



**UNIVERSIDAD DE JAÉN**  

---

**FACULTAD DE CIENCIAS  
EXPERIMENTALES  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA  
FÍSICA Y ANALÍTICA**

**TESIS DOCTORAL**

**QUIRALIDAD MOLECULAR Y SUPRAMOLECULAR  
DE SISTEMAS DE INTERÉS BIOLÓGICO Y  
ATMOSFÉRICO ESTUDIADAS MEDIANTE  
TÉCNICAS ESPECTROSCÓPICAS  
VIBRACIONALES SENSIBLES (VCD) Y NO  
SENSIBLES (IR Y RAMAN) A LA QUIRALIDAD  
COMBINADAS CON CÁLCULOS QUÍMICO  
CUÁNTICOS**

**PRESENTADA POR:  
MARÍA DEL MAR QUESADA MORENO**

**DIRIGIDA POR:  
DR. D. JUAN JOSÉ LÓPEZ GONZÁLEZ  
DR. D. JUAN RAMÓN AVILÉS MORENO**

**JAÉN, 16 DE FEBRERO DE 2017**

**ISBN 978-84-9159-261-7**



QUIRALIDAD MOLECULAR Y SUPRAMOLECULAR DE  
SISTEMAS DE INTERÉS BIOLÓGICO Y ATMOSFÉRICO  
ESTUDIADAS MEDIANTE ESPECTROSCOPIA VIBRACIONAL  
COMBINADA CON CÁLCULOS QUÍMICO CUÁNTICOS Y  
ESPECTROSCOPIA DE MICROONDAS

Los directores,

Dr. Juan Jesús López González  
Catedrático de Universidad  
Departamento de Química Física y  
Analítica  
Universidad de Jaén

Dr. Juan Ramón Avilés Moreno  
Investigador postdoctoral  
Departamento de Sistemas Físicos,  
Químicos y Naturales  
Universidad Pablo de Olavide

Tesis presentada para aspirar al grado de Doctor en Química por la Universidad  
de Jaén con Mención de Doctorado Internacional

María del Mar Quesada Moreno

Jaén, 16 de Febrero de 2017



*“Hay una fuerza motriz más poderosa que el vapor, la electricidad y la energía atómica: la voluntad”*

*Albert Einstein*



## ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. ESPECTROSCOPIÁS VIBRACIONAL Y ROTACIONAL.....	11
2.1. Espectroscopía vibracional.....	13
2.1.1. Introducción.....	13
2.1.2. Tratamiento clásico de los modos normales de vibración.....	14
2.1.3. Tratamiento cuántico de los modos normales de vibración.....	18
<i>i. Aproximación Born-Oppenheimer.....</i>	18
<i>ii. Ecuación de ondas vibracional y niveles de energía de una molécula poliatómica.....</i>	20
2.1.4. Espectroscopía Infrarroja.....	23
<i>i. Introducción.....</i>	23
<i>ii. Ley de Lambert-Beer.....</i>	23
<i>iii. Mecanismo de radiación de dipolo eléctrico.....</i>	24
<i>iv. Momentos de transición en absorción.....</i>	24
<i>v. Regiones en el IR.....</i>	26
2.1.5. Espectroscopía de Dicroísmo Circular Vibracional.....	27
<i>i. Conceptos importantes sobre quiralidad.....</i>	27
<i>ii. Polarización electromagnética y tipos de polarización.....</i>	28
<i>iii. Fundamento del Dicroísmo Circular Vibracional.....</i>	30
<i>iv. Intensidades VCD.....</i>	32
<i>v. Isotropía, anisotropía y birrefringencias circular y lineal.....</i>	35
2.1.6. Espectroscopía Raman.....	37
<i>i. Introducción.....</i>	37
<i>ii. Efecto Raman.....</i>	37
<i>iii. Descripción clásica del efecto Raman, intensidad y reglas de selección.....</i>	38
<i>iv. Polarización óptica de las bandas Raman.....</i>	42

<b>2.2. Espectroscopía rotacional</b> .....	42
2.2.1. Momentos de inercia y reglas de selección .....	42
2.2.2. Rotador rígido y semi-rígido .....	44
2.2.3. Determinación de las estructuras moleculares a partir de datos rotacionales.....	46
<b>2.3. Referencias</b> .....	47
<b>3. QUÍMICA COMPUTACIONAL Y MÉTODOS TEÓRICOS</b> .....	49
<b>3.1. Introducción</b> .....	51
<b>3.2. Métodos clásicos</b> .....	54
3.2.1. Mecánica molecular .....	54
<b>3.3. Métodos químico-cuánticos</b> .....	54
3.3.1. Resolución de la ecuación de Schrödinger usando el método Hartree-Fock (HF).....	55
<i>i. Generalidades y soluciones para la ecuación de Schrödinger en el           estado fundamental</i> .....	55
<i>ii. Simplificación del hamiltoniano <math>\hat{H}</math>: métodos monoelectrónicos</i> .....	56
<i>iii. Simplificación de la función de onda <math>\psi</math>: método Hartree-Fock (HF)</i> ...	57
<i>a) Principio variacional</i> .....	57
<i>b) Ecuaciones de Hartree-Fock</i> .....	58
<i>iv. Resolución práctica de las ecuaciones: el método L.C.A.O.</i> .....	59
<i>v. Cálculo de las integrales y elección de las bases</i> .....	60
<i>vi. Organización de un programa SCF</i> .....	63
3.3.2. Métodos post Hartree-Fock monoreferencia.....	65
<i>i. Introducción</i> .....	65
<i>ii. Métodos perturbativos Møller-Plesset (MP<sub>n</sub>)</i> .....	66
3.3.3. Métodos del funcional de la densidad (DFT, en inglés <i>Density Functional Theory</i> ) .....	68
<i>i. Introducción</i> .....	68
<i>ii. Descripción de los funcionales</i> .....	70

---

---

a) <i>Aproximaciones locales o aproximación LDA (Local Density Approximation en inglés)</i> .....	70
b) <i>Aproximaciones no locales o aproximación NL/LDA (Non-Local/Local Density Approximation en inglés)</i> .....	70
c) <i>Funcionales híbridos</i> .....	71
d) <i>Funcionales que incluyen dispersión</i> .....	71
e) <i>Funcionales corregidos de largo alcance</i> .....	72
3.3.4. Métodos de cálculo de energías relativas.....	74
i. <i>Introducción</i> .....	74
ii. <i>Descripción de los métodos empleados</i> .....	75
3.3.5. Precisión del método y tamaño de la base .....	78
<b>3.4. Referencias</b> .....	82
<b>4. DISPOSITIVOS EXPERIMENTALES</b> .....	87
<b>4.1. Espectrómetro Infrarrojo con Transformada de Fourier (FT-IR)</b> .....	89
4.1.1. Partes del equipo .....	89
i. <i>Fuente de luz</i> .....	89
ii. <i>Láser de referencia Helio-Neón</i> .....	90
iii. <i>Interferómetro de Michelson y transformada de Fourier</i> .....	91
iv. <i>Detector</i> .....	93
4.1.2. Procedimiento experimental .....	95
i. <i>Medida de un espectro FT-IR</i> .....	95
ii. <i>Tratamiento de muestra y condiciones experimentales</i> .....	96
4.1.3. Materiales.....	97
4.1.4. Técnicas para medidas en transmisión y reflexión .....	99
<b>4.2. Espectropolarímetro de Dicroísmo Circular Vibracional (VCD)</b> .....	101
4.2.1. Partes del equipo .....	101
i. <i>Fuente de luz</i> .....	102
ii. <i>Filtro óptico</i> .....	102

---

iii. Polarizador lineal.....	102
iv. ¿Cómo se obtiene una luz circularmente polarizada? Modulador fotoelástico .....	103
v. Detector.....	104
4.2.2. Artefactos presentes en medidas VCD de muestras sólidas .....	107
4.2.3. Procedimiento experimental .....	108
i. Elección de ventanas y disolventes .....	110
ii. Tratamiento de muestra .....	111
a) Preparación de muestras sólidas.....	111
a.1) Suspensiones en nijol y fluorolube .....	111
a.2) Películas delgadas .....	111
a.3) Pastillas de KBr.....	112
b) Preparación de muestras en disolución.....	114
iii. Optimización de las condiciones experimentales: concentración, paso óptico, resolución espectral y acumulaciones.....	114
iv. Corrección de la línea de base .....	115
v. Metodología experimental llevada a cabo para medidas VCD de muestras sólidas.....	116
4.2.4. Aplicaciones .....	121
4.2.5. Ventajas y desventajas .....	122
<b>4.3. Espectrómetro FT-Raman.....</b>	<b>123</b>
4.3.1. Partes del equipo .....	123
i. Fuente de luz.....	123
ii. Otros elementos.....	123
iii. Detector.....	124
4.3.2. Tratamiento de muestra y condiciones experimentales .....	125
4.3.3. Accesorios .....	125
i. Cubetas para líquidos y soportes para sólidos.....	125
ii. Celdas de temperatura variable.....	125
<b>4.4. Espectrómetro Microondas .....</b>	<b>127</b>

---

---

4.4.1.	Espectrómetro de pulsos microondas por transformada de Fourier.....	127
4.4.2.	Espectrómetro Microondas de banda ancha.....	130
4.5.	Referencias.....	132
5.	<b>QUIRALIDAD MOLECULAR DE LADRILLOS MODELO DE INTERÉS BIOLÓGICO Y DE SISTEMAS DE INTERÉS ATMOSFÉRICO .....</b>	<b>135</b>
5.1.	<b>L-Aminoácidos .....</b>	<b>137</b>
5.1.1.	Motivaciones.....	137
5.1.2.	Metodologías.....	140
	<i>i. Experimental.....</i>	<i>140</i>
	<i>ii. Teórica .....</i>	<i>141</i>
5.1.3.	Preferencias conformacionales de los aminoácidos L-treonina y L-valina.....	143
5.1.4.	Paisaje conformacional obtenido mediante técnicas de espectroscopía vibracional no sensibles a la quiralidad: IR y Raman a distintos pH.....	149
	<i>i. pH neutro-Especies zwitteriónicas .....</i>	<i>150</i>
	<i>ii. pH ácido-Especies catiónicas .....</i>	<i>152</i>
	<i>iii. pH básico-Especies aniónicas .....</i>	<i>154</i>
5.1.5.	Paisaje conformacional y configuracional mediante la técnica VCD sensible a la quiralidad.....	156
5.2.	<b>Carbohidratos .....</b>	<b>158</b>
5.2.1.	D-ribosa y 2-deoxi-D-ribosa.....	158
	<i>i. Motivaciones .....</i>	<i>158</i>
	<i>ii. Metodologías.....</i>	<i>160</i>
	<i>a) Teórica.....</i>	<i>160</i>
	<i>b) Experimental.....</i>	<i>161</i>
	<i>iii. Resultados y Discusión: Paisaje conformacional y respuesta quiro-óptica.....</i>	<i>162</i>
	<i>a) Preferencia configuracional y paisaje conformacional .....</i>	<i>162</i>

---

b)	<i>Estudio vibracional no quiro-óptico del paisaje conformacional: Espectroscopías IR y Raman</i> .....	168
c)	<i>Respuesta vibracional quiro-óptica: Espectroscopía VCD</i> .....	172
5.2.2.	Glicolaldehído.....	175
i.	<i>Motivaciones</i> .....	176
ii.	<i>Detalles computacionales y experimentales</i> .....	178
a)	<i>Procedimiento teórico y búsqueda conformacional</i> .....	178
b)	<i>Detalles experimentales: Estudio cinético del equilibrio aldo-enediolato mediante espectroscopía Raman</i> .....	179
iii.	<i>Resultados y discusión</i> .....	180
a)	<i>Superficie de energía potencial y propiedades de enlace</i> .....	180
b)	<i>Estudio del tautomerismo aldo-enediolato mediante espectroscopía Raman</i> .....	183
<b>5.3.</b>	<b>Terpenos</b> .....	191
5.3.1.	Motivaciones.....	191
5.3.2.	Metodología teórica .....	192
5.3.3.	Óxido de Limoneno .....	195
i.	<i>Motivaciones</i> .....	195
ii.	<i>Metodologías</i> .....	195
a)	<i>Detalles experimentales</i> .....	195
b)	<i>Resultados computacionales</i> .....	196
iii.	<i>Espectro rotacional</i> .....	198
iv.	<i>Discusión</i> .....	202
5.3.4.	$\gamma$ -Terpineno.....	204
5.3.5.	Pulegona .....	208
5.3.6.	Alcanfor.....	211
<b>5.4.</b>	<b>Alcaloide</b> .....	216
5.4.1.	Motivaciones.....	216
5.4.2.	Cálculos teóricos .....	217
5.4.3.	Análisis estructural mediante las técnicas IR y VCD .....	218

---

---

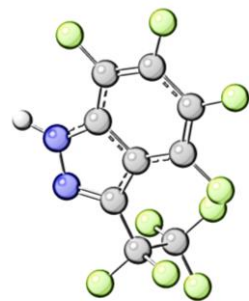
5.5. Referencias .....	220
<b>6. QUIRALIDAD SUPRAMOLECULAR: RESOLUCIÓN ESPONTÁNEA Y RECONOCIMIENTO MOLECULAR.....</b>	<b>227</b>
<b>6.1. Resolución espontánea .....</b>	<b>229</b>
6.1.1. Motivaciones.....	229
6.1.2. Metodologías .....	232
<i>i. Teórica .....</i>	<i>232</i>
<i>ii. Experimental.....</i>	<i>234</i>
<i>a) Síntesis .....</i>	<i>234</i>
<i>b) Espectroscopías IR, Raman y VCD.....</i>	<i>234</i>
6.1.3. Resultados y Discusión: resolución espontánea en los sistemas INDAZL, LIDGEL, YODJIM y YODJOS.....	235
<i>i. Rayos X y RMN.....</i>	<i>236</i>
<i>ii. Espectroscopías IR y Raman .....</i>	<i>238</i>
<i>iii. Respuesta quiro-óptica .....</i>	<i>241</i>
6.1.4. Polimorfos quirales y aquirales en el sistema 1 <i>H</i> -benzotriazol.....	245
6.1.5. Pureza enantiomérica inesperada en el sistema 2-propil-1 <i>H</i> -benzimidazol.....	247
6.1.6. Variaciones estructurales del 2-propil-1 <i>H</i> -benzimidazol con la temperatura .....	255
<b>6.2. Reconocimiento molecular y preferencia enantiomérica.....</b>	<b>257</b>
6.2.1. Motivaciones .....	257
6.2.2. Metodologías .....	259
<i>i. Experimental.....</i>	<i>259</i>
<i>ii. Teórica .....</i>	<i>259</i>
6.2.3. Resultados y Discusión.....	261
<i>i. Conformeros más estables de los complejos (all-S)-18c6H<sub>4</sub> y L/D-SerH<sup>+</sup>.....</i>	<i>261</i>
<i>ii. Estabilización de los complejos a través de la transferencia de carga en los enlaces de hidrógeno intermoleculares receptor-huésped.....</i>	<i>264</i>

---

iii. Respuesta quiro-óptica de los complejos ( <i>all-S</i> )-18c6H <sub>4</sub> y L/D-SerH <sup>+</sup> .....	265
iv. Reconocimiento molecular y preferencia enantiomérica de L-SerH <sup>+</sup> por S-18c6H <sub>4</sub> .....	270
6.2.4. Reconocimiento molecular en el sistema (S-18c6H <sub>4</sub> )-(L/D-CysH <sup>+</sup> ): resultados preliminares .....	272
<b>6.3. Referencias .....</b>	<b>274</b>
<b>7. CONCLUSIONES .....</b>	<b>277</b>
<b>ENGLISH SUMMARY .....</b>	<b>287</b>
<b>ANEXO .....</b>	<b>309</b>
Glosario .....	311
Producción científica .....	312
Índice de figuras .....	316
Índice de tablas .....	326

# 1. INTRODUCCIÓN

---





## 1. INTRODUCCIÓN

La **quiralidad** es una característica fundamental de muchos de los organismos vivos a nivel molecular así como a escala macroscópica. Además, está presente en los procesos más importantes relacionados con la vida conforme la conocemos actualmente [1]. Desde la formación de las primeras moléculas quirales en el universo primigenio (**origen de la vida**) hasta los procesos de **reconocimiento molecular** quiral a nivel molecular [2-5]. El alto grado de preferencia para una de las dos posibles imágenes especulares en la naturaleza, tales como *L*-aminoácidos o *D*-azúcares, a menudo llamado “**homoquiralidad biológica**” es un fenómeno desconcertante y que no se ha llegado a comprender totalmente.

La quiralidad de algunos compuestos conocidos puede ser “sentida” oliendo o degustando cantidades pequeñas de ellos. Por ejemplo, el limoneno, la sal de sodio del ácido glutámico y otros muchos compuestos químicos son sustancias con propiedades sensoriales que desprenden aromas, dando olor, y/o despiertan el paladar, proporcionando sabor a las comidas, dependiendo de su estereoquímica. Más allá, las diferencias estereoespecíficas tienen consecuencias más serias en **farmacología**, como se muestra en estudios de fármacos enantioméricos, como la talidomida o el ibuprofeno. La quiralidad de una molécula también acostumbra a determinar en gran medida su reactividad química, de manera que, por ejemplo, en muchas ocasiones para que dos moléculas reaccionen necesitan tener una configuración **estereoselectiva** e, incluso, **estereoespecífica** determinada. Esta estereoespecificidad de los mecanismos de reacción tiene una importancia crucial en bioquímica, donde la mayoría de las reacciones enzimáticas requieren una configuración o conformación específica de los reactivos [6].

Por otro lado, el conocimiento de la **configuración absoluta** de los sistemas quirales es esencial para entender la relación entre la función y la estructura de las moléculas. En este sentido, es importante tener en cuenta que pueden existir distintos tipos de quiralidad, lo cual se explicará en el subapartado *i. Conceptos importantes sobre quiralidad* del punto 2.1.5. del capítulo 2.

La estructura quiral de las biomoléculas (u otras especies químicas) en disolución se ha venido caracterizando, en la mayoría de los casos y, más bien, hasta entrado ya el presente milenio, con técnicas de resonancia magnética nuclear y de **dicroísmo circular electrónico** (**ECD**, *Electronic Circular Dichroism* en inglés). Asimismo, en el caso de muestras sólidas cristalinas, la técnica de difracción de rayos X ha sido utilizada también en algunas ocasiones, con un carácter mucho más limitado por los requerimientos que conlleva, para tratar de

extraer dicha información tanto desde ellas como desde sistemas quirales de otros ámbitos de la química. También en la mayoría de los casos, la información estructural obtenida a partir de los espectros ECD está asociada con solo una o dos transiciones electrónicas que aparecen en el rango del visible, con el inconveniente adicional de que, si la molécula no contiene grupos cromóforos, las transiciones electrónicas aparecen en el rango del UV lejano. Esto ocurre con la mayoría de los péptidos y proteínas, donde las transiciones asociadas con los grupos aromáticos cromóforos están superpuestas a las transiciones propias del péptido. Esto dificulta enormemente la asignación de una estructura con los datos ECD. Asimismo, aunque los grupos aromáticos no interfieran con las bandas propias del péptido, el número de transiciones electrónicas que presentan tales tipos de compuestos suele ser pequeño y, por lo tanto, la información estructural obtenida para ellos desde la espectroscopía ECD es muy limitada. Aun teniendo en cuenta estas desventajas, la técnica ECD ha sido muy útil en el análisis estructural de biomoléculas quirales.

Pero el uso del dicroísmo circular en espectroscopía molecular no se limita sólo a las regiones de las radiaciones electromagnéticas correspondientes a las transiciones electrónicas (UV-Visible), como es el caso de la técnica ECD, sino que también puede usarse, de manera similar, en el caso de la región espectral correspondiente a las vibraciones moleculares, esto es, en la región infrarroja (IR), conociéndose entonces la técnica correspondiente como **espectroscopía de dicroísmo circular vibracional (VCD, *Vibrational Circular Dichroism*** en inglés). De hecho, la técnica vibracional (VCD) tiene **importantes ventajas sobre la electrónica (ECD)** en su aplicación al estudio de las estructuras de sistemas moleculares tanto sencillos como complejos, paralelas, en buena medida, a las que para un objetivo similar tienen las correspondientes espectroscopías IR y UV-Visible clásicas, respectivamente, en el estudio de problemas no relacionados con la quiralidad de los mismos, entre las que señalaremos las siguientes de singular importancia: **1)** La presencia de numerosas transiciones vibracionales (y, por tanto, de sus bandas permitidas correspondientes) en IR y VCD, en comparación con las electrónicas en UV-Visible y ECD, **2)** Las vibraciones de los grupos aromáticos, carbonilos, aminos, etc., se pueden observar en transiciones separadas en IR y VCD, al contrario del gran solapamiento que para las mismas ocurre en UV-Visible y ECD y **3)** Con el importante impulso dado por *Stephens y cols.* [7-9] a la aplicación de los **cálculos químico cuánticos** en espectroscopía VCD en la última década del pasado siglo, la simulación teórica de los espectros registrados experimentalmente con esta técnica para una determinada especie química resulta una tarea mucho más sencilla y abordable, en general, que la correspondiente a la simulación de sus espectros ECD (que, entre otras cosas, requieren cálculos químico cuánticos que

incluyen a la variable tiempo) y, por tanto, la aplicación de la primera a, por ejemplo, la determinación de las configuraciones absolutas de dichas especies o sistemas en estudio ha adquirido, también en general, un uso mucho más extendido y útil que la segunda, sobre todo en estas dos últimas décadas.

También es justo señalar que no todo son ventajas en el empleo de la técnica VCD con relación a la ECD y así cabe señalar algunas **desventajas** como serían las siguientes: **1)** El efecto VCD es muy débil (del orden de  $10^{-3}$ - $10^{-5}$  respecto al IR)[9] y requiere de tiempos de adquisición muy largos, más que (en general) en ECD, tiempos que están consiguiendo reducirse de manera significativa con algunas mejoras que están incorporándose en los nuevos equipos de las diferentes casas que los comercializan, **2)** En general, se necesitan también concentraciones de muestra más altas que en ECD y **3)** Al igual que en espectroscopía IR clásica, el agua es un agente que produce interferencias muy molestas en VCD, cosa que no sucede en ECD, de manera semejante a como no sucede en espectroscopía UV-Visible. Aun debiéndose reconocer dichas desventajas, puede afirmarse que hoy día la técnica VCD ofrece mayor interés que la de ECD, especialmente desde el punto de vista estructural [10,11].

Adicionalmente a la técnica VCD para el estudio mediante espectroscopía vibracional de sistemas quirales, comentar que la **actividad óptica Raman (ROA, Raman Optical Activity** en inglés) constituye, de manera semejante a como lo es la espectroscopía VCD respecto a la IR, la técnica contraparte sensible a la quiralidad de la Raman clásica [10,11]. Un equipo de dicha técnica ROA fue adquirido por la Universidad de Jaén (UJA) hace unos años, pero no ha estado disponible para su uso en su Centro de Instrumentación Científico Técnico (CICT) hasta finales del año pasado, razón por la cual no ha podido llegar a ser usado, como en principio estaba previsto hacerlo, para el desarrollo de los trabajos de esta tesis doctoral. Las técnicas VCD y ROA han venido a reforzar notablemente la potencialidad de la espectroscopía vibracional clásica para el estudio estructural de sistemas químicos, ampliando el ya de por sí importante papel jugado para el logro de dicho objetivo por parte de sus correspondientes contrapartes clásicas, esto es, de las técnicas IR y Raman, respectivamente, y permitiendo su aplicación al estudio específico de los efectos debidos a la presentación de quiralidad por parte de tales sistemas.

La **determinación experimental** de la **configuración absoluta** de un compuesto quiral es, en general, una tarea, no sólo de gran interés científico, sino también industrial, como lo es claramente en el caso de la industria farmacéutica, habiéndose revelado en las dos últimas décadas la espectroscopía VCD como una de las principales técnicas para conseguir dicho objetivo, principalmente, en el caso de compuestos estudiados en fases condensadas, sobre todo **líquida**

[9,11,12], pero también **sólida**, tarea esta última en la que el grupo de investigación en el que se ha desarrollado este trabajo está contribuyendo a su desarrollo de una manera significativa, como se recoge en las referencias 13-15 y como, asimismo, se mostrará en esta memoria de tesis.

Por otro lado, hay que significar que también la radiación de **microondas** (**MW**, del inglés *microwave*) está siendo usada en estos últimos años para la determinación de configuraciones absolutas de especies químicas en fase gas [16-18].

Desde un punto de vista meramente químico, los sistemas objeto de estudio de esta tesis doctoral pueden dividirse en **tres grandes grupos**: i) En primer lugar, se encuentran aquellos sistemas aislados, de tamaño variable, que presentan quiralidad **“per se”**. ii) En segundo lugar, se encuentran ciertos agregados moleculares donde la quiralidad, generalmente de tipo supramolecular, bien surge de manera espontánea, debido al establecimiento de interacciones no covalentes entre unidades monoméricas aisladas (con quiralidad previa o sin ella, hablándose en el último caso de **resolución espontánea**) [13-15], o es inducida, por ejemplo, fotoquímicamente [19,20], o por la presencia de determinados disolventes [21], etc. iii) En tercer lugar, y dentro del segundo grupo, cabe también incluir la quiralidad supramolecular condicionada por la magnitud de la interacción entre dos entidades aisladas [3], según el modelo **host/guest** (receptor/huésped), pudiéndose dar lugar a procesos de reconocimiento quiral enantioselectivos y/o enantioespecíficos.

En todos estos casos, las técnicas vibracionales sensibles (**VCD**) y no sensibles (**IR y Raman**) a la quiralidad, apoyadas por cálculos químico cuánticos, se usan como herramientas para llevar a cabo el análisis **conformacional** y/o configuracional, incluyendo en este último caso la determinación propiamente estereoquímica de la **configuración absoluta** del sistema en estudio.

En consonancia con lo dicho en los últimos párrafos, en la presente tesis, se abordará tanto el estudio individual de algunas moléculas aisladas de interés biológico (**aminoácidos, carbohidratos** y un **alcaloide**) o atmosférico (**terpenos**), acerca de las que no existen datos en la bibliografía de una caracterización completa mediante las técnicas vibracionales y de microondas mencionadas anteriormente, como el estudio de **agregados supramoleculares**, fundamentalmente mediante el uso de las citadas técnicas de la espectroscopía vibracional (apoyadas por cálculos químico cuánticos) y otras técnicas complementarias (en diferentes colaboraciones con otros grupos especialistas en su uso), en dos líneas bien diferenciadas, como se indica a continuación. Por un

lado, una línea relativa a todo lo relacionado con la quiralidad (incluyendo su configuración absoluta) de los cristales formados por una serie de derivados del **1H-indazol** y otros compuestos heteroatómicos similares (**1H-benzimidazol** y **1H-benzotriazol**) que presentan, asimismo, fenómenos de resolución espontánea y, por otro, una línea en la que estudiaremos los procesos de **reconocimiento quiral** entre el éter corona (***all-S*-18c6H<sub>4</sub>**) y los enantiómeros **R** y **S** del aminoácido **serina** (previamente estudiado como sistema individual), así como los resultados preliminares obtenidos con el huésped cisteína. También se han llevado a cabo aquí trabajos adicionales sobre la **determinación** mediante la técnica VCD **de excesos enantioméricos** (e.e.) en disolución y en fase sólida para un compuesto de referencia en el uso de dicha técnica, y en orden a la posible posterior aplicación de los resultados obtenidos al estudio de dicho asunto en algunos sistemas más complejos (como aquellos de índole supramolecular también objeto de estudio en esta tesis y que han sido ya mencionados más arriba), así como acerca de la caracterización de las estructuras en fase **gas** de una serie de 3 compuestos terpénicos (2 de los cuales habían sido ya objeto de estudio reciente mediante técnicas vibracionales dentro del grupo de investigación de la doctoranda) mediante el uso de **espectroscopía rotacional**.

Finalmente, comentar que esta tesis ha podido llevarse a cabo gracias a la concesión de una beca/contrato predoctoral de 4 años de duración a la doctoranda por parte de la UJA, en concreto dentro de la Acción 16: “Ayudas para la Formación de Personal Investigador”, del Plan de Apoyo a la Investigación, Desarrollo Tecnológico e Innovación de la Universidad de Jaén (UJA) del bienio 2009-2010 (prorrogado). Agradecer también la financiación parcial del desarrollo de la misma por parte de la Junta de Andalucía, en concreto como parte de un Proyecto de Excelencia (P08-FQM-04096), concedido a un equipo de trabajo en el que se encontraban los directores de esta tesis y del que fue IP uno de ellos (dentro de la convocatoria de 2008 de la CICE de dicho organismo) y que finalizó en diciembre de 2013. Agradecer, asimismo, a la UJA, la financiación parcial de una parte de esta tesis mediante la concesión a sendos equipos de trabajo del referido grupo de investigación de dos proyectos puentes (UJA2013/08/03-UJA2015/08/07, el primero, y UJA2016/08/15, el segundo) y de dos Ayudas a la Excelencia: Modalidad de Agregaciones de Grupos de Investigación, de las convocatorias 2014 y 2015 de la “Acción 2 del Plan Propio de I+D+i de la UJA 2014-15”. Gracias también al CICT de la UJA por la disposición de sus instalaciones y de todo su personal, cuya ayuda ha sido requerida en algún momento para llevar a cabo trabajos relativos a esta tesis.

Los estudios mediante espectroscopía de microondas de los terpenos **óxido de limoneno** y  **$\gamma$ -terpineno** se pudieron llevar a cabo gracias a la realización por parte de la doctoranda de una estancia de investigación de un mes (Mayo, 2014) en el Laboratorio PhLAM (Laboratoire de Physique des Lasers, Atomes et Molécules), UFR de Physique, Université Lille 1 en **Lille (Francia)**, financiada por el grupo de investigación liderado por la Prof. D<sup>a</sup>. Thérèse Huet mediante el contrato ANR-10-BLAN-724-5 NCPCHEM. La doctoranda pudo aprender sobre espectroscopía de pulsos microondas por transformada de Fourier, **MB-MWFT** (del inglés *Molecular Beam-Microwave Fourier Transform spectrometer*).

Por su parte, el espectro rotacional en fase gas del terpeno denominado **pulegona**, en este caso mediante un espectrómetro microondas de banda ancha sensible a la quiralidad, **CP-FTMW** (del inglés *Chirped-Pulse Fourier Transform Microwave spectrometer*), fue registrado y analizado durante una estancia de dos meses (12 Mayo a 12 Julio, 2015) en el grupo de investigación “Structure and Dynamics of Cold and Controlled Molecules”, Max-Planck-Institut für Struktur und Dynamik der Materie, de **Hamburgo (Alemania)**, liderado por la Dra. Melanie Schnell, gracias a una beca de movilidad Max Planck dentro del programa “Max Planck Prince of Asturias Mobility Programme for Spanish junior” concedida a la doctoranda y financiada por la Fundación Príncipe de Asturias y la “Max Planck Society”.

El manuscrito que aquí se presenta consta de 6 capítulos, además de este primero de “Introducción”.

El propósito del **capítulo 2**, titulado: “Espectroscopías vibracional y rotacional”, es la revisión de los fundamentos teóricos de las distintas técnicas (IR, VCD y Raman) de la espectroscopía vibracional y de la técnica de microondas (MW) correspondiente a la espectroscopía rotacional empleadas durante la realización de esta tesis. En el **capítulo 3**, denominado: “Química computacional y métodos teóricos”, se pretende proporcionar una explicación acerca de los cálculos químico cuánticos (mecánica molecular y mecanocuánticos) llevados a cabo en este trabajo y el porqué de su elección (precisión, coste computacional, condiciones experimentales que se deseen reproducir, etc.). En el **capítulo 4**, denominado: “Dispositivos experimentales”, se describen las técnicas espectroscópicas vibracionales sensibles (VCD) y no sensibles a la quiralidad (IR y Raman) y la técnica rotacional (MW) empleadas, especificando las partes que componen los equipos, los accesorios usados, las condiciones en las que se llevaron a cabo los experimentos, la metodología usada, etc.

En los **capítulos 5**: “Quiralidad molecular de ladrillos modelo de interés biológico y de sistemas de interés atmosférico” y **6**: “Quiralidad supramolecular: resolución espontánea y reconocimiento molecular”, se presentan y analizan los resultados obtenidos en los trabajos realizados en esta tesis correspondientes a los dos bloques de sistemas moleculares estudiados en ella y que han sido comentados con anterioridad.

Terminar este capítulo de introducción diciendo que esta ha sido la primera tesis doctoral en la que se ha hecho uso de una técnica sensible a la quiralidad, esto es, la espectroscopía VCD, de las realizadas en el Grupo de Investigación: “Química Física Teórica y Experimental” (FQM173), cuya principal línea de investigación desde sus orígenes (allá por finales de los años 70 del siglo pasado) ha estado centrada en el campo de la “Espectroscopía Molecular” y, más en concreto, de la “Espectroscopía Vibracional” tanto teórica como experimental y que ha sido pionero en la introducción de dicha técnica dicróica a nivel nacional.

## Referencias

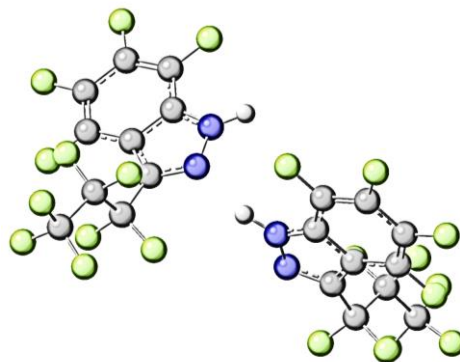
---

- [1] A. G. Cairns-Smith, *Seven Clues to the Origin of Life*, Cambridge University Press, Cambridge, 1985.
- [2] C. Merten, M. H. Hyun, Y. Xu, *Chirality* **25**, 294–300 (2013).
- [3] J. R. Avilés-Moreno, M. M. Quesada-Moreno, J. J. López-González, B. Martínez-Haya, *J. Phys. Chem. B* **117**, 9362–9370 (2013).
- [4] Y. Machida, M. Kagawa, H. Nishi, *J. Pharm. Biomed. Anal.* **30**, 1929–1942 (2003).
- [5] H. Nagata, H. Nishi, M. Kamigauchi, T. Ishida, *Chem. Pharm. Bull.* **54**, 452–457 (2006).
- [6] T. Taniguchi, N. Miura, S. Nishimura, K. Monde, *Mol. Nutr. Food Res.* **48**, 246–254 (2004).
- [7] P. J. Stephens, F. J. Devlin, C. F. Chabalowski, M. J. Frisch, *J. Phys. Chem.* **98**, 11623–11627 (1994).
- [8] J. R. Cheeseman, M. J. Frisch, F. J. Devlin, P. J. Stephens, *Chem. Phys. Lett.* **252**, 211–220 (1996).
- [9] P. J. Stephens, F. J. Devlin, J. R. Cheeseman, *VCD Spectroscopy for Organic Chemists*, CRC Press, Boca Raton, 2012.
- [10] P. L. Polavarapu, C. Zhao, *Fresenius J. Anal. Chem.* **366**, 727–734 (2000).

- [11] L. A. Nafie, *Vibrational Optical Activity. Principles and Applications*, Wiley, New York, 2011.
- [12] P. L. Polavarapu, *Vibrational Spectra: Principles and Applications with Emphasis on Optical Activity (Studies in Physical and Theoretical Chemistry)*, Elsevier, Amsterdam, 1998.
- [13] J. J. L. González, F. P. Ureña, J. R. A. Moreno, I. Mata, E. Molins, R. M. Claramunt, C. López, I. Alkorta, J. Elguero, *New J. Chem.* **36**, 749–758 (2012).
- [14] J. R. Avilés-Moreno, M. M. Quesada-Moreno, J. J. López-González, R. M. Claramunt, C. López, I. Alkorta, J. Elguero, *ChemPhysChem* **14**, 3355–3360 (2013).
- [15] M. M. Quesada-Moreno, J. R. Avilés-Moreno, J. J. López-González, K. Jacob, L. Vendier, M. Etienne, I. Alkorta, J. Elguero, R. M. Claramunt, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **19**, 1632–1643 (2017).
- [16] D. Patterson, M. Schnell, J. M. Doyle, *Nature* **497**, 475–478 (2013).
- [17] V. A. Shubert, D. Schmitz, D. Patterson, J. M. Doyle, M. Schnell, *Angew. Chem. Int. Ed.* **53**, 1152–1155 (2014).
- [18] V. A. Shubert, D. Schmitz, C. Medcraft, A. Krin, D. Patterson, J. M. Doyle, M. Schnell, *J. Chem. Phys.* **142**, 214201 (2015).
- [19] R. M. Tejedor, L. Oriol, J. L. Serrano, F. Partal, J. J. López González, *Adv. Funct. Mater.* **17**, 3486–3492 (2007).
- [20] J. R. Avilés, F. Partal, J. J. López González, F. Vera, M. B. Ros, T. Sierra, *J. Phys. Chem. B* **116**, 5090–5096 (2012).
- [21] E. Debie, P. Bultinck, W. Herrebout, B. van der Veken, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **10**, 3498–3508 (2008).

## 2. ESPECTROSCOPIAS VIBRACIONAL Y ROTACIONAL

---





## 2. ESPECTROSCOPIAS VIBRACIONAL Y ROTACIONAL

El propósito de este capítulo es la revisión de los fundamentos teóricos de la espectroscopía vibracional (IR, VCD y Raman) y rotacional (MW) empleadas durante la realización de esta tesis.

### 2.1. Espectroscopía vibracional

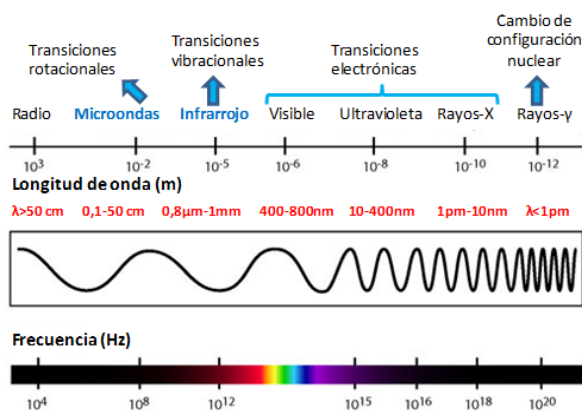
#### 2.1.1. Introducción

En el proceso de interacción de la radiación con la materia, la energía absorbida o emitida corresponde con la diferencia de dos niveles de energía de los átomos o moléculas. Esta diferencia de niveles en términos de longitud de onda o frecuencia de la radiación emitida o absorbida por el sistema molecular se expresa mediante la ecuación de **Planck-Bohr** [1,2]:

$$\Delta E = E_2 - E_1 = h \cdot \nu = h \cdot \tilde{\nu} \cdot c = h \cdot c \cdot \frac{1}{\lambda} \quad (2.1)$$

donde  $\Delta E = E_2 - E_1$  es la diferencia de energía entre los dos niveles implicados en la transición ( $E_2$ : estado excitado,  $E_1$ : estado fundamental),  $h$  es la constante de Planck ( $6,626069 \times 10^{-34}$  J·s),  $\tilde{\nu}$  es el número de ondas ( $\text{cm}^{-1}$ ),  $\nu$  es la frecuencia ( $\text{s}^{-1}$ ),  $c$  es la velocidad de la luz en el vacío ( $3 \cdot 10^{10}$  cm/s) y  $\lambda$  es la longitud de onda (cm). Según la longitud de onda a la que la molécula emite o absorbe radiación, nos encontramos en una región de la **radiación electromagnética** o en otra (ver *Fig. 2.1*).

Un sistema de moléculas no interaccionantes puede presentar los siguientes tipos de energía: traslacional, rotacional, vibracional, electrónica o nuclear. Estos tipos de energía poseen magnitudes de diferentes órdenes, por lo que las transiciones entre los correspondientes niveles de energía darán lugar a absorción o emisión de



**Figura 2.1:** Regiones en las que se puede dividir el espectro electromagnético en función de la longitud de onda y efectos moleculares de la radiación en las mismas. Imagen tomada de la referencia 3 y convenientemente modificada.

energía en zonas o regiones espectrales de diferente frecuencia o longitud de onda. Este hecho nos permite estudiar independientemente los espectros asociados a estos niveles de distintos tipos de energía con técnicas espectroscópicas diferentes.

En este trabajo se han empleado técnicas espectroscópicas vibracionales (**IR**, **Raman** y **VCD**) y rotacionales (**MW**). Las técnicas empleadas se basan en fenómenos distintos y ofrecen información complementaria, sea dentro del mismo rango de frecuencias (IR), o en un rango distinto (MW), inmediatamente por debajo del anterior.

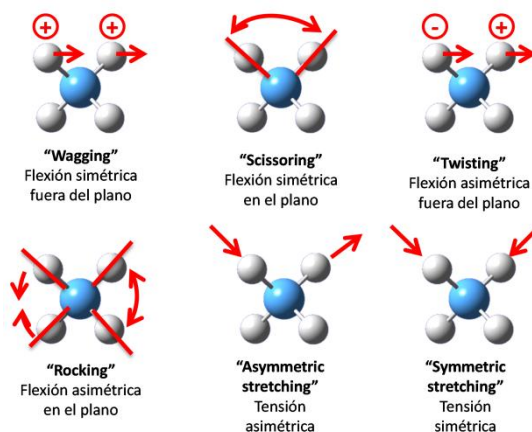
### 2.1.2. Tratamiento clásico de los modos normales de vibración

A todas las temperaturas posibles los átomos en las moléculas están realizando continuos movimientos vibracionales, donde los ángulos y las distancias de enlace están variando continua y periódicamente sin que se produzcan traslaciones de sus centros de masas. Los movimientos de vibración de una molécula pueden descomponerse en oscilaciones en las que los átomos se mueven en fase y que se llaman **modos normales de vibración**, cada uno de los cuales tiene una frecuencia característica.

El número de modos normales de vibración para una molécula poliatómica no lineal es igual a  $3N - 6$  y para una lineal es igual a  $3N - 5$ . La *Fig. 2.2* ilustra los principales modos normales de vibración que podemos encontrar en una molécula [2].

El estudio del movimiento de una molécula poliatómica en el espacio es muy complejo.

Para estudiar solo las vibraciones hay que encontrar la manera de separar el conjunto de movimientos en traslaciones, rotaciones y vibraciones. Este problema fue tratado por Casimir, Eckart y más generalmente por Sayvetz, quienes estudiaron la elección de un conjunto apropiado de coordenadas con las cuales realizar la separación lo más extensa posible. Haciendo uso de las condiciones de Sayvetz (detalladas en la referencia 4), las vibraciones de una



**Figura 2.2:** Esquema de los modos normales de vibración principales de una molécula.

molécula se pueden tratar de forma separada de los movimientos rotacionales y traslacionales.

Se necesitan las expresiones de la energía cinética,  $\mathbf{T}$ , y potencial,  $\mathbf{V}$ , para escribir la ecuación de movimiento vibracional de una molécula. Vamos a considerar una molécula en la que la posición del núcleo atómico  $\alpha$ -enésimo viene definida por el vector de posición  $\mathbf{r}_\alpha$ , de componentes  $x_\alpha$ ,  $y_\alpha$  y  $z_\alpha$  y la posición de equilibrio por el vector  $\mathbf{r}_\alpha^0$  de componentes  $x_\alpha^0$ ,  $y_\alpha^0$  y  $z_\alpha^0$ . El desplazamiento instantáneo del núcleo  $\alpha$ -enésimo a partir de la posición de equilibrio en el sistema en rotación se define por el vector  $\boldsymbol{\rho}_\alpha$ , de componentes  $\Delta x_\alpha = x_\alpha - x_\alpha^0$ ,  $\Delta y_\alpha = y_\alpha - y_\alpha^0$  y  $\Delta z_\alpha = z_\alpha - z_\alpha^0$  [4,5]:

$$\boldsymbol{\rho}_\alpha = \mathbf{r}_\alpha - \mathbf{r}_\alpha^0 \quad (2.2) \quad 2T = \sum_{i=1}^{3n} m_i \dot{x}_i^2 \quad (2.3)$$

La **energía cinética vibracional** viene dada por la ecuación (2.3), donde la sumatoria va desde 1 hasta  $3n$ , considerando como coordenadas las componentes cartesianas del vector  $\boldsymbol{\rho}_\alpha$  ( $x_i$  es la coordenada de desplazamiento cartesiana genérica) y  $m_i$  toma los valores  $m_1$  para  $i = 1, 2$  y  $3$ ,  $m_2$  para  $i = 4, 5$  y  $6$  y así sucesivamente. A menudo es conveniente emplear un conjunto de “coordenadas cartesianas ponderadas en masa”,  $q_i$ , definidas por la ecuación (2.4). Usándolas se puede escribir la expresión para la energía cinética de forma más simplificada, tal y como se muestra en la ecuación (2.5).

$$q_i = \sqrt{m_i} \cdot x_i \quad (2.4) \quad 2T = \sum_{i=1}^{3n} \dot{q}_i^2 \quad (2.5)$$

La **energía potencial** es una función de las coordenadas de desplazamiento. Para pequeños desplazamientos la energía potencial se puede expandir en una serie de potencias de las coordenadas de desplazamiento:

$$2V = 2V_0 + 2 \sum_i \left( \frac{\partial V}{\partial q_i} \right)_0 q_i + \sum_{i,j} \left( \frac{\partial^2 V}{\partial q_i \partial q_j} \right)_0 q_i q_j + \dots \quad (2.6)$$

Nosotros estamos interesados en la variación de la energía potencial con las coordenadas  $q_i$  y no en su valor absoluto. Fijamos, por tanto, el cero de la escala de energía en la posición de equilibrio y entonces  $V_0 = 0$ . Como la posición de equilibrio es el mínimo de energía potencial y todas las  $q_i$  son independientes entre sí, también se cumple la ecuación (2.7). Los términos más elevados que el término cuadrático de la ecuación (2.6) pueden despreciarse para pequeños desplazamientos de los átomos alrededor de la posición de equilibrio dentro de la aproximación armónica, y nos queda la expresión (2.8) para la energía potencial [4].

$$f_i = \left( \frac{\partial V}{\partial q_i} \right)_0 = 0 \quad (2.7) \quad 2V = \sum_{i,j} \left( \frac{\partial^2 V}{\partial q_i \partial q_j} \right)_0 q_i q_j = \sum_{i,j} f_{ij} q_i q_j \quad (2.8)$$

Los términos  $f_{ij}$  son las **constantes de fuerza** y expresan el cambio que se produce en la energía potencial cuando un átomo o un grupo se mueve a lo largo de las direcciones dadas por  $q_i$  y  $q_j$  [2]. Como  $V$  es una función continua, el orden de diferenciación en (2.6) es indiferente y por eso  $f_{ij} = f_{ji}$ . En principio, el número de constantes de fuerza distintas es  $3n \times (3n + 1)/2$ .

Conocidas  $T$  y  $V$  podemos escribir la ecuación de movimiento de Newton para la molécula en vibración en su forma lagrangiana [ver ecuación (2.9)]. Sustituyendo en la ecuación (2.9) las expresiones (2.5) y (2.8) tenemos la ecuación (2.10).

$$\frac{d}{dt} \left( \frac{\partial T}{\partial \dot{q}_i} \right) + \left( \frac{\partial V}{\partial q_i} \right) = 0 \quad i = 1, 2, \dots, 3n \quad (2.9) \quad \ddot{q}_i + \sum_j f_{ij} q_j = 0 \quad (2.10)$$

Las soluciones de este sistema de ecuaciones diferenciales de segundo orden simultáneas son las funciones del **oscilador armónico** de la mecánica clásica:

$$q_i = A_i \cos(2\pi c \nu t + \phi) \quad (2.11)$$

donde  $\nu$  es la frecuencia de vibración en  $\text{cm}^{-1}$  (o número de ondas),  $c$  es la velocidad de la luz,  $\phi$  es un factor de fase y  $A_i$  es el desplazamiento máximo del átomo desde su posición de equilibrio.

Si sustituimos (2.11) en (2.10) obtenemos la ecuación (2.12), y reescribiendo adecuadamente la misma, la ecuación (2.13).

$$\sum_j f_{ij} A_j - 4\pi^2 c^2 \nu^2 A_i = 0 \quad (2.12) \quad \sum_j (f_{ij} - \lambda \delta_{ij}) A_j = 0 \quad (2.13)$$

donde  $\lambda = 4\pi^2 c^2 \nu^2$  y  $\delta_{ij}$  es la **función delta de Kronecker**. Esta ecuación (2.13) es un conjunto de  $3n$  ecuaciones lineales homogéneas simultáneas en los  $3n$  coeficientes  $A_j$  desconocidos, el cual tiene soluciones diferentes a la trivial  $A_j = 0$  ( $j = 1, 2, \dots, 3n$ ) solamente si el determinante de los coeficientes es igual a cero [4], esto es:

$$\begin{bmatrix} f_{1,1} - \lambda & f_{1,2} & f_{1,3} & \cdots & f_{1,3n} \\ f_{1,2} & f_{2,2} - \lambda & f_{2,3} & \cdots & f_{2,3n} \\ f_{1,3} & f_{2,3} & f_{3,3} - \lambda & \cdots & f_{3,3n} \\ \vdots & \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ f_{1,3n} & f_{2,3n} & f_{3,3n} & \cdots & f_{3n,3n} - \lambda \end{bmatrix} = 0 \quad (2.14)$$

Este es el denominado **determinante secular**, el cual cuando se expande da lugar a una ecuación algebraica de orden  $3n$  en  $\lambda$ , denominada **ecuación**

**secular.** Habrá entonces  $3n$  valores de  $\lambda$ , que serán los autovalores de la ecuación (2.14) y que, como se ha mostrado anteriormente, están relacionados con las frecuencias vibracionales del sistema. Habrá entonces  $3n$  **frecuencias armónicas**,  $\nu_k$ , para las cuales el determinante secular será igual a cero. 6 de estas frecuencias armónicas (5 si la molécula es lineal) son cero y corresponden a las traslaciones y rotaciones moleculares. Por lo tanto, existen solamente  $3n - 6$  ( $3n - m$ , si la molécula es lineal) raíces distintas de cero para la ecuación secular [4]. Si sustituimos el valor de una de estas  $3n - 6$  raíces, llamémosla  $\lambda_k$ , en la ecuación (2.13), se obtiene una solución para los coeficientes seculares incógnita,  $A_j$ . Para mostrar la relación de dicho coeficiente con el  $\lambda_k$  usado, se indica la solución mediante  $A_{jk}$ . Sin embargo, no es posible determinar todos los  $3n$  coeficientes  $A_{jk}$  desconocidos desde la ecuación (2.13), sino sólo ciertas relaciones entre ellos (para más información, ver sección 2.6 de la referencia 4).

Llegados a este punto es conveniente introducir el concepto de “**coordenada normal**”. El uso de este tipo de coordenadas resulta adecuado no solamente para el tratamiento clásico del problema vibracional sino, aún más si cabe, también para su tratamiento cuántico. Las frecuencias correspondientes a los modos normales de vibración pueden llegar a ser observables del sistema que pueden ser asociados a los diferentes modos normales y, en definitiva, a los diferentes grados de libertad vibracionales de las moléculas. Las coordenadas normales,  $Q_k$ , están relacionadas con las “**coordenadas cartesianas ponderadas en masa**”,  $q_i$ , mediante la siguiente expresión:

$$\mathbf{Q} = \mathbf{L}\mathbf{q} \quad (2.15)$$

donde  $\mathbf{q}$  es un vector columna que contiene todas las coordenadas cartesianas ponderadas en masa,  $q_i$ ,  $\mathbf{Q}$  es un vector columna que contiene las  $3N$  coordenadas normales,  $Q_k$ , y  $\mathbf{L}$  es la matriz de transformación, cuyas componentes son los denominados coeficientes  $l_{i,k}$ .

En el espacio de las coordenadas normales, las energías potencial y cinética se pueden escribir de la siguiente forma:

$$2T = \sum_{k=1}^{3n-6} \dot{Q}_k^2 \quad (2.16) \quad 2V = \sum_{k=1}^{3n-6} \Delta_k Q_k^2 \quad (2.17)$$

donde  $\Delta_k$  son los autovalores de la energía. De esta forma, la expresión para la energía potencial,  $V$ , es diagonal porque contiene el cuadrado de las coordenadas normales y no términos cruzados ( $f_{ij}q_iq_j$ ).

El cálculo de los modos normales de una molécula implica la diagonalización de la matriz de las constantes de fuerza: los autovalores de la matriz de las

constantes de fuerza diagonalizada son las frecuencias vibracionales, y la matriz  $\mathbf{L}$ , autovector que diagonaliza la matriz de las constantes de fuerza, transforma el espacio  $\mathbf{q}$  en el espacio  $\mathbf{Q}$  (para más detalle ver sección 3.7 de la referencia 2).

### 2.1.3. Tratamiento cuántico de los modos normales de vibración

#### *i. Aproximación Born-Oppenheimer*

La ecuación fundamental de la mecánica cuántica es la **ecuación de ondas de Schrödinger**:

$$\hat{H}(R, r, t)\psi(R, r, t) = -i\hbar \frac{d\psi(R, r, t)}{dt} \quad (2.18)$$

$$\hat{H}(R, r)\psi(R, r) = E\psi(R, r) \quad (2.19)$$

donde  $\hat{H}$  es el hamiltoniano molecular que depende de las coordenadas nucleares,  $R$ , y de las coordenadas electrónicas,  $r$  (también del tiempo,  $t$ , en la forma de ecuación (2.18) o ecuación **dependiente del tiempo**). La ecuación de Schrödinger escrita en la forma de la ecuación (2.19) es **independiente del tiempo**, se denomina como ecuación de Schrödinger estacionaria del sistema en estudio y es, matemáticamente, una ecuación en valores propios, en la que  $\psi$  es la **función propia** de dicha ecuación, que para el estudio de un sistema molecular, como es el caso de interés en este trabajo, dependerá de las coordenadas de posición nucleares,  $R$ , y de las coordenadas electrónicas,  $r$ , de la molécula.  $E$  es el correspondiente **valor propio de la energía** (o energía molecular, para los casos de interés en este trabajo), que será (al igual que el hamiltoniano molecular) independiente del tiempo, para los estados estacionarios del sistema.

El estado estacionario con el valor propio de la energía más pequeño se denomina **estado fundamental** del sistema. Nosotros vamos a trabajar con la ecuación de Schrödinger independiente del tiempo, suponiendo que nuestro sistema no evoluciona con el mismo. En el caso de sistemas moleculares, que son, como se ha dicho, los que nos interesarán en este trabajo de tesis, el hamiltoniano,  $\hat{H}$ , de los mismos será la suma de los siguientes términos:

$$\begin{aligned} \hat{H} &= T_n + T_e + V_{nn} + V_{ee} + V_{ne} \quad (2.20) \\ T_n &= -\sum_{\alpha} \frac{\hbar^2}{2m_{\alpha}} \frac{\partial^2}{\partial R_{\alpha}^2}; \quad T_e = -\sum_i \frac{\hbar^2}{2m_i} \frac{\partial^2}{\partial r_i^2} \\ V_{nn} &= \sum_{\alpha, \beta} \frac{Z_{\alpha} Z_{\beta} e^2}{R_{\alpha\beta}}; \quad V_{ee} = \sum_{i, j} \frac{e^2}{r_{ij}}; \quad V_{ne} = -\sum_{i, \alpha} \frac{Z_{\alpha} e^2}{r_{i\alpha}} \end{aligned}$$

donde  $T_n$  y  $T_e$  son las contribuciones de las energías cinéticas de los núcleos y de los electrones, respectivamente,  $V_{nn}$ ,  $V_{ee}$  y  $V_{ne}$  son las respectivas energías potenciales de interacción entre los núcleos (repulsiones), los electrones (repulsiones) y entre los núcleos y los electrones (atracciones). Los subíndices con las letras griegas  $\alpha, \beta, \dots$  se refieren a los núcleos, mientras que aquellos con las letras latinas  $i, j, \dots$  lo hacen a los electrones,  $Z$  es el número atómico del elemento en cuestión cuyos átomos intervienen en la composición del sistema molecular y  $R_{\alpha\beta}$ ,  $r_{i\alpha}$  y  $r_{ij}$  son las distancias núcleo-núcleo, núcleo-electrón y electrón-electrón, respectivamente [4].

Los únicos sistemas que pueden resolverse de forma exacta empleando la ecuación de Schrödinger independiente del tiempo son el átomo de Hidrógeno y los iones hidrogenoides, pues poseen un único electrón. Para sistemas con **más de un electrón** se recurre a utilizar **aproximaciones** que, o bien simplifiquen el problema (fundamentalmente facilitando algunas de las consideraciones de sus planteamientos) o introduzcan metodologías más o menos complejas para obtener soluciones aproximadas del mismo. Para empezar, aplicamos la **aproximación de Born-Oppenheimer**, la cual se basa en la gran diferencia de masa entre los electrones y los núcleos. Asume que el movimiento de los núcleos y de los electrones está desacoplado y divide el problema en una ecuación nuclear y otra electrónica. En una primera etapa, se considera que los electrones se mueven alrededor de los núcleos para una determinada posición de estos, es decir, como si los núcleos estuviesen fijos. En una segunda etapa, se estudia el movimiento nuclear o la superficie de energía potencial, que es muy útil para saber cuáles son las posiciones más estables de los núcleos [6]. Por un lado, podemos expresar el hamiltoniano de la siguiente forma:

$$\hat{H}^{total} = \hat{H}^{elec} + \hat{H}^{nucl} \quad (2.21)$$

$$\hat{H}^{elec} = T_e + V_{ne} + V_{ee} \quad \hat{H}^{nucl} = T_n + V_{nn}$$

Por otro lado, la función de ondas y la energía totales se expresan, asimismo, de la forma siguiente:

$$\psi(R, r) = \Psi^{elec}(R, r)\Psi^{nucl}(R) \quad (2.22) \quad E = E^{elec} + E^{nucl} \quad (2.23)$$

La ecuación de Schrödinger puede ser separada en una parte nuclear y en una parte electrónica:

$$\hat{H}^{elec}(R, r)\Psi^{elec}(R, r) = E^{elec}\Psi^{elec}(R, r) \quad (2.24)$$

$$\hat{H}^{nucl}(R)\Psi^{nucl}(R) = E^{nucl}\Psi^{nucl}(R) \quad (2.25)$$

Cabe resaltar que la ecuación electrónica contiene las coordenadas de los núcleos ( $R$ ), ya que su solución depende de forma paramétrica de la posición de

los núcleos. Lo que se suele hacer es resolver la ecuación electrónica para diversas posiciones de los núcleos (ecuación nuclear), para así tener acceso a la energía total,  $E$ , del sistema molecular bajo diferentes disposiciones nucleares de los átomos que conforman la molécula, pudiéndose escribir la ecuación de ondas estacionaria global del sistema en la forma:

$$\hat{H}^{total}(R, r)\psi(R, r) = E\psi(R, r) \quad (2.26)$$

donde cada uno de los términos que en ella aparecen tienen el significado ya apuntado.

En los estudios que hemos llevado a cabo en la presente tesis nos interesan de manera particular los **autovalores** y las **autofunciones** del **operador hamiltoniano nuclear**, los primeros de los cuales no serán otra cosa que los valores de la energía correspondientes a sus diferentes tipos de movimientos. Así, para tratar el problema nuclear, es necesario tener en cuenta las contribuciones vibracionales, rotacionales y traslacionales. Como vimos en el punto 2.1.2. “Tratamiento clásico de los modos normales de vibración”, estas contribuciones se pueden estudiar por separado gracias a las aportaciones de Casimir, Eckart y Sayvetz (ver referencia 4). En una primera aproximación se suele utilizar el modelo del **oscilador armónico** para la vibración y del **rotor rígido** (ver apartado 2.2. “Espectroscopía rotacional”) para la rotación. La función de onda nuclear se puede descomponer como producto de una función de onda rotacional,  $\Psi_r$ , y una función de onda vibracional,  $\Psi_v$  [ver ecuación (2.27)]. Y el hamiltoniano nuclear se puede escribir como suma de un hamiltoniano rotacional,  $\hat{H}_r$ , y uno vibracional,  $\hat{H}_v$ , tal y como se expresa en la ecuación (2.28).

$$\Psi^{nucl} = \Psi_r \Psi_v \quad (2.27)$$

$$\hat{H}^{nucl} = \hat{H}_r + \hat{H}_v \quad (2.28)$$

*ii. Ecuación de ondas vibracional y niveles de energía de una molécula poliatómica*

Para resolver la ecuación de Schrödinger del problema vibracional armónico de una molécula poliatómica vamos a usar aquí el denominado sistema de coordenadas normales, que es posiblemente y de una forma general el más adecuado. Cuando estudiamos las vibraciones de una molécula poliatómica, estas pueden ser no degeneradas o doble, triple, cuádruple o quíntuplemente degeneradas, y la solución de la ecuación de Schrödinger tiene algunos aspectos diferentes para cada caso.

La ecuación de Schrödinger para el oscilador armónico isótropo en  $n$  dimensiones es la siguiente:

$$\sum_{i=1}^n \frac{\partial^2 \Psi}{\partial Q_i^2} + \frac{2}{\hbar^2} \left[ E - \frac{\lambda}{2} \sum_i Q_i^2 \right] \Psi = 0 \quad (2.29)$$

Cuando no hay interacciones de vibraciones, se puede factorizar:

$$\Psi = \prod_{i=1}^n \Psi_i \quad E = \sum_{i=1}^n E_i \quad (2.30)$$

Esto nos lleva a  $n$  ecuaciones del tipo de la ecuación (2.29), más simples, dependientes cada una de ellas de una sola coordenada normal,  $Q_i$ , esto es:

$$\frac{\partial^2 \Psi}{\partial Q_i^2} + \frac{2}{\hbar^2} \left[ E_i - \frac{\lambda}{2} Q_i^2 \right] \Psi = 0 \quad (2.31) \quad E_i = h\nu \left( \nu_i + \frac{1}{2} \right) \quad (2.32)$$

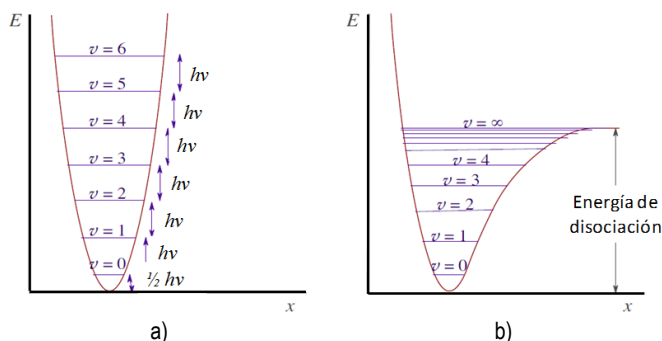
Cuyos autovalores de energía vendrán dados por la expresión (2.32). Según esta ecuación (2.32), la **energía vibracional de una molécula poliatómica** en la **aproximación armónica** viene dada por la ecuación (2.33). Donde  $\nu_i$  es la frecuencia vibracional [4] y  $\nu_i$  es el número cuántico vibracional que sólo puede adoptar valores de 0, 1, 2, etc., es decir, valores enteros y con variaciones de la unidad de  $h \cdot \nu$  entre ellos.

$$E_i = \sum_{i=1}^{3N-6} \left( \nu_i + \frac{1}{2} \right) h c \nu_i \quad (2.33) \quad E_0 = \frac{1}{2} h c \sum_i \nu_i \quad (2.34)$$

Como “**nivel cero o fundamental**” denominamos al estado vibracional más bajo que se corresponde con una transición vibracional en la que todas las coordenadas normales tienen un valor de  $\nu_i = 0$ . La energía de este estado no es cero (ver *panel a* de la Fig. 2.3), sino que tiene el valor de la ecuación (2.34) [4,5]. Esta energía se denomina “**energía del punto cero**” (pues estaría presente en la molécula estudiada incluso a la temperatura de 0 K) y puede llegar a tener un valor relativamente alto en las moléculas poliatómicas, informándonos de que la molécula tendría movimientos (desplazamientos) vibracionales de sus átomos componentes respecto de sus posiciones de equilibrio por valor de esa energía  $E_0$ .

Los valores de  $\nu_i$  están **cuantizados**, lo que quiere decir que la energía vibracional está cuantizada desde el punto de vista de la mecánica cuántica y bajo la aproximación del oscilador armónico. Las reglas de selección son:  $\Delta \nu_i = 0, \pm 1$  (+1 para absorción y -1 para emisión). Esto tiene enormes consecuencias, ya que quiere decir que la energía vibracional está estructurada en una serie de niveles discretos y que estos serán distintos según la molécula a estudiar. Es lógico deducir, en consecuencia, que la interacción de la radiación electromagnética

infrarrojo será distinta en función de la molécula con la que interaccione. Por lo tanto, la respuesta obtenida (espectro vibracional) también variará de una molécula a otra.



**Figura 2.3:** a) Energía potencial para el modelo del oscilador armónico y b) Energía potencial para el modelo del oscilador anarmónico. Imagen tomada de la referencia 2, parcial y adecuadamente modificada.

Para reproducir correctamente, desde el punto de vista de la mecánica cuántica, la distribución de niveles de vibración de una molécula, el modelo del oscilador armónico falla. El modelo armónico predice que los niveles vibracionales están equidistantes, independientemente del valor de  $v_i$ . En realidad, lo que se observa es que estos niveles empiezan a aproximarse entre sí conforme aumenta el valor de  $v_i$ . Esto es debido a la **anarmonicidad** de las vibraciones. El potencial real de una molécula es el resultado de una combinación de dos potenciales de signo distinto:

- i) Un potencial atractivo debido a la existencia de un enlace.
- ii) Un potencial repulsivo debido a las repulsiones entre las nubes electrónicas de ambos núcleos.

Este efecto surge porque la función potencial deja de ser cuadrática, presentando una forma similar al potencial de Morse (ver *panel b* de la *Fig. 2.3*), e implica, por ejemplo, que si separamos lo suficiente ambos átomos, el enlace se va a romper y vamos a disociar la molécula [2]. La desviación de la función de energía del potencial armónico se tiene en cuenta incluyendo términos cúbicos, cuárticos, etc. en el desarrollo en serie de potencias del potencial [ecuación (2.6)] y tratando estos términos adicionales mediante, por ejemplo, la teoría de perturbaciones. La corrección anarmónica es relativamente pequeña en las transiciones que parten desde el estado fundamental y llegan al primer estado excitado, pero llega a ser más predominante para transiciones que parten de estados altamente excitados, los cuales se encuentran más poblados a altas temperaturas, y dan lugar a las denominadas “bandas calientes”. La

anarmonicidad también da lugar a la aparición de las denominadas bandas “sobretonos”, al cambiar las reglas de selección en relación a la aproximación armónica y ser permitidas en esta nueva aproximación transiciones más allá de  $\Delta v_i = 0, \pm 1$  [2].

#### 2.1.4. Espectroscopía Infrarroja

##### *i. Introducción*

Puede decirse que esta es una técnica que tiene algo más de un siglo de existencia, ya que el primer espectro infrarrojo de un sistema químico fue observado en 1881 por Abney y Festing, quienes también sugirieron que las absorciones estaban relacionadas con la composición química de los líquidos que investigaban. Sin embargo, más apropiadamente puede considerarse a William W. Coblentz como el verdadero pionero que introdujo la técnica de la espectroscopía IR en el estudio de la Química. Así, en 1905 publicó un amplio estudio de los espectros IR de distintos compuestos químicos registrados en la región espectral 1000-16000 nm [7].

##### *ii. Ley de Lambert-Beer*

La absorción de las radiaciones electromagnéticas por parte de la muestra a estudiar se puede cuantificar usando la **ley de Lambert-Beer**, que relaciona de forma lineal la intensidad de la luz entrante ( $I_0$ ) con la de la luz saliente ( $I$ ), cuando un rayo de luz atraviesa la longitud  $l$  de un medio que absorbe.

$$A = \log \left( \frac{I_0}{I} \right) = \varepsilon \cdot c \cdot l \quad (2.35)$$

donde  $c \left( \frac{\text{mol}}{l} \right)$  es la concentración,  $l \text{ (cm)}$  es la longitud de la cubeta y  $\varepsilon \left( \frac{l}{\text{mol} \cdot \text{cm}} \right)$  es la absorptividad molar.

Esta ley sólo describe bien el comportamiento de la absorción en **disoluciones diluidas**, con una absorbancia inferior a 1.

La relación entre las intensidades de la luz saliente y entrante se denomina **transmitancia**, y el logaritmo decimal de la transmitancia es la **absorbancia** [1].

$$T = \frac{I}{I_0}; A = -\log T = -\log \frac{I}{I_0} = \varepsilon \cdot c \cdot l \quad (2.36)$$

iii. *Mecanismo de radiación de dipolo eléctrico*

La espectroscopía infrarroja se basa en el hecho de que las moléculas sólo absorben radiación correspondiente a diferencias cuantizadas de sus niveles de energía vibracionales, llamadas frecuencias resonantes [2].

El **mecanismo de radiación de dipolo eléctrico** da cuenta de la forma en que se produce la emisión o absorción de energía infrarroja por parte del sistema en estudio. Según este mecanismo, para que un movimiento de vibración de una molécula origine una banda en un espectro de absorción o emisión, es decir, para que la luz IR y una molécula interactúen, es necesario que la vibración de la molécula lleve consigo una **variación del momento dipolar eléctrico** [2]. Sin embargo, para ello no es necesaria la existencia previa de un dipolo permanente en la molécula o sistema molecular estudiado, sino que existan vibraciones moleculares en las especies químicas estudiadas que provoquen (y, por tanto, estén asociadas a) cambios en los momentos dipolares de las mismas, diciéndose entonces que tales vibraciones (y sus transiciones energéticas correspondientes entre los correspondientes niveles de energía vibracionales) son “activas en IR”. La magnitud que gobierna este mecanismo de radiación de dipolo eléctrico es el **vector momento dipolar eléctrico**, el cual viene dado por la suma de los correspondientes operadores electrónico y nuclear:

$$\hat{\mu}_{elec} = \hat{\mu}_{elec}^E + \hat{\mu}_{elec}^N \quad (2.37)$$

$$\hat{\mu}_{elec}^N = \sum_{\alpha=1}^N Z_{\alpha} e \hat{R}_{\alpha} \quad \hat{\mu}_{elec}^E = - \sum_{i=1}^N e \hat{r}_i$$

donde  $e$  es la unidad de carga elemental (carga del electrón),  $\hat{r}_i$  es el operador posición de los  $i$  electrones y  $Z_{\alpha}$  y  $\hat{R}_{\alpha}$  la carga y el operador posición de los  $\alpha$  núcleos [8].

iv. *Momentos de transición en absorción*

Para que en un sistema molecular tenga lugar una transición vibracional tienen que cumplirse dos condiciones:

1) La radiación debe poseer la **energía o frecuencia apropiada** correspondiente a la diferencia de energía existente entre los estados atómicos o moleculares.

2) El **momento de la transición** debe ser **distinto de cero**. En la expresión (2.38),  $\langle \psi_n | \hat{\mu}_{elec} | \psi_m \rangle$  es el momento de la transición, el cual es el valor de expectación del operador dipolo eléctrico:

$$\hat{\mu}_{elec,nm} = \langle \psi_n | \hat{\mu}_{elec} | \psi_m \rangle \quad (2.38) \quad D_{n,m} = \int \frac{\varepsilon}{\tilde{\nu}} d\tilde{\nu} = |\langle \psi_n | \hat{\mu}_{elec} | \psi_m \rangle|^2 \quad (2.39)$$

donde  $\psi_n$  y  $\psi_m$  son las funciones de onda de estado estacionario asociadas a los niveles de energía  $n$  y  $m$ , y  $\hat{\mu}_{elec}$  es el operador dipolo eléctrico, definido en el subapartado anterior [2].

El cuadrado del momento de la transición es la magnitud observable relacionada con la intensidad espectral en espectroscopía de absorción IR. Así, llamamos **fuerza del dipolo**,  $D_{n,m}$ , de una transición entre los niveles  $n$  y  $m$  correspondientes a una determinada vibración molecular a la magnitud definida en la forma de la ecuación (2.39).  $D_{n,m}$  está directamente relacionada con la intensidad integrada de una banda de absorción, la cual puede ser determinada experimentalmente como el área de la banda infrarroja, representada en unidades del coeficiente de absorptividad molar,  $\varepsilon$ , frente al número de ondas,  $\tilde{\nu}$ .

El momento de la transición determina el que una transición ocurra o no y, si es permitida, cómo de intensa aparecerá en el espectro IR. De un espectro vibracional también podemos obtener información de la energía de la transición, la cual se puede determinar a partir de la posición de la banda (en número de ondas, ver subapartado *ii.* del punto 2.1.3.) [2].

De una banda espectral podemos saber su posición (longitud de onda, frecuencia o número de ondas) y su intensidad. Como se ha dicho en los párrafos anteriores, la intensidad espectral IR, según el mecanismo de radiación de dipolo al que venimos haciendo referencia, viene determinada por el momento de la transición y las frecuencias o números de ondas vibracionales por los valores de la energía. Por tanto, si las funciones de onda del sistema son conocidas con un grado alto de precisión, tanto la intensidad como la energía de una transición pueden ser calculadas a partir de los principios de la mecánica cuántica discutidos en este capítulo. De hecho, el cálculo químico cuántico de energías y, por tanto, de los números de ondas (o frecuencias) de las bandas de los espectros infrarrojos es un tema hoy día muy avanzado, tanto en la aproximación armónica como, asimismo y aunque en menor medida, de sus contribuciones (y efectos) de origen anarmónicos [9-11]. Sin embargo, y aunque también se ha avanzado bastante en ello en las últimas décadas, en la práctica, todavía sigue resultando más difícil llegar a determinar con precisión valores cuantitativos e incluso (aún para moléculas de tamaño moderado) cualitativos de las intensidades de las mismas (sobre todo en fases condensadas) mediante métodos teóricos (quedando también mucho camino por recorrer y avanzar en lo relativo a su determinación experimental) [12,13].

La **intensidad de absorción** de una determinada banda IR puede llegar a dar información (al menos, cualitativa) sobre la magnitud de la deformación que sufre el momento dipolar de la molécula estudiada durante la vibración correspondiente de sus átomos que da lugar a ella. Así, puede afirmarse que:

- Si la deformación del momento dipolar molecular durante la vibración considerada es grande, conllevará una absorción fuerte o de gran intensidad. Ejemplos: las correspondientes, en general, a grupos C=O y C-X, siendo X un halógeno.
- Si, por el contrario, la deformación del momento dipolar molecular es pequeña a lo largo de la vibración molecular considerada, conllevará una absorción débil o de pequeña intensidad. Ejemplo: en general, las correspondientes a las deformaciones de enlaces C-C en una cadena carbonada [2,14].

v. *Regiones en el IR*

La radiación infrarroja se puede dividir en tres regiones:

Regiones	Rango espectral (cm <sup>-1</sup> )	Información que proporciona
<b>Infrarrojo Lejano</b>	< 400	- Modos normales de torsión. - Óxidos metálicos, componentes metálicos, complejos metálicos inorgánicos y orgánicos, polímeros, cristales, etc.
<b>Infrarrojo Medio</b>	4000-400	- Proporciona información sobre los grupos funcionales presentes en la molécula
<b>Infrarrojo Cercano</b>	> 4000	- Principalmente sobretonos de los modos normales de los grupos O-H, N-H, C-H. - Absorción débil en comparación con la de la región infrarroja media. - Aplicación en el campo de los alimentos procesados y de la agricultura. - La forma del espectro es compleja.

**Tabla 2.1:** Regiones de la radiación infrarroja, rango espectral (cm<sup>-1</sup>) e información que proporcionan [2].

Según la región que analicemos podremos obtener, por tanto, una rica información estructural acerca de las diferentes partes que pueden conformar los sistemas moleculares en estudio, esto es, grupos funcionales, cadenas carbonadas, anillos, etc. En este punto, hay que señalar la gran utilidad de la región del **Infrarrojo Lejano (FIR, Far Infrared** en inglés) para el análisis conformacional de las distintas estructuras moleculares que se han estudiado en esta tesis doctoral, así como la obtención de información acerca de la existencia de especies asociadas tipo oligoméricas y cateméricas (hélices cristalinas). Pues en esta zona aparecen preferentemente las bandas correspondientes a los modos

normales de los movimientos vibracionales de torsión, los cuales son muy sensibles a la conformación molecular y a la formación, desde sus correspondientes unidades, de especies oligoméricas y cateméricas.

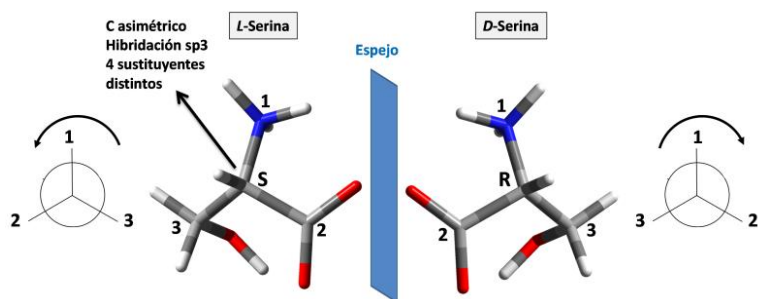
### 2.1.5. Espectroscopía de Dicroísmo Circular Vibracional

#### *i. Conceptos importantes sobre quiralidad*

##### *¿Qué hace que una molécula sea quiral?*

La **quiralidad** es la propiedad de un objeto de no ser superponible con su imagen especular (mano izquierda y derecha). Aplicada a la química, podemos encontrar tres tipos principales de quiralidad:

**1) Centro quiral.** Lo más frecuente (pero no lo único) que conduce a la quiralidad en un sistema molecular simple o complejo es la presencia de un átomo de carbono con hibridación  $sp^3$  unido a cuatro átomos o grupos atómicos diferentes [8]. Ese átomo de carbono se conoce como átomo de carbono asimétrico o átomo de carbono quiral, y a menudo se resalta con un asterisco (\*), constituyendo lo que se ha venido llamando un estereocentro de dicho sistema molecular. También otros átomos del grupo del C (o grupo 12/IVb de la tabla periódica de los elementos) como, por ejemplo, el Si o Ge pueden dar lugar a estereocentros, aunque dada la mayor cantidad e importancia de compuestos de carbono (u orgánicos) conocidos, generalmente todo lo relativo a este tipo de quiralidad suele referirse al átomo de C como referencia. Un ejemplo de este tipo de quiralidad podemos verlo en la *Fig. 2.4*.

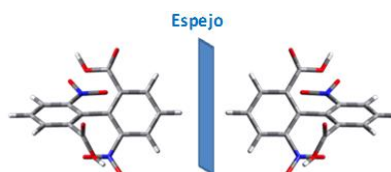


**Figura 2.4:** Enantiómeros de la molécula de serina. Al lado de las estructuras se muestra la proyección de Newman con los números de preferencia según la nomenclatura de Cahn-Ingold-Prelog (CIP), la cual se emplea para nombrar la configuración absoluta de un estereocentro.

Cada molécula quiral la podemos encontrar bajo dos formas (*R* y *S*), cada una de las formas es una imagen especular no superponible de la otra, al igual que la mano derecha lo es de la izquierda. Dos compuestos que cumplen esta

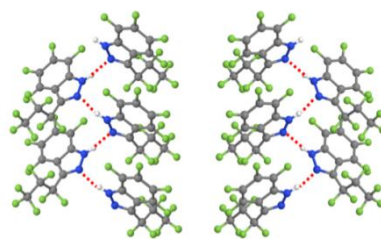
propiedad decimos que son quirales, y cada uno es enantiómero del otro. Tienen las mismas propiedades físicas y, en este sentido, solo difieren en que una de las formas desvía la luz polarizada hacia la derecha (forma *D* o dextrógira) y la otra hacia la izquierda (forma *L* o levógira), aunque se trata de una desviación de la misma magnitud en ambos casos. A los compuestos que desvían el plano de polarización de la luz hacia la derecha se les denomina dextrógiros y a los que lo desvían hacia la izquierda levógiros [15], como ha quedado anteriormente apuntado.

**2) Atropoisomería.** En este tipo de quiralidad no es necesaria la existencia de átomos de C asimétricos o estereocentros. Algunas moléculas tienen un impedimento estérico tan grande (por poseer, por ejemplo, grupos sustituyentes muy voluminosos en átomos de determinados enlaces) que no pueden pasar, por rotación de tales enlaces, de una conformación a otra que es imagen especular de la anterior. Como estas moléculas están “bloqueadas” en una conformación o su imagen especular, se debe evaluar la quiralidad y actividad óptica de esta conformación “bloqueada” [15]. Un ejemplo de esto que decimos se muestra en la *Fig. 2.5*.



**Figura 2.5:** Conformaciones de un derivado del bifenilo estéricamente impedido.

**3) Quiralidad supramolecular.** Tiene lugar cuando sustancias que pueden también no contener unidades estructurales básicas con centros quirales, pueden llegar a formar estructuras más complejas de tipo supramolecular que sean quirales. Esto implica que estas estructuras supramoleculares puede poseer una imagen especular y ambas serán ópticamente activas, dando lugar a espectros VCD, ECD o incluso ROA [8]. Un ejemplo de lo dicho puede ser el que se muestra en la *Fig. 2.6*.



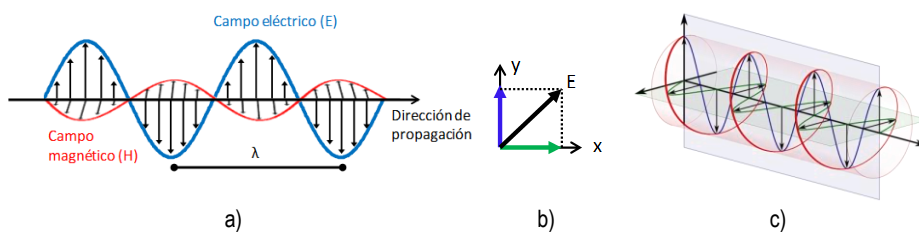
**Figura 2.6:** Hélices *M* (izquierda) y *P* (derecha) que forman los monómeros del 3-(perfluoropropil)-4,5,6,7-tetrafluoro-1H-indazol mediante enlaces de hidrógeno [16].

### *ii. Polarización electromagnética y tipos de polarización*

De forma simplificada, podemos describir la **radiación electromagnética** como la propagación de un campo **eléctrico** y un campo **magnético** que oscilan en fase y con las mismas variaciones de espacio y tiempo, pero en diferentes planos, perpendiculares entre sí y también a la dirección de propagación. Para

simplificar la discusión, y dado que los vectores asociados a los campos eléctrico y magnético de la radiación electromagnética siempre están en fase el uno con el otro y simplemente son perpendiculares entre sí, haremos la discusión del asunto de la polarización de la luz (o radiación electromagnética) y sus distintos estados (tipos) haciendo sólo mención (como es costumbre) al vector asociado al campo eléctrico de la radiación [2].

Si la radiación electromagnética (luz) está **polarizada linealmente**, el vector eléctrico describe una oscilación sinusoidal en un plano, y si lo vemos desde un punto situado a lo largo de la dirección de propagación, la oscilación del vector eléctrico aparecerá como una línea (ver *panel a* de la *Fig. 2.7*).



**Figura 2.7:** a) Onda electromagnética polarizada linealmente, b) Descomposición del vector campo eléctrico en las componentes  $x$  e  $y$  linealmente polarizadas y c) Superposición de dichas componentes para producir luz circularmente polarizada. La imagen del panel a) ha sido construida a partir de la *Fig. 2.5* de la referencia 2 y la imagen del panel c) ha sido tomada de la referencia 17.

