



**COMPLEXOS D'INCLUSIÓ:
ENANTIODIFERENCIACIÓ,
RECONeixEMENT MOLECULAR I
EFECTE QUELAT.
CICLODEXTRINES GEGANTS.
ESTUDIS COMPUTACIONALS.**

Ivan Beà Bobet

Desembre de 2001

UNIVERSITAT AUTÒNOMA DE BARCELONA.

EDFC

DEPARTAMENT DE QUÍMICA.

COMPLEXOS D'INCLUSIÓ:

ENANTIODIFERENCIACIÓ,

RECONeixEMENT MOLECULAR I

EFFECTE QUELAT.

CICLODEXTRINES GEGANTS.

ESTUDIS COMPUTACIONALS.

Ivan Beà Bobet

Aquesta memòria d'investigació, presentada per a optar al grau de Doctor, titulada "Complexos d'inclusió: enantiodiferenciació, reconeixement molecular i efecte quelat. Ciclodextrines gegants. Estudis computacionals", ha estat realitzada en els laboratoris del Departament de Química de la Universitat Autònoma de Barcelona per Ivan Beà Bobet sota la direcció del professor Carlos Jaime.

Bellaterra, 25 d'Octubre de 2001

Vist i plau

Ivan Beà Bobet

Carlos Jaime Cardiel

Catedràtic de Química Orgànica

Aquesta tesi doctoral s'ha dut a terme gràcies als següents esperons institucionals:

Projecte "Reconocimiento molecular: enantiodiferenciación. Derivados de tipo Pirkle y ciclodextrinas", PB96-1181.

Projecte: "Avances en el reconocimiento quiral. Nuevos disolventes de solvatación quiral y asociación supramolecular", PPO2000-0369.

Beca predoctoral de formació d'investigadors de la Universitat Autònoma de Barcelona.

Borsa de viatge per a becaris predoctorals de la UAB per realitzar una estada de 3 mesos a la University of California San Francisco (E.U.A.) l'any 1999.

Grup de Química Orgànica Estructural

Departament de Química, Universitat Autònoma de Barcelona

Edifici Cn. 08193 Bellaterra

Telf: ++34-935811266 Fax: ++34-935811265

Aquesta fou la casa

Aquesta fou la casa beneida
d'Amor; un dia, entre aflamats rosers,
ploràvem, rèiem sense seny ni mida,
meravellats que el nostre cor cantés.

Fou un somni, un parany o una mentida
haver tingut quinze anys en els vergers?
O bé és engany i disfressada vida
tot l'arrossec inútil de després?

Vinc sol avui, en matinada freda.
Veig el verger, la font i la pineda
plens de murmuris musicals d'ahir,

i encara, sota del brancal, m'espia
la dolça por dels temps de primeria
que amb la mà alçada s'oprimeix el si.

Josep Carner

ÍNDEX

RESUM I OBJECTIUS -----	12
INTRODUCCIÓ -----	17
1 ASSOCIACIONS SUPRAMOLECULARS-----	19
2 CLÚSTER TIOUREA/CLOROCICLOHEXÀ-----	22
2.1 HISTÒRIA-----	22
2.2 ESTRUCTURA-----	23
2.3 TIOUREA/CLOROCICLOHEXÀ-----	26
3 CICLODEXTRINES-----	28
3.1 ESTRUCTURA-----	28
3.2 BREU HISTÒRIA DE LES CICLODEXTRINES-----	31
3.3 COMPLEXOS D'INCLUSIÓ-----	32
3.3.1 CAUSES DE LA COMPLEXACIÓ-----	34
3.3.2 DADES DE RAIGS X VS. SOLUCIÓ-----	37
4 CICLODEXTRINES GEGANTS-----	39
4.1 INTRODUCCIÓ-----	39
4.2 CA9, CA10 I CA14 RESPECTE CICLODEXTRINES COMUNES-----	40
4.3 ESTRUCTURA DE CA26-----	47
4.4 CAS EN SOLUCIÓ, PODEN FORMAR COMPLEXOS D'INCLUSIÓ?-----	49
RESULTATS -----	51
5 CLÚSTER TIOUREA/CLOROCICLOHEXÀ-----	53
5.1 ESTRUCTURA DE PARTIDA DE LA TIOUREA-----	53
5.2 RESULTATS DE LA MECÀNICA MOLECULAR-----	56
5.3 RESULTATS DE LA DINÀMICA MOLECULAR-----	58
5.3.1 INCLUSIÓ D'UNA MOLÈCULA DE CLOROCICLOHEXÀ-----	58
5.3.2 INCLUSIÓ DE TRES MOLÈCULES DE CLOROCICLOHEXÀ-----	60
5.4 DISCUSSIÓ DELS RESULTATS-----	67
6 CANVIS CONFORMACIONALS I BARRERA ENERGÈTICA DEL CICLOHEXANOL EN α -CICLODEXTRINA-----	69
6.1 DETERMINACIÓ DE LES BARRERES PER MECÀNICA MOLECULAR-----	70
6.2 DETERMINACIÓ DE LES BARRERES PER DINÀMICA MOLECULAR-----	74
6.3 DISCUSSIÓ DELS RESULTATS-----	80
7 ESTUDI D'ENANTIODIFERENCIACIÓ: COMPLEXOS DIASTEREOISOMÈRICS DE α -CICLODEXTRINA AMB CIZOLIRTINA I EL SEU CARBINOL PRECURSOR-----	83
7.1 INTRODUCCIÓ AL PROBLEMA-----	83
7.2 RESULTATS DE DINÀMICA MOLECULAR-----	85
7.3 CONSIDERACIONS GEOMÈTRIQUES-----	91
7.4 RESULTATS DE MM/PBSA-----	93
7.5 DISCUSSIÓ-----	95

8	RECONeixEMENT MOLECULAR: COMPLEXOS D'ESTER I AMIDA AMB DÍMER DE α -CICLODEXTRINES	97
8.1	INTRODUCCIÓ AL PROBLEMA	97
8.2	RESULTATS DINÀMICA MOLECULAR	100
8.3	RESULTATS DELS CÀLCULS DE PERTORBACIÓ D'ENERGIA LLIURE (FEP)	106
8.4	RESULTATS DE L'ANÀLISI MM/PBSA	112
8.5	DISCUSSIÓ DELS RESULTATS	118
9	EFFECTE QUELAT EN DÍMERS DE α -CICLODEXTRINA: COMPLEXACIÓ AMB BISADAMANTIL-FOSFAT.	120
9.1	INTRODUCCIÓ AL PROBLEMA	120
9.2	ESPÈCIES ISOLADES EN SOLUCIÓ	127
9.3	COMPLEXOS 1:1	129
9.4	COMPLEXOS 2:1	132
9.5	ESTUDI DEL QUELAT	136
9.6	CANVIS ENTRÒPICS	140
9.7	DISCUSSIÓ DELS RESULTATS	143
10	ESTUDI ESTRUCTURAL DE LES CICLOAMILOSES	146
10.1	RESULTATS PROMIG OBTINGUTS EN CADA CICLOAMILOSA	147
10.2	CICLODEXTRINES COMUNES	151
10.2.1	ESTRUCTURA CA6: α -CICLODEXTRINA	151
10.2.2	ESTRUCTURA CA7: α -CICLODEXTRINA	153
10.2.3	ESTRUCTURA CA8: α -CICLODEXTRINA	156
10.3	ESTRUCTURA CA9	159
10.4	ESTRUCTURA CA10	161
10.5	ESTRUCTURA CA11	163
10.6	ESTRUCTURA CA12	165
10.7	ESTRUCTURA CA13	167
10.8	ESTRUCTURA CA14	169
10.9	ESTRUCTURA CA26	172
10.10	ESTRUCTURA CA28	180
10.11	COMPORTAMENT GENERAL DE LES CICLOAMILOSES ESTUDIADAES	186
10.11.1	PARÀMETRES ESTRUCTURALS	186
10.11.2	ENERGIA PEL MÈTODE MM/PBSA	200
10.12	DISCUSSIÓ DELS RESULTATS	204
	RESUM FINAL	208
	CONCLUSIONS	214
	METODOLOGIA	218
11	MÈTODES DE CÀLCUL	220
12	MECÀNICA MOLECULAR	222
12.1	CAMP DE FORCES MM3	225
12.1.1	ENERGIA D'INTERACCIÓ ENTRE ÀTOMS ENLLAÇATS	225
12.1.1.1	ENERGIA DE DEFORMACIÓ DE L'ESQUELET MOLECULAR	225
12.1.1.2	DEFORMACIÓ DELS ANGLES DIEDRES IMPROPIS	226
12.1.1.3	ENERGIA DE TORSIÓ	227
12.1.2	ENERGIA D'INTERACCIÓ ENTRE ÀTOMS NO ENLLAÇATS	228
12.1.2.1	INTERACCIONS DE VAN DER WAALS	228
12.1.2.2	INTERACCIONS ELECTROSTÀTIQUES	229
12.1.3	TERMES CREUATS	230
12.1.4	EFFECTE DEL SOLVENT	230

13	DINÀMICA MOLECULAR-----	232
13.1	FONAMENTS TEÒRICS-----	233
14	AMBER-----	236
14.1	PROGRAMES PREPARATORIS-----	237
14.2	OBTENCIÓ DE CÀRREGUES ATÒMIQUES RESP-----	239
14.3	PROGRAMES ENERGÈTICS-----	241
14.4	EFFECTE DEL SOLVENT-----	245
14.5	PROGRAMES D'ANÀLISI-----	246
14.6	CÀLCUL DE L'ENERGIA D'INTERACCIÓ: METODOLOGIA MM/PBSA-----	247
APÈNDIX -----		250
15	CLÚSTER TIOUREA/CLOROCICLOHEXÀ-----	252
15.1	PARAMETRITZACIÓ DE LA TIOUREA PER MM3-----	252
15.2	METODOLOGIA MECÀNICA MOLECULAR-----	254
15.3	PARAMETRITZACIÓ DE LA TIOUREA PER DINÀMICA MOLECULAR-----	256
15.4	METODOLOGIA DINÀMICA MOLECULAR-----	258
16	CANVIS CONFORMACIONALS I BARRERA DEL CICLOHEXANOL EN -CICLODEXTRINA-----	260
16.1	METODOLOGIA DE MECÀNICA MOLECULAR-----	260
16.2	METODOLOGIA DE DINÀMICA MOLECULAR-----	261
CAPÍTOLS REALITZATS AMB AMBER -----		262
17	CÀRREGUES ATÒMIQUES DE LES MOLÈCULES ESTUDIADAES EN AMBER-----	263
17.1	CICLODEXTRINES-----	263
17.2	CARBINOL I CIZOLIRTINA-----	265
17.3	ESTER I AMIDA-----	267
17.4	BISADAMANTIL-FOSFAT-----	269
18	PARÀMETRES INTRODUÏTS AL FRCMOD.PAR QUE NO EREN PRESENTS AL PARM94-----	271
18.1	PARÀMETRES CICLODEXTRINES-----	271
18.2	PARÀMETRES CARBINOLS I CIZOLIRTINA-----	271
18.3	PARÀMETRES ESTER I AMIDA-----	272
18.4	PARÀMETRES BISADAMANTIL-FOSFAT-----	274
19	CONDICIONS DELS CÀLCULS-----	275
19.1	ENANTIODIFERENCIACIÓ: CARBINOL I CIZOLIRTINA-----	275
19.2	RECONeixEMENT MOLECULAR: ESTER I AMIDA-----	275
19.3	EFFECTE QUELAT: BISADMANTIL-FOSFAT-----	276
19.4	CICLODEXTRINES GEGANTS-----	276

RESUM I OBJECTIUS

Quatre anys realitzant una tesi doctoral donen per a molt i també per a molts canvis. Una tesi no és independent de tot el que l'envolta sinó que depèn de l'estat de la investigació en general (les línies que es cerquen i segueixen o es saturen i abandonen) així com de l'aptitud personal, l'interès del director de tesi, les línies dels altres membres del grup de treball, noves metodologies que sorgeixen per resoldre problemes i que en creen de nous i un llarg etcètera. Aquesta tesi va començar en un moment on membres del grup ja estaven redactant el seu treball i ens dedicàrem al que en podríem dir una continuació de la línia de recerca que es seguia en aquell moment; és a dir, a estudiar els complexos d'inclusió de ciclodextrines, primerament per mecànica molecular i posteriorment per dinàmica molecular, per tal d'aprendre les tècniques. Conjuntament es va començar l'estudi del clúster tiourea/ciclohexà, un tema nou per al nostre grup que va donar bons resultats tot i que es deixà de banda per les limitacions del moment en quant a simulació d'estructures cristal·lines. El tema dels esters i amides el va començar l'Enric Cervellò arran d'una estada a UCSF emprant la metodologia de perturbacions d'energia lliure, va acabar la tesi sense arribar a cap conclusió concreta i vam entomar el tema, amb l'estada a la UCSF també, on acabava de sorgir una nova tècnica (MM/PBSA) que va donar molt bons resultats i posteriorment va ser aplicada a altres temes desenvolupats en aquesta tesi (cas de l'enantiodiferenciació de la ciclodextrina front carbinols i derivats) o en altres del grup. Per tal de provar la bondat de la metodologia nova es va ampliar l'estudi al cas del bisadamantil-fosfat, es va comprovar que no es podien comparar complexos tan diferents i s'aprofità per estudiar només complexos del bisadamantil-fosfat amb diferents unitats de ciclodextrina, estudiant així l'efecte quelat. Havent gairebé conclòs els temes esmentats, i essent les

ciclodextrines un tema ja molt esgotat i estudiat en molts grups, es va decidir explotar un tema nou de les ciclodextrines amb la nostra metodologia: les ciclodextrines gegants. D'aquesta manera sorgeix una tesi que sembla no tenir cap unitat interna ni línia d'investigació clara, però en tesis computacionals podríem parlar de dues grans branques: el subjecte d'estudi i la metodologia emprada, les quals es combinen (estimulant-se o reprimint-se depenent de les condicions) per donar lloc a la línia global, a la que anomenarem objectius i que podem desglossar en aquests punts concrets:

- Estudiar els equilibris conformacionals de ciclohexans monosubstituïts i la seva modificació degut a la formació de complexos d'inclusió. Dos casos concrets: el clorociclohexà en el clúster tiourea/ciclohexà (estructura cristal·lina) i el ciclohexanol en la α -ciclodextrina (complex en solució, avaluant també les barreres energètiques). Estudiats per mecànica i dinàmica molecular amb el camp de forces MM3* de MacroModel.
- Estudiar la capacitat d'enantiodiferenciació de la α -ciclodextrina per la formació de complexos d'inclusió amb la cizorlitina i el seu carbinol precursor. Estudiats per dinàmica molecular amb el programa AMBER i anàlisis per MM/PBSA.
- Descobrir l'origen de la diferència en les energies de complexació, amb un dímer de la α -ciclodextrina, de dues molècules orgàniques diferenciades només per tenir un grup ester o un grup amida en la seva estructura. Estudiats per dinàmica molecular i perturbacions d'energia lliure amb el programa AMBER i anàlisis per MM/PBSA.

- Avaluar l'origen de l'efecte quelat en la complexació d'un bisadamantil-fosfat (neutre o aniònic) amb una o dues α -ciclodextrines i amb un dímer d'aquestes unit per un pont disulfur. Estudiats per dinàmica molecular amb el programa AMBER i anàlisis per MM/PBSA.
- Realitzar un estudi teòric de l'estructura i plegament de les anomenades ciclodextrines gegants (composades per un nombre elevat d'unitats de glucosa) en solució com a pas previ per a determinar si són capaces de formar complexos d'inclusió i de quin tipus. Estudiats per dinàmica molecular amb el programa AMBER i anàlisis per MM/PBSA i altres.

INTRODUCCIÓ

1 ASSOCIACIONS SUPRAMOLECULARS

Segons la definició del premi Nobel J.-M. Lehn¹ la química supramolecular és la química de l'enllaç intermolecular, cobreix les estructures i funcions de les associacions formades per dues o més espècies químiques. Podríem dir que les supermolècules són per a les molècules i l'enllaç intermolecular el que les molècules són per als àtoms i l'enllaç covalent.

Les associacions moleculars han estat reconegudes i estudiades des de fa temps² i el terme “supermolècula” ja va ser introduït a mitjans dels anys 30. Els components d'una supermolècula són, de comú, anomenats receptor i substrat^{3,4}, essent normalment el substrat el component més petit del qual es busca la complexació.

