



---

UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO



FACULTAD DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGÍA

***“ESTUDIO DE LA INTERACCIÓN ENTRE CALIX[n]PIRROLES  
Y CIPROFLOXACINO E HISTAMINA”***

**TESIS**

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**QUÍMICA FARMACOBIOLOGA**

PRESENTA:

**FÁTIMA MONTSERRAT SOTO SUÁREZ**

ASESOR:

**D.C. LUIS CHACÓN GARCÍA**

**MORELIA, MICHOACÁN. Octubre, 2012**

---

---

## ÍNDICE GENERAL

<b>1. INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
<b>2. ANTECEDENTES</b>	<b>6</b>
2.1 Calix[n]pirroles como receptores de aniones.	6
2.2 Histamina.	21
2.2.1 Estructura, conformación y equilibrio prototrópico de la histamina.	22
2.3. Ciprofloxacino.	24
<b>3. HIPÓTESIS.</b>	<b>27</b>
<b>4. OBJETIVOS.</b>	<b>28</b>
4.1 Objetivo general.	28
4.2 Objetivos específicos.	28
<b>5. PARTE EXPERIMENTAL.</b>	<b>29</b>
5.1. Métodos generales.	29
5.2 Síntesis del <i>meso</i> -octametilcalix[4]pirrol (3).	30

---

<b>5.3</b> Síntesis del tetraespirociclohexilcalix[4]pirrol (24).	<b>31</b>
<b>5.4</b> Síntesis del pentaespirociclohexil calix[5]pirrol (25).	<b>32</b>
<b>5.5</b> Obtención del ciprofloxacino (4)	<b>33</b>
<b>5.6</b> Titulación por RMN <sup>1</sup> H del meso-octametilcalix[4]pirrol (3) con diclorhidrato de histamina (8).	<b>34</b>
<b>5.7</b> Titulación por RMN <sup>1</sup> H del tetraespirociclohexilcalix[4]pirrol (24) con clorhidrato de ciprofloxacino (4) y diclorhidrato de histamina (8).	<b>34</b>
<b>5.7.1</b> Titulación de tetraespirociclohexilcalix[4]pirrol (24) con clorhidrato de ciprofloxacino (4) en su forma farmacéutica.	<b>34</b>
<b>5.7.2</b> Titulación de tetraespirociclohexilcalix[4]pirrol (24) con ciprofloxacino (4) “libre”.	<b>35</b>
<b>5.7.3</b> Titulación de tetraespirociclohexilcalix[4]pirrol (24) con diclorhidrato de histamina (8).	<b>35</b>
<b>5.8</b> Titulación por RMN <sup>1</sup> H del pentaespirociclohexilcalix[5]pirrol (25) con clorhidrato de ciprofloxacino (4) y diclorhidrato de histamina (8).	<b>36</b>
<b>5.8.1</b> Titulación de pentaespirociclohexilcalix[5]pirrol (25) con clorhidrato de ciprofloxacino (4) en su forma farmacéutica.	<b>36</b>

---

<b>5.8.2</b>	Titulación de pentaespirociclohexilcalix[5]pirrol ( <b>25</b> ) ciprofloxacino ( <b>4</b> ) “libre”.	<b>37</b>
<b>5.8.3</b>	Titulación de pentaespirociclohexilcalix[5]pirrol ( <b>25</b> ) con diclorhidrato de histamina ( <b>8</b> ).	<b>38</b>
<b>6.</b>	<b>DISCUSIÓN Y RESULTADOS.</b>	<b>39</b>
<b>6.1</b>	Acomplejamiento de los calix[n]pirroles 3, 24 y 25 con clorhidrato de ciprofloxacino (4) e histamina (8).	<b>39</b>
<b>6.2</b>	Titulación por RMN 1H del meso-octametilcalix[4]pirrol (3) con diclorhidrato de histamina (8) en C <sub>5</sub> H <sub>5</sub> N.	<b>43</b>
<b>6.3</b>	Titulación de tetraespirociclohexilcalix[4]pirrol (24) con clorhidrato de ciprofloxacino (4) y diclorhidrato de histamina (8).	<b>44</b>
<b>6.3.1</b>	Titulación de tetraespirociclohexilcalix[4]pirrol (24) con clorhidrato de ciprofloxacino (4) en su forma farmacéutica en C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N.	<b>44</b>
<b>6.3.2</b>	Titulación de tetraespirociclohexilcalix[4]pirrol (24) con ciprofloxacino (4) “libre” en C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N.	<b>46</b>
<b>6.3.3</b>	Titulación tetraespirociclohexilcalix[4]pirrol (24) con diclorhidrato de histamina (8) en DMSO.	<b>47</b>

---

<b>6.3.4</b>	Titulación de tetraespirociclohexilcalix[4]pirrol ( <b>24</b> ) con diclorhidrato de histamina ( <b>8</b> ) en $C_5D_5N$ .	<b>48</b>
<b>6.4</b>	Titulación por RMN $^1H$ del pentaespirociclohexilcalix[5]pirrol ( <b>25</b> ) con clorhidrato de ciprofloxacino ( <b>4</b> ) y diclorhidrato de histamina ( <b>8</b> ).	<b>49</b>
<b>6.4.1</b>	Titulación de pentaespirociclohexilcalix[5]pirrol ( <b>25</b> ) con clorhidrato de ciprofloxacino ( <b>4</b> ) en su forma farmacéutica en DMSO.	<b>49</b>
<b>6.4.2</b>	Titulación de pentaespirociclohexilcalix[5]pirrol ( <b>25</b> ) con clorhidrato de ciprofloxacino ( <b>4</b> ) en su forma farmacéutica en $C_5D_5N$ .	<b>51</b>
<b>6.4.3</b>	Titulación de pentaespirociclohexilcalix[5]pirrol ( <b>25</b> ) con ciprofloxacino ( <b>4</b> ) “libre” en $C_5H_5N$ .	<b>52</b>
<b>6.4.4</b>	Titulación de pentaespirociclohexilcalix[5]pirrol ( <b>25</b> ) con diclorhidrato de histamina ( <b>8</b> ) en DMSO.	<b>53</b>
<b>6.4.5</b>	Titulación de pentaespirociclohexilcalix[5]pirrol ( <b>25</b> ) con diclorhidrato de histamina ( <b>8</b> ) en $C_5D_5N$ .	<b>54</b>



<b>7. CONCLUSIONES</b>	<b>55</b>
<b>8. PERSPECTIVAS</b>	<b>56</b>
<b>9. BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>57</b>
<b>10. ANEXOS</b>	<b>60</b>
<b>ÍNDICE DE ESQUEMAS</b>	<b>vii</b>
<b>ÍNDICE DE GRÁFICAS</b>	<b>viii</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b>	<b>ix</b>
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b>	<b>xi</b>
<b>LISTA DE ABREVIATURAS</b>	<b>xv</b>
<b>LISTA DE MOLÉCULAS</b>	<b>xvi</b>



---

**ÍNDICE DE ESQUEMAS**

<b>Esquema 1.</b> Ruta de biosíntesis y catabolismo de la histamina ( <b>8</b> ).	<b>4</b>
<b>Esquema 2.</b> Síntesis de calix[4]pirrol típica ( <b>3</b> ).	<b>6</b>
<b>Esquema 3.</b> Síntesis de los calix[4] empleando sales de bismuto como catalizadores.	<b>17</b>
<b>Esquema 4.</b> Equilibrio tautómero y iónico entre las especies de histamina ( <b>8</b> ).	<b>23</b>

**ÍNDICE DE GRÁFICAS**

<b>Gráfica 2.1</b> Titulación por RMN de $^1\text{H}$ de C[5] <b>11</b> frente a $\text{F}^-$ , $\text{Cl}^-$ y $\text{Br}^-$ en $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ a $298^\circ\text{K}$ .	<b>18</b>
---	-----------

---

**ÍNDICE DE FIGURAS**

<b>Figura 1.1</b>	Estructuras de: <b>a)</b> Una porfirina <b>b)</b> Un éter corona.	<b>1</b>
<b>Figura 1.2</b>	Estructura del <i>meso</i> -octametil calix[4]pirrol ( <b>1</b> ).	<b>2</b>
<b>Figura 1.3</b>	Estructuras de: <b>a)</b> Ciprofloxacino <b>b)</b> Ofloxacino <b>c)</b> Levofloxacino.	<b>3</b>
<b>Figura 2.1</b>	Estructura de una porfirina expandida pentapirrólica ( <b>20</b> ).	<b>7</b>
<b>Figura 2.2</b>	Estructura de Rayos X de: <b>a)</b> Complejo de cloruro del compuesto octametilcalix[4]pirrol y <b>b)</b> complejo de fluoruro del compuesto tetraespirociclohexilcalix[4]pirrol.	<b>8</b>
<b>Figura 2.3</b>	Representación de las cuatro posibles conformaciones de los Calix[4]pirroles.	<b>9</b>
<b>Figura 2.4</b>	Cristalografía de rayos X del Calix[4]pirrol.	<b>10</b>
<b>Figura 2.5</b>	Conformación del calix[4]pirrol.	<b>11</b>

---

<b>Figura 2.6</b>	Vista plana de una estructura de rayos X de un complejo 1:1 formado entre el compuesto dodecametilcalix[6]pirrol y Cl y/o Br.	<b>12</b>
<b>Figura 2.7</b>	Experimento competitivo de calix[4]pirrol ( <b>1</b> ) y calix[5]pirrol ( <b>22</b> ) [1:1] con CITBA en CD <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> a 295,15 °K.	<b>14</b>
<b>Figura 2.8</b>	Imagen de espectros superpuestos de RMN <sup>1</sup> H en CD <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> de: <b>a)</b> meso-octametilcalix[4]pirrol ( <b>3</b> ); <b>b)</b> meso-octametil calix[4]pirrol ( <b>1</b> ) + 1 eq. cloruro de EMIM; <b>c)</b> tetrafluoroborato de EMIM; <b>d)</b> cloruro de EMIM. Desplazamiento químico en ppm.	<b>16</b>
<b>Figura 2.9</b>	Calix[4]pirrol de cavidad profunda funcionalizado con azidas.	<b>20</b>
<b>Figura 2.10</b>	Tautomería del anillo de imidazol.	<b>22</b>
<b>Figura 2.11</b>	Estructura de ciprofloxacino.	<b>24</b>
<b>Figura 6.1.</b>	Espectros de RMN <sup>1</sup> H para la titulación del meso-octametilcalix[4]pirrol ( <b>3</b> ) con diclorhidrato de histamina en C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N.	<b>44</b>

---

- 
- Figura 6.2.** Espectros de RMN  $^1\text{H}$  para la titulación del tetraespirociclohexilcalix[4]pirrol (**24**) con clorhidrato de ciprofloxacino en su forma farmacéutica en  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ . 45
- Figura 6.3.** Espectros de RMN  $^1\text{H}$  para la titulación del tetraespirociclohexilcalix[4]pirrol (**24**) con ciprofloxacino “libre” en  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ . 46
- Figura 6.4.** Espectros de RMN  $^1\text{H}$  para la titulación del tetraespirociclohexilcalix[4]pirrol (**24**) con diclorhidrato de histamina en DMSO. 48
- Figura 6.5.** Espectros de RMN  $^1\text{H}$  para la titulación del tetraespirociclohexilcalix[4]pirrol (**24**) con diclorhidrato de histamina en  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ . 49
- Figura 6.6.** Espectros de RMN  $^1\text{H}$  para la titulación del pentaespirociclohexilcalix[5]pirrol (**5**) con clorhidrato de ciprofloxacino en DMSO. 50
- Figura 6.7.** Espectros de RMN  $^1\text{H}$  para la titulación del pentaespirociclohexilcalix[5]pirrol (**5**) con clorhidrato de ciprofloxacino se remonta su forma farmacéutica en  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ . 51
-

- 
- Figura 6.8.** Espectros de RMN  $^1\text{H}$  para la titulación del pentaespirociclohexilcalix[5]pirrol (**5**) con clorhidrato de ciprofloxacino en su forma “libre” en  $\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$ . **52**
- Figura 6.9.** Espectros de RMN  $^1\text{H}$  para la titulación del pentaespirociclohexilcalix[5]pirrol (**5**) con diclorhidrato de histamina en DMSO. **53**
- Figura 6.10.** Espectros de RMN  $^1\text{H}$  para la titulación del pentaespirociclohexilcalix[5]pirrol (**5**) con diclorhidrato de histamina en  $\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$ . **54**
- Figura 10.1.** Espectro de  $^1\text{H}$  RMN a 400 MHz en  $\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$  del Meso-ocatametilcalix[4]pirrol (**3**). **65**
- Figura 10.2.** Espectro de  $^1\text{H}$  RMN a 400 MHz en DMSO del Ciprofloxacino (**4**). **65**
- Figura 10.4.** Espectro de  $^1\text{H}$  RMN a 400 MHz en de  $\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$  del Diclorhidrato de histamina (**8**). **66**
- Figura 10.4.** Espectro de  $^1\text{H}$  RMN a 400 MHz en de  $\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$  del Tetraespirociclohexilcalix[4]pirrol (**24**). **66**

---

**ÍNDICE DE TABLAS**

<b>Tabla 2.1.</b>	Valores de $K_a$ (M-1) de los complejos formados con sales de TBA y <i>meso</i> -octametil calix[4]pirrol o <i>meso</i> -tetraespirociclohexil calix[4]pirrol.	<b>8</b>
<b>Tabla 2.2.</b>	Valores de $K_a$ (M-1) para TBA-Cl y TBA-Br de los complejos formados con <i>meso</i> -octametilcalix[4]pirrol (1) y <i>meso</i> -decametilcalix[5]pirrol ( <b>22</b> ).	<b>13</b>
<b>Tabla 2.3.</b>	Datos de titulación del <i>meso</i> -octametilcalix[4]pirrol (1) con distintas sales orgánicas de cloruro.	<b>15</b>
<b>Tabla 2.4.</b>	Datos de titulación del <i>meso</i> -octametil calix[4]pirrol (1) con distintas sales orgánicas de bromuro.	<b>16</b>
<b>Tabla 2.5</b>	Comparación de las $K_a$ 's (M <sup>-1</sup> ) determinadas en CD <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> a 298 °K.	<b>19</b>
<b>Tabla 2.6.</b>	$K_a$ 's del compuesto <b>23</b> con TBA-Cl en CDCl <sub>3</sub> .	<b>20</b>
<b>Tabla 2.7.</b>	Aspectos históricos de la histamina.	<b>21</b>
<b>Tabla 2.8.</b>	Porcentajes moleculares de las especies de histamina.	<b>24</b>

---

---

<b>Tabla 2.9.</b>	Aspectos históricos de las fluoroquinolonas	<b>25</b>
<b>Tabla 5.1</b>	Equivalentes de clorhidrato de ciprofloxacino en su forma farmacéutica adicionados a la solución del tetraespirociclocalix[4]pirrol ( <b>4</b> ) en DMSO y C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N.	<b>34</b>
<b>Tabla 5.2</b>	Equivalentes de clorhidrato de ciprofloxacino “libre” adicionados a la solución del tetraespirociclocalix[4]pirrol ( <b>4</b> ) en C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N.	<b>35</b>
<b>Tabla 5.3</b>	Equivalentes de diclorhidrato de histamina adicionados a la solución del tetraespirociclocalix[4]pirrol ( <b>4</b> ) en DMSO y C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N.	<b>36</b>
<b>Tabla 5.4</b>	Equivalentes de diclorhidrato de ciprofloxacino adicionados a la solución del pentaespirociclocalix[5]pirrol ( <b>5</b> ) en DMSO y C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N.	<b>37</b>
<b>Tabla 5.5</b>	Equivalentes de ciprofloxacino “libre” adicionados a la solución del pentaespirociclocalix[5]pirrol ( <b>5</b> ) en C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N.	<b>37</b>
<b>Tabla 5.6</b>	Equivalentes de diclorhidrato de histamina adicionados a la solución del pentaespirociclohexilcalix[4]pirrol ( <b>5</b> ) en DMSO y C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N.	<b>38</b>

---

---

<b>Tabla 6.1.</b>	Pruebas de solubilidad de Clorhidrato de Ciprofloxacino en forma farmacéutica T.A.	<b>40</b>
<b>Tabla 6.2.</b>	Pruebas de solubilidad Diclorhidrato de Histamina T.A.	<b>41</b>
<b>Tabla 6.3.</b>	Pruebas de solubilidad del tetraespirociclohexilcalix[4]pirrol ( <b>24</b> ) T.A	<b>42</b>
<b>Tabla 6.4.</b>	Pruebas de solubilidad de pentaespirociclohexilcalix[5]pirrol ( <b>25</b> ) T.A.	<b>42</b>

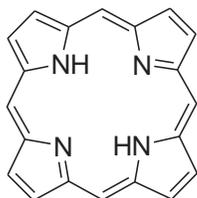
---

---

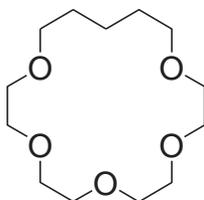
**LISTA DE ABREVIATURAS**

(C[n])	Calix[n] pirroles.
C [4]	Calix [4] pirroles.
C [5]	Calix [5] pirroles.
<i>K<sub>a</sub></i>	Constante de afinidad.
<i>K<sub>a</sub>'s</i>	Constantes de afinidad.
$\Delta$	Desplazamiento químico.
DMSO-d <sub>6</sub>	Dimetil sulfoxido deuterado.
DMF	Dimetilformamida.
DMSO	Dimetilsulfoxido.
eq	equivalente químico.
mg	miligramo.
min	minuto.
ml	mililitro.
Bi(NO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	Nitrato de bismuto
ppm	Partes por millón.
RMN <sup>1</sup> H	Resonancia Magnética Nuclear de Protón.
T.A.	Temperatura ambiente.
C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N	Piridina deuterada.
MHz	Mega Hertz.
hs.	horas.
mmol	milimoles.
M	Molar.

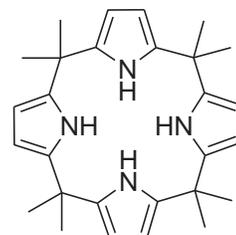
**LISTA DE MOLÉCULAS**



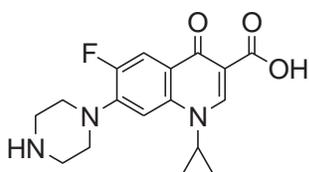
**(1)**



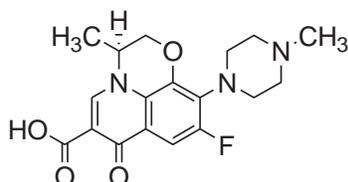
**(2)**



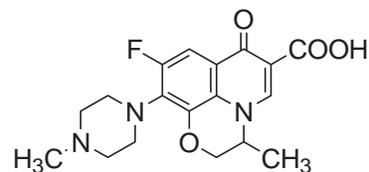
**(3)**



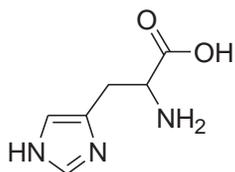
**(4)**



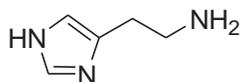
**(5)**



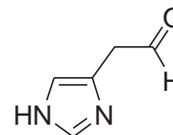
**(6)**



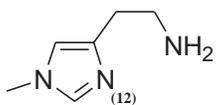
**(7)**



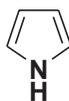
**(8)**



**(9)**



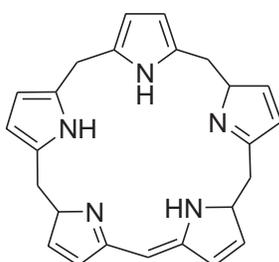
(10)



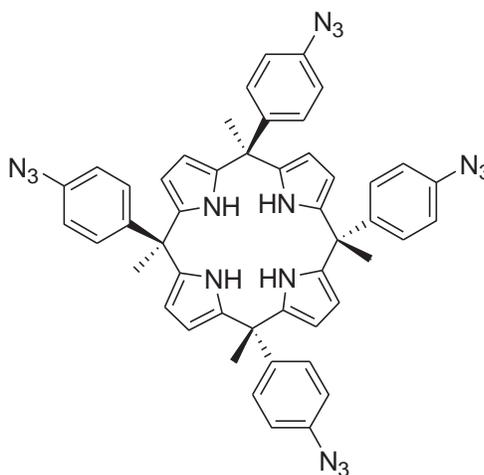
(11)



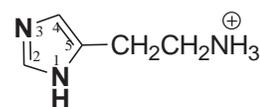
(12)



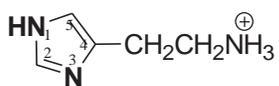
(13)



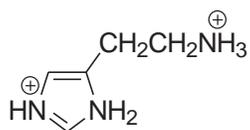
(14)



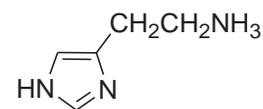
(15)



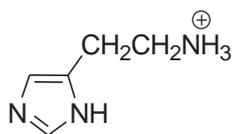
(16)



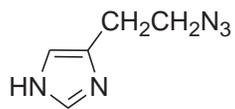
(17)



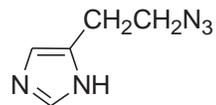
(18)



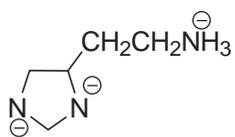
(19)



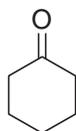
(20)



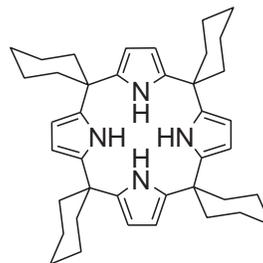
(21)



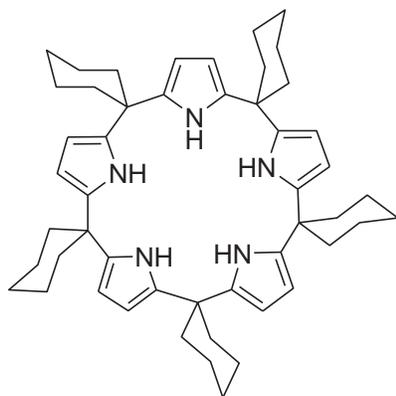
(22)



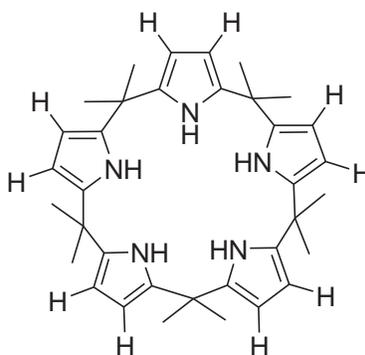
(23)



(24)



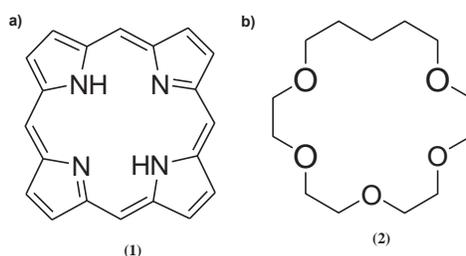
(25)



(26)

## 1. INTRODUCCIÓN

Dentro de la química orgánica moderna se han desarrollado numerosos compuestos entre los cuales destacan por sus características los calixpirroles, que caben dentro de los macrociclos más estudiados durante este último siglo debido a su utilidad en la química supramolecular y sus múltiples aplicaciones. Así también se destaca como el desafío que ha representado la síntesis de estos a partir de sus análogos los calixarenos; en y lo exitosos que son como receptores de las especies aniónicas, iones metálicos y sustratos neutros<sup>1</sup> para el reconocimiento molecular. Gracias a estas características presentan numerosas aplicaciones como sensores ópticos, agentes transportadores de aniones, detectores electroquímicos, colorimétricos y sensores de fluorescencia. Recientemente se han utilizado como catalizadores en diversas reacciones, en la separación de medicamentos y en la separación selectiva y la preconcentración de  $\text{Ag}^+$  y  $\text{Tl}^+$ .<sup>2</sup> Todos estos estudios han despertado el interés de su obtención pura en altos rendimientos, compitiendo en este ámbito con las porfirinas y los éteres corona ilustrados en la **Figura 1.1, a)** y **b)** respectivamente.