La luz emitida por un conjunto desordenado de átomos o moléculas normalmente **no** estará **polarizada**. En este caso no hay dirección preferente del vector eléctrico y, por ello, todas las orientaciones de la dirección del vector eléctrico perpendicular a la propagación serán igualmente probables. Entonces veremos una superposición de ondas polarizadas linealmente con sus vectores eléctricos orientados al azar.

Si la luz está **circularmente polarizada**, el vector eléctrico trazará un camino helicoidal sobre el eje de propagación, como se muestra en el *panel c* de la *Fig. 2.7*, completando un giro para cada distancia recorrida correspondiente al valor de la longitud de onda de la radiación. Si lo vemos desde un punto situado a lo largo de la dirección de propagación, el vector eléctrico describe un movimiento circular en sentido horario o anti-horario. La luz circularmente polarizada se puede describir como un haz polarizado lineal en el que se ha inducido un desfase de  $\pm\pi/2$  o  $\pm\lambda/4$  a sus dos componentes a izquierdas y a derechas [2].

### iii. Fundamento del Dicroísmo Circular Vibracional

La determinación experimental de la configuración absoluta en la región vibracional requiere, de partida, el uso de **luz IR polarizada circularmente**. El **espectro VCD** de un determinado compuesto químico quiral es la **diferencia** de absorción entre la luz IR polarizada circularmente a izquierdas ( $\mathbf{A}_L$ , sentido anti-horario) y a derechas ( $\mathbf{A}_R$ , sentido horario), para las transiciones vibracionales que se experimentan en una molécula de dicho compuesto quiral, a los correspondientes números de ondas, cuando sobre ella se hacen incidir ambos tipos de radiación circularmente polarizada [8].

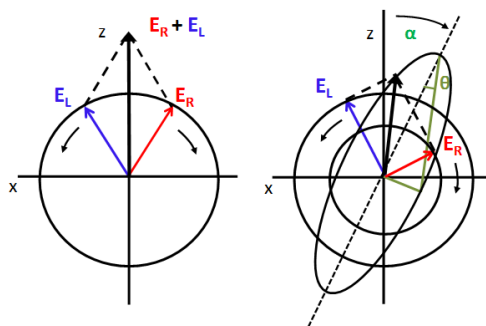
$$\Delta A(\nu) = A_L(\nu) - A_R(\nu) \quad (2.40)$$

La luz polarizada linealmente es la suma de las dos componentes circularmente polarizadas (a izquierdas y derechas), las cuales poseen la misma magnitud y se propagan en fase. Cuando inducimos un desfase, obtenemos luz circularmente polarizada (ver subapartado *iv. ¿Cómo se obtiene una luz circularmente polarizada? Modulador fotoelástico* del punto 4.2.1. “Partes del equipo” del apartado 4.2. “Espectropolarímetro de Dicroísmo Circular Vibracional (VCD)” del capítulo 4). Después de que la luz circularmente polarizada atraviese la muestra quiral, la luz resultante es elíptica, pues la muestra absorbe más luz circularmente polarizada hacia un sentido que hacia el otro. La consecuencia de esta distinta absorción es que el vector resultante también ha sufrido una rotación respecto al incidente. Este fenómeno se puede caracterizar con el **ángulo elíptico** ( $\theta$ ), el cual está directamente relacionado con la señal de dicroísmo circular. Para sistemas no quirales, las componentes de luz circularmente polarizadas hacia un sentido y otro serán absorbidas de igual forma por la muestra, la diferencia  $\Delta A(\nu) = A_L(\nu) - A_R(\nu)$  será cero y no tendremos señal VCD. Debido a ello, sólo se obtienen espectros VCD de sistemas quirales. En la *Fig. 2.8* se comparan, de manera esquemática, una luz linealmente polarizada con una luz elípticamente polarizada.

Si hacemos incidir luz circularmente polarizada sobre una muestra quiral, puede ocurrir lo siguiente:

- **ORD** (*Optical Rotatory Dispersion* en inglés): Dispersión óptica rotatoria. Las componentes transmitidas tendrán la misma intensidad ( $E_L = E_R$ ), pero el vector suma ha girado respecto a la luz incidente. Esto ocurre cuando los índices de refracción en relación con la luz circular a izquierdas y derechas son distintos. De esta forma, podemos tener acceso al valor del ángulo de rotación  $\alpha$  (ver subapartado *v. Isotropía, anisotropía y birrefringencias circular y lineal*).

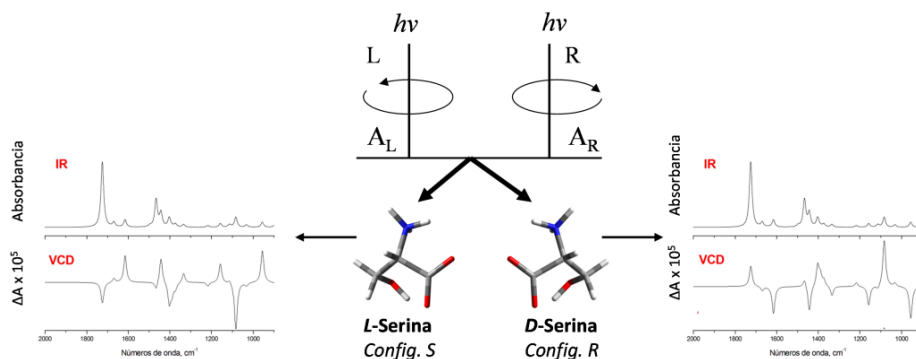
- **CD** (*Circular Dichroism* en inglés): Dicroísmo Circular. Tiene lugar cuando las componentes  $E_L$  y  $E_R$  son absorbidas de forma diferente. La luz resultante es elíptica y el vector resultante ha rotado respecto al incidente. En este caso medimos el ángulo elíptico ( $\theta$ ), teniendo acceso a  $\Delta A$  y por lo tanto a los espectros ECD (radiación ultravioleta-visible) y VCD (radiación infrarroja).
- Desde medidas en muestras activas en ORD y CD, podemos tener acceso simultáneamente a la determinación de los valores de los parámetros  $\alpha$  y  $\theta$ .



**Figura 2.8:** A la izquierda, luz plana polarizada (vector campo eléctrico  $E$ ) como resultante de las dos componentes circularmente polarizadas  $E_L$  y  $E_R$ . A la derecha, representación de la trayectoria elíptica del vector eléctrico como resultado de la diferente interacción de cada una de las dos componentes circularmente polarizadas  $E_L$  y  $E_R$ , esto es, la componente  $E_R$  absorbe más que la componente  $E_L$ . Los semi-ejes mayor y menor de la elipse forman un triángulo y el ángulo opuesto al semi-eje menor es el ángulo  $\theta$ , la elipticidad. El eje mayor de la elipse ha rotado a través del ángulo  $\alpha$ , correspondiente a la rotación óptica. Imagen construida a partir de la *Fig. 1.17* de la referencia 18.

Si registramos el espectro **IR** de los dos enantiómeros de una molécula quiral (ver *Fig. 2.9*) obtenemos dos **espectros idénticos** y **superpuestos**. Pero si registramos los espectros **ORD** y **CD**, serán de **igual magnitud** y **signo contrario**, es decir, las imágenes especulares de la molécula dan espectros ORD y CD que también son imágenes especulares. En consecuencia, la configuración absoluta de una molécula quiral puede, en principio, ser determinada a partir de su espectro ORD y/o CD [8].

La aparición de valores de la magnitud  $\Delta A$  en los espectros de dicroísmo circular depende de la longitud de onda y siempre aparece relacionada con una absorción UV-Visible (ECD) o del IR (VCD). Además, el signo y la magnitud de  $\Delta A$  están relacionados con la configuración de la molécula.



**Figura 2.9:** Diagrama sobre la obtención de un espectro IR y de un espectro VCD. Se muestra cómo cambia el espectro VCD según el enantiómero sobre el que incide la luz circularmente polarizada.

La intensidad de absorción infrarroja asociada con el VCD, también llamada Absorbancia Vibracional, (**VA**, del inglés *Vibrational Absorbance*), se define como la media de las intensidades de absorbanza individuales para la radiación polarizada circularmente hacia la izquierda y hacia la derecha [8].

$$A(\nu) = \frac{1}{2} [A_L(\nu) + A_R(\nu)] \quad (2.41)$$

Particularizando (en general) desde ahora al caso de la radiación infrarroja, las bandas **VCD** son **más débiles** que las IR, del orden de  $10^{-3}$  a  $10^{-5}$ , esto es, de 3 a 5 órdenes de magnitud veces más débiles, respecto a la señal IR. Por ello, es más difícil y tedioso obtener un espectro VCD de buena calidad que uno IR de la misma sustancia química. La técnica VCD combina la especificidad estructural de la espectroscopía IR con la estereo-sensibilidad del dicroísmo circular [8,19].

#### iv. Intensidades VCD

Para el cálculo de las intensidades VCD, necesitamos poder derivar una función de ondas que produzca una contribución electrónica distinta de cero al momento de transición de dipolo magnético [20] y poder obtener, de este modo, **intensidades VCD distintas de cero** [21]. Para llegar a este fin, Nafie y Freedman desarrollaron la teoría del “**acoplamiento vibrónico**” (*vibronic coupling* en inglés) [22] y Stephens la **teoría de perturbación del campo magnético** [23]. En este subapartado vamos a ver un resumen de las ecuaciones más importantes, pero para más detalle se pueden consultar las referencias 8 y 22-24.

El **factor de anisotropía**,  $g$ , que adopta valores entre  $10^{-3}$  y  $10^{-5}$ , podría ser un buen criterio para juzgar si un modo vibracional causa mayor o menor absorción VCD. El factor de anisotropía relaciona la absorbanza característica del IR con la  $\Delta A$  característica del VCD mediante la siguiente ecuación [8]:

$$g = \frac{\Delta\varepsilon}{\varepsilon} = \frac{\Delta A}{A} = \frac{4R_{n,m}}{D_{n,m}} \quad (2.42)$$

donde  $D_{n,m}$  es la fuerza del dipolo, definida anteriormente, y  $R_{n,m}$  es la **fuerza rotatoria**. Podemos ver en la ecuación (2.42) que la intensidad de una banda VCD es directamente proporcional a  $R_{n,m}$ . Para una transición que tenga lugar entre dos estados vibracionales de una molécula quiral en su estado electrónico fundamental, la fuerza rotatoria  $R_{n,m}$  viene dada por la parte imaginaria del producto escalar de los momentos de transición de dipolo eléctrico y dipolo magnético:

$$R_{n,m} = -i [\langle \psi_n | \hat{\mu}_{elec} | \psi_m \rangle \cdot \langle \psi_m | \hat{\mu}_{mag} | \psi_n \rangle] \quad (2.43)$$

$R_{n,m}$  es una cantidad real, mientras que  $\hat{\mu}_{mag}$  es un operador imaginario. Para poder estudiar la actividad óptica de un sistema molecular, es necesario introducir la interacción magnética para conseguir intensidades VCD distintas de cero. El **operador momento dipolar magnético total** de una molécula viene dado por la suma de los operadores magnéticos electrónico y nuclear:

$$\hat{\mu}_{mag} = \hat{\mu}_{mag}^E + \hat{\mu}_{mag}^N \quad (2.44)$$

$$\hat{\mu}_{mag}^N = \sum_{\alpha=1}^N \frac{e Z_{\alpha}}{2M_{\alpha}c} \hat{R}_{\alpha} \times \hat{P}_{\alpha} \quad \hat{\mu}_{mag}^E = - \sum_{i=1}^N \frac{e}{2m_i c} \hat{r}_i \times \hat{p}_i$$

donde  $c$  es la velocidad de la luz,  $m_i$  y  $\hat{p}_i$  son la masa y el operador momento lineal de los  $i$  electrones y  $M_{\alpha}$  y  $\hat{P}_{\alpha}$  la masa y el operador momento lineal de los  $\alpha$  núcleos.

Según la ecuación (2.43), la **fuerza rotatoria** puede ser positiva o negativa según los ángulos comprendidos entre los dos vectores de transición. Es positiva si el ángulo es  $< \frac{\pi}{2}$ , negativo si es  $> \frac{\pi}{2}$ , y cero si es  $= \frac{\pi}{2}$  (o si  $\hat{\mu}_{elec}, \hat{\mu}_{mag} = 0$ ). Por ello, es el parámetro que da el signo a la señal VCD. Solamente las moléculas quirales tienen valores de la fuerza rotatoria distintos de cero [8].

La fuerza rotatoria es **proporcional** a la **intensidad integrada** de la **banda VCD** según la ecuación (2.45), donde  $\Delta\varepsilon$  es la absorptividad molar diferencial. Es importante tener en cuenta que, para los dos enantiómeros (S y R) de una misma molécula, se cumple que las fuerzas rotatorias tienen la misma magnitud pero signo contrario [ver ecuación (2.46)].

$$R_{n,m} = 2,296 \cdot 10^{-39} \int \frac{\Delta\varepsilon}{\tilde{\nu}} d\tilde{\nu} \quad (2.45) \quad R_{n,m}(S) = -R_{n,m}(R) \quad (2.46)$$

Podemos ver que, por tanto, para predecir teóricamente las intensidades VCD, necesitamos conocer los momentos de transición de los dipolos eléctrico y magnético, a diferencia de las intensidades IR para las que sólo se necesitan los

del primer tipo. Dentro de la aproximación de Born-Oppenheimer (BO), para una transición entre dos estados vibracionales ( $n \rightarrow m$ ) de un estado electrónico no degenerado ( $G$ ), los **momentos de transición de los dipolos eléctrico y magnético** vienen dados por:

$$\begin{aligned} \langle \psi_{G,n} | \hat{\mu}_{elec} | \psi_{G,m} \rangle &= \langle \Psi_{G,n}^{nucl} | \langle \Psi_G^{elec} | \hat{\mu}_{elec} | \Psi_G^{elec} \rangle | \Psi_{G,m}^{nucl} \rangle \\ &= \langle \Psi_{G,n}^{nucl} | \langle \Psi_G^{elec} | \hat{\mu}_{elec}^E | \Psi_G^{elec} \rangle + \hat{\mu}_{elec}^N | \Psi_{G,m}^{nucl} \rangle \end{aligned} \quad (2.47)$$

$$\begin{aligned} \langle \psi_{G,n} | \hat{\mu}_{mag} | \psi_{G,m} \rangle &= \langle \Psi_{G,n}^{nucl} | \langle \Psi_G^{elec} | \hat{\mu}_{mag} | \Psi_G^{elec} \rangle | \Psi_{G,m}^{nucl} \rangle \\ &= \langle \Psi_{G,n}^{nucl} | \langle \Psi_G^{elec} | \hat{\mu}_{mag}^E | \Psi_G^{elec} \rangle + \hat{\mu}_{mag}^N | \Psi_{G,m}^{nucl} \rangle \end{aligned} \quad (2.48)$$

El problema que surge es que la contribución electrónica de  $\hat{\mu}_{mag}$  es igual a cero dentro de la aproximación BO, esto es:

$$\langle \Psi_G^{elec} | \hat{\mu}_{mag}^E | \Psi_G^{elec} \rangle = 0 \quad (2.49)$$

con lo que en dicha aproximación solo contribuirían los núcleos al momento de la transición de dipolo magnético. Debido a esto, es necesario ir **más allá de la aproximación de Born-Oppenheimer** para describir las funciones de onda moleculares y así poder evaluar la contribución electrónica al momento de la transición de dipolo magnético. Así, lo que se hace es emplear la teoría de perturbaciones de primer orden, usando las funciones de onda BO como funciones de orden cero. El hamiltoniano de la perturbación se construye entonces usando los términos del operador energía cinética nuclear, el cual se desprecia en la aproximación BO.

De esta forma, las funciones de onda de la aproximación BO se corrigen y se definen considerando un mecanismo de **acoplamiento vibrónico BO**, de tal forma que se mezclan funciones BO de estados excitados electrónicamente con el estado fundamental y se realizan una serie de aproximaciones, como asumir que las transiciones electrónicas tienen lugar para posiciones nucleares estacionarias. Entonces, podemos escribir la contribución electrónica del momento de la transición de dipolo magnético asociado a la transición  $G, n \rightarrow G, m$  ( $G$  es el estado electrónico y  $n, m$  los vibracionales) de la siguiente forma:

$$\begin{aligned} &\langle \psi_{G,n}^{cor} | \hat{\mu}_{mag}^E | \psi_{G,m}^{cor} \rangle = \\ &= \left\langle \Psi_{G,n}^{nucl} \left| \left( \sum_{K \neq G} \frac{\langle \Psi_G^{elec} | \hat{\mu}_{mag}^E | \Psi_K^{elec} \rangle}{E_K^0 - E_G^0} \right) \right| \Psi_{G,m}^{nucl} \right\rangle \quad (2.50) \\ &\quad \left| \left( \langle \Psi_K^{elec} | T_n^{(1)} | \Psi_G^{elec} \rangle - \langle \Psi_G^{elec} | T_n^{(1)} | \Psi_K^{elec} \rangle \right) \right| \end{aligned}$$

donde  $T_n^{(1)}$  es el operador energía cinética nuclear de primer orden,  $E_K^0$  y  $E_G^0$  son los valores de energía de orden cero de los estados electrónicos  $K$  y  $G$ , respectivamente, en las posiciones de equilibrio nucleares  $R_0$ .

Esta ecuación se puede expandir como una sumatoria de todos los estados excitados electrónicamente, la cual depende de las energías de excitación electrónicas y de los momentos de la transición de dipolo magnético entre los estados electrónicos excitados y el fundamental. Esta combinación inducida vibrónicamente de funciones de onda BO en la ecuación (2.50) es la **esencia** del mecanismo por el cual las **señales VCD ganan intensidad**. De este modo, se llega a la conclusión de que las magnitudes de la señal VCD dependen fuertemente de la combinación de los estados electrónicos con el estado fundamental [21-23].

Como esta ecuación implica la sumatoria de todos los estados excitados electrónicamente, hay que realizar un truncamiento. Stephens solventó este problema y mostró que esta sumatoria puede ser reescrita empleando la derivada de la función de ondas del estado fundamental con respecto al desplazamiento nuclear y la derivada de la función de ondas del estado fundamental con respecto a una perturbación del campo magnético [21,23]. Esta teoría, denominada **perturbación del campo magnético** (*Magnetic Field Perturbation* en inglés), está implementada en el paquete de programas Gaussian y asume que las funciones de ondas electrónicas varían lentamente con los desplazamientos nucleares desde la geometría de equilibrio [21,23]. Una alternativa no empleada en esta tesis es el uso del método del oscilador acoplado semi-cuantitativo (*semi-quantitative coupled-oscillator method* en inglés) [25].

#### v. Isotropía, anisotropía y birrefringencias circular y lineal

Según su comportamiento óptico y si sus ejes son o no equivalentes, los cristales pueden dividirse en isotrópicos o anisotrópicos. Que un sólido transparente sea ópticamente **isotrópico** significa que su índice de refracción es igual en todas las direcciones a lo largo de la red cristalina (el vidrio puede ser un ejemplo). En este caso, los ejes del cristal son equivalentes y la luz interacciona con ellos de la misma forma en todas las direcciones del mismo, sin importar la orientación del cristal respecto a las ondas de luz incidente. La luz que atraviesa un material de este tipo es refractada a un ángulo constante y lo hace a una única velocidad, sin que se modifique su estado de polarización óptica. Estos materiales, por tanto, no son birrefringentes.

En los cristales **anisotrópicos**, sin embargo, no existe una distribución uniforme de sus propiedades físicas y, por tanto, estas serán distintas según la

dirección en la que se mida. Cuando la luz atraviesa el eje óptico equivalente de un cristal anisotrópico, este se comporta de forma similar al material isotrópico, atravesándolo a una única velocidad. Sin embargo, cuando el eje que atraviesa es no equivalente, el haz se divide en dos componentes de polarización óptica las cuales viajarán a diferentes velocidades y abandonarán el cristal con diferentes valores de la fase de sus correspondientes ondas, las cuales sufrirán, por tanto, un cierto desfase las unas respecto de las otras.

La **birrefringencia** la presentan en mayor o menor medida todos los cristales anisotrópicos y se mide como la diferencia entre los índices de refracción de las diferentes componentes que puedan existir en el referido cristal anisotrópico. Así, por ejemplo, para un haz de luz que ha sido dividido en dos componentes por un determinado material, la birrefringencia será la diferencia entre los índices de refracción de las partes del material que han dado lugar a la aparición de dichas dos componentes. Este fenómeno también se denomina doble refracción de la luz. La birrefringencia puede ser intrínseca del material óptico o haber sido inducida por fuerzas externas aplicadas al mismo. Esta última puede ser temporal (cuando el material oscile) o residual (proveniente, por ejemplo, de haber sido sometido a estrés térmico en el proceso de fabricación). Si la luz que incide en el material óptico birrefringente está circular o linealmente polarizada, la **birrefringencia circular o lineal** (CB o LB, del inglés *Circular* o *Linear Birefringence*) será, respectivamente, la diferencia de los índices de refracción de las componentes circularmente polarizadas o linealmente polarizadas (en ambos casos a izquierdas y a derechas) dentro del material. A la birrefringencia circular se le suele llamar rotación óptica. La **dispersión óptica rotatoria** (ORD) es el estudio de la rotación óptica en función de la longitud de onda de la luz [14].

Si este material óptico es atravesado por un haz de luz linealmente polarizada, las dos componentes ortogonales del mismo saldrán del material con una diferencia de fase llamada **retardo** (ver subapartado *iv. ¿Cómo se obtiene una luz circularmente polarizada? Modulador fotoelástico* del punto 4.2.1. “Partes del equipo de Dicroísmo Circular Vibracional” del capítulo 4). Dicha magnitud retardo entre fases suele expresarse en unidades de longitud (tales como el nm), aunque muy frecuentemente suele ser expresado también en unidades de ángulo de fase, tales como radianes o grados, el cual en tal caso será proporcional al cociente entre el retardo en unidades de longitud y la propia longitud de onda de la luz (usualmente expresados ambos en nm).

La birrefringencia lineal residual de un componente óptico afecta a su calidad, especialmente si se emplea en instrumentos relacionados con la polarización de la luz [14].

### 2.1.6. Espectroscopía Raman

#### *i. Introducción*

Cuando se irradia una molécula con una radiación electromagnética de contenido energético  $h\nu$  (fotón), la energía puede ser transmitida, absorbida o dispersada. En la dispersión **Rayleigh** las moléculas dispersan la luz sin que se produzca cambio alguno en la longitud de onda de los fotones individuales, es decir, de forma **elástica**. En 1928, C. V. Raman describió otro tipo de dispersión de la luz (esta vez **inelástica** y, por tanto, diferente a la Rayleigh) que se denominó como **efecto Raman**. Este efecto había sido teóricamente predicho por Smekal en 1923, antes de la demostración experimental del mismo realizada por C. V. Raman en 1928, como antes se ha referido. En 1930, Raman recibió el Premio Nobel por su trabajo sobre el fenómeno de la dispersión molecular de la luz [26]. El efecto Raman es muy débil de por sí, típicamente del orden de  $\approx 10^{-8}$ - $10^{-11}$  respecto a la intensidad de la luz incidente.

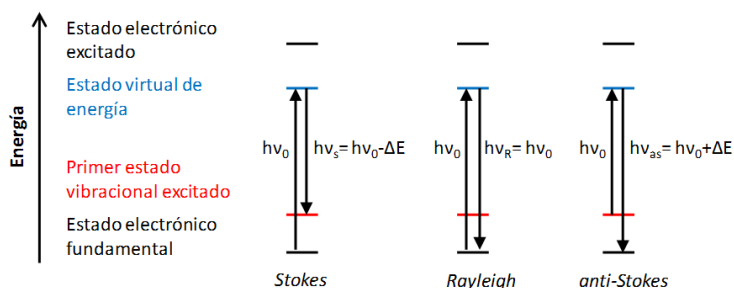
La espectroscopía Raman es una técnica complementaria a la infrarroja y aporta información acerca de la vibración-rotación molecular. Al igual que la espectroscopía infrarroja, se puede aplicar para identificar, cuantificar y determinar la estructura de las moléculas.

#### *ii. Efecto Raman*

Como antes se ha comentado, cuando la radiación electromagnética incide sobre la materia, además de producirse fenómenos de absorción y/o emisión, se dan también procesos de dispersión elástica e inelástica de la luz. El origen de las transiciones **Raman Stokes** y **anti-Stokes** se encuentra en el proceso de dispersión inelástica, cuando la luz interacciona con un medio material adecuado. Por su parte, y como ya también anteriormente se ha señalado, la radiación dispersada de la misma longitud de onda que la incidente (excitatriz) se denomina radiación Rayleigh ( $\nu_0$ ), y es fruto de la dispersión elástica. La radiación Rayleigh representa un 99,999% de la intensidad de la fuente, mientras que las transiciones Raman Stokes y anti-Stokes suponen un 0,001%.

En virtud del referido proceso inelástico se observan transiciones a mayor y menor frecuencia que la de la luz incidente, estando distribuidas simétricamente respecto a esta última. Las líneas espectrales correspondientes a transiciones a mayor frecuencia que la correspondiente a la radiación excitatriz se denominan líneas **anti-Stokes**, las cuales son de menor intensidad (no sólo que la excitatriz, sino también que las correspondientes a las transiciones a menor frecuencia, de las que hablaremos más abajo), por provenir de transiciones de radiación

correspondientes al decaimiento de las moléculas desde un estado excitado (y, por tanto, con menor población) al fundamental. El fotón emitido en este caso [ $h(\nu_0 + \nu_v)$ ] posee mayor energía que el fotón incidente ( $h\nu_0$ ). Por otro lado, las líneas espectrales a menor frecuencia ( $\nu_0 - \nu_v$ ) se denominan líneas **Stokes** y son de mayor intensidad que las anti-Stokes, pues parten del nivel fundamental, que está más poblado que los niveles correspondientes a los estados excitados de la molécula (ver Fig. 2.10). El fotón emitido en este caso posee menor energía [ $h(\nu_0 - \nu_v)$ ] que la del fotón incidente. La diferencia de energía entre la radiación incidente y la radiación dispersada inelásticamente (desplazamiento Raman) equivale a la diferencia de energía entre los niveles vibracionales o rotacionales.



**Figura 2.10:** Diagrama en el que se muestran los fenómenos de dispersión Raman Stokes y anti-Stokes. Imagen construida a partir de la Fig. 1.3.1 de la referencia 4 y de la Fig. 1.1 de la referencia 27.

Generalmente, se analizan las líneas Stokes de los espectros Raman porque proporcionan la misma información que las anti-Stokes, siendo, sin embargo, más intensas que ellas (hay más moléculas en el estado fundamental). En un espectro Raman se representa la intensidad óptica dispersada inelásticamente frente al desplazamiento Raman, es decir, la diferencia entre la energía de la línea Rayleigh y la energía a la que aparecen las líneas Stokes [2,4,26].

### iii. Descripción clásica del efecto Raman, intensidad y reglas de selección

La teoría clásica de la dispersión Raman se basa en la idea de que el campo electromagnético de la radiación incidente induce en las moléculas un momento dipolar variable que oscila según la frecuencia de la radiación, actuando entonces el mismo como un emisor de radiación en todas direcciones. El operador que gobierna el mecanismo Raman es la magnitud **polarizabilidad** molecular ( $\alpha$ ), que es una magnitud tensorial, debiendo **variar** alguna de sus **componentes durante la vibración molecular** para que la misma produzca un efecto Raman vibracional y, por tanto, una señal en el correspondiente espectro. La polarizabilidad representa una medida de la facilidad con la que se deforma la nube electrónica de la molécula cuando la misma se ve afectada por la interacción con un campo eléctrico externo. El momento dipolar inducido en

una molécula por el vector del campo eléctrico  $\mathbf{E} = \mathbf{E}_0 \cos(2\pi\nu_0 t)$  de la radiación incidente viene dado por:

$$\boldsymbol{\mu} = \boldsymbol{\alpha}\mathbf{E} \quad (2.51) \quad \boldsymbol{\mu} = \boldsymbol{\alpha}\mathbf{E}_0 \cos(2\pi\nu_0 t) \quad (2.52)$$

donde  $\boldsymbol{\alpha}$  es la polarizabilidad molecular,  $\mathbf{E}_0$  es la amplitud de la oscilación del campo eléctrico y  $\nu_0$  es la frecuencia de dicha oscilación.

Según la teoría electromagnética clásica, un dipolo oscilante con una frecuencia  $\nu$  emite radiación de esta frecuencia, con una intensidad dada por la ecuación (2.53). Así, si la polarizabilidad molecular fuese una cantidad constante, sustituyendo la ecuación (2.52) en la (2.53) y tomando  $\nu = \nu_0$  obtendríamos la ecuación (2.54).

$$I = \frac{16\pi^4\nu^4}{3c^2} |\boldsymbol{\mu}|^2 \quad (2.53) \quad I = \frac{16\pi^4\nu_0^4}{3c^2} \alpha^2 E_0^2 \cos^2(2\pi\nu_0 t) \quad (2.54)$$

Sin embargo, la polarizabilidad molecular no es una constante para una molécula que vibra, ya que la misma depende de la conformación molecular, la cual cambia con los desplazamientos de los núcleos durante las vibraciones. Si una vibración normal de frecuencia  $\nu_k$  es excitada, la polarizabilidad oscilará con una frecuencia  $\nu_k$  según una relación del tipo:

$$\boldsymbol{\alpha} = \boldsymbol{\alpha}_0 + \boldsymbol{\alpha}_k \cos(2\pi\nu_k t + \varphi_k) \quad (2.55)$$

donde  $\varphi_k$  es un factor de fase,  $\boldsymbol{\alpha}_0$  una constante y  $\boldsymbol{\alpha}_k$  el cambio máximo en  $\boldsymbol{\alpha}$  cuando la molécula vibra. Usando la ecuación (2.55), el momento dipolar inducido [ecuación (2.52)] llega a ser:

$$\boldsymbol{\mu} = \boldsymbol{\alpha}_0 \mathbf{E}_0 \cos(2\pi\nu_0 t) + \boldsymbol{\alpha}_k \mathbf{E}_0 \cos(2\pi\nu_0 t) \cos(2\pi\nu_k t + \varphi_k) \quad (2.56)$$

es decir:

$$\boldsymbol{\mu} = \boldsymbol{\alpha}_0 \mathbf{E}_0 \cos(2\pi\nu_0 t) + \frac{1}{2} \boldsymbol{\alpha}_k \mathbf{E}_0 \{ \cos[2\pi(\nu_0 + \nu_k)t + \varphi_k] + \cos[2\pi(\nu_0 - \nu_k)t - \varphi_k] \} \quad (2.57)$$

Por lo tanto, cuando la molécula vibra con una frecuencia  $\nu_k$ , el dipolo inducido oscila no sólo con la frecuencia  $\nu_0$ , sino también con las frecuencias  $(\nu_0 + \nu_k)$  y  $(\nu_0 - \nu_k)$ . Usando la ecuación (2.57), la intensidad de la luz dispersada viene entonces dada por:

$$I = \frac{16\pi^4}{3c^2} E_0^2 \left\{ \nu_0^4 \alpha_0^2 \cos^2(2\pi\nu_0 t) + (\nu_0 + \nu_k)^4 \frac{\alpha_k^2}{4} \cos^2[2\pi(\nu_0 + \nu_k)t + \varphi_k] + (\nu_0 - \nu_k)^4 \frac{\alpha_k^2}{4} \cos^2[2\pi(\nu_0 - \nu_k)t - \varphi_k] \right\} + \text{términos cruzados} \quad (2.58)$$

donde los términos cruzados pueden ser despreciados, ya que contribuirían con un promedio prácticamente igual a cero en intervalos de tiempo lo suficientemente largos. El primer término de la ecuación (2.58) es la intensidad dispersada a la frecuencia  $\nu_0$  de la radiación incidente (**dispersión Rayleigh**) y es un tipo coherente de dispersión, ya que está en fase con la luz incidente. Los términos segundo y tercero representan la intensidad de la radiación dispersada a la frecuencia **anti-Stokes** ( $\nu_0 + \nu_k$ ) y **Stokes** ( $\nu_0 - \nu_k$ ), respectivamente. Como hay un factor de fase en dichos términos, que será diferente según la molécula estudiada, la radiación dispersada Raman (Stokes y anti-Stokes) será incoherente [4].

La teoría clásica predice así la aparición en los espectros Raman de las líneas Stokes y anti-Stokes de forma correcta, pero lleva a una **relación incorrecta** entre sus **intensidades**. Así, según la ecuación (2.58), la relación de las intensidades de las líneas Stokes y anti-Stokes debería ser:

$$\frac{I_{Stokes}}{I_{anti-Stokes}} = \frac{(\nu_0 - \nu_k)^4}{(\nu_0 + \nu_k)^4} \quad (2.59)$$

lo que conllevaría un valor menor que la unidad para la misma, en contra del hecho experimental conocido de que las líneas Stokes son mucho más fuertes que las anti-Stokes. Esta inconsistencia se elimina con la **teoría cuántica del efecto Raman**, el desarrollo de la cual puede encontrarse en el capítulo 3 de la referencia 4 y será omitido en esta memoria. Valga, no obstante, decir aquí que en la relación de intensidades de las señales anti-Stokes y Stokes resultante del mismo aparece un factor exponencial adicional (tipo Boltzmann)  $e^{-(h\nu_k/kT)}$ , de tal manera que dicha relación quedaría ahora en la forma [26]:

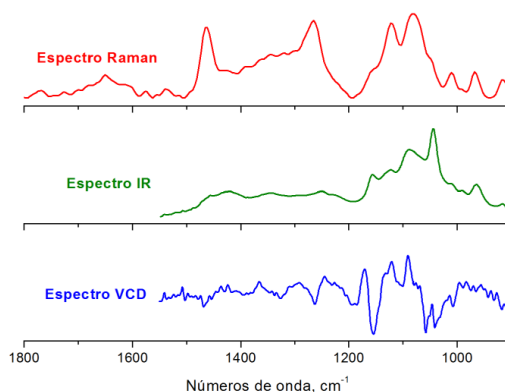
$$\frac{I_{anti-Stokes}}{I_{Stokes}} = \frac{(\nu_0 + \nu_k)^4}{(\nu_0 - \nu_k)^4} e^{-(h\nu_k/kT)} \quad (2.60)$$

Por tanto, a temperaturas no demasiado altas el valor de la misma será, generalmente, mucho menor que la unidad, como corresponde a la relación entre poblaciones que normalmente se dará entre los niveles de energía correspondientes a los estados excitados y el fundamental.

Por esta razón, y tal y como se ha comentado con anterioridad, normalmente solo se usan las líneas Stokes en espectroscopía Raman para la determinación de las frecuencias vibracionales. La intensidad de la señal Raman es muy débil, proporcional a la cuarta potencia de la frecuencia de la radiación incidente. Por ello, el descubrimiento del láser hacia 1960 permitió el gran desarrollo que ha experimentado la técnica Raman (en sus diferentes variantes y aplicaciones) a lo largo de estas últimas 5 décadas.

Finalmente, decir que los procesos de dispersión Raman son procesos **concertados simultáneos** y **bifotónicos**, ya que en ellos se crea un fotón (Stokes o anti-Stokes) al mismo tiempo que otro se destruye (de la radiación excitatriz). Las **reglas de selección** en espectroscopía Raman vibracional (dentro de la aproximación armónica y, por tanto, para transiciones que no impliquen sobretonos ni bandas calientes, las cuales requieren para su justificación la consideración de la anarmonicidad en las vibraciones moleculares causantes de las diferentes transiciones que dan lugar a la aparición de bandas en las espectroscopías IR y Raman) pueden expresarse en la forma:  $\Delta V = 0, \pm 1$  (0 para la dispersión Rayleigh, +1 para las líneas Stokes y -1 para las anti-Stokes), donde  $V$  es el número cuántico vibracional asociado a la energía de los diferentes niveles. Las reglas de selección en espectroscopía Raman (en el establecimiento de las cuales intervienen los cambios en la magnitud polarizabilidad molecular  $\alpha$  durante las vibraciones de la molécula) varían notablemente respecto a aquellas de la espectroscopía IR (en cuyo establecimiento intervienen los cambios en la magnitud momento dipolar molecular  $\mu$  durante las vibraciones de la molécula), pudiendo deducirse fácilmente, en ambos tipos de espectroscopías y para moléculas con una simetría concreta, a partir de la teoría de grupos, que modos normales que son inactivos en IR pueden ser activos en Raman y viceversa, aunque también los hay que son activos o inactivos en ambas. Para moléculas con un centro de simetría, se cumple además la regla de exclusión mutua, según la cual una transición vibracional dada no puede aparecer a la vez en ambos tipos de espectros para ellas. En general, en espectroscopía Raman hay más modos normales vibracionales activos que en IR.

Las vibraciones de grupos eléctricamente polarizables (C-C, C=C, C $\equiv$ C, O-O, S-S, etc.) dan bandas Raman más intensas que los ya polares (O-H, C=O), pues en estos últimos la polarizabilidad varía poco en la vibración [8,14]. En la *Fig. 2.11* se muestra una comparación de los espectros IR, Raman y VCD de la molécula de *D*-ribosa en disolución acuosa. Podemos ver que son muy diferentes, al estar gobernado el mecanismo originario de cada uno de esos tipos de espectros por operadores distintos y al tener, asimismo, reglas de selección diferentes.



**Figura 2.11:** Espectros IR, Raman y VCD de la molécula *D*-ribosa registrados en disolución acuosa.

iv. *Polarización óptica de las bandas Raman*

De la relación (2.51) se obtiene, para las diferentes componentes  $x, y$  y  $z$  de  $\mu$ :

$$\begin{aligned}\mu_x &= \alpha_{xx}E_x + \alpha_{xy}E_y + \alpha_{xz}E_z \\ \mu_y &= \alpha_{yx}E_x + \alpha_{yy}E_y + \alpha_{yz}E_z \\ \mu_z &= \alpha_{zx}E_x + \alpha_{zy}E_y + \alpha_{zz}E_z\end{aligned}\quad (2.61)$$

O en forma matricial:

$$\begin{pmatrix} \mu_x \\ \mu_y \\ \mu_z \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \alpha_{xx} & \alpha_{xy} & \alpha_{xz} \\ \alpha_{yx} & \alpha_{yy} & \alpha_{yz} \\ \alpha_{zx} & \alpha_{zy} & \alpha_{zz} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} E_x \\ E_y \\ E_z \end{pmatrix}\quad (2.62)$$

donde las  $\alpha_{ij}$  son los componentes del tensor de polarizabilidad [4].

Para moléculas que posean cierta simetría, se puede estudiar el efecto Raman en función del plano de polarización que queramos estudiar, esto es, paralelo o perpendicular a la polarización en un plano de la radiación láser incidente. En realidad, lo que interesa es la **relación de despolarización**, que se define como el cociente entre las intensidades dispersadas perpendicularmente y paralelamente a la dirección del vector campo eléctrico.

$$r = \frac{I_{\perp}}{I_{\parallel}}; 0 \leq r \leq 6/7\quad (2.63)$$

Las vibraciones simétricas mantienen la polarización ( $r \rightarrow 0-6/7$ )

Las no simétricas producen despolarización ( $r \rightarrow 6/7$ )

## 2.2. Espectroscopía rotacional

### 2.2.1. Momentos de inercia y reglas de selección

La rotación de una molécula poliatómica no lineal se puede tratar en un sistema de referencia fijo ( $\mathbf{X}, \mathbf{Y}, \mathbf{Z}$ ) con el origen en el centro de masas ( $\mathbf{O}$ ) de la molécula. Su movimiento de rotación se caracteriza por tres coordenadas: los **ángulos de Euler** ( $\Theta, \Phi, X$ ) que definen la posición de los **ejes principales de inercia** ( $x, y, z$ ) en relación al sistema de ejes ( $\mathbf{X}, \mathbf{Y}, \mathbf{Z}$ ) (Fig. 2.12). Como veremos en el punto 2.2.2. “Rotador rígido y semirrígido”, existen seis formas distintas de atribuir los ejes  $x, y, z$  a los ejes de inercia  $a, b$  y  $c$ , aunque nosotros solo hemos usado una de ellas. A cada eje de inercia le corresponde un momento principal de inercia, esto es:  $I_A, I_B, I_C$ , los cuales están relacionados mediante una proporcionalidad inversa con las denominadas constantes rotacionales  $A, B$  y  $C$  moleculares en la forma de la ecuación (2.64).

$$A = \frac{\hbar^2}{2I_A} \quad B = \frac{\hbar^2}{2I_B} \quad C = \frac{\hbar^2}{2I_C} \quad (2.64)$$

donde  $\hbar = \frac{h}{2\pi}$ . El criterio que se acostumbra a seguir en la nomenclatura de los ejes de inercia y, por tanto, de las constantes rotacionales de las moléculas poliatómicas es el siguiente:  $I_A \leq I_B \leq I_C \rightarrow A \geq B \geq C$ . Así, en términos de su energía rotacional tales tipos de moléculas se clasifican en **tres tipos de moléculas trompo-rotatorias** en la forma [28-30]:

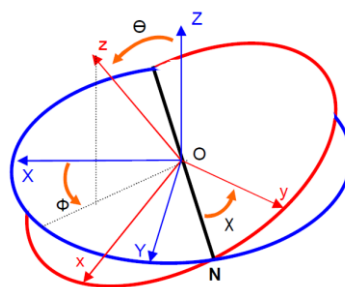
- **Trompo-esféricas:**  $I_A = I_B = I_C$ , esto es:  $A = B = C$ .
- **Trompo-simétricas:** **1) Oblato** (achatadas):  $I_A = I_B < I_C$ , esto es:  $A = B > C$  y **2) Prolato** (alargadas):  $I_A < I_B = I_C$ , esto es:  $A > B = C$ .
- **Trompo-asimétricas:**  $I_A \neq I_B \neq I_C$ , esto es:  $I_A < I_B < I_C$  y, por tanto:  $A > B > C \rightarrow$  que es el caso de las tres moléculas terpénicas estudiadas por esta técnica en esta tesis, esto es: **óxido de limoneno, pulegona y  $\gamma$ -terpineno**.

Las transiciones rotacionales puras tienen lugar en un mismo nivel electrónico y en un mismo nivel vibracional. Para que una molécula pueda ser estudiada en rotación, su momento dipolar eléctrico permanente tiene que tener al menos una componente no nula sobre uno de sus ejes de inercia.

Los niveles rotacionales se caracterizan con tres números cuánticos:  $J$ ,  $K_a$  y  $K_c$ . Para una molécula trompo-asimétrica existen las reglas de selección indicadas en la *Tabla 2.2*.

Si el momento dipolar eléctrico está orientado en la dirección del eje de inercia  $a$  ( $\mu_a \neq 0$ ), la banda es de tipo a. Si está orientado sobre el eje  $b$  ( $\mu_b \neq 0$ ), la banda es de tipo b y si está orientado sobre el eje  $c$  ( $\mu_c \neq 0$ ), la banda es de tipo c. La transición que parte de un nivel  $J''$ ,  $K_a''$ ,  $K_c''$  a otro nivel  $J'$ ,  $K_a'$ ,  $K_c'$  se escribe en la forma [28,29]:

$$J'_{K'_a K'_c} \leftarrow J''_{K''_a K''_c}$$

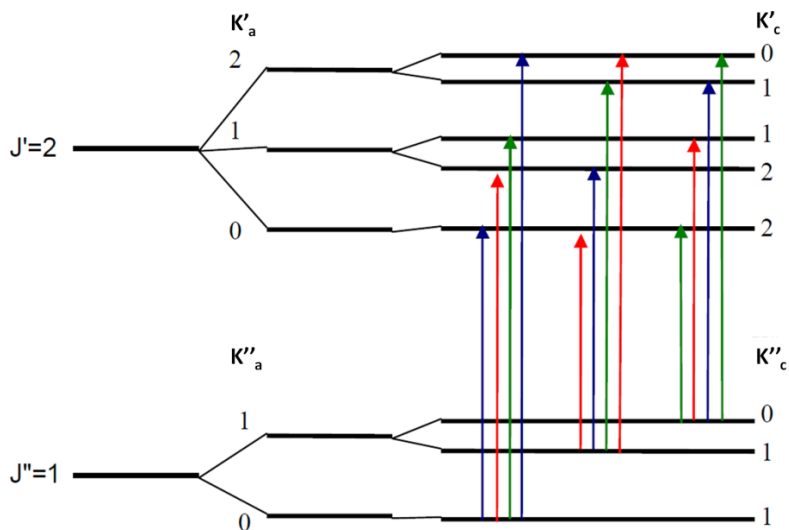


**Figura 2.12:** Definición de los ángulos de Euler  $\Theta$ ,  $\Phi$ ,  $X$  para el paso del sistema de referencia fijo en el espacio  $(X, Y, Z)$  al sistema de referencia fijo en el centro de masas  $(O)$  del sistema molecular  $(x, y, z)$ . La línea  $N$  representa la intersección entre los planos  $xy$  y  $XY$  se denomina línea de nudos. Imagen tomada de la referencia 28.

$\Delta K_a$	$\Delta K_c$	Tipo de banda
Par	Impar	a ( $\mu_a \neq 0$ )
Impar	Impar	b ( $\mu_b \neq 0$ )
Impar	Par	c ( $\mu_c \neq 0$ )

**Tabla 2.2:** Transiciones rotacionales permitidas por las reglas de selección [28].

Las **reglas de selección** para los números cuánticos  $J$  y  $K$  son  $\Delta J = 0, \pm 1$  y  $K = -J, -J + 1, \dots, J - 1, J$ , respectivamente. Los niveles energéticos de una molécula trompo-asimétrica se denotan con  $J, |K_a|, |K_c|$ , de manera que para los números cuánticos  $K_a$  y  $K_c$  se toman sólo sus valores en valor absoluto para que su notación sea más sencilla. En la *Fig. 2.13* se muestran todas las transiciones permitidas para  $J=2 \leftarrow 1$ :



**Figura 2.13:** Ejemplo de transiciones rotacionales  $\Delta J = J' - J'' = +1$ . Según las reglas de selección sobre  $K_a$  y  $K_c$  nos encontramos las transiciones tipo **a**, **b** o **c**.

### 2.2.2. Rotador rígido y semi-rígido

Para resolver la ecuación de Schrödinger, comenzamos empleando como aproximación el modelo del **rotador rígido**, cuyo hamiltoniano es el que se indica en la ecuación (2.65), donde  $I_{xx}$ ,  $I_{yy}$  y  $I_{zz}$  son los momentos principales de inercia, y  $\hat{J}_x$ ,  $\hat{J}_y$  y  $\hat{J}_z$  son las componentes del operador momento cinético de rotación  $\hat{J}$ . Existen seis formas distintas de atribuir los ejes  $x, y, z$  a los ejes de inercia  $a, b$  y  $c$  y, como hemos comentado antes, por convención se adopta que  $I_A \leq I_B \leq I_C$ . En la presente tesis, solo hemos usado una de ellas para los sistemas moleculares estudiados y mencionados con anterioridad, esto es, la representación  $I^r$  ( $x=b, y=c, z=a$ ). En el sistema de nomenclatura  $a, b, c$  para los ejes de inercia, el **hamiltoniano rotacional** de (2.65) podrá escribirse en la forma indicada en la ecuación (2.66).

$$\hat{H}_{RR} = \frac{1}{2} \left( \frac{\hat{J}_x^2}{I_{xx}} + \frac{\hat{J}_y^2}{I_{yy}} + \frac{\hat{J}_z^2}{I_{zz}} \right) \quad (2.65) \quad \hat{H}_{RR} = (A\hat{J}_a^2 + B\hat{J}_b^2 + C\hat{J}_c^2) \quad (2.66)$$

La **función de ondas rotacional**  $\Psi_r$  se describe como una combinación lineal de funciones de base  $|J, K\rangle$ :

$$\Psi_r = \sum_i c_i |J, K\rangle_i \quad (2.67)$$

donde  $J$  y  $K$  son los números cuánticos rotacionales, como ya se ha visto anteriormente. En ausencia de campos eléctricos y magnéticos los niveles rotacionales están  $(2J+1)$  veces degenerados en energía, en la aproximación del rotor rígido.

Para las moléculas trompo-simétricas prolato y trompo-asimétricas cercanas a prolato, el problema de los valores propios se resuelve usando la **representación I<sup>r</sup>** ( $z=a, K=K_a$ ) [28-30]:

$$\hat{H}_{RR} = (A - B)\hat{j}_z^2 + B\hat{J}^2 \quad (2.68)$$

$$\langle J, K_a | \hat{H}_{RR} | J, K_a \rangle = E_r^0 = BJ(J + 1) + (A - B)K_a^2 \quad (2.69)$$

Los niveles de energía de una molécula trompo-simétrica están degenerados en  $\pm K$ . En el caso de una molécula trompo-asimétrica, diagonalizamos la matriz asociada al hamiltoniano [ecuación (2.65)] para obtener los autovalores (energías) y autovectores. La asimetría de una molécula viene dada por el **parámetro de Ray** [28-30]:

$$\kappa = \frac{2B - A - C}{A - C} \quad (2.70)$$

Si  $\kappa = -1$ , estamos en el límite prolato, si  $\kappa = +1$  en el límite oblato y si  $\kappa = 0$  la molécula es muy asimétrica.

La expresión del **operador hamiltoniano**  $\hat{H}_{RR}$  para una molécula asimétrica cercana a **prolato** se escribe de la forma [28-30]:

$$\hat{H}_{RR} = \left[ \left\{ A - \frac{1}{2}(B + C) \right\} \hat{j}_z^2 + \frac{1}{2}(B + C)\hat{J}^2 + \frac{1}{4}(B - C)(\hat{J}_+^2 + \hat{J}_-^2) \right] \quad (2.71)$$

Para el estudio de las moléculas asimétricas, los niveles de energía estarán situados entre un oblato y un prolato y son asociados a una función de ondas que es una combinación lineal de funciones de base con valores de  $K$  diferentes ( $K_a$  en este caso). La degeneración en  $K$ , en este caso, vendrá dada por el término  $(\hat{J}_+^2 + \hat{J}_-^2)$ . Así, tendremos acceso a los números cuánticos  $J$  y  $K_a$ , mientras que  $K_c$  lo determinaremos a través de un diagrama de correlación con los valores  $K_a + K_c = J, J+1$ .

Cuando se quiere tener en cuenta que la molécula, además de rotar, también vibra, la aproximación del rotor rígido se queda corta y no es un buen tratamiento del problema rotacional molecular. El **hamiltoniano del rotor**

**semirígido** (asociado con las correcciones de vibración-rotación) fue dado por Watson como una serie de potencias del operador  $\hat{J}$  y tiene en cuenta las correcciones debidas a la distorsión centrífuga, pudiéndose escribir de la siguiente forma [28-30]:

$$\hat{H}_{SR} = \hat{H}_{RR} + \hat{H}_{DC} \quad (2.72) \quad \hat{H}_{SR} = \sum_{p,q,r} h_{pqr} (\hat{J}_x^p \hat{J}_y^q \hat{J}_z^r + \hat{J}_z^r \hat{J}_y^q \hat{J}_x^p) \quad (2.73)$$

donde  $\hat{H}_{RR}$  es el hamiltoniano del modelo del rotor rígido,  $\hat{H}_{DC}$  el de la distorsión centrífuga,  $h_{pqr}$  es un parámetro real que representa a las constantes de rotación (cuando  $p+q+r = 2$ ) y a las constantes de distorsión centrífuga (para  $p+q+r > 2$ ). Las constantes de distorsión centrífuga pueden ser de orden cuártico, séxtico, etc. [28]. En la parte de nuestro trabajo de tesis referente a espectroscopía rotacional, sólo se han determinado constantes de distorsión centrífuga de orden cuártico.

Watson introdujo algunos métodos para reducir el número de constantes del hamiltoniano  $\hat{H}_{SR}$  de una molécula trompo-asimétrica, obteniendo otro hamiltoniano con los mismos autovalores que aquel de la ecuación (2.73). En nuestro estudio de la molécula de óxido de limoneno hemos empleado la reducción S ( $D_J, D_{JK}, D_K, d_1, d_2$ ) y en aquellos de la pulegona y el  $\gamma$ -terpineno la reducción A ( $\Delta_J, \Delta_{JK}, \Delta_K, \delta_J, \delta_K$ ).

Existen otras interacciones que pueden provocar una estructuración adicional más fina de los niveles  $J_{K_a K_c}$ , pero las mismas están fuera del alcance del estudio de esta tesis.

### 2.2.3. Determinación de las estructuras moleculares a partir de datos rotacionales

Con el empleo de la técnica microondas se puede determinar la geometría de las moléculas con mucha precisión. Así, para una molécula no lineal de N átomos ( $N > 2$ ), podrán determinarse hasta  $3N-6$  parámetros geométricos moleculares, incluyendo distancias interatómicas, ángulos de enlace y ángulos diedros.

- La **estructura de equilibrio** ( $\mathbf{r}_e$ ) es la estructura ideal a determinar y sería aquella que tendría la molécula aislada, sin estar sometida a cualquier tipo de interacción a una temperatura nula (0 K). Estrictamente hablando, dicha estructura solamente es posible obtenerla, de manera aproximada, desde cálculos *ab initio*, ya que los movimientos internos vibracionales de la molécula, las interacciones en medios no aislados con otras especies (iguales o diferentes), o efectos de campos

externos, etc., actuantes sobre ella y temperaturas reales (distintas de 0 K) producen perturbaciones a la hora de su determinación experimental que afectan a sus movimientos rotacionales puros y, por tanto, a sus constantes rotacionales puras.

- La **estructura efectiva ( $\mathbf{r}_0$ )** es la que se llega a poder determinar de forma experimental, a partir de medidas de espectroscopía rotacional. En ellas, las posiciones de los átomos van a ser las posiciones medias de los estados de vibración y, así, accedemos a una estructura de la molécula en un estado vibracional dado, que (generalmente) suele ser el estado fundamental de las diferentes vibraciones moleculares posibles para la especie química en estudio.
- La **estructura de sustitución ( $\mathbf{r}_s$ )** permite determinar, a través de las ecuaciones de Kraitchmann [31], las coordenadas cartesianas de los átomos sustituidos ( $^{13}\text{C}$ ,  $^{18}\text{O}$ , etc.) en unas coordenadas fijas ligadas a la molécula.

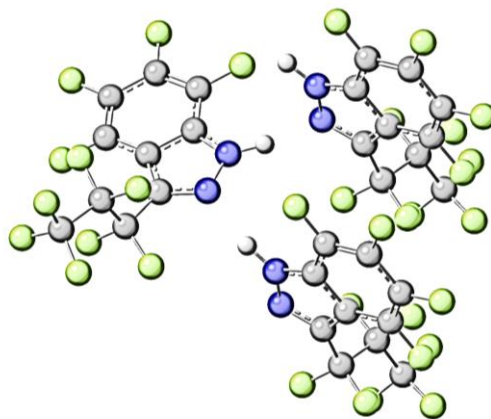
### 2.3. Referencias

- 
- [1] D. C. Harris, *Análisis químico cuantitativo*, 3ª edición, Reverté, Barcelona, 2007.
- [2] M. Diem, *Introduction to Modern Vibrational Spectroscopy*, Wiley, New York, 1993.
- [3] <http://butane.chem.uiuc.edu/pshapley/GenChem2/A3/3.html>
- [4] S. Califano, *Vibrational States*, Wiley, New York, 1976.
- [5] Francisco Partal Ureña, *Estudio vibracional de la molécula de piridina y de sus derivados monoácidos y sus sales*, Tesis doctoral, Universidad de Jaén, 2001.
- [6] J. Bertran Rusca, V. Branchadell Gallo, M. Moreno Ferrer, M. Sodupe Roure, *Química Cuántica. Fundamentos y Aplicaciones Computacionales*, Síntesis, Madrid, 2002.
- [7] T. Davies, *NIR news* **16**, 9–11 (2005).
- [8] L. A. Nafie, *Vibrational Optical Activity. Principles and Applications*, Wiley, New York, 2011.
- [9] A. G. Császár, *WIREs Comput. Mol. Sci.* **2**, 273–289 (2012).
- [10] A. G. Császár, *Anharmonic molecular force fields*, in *The Encyclopedia for Computational Chemistry*, P. R. Schleyer (Ed.), Wiley, Chichester, 1998.
- [11] M<sup>a</sup> Consuelo Rosales Ródenas, *Campo de fuerzas general anarmónico de moléculas del tipo  $XY_3(D_{3h})$ ,  $XY_4(T_d)$  y  $XY_3Z(C_{3v})$* , Tesis doctoral, Universidad de Jaén, 2015.
- [12] V. Barone, *J. Chem. Phys.* **122**, 014108 (2005).

- [13] V. Barone, *J. Chem. Phys.* **120**, 3059–3065 (2004).
- [14] Manuales del espectropolarímetro FT-IR de dicroísmo circular vibracional JASCO FVS-4000.
- [15] L. G. Wade, *Química Orgánica*, 5ª edición, Pearson-Prentice Hall, Madrid 2004.
- [16] M. M. Quesada-Moreno, J. R. Avilés-Moreno, J. J. López-González, K. Jacob, M. Etienne, I. Alkorta, J. Elguero, R. M. Claramunt, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **19**, 1632–1643 (2017).
- [17] [http://www.wikiwand.com/en/Circular\\_polarization](http://www.wikiwand.com/en/Circular_polarization)
- [18] N. Berova, K. Nakanishi, *Circular Dichroism: Principles and Applications*, Wiley, New York, 2000.
- [19] G. Yang, Y. Xu, *Top. Curr. Chem.* **298**, 189–236 (2011).
- [20] T. Kuppens, *Development of methodology to assign the absolute configuration using vibrational circular dichroism*, Tesis doctoral, Universidad de Gante, 2006.
- [21] S. M. Rosa Domingos, *Amplified Vibrational Circular Dichroism*, Tesis doctoral, Van't Hoff Institute for Molecular Sciences (HIMS), Amsterdam, 2013.
- [22] L. A. Nafie, T. B. Freedman, *J. Chem. Phys.* **78**, 7108–7116 (1983).
- [23] P. J. Stephens, *J. Phys. Chem.* **89**, 748–752 (1985).
- [24] P. J. Stephens, F. J. Devlin, J. R. Cheeseman, *VCD Spectroscopy for Organic Chemists*, CRC Press, Boca Raton, 2012.
- [25] T. Xiang, D. J. Goss, M. Diem, *Biophys. J.* **65**, 1255–1261 (1993).
- [26] N. B. Colthup, L. H. Daly, S. E. Wiberley, *Introduction to Infrared and Raman Spectroscopy*, Academic Press, San Diego, 1990.
- [27] D. J. Gardiner, P. R. Graves (Eds.), *Practical Raman Spectroscopy*, Springer-Verlag, Berlín, 1989.
- [28] Juan Ramón Avilés Moreno, *Flexibilité conformationnelle dans les amines, les sucres et leurs complexes hydratés étudiée par spectroscopie à impulsions microondes et calculs de chimie quantique*, Tesis doctoral, Université des Sciences et Technologies de Lille, U.F.R. de Physique, 2006.
- [29] C. H. Townes, A. L. Schawlow, *Microwave Spectroscopy*, Dover Publications, New York, 1975.
- [30] H. W. Kroto, *Molecular Rotation Spectra*, Dover Publications, New York, 1992.
- [31] J. Kraitchman, *Am. J. Phys.* **21**, 17–24 (1953).

### 3. QUÍMICA COMPUTACIONAL Y MÉTODOS TEÓRICOS

---





### 3. QUÍMICA COMPUTACIONAL Y MÉTODOS TEÓRICOS

El propósito de este capítulo es proporcionar una explicación de los métodos teóricos (mecánica molecular y mecanocuánticos) llevados a cabo durante la realización de esta tesis. Presentaré los distintos métodos teóricos utilizados. Finalmente, discutiré la importancia de comprender el porqué de la elección de un cálculo u otro, según el sistema molecular sometido a estudio, la precisión que se quiera conseguir, el coste computacional necesario y las condiciones experimentales que deseemos reproducir.

#### 3.1. Introducción

La **Química Teórica** es la rama de la Química que hace uso de métodos matemáticos combinados con las leyes físicas para estudiar procesos de índole química. La **Química Cuántica** y la **Química Computacional** son dos de las subdisciplinas en las que se puede dividir la Química Teórica, donde la primera estudia la aplicación de la mecánica cuántica a la resolución de problemas de índole química y la segunda abarca la resolución de problemas químicos mediante el uso de ordenadores y de un software adecuado. Los objetivos de la Química Computacional son tratar de responder las siguientes cuestiones:

- ¿Qué geometría de los núcleos hace que las moléculas sean estables?
- ¿Cuáles son sus energías relativas?
- ¿Cuáles son sus propiedades (momento dipolar, polarizabilidad, constantes de acoplamiento RMN, etc.)?
- ¿A qué velocidad una molécula estable se transforma en otra?
- ¿Cuál es la dependencia temporal entre moléculas y propiedades?
- ¿Cómo interaccionan las moléculas entre sí?

Para poder aplicar un modelo teórico primero hay que describir el sistema:

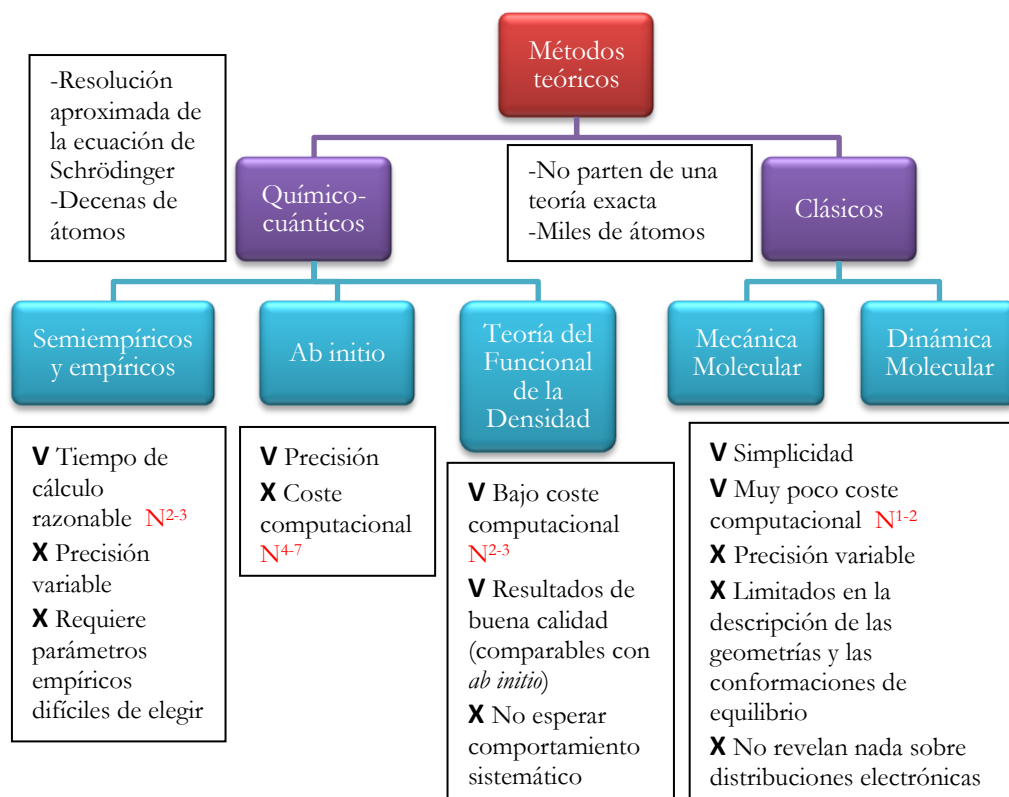
- Composición del sistema. ¿Qué tipo y número de unidades fundamentales (partículas) lo constituyen?
- Condición de partida. ¿Dónde están las partículas y cuál es su velocidad?
- Interacción. ¿Cuál es la expresión matemática que relaciona a las partículas y las fuerzas que actúan entre ellas?

En particular, los cálculos químico cuánticos presentan una gran variedad de aplicaciones y gracias al desarrollo de programas de aplicación como por ejemplo **Gaussian** [1] o **Spartan** [2] se pueden calcular un gran número de propiedades moleculares. Algunas de estas propiedades pueden ser [3,4]:

- La superficie de energía potencial.
- Las estructuras y las energías de los sistemas estables y de los estados de transición.
- Las frecuencias vibracionales armónicas y anarmónicas.
- Los espectros IR, Raman y VCD.
- Parámetros espectroscópicos como momento dipolar, constantes rotacionales, constantes de distorsión centrifuga, etc.
- Las cargas atómicas, potenciales electrostáticos y momentos multipolares.

Los cálculos se pueden realizar para moléculas en fase líquida, sólida o gaseosa, y en su estado fundamental o excitado. Se han desarrollado una gran variedad de modelos teóricos para calcular la estructura molecular y la energía de un sistema, no existiendo un modelo ideal para el mejor tratamiento de todos los sistemas posibles a estudiar, sino que, según el sistema, puede resultar más conveniente emplear un método u otro. En la *Fig. 3.1* se muestra un esquema en el que se recogen los principales métodos teóricos utilizados hoy día para los cálculos relativos al estudio de las estructuras atómico-moleculares y sus diferentes propiedades (incluidas las relativas al estudio de sus diferentes tipos de espectros). Se dividen en dos categorías principales, **Clásicos** y **Químico-cuánticos** o de **Estructura electrónica** [3,4].

Desde el **punto de vista clásico**, la interacción de las partículas y la ecuación dinámica determinan cómo el sistema evoluciona con el tiempo. Por ejemplo, en estos métodos, los campos de fuerzas se parametrizan como tensiones de enlace, deformaciones de ángulos de enlace, torsiones, fuerzas de Van der Waals, etc. Desde el **punto de vista cuántico**, hay que trabajar con la ecuación de Schrödinger y su resolución [3]. Como hemos comentado en el punto 2.1.3. “Tratamiento cuántico de los modos normales de vibración” del capítulo 2, vamos a trabajar dicha ecuación en su forma independiente del tiempo, esto es, en la forma en la que aparece en la ecuación (2.19), suponiendo que nuestro sistema no evoluciona con el mismo. Hemos mencionado también que para **sistemas con más de un electrón** dicha ecuación **no** se puede **resolver de forma exacta**, debido al término de repulsión interelectrónica ( $V_{ee}$ ). Por ello, para el estudio teórico mecanocuántico de dichos sistemas atómico-moleculares con más de un electrón se recurre al empleo de métodos aproximados que traten de acercarse todo lo posible a las soluciones exactas de las propiedades, parámetros y magnitudes de los sistemas en estudio, esto es, el cálculo de energías, geometrías, frecuencias e intensidades espectrales, etc. [5]. Dichos métodos aproximados suelen ser, en general, de dos tipos: métodos de perturbaciones y métodos variacionales.



**Figura 3.1:** Esquema de los métodos teóricos. **V:** ventaja, **X:** inconveniente.

NOTA: Al aumentar  $N$  aumenta el tamaño del sistema y el tiempo de cálculo.  $N$  es el número de electrones o número de partículas para métodos clásicos y el número de orbitales atómicos para métodos químico-cuánticos.

En esta sección se van a dar las nociones generales para la aplicación de los métodos clásicos (MM) y cuánticos (DFT y *ab initio*) a problemas relacionados con la espectroscopía, como lo son: los cálculos de las **estructuras más estables**, **energías** relativas de conformeros y **espectros IR-Raman-VCD** y **microondas teóricas** de las moléculas que nos interesan. Las nociones teóricas que se explican a continuación se centran en cálculos de propiedades en el estado electrónico fundamental y aislado. No se hablará sobre estados electrónicos excitados, ya que no son objeto de esta tesis.

## 3.2. Métodos clásicos

### 3.2.1. Mecánica molecular

Describe las moléculas en términos de átomos enlazados, los cuales han sido distorsionados de la geometría ideal debido a interacciones no-enlazantes de Van der Waals y de Coulomb. La principal diferencia respecto a los modelos cuánticos es que trabajan bajo el marco de la **mecánica clásica** y **no tratan los electrones de manera explícita**.

Se considera que los núcleos están sometidos a un campo de fuerzas (*force fields* en inglés) que se compone de la suma de una serie de términos que modelizan las tensiones de los enlaces, de sus ángulos, sus torsiones, las interacciones de Van der Waals, las electrostáticas y las de los puentes de hidrógeno. Según el campo de fuerzas que se emplee, estos términos pueden estar incluidos o no. De manera general, la energía total se puede definir como:

$$E_{total} = E_{enlaces} + E_{ángulos} + E_{diedros} + E_{VderW} + E_{elect} + E_H \quad (3.1)$$

Grandes sistemas moleculares pueden ser modelados satisfactoriamente evitando por completo los cálculos requeridos por la mecánica cuántica. Se emplea para **sistemas grandes** y muy grandes. Son un buen punto de partida. Su objetivo es la búsqueda de una serie de mínimos en la Superficie de Energía Potencial y su aplicación más importante es el **análisis conformacional**. Dos ejemplos de campos de fuerza son MMFF y SYBYL [3].

## 3.3. Métodos químico-cuánticos

Estos modelos tratan las moléculas como un conjunto de núcleos y electrones. La gran diferencia con los métodos clásicos es que se introduce un **tratamiento específico de los electrones** bajo dos aproximaciones: *i.* tratamiento explícito de los electrones, métodos **ab initio**; *ii.* tratamiento de los electrones como un conjunto bajo la forma de una densidad electrónica, métodos de la Teoría del Funcional de la Densidad (**DFT**, *Density Functional Theory* en inglés).

Los **métodos ab initio** no utilizan ningún dato procedente de la experimentación, esto es, no hacen uso de ningún dato o parámetro empírico (o semiempírico) en sus ecuaciones. La gran ventaja es que son métodos muy **precisos**, pero requieren un **coste computacional muy elevado** y por ello se emplean para sistemas relativamente **pequeños**. Necesitan la **resolución de la ecuación de Schrödinger** asociada al Hamiltoniano molecular. Estos métodos pueden dividirse en: *i.* *Métodos Hartree-Fock (HF)* y *ii.* *Métodos Post-HF*.

Los **métodos DFT** tratan la correlación electrónica bajo la forma de una densidad electrónica. Se caracterizan por su **menor coste computacional** y resultados de **buena calidad**, incluso comparables a los resultados *ab initio*. La gran desventaja es que **no** tienen un comportamiento **sistemático**, debido al tratamiento no explícito de la correlación electrónica, resultando delicada, a veces, la comparación de resultados con otros sistemas o métodos.

### 3.3.1. Resolución de la ecuación de Schrödinger usando el método Hartree-Fock (HF)

En este punto se van a proporcionar al lector los aspectos más importantes de la aproximación **Hartree-Fock**, ya que el resto de métodos explicados posteriormente se basan en los principios de esta aproximación. Las referencias consultadas para la elaboración de esta sección han sido sobre todo 3, 4 y 6-9.

#### *i. Generalidades y soluciones para la ecuación de Schrödinger en el estado fundamental*

El primer punto es dejar claro que todos los métodos utilizados parten de la antes ya referida aproximación de **Born-Oppenheimer**,<sup>1</sup> que se ha explicado en el subapartado *i.* del punto 2.1.3. “Tratamiento cuántico de los modos normales de vibración” del capítulo 2. La dificultad principal de todos los métodos mecanocuánticos está en calcular la **interacción electrón-electrón** (o **correlación electrónica**), ya que los sistemas atómico-moleculares que la presentan, es decir, todos aquellos conteniendo más de un electrón, no tienen una solución exacta de la ecuación de Schrödinger. Para ellos, el tratamiento del problema de la correlación electrónica exige el uso de métodos sólo aproximados, lo cual requiere tener en cuenta, principalmente, los dos siguientes aspectos del problema y del enfoque sobre cómo abordarlo y solucionarlo (aunque sea sólo de manera aproximada), que son:

- Por un lado, el aspecto relativo a los posibles **métodos** (y, por tanto, aproximaciones a la descripción del hamiltoniano, y de otros posibles operadores a usar para el cálculo de otras propiedades diferentes a la energía) a usar para el cálculo aproximado de la correlación electrónica [4].
- Y, por otro, el aspecto relativo al conjunto de las funciones de ondas (conjunto de base o **base de cálculo**) a ser usadas también en el

---

<sup>1</sup> Para el cálculo de intensidades VCD, es necesario ir más allá de la aproximación BO (ver subapartado *ii.* del punto 2.1.5. “Espectroscopía de Dicroísmo Circular Vibracional” del capítulo 2).

tratamiento de los electrones a modelizar, los cuales deberán moverse en un determinado espacio [4].

Uno de los objetivos de los métodos teóricos es su comparación con los resultados experimentales y por eso es de vital importancia entender bien el problema que queremos modelizar para así poder adoptar una metodología adecuada. La calidad de la solución de la ecuación de Schrödinger depende de tres factores:

- La forma del hamiltoniano  $\hat{H}$ .
- La forma de la función de onda  $\psi$ .
- El método usado para la resolución de la ecuación.

A continuación se van a detallar los métodos y bases usados con más frecuencia, especificando los que se han escogido para el tratamiento de los sistemas estudiados en el marco de esta tesis.

*ii. Simplificación del hamiltoniano  $\hat{H}$ : métodos monoeléctricos*

Si el término potencial coulombiano  $V_{ee}$  se desprecia, el hamiltoniano  $\hat{H}$  se puede escribir como una suma de operadores monoeléctricos  $\hat{h}(r)$  de la forma de la ecuación (3.2).  $N$  representa el número total de electrones del sistema,  $r$  es el vector posición,  $\hat{h}(r)$  es el hamiltoniano monoeléctrico definido por un término de energía cinética electrónica  $T_e$  y un término de energía potencial de interacción electrón-núcleo  $V_{ne}$  [ver ecuación (2.21)]:

$$\hat{H} = \sum_{r=1}^N \hat{h}(r) \quad (3.2) \quad \psi = \prod_{i=1}^n \varphi_i(r) = |\varphi_1(1), \varphi_2(2), \dots, \varphi_n(N)| \quad (3.3)$$

La función de onda total  $\psi$  se puede separar como un producto de las funciones monoeléctricas  $\varphi_i(r)$ , dependiendo cada una de ellas solamente de las coordenadas  $r$  de un electrón [ver ecuación (3.3)].  $n$  representa el número total de funciones monoeléctricas,  $\varphi_i(r)$ . Hay que tener en cuenta que  $n \neq N$ , ya que podemos introducir orbitales virtuales. La acción del hamiltoniano monoeléctrico sobre la función de onda monoeléctrica se puede escribir de la siguiente forma:

$$\hat{h}(r)\varphi_i(r) = \varepsilon_i\varphi_i(r) \quad (3.4)$$

donde  $E = \sum_i^n \varepsilon_i$  representa la energía total del sistema.

La función total de un electrón,  $\psi_i(r, \omega)$ , está compuesta por una función espacial  $\varphi_i(r)$  y por una función de espín (base ortonormal)  $\alpha(\omega)$  o  $\beta(\omega)$  (espín

+1/2 y -1/2). A partir de una sola función espacial podemos construir dos funciones espín-orbitales,  $\psi_i(\mathbf{r}, \omega)$ .

Desde un punto de vista físico, esta solución es mala porque desprecia totalmente las interacciones electrón-electrón  $V_{ee}$ .

iii. *Simplificación de la función de onda  $\psi$ : método Hartree-Fock (HF)*

a) *Principio variacional*

Vamos a utilizar una función similar, con un producto de funciones monoeléctricas. La diferencia es que esta vez el término coulombiano  $V_{ee}$  se mantiene en el hamiltoniano, este es el punto clave del método HF. El hamiltoniano monoeléctrico llamado operador de Fock  $\hat{F}(\mathbf{r})$  se escribe, en unidades atómicas, de la siguiente forma:

$$\hat{F}(\mathbf{r}) = -\frac{1}{2} \frac{\partial^2}{\partial r^2} + \sum_{\alpha=1}^M \left( -\frac{Z_{\alpha}}{r_{\alpha r}} \right) + V^{HF}(\mathbf{r}) = \hat{h}(\mathbf{r}) + V^{HF}(\mathbf{r}) \quad (3.5)$$

donde  $V^{HF}(\mathbf{r}) = \sum_{s \neq r}^N \frac{1}{r_{rs}}$  tiene en cuenta la interacción electrón-electrón. La aproximación HF reemplaza un problema de N electrones por un problema monoeléctrico en el que **cada electrón** es sometido a un **potencial medio creado** por los otros **N-1 electrones**. El método HF describe la función total  $\Phi^{HF}$  basada en las funciones  $\varphi_i(\mathbf{r})$ .

Los electrones son fermiones y la función de onda total  $\Phi^{HF}$  debe ser antisimétrica si se intercambian las coordenadas de dos electrones (principio de Pauli). La introducción de las funciones  $\varphi_i(\mathbf{r})$  no permite la indiscernibilidad de los electrones. Para que la función total sea antisimétrica, se construye un determinante a partir de las funciones  $\varphi_i(\mathbf{r})$ , que se denomina determinante de Slater, y se escribe de la siguiente forma:

$$\Phi^{HF}(1, \dots, N) = \left( \frac{1}{\sqrt{N!}} \right) \begin{vmatrix} \varphi_1(1) & \varphi_2(1) & \dots & \varphi_n(1) \\ \varphi_1(2) & \varphi_2(2) & \dots & \varphi_n(2) \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \varphi_1(N) & \varphi_2(N) & \dots & \varphi_n(N) \end{vmatrix} \quad (3.6)$$

donde  $\langle \varphi_i | \varphi_j \rangle = \delta_{ij}$  y  $\delta_{ij}$  es el delta de Kronecker, la base de las funciones  $\varphi_i(\mathbf{r})$  es ortonormal con  $\left( \frac{1}{\sqrt{N!}} \right)$  como constante de normalización.

La determinación de las funciones  $\varphi_i(\mathbf{r})$  (subapartado *iv*. de este mismo punto 3.3.1.) se realiza usando el principio variacional. Partimos de una función de prueba  $\psi_{prueba}$  que depende de las funciones  $\varphi_i(\mathbf{r})$ , y un sistema descrito por

un hamiltoniano  $\hat{H}$ . La energía del sistema es  $E_0$ , correspondiente a la autofunción  $\psi_{prueba} = \psi_0$ ,  $E$  es la energía asociada a la función de prueba y la base de las funciones  $\psi_{prueba}$  es ortonormal,  $\int \psi_{prueba}^* \psi_{prueba} = 1$ . La energía del sistema se escribe de la siguiente forma:

$$E = \int \psi_{prueba}^* \hat{H} \psi_{prueba} \quad (3.7)$$

El principio variacional implica que  $E \geq E_0$  y la igualdad sólo se verifica cuando  $\psi_{prueba} = \psi_0$ .

b) *Ecuaciones de Hartree-Fock*

La energía del sistema se puede encontrar utilizando los multiplicadores de Lagrange que permiten encontrar un punto estacionario (máximo, mínimo, ...) de una función derivable con respecto a una o más de sus variables. La función total  $\Phi^{HF}$  es un determinante de Slater compuesto por funciones  $\varphi_i(r)$  ortonormales. Un caso particular es aquel en el que la función  $\Phi^{HF}$  contiene orbitales  $\varphi_i(r)$  idénticos dos a dos, uno ocupado por un electrón  $\alpha$  y el otro por un electrón  $\beta$ . Esta forma se aplica sólo en los casos en que el número de electrones es par, y se habla entonces de una función Hartree-Fock de capas cerradas o *Restricted Hartree Fock* (RHF) [10]. Podemos escribir la energía en la forma:

$$\langle \Phi^{HF} | \hat{H} | \Phi^{HF} \rangle = E = \sum_{i=1}^{n/2} 2I_i + \sum_{i=1}^{n/2} \sum_{j=1}^{n/2} (2J_{ij} - K_{ij}) \quad (3.8)$$

Hay que tener en cuenta que la suma va de  $i=1$  a  $n/2$  donde  $n$  representa el número total de orbitales  $\varphi_i(r)$ . En un sistema de capa cerrada, cada orbital está ocupado por dos electrones.  $I_i$  es la **integral monoeléctronica**,  $J_{ij}$  es la **integral Coulombiana** y  $K_{ij}$  es la **integral de intercambio**. Se definen por las siguientes ecuaciones:

$$I_i = \langle \varphi_i(r) | \hat{h}(r) | \varphi_i(r) \rangle \quad (3.9)$$

$$J_{ij} = \left\langle \varphi_i(r) \varphi_j(s) \left| \frac{1}{r_{rs}} \right| \varphi_i(r) \varphi_j(s) \right\rangle \quad (3.10)$$

$$K_{ij} = \left\langle \varphi_i(r) \varphi_j(s) \left| \frac{1}{r_{rs}} \right| \varphi_j(r) \varphi_i(s) \right\rangle \quad (3.11)$$

Las ecuaciones de **Hartree-Fock** se definen como:

$$\hat{F}(r) \varphi_i(r) = \varepsilon_i \varphi_i(r) \quad i = 1, n/2 \quad (3.12)$$

y  $\hat{F}$  el **operador de Fock** de la siguiente forma:

$$\hat{F}(r) = \hat{h}(r) + \sum_{i=1}^{n/2} (2\hat{J}_i(s) - \hat{K}_i(s)) \quad (3.13)$$

donde  $\hat{h}_i$  es el **operador monoeléctrico** [ecuación (3.2)],  $\hat{J}_i$  es el **operador Coulombiano**, el cual describe la interacción de un electrón con los restantes  $(N-1)$  electrones y  $\hat{K}_i$  es el **operador de intercambio** cuya interpretación no es simple debido a la condición de antisimetría de la función de onda. La acción de  $\hat{J}_i$  y  $\hat{K}_i$  se define por:

$$\hat{J}_i(s)|\varphi_j(s)\rangle = \left\langle \varphi_i(r) \left| \frac{1}{r_{rs}} \right| \varphi_j(s) \right\rangle |\varphi_j(s)\rangle = \left( \int \varphi_i^*(r) \varphi_i(r) \frac{1}{r_{rs}} dr \right) \varphi_j(s) \quad (3.14)$$

$$\hat{K}_i(s)|\varphi_j(s)\rangle = \left\langle \varphi_i(r) \left| \frac{1}{r_{rs}} \right| \varphi_j(s) \right\rangle |\varphi_j(s)\rangle = \left( \int \varphi_i^*(r) \varphi_j(r) \frac{1}{r_{rs}} dr \right) \varphi_i(s) \quad (3.15)$$

Cuando el espín electrónico total no es cero (número impar de electrones), se definen dos conjuntos de ecuaciones: uno para los electrones  $\alpha$  y otro para los electrones  $\beta$ , se trabaja entonces en la aproximación **Hartree-Fock sin restricciones** (UHF, del inglés *Unrestricted Hartree-Fock*).

El **operador de Fock** se construye a partir de las soluciones  $\varphi_i(r)$ , por lo que se requiere un **método iterativo** llamado **método del campo autoconsistente** (SCF, *Self-consistent-field* en inglés). El tamaño de las ecuaciones **Hartree-Fock** crece según  $n^2$ , de acuerdo con el carácter bielectrónico del operador Coulombiano. Dos electrones con el mismo espín no pueden estar simultáneamente en el mismo lugar, por el contrario esta situación es posible para dos electrones con espines opuestos.

