



UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACEUTICAS

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÁNICA Y FISICOQUÍMICA

**Estudio espectroscópico de complejos de
inclusión de CD-Triazolo piridina y el efecto
de Cu^{+2} , Ni^{+2} y Fe^{+2} .**

Memoria para optar al título de Químico

Sylvia Paola Puyol Peña

Patrocinante y directora de tesis

Dra. Carolina Jullian Matthaei

Santiago, 2016

Tabla de contenidos

Tabla de contenidos	i
Índice de figuras y tablas	iii
Resumen	vi
Spectroscopic study of inclusion complexes of CD-Triazolo pyridine and the effect of Cu ⁺² , Ni ⁺² and Fe ⁺²	vii
1. Introducción.....	1
2. Hipótesis	5
3. Objetivos.....	5
3.1- Objetivos generales:	5
3.2- Objetivos específicos:	5
4. Materiales y métodos	6
4.1- Materiales	6
4.1.1- Reactivos	6
4.1.2- Equipos	6
5. Metodología	7
5.1- Complejos de inclusión PTP-βCD, PTP-DMβCD y PTP-HPβCD en solución.....	7
5.2- Complejos ternarios PTP-βCD, PTP-DMβCD y PTP-HPβCD en sólido.....	8
5.3- Complejos ternarios PTP-βCD, PTP-DMβCD y PTP-HPβCD con los diferentes iones metálicos.....	9
5.4- Determinación de las constantes de asociación.	10
5.5- Determinación de las propiedades termodinámicas	11
5.6- Estudio por RMN de los complejos PTP-CDs con los diferentes metales.	11
6. Resultados y discusión	12
6.1- Caracterización espectroscópica de PTP.	12
6.2- Determinación de la constante de asociación para PTP-βCD a diferentes temperaturas.	14
6.3- Determinación de la constante de asociación para PTP-βCD- iones metálicos a diferentes temperaturas.....	17
6.3.1- Determinación de la constante de asociación para PTP-βCD-Cu ⁺² a las diferentes temperaturas.17	
6.3.2- Determinación de la constante de asociación para PTP-βCD-Ni ⁺² a diferentes temperaturas.	20
6.3.3- Determinación de la constante de asociación para PTP-βCD-Fe ⁺² a diferentes temperaturas.	22
6.4- Determinación de la constante de asociación para PTP-DMβCD a diferentes temperaturas.	26
6.5- Determinación de la constante de asociación para PTP-DMβCD-iones metálicos a diferentes temperaturas.....	28
6.5.1- Determinación de la constante de asociación para PTP-DMβCD-Cu ⁺² a diferentes temperaturas.	28
6.5.2- Determinación de la constante de asociación para PTP-DMβCD-Ni ⁺² a diferentes temperaturas.30	

6.5.3- Determinación de la constante de asociación para PTP-DM β CD-Fe ⁺² a diferentes temperaturas.	33
6.6- Determinación de la constante de asociación para PTP-HPβCD a diferentes temperaturas.	37
6.7- Determinación de la constante de asociación para PTP-HPβCD- iones metálicos a diferentes temperaturas.....	39
6.7.1- Determinación de la constante de asociación para PTP-HP β CD-Cu ⁺² a diferentes temperaturas.	39
6.6.2- Determinación de la constante de asociación para PTP-HP β CD-Ni ⁺² a diferentes temperaturas.	42
6.6.3- Determinación de la constante de asociación para PTP-HP β CD-Fe ⁺² a diferentes temperaturas.	44
6.7- Análisis de los complejos formados mediante los complejos que forman con sus respectivos iones metálicos.	48
6.8- Estudio del efecto de los metales Cu ⁺² , Ni ⁺² y Fe ⁺² sobre los complejos de PTP- β CD, PTP-DM β CD y PTP-HP β CD por ¹ HRMN.	54
6.9- Efecto de Cu⁺², Ni⁺² y Fe⁺² en el complejo PTP-βCD.....	54
6.9.1- Complejo de PTP- β CD con Cu ⁺²	56
6.9.2- Complejo de PTP- β CD con Ni ⁺²	57
6.9.3- Complejo de PTP- β CD con Fe ⁺²	58
6.10- Efecto de Cu⁺², Ni⁺² y Fe⁺² en el complejo PTP-DMβCD.....	59
6.10.1- Complejo de PTP-DM β CD con Cu ⁺²	60
6.10.2- Complejo de PTP-DM β CD con Ni ⁺²	61
6.10.3- Complejo de PTP-DM β CD con Fe ⁺²	62
6.11- Efecto de Cu⁺², Ni⁺² y Fe⁺² en el complejo PTP-HPβCD.	63
6.11.1- Complejo de PTP-HP β CD con Cu ⁺²	64
6.11.2- Complejo de PTP-HP β CD con Ni ⁺²	65
6.11.3- Complejo de PTP-HP β CD con Fe ⁺²	66
7. Conclusiones	68
8. Referencias	69

Índice de figuras y tablas

Figuras

Figura 1. Estructura de [1,2,3]triazolo[1,5-a] piridina sustituida en las posiciones 3 y/o 7 con R1 y R2. (TP) ...	1
Figura 2. 3-(2-piridil)-[1,2,3]triazolo[1,5-a] piridina. (PTP).....	1
Figura 3. (a) β CD, (b) (2,6-di-O-metil)- β CD, (c) (2-Hidroxipropil)- β CD.	3
Figura 4. Espectros de absorbancia y fluorescencia para el PTP.	12
Figura 5. Espectros de absorbancia para los iones metálicos de Cu^{+2} , Ni^{+2} , Fe^{+2} y para las diferentes ciclodextrinas.....	13
Figura 6. Espectro de fluorescencia de PTP (concentración del ligando en la cubeta de $9,7 \times 10^{-6}$ M) con concentraciones de 0 a 0,01 M de β CD a 25°C.....	14
Figura 7. Método no lineal para PTP- β CD a diferentes temperaturas. (a) 25°C, (b) 30°C y (c) 35°C.....	15
Figura 8. Gráfico de Van't Hoff para el complejo PTP- β CD.	16
Figura 9. Espectro de fluorescencia para el complejo PTP- β CD- Cu^{+2} a 25°C.....	17
Figura 10. Regresión no lineal para PTP- β CD- Cu^{+2} a 25°C, 30°C y 35°C.	18
Figura 11. Gráfico de Van't Hoff para el complejo PTP- β CD- Cu^{+2}	19
Figura 12. Espectro de fluorescencia para el complejo PTP- β CD- Ni^{+2} a 25°C.	20
Figura 13. Regresión no lineal para PTP- β CD- Ni^{+2} a 25°C, 30°C y 35°C.	21
Figura 14. Gráfico de Van't Hoff para el complejo PTP- β CD- Ni^{+2}	21
Figura 15. Espectro de fluorescencia para el complejo PTP- β CD- Fe^{+2} a 25°C, el cual fue realizado con una solución stock de $19,6 \times 10^{-3}$ M.	22
Figura 16. Regresión no lineal para PTP- β CD- Fe^{+2} a 25°C, 30°C y 35°C.....	23
Figura 17. Gráfico de Van't Hoff para el complejo PTP- β CD- Fe^{+2}	23
Figura 18. Contribución de la entalpía (ΔH) y entropía (ΔS) a la energía libre de Gibbs.	25
Figura 19. Regresión no lineal para PTP-DM β CD a 25°C, 30°C y 35°C.....	26
Figura 20. Gráfico de Van't Hoff para el complejo PTP-DM β CD.	27
Figura 21. Espectro de intensidad de fluorescencia para el complejo PTP-DM β CD con Cu^{+2} a 25°C.....	28
Figura 22. Regresión no lineal para PTP-DM β CD- Cu^{+2} a 25°C, 30°C y 35°C.....	29
Figura 23. Gráfico de Van't Hoff para el complejo PTP-DM β CD- Cu^{+2}	29
Figura 24. Espectro de intensidad de fluorescencia a 25°C para PTP-DM β CD- Ni^{+2}	30
Figura 25. Regresión no lineal para el complejo PTP-DM β CD- Ni^{+2} a 25°C, 30°C y 35°C.....	31
Figura 26. Gráfico de Van't Hoff para el complejo PTP-DM β CD- Ni^{+2}	32
Figura 27. Espectro de fluorescencia para el complejo PTP-DM β CD- Fe^{+2} a 25°C, el cual fue realizado con una solución stock de $19,6 \times 10^{-3}$ M.	33
Figura 28. Regresión no lineal para PTP-DM β CD- Fe^{+2} a 25°C, 30°C y 35°C. (Las soluciones stock varían en concentración 25°C presenta una concentración de $19,6 \times 10^{-3}$ M, 30°C de 19×10^{-3} M, 35°C de $19,4 \times 10^{-3}$ M). 34	34
Figura 29. Gráfico de Van't Hoff para el complejo PTP-DM β CD- Fe^{+2}	35
Figura 30. Contribución de la entalpía (ΔH) y entropía (ΔS) a la energía libre de Gibbs para los complejos con DM β CD.	36
Figura 31. Regresión no lineal para PTP-HP β CD a 25°C, 30°C y 35°C.	37
Figura 32. Gráfico de Van't Hoff para el complejo PTP-HP β CD.....	38
Figura 33. Espectro de fluorescencia para PTP-HP β CD- Cu^{+2} a 25°C.....	39
Figura 34. Regresión no lineal para el complejo PTP-HP β CD- Cu^{+2} a 25°C, 30°C y 35°C.	40
Figura 35. Gráfico de Van't Hoff para el complejo PTP-HP β CD- Cu^{+2}	40
Figura 36. Espectro de fluorescencia para el complejo PTP-HP β CD- Ni^{+2} a 25°C.....	42
Figura 37. Regresión no lineal para el complejo PTP-HP β CD- Ni^{+2} a 25°C, 30°C y 35°C.	43
Figura 38. Gráfico de Van't Hoff para el complejo PTP-HP β CD- Ni^{+2}	43

Figura 39. Espectro de fluorescencia para PTP-HP β CD-Fe ⁺² a 25°C realizado con una solución stock de 19,1x10 ⁻³ M.	44
Figura 40. Regresión no lineal para PTP-HP β CD-Fe ⁺² a 25°C, 30°C y 35°C. (Las soluciones stock varían en concentración 25°C presenta una concentración de 19,1x10 ⁻³ M, 30°C de 19,3x10 ⁻³ M, 35°C de 19,4x10 ⁻³ M).	45
Figura 41. Gráfico de Van't Hoff para el complejo PTP-HP β CD-Fe ⁺²	46
Figura 42. Contribución de la entalpía (ΔH) y entropía (ΔS) a la energía libre de Gibbs para los complejos con HP β CD.	47
Figura 43. Contribución de la entalpía (ΔH) y la entropía (ΔS) para la energía libre de Gibbs para los complejos con PTP más las diferentes ciclodextrinas.	48
Figura 44. Contribución de la entalpía (ΔH) y la entropía (ΔS) para la energía libre de Gibbs para los complejos con el PTP más las diferentes ciclodextrinas y el ion cobre.	49
Figura 45. Contribución de la entalpía (ΔH) y la entropía (ΔS) para la energía libre de Gibbs para los complejos con PTP más las diferentes ciclodextrinas y el ion níquel.	50
Figura 46. Contribución de la entalpía (ΔH) y la entropía (ΔS) para la energía libre de Gibbs para los complejos con PTP más las diferentes ciclodextrinas con el ion hierro.	51
Figura 47. Espectro del complejo PTP- β CD.	54
Figura 48. Espectros ¹ H-RMN del complejo β CD-PTP y adicionarle Cu ⁺²	56
Figura 49. Espectros ¹ H-RMN del complejo β CD-PTP y adicionarle Ni ⁺²	57
Figura 50. Espectros ¹ H-RMN del complejo β CD-PTP y adicionarle Fe ⁺²	58
Figura 51. Espectro del complejo PTP-DM β CD.	59
Figura 52. Espectros ¹ H-RMN del complejo DM β CD-PTP y adicionarle Cu ⁺²	60
Figura 53. Espectros ¹ H-RMN del complejo DM β CD-PTP y adicionarle Ni ⁺²	61
Figura 54. Espectros ¹ H-RMN del complejo DM β CD-PTP y adicionarle Fe ⁺²	62
Figura 55. Espectro complejo PTP-HP β CD.	63
Figura 56. Espectros ¹ H-RMN del complejo HP β CD-PTP y adicionarle Cu ⁺²	64
Figura 57. Espectros ¹ H-RMN del complejo HP β CD-PTP y adicionarle Ni ⁺²	65
Figura 58. Espectros ¹ H-RMN del complejo HP β CD-PTP y adicionarle Fe ⁺²	66
Figura 59. Posible forma de interacción de los metales al PTP con M ⁺² = Cu ⁺² , Ni ⁺² o Fe ⁺² . Con A y B correspondiente a las dos posibles formas de inclusión del PTP dentro de la DM β CD. ¹⁷	67

Tablas

Tabla 1. Diferentes soluciones para la producción de los complejos.....	7
Tabla 2. Titulación con los iones metálicos para los complejos realizados.	9
Tabla 3. Valores de las constantes de asociación (K_a) a las temperaturas correspondientes para el complejo PTP- β CD.....	15
Tabla 4. Valores de los parámetros termodinámicos obtenidos para el complejo PTP- β CD.	16
Tabla 5. Valores de las constantes de asociación (K_a) a las temperaturas correspondientes y los valores de las propiedades termodinámicas para el complejo PTP- β CD- Cu^{+2}	19
Tabla 6. Valores de las constantes de asociación (K_a) a las temperaturas correspondientes y valores de las propiedades termodinámicas para el complejo PTP- β CD- Ni^{+2}	22
Tabla 7. Valores de las constantes de asociación (K_a) y valores de las propiedades termodinámicas para el complejo PTP- β CD- Fe^{+2}	24
Tabla 8. Valores de las constantes de asociación (K_a) a sus temperaturas correspondientes y valores de las propiedades termodinámicas para el complejo PTP-DM β CD.	27
Tabla 9. Valores de las constantes de asociación a las temperaturas correspondientes y valores de las propiedades termodinámicas de complejo PTP-DM β CD- Cu^{+2}	30
Tabla 10. Valores de las constantes de asociación (K_a) a las temperaturas correspondientes y valores de las propiedades termodinámicas de complejo PTP-DM β CD- Ni^{+2}	32
Tabla 11. Valores de las constantes de asociación a las temperaturas correspondientes y valores de las propiedades termodinámicas del complejo PTP-DM β CD- Fe^{+2}	35
Tabla 12. Valores de las constantes de asociación (K_a) a sus temperaturas correspondientes y valores de las propiedades termodinámicas para el complejo PTP-HP β CD.	38
Tabla 13. Valores de las constantes de asociación (K_a) a las temperaturas correspondientes y valores de las propiedades termodinámicas del complejo PTP-HP β CD- Cu^{+2}	41
Tabla 14. Valores de las constantes de asociación (K_a) a sus temperaturas correspondientes y valores de las propiedades termodinámicas para el complejo PTP-HP β CD- Ni^{+2}	44
Tabla 15. Valores de las constantes de asociación (K_a) a sus temperaturas correspondientes y valores de las propiedades termodinámicas para el complejo PTP-HP β CD- Fe^{+2}	46
Tabla 16. Resumen de todos los valores obtenidos tanto para las constantes de asociación como los valores termodinámicos para todos los complejos.	52
Tabla 17. Señales del espectro $^1\text{HRMN}$ del complejo PTP- β CD.....	55
Tabla 18. Señales del espectro $^1\text{HRMN}$ del complejo PTP-DM β CD.....	59
Tabla 19. Señales del espectro $^1\text{HRMN}$ del complejo PTP-HP β CD.	63

Resumen

En esta tesis se realizó el estudio espectroscópico de los complejos ternarios correspondientes a 3-(2-piridil)-[1,2,3]triazolo[1,5- α] piridina (PTP) con tres ciclodextrinas, [β -ciclodextrina (β CD), 2,6 dimetil- β -ciclodextrina (DM β CD) e 2-hidroxiopropil- β -ciclodextrina (HP β CD)], cada una con Cu^{+2} , Ni^{+2} y Fe^{+2} . Para la realización de este estudio, se determinaron las constantes de asociación (K_a) mediante la ecuación no lineal a 25°C, 30°C y 35°C. Posteriormente se determinaron los parámetros termodinámicos de entalpía (ΔH), entropía (ΔS) mediante la ecuación de Van't Hoff y la energía libre de Gibbs (ΔG). De acuerdo a los valores de constantes de asociación obtenidos, el mejor proceso de formación de complejos se obtiene con β CD. Al igual que el ion metálico que se enlaza con el PTP dentro de las CDs de manera más óptima corresponde al Ni^{+2} .

Todas las formaciones de los complejos con las diferentes ciclodextrinas y metales son procesos espontáneos, ya que, el valor de ΔG es negativo. Con respecto al valor de la entalpía los complejos ternarios con β CD y DM β CD presentan valores negativos para todos los iones metálicos estudiados, indicando que corresponden a procesos exotérmicos; a diferencia de la HP β CD que con Cu^{+2} presenta un valor de entalpía positivo (proceso endotérmico), con Ni^{+2} y Fe^{+2} presenta un valor negativo.

Además, se estudió el efecto de los iones metálicos sobre los complejos PTP- β CD, PTP-DM β CD y PTP-HP β CD mediante $^1\text{HRMN}$. Cu^{+2} , Ni^{+2} y Fe^{+2} son paramagnéticos, por tanto, influyen en todos los protones del espectro (ensanchan las señales), en los cuales se observa que a mayor cantidad de electrones desapareados presentes en el metal, más protones son afectados, pero los más perturbados son los que se encuentran cercanos a la unión de los iones metálicos con el PTP.

Spectroscopic study of inclusion complexes of CD-Triazolo pyridine and the effect of Cu^{+2} , Ni^{+2} and Fe^{+2} .

This thesis carried out the spectroscopic study of the ternary complexes between to 3-(2-pyridyl)-[1,2,3]triazolo[1,5-*a*]pyridine (PTP) with three cyclodextrins, [β -cyclodextrin (β CD), 2,6-dimethyl- β -cyclodextrin (DM β CD) and 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HP β CD)], each with Cu^{+2} , Ni^{+2} and Fe^{+2} . For the realization of this study, the association constants (K_a) is determined using the nonlinear equation at 25°C, 30°C and 35°C. Subsequently the thermodynamic parameters of enthalpy (ΔH) and entropy (ΔS), and free of Gibbs energy (ΔG) or were determined using the Van't Hoff equation. According to the values of association constants obtained, the best complexing process was obtained for β CD and the Ni^{+2} present K_a most high for the complexes ternary.

The formation of complexes with the different cyclodextrins and metals are a spontaneous processes. The enthalpy value for the ternary complexes with β CD and DM β CD have a negative values for all metals studied, indicating that they correspond to an exothermic processes. Nevertheless HP β CD have a different behavior. In the presence of Cu^{+2} has a positive enthalpy, instead a negative value of enthalpy is observed in the presence of Ni^{+2} and Fe^{+2} .

In addition, we studied the effect of the metals in the presence of PTP- β CD, PTP-DM β CD y PTP-HP β CD, through $^1\text{H-NMR}$. We can observe that the PTP protons closer to the pyridyl nitrogen are mores disturbed due to the presence of the paramagnetic metals. This could be indicate us that the interaction of the metal is by the nitrogen 2 of the triazolopyridine and with the nitrogen of the pyridyl moiety.

1. Introducción

En los últimos años se ha producido un aumento en la síntesis de compuestos químicos que puedan actuar como sensores fluorescentes, los cuales sean selectivos a metales de transición y permitan su detección, produciendo cambios en la fluorescencia del sensor químico utilizado. Estos sensores son de interés debido a su futura utilización en la detección de metales en sistemas biológicos.^{1 2}

Un quimiosensor es una molécula receptora capaz de unirse selectivamente hacia un analito (molécula, catión o anión) de interés con un cambio en alguna de sus propiedades, tales como potencial redox, espectro de absorción o fluorescencia, entre otras.

Una clase de moléculas que cumplen con estas características y que se han estudiado en el último tiempo son las triazolopiridinas (TP) y sus derivados. La trazodona es un fármaco que corresponde a una triazolopiridina la cual se utiliza como antidepresivo, además moléculas con estructuras de triazol, como el fluconazol y pesoconazol presentan una relación estructural con las triazolopiridinas y se utilizan como antifúngicos.³ Existen estudios en los cuales investigan la interacción de estas moléculas con el ADN, lo cual de ser así podrían presentar aplicaciones como fármacos antitumorales, antibacterianos o antiparasitarios.⁴

La fusión de un grupo triazolo que corresponde a un dador de electrones y una piridina que es un grupo aceptor de electrones, forman un compuesto aromático que puede presentar sustituciones en posición 3 o 7, con grupos dadores o aceptores de electrones que permiten transferencia de carga intramolecular del dador al aceptor una vez que es excitada la molécula.⁵ Figura 1.

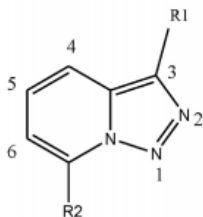


Figura 1. Estructura de [1,2,3]triazolo[1,5-a] piridina sustituida en las posiciones 3 y/o 7 con R1 y R2. (TP)

La triazolopiridina que se utilizara en esta tesis corresponde a la 3-(2-piridil)-[1,2,3]triazolo[1,5-a] piridina. La cual corresponde a la molécula sustituida con una piridina en la posición 3 y un hidrógeno en la posición 7. Figura 2.

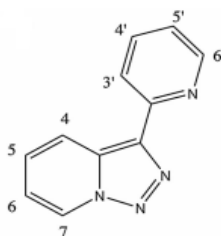


Figura 2. 3-(2-piridil)-[1,2,3]triazolo[1,5-a] piridina. (PTP)

Estas moléculas heterocíclicas nitrogenadas presentan muy baja solubilidad en solución acuosa, debido a que al ser un compuesto aromático es soluble en solventes orgánicos o mezclas órgano acuosas.^{6 7}

Ciclodextrinas

Las ciclodextrinas (CD) son una familia de oligosacáridos cíclicos no tóxicos solubles en solución acuosa que son el resultado de la degradación enzimática del almidón. Su estructura está formada mediante la unión de moléculas de glucosas unidas por enlaces α (1,4) las cuales forman una estructura cerrada en forma de anillo.⁸

Existen diferentes tipos de ciclodextrinas, las cuales presentan diferentes cantidades de glucosas que forman su estructura y por tanto, su diámetro interno varía entre 5,0 a 8,0 Å, las cuales corresponden a α -ciclodextrina, β -ciclodextrina y γ -ciclodextrina, con seis, siete y ocho unidades de glucosas en su estructura, respectivamente.⁹

Las ciclodextrinas presentan como característica el formar complejos de inclusión con una gran variedad de compuestos orgánicos, conocidas como moléculas huésped,¹⁰ las cuales permiten lograr que las moléculas insolubles en solución acuosa (hidrofóbica) puedan ser solubles. Las CDs poseen una capacidad hidrofóbica debido a los enlaces C-H en su interior y una capacidad hidrofílica en su superficie externa debido a la presencia de hidroxilos unidos a la cadena lo que las hace solubles en solución acuosa.¹¹ Al momento de la inclusión de la molécula hidrofóbica dentro de la ciclodextrina se forman y se rompen enlaces no covalentes, por tanto, los principales enlaces que presenta el complejo es de fuerzas de atracción, debido a fuerzas de Van de Waals, interacciones hidrofóbicas o interacciones mediante puentes de hidrógeno.¹²

Los factores que afectan la formación de estos complejos corresponden mayormente a las características de la molécula huésped, las interacciones no covalentes anteriormente mencionadas, el tamaño de la cavidad de la ciclodextrina, la temperatura de trabajo y el pH.¹³

Esta capacidad de formar complejos de inclusión es aprovechada en diferentes industrias, debido a la ventaja de producir cambios en las propiedades químicas y físicas de la molécula huésped, como por ejemplo:^{14 15}

- Protección contra la degradación de sustancia por microorganismos.
- Modificación de sustancias líquidas a polvos.
- Estabilización de compuestos sensibles a la temperatura, luz u oxígeno.
- Permite controlar la liberación de fármacos en el organismo.

Las ciclodextrinas a utilizar en este estudio corresponden a la β -ciclodextrina, que posee una cavidad del tamaño adecuado para la inclusión del PTP. Como la solubilidad de la β -ciclodextrina es relativamente baja, además se utilizarán ciclodextrinas modificadas en los grupos hidroxilos, ya sea por un metilo o hidroxipropil, los cuales corresponden a (2,6-di-*o*-metil)- β -ciclodextrina DM β CD y (2-Hidroxipropil)- β -ciclodextrina HP β CD respectivamente.

Las moléculas a utilizar de CDs se muestran en Figura 3:

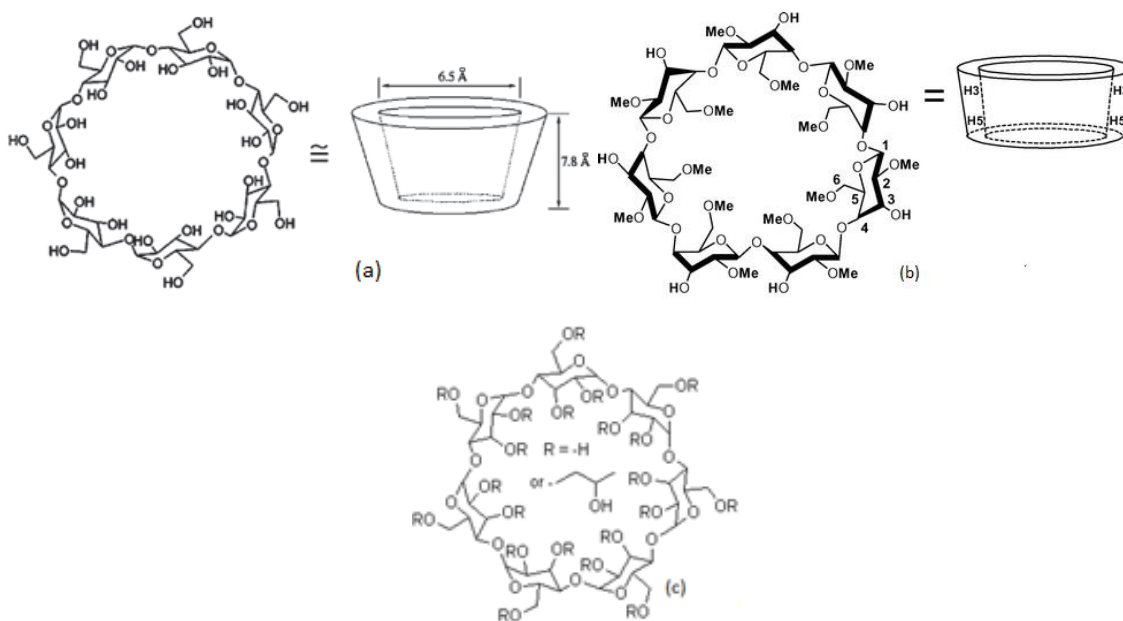


Figura 3. (a) βCD, (b) (2,6-di-O-metil)- βCD, (c) (2-Hidroxipropil)- βCD.