¹ Lehn, J.-M., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1988**, 27, 89.

² Pfeiffer, R., *Organische Molekülverbindungen*, Enke Verlag, Stuttgart **1927**.

³ Lehn, J.-M., *Struct. Bonding (Berlin)* **1973**, 16, 1.

⁴ Lehn, J.-M., *Pure Appl. Chem.*, **1978**, 50, 871.

QUÍMICA

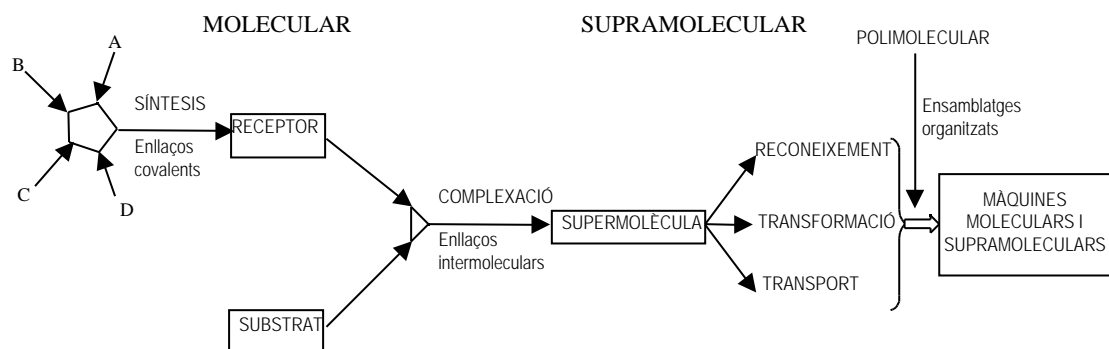


Figura 1 De la química molecular a la supramolecular; molècules, supermolècules i màquines supramoleculars

La complexació d'un substrat amb un receptor, Figura 1, porta a la supermolècula i implica un procés de reconeixement molecular. Si el receptor, a més, suporta grups funcionals reactius poden ocórrer transformacions químiques en el substrat complexat, comportant-se així com un reactiu o catalitzador supramolecular. Si en canvi tenim un receptor soluble de membrana, lipofílic, pot actuar com a transportador del substrat enllaçat. Així doncs, el reconeixement molecular, la transformació i el transport serien les funcions bàsiques de les espècies supramoleculars. Es poden obtenir funcions més complexes de l'interacció entre diversos substrats amb un receptor politòpic. Les supermolècules funcionals, en associació amb acoblaments i fases polimoleculars ordenades (capes, membranes, vesícules, cristalls líquids, etc.) poden portar al desenvolupament de màquines moleculars⁵.

⁵ Per a tenir una visió general de les màquines moleculars consultar a) introducció de la Tesis Doctoral de Xavier Grabuleda, Març 2000, UAB b) Grabuleda, X.; Jaime, C.; *Anales de la R.S.E.Q.*, **2001**, 97 (2), 3.

En aquest treball es presenten alguns casos de supermolècules, les quals impliquen processos de reconeixement (ja que per mecànica molecular no podem estudiar reactivitat o transformacions químiques) i que s'expliquen seguidament:

1.- S'estudia el clúster tiourea/clorociclohexà com a cas de compost d'inclusió sòlid.

2- S'estudien les ciclodextrines i els seus complexos d'inclusió, estudiats en solució com a complexos dinàmics. A part de tenir aplicacions importants en la indústria química, farmacèutica i d'alimentació, les ciclodextrines són estudiades com a prototipus per a la investigació de les interaccions no-covalents entre diferents molècules, abarçant així camps com el reconeixement molecular en química, la química supramolecular i la biologia^{6,7}.

3- S'estudien les ciclodextrines gegants, que si bé no poden ser considerades com a supermolècules, ja que s'estudien les molècules per separat i no la seva associació, són susceptibles de formar supermolècules al igual que les ciclodextrines anteriors. Però primer s'ha de conèixer la seva estructura i dinàmica abans d'avançar propietats d'inclusió. Amb aquest tema ens apropem al camp de la bioquímica ja que és molt important l'estructura tridimensional que adopten (amb replegaments i hèlixs) i presenta similituds amb l'anomenat problema de replegament proteic (*protein folding problem*).

⁶ Cramer, F., *Einschlussverbindungen*, Springer-Verlag, Heidelberg **1954**.

⁷ Wenz, G., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, 33, 803.

2 CLÚSTER TIOUREA/CLOROCICLOHEXÀ

2.1 HISTÒRIA

Existeix un considerable interès per les propietats químiques i físiques dels compostos d'inclusió sòlids, com a conseqüència de l'ampli rang de importants propietats estructurals, dinàmiques i químiques que se'ls associa. Depenent tant de les espècies *guest* com *host* (associades sense cap tipus d'enllaç covalent), es poden formar diversos tipus de estructures tridimensionals. D'entre els sistemes que poden formar canals, els compostos d'inclusió en urea i tiourea han estat estudiats en gran detall. Per difracció de raigs X es coneix que tots dos sistemes estan formats per canals hexagonals, estabilitzats per interaccions d'enllaç d'hidrogen entre les molècules que el componen. La mida d'aquests canals és un discriminador de les molècules que s'inclouen; mentre que el canal d'urea (més petit) és apropiat per allotjar cadenes hidrocarbonades lineals o ramificades⁸, el canal de tiourea és prou gran com per acomodar molècules més voluminoses com ara hidrocarburs cíclics mono- i di-substituïts⁹ o incloure metal·locens¹⁰. En aquest punt de vista, trobem una extensa literatura de compostos d'inclusió en tiourea^{11,12}, i molts grups de recerca que han reconegut la diversitat de propietats físico-químiques exhibides per aquests sòlids.

⁸ Schlenk, W., *Liebigs Ann. Chem.*, **1949**, 565, 204.

⁹ Schlenk, W., *Liebigs Ann. Chem.*, **1951**, 573, 142.

¹⁰ Clement, R.; Claude, R.; Mazieres, C., *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1974**, 654.

¹¹ Atwood, J.L.; Davies, J.E.D.; MacNicol, D.D., (Eds). *Inclusion Compounds*, Vols 1-3 Academic Press, New York (**1984**); Vols 4 and 5, Oxford University Press, Oxford **1991**.

¹² Parsonage, N.G. and Staveley, L.A.K., *Disorder in Crystals*, Chapt. 11, Clarendon Press, Oxford **1978**.

2.2 ESTRUCTURA

Els compostos d'inclusió sòlids que posseeixen una estructura de túnels de tiourea poden ser, *a grosso modo*, dividits en dos tipus depenent de l'estructura cristal·lina que adopten: romboèdrics i monoclíncics. En ambdós casos, l'estructura del *host* (tiourea) és compresa per un extens arranjament de molècules de tiourea enllaçades per enllaços d'hidrogen (N-H \cdots S). Forma túnels unidireccionals que no s'intersecten entre ells, amb molècules *guest* localitzades dins aquests túnels. Els canals de tiourea es poden observar en la **Figura 2**, que representa una vista parcial del sistema tridimensional des de l'eix del túnel, en sistema romboèdric (canals hexagonals), sense presentar les molècules *guest* que l'omplen.

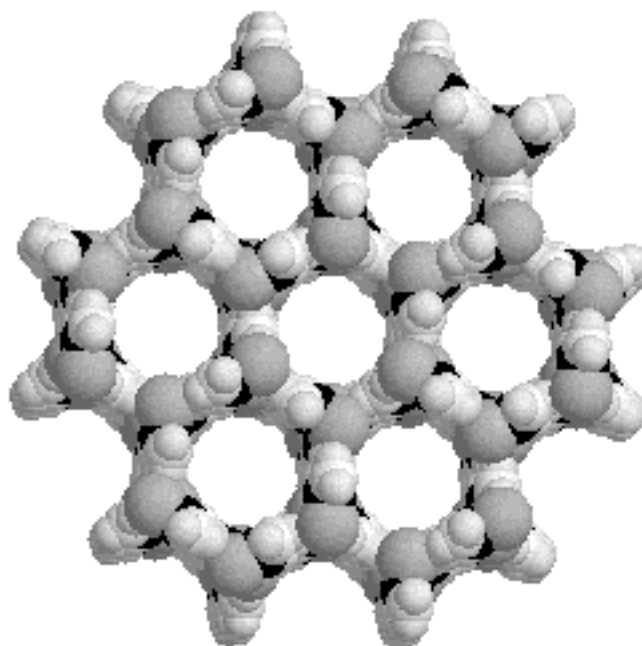


Figura 2. Imatge dels canals de la tiourea en el clatrat tiourea/clorociclohexà, estructura cristal·lina a 298 K. Les molècules de clorociclohexà s'ometen per claredat.

Les molècules de *guest* no existeixen en una sola conformació estable, sinó que sofreixen un procés d'intercanvi químic, com ara l'interconversió d'anells entre els confòrmers axial i equatorial (**Figura 3**). S'observa, però, una forta preferència per la conformació axial, com ha estat trobat pels cloro-, bromo-, i iodo-ciclohexans¹³. Cal emfatitzar que aquestes troballes contrasten amb les observacions en fase líquida o vapor, on el confòrmer equatorial és el dominant.

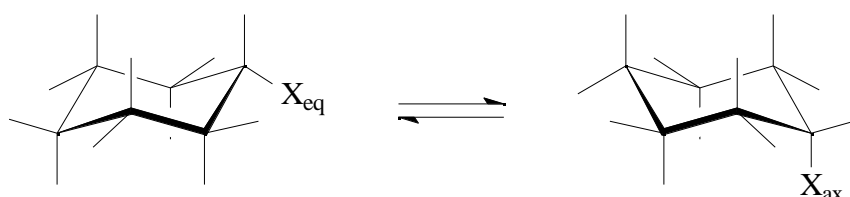


Figura 3 Equilibri conformacional dels ciclohexans monosubstituïts

A més, ha estat demostrat per estudis de ¹³C RMN a temperatura variable¹⁴ que només els ciclohexans que tenen substituents polars (bromo, iodo- i cloro-ciclohexà, ciclohexanol, ciclohexanotiol) exhibeixen el comportament conformacional inusual quan estan en tiourea, i aquest equilibri conformacional és independent de la temperatura, mentre que els ciclohexans amb substituents no polars (metil ciclohexà, isopropil ciclohexà, *tert*-butil ciclohexà) continuen preferint, com en dissolució, la conformació equatorial.

Per saber quines són les forces que estabilitzen la conformació axial dins la tiourea, hem de considerar diferents contribucions:

1. Contribució intramolecular: La diferència energètica entre els confòrmers axial i equatorial quan estan aïllats.

¹³ McKinnon, M. S. and Wasylishen, R. E., *Chem. Phys. Lett.*, **1986**, 130, 565.

¹⁴ Müller, K., *Magnetic Resonance in Chemistry*, **1995**, 33, 113.

2. *Guest-guest*: Interacció entre les diferents molècules *guest* dins el canal.
3. *Guest-host*: Interacció entre les molècules *guest* i la matriu del *host* (tiourea).

En tots aquests casos s'ha de tenir en compte tant les interaccions estèriques com les polars. En el cas dels ciclohexans amb substituents polars és obvi que les interaccions *guest-guest* i *guest-host* han de compensar la diferència energètica entre la conformació axial i l'equatorial. De l'estudi exhaustiu dels complexos d'inclusió de ciclohexans monosubstituïts en tiourea¹³ i de l'estudi teòric del clorociclohexà/tiourea¹⁵, es conclou que l'estabilització de la conformació axial es deguda a el seu major compactament (interaccions *guest-guest* estèriques), però que també influeixen molt les interaccions polars *guest-host*, ja que les interaccions estèriques, per si soles, no poden explicar el fet que substituents amb volum molecular petit com ara F, Cl, o Br tinguin una major tendència a adoptar la conformació axial que no pas el grup metil, més gran. L'estudi teòric sobre el clorociclohexà tiourea¹⁵ que acabem de mencionar ha estat capaç de racionalitzar les propietats estructurals del clúster, però està basat en un model matemàtic poc intuïtiu, així, en aquesta tesi hem volgut simular aquest clúster per mecànica i dinàmica molecular amb la intenció d'avaluar les posicions de les molècules en el canal, les seves interaccions i també els moviments que hi tenen lloc, de manera entenedora i més visual.

El fet que l'equilibri conformacional sigui independent de la temperatura en ciclohexans amb substituents polars, reflexa el factor entròpic d'aquests sistemes. En fase gas s'assumeix que S^0 està bàsicament determinada per les contribucions vibracionals¹⁶ i rotacionals¹⁷, però en els compostos d'inclusió en tiourea hi ha una

¹⁵ Schoefield, P.A.; Harris, K.D.M; Shannon, I.J.; Rennie, A.J.O., *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1993**, 1293.

¹⁶ Pickett, H. M.; Strauss, H. L., *J. Chem. Phys.*, **1970**, 53, 376.

contribució addicional degut al desordre orientacional de les molècules *guest*. Així, un diferent grau de desordre en les orientacions dels *guests* entre les dues conformacions explicaria les diferències en les constants d'equilibri de diversos ciclohexans amb substituents polars.

2.3 TIOUREA/CLOROCICLOHEXÀ

La difracció de raigs X d'un sol cristall¹⁸ mostra com, a temperatura ambient, la subestructura del *host* en clorociclohexà/tiourea és el convencional sistema de canals de la tiourea romboèdrica (grup espacial R3c; $a = 10,115 \text{ \AA}$, $c = 104,27^\circ$); el diàmetre del túnel varia substancialment al moure'ns al llarg d'aquest, amb el diàmetre mínim en el rang de 5.8 a 7.1 \AA . Les molècules *guest* hi estan bastant desordenades, encara que els resultats de difracció de raigs X suggereixen que les molècules *guest* ocupen certs llocs preferencials dins el túnel (investigacions computacionals¹⁵ de la interacció *host-guest* corroboren les característiques de la subestructura *guest* deduïda de les dades de difracció de raigs X a temperatura ambient). La relació molar *guest:host* del compost d'inclusió clorociclohexà/tiourea és coneguda¹⁹, i és de 1:3, corresponent a dos molècules *guest* en la distància periòdica repetida al llarg de l'eix del túnel (aquesta relació 1:3 és invariable, i compostos d'inclusió de clorociclohexà/tiourea de diferent relació no poden preparar-se experimentalment). Els paràmetres estructurals determinats

¹⁷ Höfner, D.; Lesko, S. A.; Binsch, G., *Org. Magn. Reson.*, **1978**, *11*, 179.

¹⁸ Harris, K. D. M. and Thomas, J. M., *J. Chem. Soc., Faraday Trans.*, **1990**, *86*, 1095.

¹⁹ Schlenk, W., *Justus Liebigs Ann. Chem.*, **1951**, *573*, 142.

pel compost d'inclusió clorociclohexà/tiourea, a 298 K (estructura romboèdrica) són els de la Taula 1.

Àtom	x/a	y/b	z/c	$U_{\text{iso}}/\text{Å}^2$	ocupació
S	-0.5531(2)	0.7500	0.0531(2)	0.095(2)	1
C	-0.6585(7)	0.7500	0.1585(7)	0.040(5)	1
N	0.1912(7)	0.6729(8)	0.1113(7)	0.096(4)	1

Taula 1 Paràmetres estructurals del clatrat tiourea/clorociclohexà a 298 K

En aquesta taula no s'indiquen les posicions dels àtoms del clorociclohexà, degut a que aquests no tenen posicions discretes, com ja s'ha dit, l'únic que és pot aconseguir és tenir una mitjana en el temps de la densitat electrònica de l'estructura del *guest* (dinàmicament desordenat), cosa que serveix per refinar l'estructura cristal·lina del compost, però no per tenir una idea de les posicions dels àtoms de clorociclohexà dins els túnels.

Aquest complex d'inclusió pot tenir una altra estructura cristal·lina, a baixa temperatura (85 K), que deriva de la fase romboèdrica descrita anteriorment, és molt similar però té simetria monoclínic ($P2_1/a$, $a = 9,9 \text{ Å}$, $b = 16,0 \text{ Å}$, $c = 12,5 \text{ Å}$, $\beta = 114,0^\circ$). La subestructura del *host* a baixa temperatura és, clarament, una forma distorsionada de la subestructura a temperatura ambient, sense cap canvi en la connectivitat via enllaç d'hidrogen, on les molècules de *guest* tenen posicions ben definides. La geometria de l'anell de ciclohexà no és la cadira estàndard, sinó més aviat una conformació "sobre". Les molècules del *guest* adopten una ordenació cap-cap/cua-cua, amb una distància intermolecular Cl-Cl de 4.6 Å , amb l'àtom de clor en posició axial respecte l'anell de ciclohexà.