#### *iv. Resolución práctica de las ecuaciones: el método L.C.A.O.*

La resolución práctica de las ecuaciones de **HF** se hace definiendo los orbitales  $\varphi_i(r)$  como una combinación lineal de orbitales atómicos  $\chi_p$ , llamada **L.C.A.O.** (*Linear Combination of Atomic Orbitals* en inglés), tal y como se muestra en la ecuación (3.16).  $N_{bas}$  es el número de orbitales atómicos  $\chi_p$ . Las funciones  $\chi_p$  se eligen por ser una base ortonormal. La resolución de la ecuación (3.16) implica la determinación de los coeficientes  $C_i^p$ , es decir, la solución de un sistema de ecuaciones lineales. Basándonos en los trabajos de Roothan [11], si sustituimos  $\varphi_i(r)$  en la ecuación (3.12), se obtiene una ecuación matricial [ver ecuación (3.17)].

$$\varphi_i(r) = \sum_{p=1}^{Nbas} C_i^p \chi_p \quad (3.16) \quad \hat{F}C = \varepsilon SC \quad (3.17)$$

donde  $C$  es la matriz de coeficientes  $C_i^p$ ,  $S$  es la matriz de integrales de solapamiento en la base  $\chi_p$  ( $S_{pq} = \langle \chi_p | \chi_q \rangle$  es la integral de solapamiento) y  $\varepsilon$  es la matriz de energías. El operador  $\hat{F}$  se expresa en la base  $\chi_p$  según:

$$\hat{F}_{pq} = \hat{h}_{pq} + \sum_{r=1}^{Nbas} \sum_{s=1}^{Nbas} [\rho_{rs} (\chi_p \chi_q | \chi_r \chi_s) - \frac{1}{2} (\chi_p \chi_r | \chi_q \chi_s)] \quad (3.18)$$

$$\rho_{rs} = \sum_{i=1}^{n/2} C_i^r C_i^s \quad (3.19)$$

$$\hat{h}_{pq} = \int \chi_p(r) \hat{h}(r) \chi_q(r) dr \quad (3.20)$$

$$(\chi_p \chi_q | \chi_r \chi_s) = \iint \chi_p(r) \chi_q(r) \frac{1}{r_{12}} \chi_r(s) \chi_s(s) dr_1 dr_2 \quad (3.21)$$

La elección de las funciones  $\chi_p$  es arbitraria, pero las moléculas están formadas por átomos, por ello una solución que tiene sentido es que la elección de las funciones sea lo más cercana posible a los orbitales atómicos. El tiempo de cálculo para un método HF crece según  $N_{bas}^4$ . El tiempo de cálculo en el método HF es relativamente corto en comparación con el tiempo requerido por los métodos post-HF. Veremos más adelante que la elección de funciones atómicas es un parámetro importante a ajustar, por lo que se debe llegar a una solución de compromiso entre el tiempo de cálculo y una buena descripción del área de movimiento de los electrones (base).

#### v. Cálculo de las integrales y elección de las bases

Es natural elegir funciones  $\chi_p$  que estén bien adaptadas a la forma de los orbitales atómicos, son posibles varias opciones:

**Orbitales de Slater [12]:** Describen bien la forma de los orbitales atómicos, pero su integración numérica es compleja, debido al término  $\exp(-\xi r)$ . Un orbital de Slater  $\chi_{nlm}^{STO}(r, \theta, \varphi)$  (STO: Slater Type Orbital) típicamente se escribe de la forma:

$$\chi_{nlm}^{STO}(r, \theta, \varphi) = R_n^{STO}(r) Y_{lm}(\theta, \varphi) \quad (3.22)$$

donde  $R_n^{STO}(r)$  representa la parte radial, función de la distancia  $r$  del electrón y del número cuántico principal  $n$  (capa electrónica,  $n = 1, 2, \dots$ ) de la forma:

$$R_n^{STO}(r) = \frac{(2\xi)^{3/2}}{\sqrt{\Gamma(2n+1)}} (2\xi r)^{(n-1)} \exp(-\xi r) \quad (3.23)$$

donde  $\xi$  es el coeficiente a optimizar.  $Y_{lm}(\theta, \varphi)$  es la parte angular llamada armónico esférico, función de los ángulos  $\theta$  y  $\varphi$  y de los números cuánticos secundario o azimutal  $l$  ( $l = 0, \dots, n-1$ ) y terciario o magnético  $m$  ( $m = -l, \dots, l$ ).

**Funciones Gaussianas [13]:** No definen tan bien la forma de los orbitales atómicos pero su integración numérica es mucho más simple que para los orbitales de Slater, gracias al término  $\exp(-\alpha r^2)$ . Si usamos una sola función se denomina **primitiva**, pero para definir bien un orbital de Slater se realizan siempre combinaciones lineales de varias gaussianas llamadas entonces **orbitales contraídos**. Un orbital Gaussiano  $\chi_{nlm}^{GTO}(r, \theta, \varphi)$  se escribe típicamente de la siguiente forma:

$$\chi_{nlm}^{GTO}(r, \theta, \varphi) = R_n^{GTO}(r) Y_{lm}(\theta, \varphi) \quad (3.24)$$

La parte angular  $Y_{lm}(\theta, \varphi)$  tiene la misma forma que para los orbitales de Slater y la parte radial  $R_n^{GTO}(r)$  se escribe:

$$R_n^{GTO}(r) = \frac{2(2\alpha)^{3/4}}{\Pi^{1/4}} \sqrt{\frac{2^{2n-1-2}}{(4n-2l-3)!!}} (\sqrt{2\alpha})^{2(n-1-2)} \exp(-\alpha r^2) \quad (3.25)$$

donde  $\alpha$  es el parámetro a optimizar.

Las bases poseen distintas dimensiones y elegir la adecuada también es importante. Se pueden clasificar en:

- **Bases mínimas:** para tener el mismo número de funciones que de orbitales en el sistema. Estas bases dan resultados cualitativos, ya que no dependen del número de electrones. La dimensión de la base es la misma para todos los átomos de la misma línea. Ejemplo: STO.
- **Bases extendidas:** Se añade una base llamada doble zeta, en la que cada orbital se representa por dos funciones contraídas. Ayudan a contraer y a expandir el orbital de valencia para tener en cuenta la anisotropía del sistema. Ejemplos: 6-31G o 3-21G.
- **Bases polarizadas:** La presencia de fuertes cargas en el interior de los sistemas da lugar a que las bases centradas sobre los átomos no estén bien adaptadas. Es necesario añadir estas bases para permitir el desplazamiento de las distribuciones de electrones lejos de las posiciones nucleares. Ejemplos: 6-31G(d,p) o 6-31G(d).
- **Bases difusas:** Permiten que los electrones se muevan en un espacio activo más amplio. Esto equivale a introducir coeficientes  $\xi$  más grandes.

Son particularmente eficaces para reproducir las interacciones de largo alcance como los enlaces de hidrógeno o el estudio de complejos de Van der Waals. Ejemplos: 6-31+G(d,p) o 6-31++G(d,p).

Un ejemplo de definición de una base Gaussiana empleada en el programa de cálculo Gaussian [1] se muestra en la siguiente figura (Fig. 3.2):

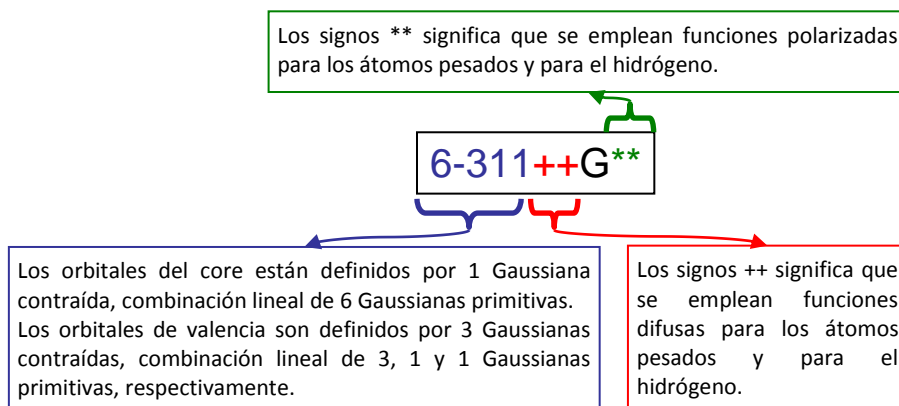


Figura 3.2: Definición de una función Gaussiana.

Otro tipo de funciones muy utilizadas son las funciones de **Dunning**, se denotan con **cc-pVnZ** (*correlation-consistent and polarized valence n-zeta* en inglés), tal y como se muestra en la Fig. 3.3 [14]. Estas funciones reproducen muy bien la forma de los orbitales atómicos, pero su resolución numérica es costosa.

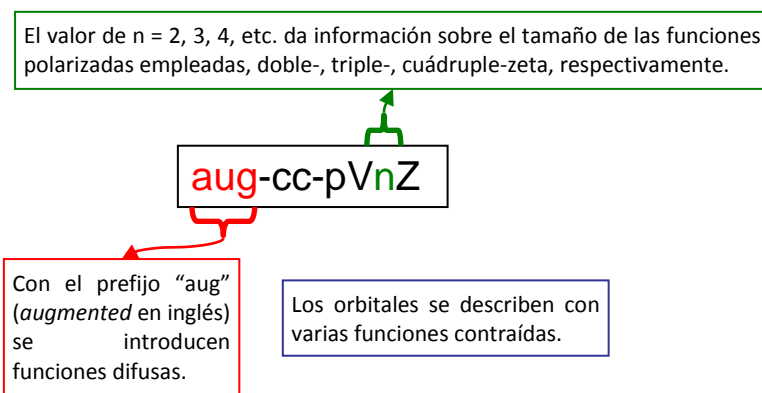


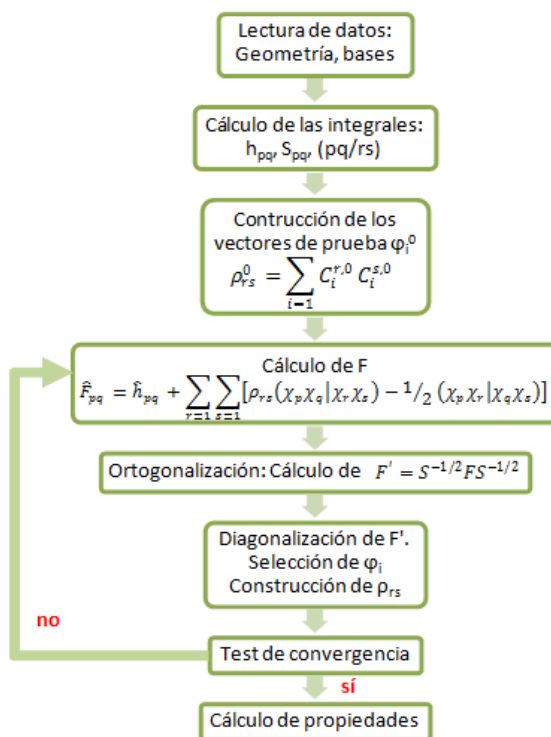
Figura 3.3: Definición de una función de Dunning.

## vi. Organización de un programa SCF

El método HF es el más simple dentro de los métodos *ab initio*. El programa resuelve las ecuaciones (3.17) de Hartree-Fock (sea **RHF** o **UHF**) de una forma iterativa denominada **método del campo autoconsistente**. Como punto de partida se introduce una geometría inicial y una base de orbitales atómicos (Gaussianas normalmente). El programa va resolviendo las ecuaciones (3.17) y hace un test de convergencia para continuar o no la optimización de los coeficientes. La *Fig. 3.4* muestra un esquema del programa **SCF clásico** [15]. También existe el programa **SCF directo** [16], el cual calcula ciertas integrales conforme se van generando, especialmente las integrales bielectrónicas, mientras que el programa SCF clásico las almacena sistemáticamente en el disco duro.

Los pasos que se siguen en un método HF para resolver la ecuación (3.17) son los siguientes:

1. Introducir una geometría de partida: coordenadas cartesianas, internas...
2. Definir la base de las funciones atómicas  $\chi_p$ : orbitales de Slater, funciones Gaussianas...
3. Aquí comienza el verdadero cálculo SCF. El primer paso es evaluar las integrales monoeléctricas  $h_{pq}$ , bielectrónicas  $(\chi_p\chi_q|\chi_r\chi_s)$  (esta es la parte más costosa) y de solapamiento  $\rho_{rs}$ .
4. Construcción de los vectores de prueba  $\varphi_i^0$  y de la matriz de solapamiento  $S^0$ .
5. Cálculo de los elementos de la matriz de Fock  $\hat{F}_{pq}$ , la cual no es diagonal y plantea, por tanto, un problema de ortogonalización de matrices.



**Figura 3.4:** Diagrama esquemático del programa SCF.

6. Ortogonalización de la matriz de Fock a través de la matriz  $S$  para obtener la matriz de Fock ortogonal ( $F'$ ). Una vez obtenida la matriz  $F'$ , podemos resolver la ecuación  $F'C' = \epsilon C'$ , que es una ecuación en valores propios.
7. La resolución de la ecuación del punto anterior arroja la obtención de los correspondientes autovalores (energía) y autovectores  $C_i^p$ , y a partir de estos últimos se construyen los nuevos vectores de prueba  $\varphi_i$ , esto es, la nueva base de funciones de ondas de prueba  $\varphi_i$ .
8. Para completar el primer ciclo iterativo, se hace el correspondiente test de convergencia, que consiste en comparar los coeficientes  $C_i^p$  de la matriz  $C$  obtenidos en el punto anterior con los coeficientes utilizados de partida.
9. Si los nuevos coeficientes son muy diferentes de aquellos de partida, hacemos un nuevo ciclo, y así se continúa, si es necesario, hasta que la diferencia entre los dos conjuntos de coeficientes, esto es, el del ciclo  $n-1$  y el del ciclo  $n$ , sea inferior a un parámetro  $\delta$  convenido (o que nosotros fijamos, si el programa de cálculo utilizado lo permite), tal que  $C_n - C_{(n-1)} \leq \delta$ .
10. El último paso es el cálculo de las propiedades deseadas con el último conjunto de parámetros obtenidos.

Muchas propiedades físicas dependen de la energía de un sistema, por ello es muy importante conocerla. Para definir la calidad de un método se emplean las siguientes propiedades:

- Se dice que un método es **separable** si la energía de un sistema con  $M$  fragmentos es igual a la suma de las energías de cada uno de los fragmentos para una distancia igual al infinito.
- Se dice que un método es **consistente en tamaño** si la energía aumenta linealmente con el número de partículas.
- Se dice que un método es **extensivo en tamaño** si es a la vez **separable** y **consistente en tamaño**.

El método HF es **extensivo en tamaño**. Estas condiciones no las satisfacen todos los métodos. Las consecuencias de la **no consistencia en tamaño** no son despreciables, por ejemplo, el cálculo de energías de enlace en función de la distancia de enlace.

El modelo HF no es más que una aproximación a la solución exacta, la cual presenta limitaciones importantes en el estudio de los sistemas químicos, ya que con este método la interacción entre los electrones (potencial electrón-electrón) sólo se tiene en cuenta de una forma promediada. Algunas de estas limitaciones son:

- **Comportamiento en la disociación:** El modelo HF define las funciones de onda como un simple producto de funciones de un electrón. Esta forma no es adecuada ya que la distancia de enlace tiende hacia el infinito. De hecho, la función  $\Phi^{HF}$  representa una mezcla con pesos equivalentes de las formas iónicas y covalentes, ya que la disociación hacia dos átomos se debe hacer con la combinación de las formas covalentes. Esto se conoce como “la mala disociación de la función HF” y ocurre cada vez que se rompe un sistema de capa cerrada para formar dos sistemas de capa abierta.
- **Formas de los pozos de potencial:** el hecho de que un electrón se encuentre situado en el campo medio creado por los otros electrones tiene consecuencias sobre la forma y la posición de los pozos de potencial. Los electrones con espín diferente pueden encontrarse a una distancia cero. Así se obtienen sistemáticamente enlaces demasiado cortos (frecuencias de vibración demasiado elevadas). Por lo tanto, será necesario introducir efectos de correlación.

Para mayor precisión, necesitamos utilizar los métodos post-HF, que introducen la correlación electrónica más allá del uso de potenciales promediados.

### 3.3.2. Métodos post Hartree-Fock monoreferencia

#### *i. Introducción*

La diferencia entre la energía exacta y la energía obtenida con la aproximación HF con una base infinita se le llama **energía de correlación**. Aunque sólo supone el 1% de la energía total, es uno de los mayores desafíos de la química cuántica, ya que ese 1% tiene un impacto enorme en el cálculo de propiedades moleculares. La calidad con la que se calcula la correlación electrónica tendrá un gran impacto en la exactitud de los resultados obtenidos. Para la redacción de esta sección se han consultado sobre todo las referencias 3, 4, 7 y 9.

Los métodos post-HF se basan en utilizar orbitales moleculares  $\varphi_i(\mathbf{r})$  que estén ocupados por electrones (i,j,k, ...) que pueden ser virtuales, o que no estén ocupados por electrones (a,b,c, ...). Se pueden construir otros determinantes reemplazando en  $\Phi^{HF}$  uno o varios orbitales ocupados por uno o varios orbitales virtuales. Así, se obtiene un determinante excitado que será el punto de referencia para la notación hueco-partícula y se clasifica según el orden de excitación:

- Grado cero: referencia  $\rightarrow \Phi^{HF}$
- Grado uno: monoexcitado  $\rightarrow \Phi_{i \rightarrow a}, \Phi_i^a$
- Grado dos: diexcitado  $\rightarrow \Phi_{i \rightarrow a, j \rightarrow b}, \Phi_{ij}^{ab}$

Ellos forman una base ortonormal ( $\varphi_i(r)$  son ortogonales) y completa. La función exacta es una combinación lineal de determinantes  $\Phi_K$ :

$$\psi = \sum_K D_K \Phi_K \quad (3.25)$$

La estructura de la matriz del hamiltoniano en la base de determinantes  $\Phi^{HF}$  es:

$$\begin{array}{cccc} & \Phi^{HF} & \Phi_i^a & \Phi_{ij}^{ab} & \Phi_{ijk}^{abc} \\ \begin{array}{l} \Phi^{HF} \\ \Phi_i^a \\ \Phi_{ij}^{ab} \\ \Phi_{ijk}^{abc} \end{array} & \begin{pmatrix} E^{HF} & 0 & \neq 0 & 0 \\ 0 & \neq 0 & \neq 0 & \neq 0 \\ \neq 0 & \neq 0 & \neq 0 & \neq 0 \\ 0 & \neq 0 & \neq 0 & \neq 0 \end{pmatrix} & & & \end{array} \quad (3.26)$$

Esta configuración es la consecuencia de las reglas de Slater, aplicadas en una base de funciones  $\varphi_i(r)$  ortogonales. Un determinante dado con un grado de excitación  $\mathbf{n}$  solo puede interactuar con los determinantes de grado  $\mathbf{n-2}$ ,  $\mathbf{n-1}$ ,  $\mathbf{n+1}$ ,  $\mathbf{n+2}$  [7]. Esta estructuración de la matriz es la base de todos los métodos **post-Hartree-Fock**. La calidad de la **energía de correlación** obtenida depende del número de excitaciones que se tengan en cuenta, así como la manera en la que sean tratadas.

A continuación se detallan los **métodos perturbativos Møller-Plesset (MPn)**. También existen otros métodos post-HF como los **métodos de interacción de configuraciones (IC)** y los **métodos Coupled Cluster (CC)**. Estos dos últimos presentan un coste computacional elevado, lo cual limita su uso a sistemas pequeños de pocos átomos. Debido a ello, no se han empleado en el desarrollo de esta tesis y por tanto no se van a detallar. Concretamente, el tiempo de cálculo de los métodos IC varía según  $\left(\frac{(O+V)!}{O!V!}\right)^2$ , donde O y V son el número de orbitales atómicos ocupados y virtuales, respectivamente. Para los métodos CC el tiempo de cálculo crece según  $O^3N^4$ .

### ii. Métodos perturbativos Møller-Plesset (MPn)

Suponen que los resultados obtenidos con el método HF son una buena aproximación de partida. Es decir, parten de un hamiltoniano (llamado de orden cero  $\hat{H}_0$ ) y una función de ondas procedentes del método HF,  $\Phi_{HF}$ . Esta teoría se aplica cuando el hamiltoniano  $\hat{H}$  del sistema se puede dividir en dos términos: un

hamiltoniano de orden cero  $\hat{H}_0$  cuyas autofunciones  $\Phi_K$  son conocidas y cuyos autovalores  $E_K$  no están muy lejos de los autovalores de  $\hat{H}$ . El segundo término es un término perturbativo  $V$  que se supone que es pequeño en comparación con  $\hat{H}_0$ .

En los métodos **Møller-Plesset (MPn)** el hamiltoniano  $\hat{H}$  se puede escribir como la suma de dos términos [17], como en la ecuación (3.27). Con la condición  $\hat{H}_0 \ll V$  y  $\hat{H}_0$  bajo la forma de la ecuación (3.28).

$$\hat{H} = \hat{H}_0 + \lambda V \quad (3.27) \quad \hat{H}_0 = \sum_i \hat{F}_i(r) \quad (3.28)$$

Donde el parámetro  $\lambda$  se utiliza para definir el orden de perturbación y  $V$  es un término correctivo. El término  $\lambda V$  introduce el efecto de la correlación electrónica. El hamiltoniano de orden cero  $\hat{H}_0$  es el **operador de Fock**  $\hat{F}_i(r)$ . La función de onda y la energía exacta se desarrollan también en función de este parámetro de la forma:

$$\psi = \sum_{n=0}^{\infty} \lambda^n \psi^{(n)} \quad (3.29) \quad E = \sum_{n=0}^{\infty} \lambda^n E^{(n)} \quad (3.30)$$

Las funciones perturbadas  $\psi^{(n)}$  se desarrollan en la base de las autofunciones  $\Phi_K$ :

$$\psi^{(n)} = \sum_{K \neq 0} D_K^{(n)} \Phi_K \quad (3.31) \quad \psi^{(0)} = \Phi_0 = \Phi_{HF} \quad (3.32)$$

En el método **MPn**, la energía obtenida de orden  $n = 0$  y  $n = 1$  por el método perturbativo se define como la calculada al nivel **Hartree-Fock**:  $E^{HF} = E^{(0)} + E^{(1)}$ . De esta forma, el autovalor obtenido es una suma de la energía obtenida bajo la aproximación HF más una serie de correcciones perturbativas (perturbaciones de orden  $\geq 2$ ) a la energía que no son más que la corrección energética debida a la correlación electrónica:

$$E^{MPn} = E^{HF} + \sum_{n \geq 2} E^n \quad (3.33)$$

- Orden 2: **MP2** → determinantes diexcitados.
- Orden 3: **MP3** → determinantes triexcitados.
- Orden 4: **MP4** → determinantes cuatriexcitados.

Normalmente solo están correlacionados los electrones de valencia, nosotros trabajamos en la aproximación denominada de “electrones internos congelados” (**frozen core** en inglés). Si retomamos la definición de los orbitales O (ocupados) y V (virtuales), el tiempo de cálculo aumenta muy rápido con el orden de

desarrollo, crece proporcionalmente con  $ON^4$  para **MP2** y  $O^3N^4$  para **MP4**. La teoría de perturbaciones es uno de los métodos más comunes para tratar la correlación electrónica. Los métodos MP2 son muy utilizados debido a que son menos costosos que los IC y dan resultados de gran calidad. Las correcciones de orden superior están limitadas a sistemas de pequeño tamaño. Además, las propiedades de **consistencia en tamaño** se verifican en todos los órdenes de desarrollo.

### 3.3.3. Métodos del funcional de la densidad (DFT, en inglés *Density Functional Theory*)

#### *i. Introducción*

En esta sección se van a describir de forma general los métodos del funcional de la densidad. Las referencias más consultadas para la elaboración de la misma han sido 3, 4, 6, 8 y 9.

Todos los métodos descritos anteriormente buscan la descripción más correcta posible de la función de ondas, tratando de resolver el importante problema de la correlación electrónica. La cuestión está en que los cálculos de este tipo (*ab initio*) son muy costosos y están limitados a tratar sistemas de tamaño medio o relativamente pequeños. Si el sistema a estudiar posee varias decenas de átomos, los métodos *ab initio* suelen ser poco accesibles y esto dio lugar a la búsqueda de alternativas teóricas menos costosas. La teoría **DFT** se basa en describir un sistema considerando su **densidad electrónica**  $\rho(r)$  como una **variable de base**, en lugar de describir a los **n** electrones que contiene el sistema. De esta forma, el problema de **n** electrones se estudia en el espacio de  $\rho(r)$  de dimensión 3 en lugar del espacio de dimensión **3n** de la función de onda  $\psi$ .

La idea es calcular la energía exacta del sistema bajo la forma de una funcional (una función que depende de otra función),  $E_{exacta}[\rho]$ , que a su vez depende de otros funcionales:

$$E_{exacta}[\rho] = T[\rho] + V_{ne}[\rho] + V_{ee}[\rho] \quad (3.34)$$

donde  $T[\rho]$  es la funcional de energía cinética electrónica,  $V_{ne}[\rho]$  es la funcional de interacción potencial núcleo-electrón,  $V_{ee}[\rho] = J[\rho] + K[\rho]$  es la funcional de interacción potencial electrón-electrón, siendo  $J[\rho]$  la funcional de interacción de Coulomb (electrón-electrón) y  $K[\rho]$  la funcional de intercambio.

Hohenberg y Kohn [18] mostraron por el **principio variacional** que  $E[\rho'] \geq E_{exacta}[\rho]$ , de manera similar al método HF. El método de W. Kohn y L.

J. Sham [19] consiste en definir la densidad electrónica  $\rho(r)$  en función de los orbitales moleculares  $\varphi_i(r)$  (mismas funciones de los orbitales atómicos,  $\chi_p$ ):

$$\rho(r) = \sum_{i=1}^n \varphi_i^*(r) \varphi_i(r) \quad (3.35)$$

donde  $n$  es el número de orbitales. La energía total del sistema se puede escribir de la siguiente forma:

$$E[\rho] = \sum_{i=1}^n \left( \int \varphi_i(r) T_e \varphi_i(r) dr + \int V_{ne}(r) \rho(r) dr + \frac{1}{2} \int \rho(r_1) \rho(r_2) r_{12}^{-1} dr_1 dr_2 \right) + E_{XC}[\rho] \quad (3.36)$$

Los tres primeros términos de la ecuación (3.36) representan la energía cinética, sus interacciones con los núcleos y su energía coulombiana. El último término es la energía de **intercambio-correlación**  $E_{XC}[\rho]$  que es la consecuencia de la interacción entre las partículas. La aplicación del principio variacional a las funciones  $\varphi_i(r)$  da las ecuaciones de Kohn-Sham (KS):

$$\hat{h}_i^{KS} \varphi_i(r) = \varepsilon_i^{KS} \varphi_i(r) \quad (3.37)$$

$$\hat{h}_i^{KS} = \left[ T_e + V_{ne} + \int \frac{\rho(r')}{|r - r'|} dr' + V_{XC} \right] \quad (3.38)$$

$$V_{XC} = \frac{\partial E_{XC}[\rho(r)]}{\partial \rho(r)} \quad (3.39)$$

donde  $\hat{h}_i^{KS}$  es el operador de KS,  $\varepsilon_i^{KS}$  es el autovalor asociado al orbital  $\varphi_i(r)$  y  $V_{XC}$  el potencial de intercambio-correlación. La energía total del sistema  $E^{KS}$ , según las ecuaciones de **KS**, está definida por:

$$E^{KS}[\rho] = T^{KS}[\rho] + E_V^{KS}[\rho] + E_J^{KS}[\rho] + E_{XC}^{KS}[\rho] \quad (3.40)$$

donde  $T^{KS}[\rho]$  es el término de energía cinética (movimiento de los electrones),  $E_V^{KS}[\rho]$  es el término de energía potencial electrón-núcleo y núcleo-núcleo,  $E_J^{KS}[\rho]$  es el término de energía coulombiana electrón-electrón y  $E_{XC}^{KS}[\rho]$  es el término de energía de intercambio-correlación.

Las ecuaciones de KS son similares a las HF, donde la densidad electrónica del sistema se obtiene mediante la búsqueda de un determinante de Slater construido con los orbitales  $\varphi_i(r)$ . Los programas **DFT** emplean un método **L.C.A.O.**

ii. Descripción de los funcionales

El mayor desafío es definir correctamente el funcional más adaptado a nuestro sistema, especialmente el funcional de intercambio-correlación  $E^{XC}[\rho]$ , el cual contiene las interacciones que se pueden relacionar con la correlación electrónica de los métodos post-HF. Se han propuesto tres aproximaciones para el cálculo de la energía de intercambio-correlación  $E^{XC}[\rho]$  y algunas variantes que tienen en cuenta correcciones dispersivas y de largo alcance:

a) *Aproximaciones locales o aproximación LDA (Local Density Approximation en inglés)*

El único sistema electrónico que se conoce con soluciones aproximadas de buena calidad es el gas homogéneo cuando el potencial externo es cero. Esta es la aproximación de la densidad local (**LDA**, del inglés *Local Density Approximation*). Consiste en suponer que la densidad  $\rho(r)$  es homogénea, podemos escribir  $E^{XC}[\rho]$  de la siguiente forma:

$$E^{XC}[\rho(r)] = \int \rho(r)\varepsilon^{XC}[\rho(r)]dr \quad (3.41)$$

donde  $\varepsilon^{XC}[\rho(r)]$  es la energía de intercambio-correlación por electrón, se desprecian las fluctuaciones locales de la densidad de las partículas.  $\varepsilon^{XC}[\rho(r)]$  se divide en dos términos: la energía de intercambio  $\varepsilon^X[\rho(r)]$  y la energía de correlación  $\varepsilon^C[\rho(r)]$ . La expresión de Dirac da  $\varepsilon^X[\rho(r)]$  [20]. Para  $\varepsilon^C[\rho(r)]$ , se han llevado a cabo varios enfoques, como por ejemplo el funcional **VWN** (Vosko-Wilk-Nusair) [20]. La mayor parte de los cálculos tienen en cuenta la polarización de espín, y entonces la aproximación local se denomina **LSDA** (del inglés *Local Spin Density Approximation*). A simple vista se puede entender que es una aproximación muy distante de la realidad molecular, donde existen fluctuaciones de la densidad electrónica. Los resultados son, a igual coste, generalmente mejores que los obtenidos con un cálculo HF. Los resultados obtenidos para las moléculas han de ser tratados con prudencia, ya que la densidad electrónica está lejos de ser constante.

b) *Aproximaciones no locales o aproximación NL/LDA (Non-Local/Local Density Approximation en inglés)*

Se denominan métodos **NL/LDA** (del inglés *Non-Local/Local Density Approximation*) [21]. Es una mejora de la anterior, ya que se introducen correcciones de gradientes de la densidad electrónica para tener en cuenta de una manera más correcta la realidad molecular, es decir, que la densidad electrónica no es homogénea. Los funcionales  $\varepsilon^{XC}[\rho(r)]$  dependen de la densidad  $\rho(r)$  y de

sus derivadas. La idea es hacer un desarrollo en gradiente de la densidad. Con estos métodos los resultados son mejores que con LDA.

*c) Funcionales híbridos*

Son métodos mucho más recientes. En este caso la energía potencial de intercambio-correlación se define como una mezcla de una parte **NL/LDA** y una parte de **intercambio HF**. Estos funcionales pueden calcular mejor la energía de intercambio. Los funcionales híbridos contienen un término de intercambio DFT y un término de intercambio exacto (es decir, con el operador de intercambio exacto aplicado sobre los orbitales KS). Los parámetros de la combinación lineal se optimizan para una serie de moléculas, similar a como se hace en los métodos **Gn** (punto 3.3.4.) de Pople. Existen una gran variedad de funcionales, de **intercambio**, de **correlación** o **híbridos (intercambio + correlación)**. En la *Tabla 3.1* se muestran algunos ejemplos.

Entre los funcionales más usados, se pueden resaltar el **B3LYP** [22] o el **M06-2X** [23]. Por ejemplo, el funcional B3LYP define la energía de intercambio-correlación  $E[\rho]_{XC}^{B3LYP}$  de la siguiente forma:

$$E[\rho]_{XC}^{B3LYP} = (1 - a_0)E[\rho]_X^{LSDA} + a_0E[\rho]_X^{HF} + a_X\Delta E[\rho]_X^{B88} + a_C E[\rho]_C^{LYP} \\ (1 - a_C)E[\rho]_C^{VWN} \quad (3.42)$$

donde  $E[\rho]_X^{LSDA}$  es el funcional de intercambio **LSDA**,  $E[\rho]_X^{HF}$  es el funcional de intercambio **HF**,  $\Delta E[\rho]_X^{B88}$  es el funcional de intercambio Becke 88 (**B88**),  $E[\rho]_C^{LYP}$  es el funcional de correlación Lee-Yang-Parr (**LYP**) y  $E[\rho]_C^{VWN}$  es el funcional de correlación **VWN**. Los parámetros  $a_0$ ,  $a_X$  y  $a_C$  se determinan a partir de la experiencia.

*d) Funcionales que incluyen dispersión*

Las interacciones de dispersión se pueden definir empíricamente como la parte atractiva del potencial de interacción tipo Van der Waals entre átomos y moléculas que no están directamente enlazados entre ellos, aunque el término “dispersión” y “van der Waals” a menudo se usan como sinónimos [24]. La inclusión de estas interacciones en las simulaciones teóricas es especialmente importante en el caso de complejos de van der Waals, procesos conformacionales en moléculas (bio)orgánicas y para las energías de reacciones químicas estándar [24].

Algunos de los funcionales que incluyen dispersión son el funcional APFD (Austin-Frisch-Petersson) [25], B97D, B97D3 y wB97XD. B97D y B97D3 son el funcional B97 [26] con los esquemas de **dispersión de Grimme D2** [27] y **D3**

[28], respectivamente, y wB97XD [29] usa una versión del modelo de dispersión D2 de Grimme. Las versiones D2 y D3 de dispersión de Grimme se pueden añadir a una serie de funcionales para los que están definidos usando el paquete de programas Gaussian09. A modo de ejemplo, podemos mencionar para el modelo de dispersión D3 los funcionales BLYP, B3LYP, B3PW91, M05-2X y M06-2X, entre otros.

e) *Funcionales corregidos de largo alcance*

La parte no coulombiana de los funcionales de intercambio desaparece demasiado rápido y llega a ser muy imprecisa a distancias grandes, lo cual los hace inadecuados para modelizar procesos como las excitaciones electrónicas. Para estos casos se han desarrollado varios esquemas. En el paquete de programas Gaussian09 se incluyen una serie de funcionales que tienen en cuenta correcciones de largo alcance:

- **LC-wPBE** es la versión corregida de largo alcance de wPBE [30-32].
- **CAM-B3LYP** es la versión corregida de largo alcance de B3LYP [33].
- **wB97XD** es el último funcional de *Head-Gordon y cols.*, el cual incluye dispersión empírica [29]. Las variaciones wB97 y wB97X también están disponibles [34]. Estos tres funcionales incluyen, asimismo, correcciones de largo alcance.

Además, el prefijo **LC-** se puede añadir a cualquier funcional puro para aplicar la corrección de largo alcance de *Hirao y cols.* [35], por ejemplo, **LC-BLYP**.

Algunos tipos de funcionales				
Intercambio	Correlación	Híbridos	Dispersión	Largo Alcance
Slater ( <b>S</b> )	Vosko-Wilk-Nusair ( <b>VWN</b> )	Becke-Perdew y Becke-Perdew-Wang ( <b>B3P86</b> , <b>B3PW91</b> )	Austin-Frisch-Petersson ( <b>APFD</b> )	Vydrov-Heyd-Scuseria ( <b>LC-wPBE</b> )
Becke 88 ( <b>B88</b> ) Becke 98 ( <b>B98</b> )	Lee-Yang-Parr ( <b>LYP</b> ) Becke 95 ( <b>B95</b> )	Becke-Lee-Yang-Parr ( <b>BLYP</b> , <b>B3LYP</b> )	Grimme ( <b>D2</b> y <b>D3</b> : <b>B97D3</b> , <b>B3LYP-D3</b> , etc.)	Yanai-Tew-Handy ( <b>CAM-B3LYP</b> )
Perdew-Wang 91 ( <b>PW91</b> )	Perdew-Wang 91 ( <b>PW91</b> )	Truhlar-Zhao ( <b>M05</b> , <b>M06</b> , <b>M05-2X</b> , <b>M06-2X</b> , etc.)		Chai-Head-Gordon ( <b>wB97XD</b> )
Perdew-Burke-Ernzerhof ( <b>PBE</b> )	Perdew-Burke-Ernzerhof ( <b>PBE</b> )			

**Tabla 3.1:** Clasificación de los distintos funcionales DFT y algunos ejemplos de los más usados.

Durante la realización de mi tesis, he tenido la oportunidad de utilizar los funcionales B3LYP, B3LYP-D3, B97D y M06-2X. El funcional B3LYP es uno de los más populares, pero tiene más problemas a la hora de definir interacciones no covalentes, que están presentes en muchas de las moléculas estudiadas. En cambio, un funcional más reciente como el M06-2X, parece reproducir mucho mejor las interacciones que tienen lugar en estas moléculas. De hecho, y a diferencia del funcional B3LYP, el funcional M06-2X está altamente parametrizado y contiene términos específicos para el tratamiento de interacciones no covalentes [23,36]. Las moléculas tratadas en esta tesis son moléculas muy flexibles y con presencia de grupos polares en la mayoría de los casos, es decir, con presencia de interacciones no covalentes. Parece razonable pensar, a priori, que el funcional M06-2X reproducirá de forma más correcta la realidad molecular de este tipo de sistemas químicos que el funcional B3LYP. Recientemente se han desarrollado los funcionales B3LYP-D3 [28] y B97D [27], que aportan una corrección dispersiva que puede influir mucho en el cálculo de las propiedades físico-químicas de los sistemas estudiados en esta tesis.

Los métodos **DFT** han tenido mucho éxito por varias razones:

- La investigación y el desarrollo de nuevos funcionales, con rendimientos muy altos, como, por ejemplo, los métodos híbridos.
- Pueden tratarse sistemas moleculares muy grandes.
- Cálculo preciso de estructuras, vibraciones, etc.
- Buena precisión para la descripción de enlaces de hidrógeno y el tratamiento de biomoléculas.
- Buena precisión para el cálculo de las propiedades espectroscópicas.
- La resolución de las ecuaciones **KS** se lleva a cabo con precisión.
- Existen muchos programas que tienen implementados métodos DFT y que, por tanto, permiten su aplicación para llevar a cabo los correspondientes cálculos de estructuras/geometrías, propiedades, espectros moleculares, etc., como, por ejemplo: Gaussian, Molpro, Turbomole, etc.

La calidad de los resultados (en términos de estructura y, dependiendo del caso, energía) es similar a los cálculos **post-Hartree-Fock** (MP2), con un tiempo de cálculo mucho menor, debido a que este aumenta con  $N^4$ , donde  $N$  es el número de funciones de base, de forma similar al método **HF**.

### 3.3.4. Métodos de cálculo de energías relativas

#### *i. Introducción*

El cálculo preciso de las energías relativas es indispensable para el análisis experimental de las estructuras, especialmente si estas son altamente flexibles, pues el número de conformeros que podemos detectar experimentalmente puede ser elevado. En este caso, el análisis experimental puede ser muy complicado y tenemos que saber cuáles son los conformeros más estables del sistema.

Dentro de la filosofía de los cálculos químico-cuánticos para la determinación teórica de estructuras y propiedades moleculares, se han desarrollado varios métodos para tratar de conseguir la optimización de las energías relativas de dichas estructuras, entre los que señalaremos algunos de los considerados como más importantes, como son los métodos:

- a) CBS (*Completed Basis Set*)
- b) Gaussian-*n*:
  - Gaussian-1: G1
  - Gaussian-2: G2 y G2MP2
  - Gaussian-3: G3, G3MP2, G3B3 y G3MP2B3
  - Gaussian-4: G4 y G4MP2Coste computacional menor que W<sub>n</sub> y HEAT.
- c) W<sub>n</sub> (*n=1,2,3,4*)
- d) HEAT (*High Accuracy Extrapolated Ab initio Thermochemistry*)

Dichos métodos constituyen un procedimiento sistemático para calcular las energías relativas de una conformación (entre otras propiedades), con una precisión del orden de la kcal/mol (o incluso del kJ/mol para algunos casos) en el mejor de los casos. Todos estos métodos se basan en el mismo principio, la estructura y la energía molecular se calculan con un método de cálculo (generalmente *ab initio*) relativamente avanzado de los referidos en los apartados anteriores (MP<sub>n</sub> o CC) con una pequeña base (como 6-31G(d), por ejemplo). Estos métodos suponen que los efectos de las bases más grandes son aditivos, entonces podemos hacer una serie de correcciones de alto nivel con bases más grandes. La energía total viene dada por la suma de la energía de partida más una serie de correcciones. El cálculo de las energías absolutas es mucho más complicado y no se va a abordar en esta tesis. Si asumimos que los errores que se cometen en el cálculo de la energía de cada conformero de una determinada estructura de una especie química concreta son comparables, la diferencia entre dos energías calculadas para esa estructura va a compensar los referidos errores y,

por tanto, la energía de la misma será supuestamente calculada de manera correcta [3,4,9,37,38].

*ii. Descripción de los métodos empleados*

En esta tesis se han empleado los métodos *Gaussian-n*, **G3** [37] y **G4** [38], los cuales se componen de una serie de cálculos *ab initio* que dan como resultado un valor muy preciso de la energía molecular. Los pasos que se llevan a cabo en la **metodología G3** pueden resumirse en los siguientes:

1. Cálculo de una estructura de **equilibrio inicial** al nivel HF/6-31G(d).
2. Esta estructura de equilibrio se usa para el cálculo de las **frecuencias armónicas**, las cuales son escaladas multiplicándolas por un factor de 0,8929. Estas frecuencias nos proporcionan el valor de corrección de la energía del punto cero, E(ZPE).
3. Se calcula una **nueva estructura de equilibrio** al nivel MP2(full)/6-31G(d), donde todos los electrones están correlacionados. Esta es la estructura final que se usa para los cálculos del paso 4.
4. Se llevan a cabo una serie de cálculos de la **energía** de correlación mediante *single point*. El primero es el cálculo de la energía a un nivel muy alto, MP4/6-31G(d), y modificarla entonces con una serie de correcciones:

- a) Corrección de las **funciones difusas**:

$$\Delta E(+) = E[MP4/6 - 31 + G(d)] - E[MP4/6 - 31G(d)] \quad (3.43)$$

- b) Corrección de las **funciones polarizadas** para todos los átomos:

$$\Delta E(2df, p) = E[MP4/6 - 31G(2df, p)] - E[MP4/6 - 31G(d)] \quad (3.44)$$

- c) Corrección de la **correlación electrónica residual**:

$$\Delta E(QCI) = E(QCISD(T)/6 - 31G(d)) - E(MP4/6 - 31G(d)) \quad (3.45)$$

- d) Corrección de los **efectos de base**:

$$\Delta E(G3large) = E(MP2(full)/G3large) - E(MP2/6 - 31G(2df, p)) - E(MP2/6 - 31 + G(d)) + E(MP2/6 - 31G(d)) \quad (3.46)$$

5. **Corrección espín-órbita** para las especies atómicas solamente:

$$E(combined) = E[MP4/6 - 31G(d)] + \Delta E(+) + \Delta E(2df, p) + \Delta E(QCI) + \Delta E(G3large) + \Delta E(SO) \quad (3.47)$$

6. Corrección de **alto nivel**. Es una corrección realizada sobre los electrones  $\alpha$  y  $\beta$  para las moléculas (coeficientes A y B) y los átomos (coeficientes C y D):

$$E(HLC) = An_{\alpha} + Bn_{\beta} \quad (3.48) \qquad E(HLC) = Cn_{\alpha} + Dn_{\beta} \quad (3.49)$$

Los valores de todos los coeficientes se encuentran en la *Tabla 3.2*. Así, la energía  $E_e(G3)$  queda de la forma:

$$E_e(G3) = E(combined) + E(HLC) \quad (3.50)$$

7. Finalmente, la energía total del sistema atómico-molecular estudiado se obtiene sumando  $E(ZPE)$  obtenida en el paso 2 a  $E_e(G3)$ :

$$E(G3) = E_e(G3) + E(ZPE) \quad (3.51)$$

Los pasos que se llevan a cabo en la metodología G4 son similares a los de la metodología G3, pero se incluyen una serie de modificaciones. A continuación se detallan los pasos de la metodología **G4**:

1. Cálculo de una estructura de **equilibrio inicial** al nivel B3LYP/6-31G(2df,p).
2. Esta estructura de equilibrio se usa para el cálculo de las **frecuencias armónicas**, las cuales son escaladas multiplicándolas por un factor de 0,9854. Estas frecuencias nos proporcionan del valor de corrección de la energía del punto cero,  $E(ZPE)$ .
3. Se calcula la **energía límite HF** usando un esquema de extrapolación lineal de dos puntos y la base de Dunning aug-cc-pVnZ.

$$E_{HF/aug-cc-pVnZ} = E_{HF/limit} + Be^{-\alpha n} \quad (3.52)$$

donde  $n$  es el número de contracciones en la capa de valencia de la base de cálculo y  $\alpha$  es un parámetro ajustable. Esta ecuación nos da un conjunto de dos ecuaciones lineales con dos incógnitas desconocidas a partir de las cuales la energía límite HF puede determinarse analíticamente, en la forma:

$$E_{HF/limit}(n, n + 1) = \frac{E_{HF/n+1} - E_{HF/n}e^{-\alpha}}{1 - e^{-\alpha}} \quad (3.53)$$

Se investigaron varios pares de valores  $(n, n + 1)$  y de  $\alpha$  y se encontró que calcular  $E_{HF/limit}$  usando el par  $n = 4, n + 1 = 5$  (bases aug-cc-pVQZ y aug-cc-pV5Z) y  $\alpha = 1,63$  daba valores de la energía casi convergentes para un conjunto de moléculas grandes desde el test de ajuste G3/05.

4. Al igual que en G3, se llevan a cabo una serie de cálculos de la **energía** de correlación mediante *single point*. El primero es también el cálculo de la energía a un nivel muy alto, MP4/6-31G(d), y modificarla entonces con una serie de correcciones:

a) Corrección de las **funciones difusas** y b) Corrección de las **funciones polarizadas** para todos los átomos: mismas ecuaciones que en metodología G3, esto es, (3.43) y (3.44).

c) Corrección de la **correlación electrónica residual**:

$$\Delta E(CC) = E(CCSD(T)/6 - 31G(d)) - E(MP4/6 - 31G(d)) \quad (3.54)$$

d) Corrección de los **efectos de base**:

$$\begin{aligned} \Delta E(G3largeXP) = \\ E(MP2(full)/G3largeXP) - E(MP2/6 - 31G(2df, p)) \\ - E(MP2/6 - 31 + G(d)) + E(MP2/6 - 31G(d)) \end{aligned} \quad (3.55)$$

5. **Corrección espín-órbita** para las especies atómicas y para las moleculares con correcciones de primer orden. También se incluye una corrección para el límite HF (paso 4):

$$\begin{aligned} E(combined) = E[MP4/6 - 31G(d)] + \Delta E(+) + \Delta E(2df, p) + \Delta E(CC) \\ + \Delta E(G3largeXP) + \Delta E(HF) + \Delta E(SO) \end{aligned} \quad (3.56)$$

$$\Delta E(HF) = E_{HF/limit} - E_{HF/G3largeXP} \quad (3.57)$$

6. Corrección de **alto nivel**. Es una corrección realizada sobre los electrones  $\alpha$  y  $\beta$  para las moléculas (coeficientes A, A', B y E) y los átomos (coeficientes C, D y E). Se emplean expresiones similares a las ecuaciones (3.48) y (3.49). Los valores de todos los coeficientes se encuentran en la *Tabla 3.2*. La energía queda de la forma:

$$E_e(G4) = E(combined) + E(HLC) \quad (3.58)$$

7. Finalmente, la energía total se obtiene sumando  $E(ZPE)$  obtenida en el paso 2 a  $E_e(G4)$ :

$$E(G4) = E_e(G4) + E(ZPE) \quad (3.59)$$

A veces, el tamaño del sistema no permite el uso de los métodos G3 o G4 “puros”. Para reducir el coste computacional, algunas etapas se reducen lográndose una precisión similar a la de los métodos G3 o G4. Como ejemplo voy a mostrar las variedades de la metodología G3:

- **G3B3**: Se emplea una geometría de referencia B3LYP/6-31G(d) en lugar de MP2(full)/6-31G(d), que es la usada en el método G3. La

energía ZPE se calcula también al nivel B3LYP/6-31G(d), en lugar de con HF/6-31G(d). El resto del cálculo es similar a G3.

- **G3MP2**: La metodología del cálculo es similar a la del método G3, con la diferencia de que en el punto del cálculo de la energía donde el método G3 utiliza un cálculo de energía al nivel **MP4**, aquí se reemplaza por el nivel **MP2**.
- **G3MP2B3**: Se emplea una geometría de referencia B3LYP/6-31G(d) en lugar de MP2(full)/6-31G(d), que es la usada en el método G3. La energía ZPE se calcula también al nivel B3LYP/6-31G(d), en lugar de con HF/6-31G(d). Otra diferencia es que los cálculos de energía al nivel MP4 en G3, aquí son reemplazados por B3LYP. El resto del cálculo es similar al método G3.

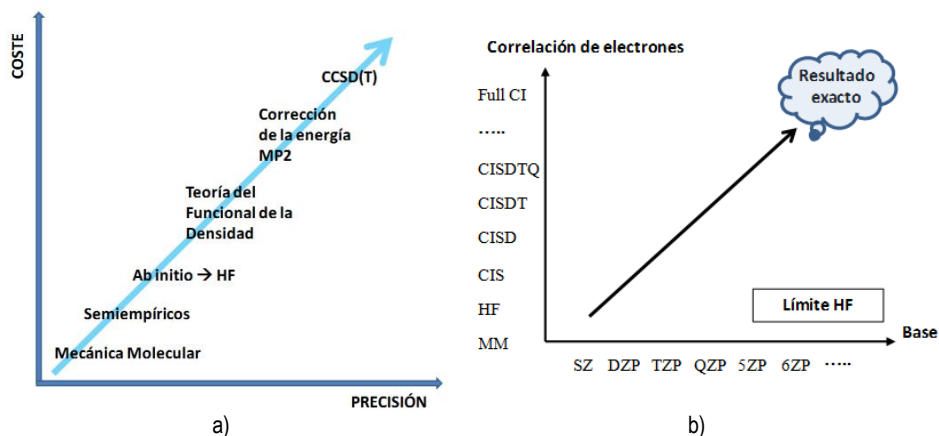
	<b>G3</b>	<b>G4</b>
<b>Geometría</b>	MP2(full)/6-31G(d)	B3LYP/6-31G(2df,p)
<b>Energía límite HF</b>	-	$E_{\text{HF/aug-cc-pVQZ}}$ y $E_{\text{HF/aug-cc-pv5Z}}$ con $\alpha: 1,63$
<b>Energías</b>	MP4(FC)/6-31G(d) MP4(FC)/6-31+G(d) MP4(FC)/6-31G(2df,p) QCISD(T,FC)/6-31G(d) MP2(full)/G3large	MP4(FC)/6-31G(d) MP4(FC)/6-31+G(d) MP4(FC)/6-31G(2df,p) CCSD(T,FC)/6-31G(d) MP2(full)/G3largeXP
<b>Corrección espín-órbita (<math>\Delta\text{SO}</math>)</b>	Especies atómicas	Especies atómicas y para las moleculares con correcciones de primer orden
<b>Corrección de alto nivel (HLC)</b>	A: 6,386 B: 2,977 C: 6,219 D: 1,185	A: 6,947 B: 2,441 C: 7,116 D: 1,414 A': 7,128 E: 2,745
<b>Energía del punto cero (ZPE)</b>	HF/6-31G(d)	B3LYP/6-31G(2df,p)

**Tabla 3.2:** Comparación detallada de las metodologías G3 y G4.

### 3.3.5. Precisión del método y tamaño de la base

Recordemos que el método de cálculo trata la correlación electrónica del sistema, mientras que la base empleada determina el área de movimiento de los electrones. Por ello, es muy importante la elección de ambos. Hay que buscar una **solución de compromiso** entre el tiempo de cálculo y una buena descripción del área de movimiento de los electrones, es decir, entre el método empleado y la base [3,4]. Para cada método, hay una base óptima, ya que existe una compensación de errores. Por ejemplo, la base más adecuada para un método HF es VDZ, mientras que para un CCSD(T) es una base VQZ. En la siguiente figura (*Fig. 3.5*) se puede observar cómo están relacionados el coste y la

precisión de los distintos métodos computacionales (izquierda) y el método empleado y la base (derecha) [3].



**Figura 3.5:** a) Relación entre coste y precisión en los distintos métodos computacionales y b) Relación entre el método y la base empleada.

A continuación, vamos a plantear de una forma genérica las metodologías seguidas en los estudios teóricos llevados a cabo para los sistemas químicos abordados a lo largo de los trabajos de esta tesis, que han dependido (fundamentalmente) de los tamaños mediano o mediano a grande de los mismos:

### 1) Sistemas de tamaño mediano

Para los sistemas de tamaño mediano, que contienen unas pocas decenas de átomos, se ha utilizado un modelo teórico mucho menos sofisticado que el que se acostumbra a usar para los sistemas pequeños. Para estos últimos, los métodos Coupled Cluster (CCSD, CCSD(T), etc., si se trata de sistemas moleculares con sólo unos pocos átomos) o Møller-Plesset (MP2, MP3, etc., de menor coste computacional que los anteriores, pero en los que el mismo aumenta de manera considerable al hacerlo el tamaño de los sistemas tratados), pueden ofrecer resultados altamente precisos.

Así, para el tratamiento de sistemas de tamaño mediano, los métodos DFT están llegando a alcanzar una gran popularidad y éxito de aplicación. Esto es debido a que, aunque reproducen peor, en general, que los post-HF (CC o MPn) la energía molecular [36], pueden llegar a tratar razonablemente bien (con un coste computacional mucho más bajo que ellos e incluso comparable a los HF) las interacciones de largo alcance de tales tipos de sistemas, sobre todo cuando las interacciones están dominadas por un componente electrostático de la energía, más que por un componente de dispersión de la misma [36]. Aunque

actualmente se están utilizando y desarrollando funcionales que mejoran el tratamiento de las interacciones dispersivas y de largo alcance.

Una alternativa muy satisfactoria, en aquellas ocasiones que es posible, es el uso de una estrategia combinada, esto es, el uso de métodos **DFT** para una optimización de la estructura seguido por un cálculo de energía al nivel **MP2**.

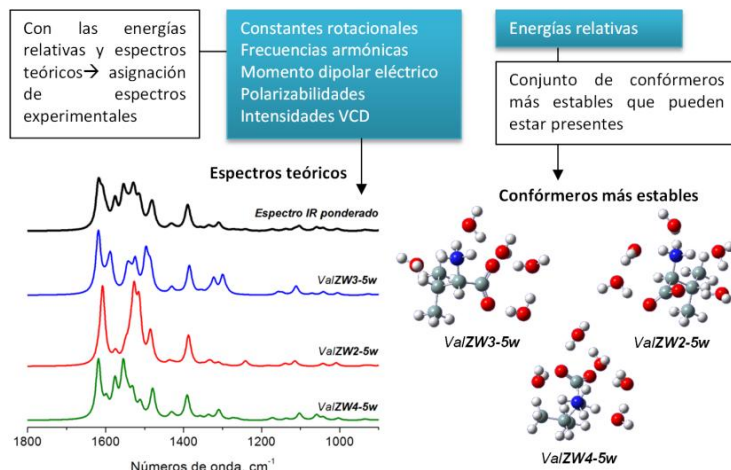
Como se ha comentado en el subapartado *ii.d*) del punto 3.3.3., a comienzos de la presente década Grimme desarrolló los modelos de dispersión **D2** [27] y **D3** [28] que se pueden añadir a una serie de funcionales DFT para los que están definidos. En nuestro caso hemos empleado el funcional **B3LYP-D3**, que considera interacciones dispersivas de largo alcance y cuyo uso ha sido aplicado con éxito en este trabajo para el estudio teórico de la molécula de óxido de limoneno, obteniéndose energías relativas similares a las obtenidas con las metodologías G3 o G4 (ver subapartado *ii.b*) del punto 5.3.3. del capítulo 5).

A continuación se va a mostrar la metodología general de cálculo seguida con éxito en el estudio de las diferentes moléculas de tamaño medio estudiadas en esta tesis [39-47].

1. Búsqueda conformacional dependiendo del tamaño del sistema: DM (Dinámica molecular), **MM** (Mecánica Molecular), escaneo de la PES.
2. Primera estructura  $\rightarrow$  HF/3-21G(d), B3LYP/6-31G(d) o B3LYP/6-31+G(d) para cada confórmero.
3. Campos de fuerza armónicos y otros parámetros espectroscópicos  $\rightarrow$  **DFT** (B3LYP y M06-2X, por ejemplo), y las bases 6-311++G(d,p), 6-311++G(2df,p), aug-cc-pVnZ ( $n=D, T$ ).
4. Comparación con el método **MP2** (o MP4) si fue posible.
5. **Energías relativas**  $\rightarrow$  G3, G4, MP2(full)/6-311++G(3df,2p) o MP2/aug-cc-pVTZ *single point*.
6. Cálculos en presencia de diferentes disolventes (**IEF-PCM**) (H<sub>2</sub>O, CCl<sub>4</sub>, CHCl<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, DMSO).

La presencia de los distintos disolventes ha sido incluida con dos modelos de hidratación implícitos, IEF-PCM [48] implementado en Gaussian 09 [1] y SM8 en Spartan 08 [2], y de forma **explícita** en el caso de *L*-valina, *D*-ribosa, 2-deoxi-*D*-ribosa, glicolaldehído y pulegona.

Con esta metodología se calcularon, por ejemplo, el conjunto de confórmeros más estables y los espectros teóricos de las diferentes especies químicas estudiadas, como aquellos de la forma zwitteriónica del aminoácido *L*-valina, tal y como se muestra en la *Fig. 3.6*.



**Figura 3.6:** Esquema en el que se ilustra el proceso teórico seguido en la obtención de los conformeros más estables y sus correspondientes espectros para una determinada especie química de tamaño medio de las estudiadas en este trabajo, tomando como ejemplo concreto el caso de la forma zwitteriónica del aminoácido *L*-valina. Cálculos llevados a cabo al nivel teórico M06-2X/6-311++G(d,p).

NOTA: Con las energías relativas se calculan las poblaciones de Boltzmann de cada conformero ( $T=298,16$  K) y se pondera el espectro como contribución de las formas *ValZW3-5w*, *ValZW2-5w* y *ValZW4-5w*.

Para el cálculo de una estructura de equilibrio y de los parámetros espectroscópicos de interés, los resultados se obtienen con un nivel de cálculo bajo, como HF/3-21G(d), con una precisión del 5%. Para un resultado mejor (con una precisión de alrededor de 1%), podemos aplicar los métodos B3LYP o M06-2X con bases totalmente accesibles, tales como 6-31G(d), 6-311++G(d,p), 6-311G++(2df,p) y VTZ, si es posible. Cuando una molécula tiene diferentes conformaciones, es muy importante conocer la energía relativa de las conformaciones y la barrera de potencial (para movimientos de gran amplitud) con una precisión del orden del kJ/mol. Para las moléculas medianas, un método G3 o G4 da resultados consistentes para la energía, siendo esta una opción en muchos casos accesible. Y gracias a la compensación de los errores, un cálculo *single point* MP2/6-311++G(3df,2p) suele dar buenos resultados. Por lo tanto, podemos calcular una estructura al nivel DFT y calcular la energía al nivel MP2/6-311++G(3df, 2p) o VQZ [3,4].

## 2) Sistemas de tamaño medio-grande

Para el estudio de los sistemas de tamaño medio-grande, el método MP2 no es generalmente accesible, por lo que se han empleado métodos **DFT** (B3LYP y/o M06-2X) con bases relativamente pequeñas, como 6-31G(d) o 6-31+G(d), en el caso de los compuestos derivados de la familia del 1*H*-indazol [49-51], 2-

propil-1*H*-benzimidazol o 1*H*-benzotriazol y con bases grandes como 6-311++G(d,p) para el estudio de los complejos formados entre el éter corona 18c6H<sub>4</sub> y los enantiómeros de los aminoácidos Ser [52] y Cys. En el caso de los primeros, el objetivo fue la determinación de la configuración absoluta de los conglomerados formados en la estructura cristalina.

Para ello, el procedimiento seguido para modelizar los oligómeros de estos compuestos (desde dímeros hasta decámeros) fue fijar las posiciones de todos los átomos, a excepción del hidrógeno, a las posiciones determinadas por rayos-X y optimizar entonces solo las posiciones de los hidrógenos, resultando ser esta una metodología más que satisfactoria para el logro del objetivo perseguido.

En el caso de los complejos formados entre el éter corona 18c6H<sub>4</sub> y los aminoácidos (*L/D*-SerH<sup>+</sup> o *L/D*-CysH<sup>+</sup>), el objetivo fue, por un lado, modelizar los confórmeros más estables y, por otro, estudiar la posible selectividad quiral del éter corona por uno de los dos enantiómeros de cada aminoácido. Para ello, fue necesario emplear bases más grandes que reprodujeran mejor el área de movimiento de los electrones.

En los capítulos 5 y 6 se detalla la metodología teórica indicada anteriormente para cada familia de moléculas.

### 3.4. Referencias

- 
- [1] M. J. Frisch *y cols.*, Gaussian 09, Revision D.01, Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2013.
  - [2] Spartan'08 for Linux, Wavefunction Inc.
  - [3] W. J. Henre, *A Guide to Molecular Mechanics and Quantum Chemical Calculations*, SPARTAN '08, Wavefunction Inc., Irvine CA, 2009.
  - [4] C. J. Cramer, *Essentials of Computational Chemistry. Theories and Models*, Wiley, Chichester, 2015.
  - [5] I. N. Levine, *Química Cuántica*, 5ª Edición, Pearson Educación, S. A., Madrid 2001.
  - [6] J. B. Foresman, A. Frisch, *Exploring Chemistry with Electronic Structure Methods*, Gaussian Inc., Pittsburgh, 1996.
  - [7] T. Helgaker, P. Jørgensen, J. Olsen, *Molecular electronic structure theory*, Wiley, Chichester, 2002.
  - [8] P. Jensen, P. R. Bunker, *Computational molecular spectroscopy*, Wiley, Chichester, 2000.

- 
- [9] Juan Ramón Avilés Moreno, *Flexibilité conformationnelle dans les amines, les sucres et leurs complexes hydratés étudiée par spectroscopie à impulsions microondes et calculs de chimie quantique*, Tesis doctoral, Université des Sciences et Technologies de Lille, U.F.R. de Physique, 2006.
- [10] C. C. J. Roothan, *Rev. Mod. Phys.* **23**, 69–89 (1951).
- [11] J. A. Pople, P. K. Nesbet, *J. Chem. Phys.* **22**, 571–572 (1954).
- [12] J. C. Slater, *Phys. Rev.* **36**, 57–64 (1930).
- [13] S. F. Boys, *Proc. Roy. Soc. (London)* **200**, 542–554 (1950).
- [14] Jr. T. H. Dunning, *J. Chem. Phys.* **90**, 1007–1023 (1989).
- [15] R. C. Raffenet, *Chem. Phys. Lett.* **20**, 335–338 (1973).
- [16] M. Head-Gordon, J. A. Pople, *J. Chem. Phys.* **89**, 5777–5786 (1988).
- [17] C. Møller, M. S. Plesset, *Phys. Rev.* **46**, 618–622 (1934).
- [18] P. Hohenberg, W. Kohn, *Phys. Rev.* **136**, B864–B871 (1964).
- [19] W. Kohn, L. J. Sham, *Phys. Rev.* **140**, A1133–A1138 (1965).
- [20] S. H. Vosko, L. Wilk, M. Nusair, *Can. J. Phys.* **58**, 1200–1211 (1980).
- [21] D. C. Langreth, M. J. Mehl, *Phys. Rev. B* **28**, 1809–1834 (1983).
- [22] P. J. Stevens, F. J. Devlin, C. F. Chablowski, M. J. Frisch, *J. Phys. Chem.* **98**, 11623–11627 (1994).
- [23] Y. Zhao, D. G. Truhlar, *Theor. Chem. Acc.* **120**, 215–241 (2008).
- [24] S. Grimme, *Wiley Interdiscip. Rev. Comput. Mol. Sci.* **1**, 211–228 (2011).
- [25] A. Austin, G. Petersson, M. J. Frisch, F. J. Dobek, G. Scalmani, K. Throssell, *J. Chem. Theory Comput.* **8**, 4989–5007 (2012).
- [26] A. D. Becke, *J. Chem. Phys.* **107**, 8554–8560 (1997).
- [27] S. Grimme, *J. Comp. Chem.* **27**, 1787–1799 (2006).
- [28] S. Grimme, J. Antony, S. Ehrlich, H. Krieg, *J. Chem. Phys.* **132**, 154104 (2010).
- [29] J. -D. Chai, M. Head-Gordon, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **10**, 6615–6620 (2008).
- [30] O. A. Vydrov, G. E. Scuseria, *J. Chem. Phys.* **125**, 234109 (2006).
- [31] O. A. Vydrov, J. Heyd, A. Krukau, G. E. Scuseria, *J. Chem. Phys.* **125**, 074106 (2006).
-

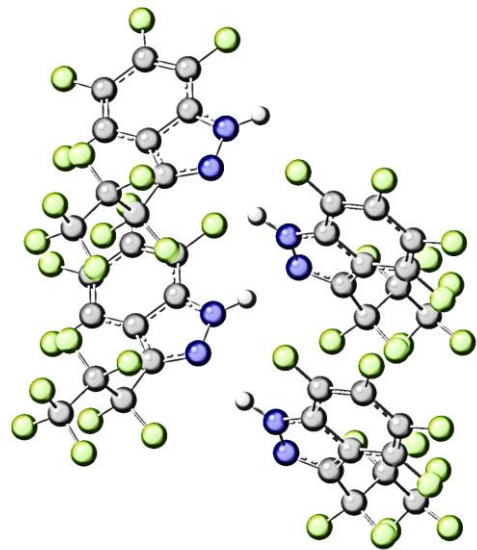
- [32] O. A. Vydrov, G. E. Scuseria, J. P. Perdew, *J. Chem. Phys.* **126**, 154109 (2007).
- [33] T. Yanai, D. Tew, N. Handy, *Chem. Phys. Lett.* **393**, 51–57 (2004).
- [34] J. -D. Chai, M. Head-Gordon, *J. Chem. Phys.* **128**, 084106 (2008).
- [35] H. Iikura, T. Tsuneda, T. Yanai, K. Hirao, *J. Chem. Phys.* **115**, 3540–3544 (2001).
- [36] S. N. Steinmann, C. Piemontesi, A. Delachat, C. Corminboeuf, *J. Chem. Theory Comput.* **8**, 1629–1640 (2012).
- [37] L. A. Curtiss, K. Raghavachari, P. C. Redfern, V. Rassolov, J. A. Pople, *J. Chem. Phys.* **109**, 7764–7776 (1998).
- [38] L. A. Curtiss, P. C. Redfern, K. Raghavachari, *J. Chem. Phys.* **126**, 084108 (2007).
- [39] J. R. Avilés-Moreno, M. M. Quesada-Moreno, F. Partal Ureña, J. J. López González, *Tetrahedron: Asymmetry* **23**, 1084–1092 (2012).
- [40] M. M. Quesada-Moreno, J. R. Avilés-Moreno, A. Á. Márquez-García, F. Partal-Ureña, J. J. López González, *J. Mol. Struct.* **1046**, 136–146 (2013).
- [41] M. M. Quesada-Moreno, A. Á. Márquez-García, J. R. Avilés-Moreno, J. J. López-González, *Tetrahedron: Asymmetry* **24**, 1537–1547 (2013).
- [42] M. M. Quesada-Moreno, J. R. Avilés-Moreno, A. Á. Márquez-García, J. J. López González, *J. Mol. Model.* **20**, 2229 (2014).
- [43] M. M. Quesada-Moreno, J. R. Avilés-Moreno, J. J. López González, *Tetrahedron: Asymmetry* **26**, 1314–1327 (2015).
- [44] M. M. Quesada-Moreno, L. M. Azofra, J. R. Avilés-Moreno, I. Alkorta, J. Elguero, J. J. López-González, *J. Phys. Chem. B* **117**, 14599–14614 (2013).
- [45] L. M. Azofra, M. M. Quesada-Moreno, I. Alkorta, J. R. Avilés-Moreno, J. J. López-González, J. Elguero, *New J. Chem.* **38**, 529–538 (2014).
- [46] L. M. Azofra, M. M. Quesada-Moreno, I. Alkorta, J. R. Avilés-Moreno, J. Elguero, J. J. López-González, *ChemPhysChem* **16**, 2226–2236 (2015).
- [47] M. M. Quesada-Moreno, D. Loru, J. R. Avilés-Moreno, N. Jarman, T. R. Huet, J. J. López-González, M. E. Sanz, *ChemPhysChem* aceptado Noviembre 2016, DOI 10.1002/cphc.201600991R1.
- [48] J. Tomasi, B. Mennucci, R. Cammi, *Chem. Rev.* **105**, 2999–3093 (2005).

- [49] J. R. Avilés-Moreno, M. M. Quesada-Moreno, J. J. López-González, R. M. Claramunt, C. López, I. Alkorta, J. Elguero, *ChemPhysChem* **14**, 3355–3360 (2013).
- [50] M. M. Quesada-Moreno, J. R. Avilés-Moreno, J. J. López-González, R. M. Claramunt, C. López, I. Alkorta, J. Elguero, *Tetrahedron: Asymmetry* **25**, 507–515 (2014).
- [51] M. M. Quesada-Moreno, J. R. Avilés-Moreno, J. J. López-González, K. Jacob, L. Vendier, M. Etienne, I. Alkorta, J. Elguero, R. M. Claramunt, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **19**, 1632–1643 (2017).
- [52] J. R. Avilés-Moreno, M. M. Quesada-Moreno, J. J. López-González, B. Martínez-Haya, *J. Phys. Chem. B* **117**, 9362–9370 (2013).



## 4. DISPOSITIVOS EXPERIMENTALES

---





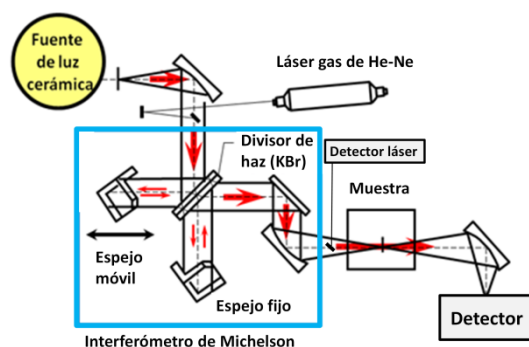
## 4. DISPOSITIVOS EXPERIMENTALES

En este capítulo se describen los dispositivos experimentales que se han empleado para llevar a cabo la realización de esta tesis, los cuales se encuentran disponibles en el Centro de Instrumentación Científico-Técnica (CICT) de la Universidad de Jaén. Para cada uno de ellos, se especificarán las partes que lo componen, las condiciones experimentales en las que se han llevado a cabo las medidas correspondientes, la preparación de la muestra y la metodología seguida.

### 4.1. Espectrómetro Infrarrojo con Transformada de Fourier (FT-IR)

#### 4.1.1. Partes del equipo

Para el registro de espectros infrarrojos de muestras **sólidas** (polvo o cristales) o en **disolución** se empleó un espectrómetro infrarrojo con transformada de Fourier Vertex 70, de la casa comercial Bruker, con todos los componentes necesarios para trabajar en las regiones espectrales IR cercano (**NIR**, *Near Infrared* en inglés), medio (**MIR**, *Mid Infrared* en inglés) o lejano (**FIR**, *Far Infrared* en inglés). Al comienzo de la tesis, también se usó un FT-IR 4100 de la marca comercial Jasco. A continuación, vamos a ver cada una de las partes que componen un FT-IR en general y, más concretamente, del FT-IR Bruker Vertex 70, pues ha sido el que más se ha usado en el conjunto del desarrollo de este trabajo de tesis y, además, su esquema engloba al de cualquier otro equipo más simple, como es el caso del modelo 4100 de Jasco. En la *Fig. 4.1* se muestra el esquema básico de las diferentes partes de un espectrómetro infrarrojo con transformada de Fourier.

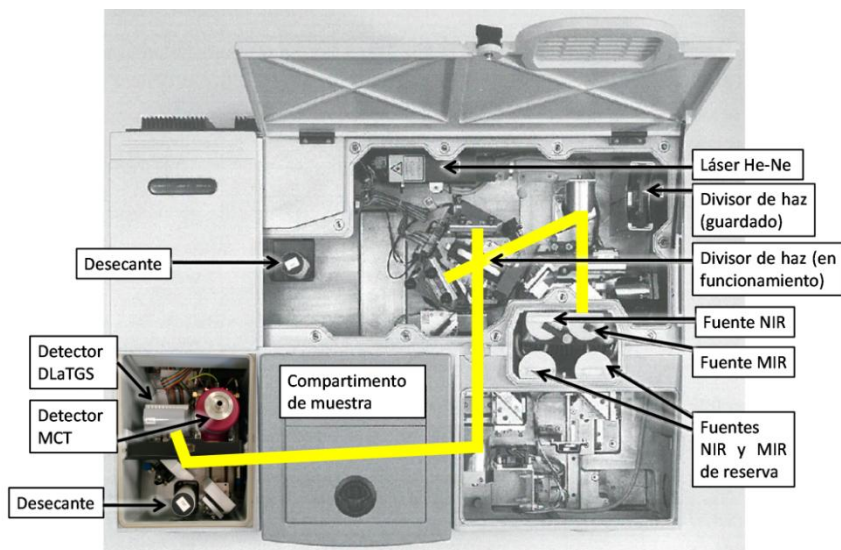


**Figura 4.1:** Esquema básico de un espectrómetro infrarrojo con transformada de Fourier (FT-IR). Imagen tomada de la referencia 1 y convenientemente modificada.

#### i. Fuente de luz

En este equipo se encuentran disponibles dos tipos de fuentes de luz: i) una cerámica de radiación infrarroja **Globar**, que al ser calentada emite una radiación que cubre el rango IR medio y lejano; ii) una lámpara halógena de **tungsteno**,

con la cual podemos acceder al rango del infrarrojo cercano y al visible. Ambas se encuentran refrigeradas por aire, pre-alineadas y se seleccionan automáticamente desde el software [2]. En esta tesis se ha hecho uso solamente de la fuente Global, ya que en nuestros estudios únicamente se han analizado las regiones media y lejana y, por tanto, sólo se han registrado los espectros de los diferentes sistemas químicos estudiados en estas zonas.



**Figura 4.2:** Componentes internos del espectrómetro FT-IR Bruker Vertex 70. Se ha marcado el camino óptico que recorre la radiación IR en amarillo. Figura tomada de la referencia 2, modificada convenientemente para indicar los distintos componentes.

### ii. Láser de referencia Helio-Neón

Este haz láser de luz monocromática **visible** se hace pasar a través del interferómetro de Michelson junto con la radiación policromática IR, para controlar la **posición** de los **espejos** del interferómetro durante el escaneo o barrido y para determinar el intervalo de **muestreo** del **interferograma** de infrarrojos [2]. En lugar de la posición de los espejos, técnicamente es más correcto referirnos a la diferencia de camino óptico que la luz experimenta en los dos brazos del interferómetro (desde el divisor de haz a cada uno de los dos espejos) [2,3]. Cuando el retardo es un múltiplo impar de la semilongitud de onda, el láser origina una interferencia destructiva. Estos ceros de la señal del láser se emplean para controlar dicho muestreo y se observan con un detector fotodiodo [4]. El interferómetro modula el haz monocromático producido por este láser para generar una señal sinusoidal [2].

Los láseres de Helio-Neón comerciales emiten radiación monocromática a una longitud de onda de 632.8 nm (región del visible) [2]. Como la longitud de

onda del láser He-Ne es muy estable y se conoce con exactitud, los datos se adquieren a unas diferencias de camino óptico muy precisas [3].

### iii. Interferómetro de Michelson y transformada de Fourier

En 1881 Albert Michelson diseñó el dispositivo denominado interferómetro, con el cual, junto a Morley (en 1887), llevó a cabo el experimento denominado de “Michelson-Morley”, con el que demostraron que la velocidad de la luz es independiente del movimiento de la fuente y del observador. Este experimento crucial llevó posteriormente a Einstein a formular la teoría de la relatividad. Michelson también utilizó el interferómetro para crear el predecesor del patrón actual de la magnitud longitud, basado en la longitud de onda de la luz. Recibió el premio Nobel en 1907 “por sus instrumentos ópticos de precisión y las investigaciones espectroscópicas y metrológicas realizadas con su ayuda” [4].

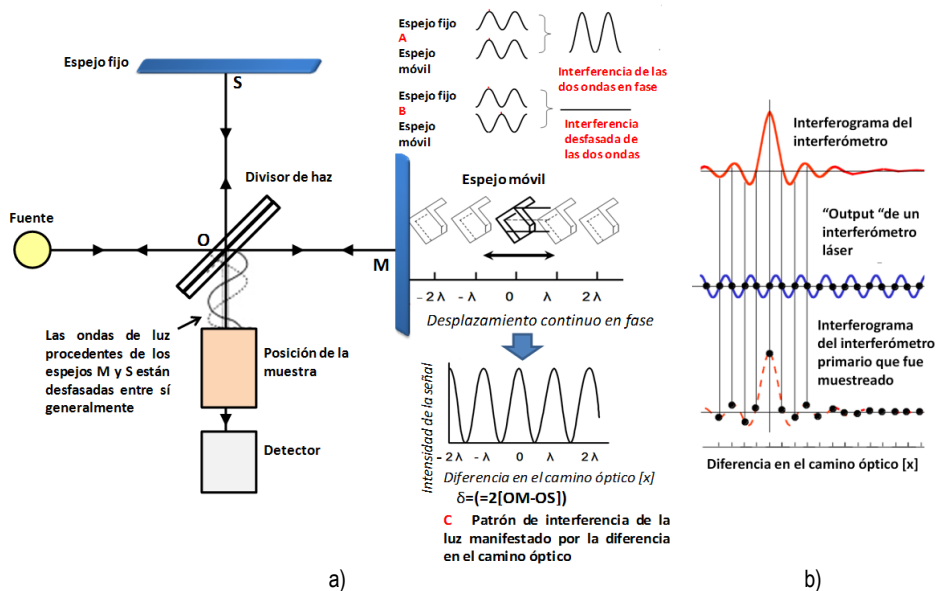
El interferómetro de Michelson (*panel a* de la *Fig. 4.3*) es el elemento central de un espectrómetro infrarrojo con transformada de Fourier. La radiación que ha suministrado la fuente IR incide sobre un **divisor de haz**, el cual **transmite** parte de la luz incidente y **refleja** otra parte de ella. Vamos a considerar que la radiación que llega al divisor de haz es monocromática y que, por simplicidad, este dispositivo refleja la mitad de la luz que recibe y la otra mitad la transmite. Cuando la luz incide en el punto O del divisor, parte de ella se refleja hacia un espejo fijo (recorre una distancia OS) y la otra parte se transmite hacia un espejo móvil (recorriendo una distancia OM). La radiación que reflejan los espejos vuelven a incidir sobre el divisor de haz, por lo que la mitad de la misma vuelve a reflejarse y la otra mitad a transmitirse. Un haz de radiación recombinado se propaga hacia la muestra y el detector y el otro regresa hacia la fuente [4].

Generalmente estos dos recorridos son distintos, por lo que las ondas no estarán en fase. Si las dos ondas están en fase, se interfieren constructivamente para dar una onda de una amplitud doble. Si están desfasadas en media longitud de onda ( $180^\circ$ ), se interfieren destructivamente y se anulan. Si la diferencia de fases es intermedia, sólo se cancelan en parte [4].

El **interferograma** es la suma de las contribuciones de todas las longitudes de onda de la fuente y se va construyendo de la forma que se muestra en el *panel b* de la *Fig. 4.3*.

La diferencia de caminos recorridos por las dos ondas en el interferómetro del *panel a* de la *Fig. 4.3* es igual a  $2(OM-OS)$  y se llama **retardo** ( $\delta$ ). Se da una interferencia constructiva cuando  $\delta$  es igual a un múltiplo entero de la longitud de onda ( $\lambda$ ) de la luz. Y se da un mínimo cuando  $\delta$  es igual a un múltiplo impar

de la semilongitud de onda ( $\lambda/2$ ) de la luz. Si el espejo M se aleja del divisor de haz a una velocidad constante, la luz que llega al detector pasa por una serie de máximos y mínimos, a medida que se alternan las interferencias constructivas y destructivas [4].



**Figura 4.3:** a) Diagrama esquemático del interferómetro Michelson e interferencia entre dos haces de luz. Se muestra la respuesta del detector en función del retardo ( $=2[OM-OS]$ ), para el caso de una radiación incidente monocromática de longitud de onda  $\lambda$ . b) Construcción de un interferograma. La figura del panel a) ha sido construida a partir de una figura de la referencia 1, de la Fig. 16 de la referencia 2 y de la Fig. 20,24 de la referencia 4. La figura del panel b) ha sido tomada de la referencia 1 y modificada.

Una representación de la intensidad de la luz de salida en función del retardo ( $\delta$ ) se denomina interferograma. Para una fuente de radiación policromática con valores continuos para  $\tilde{\nu}$ , el patrón de interferencia o interferograma vendrá dado por la expresión [5]:

$$I(\delta) = \int_0^{\infty} S(\tilde{\nu}) \cos(2\pi\tilde{\nu}\delta) d\tilde{\nu} \quad (4.1)$$

donde  $S(\tilde{\nu})$  es la densidad de potencia espectral de la fuente,  $\tilde{\nu}$  es el número de ondas de la radiación monocromática,  $I(\delta)$  representa lo que denominamos interferograma y se corresponde con la componente modulada *ac* (*alternating current* en inglés) de la intensidad que llega al detector. Cuando ambos espejos están a la misma distancia del divisor de haz se crea una diferencia de camino óptico cero ( $\delta = 0$ ), denominada **centre burst**. Entonces, toda la radiación incidente pasa a través del interferómetro, sin importar de la frecuencia que sea la misma. A cualquier otro valor de  $\delta$ , solo pasará alguna de dicha radiación. Por

ello, un interferograma está caracterizado por un *centre burst* a  $\delta = 0$  y un patrón muy complejo de ondas simétricamente dispersadas alrededor de él [5].

La intensidad del interferograma disminuye a aquellas longitudes de onda que absorbe la muestra. Según la región espectral a analizar, el divisor de haz está constituido por un material u otro, hecho que se va a explicar posteriormente con más detenimiento en el punto 4.1.3. “Materiales”.

Cuando al interferograma [ecuación (4.1)] se le realiza un análisis matemático de Fourier se obtiene lo que se denomina la **transformada de Fourier** de la ecuación correspondiente, esto es, de la ecuación (4.1), obteniéndose el espectro (o ecuación espectral) propiamente dicho [4,5]:

$$S(\tilde{\nu}) = \int_{-\infty}^{+\infty} I(\delta) \cos(2\pi\tilde{\nu}\delta) d\delta \quad (4.2)$$

El análisis de Fourier consiste en descomponer una determinada curva (o función) en una suma de otras diferentes curvas (o funciones) tipo senos y cosenos, que es conocida como serie de Fourier de dicha curva (o función). Así, la descomposición del interferograma mediante un análisis de Fourier del mismo nos da como resultado el conjunto de las longitudes de onda espectrales (y sus intensidades) que lo conforman. En definitiva, nos permite obtener las intensidades correspondientes de radiación a tales longitudes de onda y, por tanto, el espectro.