Estudios interesantes hoy en día corresponden el de detectar y cuantificar la presencia de iones metálicos, aun cuando éstos se encuentren en bajas concentraciones. Una de las técnicas utilizadas corresponden a la espectroscopia de fluorescencia, ya que, existen moléculas que al enlazarse a ciertos metales pueden cambiar su fluorescencia, ya sea aumentado o disminuyendo su intensidad. El PTP corresponde a esta especie de quimiosensor fluorescente.¹⁶

Los sensores fluorescentes son selectivos para ciertos metales, en el caso de este trabajo el ligando a utilizar (PTP) se ha demostrado que es selectivo principalmente para tres iones metálicos, cobre (Cu^{+2}), níquel (Ni^{+2}) y hierro (Fe^{+2}),¹⁷ a pesar que estos metales son esenciales para la vida en cantidades trazas, un exceso produce daños tanto a nivel ambiental como en los seres vivos.

El cobre es un metal que se encuentra en la naturaleza, principalmente como sulfuro, es usado ampliamente en la actualidad en la industria y la agricultura. El cobre puede ser encontrado a niveles trazas en comidas, en agua y en el aire en forma de material particulado (Cu^0). Pero un exceso puede provocar contaminación, la cual se produce principalmente por la industria que se dedica a la refinación de este metal, ya que, contamina los suelos e interviene negativamente con la actividad de microorganismos y lombrices, afectando la flora y fauna, además de las aguas residuales que pueden contaminar lugares aledaños. Las exposiciones a largo plazo con este metal pueden producir irritación en la nariz, boca y ojos, además de causar dolor de cabeza, mareos y diarreas entre otros, pero si se presenta una exposición mayor produce daño al hígado y riñones llegando a incluso a producir la muerte.¹⁸

El níquel es un elemento importante el cual presenta usos a nivel industrial y procesos catalíticos principalmente. Aunque este metal se encuentra en pequeñas cantidades y no es tóxico, en grandes cantidades produce acumulación en el cuerpo humano llegando a producir fibrosis pulmonar, problemas al corazón y daño a los riñones.¹⁹

El hierro es un metal que existe en gran cantidad en el planeta y es esencial que se encuentre en el cuerpo humano, ya que, participa en el transporte y almacenamiento de oxígeno, transferencia de electrones y fijación de nitrógeno. Pero en exceso de hierro puede producir daños a los tejidos y órganos, además un exceso de este metal se asocia a algunas enfermedades neurodegenerativas como el Parkinson.²⁰

Por tanto, aunque estos metales de transición intervienen en niveles trazas en el organismo, tanto de seres humanos como en la flora y la fauna, una gran concentración puede producir contaminación y provocar los efectos anteriormente mencionados, estos problemas podrían ser solucionados con la utilización de sensores fluorescentes.

Por todo lo anteriormente descrito el objetivo de este trabajo es el estudio de las interacciones de la 3-(2-piridil)-[1,2,3]triazolo[1,5-*a*] piridina con Cu^{+2} , Ni^{+2} y Fe^{+2} , en presencia de las ciclodextrinas nativa y derivatizada, para mejorar la solubilidad del PTP en solución acuosa y estudiar la posibilidad de utilizar este ligando como un sensor químico de los metales en sistemas biológicos a futuro.

2. Hipótesis

Es conocido que existen metales que al unirse a una determinada molécula pueden cambiar la fluorescencia de la molécula a la cual se une.

El ligando triazolopiridina (PTP) es una molécula fluorescente apolar la cual tiene un tamaño adecuado para ser incluida en la cavidad apolar de las ciclodextrinas.

Las ciclodextrinas son anillos de azúcares los cuales forman una cavidad apolar y en su exterior polar, lo que hace que moléculas orgánicas con baja solubilidad en solución acuosa se incluyan en la cavidad de las ciclodextrinas cambiando algunas de sus propiedades.

Por tanto, debido a lo anteriormente mencionado incluir la triazolopiridina dentro de las diferentes ciclodextrinas (β CD, DM β CD y HP β CD) cambiarían sus propiedades y esto podría reflejarse en una mejora en las características sensoras del complejo ternario formado con los iones metálicos Cu^{+2} , Ni^{+2} y Fe^{+2} .

3. Objetivos

3.1- Objetivos generales:

- Estudiar el efecto de los iones metálicos Cu^{+2} , Ni^{+2} y Fe^{+2} sobre el complejo triazolopiridina-ciclodextrina.

3.2- Objetivos específicos:

- Formación de complejo de inclusión PTP con las diferentes β CD, DM β CD y HP β CD en solución y en estado sólido.
- Determinar las constantes de asociación de los complejos ternarios (PTP-CD- M^{+2}) formados a diferentes temperaturas.
- Determinar los parámetros termodinámicos de los complejos ternarios.
- Estudiar el efecto de los iones metálicos sobre los complejos de inclusión por RMN.

4. Materiales y métodos

4.1- Materiales

4.1.1- Reactivos

- Triazolopiridina 3-(2-piridil)-[1,2,3]triazolo[1,5-*a*] piridina (PTP).
- β -ciclodextrina (β CD), minimum 98%. Sigma.
- 2-Hidroxipropil β -ciclodextrina (HP β CD). Aldrich Chemistry.
- Heptakis (2,6-dimetil) β -ciclodextrina (DM β CD). Sigma.
- Buffer HEPES pH 7.4
- Metanol grado analítico (CH₃OH).
- Iones metálicos:
 - Perclorato de cobre (II) hexahidratado (Cl₂CuO₈*6H₂O). Aldrich Chemistry.
 - Perclorato de níquel (II) hexahidratado (Cl₂NiO₈*6H₂O). Aldrich Chemistry.
 - Perclorato de hierro (II) hidratado (Cl₂FeO₈*H₂O). Aldrich Chemistry.
- Oxido de deuterio (D₂O) Higroscópico 99,9% de átomos de D. Aldrich Chemistry.
- Agua ultra pura (miliQ).

4.1.2- Equipos

- Los espectros de Absorción Molecular fueron obtenidos en un equipo Agilent 8453. Las celdas utilizadas fueron de cuarzo con paso óptico de 1 cm.
- Los espectros de emisión, se registraron en un Espectrómetro de Luminiscencia Perkin Elmer LS 55, en celdas de cuarzo de 1 cm de paso óptico, acoplado a baño termostático marca Lauda modelo Alpha Ra 8. El software correspondiente al equipo es FL Winlab.
- Baño termostático con vibración Thermo Scientific modelo 2875, durante 24 horas en condiciones de temperatura controlada.
- Liofilizador Labconco Freezone 2,5.
- Para la determinación del sitio de unión de los complejos con los iones metálicos se utilizó un equipo de RMN Bruker Avance III HD que opera a una frecuencia 300,13 MHz para protones.

5. Metodología

5.1- Complejos de inclusión PTP- β CD, PTP-DM β CD y PTP-HP β CD en solución.

La preparación de los complejos de inclusión se realizó mediante la adición de cantidades necesarias de PTP y las diferentes CDs en frascos ámbar y llevados a un baño termorregulado con agitación, a diferentes temperaturas y condiciones controladas durante 24 horas. Se utilizó una relación de exceso de ciclodextrina para asegurarse que PTP se encuentre totalmente incluido en la ciclodextrina.

Se preparó una solución de 10 ml de las diferentes ciclodextrinas (0,01 M), con buffer Hepes a pH 7,4 y una solución stock con el ligando de 1 mg en 5 ml de metanol ($1,06 \times 10^{-3}$ M), con estas soluciones se prepararon las soluciones a continuación:

Tabla 1. Diferentes soluciones para la producción de los complejos.

N° frasco	PTP (μ L)	β CD (μ L)	buffer Hepes 7.4 (μ L)
1	25	0	2700
2	25	100	2600
3	25	200	2500
4	25	300	2400
5	25	400	2300
6	25	500	2200
7	25	1000	1700
8	25	1500	1200
9	25	2000	700
10	25	2700	0

5.2- Complejos ternarios PTP- β CD, PTP-DM β CD y PTP-HP β CD en sólido.

Para la formación del complejo sólido, se prepararon soluciones de CDs y PTP mediante el siguiente procedimiento:

1. Se pesaron las cantidades necesarias de ciclodextrina con la cual se realizaría el complejo (β CD=0,11484 gr, DM β CD= 0,13354 gr y HP β CD= 0,15521 gr) y PTP (0,02002 gr; 0,01967 gr y 0,01994 gr para los complejos con β CD, DM β CD y HP β CD, respectivamente) para que el proceso de inclusión fueran de 1:1, por lo que se prepararon $1,00 \times 10^{-4}$ moles de cada molécula (PTP y ciclodextrina)
2. Las ciclodextrina utilizada se disolvió en 10 ml de agua miliQ en un matraz.
3. El PTP al ser insoluble en agua se disolvió en 5 ml de metanol y posteriormente se colocó en una bureta.
4. Se adicionó el ligando sobre la ciclodextrina de manera lenta (regulando la bureta con una gota por cada 7 segundos) con agitación constante y calentamiento de no más 50° C.
5. Una vez adicionado todo el ligando se mantiene con agitación y temperatura controlada a 50°C aproximadamente por 12 horas. Una vez evaporado todo el metanol se retira del calentamiento y se deja enfriar a temperatura ambiente y luego se lleva al congelador.
6. Una vez congelado se retira del congelador y se coloca en el liofilizador por 24 horas. El sólido obtenido se caracteriza por RMN para verificar que el complejo esta puro y con una relación 1:1.

5.3- Complejos ternarios PTP- β CD, PTP-DM β CD y PTP-HP β CD con los diferentes iones metálicos.

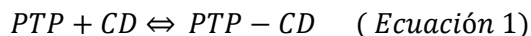
Se preparó el complejo PTP-CD 1: 10 donde las concentraciones para [PTP]= $1,00 \times 10^{-5}$ M y [CDs]= $1,00 \times 10^{-4}$ M, esto fue realizado con las 3 ciclodextrinas estudiadas. Una vez formado el complejo se tituló con los diferentes iones metálicos, de acuerdo a la Tabla 2 con un volumen inicial de la cubeta de 2100 μ L del complejo PTP-CD con concentraciones de $\text{Cu}^{+2} = 1,16 \times 10^{-3}$ M, $\text{Ni}^{+2} = 1,05 \times 10^{-3}$ y las soluciones de Fe^{+2} de $19,0 \times 10^{-3}$ M a $19,6 \times 10^{-3}$ M.

Tabla 2. Titulación con los iones metálicos para los complejos realizados.

	Alícuotas de Cu^{+2} y Ni^{+2} μ L	Volumen total en la cubeta con Cu^{+2} y Ni^{+2} μ L	[Cu^{+2}] M en la cubeta ($\times 10^{-5}$)	[Ni^{+2}] M en la cubeta ($\times 10^{-5}$)	Alícuota de Fe^{+2} μ L	Volumen total en la cubeta con Fe^{+2} μ L	[Fe^{+2}] M en la cubeta ($\times 10^{-5}$)
1	0	2100	0	0	0	2100	0
2	10	2110	0,6	0,5	5	2105	4,60
3	10	2120	1,1	9,9	5	2110	9,30
4	10	2130	1,6	1,5	5	2115	14,0
5	10	2140	2,2	1,9	5	2120	18,5
6	20	2160	3,2	2,9	10	2130	27,6
7	20	2180	4,3	3,9	10	2140	36,6
8	20	2200	5,3	4,8	10	2150	45,6
9	20	2220	6,3	5,7	10	2160	54,4
10	40	2260	8,2	7,4	20	2180	71,9
11	40	2300	10	9,1	20	2200	89,1
12	40	2340	12	11	20	2220	106

5.4- Determinación de las constantes de asociación.

La formación de complejos de inclusión es una reacción de equilibrio en la cual la molécula huésped (PTP) se incluye dentro de las ciclodextrinas:



La constante de asociación (K_a) se define:

$$K_a = \frac{[PTP - CD]}{[PTP][CD]} \quad (\text{Ecuación 2})$$

Donde [PTP] corresponde a la concentración del ligando, [CD] a la concentración de la ciclodextrina y [PTP-CD] es la concentración del complejo formado, a través de la ecuación anterior (2) un mayor valor de K_a indica una mayor formación de complejo de inclusión.

La constante de asociación es un parámetro muy importante para el estudio de este tipo de complejos la cual se puede obtener de dos maneras:

- Si la formación del complejo es 1:1 o que una de las especies se encuentre en exceso K_a se puede obtener mediante la ecuación lineal de Benesi- Hildebrand (ecuación 3).

$$\frac{1}{F - F_0} = \frac{1}{K_a(F_\infty - F_0)[\beta CD]_0} + \frac{1}{(F_\infty - F_0)} \quad (\text{Ecuación 3})$$

Donde:

F= Intensidad de fluorescencia.

F_0 = Intensidad de fluorescencia en ausencia de β CD.

F_∞ = Intensidad de fluorescencia cuando el ligando se encuentra totalmente en el complejo.

K_a = Constante de asociación.

$[\beta CD]_0$ = Concentración de β CD inicial.

- En el caso de que la formación del complejo no sea 1:1 o que una de las especies que conforman el complejo no se encuentre en exceso, se puede utilizar la ecuación del método no lineal (ecuación 4) :

$$F = F_0 + \frac{(F_\infty - F_0)K_a[\beta CD]_0}{1 + K_a[\beta CD]_0} \quad (\text{Ecuación 4})$$

La ecuación del método no lineal es solo un arreglo de la ecuación de Benesi-Hilderbrand.

Las constantes de asociación se determinaron mediante el método no lineal utilizando espectroscopia de fluorescencia. Se determinaron las constantes de asociación esperando una tendencia en los valores a las temperaturas de estudio, al obtener los valores los datos que

presentaron mejor coeficiente de determinación fueron los utilizados para el análisis. Se prepararon los complejos de inclusión anteriormente indicados en las tablas 1 y 2 a temperaturas controladas mediante un baño termostatzado.

5.5- Determinación de las propiedades termodinámicas

Se determinó las constantes de asociación a diferentes temperaturas y luego se graficó $\ln K_a$ v/s $1/T$ para determinar los valores de entropía (ΔS) y entalpía (ΔH) mediante la ecuación de Van't Hoff (ecuación 5) para los complejos ternarios.

$$\ln K_a = -\frac{\Delta H}{RT} + \frac{\Delta S}{R} \quad (\text{Ecuación 5})$$

Donde:

K_a = Constante de asociación.

T= Temperatura en Kelvin.

ΔH = Entalpía.

ΔS = Entropía.

R= Constante de los gases 8,314 J/K mol.

La ecuación 5 se presenta como una función lineal entre el logaritmo natural de la constante de asociación (K_a) y el inverso de la temperatura ($1/T$), en la cual a través de la pendiente y el intercepto se obtiene ΔH y ΔS respectivamente.

Con los valores anteriormente obtenidos se calcula ΔG mediante la ecuación de energía libre de Gibbs (ecuación 6), donde la temperatura corresponde a 298 K (25°C).

$$\Delta G^\circ = \Delta H^\circ - T\Delta S^\circ \quad (\text{Ecuación 6})$$

5.6- Estudio por RMN de los complejos PTP-CDs con los diferentes metales.

Para la realización de los espectros de $^1\text{HRMN}$ se realizaron soluciones con los complejos solidos liofilizados, de concentración $5,00 \times 10^{-3}$ M en 700 μL agua deuterada de los cuales fueron titulados con soluciones de los diferentes iones metálicos y se registraron los espectros después de cada adición con concentraciones:

- $\text{Cu}^{+2} = 7,00 \times 10^{-5}$ M y $7,00 \times 10^{-4}$ M.
- $\text{Ni}^{+2} = 7,10 \times 10^{-3}$ M
- $\text{Fe}^{+2} = 7,00 \times 10^{-4}$ y $7,00 \times 10^{-3}$ M.

Las adiciones en las titulaciones fueron principalmente de 10 μL .

6. Resultados y discusión

6.1- Caracterización espectroscópica de PTP.

Se realizó un espectro de absorción para el PTP en metanol y un espectro de fluorescencia para el PTP en buffer Hepes. El espectro de la Figura 4 muestra los espectros superpuestos de absorción y emisión de fluorescencia en el cual el de absorción se observan dos bandas una de mayor energía centrada en 218 nm y otra de menor energía, bastante ancha a 304 nm. La banda a mayor longitud de onda es la utilizada para excitar en el espectrofotómetro de fluorescencia, ya que, indica que al ser irradiada por la luz visible al pasar del estado fundamental al estado excitado presenta menor energía, por tanto para volver a su estado basal presenta menos posibilidad de perder la emisión de fluorescencia por otro tipo de transferencia de energía no radiativa.

El espectro de fluorescencia presenta un pick con un máximo de 408, en el cual los parámetros para su obtención corresponden a la longitud de onda de excitación de 304 nm, el barrido se realizó entre 320 y 550 nm, slit de excitación 15 nm y slit de emisión 10 nm.

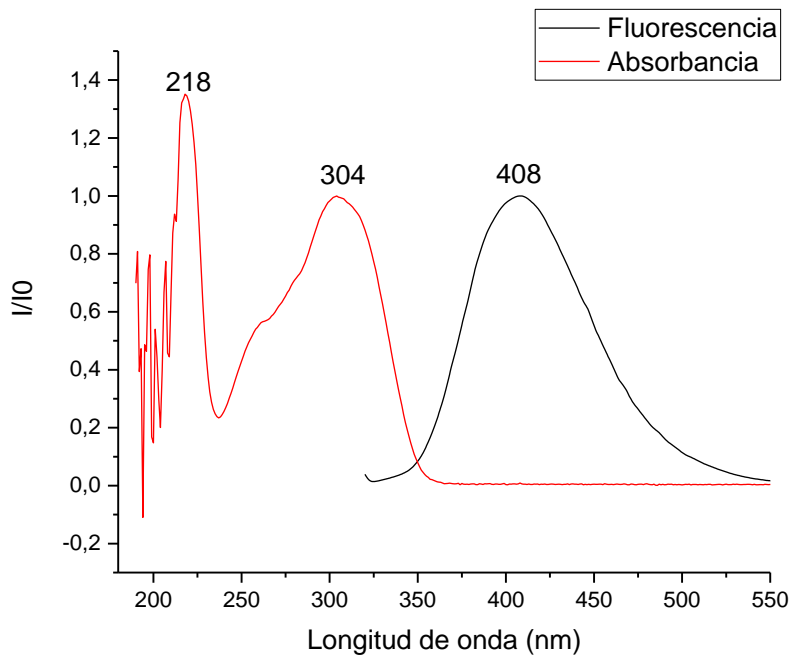


Figura 4. Espectros de absorción y fluorescencia para el PTP.

El gráfico fue normalizado respecto al máximo de absorción a mayor longitud de onda 304 nm y el máximo de fluorescencia a 408 nm.

Para corroborar que los análisis a realizar con los iones metálicos y las CDs no presentan algún filtro interno que afecte a los análisis de fluorescencia, se realizaron los espectros de absorbancia que se presentan en la Figura 5 con concentraciones de:

- Para los iones metálicos: Cu^{+2} de 1,94 mM; Ni^{+2} de 3,96 mM; Fe^{+2} de 2,58 mM.
- Para las CDs: βCD de 1,06 mM; $\text{DM}\beta\text{CD}$ de 0,38 mM; $\text{HP}\beta\text{CD}$ de 9,41 mM.

Mediante la figura 5 se puede visualizar a la longitud de onda de 304 nm correspondiente al máximo de absorbancia del PTP no se aprecia ninguna señal, por tanto, los espectros no son afectados por los iones metálicos ni las CDs.

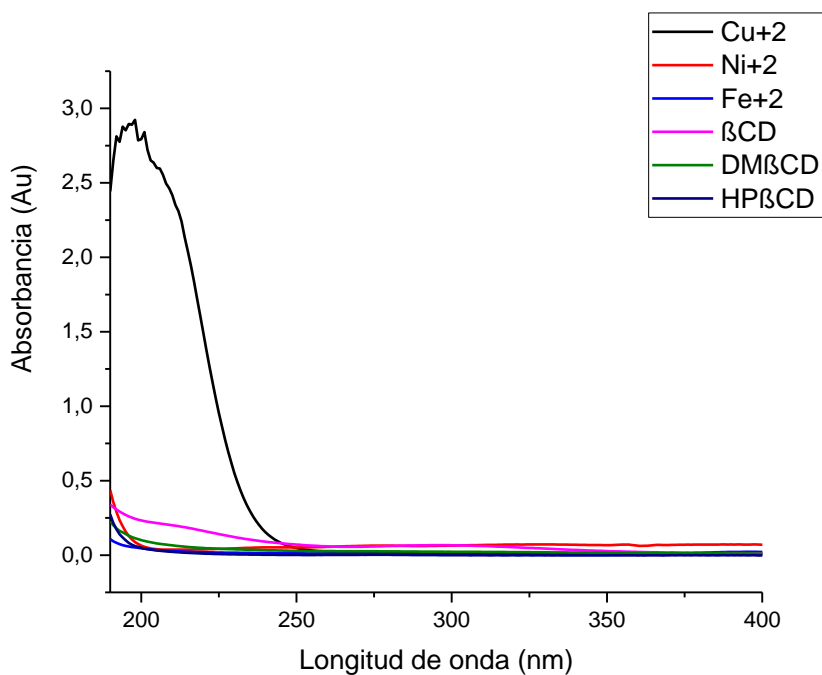


Figura 5. Espectros de absorbancia para los iones metálicos de Cu^{+2} , Ni^{+2} , Fe^{+2} y para las diferentes ciclodextrinas.

6.2- Determinación de la constante de asociación para PTP- β CD a diferentes temperaturas.

Se registró el espectro de fluorescencia para PTP y posteriormente los con β CD, como se aprecia en la Figura 6 de acuerdo a la Tabla 1. Los parámetros corresponden a los anteriormente mencionados con agitación constante y en cubetas de cuarzo de 1 cm.

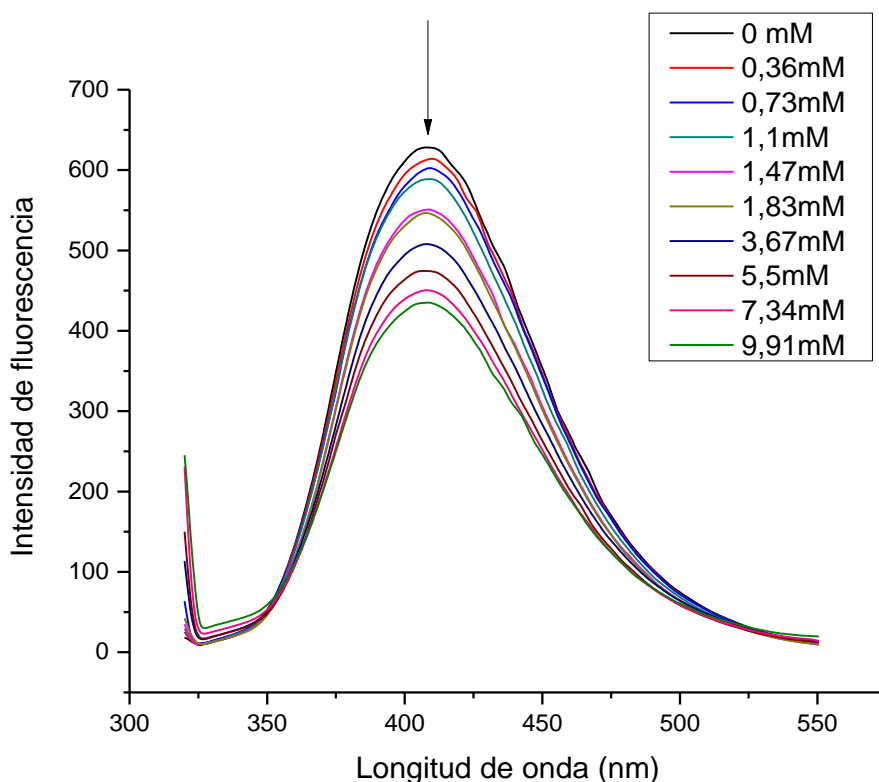


Figura 6. Espectro de fluorescencia de PTP (concentración del ligando en la cubeta de $9,7 \times 10^{-6}$ M) con concentraciones de 0 a 0,01 M de β CD a 25°C .

En el gráfico de la Figura 6 se puede observar que a medida que aumenta la concentración de ciclodextrina la intensidad de fluorescencia va disminuyendo.

Para los complejos de inclusión que se formaron entre el PTP y β CD, se determinaron las constantes de asociación a diferentes temperaturas mediante el método no lineal que se presenta en la ecuación 4. Para ello se dejaron en agitación durante 24 h a las temperaturas de 25°C , 30°C y 35°C y se registraron los espectros a temperatura constante por medio del baño termorregulado adosado al fluorímetro.

En la Figura 7, se observa el decaimiento de la fluorescencia al ir aumentando la concentración de β CD a las diferentes temperaturas.

