tyne, UK. Fax: XX XXXX XXXX; Tel: XX XXXX XXXX; E-mail: xxx@aaa.bbb.ccc

<sup>c</sup>Departamento de Química Orgánica, Universidad de Granada, Av. Fuentenueva S/N, Universidad de Granada, Granada, E-18071 Spain.

† Electronic Supplementary Information (ESI) available: [details of any supplementary information available should be included here]. See http://dx.doi.org/10.1039/b000000x/

78.772(7),  $\beta$ = 77.213(6),  $\gamma$ = 77.793(6) $^\circ$ ,  $V$ = 728.6(8)  $\text{\AA}^3$ ,  $Z$ = 2,  $\rho$ = 1.614  $\text{g cm}^{-3}$ ,  $T$ = 120(2) K,  $\lambda$  (synchrotron) 0.67510  $\text{\AA}$ ,  $F(000)$  = 368,  $R_{\text{int}}$  = 0.0462,  $R1(F_o)$  = 0.0795 ( $wR2(F_o^2)$  = 0.2096) for 2024 unique reflections with  $F^2 > 2\sigma$ , with a goodness-of-fit on  $F^2$  1.058. CCDC ????. See <http://dx.doi.org/> for crystallographic data in CIF or other electronic format.

<sup>1</sup> i.e. M. Fujita, M. Tominaga, A. Hori and B. Therrien, *Acc. Chem. Res.*, 2005, **38**, 369; S. Kitagawa and K. Uemura, *Chem. Soc. Rev.* 2005, **34**, 109.

<sup>2</sup> J. A. R. Navarro, E. Barea, M. A. Galindo, J. M. Salas, M. A. Romero, M. Quirós, N. Masciocchi, S. Galli, A. Sironi and B. Lippert, *J. Solid State Chem.*, 2005, **178**, 2436.

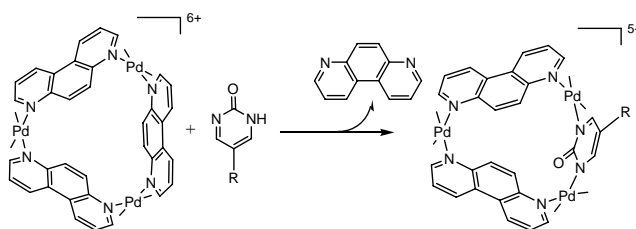
<sup>3</sup> S. Y. Yu, H. Huang, H. B. Liu, Z. N. Chen, R. B. Zhang and M. Fujita, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2003, **42**, 686.

<sup>4</sup> Z. Q. Qin, M. C. Jennings and R. J. Puddephatt, *Inorg. Chem.*, 2002, **41**, 3967–3974;

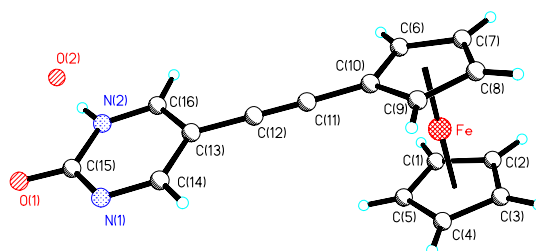
<sup>5</sup> M. A. Galindo, S. Galli, J. A. R. Navarro, M. A. Romero, *Dalton Trans.* 2004, 2780.

<sup>6</sup> A. R. Pike, L. C. Ryder, B. R. Horrocks, W. Clegg, B. A. Connolly, A. Houlton, *Chem. Eur. J.* 2005, **11**, 344. and references therein.

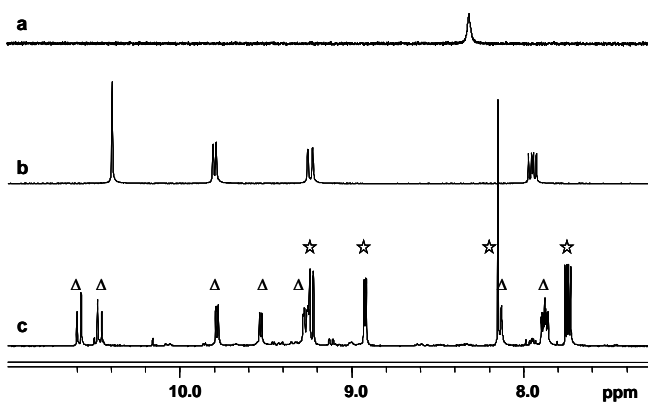
100 **Single column figure/scheme (below)**



**Scheme 1** Ligand exchange reaction between  $[\text{Pd}_3(\text{en})_3(4,7\text{-phen})_3]^{6+}$  and 5-functionalised 2-hydroxypyrimidines gives  $[\text{Pd}_3(\text{en})_3(4,7\text{-phen})_2(\text{pyrimidin-2-olate})]^{5+}$ . R= H (ref. 5); ethynylferrocene (this work).



**Fig. 1** View of the molecular structure of **3**



110 **Fig. 2** Aromatic region of  $^1\text{H}$  NMR (MeOD: $\text{D}_2\text{O}$ , 293 K, 400 MHz). a= 5-ethynylferrocene-2-hydroxypyrimidine (**3**); b= homotopic  $[\text{Pd}_3(\text{en})_3(4,7\text{-phen})_3]^{6+}$  (**1**); c= 1:1 reaction mixture of **1** and **3** after 4 h at  $50^\circ\text{C}$ . **2b** (triangles), free phenanthroline (stars).