Tot i que l'estructura del *host* és molt similar en les dues fases, no es pot dir el mateix per les molècules *guest* incloses. La diferència en les subestructures del *guest*, en

la fase d'alta i baixa temperatura, és normalment més significativa degut a un increment en el grau d'ordenació de les molècules *guest* en la fase a baixa temperatura.

3 CICLODEXTRINES

3.1 ESTRUCTURA

Les ciclodextrines²⁰ són oligosacàrids cíclics de la α -D-glucopiranososa. El cicle pot estar constituït per diferent nombre de monosacàrids, les més conegudes i utilitzades són les formades per 6, 7 i 8 unitats, anomenades respectivament α -, β -, i γ -ciclodextrina,

Figura 4.

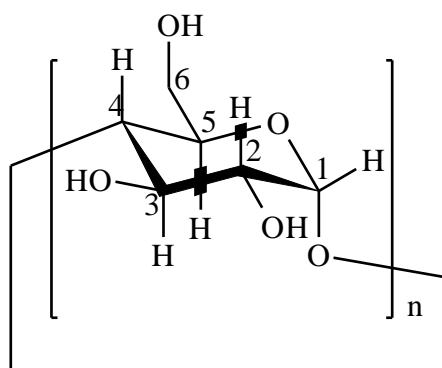


Figura 4. Numeració i conformació de les unitats de glucosa. Si $n=6, 7$ o 8 obtindrem la α -, β -, o γ -ciclodextrina respectivament.

Poden formar complexos d'inclusió amb molècules més petites que s'adapten a la seva cavitat interna (uns 5-8 Å de diàmetre), tant en estat sòlid com en dissolució²¹.

²⁰Saenger W., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1980**, *19*, 344.

²¹Duchêne D., *New Trends in Cyclodextrins and Derivatives*, Paris, Editions de Santé **1991**.

Les ciclodextrines tenen una forma de con truncat que presenta un extrem ample i un d'estret, **Figura 5**. Aquesta forma és conseqüència de la conformació de cadira rígida adoptada per les unitats de glucosa, **Figura 4**. A l'extrem ample es situen els hidroxils secundaris C₂-OH i C₃-OH, i a l'estret els hidroxils primaris C₆-OH. Els hidrògens H3 i H5 es troben a l'interior, apuntant al centre de la cavitat, mentre els H1, H2 i H4 s'orienten cap a l'exterior. Els hidrògens interns H3 i H5 són molt importants en els complexos d'inclusió degut als efectes estèrics que impliquen. Els oxígens glucosídics O1 i O4 es troben a l'equador del hipotètic con truncat, orientats cap a l'interior de la cavitat de la ciclodextrina, conferint-li una elevada densitat electrònica.

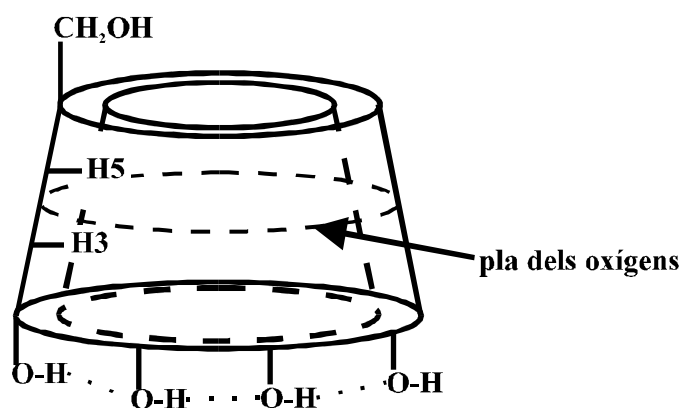


Figura 5. Representació esquemàtica de les ciclodextrines en forma de con truncat.

Degut a la disposició dels grups hidroxil, en les ciclodextrines es defineixen dues zones de diferent polaritat: una cavitat interior hidrofòbica²² i les zones exteriors hidrofíliques. La polaritat de la cavitat interna de la ciclodextrina s'acosta a la d'un medi orgànic poc polar (tipus èter o alcohol alifàtic), podent així afavorir la inclusió de molècules poc polars, mentre que l'exterior és més polar degut als grups hidroxil, els quals permeten la seva dissolució en aigua.

²² Schlenk, W.; Sand, V.M., *J. Am. Chem. Soc.*, **1961**, 83, 2312.

En aquest treball ens centrem en l'estudi dels complexos d'inclusió formats amb la α -ciclodextrina. Aquesta és la ciclodextrina més utilitzada i té el tamany de la cavitat adient per a la inclusió de les molècules estudiades. Està constituïda per set unitats glucopirànòsiques (**Figura 6**). Algunes de les propietats físiques d'aquesta són: consta de 147 àtoms que li confereixen un pes molecular de 1135 u.m.a., una solubilitat en aigua de 18,5 g/l a temperatura ambient, i té una cavitat interna de 6,0-6,4 Å de diàmetre que presenta un volum de 346 Å³.

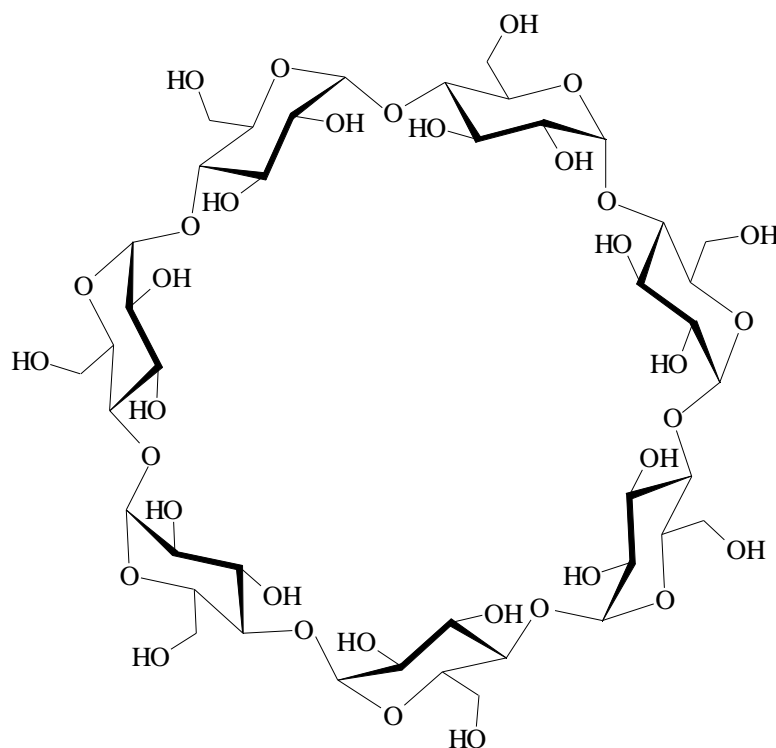


Figura 6. Estructura de la α -ciclodextrina.

3.2 BREU HISTÒRIA DE LES CICLODEXTRINES

Les ciclodextrines van ser aïllades per primer cop per Villiers el 1891²³ com a productes de degradació bacteriana del midó. Aquestes van ser caracteritzades com a oligosacàrids cíclics per Schardinger el 1904²⁴.

El 1938 Freudenberg *et al.*²⁵ van trobar que les ciclodextrines estaven formades per unitats de glucosa connectades entre si per enllaços (1 → 4). Es van elucidar les estructures de la α -, β - i γ -ciclodextrines de les quals, però, no es va determinar el seu pes molecular.

El mateix Freudenberg va reconèixer la capacitat de les ciclodextrines per a formar complexos d'inclusió. Des de llavors, molts han estat els autors que han estudiat aquests complexos. Cal destacar entre ells els nombrosos estudis realitzats per French²⁶ i Cramer^{27,28,29}.

Malgrat tot aquest desenvolupament de la química dels complexos d'inclusió de les ciclodextrines, aquests van tardar molt a aparèixer a la indústria, ja que el seu preu era prohibitiu. Quan es va trobar un mètode de preparació industrial de les

²³ Villiers A., *C. R. Acad. Sci.*, **1891**, 112, 536.

²⁴ Schardinger, F., *Wien Klin. Wochenschr.*, **1904**, 17, 207.

²⁵ a) Freudenberg, K.; Meyer-Delius, M., *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, **1938**, 71, 1596 b) Freudenberg, K.; Plankenhorn, E.; Knauber, H., *Chem. Ind. (London)*, **1947**, 731; *Justus Liebigs Ann. Chem.*, **1947**, 558, 1.

²⁶ French, D.; Levine, M.L.; Pazur, J.H.; Norberg, E., *J. Am. Chem. Soc.*, **1949**, 71, 353.

²⁷ Cramer, F., *Einschlußverbindungen*, Springer, Heidelberg **1954**.

²⁸ Cramer, F.; Hettler, H., *Naturwissenschaften*, **1967**, 54, 625.

²⁹ Cramer, F.; Henglein, F.M., *Chem. Ber.*, **1957**, 90, 2561.

ciclodextrines, van començar a aparèixer més treballs i patents sobre l'ús de les ciclodextrines. Cal destacar els treballs de Szejtli³⁰ als anys setanta i vuitanta.

Actualment, la síntesi industrial de la α -ciclodextrina es fa amb el bacteri *Bacillus No. 38-2*; la seva glicosil-transferassa és selectiva a aquesta ciclodextrina. S'obté un alt rendiment (el 80% del midó es convertit a α -ciclodextrina) produint-se quantitats mínimes de les altres ciclodextrines. Aquest enzim actua fins i tot a 80°C i a pH 6-10, és a dir, sota condicions que prevenen d'interferències d'altres microorganismes.

3.3 COMPLEXOS D'INCLUSIÓ

El terme 'complex d'inclusió' o *Einschlußverbindung* va ser emprat per primer cop per W. Schlenk³¹. Un complex d'inclusió és un compost on una molècula anomenada *guest* està espacialment restringida per una altra més gran anomenada *host*, sense que cap d'aquestes pateixi distorsions apreciables en la seva estructura. És important ressaltar que l'associació entre *guest* i *host* no es realitza mitjançant la formació d'enllaços covalents, sinó que les ciclodextrines tenen una cavitat interior prou gran com per formar complexos d'inclusió amb molècules petites o amb parts de molècules més grans.

Les ciclodextrines són aplicables en molts camps, degut a la seva capacitat per formar complexos d'inclusió. Les seves aplicacions més importants són:

- 1- Estabilització de substàncies sensibles a la llum o a l'oxigen.

³⁰ a) Szejtli, J., *Cyclodextrin Technology*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht **1988**; b) Szejtli, J., *Cyclodextrins and their Inclusion Complexes*, Akadémiai Kiadó, Budapest **1982**.

³¹ Schlenk, W., *Fortschr. Chem. Forsch.*, **1951**, 2, 92.

2- Modificació de la reactivitat química del *guest*:

- 2.1- la inclusió protegeix a les substàncies reactives i es poden barrejar amb d'altres substàncies sense cap perill.
- 2.2- es poden fer reaccions selectives per inclusió de determinats grups funcionals.
- 2.3- es poden afavorir o suprimir reaccions.

3- Fixació de substàncies molt volàtils:

- 3.1- es millora llur emmagatzematge i manipulació, sobretot en el cas de substàncies tòxiques.
- 3.2- la quantitat de substància volàtil necessària és menor respecte a quan aquesta no està complexada, ja que l'evaporació no es produeix o és poc significativa.
- 3.3- les quantitats de substàncies aromàtiques i fisiològicament actives es poden mesurar millor.

4- Modificació de les propietats físico-químiques de les molècules *guest*:

- 4.1- les substàncies poc solubles en aigua es fan més solubles o s'emulsionen més fàcilment al afegir ciclodextrines.
- 4.2- els complexos secs i finament dividits es poden dispersar i dissoldre millor que no pas les substàncies sense complexar.
- 4.3- com que la inclusió produeix canvis en l'espectre de la molècula, es possible modificar o suprimir el color de les substàncies.
- 4.4- també es poden suprimir gustos desagradables o no desitjats.

Les ciclodextrines també són utilitzades en cromatografia de columna, ja que la seva habilitat pel reconeixement de grups funcionals permet separar compostos semblants com, per exemple, el *o*-nitrofenol i el *p*-nitrofenol³².

Les ciclodextrines són òpticament actives i al complexar una mescla racèmica formen dos complexos diastereomèrics, els quals presenten propietats diferents i així un d'ells pot precipitar de forma preferencial, d'aquesta manera és possible separar la mescla.

També s'utilitzen com a catalitzadors de reaccions, ja que la interacció *host-guest* presenta moltes semblances amb la catàlisi enzimàtica en medi aquós.

Últimament, s'està aplicant la α -ciclodextrina a la farmàcia com a component base de medicaments. La seva nul·la toxicitat³³ i la seva capacitat per protegir i activar l'acció dels medicaments l'han convertit en companya inseparable de prostaglandines i antiulcerants.

3.3.1 CAUSES DE LA COMPLEXACIÓ

Degut a que els complexos d'inclusió no presenten cap enllaç covalent que uneixi químicament les molècules participants, s'ha intentat explicar la formació d'aquests complexos en base a altres forces. Algunes d'aquestes discussions no estan suportades per evidències experimentals. Es poden dividir les explicacions en tres nivells: fenomenològic, físic i químic. El fenomenològic inclou les interaccions com ara solut-solut, solut-solvent i solvent-solvent, les quals són identificades i se'ls adjudiquen

³² Societé des Produits Nestlé S.A., *Neth. Pat. Appl.*, 6505361, **1964**.

³³ FAO Nutrition Meetings, Series No. 46, A. WHO/ Food AAD/ 70.36.

papers quantitativs. El nivell físic es centra en les forces d'interacció que poden ser electrostàtiques, d'inducció i de dispersió (van der Waals). El nivell químic és completament una conseqüència dels altres dos, tot i que no és superflu; inclou els enllaços d'hidrogen, transferència de càrrega, parells iònics, interaccions hidrofòbiques i estèriques. Les hipòtesis que han estat proposades per a l'estabilitat dels complexos de les ciclodextrines són:

- 1- Interaccions de van der Waals³⁴ entre el *host* i el *guest*.
- 2- Formació d'enllaços d'hidrogen³⁵ entre el *guest* (si conté grups polars adients) i els hidroxils (primaris o secundaris) de la ciclodextrina.
- 3- Alliberament de les molècules d'aigua incloses en el macrocicle³⁶.
- 4- Efecte del dissolvent; si el solvent és polar (com ara l'aigua) i el *guest* és apolar, aquest tendirà a situar-se dins la cavitat apolar de la ciclodextrina³⁷.
- 5- Interaccions dipolars³⁸ entre el *guest* i la ciclodextrina.

Altres teories que s'estan estudiant enfoquen la seva atenció sobre les interaccions coulòmbiques, la influència de la mida del *guest*, les interaccions hidrofòbiques i la diferència de solvatació del *guest* en el solvent i en la ciclodextrina.

Altres factors importants a considerar són la estequiometria del complex; tot i que normalment és 1:1 també és coneixen casos, amb molècules *guest* de major tamany,

³⁴ Linert, W.; Han, L.; Lukovits, I., *Chem. Phys.*, **1989**, 139, 441.

³⁵ Park, J.H.; Nah, T.H., *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, **1994**, 6, 1359.

³⁶ Tabushi, I.; Kuroda, Y.; Mizutani, T., *J. Am. Chem. Soc.*, **1986**, 108, 4514.

³⁷ Tabushi, I.; Kiyosuke, Y-I.; Sugimoto, T.; Yamamura, K., *J. Am. Chem. Soc.*, **1978**, 916.

³⁸ Kitagawa, M.; Sakurai, M.; Hoshi, H.; Chûjô, R.; Inoue, I., *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1988**, 61, 4225.

l'estequiometria dels quals és de 2:1³⁹, i s'han de considerar diferents orientacions, Figura 7.