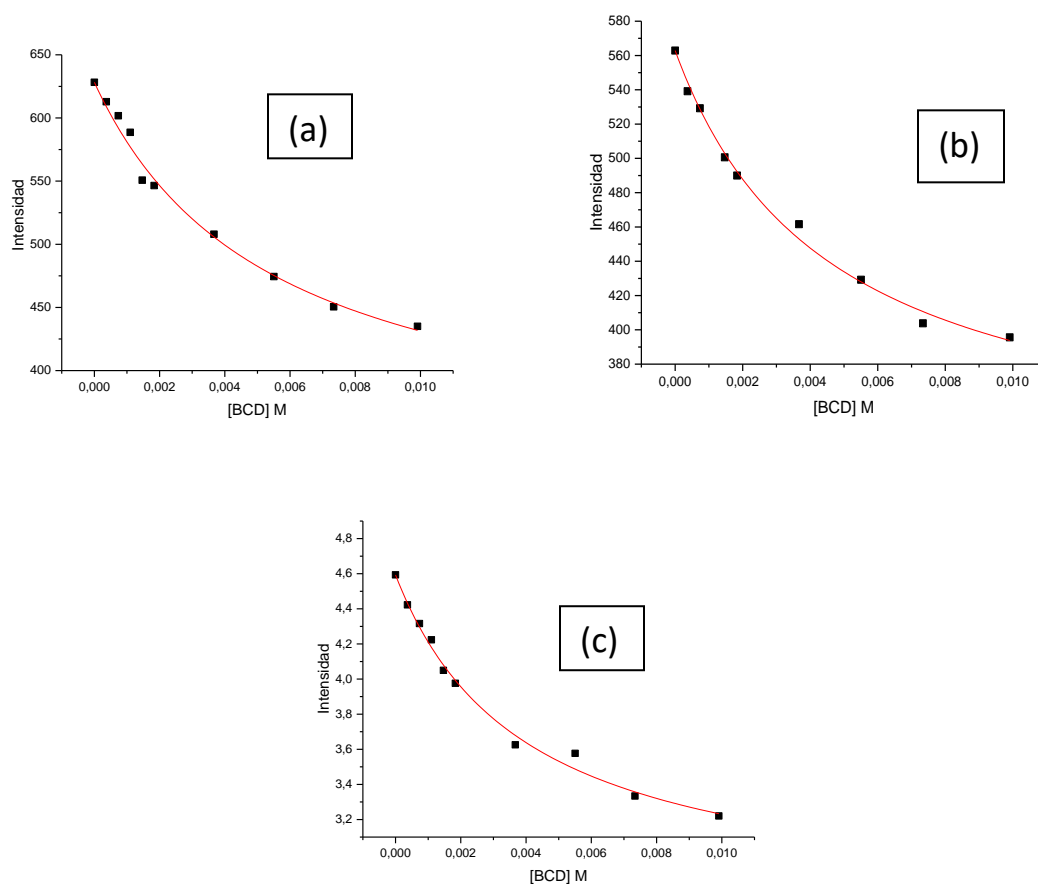


Figura 7. Método no lineal para PTP- β CD a diferentes temperaturas. (a) 25°C, (b) 30°C y (c) 35°C.

El análisis no lineal para las tres temperaturas estudiadas se encuentra en la Tabla 3, donde se observa un coeficiente de correlación R^2 0,988 – 0,993. Las constantes de asociación presentan un aumento de su valor a medida que aumenta la temperatura, por tanto, la formación de este complejo se ve favorecida con el aumento de la temperatura del sistema.

Para el análisis termodinámico se graficó el $\ln K_a$ v/s $1/T$, de acuerdo a la ecuación de Van't Hoff (ecuación 5), utilizando los datos observados en la Tabla 3.

Tabla 3. Valores de las constantes de asociación (K_a) a las temperaturas correspondientes para el complejo PTP- β CD.

Temperatura (°C)	Temperatura (K)	$1/T$ (K)	K_a (M^{-1})	R^2	$\ln K_a$
25	298	$3,355 \times 10^{-3}$	183	0,988	5,211
30	303	$3,300 \times 10^{-3}$	217	0,993	5,382
35	308	$3,246 \times 10^{-3}$	250	0,992	5,523

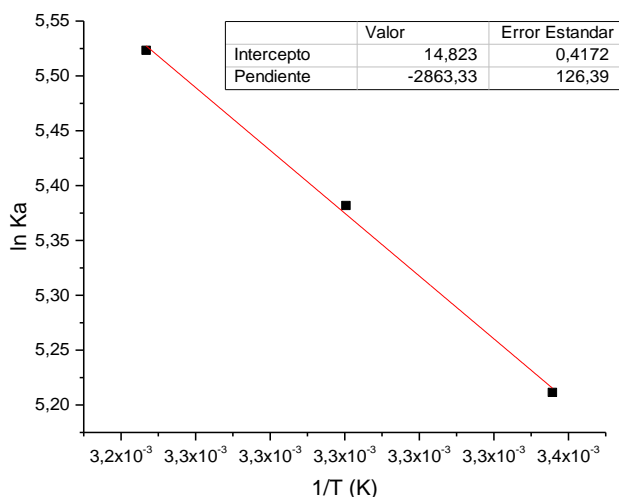


Figura 8. Gráfico de Van't Hoff para el complejo PTP-βCD.

El gráfico 8 muestra la regresión lineal para el complejo PTP-βCD, la cual presenta un valor de R^2 de 0,996. A través de los valores de pendiente e intercepto y el valor de la constante de los gases se obtiene la entalpía y la entropía. Para la obtención de la energía libre de Gibbs se determina mediante la ecuación 6, en la Tabla 4 se muestran los valores de los parámetros termodinámicos obtenidos:

Tabla 4. Valores de los parámetros termodinámicos obtenidos para el complejo PTP-βCD.

Pendiente	Intercepto	$-T\Delta S$ (kJ/mol)	ΔH (kJ/mol)	ΔS (J/mol K)	ΔG (kJ/mol)
$-2863,33 \pm 126,4$	$14,824 \pm 0,42$	$-36,714 \pm 0,003$	$23,806 \pm 1,048$	$123 \pm 3,5$	$-12,922 \pm 1,051$

El valor obtenido para la energía libre de Gibbs es negativo, por lo cual, la formación de este complejo es un proceso espontáneo y endotérmico debido a un valor de entalpía positiva, lo que indica que la formación de este complejo es favorecida a mayores temperaturas, ya que, necesita calor para desplazar el equilibrio de la ecuación 1 y formar mayor cantidad de complejo. Por otra parte, presenta un valor de entropía alto, lo que implica que la inclusión del PTP en la cavidad de la ciclodextrina, requiere un aumento de desorden del sistema debido al desplazamiento de las moléculas de solvente dentro de la cavidad de la ciclodextrina y de las que rodean al PTP.

6.3- Determinación de la constante de asociación para PTP-βCD- iones metálicos a diferentes temperaturas.

Para la titulación con los iones metálicos las concentraciones de las soluciones de Cu^{+2} y Ni^{+2} es prácticamente la misma para todas las ciclodextrinas de $1,16 \times 10^{-3}$ M y $1,05 \times 10^{-3}$ M respectivamente. En cambio las soluciones de Fe^{+2} para evitar a su oxidación (Fe^{+2} a Fe^{+3}) se prepararon cada vez que se utilizaron con concentraciones aproximadamente de $19,0 \times 10^{-3}$ M.

Los espectros de fluorescencia del complejo PTP-CD obtenidos al adicionar los iones metálicos, se registraron con una longitud de onda de excitación 304 nm, un barrido entre 320 y 550 nm, slit de 15 nm y 10 nm de excitación y emisión respectivamente, además de agitación constante.

6.3.1- Determinación de la constante de asociación para PTP-βCD- Cu^{+2} a las diferentes temperaturas.

El espectro de fluorescencia del complejo PTP-βCD disminuye su máximo de fluorescencia al ir aumentando la concentración de Cu^{+2} , de acuerdo a la Figura 9. La concentración de Cu^{+2} varió de 0 a $1,19 \times 10^{-4}$ M.

Al comparar los espectros de PTP-βCD al ser adicionado Cu^{+2} a diferentes temperaturas, todos presentan el mismo comportamiento disminuyendo la intensidad de fluorescencia al aumentar la concentración del ion metálico.

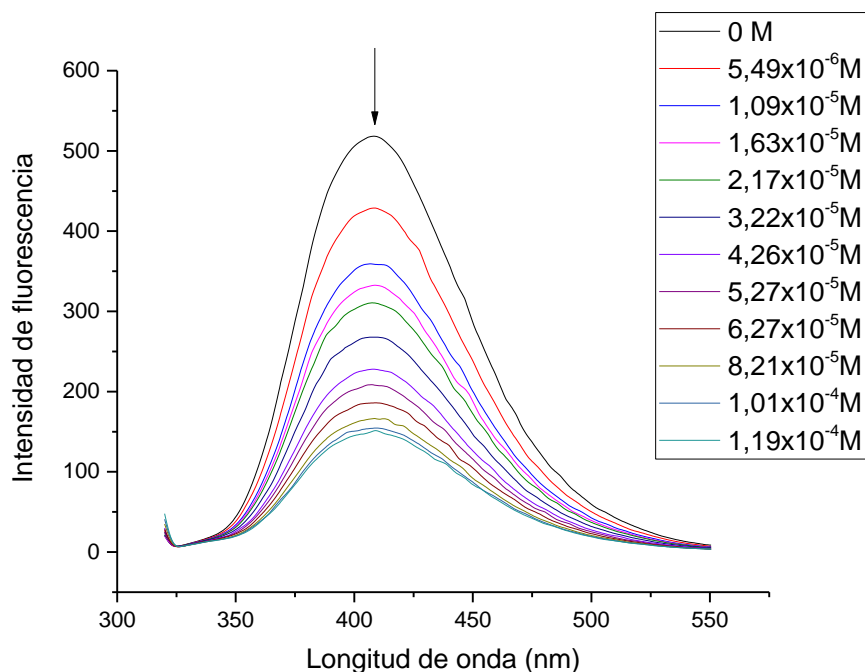


Figura 9. Espectro de fluorescencia para el complejo PTP-βCD- Cu^{+2} a 25°C.

Se determinaron las constantes de asociación del complejo ternario a diferentes temperaturas utilizando la ecuación no lineal, para ello se graficó la intensidad de fluorescencia en función de la concentración de Cu^{+2} , obteniéndose la gráfica que se aprecia en la Figura 10.

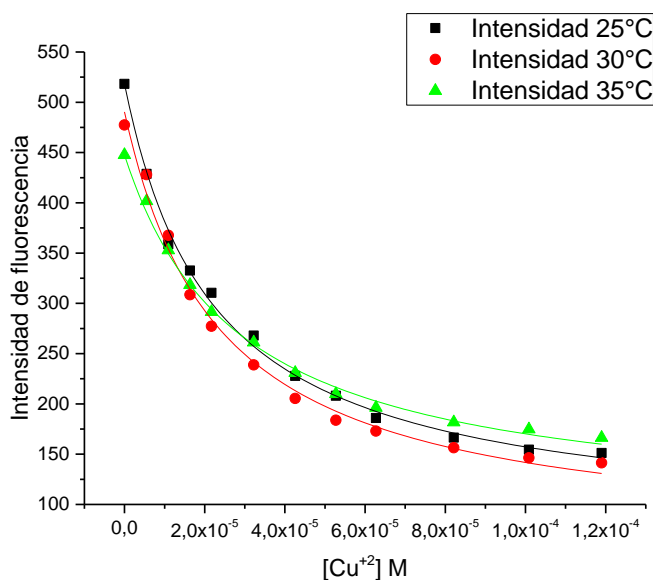


Figura 10. Regresión no lineal para PTP- β CD- Cu^{+2} a 25°C, 30°C y 35°C.

Utilizando el método no lineal se determinaron las constantes de asociación a las tres temperaturas estudiadas. Los resultados se encuentran en la Tabla 5, en la cual se observa que la constante de asociación va disminuyendo con el aumento de la temperatura, lo que se puede deducir que la formación del complejo no es favorecida con el aumento de la temperatura, ya que, el equilibrio de la reacción se desplaza a los reactantes, además las tres gráficas presentan un coeficiente de determinación aceptables (R^2 0,989-0,996) para el análisis.

Mediante los valores de las constantes de asociación y las temperaturas correspondientes se graficó de acuerdo a la ecuación de Van't Voff, la que se aprecia en la Figura 11. Esta gráfica presentó valores de la pendiente e intercepto de 2362,59 y 2,775, respectivamente y también un R^2 0,974. A través de estos valores y el de la constante de los gases se obtiene la entalpía y la entropía, para obtener luego la energía libre de Gibbs mediante la ecuación 6.

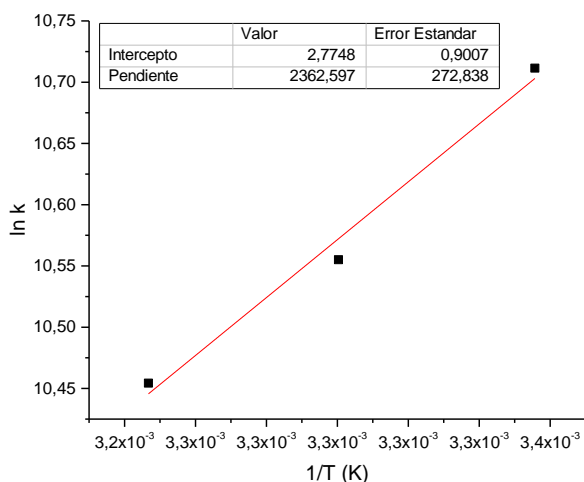


Figura 11. Gráfico de Van't Hoff para el complejo PTP-βCD-Cu²⁺.

Tabla 5. Valores de las constantes de asociación (K_a) a las temperaturas correspondientes y los valores de las propiedades termodinámicas para el complejo PTP-βCD-Cu²⁺.

Temperatura (K)	K_a (M ⁻¹)	R ²	-TΔS (kJ/mol)	ΔH (kJ/mol)	ΔS (J/mol K)	ΔG (kJ/mol)
298	44867	0,996	-6,884 ± 0,007	-19,642 ± 2,268	23,1 ± 7,4	-26,517 ± 2,275
303	38370	0,989				
308	34694	0,996				

De acuerdo a la Tabla 5, el valor de la energía libre de Gibbs es negativo, lo que indica que el proceso de inclusión de Cu²⁺ en el complejo es un proceso espontaneo, además el valor de entalpía es negativo lo que indica que es un proceso exotérmico. Por otra parte, la formación de este complejo se ve favorecida con menor temperatura, lo cual queda demostrado mediante la disminución de las constantes de asociación al aumentar la temperatura de formación de los complejos. Se observa un valor de entropía baja, pero positiva lo que podría estar indicando que la formación del complejo con Cu²⁺ no requiere de la remoción de una gran cantidad de moléculas de solvente.

6.3.2- Determinación de la constante de asociación para PTP- β CD-Ni²⁺ a diferentes temperaturas.

Al igual que el caso del Cu²⁺, al adicionar alícuotas de Ni²⁺ va disminuyendo su fluorescencia. El espectro de la Figura 12 representa al complejo PTP- β CD al ir aumentando la concentración de Ni²⁺. Al graficar la intensidad de fluorescencia del complejo en función de la concentración de Ni²⁺ a diferentes temperaturas, los tres gráficos presentan el mismo comportamiento de disminuir la intensidad de fluorescencia al aumentar la concentración del ion metálico como se aprecia en la Figura 13.

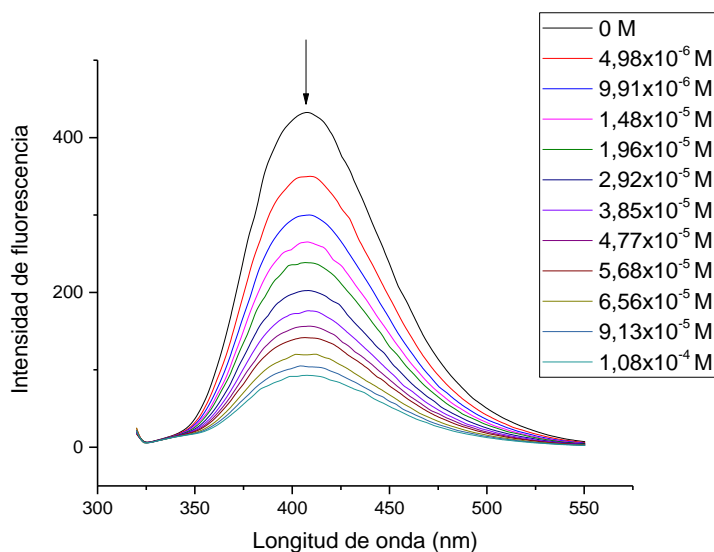


Figura 12. Espectro de fluorescencia para el complejo PTP- β CD-Ni²⁺ a 25°C.

Se determinaron las constantes de asociación del complejo ternario a diferentes temperaturas utilizando la ecuación no lineal. Los gráficos se aprecian en la Figura 13, los cuales presentan valores de R² de 0,999. Los valores obtenidos representados en la Tabla 6 muestran una disminución del valor de las constantes con el aumento de la temperatura, lo que indica que la inclusión del Ni²⁺ al complejo no es favorecida por los aumentos de temperatura, ya que, la reacción libera calor al sistema.

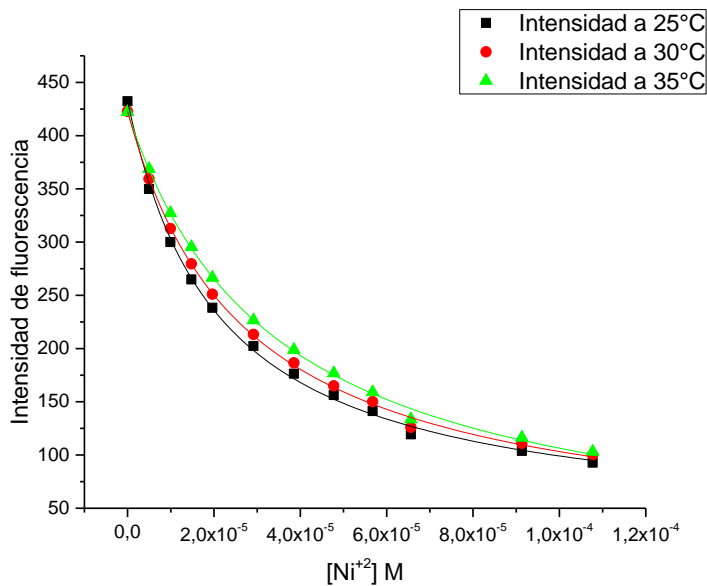


Figura 13. Regresión no lineal para PTP- β CD- Ni^{2+} a 25° C, 30°C y 35°C.

Con los valores de las constantes de asociación obtenidos y las temperaturas correspondientes se graficó $\ln K_a$ v/s $1/T$, lo cual se aprecia en la Figura 14. Esta gráfica presentó valores de pendiente e intercepto de 4433,57 y -4,096 respectivamente y un R^2 de 0,999. Utilizando los valores de pendiente e intercepto además de la constante de los gases, se obtiene la entalpía y la entropía, con lo cual mediante la ecuación 6, se calcula la energía libre de Gibbs como muestra la Tabla 6.

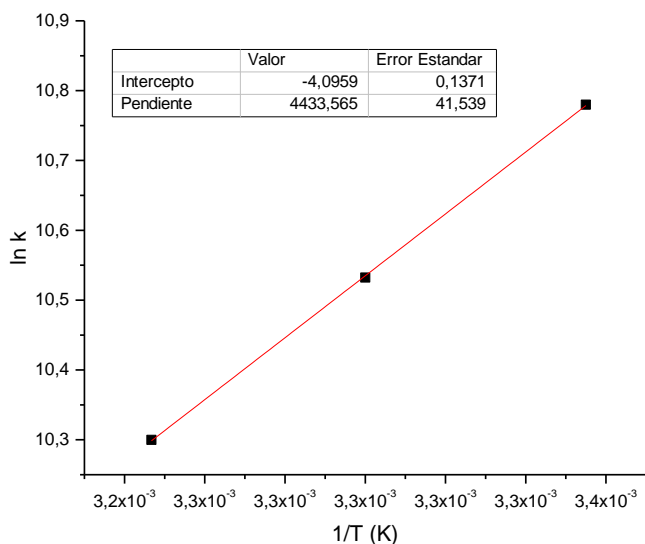


Figura 14. Gráfico de Van't Hoff para el complejo PTP- β CD- Ni^{2+} .

Tabla 6. Valores de las constantes de asociación (K_a) a las temperaturas correspondientes y valores de las propiedades termodinámicas para el complejo PTP- β CD- Ni^{+2} .

Temperatura (K)	K_a (M^{-1})	R^2	$-T\Delta S$ (kJ/mol)	ΔH (kJ/mol)	ΔS (J/mol K)	ΔG (kJ/mol)
298	48048	0,999	10,162 \pm 0,001	-36,861 \pm 0,345	-34,1 \pm 1,1	-26,713 \pm 0,346
303	37505	0,999				
308	29728	0,999				

El valor de la energía libre de Gibbs es negativo, por tanto, la formación de este complejo ternario con Ni^{+2} es espontáneo. El valor de entalpía es negativo lo que indica que es un proceso exotérmico que es favorecido a menor temperatura, el valor de la entropía es negativa y pequeña, lo que indica que el sistema no fue muy alterado al formar el complejo.

6.3.3- Determinación de la constante de asociación para PTP- β CD- Fe^{+2} a diferentes temperaturas.

El complejo PTP- β CD con adiciones Fe^{+2} de 0 a $8,91 \times 10^{-4}$ M presenta un espectro de fluorescencia que corresponde a la Figura 15, donde se observa la disminución de intensidad del máximo de fluorescencia a mayores adiciones del ion metálico.

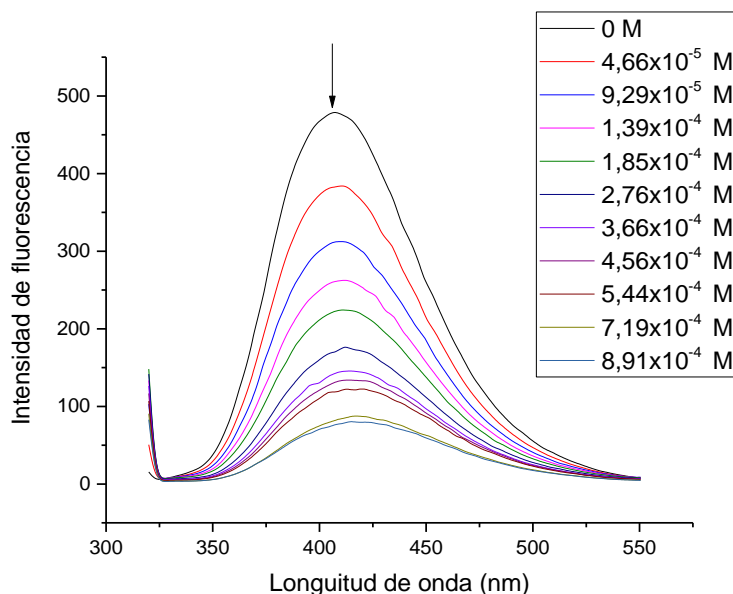


Figura 15. Espectro de fluorescencia para el complejo PTP- β CD- Fe^{+2} a 25°C, el cual fue realizado con una solución stock de $19,6 \times 10^{-3}$ M.

Se determinaron las constantes de asociación del complejo ternario con Fe^{+2} a diferentes temperaturas. Por medio de la gráfica intensidad de fluorescencia v/s concentración de ion metálico, se obtuvieron las K_a utilizando la ecuación no lineal, el apagamiento de fluorescencia por efecto del ion metálico se observa en la Figura 16.

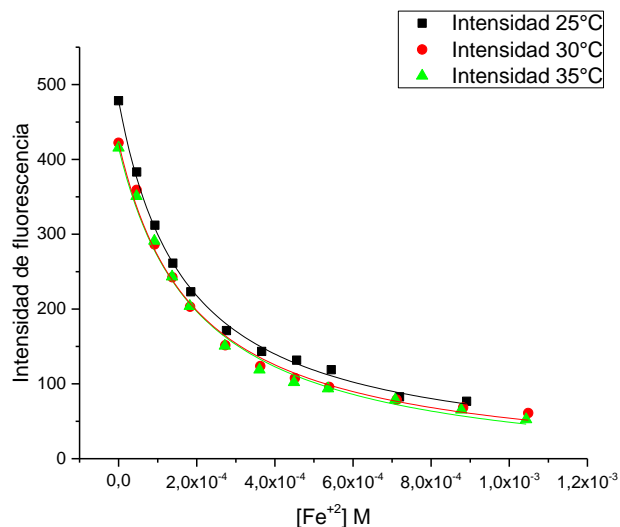


Figura 16. Regresión no lineal para PTP- β CD- Fe^{+2} a 25°C, 30°C y 35°C.

Con las regresiones realizadas mediante la ecuación no lineal, se obtuvieron las respectivas constantes de asociación que se muestran en la Tabla 7, las cuales presentan valores de R^2 adecuados (0,998-0,993). Se observa que las constantes de asociación van disminuyendo a medida que aumenta la temperatura, por lo que, la formación del complejo con la adición de este ion metálico se ve favorecida con menor temperatura.

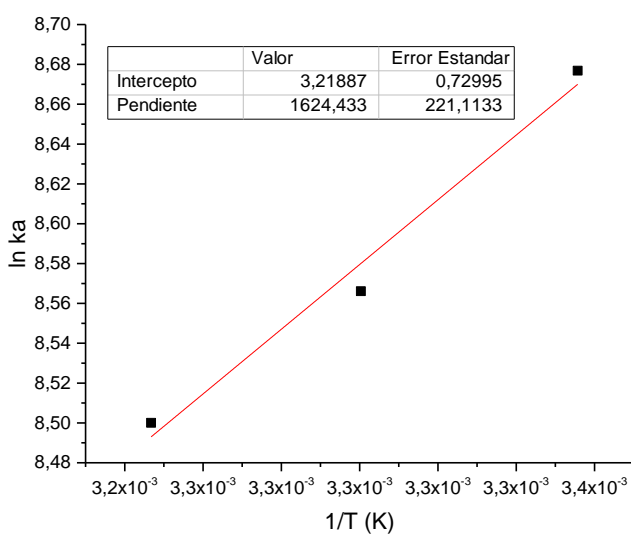


Figura 17. Gráfico de Van't Hoff para el complejo PTP- β CD- Fe^{+2} .