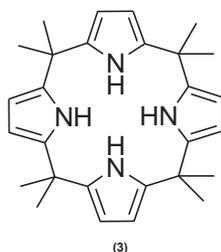


**Figura 1.1** Estructuras de: **a)** Una porfirina. **b)** Un éter corona.

Los calixpirroles son macrociclos que consisten en anillos de pirroles enlazados entre sí en las posiciones 2 y 5 por átomos de carbono con hibridación  $\text{sp}^3$  y son el

---

producto de la condensación del pirrol y acetonas. Se clasifican de acuerdo al número de unidades que conforman su estructura. Se denominan calix[n]pirroles, donde  $n$  es el número de unidades pirrónicas y siempre es  $\geq 4$  siendo favorecida la formación del calix.

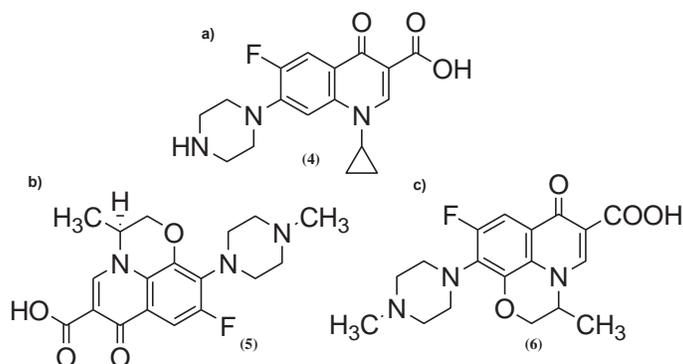


**Figura 1.2** Estructura del *meso*-octametil calix[4]pirrol (1).

Los calixpirroles son reconocedores de aniones y estos juegan un papel muy importante dentro de los procesos biológicos ya que se cree que en un 70% de los procesos enzimáticos están involucrados con este fenómeno supramolecular.<sup>3</sup> En el presente trabajo se abordarán dos compuestos de interés biológico que actúan dentro del organismo como especies iónicas en forma de clorhidratos: el ciprofloxacino y la histamina.

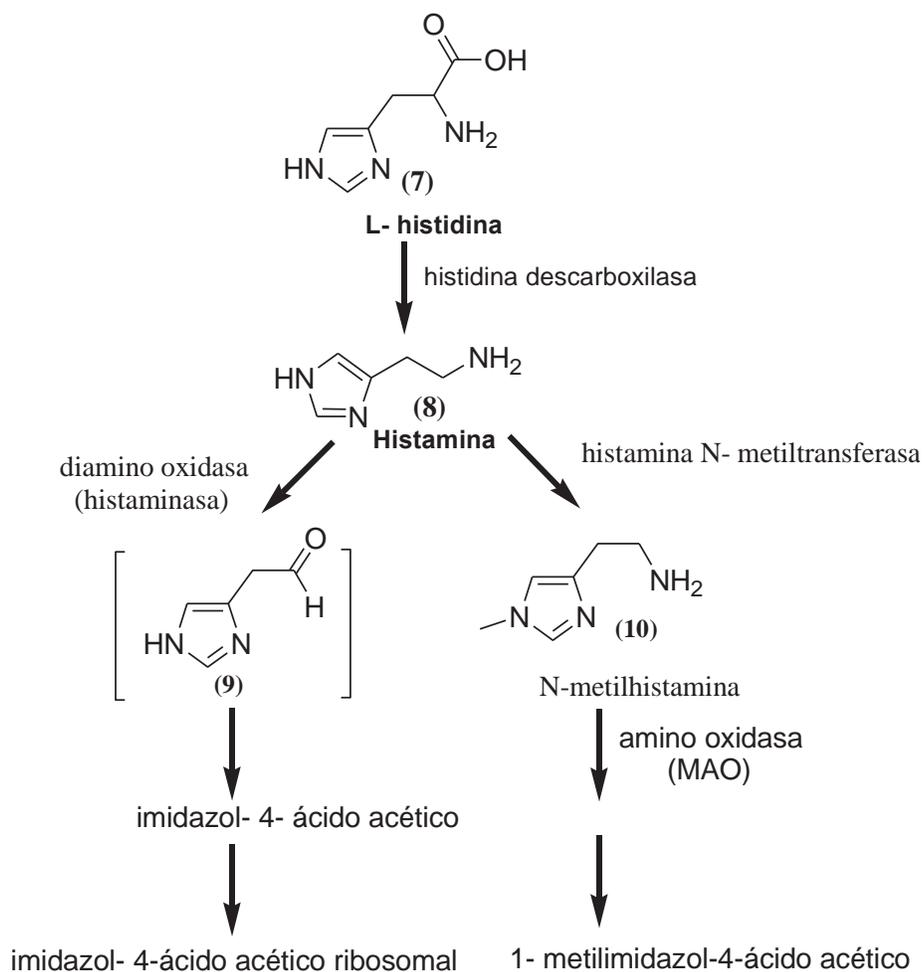
Desde la antigüedad el hombre ha tratado de descubrir las causas que dan lugar a las enfermedades y cómo erradicarlas. En esta búsqueda se ha logrado obtener antibióticos que permiten tratar en gran medida las infecciones más comunes.

Actualmente las quinolonas son de los agentes antimicrobianos más utilizados, entre los que destacan el ciprofloxacino, levofloxacino y ofloxacino. El ciprofloxacino, ha sido muy utilizado en la clínica terapéutica por presentar mayor espectro de actividad, con microorganismos Gram positivos y Gram negativos.<sup>4</sup>



**Figura 1.3** Estructuras de: a) Ciprofloxacino. b) Ofloxacino. c) Levofloxacino.

Por otra parte, la histamina es un mediador importante de los procesos inflamatorios, se forma por la descarboxilación del aminoácido histidina, mediante la acción de la enzima descarboxilasa L-histidina (**Esquema 1**). La célula cebada es el sitio predominante de almacenamiento de la histamina en casi todos los tejidos; la concentración de esta sustancia es particularmente grande en tejidos que contienen gran número de dichas células, como piel y mucosa del árbol bronquial y de las vías intestinales.<sup>4</sup>



**Esquema 1.** Ruta de biosíntesis y catabolismo de la histamina (11).

---

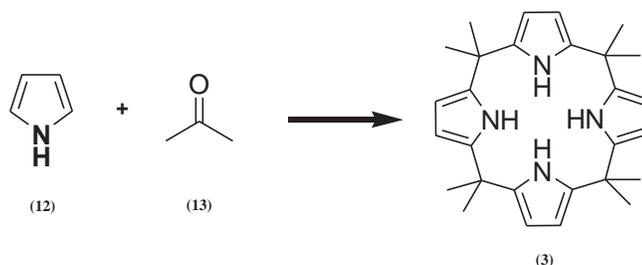
Este trabajo estudia el reconocimiento de los calix[n]pirroles frente a los clorhidratos de histamina y ciprofloxacino, así como de ciprofloxacino libre de clorhidrato por RMN  $^1\text{H}$ . Lo anterior con el fin de aportar las bases que pueden generar a sensores ópticos o nanoesponjas. Cabe señalar que es de particular interés la detección de antibióticos en productos alimenticios por razones de salud. De esta manera este trabajo se visualiza el uso práctico de los calixpirroles; y también se describe por primera vez el estudio de acomplejamiento del *meso*-octametilcalix[4]pirrol (**3**), tetraespirociclohexilcalix[4]pirrol (**24**) y tetraespirociclohexilcalix[5]pirrol (**25**) y se evalúa su  $K_a$  mediante RMN  $^1\text{H}$ .

En este trabajo se estudia el reconocimiento de los calix[n]pirroles frente a los clorhidratos de histamina y ciprofloxacino, así como de ciprofloxacino libre de clorhidrato por RMN  $^1\text{H}$ . Lo anterior con el fin de aportar las bases que pueden generar a sensores ópticos o nanoesponjas. Cabe señalar que es de particular interés la detección de antibióticos en productos alimenticios por razones de salud. De esta manera se visualiza, en esta tesis, el uso práctico de los calixpirroles en la determinación cualitativa de los compuestos de interés biológico clorhidrato de histamina, un importante mediador del proceso inflamatorio, y ciprofloxacino. Para tal fin, se describe, por primera vez, el estudio de acomplejamiento del *meso*-octametilcalix[4]pirrol (**3**), tetraespirociclohexilcalix[4]pirrol (**24**) y tetraespirociclohexilcalix[5]pirrol (**25**) frente a ambos compuestos mediante titulaciones por RMN  $^1\text{H}$ . Se espera que los resultados puedan ser aprovechados para uso práctico en muestras biológicas o de alimentos como productos cárnicos entre otros.

## 2. ANTECEDENTES.

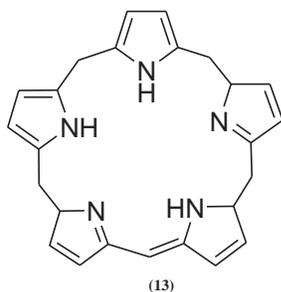
### 2.1 Calix[n]pirroles como receptores de aniones.

Los calixpirroles fueron sintetizados por primera vez en 1886 por Bayer mediante la condensación de pirrol y acetona en presencia de ácido clorhídrico, siendo el octametilcalix[4]pirrol el primer calix descrito.<sup>5</sup> El descubrimiento de Bayer no fue, en su momento, más allá de la síntesis de un nuevo compuesto que llevó décadas conocer su estructura con precisión. Fue hasta finales del siglo pasado que se despertó el interés de muchos investigadores en los calixpirroles debido al reconocimiento del macrociclo por aniones, dando pauta a nuevas aplicaciones de los calixpirroles como sensores ópticos, agentes transportadores de aniones, detectores electroquímicos, etc.



Esquema 2. Síntesis de calix[4]pirrol típica (3).

En 1998, Gale, Sessler y Král<sup>6</sup> se encargaron de realizar estudios y describir las propiedades del acomplejamiento de calix[4]pirroles con aniones debido a que en estudios anteriores realizaron la descripción de las safraninas, siendo estas muy similares a los calix[4]pirroles ya que son porfirinas pentapirrólicas expandidas (**Figura 2.1**), y debido a su estructura son excelentes reconocedores de aniones cuando se encuentran desprotonadas, reconociendo especialmente al flúor, aunque también interactúan con los aniones cloruro, bromuro, yoduro, monofosfato y bisulfato.



**Figura 2.1** Estructura de una porfirina expandida pentapirrólica (20).

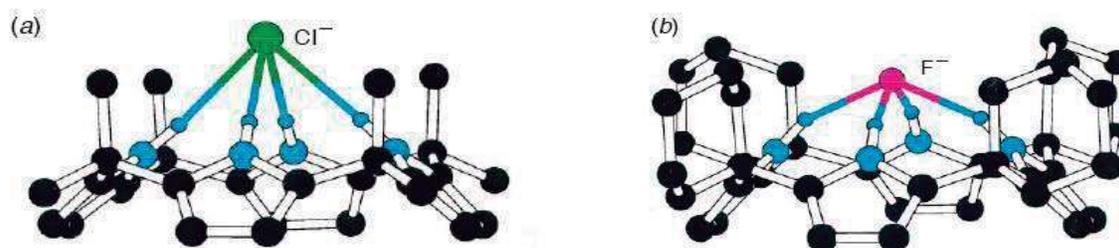
Gale y colaboradores demostraron que el *meso*-octametilcalix[4]pirrol y el *meso*-tetraespirociclohexilcalix[4]pirrol son selectivos en una proporción 1:1 calix-anión. La preferencia del acomplejamiento fue muy marcada por el ión fluoruro sobre los demás aniones explorados. En ambos casos, la estructura de rayos X de los complejos con flúor y cloro reveló que el ligando de *meso*-octametilcalix[4]pirrol adopta una conformación de cono en el estado sólido, ya que los cuatro protones NH del pirrol pueden formar puentes de hidrógeno con el halógeno.<sup>7</sup>

Las constantes de afinidad ( $K_a$ 's) fueron determinadas mediante titulaciones por RMN  $^1\text{H}$  en  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$  a 298 K, utilizando los aniones en su forma de sales de  $\text{Bu}_4\text{N}^+$ .

**Tabla 2.1** Valores de  $K_a$  ( $M^{-1}$ ) de los complejos formados con sales de TBA y *meso*-octametilcalix[4]pirrol o *meso*-tetraespirociclohexil calix[4]pirrol.

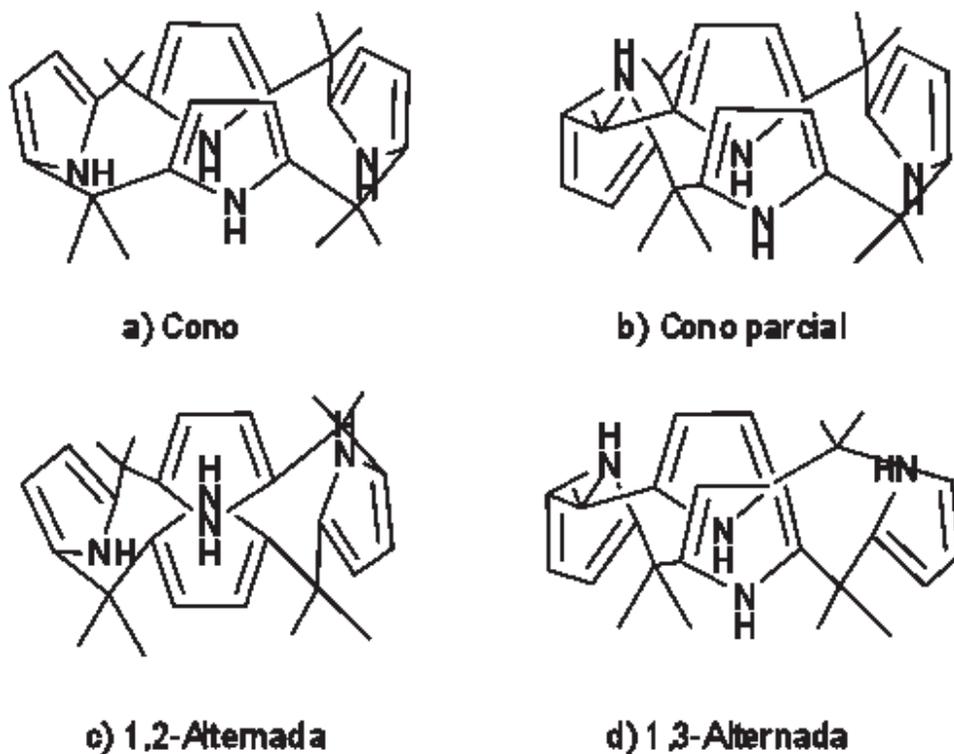
$K_a$ ( $M^{-1}$ ) en $CD_2Cl_2$		
Anión	<i>meso</i> -octametilcalix[4]pirrol	<i>meso</i> -tetraespirociclohexilcalix[4]pirrol
$F^-$	17170 (+900)	3600 (+395)
$Cl^-$	350 (+5.5)	117 (+4.0)
$Br^-$	10 (+0.5)	*N.D
$I^-$	<10	*N.D
$H_2PO_4^-$	- 97 (+3.9)	<10
$HSO_4^-$	<10	*N.D

\*N.D No determinada



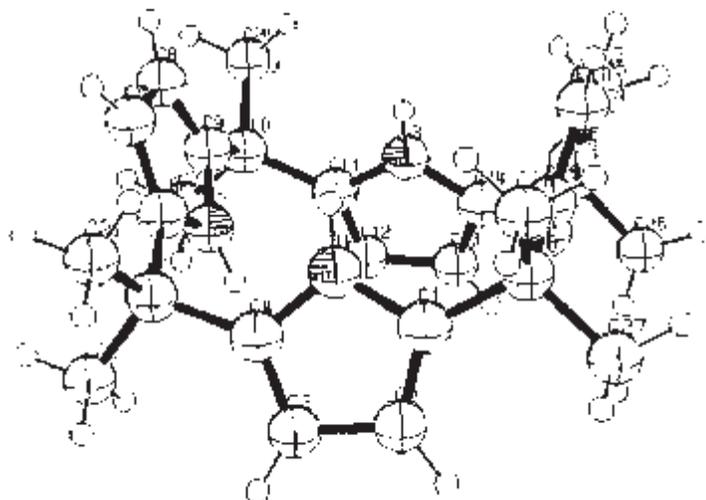
**Figura 2.2** Estructura de Rayos X de: **a)** Complejo de cloruro del compuesto *meso*-octametilcalix[4]pirrol (3) y **b)** complejo de fluoruro del compuesto tetraespirociclohexilcalix[4]pirrol (24).

Los calix[4]pirroles pueden adoptar 4 diferentes conformaciones: cono, cono parcial, 1-2 alternada y 1-3 alternada (**Figura 2.3**).<sup>8</sup>



**Figura 2.3** Representación de las cuatro posibles conformaciones de los Calix[4]pirroles.

La conformación 1-3 alternada es la más estable y experimentalmente de menor energía, debido a que los pirroles se encuentran orientados arriba-abajo-arriba-abajo relativo a un plano perpendicular imaginario,<sup>8</sup> lo que es corroborado por análisis cristalográfico de rayos X en la Figura 2.4.<sup>9</sup>



**Figura 2.4** Cristalografía de rayos X del Calix[4]pirrol (**3**).

El grupo de Floriani<sup>10</sup> observó que estos compuestos pueden actuar como receptores específicos de aniones. La formación de un complejo anión-calixpirrol es acompañada por un cambio drástico en la conformación del macrociclo que pasa de 1-3 alternada a conformación de cono.