El interferograma se registra a intervalos discretos. Cuanto mayor es el número de datos, más tiempo y memoria se consumen en el cálculo de la transformada de Fourier. La **resolución** del espectro es aproximadamente igual a  $(1/\Delta) \text{ cm}^{-1}$ , donde  $\Delta$  es el máximo de retardo, de manera que si, por ejemplo, el desplazamiento del espejo es de  $\pm 2 \text{ cm}$ , el retardo en el detector será de  $\pm 4 \text{ cm}$  y la resolución, por tanto, de aproximadamente  $1/(4 \text{ cm}) = 0,25 \text{ cm}^{-1}$  [4].

#### iv. Detector

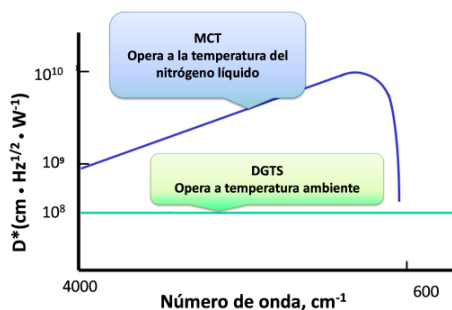
Su función es convertir la señal óptica que llega de la muestra en una señal eléctrica. En el equipo FT-IR Bruker Vertex 70 se dispone de 4 detectores distintos:

- Detector **DLaTGS**, con ventana de KBr para **MIR**, refrigerado por aire. Rango espectral accesible: 12500-350  $\text{cm}^{-1}$ .
- Detector **DLaTGS**, con ventana de polietileno para **FIR**. Rango espectral accesible: 700-10  $\text{cm}^{-1}$ .

- Detector **MCT** para **MIR**, refrigerado por nitrógeno líquido. Rango espectral accesible: 12000-600  $\text{cm}^{-1}$ .
- Detector **InGaAs** para **NIR**. Rango espectral accesible: 12800-5800  $\text{cm}^{-1}$ .

En la presente tesis doctoral se emplearon los detectores **DLaTGS** (con ventana de KBr) y **MCT** para el registro de espectros IR en la región media, y el detector **DLaTGS** (con ventana de polietileno) para la región lejana. Para la medida de un espectro VCD en la región media (alrededor de 3-5 órdenes de magnitud más débil que un IR) es necesario emplear un detector MCT. En la *Fig. 4.4* se muestra la sensibilidad de estos dos detectores según el número de onda.

El detector **DLaTGS** (tipo “termal”) está constituido por *L*-alanina dopada con sulfato de triglicina deuterado, los cristales de esta sustancia son ferroeléctricos y se encuentran, por tanto, polarizados. Es un detector piroeléctrico, cuya constante dieléctrica depende de la temperatura. Así, la absorción de la radiación por el detector provocará en él un aumento de temperatura, el cual va a modificar consecuentemente su estado de polarización eléctrica y, por tanto, inducir un cambio de voltaje entre los electrodos unidos al mismo [3,6]. La sensibilidad es constante y su valor es de  $2 \times 10^8 \text{ D}^*(\text{cm} \cdot \text{Hz}^{1/2} \cdot \text{W}^{-1})$ . La velocidad de respuesta (constante de tiempo) es  $10^{-2}$  segundos y trabaja a temperatura ambiente (300K) [2].



**Figura 4.4:** Sensibilidad según el número de onda de los detectores DLaTGS y MCT. Figura tomada de la referencia 1 y editada.

El detector **MCT** (tipo “quantum”) es un semiconductor, constituido por Mercurio, Cadmio y Teluro, con respuesta fotoconductor. En este tipo de detectores, el fotón IR promociona un electrón a lo largo del hueco (*band gap* en inglés) entre la banda de valencia y la de conducción, originando así electrones móviles en la banda de conducción. Este cambio de corriente es el que se detecta [3]. La sensibilidad del detector MCT es de  $2 \times 10^{10} \text{ D}^*(\text{cm} \cdot \text{Hz}^{1/2} \cdot \text{W}^{-1})$ , dos órdenes de magnitud mayor que la del detector DLaTGS. Por ello, como anteriormente se ha dicho, empleamos este detector para las medidas VCD (en la región del IR medio), las cuales requieren gran sensibilidad. La velocidad de respuesta (constante de tiempo) es  $10^{-6}$  segundos (del orden del  $\mu\text{s}$ ). Este detector proporciona una **alta sensibilidad** y velocidad en un amplio rango espectral que cubre todo el IR medio e incluso una buena parte del IR cercano (hasta 12000  $\text{cm}^{-1}$ ), aunque la sensibilidad va disminuyendo al crecer el número de ondas desde su valor más alto (aproximadamente 900-800  $\text{cm}^{-1}$ ) hasta casi un

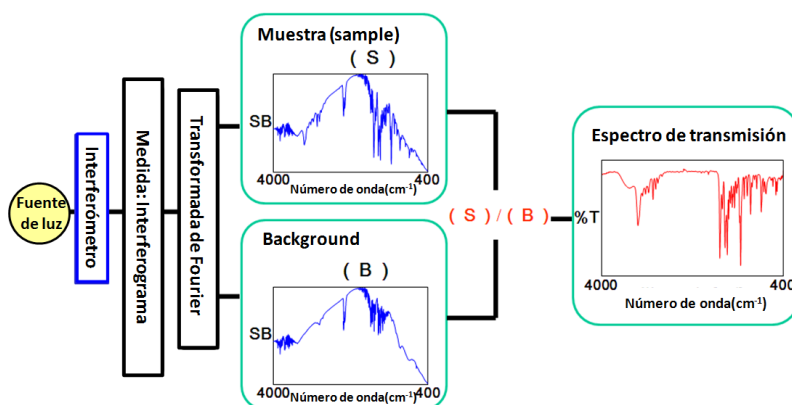
orden de magnitud para la región alrededor de los  $4000\text{ cm}^{-1}$  (ver *Fig. 4.4*). Por lo que para llevar a cabo los registros espectrales VCD en la región de las tensiones (*stretchings*) de C-H, esto es, alrededor de los  $3000\text{ cm}^{-1}$ , y en otras de valores de número de ondas más altos, se recomienda usar otros detectores de mayor sensibilidad en esa zona, como, por ejemplo, el de InSb (ver subapartado *v.* del punto 4.2.1.). El detector MCT opera a la temperatura del  $\text{N}_2$  líquido ( $77\text{K}$ ), siendo este quizás el principal inconveniente de este tipo de detectores [1,2].

El funcionamiento del espectrómetro FT-IR Bruker Vertex 70 está controlado por el software OPUS (versión 7.0) [2]. El rango espectral en el que se realizaron las medidas de las muestras líquidas y sólidas con el espectrómetro FT-IR fue  $4000\text{-}500\text{ cm}^{-1}$  y  $4000\text{-}50\text{ cm}^{-1}$ , respectivamente. La resolución espectral y la velocidad de barrido se comentan en el subapartado *ii.* del siguiente punto 4.1.2.

#### 4.1.2. Procedimiento experimental

##### *i. Medida de un espectro FT-IR*

El haz de luz que proviene del interferómetro se mide primero sin muestra en el compartimento de la misma, para obtener así la señal que proporciona el fondo (*background*). Posteriormente, medimos el interferograma con la muestra (*sample* en inglés) en su compartimento correspondiente, y restando a dicha medida el *background* obtenemos el espectro de transmisión<sup>1</sup> o absorción buscado.



**Figura 4.5:** Medida de un espectro FT-IR. Figura tomada de la referencia 1 y editada convenientemente.

<sup>1</sup> La Transmitancia es la medida clásica del IR, pero en esta tesis todos los resultados se van a mostrar en medida de Absorbancia.

Lo que acabamos de comentar es necesario para eliminar todas las interferencias externas a la muestra, como son las propiedades energéticas de la fuente de luz y del divisor de haz, así como la absorción de CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>O dentro del camino óptico. Realizando esta “resta” conseguimos anular dichos efectos [1].

*ii. Tratamiento de muestra y condiciones experimentales*

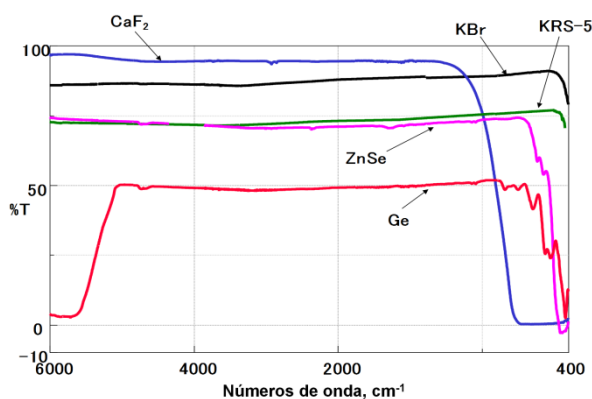
El empleo del accesorio de Reflexión Total Atenuada, **ATR** (*Attenuated Total Reflectance* en inglés) para la medida de muestras sólidas no requiere preparación alguna de muestra. También se empleó dicho accesorio para la medida de muestras en disolución. En este último caso, se procedió a la preparación de la correspondiente disolución a medir y se siguió el procedimiento descrito en el subapartado anterior (*i. Medida de un espectro FT-IR*) llevándose a cabo el registro del *background* con una gota del disolvente empleado en la preparación de la disolución, para evitar, en la medida de lo posible, la interferencia de las señales del mismo en el análisis de las bandas espectrales de la muestra que nos interesa en cada caso. En el caso del registro de los espectros IR de disoluciones acuosas (a distintos pH) para los aminoácidos estudiados, el *background* se realizó con una gota de agua bidestilada. También se probó la realización del *background* con una gota de agua al mismo pH que la disolución del aminoácido objeto de estudio. En esta prueba, no se observaron cambios relevantes respecto al uso de la gota de agua bidestilada. Realizando el *background* con una gota del disolvente usado para preparar la disolución se gana en relación señal/ruido, las bandas espectrales se ven más claramente, el análisis se facilita y la zona útil obtenida en el IR se amplía.

Todos los espectros IR fueron registrados a **temperatura** ambiente, exceptuando aquel del compuesto terpenoide  $\gamma$ -terpineno, el cual fue registrado también a 77 K (-196 °C), aproximadamente, usando N<sub>2</sub> líquido y empleando una celda de temperatura variable con ventanas de KBr, la cual permite aumentar la temperatura hasta 523 K (250 °C). Esta celda es similar a la disponible para el espectrómetro FT-Raman (ver *Fig. 4.19*).

La **resolución experimental** usada, en general, para los registros realizados en la región MIR de las muestras sólidas y en disolución fue 1-2 y 4-8 cm<sup>-1</sup>, respectivamente. Sin embargo, para los registros en la región FIR de las muestras en estado sólido, la resolución fue de 1, 2 o 4 cm<sup>-1</sup>. También, comentar aquí que, en general, el registro de “buenos” espectros de las muestras estudiadas en este trabajo, en ambas regiones (MIR y FIR), requirió unos 200 o 300 barridos (*scans*).

### 4.1.3. Materiales

Dependiendo del tipo de detector y de fuente infrarroja, así como del material que constituya las lentes, los espejos, el divisor de haz, etc., tendremos acceso a un determinado rango espectral u otro [1,2]. Por ello, para focalizar o converger de manera conveniente y eficiente la radiación IR sobre aquellos elementos del dispositivo experimental deseados (muestra, accesorios, partes del equipo, etc.), se emplean lentes constituidas por los **materiales adecuados** (ver *Tabla 4.1*), pues cada uno de ellos posee **distintas ventanas de transmisión en el IR** que deben considerarse en función del rango de frecuencias (o número de ondas) de las vibraciones de los sistemas moleculares que queramos estudiar. Los espejos, tanto del propio espectrómetro como de cualquiera de los accesorios a utilizar que pueda llevar este tipo de elementos, tienen que estar convenientemente constituidos por capas metálicas tales como Al, Au, etc., u otros materiales similares que resulten adecuados. En el equipo FT-IR Bruker Vertex 70 los espejos están bañados concretamente en oro y la óptica interna del equipo está construida con KBr [2]. En algunas ocasiones son necesarios filtros de paso de banda, para así seleccionar una parte de la radiación IR de un rango de longitudes de ondas más específico que pueda desearse en casos concretos.



**Figura 4.6:** Transmitancia de varios materiales ópticos a la radiación IR según su número de ondas en el rango espectral entre 6000 y 400  $\text{cm}^{-1}$ . Figura tomada de la referencia 1.

A continuación se muestra una tabla resumen con los materiales más usados como ventanas de los portamuestras, algunos de los cuales aparecen también formando parte de la óptica interna de los equipos FT-IR, como anteriormente se ha dicho:

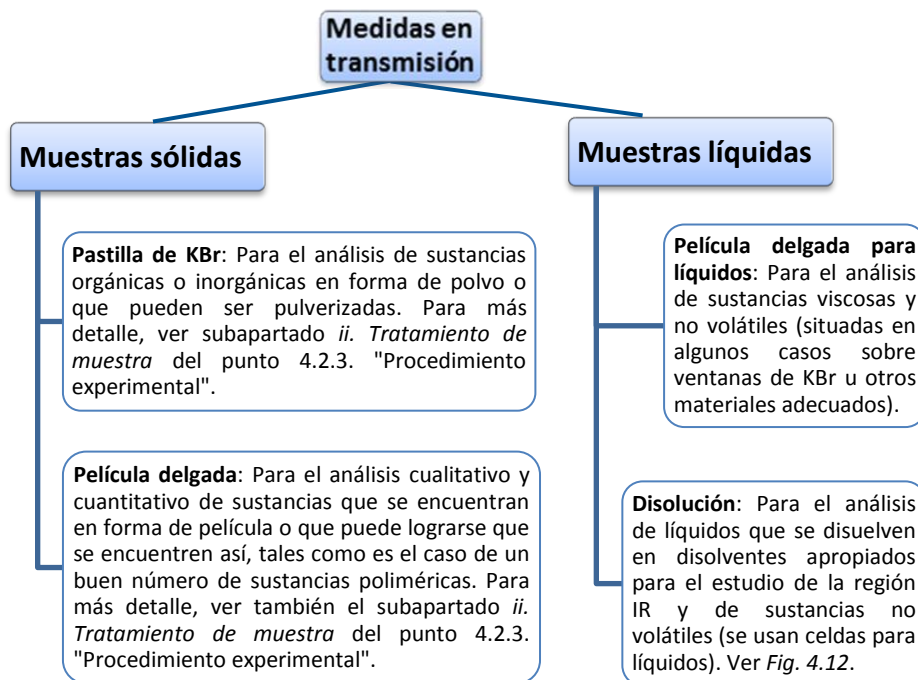
Material	Refractividad (aprox.)	Punto de fusión (°C)	Rango de aplicación (cm <sup>-1</sup> )	Solubilidad en agua (g/ 100g H <sub>2</sub> O)	Notas
KBr	1,5	730	43500-350	59,5	-No tiene fuerza mecánica. -Se rompe fácilmente. -Higroscópico.
Ge	4,0	936	5500-500 (para ATR hasta aprox. 700)	Insoluble	-Se disuelve en ácido sulfúrico caliente. -Se rompe fácilmente.
CaF <sub>2</sub>	1,4	1360	77000-1200	Insoluble	-Se disuelve en una disolución con sal de amonio.
KRS-5	2,4	414	20000-250	0,05	-Le afectan las disoluciones ácidas. -Es blando y se daña fácilmente. -Venenoso.
ZnSe	2,4	1100	10000-500 (para ATR hasta aprox. 650)	Insoluble	-Se disuelve en HNO <sub>3</sub> . -Se rompe fácilmente.
BaF <sub>2</sub>	1,45	1280	50000-800	0,159	-Se disuelve en ácidos y en una disolución con sal de amonio.

**Tabla 4.1:** Materiales que transmiten radiación infrarroja [1,3].

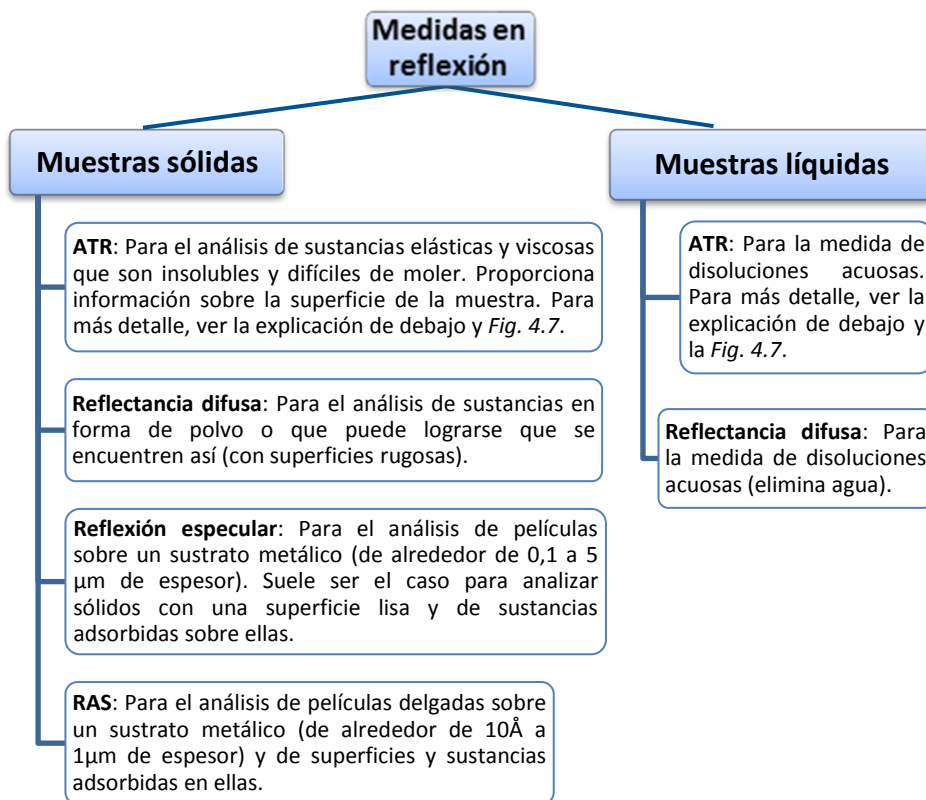
El divisor de haz que emplea nuestro equipo Bruker Vertex 70 para registrar un espectro IR en la región media es una lámina de KBr, con la que se puede acceder al rango 8000-350 cm<sup>-1</sup>. Para analizar la región FIR empleamos un divisor de haz de Silicio (680-30 cm<sup>-1</sup>) y para la región NIR un divisor de haz de CaF<sub>2</sub> (15000-1200 cm<sup>-1</sup>), ya que estos materiales son capaces de transmitir de manera adecuada y eficiente radiación infrarroja en dichas regiones [2].

## 4.1.4. Técnicas para medidas en transmisión y reflexión

Las técnicas de manejo de muestras más usuales para llevar a cabo **medidas de transmisión** en espectroscopía IR se recogen de manera esquemática en el siguiente cuadro:

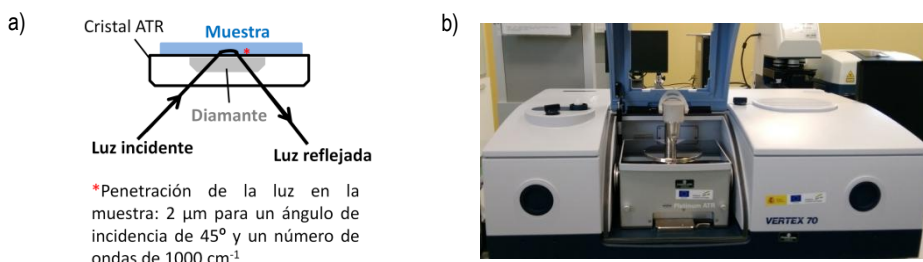


Las técnicas de manejo de muestras más usuales para llevar a cabo **medidas de reflexión** en espectroscopía IR se recogen, asimismo, de manera esquemática en este otro cuadro:



Para la medida de muestras sólidas y de ciertas disoluciones en la región IR lejana e IR media empleamos la técnica **ATR**. La reflexión total tiene lugar cuando la luz va desde un objeto con alta refractividad (prisma) a otro con baja refractividad (muestra). Cuando una muestra se deposita sobre la superficie de un prisma, la luz penetra en la superficie de la muestra ( $2\ \mu\text{m}$  aproximadamente para un ángulo de incidencia de  $45^\circ$  y un número de ondas de  $1000\ \text{cm}^{-1}$ ) y es ligeramente absorbida antes de ser reflejada. En nuestro caso, el haz IR se refleja internamente una vez. La medida de la luz que se refleja totalmente nos proporciona el espectro de absorción de la capa superficial de la muestra. Se emplea un prisma trapezoidal para que repita el número de reflexiones totales y, consecuentemente, se aumente la absorción. Existen distintos tipos de prismas ATR [3].

El accesorio ATR de platino está hecho de diamante. Este cristal de diamante permite analizar todo tipo de muestras líquidas y sólidas en la región espectral 10000-50  $\text{cm}^{-1}$  [2].

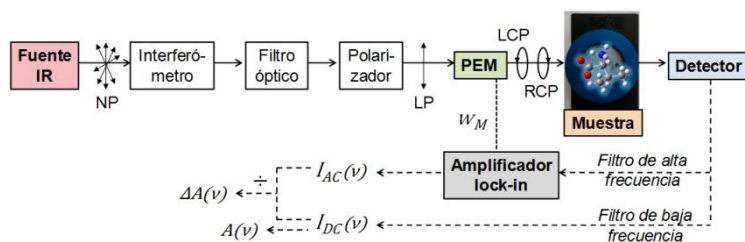


**Figura 4.7:** a) Proceso de reflexión y b) Foto del espectrómetro FT-IR Bruker Vertex 70 con el accesorio ATR utilizado en los trabajos de esta tesis doctoral [2,3].

## 4.2. Espectropolarímetro de Dicroísmo Circular Vibracional (VCD)

### 4.2.1. Partes del equipo

Para la realización de esta tesis también se ha empleado un espectropolarímetro modelo FVS-4000 de la casa comercial Jasco. En la siguiente figura se muestran esquemáticamente las partes del mismo:



**Figura 4.8:** Diagrama del dispositivo experimental de un espectrómetro FT-IR VCD (imagen construida a partir de las Figs. 1, 2 y 6.10 de las referencias 7, 8 y 9, respectivamente).

En la Fig. 4.8, las siglas NP, LP, LCP y RCP significan luz no polarizada (del inglés *non-polarized light*), luz linealmente polarizada (*linearly polarized light*), luz circularmente polarizada hacia la izquierda (*left circularly polarized light*) y luz circularmente polarizada hacia la derecha (*right circularly polarized light*), respectivamente, y donde  $w_M$  es la frecuencia de modulación del PEM y  $I_{DC}(v)$  y  $I_{AC}(v)$  son, respectivamente, las intensidades de transmisión de los interferogramas DC y AC.

*i. Fuente de luz*

La fuente infrarroja es similar a la fuente presentada en el subapartado *i. Fuente de luz* del punto 4.1.1. “Partes del equipo” (Espectrómetro FT-IR).

*ii. Filtro óptico*

Antes de interactuar con la muestra, la radiación IR pasa por un filtro óptico, que se encarga de seleccionar el rango de número de ondas de dicha radiación IR que pasa hacia el resto del dispositivo experimental. Así se consigue **mejorar** la relación **señal/ruido** para un rango determinado sin saturar el detector [8]. El espectrómetro VCD FVS-4000 de Jasco posee 6 tipos distintos de filtros, los cuales están montados sobre una rueda gestionada por el software del equipo [1]. En esta tesis nos hemos centrado en el análisis de la región MIR, por lo que sólo hemos usado el primero que se menciona a continuación.

**2000-900  $\text{cm}^{-1}$** : para la región IR media usando el detector MCT.

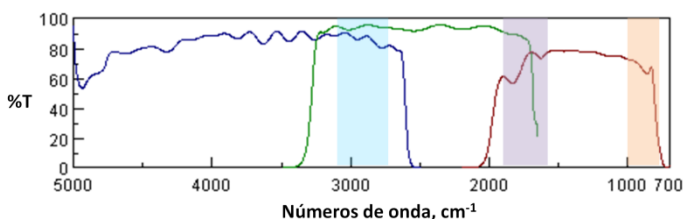
**3200-1900  $\text{cm}^{-1}$** : para el detector InSb (región C-H, etc.).

**3100-2650  $\text{cm}^{-1}$** : para el detector InSb (región C-H).

**4000-2650  $\text{cm}^{-1}$** : para NIR (región O-H, etc.) con InSb.

**1900-1550  $\text{cm}^{-1}$** : para biomoléculas (banda amida I) con MCT.

**1000-750  $\text{cm}^{-1}$** : para la región IR media usando el detector MCT.



**Figura 4.9:** Regiones a las que se puede acceder según el filtro óptico empleado (y el correspondiente detector). Imagen tomada de la referencia 4.

*iii. Polarizador lineal*

Después de su paso por el filtro óptico detallado anteriormente, la radiación no polarizada pasa por un polarizador lineal de KRS-5, provocando que la componente del campo eléctrico oscile solamente en un plano respecto a la dirección de propagación [10]. De esta forma se obtiene una **luz plana** o **linealmente polarizada**, que se puede definir como una luz polarizada circularmente a izquierdas y a derechas en fase. El polarizador es, en nuestro caso, un prisma. Este selecciona la luz entrante polarizada linealmente para que su haz forme un ángulo de  $45^\circ$  respecto a los ejes de tensión del modulador fotoelástico (PEM, del inglés *photoelastic modulator*).

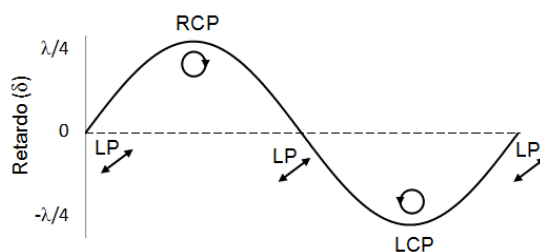
*iv. ¿Cómo se obtiene una luz circularmente polarizada? Modulador fotoelástico*

La función del **PEM** (modelo PEM-90 de la casa comercial Hinds, en nuestro equipo) es modular la polarización de la luz IR. Para ello, emplea el **efecto fotoelástico** para producir **luz polarizada circularmente** a izquierdas y a derechas, alternativamente, de tal forma que entre ellas haya un determinado **desfase**. Como se explicará más abajo, la detección de la señal VCD necesita del uso de un amplificador *lock-in* (**LIA**, *lock-in amplifier* en inglés) que modulará en amplitud la frecuencia de vibración del PEM (**AM**, del inglés *amplitude modulation*).

Se aplica un voltaje periódico a un transductor piezo-eléctrico de cuarzo (que transforma energía eléctrica en acústica y viceversa), el cual provoca estrés mecánico mediante una vibración acústica a un bloque de material transparente isotrópico (ZnSe en nuestro caso) al que está unido el transductor piezoeléctrico, de manera que el mismo se comprime (o tensiona). De esta forma, se induce **birrefringencia** modulada en el ZnSe. El que ZnSe sea birrefringente significa que diferentes polarizaciones lineales de la luz van a tener velocidades ligeramente distintas al atravesar el material [10]. El bloque vibra a la frecuencia determinada por la vibración acústica y el transductor se ajusta a la frecuencia resonante del ZnSe (50 kHz), la cual es la frecuencia de modulación del PEM [11-13]. El controlador del PEM controla electrónicamente la magnitud de la birrefringencia [1].

En ausencia de este estrés mecánico provocado, el ZnSe (en lugar de ser birrefringente) es **isotrópico** y la luz puede atravesarlo sin cambiar su polarización.

La amplitud de la modulación del PEM depende linealmente de la intensidad de corriente que atraviesa el transductor piezo-eléctrico. Por tanto, cuando la tensión y compresión del ZnSe son máximas, el efecto birrefringente oscilante alcanza su máximo y genera de forma completa luz circularmente polarizada.



**Figura 4.10:** Retardo ( $\delta$ ) producido por la compresión (o tensión) del bloque de ZnSe. El retardo de cuarto de onda ( $\lambda/4$ ) se alcanza cuando la compresión (o tensión) de dicho bloque de ZnSe es máxima. Imagen construida a partir de una similar que se encuentra en la referencia 1.

Para ello, el voltaje máximo del PEM se fija de tal forma que el mismo funcione periódicamente como un **filtro retardador de cuarto de onda** (*quarter-wave retardation plate* en inglés). El haz de luz linealmente polarizada que entra estará formando un ángulo de 45° con respecto al eje óptico del PEM. Cuando el bloque de ZnSe se comprime, hace que la componente horizontal de la luz linealmente polarizada se retarde respecto a la componente vertical. Cuando se tensiona, por el contrario, la componente vertical es la que se retarda respecto a la horizontal. Por ello, el PEM actúa como un filtro de onda sintonizable, esto es, según cuál de las componentes se retarde, se genera luz circularmente polarizada a la izquierda o a la derecha, respectivamente, cuando el voltaje del PEM es máximo [14]. La máxima diferencia de fase  $\gamma$ , como consecuencia, el máximo retardo inducido, se ajusta a  $\frac{\pi}{2} \left(\frac{\lambda}{4}\right)$ ; por ello, hemos mencionado anteriormente que el PEM actúa como un filtro retardador de cuarto de onda. En la *Fig. 4.10* se muestra una representación gráfica del retardo ( $\delta$ ) frente al tiempo, así como los distintos estados de polarización en algunos puntos a lo largo del tiempo. La luz se modulará desde LP, a LCP y RCP, con polarización elíptica entre ellas.

En nuestro equipo, el PEM se centra automáticamente a un determinado número de ondas para realizar la operación de cuarto de onda según si empleamos el detector InSb o el MCT (ver siguiente subapartado *v. Detector*) [1]. Cuando usamos el detector MCT, el PEM se centra a 1250 cm<sup>-1</sup>, de tal forma que se consigue generar luz circularmente polarizada a izquierdas y a derechas en el rango 2000-900 cm<sup>-1</sup>. Al usar el detector InSb, el PEM se centra a 2900 cm<sup>-1</sup>, generando luz circularmente polarizada en el rango 4000-2000 cm<sup>-1</sup>. Modificando el voltaje que se aplica al PEM se puede cambiar el número de ondas al que está centrado [9].

#### *v. Detector*

Debido a la baja intensidad que posee la señal VCD, se necesitan detectores muy sensibles. En el espectropolarímetro Jasco FVS-4000 se dispone de dos detectores fotovoltaicos, **MCT** (usado para la región 2000-900 cm<sup>-1</sup>) e **InSb** (sensible en la región 4000-2000 cm<sup>-1</sup>) [1]. Son semiconductores y sensibles a la generación de señales por fotones individuales y tienen un tiempo de respuesta del orden de microsegundos [9].

El detector MCT se ha explicado en el subapartado *iv. Detector* del punto 4.1.1. “Partes del equipo” del Espectrómetro FT-IR. El detector **InSb** está formado por Indio y Antimonio y también hay que enfriarlo con N<sub>2</sub> líquido para que la sensibilidad sea la adecuada. Ambos detectores son fotovoltaicos, es decir, los electrones causantes de la corriente eléctrica que origina la diferencia de potencial

(d.d.p.) en su estructura también promocionan a lo largo de la banda prohibida (*band gap*) del semiconductor, siendo ese voltaje (d.d.p.) inducido proporcional a la intensidad de la luz que llega al detector [3].

El área de sensibilidad de los detectores MCT e InSb es pequeña, por lo que se necesitan lentes que focalicen el haz de radiación hacia el detector. Muchos detectores infrarrojos son demasiado lentos y poco sensibles para las frecuencias PEM, como por ejemplo, el detector DTGS o el PbS.

El haz que llega al detector está **doblemente modulado**:

- Primero el interferómetro de Michelson modula la luz IR procedente de la fuente a la frecuencia Fourier (baja frecuencia) según la longitud de onda y velocidad del espejo móvil [1]. Esta modulación permitirá obtener el espectro IR normal de la muestra.
- También se realiza una modulación a alta frecuencia. En este caso, el haz se modula entre los estados de polarización circular izquierda y derecha a la frecuencia de modulación del PEM, la cual es en nuestro caso 50 kHz (más alta que las frecuencias Fourier) [1]. Esta modulación permitirá obtener el espectro VCD de la muestra.

Los **amplificadores *lock-in*** se emplean para detectar y medir señales *AC* muy pequeñas. Usan una técnica conocida como detección sensible a la fase para seleccionar la componente de la señal a una fase y frecuencia de referencia específica. Rechazan las señales de ruido que están a frecuencias diferentes y consiguen que no afecten a la medida. Las medidas *lock-in* requieren una frecuencia de referencia (la misma que para la frecuencia de la señal) y que la fase sea la misma que la de la señal referencia y no cambie con el tiempo [1].

A partir de las intensidades  $I_{DC}(\nu)$  y  $I_{AC}(\nu)$  podemos calcular finalmente, por un lado, el **espectro IR de la muestra**, en la forma:

$$A(\nu) = -\log \frac{I_{DC}(\nu)}{I_0(\nu)} \quad (4.3)$$

donde  $I_0(\nu)$  es la intensidad de transmisión que se obtiene con el compartimento de muestra vacío. Y, por otro lado, el **espectro VCD de la muestra**, en la forma:

$$\Delta A(\nu) = A_L(\nu) - A_R(\nu) = \frac{0.8685}{2J_1[\delta_M^0(\nu)]} \left[ \frac{I_{AC}(\nu)}{I_{DC}(\nu)} \right] \quad (4.4)$$

donde  $\delta_M^0(\nu)$  es el máximo retardo inducido por el PEM para una cierta frecuencia  $\nu$  [9] y  $J_1[\delta_M^0(\nu)]$  es una función Bessel de primer orden de la

frecuencia (y representa la eficiencia del PEM) [1]. La cantidad  $\frac{0.8685}{2J_1[\delta_M^0(\nu)]}$  se determina llevando a cabo una medida de calibración, reemplazando la muestra por un “filtro” de onda múltiple (CdS por ejemplo) y colocando un polarizador adicional tras él [1,9].

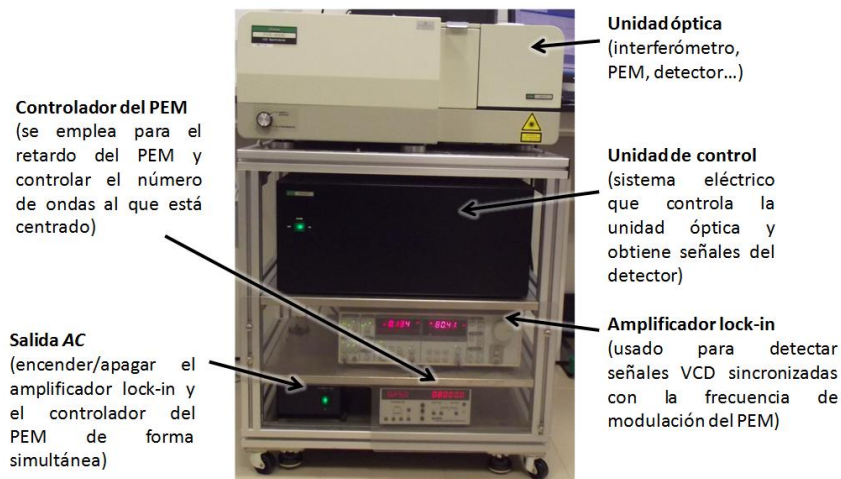
La representación gráfica de la distribución de intensidad de la radiación electromagnética absorbida por la muestra en función de la frecuencia de la radiación, es decir, el espectro infrarrojo, así como también la representación gráfica de la diferencia  $\Delta A$  frente a la frecuencia de la radiación, es decir, el espectro VCD, se obtienen mediante las transformadas de Fourier de los interferogramas correspondientes, mediante los programas informáticos adecuados, en el ordenador al que va acoplado el dispositivo espectrométrico.

Periódicamente se han ido realizando una serie de **chequeos** para comprobar que el equipo (PEM, LIA, detector, etc.) funcionaba correctamente. Estos chequeos han consistido en lo siguiente:

- Registro de los espectros **IR-VCD de patrones**, terpenos concretamente, como el limoneno, pineno, etc., y comparación de los nuevos espectros registrados con los espectros registrados el día en el que el equipo se instaló en 2004. Hasta ahora, las bandas de los espectros registrados en los chequeos han sido idénticas en intensidad (IR y VCD), posición (IR y VCD) y signo (VCD) a las de los espectros registrados el primer día de funcionamiento del equipo.
- Registro del espectro del **background** (celda de muestra vacía) y comparación de su intensidad con la intensidad que tenía el día en el que se instaló el equipo en 2004. Cada cierto tiempo esta intensidad disminuye y es necesario realizar un autoalineamiento (*autoalignment* en inglés) del interferómetro de Michelson a través del software “Spectra Measurement”. En este proceso, el espejo fijo se alinea automáticamente en la posición óptima para obtener el máximo de energía en el interferómetro [1]. De esta forma, se consigue la máxima intensidad del interferograma cuando los dos espejos están a la misma distancia del divisor de haz.

El funcionamiento del aparato está controlado por el software “Spectra Manager” de Jasco [1]. El rango espectral útil en el que se realizaron las medidas de las muestras fue 2000-900  $\text{cm}^{-1}$ , aunque también se utilizó la región 4000-2000  $\text{cm}^{-1}$  para el estudio de la *D*-ribosa y 2-deoxi-*D*-ribosa. La resolución espectral y la velocidad de barrido usadas en los registros llevados a cabo se comentan en el

subapartado *iii. Optimización de las condiciones experimentales* del punto 4.2.3. “Procedimiento experimental”.



**Figura 4.11:** Imagen del espectropolarímetro Jasco FVS-4000 de la Universidad de Jaén, con indicación de su configuración.

#### 4.2.2. Artefactos presentes en medidas VCD de muestras sólidas

Los artefactos en medidas VCD (o ECD) de muestras sólidas (películas delgadas o suspensiones en nujol o fluorolube) pueden provenir, principalmente, de dos fuentes [9]:

- **Dispersión** desde partículas con tamaño comparable a la longitud de onda de la luz IR o UV-vis.
- **Birrefringencia lineal (LB)**, del inglés *linear birefringence*) procedente del medio sólido, esto es, de las partículas de la muestra o de la película formada).

La **dispersión** en la región IR se asocia con el efecto Christiansen, según el cual la simetría de la banda IR correspondiente a una muestra sólida formada por partículas se distorsiona por la adición de intensidad negativa sobre el lado de alta frecuencia de la banda de absorción y por la adición de intensidad positiva sobre el lado de baja frecuencia. Estas contribuciones dispersivas están relacionadas con el índice de refracción de la muestra sólida. Como consecuencia, cuando este efecto esté presente en las bandas IR, estas ya no tendrán un perfil (en inglés *lineshape*) simétrico (una característica peculiar de la presencia de contribuciones dispersivas importantes en el espectro, más allá del origen y naturaleza del mismo, esto es, de las propias vibraciones moleculares causantes del mismo). De forma similar, las bandas VCD positivas tienen

distorsiones de la misma forma que las bandas IR de las que provienen, mientras que las bandas VCD negativas presentan la distorsión con signo opuesto, esto es, la adición de intensidad positiva sobre el lado de la banda de alta frecuencia y la adición de intensidad negativa sobre el lado de la banda de baja frecuencia.

Se ha demostrado teóricamente que el efecto Christiansen depende de la tercera potencia de la relación entre el tamaño medio de las partículas de la muestra y la longitud de onda de la luz. Por tanto, si una película de la muestra puede ser preparada sin que contenga partículas pequeñas o si las suspensiones de las muestras policristalinas a estudiar, después de emulsionarlas, sólo contienen partículas con un tamaño medio más pequeño que el de la longitud de onda de la luz, entonces la dispersión es esencialmente eliminada y las bandas IR observadas presentarán su perfil simétrico natural. Las únicas fuentes de artefactos que podrían seguir estando presentes en este caso son las provenientes de la birrefringencia lineal (LB) de la muestra sólida.

La **LB** está relacionada con cualquier alineamiento de la estructura de las moléculas de la muestra que pudiera conducir a diferencias en el índice de refracción para estados ortogonales de polarización lineal. La presencia de esta contribución se puede detectar rotando la muestra alrededor del eje de propagación de la luz. Lo más probable es que cualquier variación sistemática en el espectro VCD registrado con el ángulo de rotación sea debida a esta fuente. Para el espectro de un líquido o de una disolución, tales contribuciones no pueden surgir de la muestra en sí misma (si la absorbancia es la adecuada, esto es, como máximo 0,6-0,9 y excepto en el caso particular de los cristales líquidos), pero sí podrían hacerlo debido a los materiales de los que podrían estar constituidas las ventanas de la celda de medida, en cuyo interior se encuentra la muestra. Como casi todos los registros VCD se llevan a cabo empleando ventanas de material sólido, la LB es una fuente universal de potenciales artefactos en las medidas VCD si no se toman precauciones especiales [9].

#### 4.2.3. Procedimiento experimental

En la *Tabla 4.2* se muestran de manera esquemática las técnicas y los tratamientos de muestra empleados para el estudio de los distintos sistemas moleculares analizados en esta tesis doctoral. A continuación se expone de manera general el procedimiento experimental seguido, así como la elección de ventanas y disolventes, metodología y optimización de condiciones experimentales.

Muestra		Técnica y tratamiento de muestra empleados
Aminoácidos	L-fenilalanina	<b>FIR-MIR-Raman:</b> sólido en polvo
	L-tirosina	
	L-serina	<b>FIR-MIR-Raman:</b> sólido en polvo <b>MIR y Raman:</b> disoluciones acuosas a diferentes pH (entre 5-6 según el AA, 1,00 y 13,00)* <b>VCD:</b> películas delgadas preparadas a partir de las disoluciones acuosas anteriores (excepto en el caso de la L-valina, que se registraron las disoluciones directamente)
	L-treonina	
	L-cisteína	
	L-valina	
Complejos	( <i>all-S</i> )-18c6H <sub>4</sub> y L/D-SerH <sup>+</sup>	<b>VCD:</b> películas delgadas preparadas a partir de disoluciones equimolares de ( <i>all-S</i> )-18c6H <sub>4</sub> y L-SerH <sup>+</sup> (o L-CysH <sup>+</sup> ), ( <i>all-S</i> )-18c6H <sub>4</sub> y D-SerH <sup>+</sup> (o D-CysH <sup>+</sup> ) y ( <i>all-S</i> )-18c6H <sub>4</sub> con L- y D-SerH <sup>+</sup> (o L- y D-CysH <sup>+</sup> )
	( <i>all-S</i> )-18c6H <sub>4</sub> y L/D-CysH <sup>+</sup>	
Carbohidratos	D-ribosa	<b>MIR-Raman:</b> sólido en polvo; en el caso del Raman registros adicionales a 323 K (50 °C) y 353 K (80 °C) <b>MIR-Raman-VCD:</b> Disolución en H <sub>2</sub> O y D <sub>2</sub> O (4 M); en el caso del Raman registros adicionales a 323 K (50 °C) y 353 K (80 °C) <b>VCD:</b> películas delgadas preparadas a partir de las disoluciones acuosas anteriores y suspensiones en nujol y fluorolube
	2-deoxi-D-ribosa	
	Glicolaldehído	<b>Raman:</b> Disolución acuosa neutra (3,57 M) y adicionando, por un lado 25 μl y por otro 10 μl NaOH (4 M); las 3 registradas 3 veces al día durante 11 días
Derivados del 1H-indazol, benzimidazol o benzotriazol	LIDGEL	<b>FIR-MIR-Raman:</b> sólido en polvo <b>MIR:</b> Disoluciones en CCl <sub>4</sub> (varias con diferentes molaridades) y películas delgadas <b>VCD:</b> Disolución en CCl <sub>4</sub> (0,28 M) y suspensiones en nujol y fluorolube
	LIDFUA	
	LABHEB	
	YODJIM	<b>FIR-MIR-Raman:</b> sólido en polvo <b>VCD:</b> Suspensiones en nujol y fluorolube
	YODJOS	
	BZTRAZ	
	BZTRAZ01	
OHUZUO	<b>FIR-MIR:</b> sólido en polvo <b>VCD:</b> Disolución en CDCl <sub>3</sub> y suspensiones en nujol y fluorolube de la muestra recristalizada en una gran variedad de disolventes y de distintas formas (ver punto 6.1.5.); registros <b>VCD</b> a distintas temperaturas (ver punto 6.1.6.)	
Terpenos	Alcanfor	<b>VCD:</b> Disoluciones en CCl <sub>4</sub> (1,3 M) y suspensiones en nujol (30 mg de alcanfor en 50 μl de nujol) con distintos excesos enantioméricos → 100 % ee ( <i>R</i> -alcanfor), 60 % ee, 20 %, 0 %, -20 %, -60 % y -100 % ( <i>S</i> -alcanfor); registro de muestra ciega para averiguar su ee
	γ-terpineno	<b>IR:</b> líquido (T <sup>a</sup> ambiente), gas (343 K, Synchrotron SOLEIL) y sólido (77 K) <b>FIR:</b> líquido (T <sup>a</sup> ambiente) y gas (343 K, Synchrotron SOLEIL) <b>Raman:</b> líquido (T <sup>a</sup> ambiente) y sólido (77 K) <b>MW</b> en fase gas
	Óxido de limoneno	<b>MW</b> en fase gas
	Pulegona	<b>MW</b> en fase gas

Alca- loide	Colchicina	<b>FIR-Raman:</b> sólido en polvo <b>VCD:</b> Disoluciones en CHCl <sub>3</sub> y suspensiones en nujol y fluorolube
----------------	------------	---

NOTAS: Los espectros **MIR** de disoluciones acuosas y **MIR-FIR** de sólido en polvo se realizaron empleando el accesorio ATR.

Recordar que al registrar el espectro **VCD** también se obtiene el IR correspondiente empleando el espectropolarímetro VCD.

\*En el caso de la *L*-cisteína también se registraron los espectros **MIR-Raman** a pH 8,84 (desprotonación del SH).

**Tabla 4.2:** Técnica y tratamiento de muestra empleados para el estudio de los distintos sistemas moleculares analizados en esta tesis doctoral.

### *i. Elección de ventanas y disolventes*

Generalmente se suelen emplear **ventanas** bien de algunos fluoruros de metales alcalinotérreos, como las de **BaF<sub>2</sub>** o **CaF<sub>2</sub>**, o de algunos haluros de metales alcalinos, tales como las de **KBr** o **NaCl** [7,9]. Aunque las últimas son de uso bastante generalizado en los laboratorios para el registro de espectros IR de absorción, sobre todo en las regiones media y cercana, debido a su buena relación entre la transparencia a la radiación infrarroja y su costo, en el registro de espectros VCD suele estar más indicado el uso de las primeras, a pesar de, sobre todo, resultar bastante más caras que aquellas del segundo tipo, en particular que las de NaCl, que son las más económicas entre las indicadas. En el caso de registros de muestras en **disoluciones acuosas**, se requiere el uso de ventanas de **BaF<sub>2</sub>** o **CaF<sub>2</sub>**, insolubles en agua, ya que las ventanas de **haluros alcalinos** están totalmente **contraindicadas** pues dichos materiales son solubles en agua y dichas ventanas se deteriorarían y destruirían rápidamente. Para medidas VCD de muestras de líquidos puros o de sólidos en disolventes orgánicos o en suspensiones de nujol y fluorolube, en principio pueden usarse ventanas de haluros alcalinos (sobre todo de KBr), pero es preferible y aconsejable usarlas mejor de fluoruros alcalinotérreos (de BaF<sub>2</sub> más corrientemente), debido a que con las primeras siempre será más factible la aparición de artefactos indeseables debido a su carácter **higroscópico** y a la posible existencia de humedad del propio ambiente. Además, el BaF<sub>2</sub> tiene bajas pérdidas por reflexión y no absorbe de manera notable hasta por debajo de los 800 cm<sup>-1</sup>. En el caso de disoluciones ácidas, es preferible el uso de ventanas de CaF<sub>2</sub>, pues este material es resistente a los ácidos. Por ello fueron las que se emplearon para el registro de las disoluciones ácidas del aminoácido *L*-valina. En el caso de la región IR lejana, sin embargo y entre las ventanas del tipo de material señalado, las de CsI son más indicadas que las anteriores, al menos hasta la zona de alrededor de los 200 cm<sup>-1</sup>, por debajo de la cual ya habría que usar las de otros tipos de materiales, como aquellas de polietileno.

Como la mayoría de los estudios que hemos llevado a cabo con el equipo VCD se han realizado en la región **IR media**, esto es, 2000-900  $\text{cm}^{-1}$ , nos ha interesado emplear disolventes que presentaran el menor número de bandas de absorción posibles en esta región. A la hora de elegir el disolvente, también hemos tenido en cuenta el hecho de que la interacción de la molécula bajo estudio con el disolvente fuera relativamente pequeña [9].

En este sentido, para llevar a cabo medidas VCD de muestras **apolares** se recomienda el uso de tetracloruro de carbono ( **$\text{CCl}_4$** ), que presenta poca absorción en la región mencionada. El cloroformo ( **$\text{CHCl}_3$** ) y el cloroformo deuterado ( **$\text{CDCl}_3$** ) también son buenas elecciones para tales tipos de muestras. Para el estudio de aminoácidos y carbohidratos hemos empleado  **$\text{H}_2\text{O}$**  y  **$\text{D}_2\text{O}$**  como disolventes polares.

## *ii. Tratamiento de muestra*

### *a) Preparación de muestras sólidas*

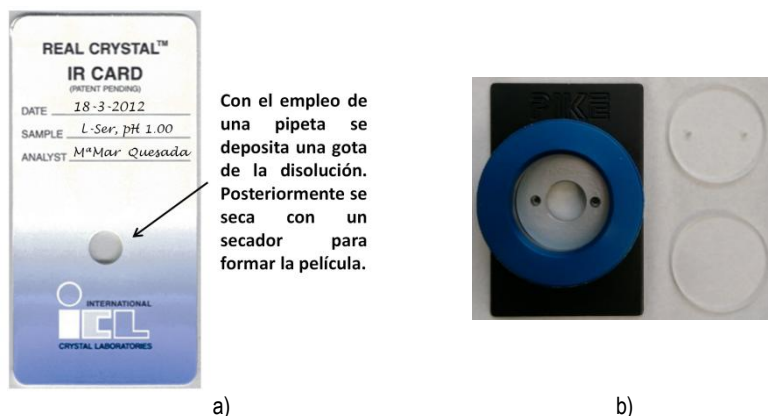
#### *a.1) Suspensiones en nujol y fluorolube*

Para prepararlas, tomamos unos pocos miligramos de la muestra que vamos a analizar y los mezclamos con nujol (absorbe de 1500-1300  $\text{cm}^{-1}$ ) o fluorolube (absorbe de 1300-900  $\text{cm}^{-1}$ ) cuidadosamente. Posteriormente, se muelen en un mortero el aceite mineral elegido y la muestra hasta que se forme una **suspensión totalmente homogénea**. De manera general, la suspensión suele contener un porcentaje en peso del orden del 5-10% de muestra. El hecho de preparar una suspensión de calidad es muy importante para poder obtener posteriormente señales VCD libres de artefactos (ver punto 4.2.2. “Artefactos presentes en medidas VCD de muestras sólidas”). Finalmente, la suspensión se coloca entre las dos ventanas de la celda circular desmontable del *panel b* de la *Fig. 4.12* y se realiza el registro de sus espectros IR-VCD, siguiendo la metodología explicada en el subapartado *v. Metodología experimental llevada a cabo para medidas VCD de muestras sólidas*.

#### *a.2) Películas delgadas*

Generalmente hemos preparado películas delgadas cuando la intensidad del espectro VCD de la disolución del sistema molecular sometido a estudio era muy baja. Esto nos ocurrió especialmente en el caso de los aminoácidos disueltos en  $\text{H}_2\text{O}$  y en los complejos del éter corona 18c6 $\text{H}_4$  con *L/D-SerH<sup>+</sup>* o *L/D-CysH<sup>+</sup>*. Para los carbohidratos, sin embargo, sí que logramos obtener espectros VCD de sus respectivas disoluciones acuosas, tanto en  $\text{H}_2\text{O}$  como en  $\text{D}_2\text{O}$ . En el *panel a*

de la *Fig. 4.12* se resume el procedimiento experimental llevado a cabo para la preparación de películas sobre un soporte Real Crystal de KCl.



**Figura 4.12:** a) Imagen que ilustra la preparación de una película fina sobre un soporte de KCl y b) Celda de líquidos desmontable de PIKE Technologies (izquierda) y ventanas de BaF<sub>2</sub> circulares (derecha) empleadas para el registro de espectros IR-VCD.

Para tratar de evitar que se originen artefactos (ver punto 4.2.2.), hay que procurar que las películas preparadas sean lo más **transparentes** posibles y **evitar** la presencia de **partículas pequeñas** que puedan aparecer (al disolverse parte del KBr del soporte o al recrystalizar parte de la propia muestra por ejemplo). También se prepararon películas sobre una de las ventanas del *panel b* de la *Fig. 4.12*, usando la celda que se muestra en dicha figura. El registro de sus espectros IR-VCD se realizó, asimismo, siguiendo la metodología del subapartado *v. Metodología experimental llevada a cabo para medidas VCD de muestras sólidas.*

### a.3) Pastillas de KBr

La preparación de pastillas (o *pellets*) de la muestra en una matriz de KBr es el método clásico y más corrientemente usado para muestras sólidas (sobre todo de origen orgánico) en un laboratorio de espectroscopía infrarroja. No obstante, este procedimiento necesita poner mucha atención y esmero para poder obtener unas **pastillas** bien **transparentes** y de buena calidad que permitan obtener buenos registros espectrales de las muestras estudiadas. Se pueden preparar también pastillas de KBr para el registro de espectros VCD. En primer lugar, debido al carácter **higroscópico** del bromuro potásico, antes de llevar a cabo los registros espectrales es necesario secar el mismo durante 24 horas en una mufla a unos 400 °C.

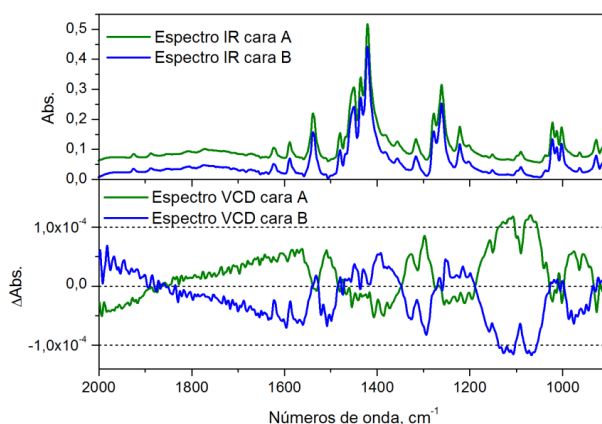
Posteriormente, hay que moler cuidadosamente la muestra (unos pocos mg) con suficiente cantidad de KBr en un mortero (de ágata, por ejemplo) hasta que

la misma se encuentre completamente disgregada de forma **homogénea**. Este punto es muy delicado, pues al tener tanto muestra como KBr sólidos, habrá que cerciorarse de que el tamaño de partícula del cristal (tanto del material de la matriz como de la propia muestra) sea pequeño en relación a la longitud de onda de la radiación IR, para que las posibles e indeseadas contribuciones debidas a la dispersión de la radiación en tales partículas sean lo más pequeñas posibles también.

Dado el notable carácter higroscópico del KBr, mencionado con anterioridad, es aconsejable suministrar calor durante el propio proceso de molido de la muestra, junto al material soporte de la matriz en el mortero. Así, se intenta que la mezcla resultante adquiera la menor humedad posible durante el mismo y, de esta forma, se minimizan al máximo las posibles interferencias del agua, lo que seguro redundará en una mejor calidad de los espectros a registrar de la muestra. En nuestro caso, se hizo uso de una lámpara de infrarrojos para tal fin.

Posteriormente, la mezcla resultante se transfiere a un troquel y se somete a una presión de aproximadamente  $10\text{Tm/cm}^2$  durante 10 minutos, usando una prensa hidráulica y aplicando vacío. De esta forma, se consigue formar la deseada pastilla de la muestra en KBr, que debido al referido carácter higroscópico del KBr debe procurarse que esté el menor tiempo posible en contacto con el aire, ya que enseguida puede absorber la humedad presente en el ambiente. También es muy importante optimizar la cantidad de KBr necesaria para que se obtenga una película adecuadamente delgada y transparente al prensar.

En este trabajo, se prepararon pastillas de KBr de muestras de 2-propil-1H-benzimidazol, aunque los espectros VCD registrados para ellas no resultaron fiables. Así, en la *Fig. 4.13* se puede observar cómo los espectros VCD de las caras A (anverso) y B (reverso) son imágenes especulares la una de la otra, lo cual nos indica que las señales VCD obteni-



**Figura 4.13:** Espectros IR (panel superior) y VCD (panel inferior) de las caras A (verde, anverso) y B (azul, reverso) de un pellet de KBr del compuesto 2-propil-1H-benzimidazol. Resolución de  $4\text{ cm}^{-1}$  para ambas caras y 2000 acumulaciones (*scans*) para la cara A y 600 para la cara B.

das podrían ser **artefactos** (ver subapartado *v. Metodología experimental llevada a cabo para medidas VCD de muestras sólidas*) [15-17].

*b) Preparación de muestras en disolución*

Se preparó cada disolución con una molaridad determinada (ver *Tabla 4.2*) y se usó una celda desmontable para líquidos de espaciador variable (ver *panel b* de la *Fig. 4.12*) para los correspondientes registros de los espectros IR-VCD de las muestras estudiadas. En el siguiente subapartado *iii.* se mencionan los espaciadores empleados.

*iii. Optimización de las condiciones experimentales: concentración, paso óptico, resolución espectral y acumulaciones*

La concentración y el camino óptico deben ajustarse de tal forma que las bandas IR de interés de la muestra presenten, en principio, una **absorbancia idónea** para llevar a cabo registros VCD; según nuestra experiencia esta está **entre 0,3 y 0,6**. Esto puede ser debido a varias razones: i) Los detectores IR tienen un ruido constante que proviene del *background*; ii) La posible saturación del detector si la absorbancia medida es superior a 0,6, ya que estos detectores poseen una pequeña superficie de detección y al focalizar el haz, los problemas de saturación pueden aparecer; iii) Para absorbancias superiores a 0,6, la ley de Lambert-Beer empieza a no cumplirse, lo que puede dar lugar a medidas erróneas.

De hecho, cuando una muestra presenta varias bandas IR de interés con absorbancias distintas, se recomienda realizar medidas separadas de las bandas con mayor y menor intensidad, variando los caminos ópticos y optimizando, de esta forma, cada conjunto de bandas por separado [9].

Los **espaciadores** que hemos empleado para los registros VCD de muestras en disolución han sido de 6 o 15  $\mu\text{m}$  para disoluciones acuosas y de 50 o 100  $\mu\text{m}$  generalmente para disoluciones no acuosas.

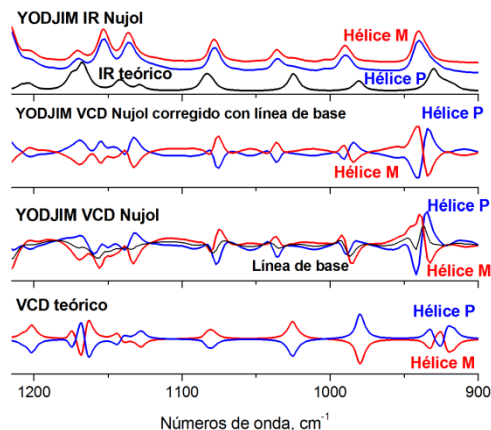
A menos que se indique lo contrario, la **resolución** que hemos empleado ha sido de 4 a 8  $\text{cm}^{-1}$  para suspensiones y películas delgadas y entre 4 y 8  $\text{cm}^{-1}$  para disoluciones. El número de **acumulaciones** usado para las películas delgadas y suspensiones ha sido desde 8000 *scans* o barridos (ver subapartado “*v. Metodología experimental llevada a cabo para medidas VCD de muestras sólidas*”) hasta incluso 28000 *scans* (caso de los carbohidratos) y desde 2000 hasta 16000 *scans* para las disoluciones.

*iv. Corrección de la línea de base*

Después del registro de un espectro VCD, es necesario llevar a cabo una corrección de la línea de base para compensar las **desviaciones** que se producen en ella con respecto al verdadero cero del espectro VCD de la muestra [9]. Además, la línea de base de un equipo VCD va cambiando a lo largo del día debido a diferentes efectos asociados con la temperatura en la sala, al calentamiento de los componentes ópticos del equipo, del detector, etc. La corrección de la línea de base se puede llevar a cabo de distintas formas:

- **Corrección con la semi-suma de enantiómeros puros.** Medir en las mismas condiciones (camino óptico y concentración) los espectros VCD de los enantiómeros puros de la muestra. Si realizamos la media de los mismos, obtenemos un espectro VCD que es la línea de base libre de artefactos. Esta línea de base la sustraemos al espectro VCD que deseamos corregir. Es la manera más precisa de corregir la línea de base. Podemos ver un ejemplo en la *Fig. 4.14*.
- **Corrección con el racemato.** Si disponemos de uno sólo de los enantiómeros de una muestra y no del otro, y también de la mezcla racémica, puede usarse el espectro VCD de la misma para sustraerlo al del enantiómero del que disponemos.
- **Corrección sólo con el *background*.** Si disponemos de uno sólo de los enantiómeros de una muestra y no del otro, ni tampoco de la mezcla racémica, la línea de base debe ser corregida empleando el espectro VCD del disolvente o del aceite mineral empleado, registrado bajo las mismas condiciones que se emplearon para la medida de la disolución o la emulsión de la muestra quiral, respectivamente (ver *Fig. 4.14*).

Recientemente, se han comercializado equipos de la casa Biotools en los que se incorporan **dos PEM**, uno antes de la muestra y otro después. De esta forma, se pueden reducir e incluso eliminar los desplazamientos de la línea de base que tienen lugar a lo largo del día y los artefactos de absorción que aparecen cuando la línea de base está muy desviada del cero. También se puede usar adicionalmente una **celda rotatoria** para la muestra. Así, se puede ir midiendo de forma dinámica la línea de base VCD con el segundo PEM al mismo tiempo que se está midiendo también el VCD de la muestra con la misma línea de base con el primer PEM. El requisito óptico más importante es que el perfil del haz IR esté cercano al de los dos PEM. Se puede obtener en tiempo real el espectro VCD de la muestra con la línea de base corregida [9,15].



**Figura 4.14:** Espectros IR experimentales y teóricos (panel superior) y espectros VCD experimentales (paneles intermedios superiores e inferiores) y teóricos (panel inferior) del compuesto 3-(perfluoroetil)-4,5,6,7-tetrafluoro-1*H*-indazol (YODJIM) en suspensión de nujol en la región espectral 1215-900  $\text{cm}^{-1}$ . En el panel medio inferior, los espectros VCD brutos se corrigieron restándoles las señales de nujol. La media de estos espectros VCD de las hélices *P* y *M* corregidos con nujol proporciona la línea de base adoptada en estos casos, la cual se resta a estos dos espectros VCD, dando lugar así a los espectros VCD corregidos con dicha línea de base y que son mostrados en el panel intermedio superior.

*v. Metodología experimental llevada a cabo para medidas VCD de muestras sólidas*

Llevar a cabo registros VCD de muestras sólidas (especialmente películas delgadas o suspensiones en nujol o fluorolube) no es, en general, una tarea fácil. Cuando realizamos el registro de un espectro VCD de una muestra sólida isotrópica (ver subapartado *v.*, del punto 2.1.5. del capítulo 2) obtenemos señales VCD libres de artefactos, siendo estos señales VCD falsas. Sin embargo, los espectros VCD de **muestras sólidas anisotrópicas** muestran una **dependencia con la orientación** de la **muestra** [16]. Esta dependencia puede relacionarse con la presencia de artefactos debidos a efectos de birrefringencia lineal (**LB**) y dicroísmo lineal (**LD**, del inglés *linear dichroism*) que, como antes se ha dicho, pueden solapar con las verdaderas señales VCD y hacer que pueda llegar a ser difícil distinguir unas de otras. Por tanto, se pueden llegar a inutilizar los registros de aquellos lugares o zonas del espectro VCD en los que unas y otros aparecen superpuestos [17].

Incluso si la muestra es aquiral y, por tanto,  $CD = 0$ , se puede obtener un espectro VCD falso de la misma cuando la muestra posee grandes contribuciones de LD y LB [16].

*Buffeteau y cols.* [16] publicaron una **metodología** con la que se puede llegar a conseguir **eliminar** efectos indeseables (**artefactos**) que pueden producirse, como antes se ha dicho, debido a la dependencia de los registros obtenidos con la orientación de la muestra, realizando para ello la media de dos espectros VCD de la misma registrados en orientaciones seleccionadas de ella. De esta forma, se modifica convenientemente el ángulo de incidencia del haz de propagación de la luz sobre la muestra, de manera que la media de los dos espectros VCD registrados para ella nos proporcione un verdadero espectro VCD con ausencia de artefactos. Para que esta metodología se pueda llevar a cabo y pueda ofrecer buenos resultados, una de las orientaciones elegidas tiene que ser aquella que conlleve la máxima anisotropía en el trayecto del haz de propagación de la radiación IR. Para determinar dicha orientación, tienen que llevarse a cabo medidas previas de dicroísmo lineal con la muestra en estudio. Esta metodología fue formulada para cualquier muestra sólida en capa delgada y anisotrópica que tuviera birrefringencia lineal (LB) y circular (CB) y propiedades dicroicas (LD y CD).

Posteriormente, *Merten y cols.* [17] desarrollaron otra metodología con la que también consiguen **eliminar** los efectos de **birrefringencia lineal** y **dicroísmo lineal** sin necesidad de que una de las orientaciones de la muestra tenga que ser la de máxima anisotropía, pudiendo ser las orientaciones arbitrarias. En este caso, realizan la media de 4 espectros VCD, registrados con orientaciones distintas y seleccionadas. En el artículo en el que explican dicha metodología, exponen una aproximación teórica sobre cómo extraer el verdadero espectro VCD libre de contribuciones de birrefringencia lineal y dicroísmo lineal, corroborada por su aplicación al registro de espectros VCD de películas de polímeros acirales, los cuales (como debe ser) dan finalmente una línea plana como espectro VCD después de haber eliminado las contribuciones lineales. Esta **metodología de Merten y cols.** [17] es la que hemos seguido en nuestro trabajo para el registro de los espectros VCD de muestras en películas delgadas y suspensiones en nujol y fluorolube.

En la aproximación teórica, la intensidad de la señal detectada ( $I_d$ ) puede ser obtenida evaluando la siguiente expresión matemática basada en las partes de un equipo espectroscópico VCD estándar (ver *Fig. 4.15*), dentro del formalismo de Stokes [16,17]:

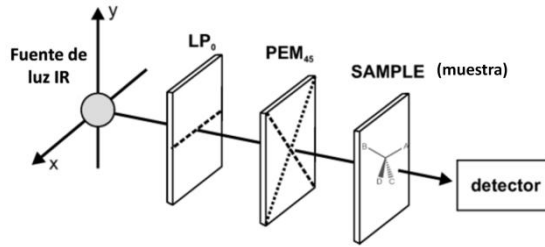
$$I_d = D \cdot SAMPLE(\Theta) \cdot PEM_{45} \cdot LP_0 \cdot I_0 \quad (4.5)$$

donde  $I_0$  es la intensidad de la luz incidente,  $D$ ,  $SAMPLE(\Theta)$ ,  $PEM_{45}$  y  $LP_0$  son las matrices Mueller del detector, de la muestra, del modulador fotoelástico y del polarizador lineal, respectivamente [13]. Las matrices Mueller en dicha ecuación

representan la influencia de los elementos ópticos y la muestra sobre el haz de luz incidente.  $\Theta$  es el ángulo de rotación de la muestra en el plano perpendicular

al haz de propagación (llamada rotación en el plano). Se considera una muestra anisotrópica que presenta dicroísmo circular (CD), birrefringencia circular (CB), dicroísmo lineal (LD) y birrefringencia lineal (LB). Es importante tener en cuenta que

$CD \sim A_{lcp} - A_{rcp}$ ,  $CB \sim n_{lcp} - n_{rcp}$ ,  $LD \sim A_x - A_y$  y  $LB \sim n_x - n_y$  (ver subapartados *iii.* y *v.* del punto 2.1.5. del capítulo 2).



**Figura 4.15:** Esquema ilustrativo del dispositivo VCD empleado. Imagen tomada de la Fig. 1 de la referencia 17, convenientemente modificada.

Después de una serie de simplificaciones, entre las cuales *Merten y cols.* consideran que la muestra orientada cumple que  $(CD, CB) \ll (LD, LB)$ , que la birrefringencia estática residual del PEM,  $\Phi$ , es pequeña y que las imperfecciones de polarización del detector son despreciables, estos autores llegan a una ecuación en la que la señal VCD detectada ( $S_{VCD}$ ) solamente depende de cuatro componentes de la matriz Mueller de la muestra, esto es:

$$S_{VCD} = CD + 0.5(LB \cdot LD' - LD \cdot LB') - \sin\Phi(LD' \sin 2\Theta - LD \cos 2\Theta) + \frac{(p_x^2 - p_y^2)}{(p_x^2 + p_y^2)} [LB' \cos 2(\alpha - \Theta) - LB \sin 2(\alpha + \Theta)] \quad (4.6)$$

donde  $LD'$  y  $LB'$  corresponden a las contribuciones del dicroísmo lineal y de la birrefringencia lineal a  $45^\circ$ , respectivamente, y  $\Phi$  es la birrefringencia estática residual del PEM. Por su parte, el detector es considerado como un elemento óptico con sensibilidades  $p_x$  y  $p_y$  diferentes a lo largo de su eje óptico y un ángulo  $\alpha$  con respecto a las coordenadas del laboratorio.

*Buffeteau y cols.* no incluyen las contribuciones de  $LD'$  y  $LB'$ , ya que desaparecen al ajustar  $\Theta = 0^\circ$  a la orientación con el máximo de anisotropía lineal. El espectro VCD verdadero se puede conseguir registrando **dos espectros** en las **orientaciones  $\Theta = 0^\circ$  y  $\Theta = 90^\circ$**  y calculando la **media** de los mismos.

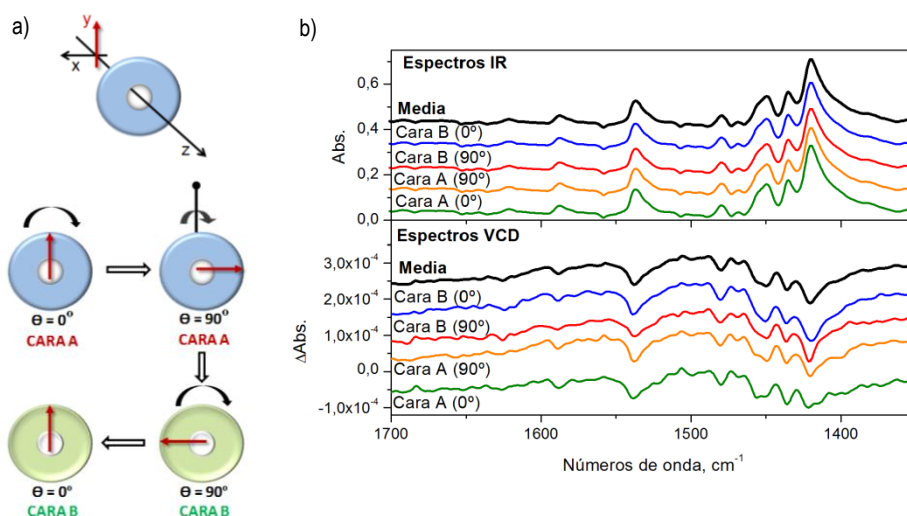
Según *Merten y cols.* si calculamos la semisuma de los espectros VCD registrados en las orientaciones  $\Theta = 0^\circ$  y  $\Theta = 90^\circ$  sin ajustar previamente la orientación  $\Theta = 0^\circ$  al máximo de anisotropía lineal, obtenemos un espectro que ya tiene contribuciones de birrefringencia lineal y dicroísmo lineal:

$$\frac{S_{VCD}^{cara A}(\Theta) + S_{VCD}^{cara A}(\Theta + 90^\circ)}{2} = CD + 0.5(LB \cdot LD' - LD \cdot LB') \quad (4.7)$$

El término  $0.5(LB \cdot LD' - LD \cdot LB')$  cambia de signo si se rota la muestra  $180^\circ$  respecto al eje del haz, esto es,  $180^\circ$  a lo largo del eje  $y$ . Por tanto, rotamos desde la cara A (anverso) a la B (reverso), en la llamada rotación fuera del plano (ver *panel a* de la *Fig. 4.16*). Este cambio de signos está relacionado con las contribuciones lineales de  $45^\circ$ .

Llevando a cabo el registro de **4 espectros VCD** de las orientaciones de la muestra  $\Theta = 0^\circ$  y  $\Theta = 90^\circ$  en la cara **A** y  $\Theta = 0^\circ$  y  $\Theta = 90^\circ$  en la cara **B**, y calculando la **media** de los mismos, se puede obtener el verdadero espectro VCD de una muestra sólida (siendo la elección de  $\Theta$  arbitraria) [17]:

$$VCD = \frac{S_{VCD}^{cara A}(\Theta) + S_{VCD}^{cara A}(\Theta + 90^\circ) + S_{VCD}^{cara B}(\Theta) + S_{VCD}^{cara B}(\Theta + 90^\circ)}{4} \quad (4.8)$$



**Figura 4.16:** a) Rotaciones de la muestra con la dirección de propagación del haz de luz infrarroja como eje  $z$ ; b) Espectros IR (panel superior) y VCD (panel inferior) de la muestra 2-propil-1H-benzimidazol en fluorolube, mostrando los espectros registrados en 4 orientaciones diferentes: cara A ( $0^\circ$ ), cara A ( $90^\circ$ ), cara B ( $90^\circ$ ) y cara B ( $0^\circ$ ). La imagen del panel a) ha sido construida a partir de la *Fig. 2* de la referencia 17.

Para tener en cuenta la aplicación de los fundamentos metodológicos mencionados anteriormente en experimentos de registros de espectros VCD, es muy importante prestar especial atención a:

- La **rotación** de la muestra. Hay que asegurarse de que la sección de la muestra que es iluminada no cambie durante cualquiera de las 4 rotaciones [17].

- Las **irregularidades del haz de luz**, como por ejemplo, forma de la sección del haz y reparto de intensidad en la sección del haz, ya que una ligera variación de la intensidad de la sección del haz puede tener una gran influencia sobre las intensidades y formas de las bandas VCD [17].

Como hemos comentado en el subapartado *ii. Tratamiento de muestra*, es muy importante preparar una emulsión muy bien homogeneizada o una película lo más transparente y delgada posible, según el caso de que se trate.

Nosotros hemos registrado, para cada película delgada o suspensión en nujol o fluorolube de las muestras estudiadas, los espectros VCD de dichas muestras en cada una de las 4 orientaciones mencionadas anteriormente y realizado la media de los 4 espectros VCD resultantes (siempre que no se observasen apreciables contribuciones de artefactos en cualquiera de ellas). En la mayoría de casos, el número de acumulaciones ha sido 2000 para cada orientación y la resolución  $4\text{ cm}^{-1}$ , obteniendo finalmente un espectro **VCD medio de 8000 acumulaciones**.

En el caso de las **suspensiones en nujol o fluorolube** de las muestras estudiadas, siempre hemos preparado varias suspensiones de la misma muestra hasta conseguir la **absorbancia óptima** para la cual los 4 espectros **VCD** de las distintas orientaciones fueran **idénticos** (ver *panel b* de la *Fig. 4.16*). De esta forma, lográbamos obtener espectros VCD reproducibles independientemente de la orientación de la muestra. En alguna ocasión, nos hemos encontrado con alguna banda muy intensa que resultaba ser un artefacto y no una banda VCD verdadera, en cuyo caso tales registros espectrales se eliminaban y no se acumulaban con el resto. Asimismo, para cada muestra se han realizado varios registros VCD de distintas porciones de la misma (cada uno de ellos con sus correspondientes 4 orientaciones registradas) para corroborar que las señales VCD que estábamos obteniendo eran correctas y fiables al ser en todos los casos las mismas. Como ejemplo de la metodología seguida, en el *panel b* de la *Fig. 4.16* se muestran los espectros IR-VCD registrados en las 4 orientaciones referidas para una muestra de cristales quirales del compuesto 2-propil-1*H*-benzimidazol en suspensión de fluorolube.

Del mismo modo, para el caso de los registros de espectros VCD mediante la preparación de **películas delgadas** de determinados sistemas moleculares quirales, también se llevaron a cabo diferentes preparaciones de cada una de ellas hasta conseguir **idénticos** espectros **VCD** en las 4 referidas orientaciones. En concreto, el registro de los espectros VCD de películas delgadas de aminoácidos requirió llevar a cabo un trabajo muy tedioso. Por ejemplo, para el catión de la *L*-cisteína, no fue posible obtener un espectro VCD de confianza debido a la

potencial presencia de artefactos. Esto ocurría porque, al depositar una gota de disolución sobre la ventana transparente de los soportes Real Crystal (ver subapartado *ii. Tratamiento de muestra*) y dejarla secar hasta evaporación completa del disolvente, la película no quedaba transparente y homogénea, sino con pequeñas partículas sólidas depositadas en su superficie, lo cual originaba una dirección preferente para la luz, dando lugar, en consecuencia, a múltiples artefactos difíciles de eliminar.

#### 4.2.4. Aplicaciones

En general, la técnica VCD puede ser usada para llevar a cabo diferentes tipos de análisis relativos a la estructura y las posibles conformaciones de muchas moléculas de interés biológico, atmosférico y/o tecnológico, de manera que a continuación relacionaremos algunas de sus principales aplicaciones en dichos campos, esto es:

- Determinación de la **pureza enantiomérica** de una muestra relativa a un estándar conocido, sin tener que llevar a cabo una separación enantiomérica o derivatización.
- Determinación de **excesos enantioméricos** en compuestos quirales, tanto en fase líquida como sólida (cristales).
- Determinación de **configuraciones absolutas** (en disolución) sin cristalización: complejos de metales de transición, fármacos quirales, aminoácidos, péptidos, proteínas, carbohidratos, nucleótidos, bacterias, etc. [9].
- Determinación de **confórmeros** en disolución de grandes y pequeñas moléculas biológicas flexibles y quirales: proteínas, péptidos, azúcares y ADN/ARN. En este tema de la aplicación de la técnica para la determinación de perfiles/paisajes conformacionales de especies moleculares, incluyendo la aplicación de un análisis vibracional previo usando los resultados de las técnicas espectroscópicas no sensibles a la quiralidad (IR y Raman) y los correspondientes cálculos clásicos (campos de fuerzas escalados) y cuánticos, también en nuestro grupo (y en alguna buena medida en esta tesis, sobre todo con especies de aminoácidos a diferentes pHs y polaridades) hemos sido casi, cuando no, pioneros del todo.
- Determinación de **configuraciones absolutas de hélices supramoleculares** en muestras de cristales de compuestos aquirales que forman conglomerados cateméricos (desdoblamiento espontáneo o resolución espontánea).

- **Reconocimiento quiral** de complejos formados por interacciones no covalentes entre especies moleculares sencillas (huéspedes) y receptores macromoleculares (anfitriones).
- Control **simultáneo** de la **pureza óptica** de múltiples especies quirales, tales como reactivos y productos en una reacción [7-9].

#### 4.2.5. Ventajas y desventajas

##### *Ventajas*

- En general, no se destruyen las muestras, lo cual es importante, sobre todo si el precio de las mismas es elevado o son difíciles de obtener.
- Se pueden analizar tanto muestras en estado sólido como líquido.
- Amplio rango de medida, desde 900 a 4000  $\text{cm}^{-1}$ .
- Se obtiene una gran información estructural sobre las biomoléculas (configuraciones absolutas y conformaciones  $\rightarrow$  diferenciación de enantiómeros).
- Las medidas suelen requerir pequeñas cantidades de muestra.

##### *Desventajas*

- El largo tiempo de adquisición que requiere cada medida.
- La baja intensidad que poseen algunas señales.
- La posible presencia de artefactos que puedan complicar la interpretación de los resultados e incluso llevar a error, si no se tiene el debido cuidado.
- El resto de inconvenientes propios de la espectroscopía IR (ej: la presencia de  $\text{H}_2\text{O}$ ).

### 4.3. Espectrómetro FT-Raman

#### 4.3.1. Partes del equipo

En la presente tesis se ha empleado un espectrómetro Raman con transformada de Fourier MultiRAM Stand Alone de la casa comercial Bruker. En la *Fig. 4.17* podemos ver simplificada las partes que constituyen el equipo.

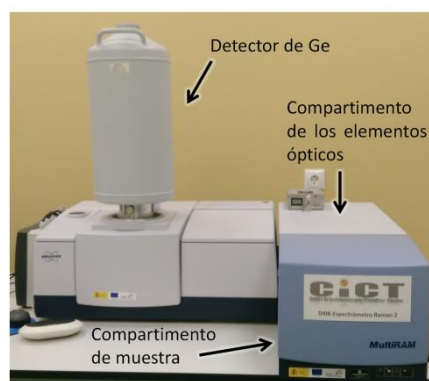
##### *i. Fuente de luz*

La fuente de excitación es un **láser de Nd:YAG**, el cual emite radiación a **1064 nm** (emite en el IR) con una potencia máxima de 1000 mW [18]. El funcionamiento del láser está controlado por el software del instrumento y lleva asociado un sofisticado equipo de lentes y redes de difracción. Es necesario el uso de la radiación láser porque la intensidad Raman es del orden de  $\approx 10^{-8}$ - $10^{-11}$  veces la intensidad de la radiación incidente. La radiación láser tiene unas características que la hacen ideal para este tipo de espectroscopía: su direccionalidad, monocromaticidad, intensidad y coherencia.

Las fuentes de radiación láser han revolucionado la espectroscopía, pues permiten la obtención de espectros con mayor resolución y han permitido el desarrollo de diversas técnicas espectroscópicas [3,9,19].

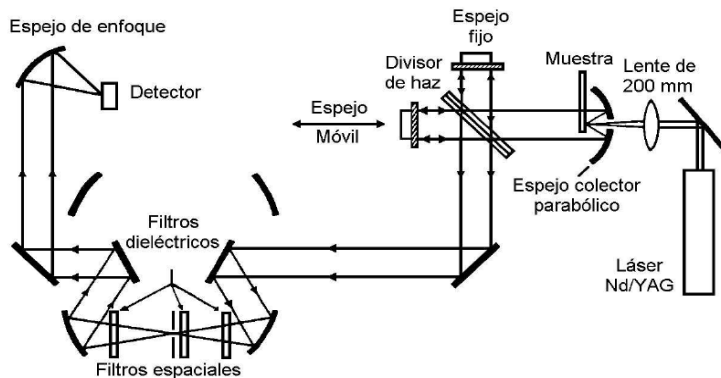
##### *ii. Otros elementos*

La **lente** de 200 mm se emplea para focalizar la luz del láser. El **espejo colector parabólico** se coloca para que toda la radiación posible que dispersa la muestra llegue al interferómetro. El funcionamiento del interferómetro se ha explicado en el subapartado *iii.* del punto 4.1.1. “Partes del equipo” del Espectrómetro FT-IR. El divisor de haz es de cuarzo y la óptica está recubierta de oro.