Nuevamente es posible obtener los datos de los parámetros termodinámicos de la formación del complejo ternario, para ello se grafica $\ln K_a$ en función del inverso de la temperatura en grados Kelvin. La regresión lineal de la Figura 17 presenta un R^2 de 0,964, obteniéndose los valores de pendiente e intercepto de 1624,43 y 3,218 respectivamente, con lo que se obtiene la entalpía y la entropía, para un posterior cálculo de ΔG , los cuales se presentan en la Tabla 7.

Tabla 7. Valores de las constantes de asociación (K_a) y valores de las propiedades termodinámicas para el complejo PTP- β CD- Fe^{+2} .

Temperatura (K)	K_a (M^{-1})	R^2	$-T\Delta S$ (kJ/mol)	ΔH (kJ/mol)	ΔS (J/mol K)	ΔG (kJ/mol)
298	5865,44	0,998	$-7,986 \pm 0,006$	$-13,506 \pm 1,838$	$26,8 \pm 6,1$	$-21,481 \pm 1,844$
303	5250,82	0,993				
308	4915,15	0,993				

De acuerdo a los valores obtenidos, podremos decir que la formación del complejo con Fe^{+2} es un proceso espontáneo y exotérmico por el valor negativo de ΔG y ΔH , lo que indica que esta reacción libera energía al sistema. Su valor de entropía es positivo pero pequeño, por tanto, la perturbación al incluir al ion de hierro en el complejo no es grande. Por tanto, se podría decir que la formación del complejo ternario con Fe^{+2} predominan las interacciones entálpicas.

Al analizar los valores termodinámicos obtenidos mediante la titulación con los diferentes iones metálicos en el complejo con β CD se produce un comportamiento similar, en el cual los tres metales presentan comportamiento exotérmico al presentar una entalpía negativa. Los valores de la entropía son similares en magnitud y para los tres complejos estudiados corresponden a procesos espontáneos.

A continuación se presentara una descripción grafica comparativa de los parámetros termodinámicos obtenidos para los complejos de PTP- β CD, Figura 18.

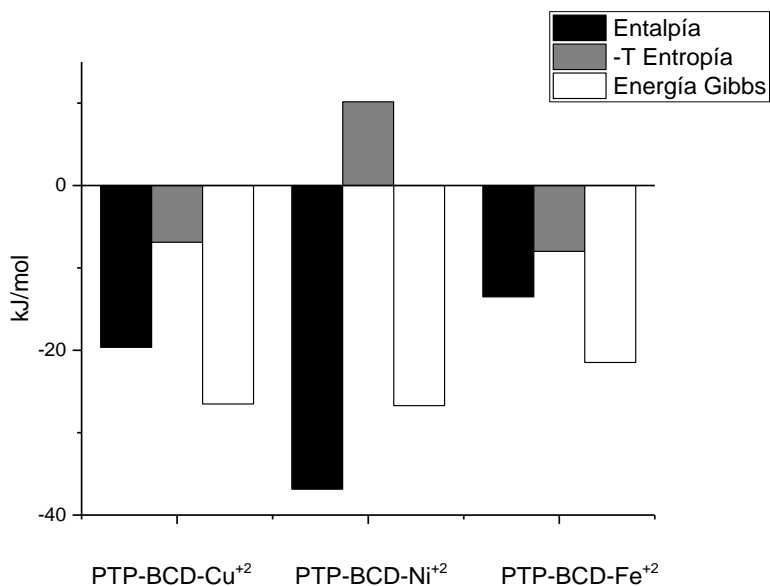


Figura 18. Contribución de la entalpía (ΔH) y entropía (ΔS) a la energía libre de Gibbs.

Al comparar los complejos PTP- β CD con los diferentes iones metálicos, se aprecia que todos los complejos son espontáneos, ya que, ΔG es negativo. El valor de la entalpía es negativa y presenta valores de -19,642, -36,861 y -13,506 kJ/mol para los complejos ternarios con Cu^{+2} , Ni^{+2} y Fe^{+2} respectivamente, este parámetro es al cual se le atribuye la espontaneidad de la reacción en todos los casos, cada valor presenta un variación el cual no fue representado en el gráfico, ya que, lo que se pretendía con él es visualizar los parámetros predominantes. Sin embargo en el caso de Cu^{+2} y Fe^{+2} también contribuye la entropía. Con respecto a la entropía, presentan valores bajos e incluso en el caso del níquel un valor negativo, debido a que las moléculas no presentan mayor movimiento dentro del sistema.

6.4- Determinación de la constante de asociación para PTP-DM β CD a diferentes temperaturas.

Para el caso de estudio con la DM β CD, el comportamiento es muy similar que con la β CD. La intensidad de fluorescencia de PTP al aumentar la concentración en DM β CD disminuye su intensidad y este comportamiento es el mismo para las tres temperaturas estudiadas.

Para los complejos de inclusión que se formaron entre el PTP y DM β CD, se determinaron las constantes de asociación a 25°C, 30°C y 35°C mediante el método no lineal. Para la realización de estos complejos se dejaron en agitación constante durante 24 h y posteriormente se registraron los espectros.

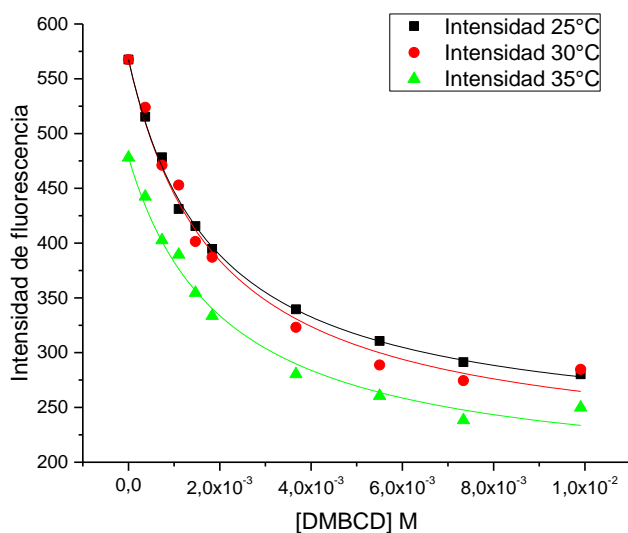


Figura 19. Regresión no lineal para PTP-DM β CD a 25°C, 30°C y 35°C.

En la Figura 19, se observa la disminución de la intensidad de fluorescencia en función de la concentración de DM β CD. Realizando el análisis no lineal con la ecuación 4, se obtienen las constantes de asociación, Tabla 8. Con la obtención K_a los valores muestran una disminución a medida que aumenta la temperatura, lo que indica que este complejo no le favorece el aumento de temperatura, además los valores de R^2 obtenidos son aceptables para el análisis.

Posteriormente se graficó de acuerdo a la ecuación de Van't Hoff para la obtención de los parámetros termodinámicos, Figura 20 presentando un R^2 0,973. Por medio de la pendiente e intercepto se estimó ΔH y ΔS con valores de 1175,36 y 2,349 respectivamente.

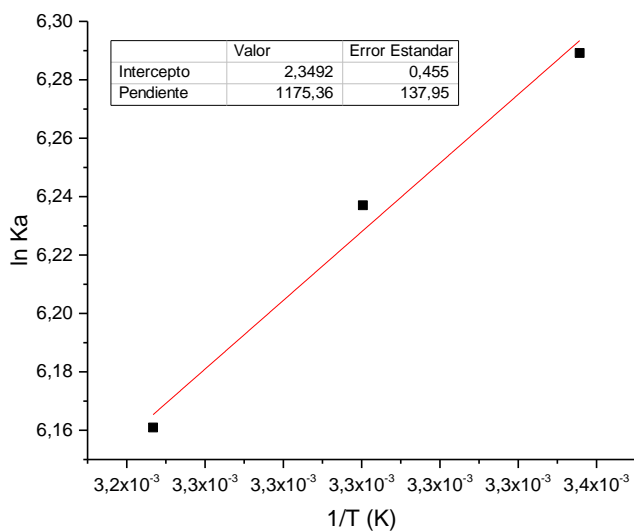


Figura 20. Gráfico de Van't Hoff para el complejo PTP-DMβCD.

Tabla 8. Valores de las constantes de asociación (K_a) a sus temperaturas correspondientes y valores de las propiedades termodinámicas para el complejo PTP-DMβCD.

Temperatura (K)	K_a (M^{-1})	R^2	$-T\Delta S$ (kJ/mol)	ΔH (kJ/mol)	ΔS (J/mol K)	ΔG (kJ/mol)
298	538	0,997	$-5,811 \pm 0,004$	$-9,772 \pm 1,147$	$19,5 \pm 3,8$	$-15,592 \pm 1,151$
303	511	0,986				
308	473	0,987				

La energía libre de Gibbs es negativa lo cual indica que es un proceso espontaneo y exotérmico, ya que, su entalpía es negativa lo que indica que la formación del complejo libera energía al sistema y no es favorecido con el aumento de la temperatura, el valor de la entropía es positivo pero pequeño lo que indica que existe una perturbación en el sistema al incluir la molécula huésped pero no es demasiado grande.

6.5- Determinación de la constante de asociación para PTP-DM β CD-iones metálicos a diferentes temperaturas.

6.5.1- Determinación de la constante de asociación para PTP-DM β CD-Cu⁺² a diferentes temperaturas.

La Figura 21 representa al espectro de intensidad de fluorescencia para el complejo PTP-DM β CD con diferentes concentraciones de Cu⁺² agregado que varían de 0 a 1,20x10⁻⁴ M, en el cual se aprecia que va disminuyendo la intensidad del máximo de fluorescencia al adicionar alícuotas del ion metálico.

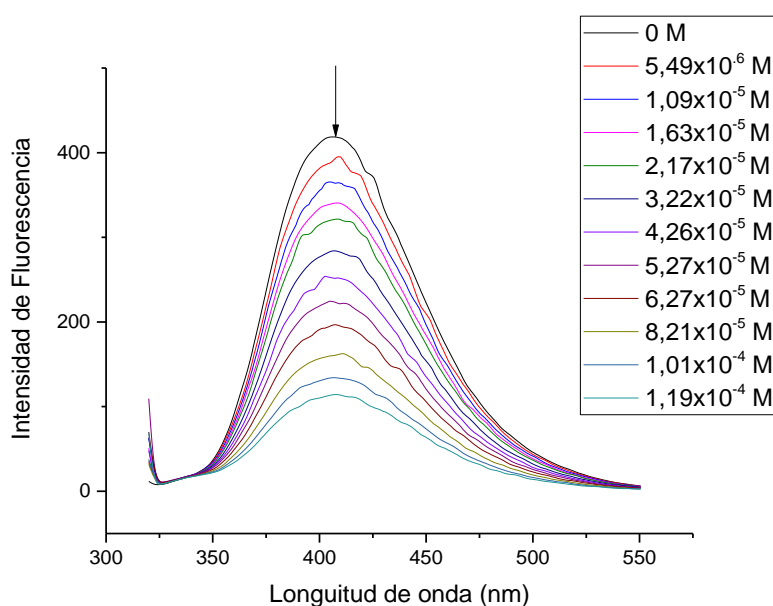


Figura 21. Espectro de intensidad de fluorescencia para el complejo PTP-DM β CD con Cu⁺² a 25°C.

Con la ecuación no lineal, ecuación 4, se determinaron los valores de las constantes de asociación a diferentes temperaturas. Para ello se realizó el análisis de la intensidad de fluorescencia en función de la concentración de Cu⁺², Figura 22. Las constantes de asociación obtenidas se resumen en la Tabla 10, las cuales presentan valores muy buenos de R² para el análisis, ya que, los datos se ajustan de gran manera a la ecuación 4.

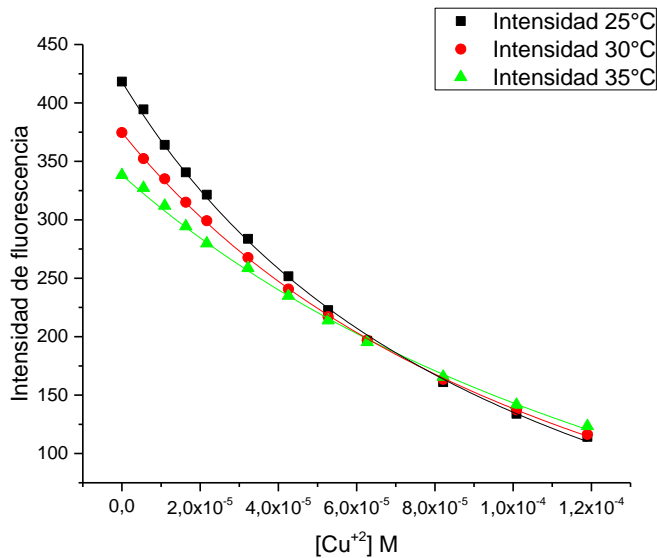


Figura 22. Regresión no lineal para PTP-DM β CD-Cu⁺² a 25°C, 30°C y 35°C.

Las constantes de asociación presentan una disminución de su valor a medida que aumenta la temperatura, por tanto, esta titulación no es favorecida con mayor temperatura.

Con la ecuación 5 se realizó la regresión lineal para la determinación de los parámetros termodinámicos que se presenta en la Figura 23. La recta obtenida, presenta un R^2 de 0,964 el cual es bastante bueno, los valores de pendiente e intercepto obtenidos de 5513,81052 y -9,3165 permitieron obtener ΔH y ΔS los cuales se presentan en la Tabla 9.

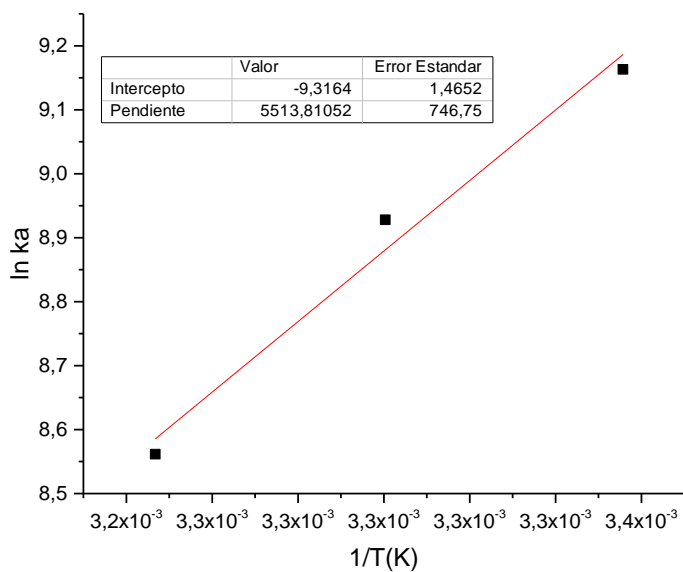


Figura 23. Gráfico de Van't Hoff para el complejo PTP-DM β CD-Cu⁺².

Tabla 9. Valores de las constantes de asociación a las temperaturas correspondientes y valores de las propiedades termodinámicas de complejo PTP-DM β CD-Cu⁺².

Temperatura (K)	K _a (M ⁻¹)	R ²	-T Δ S (kJ/mol)	Δ H (kJ/mol)	Δ S (J/mol K)	Δ G (kJ/mol)
298	9539	0,999	23,083 \pm 0,012	-45,842 \pm 6,208	-77,5 \pm 12,2	-22,759 \pm 6,220
303	7539	0,999				
308	5227	0,998				

Con los valores de Δ H y Δ S obtenidos, se determinó el valor de Δ G el cual indica que el complejo PTP-DM β CD-Cu⁺² es un proceso espontaneo y además exotérmico, debido a que los valores de Δ G y Δ H son negativos, por tanto, es favorecida la formación del complejo cuando no se aplica calor del sistema a la reacción. Además, presenta un valor de entropía negativo, por tanto, el sistema no debe presentar demasiada perturbación en la formación del complejo ternario.

6.5.2- Determinación de la constante de asociación para PTP-DM β CD-Ni⁺² a diferentes temperaturas.

En el espectro de fluorescencia de la Figura 24, se aprecia que al igual que con la anterior ciclodextrina, disminuye en intensidad de fluorescencia al aumentar la concentración del ion metálico. El comportamiento del complejo en presencia de Ni⁺² a las diferentes temperaturas es similar y por eso se presenta solo a 25°C.

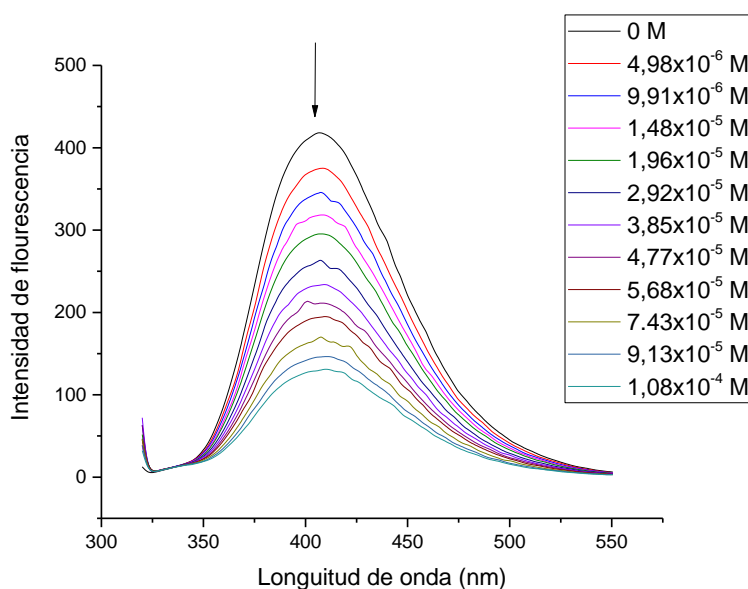


Figura 24. Espectro de intensidad de fluorescencia a 25°C para PTP-DM β CD- Ni⁺².

Mediante el análisis de los espectros de fluorescencia con la ecuación no lineal a diferentes temperaturas se obtuvieron las constantes de asociación, las cuales presentan una disminución de la intensidad a medida que aumenta la temperatura, indicando que no le favorece a la formación de este complejo con Ni^{+2} el aumento de la temperatura. Con respecto a la obtención de las curvas de decaimiento de fluorescencia, estas presentan R^2 0,999 para las tres temperaturas pero a diferencia con la βCD no presenta una curva muy pronunciada, lo mencionado se aprecia en la Figura 25 y los valores obtenidos en la Tabla 10.

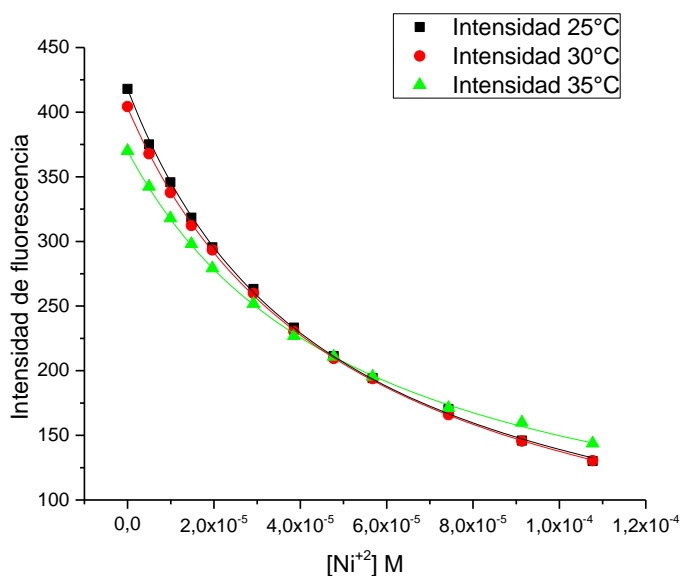


Figura 25. Regresión no lineal para el complejo PTP-DM β CD- Ni^{+2} a 25°C, 30°C y 35°C.

Al aplicar la ecuación de Van't Hoff a los valores de las constantes de asociación y la temperatura, se obtiene la Figura 26, la cual presenta un R^2 de 0,954 el cual es un valor aceptable para este análisis y a través de los valores de la pendiente 1342,25 y el intercepto 5,463 se obtienen los valores de las propiedades termodinámicas ($\Delta H = -11,159$ kJ/mol y $\Delta S = 0,0454$ kJ/mol K) y mediante la ecuación 6 se obtiene la energía libre de Gibbs (-24,695 kJ/mol) los resultados se encuentran en la Tabla 10.

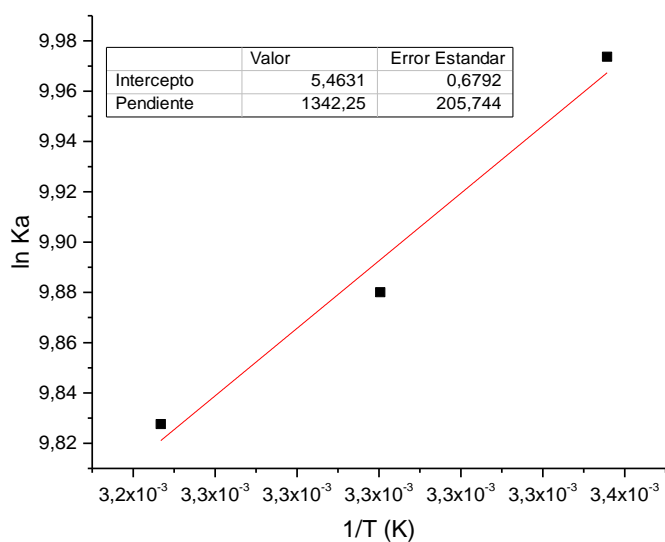


Figura 26. Gráfico de Van't Hoff para el complejo PTP-DMβCD-Ni²⁺.

Tabla 10. Valores de las constantes de asociación (K_a) a las temperaturas correspondientes y valores de las propiedades termodinámicas de complejo PTP-DMβCD-Ni²⁺.

Temperatura (K)	K_a (M ⁻¹)	R ²	-TΔS (kJ/mol)	ΔH (kJ/mol)	ΔS (J/mol K)	ΔG (kJ/mol)
298	21454	0,999	-13,529 ± 0,006	-11,159 ± 1,711	45,4 ± 5,6	-24,695 ± 1,716
303	19536	0,999				
308	18539	0,999				

Mediante la Tabla 10 se observa que el valor de ΔG corresponde a un valor negativo lo que indica que la formación del complejo con Ni²⁺ es un proceso espontaneo, además el valor de la entalpía es negativo, por tanto, la reacción es exotérmica, lo que indicaría que esta favorecida a menor temperatura. Con respecto al valor de la entropía, presenta un valor positivo y pequeño, lo cual correspondería a que la inclusión del Ni²⁺ produce un pequeño aumento del "desorden" en el sistema.

6.5.3- Determinación de la constante de asociación para PTP-DM β CD-Fe⁺² a diferentes temperaturas.

El espectro de fluorescencia de la formación del complejo ternario con Fe⁺² se representa en la Figura 27. Aquí se observa que presenta el mismo comportamiento a todas las temperaturas estudiadas, es decir, existe un apagamiento de la intensidad de fluorescencia a medida que se agregan cantidades crecientes del ion metálico.

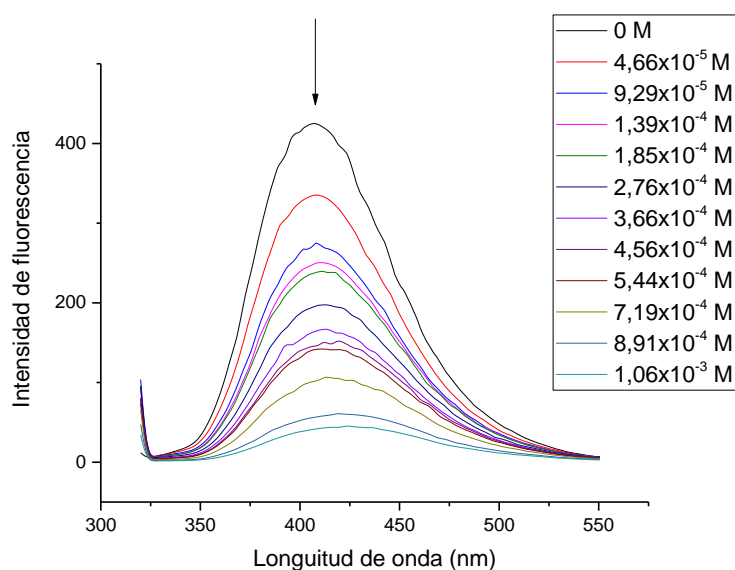


Figura 27. Espectro de fluorescencia para el complejo PTP-DM β CD-Fe⁺² a 25°C, el cual fue realizado con una solución stock de 19,6x10⁻³ M.

Al igual que en los casos anteriores, se determinaron las constantes de asociación del complejo a diferentes temperaturas utilizando la ecuación no lineal, los gráficos se aprecian en la Figura 28.

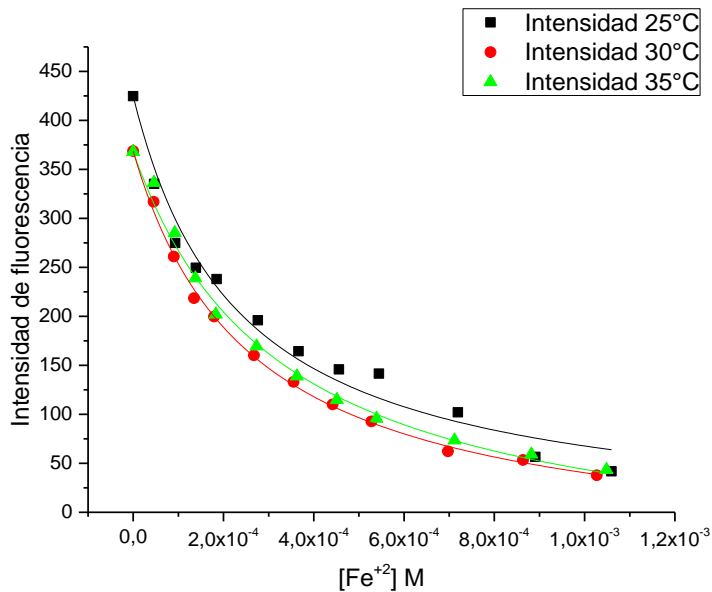


Figura 28. Regresión no lineal para PTP-DM β CD-Fe⁺² a 25°C, 30°C y 35°C. (Las soluciones stock varían en concentración 25°C presenta una concentración de 19,6x10⁻³M, 30°C de 19x10⁻³ M, 35°C de 19,4x10⁻³ M).