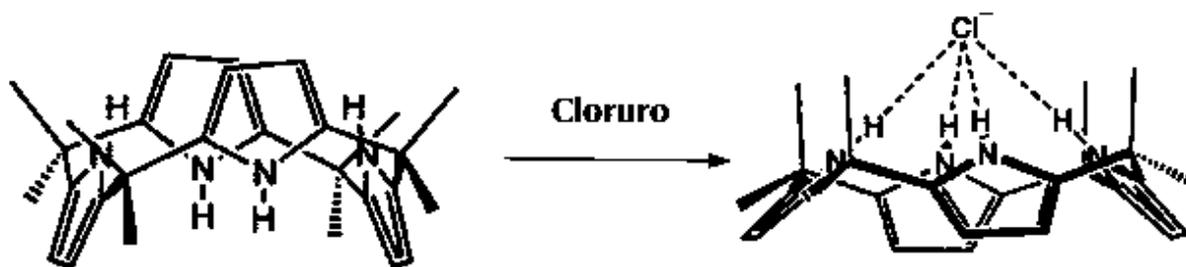
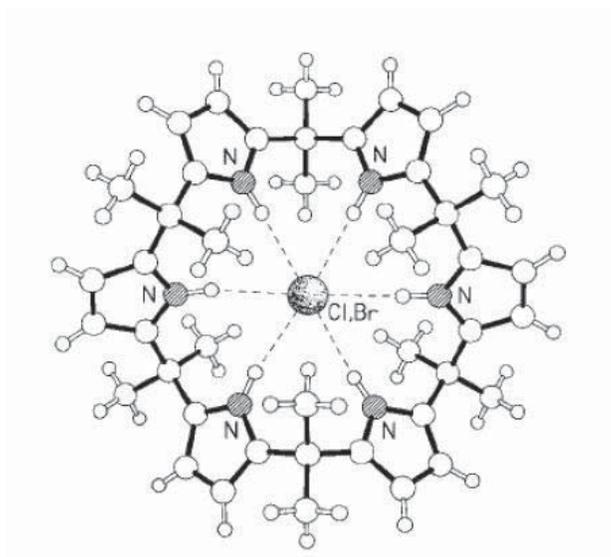


Figura 2.5 Conformación del calix[4]pirrol.

Aunque los calixpirroles más estudiados son los calix[4]pirroles, debido a su facilidad de síntesis entre otros aspectos, también han llamado la atención los calixpirroles superiores. En el año 2000 Cafeo y col.,<sup>11</sup> sintetizaron y describieron el acomplejamiento del dodecametilcalix[6]pirrol con iones halogenuro aportando las estructuras de rayos X de los complejos formados con sales de  $\text{Bu}_4\text{N}^+\text{Cl}^-$  y  $\text{Bu}_4\text{N}^+\text{Br}^-$ . La difracción de rayos X mostró que el macrociclo encapsula al ión halogenuro en su cavidad a través de seis puentes de hidrógeno  $\text{N-H}\cdots\text{X}$ , donde X es el halogenuro. El calix[6]pirrol alberga a los aniones dentro de su cavidad, a diferencia de lo que ocurre con los calix[4]pirroles que interaccionan con el halogenuro fuera de ésta a través de únicamente cuatro puentes de hidrógeno.

Las constantes de afinidad fueron determinadas mediante titulaciones por RMN  $^1\text{H}$  en  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$  a 298 K y los aniones fueron adicionados en concentraciones de 0.1 M en su forma de sales de  $\text{Bu}_4\text{N}^+$  a soluciones 10 mm del receptor también disuelto en  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ .



**Figura 2.6** Vista plana de una estructura de rayos X de un complejo 1:1 formado entre el compuesto dodecametilcalix[6]pirrol y Cl y/o Br.

Una vez obtenidos los calix[4] y calix[6]pirroles resultaba bastante atractivo sintetizar el correspondiente calix[5]pirrol. Sin embargo, esta estructura bastante escurridiza fue sintetizada por Cafeo a partir del calix[5]furano determinando también las constantes de estabilidad frente a aniones y permitiendo comparar los datos obtenidos con los de su análogo (**1**). Las titulaciones en  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$  saturado con  $\text{D}_2\text{O}$  (0.18% v/v) demostraron, contrario a lo esperado, que el tamaño del macrociclo y la interacción con el anión no están relacionados con la afinidad por éste ya que la interacción del calix[5] fue mucho menor que la del calix[4], presentando una menor afinidad respecto al calix[6]. Los resultados se muestran en la **Tabla 2.2**.<sup>12</sup>

Anión	<i>Meso</i> - octametilcalix[4]pirrol (3)	<i>Meso</i> - decametilcalix[5]pirrol (26)
F <sup>-</sup>	14 000 ± 821 M <sup>-1</sup>	2 700 ± 201 M <sup>-1</sup>

**Tabla 2.2.** Valores de Ka (M<sup>-1</sup>) para TBA-Cl y TBA-Br de los complejos formados con *meso*-octametilcalix[4]pirrol (3) y *meso*-decametilcalix[5]pirrol (26).

Cafeo también realizó mezclas 1:1 C[4]-C[5] para comparar la afinidad de cada uno de los macrociclos por el ión cloruro en forma de sal de TBA mediante titulación por RMN <sup>1</sup>H corroborando los datos obtenidos de los ensayos aislados (**Figura 2.7**).

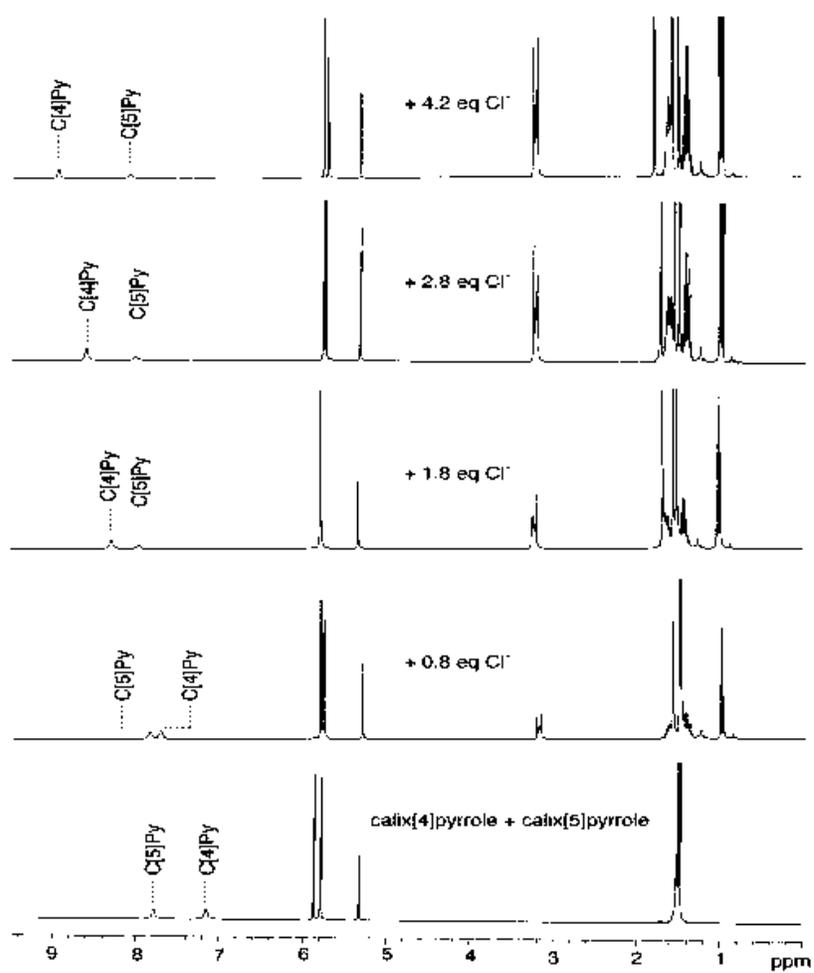


Figura 2.7 Experimento competitivo de calix[4]pirrol (**1**) y calix[5]pirrol (**22**) [1:1] con CITBA en  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$  a 295,15 K.

Por otra parte Gale realizó un estudio de las interacciones de halogenuros y el ion nitrato con el *meso*-octametilcalix[4]pirrol (**3**). Mediante titulaciones en RMN  $^1\text{H}$  de soluciones de (**3**) y (**26**) en  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$  se concluyó que al cambiar la naturaleza del anión se produce un efecto importante en la constante de estabilidad calculada con el ion cloruro y el ion bromuro.<sup>13</sup>

Las titulaciones con cloruro y bromuro del 1-etil-3-metilimidazol (EMIM), 1-butil-3-metilimidazol (BMIM) y N-etilpiridinio (EtPy) se compararon con los datos existentes del bromuro y cloruro de TBA. Los resultados obtenidos para ambos aniones demostraron que las constantes se incrementaban en el siguiente orden: TBA < EMIM < BMIM < EtPy.

Las **Tablas 2.3** y **2.4** muestran las diferentes constantes para el cloruro y el bromuro respectivamente en sus diferentes sales.

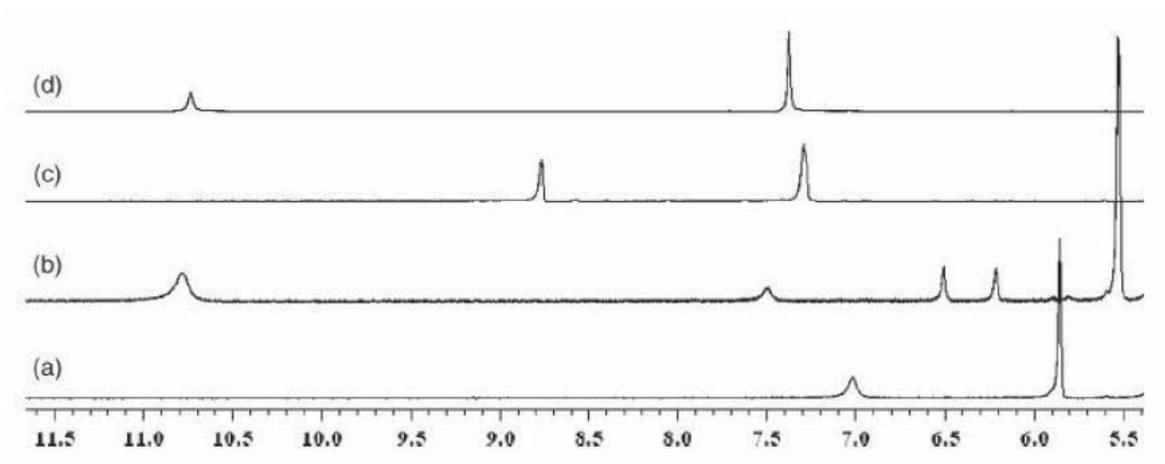
Sal orgánica	$K_a$ ( $\text{M}^{-1}$ )
TBACl	430 <sup><math>\beta</math></sup>
EMIMCl	2240
BMIMCl	5960
EtPyCl	>104

**Tabla 2.3.** Datos de titulación del *meso*-octametilcalix[4]pirrol (**1**) con distintas sales orgánicas de cloruro. Titulaciones realizadas a 300 K en  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ . Errores estimados en <15%. Realizado a 295 K.

Sal orgánica	$K_a$ ( $M^{-1}$ )
TBABr	10
EMIMBr	200
BMIMBr	280
EtPyBr	1180

**Tabla 2. 4.** Datos de titulación del *meso*-octametil calix[4]pirrol (**1**) con distintas sales orgánicas de bromuro.<sup>a</sup> Titulaciones realizadas a 300 K en  $CD_2Cl_2$ . Errores estimados en <15%.

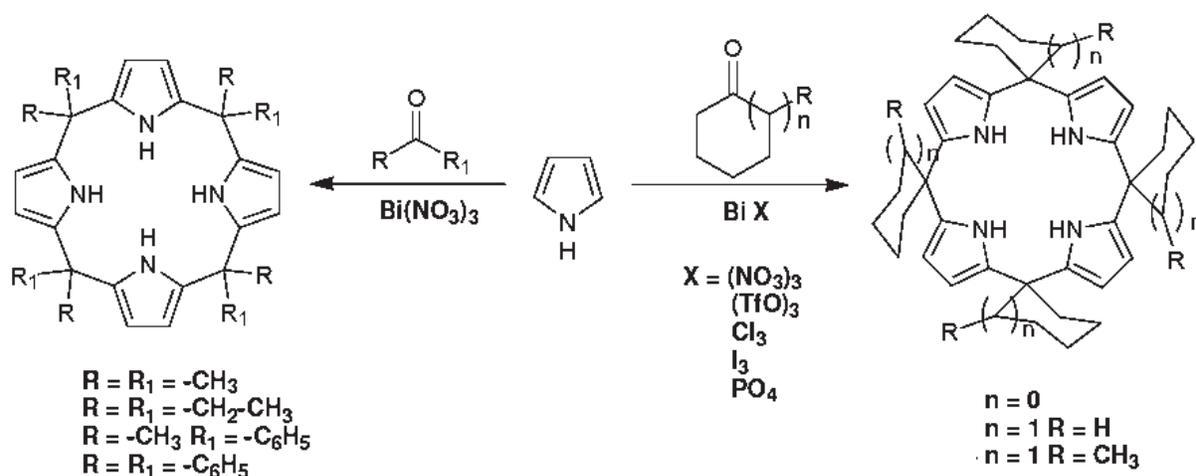
Las titulaciones fueron realizadas en  $CD_2Cl_2$  y en solución acuosa con 0.5% de  $DMSO-d_6$  sin observar cambios importantes en la afinidad del anión por el receptor en las diferentes sales del mismo halogenuro. Agregando diferentes equivalentes del respectivo anión, obtuvo un conjunto de espectros en los que las señales del NH pirrólico se desplazan a campo bajo en diferente medida dependiendo del catión involucrado. (**Figura 2.8**).



**Figura 2.8.** Imagen de espectros superpuestos de RMN  $^1H$  en  $CD_2Cl_2$  de: **a**) *meso*-octametilcalix[4]pirrol (**1**); **b**) *meso*-octametil calix[4]pirrol (**1**) + 1 eq. Cloruro de EMIM; **c**) tetrafluoroborato de EMIM; **d**) cloruro de EMIM. Desplazamiento químico en ppm.

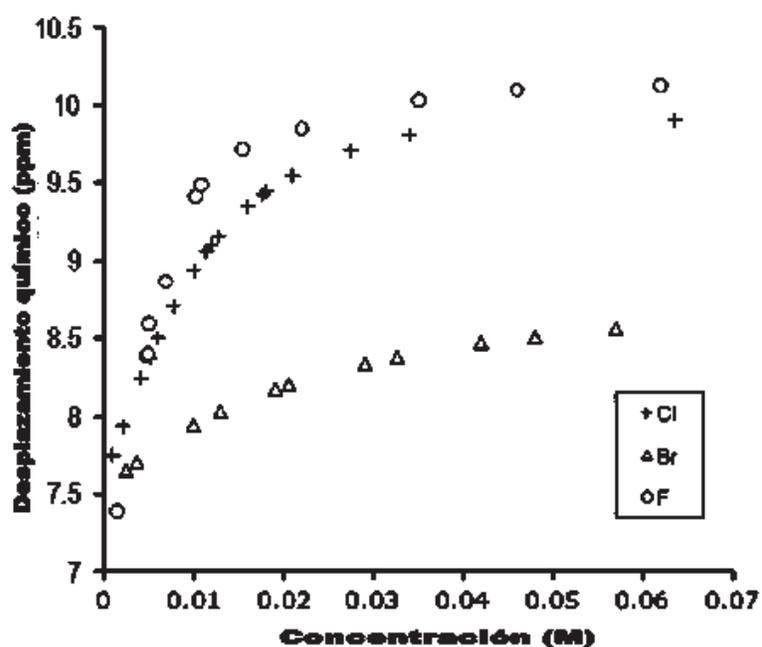
El interés en la obtención de los calixpirroles, dio como resultado la síntesis de análogos los cuales también se estudiados como reconocedores de aniones y entre los que destacan aquellos sustituidos con metilos, ciclohexilos, etilos, propilos, ciclopropilos, ciclopentilos, diversos fenilos e incluso adamantilos entre muchos otros. Los calix[4]pirroles han sido obtenidos mediante el uso de diferentes catalizadores destacando así los ácidos de Brønsted-Lowry, como ácido clorhídrico o ácido metansulfónico, o ácido de Lewis como zeolitas con aluminio o cobalto,  $\text{BF}_3\text{Et}_2\text{O}$  y sales de Bismuto III.<sup>14-17</sup>

Con el uso de estas sales, se describió una nueva metodología de síntesis de calix[4]pirroles en el año 2008 por Chacón y col., a partir de cetonas como acetona, ciclohexanona, ciclopentanona, 3- pentanona y metilfenilcetona entre otras, Lo novedoso e importante fue el de ácidos de Lewis en catálisis principalmente se utilizaron sales de bismuto III como triflato, cloruro, yoduro, fosfato nitrato (**Esquema 3**) obteniendo rendimientos de hasta 94%, tempos de reacción relativamente cortos.<sup>17</sup>



**Esquema 3.** Síntesis de los calix[4] empleando sales de bismuto como catalizadores.

La consecuencia de este trabajo de investigación fue que el uso de  $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$  permitió describir, en un trabajo inmediato posterior, por primera vez la síntesis directa del *meso*-decametil calix[5]pirrol considerado hasta entonces como un producto que no se podría sintetizar al menos de manera directa. Como consecuencia, se describió y se corroboró que los calix[5]pirroles pueden ser sintetizados de manera directa mediante la obtención del *meso*-pentaespirociclohexilcalix[5]pirrol y como parte del estudio se llevó a cabo la obtención de las constantes de afinidad ( $K_a$ 's) frente a los iones  $\text{F}^-$ ,  $\text{Cl}^-$  y  $\text{Br}^-$  en su forma de sales de tetrabutilamonio (TBA) mediante titulaciones por RMN de  $^1\text{H}$  en  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$  a 298 K. El incremento de los desplazamientos químicos del NH pirrólico con respecto a la adición de anión se ilustra en la **Gráfica 2.1**.<sup>18</sup>



**Gráfica 2.1** Titulación por RMN de  $^1\text{H}$  de C[5] 11 frente a  $\text{F}^-$ ,  $\text{Cl}^-$  y  $\text{Br}^-$  en  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$  a 298 K.

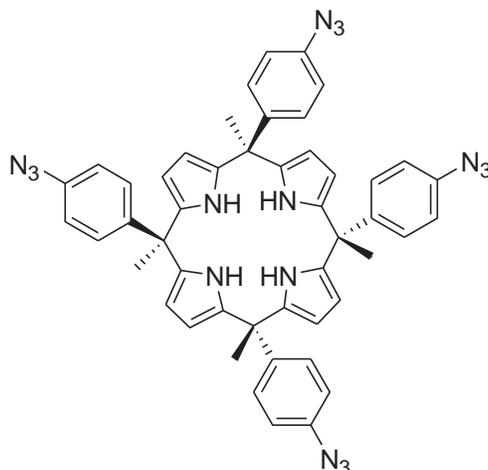
Las  $K_a$ 's se obtuvieron en proporción 1:1 C[5]-anión utilizando el modelo de WinEQNMR. Los resultados se resumen en la **Tabla 2.5**.

Anión	1	4	5
F <sup>-</sup>	17,170	3,600	1,130
Cl <sup>-</sup>	350	117	225
Br <sup>-</sup>	10	N.D	61

N.D No determinada

**Tabla 2.5** Comparación de las  $K_a$ 's ( $M^{-1}$ ) determinadas en  $CD_2Cl_2$  a 298 °K.

En el 2011, Leyva, Chacón y Mejía, realizaron la síntesis de calix[4]pirroles de cavidad profunda funcionalizados con azidas (**Figura 2.9**) como parte de su estudio, se llevó a cabo la evaluación como receptores de aniones, observando que la interacción con el anión fue con solo 2 protones del NH del pirrol, evitando que la estructura alcance una conformación de cono. Se evaluaron las constantes de afinidad del meso-octametilcalix[4]pirrol y del tetraespirociclohexilcalix[4]pirrol con los iones cloruro, bromuro y yoduro en  $C_5D_5N$ , debido a que los compuestos sintetizados no eran solubles en los disolventes orgánicos comúnmente utilizados por titulaciones en RMN  $^1H$ .<sup>19</sup>



**Figura 2.9.** Calix[4]pirrol de cavidad profunda funcionalizado con azidas.

**Tabla 2.6.**  $K_a$ 's del compuesto **23** con TBA-Cl en  $\text{CDCl}_3$ .

Disolvente	Log $K_a$	$K_a$ ( $\text{M}^{-1}$ )
$\text{CDCl}_3$	1.33266	21.51
$\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$	1.17881	15.09

De estos últimos resultados queda claro que la piridina incrementa la capacidad de reconocimiento de aniones y hasta nuestro conocimiento no hay ningún reporte de estabilidad de calixpirroles-anión en este disolvente. Este es el antecedente esencial que se utilizó como una parte importante de esta tesis y será retomado adelante.

## 2.2 Histamina.

La histamina es un mediador importante en la respuesta inflamatoria. Algunos aspectos históricos relevantes se describen a continuación:

AÑO	DESCUBRIMIENTO
1907 – Windaus y Vogt	Sintetizada por primera vez.
1910- Barger y Dale	Estimulaban a diversos músculos lisos, además de tener intenso efecto vasopresor.
1927- Best y col.	Aíslan a la histamina del hígado y pulmones
1927- Lewis	Se plantea que después de estímulos nerviosos, incluida la reacción antígeno anticuerpo, se liberaba una sustancia con las propiedades de la histamina a la cual le denominaron sustancia H.
1966- Ash y Schild	Descubren los receptores H <sub>1</sub> que se encuentran principalmente en músculo liso de intestinos, pulmones y vasos sanguíneos.
1972- Black y col.	Descubren los receptores H <sub>2</sub> que se encuentran principalmente en las células parietales gástricas y útero.

Tabla 2.7. Aspectos históricos de la histamina.