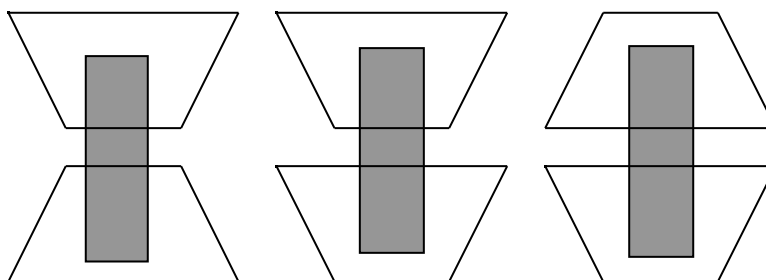


Figura 7 Tres orientacions diferents possibles per als complexos 2:1 de ciclodextrina (trapezidis) amb una molècula inclosa (rectangle gris).

També és interessant el fenomen de la multimodalitat⁴⁰, és a dir, la preferència que mostra la ciclodextrina a introduir en la seva cavitat certs grups funcionals d'una molècula *guest* en detriment dels altres presents, Figura 8.

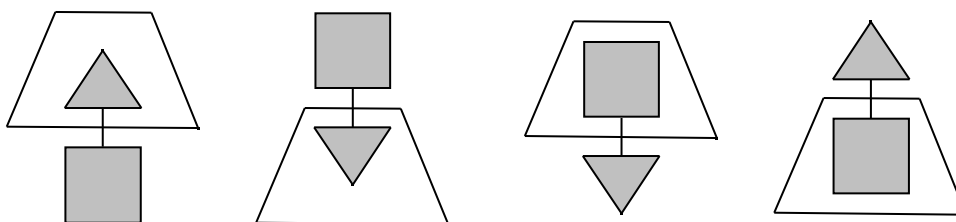


Figura 8 Multimodalitat: Orientacions possibles d'inclusió d'una molècula amb dos grups funcionals (quadrat i triangle) en una ciclodextrina (trapezi).

³⁹ Osajima, T.; Deguchi, T.; Sanemasa, I., *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1991**, 64, 2705.

⁴⁰ Cervellò, E., Treball de Recerca, Dept. Química, U.A.B., (1996) i també Tesi Doctoral, Març **1999**.

3.3.2 DADES DE RAIGS X VS. SOLUCIÓ

En aquest treball s'estudien els complexos en solució aquosa, però les dades experimentals que s'acostumen a tenir són moltes vegades de raigs X, i en molts estudis es comparen els resultats dels càlculs amb les estructures cristal·lines, però apareix una qüestió important: les estructures cristal·lines dels complexos són rellevants per a les solucions aquoses diluïdes? Molts investigadors creuen que les estructures en estat sòlid constitueixen una gran font d'informació, com una de les possibles conformacions que poden existir en solució^{41,42,43}, això és cert, l'estructura cristal·lina ens mostra una possible conformació del complex en solució, però en el cristall hi ha forces d'orientació inexistents en solució, o interaccions mútues que són reemplaçades per les interaccions solut-solvent, per tant ens cal esperar diferències estructurals entre els complexos sòlids i en solució. A més a més, els patrons que segueixen les ciclodextrines en els empaquetaments cristal·lins provoquen entorns o imposen restriccions bastant diferents de les presents en solució.

El mateix que passa amb els complexos, passa amb les ciclodextrines en sí; s'acostumen a prendre les estructures cristal·lines com a l'estructura present en solució, i en base a aquesta comparació es creen tot d'hipòtesis per justificar la complexació. Dins el nostre grup de treball apostem per un millor coneixement de les estructures en solució, degut als pocs estudis presents. Així, en aquest treball, es presenta l'estudi de les ciclodextrines naturals i les gegants en solució per entendre millor el seu

⁴¹ Lichtenthaler, F.W.; Immel, S., *Liebig's Ann.*, **1996**, 27.

⁴² Gessler, K.; Steiner, T.; Koellner, G.; Saenger, W., *Carbohydr. Res.*, **1993**, 249, 327.

⁴³ Steiner, T.; Gessler, K., *Carbohydr. Res.*, **1994**, 260, 27.

comportament, i en la tesi recentment presentada per un altre membre del grup⁴⁴, Pascal Bonnet, s'analitza la orientació preferent d'un dímer de ciclodextrines en solució, tema previ per conèixer els equilibris que s'estableixen abans de la formació d'un complex 2:1, dels quals també se n'estudien alguns casos, així com es fa en aquest treball.

⁴⁴ Bonnet, Pascal. Tesi Doctoral en cotutela, Université d'Orléans i Universitat Autònoma de Barcelona, Maig 2001.

4 CICLODEXTRINES GEGANTS

4.1 INTRODUCCIÓ

Les ciclodextrines formades per sis, set i vuit residus de glucosa (α -, β - i γ -CyD) són conegudes com a “ciclodextrines comunes” i són les més estudiades, les que contenen menys de sis residus de glucosa no existeixen degut a que serien massa tensionades, i aquelles que contenen més de vuit unitats de glucosa són molt solubles, difícils d'isolar i molt poc estudiades fins ara, almenys això és el que deia Connors en un review⁴⁵ sobre ciclodextrines el 1997, en el qual només es fa aquesta menció sobre les ciclodextrines gegants en les més de 50 pàgines. Només un any després apareix un altre review a la mateixa revista dedicat a les ciclodextrines gegants⁴⁶. Això ens pot donar una idea de la importància creixent d'aquestes ciclodextrines gegants i dels estudis que s'hi dediquen. De manera similar també és important indicar que en el primer review es valoren molt la importància dels mètodes de càlcul, sobretot la mecànica i dinàmica molecular, per tal de determinar i predir les geometries de les ciclodextrines i els seus complexos, i a més incitant als investigadors a tenir més en compte el solvent en els seus càlculs. En el segon review, les ciclodextrines gegants són bàsicament estudiades experimentalment, sobretot per raigs X, amb gairebé nuls estudis teòrics i molt menys amb les molècules en solució, per tant vam creure oportú dedicar

⁴⁵ Connors, K.A., *Chem. Rev.* **1997**, 97, 1325.

⁴⁶ Saenger, W.; Jacob, J.; Gessles, K.; Steiner, T.; Hoffmann, D.; Sanbe, H.; Koizumi, K.; Smith, S.M.; Takaha, T., *Chem Rev.* **1998**, 98, 1787.

un esforç computacional a aquest tema que sembla que es desenvoluparà de manera similar a com ho han fet les ciclodextrines comunes.

Així com fins ara s'han anomenat les ciclodextrines com a α -, β -, γ -ciclodextrines depenent si estan composades de 6, 7 o 8 unitats de glucosa respectivament, per anomenar les ciclodextrines gegants s'ha utilitzat la nomenclatura de cicloamiloses (CA) seguida del número de residus de glucosa que la componen. D'altra manera seria molt més confús i se'ns acabaria l'alfabet grec. Així doncs, la CA6 serà la α -ciclodextrina i la CA28 la cicloamilosa de 28 unitats.

4.2 CA9, CA10 I CA14 RESPECTE CICLODEXTRINES COMUNES

La fracció d'amilosa del midó es degradada per les glucosiltransferases, una o més voltes de l'hèlix d'amilosa són hidrolitzades i unides pels seus extrems formant oligosacàrids cíclics; les ciclodextrines. Com aquests enzims no són gaire específics es produeixen diversos macrocicles amb diferent nombre de glucoses. Els més abundants són els de 6, 7 i 8 unitats, esmentats en el capítol anterior, i se n'han fet molts estudis (espectroscòpics, cinètics i cristal·logràfics) però fins fa poc tan sols hi havia una anàlisi de raigs X d'una ciclodextrina major, la γ -CyD⁴⁷ (CA9). Recentment s'han publicat tres estructures més; la de deu unitats CA10^{48,49}, la de 14 unitats CA14⁴⁸ i, durant la realització d'aquest estudi (i per tant, inclosa en el mateix) la de vint-i-sis unitats

⁴⁷ Fujiwara, T.; Tanaka, N.; Kobayashi, S., *Chem. Lett.* **1990**, 739.

⁴⁸ Jacob, J.; Gessler, K.; Hoffmann, D.; Sanbe, H.; Koizumi, K.; Smith, S.M.; Takaha, T.; Saenger, W., *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **1998**, 37, 606.

CA26⁵⁰. D'altra banda, ciclodextrines amb més de 100 unitats de glucosa formant l'anell han estat preparades mitjançant l'acció d'enzim desproporcionador sobre l'amilosa⁵¹.

Per tal de comentar les característiques estructurals de les ciclodextrines gegants ens cal fer menció també de les característiques de les ciclodextrines comunes, ja que és per comparació a aquestes últimes que les cicloamiloses més grans presenten diferències. A la **Taula 2** es presenten algunes dades que tot seguit es comenten.

⁴⁹ Ueda, H.; Endo, T.; Nagase, H.; Kobayashi, S.; Nagai, T., *J. Inclusion Phenom. Mol. Recognit. Chem.*, **1996**, 25, 17.

⁵⁰ Gessler, K.; Uson, I.; Takaha, T.; Krauss, N.; Smith, S.M.; Okada, S.; Sheldrick, G.M.; Saenger, W., *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **1999**, 96, 4242.

⁵¹ Takaha, T.; Yanase, M.; Tkata, S.; Okada, S.; Smith, S.M., *J. Biol. Chem.*, **1996**, 271, 2902.

	CA6	CA7	CA8	CA9	CA10	CA14	
Número de glucoses	6	7	8	9	10	14	
Pes molecular	672	1135	1297	1459	1621	2270	
Solubilitat en aigua g/100 mL a temperatura ambient []	14.5	1.85	23.2				
	150±5	162.5±5	177.4±5				
Diàmetre de la cavitat Å	4.7-5.3	6.0-6.5	7.5-8.3				
Altura del con Å	7.9±1	7.9±1	7.9±1				
Volum de la cavitat Å ³	174	262	472				
pK per potenciometria, 25 °C	12.33	12.20	12.08				
Volums molars parcials en solució, mL/mol	611.4	703.8	801.2				
Paràmetres estructurals dels hidrats							
Angles de torsió O5(n)-C1(n)-O4(n-1)-C4(n-1)	av.	109.2	109.8	108.9	112.1	99.4	103.4
	min.	102.0	102.3	103.6	88.4	94.1	96.6
	màx.	114.9	118.6	123.2	141.2	102.1	110.2
Angles de torsió C1(n)-O4(n-1)-C4(n-1)-C3(n-1)	av.	128.8	127.6	127.1	124.7	106.1	112.6
	min.	115.1	114.2	111.9	97.6	96.3	103.6
	màx.	148.7	140.4	138.5	144.5	122.0	135.2
Angles O4(n)··O4(n-1)··O4(n-2)	av.	119.9	128.3	134.9	136.6	138.2	138.2
	min.	116.9	125.2	133.5	125.7	126.7	131.6
	màx.	122.3	132.5	136.9	149.9	145.9	142.5
Distàncies O4(n)··O4(n-1)	av.	4.235	4.385	4.502	4.489	4.488	4.54
	min.	4.158	4.267	4.433	4.262	4.36	4.45
	màx.	4.298	4.499	4.592	4.734	4.63	4.61
Distàncies O2(n)··O3(n-1)	av.	2.981	2.884	2.823	2.906	2.927	2.83
	min.	2.902	2.801	2.765	2.741	2.85	2.76
	màx.	3.150	2.978	2.911	3.234	3.01	2.90

Taula 2 Característiques físiques de CA6, CA7, CA8, CA9, CA10 i CA14, i paràmetres estructurals dels hidrats.

Com a característiques remarcables respecte la forma de les ciclodextrines destaca la coplanaritat dels oxígens O4, amb angles de torsió de 0 (no es presenten a la taula) per a les CA comunes, que defineixen els hexa-, hepta- i octàgons macrocíclics, però ja hi ha importants desviacions pel nonàgon CA9⁵². Les distàncies O4(n)··O4(n-1) que formen les arestes dels macrocicles són més o menys constants dins cada cicloamilosa; però augmenten de CA6 a CA8 ja que les unitats de glucosa s'han d'ajustar al radi de la respectiva CA. Per a la CA8 i les següents, aquestes distàncies ja són bastant constants (~4.5 Å).

⁵² Fujiwara, T.; Tanaka, N; Kobayashi, S., *Chem. Lett.*, **1990**, 739.

Els angles $O4(n)\cdots O4(n-1)\cdots O4(n-2)$ també segueixen una distribució similar; 120° en CA6, 128° en CA7, 135° en CA8, i per a les cicloamiloses més grans ja és manté en uns 138° . També és important fer notar que els paràmetres que defineixen la geometria pròpia de les unitats de glucosa (no presentats en aquesta taula) són més o menys constants i independents de la inclusió de diferents molècules en el macrocicle, és a dir, que en la formació de complexos, el *guest* té molt poca o nul·la influència en la geometria de les glucoses però sí que pot distorsionar el macrocicle de la CA.

La remarcable rigidesa estructural de les CA sembla, majoritàriament, deguda a un anell d'enllaços d'hidrogen entre els grups hidroxil O2-H i O3-H de glucoses adjacents. La distància $O2(n)\cdots O3(n-1)$ no és igual per totes les CA; decreix de CA6 (2.98Å) a CA7 (2.88Å) a CA8 (2.82Å), de manera que els enllaços d'hidrogen es fan més forts de CA6 a CA8. Aquest fet també ha estat corroborat per mesures d'intercanvi hidrogen/deuteri en solució aquosa, el qual és bastant lent en les CA, indicatiu d'enllaços d'hidrogen forts^{53,54}, i que estableix enllaços d'hidrogen més forts en CA7 que en CA6. També és interessant el fet que en CA7 els enllaços d'hidrogen s'intercanvien, és a dir, que poden ser $O3-H\cdots O2$ i $O3\cdots H-O2$, de manera dinàmica i no estàtica com s'ha comprovat per estudis calorimètrics i anàlisi de difracció de neutrons⁵⁵. Aquest intercanvi d'enllaços d'hidrogen és una característica estructural de CA7 i possiblement de CA8, però no de CA6, consistent amb els estudis de raigs X que poden localitzar els hidrògens de O2 i O3 en CA6 però no en CA7 i CA8 degut, probablement, al desordre.

⁵³ Casu, B.; Reggiani, M.; Gallo, G.G.; Vigevani, A., *Chem. Soc. Spec. Publ.*, **1968**, 23, 217.

⁵⁴ Bergeron, R.; Channing, M.A., *Bioorg. Chem.*, **1976**, 5, 474.

⁵⁵ Hanabata, K.; Matsuo, T.; Suga, H., *J. Inclusion Phenom.*, **1987**, 5, 325.

Així doncs, els enllaços d'hidrogen intermoleculars $O2(n)\cdots O3(n-1)$ estableixen la conformació del macrocicle i la orientació d'una unitat de glucosa respecte les seves veïnes, per tant, això limita l'espai conformacional dels diedres τ_5 , $\tau_5(n)-C1(n)-O4(n-1)-C4(n-1)$, i τ_6 , $C1(n)-O4(n-1)-C4(n-1)-C3(n-1)$, que descriuen les rotacions dels enllaços interglucosídics. Els valors mitjans de τ_5 i τ_6 són els mateixos de CA6 a CA8 i en general no es desvien gaire dels valors presentats a la **Taula 2**. En canvi la CA9, en comparació, mostra certa inestabilitat conformacional amb valors extrems de 88.5° a 141.2° i de 97.6° a 144.5° respectivament.

Passant ja a les ciclodextrines majors ens trobem que el macrocicle de la CA9, en contrast amb les CA comunes, està distorsionat de tal manera que els O4 descriuen una el·lipse en forma de nau, estructures A i B de la Figura 9. Els enllaços d'hidrogen $O2(n)\cdots O3(n-1)$ tenen unes distàncies de 2,741-3,234 Å que varien més que les CA comunes, els hidroxils O6 apunten cap a la cavitat central de manera que aquesta resulta més col·lapsada. La modelització molecular indica que aquesta estructura està forçada degut a les tensions estèriques resultants de la mida de l'anell format⁵⁶. Sembla ser que la CA9 té el número màxim de glucoses per a la formació d'una estructura anular i que afegir més glucoses comportaria estructures molt diferents de les CA comunes, com es presenta a continuació.

⁵⁶ Jacob, J.; Gessler, K.; Hoffmann, D.; Sanbe, H.; Koizumi, K.; Smith, S.M.; Takaha, T.; Saenger, W., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1998**, 37, 606.