La Figura 28 corresponde a las regresiones no lineales de los complejos formados a 25°C, 30°C y 35°C, las cuales presentan un R² 0,977, 0,998 y 0,994 respectivamente, los valores de las constantes de asociación obtenidas van disminuyendo con el aumento de la temperatura. Esto nos estaría indicando que un aumento de temperatura no favorece la formación del complejo, ya que, el equilibrio se desplaza a los reactivos en la reacción. Los valores de K_a se encuentran en la Tabla 11.

Con los valores de las constantes obtenidas a las diferentes temperaturas y por medio de la ecuación 5, se realizó la regresión lineal que se representa la Figura 29, esta presenta un R² de 0,912. Con la pendiente 3044,17 e intercepto -1,834 obtenidos, se determinó la entalpía y entropía, y con estos valores utilizando la ecuación 6, se obtiene el valor de la energía libre de Gibbs, Tabla 11.

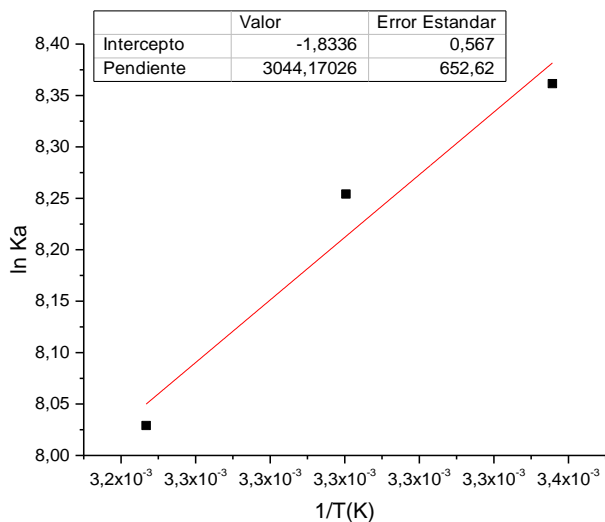


Figura 29. Gráfico de Van't Hoff para el complejo PTP-DMβCD-Fe⁺².

Tabla 11. Valores de las constantes de asociación a las temperaturas correspondientes y valores de las propiedades termodinámicas del complejo PTP-DMβCD-Fe⁺².

Temperatura (K)	K _a (M ⁻¹)	R ²	-TΔS (kJ/mol)	ΔH (kJ/mol)	ΔS (J/mol K)	ΔG (kJ/mol)
298	4278	0,977	4,529 ± 0,005	-25,309 ± 5,426	-15,2 ± 4,7	-20,385 ± 5,431
303	3843	0,998				
308	3069	0,994				

De acuerdo a los valores obtenidos de la Tabla 11, la formación del complejo ternario con Fe⁺² correspondería a un proceso espontaneo y exotérmico, por tener un valor de entalpía y energía libre de Gibbs negativos. Por tanto, la formación del complejo sería un proceso que es favorecido pero libera energía al sistema. El valor de la entropía es negativo y pequeño lo que indica que el sistema no presenta mayor "desorden" al incluir este ion metálico.

Para analizar en forma general todos los complejos formados con la DM β CD se representará de manera gráfica como se muestra en la Figura 30.

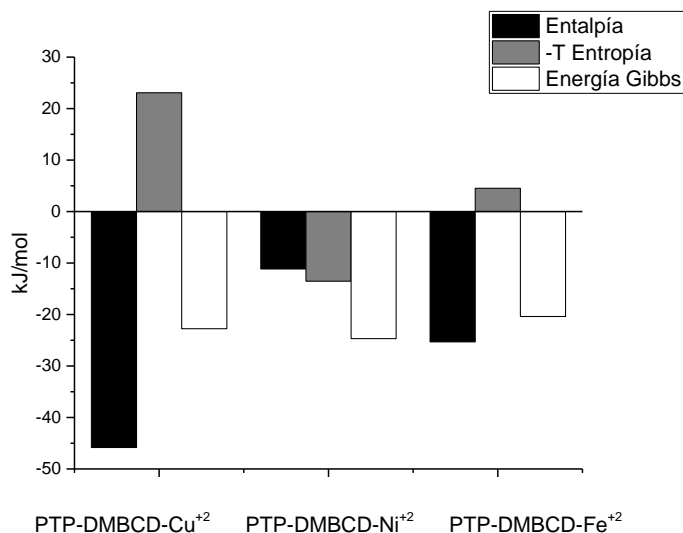


Figura 30. Contribución de la entalpía (ΔH) y entropía (ΔS) a la energía libre de Gibbs para los complejos con DM β CD.

Todos los complejos ternarios formados con esta ciclodextrina corresponden a procesos espontáneos, con valores de energía libre de Gibbs similares de -22,759, -24,695 y -20,385 kJ/mol para los complejos con Cu²⁺, Ni²⁺ y Fe²⁺, respectivamente (no se representan los valores de los errores en la gráfica, debido a que se intenta comparar los parámetros, además, los errores presentan magnitudes pequeñas en comparación al valor).

Con respecto al valor de la entalpía, todos los complejos son exotérmicos con valores de -45,842 kJ/mol para el complejo con Cu²⁺, y con valores de -11,159 y -25,309 kJ/mol para los complejos con Ni²⁺ y Fe²⁺, respectivamente. Para el complejo PTP-DM β CD-Ni²⁺ la entropía y la entalpía presentan aporte a la espontaneidad de la reacción, aunque la que predomina es el factor entrópico. En el caso de la titulación con Cu²⁺ y Fe²⁺ solo aporta la entalpía en la espontaneidad de estas reacciones.

6.6- Determinación de la constante de asociación para PTP-HP β CD a diferentes temperaturas.

El espectro de intensidad de fluorescencia para la inclusión de PTP en HP β CD tiene el mismo comportamiento que las otras dos CDs estudiadas. Presenta una disminución en la intensidad de fluorescencia a medida que la concentración de ciclodextrina aumenta.

Para la obtención de las constantes de asociación a 25°C, 30°C y 35°C, se analizaron los datos obtenidos con los máximos de emisión de fluorescencia en función de la concentración de HP β CD utilizando la ecuación no lineal. Para ello los complejos se dejaron en agitación durante 24 h, lo cual se aprecia en la Figura 31.

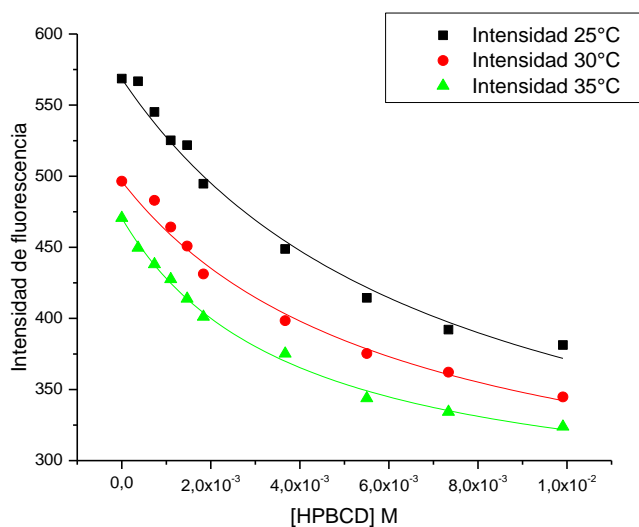


Figura 31. Regresión no lineal para PTP-HP β CD a 25°C, 30°C y 35°C.

En la figura anterior se observa como decae la emisión a medida que aumenta la concentración de HP β CD. Utilizando la ecuación 4, método no lineal se obtuvieron las diferentes constantes de asociación, las cuales presentan un aumento en su valor a medida que aumenta la temperatura, lo que indica que la formación del complejo de inclusión es favorecida a mayor temperatura. Este análisis presenta R^2 aceptables para el análisis, los valores se encuentran resumidos en la Tabla 12.

Una vez obtenidos los valores de K_a a diferentes temperaturas se graficó $\ln K_a$ v/s $1/T$, Figura 32. Se observa que se tiene un R^2 de 0,843, el cual no es un valor bueno debido a que presenta solo tres puntos para la regresión, pero es aceptado.

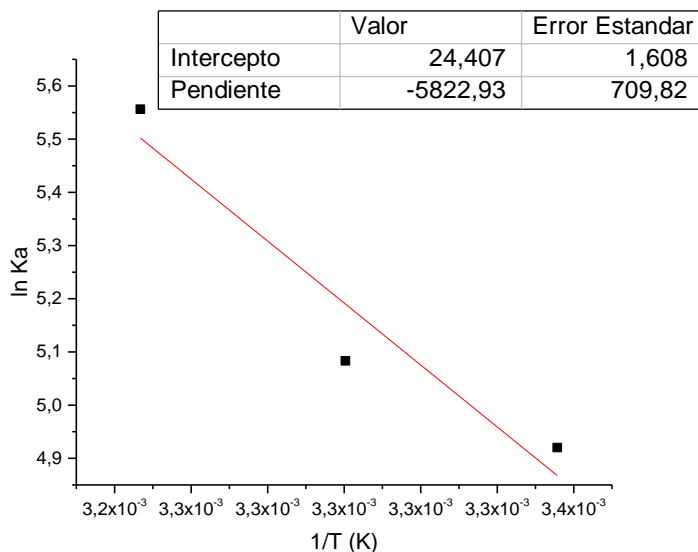


Figura 32. Gráfico de Van't Hoff para el complejo PTP-HPβCD.

Con los valores de la pendiente e intercepto, -5822,94 y 24,41 respectivamente, se obtuvieron los valores de ΔH y ΔS y posteriormente la energía libre de Gibbs, estos valores se encuentran en la Tabla 12.

Tabla 12. Valores de las constantes de asociación (K_a) a sus temperaturas correspondientes y valores de las propiedades termodinámicas para el complejo PTP-HPβCD.

Temperatura (K)	K_a (M^{-1})	R^2	$-T\Delta S$ (kJ/mol)	ΔH (kJ/mol)	ΔS (J/mol K)	ΔG (kJ/mol)
298	137	0,985	$-60,494 \pm 0,013$	$48,412 \pm 5,894$	$203 \pm 13,4$	$-12,059 \pm 5,907$
303	161	0,985				
308	258	0,996				

Con respecto a la Tabla 12, la energía libre de Gibbs de este complejo es negativa lo cual indica que es un proceso espontaneo. Su valor de entalpía es positivo, por tanto, la formación de este complejo es favorecido con el aumento de la temperatura al necesitar calor del sistema para desplazar el equilibrio de la reacción a los productos. Presenta un valor de entropía positiva y grande lo que se asocia a una mayor perturbación del sistema, es decir aumenta el “desorden” al producir la inclusión del PTP a la ciclodextrina principalmente en el desplazamiento de moléculas de solvente dentro de la cavidad y la esfera de solvatación del PTP.

6.7- Determinación de la constante de asociación para PTP-HP β CD- iones metálicos a diferentes temperaturas.

6.7.1- Determinación de la constante de asociación para PTP-HP β CD-Cu⁺² a diferentes temperaturas.

El espectro de fluorescencia del complejo PTP-HP β CD-Cu⁺² presenta una disminución en su máximo de fluorescencia al aumentar la concentración del ion metálico, el cual se representa en la Figura 33. Al comparar los diferentes espectros a las temperaturas de análisis todos presentan el mismo comportamiento anteriormente mencionado, por lo que, se utiliza la Figura 33 para la representación general.

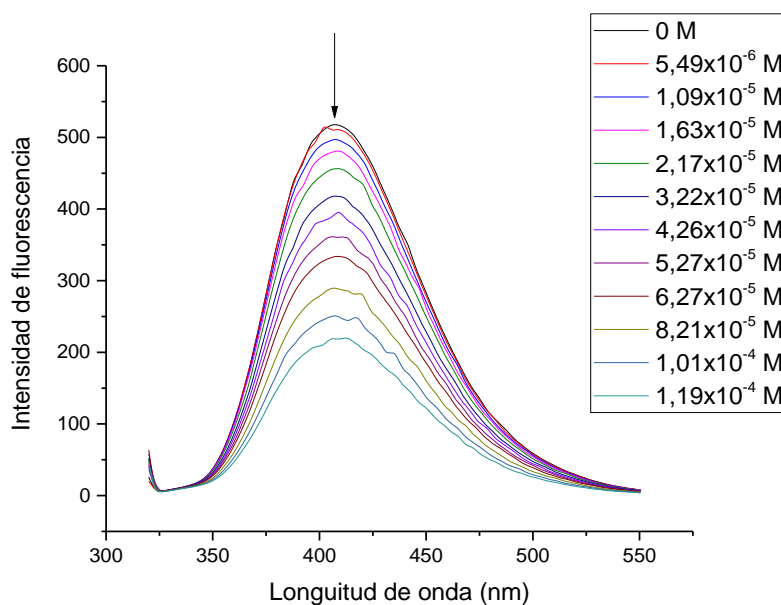


Figura 33. Espectro de fluorescencia para PTP-HP β CD-Cu⁺² a 25°C.

Para la obtención de las K_a , se graficó la intensidad de fluorescencia en función de la concentración del ion metálico. Los datos se analizaron mediante la ecuación no lineal, en la cual se muestran los gráficos a diferentes temperaturas en la Figura 34.

Se observa un decaimiento muy parecido a las tres temperaturas utilizadas. Además, se puede apreciar que no presenta un decaimiento de fluorescencia muy pronunciado, incluso menos pronunciado que el observado en la DM β CD. Esto nos estaría indicando que los grupos hidroxipropilos que presenta esta ciclodextrina podrían estar interfiriendo en la inclusión del Cu⁺² al complejo atribuyéndose un impedimento estérico.

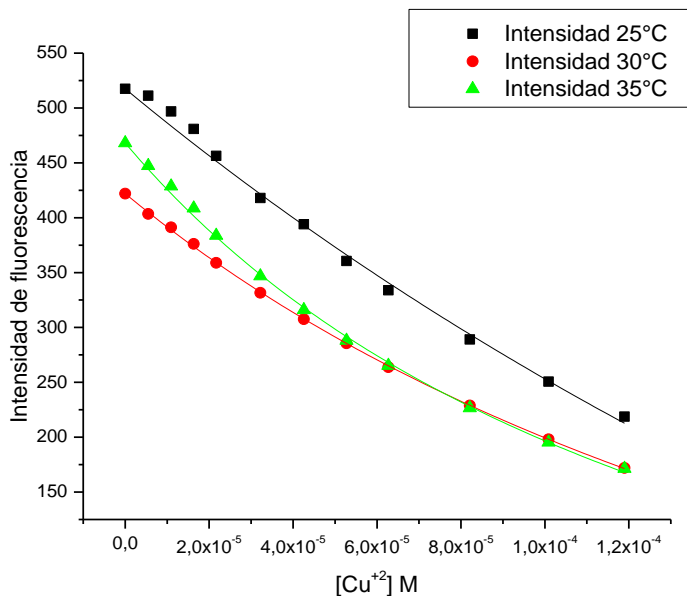


Figura 34. Regresión no lineal para el complejo PTP-HP β CD-Cu⁺² a 25°C, 30°C y 35°C.

En la Tabla 13, se presentan los valores de las K_a para el complejo ternario PTP-HP β CD-Cu⁺². Aquí podemos observar que presentan buenos R^2 para el análisis, aunque no presente un decaimiento de fluorescencia muy pronunciado. Con respecto a los valores de las K_a , estos van aumentando a medida que se aumenta la temperatura, lo cual indica que le favorece a la reacción de formación del complejo.

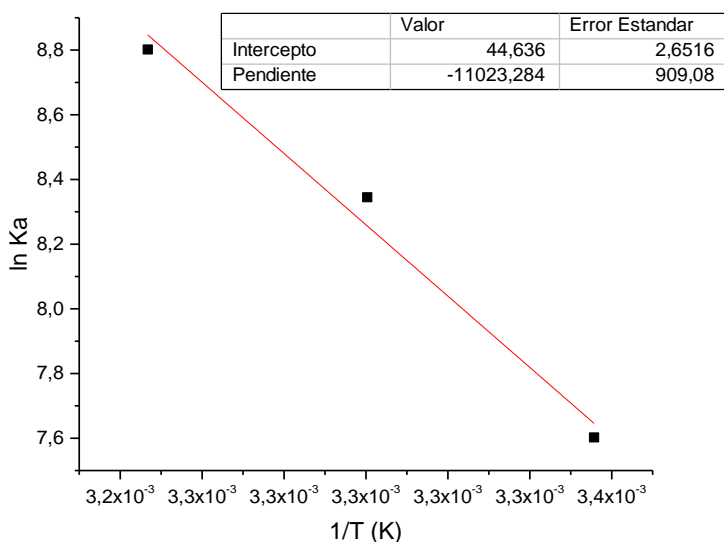


Figura 35. Gráfico de Van't Hoff para el complejo PTP-HP β CD-Cu⁺².

Con los datos de las constantes de asociación a las diferentes temperaturas se realizó el gráfico de Van't Hoff, que corresponde a la Figura 35. Podemos ver que presenta un R^2 de 0,968 y valores de pendiente -11023,28 e intercepto 44,637 los cuales permitieron calcular las propiedades termodinámicas del complejo que se representan en la Tabla 13.

Tabla 13. Valores de las constantes de asociación (K_a) a las temperaturas correspondientes y valores de las propiedades termodinámicas del complejo PTP-HP β CD-Cu⁺².

Temperatura (K)	K_a (M^{-1})	R^2	-T ΔS (kJ/mol)	ΔH (kJ/mol)	ΔS (J/mol K)	ΔG (kJ/mol)
298	2002	0,994	-110,56 \pm 0,022	91,648 \pm 7,558	371 \pm 22,0	-18,943 \pm 7,580
303	4208	0,999				
308	6646	0,998				

Con la información de la tabla anterior, vemos que ΔG es negativo, por tanto la formación del complejo es espontáneo. El ΔH presenta un valor de 91,648 kJ/mol, valor positivo, indicando una reacción endotérmica que le favorece el aumento de temperatura, ya que, necesita energía del sistema para mejores resultados en formación del complejo. El valor de ΔS (371 J/mol K) es positivo y grande lo que indica que la formación del complejo ternario altera al sistema y aumenta el desorden de las moléculas.

6.6.2- Determinación de la constante de asociación para PTP-HP β CD-Ni²⁺ a diferentes temperaturas.

El complejo de inclusión de PTP-HP β CD disminuye en su emisión al adicionársele Ni²⁺, Figura 36. Este mismo comportamiento ocurre para las diferentes temperaturas de análisis.

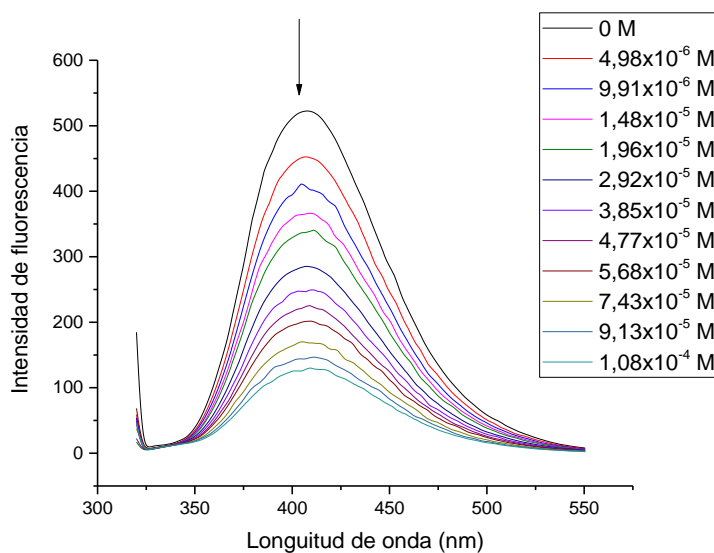


Figura 36. Espectro de fluorescencia para el complejo PTP-HP β CD-Ni²⁺ a 25°C.

Por medio de la intensidad de fluorescencia en el máximo, graficada en función de la concentración de Ni²⁺, Figura 37, se obtiene la curva de decaimiento para las tres temperaturas estudiadas. Utilizando la ecuación 4, se realizó el análisis no lineal obteniéndose las constantes de asociación a las diferentes temperaturas.

Los valores de R² obtenidos son bastante buenos, por tanto, los datos se ajustan en gran forma al decaimiento de fluorescencia. Los valores K_a obtenidos van disminuyendo con el aumento de la temperatura, lo que indica que la inclusión del ion metálico a este complejo se ve favorecido a menores temperaturas, los datos se encuentran en la Tabla 14.

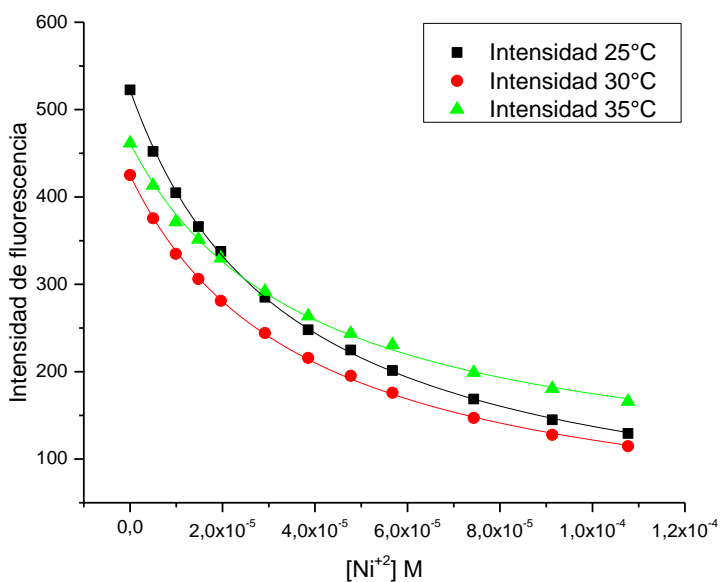


Figura 37. Regresión no lineal para el complejo PTP-HPβCD-Ni²⁺ a 25°C, 30°C y 35°C.

Con los valores de las constantes de asociación se graficó la ecuación 5, la cual se muestra la Figura 38.

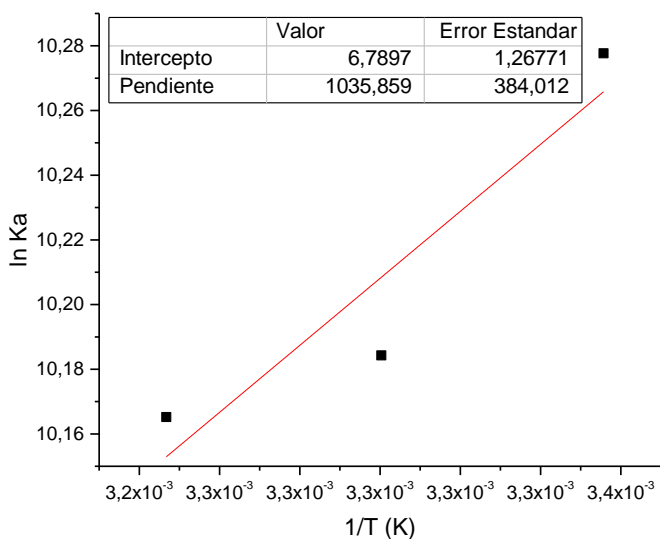


Figura 38. Gráfico de Van't Hoff para el complejo PTP-HPβCD-Ni²⁺.

La regresión lineal de Van't Hoff presenta un R² de 0,758 el cual no es un valor adecuado pero presenta una tendencia por lo que es utilizado para los posteriores cálculos. Con el valor de 1035,86 y 6,789 que corresponden a la pendiente e intercepto se calcularon los valores de entalpía y entropía y mediante la ecuación 6 la energía libre de Gibbs, los valores se encuentran en la Tabla 14.

Tabla 14. Valores de las constantes de asociación (K_a) a sus temperaturas correspondientes y valores de las propiedades termodinámicas para el complejo PTP-HP β CD-Ni⁺².

Temperatura (K)	K_a (M ⁻¹)	R ²	-T Δ S (kJ/mol)	Δ H (kJ/mol)	Δ S (kJ/mol K)	Δ G (kJ/mol)
298	29076	0,999	-16,837 \pm 0,011	-8,612 \pm 3,193	56,5 \pm 10,5	-25,434 \pm 3,204
303	26483	0,999				
308	25983	0,998				

Con la información de la Tabla 14 se indica que la incorporación del Ni⁺² al complejo es un proceso espontaneo (Δ G es negativo) y exotérmico (Δ H es negativo) lo que indica que la inclusión de este ion metálico libera energía al sistema, por tanto, le favorecen menores temperaturas. El valor de Δ S es positivo pero pequeño lo que indica que el sistema se ve perturbado pero no de gran manera.

6.6.3- Determinación de la constante de asociación para PTP-HP β CD-Fe⁺² a diferentes temperaturas.

El espectro de fluorescencia del complejo PTP-HP β CD-Fe⁺² disminuye su intensidad de fluorescencia al ir aumentando la concentración de Fe⁺², de acuerdo a la Figura 39. La concentración de Fe⁺² varió de 0 a 1,03x10⁻⁴ M, en el caso de la figura para una concentración de solución stock de 19,1x10⁻³ M. Al comparar los espectros a diferentes temperaturas (25, 30 y 35°C) todos presentan el mismo comportamiento de disminuir la intensidad de fluorescencia al aumentar la concentración del ion metálico, por tanto, la Figura 39 se usara para su representación.

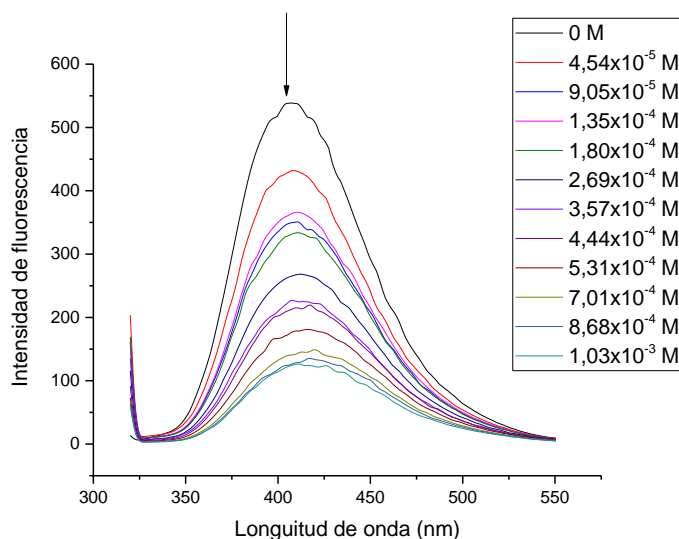


Figura 39. Espectro de fluorescencia para PTP-HP β CD-Fe⁺² a 25°C realizado con una solución stock de 19,1x10⁻³ M.