**Figura 4.17:** Imagen del espectrómetro Bruker FT-Raman MultiRAM Stand Alone de la Universidad de Jaén en la que se indican simplificada las partes que lo componen.

Después de atravesar el interferómetro, la radiación llega a una serie de **filtros** que se encargan de eliminar la componente elástica de la radiación dispersada por la muestra (Rayleigh). A continuación se puede ver un diagrama con las distintas partes del equipo FT-Raman, esquemáticamente representadas.



**Figura 4.18:** Diagrama que muestra esquemáticamente las distintas partes de un espectrómetro FT-Raman. Imagen tomada de la referencia 19.

El aparato posee una bandeja móvil que se puede mover en las tres direcciones espaciales y en la cual se sitúa el soporte con la muestra.

### iii. Detector

La radiación es enviada posteriormente a su paso por la muestra a un detector que nos transforma esta señal luminosa en una señal eléctrica, que será enviada a un sistema de registro (ordenador), el cual realiza la transformada de Fourier al interferograma, suministrándonos un espectro Raman.

El detector está constituido por **Germanio**, enfriado a la temperatura del N<sub>2</sub> líquido (77 K). Posee un depósito de N<sub>2</sub> que puede durar 5 días.

El funcionamiento del aparato está controlado por el software OPUS (versión 7.0) [18] de la casa comercial Bruker. El rango espectral en el que se realizaron las medidas de las muestras líquidas fue 4000-500 cm<sup>-1</sup> y para las sólidas 4000-50 cm<sup>-1</sup>. Para las muestras sólidas se puede registrar el espectro en todo el rango del espectrómetro. En cambio, para las muestras líquidas (especialmente en H<sub>2</sub>O), el disolvente interfiere en algunas zonas y el rango útil se reduce. La resolución espectral y la velocidad de barrido se comentan en el siguiente punto 4.3.2.

### 4.3.2. Tratamiento de muestra y condiciones experimentales

El registro de espectros Raman no requiere generalmente preparación alguna de muestra, de manera que directamente se introduce el sólido en un soporte estándar para sólidos o la disolución en una cubeta para líquidos.

Todos los espectros Raman fueron registrados a **temperatura** ambiente, exceptuando aquellos de la *D*-ribosa, 2-deoxi-*D*-ribosa y del  $\gamma$ -terpineno. Los espectros Raman de los dos primeros compuestos se registraron también a 323 K (50 °C) y 353 K (80 °C), tanto en fase sólida como en disolución, y los del  $\gamma$ -terpineno a 77 K (-196 °C), aproximadamente, empleando en los tres casos una celda de temperatura variable (ver subapartado *ii.* del siguiente punto 4.3.3. “Accesorios”).

La **resolución** experimental fue 1-2 y 4-8  $\text{cm}^{-1}$  para los espectros del sólido y de las disoluciones, respectivamente. Se llevaron a cabo 200 o 300 **barridos** (*scans*) según la muestra estudiada.

### 4.3.3. Accesorios

#### *i. Cubetas para líquidos y soportes para sólidos*

Para la medida de las disoluciones se emplearon cubetas para líquidos estándar y para las medidas de las muestras en fase sólida se usaron soportes estándar para sólidos. La manipulación de las muestras en espectroscopía Raman es más sencilla que en espectroscopía IR, debido a que puede emplearse el vidrio para las ventanas, lentes y otros componentes ópticos en lugar de los haluros cristalinos que resultan más frágiles y menos estables a los componentes atmosféricos, como, por ejemplo, frente al agua. Además, la fuente láser se puede enfocar con facilidad sobre una zona pequeña de la muestra y, a su vez, la radiación emitida enfocarla eficazmente sobre una rendija.

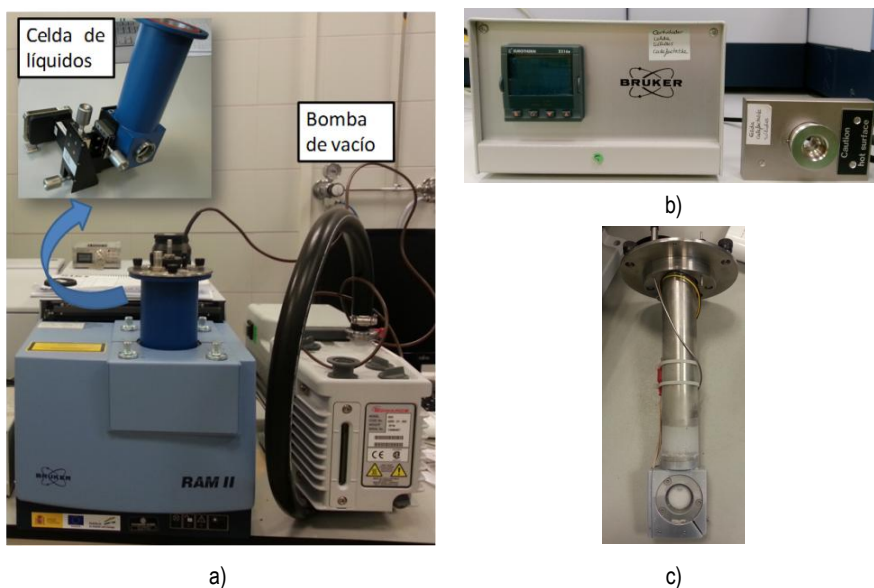
#### *ii. Celdas de temperatura variable*

Para la obtención de los espectros Raman a distintas temperaturas se emplearon una celda de temperatura variable de la marca SPECAC para líquidos y otra para sólidos. Para el estudio de espectros IR de muestras líquidas a distintas temperaturas se usó una celda de temperatura variable similar.

La **celda para líquidos** (ver *Fig. 4.19*) consiste en una cámara de vacío con ventanas de cuarzo o KBr para el estudio de espectros Raman o IR, respectivamente. En esta cámara se introduce un sistema termostático Dewar en el que se encuentra el portamuestras. Podemos alcanzar temperaturas de hasta 77

K (-196 °C), adicionando N<sub>2</sub> líquido al termostato Dewar, y de hasta 523 K (250 °C), gracias al sistema de calefacción eléctrica del que dispone. En el caso del enfriamiento también se hace uso de una bomba de vacío, para extraer todo el aire que pueda existir previamente en la cámara. La temperatura se monitoriza mediante un controlador de temperatura digital.

La **celda para sólidos** (ver *Fig. 4.19*) está formada por una pletina con un orificio de 13 mm, en cuyo interior se deposita el soporte estándar para sólidos con la muestra. Al igual que en el caso anterior, un controlador de temperatura digital nos permite seleccionar la temperatura a la que queremos registrar el correspondiente espectro Raman, pudiéndose alcanzar temperaturas de hasta 453 K (180 °C). Esta celda también se puede usar para realizar registros IR o VCD de pastillas de KBr, cuyo diámetro es también de 13 mm, aproximadamente, acoplando la misma al equipo correspondiente. Particularmente, se llevaron a cabo registros VCD de cristales de la muestra 2-propil-1*H*-benzimidazol a distintas temperaturas empleando este accesorio y unas ventanas de BaF<sub>2</sub> de 13 mm de diámetro construidas artesanalmente para este trabajo a partir de otras más grandes (ver punto 6.1.6. del capítulo 6).



**Figura 4.19:** a) Cámara de vacío de la celda de temperatura variable para líquidos y bomba de vacío, b) Pletina para calentamiento de muestras sólidas y c) Sistema termostático Dewar con  $\gamma$ -terpineno congelado en el interior del portamuestras.

## 4.4. Espectrómetro Microondas

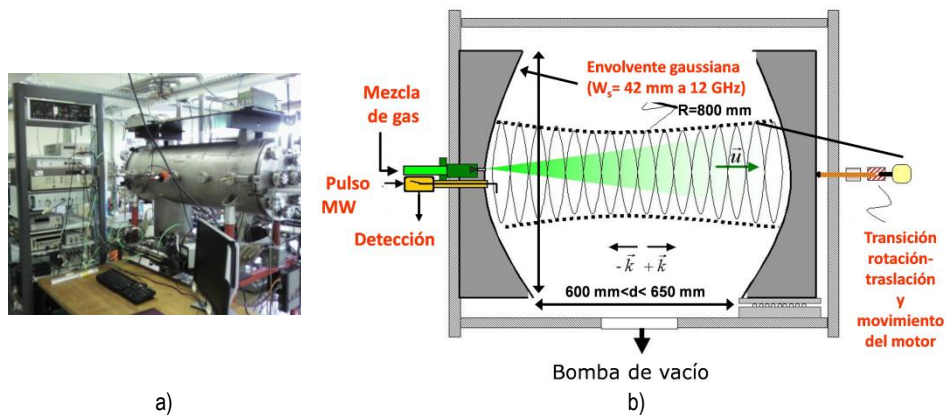
### 4.4.1. Espectrómetro de pulsos microondas por transformada de Fourier

El equipo conocido como **MB-MWFT** en inglés (*Molecular Beam-Microwave Fourier Transform spectrometer*) se encuentra disponible en **Lille** (Francia), en el Laboratorio PhLAM (Laboratoire de Physique des Lasers, Atomes et Molécules), UFR de Physique, Université Lille 1. Tal y como se comenta en el capítulo 1 “Introducción”, gracias a la estancia de un mes en el grupo de investigación liderado por la Prof. Thérèse Huet en dicha universidad se pudo aprender sobre esta técnica para analizar la estructura de los compuestos terpénicos **óxido de limoneno y  $\gamma$ -terpineno en fase gas**.

El funcionamiento de un espectrómetro MB-MWFT podría resumirse en los siguientes pasos:

- 1) La muestra (los terpenos óxido de limoneno o  $\gamma$ -terpineno en fase líquida, en nuestro caso) se introduce en un inyector que es calentado a 353 K (80 °C) para conseguir la **vaporización** del compuesto. Este inyector se encuentra conectado a una tobera, situándose ambos en el lado posterior del espejo fijo del resonador.
- 2) Antes de la vaporización de la muestra un gas portador inerte ha sido inyectado en la tobera a una determinada presión de trabajo empleando una válvula pulsada (1,5 Hz), en nuestro caso Neón a 2 bares. De tal forma que cuando la **muestra** es vaporizada, las moléculas de la misma y del **gas portador colisionan** en el interior de la tobera (inicio de la expansión) y se **expanden supersónicamente** a través de ella en condiciones de alto vacío ( $10^{-4}$ - $10^{-6}$  mbar) en una **cavidad resonante**, llamada **Fabry-Pérot**. La muestra se encuentra muy diluida en el gas portador ( $\approx 1\%$ ) [20,21].

Este **resonador** está constituido por dos espejos esféricos, uno fijo y otro móvil (un carril motorizado lo desplaza). La distancia entre estos dos espejos será distinta para cada una de las frecuencias de polarización con la que queramos trabajar. La función del resonador es almacenar y amplificar la energía, la cual va a interactuar con las moléculas de la muestra sometida a estudio y que hemos introducido en la cavidad en una expansión supersónica. Esta cavidad resonante selecciona una dirección de amplificación de la radiación preferente, normalmente en el eje de unión de los dos espejos (modo longitudinal) [20,22].



**Figura 4.20:** a) Imagen de uno de los espectrómetros microondas disponibles en Lille y b) Esquema de la geometría de la cavidad resonante Fabry-Pérot (imagen tomada de la referencia 20 adecuadamente modificada).

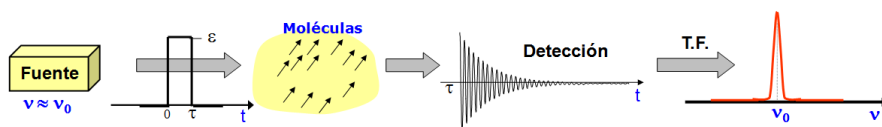
En la tobera tienen lugar un gran número de colisiones que reducen de forma considerable las temperaturas de vibración y de rotación ( $T_{rot} \approx 1K$ ) de las moléculas de la muestra, ya que las energías de uno y otro tipo son transferidas al gas portador (monoatómico), el cual al carecer de grados de libertad vibracionales y rotacionales las utiliza como energía de translación, lo cual implica que llegue a alcanzar **velocidades supersónicas** en la expansión. Al avanzar la expansión de la muestra en el gas portador, tanto las colisiones como la densidad de moléculas decrecen y estas entran en una región de flujo libre de colisiones (**zona de silencio**) y sin interacciones intermoleculares [20].

La longitud (del orden de algunos cm) y el diámetro (del orden del mm) de la **tobera** son decisivos para que la expansión supersónica se lleve a cabo adecuadamente. Hay una **válvula pulsada** (puede ser metálica o de plástico) que controla la duración (500-1000  $\mu s$ ) y la frecuencia (1-2 Hz) con la que se introduce el gas portador conteniendo la muestra. Antes de que la radiación microondas incida sobre la mezcla de los gases (muestra + portador) para llevar a cabo la medida del espectro rotacional, se espera un **tiempo** (300-600  $\mu s$ ) para que el chorro (*jet* en inglés) de dicha mezcla propulsada supersónicamente se **estabilice** de forma adecuada [20,21].

- 3) Después se aplica un **pulso** de radiación **microondas** (2  $\mu s$ ) que **polariza** las moléculas macroscópicamente en el *jet*, siempre que la frecuencia de la misma sea resonante con la correspondiente a una determinada transición rotacional de la molécula en estudio. Tras la absorción del pulso, las moléculas se desexcitan emitiendo radiación en la región espectral de microondas, la cual se corresponde con una **transición rotacional** de la molécula. Entonces, se esperan unos 5-20

$\mu\text{s}$  antes de iniciar el proceso de **detección** de la radiación emitida por la muestra y su correspondiente registro espectral, para así detectar sólo la señal procedente de las moléculas y no la energía de la cavidad, la cual se habrá relajado tras ese tiempo de espera. La antena insertada en el espejo fijo sirve tanto para la inyección del pulso microondas como para la detección de la señal molecular.

- 4) La emisión de la radiación microondas por parte de las moléculas de la muestra se registra durante unos  $3200 \mu\text{s}$  en el dominio del tiempo y mediante una **transformada de Fourier** se obtiene la señal registrada en el dominio de las frecuencias. Cuando la diferencia entre los niveles energéticos rotacionales de la molécula sea la misma que la del pulso de microondas se obtendrá una señal molecular. El espectro de rotación se construye escaneando el rango de frecuencias deseado.



**Figura 4.21:** Esquema simplificado del funcionamiento de un espectrómetro microondas con transformada de Fourier. Imagen tomada de la referencia 20 y adecuadamente modificada.

Debido al **efecto Doppler**, las líneas espectrales aparecen como dobletes, pero haciendo la media aritmética de los dos picos obtenemos la transición rotacional a la frecuencia a la que la misma tiene lugar en las moléculas de la muestra (precisión en la frecuencia mejor que  $1 \text{ kHz}$ ) [20,21].

<b>Rango espectral:</b>	2-20 GHz	<b>Bomba secundaria:</b>	$10^{-9}$ bar
<b>Detección de absorciones débiles:</b>	$\alpha_{\min} \sim 10^{-8} \text{ cm}^{-1}$	<b>Duración de la inyección:</b>	500-1000 $\mu\text{s}$
<b>Alta resolución:</b>	FWHM $\approx 10 \text{ kHz}$	<b>Duración del pulso microondas:</b>	2 $\mu\text{s}$
<b>Precisión :</b>	$< 1 \text{ kHz}$	<b>Retraso heterodino:</b>	5-20 $\mu\text{s}$
<b>Automatización completa:</b>	LabView	<b>Retraso del tiempo de vuelo:</b>	300-600 $\mu\text{s}$
<b>Tomografía de 1 GHz:</b>	12 horas	<b>Frecuencia de inyección:</b>	1-2 Hz
<b>Temperatura de rotación:</b>	1-4 K	<b>Potencia del pulso microondas:</b>	10 $\mu\text{W}$ – 20 mW
<b>Presiones</b>			(-20 dBm – 15 dBm)
<b>Gas portador:</b>	1-5 bares		
<b>Moléculas madre:</b>	$10^{-2}$ bar		

**Tabla 4.3:** Características principales del nuevo espectrómetro microondas de cavidad instalado en Lille [21].

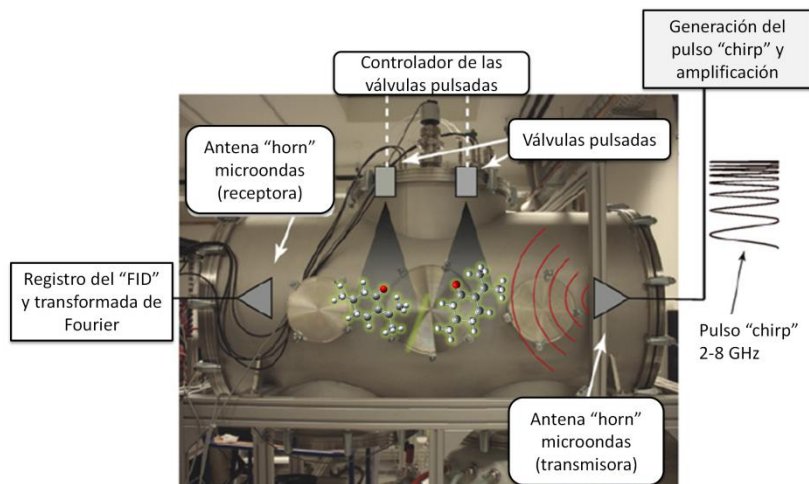
#### 4.4.2. Espectrómetro Microondas de banda ancha

La diferencia principal entre un espectrómetro microondas de cavidad y otro de banda ancha, conocido como **CP-FTMW** (del inglés *Chirped-Pulse Fourier Transform Microwave spectrometer*), es que en el de cavidad se obtiene el espectro rotacional por regiones espectrales del orden del MHz y en el de banda ancha es posible obtener el espectro rotacional en un rango de varios GHz de la molécula objeto de estudio completo en un corto intervalo de tiempo. Por contrapartida, en el espectrómetro de cavidad la resolución que se consigue es mucho mayor.

En particular, el espectrómetro microondas de banda ancha que se usó se encuentra disponible en **Hamburgo** (Alemania) en el grupo de investigación Max Planck “Structure and Dynamics of Cold and Controlled Molecules”, Max-Planck-Institut für Struktur und Dynamik der Materie. Gracias a la estancia realizada de dos meses en dicho grupo liderado por la Dra. Melanie Schnell se pudo aprender sobre la técnica y analizar en fase gas la estructura de la molécula **pulegona** (ver capítulo 1 “Introducción). Este equipo opera en la región 2-8 GHz [23]. En la referencia 23 se explica con detalle el dispositivo experimental y en la *Fig. 4.22* se muestra un esquema del mismo.

Se empleó también un equipo similar en el caso de la molécula R-(+)-óxido de limoneno, disponible en la institución King’s College London [24], siendo los registros microondas registrados realizados con este equipo por el grupo de M. Eugenia Sanz. De esta forma, se realizó un trabajo de colaboración combinando los resultados de ambos espectrómetros, MB-MWFT (Lille) y **CP-FTMW (Londres)**. El espectrómetro CP-FTMW de Londres opera en la región 2-8 GHz. Asimismo, los detalles experimentales de los registros llevados a cabo con este equipo son similares a los que se van a mencionar para la pulegona, aunque están especificados con detalle en el apartado 2.1. de la referencia 25.

En el estudio de la molécula R-(+)-pulegona, se usó también Neón como gas portador a una presión de 2 bares, el cual se hizo pasar a través de un depósito calentado a 353 K (80 °C) conteniendo la muestra R-(+)-pulegona, la cual es líquida a temperatura ambiente.



**Figura 4.22:** Esquema del espectrómetro microondas COMPACT disponible en Hamburgo. La parte del dispositivo correspondiente al *jet* molecular se encuentra entre las antenas *horns* receptora y transmisora. Imagen tomada de la referencia 23, adecuadamente editada.

El equipo CP-FTMW de Hamburgo dispone de un generador de onda arbitrario (**AWG**, del inglés *Arbitrary Waveform Generator*), el cual genera pulsos *chirps* de microondas de 6 GHz de anchura espectral (en la técnica de cavidad la anchura es de algunas centenas de kHz) dentro de un corto intervalo de tiempo (normalmente de 100 ns a 5  $\mu$ s), los cuales son amplificados mediante el amplificador de tubo de onda progresivo (*travelling wave tube amplifier* en inglés) e introducidos en la cámara de vacío con la antena *horn* transmisora. En la cámara, estos pulsos interactúan con las moléculas en la expansión supersónica. Cuando el pulso de excitación es resonante con una transición rotacional de las moléculas de la muestra, se origina una polarización macroscópica. Su decaimiento (*decay* en inglés) es monitorizado en función del tiempo como un decaimiento de inducción libre (o *free-induction decay* en inglés, para el que se acostumbra a usar el acrónimo **FID**), el cual es detectado por la antena *horn* receptora durante 50  $\mu$ s, siendo registrado y analizado mediante un osciloscopio del que se dota también al dispositivo. Así, por ejemplo, para el registro del espectro rotacional de la pulegona (ver *Fig. 5.29* del capítulo 5), se registraron y promediaron un total de un millón de FIDs. El espectro rotacional de las moléculas de la muestra estudiada se obtiene a través de la transformada de Fourier del FID promediado desde el dominio en el tiempo al dominio en frecuencias [23].

La resolución espectral es aproximadamente de 25 kHz y la temperatura rotacional en la expansión supersónica es  $\approx 1$  K.

Con la combinación de la espectroscopía de microondas de banda ancha y la técnica de “mezclado de tres ondas” (*three wave mixing* en inglés) es posible diferenciar entre enantiómeros dentro de una mezcla de moléculas quirales en fase gas [26-28]. También es posible medir el valor del exceso enantiomérico de mezclas y determinar la configuración absoluta de una molécula quiral [26-28].

#### 4.5. Referencias

---

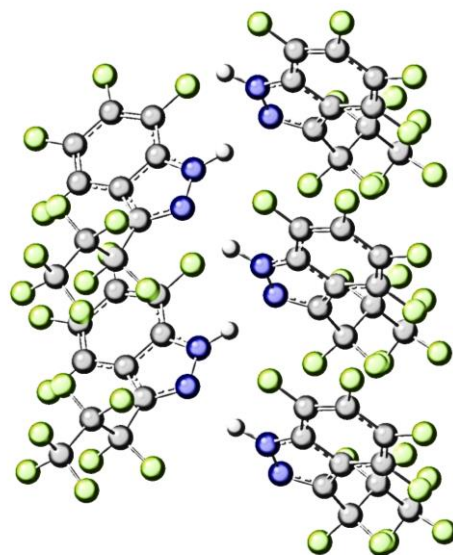
- [1] Manuales del espectrómetro FT-IR de dicroísmo circular vibracional Jasco FVS-4000.
- [2] Manuales del espectrómetro FT-IR Bruker Vertex 70.
- [3] M. Diem, *Introduction to Modern Vibrational Spectroscopy*, Wiley, New York, 1993.
- [4] D. C. Harris, *Análisis químico cuantitativo*, 3ª Edición, Reverté, Barcelona, 2007.
- [5] S. Wartewig, *IR and Raman Spectroscopy. Fundamental Processing*, Wiley, Weinheim, 2003.
- [6] H. A. Willis, J. H. Van der Maas, R. G. J. Miller (Eds.), *Laboratory Methods in Vibrational Spectroscopy*, 3ª Edición, Wiley, Chichester, 1987.
- [7] G. Yang, Y. Xu, *Top. Curr. Chem.* **298**, 189–236 (2011).
- [8] T. Taniguchi, N. Miura, S. Nishimura, K. Monde, *Mol. Nutr. Food Res.* **48**, 246–254 (2004).
- [9] L. A. Nafie, *Vibrational Optical Activity. Principles and Applications*, Wiley, New York, 2011.
- [10] <http://www.edmundoptics.es/optics/polarizers/linear-polarizers/>
- [11] J. C. Kemp, *J. Opt. Soc. Am.* **59**, 950–954 (1969).
- [12] K. W. Busch, M. A. Busch (Eds.), *Chiral Analysis*, Elsevier, New York, 2011.
- [13] Y. Shindo, *Opt. Eng.* **34**, 3369–3384 (1995).
- [14] K. W. Hipps, G. A. Crosby, *J. Phys. Chem.* **83**, 555–562 (1979).
- [15] L. A. Nafie, *Appl. Spectrosc.* **54**, 1634–1645 (2000).
- [16] T. Buffeteau, F. Lagugné-Labarthet, C. Sourisseau, *Appl. Spectrosc.* **59**, 732–745 (2005).
- [17] C. Merten, T. Kowalik, A. Hartwig, *Appl. Spectrosc.* **62**, 901–905 (2008).
- [18] Manuales del espectrómetro FT-Raman Bruker MultiRAM Stand Alone.
- [19] A. Requena, J. Zúñiga, *Espectroscopía*, Pearson Educación, Madrid, 2004.

- [20] Juan Ramón Avilés Moreno, *Flexibilité conformationnelle dans les amines, les sucres et leurs complexes hydratés étudiée par spectroscopie à impulsions microondes et calculs de chimie quantique*, Tesis doctoral, Université des Sciences et Technologies de Lille, U.F.R. de Physique, 2006.
- [21] M. Tudorie, L. H. Coudert, T. R. Huet, D. Jegouso, G. Sedes, *J. Chem. Phys.* **134**, 074314 (2011).
- [22] S. Kassi, D. Petitprez, G. Wlodarczak, *J. Mol. Spectr.* **517/518**, 375–386 (2000).
- [23] D. Schmitz, V. A. Shubert, T. Betz, M. Schnell, *J. Mol. Spectrosc.* **280**, 77–84 (2012).
- [24] D. Loru, M. A. Bermúdez, M. E. Sanz, *J. Chem. Phys.* **145**, 074311 (2016).
- [25] M. M. Quesada-Moreno, D. Loru, J. R. Avilés-Moreno, N. Jarman, T. R. Huet, J. J. López-González, M. E. Sanz, *ChemPhysChem*, aceptado Noviembre 2016. DOI 10.1002/cphc.201600991
- [26] D. Patterson, M. Schnell, J. M. Doyle, *Nature* **497**, 475–478 (2013).
- [27] V. A. Shubert, D. Schmitz, D. Patterson, J. M. Doyle, M. Schnell, *Angew. Chem. Int. Ed.* **53**, 1152–1155 (2014).
- [28] V. A. Shubert, D. Schmitz, C. Medcraft, A. Krin, D. Patterson, J. M. Doyle, M. Schnell, *J. Chem. Phys.* **142**, 214201 (2015).



# 5. QUIRALIDAD MOLECULAR DE LADRILLOS MODELO DE INTERÉS BIOLÓGICO Y DE SISTEMAS DE INTERÉS ATMOSFÉRICO

---





## 5. QUIRALIDAD MOLECULAR DE LADRILLOS MODELO DE INTERÉS BIOLÓGICO Y DE SISTEMAS DE INTERÉS ATMOSFÉRICO

### 5.1. *L*-Aminoácidos

Los espectros **IR**, **Raman** y **VCD** de los aminoácidos ***L*-serina**, ***L*-treonina**, ***L*-cisteína** y ***L*-valina** a **distintos pH** se analizaron con la ayuda de **cálculos químico cuánticos**, concluyendo la presencia de las especies catiónicas a pH 1.00<sup>1</sup>, zwitteriónicas a pH 6.00 y aniónicas a pH 13.00. También se analizó el paisaje conformacional de las distintas especies, concluyendo la presencia de los conformeros más estables. Los aminoácidos *L*-tirosina y *L*-fenilalanina se estudiaron también, pero únicamente en fase sólida, habiéndose analizado, por tanto, sólo la especie zwitteriónica para ellos. Todos estos trabajos se encuentran publicados en las referencias [1-5], se invita al lector a verlas.

A continuación, como muestra, consecuencia y aplicación del trabajo realizado sobre estos sistemas, se va a realizar un estudio comparativo entre las propiedades **estructurales y espectrales** de los aminoácidos *L*-treonina (***L*-Threo**) y *L*-valina (***L*-Val**), con especial incidencia en las similitudes y diferencias que pueden derivarse de nuestros resultados para ellos. En la *Fig. 5.1* se muestran las estructuras de los mismos, observándose que únicamente difieren en la presencia de un grupo metilo (*L*-Val) o hidroxilo (*L*-Threo) unido al C3.

#### 5.1.1. Motivaciones

La investigación de aminoácidos es un tema de interés fundamental para científicos de diversas disciplinas. Este interés es debido a su papel como **constituyentes básicos de proteínas** y a su habilidad para actuar como **ladrillos modelo** en la producción de metabolitos secundarios [6].

La ***L*-valina** es un aminoácido esencial sintetizado en plantas y microorganismos partiendo de ácido pirúvico y tiene una **cadena lateral** alifática que es un **grupo isopropilo** [7]. Debido a esto último, es conocido como un aminoácido **hidrofóbico** y se clasifica como **no polar**, junto con la alanina, isoleucina y leucina (ver *Tabla 5.1*). A estos dos últimos aminoácidos y a la valina se les llama “aminoácidos de cadena ramificada” [7]. Son claves en funciones sistémicas tales como homeostasis de nitrógeno y en la función neurológica [8].

---

<sup>1</sup> Hasta ahora se ha usado la coma para separar los números enteros de los decimales, pero en este capítulo 5 (y consecuentemente a como aparecen los datos y resultados en los correspondientes publicaciones que sobre la mayor parte de ellos ya se han hecho) se va a usar el punto como elemento separador.

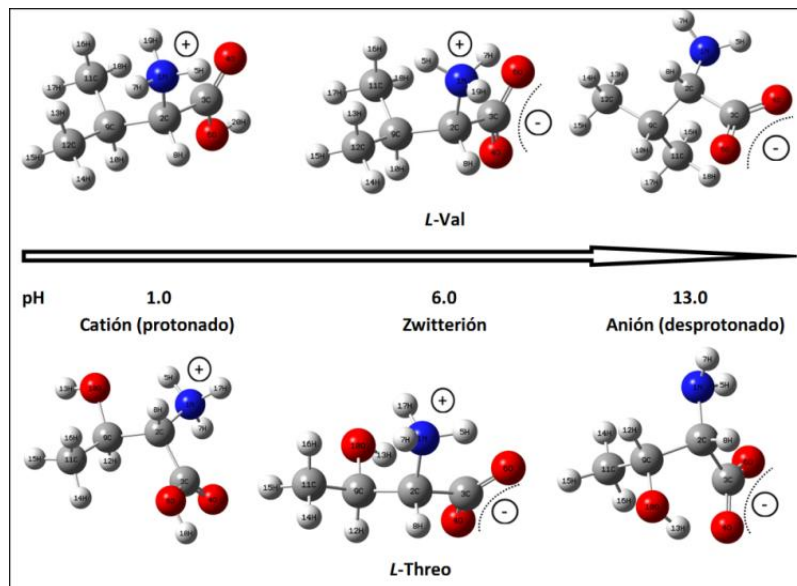
El carácter hidrofóbico de los aminoácidos es una de las propiedades fundamentales que determina la **estructura de las proteínas** [9].

<b>Apolares</b>	Glicina (Gly), alanina (Ala), valina (Val), leucina (Leu), isoleucina (Ile), metionina (Met), fenilalanina (Phe), triptófano (Trp) y prolina (Pro)
<b>Polares</b>	Serina (Ser), treonina (Threo), cisteína (Cys), tirosina (Tyr), asparagina (Asn) y glutamina (Gln)
<b>Ácidos o Básicos</b>	<b>Ácidos:</b> Aspartato (Asp) y glutamato (Glu) <b>Básicos:</b> Lisina (Lys), arginina (Arg) e histidina (His)

**Tabla 5.1:** Clasificación de los aminoácidos “estándares” según las propiedades fisicoquímicas de sus cadenas laterales [7].

Por otro lado, la **L-treonina**, al igual que la *L*-serina (*L*-Ser), es un aminoácido **polar**, conteniendo un grupo **hidroxilo** en su cadena lateral y participando en procesos biológicos cruciales como la biosíntesis y la fosforilación [10]. Junto con la isoleucina, es uno de los dos aminoácidos comunes que contienen algún centro quiral en su cadena lateral. El nombre *L*-treonina se usa para el diastereoisómero ácido (*2S,3R*)-2-amino-3-hidroxi-butanoico. El diastereoisómero (*2S,3S*) se denomina *L*-allo-treonina y raramente está presente en la naturaleza.

Existe una gran variedad de estudios previos sobre la *L*-Val y la *L*-Threo empleando distintas técnicas experimentales, los cuales se detallan en las referencias 4 y 2, respectivamente. Dentro de todos ellos, cabe resaltar los realizados por *Hernández y cols.* [11,12]. Concretamente, estos autores analizaron los espectros **IR** y **Raman** de la **L-Val** [11] y la **L-Threo** [12] en disoluciones de **H<sub>2</sub>O** y **D<sub>2</sub>O** en las regiones 1650-650 cm<sup>-1</sup> y 2000-500 cm<sup>-1</sup>, respectivamente, con la ayuda de cálculos **DFT**. Recientemente, *Ganesan y cols.* han estudiado algunos aminoácidos alifáticos, la *L*-Val entre ellos, en fase gas (forma neutra) y en disolución (forma zwitteriónica) mediante las técnicas IR, Raman, VCD y ROA, combinadas con cálculos DFT [13]. Respecto a la fase gas, *Lesarri y cols.* analizaron hace unos años la valina neutra con una combinación de cálculos cuánticos y espectroscopía FT-MW [14].



**Figura 5.1:** Estructura molecular y numeración adoptada para los átomos en las especies zwitteriónica, catiónica y aniónica de la *L*-Val y la *L*-Threo.

A pesar de todos los estudios previos existentes sobre estos aminoácidos, sus **distribuciones conformacionales aún no habían sido analizadas** en disolución acuosa a **pH ácidos o básicos**. Es interesante profundizar en el entendimiento del comportamiento de estos aminoácidos en agua y en las interacciones por puentes de hidrógeno intermoleculares que pueden establecerse en tales circunstancias, ya que las **reacciones biológicas** ocurren en fase condensada, especialmente en **agua** [15]. Las reacciones químicas en las células del cuerpo humano tienen lugar a **distintos pH** y el equilibrio de disociación ácido-base de los aminoácidos depende del pH del medio en el que se encuentran [15]. Las constantes de disociación experimentales,  $pK_a$ , correspondiente a los grupos carboxilo y amino protonado son 9.74 y 2.29, respectivamente, para la valina y 9.10 y 2.09, respectivamente, para la treonina.

A continuación se va a mostrar el análisis de los aminoácidos *L*-Val y *L*-Threo en disolución acuosa a tres valores de pH (ver *Fig. 5.1*): 6.00 y 5.70 para *L*-Val y *L*-Threo, respectivamente, (a los cuales los aminoácidos se encontrarán en sus formas zwitteriónicas *ValZW* y *ThreoZW*), 1.00 (cationes *ValCAT* y *ThreoCAT*) y 13.00 (aniones *ValAN* y *ThreoAN*), mediante una combinación de espectroscopías vibracionales sensibles (**VCD**) y no sensibles (**IR y Raman**) a la quiralidad junto con **cálculos químico cuánticos**.

En el caso de la *L*-Val, el tratamiento del disolvente (agua) se modelizó usando los modelos implícito (PCM) e híbrido (**PCM más moléculas de agua**

**explícita**)<sup>2</sup>. Por un lado, se va a analizar cómo actúan estos dos modelos a la hora de reproducir los espectros experimentales y, por otro, se van a comparar los conformeros más estables de ambos aminoácidos, así como sus espectros experimentales a distintos pH, para ver cómo influye el hecho de tener dos grupos metilo unidos al C3 (caso de la valina) o un solo grupo metilo y un –OH (treonina).

### 5.1.2. Metodologías

#### *i. Experimental*

Se prepararon disoluciones madre de 0.45 M y 0.76 M para la **treonina** y la **valina**, respectivamente, usando agua bidestilada como disolvente. Los valores de pH de estas disoluciones fueron de 5.70 (treonina) y 6.00 (valina). Para obtener disoluciones a pH ácido y básico, se añadieron HCl (4 M) o NaOH (4 M) a estas disoluciones madre, hasta alcanzar valores de pH de 1.00 o 13.00, respectivamente.

Se registraron los espectros **IR** (incluyendo **FarIR** en la *L*-Threo) y **Raman** de los **sólidos**, de las **disoluciones a distintos pH** y de **películas delgadas** preparadas a partir de estas disoluciones (solo en el caso del IR). Las condiciones experimentales (resolución, acumulaciones, etc.) de los registros MIR y Raman se detallan en el capítulo 4, concretamente en el subapartado *ii.* del punto 4.1.2. y en el punto 4.3.2., respectivamente. Igualmente, en el subapartado *ii.* del punto 4.1.2. se explica el procedimiento seguido para la corrección de la línea de base en los espectros IR.

Se registraron asimismo los espectros **VCD** de las **disoluciones acuosas a distintos pH** de la **L-Val**. Para la **corrección de la línea de base** de los espectros VCD se llevó a cabo la “corrección sólo con el *background*” explicada en el subapartado *iii.* del punto 4.2.3 del capítulo 4. Así, se sustrajeron las señales VCD del agua al mismo pH que la disolución medida de *L*-Val. Para la **L-Threo**, se registraron los espectros **VCD** de **películas delgadas** formadas a partir de las disoluciones preparadas a distintos pH (ver subapartado *ii.* del punto 4.2.3.), aunque estos espectros no se muestran en la discusión de resultados. Se invita al lector a leer las referencias 2 y 4 para más información.

Especificar que los registros **MIR** se realizaron empleando el accesorio ATR tanto para muestras sólidas como en disolución y se registró la región espectral 4000-500 cm<sup>-1</sup>. Las regiones espectrales registradas en el caso de los espectros

---

<sup>2</sup> A lo largo del texto me voy a referir al modelo híbrido denominándolo como tal o como modelo explícito.

**VCD** y **Raman** fueron 1500-1000  $\text{cm}^{-1}$  (detector MCT) y 4000-500  $\text{cm}^{-1}$ , respectivamente.

Para la **medida del pH** de las distintas disoluciones se usó un pHmetro Crison GPL 21. La precisión del dispositivo es 0.01 y su rango de detección con el electrodo usado es de 1-13. Todos los datos obtenidos se corrigieron a 25 °C (298 K).

### *ii. Teórica*

La **metodología teórica** seguida para el estudio de aminoácidos se ha empleado con **éxito** también en **otros sistemas moleculares** de interés biológico (carbohidratos, ver punto 5.2) y atmosférico (terpenos, ver punto 5.3). Es la siguiente:

1. **Búsqueda conformacional** de las especies de cada aminoácido (*L*-Threo y *L*-Val) a **diferentes valores de pH** empleando **Mecánica Molecular**, en concreto, los campos de fuerzas MMFF y SYBYL. Se obtuvieron 9, 27 y 52 conformeros para las especies zwitteriónicas, aniónicas y catiónicas de la *L*-Threo, respectivamente, y 3, 9 y 17 conformeros para dichas especies en el caso de la *L*-Val. Se usó el programa Spartan 08 para este cálculo.
2. Todos estos conformeros obtenidos mediante MM se optimizaron empleando el método **HF/6-31+G(d)** y, posteriormente, dos funcionales **DFT (B3LYP y M06-2X)** con la base **6-311++G(d,p)**. Se calcularon los **espectros armónicos IR, Raman y VCD**, las **energías relativas** (corregidas con la energía del punto cero) y las **distintas estructuras**. Este punto se llevó a cabo usando Gaussian 09. En el caso de la *L*-Threo, se optimizaron todos los conformeros resultantes de la MM con el funcional B3LYP, pero solamente los más estables con M06-2X.
3. Empleo del método **MP2** (con la misma base utilizada en la optimización DFT) para calcular la **energía relativa de los conformeros más estables** y **comparar** dicha energía con la calculada anteriormente mediante métodos **DFT**. Con este método no se calcularon los espectros armónicos vibracionales, por lo que la energía obtenida es la **energía de equilibrio**, y no la energía corregida al punto cero. Este paso también se realizó con el software Gaussian 09.

Por un lado, la presencia del agua como disolvente ha sido incluida con dos **modelos de hidratación implícitos** (también llamados modelos de solvatación

continuos): **IEF-PCM**, implementado en Gaussian 09 (para los puntos 2 y 3), y **SM8**, implementado en Spartan 08 (para el punto 1).

Por otro lado, en el caso del aminoácido **L-Val** también se consideró la introducción de moléculas de agua de forma explícita en el modelo estudiado, usando un **método híbrido**. Concretamente, lo que se hizo fue introducir un número determinado de moléculas de agua apuntando a cada centro ácido o básico de la especie estudiada, actuando así las moléculas de agua comoceptoras o donadoras de enlaces de hidrógeno, respectivamente. El número de moléculas de agua a introducir alrededor de cada aminoácido se ha descrito en bibliografía, donde se especifica que se puede lograr un compromiso entre la calidad de los datos calculados y el tiempo computacional teniendo en cuenta un **número de moléculas de agua igual al de sitios aceptores y donadores de enlaces de hidrógeno** [16-18]. Así, añadimos **5, 5 y 8 moléculas de agua a las formas zwitteriónica, aniónica y catiónica de la L-Val**, las cuales fueron capaces de construir una red de enlaces de hidrógeno efectiva con los grupos aceptores (átomos de oxígeno del grupo  $-\text{COOH}$  en los cationes y del grupo  $-\text{COO}^-$  en aniones y zwitteriones) y donadores (hidrógeno del grupo  $-\text{OH}$  y  $-\text{NH}_3^+$  en cationes,  $-\text{NH}_3^+$  en zwitteriones y  $-\text{NH}_2$  en aniones). Esta metodología se empleó para optimizar los **confórmers más estables**: 3 confórmers para el zwitterión, dos para el catión y tres para el anión. Por ejemplo, el conformero denominado *ValZW1-5w* se obtuvo introduciendo 5 moléculas de agua explícitas alrededor del conformero *ValZW1* obtenido mediante el modelo implícito PCM, y este clúster se optimizó al nivel teórico M06-2X/6-311++G(d,p) en PCM. De la misma forma, *ValZW2-5w* se obtuvo a partir de *ValZW2*, *ValCAT1-8w* desde *ValCAT1*, *ValCAT2-8w* desde *ValCAT2* y así sucesivamente.

También se optimizó el conformero zwitterión más estable de la referencia 11, lo llamamos *ValZW4-5w*. Pudimos observar que la estructura del aminoácido de este clúster era similar a la del conformero *ValZW3* obtenido mediante el modelo implícito en nuestro trabajo.

Para la *L-Threo* se empleó el programa VEDA [19,20] para el cálculo de la matriz de distribución de energía potencial (P.E.D., del inglés *Potential Energy Distribution*).

Para el análisis vibracional de todas las especies estudiadas se han empleado los factores únicos de escala en frecuencias tomados de la base de datos del NIST para los niveles B3LYP/6-31+G(d) (0.960), B3LYP/6-311++G(d,p) (0.967) y M062X/6-311++G(d,p) (0.95) [21].

### 5.1.3. Preferencias conformacionales de los aminoácidos *L*-treonina y *L*-valina

Como he comentado anteriormente, usando los campos de fuerzas SYBYL y MMFF, se obtuvieron 9, 27 y 52 conformeros para las especies zwitteriónicas, aniónicas y catiónicas de la *L*-Threo y 3, 9 y 17 conformeros, respectivamente, para la *L*-Val. Llama la atención el **mayor número de conformeros** encontrados para las distintas formas de la ***L*-Threo**, si los comparamos con el número de conformeros obtenido para las distintas formas de la *L*-Val.

Las *Figs. 5.2, 5.3 y 5.4* muestran las **estructuras moleculares** de los **conformeros más estables** de cada aminoácido a valores de pH 6, 1 y 13, respectivamente. Para poder comparar de forma más precisa las distintas estructuras modelizadas para la *L*-Val y la *L*-Threo, la *Tabla 5.2* recoge los **ángulos diedros** más importantes de los distintos conformeros para el nivel M06-2X. Los valores de los ángulos diedros calculados con los métodos B3LYP, M06-2X y MP2, usando el formalismo PCM son muy similares, lo cual indica que las estructuras optimizadas con cada uno de ellos son las mismas.

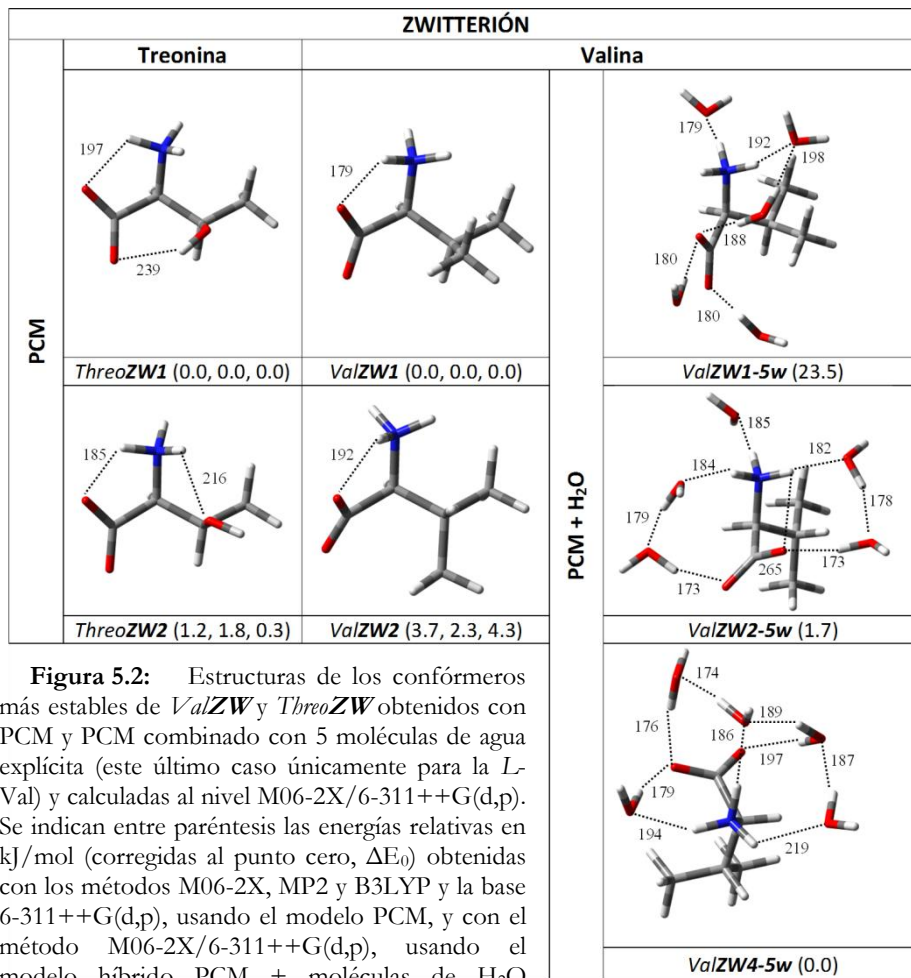
Si comenzamos comparando las estructuras de los conformeros zwitterión, podemos ver que la estructura de *ValZW1* y *ThreoZW1* son ligeramente distintas. La presencia del grupo hidroxilo en el C3 en la estructura *ThreoZW1* provoca que el grupo  $-\text{COO}^-$  gire un poco para poder formar un enlace de hidrógeno con el mismo. Este giro del grupo carboxilato ocasiona asimismo un giro del grupo  $-\text{NH}_3^+$ , formándose un enlace de hidrógeno  $\text{N}_1\text{H}_5 \cdots \text{O}_6=\text{C}_3$  de 197 pm. Debido a ambos giros, los valores de los ángulos diedros  $\tau_1$  y  $\tau_2$  son ligeramente diferentes para las estructuras *ValZW1* y *ThreoZW1*, mientras que  $\tau_3$  y  $\tau_4$  son casi idénticos. Si nos fijamos ahora en las estructuras de los conformeros *ValZW2* y *ThreoZW2*, podemos ver que los grupos  $-\text{COO}^-$  y  $-\text{NH}_3^+$  aparecen ligeramente girados, esta diferencia estructural puede deberse de nuevo a la presencia del grupo hidroxilo en *ThreoZW2*, que forma un enlace de hidrógeno con el grupo  $-\text{NH}_3^+$  de 216 pm. Al girar el grupo  $-\text{NH}_3^+$  para formar dicho enlace de hidrógeno, consecuentemente el grupo  $-\text{COO}^-$  también gira para formar un enlace de hidrógeno  $\text{N}_1-\text{H}_5 \cdots \text{O}_6=\text{C}_3$  de 185 pm. En este caso, los valores de los ángulos diedros  $\tau_3$  y  $\tau_4$  para ambas estructuras son muy diferentes, pues el grupo isopropilo en *ValZW2* aparece girado respecto a la posición que ocupaba en *ValZW1*.

PCM M06-2X		PCM M06-2X		PCM + H <sub>2</sub> O explícita M06-2X	
<i>ThreoZW1</i>		<i>ValZW1<sup>P</sup></i>		<i>ValZW1-5w</i>	
$\tau_1(\text{O}_4\text{C}_3\text{C}_2\text{N}_1)/^\circ$	-154	$\tau_1(\text{O}_4\text{C}_3\text{C}_2\text{N}_1)/^\circ$	176	$\tau_1(\text{O}_4\text{C}_3\text{C}_2\text{N}_1)/^\circ$	-178
$\tau_2(\text{H}_5\text{N}_1\text{C}_2\text{C}_3)/^\circ$	-30	$\tau_2(\text{H}_7\text{N}_1\text{C}_2\text{C}_3)/^\circ$	4	$\tau_2(\text{H}_7\text{N}_1\text{C}_2\text{C}_3)/^\circ$	-27
$\tau_3(\text{C}_3\text{C}_2\text{C}_9\text{C}_{11})/^\circ$	-176	$\tau_3(\text{C}_3\text{C}_2\text{C}_9\text{C}_{12})/^\circ$	178	$\tau_3(\text{C}_3\text{C}_2\text{C}_9\text{C}_{12})/^\circ$	-178
$\tau_4(\text{O}_{10}\text{C}_9\text{C}_2\text{C}_3)/^\circ$	-56	$\tau_4(\text{C}_{11}\text{C}_9\text{C}_2\text{C}_3)/^\circ$	-56	$\tau_4(\text{C}_{11}\text{C}_9\text{C}_2\text{C}_3)/^\circ$	-52
<i>ThreoZW2</i>		<i>ValZW2</i>		<i>ValZW2-5w</i>	
$\tau_1(\text{O}_4\text{C}_3\text{C}_2\text{N}_1)/^\circ$	-174	$\tau_1(\text{O}_4\text{C}_3\text{C}_2\text{N}_1)/^\circ$	152	$\tau_1(\text{O}_4\text{C}_3\text{C}_2\text{N}_1)/^\circ$	133
$\tau_2(\text{H}_5\text{N}_1\text{C}_2\text{C}_3)/^\circ$	-15	$\tau_2(\text{H}_7\text{N}_1\text{C}_2\text{C}_3)/^\circ$	29	$\tau_2(\text{H}_7\text{N}_1\text{C}_2\text{C}_3)/^\circ$	72
$\tau_3(\text{C}_3\text{C}_2\text{C}_9\text{C}_{11})/^\circ$	171	$\tau_3(\text{C}_3\text{C}_2\text{C}_9\text{C}_{12})/^\circ$	51	$\tau_3(\text{C}_3\text{C}_2\text{C}_9\text{C}_{12})/^\circ$	59
$\tau_4(\text{O}_{10}\text{C}_9\text{C}_2\text{C}_3)/^\circ$	-67	$\tau_4(\text{C}_{11}\text{C}_9\text{C}_2\text{C}_3)/^\circ$	174	$\tau_4(\text{C}_{11}\text{C}_9\text{C}_2\text{C}_3)/^\circ$	-178
				<i>ValZW4-5w</i>	
				$\tau_1(\text{O}_4\text{C}_3\text{C}_2\text{N}_1)/^\circ$	132
				$\tau_2(\text{H}_7\text{N}_1\text{C}_2\text{C}_3)/^\circ$	73
				$\tau_3(\text{C}_3\text{C}_2\text{C}_9\text{C}_{12})/^\circ$	-63
				$\tau_4(\text{C}_{11}\text{C}_9\text{C}_2\text{C}_3)/^\circ$	62
<i>ThreoCAT1</i>		<i>ValCAT1</i>		<i>ValCAT1-8w</i>	
$\tau_1(\text{O}_4\text{C}_3\text{C}_2\text{N}_1)/^\circ$	6	$\tau_1(\text{O}_4\text{C}_3\text{C}_2\text{N}_1)/^\circ$	-2	$\tau_1(\text{O}_4\text{C}_3\text{C}_2\text{N}_1)/^\circ$	-20
$\tau_2(\text{H}_5\text{N}_1\text{C}_2\text{C}_3)/^\circ$	-160	$\tau_2(\text{H}_7\text{N}_1\text{C}_2\text{C}_3)/^\circ$	-176	$\tau_2(\text{H}_7\text{N}_1\text{C}_2\text{C}_3)/^\circ$	-170
$\tau_3(\text{C}_3\text{C}_2\text{C}_9\text{C}_{11})/^\circ$	179	$\tau_3(\text{C}_3\text{C}_2\text{C}_9\text{C}_{12})/^\circ$	-180	$\tau_3(\text{C}_3\text{C}_2\text{C}_9\text{C}_{12})/^\circ$	-176
$\tau_4(\text{O}_{10}\text{C}_9\text{C}_2\text{C}_3)/^\circ$	-60	$\tau_4(\text{C}_{11}\text{C}_9\text{C}_2\text{C}_3)/^\circ$	-53	$\tau_4(\text{C}_{11}\text{C}_9\text{C}_2\text{C}_3)/^\circ$	-50
$\tau_5(\text{H}_{18}\text{O}_6\text{C}_3\text{C}_2)/^\circ$	-179	$\tau_5(\text{H}_{20}\text{O}_6\text{C}_3\text{C}_2)/^\circ$	180	$\tau_5(\text{H}_{20}\text{O}_6\text{C}_3\text{C}_2)/^\circ$	-173
<i>ThreoCAT2</i>		<i>ValCAT2</i>		<i>ValCAT2-8w</i>	
$\tau_1(\text{O}_4\text{C}_3\text{C}_2\text{N}_1)/^\circ$	9	$\tau_1(\text{O}_4\text{C}_3\text{C}_2\text{N}_1)/^\circ$	-20	$\tau_1(\text{O}_4\text{C}_3\text{C}_2\text{N}_1)/^\circ$	-32
$\tau_2(\text{H}_5\text{N}_1\text{C}_2\text{C}_3)/^\circ$	-152	$\tau_2(\text{H}_7\text{N}_1\text{C}_2\text{C}_3)/^\circ$	163	$\tau_2(\text{H}_7\text{N}_1\text{C}_2\text{C}_3)/^\circ$	174
$\tau_3(\text{C}_3\text{C}_2\text{C}_9\text{C}_{11})/^\circ$	174	$\tau_3(\text{C}_3\text{C}_2\text{C}_9\text{C}_{12})/^\circ$	-52	$\tau_3(\text{C}_3\text{C}_2\text{C}_9\text{C}_{12})/^\circ$	-61
$\tau_4(\text{O}_{10}\text{C}_9\text{C}_2\text{C}_3)/^\circ$	-67	$\tau_4(\text{C}_{11}\text{C}_9\text{C}_2\text{C}_3)/^\circ$	74	$\tau_4(\text{C}_{11}\text{C}_9\text{C}_2\text{C}_3)/^\circ$	64
$\tau_5(\text{H}_{18}\text{O}_6\text{C}_3\text{C}_2)/^\circ$	-179	$\tau_5(\text{H}_{20}\text{O}_6\text{C}_3\text{C}_2)/^\circ$	177	$\tau_5(\text{H}_{20}\text{O}_6\text{C}_3\text{C}_2)/^\circ$	174
<i>ThreoCAT3</i>					
$\tau_1(\text{O}_4\text{C}_3\text{C}_2\text{N}_1)/^\circ$	-22				
$\tau_2(\text{H}_5\text{N}_1\text{C}_2\text{C}_3)/^\circ$	161				
$\tau_3(\text{C}_3\text{C}_2\text{C}_9\text{C}_{11})/^\circ$	69				
$\tau_4(\text{O}_{10}\text{C}_9\text{C}_2\text{C}_3)/^\circ$	-170				
$\tau_5(\text{H}_{18}\text{O}_6\text{C}_3\text{C}_2)/^\circ$	178				
<i>ThreoANI</i>		<i>ValAN<sup>H</sup></i>		<i>ValANI-5w</i>	
$\tau_1(\text{O}_4\text{C}_3\text{C}_2\text{N}_1)/^\circ$	-171	$\tau_1(\text{O}_6\text{C}_3\text{C}_2\text{N}_1)/^\circ$	-176	$\tau_1(\text{O}_6\text{C}_3\text{C}_2\text{N}_1)/^\circ$	-180
$\tau_2(\text{H}_5\text{N}_1\text{C}_2\text{C}_3)/^\circ$	-21	$\tau_2(\text{H}_5\text{N}_1\text{C}_2\text{C}_3)/^\circ$	-23	$\tau_2(\text{H}_5\text{N}_1\text{C}_2\text{C}_3)/^\circ$	-18
$\tau_3(\text{C}_3\text{C}_2\text{C}_9\text{C}_{11})/^\circ$	-58	$\tau_3(\text{C}_3\text{C}_2\text{C}_9\text{C}_{11})/^\circ$	-59	$\tau_3(\text{C}_3\text{C}_2\text{C}_9\text{C}_{11})/^\circ$	-57
$\tau_4(\text{O}_{10}\text{C}_9\text{C}_2\text{C}_3)/^\circ$	66				
<i>ThreoAN2</i>		<i>ValAN2</i>		<i>ValAN2-5w</i>	
$\tau_1(\text{O}_4\text{C}_3\text{C}_2\text{N}_1)/^\circ$	180	$\tau_1(\text{O}_6\text{C}_3\text{C}_2\text{N}_1)/^\circ$	164	$\tau_1(\text{O}_6\text{C}_3\text{C}_2\text{N}_1)/^\circ$	168
$\tau_2(\text{H}_5\text{N}_1\text{C}_2\text{C}_3)/^\circ$	31	$\tau_2(\text{H}_5\text{N}_1\text{C}_2\text{C}_3)/^\circ$	154	$\tau_2(\text{H}_5\text{N}_1\text{C}_2\text{C}_3)/^\circ$	83
$\tau_3(\text{C}_3\text{C}_2\text{C}_9\text{C}_{11})/^\circ$	-60	$\tau_3(\text{C}_3\text{C}_2\text{C}_9\text{C}_{11})/^\circ$	-62	$\tau_3(\text{C}_3\text{C}_2\text{C}_9\text{C}_{11})/^\circ$	-56
$\tau_4(\text{O}_{10}\text{C}_9\text{C}_2\text{C}_3)/^\circ$	64				
<i>ThreoAN3</i>		<i>ValAN3</i>		<i>ValAN3-5w</i>	
$\tau_1(\text{O}_4\text{C}_3\text{C}_2\text{N}_1)/^\circ$	174	$\tau_1(\text{O}_6\text{C}_3\text{C}_2\text{N}_1)/^\circ$	167	$\tau_1(\text{O}_6\text{C}_3\text{C}_2\text{N}_1)/^\circ$	174
$\tau_2(\text{H}_5\text{N}_1\text{C}_2\text{C}_3)/^\circ$	152	$\tau_2(\text{H}_5\text{N}_1\text{C}_2\text{C}_3)/^\circ$	35	$\tau_2(\text{H}_5\text{N}_1\text{C}_2\text{C}_3)/^\circ$	-23
$\tau_3(\text{C}_3\text{C}_2\text{C}_9\text{C}_{11})/^\circ$	-58	$\tau_3(\text{C}_3\text{C}_2\text{C}_9\text{C}_{11})/^\circ$	-65	$\tau_3(\text{C}_3\text{C}_2\text{C}_9\text{C}_{11})/^\circ$	-56
$\tau_4(\text{O}_{10}\text{C}_9\text{C}_2\text{C}_3)/^\circ$	67				

**Tabla 5.2:** Ángulos diedros de las geometrías optimizadas para las especies zwitteriónicas, catiónicas y aniónicas de *L*-Threo y *L*-Val calculadas al nivel M06-2X/6-311++G(d,p), usando los modelos PCM e híbrido (este último solo para *L*-Val).

<sup>3</sup> Se tomó el H7 en lugar de H5 para el ángulo diedro  $\tau_2$  porque el grupo amino se encontraba girado en los conforméros *ValZW* y *ValZW-5w*; ocupando H7 la posición que ocupa H5 en los conforméros *ThreoZW*. Asimismo, se toma C12 en lugar de C11 en el ángulo diedro  $\tau_3$  porque C12 ocupa la posición de C11.

<sup>4</sup> Se vuelve a tomar H5 en el ángulo diedro  $\tau_2$  porque el grupo amino aparece girado. En  $\tau_1$  se toma O6 en lugar de O4 porque el grupo carboxilato aparece girado en *ValAN* respecto a *ValZW* y *ValCAT*.



**Figura 5.2:** Estructuras de los conformeros más estables de *ValZW* y *ThreoZW* obtenidos con PCM y PCM combinado con 5 moléculas de agua explícita (este último caso únicamente para la *L*-Val) y calculadas al nivel M06-2X/6-311++G(d,p). Se indican entre paréntesis las energías relativas en kJ/mol (corregidas al punto cero,  $\Delta E_0$ ) obtenidas con los métodos M06-2X, MP2 y B3LYP y la base 6-311++G(d,p), usando el modelo PCM, y con el método M06-2X/6-311++G(d,p), usando el modelo híbrido PCM + moléculas de H<sub>2</sub>O explícitas.

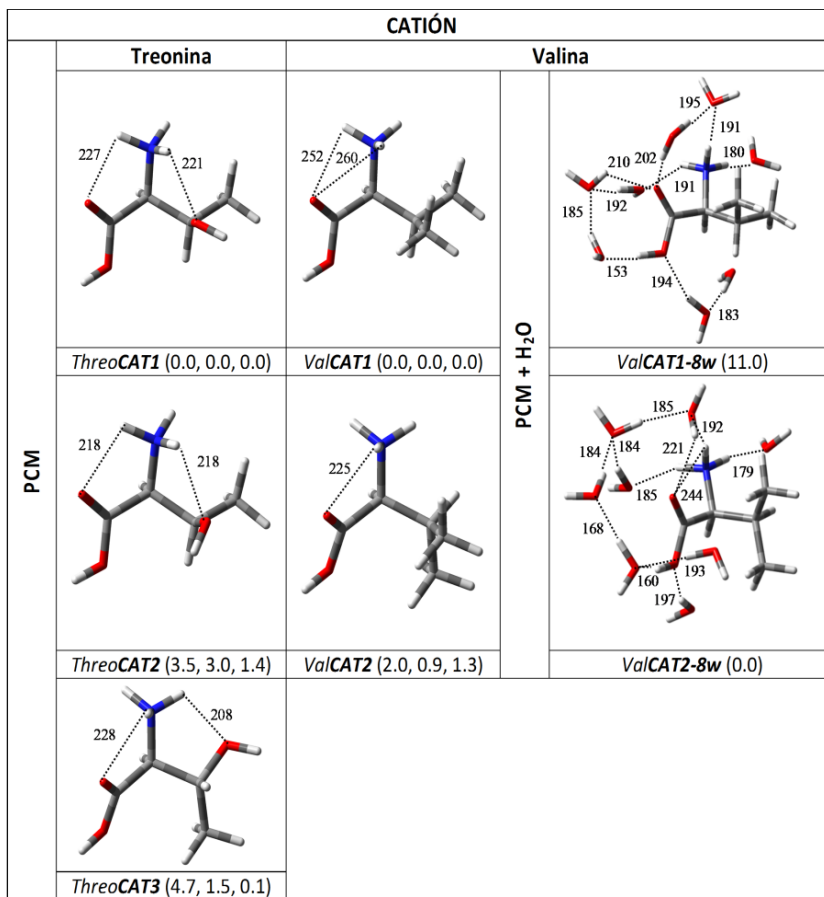
Las diferencias estructurales que surgen en los conformeros más estables de la forma zwitteriónica de la valina al introducir 5 moléculas de agua explícita en los conformeros modelizados implícitamente, están discutidas con detalle en la referencia 4. Lo más significativo que ocurre es que esta introducción explícita de las moléculas del disolvente cambia la ordenación energética de los conformeros. Así, la estabilidad del conformero *ValZW1* disminuye al ser rodeado de 5 moléculas de H<sub>2</sub>O, dando lugar a *ValZW1-5w*. Sin embargo, el conformero *ValZW2-5w*, construido a partir del conformero implícito *ValZW2*, aumenta su estabilidad, presentando una energía relativa inferior al conformero *ValZW1-5w* (22 kJ/mol). El conformero más estable de la forma zwitteriónica de la *L*-Val obtenido por *Hernández y cols.* [11] (y optimizado aquí nuevamente, *ValZW4-5w*) resultó ser más estable que el conformero *ValZW2-5w*. En *ValZW4-5w* se conectan los 3 átomos de hidrógeno del grupo  $-\text{NH}_3^+$  y los dos oxígenos del grupo  $-\text{COO}^-$  a través de moléculas de agua que se encuentran situadas entre

ellos. La estructura del aminoácido en sí es similar a la del conformero *ValZW3* (la estructura de este conformero implícito se muestra en la referencia 4 y, como presenta una energía relativa más elevada que los demás, no se muestra en la Fig. 5.2).

Centrándonos ahora en los conformeros más estables de las especies catiónicas, podemos ver que las estructuras de *ValCAT1* y *ThreoCAT1* son muy parecidas. Únicamente se observa como diferencia un ligero giro del grupo  $\text{-NH}_3^+$  en *ThreoCAT1* para formar un enlace de hidrógeno con el grupo hidroxilo de una longitud de 221 pm ( $\text{H}_{13}\text{O}_{10}\cdots\text{H}_7\text{-N}_1$ ). Se observa también la formación de un enlace de hidrógeno entre el grupo  $\text{-NH}_3^+$  y el grupo carboxilo:  $\text{N}_1\text{-H}_{17}\cdots\text{O}_4=\text{C}_3$  (227 pm). Sin embargo, al no encontrarse girado el grupo  $\text{-NH}_3^+$  en la estructura *ValCAT1*, se forma un enlace de hidrógeno bifurcado, implicando dos hidrógenos del grupo amino protonado y uno de los átomos de oxígeno del grupo COOH:  $\text{N}_1\text{-H}_{19}\cdots\text{O}_4=\text{C}_3$  (260 pm) y  $\text{N}_1\text{-H}_5\cdots\text{O}_4=\text{C}_3$  (252 pm).

A continuación se van a comparar las estructuras *ThreoCAT2* y *ThreoCAT3* con la estructura *ValCAT2*, ya que *ThreoCAT2* y *ThreoCAT3* se encuentran muy cerca energéticamente. Si nos fijamos en los valores de ángulos diedros de la Tabla 5.2 se puede observar que todos son muy similares, a excepción del ángulo  $\tau_3$  en *ThreoCAT2* y el  $\tau_4$  en *ThreoCAT3*. Esto es debido a la diferente disposición del grupo isopropilo en *ValCAT2* respecto al grupo  $\text{-CH(OH)-CH}_3$  en *ThreoCAT2* y *ThreoCAT3*.

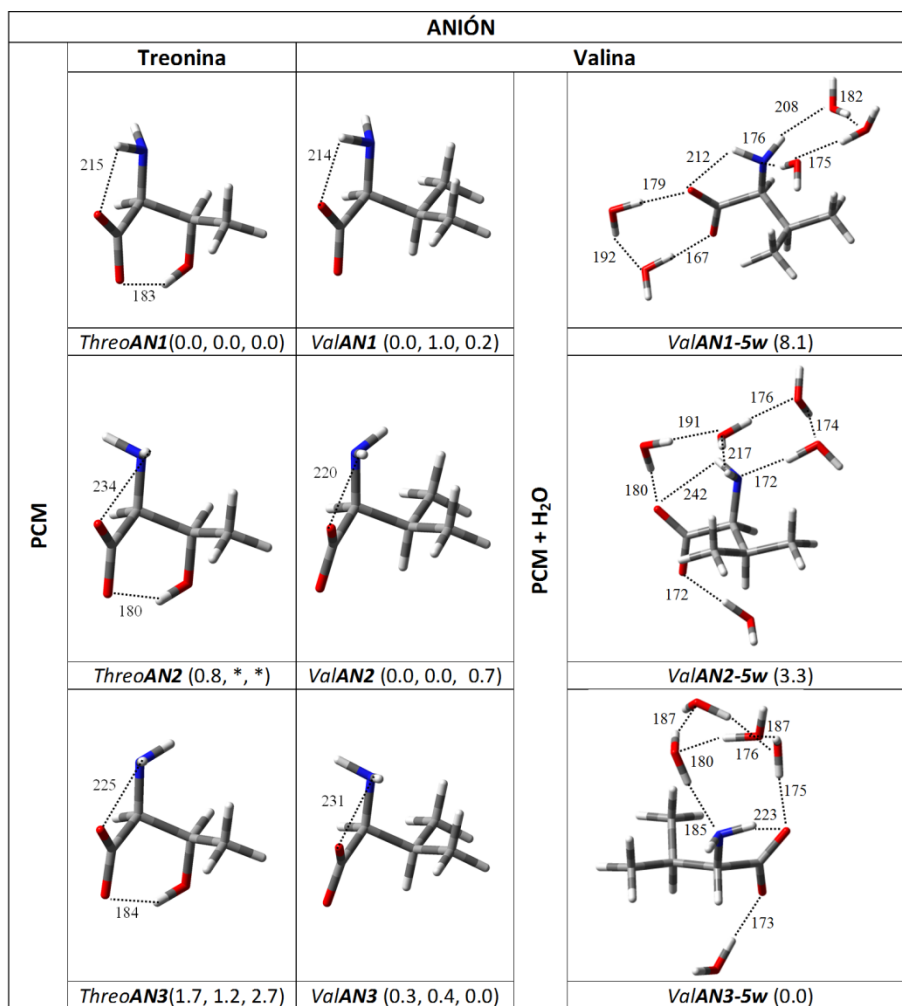
Al introducir 8 moléculas de agua explícita alrededor de los conformeros *ValCAT1* y *ValCAT2* modelizados de forma implícita, la ordenación energética vuelve a invertirse, siendo *ValCAT2-8w* 11 kJ/mol más estable que *ValCAT1-8w*. Los ángulos diedros de los conformeros *ValCAT* y *ValCAT-8w* presentan valores similares, lo cual indica que las estructuras de los aminoácidos, con o sin agua explícita, son las mismas. Quizás el hecho de que *ValCAT2-8w* sea más estable que *ValCAT1-8w* pueda deberse a que en *ValCAT2-8w* únicamente hay una molécula de agua presente entre los grupos amino y carboxilo, mientras que hay dos en *ValCAT1-8w*. Un análisis detallado de los enlaces de hidrógeno presentes en ambas estructuras se encuentra recogido en la referencia 4.



**Figura 5.3:** Estructuras de los conformeros más estables de *ValCAT* y *ThreoCAT* obtenidos con los modelos PCM y PCM con 8 moléculas de agua explícita (este último caso únicamente para la *L*-Val), calculadas al nivel M06-2X/6-311++G(d,p). Se indican entre paréntesis las energías relativas en kJ/mol (corregidas al punto cero,  $\Delta E_0$ ) obtenidas con los métodos M06-2X, MP2 y B3LYP y la base 6-311++G(d,p), usando el modelo PCM, y con el método M06-2X/6-311++G(d,p), usando el modelo híbrido PCM + moléculas de H<sub>2</sub>O explícitas.

Si comparamos finalmente los conformeros de las especies aniónicas, se puede ver que en cada aminoácido la posición de la cadena lateral se mantiene, y la única diferencia estructural entre los conformeros de la misma especie es la orientación de los grupos NH<sub>2</sub> y en algún caso -COO<sup>-</sup>. Si comparamos las estructuras de *ValANI* y *ThreoANI*, se puede observar que la posición de los grupos NH<sub>2</sub> y -COO<sup>-</sup> es la misma, con la diferencia estructural de las respectivas cadenas laterales, lo cual se refleja en valores similares de  $\tau_1$ ,  $\tau_2$  y  $\tau_3$ . Esto mismo ocurre en *ValAN2* y *ThreoAN3*, y también en *ValAN3* y *ThreoAN2*. Debido a la interacción del grupo -OH de la treonina con el grupo -NH<sub>3</sub><sup>+</sup>, se han observado, por tanto, más variaciones estructurales entre los conformeros de las

especies zwitteriónicas y catiónicas de ambos aminoácidos. En el caso de las especies aniónicas de este aminoácido, al estar el grupo amino desprotonado, el grupo –OH se limita a formar un enlace de hidrógeno con el grupo –COO<sup>-</sup> (del orden de 180 pm), sin interactuar con el grupo amino. Esto provoca una similitud estructural entre los confórmeros *ValAN* y *ThreoAN*, pues la posición del grupo amino no se ve afectada por el grupo –OH y se enlaza al grupo –COO<sup>-</sup> tanto en *ValAN* como en *ThreoAN*.



**Figura 5.4:** Estructuras de los confórmeros más estables de las especies aniónicas de la *L*-Val y la *L*-Threo con PCM y PCM con 5 moléculas de agua explícitas (este último únicamente para la *L*-Val) calculadas al nivel M06-2X/6-311++G(d,p). Se indican entre paréntesis las energías relativas en kJ/mol (corregidas al punto cero,  $\Delta E_0$ ) obtenidas con los métodos M06-2X/6-311++G(d,p), MP2/6-311++G(d,p) y B3LYP/6-311++G(d,p), usando el modelo PCM, y con el método M06-2X/6-311++G(d,p), usando el modelo híbrido PCM + moléculas de H<sub>2</sub>O explícitas (modelo híbrido).

Los confórmeros *ValAN1*, *ValAN2* y *ValAN3* calculados con el formalismo PCM se encuentran muy cerca energéticamente, en un rango de 1kJ/mol. Cuando se crean clústeres con 5 moléculas de agua a su alrededor, los resultados cambian drásticamente. Las energías relativas predichas para *ValAN1-5w*, *ValAN2-5w* y *ValAN3-5w* son 8, 3 y 0 kJ/mol, respectivamente, situándose como tercero, segundo y primero en la ordenación energética. Se puede observar que alrededor de los grupos amino y carboxilato del confórmero *ValAN3-5w* se forma una esfera de solvatación más compacta que en el caso de *ValAN1-5w* y *ValAN2-5w*. Quizás este hecho es el que hace que *ValAN3-5w* sea más estable. Al igual que para las especies zwitteriónica y catiónica, en la referencia 4 se realiza un análisis detallado de los enlaces de hidrógeno que se forman como consecuencia de la adición de moléculas de agua explícita.

Como se ha empleado un mismo funcional y una misma base, esto es, M062X/6-311++G(d,p), para la optimización de las estructuras con PCM y con PCM con agua explícita, parece razonable pensar que las **diferencias** existentes en las **preferencias conformacionales** se deban a los **distintos modelos de solvatación usados**. Estos resultados son de suma importancia, ya que los espectros teóricos IR, Raman y VCD serán distintos según la energía relativa de los confórmeros más estables.

#### 5.1.4. Paisaje conformacional obtenido mediante técnicas de espectroscopía vibracional no sensibles a la quiralidad: IR y Raman a distintos pH

Las *Figs. 5.5, 5.6 y 5.7* muestran los espectros **IR** y **Raman** de la ***L*-Threo** (panel a) y ***L*-Val** (panel b) en **fase sólida** (zwitteriones), en **película** (solo los IR) y en **disolución acuosa** (a valores de pH de **6.00, 1.00 y 13.00**) comparados con los correspondientes **espectros teóricos** ponderados con los confórmeros más estables de las formas zwitteriónicas, catiónicas y aniónicas. Los cálculos implícitos se llevaron a cabo a los niveles de teoría B3LYP/6-311++G(d,p) y M06-2X/6-311++G(d,p) y los híbridos a este último nivel. Las estructuras mostradas en las *Figs. 5.2, 5.3 y 5.4*. son las más estables y son las que se han tenido en cuenta para ponderar los espectros teóricos, aunque en los casos del uso de PCM solo también se tuvieron en cuenta algunos confórmeros más en las especies *ThreoZW*, *ThreoCAT* y *ValCAT* (< 5 kJ/mol, ver *Tabla 1* de las referencias 2 y 4). En este apartado, por un lado, se van a analizar las **diferencias espectrales** existentes para las distintas especies de ***L*-Threo** y ***L*-Val** según el pH y, por otro, la **influencia del modelo** usado para tratar la presencia del **disolvente** usando como ejemplo la *L*-Val.

Los espectros experimentales de la *L*-Threo se van a interpretar con la ayuda de los cálculos implícitos llevados a cabo para la misma con el apoyo del programa VEDA (para el análisis vibracional), y en el caso de la *L*-Val con los cálculos explícitos y usando la visualización procedente del Gaussview como apoyo.

*i. pH neutro-Especies zwitteriónicas*

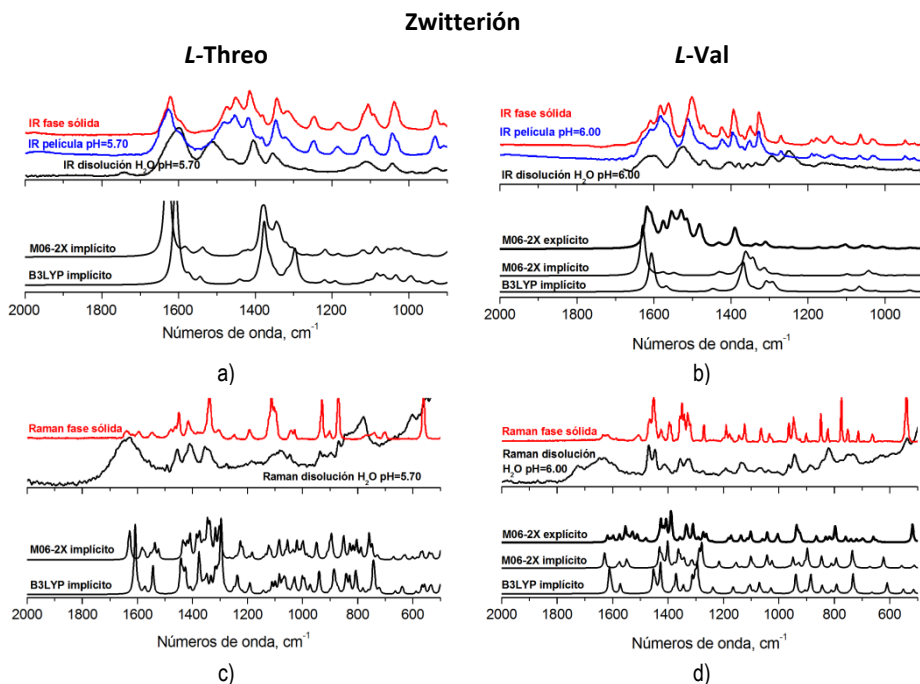
En cuanto al aminoácido valina, *Hernández y cols.* analizaron los espectros IR y Raman del mismo usando cálculos DFT y los asignaron teniendo en cuenta un único conformero zwitterión [11]. En este trabajo se llevó a cabo una optimización de dicho conformero, que resultó ser el más estable y que fue llamado *ValZW4-5w*. El conformero *ValZW2-5w*, construido a partir del conformero implícito *ValZW2* que fue encontrado en la búsqueda conformacional, también fue necesario para la reproducción de las características espectrales. Sin embargo, la población predicha para el conformero *ValZW3-5w* fue de un 2%, razón por la cual esta estructura no se ha tenido en cuenta a la hora de la asignación espectral a pH neutro.

En resumen, para la reproducción (simulación) de los espectros IR y Raman de la *L*-Val mediante los espectros teóricos denominados “M06-2X explícito”, en este trabajo, se han tenido en cuenta las contribuciones de los conformeros *ValZW4-5w* (65 % de población) y *ValZW2-5w* (33 % de población). La Fig. 5.5<sup>5</sup> muestra una comparación teórico-experimental de los espectros IR (*paneles a* y *b*) y Raman (*paneles c* y *d*) de las especies zwitterónicas de los aminoácidos *L*-Threo y *L*-Val.

Si comparamos los espectros IR y Raman en disolución acuosa de ambos aminoácidos, podemos ver que hay **bastantes bandas** que aparecen a los **mismos números de onda** prácticamente. Por ejemplo, la banda experimental que aparece a 1600 cm<sup>-1</sup> (IR, 1632 cm<sup>-1</sup> en Raman) en los espectros de la *L*-Threo y a 1607 cm<sup>-1</sup> (IR, banda ancha y compleja en la misma zona en Raman) en los de la *L*-Val. En el caso de la *L*-Threo, y tomando como referencia los cálculos implícitos, esta banda se puede asignar a un modo normal con una contribución del 86 % de stretching asimétrico de COO<sup>-</sup>. Para la *L*-Val, y usando los cálculos explícitos para la interpretación espectroscópica, esta banda se puede asignar a modos normales de stretching asimétrico de COO<sup>-</sup> y bending asimétrico de NH<sub>3</sub><sup>+</sup>.

---

<sup>5</sup> Para mayor claridad en la presentación de resultados, se han omitido los ejes de ordenadas indicando la absorbancia (IR), intensidad Raman o ΔAbs. (VCD). Todos los espectros IR, Raman y VCD que se muestran en este capítulo están normalizados.



**Figura 5.5:** Espectros IR (a y b) y Raman (c y d) de las especies zwitteriónicas de la *L*-Threo (a y c) y la *L*-Val (b y d) comparados con los espectros teóricos escalados en la región espectral 2000-500  $\text{cm}^{-1}$ . Los paneles de la parte superior muestran los espectros experimentales obtenidos en fase sólida (en rojo), película (en azul) y disolución (en negro) y los paneles inferiores los espectros teóricos escalados y ponderados con los conformeros más estables, que fueron obtenidos con los modelos M06-2X explícito, M06-2X implícito y B3LYP implícito y la base 6-311++G(d,p).

Asimismo, la banda a 1506  $\text{cm}^{-1}$  (IR, 1493  $\text{cm}^{-1}$  en Raman) en los espectros de la *L*-Threo se puede asignar a un modo normal con contribuciones del 72 % de bending asimétrico de  $\text{NH}_3^+$  y del 16% de movimientos de torsión de HNCC. Esta banda aparece a 1525  $\text{cm}^{-1}$  (IR) en los espectros de la *L*-Val, asignándose a modos normales de bendings asimétricos de  $\text{H}_2\text{O}$  y  $\text{NH}_3^+$ .

También se observa que hay algunas **bandas que aparecen** en los espectros **IR y Raman** de la *L*-Threo y **no** en los de la *L*-Val. Un ejemplo puede ser la banda a 1041  $\text{cm}^{-1}$  (IR y Raman) que se asigna a dos modos normales con contribuciones de **bending** de **HOC**, entre otras. Por ello, es lógico que esta banda no se observe en los espectros de la *L*-Val, pues en este aminoácido hay dos grupos metilos unidos al C3, en lugar de un metilo y un hidroxilo. Por otro lado, y debido a las diferencias estructurales señaladas, las bandas de la **región 1500-1100  $\text{cm}^{-1}$**  aparecen **más estructuradas** en el espectro Raman de la *L*-Val, pues esta región se asocia con movimientos de **bendings asimétricos** de  **$\text{CH}_3$**  acoplados con otros movimientos como stretching simétrico de  $\text{COO}^-$ , bending simétrico de  $\text{NH}_3^+$  y wagging de CH.