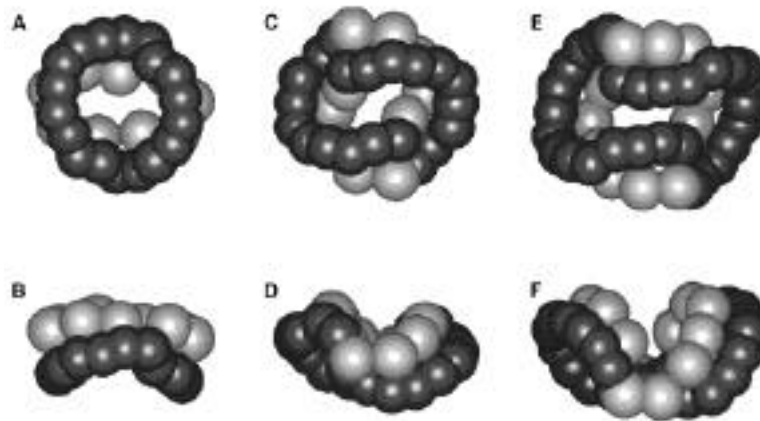


Figura 9 Representacions esquemàtiques (vista de dalt i de costat) de les estructures moleculars de CA9 (A i B), CA10 (C i D) i CA14(E i F). Per claredat, només s’han dibuixat els àtoms O2 i O3 (gris fosc) i els C6 (gris clar).

Evidentment, les estructures de la CA10 i CA14 (dibuixos C, D i E, F de la Figura 9 respectivament) són molt diferents de les esmentades fins ara. Això és degut a la inversió de dues glucoses diametralment oposades, Figura 10, de manera que es trenca l’anell d’enllaços d’hidrogen O2...O3. Com a conseqüència d’aquestes dues inversions la molècula es veu dividida en dues parts i la cavitat central ja no és oberta i rodona.

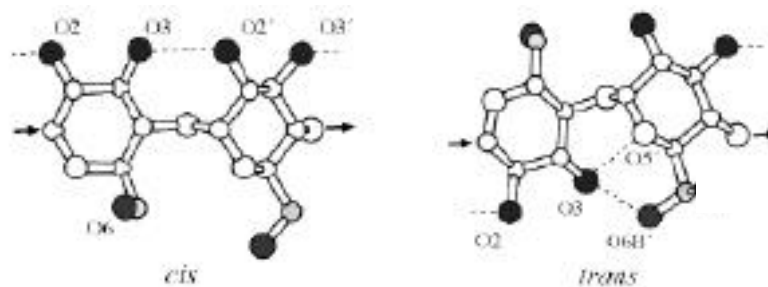


Figura 10 Representació de dues glucoses d’una CA en la seva conformació normal, *cis*, i en la conformació invertida, *trans*.

Aquestes glucoses invertides en CA10 i CA14 representen un nou motiu estructural en les cicloamiloses i poden ocórrer sempre que s'hagi d'alliberar tensió estèrica. Aquestes inversions són estabilitzades per enllaços d'hidrogen O6(n)···O3(n-1) i O5(n)···O3(n-1).

Per a CA més grans es proposa el model E de la Figura 11; degut a que en CA10 i CA14 continua havent els enllaços d'hidrogen O2···O3 a ambdós costats de les glucoses invertides, per a CA més grans es suposa que les glucoses s'aniran afegint a les dues bandes continuant l'arranjament O2···O3 (sense cap més inversió) de manera que es crearan dues bandes d'orientació oposada que acabaran associant-se mitjançant enllaços d'hidrogen entre els grups O2 i O3 donant lloc a una doble hèlix esquerra antiparal·lela, com s'observa en l'estructura cristal·lina de (p-nitrofenil- - maltohexosa)₂·Ba(I₃)₂·27H₂O^{57,58,59}.

⁵⁷ Hinrichs, W.; Büttner, G.; Steifa, M.; Betzel, Ch.; Zabel, V.; Pfannemüller, B.; Saenger, W., *Science*, **1987**, 238, 205.

⁵⁸ Hinrichs, W.; Saenger, W., *J. Am. Chem. Soc.*, **1990**, 112, 2789.

⁵⁹ Schultz, W.; Sklenar, H.; Hinrichs, W.; Saenger, W., *Biopolymers*, **1993**, 33, 363.

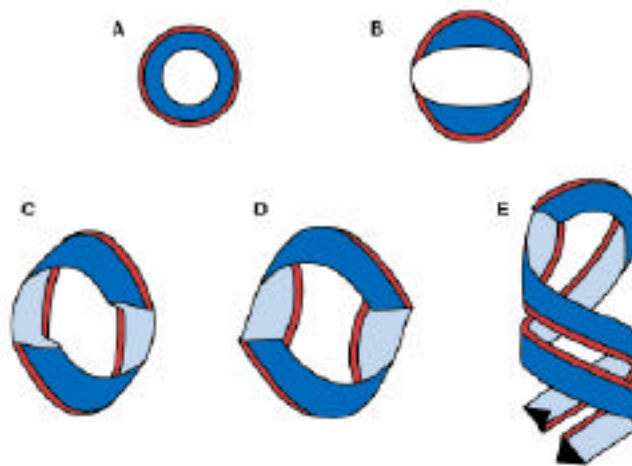


Figura 11 Il·lustració dels esquemes de plegament, les bandes vermelles connecten els àtoms O2 i O3, les bandes blaves connecten els àtoms O6. Es mostra l'anell no tensionat CA7 (A) i el tensionat CA9 (B) i el el·lípticament distorsionat CA10 (C), CA14(D) i l'estructura proposada per cicloamiloses més llargues (E): doble hèlix esquerra antiparal·lela.

De fet, en aquesta última estructura la doble hèlix està estabilitzada degut a la cadena polliodada i és probable que amb amiloses de major llargada la doble hèlix no estigui afavorida, ja que les cadenes s'han de replegar conjuntament, i s'opti per una hèlix simple.

4.3 ESTRUCTURA DE CA26

L'estructura cristal·lina de CA26 encara ens reporta més sorpreses. Enlloc de tenir l'estructura pressuposada, dibuix E de la Figura 11, per a grans CAs adopta la forma d'un vuit, en el qual cada meitat correspon a dues voltes d'una hèlix simple esquerra

amb sis glucoses per volta. Aquesta és la mateixa conformació proposada per la V-amilosa en base a raigs X, difracció d'electrons i ^{13}C -CP MAS RMN⁶⁰.

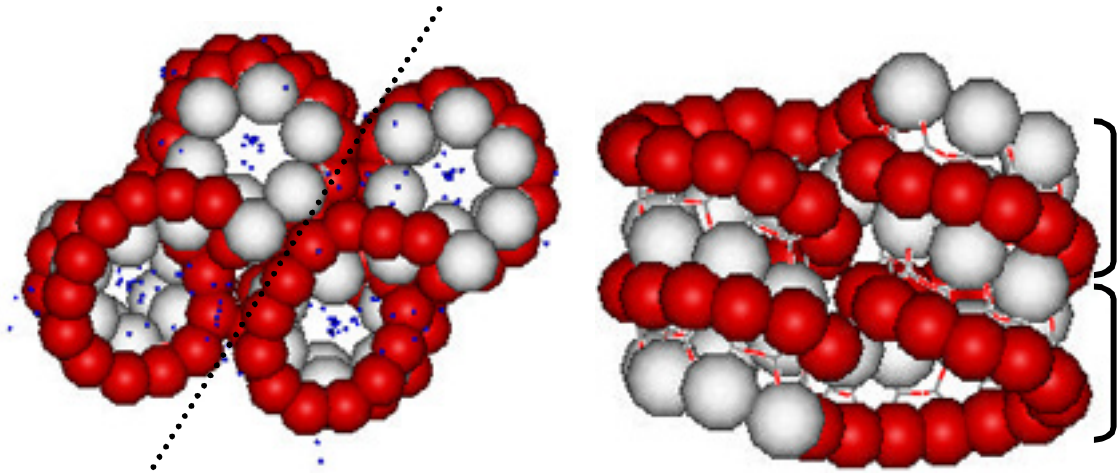


Figura 12 Representació esquemàtica de l'estructura cristal·lina de CA26. A l'esquerra, vista des de sobre de **dues** CA26 amb molècules d'aigua incloses. A la dreta, vista de costat d'**una** CA26 mostrant les dues hèlixs amb dues voltes cada una, assenyalades pels parèntesis. Els oxígens O2 i O3 són les boles vermelles i els C6 són les grises, les molècules d'aigua són les boletes blaves.

Les dues hèlixs estan connectades per sobre i per sota per tres glucoses amb la central invertida. Les hèlixs s'estabilitzen mitjançant enllaços d'hidrogen $\text{O2}(n)\cdots\text{O3}(n-1)$ i per O2 i $\text{O3}\cdots\text{O6}$ on hi ha les glucoses invertides. Així doncs la CA26 és una estructura que conté elements de la CA6, CA10 i V-amilosa. Les dues hèlixs deixen una cavitat de tamany similar a la CA6 (α -ciclodextrina) que inclouen molècules d'aigua però que també poden incloure altres molècules del tamany adequat. Les dues hèlixs estan fortament associades per enllaços d'hidrogen i interaccions de van der Waals. Sembla ser que aquesta estructura és específica per a una cicloamilosa d'aquest tamany

⁶⁰ Brisson, J.; Chanzy, H.; Winter, W.T., *Int. J. Biol. Macromol.*, **1991**, *13*, 31. Per citar el treball més recent.

i que augmentar-la una o més glucoses provocaria una reorganització estructural, aquesta visió està suportada pel fet que, tot i disposar de tota la sèrie de CAs, només s'han pogut cristal·litzar CA10, CA14 i CA26 de moment. Pot ser que aquesta estructura de CA26 sigui només una de les possibles estructures en solució i no pas representativa de les grans CAs. Moltes més estructures poden ser plausibles depenent del tamany de la CA, com s'il·lustra en la modelització de CA21 en diferents estructures per tal d'explicar les dades de raigs X en solució aquosa⁶¹.

4.4 CAs EN SOLUCIÓ, PODEN FORMAR COMPLEXOS D'INCLUSIÓ?

A la vista d'aquests estudis i tenint en ment l'ús més popular de les ciclodextrines comunes ens cal preguntar: Com són aquestes CAs gegants en solució? I més important, són capaces de formar complexos d'inclusió?

Fins ara s'han descrit estructures cristal·lines. En solució aquosa, en canvi, CA10 i CA14 pateixen canvis conformacionals ràpids i en RMN només s'observen sis senyals de ¹³C i cap doblet per C1 i C4, és a dir que totes les glucoses (en mitjana) són iguals, de manera que les inversions de glucoses es mouen al llarg de tota la cadena generant estructures més distorsionades.

Encara no està clar si poden formar complexos d'inclusió. Per exemple, la CA10 s'ha cristal·litzat d'una mescla 1:1 d'aigua i acetonitril i no s'ha format cap complex

⁶¹ Kitamura, S.; Isuda, H.; Shimada, J.; Takada, T.; Takaha, T.; Okada, S.; Mimura, M.; Kajiwara, K., *Carbohydr. Res.*, **1997**, *304*, 303.

amb el dissolvent orgànic⁶², com sí que ocorre amb les ciclodextrines comunes⁶³. En CA10 i majors, les cavitats estan més replegades i només podrien complexar amb molècules que tinguessin una geometria complementària, de manera que es poden obrir vies d'investigació d'interaccions *host-guest* molt específiques per a aquestes CAs. D'altra banda, es poden presentar situacions molt diferents en CAs prou grans com per a formar dobles hèlixs antiparal·leles que presenten una cavitat central en forma de canal que pot incloure certes molècules, o en altres replegaments que també presenten cavitats, com la CA26. Aquest punt de vista està suportat per l'observació⁶⁴ en CA50 i majors que presenten propietats similars a l'amilosa lineal; formen precipitats en solució aquosa si s'afegeixen alcohols de cadena llarga o àcids grassos i produeixen complexos blaus o marrons amb iode depenent del tamany. Això pot ser degut a la inclusió dins les cavitats de les hèlixs tipus V-amilosa.

En el camp de les CAs gegants encara falta molt per comprendre, sobretot les seves propietats en solució i les capacitats d'inclusió, a part de les possibles aplicacions industrials que poden generar.

⁶² Ueda, H.; Endo, T.; Nagase, H.; Kobayashi, S.; Nagai, T., *J. Inclusion Phenom. Mol. Recognit. Chem.*, **1996**, 25, 17.

⁶³ Aree, T.; Jacob, J.; Saenger, W.; Hoier, H., *Carbohydr. Res.*, en premsa.

⁶⁴ Observació no publicada a la que es fa esment a la referència 46.

RESULTATS

NOTA: En aquest apartat es presenten els resultats obtinguts en els càlculs, fent un breu esment a les tècniques i programes emprats. Aquestes s'expliquen detalladament en l'apartat de METODOLOGIA, convé consultar-lo per conèixer i entendre què fan, i com ho fan, els diferents programes usats. D'altra banda, els detalls tècnics de cada càlcul concret es mostren a l'APÈNDIX, és important consultar-lo sobretot pels que desitgin realitzar càlculs similars.

Aquesta separació imita la presentació dels treballs realitzats per químics “de laboratori”, en els quals es separen els resultats de la part experimental. Hem considerat que aquesta presentació era adient per a aquest treball, d'aquesta manera no sobrecarreguem els resultats obtinguts de detalls tècnics i explicacions metodològiques, que farien els capítols més densos i de difícil lectura.

Tot i la presentació per separat, és important ressaltar que els RESULTATS, la METODOLOGIA i l'APÈNDIX estan molt relacionats i es condicionen mútuament, com ja hem comentat en els Objectius.

5 CLÚSTER TIOUREA/CLOROCICLOHEXÀ

Tal com s'ha mencionat, un dels objectius d'aquest treball és estudiar l'equilibri conformacional de ciclohexans monosubstituïts i la seva possible modificació degut a la formació de complexos d'inclusió. El primer cas que es presenta és el del clorociclohexà en el clúster tiourea/ciclohexà, com a exemple d'estructura cristal·lina.

Aquest estudi formava part del treball de recerca⁶⁵ i ja va ser presentat. Per tal de resumir, els resultats de mecànica molecular es presenten molt sintetitzats i ens centrem més en els resultats de dinàmica molecular. Per a més detalls es pot consultar el treball de recerca.

Per tal de poder estudiar aquest clúster, primerament hem d'aconseguir simular l'estructura cristal·lina de canals de la tiourea, seguidament s'explica el procediment.

5.1 ESTRUCTURA DE PARTIDA DE LA TIOUREA

Es vol simular el compost clatrat clorociclohexà/tiourea a temperatura ambient. En aquest compost les molècules de tiourea estan unides mitjançant enllaços d'hidrogen S...H-N, formant una xarxa cristal·lina tridimensional de canals, dins els quals es situen les molècules de clorociclohexà. Es parteix de la informació de raigs X del compost, indicada en la introducció, i se n'extreu l'estructura amb l'ajuda del Dr. Ángel Álvarez del servei de cristal·lografia de la U.A.B.

⁶⁵ Beà, I.; Treball de Recerca, Dept. Química, U.A.B., Desembre 1998.

En les dades de raigs X només estan indicades les posicions d'un àtom de carboni, un de sofre i un de nitrogen, així com el grup de simetria al qual pertany ($\overline{R3c}$). Es pot generar l'altre àtom de nitrogen mitjançant un eix binari (que passa per l'enllaç C-S) i així s'obtenen les coordenades cristal·lines d'una molècula de tiourea (excepte els àtoms d'hidrogen, que s'afegiran posteriorment). Aquesta molècula de tiourea forma la cel·la unitat, ara d'un grup de simetria R3 i queda definit per les dades de la Taula 1.

TITL	tiourea en complexos d'inclusió
CELL	10.1224 10.1224 10.1224 104.2204 104.2204 104.2204
LATT	1
SYMM 1	X,Y,Z
SYMM 2	Z,X,Y
SYMM 3	Y,Z,X
SYMM 4	-X,-Y,-Z
SYMM 5	-Z,-X,-Y
SYMM 6	-Y,-Z,-X
C1	0.1585 0.3415 0.750
N1	0.1113 0.1912 0.6729
S1	0.0531 0.4469 0.750
N2	0.3088 0.3887 0.8271

Taula 1 Dades cristal·lines de la tiourea en el clúster tiourea/clorociclohexà.