Se determinaron las constantes de asociación del complejo ternario a diferentes temperaturas utilizando la ecuación no lineal, los gráficos se aprecian en la Figura 40.

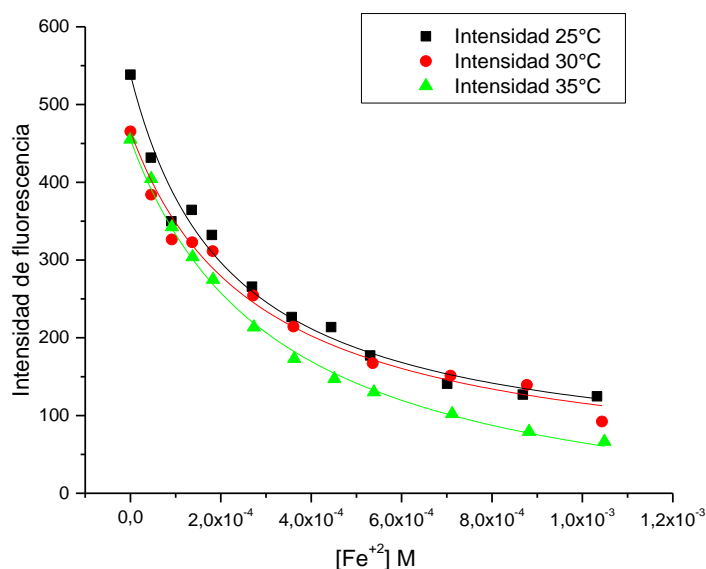


Figura 40. Regresión no lineal para PTP-HP β CD-Fe⁺² a 25°C, 30°C y 35°C. (Las soluciones stock varían en concentración 25°C presenta una concentración de $19,1 \times 10^{-3}$ M, 30°C de $19,3 \times 10^{-3}$ M, 35°C de $19,4 \times 10^{-3}$ M).

La figura anterior representa las regresiones no lineales a las diferentes temperaturas, los valores de las constantes de asociación presentan una disminución en su valor a mayor temperatura, por tanto, la reacción de formación de este complejo ternario se desplaza hacia la formación de producto con menor temperatura.

Con los valores de K_a se realizó la regresión lineal que corresponde a la ecuación 5, que se muestra en la Figura 41, la cual presentó un R^2 de 0,946 que es un valor bastante bueno para la regresión. Con los valores de la pendiente 3614,75, intercepto -3,718 y la constante de los gases se obtuvo los valores de entalpía y entropía, posteriormente mediante la ecuación 6 se obtuvo la energía libre de Gibbs. Los valores de las K_a y las propiedades termodinámicas se resumen en la Tabla 15.

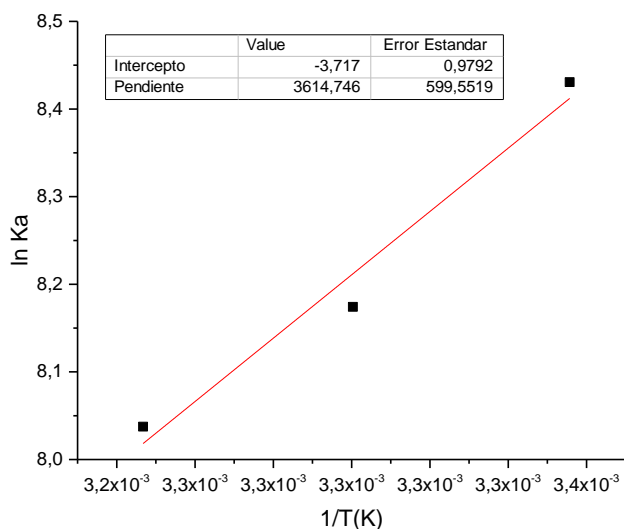


Figura 41. Gráfico de Van't Hoff para el complejo PTP-HPβCD-Fe⁺².

Tabla 15. Valores de las constantes de asociación (K_a) a sus temperaturas correspondientes y valores de las propiedades termodinámicas para el complejo PTP-HPβCD-Fe⁺².

Temperatura (K)	K_a (M ⁻¹)	R ²	-TΔS (kJ/mol)	ΔH (kJ/mol)	ΔS (J/mol K)	ΔG (kJ/mol)
298	4585	0,980	9,2082 ± 0,008	-30,053 ± 4,984	-30,9 ± 8,1	-20,845 ± 4,992
303	3548	0,979				
308	3094	0,997				

En la tabla anterior se aprecia que la formación de este complejo es espontánea al presentar un valor negativo de energía libre de Gibbs, además el valor de la entalpía es negativo lo que indica que es un proceso exotérmico, el cual libera energía al sistema para incluir al Fe⁺² al complejo. Con respecto a la entropía presenta un valor pequeño y negativo, lo que indica el sistema no se ve perturbado al incluir este ion metálico en su complejo.

Para analizar de manera más detallada los resultados obtenidos para esta ciclodextrina se presenta el gráfico de la Figura 42.

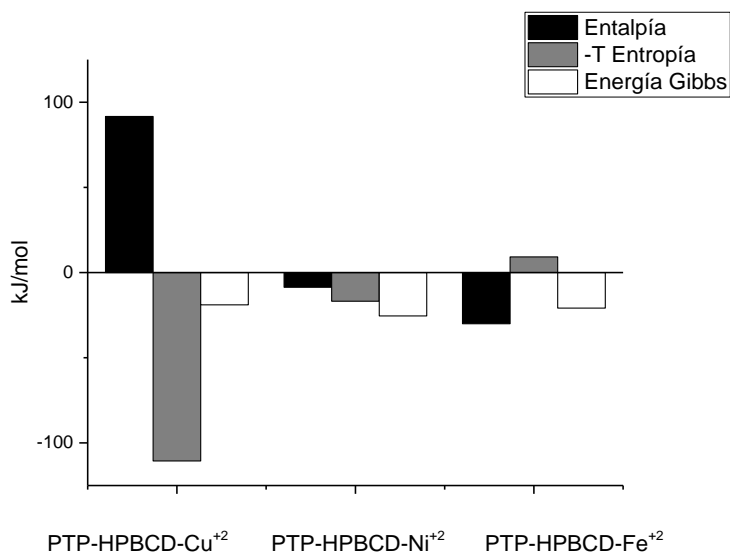


Figura 42. Contribución de la entalpía (ΔH) y entropía (ΔS) a la energía libre de Gibbs para los complejos con HP β CD.

Con la ayuda de la figura anterior se visualiza mayormente que parámetro afecta más a la energía libre de Gibbs. Para todos los complejos formados con la HP β CD son todos procesos espontáneos, con valores de energía libre de Gibbs similares.

Para el complejo del PTP-HP β CD con Cu⁺², los valores de entalpía son positivos indicando un proceso endotérmico, pero este parámetro no afecta a la energía libre de Gibbs, la cual es influenciada solo por la entropía la cual en el complejo presenta un valor elevado en comparación con los otros formados.

El complejo formado con Ni⁺² y Fe⁺² presentan una entalpía negativa, lo que indica un proceso exotérmico, en el caso con Ni⁺² tanto el parámetro de entropía como entalpía influyen en la energía libre de Gibbs, a diferencia del complejo con Fe⁺² que solo atribuye la entalpía.

6.7- Análisis de los complejos formados mediante los complejos que forman con sus respectivos iones metálicos.

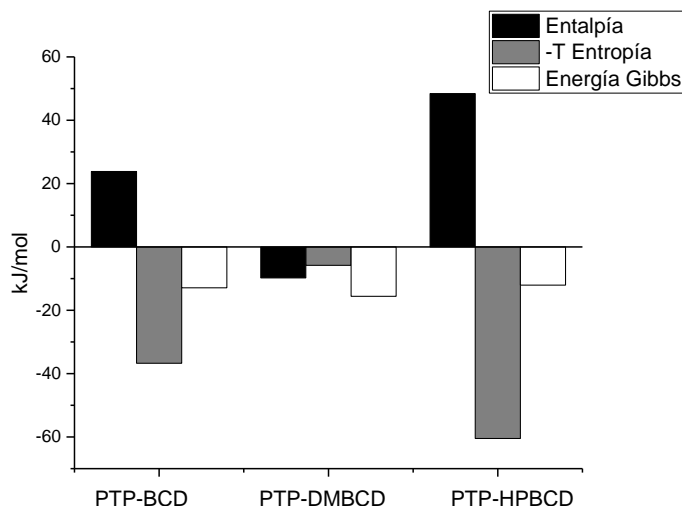


Figura 43. Contribución de la entalpía (ΔH) y la entropía (ΔS) para la energía libre de Gibbs para los complejos con PTP más las diferentes ciclodextrinas.

Mediante la Figura 43 se observa que todos los complejos formados entre el PTP y las diferentes ciclodextrinas son espontáneos por presentar una energía libre de Gibbs negativa y además presentan un valor similar para los tres complejos. Al comparar el complejo PTP- β CD y PTP-HP β CD ambos son similares, ya que, poseen un valor positivo de entalpía, este valor indica que el proceso de inclusión es endotérmico, además este valor no contribuye al valor de la espontaneidad de la reacción. Al analizar el valor de la entropía de los complejos este es un valor positivo lo que indica que el proceso de inclusión del PTP en las dos CDs está determinado por este parámetro. Que este proceso presente un valor de entropía alto se debe a que la reacción de inclusión de una molécula dentro de otra produce un aumento del “desorden” de ellas, además ambas moléculas se encuentran rodeadas de solvente y el interior de la ciclodextrina también, por tanto, la molécula huésped debe desplazar las moléculas de solvente dentro de la cavidad de las CD y además debe salir de su esfera de solvatación para la inclusión.

Con respecto al complejo con DM β CD presenta un valor de entalpía negativo, correspondiendo a un proceso exotérmico y presenta un valor de entropía pequeño a diferencia de los complejos anteriores. Respecto a la espontaneidad de la reacción en este caso se atribuye, tanto la entropía como la entalpía, predominando la entalpía.

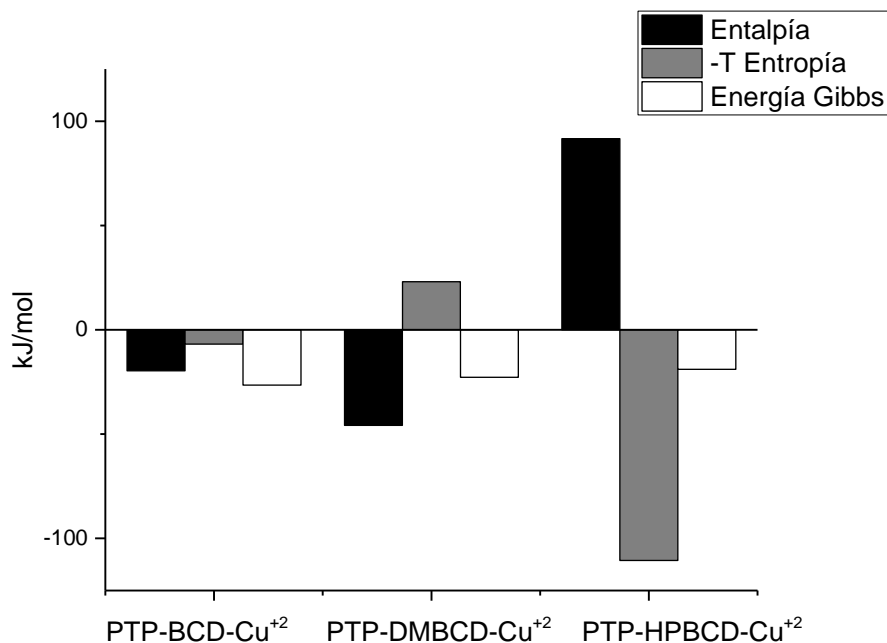


Figura 44. Contribución de la entalpía (ΔH) y la entropía (ΔS) para la energía libre de Gibbs para los complejos con el PTP más las diferentes ciclodextrinas y el ion cobre.

Al analizar la Figura 44 los complejos con β CD y DM β CD son exotérmicos, ambos presentan un módulo de la entropía pequeño en comparación con la HP β CD. Para el complejo con β CD, tanto el factor de entropía y entalpía afectan la energía libre de Gibbs, pero para los otros dos complejos solo afecta la entalpía y la entropía para DM β CD y HP β CD respectivamente. Se aprecia que no presentan demasiadas similitudes en los parámetros termodinámicos los complejos ternarios con Cu²⁺ para las tres ciclodextrinas.

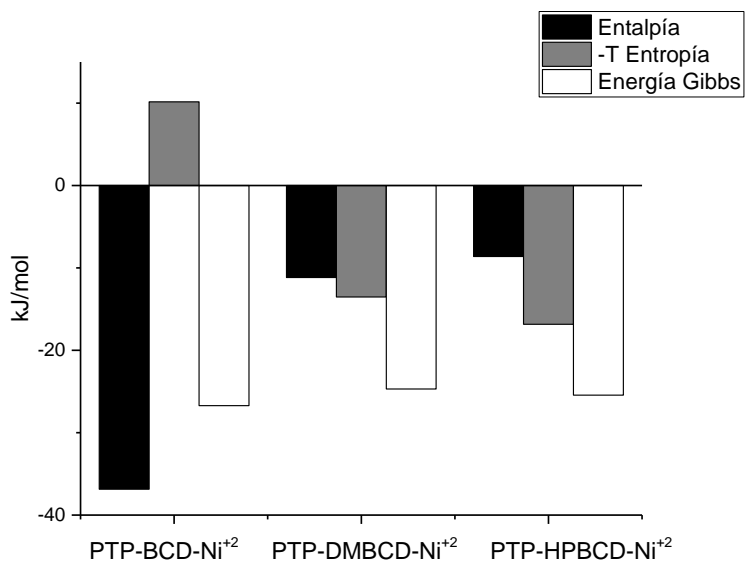


Figura 45. Contribución de la entalpía (ΔH) y la entropía (ΔS) para la energía libre de Gibbs para los complejos con PTP más las diferentes ciclodextrinas y el ion níquel.

Al visualizar el gráfico 45 se aprecia que presentan similitudes, ya que, todos los complejos presentan una entalpía negativa es decir todos los procesos de inclusión del Ni^{2+} son exotérmicos, aunque su valor no es el mismo, de menor a mayor valor corresponden al PTP- β CD- Ni^{2+} , PTP-DM β CD- Ni^{2+} y PTP-HP β CD- Ni^{2+} . Además, presentan un orden de magnitud en el valor de la entropía similar al igual que su energía libre de Gibbs. La diferencia más notoria se presenta en la entropía del complejo con β CD, la cual a pesar de tener un orden de magnitud similar presenta un valor negativo para este parámetro termodinámico. Respecto a la contribución de ΔS y ΔH a la energía libre de Gibbs, para el complejo ternario con DM β CD y HP β CD ambos parámetros contribuyen pero predomina el factor entrópico; en el caso de β CD solo influye ΔH .

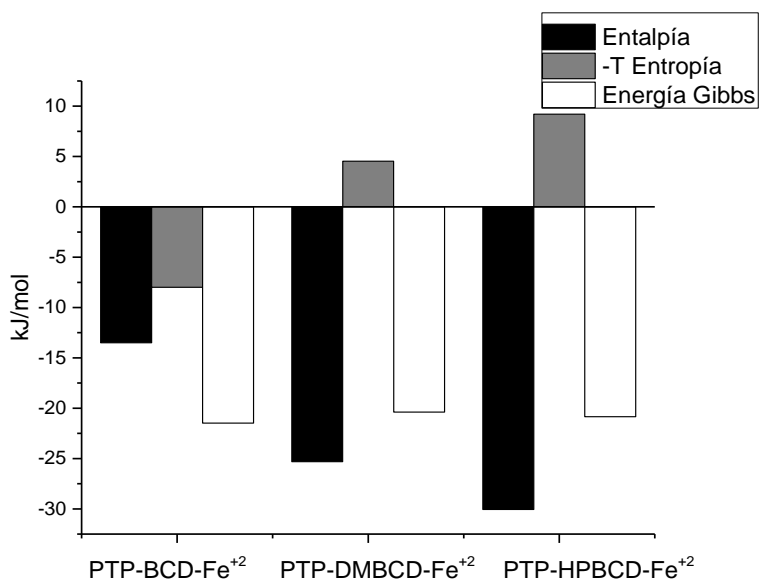


Figura 46. Contribución de la entalpía (ΔH) y la entropía (ΔS) para la energía libre de Gibbs para los complejos con PTP más las diferentes ciclodextrinas con el ion hierro.

El grafico 46 todos los valores de entalpía son negativos, pero no del mismo valor, de mayor a menor corresponden a PTP- β CD-Fe⁺², PTP-DM β CD-Fe⁺² y PTP-HP β CD-Fe⁺². Su energía libre de Gibbs presenta un valor similar para los tres complejos ternarios. En todos los complejos de la figura el parámetro que predomina en la energía libre de Gibbs es ΔH , sin embargo, el complejo con β CD ambos parámetros de ΔS y ΔH contribuyen a diferencia de los otros dos complejos que solo contribuye la entropía.

Tabla 16. Resumen de todos los valores obtenidos tanto para las constantes de asociación como los valores termodinámicos para todos los complejos.

- Complejo ligando β -ciclodextrina y metales.

Complejo	Ka 25°C	R ²	Ka 30°C	R ²	Ka 35°C	R ²
L- β CD	183	0,988	217	0,993	250	0,992
Cu-L- β CD	44867	0,996	38370	0,989	34694	0,996
Ni-L- β CD	48048	0,999	37505	0,999	29728	0,999
Fe-L- β CD	5865	0,998	5250	0,993	4915	0,993

Complejo	ΔH (kJ/mol)	ΔS (J/mol K)	ΔG (kJ/mol)
L- β CD	23,806 \pm 1,048	123 \pm 3,49	-12,922 \pm 1,051
Cu-L- β CD	-19,642 \pm 2,268	23,1 \pm 7,48	-26,517 \pm 2,275
Ni-L- β CD	-36,861 \pm 0,345	-34,1 \pm 1,13	-26,713 \pm 0,346
Fe-L- β CD	-13,506 \pm 1,838	26,8 \pm 6,1	-21,481 \pm 1,844

- Complejo ligando (2,6-di-O-metil)- β ciclodextrina y metales.

Complejo	Ka 25°C	R ²	Ka 30°C	R ²	Ka 35°C	R ²
L-DM β CD	538	0,997	511	0,986	473	0,987
Cu-L-DM β CD	9539	0,999	7539	0,999	5227	0,998
Ni-L-DM β CD	21454	0,999	19536	0,999	18539	0,999
Fe-L-DM β CD	4278	0,977	3843	0,998	3069	0,993

Complejo	ΔH (kJ/mol)	ΔS (J/mol K)	ΔG (kJ/mol)
L-DM β CD	-9,772 \pm 1,147	19,5 \pm 3,8	-15,592 \pm 1,151
Cu-L-DM β CD	-45,842 \pm 6,208	-77,5 \pm 12,2	-22,759 \pm 6,220
Ni-L-DM β CD	-11,159 \pm 1,711	45,4 \pm 5,6	-24,695 \pm 1,716
Fe-L-DM β CD	-25,309 \pm 5,426	-15,2 \pm 4,7	-20,385 \pm 5,431

- Complejo ligando (2-Hidroxipropil)- β ciclodextrina y metales.

Complejo	Ka 25°C	R ²	Ka 30°C	R ²	Ka 35°C	R ²
L-HP β CD	137	0,985	161	0,985	258	0,996
Cu-L-HP β CD	2002	0,994	4208	0,999	6646	0,999
Ni-L-HP β CD	29076	0,999	26483	0,999	25983	0,998
Fe-L-HP β CD	4585	0,980	3548	0,979	3094	0,997

Complejo	ΔH (kJ/mol)	ΔS (J/mol K)	ΔG (kJ/mol)
L-HP β CD	48,412 \pm 5,894	203 \pm 13,4	-12,059 \pm 5,907
Cu-L-HP β CD	91,648 \pm 7,558	371 \pm 22,0	-18,943 \pm 7,580
Ni-L-HP β CD	-8,612 \pm 3,193	56,5 \pm 10,5	-25,434 \pm 3,204
Fe-L-HP β CD	-30,053 \pm 4,984	-30,9 \pm 8,1	-20,845 \pm 4,994

A través de la Tabla 16 al comparar las constantes de asociación, se aprecia que los valores más altos a 25°C se presentan en la β CD, lo que indica que esta ciclodextrina es la mejor para formar complejos ternarios con los iones metálicos de estudio a temperatura ambiente.

Además, al comparar los iones metálicos, el Ni⁺² es el que presenta mayores constantes de asociación para las tres ciclodextrinas. En estudios anteriores indican que Ni⁺² en presencia de PTP no presenta ningún cambio en la emisión de fluorescencia pero con las ciclodextrinas se aprecia el cambio en la emisión de fluorescencia y además es el ion metálico que mejor interacciona con el PTP-CD. Por lo que, se concluye que la inclusión dentro de las ciclodextrinas además de mejorar la solubilidad cambia las propiedades de las moléculas a la cual se incluye.

6.8- Estudio del efecto de los metales Cu^{+2} , Ni^{+2} y Fe^{+2} sobre los complejos de PTP- βCD , PTP-DM βCD y PTP-HP βCD por $^1\text{HRMN}$.

Se realizaron espectros de $^1\text{HRMN}$ para hacer un estudio de cómo se ven afectados los hidrógenos del PTP en la presencia de los diferentes iones metálicos estudiados. Debido a que la solubilidad del PTP en solución acuosa es muy baja, se hicieron los estudios de los complejos formados con las diferentes ciclodextrinas. Para ello, se utilizaron los complejos sólidos formados (liofilizados) y disueltos directamente en agua deuterada (D_2O). Los espectros realizados se registraron suprimiendo la señal del agua, la relación entre el PTP y la ciclodextrina mediante la integración de las señales dio como resultado para βCD 1:0,9; DM βCD 1:0,8 y HP βCD 0,6:1, que corresponde a relaciones cercanas a 1:1.

6.9- Efecto de Cu^{+2} , Ni^{+2} y Fe^{+2} en el complejo PTP- βCD .

Para estudiar el efecto de los diferentes iones metálicos sobre el complejo con esta ciclodextrina, se presentará el espectro de los protones aromáticos, por lo cual, para su asignación inequívoca se estudiaron los desplazamientos químicos y las constantes de acoplamiento del espectro, Figura 47 que se muestran en la Tabla 17.

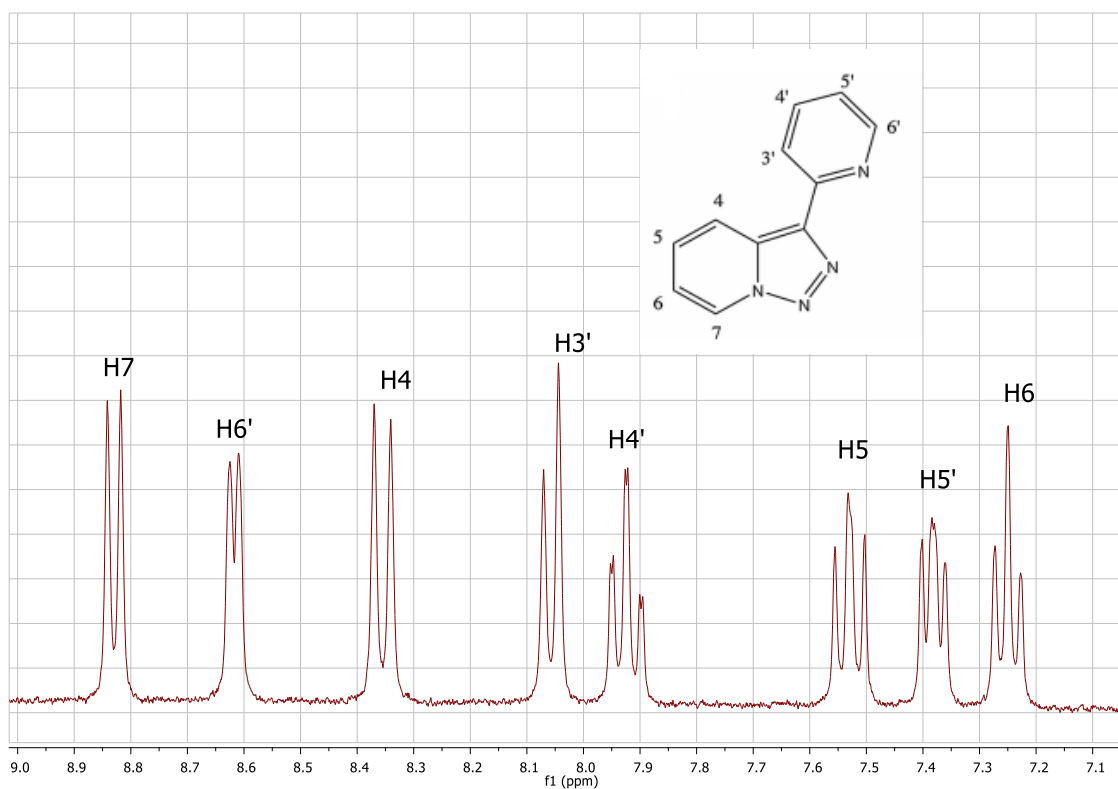


Figura 47. Espectro del complejo PTP- βCD .