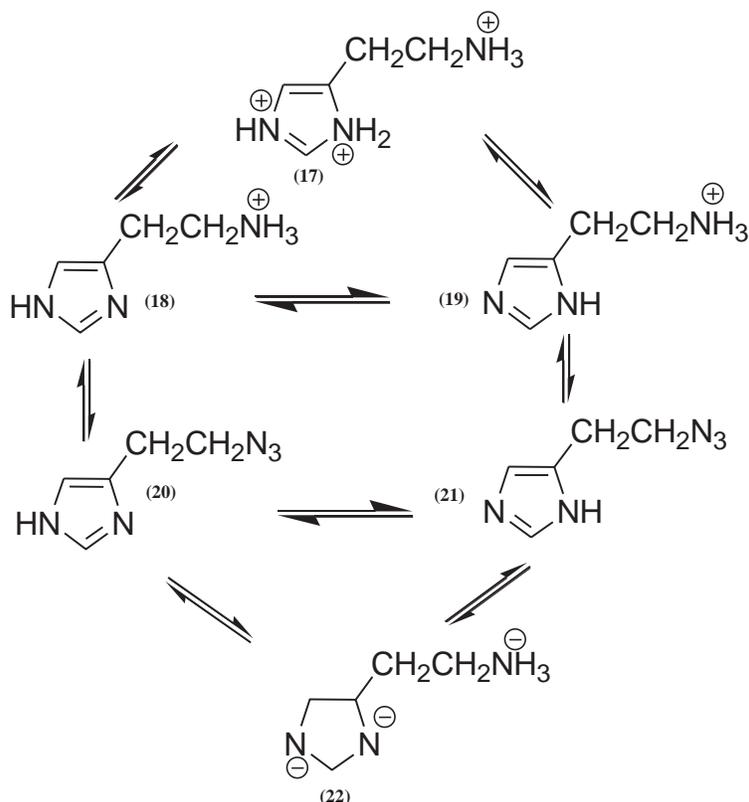
### 2.2.1 Estructura, Conformación y equilibrio prototrópico de la histamina.

La histamina también es químicamente llamada 1H-imidazol-4-etanamina o 2-(imidazol-4-yl) etilamina existe en dos formas tautoméricas, las cuales no han sido separadas, presentándose preferentemente el tautómero N<sub>3</sub>-H; sin embargo en su molécula neutra prevalece el tautómero N<sub>1</sub>-H. Cuando la histamina está completamente protonada se encuentra en forma de dicatión a un pH =7.4, en un 96% como monocatión; y a un pH= 5.8 como dicatión en un 71.5%.<sup>20</sup>



**Figura 2.10** Tautomería del anillo de imidazol.

El monocatión de la histamina forma un enlace de hidrogeno intramolecular entre el grupo amino de la cadena lateral y un nitrógeno del anillo del imidazol.



**Esquema 4.** Equilibrio tautómero e iónico entre las especies de histamina (8).

Es importante conocer el comportamiento ácido-base de la histamina pues está es activa y comercialmente disponible como clorhidrato. Se sabe que el nitrógeno más ácido es el amino primario y que su protonación está relacionada con su actividad. Como se mencionó anteriormente, los calixpirroles son reconocedores de aniones como el cloruro, siendo éste en la histamina un blanco excelente de reconocimiento por estos macrociclos. Así, dependerá de las condiciones del pH que el reconocimiento sea por el contraión del amino o de la histamina.

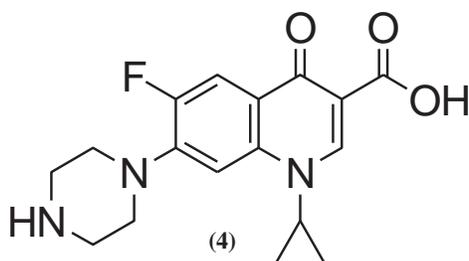
Especie	pH 7.4 (%)	pH 5.4 (%)
Dicación	2.4	71.5
Monocación	96.6	28.5
Neutro	1	$3 \times 10^{-3}$
Anión	$2.5 \times 10^{-7}$	$1 \times 10^{-11}$

**Tabla 2.8** Porcentajes moleculares de las especies de histamina (8).

### 2.3. Ciprofloxacino.

El ciprofloxacino es un agente antimicrobiano completamente sintético, que pertenece al grupo de las quinolonas, siendo estructuras bicíclicas heteroatómicas, constituidas por un núcleo de piridona funcionalizada con un ácido carboxílico y fusionada a un anillo aromático.

La primera quinolona utilizada clínicamente, el ácido nalidíxico se introdujo al mercado en el año 1962, <sup>21</sup> Algunos aspectos históricos de las fluoroquinolonas se resumen en la Tabla 2.4.



**Figura 2.11** Estructura de ciprofloxacino.

AÑO	DESCUBRIMIENTO
<b>1960- Barton</b>	Obtiene 80 compuestos quinolónicos, entre ellos la cloroquina.
<b>1970</b>	Aparecen nuevos compuestos como; el cinoxacino, miloxacino y el ácido nalidíxico conformando así la primera generación de quinolonas.
<b>1980</b>	Introducción de nuevos radicales en la quinolona dan lugar al ciprofloxacino y ofloxacino entre otros.
<b>1990</b>	Grepafloxacino, Levofloxacino y Gatifloxacino.
<b>2000-2008</b>	Gemifloxacino, Garenoxacino y Nadifloxacino.

**Tabla 2.9.** Aspectos históricos de las fluoroquinolonas

Como todos los antibióticos, se ha abusado del uso de fluoroquinolonas tanto en humanos como en animales. En pequeñas cantidades en productos cárnicos, estos compuestos pueden contribuir a la multirresistencia a fármacos, reacciones alérgicas en quien las consume e incluso a intoxicaciones por ingesta prolongada. No hay métodos de detección rápida de antibióticos u otros agentes xenobióticos en alimentos por lo que se tiene que recurrir a estrategias como HPLC, GC u otras, las cuales son caras y de difícil acceso. La tecnología de los alimentos ha llevado a generar algunas alternativas, tales como los envases inteligentes que en su superficie interna cuentan con algún tipo de sensor que permite visualizar, por algún cambio de coloración, la presencia de agentes

químicos no deseados como productos de descomposición. La introducción de sensores que detecten agentes xenobióticos indeseados como antibióticos mediante cambios apreciables es parte de la tecnología que no está muy lejana a nuestras necesidades actuales. En este sentido los calixpirroles puede ayudar considerablemente como en el caso de estudio de esta tesis, reconociendo fluoroquinolonas.

Hay una gran cantidad de estudios de acomplejamiento de calix[n]pirroles con diferentes sales, sin embargo no existe hasta nuestro conocimiento, ningún estudio de acomplejamiento ni tampoco de evaluación de  $K_a$  clorhidrato de ciprofloxacino e histamina.

### **3. HIPÓTESIS**

Los calixpirroles pueden reconocer de manera eficiente al ciprofloxacino y a la histamina, cuando éstos se encuentran en forma de clorhidrato, y su interacción puede ser cuantificada posibilitando el uso de dichos macrociclos para la detección de ciprofloxacino o utilizar la histamina como organocatalizador.

## 4. OBJETIVOS.

### 4.1 Objetivo general.

Realizar estudios de reconocimiento de aniones de los calix[n]pirroles empleando clorhidrato de ciprofloxacino (**4**) y clorhidrato de histamina (**8**).

### 4.2 Objetivos específicos.

**4.2.1** Realizar estudios de reconocimiento de clorhidrato de ciprofloxacino (**4**) con los calix[n]pirroles (**3,24** y **25**) en DMSO Y C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N mediante titulaciones por RMN <sup>1</sup>H.

**4.2.2** Realizar estudios de reconocimiento de diclorhidrato de histamina (**8**) con los calix[n]pirroles (**3, 24** y **25**) en DMSO Y C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N mediante titulaciones por RMN <sup>1</sup>H.

## 5. PARTE EXPERIMENTAL

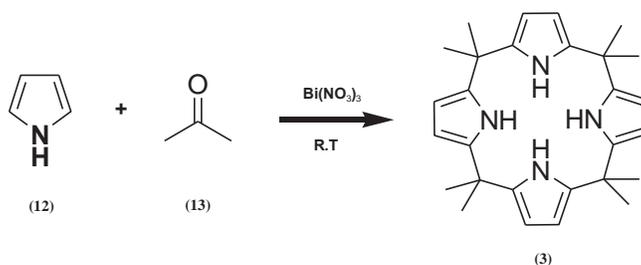
### 5.1. Métodos generales.

El material empleado en el laboratorio durante el desarrollo experimental, particularmente el referente a espectroscopia, fue lavado antes de ser utilizado, se limpió con acetona y fue secado en la estufa por al menos 24 horas.

Los reactivos utilizados para la síntesis son de la marca Sigma-Aldrich. El pirrol empleado para la síntesis de los calixpirroles no fue destilado antes de su uso. La ciclohexanona y la acetona tampoco fueron destiladas. El éter etílico empleado en la obtención del pentaespirociclohexil calix[5]pirrol es grado reactivo, así como la acetona utilizada en los lavados del mismo producto.

Los espectros de RMN de  $^1\text{H}$  se obtuvieron con un equipo Varian Mercury Plus de 200 MHz y/o 400 MHz empleando  $\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$  y DMSO como disolventes y TMS como referencia interna. Los desplazamientos químicos  $\delta$  están reportados en partes por millón.

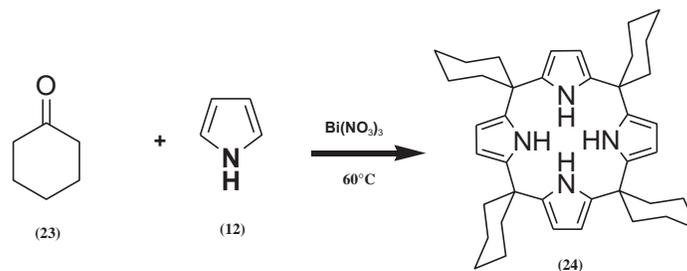
## 5.2 Síntesis del meso-octametilcalix[4]pirrol (3)



En un matraz balón de 10 ml se colocaron 100 mg de pirrol en 3 ml de la cetona correspondiente, la mezcla se dejó en agitación y se agregaron 75 mg de  $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ .

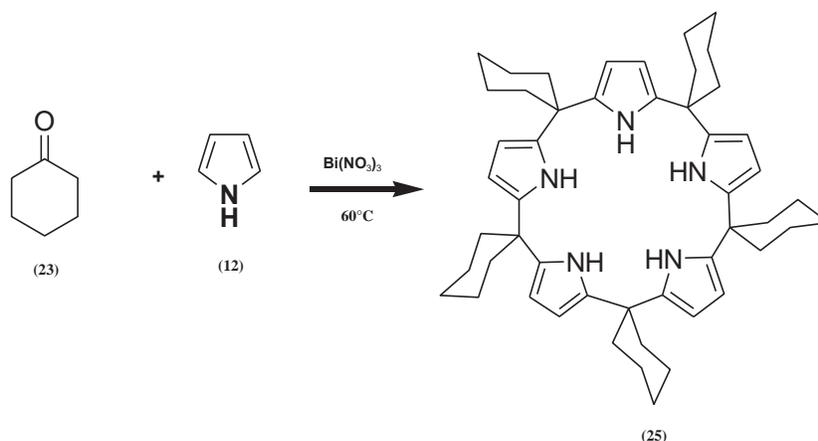
Al finalizar el tiempo de reacción (0.5 h. para el compuesto **3**) el catalizador fue eliminado por filtración, se lavó con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  y el filtrado se evaporó a temperatura ambiente. Los componentes del crudo se prepararon por cromatografía en columna utilizando sílica gel y Hexano:AcOEt como eluyente (95:5).<sup>12</sup> La caracterización de los productos fue por RMN de  $^1\text{H}$ . Para el compuesto **3**, RMN de  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ )  $\delta$ : 8.81 (s, 4H), 5.90-5.91 (d,  $J = 2.6$  Hz, 8H), 1.65 (s, 24H)

### 5.3 Síntesis del tetraespirociclohexilcalix[4]pirrol (**24**).



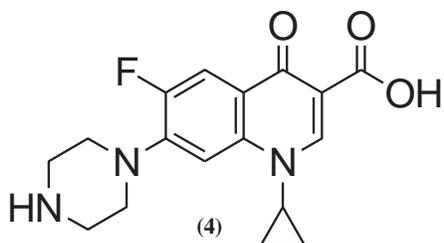
En un matraz balón de 10 ml se colocaron 100 mg de pirrol en 3 ml de la cetona correspondiente, la mezcla se puso en agitación y se agregaron 75 mg de  $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ .

Al finalizar el tiempo de reacción (0.5 h. para el compuesto **24**) el catalizador se elimina por filtración, se lavó con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  y el filtrado se evaporó a temperatura ambiente. Los componentes del crudo se prepararon por cromatografía en columna utilizando sílica gel y Hexano:AcOEt como eluyente (95:5).<sup>12</sup> La caracterización fue  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ )  $\delta$  8.74 (s, 1H), 8.58 (s, 1H), 7.58 (s, 1H), 7.22 (s, 1H), 6.01 (s, 5H), 5.70 (s, 1H), 5.16 (s, 5H), 3.63 (s, 1H), 2.18 (s, 8H), 2.01 (s, 4H), 1.61 (s, 12H), 1.38 (s, 7H).

5.4 Síntesis del pentaespirociclohexilcalix[5]pirrol (**25**)

En la obtención de pentaespirociclohexilcalix[5]pirrol (**25**) se sometieron a reaccionar ciclohexanona, pirrol y  $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$  pulverizado en agitación a T.A, en el momento en que se aprecia el comienzo de formación de subproductos se neutralizo con  $\text{H}_2\text{O}$  destilada, y se lavó con agua destilada, el ultimo lavado fue cristalino e incoloro. La fase orgánica se secó con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhídrido., luego se filtró y se evaporo con vacío. Una vez seco, el producto se lavó con éter etílico frio, obteniendo un precipitado café pálido, se filtró y se dejó secar; luego se lavó con acetona y por último se evaporo el exceso de disolvente con vacío obteniendo a si el calix[5]pirrol.<sup>18</sup> RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 1.429 (s, 30 H), 1.862 (s, 20 H), 5.80 (s, 10 H), 7.18 (s, 5 H).

### 5.5 Obtención del ciprofloxacino



El Ciprofloxacino (**4**) se obtuvo a partir de un producto comercial para lo cual se trituró una tableta de clorhidrato de Ciprofloxacino monohidratado equivalente a 500mg, hasta obtener un polvo fino y se colocó en un vaso de precipitado con 10 ml de agua destilada. Se sometió a agitación por 30 min con la finalidad de disolver la sal y se dejó en reposo hasta precipitación del excipiente. La mezcla se filtró y se obtuvo una solución clara a la cual se agregó gota a gota una solución de  $\text{CH}_3\text{ONa}/\text{CH}_3\text{OH}$  hasta que se observó un precipitado color blanco.<sup>22</sup> El precipitado se filtró y se dejó secar a temperatura ambiente, obteniendo así el ciprofloxacino. La caracterización fue por RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO)  $\delta$  8.64 (s, 6H), 7.87 (d,  $J = 13.6$  Hz, 6H), 7.52 (d,  $J = 7.5$  Hz, 6H), 3.66 (d,  $J = 130.6$  Hz, 9H), 3.47 – 3.16 (m, 215H), 3.16 – 3.09 (m, 3H), 2.89 (s, 25H), 2.49 (dt,  $J = 3.7, 1.8$  Hz, 21H), 1.27 (t,  $J = 17.2$  Hz, 14H), 1.17 (s, 11H).

## 5.6 Titulación por RMN $^1\text{H}$ del meso-octametilcalix[4]pirrol (**3**) con diclorhidrato de histamina (**8**).

Se preparó una solución 0.01 M del meso-octametilcalix[4]pirrol (**3**) en  $\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$ . Después, conforme se obtenían los espectros de RMN se adicionaron los diferentes equivalentes molares de 0, 0.1, 0.2, 0.45, 0.453, 0.5, 0.51, 0.57 del clorhidrato de histamina (**8**) en la solución. <sup>(11,12,22)</sup>

## 5.7 Titulación por RMN $^1\text{H}$ del tetraespirociclohexilcalix[4]pirrol (**24**) con clorhidrato de ciprofloxacino (**4**) y diclorhidrato de histamina (**8**).

### 5.7.1 Titulación de tetraespirociclohexilcalix[4]pirrol (**24**) con clorhidrato de ciprofloxacino (**4**) en su forma farmacéutica.

Se prepararon soluciones 0.01 M de tetraespirociclohexilcalix[4]pirrol en  $\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$  y en DMSO. Posteriormente se disolvieron los diferentes equivalentes del clorhidrato de ciprofloxacino (**4**) en las soluciones **24**, conservando siempre una solución del clorhidrato de ciprofloxacino y tetraespirociclohexilcalix[4]pirrol como referencia.

En la **Tabla 5.1** resumen los distintos equivalentes empleados en los disolventes.

**Tabla 5.1.** Equivalentes de clorhidrato de ciprofloxacino (**4**) en su forma farmacéutica adicionados a la solución del tetraespirociclohexilcalix[4]pirrol (**24**) en DMSO y  $\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$ .

Disolvente	Equivalentes de clorhidrato de ciprofloxacino ( <b>4</b> ) en su forma farmacéutica				
DMSO.	0	1.777	2.25	2.666	2.823
$\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$ .	0	0.085	0.163	0.351	0.44

### 5.7.2 Titulación de tetraespirociclohexilcalix[4]pirrol (**24**) con Ciprofloxacino (**4**) “libre”.

Se prepararon soluciones 0.01 M de tetraespirociclohexilcalix[4]pirrol (**24**) en  $C_5H_5N$ . Se disolvieron los diferentes equivalentes del ciprofloxacino (**4**) “libre” en la solución de **24**, conservando siempre una solución del ciprofloxacino libre y tetraespirociclohexilcalix[4]pirrol como referencia.

En la **Tabla 5.2** se resumen los distintos equivalentes molares empleados con los disolventes.

**Tabla 5.2.** Equivalentes de clorhidrato de ciprofloxacino (**4**) “libre” adicionados a la solución del tetraespirociclohexilcalix[4]pirrol (**24**) en  $C_5H_5N$ .

Disolvente	Equivalentes de ciprofloxacino ( <b>4</b> ) “libre”				
$C_5H_5N$ .	0	0.0271	0.1018	0.3831	1.2995

### 5.7.3 Titulación de tetraespirociclohexilcalix[4]pirrol (**24**) con diclorhidrato de histamina (**8**).

Se prepararon soluciones 0.01 M de tetraespirociclohexilcalix[4]pirrol (**24**) en  $C_5H_5N$  y en DMSO. Se disolvieron los diferentes equivalentes del clorhidrato de histamina (**8**) en la solución de **24**, conservando siempre una solución del diclorhidrato de histamina y tetraespirociclohexilcalix[4]pirrol como referencia.

En la **Tabla 5.3** se resumen los distintos equivalentes empleados con los respectivos disolventes.

**Tabla 5.3.** Equivalentes de diclorhidrato de histamina adicionados a la solución del tetraespirociclocalix[4]pirrol (**24**) en DMSO y C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N.

Disolvente	Equivalentes de clorhidrato de histamina		
DMSO.	0	0.136	2.98
C <sub>5</sub> H <sub>5</sub> N.	0	0.005	0.014

### 5.8 Titulación por RMN <sup>1</sup>H del pentaespirociclohexilcalix[5]pirrol (**25**) con clorhidrato de ciprofloxacino (**4**) y diclorhidrato de histamina (**8**).

#### 5.8.1 Titulación de pentaespirociclohexilcalix[5]pirrol (**25**) con clorhidrato de ciprofloxacino (**4**) en su forma farmacéutica.

Se prepararon soluciones 0.01 M de pentaespirociclohexilcalix[5]pirrol (**25**) en C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N y en DMSO. Se disolvieron los diferentes equivalentes del clorhidrato de ciprofloxacino (**4**) en la solución **25**, conservando siempre una solución del clorhidrato de ciprofloxacino y pentaespirociclohexilcalix[5]pirrol (**25**) como referencia.

La **Tabla 5.4** resume los equivalentes empleados con los disolventes.

**Tabla 5.4.** Equivalentes de diclorhidrato de ciprofloxacino (**4**) adicionados a la solución del pentaespirociclocalix[5]pirrol (**25**) en DMSO y C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N.

Disolvente	Equivalentes de clorhidrato de ciprofloxacino ( <b>4</b> ) en su forma farmacéutica			
DMSO.	0	0.054	0.727	1.809
C <sub>5</sub> H <sub>5</sub> N.	0	0.259	0.352	0.331

### 5.8.2 Titulación de pentaespirociclohexilcalix[5]pirrol (**25**) con ciprofloxacino (**4**) “libre”.

Se prepararon soluciones 0.01 M de pentaespirociclohexilcalix[5]pirrol (**25**) en C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N. Posteriormente se disolvieron los diferentes equivalentes del clorhidrato de ciprofloxacino (**4**) en la solución **25**, conservando siempre una solución del clorhidrato de ciprofloxacino y pentaespirociclohexilcalix[5]pirrol (**25**) como referencia.

La **Tabla 5.5** resume los distintos equivalentes empleados con los distintos disolventes.

**Tabla 5.5.** Equivalentes de ciprofloxacino (**4**) “libre” adicionados a la solución del pentaespirociclocalix[5]pirrol (**25**) en C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N.