Respecto al uso de los **modelos de solvatación implícito y explícito** en la reproducción de las características espectrales de la *L*-Val, la primera banda que he comentado ( $1607\text{ cm}^{-1}$ ) se reproduce bien en los espectros IR y Raman, tanto con los cálculos B3LYP y M06-2X implícitos como con el M06-2X con PCM y moléculas de agua explícitas. Aunque este último cálculo reproduce mejor la anchura experimental en el espectro Raman. Sin embargo, la banda que aparece a  **$1525\text{ cm}^{-1}$**  necesita la presencia de interacciones explícitas de enlaces de hidrógeno para que pueda reproducirse bien, ya que fue asociada a **bending asimétrico** de  $\text{NH}_3^+$  y bending de las **moléculas de agua** explícitas que rodean la forma zwitteriónica de la valina y, como consecuencia, están **ausentes** en los **espectros teóricos** calculados con el modelo **implícito**. Esto mismo ocurre para la banda observada a  $1469\text{ cm}^{-1}$  (IR,  $1472\text{ cm}^{-1}$  en Raman), la cual se corresponde con modos normales de bending de  $\text{H}_2\text{O}$ , bending simétrico de  $\text{NH}_3^+$  y bending asimétrico de  $\text{CH}_3$ .

El uso del modelo híbrido para la especie zwitteriónica de la *L*-Threo se usó en la referencia 12 para la interpretación de los espectros IR y Raman. Aunque una comparación del modelo de solvatación implícito M06-2X realizado en el presente trabajo y el explícito llevado a cabo por los autores de la referencia 12 nos llevó a la conclusión de que en este caso no se producía una gran mejora de la reproducción teórico-experimental con el uso del modelo explícito. Esto puede ser debido a que el conjunto de conformeros más estables fue el mismo en ambos trabajos.

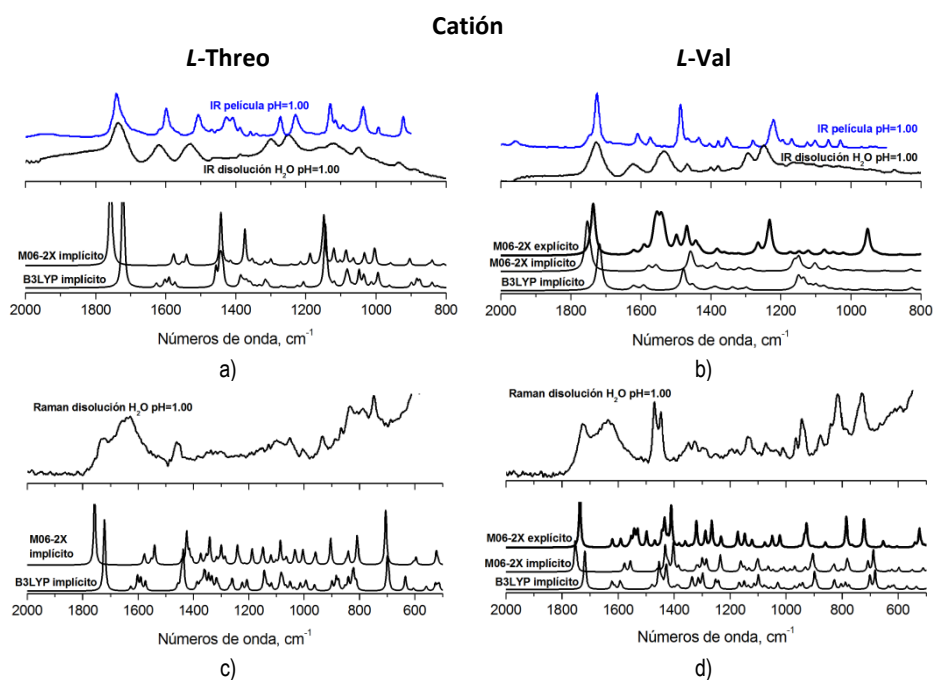
Finalmente, queda decir que los espectros IR y Raman de la *L*-Val y de la *L*-Threo en disoluciones acuosas a pH neutro están de **acuerdo** con los obtenidos por *Hernández y cols.* en las regiones  $1650\text{-}650\text{ cm}^{-1}$  y  $2000\text{-}500\text{ cm}^{-1}$ , respectivamente [11,12]. Sin embargo, en el caso de la *L*-Val, la presencia de los dos conformeros zwitteriones (el obtenido en la referencia 11, *ValZW4-5w*, y el encontrado en nuestra búsqueda conformacional, *ValZW2-5w*) fue necesaria para reproducir los espectros experimentales registrados en este trabajo.

### *ii. pH ácido-Especies catiónicas*

Los espectros IR y Raman registrados para las **disoluciones acuosas a pH ácido** de ambos aminoácidos son **muy similares** y se muestran en la *Fig. 5.6*, comparados con los **espectros teóricos**. Por ejemplo, la banda que aparece a  $1728\text{ cm}^{-1}$  (IR y Raman) en los espectros de la *L*-Threo y la *L*-Val es asignada al modo normal de stretching de  $\text{C}=\text{O}$  de las especies catiónicas. Según los cálculos implícitos realizados para la *L*-Threo, este modo normal muestra concretamente una contribución del 87 % del movimiento stretching de  $\text{C}=\text{O}$ .

Otro ejemplo es la banda que aparece a  $1621\text{ cm}^{-1}$  (IR, banda ancha a  $1637\text{ cm}^{-1}$  en Raman) en los espectros de la *L*-Threo y a  $1623\text{ cm}^{-1}$  (IR, banda ancha y compleja en la misma zona en Raman) en los de la *L*-Val. Esta banda se asocia a modos normales de bendings asimétricos de  $\text{NH}_3^+$  y bending del  $\text{H}_2\text{O}$  en el caso del cálculo explícito. Con el programa VEDA y los cálculos implícitos en la *L*-Threo se predijo una contribución a la misma del 72% del bending asimétrico de  $\text{NH}_3^+$  y del 21% de la torsión HNCC.

Otra banda común es la que aparece en los espectros IR a  $1527\text{ cm}^{-1}$  (*L*-Threo) y a  $1533\text{ cm}^{-1}$  (*L*-Val), asignada al bending simétrico de  $\text{NH}_3^+$  y una pequeña contribución del bending asimétrico de  $\text{CH}_3$ .



**Figura 5.6:** Espectros IR (a y b) y Raman (c y d) de las especies catiónicas de la *L*-Threo (a y c) y la *L*-Val (b y d) comparados con los espectros teóricos escalados en la región espectral  $2000\text{-}500\text{ cm}^{-1}$ . Los paneles de la parte superior muestran los espectros experimentales obtenidos en película (en azul) y disolución (en negro) y los paneles inferiores los espectros teóricos escalados y ponderados con los conformeros más estables, obtenidos con los modelos M06-2X explícito, M06-2X implícito y B3LYP implícito y la base 6-311++G(d,p).

Si nos fijamos en los **espectros Raman** de las formas catiónicas de ambos aminoácidos, podemos apreciar algunas **diferencias espectrales**. La más significativa es que en el espectro Raman de la *L*-Threo aparece una banda a  $1455\text{ cm}^{-1}$  (IR y Raman) y, en esa zona, en el espectro Raman de la *L*-Val nos encontramos con dos bandas a  $1445\text{ cm}^{-1}$  y  $1469\text{ cm}^{-1}$  ( $1465\text{ cm}^{-1}$  en IR), esto es

debido a que estas bandas se asignan a movimientos de bending asimétrico de CH<sub>3</sub> y por ello es lógico que aparezcan más bandas al haber dos grupos metilo en la cadena lateral de la *L*-Val y sólo uno en *L*-Threo.

Si analizamos la reproducción de los espectros experimentales según el uso del **modelo de solvatación usado, implícito o híbrido**, en el caso de la *L*-Val, puede verse que el modelo implícito puede reproducir de forma satisfactoria los espectros experimentales a pH=1.00, pero que hay algunas regiones en las que los **resultados teóricos** son **mejorados** cuando se añaden **8 moléculas de agua explícita** a los cálculos PCM. Por ejemplo, las bandas IR experimentales a 1294 cm<sup>-1</sup> y 1248 cm<sup>-1</sup> están ausentes en los espectros teóricos implícitos y, sin embargo, se reproducen bien con el modelo híbrido. Las mismas se asignan a modos normales con contribuciones de bending de HOC y stretching de O-C. En los espectros Raman también podemos ver que la participación del agua explícita es necesaria para poder predecir de forma completa la anchura de la banda en la zona de 1623 cm<sup>-1</sup>. Además, las regiones 1200-1000 cm<sup>-1</sup> y 900-700 cm<sup>-1</sup> también se reproducen mejor empleando el modelo PCM + H<sub>2</sub>O.

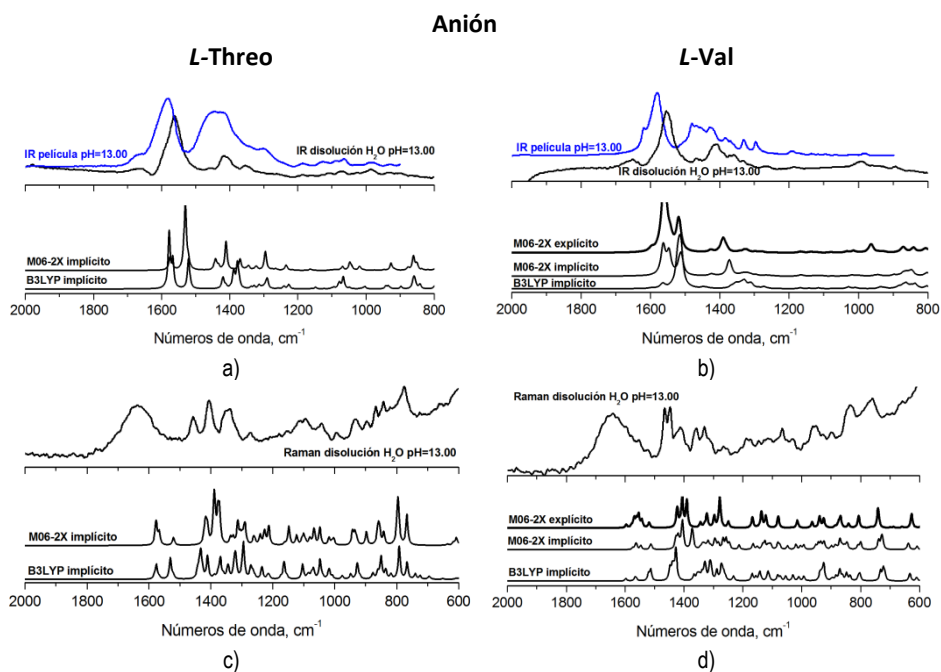
### *iii. pH básico-Especies aniónicas*

En la *Fig. 5.7* se muestra una **comparación teórico-experimental** de los espectros IR (paneles a y b) y Raman (paneles c y d) de las **especies aniónicas** de los aminoácidos *L*-Threo y *L*-Val. Los espectros **IR y Raman** registrados para disoluciones básicas de *L*-Threo y *L*-Val son **similares**. Aunque en los espectros **Raman** se pueden observar algunas **diferencias espectrales**, sobre todo en la región **1500-1100 cm<sup>-1</sup>**, la cual aparece más estructurada en el caso de la *L*-Val, al igual que en los espectros Raman de las especies zwitteriónicas y catiónicas. Las bandas de esta región se asignan a modos normales que contienen contribuciones de bendings simétricos y asimétricos de CH<sub>3</sub>, acoplados con otras contribuciones como las del stretching simétrico de COO<sup>-</sup> y wagging de CH.

Un ejemplo de banda común que aparece en los espectros de ambos aminoácidos pueden ser aquella a 1655 cm<sup>-1</sup> (IR, banda ancha a 1635 cm<sup>-1</sup> en Raman de *L*-Threo y 1645 cm<sup>-1</sup> en Raman de *L*-Val), asignada a las contribuciones del stretching asimétrico de COO<sup>-</sup> y del scissoring de NH<sub>2</sub>, concretamente 71 % y 10%, respectivamente, según el análisis de la P.E.D. realizado con el programa VEDA para la *L*-Threo. Sin embargo, si seguimos la asignación que proporciona el cálculo M06-2X explícito en *L*-Val, esta banda solo sería debida a bendings de las moléculas de agua que forman parte de los clústeres. Otro ejemplo de banda común en los espectros IR de las formas aniónicas de ambos aminoácidos sería la banda a 1560 cm<sup>-1</sup> en *L*-Threo y 1553 cm<sup>-1</sup> en *L*-Val, asignada a un modo normal con contribuciones del 15% del

stretching asimétrico de COO<sup>-</sup>, 62% del scissoring NH<sub>2</sub> y 18% de la torsión de HNCC (porcentajes tomados de los cálculos implícitos llevados a cabo para la *L*-Threo).

A continuación se van a comentar la **actuación de los modelos implícito y explícito** en *ValAN*. Las siguientes bandas experimentales, especialmente las IR, se **predicen mejor** con el modelo **explícito**: las bandas que aparecen a 1469 cm<sup>-1</sup> (IR y Raman), 1410 cm<sup>-1</sup> (IR y Raman), 1357 cm<sup>-1</sup> (IR y Raman), 1330 cm<sup>-1</sup> (IR y Raman) y 991 cm<sup>-1</sup> (IR y hombro en Raman). Una vez más, la estructura de las bandas del espectro Raman experimental se reproduce mejor incluyendo moléculas de agua explícita en la simulación, pues se mejora la reproducción de la región 1200-850 cm<sup>-1</sup> y la anchura de la banda a 1645 cm<sup>-1</sup>.



**Figura 5.7:** Espectros IR (a y b) y Raman (c y d) de las especies aniónicas de la *L*-Threo (a y c) y la *L*-Val (b y d) comparados con los espectros teóricos escalados en la región espectral 2000-600 cm<sup>-1</sup>. Los paneles de la parte superior muestran los espectros experimentales obtenidos en película (en azul) y disolución (en negro) y los paneles inferiores los espectros teóricos escalados y ponderados con los conformeros más estables, obtenidos con los modelos M06-2X explícito, M06-2X implícito y B3LYP implícito y la base 6-311++G(d,p).

Se ha podido comprobar que, teniendo en cuenta el **conjunto más estable** de **conformeros** de especies **zwitteriónicas, catiónicas y aniónicas** de *L*-Threo y *L*-Val modelizados de forma implícita, los espectros **IR** y **Raman** experimentales se **reproducen adecuadamente**. Este acuerdo se **mejora** en el caso de la *L*-Val con la inclusión de **moléculas de agua explícita** en la

modelización implícita. Así, en este caso, la presencia de los conformeros *ValZW4-5w*, *ValZW2-5w*, *ValCAT2-8w*, *ValAN3-5w* y *ValAN2-5w* es suficiente para la reproducción e interpretación de los espectros IR y Raman experimentales a pH 6.00, 1.00 y 13.00, respectivamente.

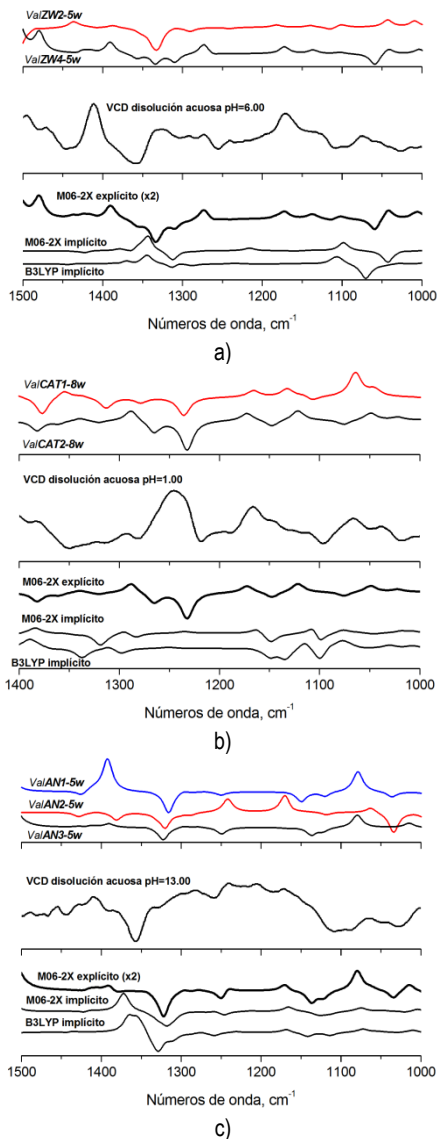
#### 5.1.5. Paisaje conformacional y configuracional mediante la técnica VCD sensible a la quiralidad

En este apartado nos centraremos en la reproducción de las bandas VCD registradas experimentalmente para el aminoácido *L*-Val en disolución acuosa a distintos pH, comparando los resultados de las modelizaciones implícita y explícita de los correspondientes espectros quiroópticos. Comentar que, en este caso, y a diferencia de lo visto en el punto anterior para los espectros vibracionales no quiroópticos, los **espectros VCD experimentales no** se pudieron **interpretar bien sin** la consideración del **modelo PCM + H<sub>2</sub>O**.

- i) En el caso del zwitterión (*Fig. 5.8, panel a*), el couplet (+,-) observado con componentes a 1410 y 1357 cm<sup>-1</sup> está ausente en los espectros teóricos implícitos, mientras que sí aparece correctamente en el tratamiento explícito. Lo mismo ocurre para las dos bandas (-,+) observadas a 1308 y 1272 cm<sup>-1</sup>, con excepción de la presencia de la primera en el espectro teórico implícito B3LYP. Además, el patrón (+,+,-) observado a 1171, 1133 y 1111 cm<sup>-1</sup> y la banda (-) a 1028 cm<sup>-1</sup> se corresponden bien con el espectro teórico explícito, estando ausentes nuevamente en los espectros implícitos.
- ii) El espectro VCD experimental en disolución acuosa a pH ácido (*Fig. 5.8, panel b*) muestra una secuencia de bandas negativas y positivas (-,+,-,+,-,+,-) a 1350, 1323, 1310, 1294, 1280, 1244 y 1217 cm<sup>-1</sup>, que es consistente con los signos observados en el espectro del cálculo M06-2X PCM+H<sub>2</sub>O. Asimismo, la banda (+) a 1165 cm<sup>-1</sup> y el patrón (-,+,+) a 1096, 1066 y 1036 cm<sup>-1</sup> también se reproducen correctamente con el cálculo explícito. Por su parte, con el uso del cálculo M06-2X implícito, únicamente se predice razonablemente bien el conjunto de bandas (-,+,-,+) a 1310, 1294, 1280 y 1165 cm<sup>-1</sup>, mientras que, por ejemplo, el mismo no puede predecir adecuadamente la presencia del conjunto de bandas (-,+,-) a 1350, 1323, 1244 y 1217 cm<sup>-1</sup>. Con el espectro teórico ponderado B3LYP implícito se da una situación similar, aunque en este caso se predicen signos contrarios para el conjunto de bandas (-,+,-) a 1310, 1294 y 1280 cm<sup>-1</sup>.
- iii) Respecto al anión (*panel c* de la *Fig. 5.8*) hay que resaltar el buen acuerdo que existe entre los espectros teóricos y experimentales. Aunque hay al-

gunas bandas experimentales que se reproducen de forma similar por los modelos implícito y explícito, hay también muchas otras que se estructuran mejor con el modelo explícito. Este es el caso del conjunto de bandas (+,+, -, -, +, -, -, -, +) a 1430, 1410, 1394, 1357, 1242, 1111, 1088, 1027 y 1003  $\text{cm}^{-1}$ .

En resumen, debido al **buen acuerdo teórico-experimental** que se da entre los espectros teóricos y experimentales, se puede **confirmar** la presencia de los diferentes conformeros de la *L*-Val propuestos según los modelos teóricos adoptados en cada caso para los **zwitteriones, cationes y aniones** a valores de **pH** de **6.00**, **1.00** y **13.00**, respectivamente. Además, el acuerdo se **mejora** al usar de forma **combinada** los modelos de solvatación **implícito** y **explícito**, habiéndose podido comprobar que algunas de las bandas VCD complejas de este aminoácido en las condiciones estudiadas no se reproducen correctamente sin la inserción de moléculas de agua explícita en el modelo implícito. Finalmente, comentar que dichas conclusiones, en cuanto al tratamiento del disolvente (agua), están en concordancia con las aparecidas en bibliografía para otras especies químicas (como, por ejemplo, aquellas de la referencia 22 y también las del estudio que se detalla en el apartado siguiente sobre los carbohidratos *D*-ribosa y 2-deoxi-*D*-ribosa [23]).



**Figura 5.8:** Las gráficas intermedias de cada panel muestran los espectros VCD experimentales de las especies ZW (a), CAT (b) y AN (c) de la *L*-Val comparados con los espectros teóricos ponderados con las poblaciones de los conformeros más estables obtenidos con B3LYP y M06-2X y el modelo de solvatación implícito, y con el método M06-2X y el modelo explícito, los cuales se muestran en la parte inferior. En la parte superior aparece el espectro teórico M06-2X de los conformeros más estables.

## 5.2. Carbohidratos

### 5.2.1. *D*-ribosa y 2-deoxi-*D*-ribosa

Los estudios **configuracional** y **conformacional** de la ***D*-ribosa** y la **2-deoxi-*D*-ribosa** se han llevado a cabo mediante el empleo de técnicas **computacionales** y **experimentales**, con el fin de identificar qué configuraciones y qué conformeros están presentes en disolución acuosa para cada uno de estos dos carbohidratos [23]. Adicionalmente, se realizó un **trabajo teórico** usando cálculos DFT sobre el paisaje conformacional de estos dos carbohidratos en **fase gas** [24].

A continuación se van a comentar algunos de los aspectos más destacados del estudio realizado en la referencia 23, acerca de los resultados obtenidos en fase acuosa.

#### *i. Motivaciones*

Los carbohidratos de fórmula general  $C_nH_{2n}O_n$ , con  $n \geq 2$  (los derivados deoxi tienen  $O_{n-1}$  átomos de oxígeno), son los **compuestos orgánicos más abundantes** en la tierra por masa, con una **gran variedad de funciones** importantes como almacén energético, intermediarios metabólicos y ladrillos modelo estructurales. Los azúcares con  $n \geq 5$  están presentes en algunas formas de vida, constituyendo la mayoría de la materia bioinorgánica [25-27].

La *D*-ribosa y la 2-deoxi-*D*-ribosa son constituyentes de los ácidos nucleicos **ARN** y **ADN**, respectivamente, y por ello son tan relevantes en bioquímica. Sus estructuras difieren en la presencia/ausencia de un grupo hidroxilo en el C2 (*Fig. 5.9*). Las **interacciones** entre estas biomoléculas y el **agua** son muy importantes, pues afectan a las estabildades de las configuraciones nativas del ARN y ADN [28].

Estos dos carbohidratos pueden existir en 5 formas (ver *Fig. 5.9*): **cadena abierta**, dos formas con anillos de 5 miembros ( **$\alpha$ - y  $\beta$ -furanos**) y dos con anillos de 6 miembros ( **$\alpha$ - y  $\beta$ -piranos**). La ribosa se describe normalmente como formada por anómeros de furanosa, los cuales predominan en los ribonucleósidos, ARN y ATP, así como en otros derivados bioquímicos. El paisaje conformacional y la flexibilidad de muchos carbohidratos se han analizado mediante cálculos DFT y *ab initio* [25,26,29-32]. Llamó especialmente nuestra atención a la hora de abordar este trabajo el hecho de que existiese en la bibliografía una gran cantidad de información estructural sobre la *D*-ribosa y muy poca o ninguna acerca de la 2-deoxi-*D*-ribosa.

Antiguamente, la mayoría de los libros de texto sobre química y los *handbooks* mostraban la molécula de **D-ribosa** en su forma  **$\beta$ -furanosa**, tal y como se presenta en los derivados de ribosa que son importantes desde el punto de vista bioquímico. Pero se ha demostrado mediante el uso de las técnicas RMN y de difracción de rayos X que las moléculas de *D*-ribosa en **fase cristalina** se disponen formando anillos de 6 miembros, es decir, piranosas [33].

Todos los estudios en **disolución acuosa** (deuterada o no) que se han llevado a cabo hasta ahora mediante distintas técnicas (RMN, IR y Raman) para ambos monosacáridos concuerdan en i) La **presencia mayoritaria de piranosas** [34-37], (ii) La **presencia minoritaria de furanosas** [34,37] y iii) Una cantidad **insignificante** de estructuras de **cadena abierta** (derivadas del tautomerismo ceto-enólico) [35]. En resumen, se puede decir que está claro que en disolución las formas piranosas predominan sobre las furanosas y que existe una **controversia** sobre la **presencia o no** de formas de **cadena abierta** y sobre la **relación  $\alpha/\beta$**  de formas **piranosas**.

La **respuesta quiral** de la 2-deoxi-*D*-ribosa no había sido estudiada aún, mientras que sí existían algunos estudios sobre la quiralidad de la *D*-ribosa, como, por ejemplo, los realizados por *Tummalapalli y cols.* [38] y por *Bose y cols.* [39] en DMSO- $d_6$ . Los primeros apuntaron la dificultad de identificar todas las estructuras que participaban en las señales VCD, mientras que los segundos afirmaron que la *D*-ribosa existía tanto en su forma piranosa como furanosa. También habían sido analizados los espectros VCD de otros carbohidratos y disacáridos por *Polavarapu y cols.* [40] y *Monde y cols.* [41], respectivamente. También se registraron los espectros ROA de la *D*-ribosa y de algunos monosacáridos en disolución acuosa [42], concluyendo que la *D*-ribosa existía probablemente como formas piranosas y furanosas. Todos estos resultados son conclusiones empíricas que se obtuvieron sin el soporte de cálculos químico cuánticos.

Finalmente, cabe resaltar el estudio realizado por *Cocinero y cols.* quienes estudiaron la *D*-ribosa en **fase gas** con una combinación de cálculos químico cuánticos y espectroscopía microondas. También llegaron a la conclusión de que las formas  $\alpha$ - y  $\beta$ -piranosas son más estables que las furanosas, consiguiendo la caracterización de 6 estructuras  $\alpha$ - y  $\beta$ -piranosas en un rango de energía de 2kJ/mol, lo cual indica la complejidad conformacional que presenta este carbohidrato [27].

Para clarificar tanto la **preferencia configuracional** como el paisaje **conformacional** de la **D-ribosa** y **2-deoxi-D-ribosa** en **disolución acuosa** y **fase sólida**, en este trabajo se llevó a cabo un estudio detallado de las estructuras de estos dos carbohidratos mediante **cálculos químico cuánticos** (miles de

estructuras fueron modelizadas) y espectroscopías vibracionales sensibles (**VCD**) y no sensibles a la quiralidad (**IR y Raman**). El tratamiento del disolvente (agua) se incluyó mediante el modelo de solvatación continuo **PCM** y mediante un modelo **híbrido** (PCM más una molécula de agua explícita).

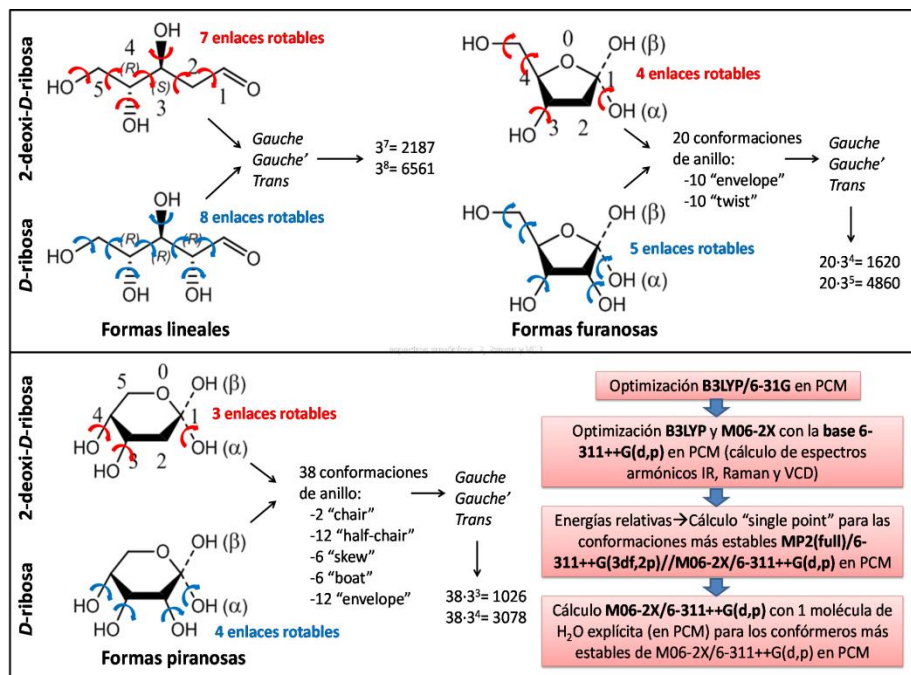
*ii. Metodologías*

*a) Teórica*

Los cálculos químico cuánticos para caracterizar, tanto en fase condensada (disolución y estado sólido) como en fase gas, los sistemas moleculares de la *D*-ribosa y 2-deoxi-*D*-ribosa, fueron realizados como parte entonces de su tesis doctoral, por el Dr. D. Luis Miguel Azofra, dentro del grupo de investigación de Química Teórica del Prof. D. Ibon Alkorta del Instituto de Química Médica del CSIC en Madrid, como parte de un trabajo de investigación con el grupo de investigación de la doctoranda en la UJA.

Se siguió una metodología similar a la descrita para los sistemas anteriores, esto es: **búsqueda conformacional**, **optimización** de estructuras y cálculo de **energías relativas** y de **espectros armónicos IR, Raman y VCD** de los dos carbohidratos objeto de estudio. En la búsqueda conformacional se consideraron miles de estructuras de partida, según el número de **enlaces rotables** y de las **3 disposiciones gauche, gauche' y trans** que pueden adoptar estos carbohidratos. Para eliminar las estructuras duplicadas se consideró que dos estructuras eran idénticas si sus energías relativas diferían en menos de 0.1 kJ/mol y, al mismo tiempo, la desviación media cuadrática (rms) de las distancias en las geometrías de sus correspondientes estructuras era menos de 0.05 Å [25]. La metodología seguida y los funcionales y bases empleados en cada paso están detallados en la *Fig. 5.9* y en la referencia 23.

Cabe resaltar que el número final de confórmeros no redundantes fue de 229 para la *D*-ribosa y de 144 para la 2-deoxi-*D*-ribosa. Se emplearon los programas Gaussian09 para los cálculos DFT y MP2 y el programa RING96 para el análisis “ring puckering”, desarrollado por Cremer y Pople [43]. También se analizó la densidad electrónica de los sistemas mediante la metodología AIM [44,45], con los programas MORPHY y AIMAll, y la caracterización orbital de las interacciones débiles mediante el programa NBO 3.1 [46,47].



**Figura 5.9:** Metodología teórica seguida para el estudio de las formas lineales,  $\alpha/\beta$ -furanosas y  $\alpha/\beta$ -piranosas de los carbohidratos *D*-ribosa y 2-deoxi-*D*-ribosa.

### b) Experimental

Los tratamientos de muestra empleados, así como las técnicas usadas en cada uno de ellos, se especifican en la **Tabla 4.2** del **capítulo 4** para ambos carbohidratos. Las condiciones experimentales (resolución, acumulaciones, etc.) de los registros MIR, VCD y Raman también se detallan allí, concretamente en el subapartado *ii.* del punto 4.1.2., en el subapartado *iii.* del punto 4.2.3. y en el punto 4.3.2., respectivamente.

Especificar que los registros **MIR** se realizaron empleando el accesorio ATR, tanto para muestras sólidas como en disolución, y que se registró la región espectral 4000-500  $\text{cm}^{-1}$ . Las regiones espectrales registradas en el caso de los espectros **VCD** fueron 4000-1900  $\text{cm}^{-1}$  (detector InSb) y 2000-900  $\text{cm}^{-1}$  (detector MCT) y para los **Raman** fue 4000-100  $\text{cm}^{-1}$ . Para la corrección de la línea de base de los espectros VCD se llevó a cabo la "corrección sólo con el *background*" explicada en el subapartado *iv.* del punto 4.2.3 del capítulo 4. Así, se sustrajeron las señales VCD de los aceites minerales nujol y fluorolube, del soporte de KCl y de los disolventes H<sub>2</sub>O y D<sub>2</sub>O a los correspondientes espectros VCD de las muestras.

*iii. Resultados y Discusión: Paisaje conformacional y respuesta quiro-óptica*

Esta sección se divide en 3 partes. i) La primera recoge el **estudio teórico** de los paisajes conformacionales de *D*-ribosa y 2-deoxi-*D*-ribosa en disolución acuosa usando el formalismo PCM y PCM más una molécula de agua explícita para la modelización del disolvente. ii) La segunda contiene el **estudio experimental** realizado con las espectroscopías **IR** y **Raman** no sensibles a la quiralidad y su análisis con la ayuda de cálculos químico cuánticos. iii) La tercera describe la respuesta vibracional quiro-óptica de los mismos empleando la técnica **VCD**.

Durante la discusión de los resultados se van a emplear las siguientes abreviaturas: dDR, DR, dDR $\alpha$ f, dDR $\beta$ f, DR $\alpha$ f, DR $\beta$ f, dDR $\alpha$ p, dDR $\beta$ p, DR $\alpha$ p y DR $\beta$ p, para referir las formas de cadena abierta de la 2-deoxi-*D*-ribosa y *D*-ribosa y las cerradas  $\alpha$ -2-deoxi-*D*-ribofuranosa,  $\beta$ -2-deoxi-*D*-ribofuranosa,  $\alpha$ -*D*-ribofuranosa,  $\beta$ -*D*-ribofuranosa,  $\alpha$ -2-deoxi-*D*-ribopiranososa,  $\beta$ -2-deoxi-*D*-ribopiranososa,  $\alpha$ -*D*-ribopiranososa y  $\beta$ -*D*-ribopiranososa, respectivamente.

*a) Preferencia configuracional y paisaje conformacional*

Como se especifica en la *Tabla 5.3*, se encontraron un total de 1005 y 1916 mínimos para las formas dDR y DR, respectivamente, al nivel computacional M06-2X/6-311++G(d,p). En el caso de las formas furanosa, se hallaron 117, 148, 201 y 266 mínimos para dDR $\alpha$ f, dDR $\beta$ f, DR $\alpha$ f y dDR $\beta$ f, respectivamente. Finalmente, para las formas piranososa se observaron 105, 146, 188 y 272 mínimos para la dDR $\alpha$ p, dDR $\beta$ p, DR $\alpha$ p y DR $\beta$ p, respectivamente. Se puede ver que el número de **mínimos** obtenidos para las conformaciones **cíclicas** es mucho más **pequeño** que para las formas de **cadena abierta**, debido a las restricciones impuestas por el anillo. Empleando el funcional B3LYP con la base 6-311++G(d,p) se obtuvo un número similar de mínimos, excepto para el caso de las formas de cadena abierta de la *D*-ribosa, donde solo se encontraron 1664 (250 menos que los obtenidos usando el funcional M06-2X).

Las *Figs. 5.10, 5.11 y 5.12* muestran los conformeros más estables (mínimos absolutos) de las formas de cadena abierta y  $\alpha$ - y  $\beta$ - piranosas de la 2-deoxi-*D*-ribosa y *D*-ribosa en PCM y PCM más una molécula explícita de agua, calculados al nivel computacional M06-2X/6-311++G(d,p). Los mínimos obtenidos, con diferencias en relación al mínimo global por debajo de 3 kJ/mol, para estas formas se encuentran recogidos en la referencia 23. En el caso de las formas  $\alpha$ - y  $\beta$ -furanosas esta información se encuentra disponible en el material suplementario de dicha referencia 23. También se recogen en el mismo los conformeros más estables (por debajo de 5 kJ/mol) de las 5 formas de la 2-

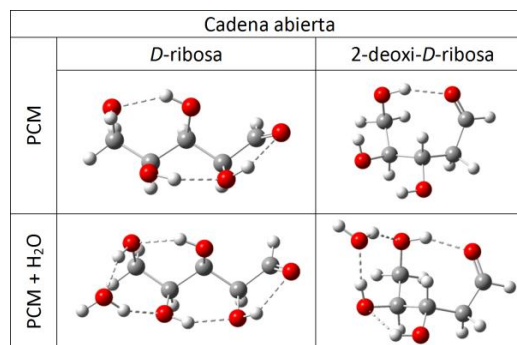
deoxi-*D*-ribosa y *D*-ribosa en PCM al nivel mencionado anteriormente (Figs. S2-S4).

Estruct.	Inicial	<i>Screen</i> <sup>a</sup>	Final <sup>b</sup>	PCM/M06-2X		PCM+H <sub>2</sub> O/M06-2X	
				<10 kJ mol <sup>-1</sup>	<5 kJ mol <sup>-1</sup>	<10 kJ mol <sup>-1</sup>	<5 kJ mol <sup>-1</sup>
dDR	2187	1070	1005	21	3	9	4
DR	6561	2200	1916	27	6	8	3
dDR $\alpha$ f	1620	149	117	27	8	16	4
dDR $\beta$ f	1620	168	148	22	11	15	6
DR $\alpha$ f	4860	238	201	40	13	24	13
DR $\beta$ f	4860	311	266	25	13	18	11
dDR $\alpha$ p	1026	121	105	5	4	11	4
dDR $\beta$ p	1026	153	146	15	4	14	4
DR $\alpha$ p	3078	243	188	21	8	24	9
DR $\beta$ p	3078	310	272	14	5	18	9

<sup>a</sup>Primer *screening* al nivel B3LYP/6-31G. <sup>b</sup>Segundo *screening* empleando la base 6-311++G(d,p).

**Tabla 5.3:** Resumen de la búsqueda conformacional para la 2-deoxi-*D*-ribosa y *D*-ribosa.

Los mínimos más estables de las formas de **cadena abierta** de la **2-deoxi-*D*-ribosa** exhiben una **estructura compacta** en el esqueleto carbonado, mientras que ocurre lo contrario en el segundo y tercer mínimo más estable. Para las formas de **cadena abierta** de la ***D*-ribosa**, todos los mínimos con una energía relativa inferior a 5 kJ/mol presentan al menos uno de sus **D<sub>CCCC</sub>** con una configuración ***s-trans***.



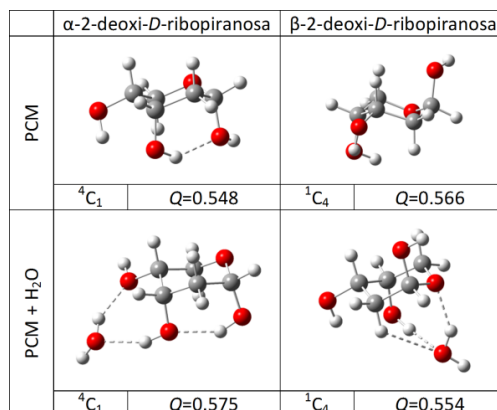
**Figura 5.10:** Los conformeros más estables de las formas de cadena abierta de la 2-deoxi-*D*-ribosa y de la *D*-ribosa en PCM y PCM más una molécula explícita de agua, calculados al nivel computacional M06-2X/6-311++G(d,p). Las líneas punteadas indican las interacciones no covalentes obtenidas en el análisis AIM.

Los mínimos más estables de la  **$\alpha$ -2-deoxi-*D*-ribofuranosa** adoptan las conformaciones <sup>2</sup>T<sub>1</sub> y <sup>2</sup>E, las cuales se encuentran en la misma zona de la rueda Altona-Sundaralingam [48]. Estas favorecen la formación de enlaces de hidrógeno entre los grupos hidroxilo de la cara *exo*. En la mitad de los mínimos, el grupo hidroximetilo se encuentra orientado hacia el anillo formándose un

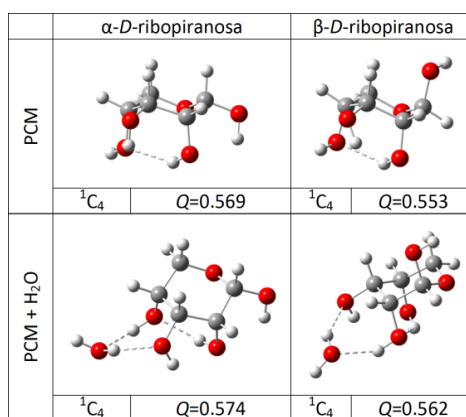
enlace de hidrógeno entre su átomo de oxígeno y el átomo de hidrógeno *endo* enlazado a C2.

En las formas  **$\beta$ -2-deoxi-D-ribofuranosa**,  ${}^4E$  es la conformación de anillo que predomina en los mínimos más estables, con la aparición de una interacción  $O\cdots C2$  explícita, donde el átomo de oxígeno forma parte del hidroximetilo. Adicionalmente, se encontraron 4 conformaciones  ${}^1T_2$  con energías relativas entre 4.2 y 5.0 kJ/mol. Los mínimos más estables de las formas  **$\alpha$ - y  $\beta$ -D-ribofuranosas** exhiben conformaciones  ${}^2T_1$ - ${}^2E$  y  $E_2$ - ${}^1T_2$ , respectivamente. En algunos casos, se forma un enlace de hidrógeno entre el grupo hidroximetilo y el átomo de hidrógeno *endo* de C2, como en el caso mencionado anteriormente de la  $\alpha$ -2-deoxi-D-ribofuranosa. Otras conformaciones de baja energía que se han encontrado son las  ${}^3T_4$  y  ${}^4E$ - ${}^4T_3$  para las formas  $\alpha$ - y  $\beta$ -D-ribofuranosa, con energías relativas entre 3.57 y 4.98 kJ/mol y 2.79 y 4.71 kJ/mol, respectivamente.

Finalmente, respecto a las piranosas, las estructuras de menor energía  **$\alpha$ -2-deoxi-D-ribopiranososa** presentan una conformación de anillo  ${}^4C_1$ , mientras que las  **$\beta$ -2-deoxi-D-**



**Figura 5.11:** Los conformeros más estables de las formas  $\alpha$ - y  $\beta$ - piranosas de la 2-deoxi-D-ribosa en PCM y PCM más una molécula explícita de agua, calculados al nivel computacional M06-2X/6-311++G(d,p). Se incluyen el parámetro Q en Å y la conformación de anillo (C = chair, H = half-chair, S = skew, B = boat y E = envelope; el superíndice a la izquierda se refiere a la cara *endo*; el subíndice a la derecha se refiere a la cara *exo*). Las líneas punteadas indican las interacciones no covalentes obtenidas en el análisis AIM.



**Figura 5.12:** Los conformeros más estables de las formas  $\alpha$ - y  $\beta$ - piranosas de la D-ribosa en PCM y PCM + H<sub>2</sub>O, calculados al nivel M06-2X/6-311++G(d,p). Se incluyen el parámetro Q en Å y la conformación de anillo (mismas especificaciones que en figura anterior).

**ribopiranosas** presentan  ${}^1C_4$ . Para esta última, la conformación de anillo  ${}^4C_1$  aparece en el quinto lugar según la ordenación energética, con una energía relativa de 6.39 kJ/mol (0.06% de población Boltzmann teniendo en cuenta todos los conformeros).

En las  $\alpha$ - y  $\beta$ -**D-ribopiranosas** las conformaciones  ${}^1C_4$  son las más estables. Es muy importante resaltar que en todos los mínimos con forma piranosas más estables, únicamente las conformaciones de silla son las que están presentes con orientaciones diferentes de los grupos hidroxilo.

En las formas de **cadena abierta** de la **2-deoxi-D-ribosa**, los cálculos **MP2 *single point*** concuerdan con el orden de energía obtenido al nivel **M06-2X**. Sin embargo, al nivel B3LYP, el primer mínimo M06-2X llega a ser el quinto conformero más estable con una energía relativa de 4.1kJ/mol (ver *Tabla 5.4*, *Tabla 2* de la referencia 23 y material suplementario).

En las formas de **cadena abierta** de la **D-ribosa**, los cálculos **MP2 *single point*** siguen de nuevo la ordenación **M06-2X** (ver *Tabla 5.5*), con la excepción de las segunda y tercera estructuras que se invierten al nivel MP2. Los resultados B3LYP proporcionan el mismo orden que los cálculos M06-2X solo para los dos primeros mínimos, mientras que el resto de los conformeros más estables

Estruct.	PCM <sup>1</sup>	PCM <sup>2</sup>	PCM + explicit H <sub>2</sub> O <sup>3</sup>	
	$\Delta E_0$	$\Delta E_0$	Estruct.	$\Delta E_0$
dDR1	0.00	0.00	dDR-1w1	0.00
dDR2	0.58	1.26	dDR-1w2	0.65
dDR $\alpha$ f1	0.00	0.00	dDR $\alpha$ f-1w1	0.00
dDR $\alpha$ f2	0.13	2.70	dDR $\alpha$ f-1w2	0.42
dDR $\alpha$ f3	0.16	0.54	dDR $\alpha$ f-1w3	1.54
dDR $\alpha$ f4	0.56	0.86		
dDR $\alpha$ f5	2.33	2.69		
dDR $\alpha$ f6	3.04	1.98		
dDR $\beta$ f1	0.00	0.64	dDR $\beta$ f-1w1	0.00
dDR $\beta$ f2	0.79	0.00	dDR $\beta$ f-1w2	1.65
dDR $\beta$ f3	1.70	3.55		
dDR $\beta$ f4	1.80	2.32		
dDR $\beta$ f5	1.89	1.81		
dDR $\beta$ f6	3.39	1.55		
dDR $\alpha$ p1	0.00	0.00	dDR $\alpha$ p-1w1	0.00
dDR $\alpha$ p2	1.56	1.28	dDR $\alpha$ p-1w2	0.41
dDR $\alpha$ p3	1.75	1.30	dDR $\alpha$ p-1w3	2.37
dDR $\beta$ p1	0.00	0.00	dDR $\beta$ p-1w1	0.00
dDR $\beta$ p2	2.66	4.06		
dDR $\beta$ p3	2.73	3.61		
dDR $\beta$ p4	2.90	2.76		

**Tabla 5.4:** Energías relativas en kJ/mol para los mínimos más estables (por debajo de 3 kJ/mol de energía relativa con respecto al mínimo global), de la 2-deoxi-D-ribosa. Los superíndices 1, 2 y 3 indican los niveles de cálculo empleados: <sup>1</sup> PCM al nivel M06-2X/6-311++G(d,p), <sup>2</sup> PCM al nivel MP2(full)/6-311++(3df,2p)//M06-2X/6-311++G(d,p) y <sup>3</sup> PCM con una molécula de agua explícita al nivel M06-2X/6-311++G(d,p).

aparecen desordenados.

En el caso de las configuraciones **furanosa**, la **ordenación energética cambia** según el método teórico llevado a cabo. El mínimo más estable es el mismo para los niveles M06-2X y MP2 solo en el caso de la  $\alpha$ -2-deoxi-*D*-ribofuranosa.

En el resto de conformeros con forma **furanosa**, el mínimo más estable calculado con M06-2X corresponde al segundo, tercero y quinto, para la  $\beta$ -2-deoxi-*D*-ribofuranosa,  $\alpha$ -*D*-ribofuranosa y  $\beta$ -*D*-ribofuranosa, respectivamente, al nivel MP2.

Por el contrario, los mínimos con forma **piranosa** muestran, en general, **buena consistencia** entre las **distintas metodologías** usadas. Por ejemplo, en la  $\alpha$ -2-deoxi-*D*-ribopiranosa y  $\beta$ -*D*-ribopiranosa, la ordenación energética es la misma empleando los cálculos DFT y MP2, con la excepción del segundo y tercer mínimo de la  $\beta$ -*D*-ribopiranosa, que aparecen alternados al nivel MP2. En las  $\beta$ -2-deoxi-*D*-ribopiranosa y  $\alpha$ -*D*-ribopiranosa

Estruct.	PCM <sup>1</sup>	PCM <sup>2</sup>	PCM + explicit H <sub>2</sub> O <sup>3</sup>	
	$\Delta E_0$	$\Delta E_0$	Estruct.	$\Delta E_0$
DR1	0.00	0.00	DR-1w1	0.00
DR2	1.48	4.58	DR-1w2	0.10
DR3	2.68	1.05	DR-1w3	2.20
DR $\alpha$ f1	0.00	0.92	DR $\alpha$ f-1w1	0.00
DR $\alpha$ f2	0.87	4.11	DR $\alpha$ f-1w2	0.23
DR $\alpha$ f3	1.21	0.00	DR $\alpha$ f-1w3	0.63
DR $\alpha$ f4	2.07	3.37	DR $\alpha$ f-1w4	2.27
DR $\alpha$ f5	2.47	3.44	DR $\alpha$ f-1w5	2.41
DR $\alpha$ f6	2.64	6.70	DR $\alpha$ f-1w6	2.51
			DR $\alpha$ f-1w7	2.74
DR $\beta$ f1	0.00	1.68	DR $\beta$ f-1w1	0.00
DR $\beta$ f2	0.03	1.00	DR $\beta$ f-1w2	0.70
DR $\beta$ f3	0.69	0.07	DR $\beta$ f-1w3	0.72
DR $\beta$ f4	2.45	0.00	DR $\beta$ f-1w4	1.29
DR $\beta$ f5	3.00	2.80		
DR $\beta$ f6	3.40	0.83		
DR $\beta$ f7	3.74	2.79		
DR $\alpha$ p1	0.00	1.33	DR $\alpha$ p-1w1	0.00
DR $\alpha$ p2	0.09	0.00	DR $\alpha$ p-1w2	0.24
DR $\alpha$ p3	1.41	4.95	DR $\alpha$ p-1w3	0.65
DR $\alpha$ p4	1.48	4.38	DR $\alpha$ p-1w4	1.79
DR $\alpha$ p5	1.89	2.37	DR $\alpha$ p-1w5	1.82
			DR $\alpha$ p-1w6	2.18
			DR $\alpha$ p-1w7	2.57
			DR $\alpha$ p-1w8	2.84
DR $\beta$ p1	0.00	0.00	DR $\beta$ p-1w1	0.00
DR $\beta$ p2	0.66	1.94	DR $\beta$ p-1w2	0.94
DR $\beta$ p3	1.00	1.78	DR $\beta$ p-1w3	1.69
DR $\beta$ p4	1.05	3.46	DR $\beta$ p-1w4	2.62
			DR $\beta$ p-1w5	2.81
			DR $\beta$ p-1w6	2.99

**Tabla 5.5:** Energías relativas en kJ/mol para los mínimos más estables (por debajo de 3 kJ/mol de energía relativa con respecto al mínimo global) de la *D*-ribosa. Los superíndices 1, 2 y 3 indican los niveles de cálculo empleados: <sup>1</sup> PCM al nivel M06-2X/6-311++G(d,p), <sup>2</sup> PCM al nivel MP2(full)/6-311++(3df,2p)//M06-2X/6-311++G(d,p) y <sup>3</sup> PCM con una molécula de agua explícita al nivel M06-2X/6-311++G(d,p).

el primer mínimo coincide para los dos funcionales DFT y la ordenación energética de los mínimos más estables no muestra diferencias importantes. Sin embargo, los resultados obtenidos con los cálculos MP2 para la  $\alpha$ -*D*-ribopiranososa no son tan similares a los DFT.

La *Tabla 5.6* recoge la población de las distintas configuraciones de la 2-deoxi-*D*-ribosa y *D*-ribosa usando todos los mínimos obtenidos con los cálculos DFT. Las **poblaciones** de los cálculos **M06-2X** y **MP2** son **similares**. En las dos moléculas estudiadas los conformeros  $\alpha$ -piranososa son los más poblados, seguidos por los  $\beta$ -piranososa. Solo los resultados B3LYP indican la presencia de poblaciones significativas de formas de cadena abierta y furanosas.

Estructura	PCM/M06-2X					MP2 <sup>c</sup>				
	Abierta	$\alpha$ -fur	$\beta$ -fur	$\alpha$ -pir	$\beta$ -pir	Abierta	$\alpha$ -fur	$\beta$ -fur	$\alpha$ -pir	$\beta$ -pir
2-deoxi- <i>D</i> -ribosa	0.0	0.6	0.3	86.6	12.5	0.0	0.6	0.1	91.3	8.0
<i>D</i> -ribosa	0.0	0.1	0.1	71.0	28.8	0.0	0.1	0.0	71.6	28.3
(PCM + H <sub>2</sub> O)/M06-2X <sup>d</sup>										
Estructura	Abierta	$\alpha$ -fur	$\beta$ -fur	$\alpha$ -pir	$\beta$ -pir					
2-deoxi- <i>D</i> -ribosa	0.0	1.4	0.4	73.4	24.8					
<i>D</i> -ribosa	0.0	0.1	0.1	69.2	30.6					

<sup>a</sup> $K = -RT \ln \Delta E_0$ , donde K es la relación de población, R es la constante de los gases ideales, T la temperatura absoluta y  $\Delta E_0$  la energía relativa; <sup>b</sup>Los cálculos se realizaron teniendo en cuenta todos los mínimos para cada configuración (T=298.16 K); <sup>c</sup>Los cálculos MP2(full) solo se realizaron para los mínimos más estables, con energías relativas M06-2X inferiores a 5 kJ/mol; <sup>d</sup>En los cálculos (PCM + H<sub>2</sub>O)/M06-2X se introdujo una molécula de agua explícita a los mínimos implícitos más estables (inferiores a 3 kJ/mol).

**Tabla 5.6:** Poblaciones de Boltzmann<sup>a</sup> en porcentaje para la 2-deoxi-*D*-ribosa y *D*-ribosa a los niveles computacionales M06-2X/6-311++G(d,p) y MP2(full)/6-311++G(3df,2p)//M06-2X/6-311++G(d,p)<sup>b</sup>.

Finalmente, se puede concluir que parece que el funcional **M06-2X** es una **buena elección** para los dos sistemas que se han estudiado. El funcional M06-2X requiere un mayor coste computacional que el B3LYP, pero menor que el MP2, y predice de una forma bastante precisa las estructuras, energías y espectros armónicos [49].

Las metodologías de *Atoms in Molecules* (AIM) [44,45] y *Natural Bond Orbital* (NBO) [46,47] permitieron analizar las interacciones débiles intra- e intermoleculares que, en el caso de la 2-deoxi-*D*-ribosa y de la *D*-ribosa, son los **enlaces de hidrógeno**. Se detectó la presencia de **puntos críticos de enlace** (BCP, del inglés *bond critical point*) entre grupos hidroxilo, entre grupos hidroxilo y el grupo aldehído en el caso de las formas de cadena abierta y entre el

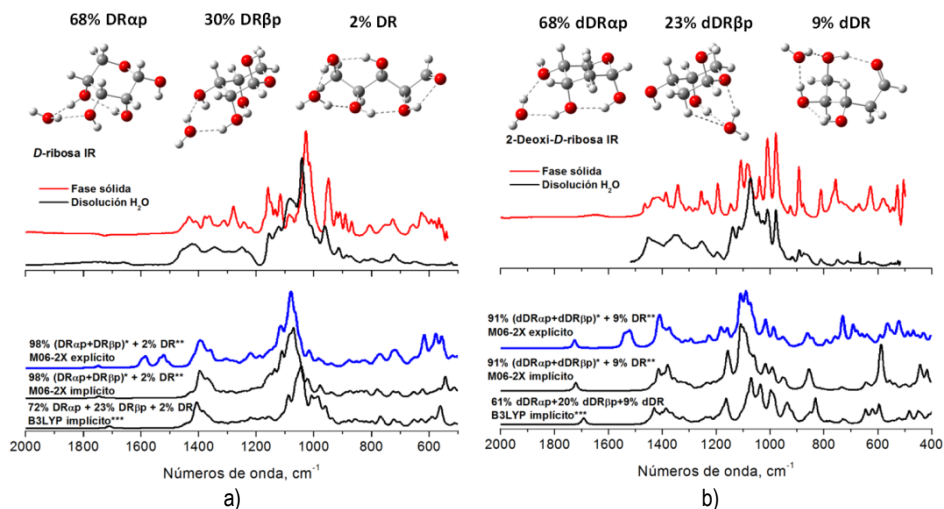
carbohidrato y la molécula de agua explícita, indicando la existencia de enlaces de hidrógeno intra- e intermoleculares.

Como resultado más relevante, se puede destacar el papel clave que juega la **molécula de agua explícita** en la **estabilización** de la **conformación** de los azúcares. En los conformeros más estables forma un puente de hidrógeno intermolecular, actuando tanto como aceptor como donador en el mismo. En este caso, las altas energías NBO E<sup>(2)</sup> obtenidas indicaron la elevada energía de interacción. Para un análisis más detallado, ver referencia 23.

*b) Estudio vibracional no quiro-óptico del paisaje conformacional:  
Espectroscopías IR y Raman*

Los espectros **IR** y **Raman** experimentales de la *D*-ribosa y la 2-deoxi-*D*-ribosa registrados en disoluciones de **H<sub>2</sub>O** y en **fase sólida** (muestra en polvo) se recogen en las *Figs. 5.13* y *5.14*. Estos mismos espectros en disoluciones de D<sub>2</sub>O se encuentran recogidos en las *Figs. 6* y *7* de la referencia 23. Todos ellos aparecen comparados con los **espectros teóricos** del conjunto de las formas más estables teóricamente y que, por tanto, se espera que se encuentren de manera mayoritaria en las disoluciones acuosas de estos carbohidratos. Estas formas son los **anómeros α- y β-piranosos**, los **más poblados** según los **cálculos** químico cuánticos en PCM-agua a los niveles M06-2X/6-311++G(d,p) y B3LYP/6-311++G-(d,p) y en PCM más una molécula de agua explícita (modelo híbrido) al nivel M06-2X/6-311++G(d,p). En el material suplementario (*Figs. S5-S12, Supporting Information*) de la referencia 23 se muestra una comparación detallada de los resultados teóricos y experimentales.

Las **poblaciones predichas** para los **conformeros más estables** son las que se han tenido en cuenta para **ponderar los espectros teóricos** (ver *Tabla 5.6*). Podemos ver en los espectros experimentales del panel b) de las *Figs. 5.13* y *5.14* que en el caso de la 2-deoxi-*D*-ribosa en disolución parecen estar presentes, en alguna medida, estructuras de cadena abierta. Por ello, aunque se puede observar que los cálculos M06-2X con PCM y PCM + H<sub>2</sub>O no predicen la presencia de estas formas, se incluyeron las poblaciones **B3LYP** predichas para las formas de **cadena abierta** (alrededor de 2.3% para la *D*-ribosa y 8.9% para la 2-deoxi-*D*-ribosa) en todos los espectros teóricos que se muestran en las *Figs. 5.13, 5.14, 5.15* y *5.16*.



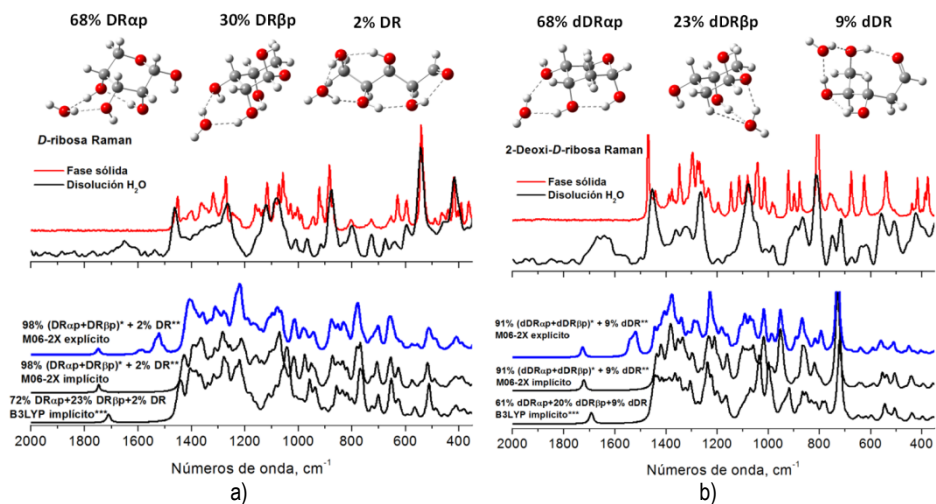
\*Poblaciones PCM/M06-2X 71% DR $\alpha$ p:29% DR $\beta$ p y 87% dDR $\alpha$ p:13% dDR $\beta$ p. Poblaciones (PCM + H<sub>2</sub>O)/M06-2X 69% DR $\alpha$ p:31% DR $\beta$ p y 75% dDR $\alpha$ p:25% dDR $\beta$ p. Estas poblaciones se multiplicaron por 0.98 y 0.91, respectivamente, para conseguir un 100% al añadir las formas de cadena abierta.

\*\*Poblaciones de las formas de cadena abierta provenientes de B3LYP.

\*\*\*Las poblaciones B3LYP no suman 100% debido a los porcentajes 10% y 3% de formas furanosas para 2-deoxi-*D*-ribosa y *D*-ribosa, respectivamente.

**Figura 5.13:** Espectros IR experimentales (parte superior) y teóricos (parte inferior) de la *D*-ribosa (panel a) y de la 2-deoxi-*D*-ribosa (panel b) en la región espectral 2000-400 cm<sup>-1</sup>. Los espectros teóricos se ponderaron con la población de los conformeros más estables. Se tomaron los factores únicos de escala en frecuencias de la base de datos del NIST para los niveles B3LYP (0.967) y M06-2X (0.95), FWHM = 8 cm<sup>-1</sup>.

Se puede observar que, en general, los espectros teóricos de ambos carbohidratos concuerdan bien con los experimentales. Los espectros teóricos con **PCM reproducen bien** los resultados experimentales, pero el acuerdo **mejora** en algunas zonas espectrales cuando se incluye una molécula de **agua explícita** en la modelización teórica continua del disolvente. Esto ocurre por ejemplo en la región 1600-1400 cm<sup>-1</sup> de los espectros IR de la *D*-ribosa, donde nos encontramos con bendings de C-O-H y H<sub>2</sub>O, y en la región 700-500 cm<sup>-1</sup>. Para la 2-deoxi-*D*-ribosa ocurre algo similar, reproduciéndose mejor las regiones espectrales 1600-1400 cm<sup>-1</sup> y 900-800 cm<sup>-1</sup>, en la última de las cuales se producen contribuciones de modos normales de deformaciones de anillo a las correspondientes bandas. Los espectros Raman de estos carbohidratos también tienen una región donde el modelo híbrido muestra mejores resultados que el implícito: la región 1450-1200 cm<sup>-1</sup>, en la cual están presentes contribuciones de C-O-H bendings, CH waggings y CH<sub>2</sub> rockings. Finalmente queda resaltar que el espectro Raman de la *D*-ribosa registrado en disolución acuosa en este trabajo concuerda bien con el obtenido por *Wen y cols.* en la región 1600-600 cm<sup>-1</sup> [42].



\*,\*\* y \*\*\* mismas especificaciones que en Fig. 5.13.

**Figura 5.14:** Espectros Raman experimentales (parte superior) y teóricos (parte inferior) de la *D*-ribosa (panel a) y de la 2-deoxi-*D*-ribosa (panel b) en la región espectral 2000-350  $\text{cm}^{-1}$ . Los espectros teóricos se ponderaron con la población de los conformeros más estables. Se tomaron los factores únicos de escala en frecuencias de la base de datos del NIST para los niveles B3LYP (0.967) y M06-2X (0.95),  $\text{FWHM} = 8 \text{ cm}^{-1}$ .

Las principales características espectrales confirman la **presencia mayoritaria de piranosas, mientras que la presencia de formas furanosas no se puede confirmar**, máxime cuando las formas piranosas son mucho más estables teóricamente que las furanosas, ya que algunas de las bandas intensas que deberían aparecer para las formas furanosas no aparecen y que muchas de las bandas que cabrían asignar a estas últimas pueden ser asignadas también a las piranosas.

En el espectro Raman de la 2-deoxi-*D*-ribosa, las bandas a 1263, 556 y a 512  $\text{cm}^{-1}$  se predicen bien con la contribución teórica de las formas piranosas, pero la predicción desde las formas furanosas conduciría a intensidades más débiles. *Mathblouthi y cols.* atribuyeron la existencia de formas furanosas debido a la presencia de las bandas Raman a 1186  $\text{cm}^{-1}$  (muy débil), 1082  $\text{cm}^{-1}$  (fuerte) y 512  $\text{cm}^{-1}$  (media) [37]. Sin embargo, los espectros teóricos de las formas furanosas predicen estas bandas más débiles, mientras que las piranosas las reproducen correctamente. Si se asignaran estas bandas a la presencia de formas furanosas, también se deberían observar dos bandas de intensidad comparable a 813  $\text{cm}^{-1}$  y a 874  $\text{cm}^{-1}$ . Los espectros teóricos de las piranosas las reproducen con intensidad distinta, como efectivamente se puede ver que aparecen experimentalmente. Las formas piranosas también reproducen teóricamente mejor que las furanosas la región 1400-1200  $\text{cm}^{-1}$ . En cuanto a los espectros IR de este monosacárido,

también el modelo piranosa predice mejor que el modelo furanosa las bandas que se observan a  $1010\text{ cm}^{-1}$  y a  $977\text{ cm}^{-1}$ .

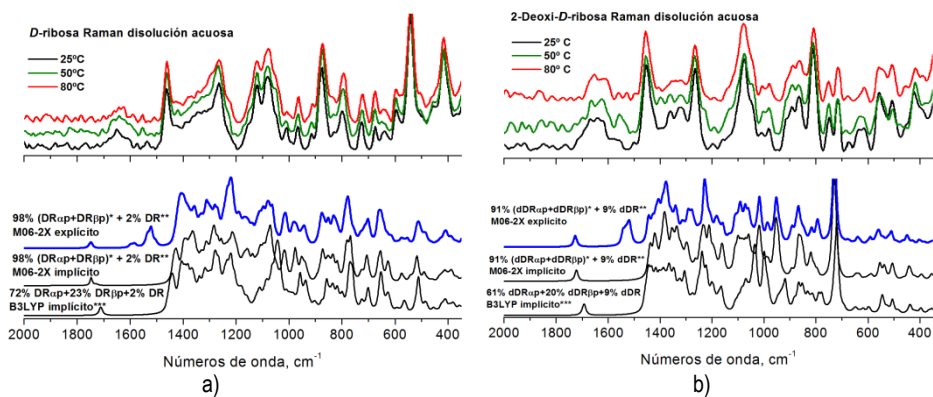
Si nos fijamos en los espectros Raman de la *D*-ribosa, se puede ver que los espectros teóricos de las piranosas predicen mejor que los de las furanosas la estructura e intensidad de las bandas intensas a  $1469$ ,  $1260$ ,  $1121$  y a  $1078\text{ cm}^{-1}$ . *Mathblouthi y cols.* asignaron las siguientes bandas Raman a la presencia de furanosas:  $1158\text{ cm}^{-1}$  (hombro),  $1078\text{ cm}^{-1}$  (fuerte),  $916\text{ cm}^{-1}$  (débil),  $830\text{ cm}^{-1}$  (muy débil),  $596\text{ cm}^{-1}$  (débil) y  $462\text{ cm}^{-1}$  (débil) [37]. Si estas bandas se asignaran a la presencia de furanosas, también se debería observar una banda a  $1185\text{ cm}^{-1}$ , la cual, sin embargo, no aparece en el espectro experimental. Por otro lado, los espectros IR teóricos de las formas furanosas y piranosas de la *D*-ribosa son muy similares, debido a lo cual es complicado sacar conclusiones similares a las anteriores desde ellos.

Teniendo en cuenta el **conjunto más estable de conformeros piranosa** (hasta  $5\text{ kJ/mol}$  en relación al mínimo global), los **espectros experimentales** pueden **reproducirse** de forma **adecuada**, especialmente los espectros Raman y la región  $1200\text{-}900\text{ cm}^{-1}$  de los IR. Teóricamente, las poblaciones de las **formas de cadena abierta** son alrededor de  $2.3\%$  para la *D*-ribosa y  $8.9\%$  para la 2-deoxi-*D*-ribosa (B3LYP), las cuales contribuyen a los espectros vibracionales teóricos totales con una banda adicional a  $1650\text{ cm}^{-1}$ , la cual se corresponde con el modo normal asociado a C=O stretching (o C=C stretching para la forma enediol). Esta banda se observa como débil en los espectros experimentales IR y Raman en disolución acuosa. En el caso de los espectros IR no se puede confirmar nada, ya que el agua absorbe a este mismo número de ondas.

Para clarificar este punto, se procedió al registro de los espectros IR y Raman en disoluciones de  $\text{D}_2\text{O}$ . Como resultado, la banda no se observó en los espectros de la *D*-ribosa. Por el contrario, y en concordancia con los cálculos químico cuánticos (que predicen una población más alta de formas de cadena abierta para la 2-deoxi-*D*-ribosa), la banda sí que apareció en los espectros IR en  $\text{D}_2\text{O}$  de este monosacárido (ver *Figs. 6 y 7* de la referencia 23). El hecho de que esta banda aparezca en el espectro Raman en disolución acuosa de la *D*-ribosa y no en  $\text{D}_2\text{O}$ , y que aparezca con más intensidad en  $\text{H}_2\text{O}$  que en  $\text{D}_2\text{O}$  para la 2-deoxi-*D*-ribosa es lógico. La explicación es que el enlace  $\text{D-O}\cdots\text{D}$  está menos favorecido que el enlace  $\text{H-O}\cdots\text{H}$  y, como consecuencia, la formación de formas de cadena abierta es una reacción que está menos asistida en disolución de agua deuterada, argumento que se ve aún más reforzado teniendo en cuenta que para iniciarla es necesario un hidrógeno [7,50]. No obstante, esta banda no se observa en los espectros Raman e IR de la fase sólida, los cuales se reproducen correctamente con los espectros teóricos de las formas piranosas. Por ello, se

puede concluir que las **formas** que están presentes **mayoritariamente** en las muestras en **fase sólida** son las  **$\alpha$ - y  $\beta$ - piranosas**, como concluyeron también *Šišak y cols.* [33].

También se registraron los espectros Raman en disolución acuosa de ambos carbohidratos variando la temperatura (ver *Fig. 5.15*), pero no se observaron cambios apreciables en las características espectrales. De hecho, la banda a 1650  $\text{cm}^{-1}$  no aumentó con la temperatura [35]. Quizás la adición de un catalizador ácido podría favorecer la creación de formas de cadena abierta [51].

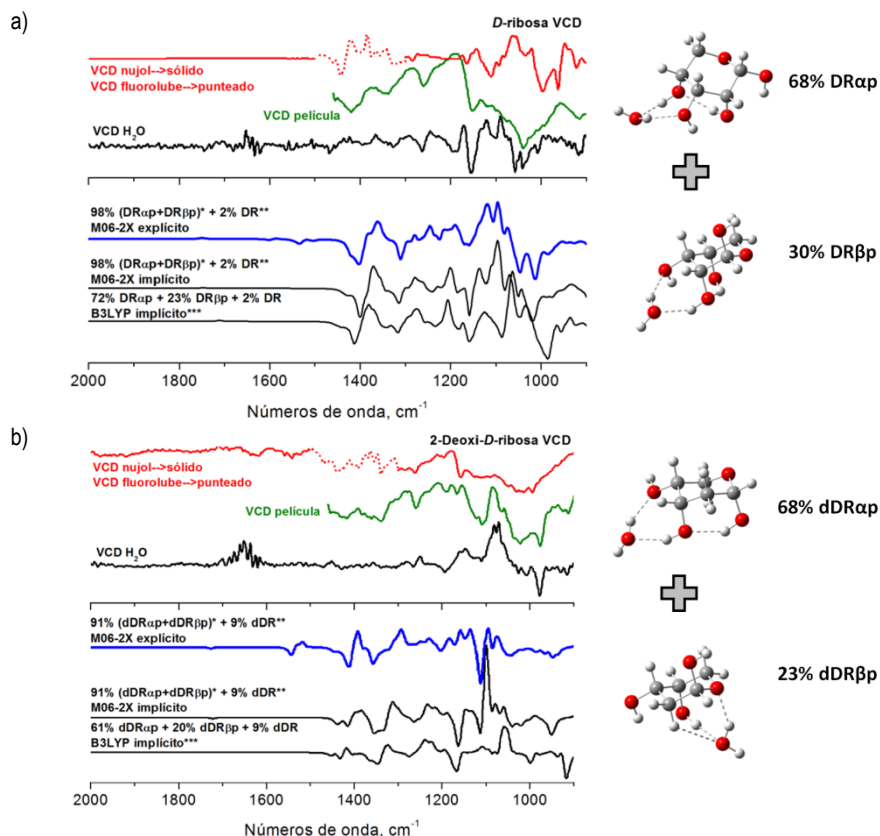


\*,\*\* y \*\*\* mismas especificaciones que en *Fig. 5.13*.

**Figura 5.15:** Espectros Raman experimentales (parte superior) y teóricos (parte inferior) de la *D*-ribosa (panel a) y de la 2-deoxi-*D*-ribosa (panel b) en la región espectral 2000-350  $\text{cm}^{-1}$ . En los dos paneles se muestran los espectros Raman experimentales en disolución acuosa a diferentes temperaturas: 25 °C (negro), 50 °C (verde) y 80 °C (rojo). Los espectros teóricos se ponderaron con la población de los conformeros más estables. Se tomaron los factores únicos de escala en frecuencias de la base de datos del NIST para los niveles B3LYP (0.967) y M06-2X (0.95), FWHM = 8  $\text{cm}^{-1}$ .

### c) Respuesta vibracional quiro-óptica: Espectroscopía VCD

Como la *D*-ribosa y la 2-deoxi-*D*-ribosa son quirales, cabe esperar el obtener información estructural interesante a través de un estudio detallado de sus espectros VCD. Por ello, se registraron los espectros **VCD** de muestras sólidas (**suspensiones y películas delgadas**) y en disolución (**H<sub>2</sub>O y D<sub>2</sub>O**) de ambos carbohidratos, los cuales fueron analizados comparándolos con los **espectros calculados** a los niveles (PCM + H<sub>2</sub>O)/M06-2X y PCM M062X-B3LYP.



<sup>\*</sup>,<sup>\*\*</sup> y <sup>\*\*\*</sup> mismas especificaciones que en Fig. 5.13.

**Figura 5.16:** Espectros VCD experimentales (parte superior) y teóricos (parte inferior) de la *D*-ribosa (panel a) y de la 2-deoxi-*D*-ribosa (panel b) en la región espectral 2000-900 cm<sup>-1</sup>. Los espectros teóricos se ponderaron con la población de los conformeros más estables. Se tomaron los factores únicos de escala en frecuencias de la base de datos del NIST para los niveles B3LYP (0.967) y M06-2X (0.95), FWHM = 8 cm<sup>-1</sup>.

Comparando nuestros resultados con los obtenidos por *Tummalapalli y cols.* [38], encontramos dos *couplets* que aparecen en ambos trabajos, uno (-,+), con componentes a 1265 cm<sup>-1</sup> y a 1240 cm<sup>-1</sup> de la *D*-ribosa-(OD)<sub>4</sub> y otro (-,+), a 1159 cm<sup>-1</sup> y a 1125 cm<sup>-1</sup> de la *D*-ribosa-(OH)<sub>4</sub>, ambos en disolución de DMSO-d<sub>6</sub>. Sin embargo, *Tummalapalli y cols.* no pudieron reproducir el primero en *D*-ribosa-(OH)<sub>4</sub> ni el segundo en *D*-ribosa-(OD)<sub>4</sub>. En los espectros registrados en nuestro equipo VCD observamos los dos *couplets* en todos los espectros. Los autores de la referencia 38 concluyeron que la banda VCD a 1150 cm<sup>-1</sup> indica que la orientación general de los grupos hidroxilo puede deducirse de los estudios VCD. Asimismo, en el caso de la *D*-ribosa, dichos autores no obtuvieron bandas VCD medibles para los movimientos de los bendings de C-O-H y C-C-H (en la referencia 38 se explica de forma más detallada esto último).

Más tarde, *Bose y cols.* emplearon instrumentación VCD mejorada para complementar estos últimos resultados para la *D*-ribosa, con el análisis de su espectro VCD en DMSO- $d_6$  [39]. Observaron un patrón VCD que también se ha podido observar en nuestros espectros VCD de la *D*-ribosa en disoluciones de  $H_2O$  y  $D_2O$ , esto es, la estructura de bandas (+,-,+) a  $1347\text{ cm}^{-1}$ ,  $1263\text{ cm}^{-1}$  y  $1225\text{ cm}^{-1}$  (banda ancha). Ellos también observaron un *couplet* (-,+) con componentes a  $1460\text{ cm}^{-1}$  y  $1435\text{ cm}^{-1}$ , que fue observado como más débil en nuestros espectros. La secuencia de bandas (-,-,-) observadas por estos autores a  $1337\text{ cm}^{-1}$ ,  $1311\text{ cm}^{-1}$  y  $1287\text{ cm}^{-1}$  aparecieron con signo distinto (+,+,+) en nuestros espectros. Esto podría deberse a la diferente relación señal/ruido con la que se obtuvieron en ambos casos, ya que nuestros espectros se registraron en disolución con 14000-28000 acumulaciones en bloques de 2000, conllevando 10 h de medida, mientras que *Bose y cols.* registraron los espectros durante sólo 1 h.

Al igual que para los espectros IR y Raman, el **modelo híbrido** (PCM +  $H_2O$  explícita) **mejora** la **reproducción** de algunas bandas VCD de ambos carbohidratos. Así, en el espectro VCD de la *D*-ribosa en disolución acuosa, se predicen mejor las bandas (+,+,,-) a  $1125$ ,  $1089$ ,  $1056$  y  $1037\text{ cm}^{-1}$ . En el caso de la 2-deoxi-*D*-ribosa, esto ocurre para el *couplet* (-,+) a  $1116$  y  $1077\text{ cm}^{-1}$ . El análisis de las intensidades y signos de las bandas VCD experimentales y teóricas ha sido muy útil, por tanto, en este trabajo, para concluir la presencia de las formas  $\alpha$ - y  $\beta$ -piranosa tanto en **disolución** como en **fase sólida** para la ***D*-ribosa** y la **2-deoxi-*D*-ribosa**. A continuación se especifican las principales bandas VCD obtenidas en la región espectral  $2000\text{-}900\text{ cm}^{-1}$ .

La *Fig. 5.16* muestra los espectros VCD de la *D*-ribosa y 2-deoxi-*D*-ribosa en disoluciones de  $H_2O$  y en fase sólida (película delgada y suspensiones en nujol y fluorolube) en la región espectral  $2000\text{-}900\text{ cm}^{-1}$ , comparados con los espectros teóricos. Los espectros VCD de los mismos en disolución de  $D_2O$  se muestran en la *Fig. 9* de la referencia 23. Como en los casos anteriores, también ahora los espectros teóricos reproducen los experimentales de una forma razonablemente correcta.

En línea con lo dicho anteriormente en apartados anteriores, hay que decir que también la **presencia de formas piranosas** es **suficiente** para reproducir teóricamente y justificar los espectros VCD registrados experimentalmente para los dos carbohidratos objeto de estudio en esta tesis. Así, el signo y la posición de ciertas bandas VCD en las regiones de los stretchings de C-O, los bendings de C-O-H y los waggings de C-H apoyan este hecho. En primer lugar, para la *D*-ribosa, puede ser un ejemplo el *couplet* (-,+) a  $1441$  y  $1421\text{ cm}^{-1}$ , el cual aparece en el espectro registrado para su suspensión en fluorolube y es bien reproducido teóricamente. Otros ejemplos podrían ser el *couplet* (+,-) a  $1170$  y  $1154\text{ cm}^{-1}$  y la

secuencia de bandas (+,+,+,-) a 1125, 1089, 1056 y 1037  $\text{cm}^{-1}$  que aparece en los espectros en disolución y en película, y que concuerdan bien con los espectros teóricos. En segundo lugar, para la 2-deoxi-*D*-ribosa, se puede resaltar igualmente el acuerdo teórico-experimental de algunas bandas importantes en sus espectros VCD. Así, la secuencia de bandas (+,+,+,-,+) que aparece a 1378, 1365, 1346, 1340 y 1313  $\text{cm}^{-1}$  en el espectro registrado de la suspensión en fluorolube, y las bandas (-,+,+,-) observadas a 1191, 1153, 1116, 1077 y 977  $\text{cm}^{-1}$  en los espectros en disolución y en película, nuevamente concuerdan bien con los espectros teóricos.

En resumen, a través del análisis de las propiedades quiro-ópticas de la *D*-ribosa y la 2-deoxi-*D*-ribosa en relación con sus estructuras, se puede confirmar la **presencia mayoritaria** de formas  $\alpha$ - y  $\beta$ -piranosa en **disolución** y **fase sólida**, encontrándose las formas  $\alpha$  en mayor proporción en ambos monosacáridos y con una relación  $\alpha/\beta$  de **3:1**, aproximadamente, según los cálculos teóricos. Adicionalmente, las espectroscopías IR y Raman parecen indicar la existencia de una **pequeña cantidad** de formas de **cadena abierta** en el caso de la 2-deoxi-*D*-ribosa en disoluciones de  $\text{H}_2\text{O}$  y  $\text{D}_2\text{O}$ . Las formas furanosa podrían estar presentes, pero no fue posible observar características espectrales que pudieran ser asignadas de forma inequívoca a la presencia de las mismas. Esta conclusión está de acuerdo con lo dicho en las referencias 33-35, 37-39, 42 y 52 sobre la presencia de formas piranosas para las formas sólidas y las disoluciones en  $\text{H}_2\text{O}$  y  $\text{D}_2\text{O}$  de los dos carbohidratos objeto de estudio en este trabajo. Por el contrario, en dichas referencias se concluye, asimismo, la presencia no despreciable en las mismas de formas furanosa, en distintos porcentajes según el estudio, cosa que no podemos confirmar con nuestros resultados, ya que a la vista de los mismos todos los patrones espectrales que podrían asociarse a la presencia de formas furanosa se reproducen también bien con la presencia sólo de formas piranosa.

### 5.2.2. Glicolaldehído

En los trabajos de esta tesis, se ha acometido también el estudio del **taumerismo aldo-enediolato** del glicolaldehído en disolución **acuosa básica** mediante una combinación de espectroscopía **Raman** y **cálculos químico cuánticos** de alto nivel. Los resultados de esta investigación se encuentran recogidos en la referencia 53.

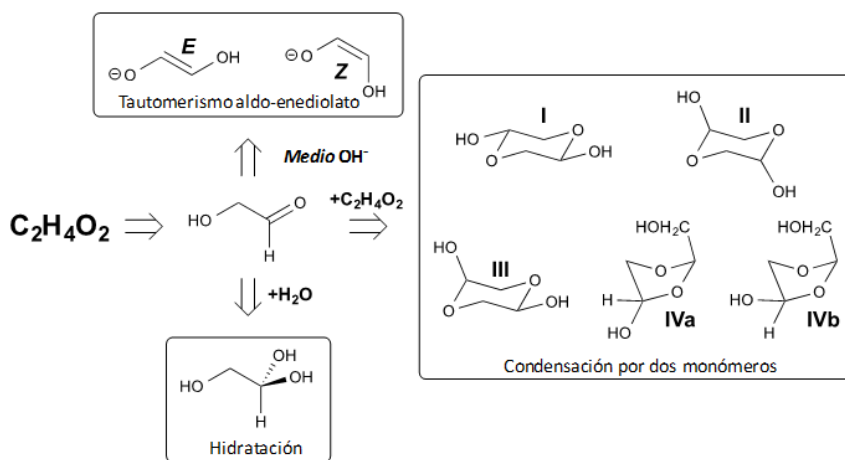
*i. Motivaciones*

Los carbohidratos experimentan toda una serie de procesos químicos fundamentales que han sido bien estudiados tanto a nivel experimental como teórico, tales como la pseudorotación [23,25], mutarotación [32] y glicosilación [54]; existiendo aún alguna **confusión** acerca de otros, como es el caso de sus procesos de **isomerización**, los cuales se fundamentan en la existencia del denominado **tautomerismo aldo-enediol**. Así, desde hace tiempo, se ha dado por sentado que el proceso de interconversión entre aldosas y cetosas (isomerización) tiene lugar a través de intermedios **1,2-enediol** (o 1,2-enediolato), pero estos intermedios nunca han podido llegar a ser aislados de manera neta. Por tanto, el presente trabajo se planteó con el objetivo de intentar detectar la presencia de la estructura 1,2-enediol del glicolaldehído en medio básico (formalmente 1,2-enediolato), e intentar clarificar así los escasos datos existentes sobre la **formación de la especie enediol desprotonada** y el **equilibrio aldo-enediolato**.