De acuerdo a la Figura 47 se observa a campo bajo un doblete con $J = 7,0$ Hz con desplazamiento 8,83 ppm que corresponde a H7 del PTP, debido al desplazamiento químico característico de las piridinas. A continuación, se encuentra H6' que presenta un doblete con $J = 5,2$ Hz a 8,62 ppm, a campo más alto se observa un doblete con $J = 8,8$ Hz con desplazamiento a 8,36 ppm que corresponde a H4, a 8,06 ppm se encuentra a H3' que corresponde a un doblete con $J = 7,7$ Hz. A continuación, se encuentra un triplete de dobletes a 7,92 ppm con $J = 7,7$ y $1,3$ Hz que corresponde a H4', a campo alto se encuentra un doblete a 7,53 ppm que corresponde a H5 con $J = 7,0$ y $8,8$ Hz, a 7,38 ppm se encuentra un doblete que corresponde a H5' con $J = 5,2$ y $7,7$ Hz y finalmente se encuentra H6 que corresponde a un triplete a 7,25 ppm con $J = 7,0$ Hz.

Tabla 17. Señales del espectro $^1\text{HRMN}$ del complejo PTP- βCD .

Protón	H4	H5	H6	H7	H6'	H5'	H4'	H3'
Desplazamiento (δ ppm)	8,36	7,53	7,25	8,83	8,62	7,38	7,92	8,06
Multiplicidad	d	dd	t	d	d	dd	td	d
J (Hz)	8,8	7,0; 8,8	7,0	7,0	5,2	5,2; 7,7	7,7; 1,3	7,7

d=doblete; t=triplete; dd= doble doblete; td= triplete de dobletes.

6.9.1- Complejo de PTP-βCD con Cu²⁺.

Se preparó una solución de complejo PTP-βCD de una concentración de $5,00 \times 10^{-3}$ M en 700 μL de D₂O, a la cual se le fue adicionando una solución de Cu²⁺ de 70 μM con alícuotas que van de 10 a 90 μL de Cu²⁺ agregado. Los espectros de ¹HRMN para el complejo ternario se representan en la Figura 48.

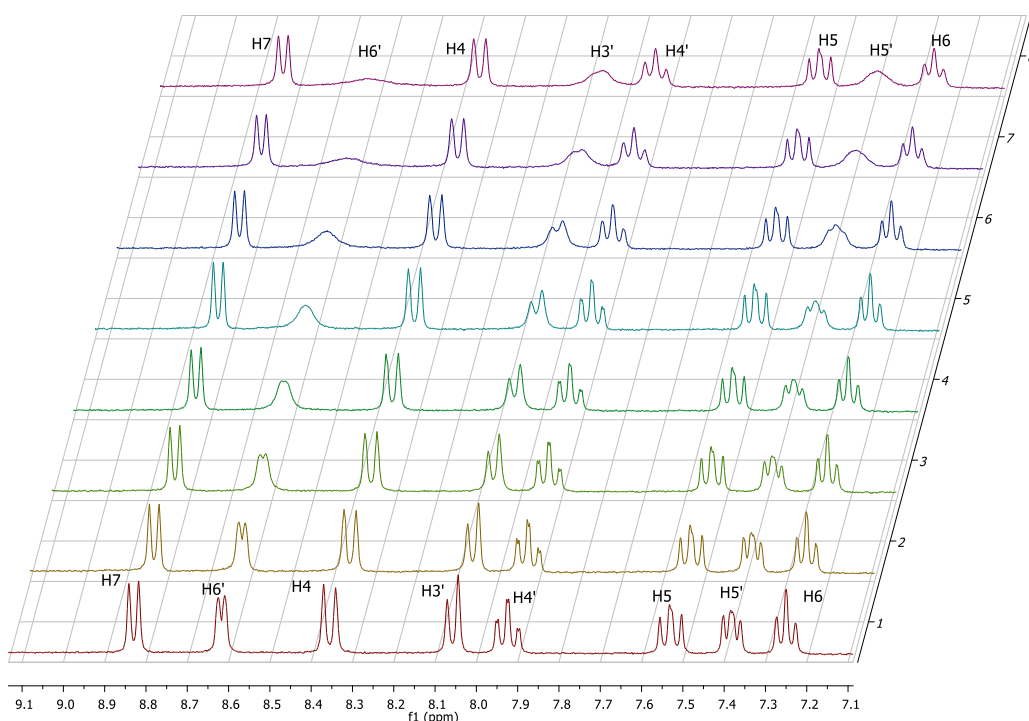


Figura 48. Espectros ¹H-RMN del complejo βCD-PTP y adicionarle Cu²⁺.

De abajo hacia arriba. Espectro sin adición de Cu²⁺; con una concentración de 0,98 μM; 1,94 μM; 2,88 μM; 3,78 μM, 4,67 μM; 6,36 μM; 7,97 μM.

Al analizar el espectro de la Figura 48 se observa que a medida que aumenta la concentración de Cu²⁺ las señales prácticamente no presentan cambios en sus intensidades y desplazamientos químicos. Sin embargo, hay tres señales que se ven muy afectadas y que llegan a perder su resolución, que corresponden a H6', H3' y H5', esto se podría deber a la cercanía del metal y por ende al electrón desapareado que presenta el Cu²⁺. El protón H6' en una concentración de $2,88 \times 10^{-6}$ M del ion, ya no se distingue la resolución de las señales, para H3' y H5' requiere una concentración de $6,36 \times 10^{-6}$ M, los demás protones del PTP no llegan a perder su forma pero presentan una pequeña disminución en intensidad. Esto nos podría estar dando un indicio de cómo se une el Cu²⁺ al PTP.

6.9.2- Complejo de PTP-βCD con Ni²⁺.

Para la obtención de los espectros mediante la titulación con Ni²⁺ se adicionaron alícuotas de 10 hasta 45 μL de una solución de 7,1 mM del ion metálico, al complejo PTP-βCD de concentración 5,00x10⁻³M. Los espectros obtenidos se muestran en la Figura 49.

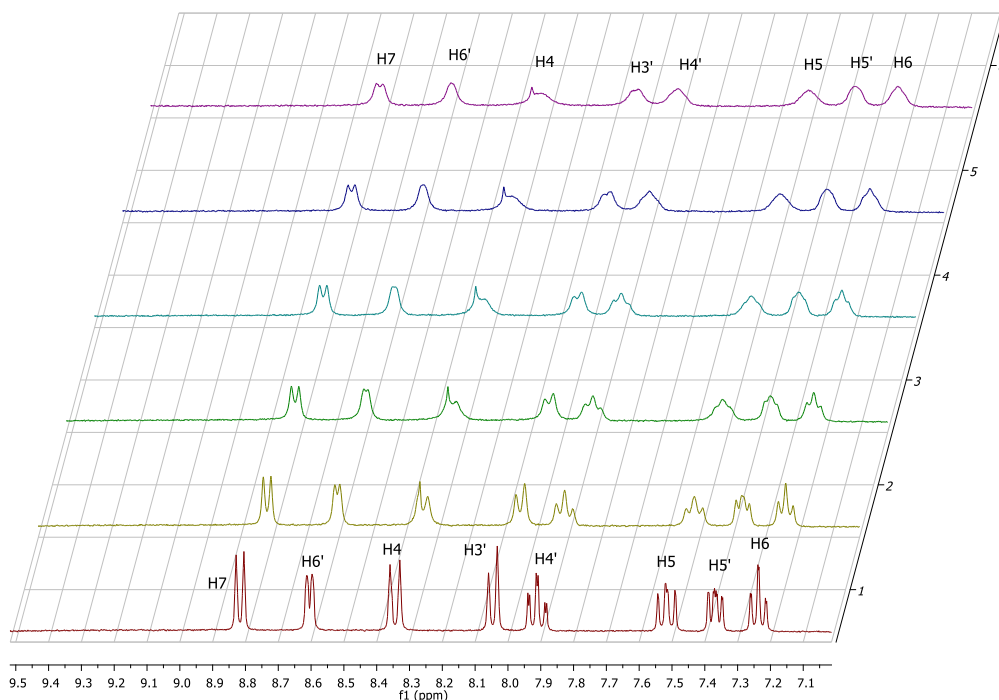


Figura 49. Espectros ¹H-RMN del complejo βCD-PTP y adicionarle Ni²⁺.

De abajo hacia arriba. Sin adición de Ni²⁺; con concentración de 0,1 mM; 0,19 mM; 0,24 mM; 0,34 mM; 0,43 mM.

Con los espectros de la figura anterior se aprecia que las señales no presentan desplazamientos químicos al adicionar Ni²⁺, pero a medida que se aumenta la concentración del ion metálico, las señales van disminuyendo su intensidad y además van perdiendo su resolución. Una de las primeras señales afectadas corresponde al protón H6' de la piridina que a una concentración de 1,90x10⁻⁴M pierde su resolución. Este comportamiento es característico al tener en el medio un ion metálico paramagnético, ensanchando las señales de los hidrógenos por su presencia.

6.9.3- Complejo de PTP-βCD con Fe²⁺.

Los espectros ¹HRMN de la inclusión al complejo PTP-βCD el metal Fe²⁺ se muestran en la Figura 50. El espectro 1 no tiene adición del ion metálico y se le van adicionando alícuotas de 10 a 100 μL de una solución de 7 mM de perclorato de hierro. Se observa como el efecto del ion metálico disminuye la resolución de las señales, hasta ensancharlas totalmente.

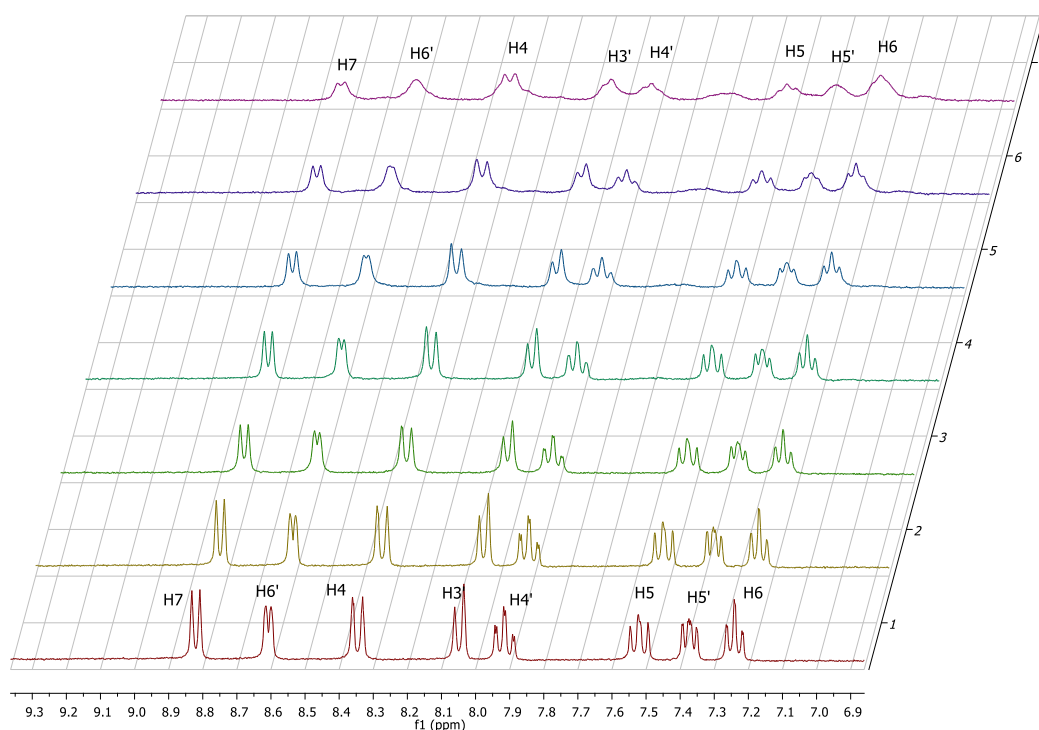


Figura 50. Espectros ¹H-RMN del complejo βCD-PTP y adicionarle Fe²⁺.

De abajo hacia arriba. Complejo sin adición de Fe²⁺; con concentración de 9,86 μM, 0,11 mM; 0,20 mM; 0,38 mM; 0,56 mM; 0,87 mM.

Con los espectros de la figura anterior se aprecia un comportamiento similar al Ni²⁺ en el cual todas las señales van perdiendo su resolución e intensidad, hasta llegar a un punto en el cual no se distinguen.

El efecto observado de los tres iones metálicos estudiados con el complejo es casi el mismo. Esto es debido a que los tres metales son paramagnéticos, con lo cual producen en los espectros el ensanchamiento de las señales. El hecho que para el cobre sea un poco diferente podría ser debido a que el cobre solo tiene 1 electrón desapareado, a diferencia del níquel y hierro que tienen 2 y 4 electrones desapareados respectivamente, donde se cree que el efecto influye principalmente a los protones más cercanos a la unión del metal con el PTP.

6.10- Efecto de Cu²⁺, Ni²⁺ y Fe²⁺ en el complejo PTP-DMβCD.

El espectro del complejo PTP-DMβCD se aprecia en la Figura 51, el cual se realizó mediante el complejo solido liofilizado con una concentración de 5,00x10⁻³ M en 700 μl D₂O.

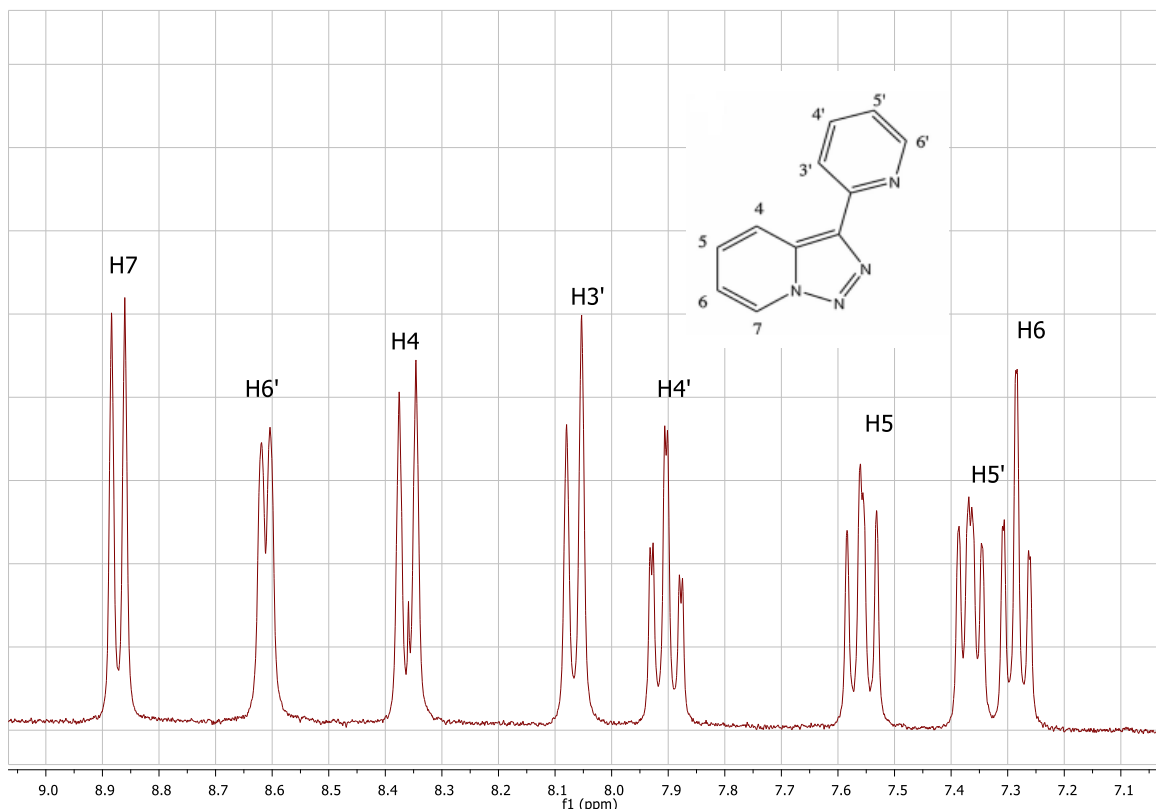


Figura 51. Espectro del complejo PTP-DMβCD.

El desplazamiento de los protones aromáticos del complejo, la multiplicidad y las constantes de acoplamiento se resumen en la Tabla 18. Al ser la misma molécula, pero con diferente ciclodextrina su comportamiento es muy similar al complejo con βCD.

Tabla 18. Señales del espectro ¹HRMN del complejo PTP-DMβCD.

Protón	H4	H5	H6	H7	H6'	H5'	H4'	H3'
Desplazamiento (δ ppm)	8,36	7,56	7,28	8,87	8,59	7,37	7,90	8,07
Multiplicidad	D	dd	td	d	d	dd	td	d
J (Hz)	8,9	7,1; 8,9	7,1; 1,1	7,1	4,9	4,9; 7,9	7,9; 1,5	7,9

d= doblete, dd= doble doblete, t= triplete, td= triplete de dobletes.

6.10.1- Complejo de PTP-DM β CD con Cu⁺².

Los espectros del complejo PTP-DM β CD se encuentran en la Figura 52, en el cual se comenzó con la adición de Cu⁺² de 70 μ M de alícuotas de 10 μ L y posteriormente de 20 μ L hasta llegar a un volumen adicionado de 180 μ L, el espectro 12 se realizó mediante la adición de 30 μ L de una solución de 0,7 mM.

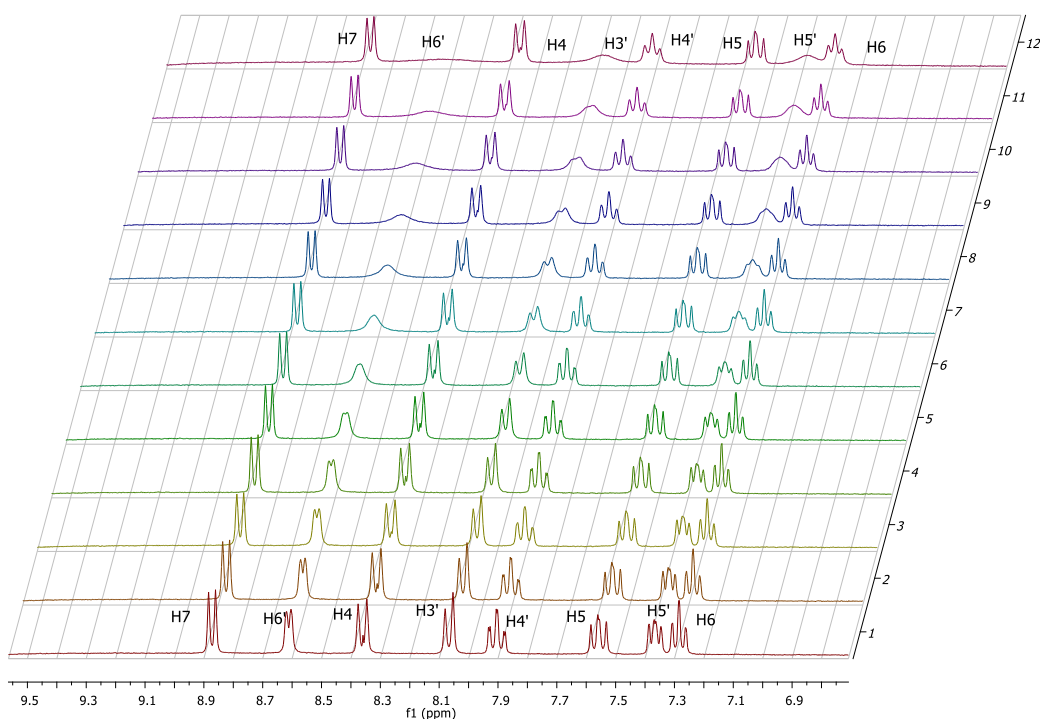


Figura 52. Espectros ¹H-RMN del complejo DM β CD-PTP y adicionarle Cu⁺².

De abajo hacia arriba. Espectro sin adición de Cu⁺², con concentración de 0,99 μ M, 1,94 μ M, 3,78 μ M, 5,53 μ M, 7,18 μ M, 8,75 μ M, 10,2 μ M, 11,7 μ M, 13,0 μ M, 14,3 μ M y 28,8 μ M.

Se puede apreciar en la Figura 52, que a medida que aumenta la concentración de Cu⁺² las señales no presentan mayor cambio en su desplazamiento químico. Además, se distingue que la mayoría de las señales disminuyen un pequeño porcentaje en intensidad, pero existen tres señales que van disminuyendo en el cual los picos van perdiendo su forma incluso hasta llegar a desaparecer con la mayor concentración agregada ($2,88 \times 10^{-5}$ M) como es el caso del protón H6', los otros dos protones pierden su forma pero aún se visualizan en el último espectro estos protones corresponden a H3' y H5'.

6.10.2- Complejo de PTP-DM β CD con Ni²⁺.

Los espectros obtenidos mediante la inclusión de Ni²⁺ se encuentran en la Figura 53 y se adicionaron alícuotas de 10 hasta 60 μ L de una solución de 7,1 mM del ion metálico.

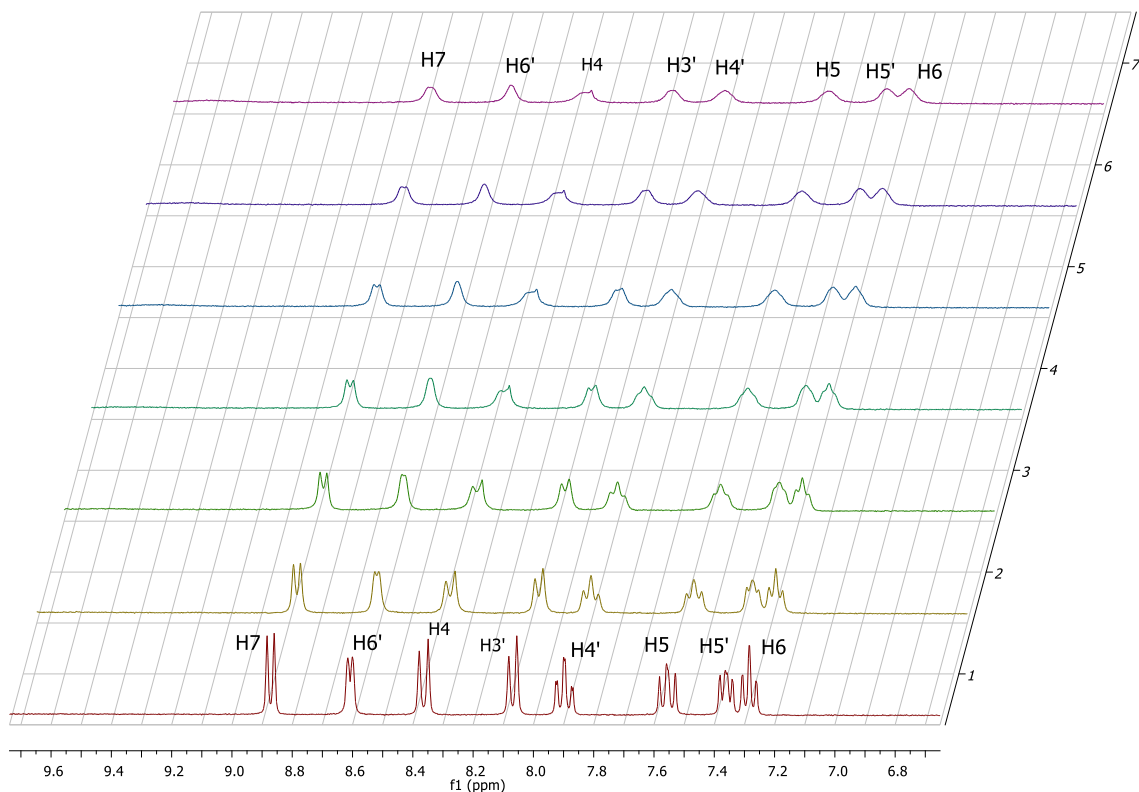


Figura 53. Espectros ¹H-RMN del complejo DM β CD-PTP y adicionarle Ni²⁺.

De abajo hacia arriba. Complejo sin adición de Ni²⁺; con una concentración de 0,1 mM; 0,19 mM; 0,29 mM; 0,38 mM; 0,47 mM; 0,56 mM.

Con respecto a los espectros se distingue que todos los protones de PTP son afectados al adicionarle Ni²⁺ al perder su resolución (ensanchamiento de señales) y disminuir su intensidad. El protón que primero presenta este comportamiento es H6'.

6.10.3- Complejo de PTP-DM β CD con Fe⁺².

La titulación con el metal Fe⁺² en el complejo PTP-DM β CD presenta los espectros de ¹HRMN en la Figura 54, la cual presenta adiciones de 10 hasta 110 μ L de una solución de 7 mM de Fe⁺².

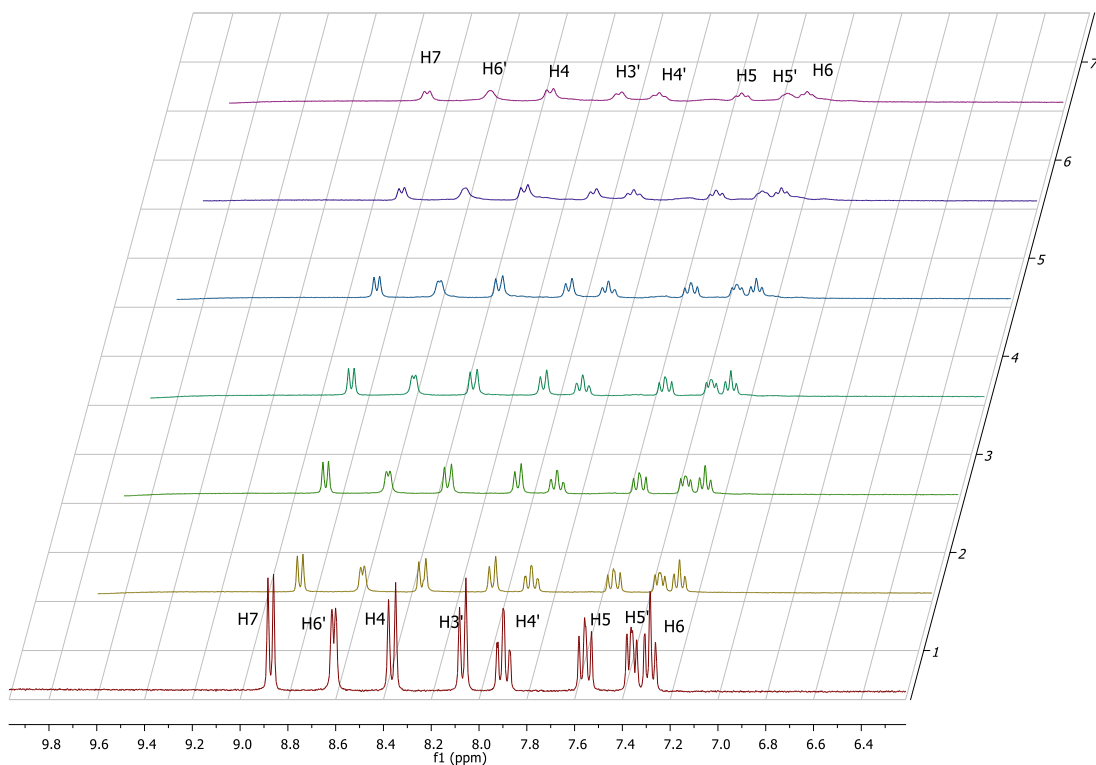


Figura 54. Espectros ¹H-RMN del complejo DM β CD-PTP y adicionarle Fe⁺².