Disolvente	Equivalentes de ciprofloxacino ( <b>4</b> ) “libre”			
C <sub>5</sub> H <sub>5</sub> N.	0	0.43	1.217	4.15

### 5.8.3 Titulación de p entaespírociclohexilcalix[5]pirrol (**25**) con diclorhidrato de histamina (**8**).

Se prepararon soluciones 0.01 M del pentaespírociclohexilcalix[5]pirrol (**25**) en  $C_5H_5N$  y en DMSO. Posteriormente se disolvieron los diferentes equivalentes del clorhidrato de histamina (**8**) en la solución de **25**, conservando siempre una solución del diclorhidrato de histamina y pentaespírociclohexilcalix[5]pirrol (**25**) como referencia.

La **Tabla 5.7** resume los equivalentes empleados con los diferentes disolventes.

**Tabla 5.6.** Equivalentes de diclorhidrato de histamina (**8**) adicionados a la solución del pentaespírociclohexilcalix[4]pirrol (**25**) en DMSO y  $C_5H_5N$ .

Disolvente	Equivalentes de diclorhidrato de histamina ( <b>8</b> ).			
	DMSO.	0	0.06	1.2666
$C_5H_5N$ .	0	0.006	0.044	0.114

## 6. DISCUSIÓN Y RESULTADOS.

### 6.1 Acomplejamiento de los calix[n]pirroles **3**, **24** y **25** en clorhidrato de ciprofloxacino (**4**) e histamina (**8**).

Como se mencionó en los antecedentes, la principal aplicación de los calixpirroles está relacionada a su capacidad de reconocimiento aniónico y por la misma razón sigue habiendo interés de encontrar nuevas estructuras análogas que sean selectivas hacia aniones de importancia. Por esta razón ha despertado el interés de conocer si los calix[n]pirroles extendidos ( $n > 4$ ) mantienen la capacidad de reconocer iones de manera más específica. Así mismo, no se ha explorado el reconocimiento de los calixpirroles ya existentes con aniones unidos a estructuras mucho más grandes y que tengan actividad biológica relevante, lo cual sería importante en la terapéutica. Por esta razón se efectuaron ensayos para determinar el reconocimiento de los compuestos **3**, **24** y **25** con los clorhidratos de ciprofloxacino e histamina, ya que hasta el momento no existen reportes del estudio de complejamiento con estos compuestos. Para ello se planteó estudio del complejamiento en diferentes disolventes como  $C_5H_5N$  y DMSO para efectos de comparación. Los estudios de complejamiento se llevaron a cabo por RMN de  $^1H$  de acuerdo a los métodos estandarizados descritos en la bibliografía<sup>12,13,23</sup> variando los equivalentes del anión adicionados a una solución 0.01 M de calixpirrol.

Primeramente se realizaron pruebas de solubilidad en solventes orgánicos utilizados en el laboratorio, para poder determinar las condiciones favorables para el acomplejamiento debido a que los ensayos por RMN son en solución y no siempre es soluble el complejo o el sustrato mismo. En las **Tablas 6.1, 6.2, 6.3 y 6.4** se muestra la solubilidad de cada uno de los aniones y calixpirroles.

**Tabla 6.1.** Pruebas de solubilidad de clorhidrato de ciprofloxacino (**4**) en forma farmacéutica T.A.

Disolvente	Solubilidad R.T	Disolvente	Solubilidad R.T
Acetato de etilo	Insoluble	DMSO	Soluble
Acetona	Insoluble	Etanol	Insoluble
Acetonitrilo	Insoluble	Éter	Insoluble
CCl <sub>4</sub>	Insoluble	H <sub>2</sub> O	Insoluble
Cloroformo	Insoluble	Metanol	Insoluble
Diclorometano	Insoluble	THF	Insoluble
DMF	Parcialmente soluble	Tolueno	Parcialmente soluble

Tabla 6.2. Pruebas de solubilidad diclorhidrato de histamina (8) T.A.

<b>Disolvente</b>	<b>Solubilidad R.T</b>	<b>Disolvente</b>	<b>Solubilidad R.T</b>
<b>Cloroformo</b>	Parcialmente soluble	<b>Acetona</b>	Soluble
<b>Diclorometano</b>	Insoluble	<b>Acetonitrilo</b>	Insoluble
<b>Alcohol etílico</b>	Soluble	<b>Metanol</b>	Soluble
<b>Ciclohexanona</b>	Insoluble	<b>Tetrahidrifur ano</b>	Insoluble
<b>DMSO</b>	Parcialmente soluble	<b>Etilenglicol dietil éter</b>	Insoluble
<b>H<sub>2</sub>O</b>	Soluble		

Tabla 6.3. Pruebas de solubilidad del Tetraespirociclohexilcalix[4]pirrol (**24**) T.A

Disolvente	Solubilidad R.T	Disolvente	Solubilidad R.T
<b>Acetato de etilo</b>	Soluble	<b>DMSO</b>	Soluble
<b>Acetona</b>	Soluble	<b>Etanol</b>	Parcialmente soluble
<b>Acetonitrilo</b>	Insoluble	<b>Éter</b>	Soluble
<b>CCl<sub>4</sub></b>	Soluble	<b>H<sub>2</sub>O</b>	Insoluble
<b>Cloroformo</b>	Soluble	<b>Metanol</b>	Insoluble
<b>Diclorometano</b>	Soluble	<b>THF</b>	Soluble
<b>DMF</b>	Soluble	<b>Tolueno</b>	Soluble

Tabla 6.4. Pruebas de solubilidad de Pentaespirociclohexilcalix[5]pirrol (**25**) T.A.

Disolvente	Solubilidad R.T	Disolvente	Solubilidad R.T
<b>Cloroformo</b>	Soluble	<b>Acetona</b>	Parcialmente soluble
<b>Diclorometano</b>	Soluble	<b>Acetonitrilo</b>	Insoluble
<b>Alcohol etílico</b>	Insoluble	<b>Metanol</b>	Soluble
<b>Ciclohexanona</b>	Soluble	<b>Tetrahidrifurano</b>	Soluble
<b>DMSO</b>	Soluble	<b>Etilenglicol dietil éter</b>	Soluble
<b>H<sub>2</sub>O</b>	Insoluble		

## 6.2 Titulación por RMN $^1\text{H}$ del meso-octametilcalix[4]pirrol (**3**) con diclorhidrato de histamina (**8**) en $\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$ .

Las pruebas de solubilidad tienen doble fin. El más importante es determinar que disolvente se utilizará para el estudio y el segundo es para conocer disolventes en los que se podrían hacer pruebas colorimétricas en el supuesto de que exista interacción entre el calixpirrol y el sustrato. Así, para las pruebas de titulación algunos disolventes como el acetato de etilo queda descartado debido a que conseguirlos deuterados es costoso y en ocasiones inaccesible. Con la experiencia de nuestro grupo de trabajo, consideramos utilizar la  $\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$  y el DMSO por ser, además de accesibles, disolventes ya explorados para este fin y poder contar con un punto de comparación de datos una vez realizada la titulación. La piridina particularmente, fue descrita recientemente por nuestro laboratorio, como buen disolvente en el reconocimiento calixpirrol-anión dando lugar a constantes de reconocimiento altas (mayores de 100 000). Este dato resulta atractivo para ser estudiado a profundidad y en sustratos de interés biológico como el que aquí se describe.<sup>20</sup>

En la Figura 6.1 se muestra el apilamiento de espectros de RMN  $^1\text{H}$  a diferentes concentraciones de diclorhidrato de histamina (**8**) y de calixpirrol constante. La señal de referencia que se desplaza con el incremento de concentración de anión es la del NH del calixpirrol, misma que alcanza un máximo cuando la concentración de anión es 0.5 equivalentes molares; a partir del cual aparece una nueva señal en aproximadamente 9.3 ppm.

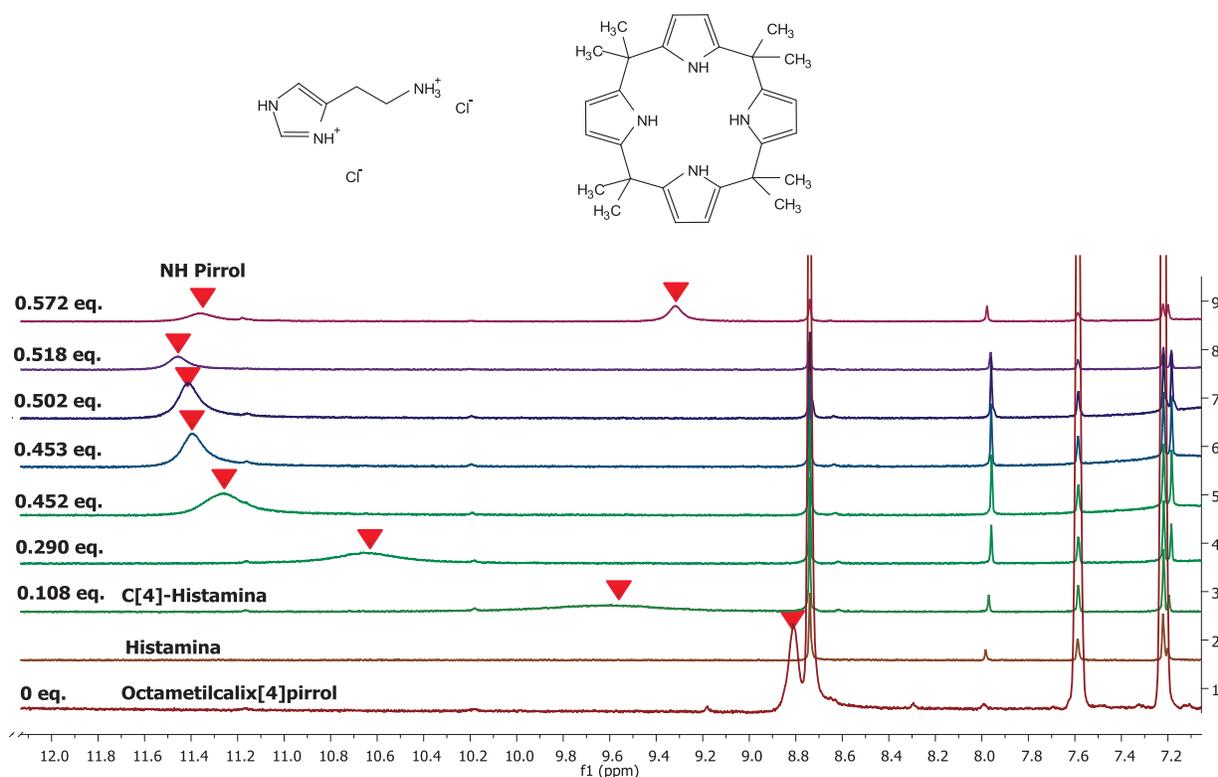


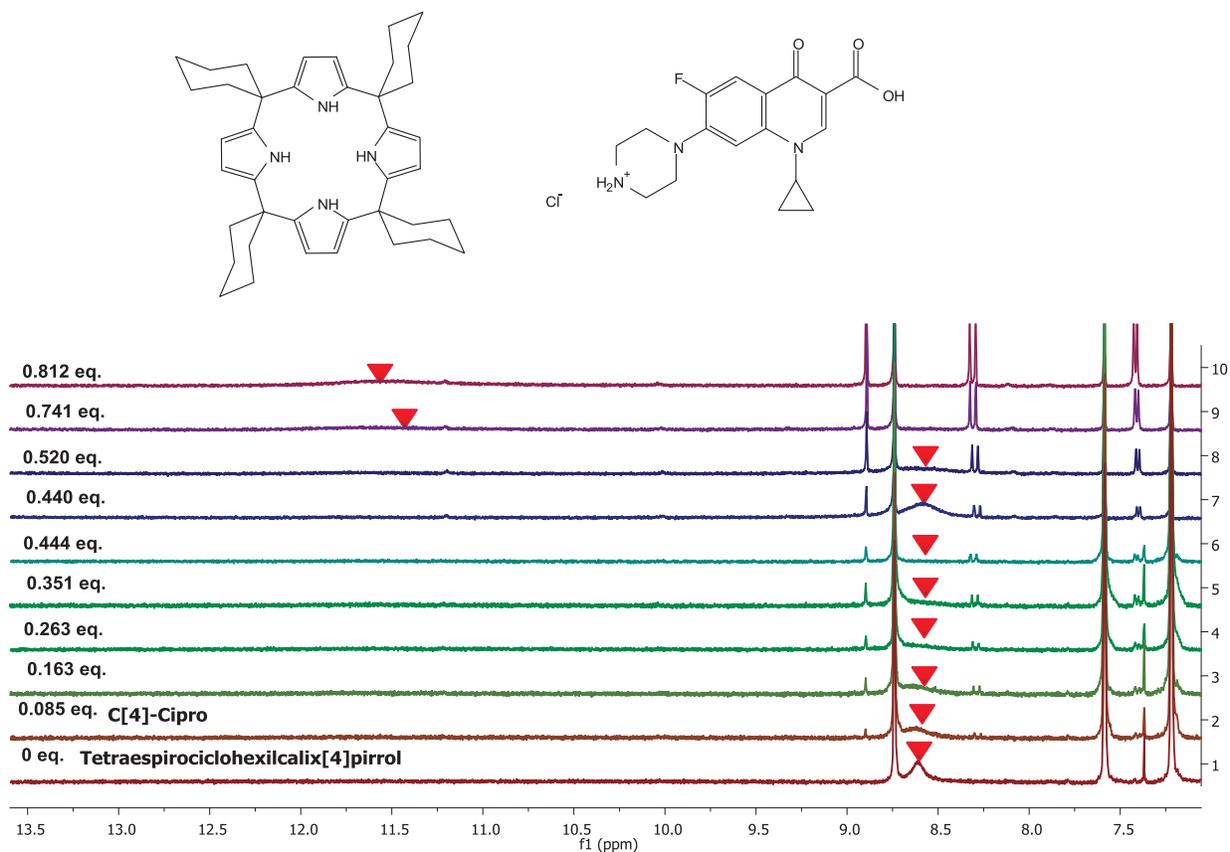
Figura 6.1. Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  para la titulación del meso-octametilcalix[4]pirrol (**3**) con diclorhidrato de histamina (**8**) en  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ .

### 6.3 Titulación de tetraespirociclohexilcalix[4]pirrol (**24**) con clorhidrato de ciprofloxacino (**4**) y diclorhidrato de histamina (**8**).

#### 6.3.1 Titulación de tetraespirociclohexilcalix[4]pirrol (**24**) con clorhidrato de ciprofloxacino (**4**) en su forma farmacéutica en $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ .

En la Figura 6.2 se muestra el apilamiento de espectros de RMN  $^1\text{H}$  a diferentes concentraciones de clorhidrato de ciprofloxacino (**4**) y de calixpirrol constante. La señal de referencia que se desplaza con el incremento de concentración de anión es la del NH del calixpirrol, misma que desaparece al alcanzar 0.44 equivalentes, por tanto la solubilidad de este compuesto no es confiable para este estudio sin embargo se

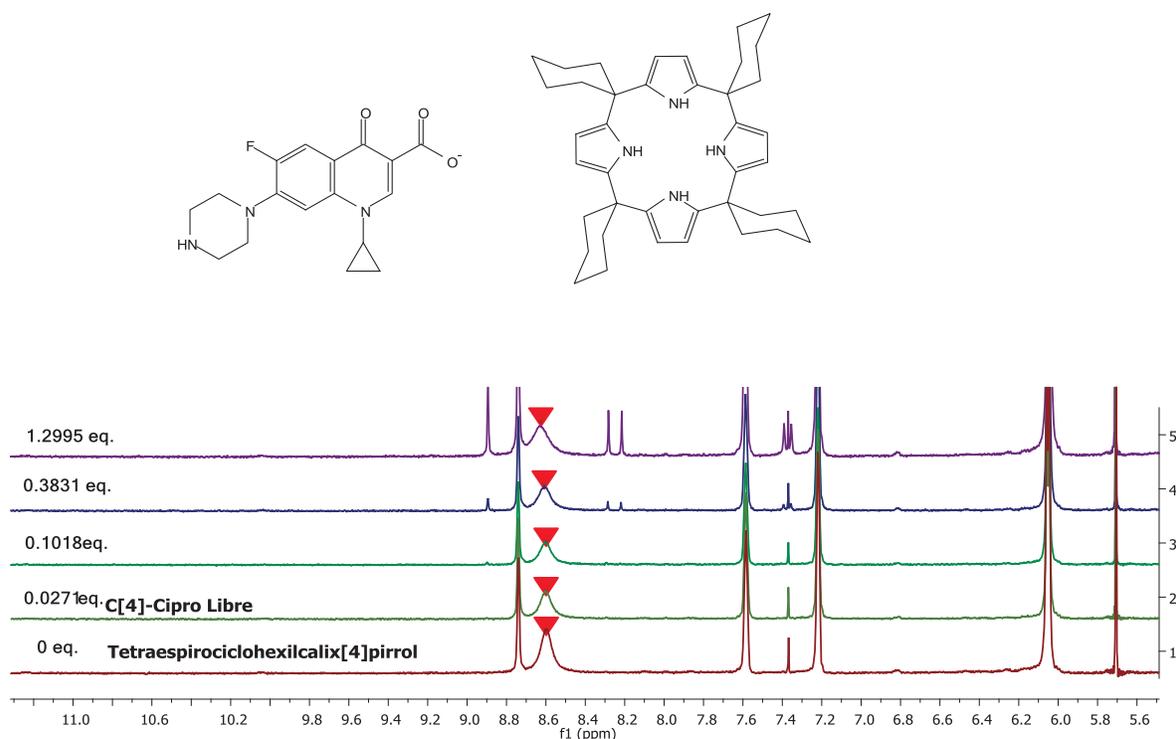
demuestra que existe interacción entre el clorhidrato de ciprofloxacino y el tetraespirociclohexilcalix[4]pirrol, sin embargo no es posible corroborarla mediante estos experimentos.



**Figura 6.2.** Espectros de RMN de <sup>1</sup>H para la titulación del tetraespirociclohexilcalix[4]pirrol (**24**) con clorhidrato de ciprofloxacino (**4**) en su forma farmacéutica en C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N.

### 6.3.2 Titulación de tetraespirociclohexilcalix[4]pirrol (**24**) con ciprofloxacino “libre” en C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N.

En lo que respecta a la titulación de ciprofloxacino (**4**) “libre” en C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N, esta solo se llevó a cabo en 4 ensayos debido a que no se observó desplazamiento alguno de las señales de los protones del NH pirrólico aún cuando se adicionaron a la solución más de 2 equivalentes molares. Esto puede deberse a que la interacción que debe ser con el carboxilato el tetraespirociclohexilcalix[4]pirrol (**24**) no es capaz de realizar el reconocimiento por medio de los NH pirrólicos seguramente por factores estéricos.



**Figura 6.3.** Espectros de RMN <sup>1</sup>H para la titulación del tetraespirociclohexilcalix[4]pirrol (**24**) con ciprofloxacino(**4**) “libre” en C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N.

### 6.3.3 Titulación de tetraespirociclohexilcalix[4]pirrol (**24**) con diclorhidrato de histamina (**8**) en DMSO.

En la Figura 6.5 se muestra el apilamiento de espectros de RMN  $^1\text{H}$  a diferentes concentraciones de clorhidrato de histamina (**8**) y de calixpirrol constante. La señal de referencia que se desplaza con el incremento de concentración de anión es la del NH del calixpirrol. El reconocimiento por el anión es apreciable, desde la adición de 0.14 equivalentes molares de diclorhidrato de histamina, no solamente por el desplazamiento de la señal del NH sino además por el cambio en el patrón de señales de los ciclohexilos cerca de 2 ppm y que son indicativos de una conformación anclada del tetraespirociclohexilcalix[4]pirrol (**24**).<sup>8</sup> Conforme se incrementa la concentración del anión las señales correspondientes a los protones del imidazol<sup>10</sup> también se ven desplazados hacia campos más bajos lo cual confirma que no solamente el calixpirrol reconoce al diclorhidrato de histamina si no que el reconocimiento es de dos moléculas de calixpirrol por una de histamina seguramente reconociendo cada macrociclo a un clorhidrato de los dos presentes en la histamina.