En aquesta Taula 1 apareixen els paràmetres de la cel·la unitat ($a = b = c = 10,1224 \text{ \AA}$ i $\alpha = \beta = \gamma = 104, 2204^\circ$) i les coordenades cristal·lines de la molècula de tiourea que conté. També estan indicades les operacions de simetria que, aplicades a les coordenades cristal·lines d'aquesta, generen tota l'estructura cristal·lina tridimensional de la tiourea en el compost tiourea/clorociclohexà.

Per a realitzar l'estudi de l'equilibri conformacional del clorociclohexà en els canals de la tiourea primerament es necessari establir l'estructura del *host* que s'utilitzarà. En el cas de la α -ciclodextrina el *host* era una estructura discreta i definida però ara s'ha de treballar sobre una estructura tridimensional infinita. Degut a la impossibilitat de simular tota la xarxa (el temps CPU augmentaria molt amb tants àtoms) s'ha optat per:

- Simular un sol canal de tiourea. Es suposen els canals de l'estructura de tiourea com a unitats independents. Aquesta aproximació és vàlida ja que les interaccions entre les molècules *guests* de diferents canals es poden menysprear, donada la distància que les separa.
- S'utilitza una longitud del canal prou llarga que permeti considerar totes les posicions diferents que pot adoptar el *guest*, i a la vegada poder-hi introduir diversos *guests*. S'ha simulat un canal d'aproximadament 26 Å de llargada.

Així doncs, es busquen les operacions de simetria que aplicades a les coordenades de la cel·la unitat generen les coordenades cristal·lines del canal desitjat. El canal generat consta de 39 molècules de tiourea i té una longitud de 24 Å. Un cop s'obté l'estructura del canal, es transforma a format MM3, aquest permet convertir les coordenades cristal·lines a coordenades cartesianes. L'estructura en coordenades cartesianes s'adequa al format MacroModel que permet afegir els àtoms d'hidrogen automàticament. Un cop tenim l'estructura del canal completa, es torna a convertir a format MM3, programa amb el qual es realitzaran els primers càlculs.

Els paràmetres que s'han hagut d'introduir i la metodologia general emprada, tant per mecànica com per dinàmica molecular, es detallen en l'apèndix.

5.2 RESULTATS DE LA MECÀNICA MOLECULAR

Es simula el moviment del clorociclohexà pel canal de tiourea emprant la mecànica molecular. Es consideren diverses orientacions del *guest* i s'obtenen diferents mínims. Realitzant una distribució de Boltzman amb els valors obtinguts a temperatura ambient, s'obté un valor d'energia mitjana (ponderada) per a cada conformació inclosa en tiourea. Aquests valors es representen en la Taula 2.

<i>Guest</i> inclòs	Energia estàtica mitjana a 298 K (kcal/mol)
Clorociclohexà axial	-444.2
Clorociclohexà equatorial	-445.0

Taula 2 Energia estàtica mitjana d'una molècula de clorociclohexà dins el canal de tiourea.

Aquests estudis de mecànica molecular ens permeten avaluar les interaccions entre una molècula de clorociclohexà en la matriu de tiourea. S'ha trobat una gran varietat de mínims possibles en cada simulació. Els valors d'energia mitjana per a cada conformació del *guest* són molt similars i, fins i tot, s'observa certa preferència (0.8 kcal/mol) per la inclusió de la conformació equatorial sobre l'axial, preferència àdhuc més marcada que la calculada pel clorociclohexà en fase gas (0.58 kcal/mol).

El terme rector d'aquests mínims són les interaccions de van der Waals entre el clorociclohexà i el canal de tiourea, les quals afavoreixen posicions determinades del *guest* dins el canal; el clorociclohexà s'hi situa ocupant el mínim espai, preferentment en el pla definit per tres molècules de tiourea que apunten els seus sofres cap al carboni

que suporta al clor, o es situa entre dos d'aquests plans. Com a exemple es presenten dos mínims obtinguts pel clorociclohexà, equatorial i axial, dins el canal, Figura 13. En tots dos casos el *guest* es situa en l'orientació que ocupa menys espai i el carboni que suporta el clor es troba en un pla on tres sofres l'apunten.

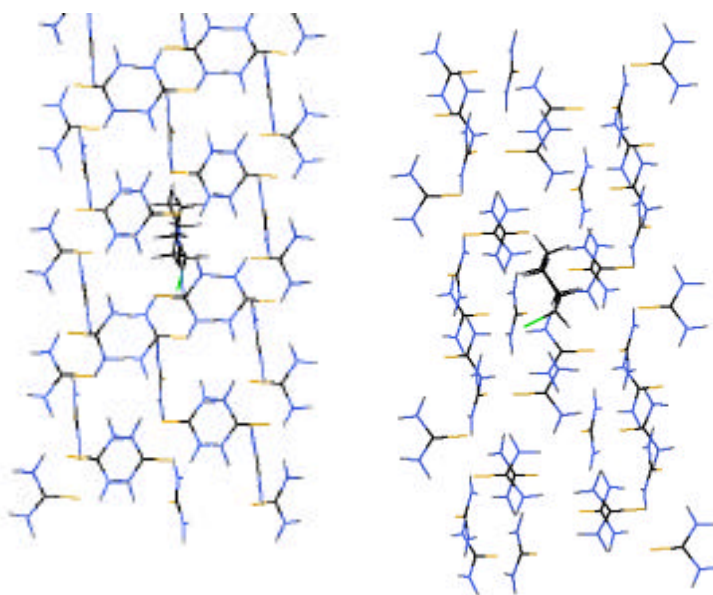


Figura 13 Mínims reoptimitzats obtinguts pel clorociclohexà equatorial (esquerra) i axial (dreta).

Segons aquests resultats, avaluant la interacció *guest-host* no s'observa cap preferència per la conformació axial del clorociclohexà respecte l'equatorial, així doncs s'ha de buscar el factor determinant en la interacció *guest-guest*, és a dir, la interacció de les molècules de clorociclohexà amb elles mateixes dins el canal. Aquest punt s'estudiarà amb la tècnica de dinàmica molecular, la qual ens permetrà incloure més d'un *guest* dins el canal i estudiar la seva evolució al llarg del temps.

5.3 RESULTATS DE LA DINÀMICA MOLECULAR

5.3.1 INCLUSIÓ D'UNA MOLÈCULA DE CLOROCICLOHEXÀ

Seguint la metodologia descrita a l'apèndix, s'ha procedit a realitzar la dinàmica molecular del canal de tiourea amb una molècula de clorociclohexà inclosa. Treballar amb una sola molècula dins el canal permetrà avaluar les interaccions *guest-host*. En un primer moment s'havien aplicat restriccions, com en els complexos amb α -ciclodextrina, a certes distàncies entre el *guest* i el *host* per tal que el primer no sortís del canal. Però tant si s'aplicaven restriccions com si no, les energies i estructures resultants de la dinàmica eren idèntiques, degut a que la molècula quedava bastant ancorada en la posició de partida, presenta molt moviment de rotació sobre l'eix del canal, però no es desplaça gaire al llarg d'ell. Així doncs s'han realitzat aquests estudis sense aplicar restriccions, i s'han fet dinàmiques del complex en diferents posicions de partida del *guest* dins el canal per tal de salvar el problema de l'ancoratge del *guest* i cobrir més possibilitats.

S'han realitzat els estudis de dinàmica molecular amb el clorociclohexà en les dues conformacions estables, cadira axial i equatorial, situant aquest en tres punts del canal; al centre d'aquest, uns 3 Å per sobre en l'eix Z i uns 3 Å per sota. En la Taula 3 es resumeixen els resultats obtinguts. Ax i Eq indiquen el confòrmer axial o equatorial del clorociclohexà utilitzat, els números indiquen la posició de partida del *guest* respecte l'eix Z.

Posició del <i>guest</i>	Energia total	Energia cinètica	Energia potencial	Stretching	Bending	Torsió	Van der Waals	Electrostàtica
Ax0	-3461.38	858.12	-4319.10	2.98	1021.81	603.48	-629.17	-5366.68
Ax3	-3461.77	858.12	-4319.50	2.90	1027.36	600.49	-630.54	-5367.39
Ax_3	-3457.85	858.15	-4315.63	2.97	1017.63	607.16	-628.26	-5364.16
Eq0	-3464.30	858.15	-4322.45	2.89	1024.54	603.72	-632.32	-5368.55
Eq3	-3465.09	858.16	-4322.88	2.86	1021.97	608.01	-633.93	-5369.78
Eq_3	-3463.87	858.14	-4321.62	2.90	1025.30	605.84	-633.91	-5369.19

Taula 3 Resultats energètics (kJ/mol) de la dinàmica molecular d'una sola molècula de clorociclohexà dins el canal, en diferents posicions.

Els Ax0 i Eq0 es situen al pla central (0 Å), Ax-3 i Eq-3 al pla de sota (-6 Å), Eq3 al pla de sobre (6 Å) mentre que Ax3 es situa en el pla central. Així doncs, s'observen posicions clarament afavorides del clorociclohexà dins el canal; aquest es queda fixat en els plans on tres molècules de tiourea apunten els sofres cap al centre del canal (plans de -6, 0 i 6 Å), en consonància amb els resultats de mecànica molecular, on també s'observava preferència per aquestes posicions. La posició dels àtoms de clor durant la simulació és similar a la mostrada en la Figura 15 i la Figura 17, i es comentarà posteriorment en el capítol 5.3.2.

5.3.2 INCLUSIÓ DE TRES MOLÈCULES DE CLOROCICLOHEXÀ

S'ha realitzat l'estudi per dinàmica molecular incloent tres molècules de clorociclohexà en el canal de tiourea. Les posicions inicials del *guest* s'indiquen en la Figura 14. Els tres clorociclohexans es situen en orientació cap-cap i cua-cua, es crea un fitxer de partida amb els tres clorociclohexans axials i un altre amb els tres equatorials. En aquesta orientació inicial les molècules *guest* es troben molt pròximes, però durant la dinàmica es separen i adopten posicions més favorables, sense sortir mai del canal però. No s'aplica cap tipus de restricció entre el *guest* i el *host*.

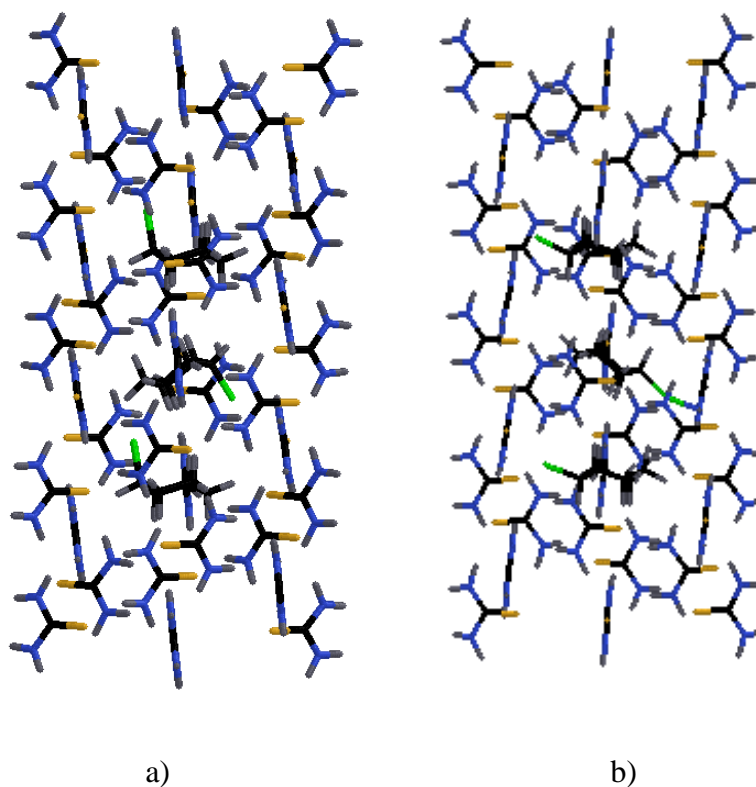


Figura 14 Estructura de partida per a tres clorociclohexans dins el túnel de tiourea. a) clorociclohexans en conformació axial; b) en conformació equatorial.

Els resultats energètics que s'obtenen de la dinàmica molecular, aplicada al sistema amb tres clorociclohexans axials (3ax) i al sistema equatorial (3eq), venen expressats en la **Taula 4**.

Posició del <i>guest</i>	Energia total	Energia cinètica	Energia potencial	Stretching	Bending	Torsió	Van der Waals	Electrostàtica
3ax	-3347.05	943.13	-4293.58	5.22	1097.00	617.79	-687.33	-5374.09
3eq	-3353.50	947.10	-4299.99	4.78	1093.28	624.36	-692.67	-5376.93

Taula 4 Resultats energètics (kJ/mol) de la dinàmica molecular de tres clorociclohexans dins el canal de tiourea.

Les estructures resultants de la dinàmica mostren els *guests* en orientació vertical, situant-se al llarg del canal, minimitzant els impediments estèrics. Els àtoms de clor adopten diferents disposicions depenent de la conformació; s'observa, en la Figura 15, com aquests roten en l'eix Z. En la conformació axial descriuen una disposició toroidal, mentre que en l'equatorial estan més centrats.

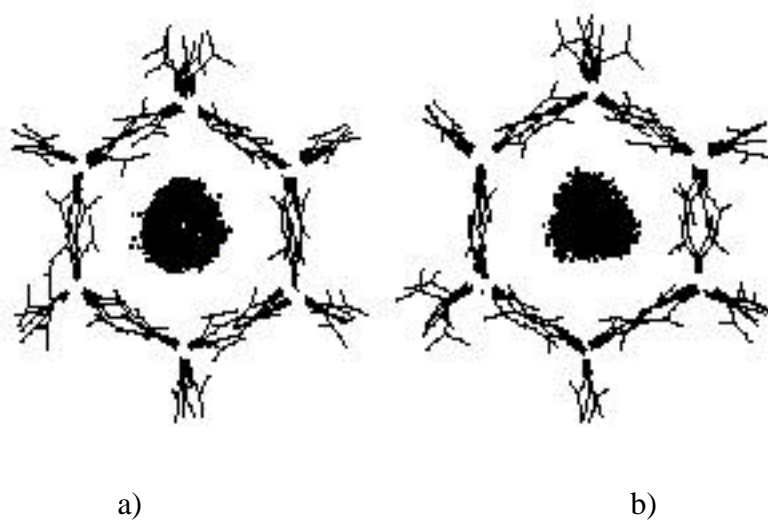


Figura 15 Posició dels àtoms de clor dels *guests* en el canal de tiourea. a) conformació axial; b) conformació equatorial. Vista al llarg de l'eix Z.

La disposició adoptada pels àtoms de clor durant la simulació es pot explicar per la posició que adopten els *guests* en el canal, la qual permet una diferent rotació del clor en les dues conformacions, com s'indica en la Figura 16.

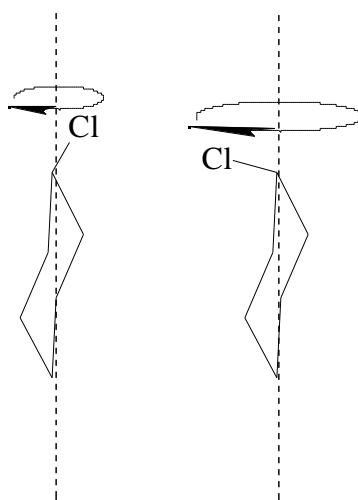


Figura 16 Orientació del clorociclohexà en el túnel de tiourea i rotació del clor en cada conformació; equatorial i axial respectivament.

S'observa com la conformació equatorial presenta un cercle de rotació més petit que situa el clor en posicions bastant centrals en el canal, Figura 15b, mentre que en la conformació axial el clor recorre un cercle major que el situa més lluny del centre del canal i gairebé amb nul·la representació al centre d'aquest, Figura 15a, car la molècula s'hauria d'inclinar i presentaria més impediments estèrics amb les molècules de tiourea.

Els tres *guests* dins el canal mantenen l'orientació cap-cap/cua-cua inicial, com es mostra en la Figura 17. Quan els tres clorociclohexans inclosos tenen la conformació axial, el *guest* central i el de sota es situen en les posicions preferents trobades anteriorment (posició 0 i -6 \AA), en canvi, quan tenen la conformació equatorial, només el central presenta aquesta posició. El *guest* superior es desvia bastant d'aquesta posició en ambdós casos.