Entre los estudios llevados a cabo sobre este tema, *Fedoróńko y cols.* estudiaron la **cinética de enolización** del glicolaldehído en medios **ácido** (HCl a 30-60 °C) y **alcalino** (NaOH a 20-40 °C) [53,55], concluyendo la existencia de un **equilibrio** entre el mismo y su forma **enediol**. También realizaron una comparación de las constantes de velocidad de la reacción en ambos medios, observando que era mucho más lenta en medio ácido. *Kobayashi y cols.* analizaron los espectros **IR** (incluyendo FarIR) y **Raman** del glicolaldehído en fase sólida, fundida y disoluciones frescas saturadas en **H<sub>2</sub>O**, **D<sub>2</sub>O**, DMSO-d<sub>6</sub> y DMSO, observando que en el espectro de esta última aparecían algunas **bandas nuevas** 5 días después de la preparación de la disolución [56]. Estas bandas se atribuyeron a la **disociación de dímeros en monómeros**. Después de 15 días no observaron más cambios en las bandas espectrales. Finalmente, concluyeron que las especies **monoméricas predominan** sobre el resto de especies en la fase fundida y en disolución acuosa. Por otro lado, *Michelsen y cols.* presentaron un estudio espectroscópico **IR** y **Raman** del glicolaldehído en fase fundida, como un líquido superenfriado y en disoluciones de disolventes orgánicos polares y agua, concluyendo que, aparentemente, existía un **equilibrio** entre las especies **monoméricas y diméricas**, con **predominancia** de estas últimas [57]. La adición de **HCl** a la disolución acuosa **no** produjo ningún **cambio** perceptible en la banda de absorción del carbonilo. Adicionalmente, *Collins y George* llevaron a cabo estudios **RMN** del glicolaldehído a temperatura ambiente en disolución de **D<sub>2</sub>O**, demostrando la presencia de, al menos, 4 especies moleculares diferentes: **70% aldehído hidratado**, **4% forma aldehído** y **26% dímeros** (9% 2,5-dihidroxi-1,4-dioxano y 17% 2-hidroximetil-4-hidroxi-1,3-dioxolano) [58].

Recientemente, *Yaylayan y cols.* apoyaron estos resultados mediante el estudio del mecanismo de disociación de las especies diméricas de glicolaldehído en **distintos disolventes** y a diferentes valores de pH y temperaturas mediante espectroscopía **IR** [59]. Asignaron tentativamente una banda que aparecía a 1703  $\text{cm}^{-1}$  a la presencia de **enediol**, la cual aumentaba de intensidad durante el ciclo de calentamiento y disminuía durante el enfriamiento.

En relación a la fase sólida, *Mobaček-Grošev y cols.* estudiaron la estructura cristalina del **dímero del glicolaldehído** mediante **difracción de rayos X** en polvo a temperatura ambiente. Las moléculas diméricas de glicolaldehído son **isómeros trans** con los grupos hidroxilo electronegativos en **disposición axial**. También analizaron los espectros IR y Raman con la ayuda de cálculos *ab initio* [60].



**Figura 5.17:** Especies del glicolaldehído ( $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$ ): aldehído (en el centro), isómeros *E* y *Z* del enediolato (arriba, medio básico), aldehído hidratado (abajo) y anillos formados por la condensación de dos monómeros aldehído (derecha).

Nuestro **objetivo** consistió en llegar a entender y clarificar lo mejor posible todo el tema estructural relacionado con el **equilibrio aldo-enediol** del **glicolaldehído** ( $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$ ), especie que es considerada formalmente por un buen número de autores como el azúcar de fórmula más sencilla, precursor formal de otros más complejos y un sistema modelo con muchas características de los carbohidratos. La *Fig. 5.17* muestra las diferentes formas químicas del glicolaldehído en disolución acuosa: **aldehído**, **aldehído hidratado** (mediante la hidratación de su grupo  $-\text{CHO}$ ), **enediolato** (en sus diastereoisómeros *E* y *Z*, en medio básico) y su **dímero cíclico**, obtenido mediante la condensación de dos monómeros. El dímero podría ser un anillo de 6 miembros (1,4-dioxano-2,5-diol) o bien uno de 5 (2-hidroximetil-1,3-dioxan-4-ol), aunque se sabe que el compuesto es en realidad un dioxano [60].

Los resultados teóricos y experimentales de este trabajo, obtenidos mediante una combinación de espectroscopía Raman y una exhaustiva búsqueda conformacional *ab initio*, revelaron la existencia de **especies enediol** (en forma enediolato) en **medio básico**. Este hallazgo podría servir para **corregir** gran parte de la **bibliografía** acerca de este asunto, en la cual se suele hablar erróneamente de la presencia de especies enediol en medio neutro.

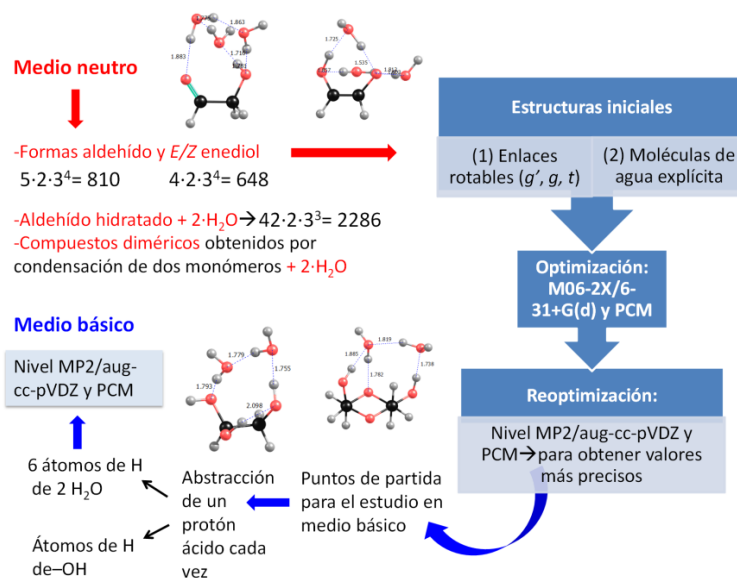
*ii. Detalles computacionales y experimentales*

*a) Procedimiento teórico y búsqueda conformacional*

Al igual que para la *D*-ribosa y 2-deoxi-*D*-ribosa, los cálculos químico cuánticos que se han realizado para caracterizar las especies del glicolaldehído los llevó a cabo el Dr. D. Luis Miguel Azofra, durante la realización de su tesis doctoral dentro del grupo de investigación de Química Teórica del Prof. D. Ibon Alkorta del Instituto de Química Médica del CSIC en Madrid, como parte de un trabajo de colaboración con el grupo de investigación de la doctoranda en la UJA.

Las **estructuras iniciales** del glicolaldehído se eligieron en base al número de **enlaces rotables**, tanto para su forma **aldehído** como **enediol**, y se añadieron a ellas moléculas de **agua explícita al azar** [61], consiguiendo un total de  $2 \cdot 3^{n+1}$  disposiciones iniciales de las moléculas de agua, donde 2 hace referencia al número de pares solitarios y/o electrones  $\pi$  para un centro atómico dado, 3 al mayor número de sitios en los monómeros que pueden actuar como donadores o aceptores de enlaces de hidrógeno y n al número de moléculas de agua implicadas, 3 en nuestro caso.

Se obtuvieron así 810 conformeros de la forma aldehído y 648 de las formas *E/Z*-enediol, los cuales se optimizaron a los niveles indicados en la *Fig. 5.18*. Para eliminar las estructuras duplicadas se siguió el mismo procedimiento indicado anteriormente para la *D*-ribosa y 2-deoxi-*D*-ribosa. Para completar el paisaje conformacional en medio neutro también se modelizaron 2286 conformeros de la forma **aldehído hidratado** (con **dos** moléculas de **agua explícitas**, obteniendo así complejos isoatómicos con la especie aldehído y permitiendo su comparación energética) y compuestos **diméricos**, obtenidos mediante la condensación de dos monómeros (con **dos** moléculas de **agua explícita** también).



**Figura 5.18:** Metodología teórica utilizada para el estudio de las formas aldehído, E/Z-enediol, hidrato y dímero del glicolaldehído en medio neutro y de las formas aldehído y E/Z-enediolato en medio básico.

Las estructuras aldehído y E/Z-enediol modelizadas en medio neutro a nivel MP2 sirvieron como punto de partida para modelizar las correspondientes especies **aldehído** y **E/Z-enediolato** en **medio básico**, siguiendo la metodología indicada en la Fig. 5.18.

Finalmente, se calcularon los espectros armónicos IR y Raman de los distintos conformeros al nivel **MP2/aug-cc-pVDZ**. También se analizaron las funciones de onda mediante la teoría **AIM**, implementada en el programa AIMAll, para identificar las interacciones covalentes (enlaces de hidrógeno principalmente).

*b) Detalles experimentales: Estudio cinético del equilibrio aldo-enediolato mediante espectroscopía Raman*

Se prepararon **dos disoluciones frescas de glicolaldehído en agua** (3.57 M) y se añadió a una de ellas **25  $\mu$ l** de **NaOH** (4 M) y a la otra **10  $\mu$ l**. Los espectros **Raman** de estas dos disoluciones se registraron **3 veces al día** durante **11 días**, lo cual nos permitió hacer un seguimiento de la **evolución** del proceso de **isomerización** del glicolaldehído a su forma enediolato en medio básico. Los espectros Raman de una disolución de glicolaldehído a **pH neutro** (3.57 M, sin la adición de NaOH) también se registraron durante varios días, sin llegar a observarse en este caso cambios significativos en las bandas espectrales.

Los detalles del espectrómetro Raman empleado se especifican en el punto 4.3.1. del capítulo 4, junto con las condiciones experimentales que se especifican en el punto 4.3.2.

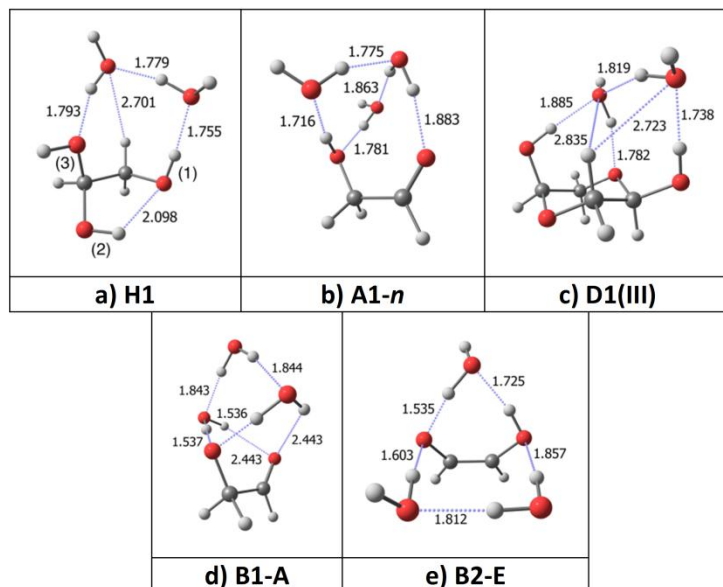
### iii. Resultados y discusión

#### a) Superficie de energía potencial y propiedades de enlace

Los resultados computacionales indican que el glicolaldehído existe como **especie monomérica** en **disolución acuosa** en sus formas de **aldehído** y **aldehído hidratado** y que esta última es la más estable y poblada. Los porcentajes de cada una de ellas al nivel **MP2/aug-cc-pVDZ** con **PCM** y **3** moléculas de **agua explícita** son **9** y **91%**, lo cual nos lleva a una relación aldehído:aldehído hidratado de  $\approx$ **1:9**. En medio neutro no se observaron poblaciones significativas de formas enediol.

Es importante resaltar que hay **10 conformeros** de la forma **aldehído hidratado** que muestran una **energía más baja** (entre 0.0 y 2.2 kJ/mol) que el mínimo más estable de la forma **aldehído** (2.3 kJ/mol). La estructura de los mínimos más estables de cada una de las formas se muestran en la *Fig. 5.19* (paneles *a* y *b*). Los grupos hidroxilo del **mínimo más estable** de la forma **hidrato (H1)** presentan las conformaciones *g'g* y las dos moléculas de agua explícitas interaccionan con el sustrato (monómero hidrato) y entre ellas mediante enlaces de hidrógeno con distancias interatómicas similares (entre 1.7 y 1.8 Å). Adicionalmente, se encontró un enlace de hidrógeno intramolecular entre los grupos hidroxilo *g'* y *g* con una distancia  $R(O\cdots H)$  de 2.098 Å. También hay una interacción no covalente secundaria que consiste en un enlace de hidrógeno largo no clásico entre  $H_2O\cdots HC$  con  $R(O\cdots H)=2.701$  Å [62].

En el caso de las formas **aldehído**, el sustrato (monómero aldehído) siempre muestra una conformación *s-cis*  $\Phi_{OCCO}$  y las moléculas de  $H_2O$  explícitas se encuentran rodeando los átomos de oxígeno del glicolaldehído. A excepción del complejo **A2-n** (g) (ver *Fig. 1* de la referencia 53), todos los ángulos diedros  $\Phi_{CCOH}$  tienen conformación *g'*. Al igual que en el caso de las especies hidrato, se forman enlaces de hidrógeno entre las moléculas de  $H_2O$  explícitas y entre ellas y los grupos hidroxilo y carbonilo, con distancias interatómicas similares en ambos tipos de enlaces de hidrógeno. Los enlaces de hidrógeno entre el  $H_2O$  y el grupo CHO son los únicos que muestran distancias interatómicas más largas (alrededor de 1.8 y 1.9 Å).



**Figura 5.19:** Estructuras moleculares de los conformeros más estables de las formas aldehído hidratado (panel a), aldehído (panel b) y dímero (panel c) en medio neutro y aldehído (panel d) y *Z*-enediolato (panel e) en medio básico, calculadas al nivel computacional MP2/aug-cc-pVDZ con PCM en presencia de moléculas de H<sub>2</sub>O explícitas.

Para completar la superficie de energía potencial del glicolaldehído en disolución acuosa neutra también se modelizaron estructuras cíclicas formadas por condensación de dos monómeros (**dímeros**). En la *Fig. 5.17* se vio que pueden presentarse 4 isómeros: **I**, **II**, **III** y **IV**, este último con los subtipos **a** y **b**. Se encontraron 6 mínimos al nivel MP2/aug-cc-pVDZ por debajo de 10 kJ/mol. El **más estable** de ellos, mostrado en el *panel c* de la *Fig. 5.19* es de **tipo III**, presentando un grupo hidroxilo en posición *axial* y el otro en posición *ecuatorial* y mostrando el anillo una conformación de silla.

En los compuestos tipo III las moléculas de H<sub>2</sub>O explícitas se sitúan sobre los anillos, como se puede ver en el *panel c* de la *Fig. 5.19*, involucrando así a un **gran número de enlaces de hidrógeno**. Una característica importante que se debería resaltar es la presencia de enlaces de hidrógeno O $\cdots$ H entre el H<sub>2</sub>O (como donadora) y uno de los átomos de O endocíclicos (como aceptor). Las distancias de estos enlaces de hidrógeno están en un rango entre 1.759 y 1.868 Å, más cortas, por tanto, que los resultados obtenidos en el mínimo más estable de las formas  $\beta$ -furanosa de la *D*-ribosa y las  $\alpha$ - y  $\beta$ -furanosa de la 2-deoxi-*D*-ribosa con una molécula de agua explícita, las cuales rondaban las distancias O $\cdots$ H 1.999, 1.885 y 1.943 Å, respectivamente [23]. Además, estas interacciones no covalentes se observaron solo en furanosas y no en piranosas, cuando, sin

embargo, la estructura de las piranosas es análoga a la de los tipos II y III de las especies diméricas del glicolaldehído.

En los *paneles d* y *e* de la *Fig. 5.19* se pueden observar los confórmeros más estables de las especies **aldehído (B1-A)** y **Z-enediol (B2-E) desprotonadas** en medio básico. La relación de poblaciones de Boltzmann en medio básico es **56:44** aldehído:Z-enediolato, sin presencia significativa del isómero *E*, en contraste con la situación que se presentaba en medio neutro.

En los **complejos más estables** se puede observar que los **grupos hidroxilo** son los que **se desprotonan**. Se observan distancias muy cortas (1.55 Å) entre los grupos hidroxilo desprotonados y los átomos de hidrógeno de las moléculas de agua explícitas. Por ello, las estructuras modelizadas presentan valores de energía relativa muy similares, cuando las especies análogas en medio neutro estaban muy separadas energéticamente.

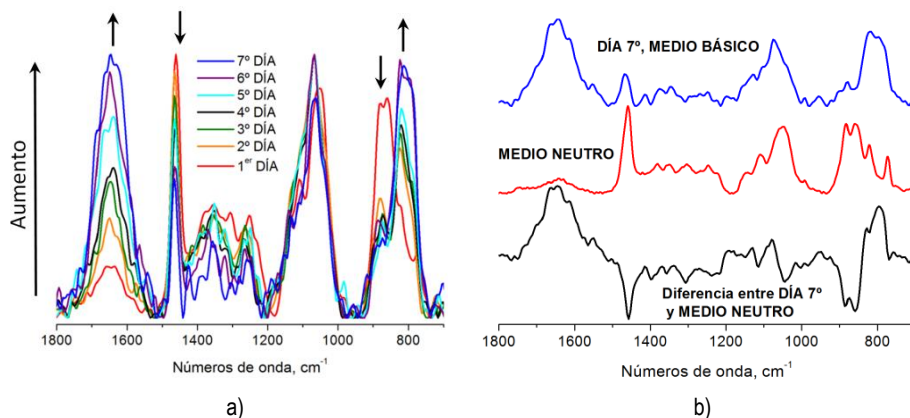
Otro hecho significativo puesto de manifiesto en este estudio es que en los enlaces de hidrógeno CHO $\cdots$ H<sub>2</sub>O se experimenta un alto incremento de la distancia interatómica O $\cdots$ H cuando la comparamos con los resultados obtenidos para la especie aldehído en medio neutro (2.2-2.4 Å frente a 1.8-1.9 Å).

Si, por último, se realiza una comparación de los resultados obtenidos con el **modelo implícito PCM** y con el **modelo híbrido** (PCM + moléculas explícitas de H<sub>2</sub>O) se puede ver, por ejemplo, que la búsqueda conformacional del glicolaldehído en la aproximación PCM en medio básico, revela la existencia de 2, 2 y 1 mínimos para aldehído, Z-enediolato y E-enediolato, y una relación de poblaciones de Boltzmann de 0.2:99.8:0.0. Esto muestra la gran diferencia entre las relaciones aldehído:enediol desprotonado obtenidas con los dos procedimientos,  $\approx 1:1$  y  $\approx 1:499$ , respectivamente. Los **resultados experimentales** que se muestran en el siguiente subapartado **probarán** que la **inclusión de agua explícita mejora** considerablemente los resultados obtenidos con el modelo PCM.

En resumen: 1) el **glicolaldehído en disolución acuosa** neutra existe como **aldehído hidratado**, **aldehído libre** y **dímero**; 2) la relación de las poblaciones de Boltzmann monoméricas en dicho medio es **1:9** aldehído:aldehído hidratado; y 3) en **medio básico** el glicolaldehído experimenta el **tautomerismo ald-enediolato** con una relación **aldehído:enediolato** de **1:1**, estando presente entonces únicamente el isómero *Z* de la forma enediolato.

b) Estudio del tautomerismo aldo-enediolato mediante espectroscopía Raman

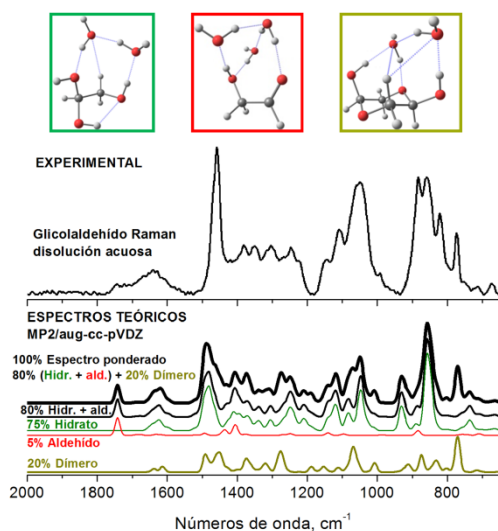
Como se ha dicho anteriormente, los espectros **Raman** de las dos disoluciones conteniendo **NaOH** (ver subapartado *ii.b*) de este punto 5.2.2.) se registraron 3 veces al día durante **11 días**, permitiendo así seguir la **evolución de la reacción de enolización** del glicolaldehído. La *Fig. 5.20* muestra esta evolución para la disolución de glicolaldehído con 25 $\mu$ l de NaOH y la *Fig. S1* del material suplementario de la referencia 53 muestra la misma para la disolución con 10 $\mu$ l de NaOH. La *Fig. 5.20* muestra, por un lado, los espectros Raman registrados para la disolución de glicolaldehído con 25 $\mu$ l NaOH durante 7 días (*panel a*) y, por otro, el espectro Raman diferencia (*panel b*) que resulta de sustraer el espectro Raman registrado a pH neutro (antes de la adición de NaOH) y el último espectro Raman registrado el séptimo día (disolución a la cual se habían añadido 25 $\mu$ l NaOH). Las diferencias espectrales más relevantes se especifican con flechas. Si nos fijamos en el espectro Raman diferencia, se puede apreciar claramente cómo aumenta la intensidad de las bandas a 1650  $\text{cm}^{-1}$  y 809  $\text{cm}^{-1}$  y cómo disminuye la de las bandas a 1461  $\text{cm}^{-1}$  y 875  $\text{cm}^{-1}$  conforme pasa el tiempo. A continuación se van a analizar estas bandas en detalle, descubriendo que el **aumento de intensidad** de las dos primeras bandas se debe a la **formación** de formas **aldehído** y **Z-enediolato**, mientras que en las dos segundas la **intensidad disminuye** debido a la **bajada de población** que se produce de **hidratos** y **dímeros** a pH básico.



**Figura 5.20:** Evolución con el tiempo (7 días) del espectro Raman del glicolaldehído en medio básico (25  $\mu$ l NaOH se añadieron): a) Se muestra el primer espectro Raman registrado cada día en la región 1800-700  $\text{cm}^{-1}$  y las flechas señalan las 3 regiones más relevantes que cambian con el tiempo, y b) Espectro Raman diferencia entre el último espectro registrado el día 7 y el registrado en medio neutro (ver explicación en texto).

Aunque se continuaron haciendo medidas hasta el decimoprimer día, a partir del octavo ya no se observaron cambios significativos en los espectros registrados, razón por la cual cabe pensar que entre el séptimo y el octavo día pudo haberse alcanzado el equilibrio. Como ya se comentó anteriormente, también se registró el espectro Raman del glicolaldehído en **disolución acuosa neutra** durante **varios días**, pero en tal caso **no** se observaron **cambios** relevantes en las bandas espectrales del sistema en estudio. Sin embargo, en su trabajo de la referencia 56, *Kobayashi y cols.* afirman haber observado la aparición de algunas bandas nuevas en el espectro IR de una disolución de glicolaldehído en DMSO cinco días después de su preparación (ver subapartado *i. Motivaciones* de este punto 5.2.2.).

Para tratar de simular teóricamente los resultados experimentales, el primer paso fue intentar reproducir el espectro **Raman** registrado a **pH neutro** con la ayuda de **cálculos químico cuánticos**. Así, la *Fig. 5.21* muestra el espectro Raman experimental del glicolaldehído a pH neutro y los espectros teóricos del *set* más estable de complejos acuosos de **aldehído hidratado, aldehído y dímero**, los cuales son los más poblados al nivel **MP2/aug-cc-pVDZ** y, por tanto, cabe esperar que estén presentes de forma mayoritaria en disolución acuosa a pH neutro. Para la modelización del **disolvente** se usó un **modelo híbrido** (PCM + agua explícita) y los **espectros teóricos** se **ponderaron** teniendo en cuenta las **poblaciones** predichas para los **conformeros más estables** (con energía inferior a 5 kJ/mol para las formas aldehído y aldehído hidratado e inferior a 10 kJ/mol para las formas diméricas, ver *Tabla 5.7*). Para visualizar mejor la discusión que viene a continuación, en la *Fig. 5.21* se han incluido las contribuciones teóricas de los complejos de las



**Figura 5.21:** Espectros Raman experimentales (panel superior) y teóricos (panel inferior) del glicolaldehído en disolución acuosa en medio neutro. Los espectros teóricos ponderados (100% con más grosor y 80% con menos grosor, en negro) se obtuvieron teniendo en cuenta las poblaciones de los conformeros más estables de las especies aldehído hidratado, aldehído y dímero (esta última contribuyendo solo al espectro del 100%). Función Gaussiana, paso de 1  $\text{cm}^{-1}$  y FWHM de 16  $\text{cm}^{-1}$ .

formas aldehído y aldehído hidratado. Se realizó una comparación de los espectros teóricos y experimentales teniendo en cuenta diferentes poblaciones de formas **diméricas**, y se observó que un **15-20 %** de estas formas proporcionaba un porcentaje adecuado para lograr un **buen acuerdo teórico-experimental**. Por ello, se tuvo en cuenta un 20 % de estas especies en nuestro espectro teórico ponderado (ver la discusión de más abajo). Para incluir la presencia de un 20 % de dímeros, las poblaciones de las formas aldehído hidratado y aldehído (94:6) se multiplicaron por 0.8 (esto es, 75.2:4.8) para alcanzar el 100 %.

Los espectros teóricos se tomaron, entonces, como referencia para interpretar las bandas del espectro registrado en la región 1750-650  $\text{cm}^{-1}$ . Algunas **bandas Raman** se pueden asignar a la **presencia** de las formas **aldehído hidratado**, **aldehído** o **dímero** del glicolaldehído como sigue:

- 1) Comenzando por el rango de altos números de onda, nos encontramos con la banda débil a 1744  $\text{cm}^{-1}$ , la cual puede ser asociada al modo normal de **C=O stretching** de la forma **aldehído**, mientras que la banda a 1650  $\text{cm}^{-1}$  se identifica teóricamente como modos de **bendings** de **H<sub>2</sub>O** de las moléculas explícitas de agua que rodean las distintas formas de glicolaldehído.
- 2) Adicionalmente, las formas **aldehído hidratado** y **dímero** dan una banda intensa a 1461  $\text{cm}^{-1}$ , mientras que se requiere la presencia de una o dos formas para reproducir la secuencia de bandas de intensidad media que se observa a 1384, 1349, 1303, 1268 y 1245  $\text{cm}^{-1}$ . Los espectros teóricos de las formas aldehído hidratado y **aldehído** reproducen bien la banda a 1384  $\text{cm}^{-1}$  y los de las formas aldehído hidratado y dímero las bandas a 1349 y 1303  $\text{cm}^{-1}$ , mientras que las bandas a 1268 y 1245  $\text{cm}^{-1}$  se predicen adecuadamente solo con la presencia de dímeros y de aldehídos hidratados, respectivamente. La primera banda que se ha mencionado,

MEDIO NEUTRO			
Aldehído hidratado y aldehído		Aldehído	
Estruc.	$\Delta E_0$	Estruc.	$\Delta E_0$
H1	0.0	A1- <i>n</i>	0.0
H2	1.0	A2- <i>n</i>	2.1
H3	1.1	A3- <i>n</i>	3.7
H4	1.3	A4- <i>n</i>	3.9
H5	1.3	A5- <i>n</i>	4.0
H6	1.3		
H7	1.7	Dímero	
H8	1.7	Estruc.	$\Delta E_0$
H9	2.0	D1	0.0
H10	2.2	D2	5.4
A1- <i>n</i>	2.3	D3	5.5
H11	2.3	D4	7.6
H12	2.3	D5	8.1
H13	2.6	D6	9.8
H14	2.9		

**Tabla 5.7:** Energías relativas (kJ/mol) de los mínimos más estables de las formas aldehído hidratado (H), aldehído (A-*n*) y dímero (D), por debajo de 3, 5 y 10 kJ/mol, respectivamente, al nivel computacional MP2/aug-cc-pVDZ en medio neutro.

esto es, la de  $1461\text{ cm}^{-1}$  se atribuye principalmente a los modos normales de scissoring de  $\text{CH}_2$  y de bending de COH, con las contribuciones adicionales de stretching de C-C y wagging de CH. El resto de bandas se puede asignar a vibraciones de bending de COH acopladas con modos normales de scissoring de  $\text{CH}_2$  (proveniente solo de las formas aldehído), twisting de  $\text{CH}_2$ , y waggings de CH y  $\text{CH}_2$ .

- 3) Los cálculos también reproducen bien las tres bandas observadas a 1149 (hombro), 1106 (hombro) y  $1052\text{ cm}^{-1}$  (fuerte), que son principalmente debidas a la presencia de las formas de **aldehído hidratado** y se pueden asignar a combinaciones de stretchings de C-C y C-O, entre otras vibraciones. Sin embargo, para predecir de forma completa la anchura de la última banda es necesaria la participación de los **dímeros**, que contribuyen a la misma con movimientos de deformación de anillo.
- 4) Finalmente, es importante resaltar que la banda a  $875\text{ cm}^{-1}$  se asigna al modo normal de torsión de OH de moléculas de agua explícita acoplado a diferentes vibraciones de las formas de **aldehído hidratado**. Por el contrario, la banda a  $775\text{ cm}^{-1}$  corresponde al movimiento de respiración de anillo de los **dímeros**. Estas dos bandas se predicen bien únicamente con la presencia de complejos aldehído hidratado o dímero, respectivamente.

Después de este análisis se puede concluir que la molécula de **glicolaldehído** existe como **tres tipos diferentes de estructuras** en disolución acuosa a **pH neutro**: **aldehídos hidratados**, **aldehídos** y **dímeros**. Los resultados teóricos apoyan los datos experimentales y la respectiva relación **4:0.25:1** (poblaciones alrededor de 75%, 5% y 20%) parece ser adecuada para describir de forma correcta la compleja superficie de energía potencial del glicolaldehído en medio neutro.

Respecto a la población de **dímeros**, se puede estimar que hay presentes entre un **15 y 20%** por comparación de las **intensidades** de algunas **bandas Raman teóricas y experimentales**, a las cuales estas especies contribuyen total o parcialmente. Estas bandas son las que aparecen a 1461, 1268, 994 y  $775\text{ cm}^{-1}$ . Si los dímeros contribuyeran con una población del 100%, se debería observar una banda experimental a  $1420\text{ cm}^{-1}$  con la misma intensidad que la banda a  $1461\text{ cm}^{-1}$  y podemos ver que esta banda no está presente. La banda experimental que aparece a  $1461\text{ cm}^{-1}$  se reproduce bien teniendo en cuenta un 20 % de dímeros y un 75 % de aldehídos hidratados. La banda observada a  $1268\text{ cm}^{-1}$ , que es debida a la presencia de dímeros, también se reproduce con una intensidad adecuada (similar a la de la banda a  $1245\text{ cm}^{-1}$ ) teniendo en cuenta un 15-20 % de dímeros. Si se hubieran empleado porcentajes más altos de esta forma molecular

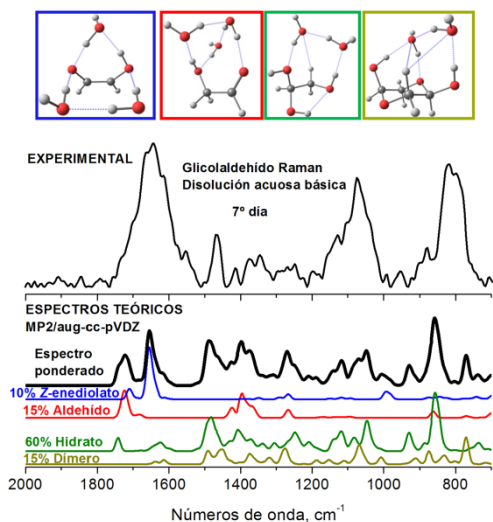
para ponderar los espectros teóricos, esta banda aparecería con la misma intensidad que la banda a  $1461\text{ cm}^{-1}$ . Otro hecho que corrobora la contribución de un 15-20 % de dímeros es la correcta reproducción teórica teniendo en cuenta este porcentaje de la banda débil observada a  $994\text{ cm}^{-1}$ . Además, la banda a  $775\text{ cm}^{-1}$  es la más intensa del espectro teórico ponderado de los dímeros; sin embargo, la banda más intensa en el espectro experimental aparece a  $1461\text{ cm}^{-1}$ , con una relación de intensidad relativa de 1:0.4 entre esta última (tomando su intensidad relativa como referencia y asignándole el valor unidad) y la banda a  $775\text{ cm}^{-1}$ . Esta relación es teóricamente 1:0.6 si elegimos 20% como población de especies diméricas y cambia a 1:0.5 si usamos un 15%.

Nuestros **resultados** son **similares** a los obtenidos por *Collins y George* [58] y *Kobayashi y cols.* [56], que concluyeron que los monómeros (en forma hidratada en el caso de la referencia 58) predominaban sobre otras especies en disoluciones de  $\text{D}_2\text{O}$  y  $\text{H}_2\text{O}$ . Por el contrario, los resultados de esta tesis **no concuerdan** con los obtenidos por *Michelsen y cols.* [57], quienes afirmaron que cuando el glicolaldehído se encuentra disuelto en agua, se establece aparentemente un equilibrio entre las formas monoméricas y diméricas con predominancia de estas últimas. Finalmente, *Yaylayan y cols.* emplearon la espectroscopía IR para confirmar la presencia de formas enediol en disoluciones acuosas neutras de algunos azúcares reducidos [35] y también del glicolaldehído [59], pero nosotros no encontramos evidencias claras de la presencia de esta especie en este medio en el caso del glicolaldehído.

De la misma forma que para la *Fig. 5.21*, la *Fig. 5.22* muestra el **último espectro Raman** registrado el **séptimo día** en medio **básico**, comparado con los espectros **teóricos ponderados** de los **confórmers más estables** de las especies **aldehído**, **Z-enediolato**, **hidrato** y **dímero** (con energía relativa inferior a  $5\text{ kJ/mol}$ , ver *Tabla 5.8*). En las *Figs. 5.21* y *5.22* se puede observar que los espectros Raman experimentales muestran diferencias apreciables entre ellos (ver también *Fig. 5.20*), y por tanto, distintas asignaciones.

Los **hidratos** y los **dímeros** también se encuentran **presentes** en **medio básico**, pero en una proporción menor que en medio neutro, mientras que las especies **enediol** (en su forma desprotonada) **aparecen** gracias a la adición de reactivo básico ( $\text{NaOH}$ ). La proporción de aldehídos con respecto a aldehídos hidratados y dímeros aumenta en relación a la que había presente en medio neutro. Las relaciones  $\approx 1.5:1$  **aldehído:Z-enediolato** y  $\approx 4:1$  **aldehído hidratado:dímero** se han conservado para **ponderar** los espectros teóricos. La **relación** existente entre las especies **aldehído hidratado** y **dímero** es **3 veces** mayor que la que hay entre las estructuras **aldehído** y **Z-enediolato**. Esto se dedujo comparando la intensidad de la banda a  $1461\text{ cm}^{-1}$  en los medios neutro y

básico, la cual es 1 y 0.35, respectivamente, después de normalizar. Así, poblaciones respectivas de alrededor de 10, 15, 60 y 15 % de Z-enediol desprotonado, aldehído, aldehído hidratado y dímero parecen reproducir de forma adecuada el espectro experimental. Las bandas que no se reproducen bien con los espectros teóricos de las formas aldehído y Z-enediolato se asignan a restos de especies hidrato y diméricas que no se han transformado. En la literatura no hay información sobre el rendimiento del proceso de enolización del glicolaldehído, pero puede esperarse que este no sea del 100 % por alcanzarse un estado de equilibrio en el sistema antes de que el proceso de enolización se haya completado.



**Figura 5.22:** Espectros Raman experimentales (panel superior) y teóricos (panel inferior) del glicolaldehído en disolución acuosa básica. El último espectro Raman registrado a pH 14 el séptimo día se muestra en el panel superior. En el panel inferior se muestran los espectros teóricos ponderados con las poblaciones de los conformeros más estables de las especies Z-enediolato, aldehído, aldehído hidratado y dímero. Función Gaussiana, paso de  $1 \text{ cm}^{-1}$  y FWHM de  $16 \text{ cm}^{-1}$ .

A continuación voy a resaltar las **bandas Raman más importantes** que confirman que el **tautomerismo aldo-enediolato** ha tenido lugar:

- 1) La banda a  $1650 \text{ cm}^{-1}$  aparece mucho **más intensa** que la que se observa a pH neutro y va aumentando de intensidad (conforme pasa el tiempo) desde el primer hasta el séptimo día, como puede verse en la

MEDIO BÁSICO			
Aldehído y enediol desprotonado			
Estruc.	$\Delta E_0$	Estruc.	$\Delta E_0$
B1-A	0.0	B9-E	3.3
B2-E	1.0	B10-A	3.6
B3-A	1.6	B11-E	3.6
B4-A	1.9	B12-A	3.7
B5-A	2.3	B13-E	4.2
B6-E	2.8	B14-E	4.5
B7-A	3.0	B15-A	4.6
B8-E	3.3	B16-E	4.8

**Tabla 5.8:** Energías relativas (kJ/mol) de los mínimos más estables de las formas aldehído (B-A) y enediol desprotonado (B-E), por debajo de 5 kJ/mol, al nivel MP2/aug-cc-pVDZ en medio básico.

*Fig. 5.20.* En esta región pueden estar presentes las absorciones IR correspondientes a los modos normales de los bendings del H<sub>2</sub>O (como se ha comentado en el análisis en medio neutro), pero si esta banda observada fuese sólo debido a la presencia de agua, la misma no debería aumentar su intensidad con el tiempo. Los cálculos *ab initio* ayudaron a clarificar este punto y condujeron a hacer la asignación de esta banda a los modos normales de **stretching** de **C=C** de las formas **Z-enediolato** (10% de población) y de **stretching** de **C=O** de las especies **aldehído** (15% de población), apareciendo este último a un mayor número de ondas que el primero. Experimentalmente se observa una banda ancha centrada a 1650 cm<sup>-1</sup> y la anchura de la misma puede justificarse como debida a las antes referidas contribuciones de los diferentes modos normales de las distintas especies químicas que se ha indicado que absorben en dicha zona. Adicionalmente, el aumento de intensidad de la misma a lo largo del proceso de enolización se podría justificar, asimismo, por la **aparición y aumento de formas enediolato en el medio de reacción** a medida que dicho proceso avanza. También se observa un **incremento** en la proporción de formas **aldehído** en función del tiempo, en comparación a la inicialmente presente en la disolución neutra, a expensas de una disminución de las poblaciones de las formas aldehído hidratado y dímero.

- 2) Otros datos a favor de lo aquí propuesto serían la **disminución** de intensidad de la banda a **1461 cm<sup>-1</sup>** y, asimismo, observada para la **secuencia de bandas** previamente mencionada, es decir, la formada por las bandas a 1384, 1349, 1303, 1268 y 1245 cm<sup>-1</sup>, bandas que también se desplazan respecto a los valores de los números de ondas a los que aparecen en el espectro, debido a la **mayor población de aldehídos** en lugar que de aldehídos hidratados. Lo apuntado resulta lógico porque la banda a 1461 cm<sup>-1</sup> se asoció a modos de scissoring de CH<sub>2</sub> y bending de COH, y la población total de las formas que podrían ser responsables de estos modos normales es más baja: las estructuras de aldehído hidratado y de dímero tienen una población total de 95% y 75% a pH neutro y básico, respectivamente.
- 3) A números de onda más bajos, las bandas a 1149 cm<sup>-1</sup> y 1106 cm<sup>-1</sup>, que son debidas a la presencia de **aldehídos hidratados, aparecen más débiles**, y aquella a 1052 cm<sup>-1</sup> (debida a la presencia de **dímeros**) se desplaza a **frecuencias más altas**, apareciendo a 1075 cm<sup>-1</sup>.

En resumen, las **bandas** asignadas a los stretchings de C=O y C=C y al scissoring de CH<sub>2</sub>, que se pueden asociar a la **aparición e incremento de especies enediolato y aldehído, aumentaron sus intensidades** a lo largo del

proceso de enolización. Por el contrario, las intensidades de las **bandas** que son debidas a la **presencia de formas de aldehído hidratado y dímero disminuyeron**, bandas que fueron asignadas a los modos normales de scissoring de CH<sub>2</sub>, stretchings de C-C y C-O y bending de COH. Además, el espectro **Raman registrado el séptimo día a pH básico se reproduce bien** a partir del espectro teórico ponderado, considerando las relaciones **≈1.5:1 aldehído:Z-enediolato** y **≈4:1 aldehído hidratado:dímero**.

En vista de las múltiples reacciones que pueden ocurrir cuando el glicolaldehído se encuentra en disolución acuosa básica, puede afirmarse que el estudio de dicho sistema químico es realmente complejo. Adentrándonos en él, si analizamos en detalle el referido **proceso reactivo** que ocurre en dicho sistema químico, parece estar claro que el hidróxido sódico, actuando como nucleófilo, abre el anillo de los dímeros, disociándolos en las formas hidrato y aldehído, y que una parte de estos aldehídos se convierten en especies enediolato mediante una migración de un átomo de hidrógeno y la formación de un doble enlace C=C. Aunque hay muchas especies presentes en el medio, la presencia de las formas aldehído, Z-enediol desprotonado, aldehído hidratado y dímero consideradas parece reproducir la compleja situación en el proceso de enolización del glicolaldehído a su forma Z-enediolato. Adicionalmente, hay que resaltar que se requiere el uso combinado de los modelos de **solvatación explícito e implícito** para lograr una descripción correcta de las superficies de energía y conseguir unos valores precisos de las energías de las diferentes especies moleculares que intervienen en los procesos puestos en juego en el sistema y, consecuentemente, de las poblaciones de dichas especies presentes en él. Así, la técnica **Raman**, junto con los **cálculos *ab initio***, nos llevan a la conclusión de que el proceso de enolización ha tenido lugar y, consecuentemente, el **tautomerismo aldo-enediolato** ocurre cuando una cantidad adecuada de **reactivo básico** se añade a **disoluciones acuosas de azúcares**. Este resultado está en concordancia con aquel publicado por *Fedorónko y cols.* en el que concluyeron mediante medidas polarográficas que el glicolaldehído se encuentra en equilibrio con su forma enediol en medio alcalino [55]; sin embargo, el sustrato en este segundo caso no es formalmente una especie enediol, sino su forma desprotonada.

### 5.3. Terpenos

#### 5.3.1. Motivaciones

Los **terpenos** son una familia de compuestos orgánicos que están formados por unidades básicas de **isopreno** de 5 carbonos combinadas y modificadas, a las que se unen sustituyentes. Además, constituyen uno de los grupos principales de metabolitos secundarios en la naturaleza, casi 23000 han sido caracterizados [63,64]. Muestran una gran variedad de **actividades químicas y biológicas**, estas últimas tales como las propias de agentes antitumorales, antibacterianos, antioxidantes y antifúngicos [65].

Los **monoterpenos** derivan de la combinación de **dos unidades de isopreno** (10 átomos de C) y son los principales compuestos **volátiles** liberados por las **plantas y bosques de coníferas**, siendo emitidos en grandes cantidades [66,67]. La mayoría de los monoterpenos son **hidrocarburos insaturados** que tienden a reaccionar de manera rápida con agentes químicos atmosféricos, tales como el ozono y los radicales hidroxilo, formando productos de oxidación que pueden producir **aerosoles orgánicos secundarios** (SOAs, del inglés *Secondary Organic Aerosols*) [68,69]. Así, los monoterpenoides son **compuestos orgánicos volátiles y biogénicos** (BVOCs, del inglés *Biogenic Volatile Organic Compounds*) que juegan un papel importante en la química atmosférica, ya que están relacionados, por ejemplo, con el **cambio climático** de distintas formas [68].

Para clarificar el papel de la química terpenoide en la atmósfera, un gran reto es la **identificación y cuantificación** de los terpenos y sus productos de **oxidación** y degradación [69]. Para conseguir este objetivo, se han aplicado ampliamente técnicas como la espectroscopía RMN heteronuclear de dos dimensiones [70], la espectroscopía FTIR [71], la espectrometría de masas por reacción de transferencia de protones (PTR-MS, de sus siglas en inglés) [72], la cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC, de sus siglas en inglés) [71] y la cromatografía de gases acoplada con la espectrometría de masas [73,74]. Recientemente, la **espectroscopía de microondas** de alta resolución también se está empleando para estudiar la estructura en **fase gas** de algunos **terpenos**, tales como, por ejemplo, el perilaldehído [63], la carvona [75], el limoneno [75], el carvacrol y el timol [76], la mentona y el mentol [64], el 4-carvomentenol [77], el alcanfor [78] y la fenchona [79], entre otros.

En esta tesis, se ha empleado la técnica de microondas para estudiar las estructuras en fase gas del **óxido de limoneno,  $\gamma$ -terpineno y pulegona**, como se mostrará a continuación. Los resultados para el óxido de limoneno se encuentran ya concluidos y ha sido recogidos en la referencia 80, de muy reciente

publicación, mientras que los trabajos para el  $\gamma$ -terpineno y la pulegona están aún bajo análisis.

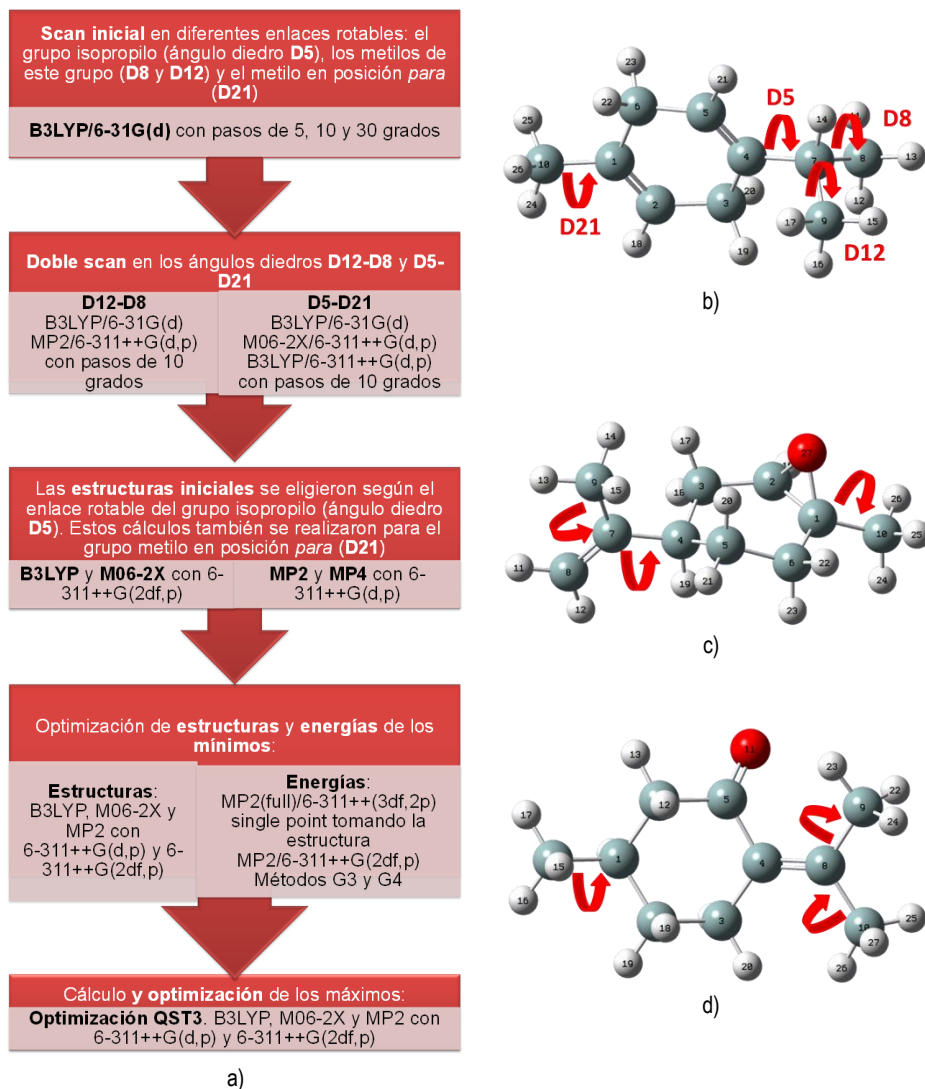
### 5.3.2. Metodología teórica

Para los terpenos estudiados, óxido de limoneno,  $\gamma$ -terpineno y pulegona, se aplicó una **metodología similar**, comenzando con el estudio del **paisaje conformacional**, y continuando con la **optimización** de las estructuras de los confórmeros más estables y la predicción de sus **propiedades moleculares**, para ayudar de esta forma a la correspondiente **identificación conformacional** de cada uno de ellos a partir de su respectivo espectro rotacional experimental. Para el  $\gamma$ -terpineno también se llevaron a cabo cálculos para la simulación de sus espectros vibracionales en las fases líquida y sólida.

En la *Fig. 5.23* se muestra de forma esquemática la metodología teórica seguida en el estudio estructural del  $\gamma$ -terpineno, asociado a su correspondiente estudio experimental vibracional y por espectroscopía de microondas, explicándose en el texto que viene a continuación las principales diferencias entre dicha metodología y la usada en los estudios del óxido de limoneno y de la pulegona.

Después de los cálculos indicados en la *Fig. 5.23*, se llevaron a cabo cálculos **vibrot** (acoplamiento vibracional-rotacional, *vibrational-rotational coupling* en inglés) y **NMR** con los funcionales B3LYP y M06-2X con la base 6-311++G(2df,p) para obtener los momentos dipolares orientados según los ejes principales de la molécula bajo estudio, sus constantes rotacionales y sus constantes de distorsión centrífuga.

En el caso del  **$\gamma$ -terpineno** se obtuvieron 2 confórmeros como mínimos de la PES y para ellos se llevaron a cabo los cálculos del esquema de la *Fig. 5.23*. El  $\gamma$ -terpineno es líquido a temperatura ambiente y, por ello, para la simulación teórica de su estructura en fase líquida se llevaron a cabo cálculos simulando el disolvente con el modelo implícito PCM. En este caso, el disolvente es el propio  $\gamma$ -terpineno. La simulación del sólido está en proceso, habiéndose obtenido para ello clústeres de 4 y 5 moléculas de  $\gamma$ -terpineno mediante Mecánica Molecular.



**Figura 5.23:** a) Esquema que muestra la metodología teórica seguida para el estudio teórico del  $\gamma$ -terpineno, b), c) y d) recogen las estructuras moleculares de los conformeros más estables del  $\gamma$ -terpineno,  $\delta$ -(-)-óxido de limoneno y R-(+)-pulegona, respectivamente, con los enlaces rotables señalados con flechas rojas.

Para el **óxido de limoneno**, se realizaron todos estos cálculos para 12 conformeros que se encontraron como mínimos en la PES [81], empleando MP2/6-311++G(d,p) (pasos de 5°): 6 conformaciones posibles del grupo isopropenilo (ecuatorial y axial), cada una a tres ángulos diedros  $\langle C8C7C4C5 \rangle$  alrededor de 0° (C), +120° (A) y -120° (a), con configuraciones *cis* o *trans* del anillo epóxido con respecto al grupo isopropenilo (ver el posterior apartado 5.3.3, subapartado *ii.b*). En este caso, la optimización de las estructuras se llevó a cabo con los métodos B3LYP y M06-2X con las bases 6-311++G(d,p) y 6-

311++G(2df,p), B3LYP-D3/6-311++G(d,p) y MP2 con las bases 6-311++G(d,p) y aug-cc-pVTZ. Los parámetros espectroscópicos ( $A$ ,  $B$ ,  $C$ ,  $\mu_a$ ,  $\mu_b$ ,  $\mu_c$ ,  $\Delta_j$ ,  $\Delta_K$ , etc.) se calcularon con los métodos mencionados, como, asimismo, las energías relativas, con el empleo adicional de las metodologías G3 y G4 (ver *Tabla 5.9*). El cálculo y optimización de máximos (estados de transición) y el cálculo de las barreras de los metilos se realizaron con los mismos métodos que se indican en la *Fig. 5.23* (excepto el cálculo MP4). Para más detalle, ver referencia 80.

Según los scans realizados en el trabajo de la referencia 82, la **pulegona** puede existir como dos confórmeros, uno ecuatorial y otro axial. La metodología teórica seguida para la pulegona se resume:

- Estructuras iniciales: Confórmeros ecuatorial y axial  $\rightarrow$  HF/6-31G(d,p).
- Optimización de estructuras  $\rightarrow$  Funcionales B3LYP y M06-2X con la base 6-311++G(d,p).
- Parámetros espectroscópicos y energías relativas  $\rightarrow$  B3LYP y M06-2X con la base 6-311++G(d,p).
- Comparación con los cálculos *ab initio*  $\rightarrow$  MP2/6-311++G(d,p).
- Scan en los 3 metilos y scan doble en los metilos del isopropenilo  $\rightarrow$  Métodos B3LYP, M06-2X y MP2 con la base 6-311++G(d,p).

A excepción de los scans de los metilos, todos los cálculos se llevaron a cabo tanto para el enantiómero *R* de ambos confórmeros como para el *S*. Como la relación señal/ruido del espectro rotacional experimental fue lo suficientemente alta para poder observar los espectros rotacionales de cada  $^{13}\text{C}$ , también se realizaron cálculos B3LYP, M06-2X y MP2 con la base 6-311++G(d,p) para cada uno de los  $^{13}\text{C}$  de la estructura, obteniendo así los parámetros espectroscópicos teóricos de cada uno para poder identificarlos en dicho espectro experimental. Como veremos en el punto 5.3.5., con las constantes rotacionales experimentales de cada  $^{13}\text{C}$  y las ecuaciones de Kraitchmann [83] obtenemos las coordenadas cartesianas de los átomos sustituidos de la molécula (estructura de sustitución,  $r_s$ , ver punto 2.2.3. “Determinación de las estructuras moleculares a partir de datos rotacionales” del capítulo 2).

Adicionalmente, se modelizaron clústeres de pulegona con 1 y con 2 moléculas de agua explícita, situándolas en las posiciones idóneas para favorecer la creación de enlaces de hidrógeno entre las mismas (donadoras) y el oxígeno del grupo carbonilo de la molécula de pulegona (aceptor). Para las estructuras así resultantes se llevó a cabo la misma batería de cálculos que para los dos mínimos de la PES en las estructuras sin agua de esta especie química.

## 5.3.3. Óxido de limoneno

## i. Motivaciones

El **óxido de limoneno** (4-isopropenil-1-metil-7-oxabicyclo[4.1.0]heptano, ver Fig. 5.24) es un **contaminante atmosférico** producido por la oxidación de otros terpenos, mayoritariamente por la degradación de limoneno y  $\alpha$ -pineno [84].

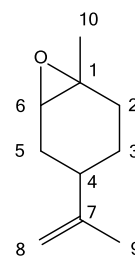
En 1998, *Abbate y cols.* estudiaron la estructura molecular y el espectro **VCD** del óxido de limoneno en los rangos del **IR cercano** y del **visible** [85]. Posteriormente, *Avilés-Moreno y cols.* analizaron los espectros **IR**, **Raman** y **VCD** experimentales en **fase líquida** con la ayuda de cálculos químico cuánticos al nivel **B3LYP/cc-pVDZ** [81], encontrando que los datos experimentales se podían explicar considerando una mezcla de **confórmeros ecuatoriales**.

En este trabajo, se ha investigado por primera vez la molécula de óxido de limoneno en **fase gas**, caracterizando experimentalmente sus conformaciones mediante espectroscopía de microondas y **cálculos químico cuánticos** de alto nivel. De hecho, se han detectado los 5 confórmeros más estables, con la correspondiente determinación de sus parámetros moleculares a partir del análisis del espectro rotacional de esta especie química. La superficie de energía potencial de este terpeno se exploró con métodos **DFT** y *ab initio* empleando varias bases de cálculo. Comparando las constantes rotacionales experimentales con las *ab initio*, se identificaron **4 confórmeros ecuatoriales** y **1 axial**. Las interacciones atractivas tipo **enlaces de hidrógeno** y **fuerzas de dispersión**, junto con los **efectos estéricos**, resultaron de suma importancia para llegar a determinar las estructuras de los distintos confórmeros. También se investigaron los procesos de **relajación conformacional** que podían tener lugar en el *jet* supersónico con la ayuda de cálculos MP2.

## ii. Metodologías

## a) Detalles experimentales

El espectro rotacional del óxido de limoneno se registró con un espectrómetro de **pulsos microondas por transformada de Fourier (MB-FTMW)**, cuyo funcionamiento se explicó en el apartado 4.4.1. del capítulo 4, y



**Figura 5.24:** Esquema de la estructura del óxido de limoneno con la numeración de sus átomos indicada.

con un espectrómetro **FT microondas de banda ancha (CP-FTMW)**, cuyo funcionamiento también se explicó anteriormente, en el punto 4.4.2. Los detalles experimentales se recogen también en dichos puntos del capítulo 4. El primero de los equipos citados se encuentra disponible en Lille, y el espectro rotacional de dicho terpeno se pudo registrar e iniciar su análisis gracias a la realización de una estancia de investigación de esta doctoranda en la Universidad de Lille 1 en 2014, tal y como se explica en el capítulo 1 “Introducción”. El segundo espectrómetro mencionado se encuentra en el King’s College London [79] y los correspondientes registros microondas, así como su análisis, fueron realizados en este caso en el grupo de investigación de la Dra. D<sup>a</sup>. María Eugenia Sanz, y más concretamente por sus estudiantes Donatella Loru y Natasha Jarman, resultando así un trabajo de colaboración combinando los resultados obtenidos con ambos espectrómetros. El último espectrómetro mencionado opera en la región **2-8 GHz**, mientras que el primero lo hace en la región **4-20 GHz**.

*b) Resultados computacionales*

Las **energías relativas** calculadas para cada uno de los conformeros encontrados como mínimos en la PES se recogen en la siguiente tabla:

Conformeros	Energía relativa (cm <sup>-1</sup> ) <sup>a</sup>									
	B3LYP			M062X		MP2		G3	G4	
	1	2	3	1	2	1	4			
eq-trans-a	0	0	0	34	6	67	191	17	0	
eq-trans-A	191	182	199	178	95	307	334	188	170	
eq-cis-a	178	179	171	196	200	244	388	209	189	
eq-cis-A	234	234	246	256	184	371	399	253	233	
eq-cis-C	260	262	295	390	258	421	453	296	279	
eq-trans-C	287	267	327	404	304	425	491	314	303	
ax-trans-C	617	634	185	0	0	0	0	0	139	
ax-trans-A	1295	1337	810	637	679	713	742	704	853	
ax-cis-C	1425	1454	1114	1173	1096	1179	1258	1240	1281	
ax-trans-a	1451	1457	1125	1103	1082	1145	1096	1037	1125	
ax-cis-a	1681	1690	1275	1109	1110	1232	1178	1095	1111	
ax-cis-A	1906	1966	1640	1927	1880	2014	2022	1873	1948	

<sup>a</sup> Todas las energías relativas están corregidas al punto cero (ZPE siglas en inglés,  $\Delta E_0$ ), excepto las calculadas al nivel MP2/aug-cc-pVTZ, que son energías relativas de equilibrio ( $\Delta E_e$ ). 1: 6-311++G(d,p); 2: 6-311++G(2df,p); 3: B3LYP-D3/6-311G++(d,p); 4: aug-cc-pVTZ.

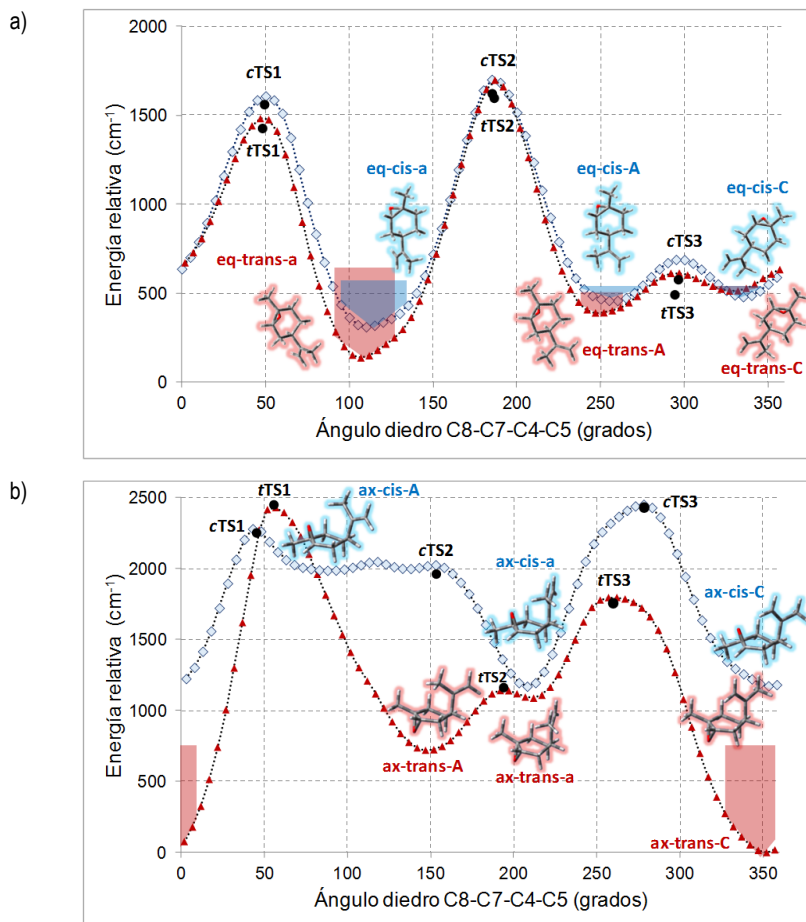
**Tabla 5.9:** Energías relativas de los 12 conformeros del óxido de limoneno calculadas con diferentes métodos teóricos.

Analizando estos valores, se puede observar que se producen **cambios considerables** si las energías relativas se calculan con el funcional **B3LYP** (con y sin la dispersión **D3** de Grimme) o con los métodos **M06-2X** o **MP2**. Estos últimos predicen energías considerablemente más bajas para todos los conformeros axiales, lo cual provoca una ordenación energética distinta con una de las formas **axiales** como **mínimo global**. Las constantes rotacionales y las componentes del momento dipolar de todos los conformeros predichos con cada método se recogen en la referencia 80.

Como se comentó en el punto 5.3.2. se realizó una **exploración de la PES** de este terpeno al nivel MP2/6-311++G(d,p), a lo largo de la coordenada de torsión del grupo isopropenilo, para los conformeros axiales y ecuatoriales, escaneando el ángulo diedro <C8C7C4C5, y que se muestra en la *Fig. 5.25*.

Esto confirmó el orden energético de los conformeros y permitió la investigación de la **interconversión conformacional** y la identificación de los **estados de transición**. Los conformeros con alta energía se pueden relajar a sus formas de más baja energía mediante colisiones con el gas portador en las etapas iniciales de la expansión supersónica si las barreras de interconversión son lo suficientemente bajas, alrededor de  $< 1000 \text{ cm}^{-1}$  (aprox.  $12 \text{ kJ/mol}$ ) o inferiores (para sistemas moleculares con algunos grados de libertad [86]). Así, las **barreras de interconversión** calculadas entre los conformeros eq-trans-C, eq-cis-C, ax-trans-a, ax-cis-A, y eq-trans-A, eq-cis-A, ax-trans-A, ax-cis-a, respectivamente, son **muy bajas**, por lo que es muy probable que los primeros se relajen a los segundos en el *jet* supersónico.

Además, por un lado, las **barreras torsionales** calculadas para los grupos **metilo** del conformero ecuatorial más estable fueron de  $750$  (B3LYP),  $680$  (M062X) y  $890$  (MP2)  $\text{cm}^{-1}$  para el ángulo diedro <HC10C1C6 y de  $500 \text{ cm}^{-1}$  a los tres niveles de teoría para <HC9C7C4 (ver *Fig. 5.24* para la numeración de los átomos). Por otro lado, los valores de las mismas para la forma axial más estable fueron de  $900 \text{ cm}^{-1}$  (MP2) y  $650 \text{ cm}^{-1}$  (MP2) para los ángulos diedros <HC10C1C6 y <HC9C7C4, respectivamente.



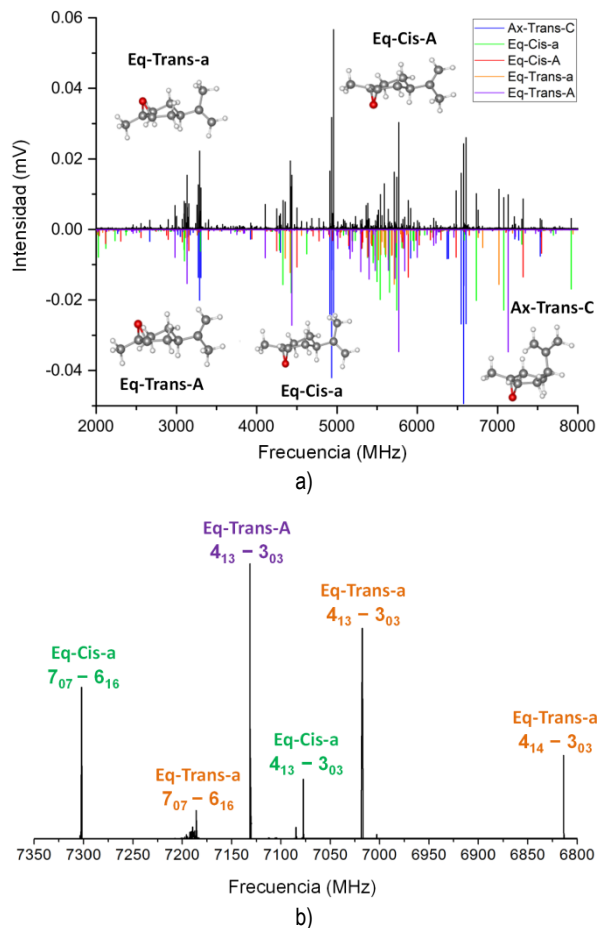
**Figura 5.25:** Barridos (*scans*) de las superficies de energía potencial calculados a lo largo del ángulo diedro  $\langle C8C7C4C5 \rangle$  al nivel MP2/6-311++G(d,p) para las configuraciones *cis* (en azul) y *trans* (en rojo) del óxido de limoneno con el grupo isopropenilo en las posiciones a) ecuatorial y b) axial. Se han indicado las posiciones de los conformeros ecuatoriales y axiales y los correspondientes 12 estados de transición.

### iii. Espectro rotacional

Como se comentó en el subapartado *ii.a)*, el espectro rotacional del óxido de limoneno se registró con los espectrómetros MB-FTMW y CP-FTMW disponibles en Lille y Londres, respectivamente. En la *Fig. 5.26* se muestran los espectros rotacionales registrados con el equipo CP-FTMW en la región de frecuencia 2-8 GHz y con el equipo MB-FTMW en la región 6.8-7.35 GHz.

Se puede observar la presencia de una gran cantidad de transiciones, indicativa de la presencia de varias conformaciones de esta molécula. Se espera que todos los conformeros sean **trompo-asimétricos**, cercanos a ser prolatos, y la mayoría presentan un considerable  $\mu_b$ . Por tanto, las primeras búsquedas se centraron en la serie de transiciones tipo *b* de la rama R  $J_{1,J-1} \leftarrow J_{0,J}$  separadas aproximadamente por 2C. **Inicialmente** se encontraron **4 especies** en el espectro. Los primeros ajustes que incluían transiciones tipo *b* permitieron la determinación de constantes rotacionales preliminares y la predicción de más transiciones que se midieron más tarde y se incorporaron a los ajustes, confirmando

las asignaciones originales. Todas las transiciones se ajustaron según un Hamiltoniano tipo Watson estándar (reducción S y representación  $I^r$ , ver punto 2.2.2. del capítulo 2) usando el programa de ajuste de mínimos cuadrados no lineales desarrollado por Picket [87]. Se calcularon unas incertidumbres de 2 y 10 kHz para las transiciones medidas en Lille y Londres, respectivamente. En la



**Figura 5.26:** a) Espectro rotacional de banda ancha del óxido de limoneno (370k FIDs) en la región de frecuencia 2-8 GHz registrado con el equipo de Londres. El espectro experimental se muestra en la parte superior, mientras que la parte inferior muestra la simulación realizada con los parámetros rotacionales de los conformeros observados ajustados. Se indican también las estructuras de los 5 conformeros detectados calculadas al nivel teórico MP2/6-311++G(d,p). b) Espectro experimental de las transiciones puras rotacionales del óxido de limoneno en la región 6.80-7.35 GHz, registrado con el equipo de Lille (10 acumulaciones por punto cada 150 kHz).

siguiente tabla (4 primeras columnas) se recogen las constantes rotacionales y de distorsión centrífuga cuárticas determinadas.

Parámetro	I eq-cis-a	II eq-trans-a	III eq-trans-A	IV eq-cis-A	V ax-trans-C
A <sup>a</sup> (MHz)	2482.48326(37) <sup>e</sup>	2490.78133(54)	2479.21491(46)	2483.21481(71)	1852.7302(21)
B (MHz)	648.960264(65)	642.284591(90)	652.840122(61)	672.09401(25)	829.97836(79)
C (MHz)	614.849331(49)	621.891306(92)	599.644225(56)	588.38183(23)	814.50598(73)
D <sub>J</sub> (kHz)	0.01897(21)	0.01410(33)	0.01432(28)	-	-
d <sub>1</sub> (kHz)	0.001450(92)	0.00104(16)	-	-	-
d <sub>2</sub> (kHz)	-	-	0.00157(44)	-	-
Δ (uÅ <sup>2</sup> )	-160.37	-177.10	-135.17	-96.53	-261.21
a/b/c <sup>b</sup> (D)	vw/s/s	vw/m/s	w/w/s	no/m/m	s/m/no
σ <sup>c</sup> (kHz)	8.2	7.0	6.6	7.6	9.8
N <sup>d</sup>	74	58	65	31	21

<sup>a</sup> A, B y C son las constantes rotacionales. D<sub>J</sub>, d<sub>1</sub> y d<sub>2</sub> son las constantes de distorsión centrífuga cuárticas.

<sup>b</sup> a, b y c son los tipos de transiciones observadas (no: no observada; vw: muy débil, del inglés *very weak*; w: débil, del inglés *weak*; m: media; s: fuerte, del inglés *strong*).

<sup>c</sup> σ es la desviación rms del ajuste.

<sup>d</sup> N es el número de transiciones ajustadas.

<sup>e</sup> Error estándar mostrado entre paréntesis en unidades del último dígito.

**Tabla 5.10:** Constantes espectroscópicas experimentales de los 5 conformeros observados del óxido de limoneno.

En el espectro rotacional experimental (región 2-8 GHz) quedaron muchas líneas después de eliminar las transiciones asignadas a estas 4 especies. Una serie de líneas mostraban el patrón típico de la rama R y permitieron la identificación de transiciones tipo *a* pertenecientes a un trompo-asimétrico prolato. Se midieron más transiciones siguiendo el mismo procedimiento que se indicó anteriormente y un ajuste final dio como resultado las constantes espectroscópicas de la 5<sup>a</sup> columna de la *Tabla 5.10*.

Realizando una comparación de los datos experimentales y teóricos, en este caso de las componentes del **momento dipolar** y las **constantes rotacionales**, se logra la asignación de las especies observadas a conformeros individuales. Aunque se predice que todos los conformeros del óxido de limoneno son trompo-asimétricos cercanos a prolato, las diferencias significativas en la distribución de masa entre los conformeros ecuatoriales y los axiales claramente se refleja en los valores de sus constantes rotacionales. Por tanto, se puede observar que las especies **I-IV** corresponden a conformeros **ecuatoriales** y la **V** a una forma **axial**. Comparando los valores de A, B y C experimentales con los teóricos, y usando también los valores del defecto de inercia, se pueden asignar de manera inequívoca los conformeros observados. Así, la especie **I** corresponde

al confórmero **eq-cis-a**, la especie **II** al **eq-trans-a**, la especie **III** al **eq-trans-A**, la **IV** al **eq-cis-A** y la **V** al **ax-trans-C**.

La referida asignación también se confirma comparando los valores **teóricos** de las componentes del **momento dipolar** **a**, **b** y **c** de los distintos confórmeros con las **intensidades relativas** de las transiciones tipo **a**, **b** y **c**, que son proporcionales a las correspondientes componentes del momento dipolar o a su cuadrado en los experimentos de MB-FTMW o CP-FTMW, respectivamente. Para todos los confórmeros, las intensidades relativas **observadas** para las transiciones tipo **a**, **b** o **c** (*Tabla 5.10*) están en **excelente acuerdo** con los valores **teóricos** de  $\mu_a$ ,  $\mu_b$  o  $\mu_c$  (ver *Tabla 2* de la referencia 80). Además, se maximizó la polarización molecular para satisfacer la relación  $\pi/2$  en el experimento MB-FTMW, la amplitud del campo eléctrico tuvo que ser ajustada para cada tipo de transición de manera proporcional al valor de las componentes del momento dipolar permanente. Para los confórmeros eq-trans-A y eq-trans-a, la potencia de excitación necesaria para las transiciones tipo **a**, **b** y **c** indicó que las componentes del momento dipolar eléctrico satisfacían la desigualdad  $\mu_c > \mu_b > \mu_a$ . Para el confórmero eq-cis-a, la potencia de excitación necesaria para la polarización óptima indicó que  $\mu_c \approx \mu_b > \mu_a$ .

En las transiciones medidas **no** se observaron desdoblamientos debidos a **rotación interna** de los **grupos metilo**, lo cual está de acuerdo con lo esperado según las barreras calculadas. Después de eliminar todas las transiciones asignadas, aún quedaron algunas líneas sin asignar en el espectro registrado en la región 2-8 GHz, pero no fue posible asignarlas a más confórmeros de óxido de limoneno o presencia de isótopos  $^{13}\text{C}$ . Lo más probable es que se hayan podido formar algunos productos de descomposición.

A partir de las medidas de intensidad relativa de determinadas transiciones se pueden estimar las **abundancias** de los **confórmeros** de óxido de limoneno. Según la dependencia con la intensidad que se explicó más arriba, las abundancias estimadas a través de las comparación de las transiciones tipo **b** y **c** en el experimento CP-FTMW son **eq-trans-a > eq-cis-A > eq-trans-A  $\approx$  eq-cis-a  $\approx$  ax-trans-C**, las cuales son consistentes con las que se obtuvieron para el experimento MB-FTMW, estimadas como **eq-trans-a > eq-trans-A  $\approx$  eq-cis-a**. Las abundancias *ab initio* (MP2 a 353 K) predicen que el confórmero eq-trans-A debe ser el más abundante y que las mismas deben ser similares para todos los confórmeros ecuatoriales y para el confórmero ax-trans-C, mientras el resto de confórmeros axiales contribuyen con una abundancia mucho menor (la más alta de ellos es del 4%).

*iv. Discusión*

A pesar del detenido análisis llevado a cabo, algunos de los conformeros mencionados anteriormente y teóricamente predichos para el óxido de limoneno, no han podido llegar a observarse en los espectros rotacionales registrados para dicha especie química en este trabajo. Dado que se predijeron **barreras muy bajas** para la **interconversión** de los conformeros eq-trans-C y eq-cis-C a eq-trans-A y eq-cis-A (ver *panel a* de la *Fig. 5.25*), respectivamente, cabe pensar que es muy probable que los conformeros eq-trans-C y eq-cis-C puedan relajarse hasta sus correspondientes conformeros A de energía más baja mediante colisiones durante la expansión supersónica. También se predijeron bajas barreras de energía para la conversión de los conformeros ax-cis-A y ax-trans-a hasta ax-cis-a y ax-trans-A, respectivamente (ver *panel b* de la *Fig. 5.25*). El resto de conformeros axiales (ax-cis-C, ax-cis-a y ax-trans-A) muestran unas energías relativas más altas y, probablemente por ello, no fueron observados en nuestros experimentos. También se han observado relajaciones similares de conformeros de alta energía hasta otros de energía inferior en otros terpenos como el perilaldehído [63], mentol [64], carvona [75] y limoneno [75].

El hecho de que los 4 conformeros ecuatoriales y el axial hayan sido las conformaciones preferidas por la molécula de óxido de limoneno se puede explicar mediante los **efectos estéricos mínimos** y las **interacciones atractivas máximas**. Así, el anillo epóxido del óxido de limoneno es altamente reactivo debido a su tensión, y tiene, asimismo, un fuerte aceptor de electrones que puede establecer enlaces de hidrógeno C-H $\cdots$ O débiles. Estos enlaces de hidrógeno se pueden formar mediante interacciones de los pares de electrones solitarios del oxígeno en el anillo epóxido con uno de los hidrógenos del anillo de 6 miembros, o con uno de los hidrógenos de los grupos metilo o metileno del grupo isopropenilo. Adicionalmente, se darán efectos estéricos e interacciones dispersivas debido a la proximidad de los grupos metilo y/o metileno del grupo isopropenilo a los grupos CH<sub>2</sub> del anillo de 6 miembros.

Debido a ser el método de más alto nivel teórico utilizado en este trabajo para el estudio estructural de este compuesto químico, es razonable pensar que las **predicciones MP2** sean las más **cercanas** a las **estructuras reales** de los conformeros del óxido de limoneno, como de hecho así lo pone de manifiesto la buena correspondencia que existe entre las constantes rotacionales calculadas al nivel MP2/6-311++G(d,p) y las experimentales (diferencias < 0.9 % para todos los conformeros ecuatoriales, generalmente < 0.4 %, y < 3 % para los axiales). Las longitudes de los enlaces de hidrógeno C-H $\cdots$ O de los conformeros del óxido de limoneno están dentro del rango de los reportados para los enlaces C-H $\cdots$ O del anillo epóxido más simple (oxirano) con derivados del metano en fase

gas [88]. La excepción es el conformero ax-cis-A, que presenta un enlace de hidrógeno C-H $\cdots$ O más corto. La configuración del grupo isopropenilo en los conformeros axiales *cis* hace que se encuentre próximo al anillo epóxido y al de 6 miembros, creándose así interacciones desestabilizantes entre los grupos -CH<sub>2</sub> o -CH<sub>3</sub> del grupo isopropenilo y los -CH<sub>2</sub>- del anillo de 6 miembros. Los conformeros ax-trans-a y ax-trans-A presentan una situación parecida. Sin embargo, el conformero ax-trans-C adopta una configuración en la que uno de los átomos de hidrógeno unido a C3 del anillo de 6 miembros está a una distancia más corta (2.68 Å) del átomo de oxígeno del anillo epóxido que el resto de formas axiales, mientras que los hidrógenos del isopropenilo se sitúan más lejos de los hidrógenos del anillo de 6 miembros. Este **delicado balance de fuerzas reduce la energía del conformero ax-trans-C** permitiendo su observación. Los conformeros **ecuatoriales** presentan **menos efectos estéricos** debido a la diferente disposición del grupo isopropenilo. Todos muestran distancias parecidas (2.59 Å - 2.69 Å) entre el oxígeno del anillo epóxido y un átomo de hidrógeno de C3 o de C4. Las diferencias energéticas existentes entre los conformeros ecuatoriales parecen estar relacionadas con las interacciones entre los átomos de H de los grupos -CH<sub>3</sub> o -CH<sub>2</sub>- del grupo isopropenilo y los átomos de H de los -CH<sub>2</sub>- del anillo de 6 miembros.

La principal diferencia entre los conformeros axiales y ecuatoriales es que en los **axiales** se dan **interacciones de largo alcance** entre el grupo isopropenilo y los anillos de 6 miembros y el del epóxido. Es sabido que el método B3LYP no es muy efectivo considerando interacciones dispersivas de largo alcance, mientras que **B3LYP-D3**, **M06-2X** y **MP2** incluyen estos efectos con más éxito [89]. El hecho de haber observado el conformero ax-trans-C valida estos últimos métodos e ilustra el efecto que causan las **fuerzas de dispersión** en las energías conformacionales.

El óxido de limoneno también se ha estudiado en **fase líquida**, usando las espectroscopías IR, Raman y VCD a temperatura ambiente [81]. En ese trabajo, los espectros registrados, particularmente el espectro **VCD** del óxido de limoneno, se pudo reproducir correctamente haciendo uso de los espectros teóricos calculados al nivel B3LYP/cc-pVDZ, incluyendo únicamente las contribuciones de los **5 conformeros ecuatoriales** eq-trans-a (eq-t110, 34%), eq-trans-A (eq-t255, 16%), eq-cis-a (eq-c110, 15%), eq-cis-A (eq-c255, 12%) y eq-cis-C (eq-c305, 11%) y considerando una distribución de Boltzmann a temperatura ambiente. Dado que, como se acaba de discutir más arriba, en esta tesis, es decir, con posterioridad al trabajo de la referencia 70, se ha podido detectar la presencia del conformero **ax-trans-C** (ax-t345 en la referencia 81) en fase gas, y que, además, tanto con los métodos M06-2X y MP2 como con la

aplicación de la metodología G3 se ha podido predecir en el presente trabajo que dicho conformero axial era el más estable, se decidió tratar de revisar el hecho de su posible presencia en fase líquida. Para ello, se **recalcó** el espectro **VCD teórico ponderado** de esta especie química a partir de las correspondientes contribuciones teóricas de los conformeros presentes en fase gas calculadas con las poblaciones de Boltzmann referidas anteriormente y obtenidas con el método MP2. Sin embargo, el acuerdo entre el espectro VCD registrado y el teórico ponderado fue mejor teniendo en cuenta sólo los 5 conformeros ecuatoriales más estables, esto es, eq-trans-a (eq-t110, 43%), eq-trans-A (eq-t255, 13%), eq-cis-a (eq-c110, 18%), eq-cis-A (eq-c255, 10%) y eq-cis-C (eq-c305, 8%) y tal y como se hizo en la referencia 81, que teniendo en cuenta los 5 conformeros ecuatoriales más estables y el axial de más baja energía, esto es, eq-trans-a (27%), eq-trans-A (8%), eq-cis-a (11%), eq-cis-A (6%), eq-cis-C (5%) y ax-trans-C (ax-t345, 37%) (ver *Fig. S3* del material suplementario de la referencia 80). Lo dicho se aprecia particularmente en las regiones espectrales 1500-1400  $\text{cm}^{-1}$  y 1150-900  $\text{cm}^{-1}$ , donde el **acuerdo teórico-experimental** es **peor considerando** adicionalmente a la de los conformeros ecuatoriales, la contribución VCD teórica del conformero **ax-trans-C**, que no haciéndolo. Así, **el paisaje conformacional del óxido de limoneno cambia según la fase**. En **fase gas**, el conformero **ax-trans-C** es el **más estable** teóricamente y tiene, por tanto, una abundancia ciertamente significativa en dicha fase, mientras que en **fase líquida**, sin embargo, este conformero no está presente y el más abundante es el **eq-trans-a**, que también está presente en fase gas.