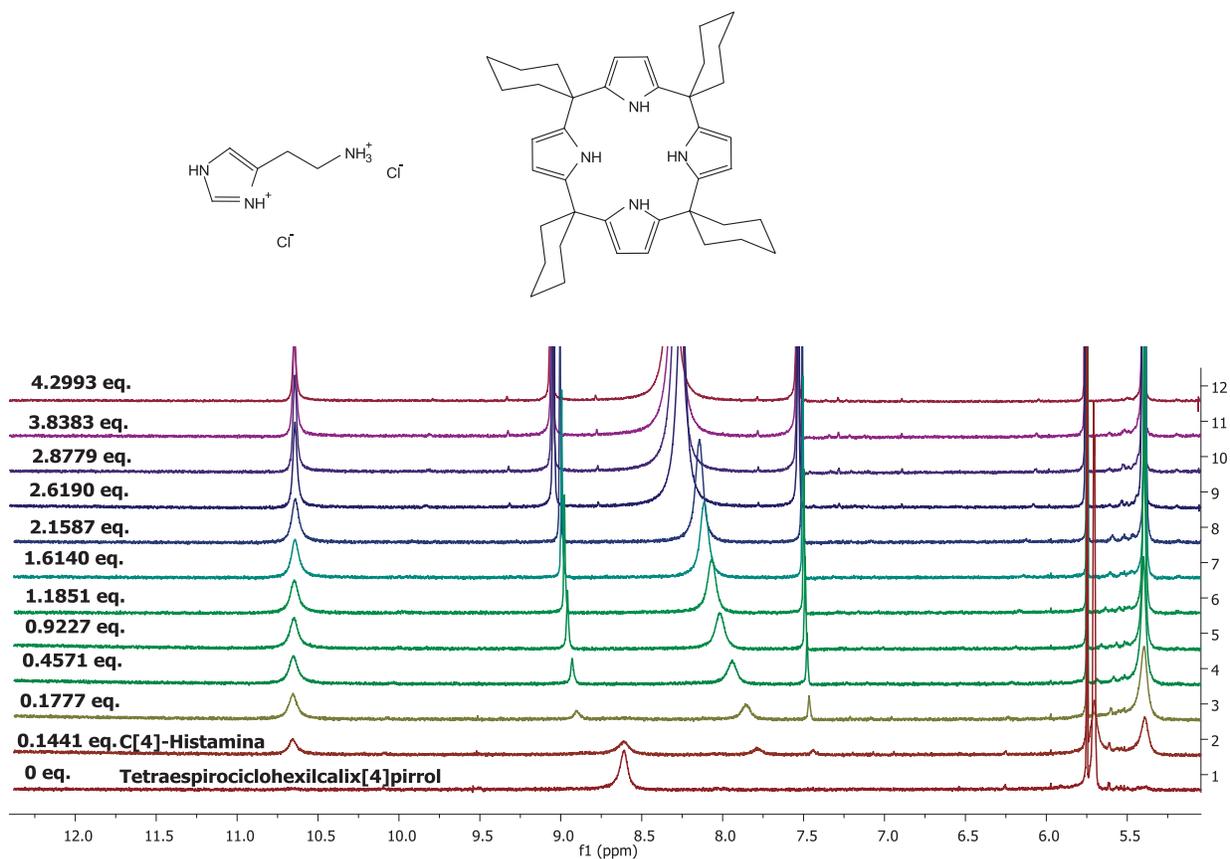
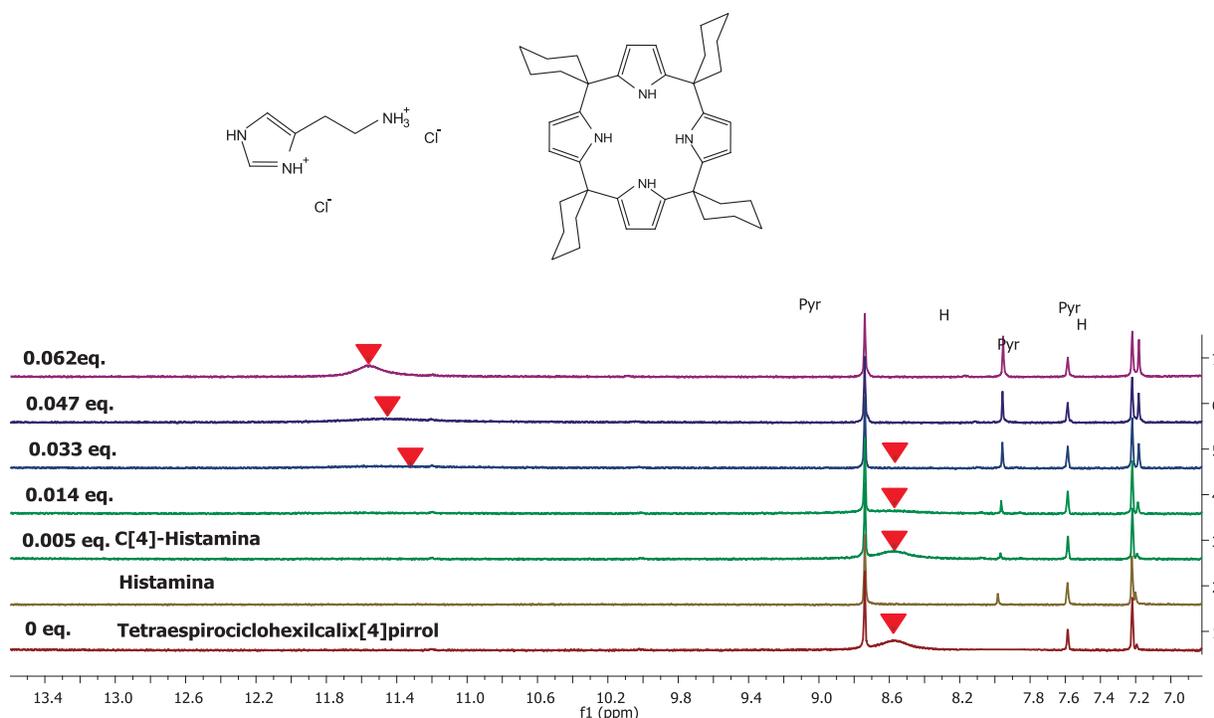


Figura 6.4. Espectros de RMN  $^1\text{H}$  para la titulación del tetraespirociclohexilcalix[4]pirrol (**24**) con diclorhidrato de histamina (**8**) en DMSO.

### 6.3.4 Titulación de tetraespirociclohexilcalix[4]pirrol (**24**) con diclorhidrato de histamina (**8**) en $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ .

En lo que respecta a la titulación del tetraespirociclohexilcalix[4]pirrol (**24**) frente al diclorhidrato de histamina (**8**) en piridina este se realizó únicamente en 5 ensayos. Al incrementar la cantidad de diclorhidrato en la titulación, las señales del NH pirrólico a concentraciones muy pequeñas no se observa desplazamiento alguno de ella) al llegar a la cantidad de 0.033 equivalentes del anión la señales se desplazaban a campo alto, lo que indica que la interacción existente entre el calix y el anión es lenta aunque no es

posible detectar ambas señales en las concentraciones exploradas y se tendría que explorar un intervalo entre 0.005 y 0.014 equivalentes molares para determinar la constante de equilibrio.



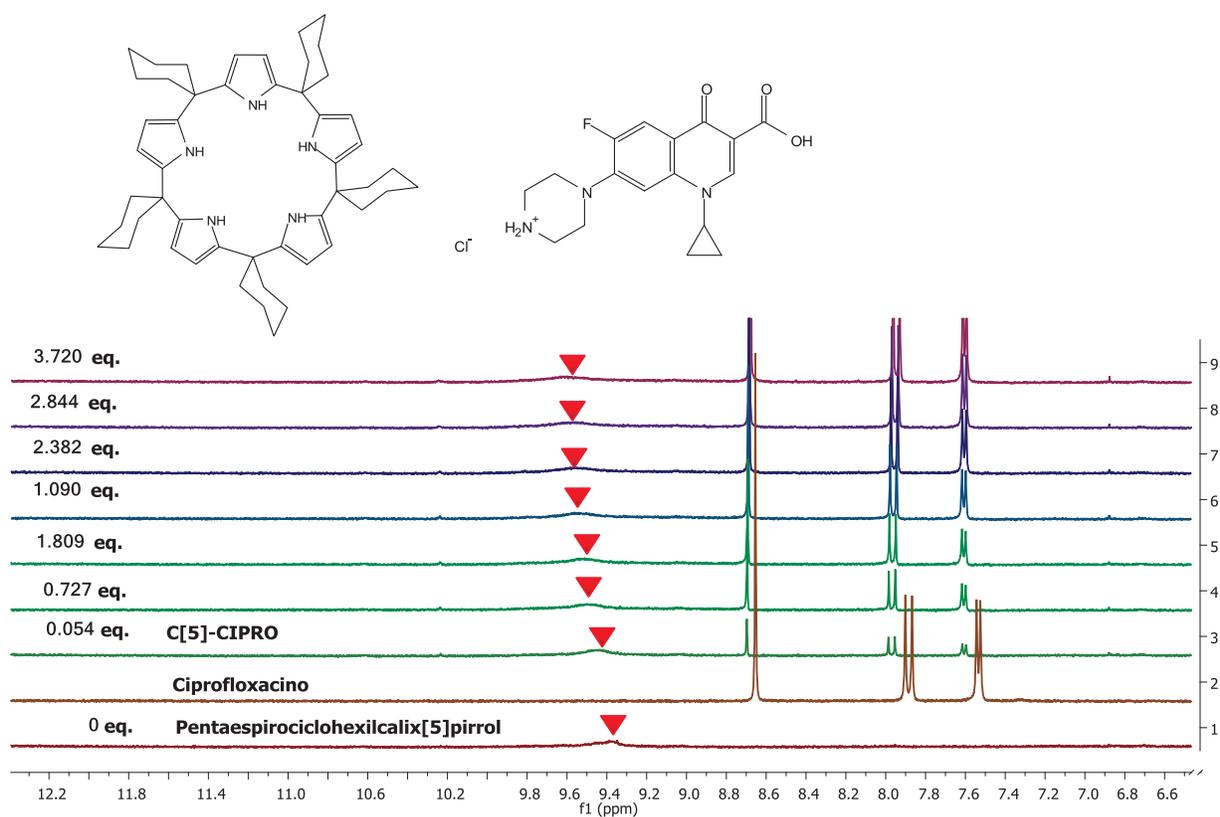
**Figura 6.5.** Espectros de RMN  $^1\text{H}$  para la titulación del tetraespirociclohexilcalix[4]pirrol (24) con diclorhidrato de histamina (8) en  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ .

#### 6.4 Titulación por RMN $^1\text{H}$ del pentaespirociclohexilcalix[5]pirrol (5) con clorhidrato de ciprofloxacino (4) y diclorhidrato de histamina(8).

##### 6.4.1 Titulación de pentaespirociclohexilcalix[5]pirrol (25) con clorhidrato de ciprofloxacino (4) en su forma farmacéutica en DMSO.

Para las señal de los NH pirrólicos del calix el desplazamiento que se presenta es mínimo pese a que se adicionaron 3.720 equivalentes del anión, los protones del

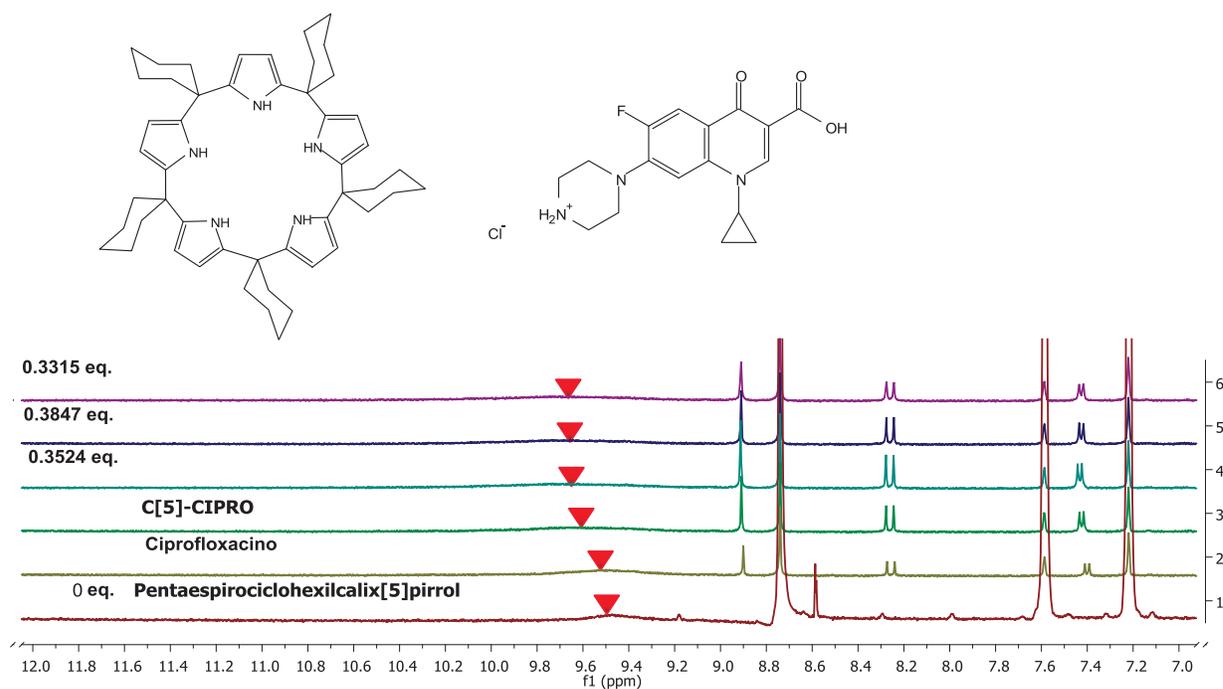
ciclohexil no se presentan ningún cambio en su conformación y el desplazamiento de los NH pirrólicos no es tan favorecido como se esperaba pese a que existe una interacción, no se puede fiar para poder determinar una constante en base a RMN  $^1\text{H}$  debido a que al adicionar el anión este precipita, por esta razón no es posible determinar una constante en base a estos datos experimentales.



**Figura 6.6.** Espectros de RMN  $^1\text{H}$  para la titulación del pentaespirociclohexilcalix[5]pirrol (**25**) con clorhidrato de ciprofloxacino (**4**) en DMSO.

### 6.4.2 Titulación de pentaespirociclohexilcalix[5]pirrol (**25**) con clorhidrato de ciprofloxacino (**4**) en su forma farmacéutica en C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N.

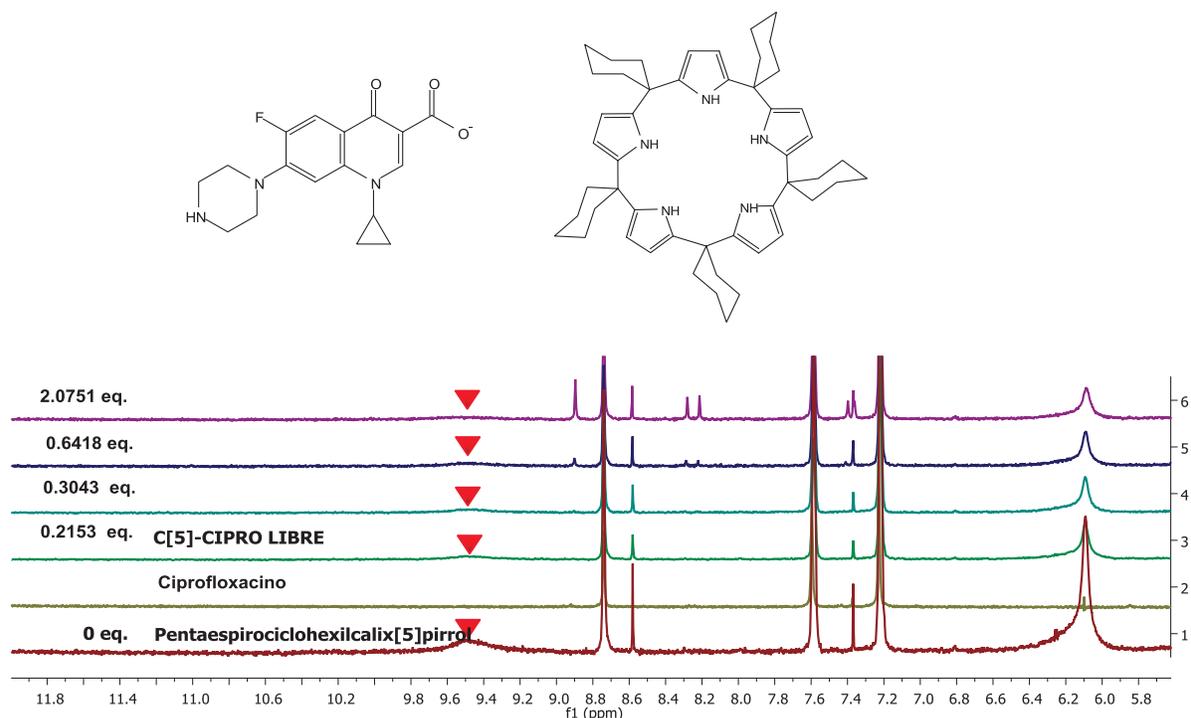
En la **Figura 6.8** que respecta a la titulación de ciprofloxacino (**4**) “libre” en C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N, esta solo se llevó a cabo en 4 ensayos debido a que no se observó desplazamiento favorable de la señal de los protones del NH pirrólico. Aún cuando pese a que se adicionaron a la solución más de 0.3315 equivalentes molares del anión, desafortunadamente después de esta cantidad precipita por lo tanto no es confiable para este estudio, sin embargo se demuestra que la interacción existe entre el clorhidrato de ciprofloxacino y el pentaespirociclohexilcalix[5]pirrol (**25**) pero no es posible corroborarla mediante estos experimentos.



**Figura 6.7.** Espectros de RMN <sup>1</sup>H para la titulación del pentaespirociclohexilcalix[5]pirrol (**25**) con clorhidrato de ciprofloxacino (**4**) en su forma farmacéutica en C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N.

### 6.4.3 Titulación de pentaespirociclohexilcalix[5]pirrol (**25**) con ciprofloxacino (**4**)“libre” en C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N.

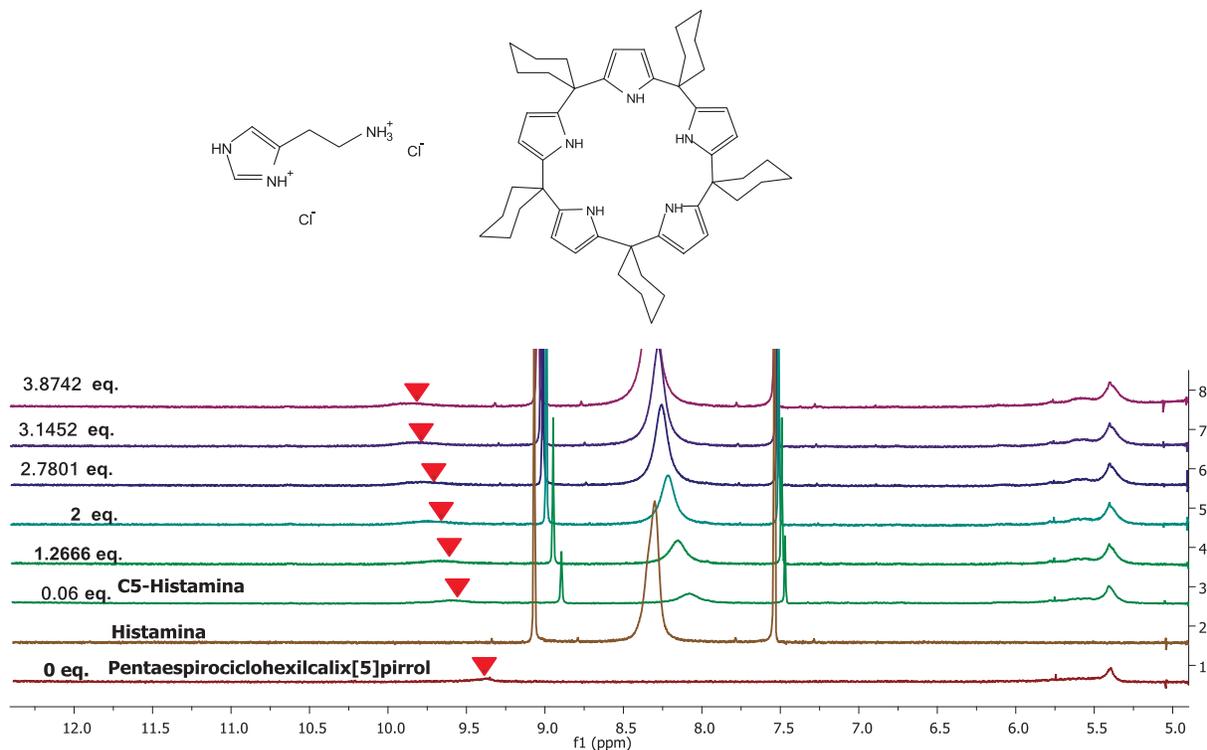
En lo que respecta a la titulación de ciprofloxacino (**4**) “libre”, es decir como carboxilato libre de clorhidrato, en C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N, esta solo se llevó a cabo en 4 ensayos (**Figura 6.9.**) debido que no se observó desplazamiento alguno de las señales de los protones del NH pirrólico aun cuando se adicionaron a la solución más de 2 equivalentes molares esto puede ser debido a que, al igual que en los otros ensayos del mismo compuesto, la interacción que debe ser con el carboxilato el pentaespirociclohexilcalix[5]pirrol (**25**) no es capaz de realizar el reconocimiento por medio de los NH pirrólicos seguramente por factores estéricos.



**Figura 6.8.** Espectros de RMN <sup>1</sup>H para la titulación del pentaespirociclohexilcalix[5]pirrol (**25**) con clorhidrato de ciprofloxacino (**4**) en su forma “libre” en C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N.