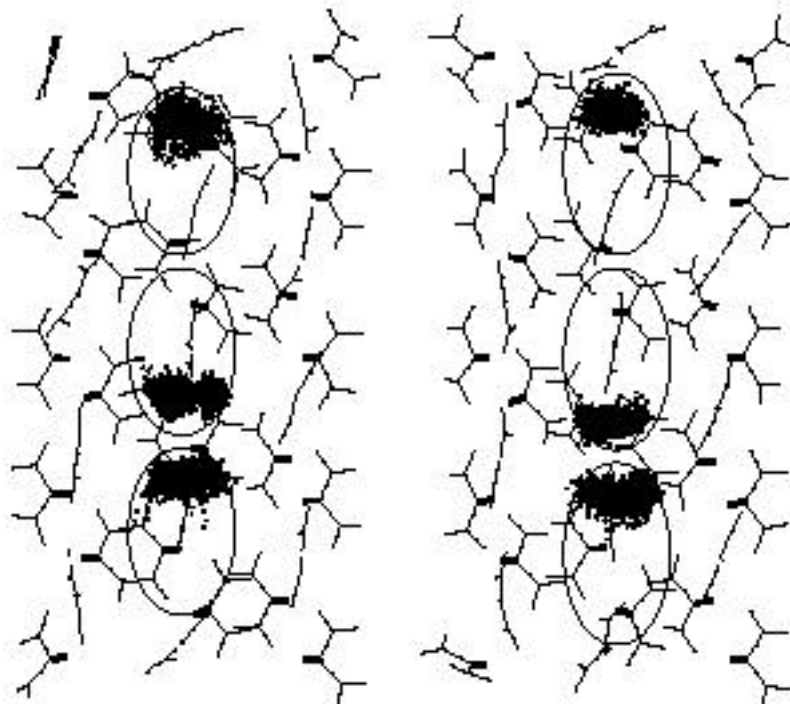


Figura 17 Posició dels àtoms de clor dels *guests* en el canal de tiourea. Vista longitudinal. Conformació axial i equatorial respectivament. Les el·lipses indiquen aproximadament el volum ocupat per cada *guest*.

Ambdós casos presenten una distància mitjana Cl-Cl, en la interacció cap-cap, d'uns 4,4 Å, corroborant els resultats experimentals trobats per l'estructura a baixa temperatura. Tot i que les orientacions de les molècules *guests* poden ser diferents en les dues fases, aquest estudi indica que tot i la mobilitat que presenten, la orientació cap-cap/cua-cua es manté, i també la distància Cl-Cl.

Degut a la posició que adopten els *guests*, i al seu volum, la conformació axial pot presentar un major empaquetament dins el canal, donat que l'espai que ocupen

longitudinalment és menor que en la conformació equatorial, com es mostra en la Figura 18.

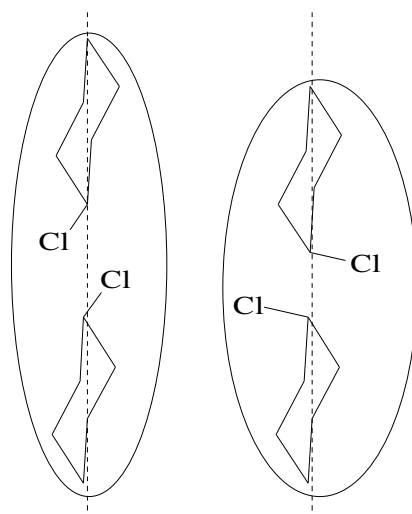
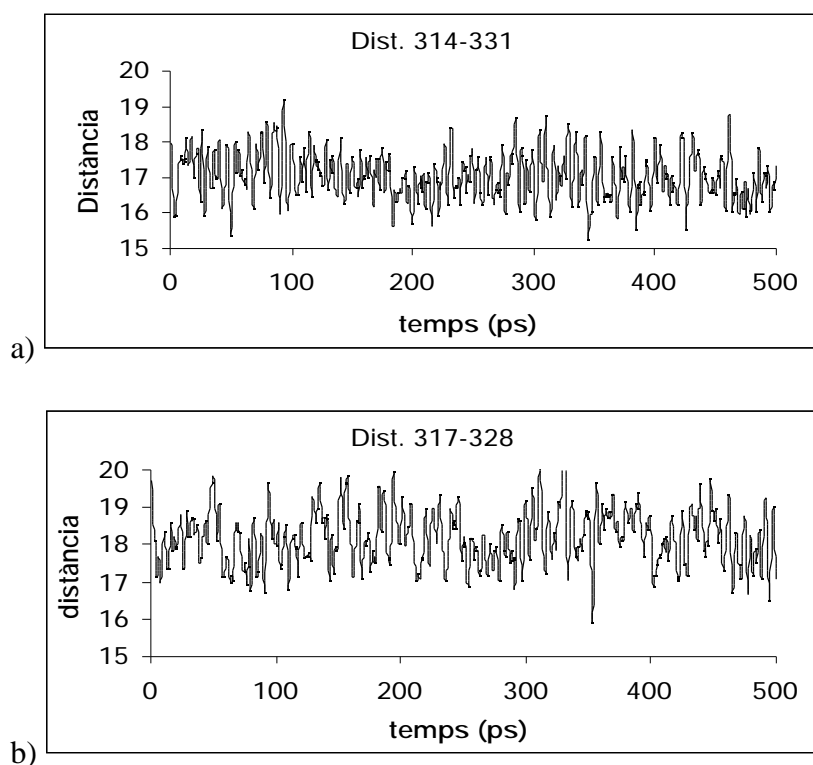


Figura 18 Interacció cap-cap dels clorociclohexans en el canal de tiourea

Per tal de determinar la longitud ocupada per les tres molècules dins el canal, s'analitza la distància entre els dos carbonis més exteriors de les dues molècules *guest* dels extrems. S'obtenen resultats lleugerament diferents per les dues conformacions, en l'axial la distància mitjana és de 17,0 Å mentre que en l'equatorial és major, 18,3 Å. La variació d'aquesta distància al llarg de la simulació es mostra en la Gràfica 1.



Gràfica 1 Evolució de la distància (Å) entre els dos carbonis més externs dels clorociclohexans dins el canal de tiourea. a) conformació axial; b) conformació equatorial.

La diferència de longitud ocupada pels *guests*, en les dues conformacions, és només de 1.3 Å, però s'ha de tenir en compte que tan sols s'han considerat tres molècules de *guest*. Si es simulés un canal més llarg, que permetés allotjar un nombre més gran de clorociclohexans en el seu interior (uns 10 per exemple), aquest efecte començaria a tenir rellevància, i potser s'observaria una major compactació en la conformació axial. Per tant, un túnel de certa longitud pot incloure més molècules de clorociclohexà axial, que no de equatorial. Aquest efecte de compactació és, possiblement, una de les raons de pes que determina la preferència de la conformació axial del *guest* en tiourea.

5.4 DISCUSSIÓ DELS RESULTATS

S'han realitzat càlculs de dinàmica molecular per estudiar el complex clorociclohexà/tiourea. Primerament s'ha estudiat la interacció d'una sola molècula de *guest* dins el canal. Aquesta presenta certa mobilitat però es manté bastant fixada, tant la posició com l'orientació que adopta es corresponen amb els resultats obtinguts per mecànica molecular. No obstant, no s'han pogut establir preferències per una conformació o l'altra en base a aquests càlculs.

Per avaluar la interacció *guest-guest* s'ha estudiat el canal amb tres molècules de clorociclohexà incloses, en orientació cap-cap/cua-cua. Energèticament no s'observen diferències entre les dues conformacions. Les molècules *guest* adopten l'orientació predita en els càlculs anteriors, situant-se al llarg del canal, minimitzant així les interaccions estèriques amb aquest. S'ha observat que els tres clorociclohexans en conformació axial ocupen una longitud del canal de tiourea lleugerament menor que l'ocupada quan aquests presenten la conformació equatorial. En la bibliografia (consultar la introducció de la tiourea/ciclohexà) es postula que l'efecte d'un major compactament en la conformació axial, dins el canal, és una de les raons de la preferència d'aquesta conformació en l'estructura de tiourea. Els resultats obtinguts coincideixen amb aquesta hipòtesi.

Per tal d'obtenir millors resultats es proposa com a treball posterior:

- Simular un canal més llarg, que permeti avaluar l'efecte del compactament axial en major magnitud. Amb aquest també es podran avaluar millor les interaccions *guest-guest*, ja que en aquest treball només s'han considerat dues interaccions (una cap-cap i una cua-cua).

- Estudiar l'estructura mitjançant el programa AMBER. Serà necessari parametritzar la tiourea per aquest camp de forces, però permetrà introduir càrregues atòmiques més acurades (calculades amb mètodes quàntics, mitjançant el programa Gaussian94 per exemple) que permetran avaluar millor les interaccions *host-guest* i *guest-guest*.

*“and now, for something completely different”
Monty Python’s*

6 CANVIS CONFORMACIONALS I BARRERA ENERGÈTICA DEL CICLOHEXANOL EN β -CICLODEXTRINA

Com ja s’ha dit, el capítol anterior pertany al treball de recerca, en el qual s’estudiaven els equilibris conformacionals de derivats monosubstituïts del ciclohexà i si hi havia cap modificació en aquests pel fet de formar complexos d’inclusió, ja sigui en tiourea o en α -ciclodextrina. El cas de la inclusió en tiourea s’inclou en aquest treball ja que és prou diferent d’altres treballs del grup, però els casos d’inclusió en α -ciclodextrina estudiats no es mostren ja que no representen cap novetat metodològica. D’altra banda, es presenta aquest capítol, no inclòs en el treball de recerca, en què s’estudia la variació de l’equilibri conformacional del ciclohexanol per inclusió en α -ciclodextrina així com l’efecte de la complexació en les barreres energètiques (tema que fins al moment no s’havia tocat). El tema va ser proposat pel Prof. José Elguero i els resultats van ser presentats en un pòster⁶⁶. Paral·lelament a l’estudi teòric, la M. Luz Zubiaur, del nostre grup de treball, va realitzar l’estudi experimental de la inclusió del ciclopentanol, el ciclohexanol i el cicloheptanol en la α -ciclodextrina per RMN⁶⁷.

S’ha estudiat el comportament conformacional del ciclohexanol quan està inclòs en la α -ciclodextrina comparant-lo amb el seu comportament quan es troba isolat. Els estudis s’han realitzat mitjançant mecànica molecular i dinàmica molecular (ambdós

⁶⁶ Beà, I., Jaime, C., *Intl. Symposium of Phys. Org. Chem.*, Miraflores de la Sierra (Madrid), Juliol 1999.

⁶⁷ Zubiaur, M.L., Tesis Doctoral, UAB, 2000.

amb el camp de forces MM3* del programa MacroModel versió 5). En observar variacions en l'equilibri conformational del ciclohexanol, degut a la seva capacitat per formar enllaços d'hidrogen amb la ciclodextrina, es va decidir estudiar el cas del ciclohexà com a molècula patró ja que aquesta no presenta aquestes interaccions i el seu tamany és força similar.

6.1 DETERMINACIÓ DE LES BARRERES PER MECÀNICA MOLECULAR

Primerament s'ha estudiat el procés d'interconversió de les conformacions axial i equatorial (*flipping*) del ciclohexanol per mecànica molecular. Es construeix la superfície d'energia potencial depenent de la rotació dels dos diedres que intervenen, Figura 19, i localitzant així tots els mínims; conformació axial (Cax), equatorial (Ceq), les sis naus distorsionades (TB) així com els estats de transició (estrelles). En la figura s'assenyalen les sis naus distorsionades amb només quatre fletxes, però s'ha de tenir en compte que a cada un dels mínims de les posicions 30/30 i -30/-30 li corresponen dues naus distorsionades, com s'observa més endavant en la Figura 21.

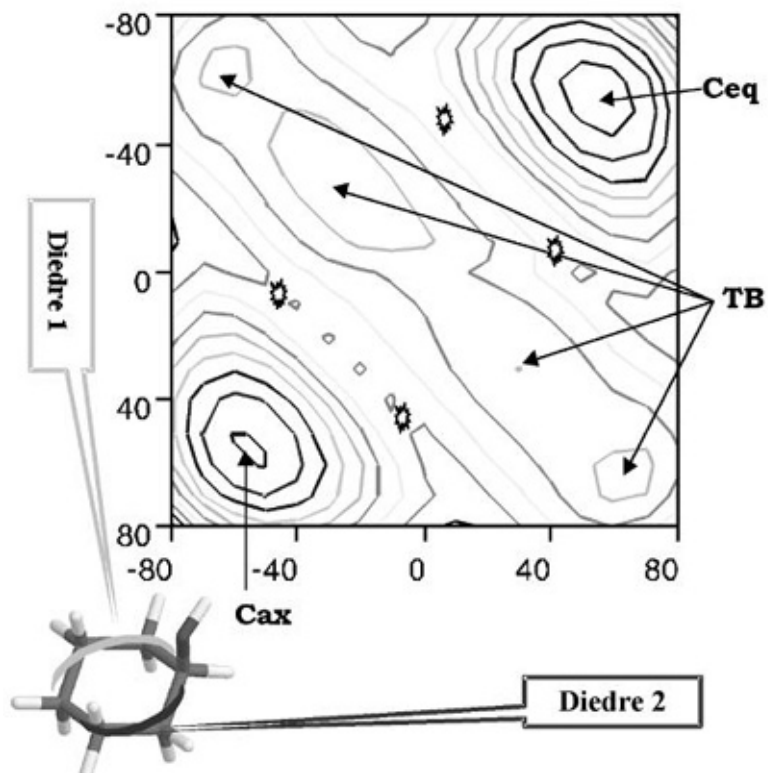


Figura 19 Superfície d'energia potencial del procés de transformació d'axial a equatorial del ciclohexanol.

Aquests mínims, igual que els estats de transició, han estat reoptimitzats per *full matrix Newton Ramson* (FMNR). I per diferència s'obtenen els valors de les barreres, Taula 5.

ciclohexanol	kJ/mol	kcal/mol
G(ax-eq)	-3.09	-0.74
G (ax-TS)	42.59	10.22
G (eq-TS)	40.95	9.83

Taula 5 Valors corresponents a la diferència energètica entre la conformació axial i l'equatorial ($G(ax-eq)$) i a les barreres energètiques (G). En unitats de kJ/mol i kcal/mol.

La diferència energètica entre la conformació axial i l'equatorial, $G(ax-eq)$, afavoreix la conformació equatorial, tal com s'observa experimentalment⁶⁸. La barrera energètica que ens porta cap a les naus distorsionades, tant si partim de la conformació axial com de l'equatorial, és d'unes 10 kcal/mol, és a dir que pot ocórrer a temperatura ambient.

S'ha realitzat el mateix procediment pel ciclohexanol inclòs en la β -ciclodextrina, però aquest ens dóna una superfície més irregular degut a les interaccions entre aquest i la ciclodextrina, Figura 20. A més, per aconseguir una informació correcta, s'haurien de considerar totes les orientacions i conformacions possibles del complex i això només ho podrem fer emprant la dinàmica molecular.

⁶⁸ -0.60 kcal/mol afavorint la conformació equatorial. Aycard, J-P., *Spectros. Lett.*, **1989**, 22, 397.

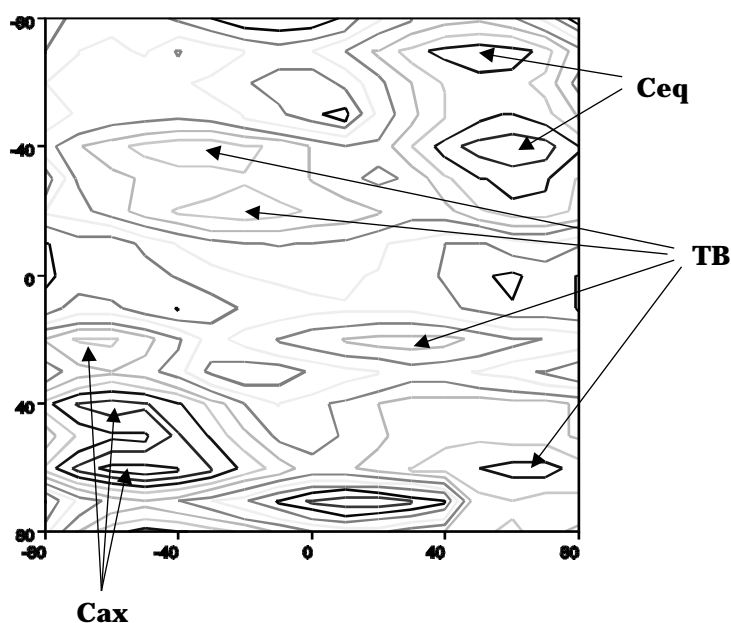


Figura 20 Superfície d'energia potencial de la transformació del ciclohexanol, de posició axial a equatorial, quan aquest es troba complexat amb la β -ciclodextrina. Superfície irregular; massa graus de llibertat.