De abajo hacia arriba. Complejo sin adición de Fe⁺²; con una concentración de 98,6 μ M; 0,19 mM; 0,29 mM; 0,47 mM; 0,79 mM; 0,95 mM.

La Figura 54 se aprecia el mismo comportamiento que los metales anteriores, a medida que aumenta la concentración de Fe⁺² las señales van perdiendo su intensidad y su resolución. El efecto de este ion metálico afecta a todos los protones de la molécula, sin embargo las primeras señales en perder su resolución corresponden a H6' y H5'.

6.11- Efecto de Cu²⁺, Ni²⁺ y Fe²⁺ en el complejo PTP-HPβCD.

Para el estudio de los iones metálicos sobre el complejo PTP-HPβCD de 5,00x10⁻³ M se realizó el espectro ¹HRMN en 700 μL de D₂O en ausencia de los iones, al cual se le realizó la asignación de los protones aromáticos los cuales se resumen en la Tabla 19. El Espectro de la Figura 54, presenta unas señales que no corresponden a los protones de la molécula (marcadas con una ✦). Estas señales corresponden al producto de degradación del PTP en presencia de solvente acuoso levemente ácido.

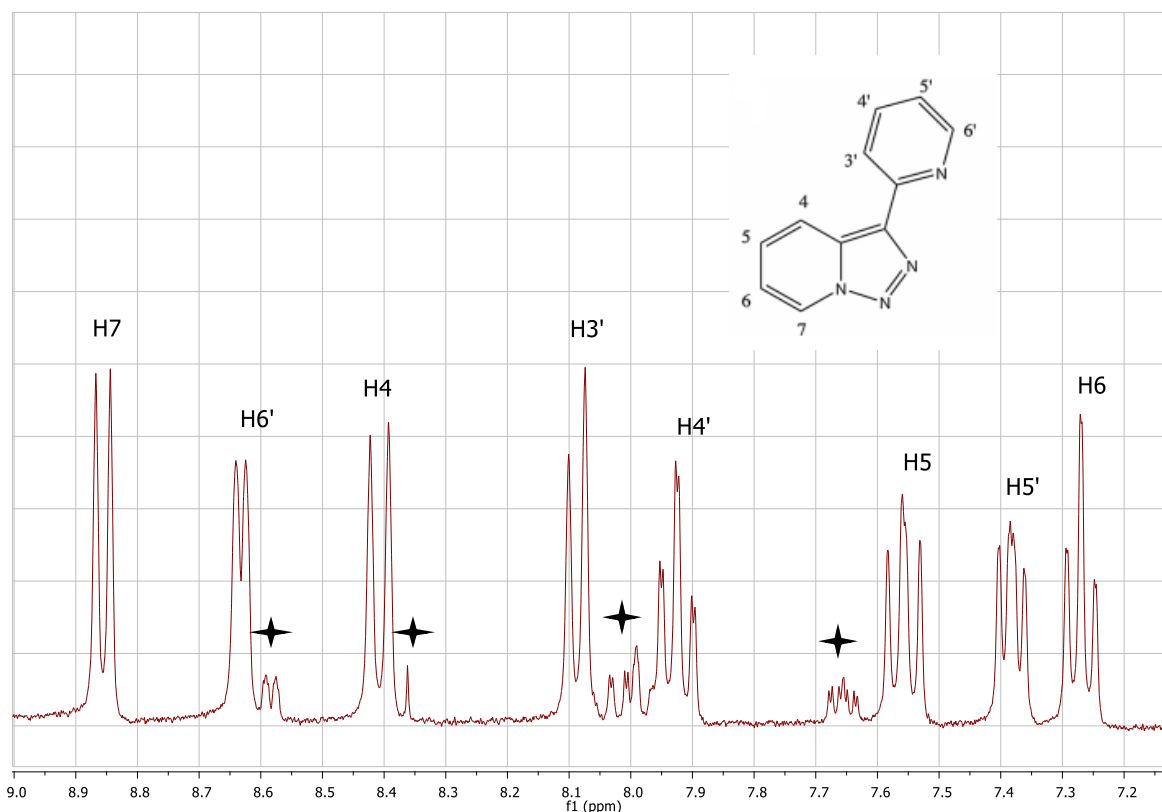


Figura 55. Espectro complejo PTP-HPβCD.

Tabla 19. Señales del espectro ¹HRMN del complejo PTP-HPβCD.

Protón	H4	H5	H6	H7	H6'	H5'	H4'	H3'
δ ppm	8,41	7,56	7,27	8,86	8,63	7,38	7,92	8,09
Multiplicidad	D	dd	td	d	d	dd	td	d
J (Hz)	9,0	7,0; 9,0	7,0; 1,2	7,0	4,9	4,9; 7,8	7,8; 1,6	7,8

d= doblete, t=triplete, td=doblete de tripletes.

Con la Tabla 19 se aprecia que los protones presentan la misma multiplicidad que en caso del complejo con DMβCD, pero presentan pequeñas diferencias en los desplazamientos químicos, esto se debe al efecto de los diferentes sustituyentes de la ciclodextrina a la cual se incluye.

6.11.1- Complejo de PTP-HP β CD con Cu⁺².

Los espectros de la Figura 56 se obtuvieron a través de la titulación con Cu⁺² y se adicionaron alícuotas de 10 hasta 90 μ L de una solución de 70 μ M del ion metálico y posteriormente en la misma titulación se adicionaron a los 90 μ L presentes del metal, alícuotas de 10 μ L hasta llegar a los 90 μ l de una solución más concentrada de 0,7 mM.

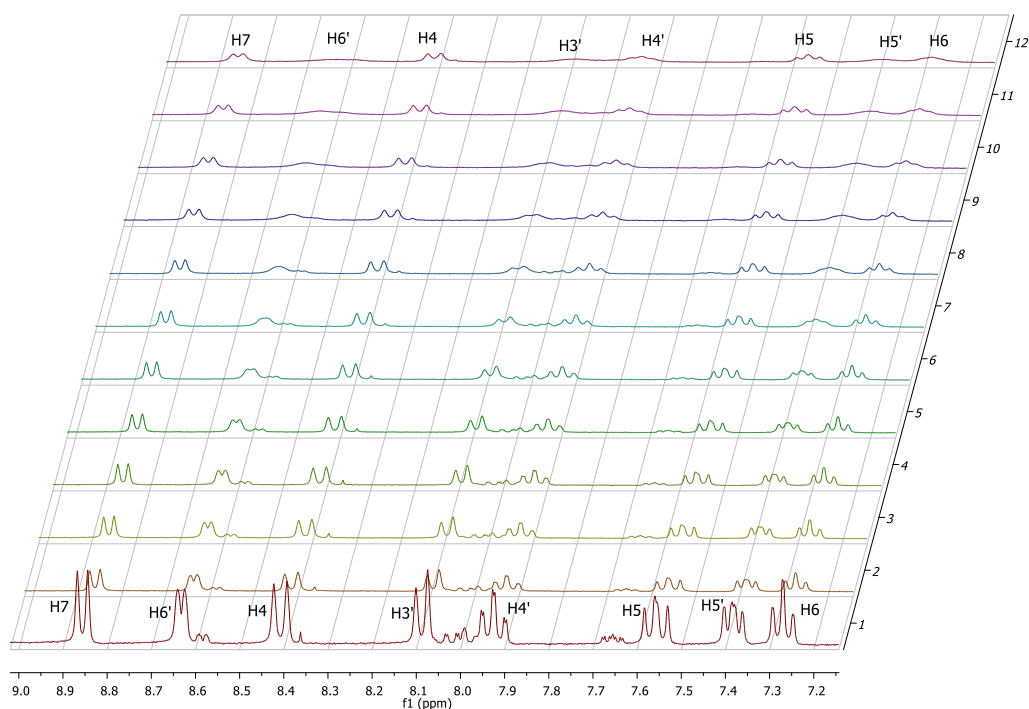


Figura 56. Espectros ¹H-RMN del complejo HP β CD-PTP y adicionarle Cu⁺².

De abajo hacia arriba. Espectro sin adición de Cu⁺²; con una concentración de 0,99 μ M; 1,94 μ M; 3,78 μ M; 7,97 μ M; 12,4 μ M; 16,7 μ M; 21,0 μ M; 25,3 μ M; 33,6 μ M; 49,6 μ M; 79,6 μ M.

En los espectros de la Figura 56 se distingue que todas las señales son afectadas por las adiciones de Cu⁺², ya que, sus señales van disminuyendo en intensidad y manteniendo sus desplazamientos, pero existen tres señales que se ven mucho más afectadas que las demás que llegan a perder su resolución a menores concentraciones de metal, que corresponden a H6', H3' y H5', los demás protones del PTP no llegan a perder su forma completamente pero se ensanchan y van perdiendo intensidad.

6.11.2- Complejo de PTP-HP β CD con Ni²⁺.

Los espectros para el complejo ternario con Ni²⁺ se muestran en la Figura 57. En los que se le adicionaron alícuotas de 10 hasta 50 μ L de una solución de 7,1 mM del ion metálico.

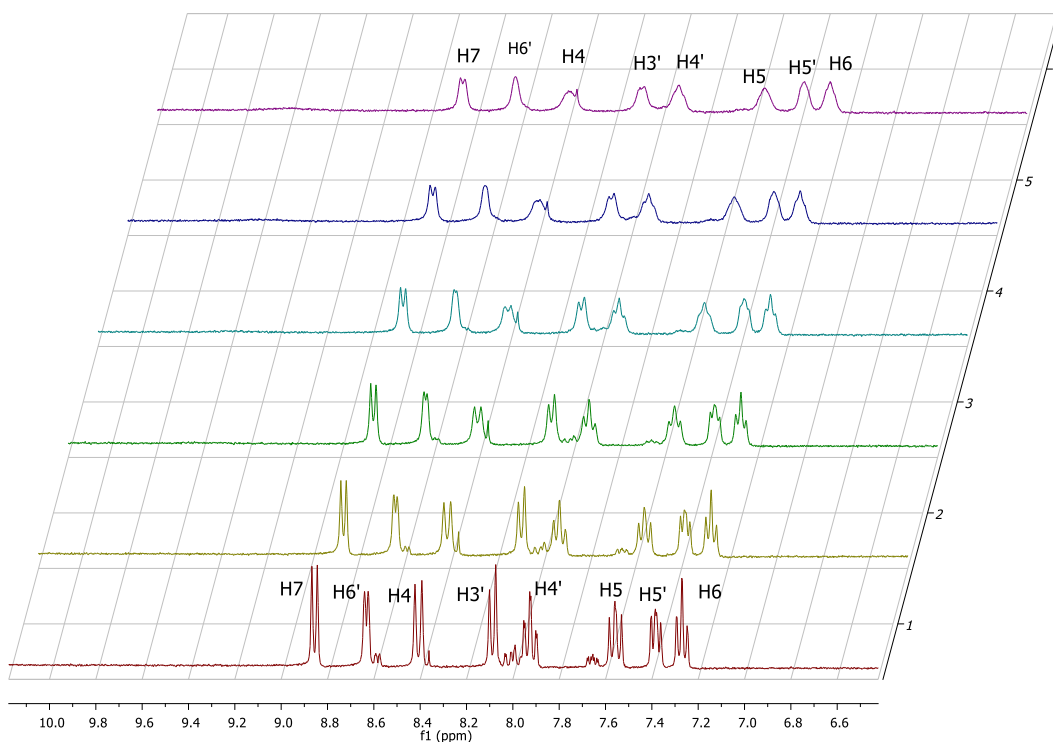


Figura 57. Espectros ¹H-RMN del complejo HP β CD-PTP y adicionarle Ni²⁺.

De abajo hacia arriba. Complejo sin adición de Ni²⁺; con una concentración 0,1 mM; 0,19 mM; 0,29 mM; 0,38 mM; 0,47 mM.

Al analizar los espectros se distingue que los desplazamientos químicos no presentan mayores cambios al aumentar la concentración de Ni²⁺ en el complejo, con la primera adición de 10 μ L la señal del protón H6' y H5' pierden un poco su resolución mucho más que los demás, que también se ven afectados, ya que todos disminuyen de intensidad. Al seguir adicionando el ion metálico se observa que las señales se van ensanchando y disminuyendo en intensidad, además van perdiendo su resolución y forma.

6.11.3- Complejo de PTP-HP β CD con Fe⁺².

La titulación con el metal Fe⁺² en el complejo PTP-HP β CD presenta los espectros de ¹HRMN en la Figura 58, la cual presenta adiciones de 10 hasta 100 μ L se una solución de Fe⁺² de 7 mM.

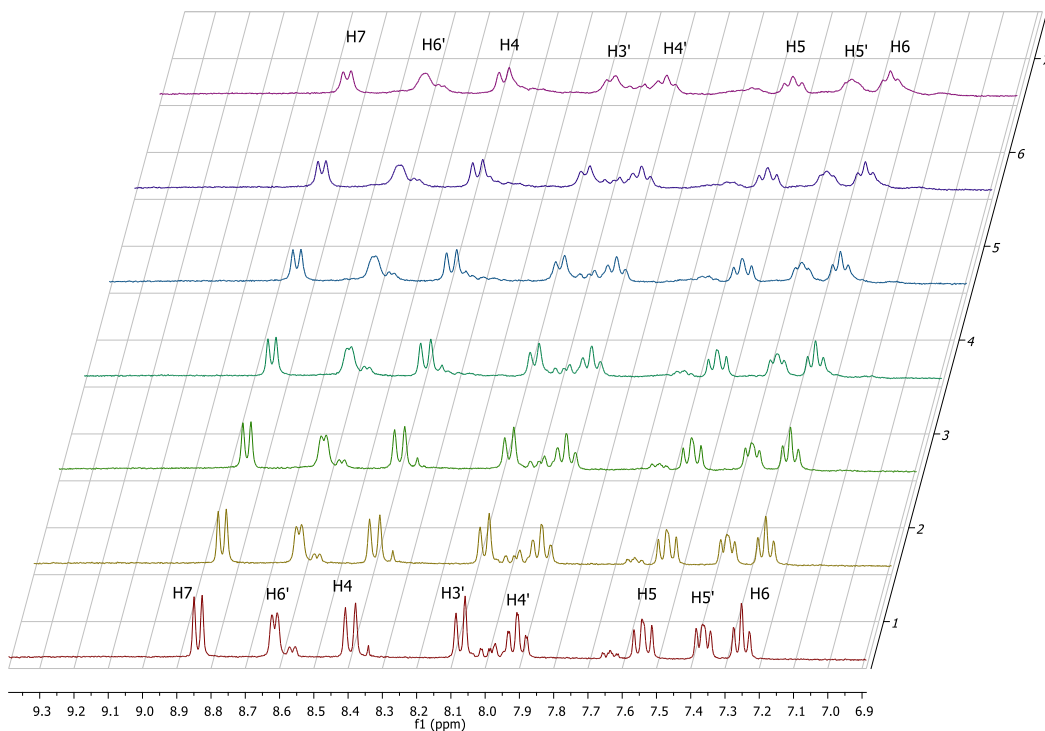


Figura 58. Espectros ¹H-RMN del complejo HP β CD-PTP y adicionarle Fe⁺².

De abajo hacia arriba. Complejo sin adición de Fe⁺²; con una concentración de 98,6 μ M; 0,19 mM; 0,38 mM; 0,55 mM; 0,72 mM; 0,88 mM.

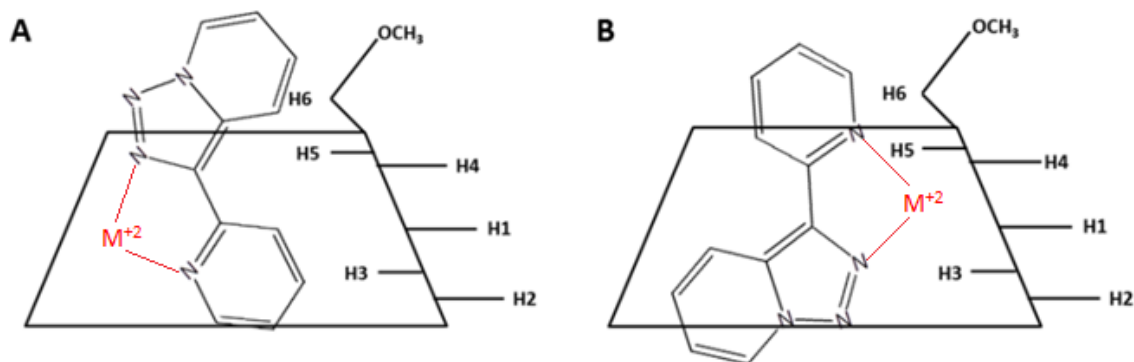
Mediante los espectros de la figura anterior se distingue el mismo comportamiento que en caso del Ni⁺², todos los protones son afectados por el metal por presentar cuatro electrones desapareados, las señales van perdiendo su resolución e intensidad. Pero hay dos protones que se ven afectados a menor concentración del ion metálico que corresponden a H6' Y H5'.

Mediante todos los espectros $^1\text{HRMN}$ realizados con los diferentes complejos con Cu^{+2} , Ni^{+2} y Fe^{+2} , se aprecia que realizan cambios en las señales de los protones del PTP. Estos cambios los presentan todos los protones de la molécula, pero afecta de diferente forma según el ion metálico con el cual se produjo el complejo. Este efecto puede deberse a que estos iones son paramagnético y a los electrones desapareados que poseen, que corresponden a 1, 2 y 4 electrones desapareados para Cu^{+2} , Ni^{+2} y Fe^{+2} , respectivamente; a mayor cantidad de electrones desapareados más protones se ven afectados en el PTP, .

Sin embargo, hay protones que se ven afectados a menores concentraciones adicionadas del ion metálico los cuales corresponden a $\text{H6}'$, $\text{H5}'$ y $\text{H3}'$. Esto ocurre debido a que al enlazarse los iones metálicos a los nitrógenos del PTP mediante el par de electrones libres de los nitrógenos, se deforma la densidad electrónica sobre ellos y esto induce una rápida relajación que se refleja en un ensanchamiento de las señales de los protones más cercanos a los nitrógenos,

Además, a mayor cantidad de electrones libres que posea el ion metálico enlazante mayor cantidad de señales serán afectadas, por tanto, se puede deducir que los iones se enlazan al nitrógeno de la piridina en la posición 3 de la triazolopiridina y al nitrógeno del triazolo como lo muestra la Figura 59.

Figura 59. Posible forma de interacción de los metales al PTP con $\text{M}^{+2} = \text{Cu}^{+2}$, Ni^{+2} o Fe^{+2} . Con A y B correspondiente a las dos posibles formas de inclusión del PTP dentro de la $\text{DM}\beta\text{CD}$.¹⁷



7. Conclusiones

Los valores de las constantes de asociación obtenidas por el método no lineal indican que el PTP se incluye dentro de las ciclodextrinas. Posteriormente a la inclusión del PTP en las ciclodextrinas se formaron los complejos ternarios con los iones metálicos, los cuales presentan valores mayores de las constantes de asociación a 25°C para β CD y posteriormente para HP β CD y DM β CD indicando que la β CD es la mejor ciclodextrina para formar los complejos de inclusión con el PTP- ion metálico.

El PTP presenta cambios en sus propiedades al incluirlo dentro de la ciclodextrinas lo que queda demostrado, ya que, además de mejorar su solubilidad presenta un comportamiento distinto con el Ni^{+2} , porque en ausencia de la ciclodextrina el PTP no presenta ningún cambio en su intensidad de fluorescencia pero al ser incluida si es selectiva para Ni^{+2} , además a 25°C es el complejo ternario que mayor constante de asociación presenta para las tres ciclodextrinas.

Los valores termodinámicos obtenidos para los complejos PTP-CD-iones metálicos a partir de sus constantes de asociación a las tres temperaturas de estudio, muestran que todos corresponden a procesos espontáneos, con valores de energía libre de Gibbs negativos, pero a pesar de esto, los factores por los que está regida la formación de los complejos ternarios no presentan un parámetro, ya que, son diferentes para las todas ciclodextrinas y metales.

Mediante los espectros de $^1\text{HRMN}$ se determinó como influyen los iones metálicos en la inclusión dentro del complejo PTP-CD, se aprecia que el Cu^{+2} solo se ven afectadas tres señales a medida que aumenta la concentración del ion que corresponden a H6', H5' y H3'. Con Ni^{+2} y Fe^{+2} se ven afectados todos los protones de la molécula. Esto podría deberse a que a medida que aumentan los electrones desapareados del ion metálico más protones se ven involucrados.

8. Referencias

- ¹ De Silva, A. P., Gunaratne, H. Q.N., Gunnlaugsson, T., Huxley, A. J. M., MCCoy, C. P., Rademacher, J. T. **(1997)**. Signaling recognition events with fluorescent sensors and switches. *Chemical Review*, *97*, 1515-1566.
- ² Valeur, B., y Leray, I. **(2000)**. Design principles of fluorescent molecular sensors for cation recognition. *Coordination Chemistry Review*, *205*, 3-40.
- ³ Harendra, S., Kripa, S., Rajesh, D., Lal Dhar, Y. **(1990)** Cycloaddition of 4-amino-3-mercapto-1,2,4 triazole to heteroacumulenes and antifungal activity of the resulting 1,2,4-triazolo[3,4-c]-1,2-dithia-4,5-diazines. *J.algric. Food Chemical*, *38(7)*, 1483-1486.
- ⁴ Jenkins, T. C. **(2000)**. Allosteric, Chiral-Selective Drug Binding to DNA. *Current Medicinal Chemistry*, *7*, 99-115
- ⁵ Abarca, B., Aucejo, R., Blanco, F., y García-España, E. **(2006)**. Synthesis of novel fluorescent 3-aryl- and 3-methyl-7-aryl-[1,2,3]triazolo[1,5-a]pyridines by Suzuki cross-coupling reactions. *Tetrahedron Letters*, *47*, 8101-8103.
- ⁶ Chadlaoui, M., Abarca, B., Ballestros, R., Ramirez de Arellano, C., Aguilar, J., Aucejo, R. **(2006)**. Properties of a triazolopyridine system as a molecular chemosensor for metal ions, anions, and amino acids. *Journal of Organic Chemistry*, *71*, 9030-9034.
- ⁷ Ballesteros-Garrido, R., Abarca, B., Ballesteros, R., Ramirez de Arellano, C., Leroux, F. R., Colobert, F. **(2009)**. [1,2,3] Triazolo[1,5-a]pyridine derivatives as molecular chemosensors for zinc(II), nitrite and cyanide anions. *New journal of Chemistry*, *33*, 2102-2106.
- ⁸ Connors, K.A. **(1997)**. The stability of cyclodextrin complex in solution. *Chemical Reviews*, *97*, 1325-1357.
- ⁹ Szejtli J. **(1998)**. Introduction and general overview of cyclodextrin chemistry. *Chemical Reviews*, *98*, 1743-53.
- ¹⁰ Villiers A. **(1891)** *Compte Rendu* 112:536.
- ¹¹ Borodi, G., Bratu, I., Dragan, F., Peschar, R., Helmholtz, R. B., Hernanz, A. **(2008)**. Spectroscopic investigations and cristal structure from synchrotron powder data of the inclusión complex of β -cyclodextrin with atenolol. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and biomolecular Spectroscopy*, *70*, 1041-1048.
- ¹² Schneiderman E, Stalcup AM. **(2000)**. Cyclodextrins: a versatile tool in separation science. *Journal of Chromatography B: Biomedical sciences and applications*, *745*, 83-102.
- ¹³ Fielding, L. **(2000)**. Determination of association constant (K_a) form solution NMR data. *Tetrahedron*, *56*, 6151-6170.

-
- ¹⁴ Singh M., Sharma R., Banerjee UC. **(2002)**. Biotechnological applications of cyclodextrins. *Biotechnology Advances* 20, 341-59.
- ¹⁵ Loftsson, T., Duchene, D. **(2007)**. Ciclodextrins and their pharmaceutical applications. *International Journal of Pharmaceutics*, 329, 1-11.
- ¹⁶ Xiaoqiang Chen, Tuhin Pradhan, Fang Wang, Jong Seung Kim, and Juyoung Yoon. **(2012)**. Fluorescent Chemosensors Based on Spiroring-Opening of Xanthenes and Related Derivatives. *Chemical Reviews*, 112 (3), 1910–1956.
- ¹⁷ Jullian, C., Fernández-Sandoval, S., Rojas-Aranguiz, M., Gómez-Machuca, H., Salgado-Figueroa, P., Zapata-Torres, G. **(2014)**. Detecting Ni (II) in aqueous solution by 3-(2-pyridyl)-[1,2,3]triazolo[1,5-*a*]pyridine and dimethyl- β -cyclodextrin. *Journal of Chilean Chemistry Society*, 107, 124-131.
- ¹⁸ N. N. Greenwood y A. Earnshaw **(1997)**. *Chemistry of the Elements* (Second Edition) editorial Elsevier, Chapter 25, 27 y 28 1070-1193.
- ¹⁹ Denkhaus, E., y Salnikow, K. **(2002)**. Nickel essentiality, toxicity and carcinogenicity. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 42, 35-56.
- ²⁰ Beard, J. **(2003)**. Iron deficiency alters brain development and functioning. *Journal of Nutrition*, 133, 14685-14725.