### 6.4.4 Titulación de pentaespirociclohexilcalix[5]pirrol (**25**) con diclorhidrato de histamina (**8**) en DMSO.

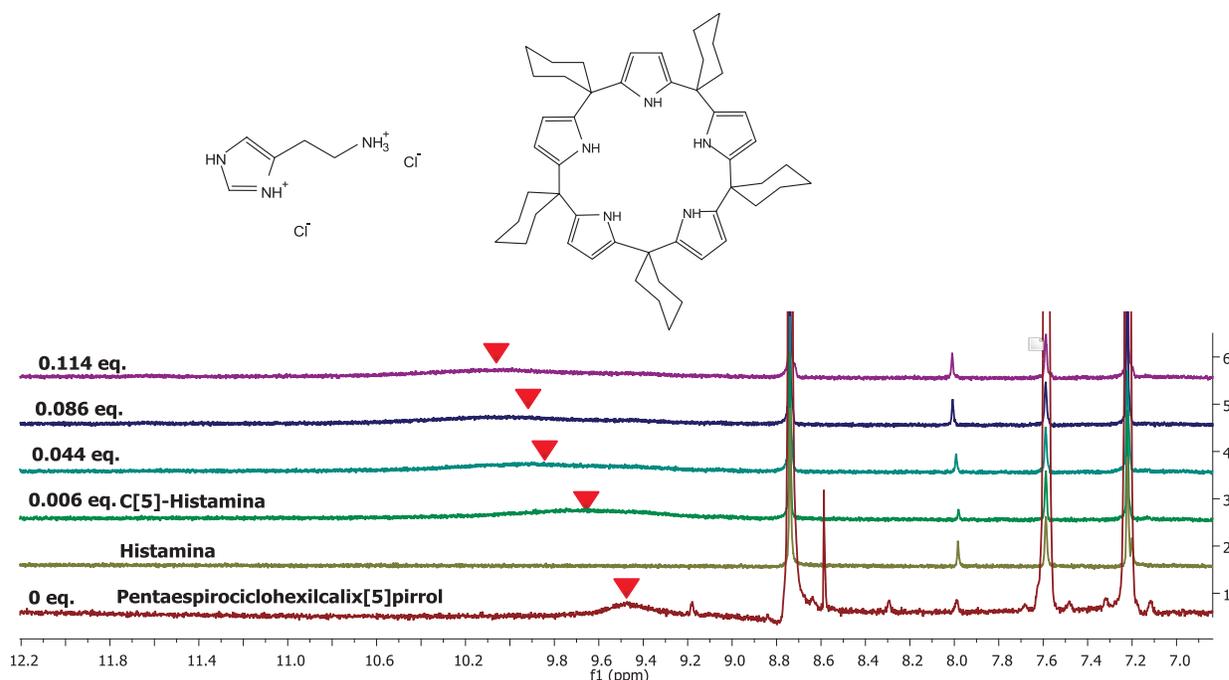
Teniendo como referencia el estudio de reconocimiento del tetraespirociclohexilcalix[4]pirrol (**24**) en el DMSO, se esperaba que su análogo de cinco pirroles tuviese un comportamiento similar en donde se observó la coexistencia de la especie libre y la acomplejada en un modelo en el que la interacción es lo suficientemente lenta para ser vista por RMN. Sin embargo, el pentaespirociclohexilcalix[5]pirrol (**25**) presentó un reconocimiento rápido y no se apreció el mismo efecto conformacional en los ciclohexilos aunque si se mantiene la proporción 1:2 del anión con respecto al calix. (**Figura 6.10**).



**Figura 6.9.** Espectros de RMN <sup>1</sup>H para la titulación del pentaespirociclohexilcalix[5]pirrol (**25**) con diclorhidrato de histamina (**8**) en DMSO.

### 6.4.5 Titulación de pentaespirociclohexilcalix[5]pirrol (25) con diclorhidrato de histamina (8) en C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N.

En la **Figura 6.11** se muestra el apilamiento de los espectros de RMN <sup>1</sup>H. Pese a que se realizaron únicamente 4 ensayos se puede determinar que la interacción que existe es relevante debido a que las señales de los NH pirrólicos se ven desplazadas hacia campo alto 0.6 ppm con únicamente 0.114 equivalentes del anión. Desgraciadamente, las señales se pierden al hacerse demasiado anchas, fenómeno muy común en este tipo de titulaciones. La incorporación de una mayor cantidad de histamina al medio, probablemente permitiría apreciar la señal como ha ocurrido con el reconocimiento por flúor en algunos sistemas, sin embargo no se puede confiar del todo en el estudio por la desaparición de la banda en concentraciones intermedias.



**Figura 6.10.** Espectros de RMN <sup>1</sup>H para la titulación del pentaespirociclohexilcalix[5]pirrol (25) con diclorhidrato de histamina (8) en C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N.

## 7. CONCLUSIONES

- El reconocimiento que existe entre el meso-octametilcalix[4]pirrol y el diclorhidrato de histamina es muy bueno y da pauta a seguir buscando solventes orgánicos en los cuales se pueda llevar a cabo un buen reconocimiento por medio de este calix y otros aniones, abriendo la posibilidad también de ser empleado en sistemas que requieran detección de histamina.
- La interacción que existe entre los calix: tetraespirociclohexilcalix[4]pirrol y el pentaespirociclohexilcalix[5]pirrol frente al clorhidrato de ciprofloxacino no es tan favorable debido a factores estéricos existentes en la molécula.
- El tetraespirociclohexilcalix[4]pirrol en comparación con el pentaespirociclohexilcalix[5]pirrol es el mejor reconocedor del diclorhidrato de histamina.

## **8. PERSPECTIVAS**

- Evaluar la interacción de estos calixpirroles y de análogos novedosos que se han sintetizado a la fecha en nuestro equipo de trabajo del laboratorio frente al diclorhidrato de histamina por medio de espectroscopia de UV para poder evaluar las constantes de afinidad.
- Aprovechar el reconocimiento de los calixpirroles por el diclorhidrato de histamina, y que se forman complejos solubles en solventes convencionales, para evaluarlos como organocatalizadores.

---

## 9. BIBLIOGRAFÍA

1. Dey, S.; Pal, K.; Sarkar, S. *Tetrahedron Lett.* **2006**, 47, 5851–5854.
2. Jain, V. K.; Mandalia, H. C. *J Incl Phenom Macrocycl Chem.* **2009**, 63, 27-35.
3. Gale, P. A.; Sessler J. L.; Král, V.; Lynch, V. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 5140-5141.
4. Bruton L. L., Lozano J. S., Parker K. L.. **2006**. Goodman y Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica. 11ª. Edición. Mcgraw-Hill Interamericana d. 2012 pp.
5. A. Baeyer, Ber. Dtsch. *Chem. Ges.* **1886**, 19, 2184 -2185.
6. Gale, P. A.; Sessler, J. L.; Kral, V. *Chem. Commun.* **1998**, 1-8.
7. Allen, W. E.; Gale, P. A.; Brown C. T.; Lynch, V. M.; Sessler, J. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 12471-12472.
8. Van Hoorn, W. P.; Jorgensen, W. L. *J. Org. Chem.* 1999, 64, 7439-7444.
9. Wu, Y. D.; Wang, D. F.; Sessler, J. L. *J. Org. Chem.* **2001**, 66, 3739-3746.
10. Sessler, J. L.; P. K. Anzenbacher, H. Jursikova, J. W. Miyaji, N. *Chem.* **1998**, 70, 2401-2408.
11. Cafeo G., Kohnke F. H., G. L. La Torre, A. J. P. White, D. J. Williams. *Chem. Commun.* **2000**, 1207-1208.
12. Cafeo, G.; Kohnke, F. H.; Parisi, M. F.; Nascone, R. P.; La Torre, G. L.; Williams, D. J. *Org. Lett.*, **2002**, 4, 2695–2697.

- 
13. Bates, G. W.; Gale, P. A.; Light M.E. *Sup. Chem.* **2008**, 20, 23-28.
  14. Gale P. A., Anzenbacher P., Jr, Sessler J. L.. *Coord. Chem. Rev.* **2001**, 222, 57–102.
  15. Radha Kishan M., Radha V. Rani, Kulkarni S. J., Raghavan K. V; *Mol Catal J. A Chem.* **2005**, 237, 155–160.
  16. Dey S., Pal K., Sarkar S., *Tetrahedron Lett.* **2006**, 47, 5851-5854.
  17. Mejía-Farfán I., C. Contreras-Celedon, Avina-Verduzco J., Chacón-García L. *Lett Org Chem.* **2008**, 5, 237–239.
  18. Bedolla-Medrano M., Chacón-García L., Contreras-Celedon C., J. Campos-García. *Tetrahedron Lett.* **2011**, 52, 136-138.
  19. Mejía, F.N.I. 2011 Síntesis de calix[4]pirroles funcionalizados con azidas y estudio de su evaluación como receptores de aniones. Tesis de Maestría en ciencias químicas. Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de San Luis Potosí. San Luis potosí, SLP, octubre 2011. 181 pp.
  20. Korolkovas, Andrejus Y Burckhalter, Joseph H. **1979**. Compendio Esencial De Química Farmaceutica. 8ª Edición. Barcelona, España, Reverté ed. 871 pp.
  21. Valencia, B. Y. 2010 Síntesis y actividad antimicrobiana de nuevos derivados de fluoroquinolonas sustituidos en la posición 7. Tesis de Maestría en ciencias Biológicas, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia, Michoacán. Septiembre 2010. 75 pp.
  22. Yoo, J. ; Kim M. S., Hong, S. J.; Sessler J. L., C. H. Lee. *J. Org. Chem.* **2009**, 74,1065–1069.
-

## 10. ANEXOS

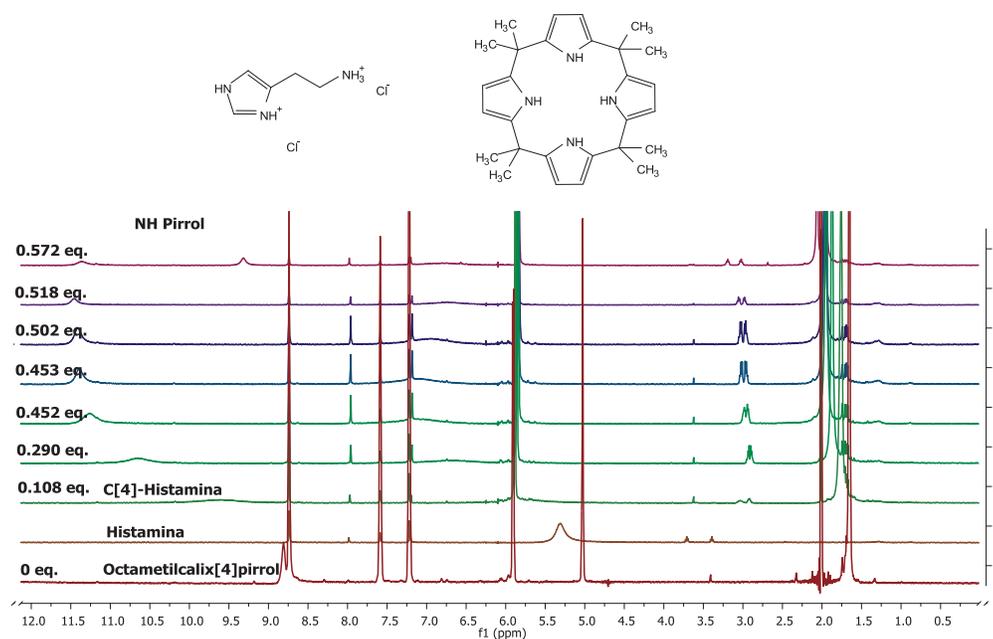


Figura 6.1. Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  para la titulación del meso-octametilcalix[4]pirrol (**3**) con diclorhidrato de histamina (**8**) en  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ .

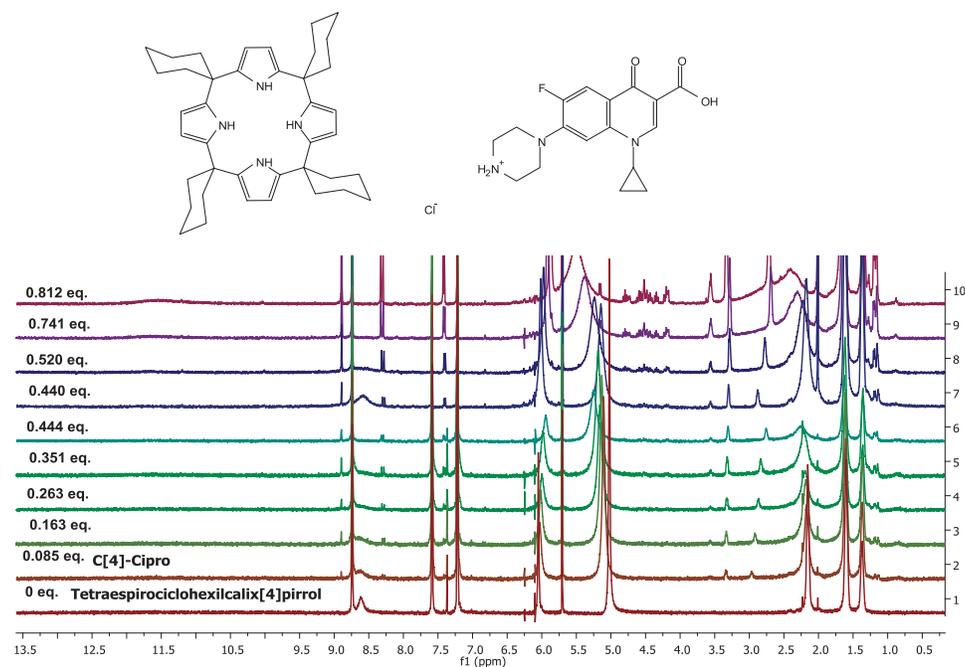
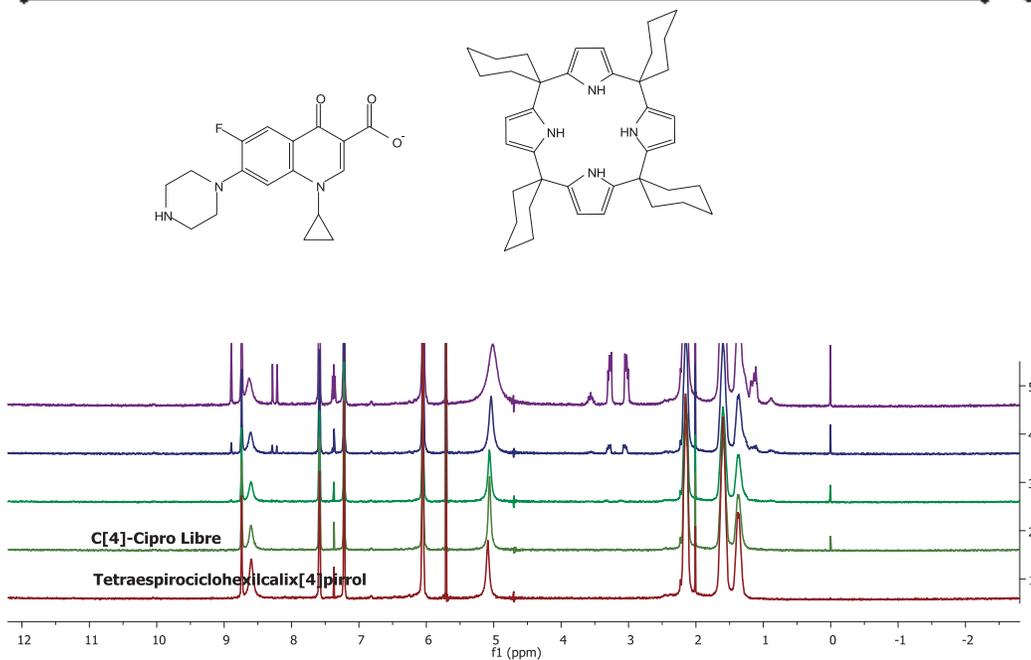
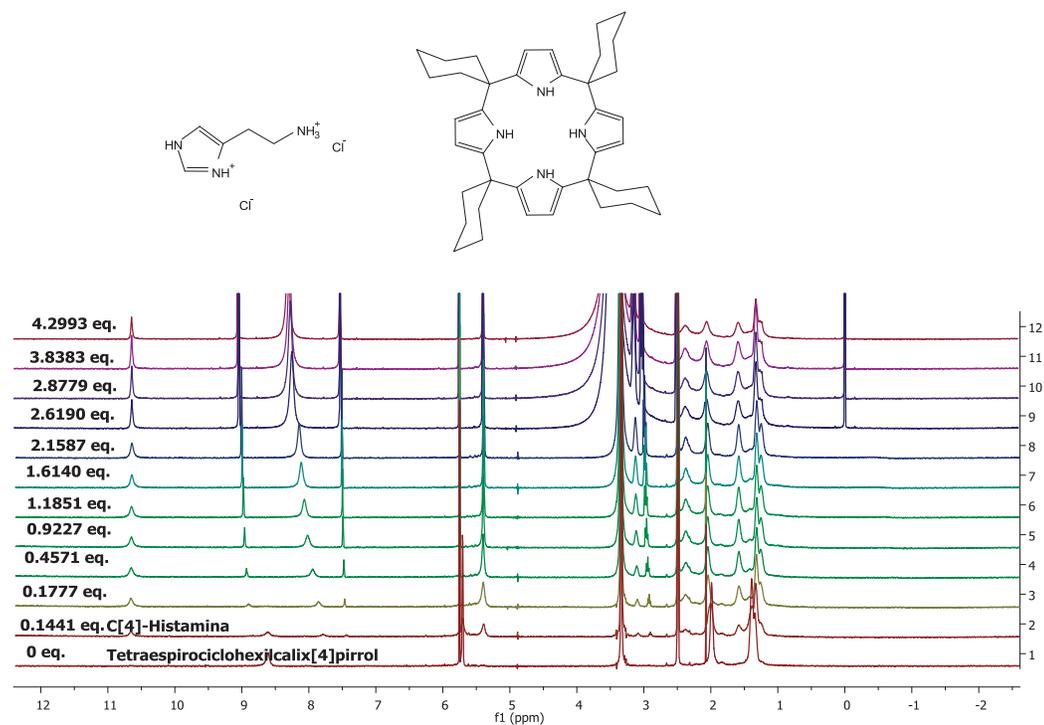


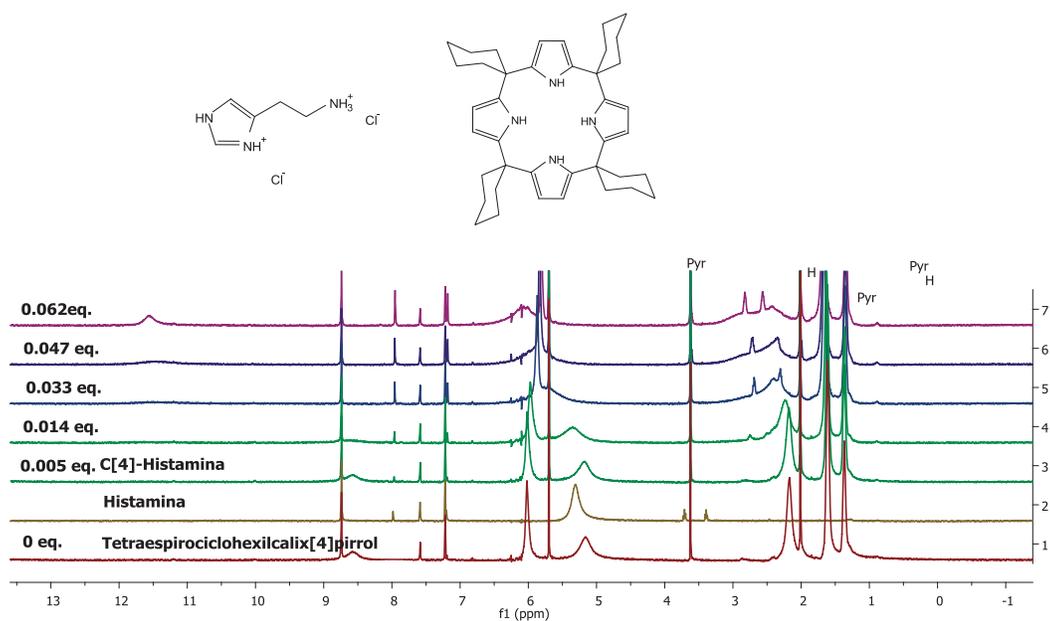
Figura 6.2. Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  para la titulación del tetraespirociclohexilcalix[4]pirrol (**24**) con clorhidrato de ciprofloxacino (**4**) en su forma farmacéutica en  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ .



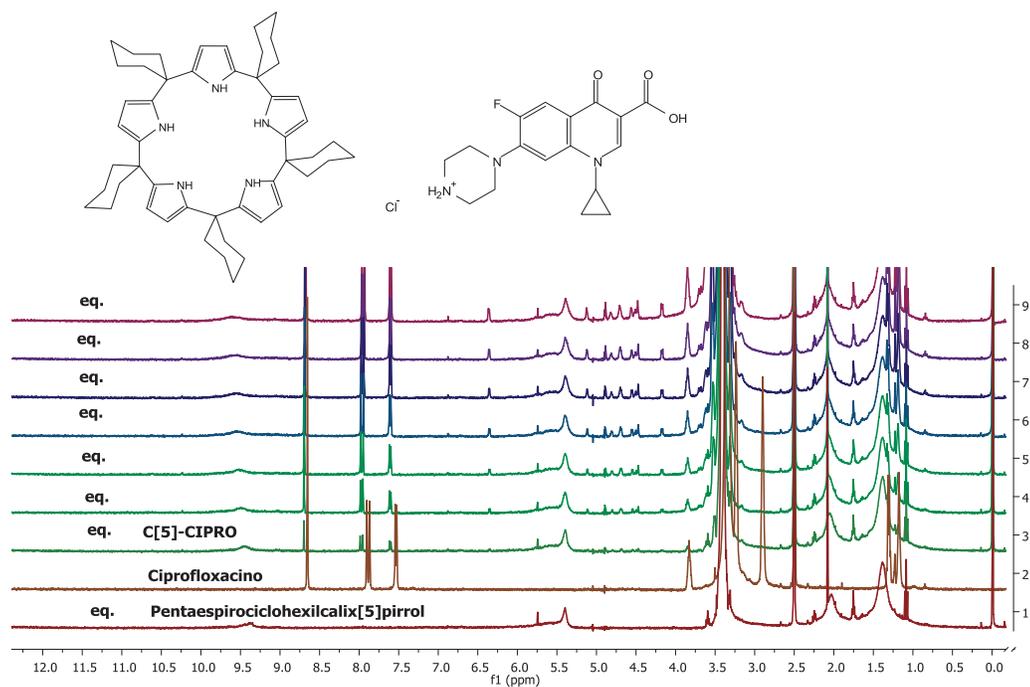
**Figura 6.3.** Espectros de RMN  $^1\text{H}$  para la titulación del tetraespirociclohexilcalix[4]pirrol (**24**) con (**24**) con ciprofloxacino (**4**) “libre” en  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ .



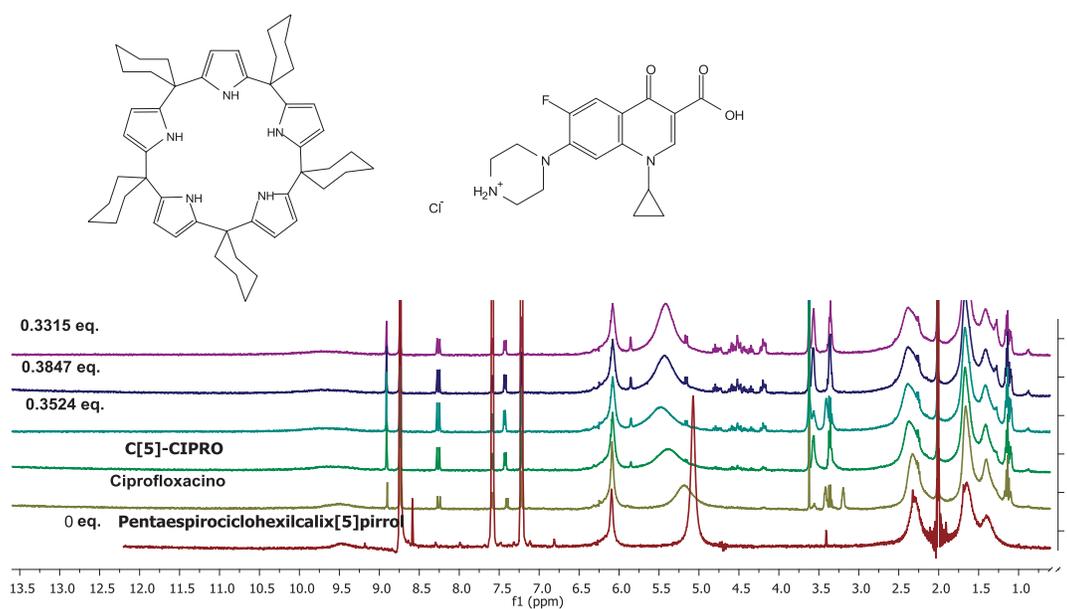
**Figura 6.4.** Espectros de RMN  $^1\text{H}$  para la titulación del tetraespirociclohexilcalix[4]pirrol (**24**) con diclorhidrato de histamina (**8**) en DMSO.



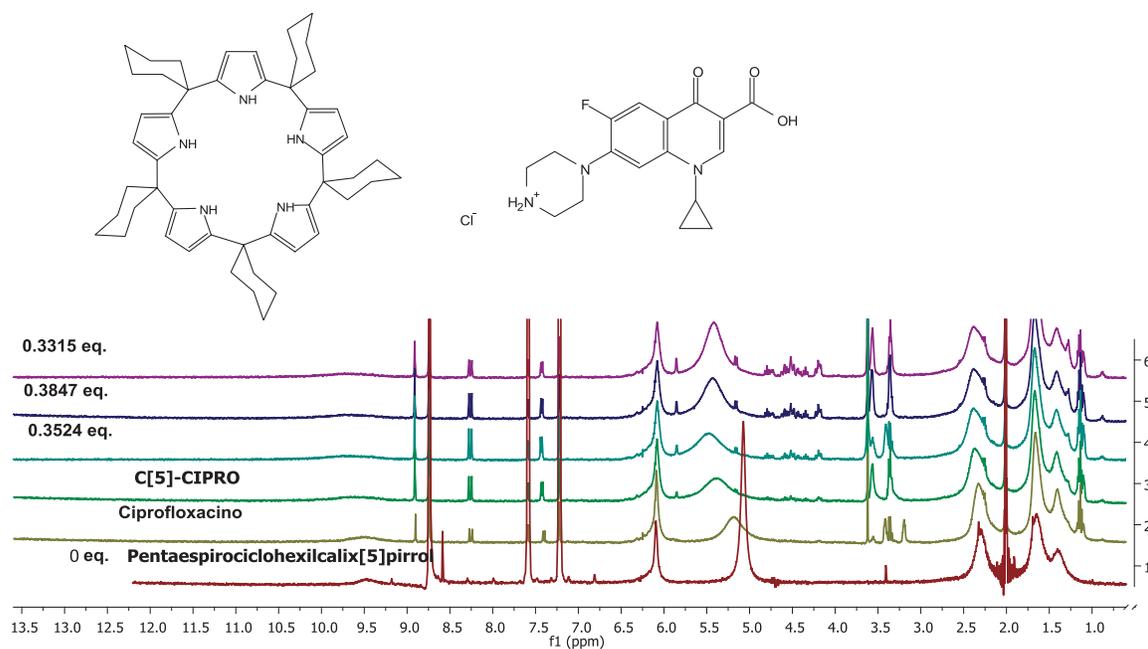
**Figura 6.5.** Espectros de RMN  $^1\text{H}$  para la titulación del tetraespirociclohexilix[4]pirrol diclorhidrato de histamina (**8**) en  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ .



**Figura 6.6.** Espectros de RMN  $^1\text{H}$  para la titulación del pentaespirociclohexilix[5]pirrol (**25**) con clorhidrato de ciprofloxacino (**4**) en DMSO.



**Figura 6.7.** Espectros de RMN  $^1\text{H}$  para la titulación del pentaespirociclohexilcalix[5]pirrol (**25**) con clorhidrato de ciprofloxacino (**4**) en su forma farmacéutica en  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ .



**Figura 6.8.** Espectros de RMN  $^1\text{H}$  para la titulación del pentaespirociclohexilcalix[5]pirrol (**25**) con clorhidrato de ciprofloxacino (**4**) en su forma "libre" en  $\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$ .

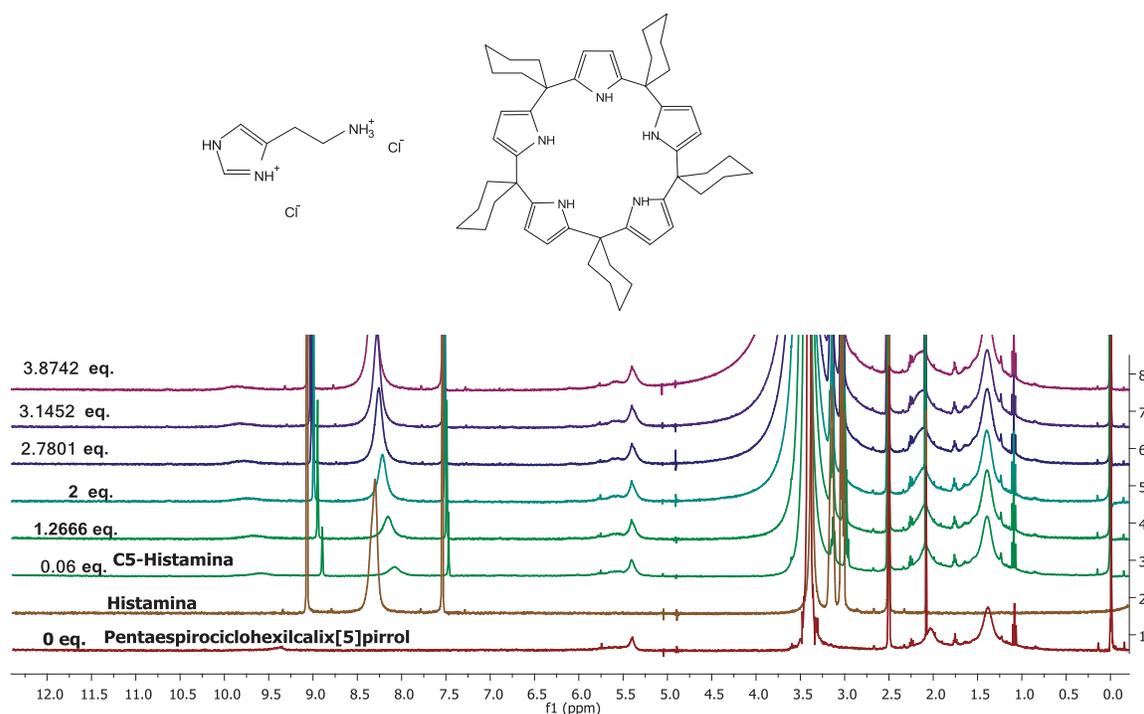


Figura 6.9. Espectros de RMN  $^1\text{H}$  para la titulación del pentaSpiroCyclohexilix[5]Pyrrol (**25**) con diclorhidrato de histamina (**8**) en DMSO.

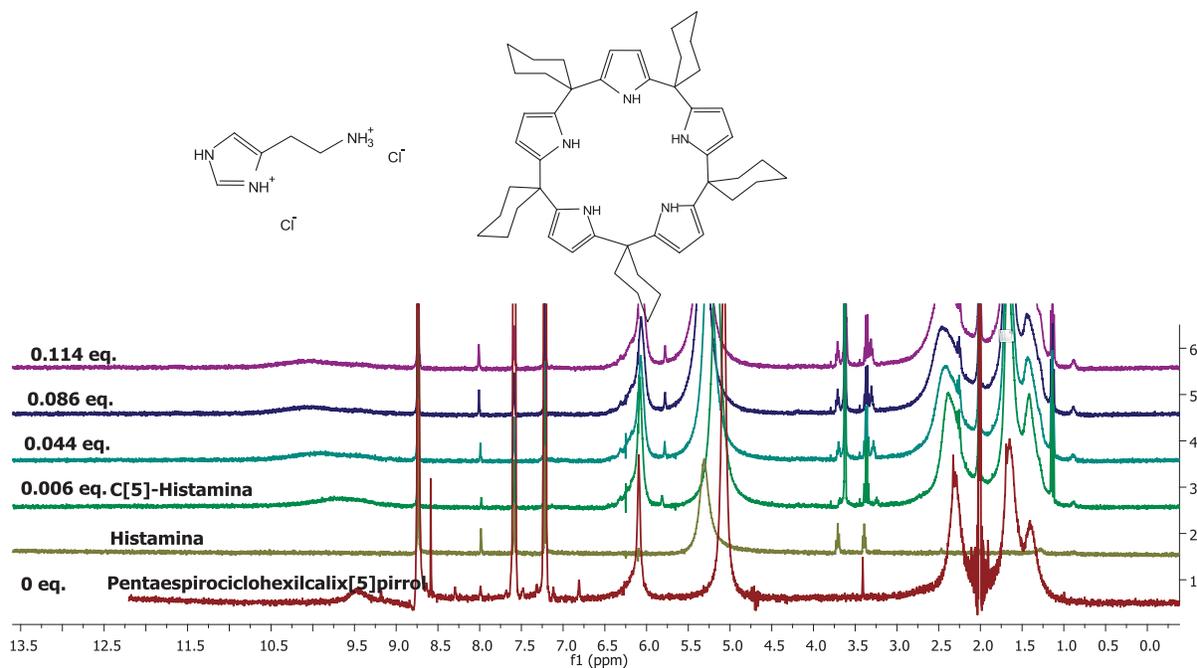


Figura 6.10. Espectros de RMN  $^1\text{H}$  para la titulación del pentaSpiroCyclohexilix[5]Pyrrol (**25**) con diclorhidrato de histamina (**8**) en  $\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$ .

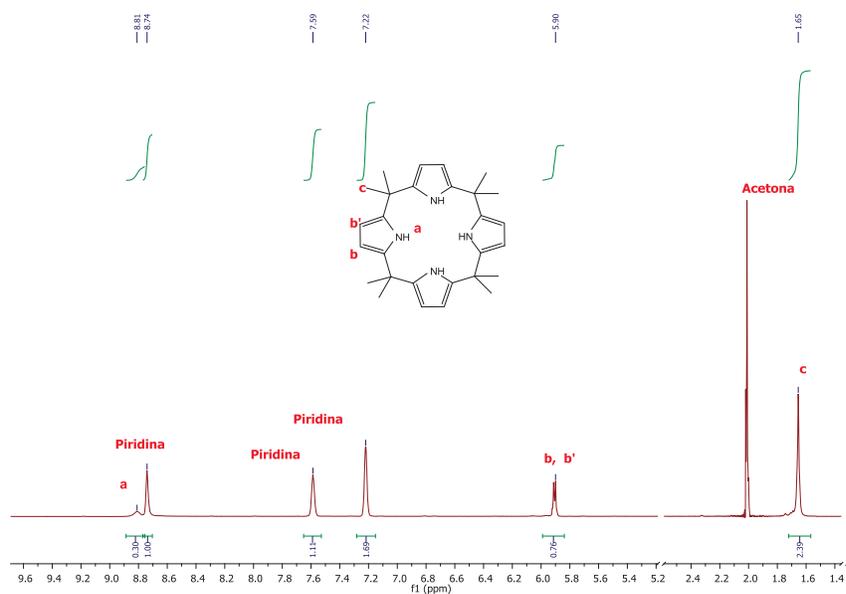


Figura 10.1. Espectro de  $^1\text{H}$  RMN a 400 MHz en  $\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$  del Meso-octametilcalix[4]pirrol (**3**).

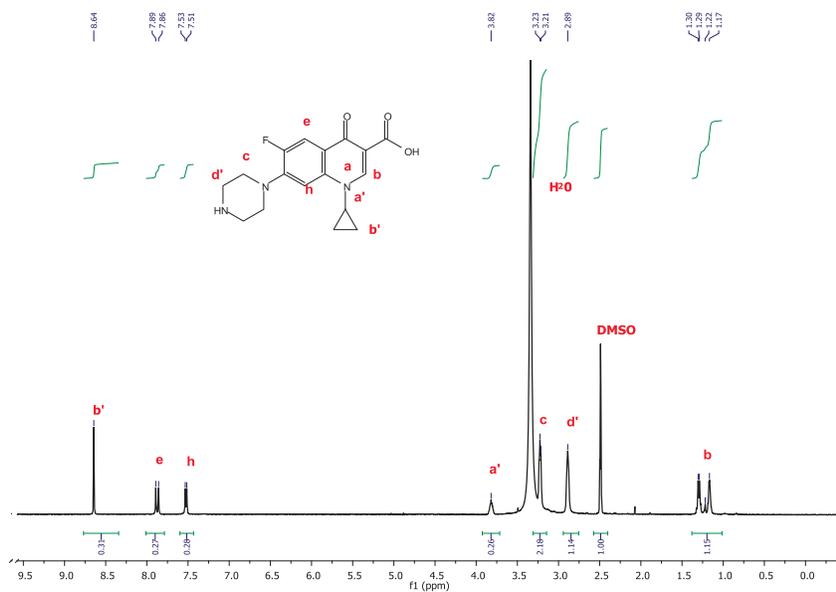


Figura 10.2. Espectro de  $^1\text{H}$  RMN a 400 MHz en DMSO del Ciprofloxacin (**4**).

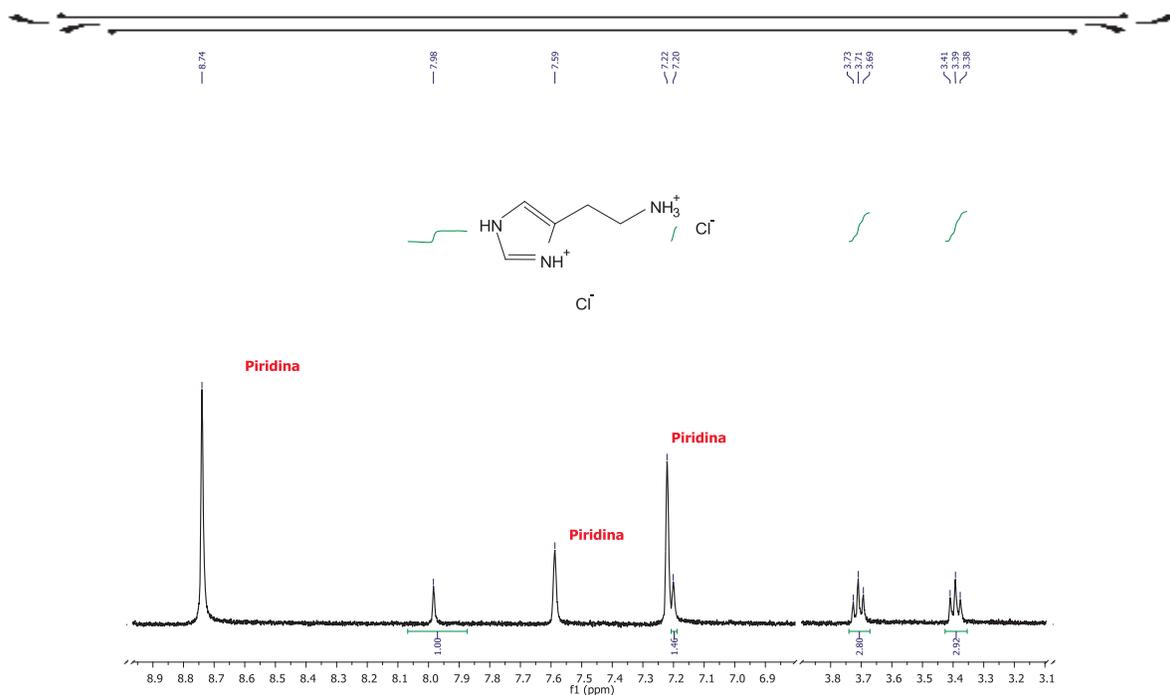


Figura 10.4. Espectro de <sup>1</sup>H RMN a 400 MHz en de C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N del Diclorhidrato de histamina (8).

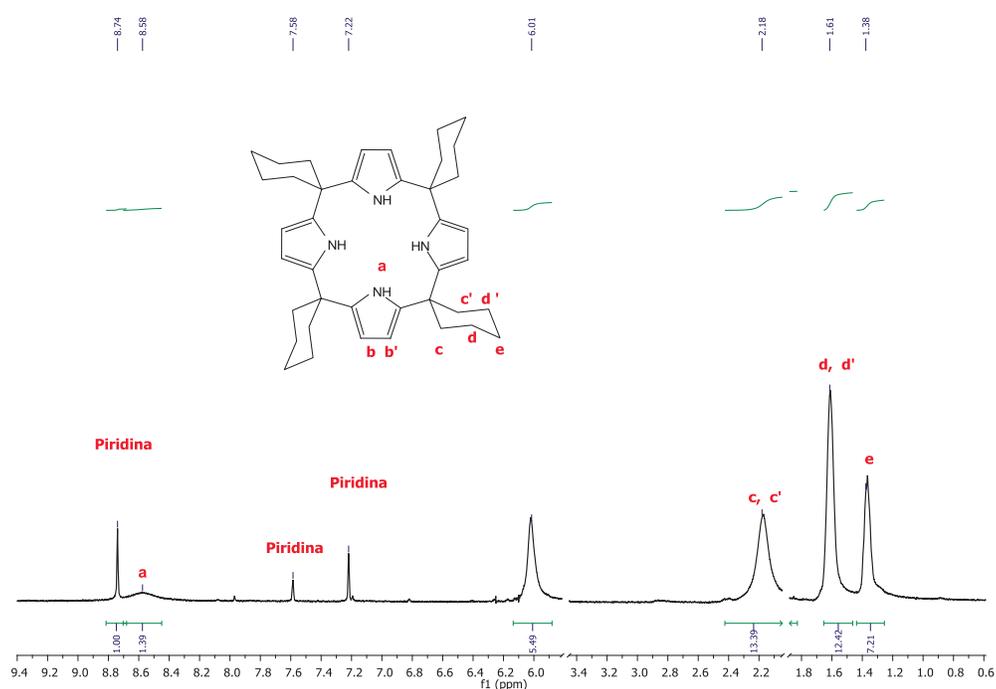


Figura 10.4. Espectro de <sup>1</sup>H RMN a 400 MHz en de C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N del Tetraespirociclohexilcalix[4]pirrol (24).