S'observen molts mínims i camins possibles per passar de la conformació axial a l'equatorial. Si els mínims i conformacions ja no queden clares dins la ciclodextrina, les barreres energètiques presenten moltes variacions, com es pot observar en la Taula 6.

Ciclohexanol/ β -CyD	kJ/mol	kcal/mol
G(ax-eq)	0.18	0.04
G(ax-TS)	51.00	12.24
G(ax-TS2)	40.39	9.69
G(eq-TS)	40.12	9.63

Taula 6 Valors corresponents a la diferència entre la conformació axial i l'equatorial dins la β -ciclodextrina (G(ax-eq)) i a les barreres energètiques (G). Es mostren dos valors diferents per a la barrera energètica a partir de la conformació axial G(ax-TS) i G(ax-TS2). En unitats de kJ/mol i kcal/mol.

6.2 DETERMINACIÓ DE LES BARRERES PER DINÀMICA MOLECULAR

Aquest estudi s'ha realitzat per tal d'obtenir valors de la barrera d'interconversió més acurats i que considerin totes les orientacions possibles del ciclohexanol dins la ciclodextrina. El mètode, però, presenta altres avantatges com permetre la lliure rotació del grup hidroxil del ciclohexanol i dels catorze hidroxils de la ciclodextrina, permetent alhora avaluar el complex en la seva realitat: una estructura dinàmica i no estàtica.

S'ha considerat el procés d'interconversió del ciclohexanol de la Figura 21. És a dir, que s'ha simulat per dinàmica molecular la variació al llarg del temps de cada una de les conformacions presentades, tan dins el complex com isolades. Per tal que el ciclohexanol mantingui la seva conformació durant la simulació s'han aplicat restriccions als diedres que l'identifiquen, que són els dos que s'indiquen a la Figura 19, els valors corresponents a cada conformació es mostren a la Figura 21. El temps de la simulació ha estat de 2500 ps pel ciclohexanol axial i equatorial formant el complex, i de 500 ps per a la resta de complexos i molècules isolades.

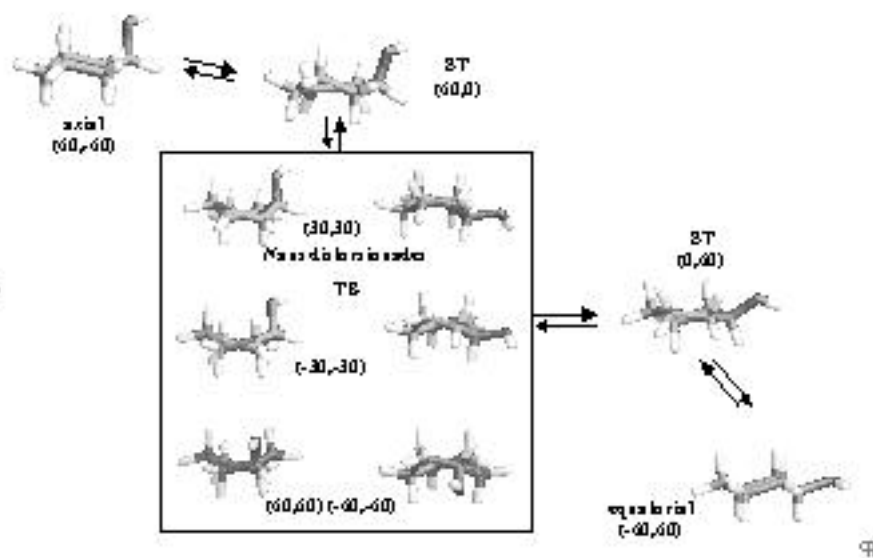


Figura 21 Camí de reacció estudiat per a la transformació del ciclohexanol en conformació axial cap a l'equatorial. S'indiquen els diedres característics.

Primerament s'han realitzat simulacions de dinàmica molecular pel ciclohexanol isolat (conformació axial, estat de transició, nau distorsionada, estat de transició i conformació equatorial) per comprovar la bondat d'aquesta tècnica, i després s'ha aplicat la mateixa metodologia en l'estudi del complex (utilitzant les mínimes restriccions necessàries per a que el complex es mantingui format), resultant en els valors de la Taula 7.

En el cas de la dinàmica amb el ciclohexanol isolat s'ha aconseguit reproduir, també, la preferència de la conformació equatorial (-0.66 kcal/mol) front l'axial, i les barreres energètiques són de l'ordre de 10 kcal/mol, resultats coherents amb els de

mecànica molecular i amb els experimentals^{68,69}. Per tant la tècnica sembla vàlida per aplicar-la en el complex d'inclusió.

	kJ/mol	kcal/mol
Ciclohexanol isolat		
G(ax-eq)	-2.73	-0.66
G (ax-TS)	41.69	10.01
G (eq-TS)	42.76	10.26
Ciclohexanol dins β -CD		
G(ax-eq)	10.63	2.55
G (ax-TS)	43.09	10.34
G (eq-TS)	32.99	7.92

Taula 7 Barreres del ciclohexanol isolat i dins β -ciclodextrina, calculades per dinàmica molecular, en kcal/mol i kJ/mol.

Curiosament, en el complex d'inclusió, part inferior de la Taula 7, es produeix un procés d'inversió conformacional, essent la conformació axial la més afavorida, el contrari del que passa en el ciclohexanol isolat. La barrera energètica en el complex augmenta lleugerament en el cas de partir de la conformació axial, 10.34 kcal/mol, i disminueix en el cas de partir de l'equatorial. Tots aquests canvis són deguts a la major facilitat de la conformació axial, així com del seu estat de transició, de presentar enllaços d'hidrogen intermoleculars entre el seu grup hidroxil i els hidroxils primaris de la ciclodextrina. Això ho podem observar a la **Figura 22**, on es representa la posició de l'oxigen del ciclohexanol al llarg de la simulació. La conformació axial està com ancorada als hidroxils primaris de la ciclodextrina degut a l'enllaç d'hidrogen que forma, l'estat de transició corresponent també s'hi troba bastant fixat, en canvi les naus

⁶⁹ La barrera energètica pel ciclohexà s'ha determinat, experimentalment, en 10.25 kcal/mol. Sandström, J.; *Dynamic NMR Spectroscopy*, Academic Press, N.Y., **1982**, pàg 102.

distorsionades ja són més lliures i la conformació equatorial ja presenta molta més mobilitat en el complex degut a que li és més difícil de formar enllaços d'hidrogen.

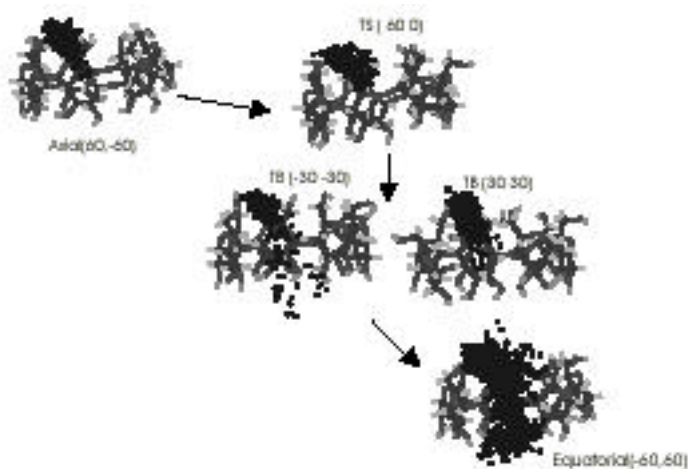


Figura 22 Representació de la posició de l'àtom d'oxigen del ciclohexanol en el complex, al llarg de les simulacions: per a la conformació axial, el corresponent estat de transició, dues naus distorsionades i la conformació equatorial.

Per tal de conèixer la influència dels enllaços d'hidrogen s'ha realitzat una simulació amb el ciclohexà isolat i dins la ciclodextrina. Aquesta molècula presenta el mateix procés d'interconversió (*flipping*) i té un tamany i forma similar al ciclohexanol, però ara hi ha una impossibilitat de formar enllaços d'hidrogen. En aquest cas la barrera d'interconversió quan es troba isolat és de 9.61 kcal/mol, Taula 8, molt similar a la del ciclohexanol, però al trobar-se complexat dins la β -ciclodextrina, aquesta augmenta, 10.85 kcal/mol, degut als impediments estèrics de la molècula dins el complex.

	kJ/mol	kcal/mol
Ciclohexà isolat		
cadira	71.59	17.18
cTS (0/-60)	111.63	26.79
cTB (-30/-30)	94.49	22.68
G (isolat)	40.04	9.61
Ciclohexà dins β -CD		
cadira	1225.13	294.03
bTS	1270.32	304.88
bTB	1253.45	300.83
G (complex)	45.19	10.85

Taula 8 Barreres del ciclohexà isolat i dins β -ciclodextrina, calculades per dinàmica molecular, en kcal/mol i kJ/mol.

Per tant, la influència de la complexació en les barreres és diferent depenent de les interaccions que hi tinguin lloc: si només presenta interaccions estèriques la barrera augmenta (cas del ciclohexà) i si presenta enllaços d'hidrogen preferents en una conformació la barrera pot disminuir (cas del ciclohexanol). Cal tenir en compte que els impediments estèrics que dificulten la interconversió del ciclohexà en el complex també existeixen en el ciclohexanol, però en aquest últim es veuen compensats degut a l'estabilització per enllaços d'hidrogen.

La Figura 23 ens mostra una visió global dels efectes de la complexació amb la β -ciclodextrina del ciclohexanol i del ciclohexà. En el cas del ciclohexanol, la conformació axial està molt estabilitzada degut als enllaços d'hidrogen, això provoca una inversió de l'equilibri conformacional i també augmenta lleugerament la barrera energètica ja que l'estat inicial està més estabilitzat; contràriament la barrera disminueix si partim de la conformació equatorial ja que aquesta no es troba estabilitzada per enllaços d'hidrogen, al contrari que les naus distorsionades que ho estan una mica. En el cas del ciclohexà la barrera augmenta degut als impediments estèrics que dificulten el canvi en el complex, ja que no hi ha cap interacció estabilitzant que ho compensi.

Canvis conformationals i barrera energètica del ciclohexanol en β -ciclodextrina

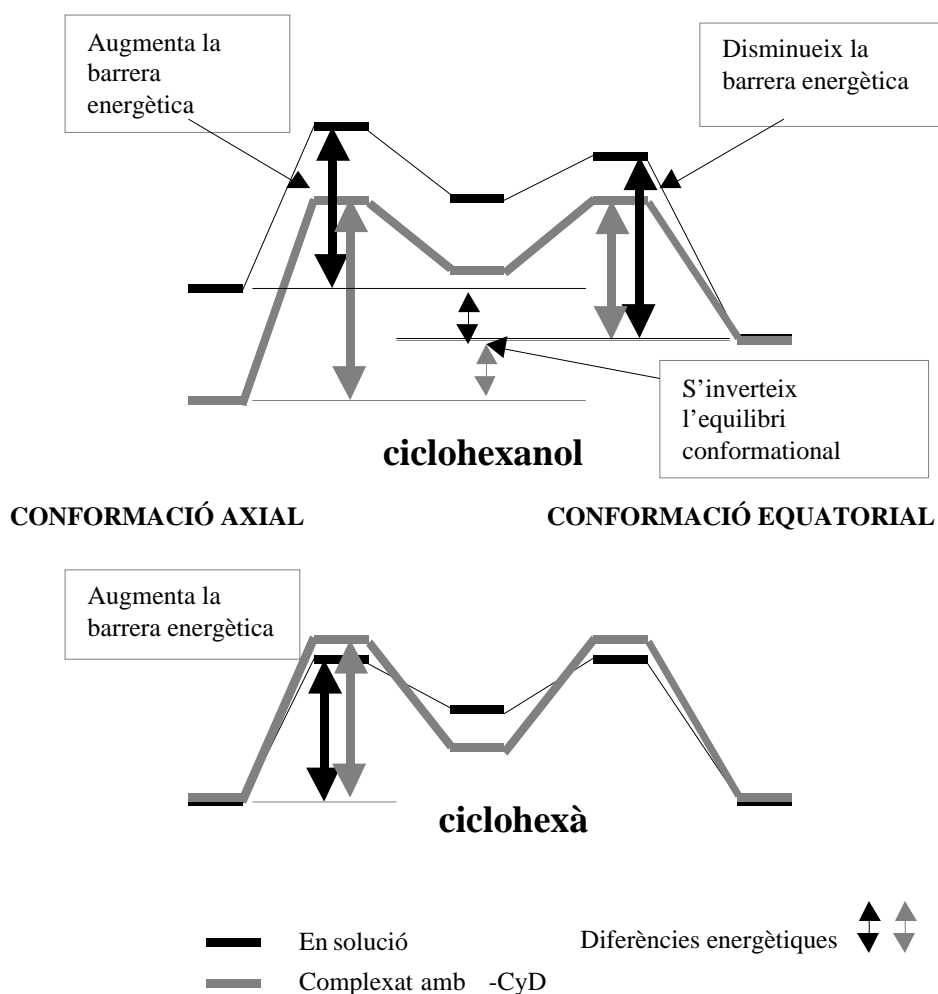


Figura 23 Vista esquemàtica de l'efecte de la complexació amb β -ciclodextrina en la barrera energètica del ciclohexanol (dalt) i del ciclohexà (sota). Pas de conformació axial a equatorial d'esquerra a dreta. Els comentaris fan referència a l'efecte de la complexació.

6.3 DISCUSSIÓ DELS RESULTATS

La mecànica i la dinàmica molecular ens han permès reproduir barreres d'activació experimentals, com és el cas del ciclohexanol i el ciclohexà isolats. Tot i que aquestes tècniques no s'acostumen a utilitzar per a trobar estats de transició, han mostrat ser una metodologia vàlida, almenys en processos simples i coneguts com és el *flipping* dels ciclohexans substituïts.

Les simulacions de dinàmica molecular indiquen que una molècula pot canviar el seu comportament conformational (equilibri i barreres energètiques) pel fet de complexar-se, tot i que sigui difícil observar-ho experimentalment. Cal destacar que, paral·lelament als càlculs teòrics, s'han realitzat estudis experimentals en el nostre grup⁶⁷, sobre els complexos de ciclopentanol, ciclohexanol i cicloheptanol amb β -ciclodextrina mitjançant tècniques de RMN (TOCSY, COSY i nOe). S'ha determinat una estequiometria de 1:1 per a tots els complexos d'inclusió però no s'ha observat cap canvi en l'equilibri conformational d'aquests alcohols cíclics. Els valors de nOe indiquen que el ciclohexanol es situa a la part ampla de la ciclodextrina, proper als hidroxils secundaris. En els nostres càlculs el ciclohexanol es situa preferentment a la banda estreta, proper als hidroxils primaris i formant enllaç d'hidrogen amb aquests. Cal tenir en compte que l'estudi teòric s'ha fet sense tenir en compte l'efecte del solvent, però posteriorment a aquest treball hem realitzat càlculs del complex amb un model implícit d'aigua que mostren com el ciclohexanol ja té més mobilitat dins la ciclodextrina (es trenquen els enllaços d'hidrogen) i es situa preferentment a la banda ampla de la ciclodextrina.

És important tenir en compte que la metodologia emprada ens ha permès reproduir diferències energètiques i barreres que es coneixen experimentalment, com és

el cas del ciclohexanol i del ciclohexà quan es troben com a molècules isolades. Quan aquestes molècules es troben formant complexos amb la ciclodextrina, les barreres energètiques no es coneixen experimentalment i, per tant, intentem determinar-les pel mateix mètode. En els complexos hi ha més efectes a tenir en compte i cal ser conscients de les limitacions: que les simulacions no siguin prou llargues com per reproduir tot l'equilibri dels complexos, a més s'han estudiat les molècules en fase gas i no en solució aquosa, i és coneguda la tendència del camp de forces MM3 a sobrevalorar l'estabilització per enllaços d'hidrogen i aquest és justament l'efecte que produeix els canvis en el problema estudiat.