#### 5.3.4. $\gamma$ -Terpineno

El  **$\gamma$ -terpineno** (1-isopropil-4-metil-1,4-ciclohexadieno) también es un monoterpeno con fórmula molecular  $\text{C}_{10}\text{H}_{16}$ , el cual se aísla principalmente a partir de **aceites de cítricos**. Debido a su bioactividad y olor, se usa con fines farmacológicos, cosméticos y alimenticios [90]. Este compuesto se ha determinado como componente de algunas plantas mediante métodos de análisis cuantitativos, pero hasta la fecha solo existen un par de estudios en los que se analiza de forma aislada. *Bond* y *Davies* estudiaron la estructura cristalográfica del  $\gamma$ -terpineno a 150 K mediante **rayos X** [91]. Por otro lado, *Marzecz* y *cols.* aislaron los compuestos  **$\gamma$ -terpineno** y R-felandreno en **matrices** de argón criogénicas y caracterizaron sus estructuras, espectros vibracionales y fotoquímica mediante espectroscopía **IR** y **cálculos** químico cuánticos al nivel B3LYP/6-311++G(d,p). También analizaron los espectros IR y **Raman** de ambos compuestos **líquidos**. Concluyeron que el espectro IR experimental en matriz y los IR y Raman en fase líquida se correspondían bien con la presencia de **dos conformeros** en el caso del  $\gamma$ -terpineno [90].

Adicionalmente, como se ha comentado en el punto 5.3.1. “Motivaciones”, los BVOCs juegan un papel muy importante en la química atmosférica y, desde la fase gas, pueden participar en la formación de **aerosoles** que se encuentran como **partículas** en la **fase condensada**.

El objetivo de este trabajo es poder describir la **influencia** que tiene el **entorno** sobre la **estructura** y los **espectros vibracionales y rotacionales del  $\gamma$ -terpineno**: cambios cuando las moléculas pasan de fase **gas** (espectros microondas y FIR) a fase **líquida** y, posteriormente, a fase **sólida** (espectros IR y Raman). Para poder llevar a cabo el **análisis estructural** de esta molécula en estas tres fases se empleó la siguiente metodología:

- 1) Realización de **cálculos teóricos** (ver punto 5.3.2.) para predecir los **conformeros** más estables y sus **energías** relativas y análisis del **espectro microondas** para detectar los **conformeros** existentes en fase **gas**. Como se comentó en el punto 4.4.1. del capítulo 4, el registro del correspondiente espectro microondas se llevó a cabo con un espectrómetro MB-FTMW en la región 4-20 MHz en la universidad de Lille 1 (Francia).
- 2) Registro del espectro **IR** en **fase gas** con el espectrómetro de la línea **AILES** en el **synchrotron SOLEIL** de París, usando una celda especial de paso largo. Los registros se centraron en las regiones 1300-700  $\text{cm}^{-1}$  (ventana atmosférica), CH stretching y FIR (denominada también “huella dactilar”).
- 3) Registro de los espectros **IR** (incluyendo la región **FIR**) y **Raman** de las **fases condensadas** de la molécula  $\gamma$ -terpineno con los equipos disponibles en la Universidad de Jaén.

Método	Energía relativa (kJ/mol)		Coste comp.
	Conf1	Conf2	
<b>B3LYP-1</b>	0.0	2.0	40t
<b>B3LYP-2</b>	0.0	1.8	170t
<b>M062X-1</b>	0.0	1.5	85t
<b>M062X-2</b>	0.0	1.0	230t
<b>MP2-1</b>	0.0	3.2	6300t
<b>MP2-2*</b>	0.0	1.5	2180t
<b>MP2-3*</b>	0.0	1.9	255t
<b>G3</b>	0.0	1.4	140t
<b>G4</b>	0.0	1.6	430t

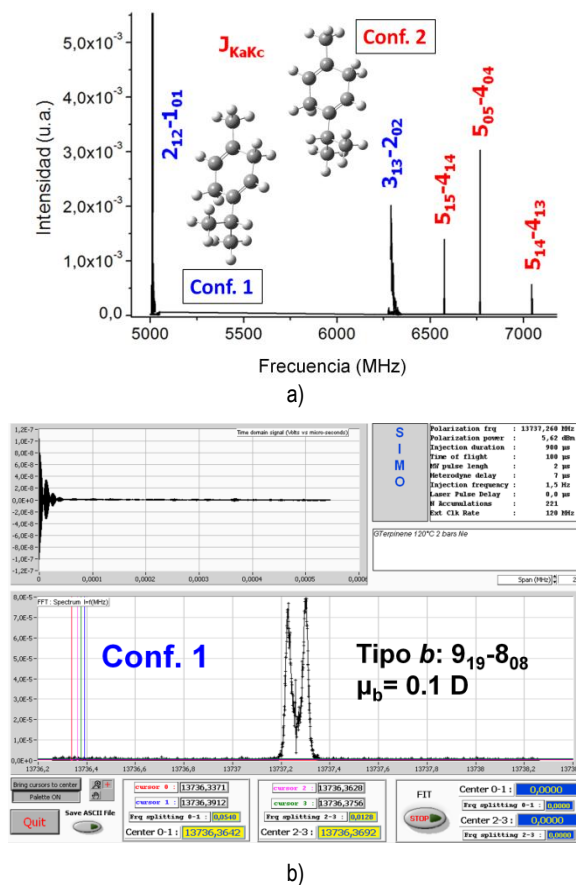
1: 6-311++G(d,p); 2: 6-311++G(2df,p); 3: MP2=full/6-311++G(3df,2p) *single point*; t: coste computacional de un HF/6-31G(d).

**Tabla 5.11:** Energías relativas calculadas (corregidas al punto cero,  $\Delta E_0$ , excepto las señaladas con \*, que son energías relativas de equilibrio,  $\Delta E_e$ ) de los dos conformeros observados experimentalmente para el  $\gamma$ -terpineno en fase gas.

El estudio teórico detallado de su estructura molecular y de sus espectros rotacionales y vibracionales, así como los registros experimentales de dichos espectros para esta molécula ya han sido llevados a cabo por la doctoranda y el grupo con el que se está colaborando para este trabajo, esto es, el grupo de investigación liderado por la Prof. D<sup>a</sup>. Thérèse Huet en la Universidad de Lille 1. Sin embargo, el **análisis** detallado de los mismos usando los resultados **experimentales y teóricos**, está aún en **ejecución**. Los resultados teóricos predijeron la existencia de **dos conforméromos** (ver punto 5.3.2.), al igual que los realizados por los autores de la referencia 90, cuyas energías relativas calculadas con distintos métodos teóricos se recogen en la *Tabla 5.11*.

También, concuerdan los datos obtenidos en este trabajo con aquellos de la referencia 90 en lo relativo a los espectros IR y Raman en fase líquida de este compuesto.

En los cálculos llevados a cabo en este trabajo, el único método que predijo la existencia de un tercer conforméromos fue el MP2/6-311++G(d,p), concretamente a 2.7 kJ/mol de la energía del conforméromos más estable. Sin embargo, desde los datos experimentales sólo se ha podido detectar, en principio y tanto en fase gas como en las fases líquida y sólida, la existencia de dos conforméromos presentes en ellas. En la *Fig. 5.27* se muestra una región del espectro microondas registrado, junto con la



**Figura 5.27:** a) Transiciones rotacionales puras del espectro observado del  $\gamma$ -terpineno en la región 5-7.2 GHz (10 acumulaciones por punto cada 150 kHz), estructuras moleculares predichas de los dos conforméromos al nivel MP2/6-311++G(d,p). b) Transición rotacional medida en alta resolución y centrada a 13736.3667 MHz.

estructura predicha de estos dos conformeros al nivel MP2/6-311++G(d,p) (*panel a*) y una transición tipo *b* registrada con alta resolución (*panel b*). Las constantes espectroscópicas experimentales de dichos conformeros se muestran en la *Tabla 5.12*.

Es importante resaltar la **dificultad** del **registro microondas** de las transiciones de estos dos conformeros, ya que las componentes del momento dipolar son del orden de 0.1 D o inferiores, por lo que las transiciones rotacionales fueron muy **débiles**.

Parámetro	Conformero 1		Conformero 2	
	Valores experimentales	MP2-1	Valores experimentales	MP2-1
A <sup>a</sup> (MHz)	3018.64465( 65) <sup>d</sup>	2987.3	3017.7675(271)	3037.7
B (MHz)	707.74516( 52)	712.9	729.21080( 33)	733.5
C (MHz)	662.55003( 41)	667.7	635.424927(263)	632.4
$\Delta_J$ (kHz)	-0.0764( 50)	-0.01499	-0.02594( 77)	-0.01968
$\Delta_{JK}$ (kHz)	-0.2037(118)	-0.14862	-0.103( 38)	-0.03446
$\Delta_K$ (kHz)	0.523( 51)	-0.14404	-0.33000(0)	-0.26227
$\delta_J$ (kHz)	-0.02239(179)	-0.001148	0.00170( 80)	-0.00177562
$\delta_K$ (kHz)	1.757(174)	1.29302	-0.48200( 0)	-0.24028
$\sigma^b$ (kHz)	5.9		0.7	
$\Delta$ (uÅ <sup>2</sup> )	-118.70974	-121.2	-65.17688	-56.2
N <sup>c</sup>	30		34	

<sup>a</sup> A, B y C son las constantes rotacionales.  $\Delta_J$ ,  $\Delta_{JK}$ ,  $\Delta_K$ ,  $\delta_J$  y  $\delta_K$  son las constantes de distorsión centrífuga cuárticas.

<sup>b</sup>  $\sigma$  es la desviación rms del ajuste.

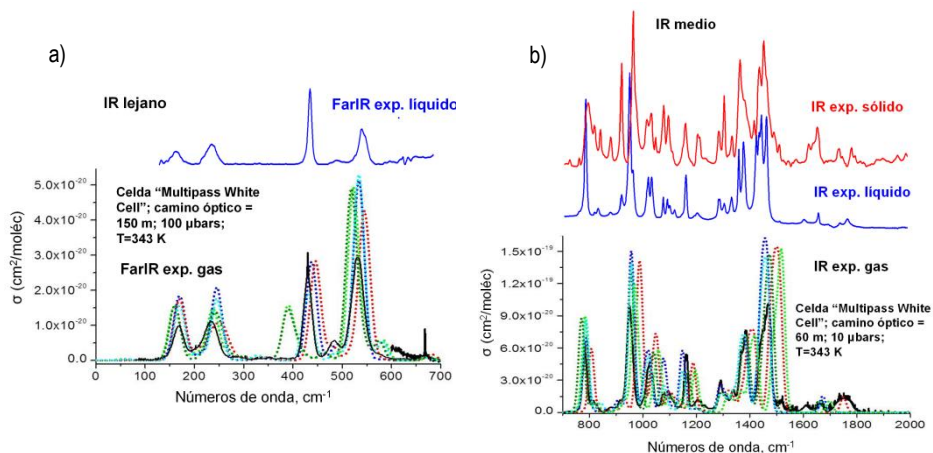
<sup>c</sup> N es el número de transiciones ajustadas.

<sup>d</sup> Error estándar mostrado entre paréntesis en unidades del último dígito.

1: Base 6-311++G(d,p).

**Tabla 5.12:** Constantes espectroscópicas experimentales y teóricas calculadas al nivel teórico MP2/6-311++G(d,p) (incluyendo las correcciones de la energía al punto cero) para los dos conformeros detectados de la molécula  $\gamma$ -terpino.

Finalmente, en la *Fig. 5.28* se recogen los espectros IR teóricos y los experimentales registrados en fase sólida, líquida y gas en la región media y los registrados en las fases líquida y gas para la región lejana.



**Figura 5.28:** Parte inferior: espectros experimentales de las secciones eficaces IR del  $\gamma$ -terpineno registrado en fase gas (color negro) usando la técnica FT-IR, en las regiones  $0\text{--}700\text{ cm}^{-1}$  (panel a) y  $700\text{--}2000\text{ cm}^{-1}$  (panel b). Parte superior: Espectros IR experimentales registrados para las fases líquida (azul) y sólida (rojo). En la parte inferior también se muestran los espectros IR teóricos calculados con los niveles anarmónicos B3LYP/6-311++G(d,p) (azul oscuro), MP2/6-311++G(d,p) (anarmonicidades desde B3LYP, mostrado en verde oscuro) y MP2/6-311++G(d,p) (frecuencias anarmónicas de B3LYP e intensidades IR desde MP2 armónico, mostrado en azul claro) y los calculados con los niveles armónicos M062X/6-311++G(d,p) (rojo) y MP2/6-311++G(d,p) (verde claro).

### 5.3.5. Pulegona

La **pulegona** (2-isopropilideno-5-metilciclohexanona,  $\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}$ ) es un monoterpeno natural que se obtiene a partir de **aceites esenciales** de una gran variedad de **plantas**, como *Nepeta cataria*, *Mentha piperita* y *pennyroyal* [92]. La pulegona se usa en condimentos alimenticios, perfumería y aromaterapia. Las moléculas de este compuesto fueron estudiadas **teórica** y **experimentalmente** en fase **líquida** mediante técnicas vibracionales quiro-ópticas (**VCD**) y no quiro-ópticas (**IR y Raman**) [82]. Con el empleo de cálculos teóricos, los autores de la referencia 82 concluyeron la existencia de **dos conformeros** (uno axial y otro ecuatorial) para esta especie química, cuyas estructuras se diferencian en la posición del grupo metilo, siendo el conformero **ecuatorial** el **más estable** (alrededor de un 98.5% de población según la distribución de Boltzmann).

En el trabajo de esta tesis acerca de este compuesto, el objetivo fue aplicar la espectroscopía de **microondas de banda ancha sensible a la quiralidad** a los dos enantiómeros (*R* y *S*) de esta molécula y llevar a cabo un profundo análisis de su espectro rotacional. Para alcanzar este objetivo, se establecieron las siguientes etapas a realizar. En primer lugar, un detallado estudio teórico del perfil conformacional y de los correspondientes conformeros de esta especie

química mediante la realización de cálculos teóricos de alto nivel. En segundo lugar, el registro experimental en fase gas de los espectros rotacionales de este compuesto mediante espectroscopía de microondas de banda ancha y la identificación experimental de sus conformeros más estables en dicha fase. Finalmente, el estudio de la quiralidad molecular en fase gas de este compuesto a partir de los datos obtenidos en los dos apartados anteriores junto con la técnica de “mezclado de tres ondas” (*three wave mixing* en inglés).

El **estudio teórico** se detalló en el punto 5.3.2. Como se comenta en el mismo (y ya se ha mencionado anteriormente), se encontraron dos conformeros en la exploración de su paisaje conformacional en fase gas. En la *Tabla 5.13* se recogen las energías relativas de ambos. Como se puede observar, la energía relativa predicha para el conformero ecuatorial resultó ser mucho menor que la del conformero axial, resultado que está en buen acuerdo con aquellos de la referencia 82. En principio, por tanto, solo cabría esperar el poder **detectar** el **conformero ecuatorial** en la expansión supersónica.

El segundo paso consistió en el empleo de la espectroscopía de microondas de banda ancha para **identificar experimentalmente** los **conformeros** más estables en **fase gas**. Los detalles experimentales de este estudio se encuentran detallados en el punto 4.4.2. del capítulo 4. La *Fig. 5.29* muestra el espectro registrado (en negro) y la simulación del conformero ecuatorial (en rojo).

Mediante una **comparación** de los parámetros moleculares **experimentales** y **calculados** se puede asignar de forma inequívoca el conformero más estable, esto es, el **ecuatorial**, especialmente con el uso del valor del defecto de inercia y aquel de la constante rotacional A, la cual presentaba un valor muy diferente para ambos conformeros. Las diferencias entre las constantes rotacionales experimentales y teóricas es de  $\approx 1\%$ .

Finalmente, la relación señal/ruido fue lo suficientemente alta para poder observar los espectros de los  $^{13}\text{C}$ , de los cuales se pudo obtener la **estructura de sustitución ( $r_s$ )** de los átomos pesados de la molécula a través de las ecuaciones de Kraitchman [83].

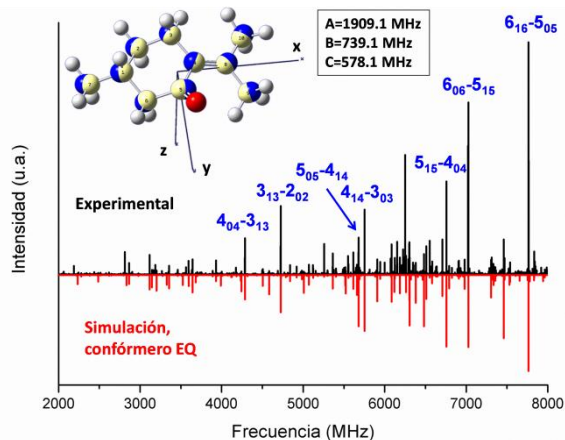
Método	Energía relativa (kJ/mol)	
	EQ	AX
<b>B3LYP*</b>	0.0	11.0
<b>M06-2X*</b>	0.0	10.4
<b>MP2*</b>	0.0	11.7

\* Todas las energías relativas están corregidas al punto cero (ZPE,  $\Delta E_0$ ), Base: 6-311++G(d,p).

**Tabla 5.13:** Energía relativa calculada para los conformeros ecuatorial y axial de la pulegona.

En la *Fig. 5.29*, se pueden observar las posiciones experimentales y teóricas (MP2/6-311++G(d,p)) de los átomos de carbono marcadas en azul y amarillo, respectivamente.

Así, con lo anteriormente dicho, se pudo determinar la estructura del conformero ecuatorial en fase gas. El análisis del espectro rotacional experimental de pulegona con agua está aún llevándose a cabo.



**Figura 5.29:** Espectro rotacional de la R-(+)-pulegona. En la parte superior se muestra el espectro experimental y, en la inferior, el resultado de ajustar el Hamiltoniano del rotor asimétrico del conformero ecuatorial al espectro. Se señalan también algunas transiciones rotacionales tipo *b* y se muestra una comparación de las posiciones calculadas (amarillo) y experimentales (azul) de los átomos de carbono, así como los valores determinados experimentalmente de las constantes rotacionales del conformero ecuatorial detectado.

El siguiente paso es el estudio de la **quiralidad molecular en fase gas** mediante el análisis de los dos enantiómeros de la pulegona. Con la combinación de la espectroscopía microondas de banda ancha y la técnica de “mezclado de tres ondas” es posible diferenciar entre enantiómeros dentro de una mezcla de moléculas quirales en fase gas [93-95].

También, con la aplicación de dichas técnicas complementadas con cálculos teóricos es posible medir el valor del exceso enantiomérico de mezclas y determinar la configuración absoluta de una determinada molécula quiral [93-95]. Actualmente, sigue abierta la colaboración entre los grupos de investigación de Jaén y de Hamburgo con el objetivo de poder finalizar y llevar a un buen término este trabajo y la publicación de sus resultados, la cual se estima que podrá llevarse a cabo en el presente curso académico.

### 5.3.6. Alcanfor

El alcanfor racémico cristaliza formando **disoluciones sólidas** [96,97], esto es, *single crystals* que contienen ambos enantiómeros, el *R* y el *S*, en cualquier proporción, siendo todos los *single crystals* idénticos, un fenómeno que se conoce como pseudoracematos [98].

Para llevar a cabo este estudio se compraron muestras comerciales de ***S*** y ***R*** alcanfor y se prepararon **mezclas con proporciones diferentes** de cada una de ellas. Se determinó el **exceso enantiomérico (e. e.)** de las mismas tanto por **<sup>1</sup>H RMN** en disolución de **CCl<sub>4</sub>**, y en presencia del agente quiral de solvatación (R,R)-ABTE, como mediante la técnica VCD también en disolución de CCl<sub>4</sub> y, además, en **suspensiones de nujol**.

Aunque no completamente finalizado, este trabajo está muy avanzado en su desarrollo, quedando sólo por terminar algunas últimas medidas, así como la recapitulación y discusión de los resultados obtenidos no sólo con VCD sino con ambas técnicas, el establecimiento de las conclusiones del mismo y la redacción del correspondiente manuscrito para su publicación. Este es un trabajo de colaboración con otros grupos del departamento de Química Orgánica y Bio-Orgánica de la UNED y el IQM del CSIC en Madrid y de la UAB en Barcelona, A continuación, se van a mostrar los resultados obtenidos hasta ahora con el empleo de la técnica VCD.

El objetivo principal en la parte del trabajo que está llevando a cabo la doctoranda es proporcionar una metodología (usando la técnica VCD) para determinar excesos enantioméricos en muestras sólidas (en líquidos el tema está un poco más estudiado), algo que (a nuestro conocimiento) no ha sido hecho hasta la fecha. Poder determinar el exceso enantiomérico en sólidos tendría múltiples aplicaciones en la caracterización de muestras sólidas quirales, como, por ejemplo, en muestras cristalinas obtenidas por resolución espontánea. En este último tema, el grupo de la doctoranda viene trabajando desde hace unos años con los grupos de Madrid antes indicados para tratar de determinar, entre otras cosas, las configuraciones absolutas de las hélices de los conglomerados de los citados excesos enantioméricos causantes de dicho desdoblamiento espontáneo [99-101].

Voy a comenzar comentando cómo se ha **corregido la línea de base VCD** en cada caso:

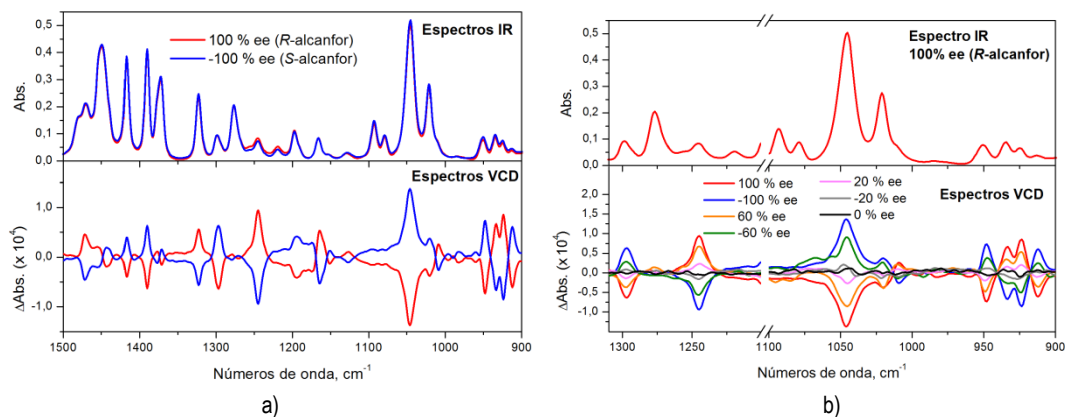
**-VCD en disolución de CCl<sub>4</sub>**: 1) Resta de las señales VCD del disolvente CCl<sub>4</sub> a los espectros VCD brutos de cada mezcla. 2) Media de los dos espectros

VCD (corregidos con las señales de  $\text{CCl}_4$ ) de los enantiómeros puros *R* y *S* obteniendo la línea de base VCD, la cual se resta a los espectros VCD (corregidos con las señales de  $\text{CCl}_4$ ) de cada mezcla enantiomérica, dando como resultado los espectros VCD con la línea de base corregida. Fue posible llevar a cabo esta corrección de la línea de base VCD porque todos los espectros se registraron en la misma mañana. Por ello, no se produjeron variaciones grandes en la línea de base VCD debido al calentamiento de determinadas partes del equipo (llamado *thermal drift*).

**-VCD en suspensiones de nujol:** 1) Para cada muestra enantiomérica (obtenida mezclando las diferentes cantidades de uno y otro enantiómero puro necesarias para obtener la mezcla de proporciones deseada) se registraron los espectros VCD de 4 orientaciones (A0, A90, B90 y B0), siguiendo la metodología explicada en el subapartado *v. Metodología experimental llevada a cabo para medidas VCD de muestras sólidas* del punto 4.2.3. del capítulo 4. 2) Se realizaron las medias de los 4 espectros VCD obtenidos con las distintas orientaciones para cada muestra de proporciones enantioméricas conocidas y se restaron a dichos VCD medios las señales VCD del aceite mineral nujol. 3) Finalmente, se realizó la media de los espectros VCD (resultantes del paso 2) de cada par enantiomérico, esto es, *R/S* puros, 60% ee y -60% ee, 20% ee y -20% ee, y restamos estas medias a los correspondientes espectros VCD de cada par enantiomérico resultantes del paso 2. El espectro VCD de la muestra 0% ee solamente se corrigió restándole las señales de nujol.

En este caso, no se pudo llevar a cabo la corrección de la línea de base que se empleó en las disoluciones de  $\text{CCl}_4$  porque solo dio tiempo al registro de un par enantiomérico cada mañana (aprox. 4h). Por esta razón, se produjeron variaciones considerables en la línea de base VCD de los 3 pares enantioméricos medidos debido al *thermal drift*. Por ello, no se pudo restar el espectro VCD medio de los enantiómeros puros, pues la línea de base, incluso después de haber restado las señales de nujol, era distinta para cada par enantiomérico.

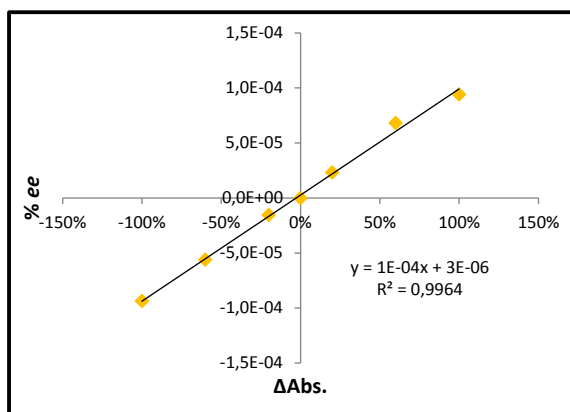
Los **experimentos VCD en disolución** se realizaron empleando como disolvente el tetracloruro de carbono. Se disolvieron las siguientes mezclas de 20 mg de alcanfor (*R*, *S* o *R+S*) en 100  $\mu\text{l}$  de  $\text{CCl}_4$ : 20 mg de *R*-(+)-alcanfor (correspondiente a 100% ee), 16 mg *R* + 4 mg *S* (60% ee), 12 mg *R* + 8 mg *S* (20% ee), 20 mg *S*-(-)-alcanfor (correspondiente a -100% ee), 16 mg *S* + 4 mg *R* (-60% ee), 12 mg *S* + 8 mg *R* (-20% ee), 10 mg *R* + 10 mg *S* (0% ee). El exceso enantiomérico se calculó con la siguiente fórmula:  $\text{ee \%} = (N_R - N_S) \times 100\% / (N_R + N_S)$ . Los espectros IR y VCD obtenidos se muestran en la siguiente figura:



**Figura 5.30:** a) Espectros IR (panel superior) y VCD (panel inferior) del R-(+)-alkanfor (100% ee, rojo) y S-(-)-alkanfor (-100% ee, azul) en disolución de CCl<sub>4</sub>. b) Espectro IR experimental (panel superior, rojo) del R-(+)-alkanfor y espectros VCD experimentales (panel inferior) de los dos enantiómeros puros y de distintas mezclas enantioméricas en disolución de CCl<sub>4</sub>.

Como era de esperar, los espectros IR de ambos enantiómeros resultaron ser idénticos, mientras que los espectros **VCD** son **imágenes especulares** (*panel a* de la *Fig. 5.30*). En el *panel b* se puede observar la variación que se produce en la intensidad de las bandas VCD según el exceso enantiomérico.

Se representó la intensidad de algunas bandas VCD ( $\Delta\text{Abs.}$ ) frente al % ee y se llevó a cabo una **regresión lineal para cada banda**. Las bandas elegidas fueron las observadas a 1296.89, 1244.8, 1046.19, 947.84 y a 923.73 cm<sup>-1</sup>. En la *Fig. 5.31* se muestra como ejemplo la regresión lineal obtenida para la banda situada a 1244.8 cm<sup>-1</sup>.



**Figura 5.31:** Representación de la intensidad de la banda VCD observada a 1244.8 cm<sup>-1</sup> frente al % de exceso enantiomérico, mostrando la ecuación de la recta y los parámetros de la regresión lineal resultante.

Todas las regresiones lineales mostraron un buen coeficiente de correlación  $R^2 > 0.99$ . Los valores de  $\Delta\text{Abs.}$  y de  $R^2$  para las distintas bandas analizadas se recogen en la *Tabla 5.14*. Los valores de  $\Delta\text{Abs.}$  se han multiplicado por 10<sup>6</sup> para tener valores numéricos de los parámetros de la recta más grandes.

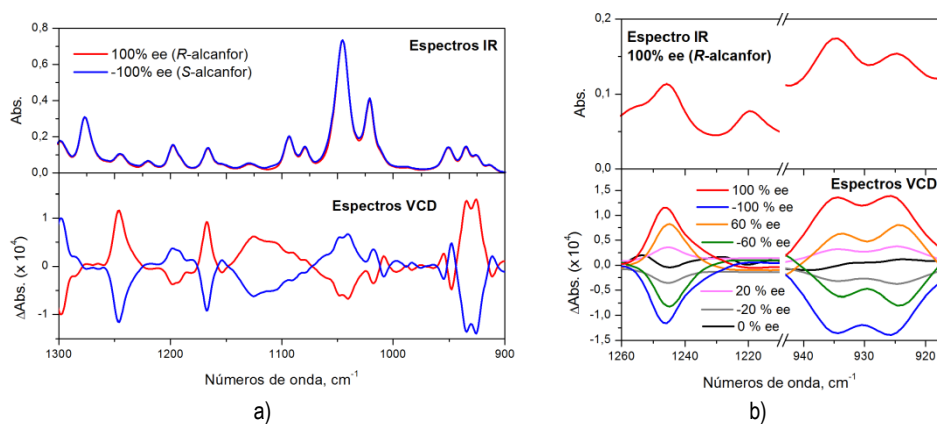
Banda (cm <sup>-1</sup> )	Ordenada en el origen (a)	Pendiente (b)	R <sup>2</sup>
1296.9	-2.9	-0.61	0.991
1244.8	2.7	0.96	0.996
1046.2	1.1	-1.39	0.996
947.8	-2.6	-0.72	0.996
923.7	0.8	0.85	0.996

**Tabla 5.14:** Regresiones lineales obtenidas mediante la técnica VCD en disolución de CCl<sub>4</sub> correspondientes a 10<sup>6</sup> ΔAbs. = a + b ee %.

Las ordenadas en el origen deberían ser próximas a 0 y realmente así sucede para una buena parte de ellas. Las pendientes son positivas o negativas dependiendo de la banda; la más sensible (pendiente más grande) corresponde a la banda 1046.2 cm<sup>-1</sup>. Para completar este estudio quedan por realizar los registros IR y VCD de una muestra ciega en disolución (con exceso enantiomérico desconocido para quienes realizan las medidas) cuya composición (e.e.) se tratará de determinar y comparar con el resultado obtenido mediante RMN, para así confirmar la complementariedad de ambas técnicas en la determinación de e.e. de mezclas de enantiómeros en disoluciones en fase líquida. El e.e. de la muestra ciega se determinará a partir del valor obtenido de ΔAbs. para dicha muestra por interpolación en las rectas de regresión correspondientes a las diferentes bandas patrones analizadas.

Para llevar a cabo los **registros VCD en fase sólida** se prepararon diferentes suspensiones de 30 mg de alcanfor (R, S o R+S) en 50 μl de nujol: 30 mg de R-(+)-alcanfor (correspondiente a 100% ee), 24 mg R + 6 mg S (60% ee), 18 mg R + 12 mg S (20% ee), 30 mg S-(-)-alcanfor (correspondiente a -100% ee), 24 mg S + 6 mg R (-60% ee), 18 mg S + 12 mg R (-20% ee), 15 mg R + 15 mg S (0% ee). Se registraron los espectros IR y VCD de todas estas mezclas, los cuales se pueden observar en la *Fig. 5.32*.

Al igual que los registros VCD realizados en disolución, se observa una dependencia entre la intensidad de las bandas VCD y el % de ee. Se realizó también una representación de la intensidad de algunas bandas VCD (ΔAbs.) frente al % de ee y se llevó a cabo una **regresión lineal** para cada banda. En este caso, las bandas elegidas fueron las que aparecen a 1244.8, 933.38 y a 924.7 cm<sup>-1</sup>. Los coeficientes de correlación también fueron buenos, mostrando un valor superior a 0.98. Los valores de ΔAbs. y de R<sup>2</sup> para las distintas bandas analizadas en suspensiones de nujol se recogen en la *Tabla 5.15*. Los valores de ΔAbs. se han multiplicado de nuevo por 10<sup>6</sup> para tener coeficientes de las rectas de regresión más grandes.



**Figura 5.32:** a) Espectros IR (panel superior) y VCD (panel inferior) del R-(+)-alkanfor (100% ee, rojo) y S-(-)-alkanfor (-100% ee, azul) en suspensión de nujol. b) Espectro IR experimental (panel superior, rojo) del R-(+)-alkanfor y espectros VCD experimentales (panel inferior) de los dos enantiómeros puros y de distintas mezclas enantioméricas en suspensión de nujol.

Banda (cm <sup>-1</sup> )	Ordenada en el origen (a)	Pendiente (b)	R <sup>2</sup>
1244.8	-0.65	1.195	0.983
933.4	0.25	1.265	0.989
924.7	1.55	1.36	0.994

**Tabla 5.15:** Regresiones lineales obtenidas mediante la técnica VCD en suspensiones de nujol correspondientes a  $10^6 \Delta\text{Abs.} = a + b \text{ ee } \%$ .

En este caso, también queremos realizar el registro de los espectros IR y VCD de una **muestra con exceso enantiomérico desconocido**, y mediante interpolación del  $\Delta\text{Abs.}$  de algunas de sus bandas en las regresiones lineales, poder determinar el exceso enantiomérico de la misma.

Los signos de las pendientes de las muestras en disolución y en fase sólida deberían ser las mismas para una banda determinada. Este es el caso de la banda a 1244.8 cm<sup>-1</sup> (+0.96 vs. +1.195). Consecuentemente, las bandas de las suspensiones en nujol a 933.4 (+1.265) y 924.7 cm<sup>-1</sup> (+1.36) deberían corresponder a la banda 923.7 cm<sup>-1</sup> en disolución (+0.85). En ambos casos, las pendientes son más grandes en las suspensiones que en disolución.

Los resultados de las suspensiones de nujol son prometedores aunque tienen que revisarse más a fondo y realizar algunos registros adicionales para comprobar la reproducibilidad de los resultados. Estos resultados sobre la determinación de excesos enantioméricos en suspensiones de nujol mediante la técnica VCD cabe pensar que podrán abrir una **puerta para su aplicación en el campo de la quiralidad de materiales y sistemas químicos**, ya que, como se

ha mencionado más arriba, que conocemos no existe ningún estudio previo en la bibliografía sobre determinación cuantitativa de exceso enantiomérico mediante la técnica VCD en fase sólida.

## 5.4. Alcaloide

### 5.4.1. Motivaciones

Aunque han pasado casi 200 años desde que la **colchicina** se aisló por primera vez, aún hay aspectos de la misma que no han sido explorados. Este es, básicamente, el único medicamento disponible aún hoy día para tratar casos agudos de **gota** y de ahí, por tanto, su importancia e interés biomédico. Recientemente, también se ha investigado su potencial como medicamento **anticancerígeno** [102]. El producto **natural** es la **(-)-colchicina** [103], mientras que el compuesto racémico, **(±)-colchicina**, fue preparado por Bladé-Font en 1977 [104]. Nunca se ha observado mutarotación en la colchicina, y el átomo de carbono estereogénico C7 contribuye moderadamente al dicroísmo circular de los colchicinoides, el cual viene determinado principalmente por la helicidad a lo largo de su eje quiral C12a-C12b [105].

La información estructural sobre la colchicina es abundante y viene recogida en la referencia 106. En esta misma referencia se publicaron los resultados que en este trabajo hemos realizado sobre ella (en colaboración con varios grupos de investigación de diferentes centros españoles), analizando en dicha publicación algunos aspectos que no habían sido estudiados hasta ahora, tales como: el análisis **<sup>1</sup>H-RMN** de la parte saturada (CH<sub>2</sub>(5)-CH<sub>2</sub>(6)-CH(7)-NH), la realización de **cálculos teóricos** de la geometría y de las propiedades RMN, el uso de reactivos quirales coadyuvantes para determinar si era posible diferenciar ambos enantiómeros por RMN, el uso de RMN de estado sólido para comparar las distintas colchicinas (natural y racémica, anhidra y solvatada) y la aplicación de la técnica **VCD** de muestras en estado **sólido** para identificarlas, tarea esta última en la que se centró fundamentalmente nuestra parte de este trabajo de colaboración transversal. Las muestras estudiadas fueron: (-)-colchicina anhidra, (-)-colchicina·1H<sub>2</sub>O (PALYOQ), (-)-colchicina·2H<sub>2</sub>O (COLCDH), (±)-colchicina anhidra y (±)-colchicina·2H<sub>2</sub>O (DOTMOO). Al objeto de reforzar, completar y tratar de confirmar los resultados obtenidos con las demás técnicas, también se abordó el estudio mediante **difracción de rayos X** de las estructuras COLCDH, PALYOQ y DOTMOO, aunque los cristales de (-)-colchicina·1H<sub>2</sub>O (PALYOQ) fueron demasiado pequeños para producir unos buenos patrones de difracción y, consecuentemente, esta estructura no fue estudiada.

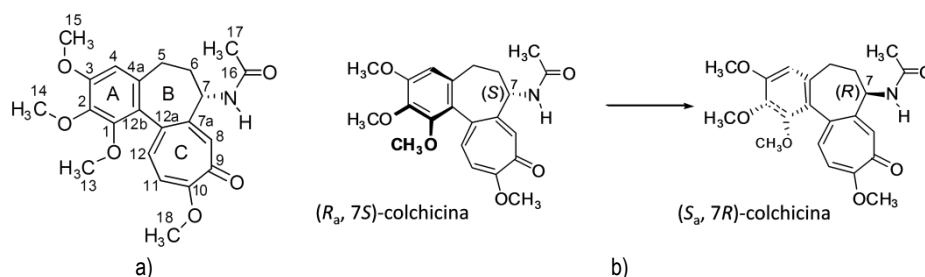
A continuación, se va a centrar la discusión de los resultados en la parte del trabajo que fue competencia del grupo de esta doctoranda, es decir, en todo lo relativo al estudio de los espectros vibracionales IR, Raman y VCD de las distintas muestras estudiadas en él y en aquellos cálculos químico cuánticos que fueron necesarios para sus análisis, realizados estos últimos en el grupo del IQM del CSIC en Madrid.

#### 5.4.2. Cálculos teóricos

Los cálculos teóricos de la colchicina fueron llevados a cabo por el Prof. D. Ibon Alkorta, perteneciente al centro de investigación señalado anteriormente, y fueron realizados mediante métodos DFT al nivel **B3LYP/6-311++G(d,p)**. Por un lado, la colchicina puede existir como dos diastereoisómeros ( $R_a$ ,  $7S$ ) y ( $S_a$ ,  $7S$ ), cuya interconversión resulta en mutarotación. El **diastereoisómero ( $R_a$ ,  $7S$ )** es el **más estable**, alrededor de 13-15 kJ/mol, según el modelo teórico empleado. Por otro lado, la colchicina puede tener dos atropoisómeros a través de la interconversión *boat-boat* del anillo C metoxitropolona, siendo uno de nuevo alrededor de 13 kJ/mol más estable que el otro.

Partiendo de una de las estructuras de rayos-X de la (-)-colchicina, correspondiente al diastereoisómero ( $R_a$ ,  $7S$ ) y al atropoisómero más estable, se optimizó la geometría y se calcularon los espectros armónicos IR, Raman y VCD.

La racemización en la colchicina envuelve al grupo amida del C7, desde la colchicina natural  $7S$  al otro enantiómero  $7R$ , acompañado este proceso por la enantiomerización  $R_a \rightarrow S_a$ .



**Figura 5.33:** a) Estructura molecular de la colchicina y b) Enantiomerización de la colchicina.

Los espectros experimentales de las 4 estructuras estudiadas (2 muestras quirales y 2 racémicas) fueron comparados con los calculados al nivel teórico B3LYP/6-311++G(d,p), después de aplicar un factor de escala de 0.965.

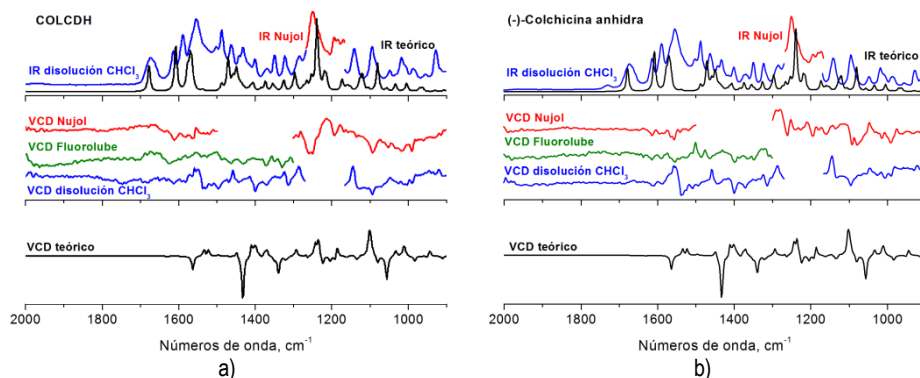
### 5.4.3. Análisis estructural mediante las técnicas IR y VCD

Como se ha demostrado en los trabajos anteriores (y está descrito en la bibliografía [99-101,107-109]), con la combinación de la técnica VCD y cálculos químicos cuánticos es posible **determinar** la **configuración absoluta** de un sistema molecular quiral tanto en fase sólida como en disolución. En este trabajo se analizaron los espectros **IR** (incluyendo **FarIR**), **Raman** y **VCD** de las 4 muestras mencionadas anteriormente, tanto en fase **sólida** (suspensiones de nujol y fluorolube) como en **disolución** ( $\text{CHCl}_3$ ), esto es: (-)-colchicina anhidra, (-)-colchicina·2H<sub>2</sub>O (COLCDH), ( $\pm$ )-colchicina anhidra y ( $\pm$ )-colchicina·2H<sub>2</sub>O (DOTMOO). Podemos observar que dos son racémicas y las otras dos quirales.

Los espectros **IR y Raman** de las 4 muestras analizadas fueron **similares**, indicando la existencia de una estructura común en todas ellas, el diastereoisómero **(R<sub>a</sub>,7S)-colchicina**. En los paneles superiores de la *Fig. 5.34* se muestran los espectros IR registrados en la región media de las dos muestras quirales analizadas, comparados con el correspondiente espectro teórico. Por ejemplo, la banda que se observa a 1679 cm<sup>-1</sup> (IR) puede asignarse al movimiento de stretching de C=O del grupo amida. Las bandas que aparecen a 1588 cm<sup>-1</sup> (IR, 1592 cm<sup>-1</sup> en Raman), 1570 cm<sup>-1</sup> (Raman), 1555 cm<sup>-1</sup> (IR, 1552 cm<sup>-1</sup> en Raman) y 1500 cm<sup>-1</sup> (IR, 1502 cm<sup>-1</sup> en Raman) se atribuyen a un modo normal con diferentes contribuciones de stretching de C=O de dicho grupo carbonilo en el anillo de 7 miembros y de los stretchings de C=C de los anillos de 6 y 7 miembros. Además, las bandas experimentales que aparecen a 1321 cm<sup>-1</sup> (IR, 1322 cm<sup>-1</sup> en Raman), 1283 cm<sup>-1</sup> (IR, 1285 cm<sup>-1</sup> en Raman), 1262 cm<sup>-1</sup> (Raman) y 1250 cm<sup>-1</sup> (Raman) se pueden asignar a modos normales de waggings de CH<sub>2</sub> y CH<sub>3</sub> y de stretchings de C-O. Finalmente, otras bandas interesantes en esta región pueden ser las que aparecen a 1141 cm<sup>-1</sup> (IR, 1145 cm<sup>-1</sup> en Raman) y 828 cm<sup>-1</sup> (Raman), asignadas a modos normales de waggings de CH<sub>3</sub> y CH.

Seguidamente se van a describir los detalles del análisis **VCD** de las **dos muestras quirales**, (-)-colchicina anhidra y (-)-colchicina·2H<sub>2</sub>O (COLCDH), pues son aquellas de las que, lógicamente, se esperaba que presentasen respuesta quiro-óptica, esto es, señales VCD, tanto en suspensiones de nujol y fluorolube como en disolución de  $\text{CHCl}_3$ . Los signos de la fuerza del rotador van a resultar muy útiles para determinar la configuración absoluta de ambas especies químicas quirales. Una comparación de los espectros **VCD experimentales** con los **calculados** teóricamente para ambas especies, muestra un **razonable acuerdo** entre ellos. Adicionalmente, los espectros VCD experimentales de ambas muestras quirales son muy similares, lo cual pensamos que evidencia la presencia de la **misma estructura quiral** común en ambos casos, esto es, el

diastereoisómero más estable ( **$R_a,7S$** )-colchicina, como ha sido también antes mencionado.



**Figura 5.34:** Espectros IR (panel superior) y VCD experimentales (panel intermedio) y teóricos (panel inferior) de las muestras: a) COLCDH y b) (-)-colchicina anhidra. Se muestran concretamente los espectros IR y VCD registrados en disolución de CHCl<sub>3</sub> (azul), fluorolube (verde) y nujol (rojo), comparados con los espectros teóricos calculados al nivel B3LYP/6-311++G(d,p).

Como características espectrales VCD relevantes en disolución de CHCl<sub>3</sub> se pueden resaltar las tres bandas (-,+,+) a 1537, 1512 y 1500 cm<sup>-1</sup>, que son bien predichas desde el espectro VCD teórico del diastereoisómero ( **$R_a,7S$** ), tanto en disolución como en fase sólida. Otro ejemplo puede ser aquel de las dos bandas (-,+) a 1314 y 1285 cm<sup>-1</sup>, que confirman nuevamente la presencia de la estructura ( **$R_a,7S$** ). Finalmente, otras bandas interesantes pueden ser las que aparecen como (+,-) a 1144 y 1094 cm<sup>-1</sup>. El análisis de los espectros VCD de las suspensiones nos llevó a la misma conclusión, esto es: **presencia de ( $R_a,7S$ )-colchicina**. Además, los espectros VCD experimentales en **suspensiones** y en **disolución** son muy similares, indicando que la estructura quiral que se encuentra presente en ambas fases es la misma.

Las dos muestras aquirales, ( $\pm$ )-colchicina anhidra y ( $\pm$ )-colchicina·2H<sub>2</sub>O (DOTMOO), no mostraron espectros VCD en disolución, como era de esperar, mientras que sí aparecieron señales débiles en los espectros VCD de las suspensiones de nujol y fluorolube (ver *Figs. 8* y *9* de la referencia 106). Pensamos que este hecho podría deberse a la presencia de un pequeño exceso enantiomérico de (-)-colchicina en ellas, ya que los signos y posición de las bandas VCD débiles eran los mismos que los presentados por aquellas de las muestras quirales.

## 5.5. Referencias

- [1] M. M. Quesada-Moreno, J. R. Avilés-Moreno, A. Á. Márquez-García, F. Partal-Ureña, J. J. López González, *J. Mol. Struct.* **1046**, 136–146 (2013).
- [2] M. M. Quesada-Moreno, A. Á. Márquez-García, J. R. Avilés-Moreno, J. J. López-González, *Tetrahedron: Asymmetry* **24**, 1537–1547 (2013).
- [3] M. M. Quesada-Moreno, J. R. Avilés-Moreno, A. Á. Márquez-García, J. J. López González, *J. Mol. Model.* **20**, 2229 (2014).
- [4] M. M. Quesada-Moreno, J. R. Avilés-Moreno, J. J. López González, *Tetrahedron: Asymmetry* **26**, 1314–1327 (2015).
- [5] J. R. Avilés-Moreno, M. M. Quesada-Moreno, F. Partal Ureña, J. J. López González, *Tetrahedron: Asymmetry* **23**, 1084–1092 (2012).
- [6] G. Lubec, G. A. Rosenthal, *Amino Acids: Chemistry, Biology and Medicine*, ESCOM, Michigan, 1990.
- [7] D. Voet, J. G. Voet, *Bioquímica*, 3ª Edición, Médica Panamericana, Buenos Aires, 2006.
- [8] R. Rajendram, V. R. Preedy, V. B. Patel, *Branched Chain Amino Acids in Clinical Nutrition Vol. 1, Nutrition and Health*, Springer (Humana Press), London, 2014.
- [9] C. Gómez-Moreno Caleras, J. S. Sanz, *Estructura de proteínas*, Ariel, Barcelona, 2003.
- [10] L. N. Johnson, *Biochem. Soc. Trans.* **37**, 627–641 (2009).
- [11] B. Hernández, F. Pflüger, M. Nsangou, M. Ghomi, *J. Phys. Chem. B* **113**, 3169–3178 (2009).
- [12] B. Hernández, F. Pflüger, A. Adenier, M. Nsangou, S. G. Kruglik, M. Ghomi, *J. Chem. Phys.* **135**, 055101 (2011).
- [13] A. Ganesan, M. J. Brunger, F. Wang, *Eur. Phys. J.* **67**, 229–240 (2013).
- [14] A. Lesarri, E. J. Cocinero, J. C. López, J. L. Alonso, *Angew. Chem., Int. Ed.* **43**, 605–610 (2004).
- [15] L. Stryer, J. M. Berg, J. L. Tymoczko, *Biochemistry*, 5<sup>th</sup> Edition, W. H. Freeman and Company, New York, 2005.
- [16] N. Derbel, B. Hernández, F. Pflüger, J. Liquier, F. Geinguenaud, N. Jaïdane, Z. B. Lakhdar, M. Ghomi, *J. Phys. Chem. B* **111**, 1470–1477 (2007).
- [17] F. Pflüger, B. Hernández, M. Ghomi, *J. Phys. Chem. B* **114**, 9072–9083 (2010).
- [18] B. Hernández, F. Pflüger, A. Adenier, S. G. Kruglik, M. Ghomi, *J. Phys. Chem. B* **114**, 15319–15330 (2010).
- [19] M. H. Jamróz, *Vibrational Energy Distribution Analysis: VEDA 4*, Warsaw, 2004–2010.

- [20] M. H. Jamróz, *Spectrochim. Acta A* **114**, 220–230 (2013).
- [21] NIST Standard Reference Database 101; Computational Chemistry Comparison and Benchmark Database: <http://cccbdb.nist.gov/>
- [22] M. R. Poopari, Z. Dezhahang, G. Yang, Y. Xu, *ChemPhysChem* **13**, 2310–2321 (2012).
- [23] M. M. Quesada-Moreno, L. M. Azofra, J. R. Avilés-Moreno, I. Alkorta, J. Elguero, J. J. López-González, *J. Phys. Chem. B* **117**, 14599–14614 (2013).
- [24] L. M. Azofra, M. M. Quesada-Moreno, I. Alkorta, J. R. Avilés-Moreno, J. J. López-González, J. Elguero, *New J. Chem.* **38**, 529–538 (2014).
- [25] L. M. Azofra, I. Alkorta, J. Elguero, P. L. A. Popelier, *Carbohydr. Res.* **358**, 96–105 (2012).
- [26] J. R. Aviles-Moreno, T. R. Huet, *J. Mol. Struct.: THEOCHEM* **858**, 113–119 (2008).
- [27] E. J. Cocinero, A. Lesarri, P. Écija, F. J. Basterretxea, J.-U. Grabow, J. A. Fernández, F. Castaño, *Angew. Chem. Int. Ed.* **124**, 3173–3178 (2012).
- [28] J. H. Stern, P. M. Hubler, *J. Phys. Chem.* **88**, 1680–1681 (1984).
- [29] T. Suzuki, H. Kawashima, H. Kotoku, T. Sota, *J. Phys. Chem. B* **109**, 12997–13005 (2005).
- [30] I. Alkorta, P. L. A. Popelier, *Carbohydr. Res.* **346**, 2933–2939 (2011).
- [31] C. Molteni, M. Parrinello, *J. Am. Chem. Soc.* **120**, 2168–2171 (1998).
- [32] L. M. Azofra, I. Alkorta, J. Elguero, *Carbohydr. Res.* **372**, 1–8 (2013).
- [33] D. Šišák, L. B. McCusker, G. Zandomenighi, B. H. Meier, D. Bläser, R. Boese, W. Bernd Schweizer, R. Gilmour, J. D. Dunitz, *Angew. Chem. Int. Ed.* **49**, 4503–4505 (2010).
- [34] S. J. Angyal, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **49**, 19–6 (1991).
- [35] V. A. Yaylayan, A. A. Ismail, *Carbohydr. Res.* **276**, 253–265 (1995).
- [36] R. U. Lemieux, L. Anderson, A. H. Conner, *Carbohydr. Res.* **20**, 59–72 (1971).
- [37] M. Mathlouthi, A. M. Seuvre, J. L. Koenig, *Carbohydr. Res.* **122**, 31–47 (1983).
- [38] C. M. Tummalapalli, D. M. Back, P. L. Polavarapu, *J. Chem. Soc., Faraday Trans.* **84**, 2585–2594 (1988).
- [39] P. K. Bose, P. L. Polavarapu, *Carbohydr. Res.* **319**, 172–183 (1999).
- [40] A. G. Petrovic, P. K. Bose, P. L. Polavarapu, *Carbohydr. Res.* **339**, 2713–2720 (2004).

- [41] T. Taniguchi, K. Monde, *Org. Biomol. Chem.* **5**, 1104–1110 (2007).
- [42] Z. Q. Wen, L. D. Barron, L. Hecht, *J. Am. Chem. Soc.* **115**, 285–292 (1993).
- [43] D. Cremer, J. A. Pople, *J. Am. Chem. Soc.* **97**, 1354–1358 (1975).
- [44] R. F. W. Bader, *Atoms in Molecules: A Quantum Theory*, Clarendon Press, Oxford, 1990.
- [45] P. L. A. Popelier, *Atoms In Molecules. An introduction*, Prentice Hall, Harlow, 2000.
- [46] E. D. Glendening, A. E. Reed, J. E. Carpenter, F. Weinhold, NBO 3.1, Theoretical Chemistry Institute, University of Wisconsin, Madison, 2001.
- [47] F. Weinhold, C. R. Landis, *Valency and Bonding. A Natural Bond Orbital Donor-Acceptor Perspective*, Cambridge Press, Cambridge, 2005.
- [48] C. Altona, M. Sundaralingam, *J. Am. Chem. Soc.* **94**, 8205–8212 (1972).
- [49] S. N. Steinmann, C. Piemontesi, A. Delachat, C. Corminboeuf, *J. Chem. Theory Comput.* **8**, 1629–1640 (2012).
- [50] M. L. Bender, J. L. Brubacher, *Catálisis y acción enzimática*, Reverté, Barcelona, 1977.
- [51] G. Yang, E. A. Pidko, E. J. M. Hensen, *J. Catal.* **295**, 122–132 (2012).
- [52] R. U. Lemieux, K. B. Hendriks, R. V. Stick, K. James, *J. Am. Chem. Soc.* **97**, 4056–4062 (1975).
- [53] L. M. Azofra, M. M. Quesada-Moreno, I. Alkorta, J. R. Avilés-Moreno, J. Elguero, J. J. López-González, *ChemPhysChem* **16**, 2226–2236 (2015).
- [54] L. Petersen, A. Ardèvol, C. Rovira, P. J. Reilly, *J. Am. Chem. Soc.* **132**, 8291–8300 (2010).
- [55] M. Fedoroňko, P. Temkovic, J. Königstein, V. Kováčik, I. Tvaroška, *Carbohydr. Res.* **87**, 35–50 (1980).
- [56] Y. Kobayashi, H. Takahara, H. Takahashi, K. Higasi, *J. Mol. Struct.* **32**, 235–246 (1976).
- [57] H. Michelsen, P. Klaboe, *J. Mol. Struct.* **4**, 293–302 (1969).
- [58] G. C. S. Collins, W. O. George, *J. Chem. Soc. B* 1352–1355 (1971).
- [59] V. A. Yaylayan, S. Harty-Majors, A. A. Ismail, *Carbohydr. Res.* **309**, 31–38 (1998).
- [60] V. Mohaček-Grošev, B. Prugovečki, S. Prugovečki, N. Strukan, *J. Mol. Struct.* **1047**, 209–215 (2013).
- [61] A. P. Sergeeva, B. B. Averkiev, H.-J. Zhai, A. I. Boldyrev, L.-S. Wang, *J. Chem. Phys.* **134**, 224304 (2011).
- [62] I. Alkorta, S. Maluendes, *J. Phys. Chem.* **99**, 6457–6460 (1995).

- [63] J. R. Avilés Moreno, F. Partal Ureña, J. J. López González, T. R. Huet, *Chem. Phys. Lett.* **473**, 17–20 (2009).
- [64] D. Schmitz, V. A. Shubert, T. Betz, M. Schnell, *Front. Chem.* **3**, 15 (2015).
- [65] K.-H. Wagner, I. Elmadfa, *Ann. Nutr. Metab.* **47**, 95–106 (2003).
- [66] M. O. Andreae, P. J. Crutzen, *Science* **276**, 1052–1058 (1997).
- [67] J. Lelieveld, T. M. Butler, J. N. Crowley, T. J. Dillon, H. Fischer, L. Ganzeveld, H. Harder, M. G. Lawrence, M. Martinez, D. Taraborrelli, J. Williams, *Nature* **452**, 737–740 (2008).
- [68] R. Matyssek, N. Clarke, P. Cudlin, T. N. Mikkelsen, J.-P. Tuovinen, G. Wieser, E. Paoletti, *Climate Change, Air Pollution and Global Challenges: Understanding and Perspectives from Forest Research*, Elsevier, Oxford, 2013.
- [69] M. L. Walser, J. Park, A. L. Gomez, A. R. Russell, S. A. Nizkorodov, *J. Phys. Chem. A* **111**, 1907–1913 (2007).
- [70] C. S. Maksymiuk, C. Gayahtri, R. R. Gil, N. M. Donahue, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **11**, 7810–7818 (2009).
- [71] V. Librando, G. Tringali, *J. Environ. Manage.* **75**, 275–282 (2005).
- [72] Y. Ishizuka, M. Tokumura, A. Mizukoshi, M. Noguchi, Y. Yanagisawa, *Int. J. Environ. Res. Public Health* **7**, 3853–3870 (2010).
- [73] S. S. Marine, J. Clemons, *J. Chromatogr. Sci.* **41**, 31–35 (2003).
- [74] L. Chiappini, S. Rossignol, E. Mombelli, C. Greuillet, J. Nicolle, M. Nicolas, *SOA formation study from limonene ozonolysis in indoor environment: gas and particulate phases chemical characterization and toxicity prediction*, 10. International Conference Healthy Buildings (HB2012), Brisbane, Australia, Queensland University of Technology, pp. NC, 2012.
- [75] J. R. Avilés Moreno, T. R. Huet, J. J. López González, *Struct. Chem.* **24**, 1163–1170(2013).
- [76] D. Schmitz, V. A. Shubert, B. M. Giuliano, M. Schnell, *J. Chem. Phys.* **141**, 034304 (2014).
- [77] V. A. Shubert, D. Schmitz, C. Medcraft, A. Krin, D. Patterson, J. M. Doyle, M. Schnell, *J. Chem. Phys.* **142**, 214201 (2015).
- [78] Z. Kisiel, O. Desyatnyk, E. Białkowska-Jaworska, L. Pszczółkowski, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **5**, 820–826 (2003).
- [79] D. Loru, M. A. Bermúdez, M. E. Sanz, *J. Chem. Phys.* **145**, 074311 (2016).
- [80] M. M. Quesada-Moreno, D. Loru, J. R. Avilés-Moreno, N. Jarman, T. R. Huet, J. J. López-González, M. E. Sanz, *ChemPhysChem*, aceptado Noviembre 2016. DOI 10.1002/cphc.201600991

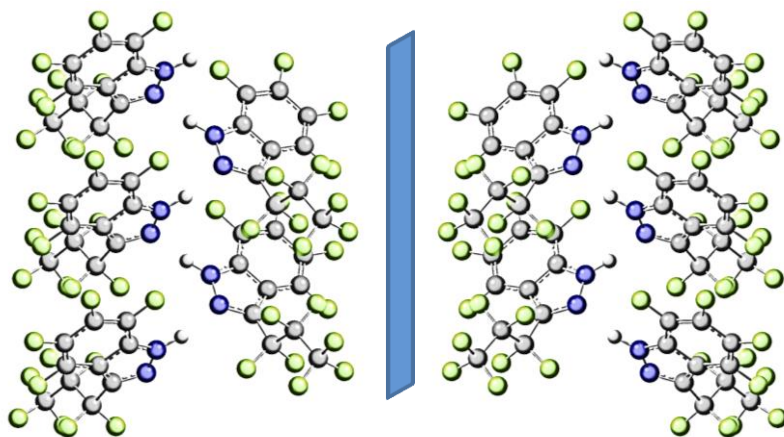
- [81] J. R. Avilés Moreno, F. Partal Ureña, J. J. López González, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **11**, 2459–2467 (2009).
- [82] J. R. Avilés Moreno, E. Ureña Horno, F. Partal Ureña, J. J. López González, *Spectrochim. Acta A* **79**, 767–776 (2011).
- [83] J. Kraitchman, *Am. J. Phys.* **21**, 17–24 (1953).
- [84] P. Oliveira, M. L. Rojas-Cervantes, A. M. Ramos, I. M. Fonseca, A. M. Botelho do Rego, J. Vital, *Catal. Today* **118**, 307–314 (2006).
- [85] S. Abbate, G. Longhi, S. Boladjiev, D. A. Lightner, C. Bertucci, P. Salvadori, *Enantiomer* **3**, 337–347 (1998).
- [86] M. Goubet, R. A. Motiyenko, F. Réal, L. Margulès, T. R. Huet, P. Asselin, P. Souldard, A. Krasnicki, Z. Kisiel, E. A. Alekseev, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **11**, 1719–1728 (2009).
- [87] H. M. Pickett, *J. Chem. Phys.* **56**, 1715 (1972).
- [88] J. L. Alonso, S. Antolínez, S. Blanco, A. Lesarri, J. C. López, W. Caminati, *J. Am. Chem. Soc.* **126**, 3244–3249 (2004).
- [89] S. T. Shipman, J. L. Neill, R. D. Suenram, M. T. Muckle, B. H. Pate, *J. Phys. Chem. Lett.* **2**, 443–448 (2011).
- [90] K. M. Marzec, I. Reva, R. Fausto, L. M. Proniewicz, *J. Phys. Chem. A* **115**, 4342–4353 (2011).
- [91] A. D. Bond, J. E. Davies, *Acta Crystallogr.* **57**, 1032–1033 (2001).
- [92] J. B. Sullivan, B. H. Rumack, H. Thomas, R. G. Peterson, P. Brysch, *J. Am. Med. Assoc.* **242**, 2873–2874 (1979).
- [93] D. Patterson, M. Schnell, J. M. Doyle, *Nature* **497**, 475–478 (2013).
- [94] V. A. Shubert, D. Schmitz, D. Patterson, J. M. Doyle, M. Schnell, *Angew. Chem. Int. Ed.* **53**, 1152–1155 (2014).
- [95] V. A. Shubert, D. Schmitz, C. Medcraft, A. Krin, D. Patterson, J. M. Doyle, M. Schnell, *J. Chem. Phys.* **142**, 214201 (2015).
- [96] J. Jacques, A. Collet, S. H. Wilen, *Enantiomers, Racemates, and Resolutions*, Krieger Publishing Co, Malabar, Florida, 1994.
- [97] Y. Zhen, H. Tanaka, K. Harano, S. Okada, Y. Matsuo, E. Nakamura, *J. Am. Chem. Soc.* **137**, 2247–2252 (2015).
- [98] E. L. Eliel, S. H. Wilen, *Stereochemistry of Organic Compounds*, Wiley, New York, 1994.
- [99] J. J. L. González, F. P. Ureña, J. R. A. Moreno, I. Mata, E. Molins, R. M. Claramunt, C. López, I. Alkorta, J. Elguero, *New J. Chem.* **36**, 749–758 (2012).

- [100] J. R. Avilés-Moreno, M. M. Quesada-Moreno, J. J. López-González, R. M. Claramunt, C. López, I. Alkorta, J. Elguero, *ChemPhysChem* **14**, 3355–3360 (2013).
- [101] M. M. Quesada-Moreno, J. R. Avilés-Moreno, J. J. López-González, K. Jacob, L. Vendier, M. Etienne, I. Alkorta, J. Elguero, R. M. Claramunt, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **19**, 1632–1643 (2017)
- [102] K. C. Nicolaou, R. A. Valiulin, J. K. Pokorski, V. Chang, J. S. Chen, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **22**, 3776–3780 (2012).
- [103] M. V. King, *Acta Crystallogr.* **5**, 437–440 (1952).
- [104] A. Bladé-Font, *Tetrahedron Lett.* **18**, 2977–2980 (1977).
- [105] M. Cavazza, M. Zandomenighi, F. Pietra, *Tetrahedron Lett.* **41**, 9129–9133 (2000).
- [106] A. Virgili, M. M. Quesada-Moreno, J. R. Avilés-Moreno, J. J. López-González, M. Á. García, R. M. Claramunt, M. R. Torres, M. L. Jimeno, F. Reviriego, I. Alkorta, J. Elguero, *Helv. Chim. Acta* **97**, 471–490 (2014).
- [107] L. A. Nafie, *Vibrational Optical Activity. Principles and Applications*, Wiley, New York, 2011.
- [108] P. L. Polavarapu, *Vibrational Spectra: Principles and Applications with Emphasis on Optical Activity (Studies in Physical and Theoretical Chemistry)*, Elsevier, Amsterdam, 1998.
- [109] P. J. Stephens, F. J. Devlin, J. R. Cheeseman, *VCD Spectroscopy for Organic Chemists*, CRC Press, Boca Raton, 2012.



# 6. QUIRALIDAD SUPRAMOLECULAR: RESOLUCIÓN ESPONTÁNEA Y RECONOCIMIENTO MOLECULAR

---





## 6. QUIRALIDAD SUPRAMOLECULAR: RESOLUCIÓN ESPONTÁNEA Y RECONOCIMIENTO MOLECULAR

En este capítulo se van a presentar algunos de los resultados que entendemos como especialmente relevantes obtenidos durante el desarrollo de los trabajos de esta tesis, y que se refieren a fenómenos que tienen lugar debido a la presencia (o aparición) de quiralidad en sistemas que se denominan como supramoleculares, debido a su tamaño y/o complejidad. Ejemplos de ellos son aquellos relacionados con la resolución espontánea en conglomerados helicoidales cristalinos de cadenas cateméricas de compuestos con o sin quiralidad previa (derivados del 1*H*-indazol y 1*H*-benzimidazol y el propio 1*H*-benzotriazol, en nuestro caso) [1-3] y aquellos otros relacionados con el reconocimiento molecular quiral en procesos tipo *host/guest* (anfitrión/huésped), entre una especie molecular quiral receptora de mayor tamaño (un éter corona, en nuestro caso) y otra, también quiral pero de menor tamaño, que actúa como huésped de aquella (un aminoácido, en nuestro caso) [4]. En ambos tipos de fenómenos las interacciones débiles debidas a la presencia de puentes de hidrógeno juegan un papel fundamental.

### 6.1. Resolución espontánea

En este apartado se van a presentar los resultados de uno de los dos problemas de química supramolecular mencionados en la introducción de este apartado, esto es, el estudio de algunos sistemas orgánicos que presentan el fenómeno quiral de la resolución espontánea y que, como ha sido dicho, son algunos de los resultados más relevantes obtenidos a lo largo de los trabajos de esta tesis.

#### 6.1.1. Motivaciones

Los **1*H*-indazoles** son buenos candidatos para estudiar los fenómenos de **asociación molecular** y **resolución espontánea** de **compuestos quirales** [5,6]. Cuando los enlaces de hidrógeno N-H $\cdots$ N entre los átomos N1 y N2 (*Fig. 6.1*) determinan la estructura secundaria, los indazoles cristalizan formando dímeros, trímeros o catémeros<sup>1</sup> (cadenas) [7]. Si el monómero es aquiral, el caso más común es que el cristal (celdilla unidad) también sea aquiral, típicamente un dímero o un trímero. Un ejemplo en este grupo puede ser el 3-metil-1*H*-indazol, LIDFUA (*refcode*<sup>2</sup> [8]) en estado sólido, el cual cristaliza como un dímero [9]. Si es

---

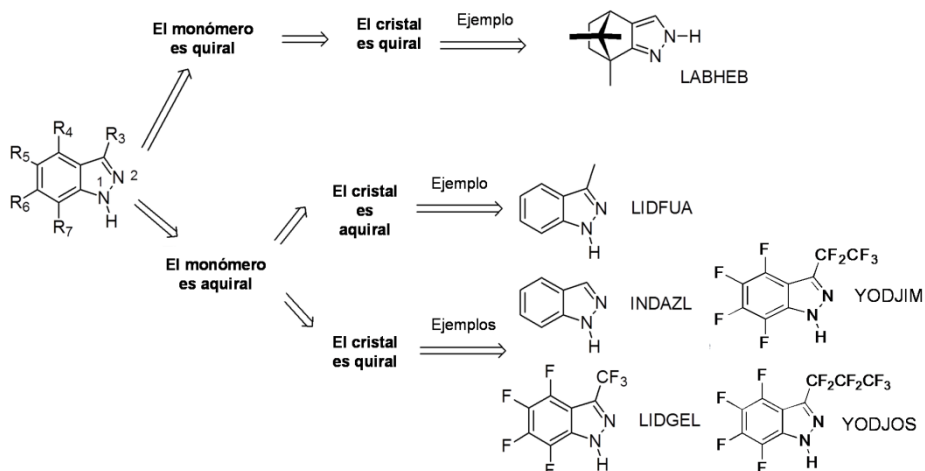
<sup>1</sup> Los catémeros son cadenas formadas por unidades monoméricas enlazadas mediante enlaces de hidrógeno [1-3].

<sup>2</sup> El *refcode* de un compuesto es un código que usa la CSD (acrónimo en inglés de la *Cambridge Structural Database*) para identificarlos.

un catémero, se puede obtener una estructura aquiral a partir de dos hélices de quiralidad opuesta presentes en la celdilla unidad. Un ejemplo de este tipo puede ser TELXUD (grupo espacial *Pbca*) [7]. Si los monómeros de partida son ya quirales, los cristales formados, generalmente dímeros o trímeros, serán también quirales; este es el caso del (4*S*,7*R*)-alcanfo[2,3-*d*]pirazol, que en sí mismo ya es quiral y que cristaliza dando lugar mediante enlaces de hidrógeno a unidades triméricas que forman cristales denominados como LABHEB [10].

Sin embargo, los compuestos 1*H*-indazol (**INDAZL**), 3-trifluorometil-4,5,6,7-tetrafluoro-1*H*-indazol (**LIDGEL**), 3-perfluoroetil-4,5,6,7-tetrafluoro-1*H*-indazol (**YODJIM**) y 3-perfluoropropil-4,5,6,7-tetrafluoro-1*H*-indazol (**YODJOS**) son ejemplos de 1*H*-indazoles que cristalizan como conglomerados en los que un único enantiómero formando una cadena catemérica está presente en la celdilla unidad de cada uno de los cristales formados, pudiendo así llegar teóricamente a ser separados de manera mecánica (e incluso manual). En el proceso de formación de estos conglomerados, desde la correspondiente disolución, tiene lugar un proceso de **resolución espontánea** (o rotura de la simetría) [5,7].

El tema de resolución espontánea de moléculas aquirales es muy relevante porque parece estar relacionado con el **origen de la vida** [1,5,11]. En tales casos, aunque termodinámicamente los enantiómeros *M* y *P* tienen la misma probabilidad de ser formados, las mezclas de cristales (de un solo enantiómero o de ambos) no están constituidas por un 50% de cada enantiómero [12]. A medida que el número de cristalizaciones aumenta, el ratio entre los dos enantiómeros llega a ser, generalmente, cercano a uno.



**Figura 6.1:** Posibles situaciones en cristales de NH-indazoles [8].

Como se ha mostrado en los estudios de apartados anteriores sobre aminoácidos, carbohidratos, etc., la espectroscopía **VCD** es una herramienta muy útil para estudiar la quiralidad de especies moleculares tanto en disolución [10] como en organizaciones supramoleculares en estado sólido [1-3,10]. Además, combinada con **cálculos químico cuánticos**, permite la **determinación de la configuración absoluta** en ambos casos. Así, en principio los *1H*-indazoles pueden cristalizar formando dímeros, trímeros o catémeros, dependiendo de la fase en la que están presentes. La dificultad del análisis experimental de la estructura de este tipo de compuestos es grande. Esto nos lleva al planteamiento de algunas preguntas: *¿Cómo podemos determinar la presencia de distintas estructuras de una especie molecular si cambian según la fase? ¿Estas estructuras podrían estar presentes en la misma fase simultáneamente? ¿Cómo se pueden determinar?*

Para intentar responder a estas cuestiones, en esta tesis se ha llevado a cabo una estrategia muy completa usando distintas técnicas espectroscópicas vibracionales sensibles (**VCD**) y no sensibles a la quiralidad (**FarIR**, **IR**, **Raman**) junto con **cálculos químico cuánticos**. Las estructuras de los monómeros de los compuestos estudiados en esta tesis se encuentran recogidas en la *Fig. 6.1*. El propio *1H*-indazol fue objeto de estudio previo al comienzo de esta tesis doctoral por parte del grupo en el que esta doctoranda ha realizado la misma [1]. A continuación la discusión de resultados se va a centrar en los trabajos realizados con los compuestos **INDAZL**, **LIDGEL** [2], **YODJIM** [3] y **YODJOS** [3], pues son aquellos en los que en la formación de sus correspondientes cristales desde los monómeros de partida de los mismos en disolución dan lugar a cadenas cateméricas helicoidales resueltas en **conglomerados** en dicho **estado sólido** mediante **resolución espontánea (o rotura de la simetría enantiomérica)**. Las estructuras monoméricas de LIDGEL, YODJIM y YODJOS únicamente difieren en la variación en longitud de la cadena lateral unida al C3 y el INDAZL contiene un átomo de H enlazado al C3 y átomos de H en lugar de átomos de F en C4, C5, C6 y C7.

En el caso de INDAZL, YODJIM y YODJOS, junto a las espectroscopías vibracionales sensibles (VCD) y no sensibles a la quiralidad (IR y Raman) y el soporte de los cálculos químico cuánticos, también se usó para su estudio la **crystalografía de rayos X**, que en el caso de los dos últimos compuestos ayudó a la determinación de las configuraciones absolutas de los mismos [3]. Asimismo, en el análisis de los cristales de YODJIM y YODJOS también la técnica **RMN** en estado sólido coadyuvó a la resolución del problema complementando a las anteriores.

Por otro lado, los compuestos **LABHEB** [10] y **LIDFUA** [2] también han sido estudiados mediante una combinación de las técnicas IR, Raman y VCD y

cálculos químico cuánticos dentro de esta tesis. Los monómeros de LABHEB son quirales y, como se ha dicho anteriormente, se enlazan mediante enlaces de hidrógeno en fase sólida formando trímeros que también son quirales. En el cristal solamente hay trímeros presentes mientras que en disolución las especies monoméricas son las que predominan. En cuanto al LIDFUA, en disolución parece haber presentes tanto monómeros como dímeros aquirales. Sin embargo, en fase sólida los espectros IR y Raman se pueden reproducir de forma adecuada teniendo en cuenta la presencia de dímeros. Los cristales de LIDFUA son aquirales y esto se pudo confirmar por la ausencia de respuesta quiro-óptica en disolución y en suspensiones de nujol y fluorolube.

Junto a estos compuestos, los estudios del **1H-benzotriazol** (BZTRAZ y BZTRAZ01) y del **2-propil-1H-benzimidazol** (OHUZUO), están ya muy avanzados, recogiendo de forma resumida un avance de los mismos en los apartados 6.1.4., 6.1.5. y 6.1.6. de esta memoria.

## 6.1.2. Metodologías

### *i. Teórica*

Las estructuras cristalinas de los compuestos derivados del 1H-indazol, 1H-benzimidazol y 1H-benzotriazol estudiadas en esta tesis fueron previamente determinadas por rayos X [9,13,14] (ver punto 6.1.3., subapartado *i*.) Cuando se procedió a la determinación de las configuraciones absolutas de las mismas mediante la técnica VCD, **se modelizó una parte de la geometría determinada mediante rayos X con cálculos DFT**. El análisis VCD (según la metodología general antes trazada para el logro de este objetivo) fue precedido por un detallado análisis vibracional de los correspondientes sistemas moleculares que conllevaron un estudio espectroscópico de los mismos mediante las técnicas vibracionales IR-Raman no sensibles a la quiralidad y el correspondiente soporte de cálculos teóricos. El estudio teórico de estos compuestos se llevó a cabo en el IQM del CSIC en Madrid, mediante una colaboración con el grupo de Química Teórica de los Profs. D. Ibon Alkorta y D. José Elguero. Las geometrías de los monómeros fueron optimizadas totalmente, mientras que en los dímeros, trímeros, tetrámeros, pentámeros o incluso decámeros (solo en el caso del 1H-benzotriazol), la posición de todos los átomos, a excepción de los hidrógenos, se fijaron a las posiciones determinadas por rayos X, optimizándose los átomos de hidrógeno con el uso de la metodología DFT al nivel **B3LYP/6-31G(d)**. Así, se simularon las correspondientes unidades oligoméricas o cateméricas (según el caso correspondiente al sistema molecular estudiado).

En el caso del compuesto LABHEB, también se optimizaron al nivel B97D/6-31G(d) (el cual incluye correcciones de dispersión de largo alcance) y para los casos de las estructuras diméricas y triméricas se llevaron a cabo tanto una optimización como la descrita al final del párrafo anterior como otra total para todos los átomos de las especies estudiadas [10]. Se comprobó que los resultados B3LYP/6-31G(d) y B97D/6-31+G(d,p) eran comparables, por lo que cualquiera de ambos niveles de cálculo podía ser igualmente usado para llevar a cabo el correspondiente análisis vibracional. Por ello, seguimos usando el funcional B3LYP para el resto de casos pendientes entonces de estudio.

El análisis vibracional se realizó teniendo en cuenta los factores únicos de escala 0.96 para el nivel de teoría B3LYP/6-31G(d) y 1.020 para B97D/6-31G(d) tomado de la base de datos del NIST. Los cálculos se realizaron con el programa Gaussian 09.

Para el caso del **2-propil-1H-benzimidazol**, en principio se intentó seguir una sistemática de estudio teórico similar a la que se había empleado en los casos de los antes referidos derivados 1H-indazólicos, esto es, tratando de optimizar sus estructuras oligoméricas de orden creciente tanto mediante una optimización manteniendo sus átomos pesados (C, N y O) situados en las posiciones determinadas cristalográficamente y simulando entonces las posiciones de sus átomos de hidrógeno, como mediante una optimización completa de las posiciones de todos sus átomos pesados y ligeros. Sin embargo, los resultados en esta ocasión parecían no poder simular de una manera tan adecuadamente razonable como en el caso de los 1H-indazoles sus correspondientes espectros vibracionales sensibles (VCD) y no sensibles a la quiralidad (IR y Raman), siendo incluso, sorpresivamente, peores (en relación a los otros sistemas estudiados anteriormente) en el caso de la optimización teórica de sólo los átomos de H.

Así pues, para este sistema benzimidazólico tratamos de explorar otros caminos de análisis tanto teóricos como experimentales, llevándonos a profundizar aún más en la búsqueda de una solución que pudiese resultar razonablemente aceptable. Para ello, se iniciaron nuevas colaboraciones tanto a nivel experimental, con el grupo de cristalografía molecular del Prof. D. Fco Javier Zúñiga Lagares del Dpto. de Física de la Materia Condensada de la Universidad del País Vasco, como teórico, con el grupo de la Dra. D<sup>a</sup>. Aurora José Cruz Cabeza, del grupo Química Física del Estado Sólido de la Escuela de Ingeniería Química y Ciencia Analítica de la Universidad de Manchester. En el punto 6.1.5. se darán más detalles de todo ello y de cuál es la situación actual (muy avanzada en cualquier caso) en el estudio de este problema.

Finalmente, para el cálculo de frecuencias se siguieron los pasos indicados en el punto 6.1.5. En este caso, para los números de onda por encima de  $1000\text{ cm}^{-1}$  se procedió a usar 0.947 como factor de escala y 0.966 para los números de onda por debajo de  $1000\text{ cm}^{-1}$ .

## *ii. Experimental*

Los detalles experimentales relativos a la cristalografía de rayos X en el caso de INDAZL, YODJIM y YODJOS y a la técnica RMN en estado sólido en el caso de estos dos últimos se recogen en las referencias 1 y 3.

### *a) Síntesis*

Los compuestos INDAZL [1], LIDGEL [2], YODJIM [3] y YODJOS [3] se sintetizaron tal y como se describe en las correspondientes referencias. Resaltar que, en el caso de **YODJIM** y **YODJOS**, por un lado se obtuvieron cristales mediante **sublimaciones** repetidas a vacío estático (aprox.  $8 \times 10^{-2}$  mbar) a  $70\text{ }^{\circ}\text{C}$  y, por otro, recristalizando estos cristales en acetona eliminando el disolvente usando un **agitador magnético** y un **flujo de  $\text{N}_2$** . También se probó a recristalizar ambos compuestos en acetona sin usar el agitador magnético y el flujo de  $\text{N}_2$ .

### *b) Espectroscopías IR, Raman y VCD*

Se registraron los espectros **IR** (incluyendo **FarIR**) y **Raman** de los compuestos **sólidos** (polvo o cristales) y los espectros **VCD** de los mismos en **suspensiones de nujol y fluorolube**.

En la **Tabla 4.2** del **capítulo 4** se especifican con más detalle los registros concretos realizados para cada compuesto. Las condiciones experimentales (resolución, acumulaciones, etc.) de los registros MIR, VCD y Raman también se detallan en el capítulo 4, concretamente en el subapartado *ii.* del punto 4.1.2., en el subapartado *iii.* del punto 4.2.3. y en el punto 4.3.2., respectivamente.

En el caso del **LIDGEL** se llevaron a cabo también registros MIR de disoluciones del compuesto en  $\text{CCl}_4$  con distintas molaridades y de películas delgadas preparadas a partir de las mismas. Estos registros se realizaron para corroborar la presencia de monómeros en disoluciones diluidas y no se muestran en el siguiente apartado.

Para el **OHUZUO** (cristales de 2-propil-1*H*-benzimidazol) se llevaron a cabo registros VCD en suspensiones de nujol y fluorolube de una gran variedad de

muestras recristalizadas en diferentes disolventes y de distintas formas, las cuales se detallan en el punto 6.1.5. También se registró el espectro VCD de este compuesto en disolución de  $\text{CDCl}_3$ .

Especificar que los registros **IR** de muestras sólidas se realizaron empleando el accesorio ATR y se registró la región espectral  $2000\text{-}30\text{ cm}^{-1}$ . La región espectral registrada en el caso de los espectros **VCD** fue  $2000\text{-}900\text{ cm}^{-1}$  (detector MCT) y para los **Raman** fue  $2000\text{-}100\text{ cm}^{-1}$ . Para la **corrección de la línea de base** de los espectros **VCD** se llevó a cabo la “corrección sólo con el *background*” explicada en el subapartado *iv.* del punto 4.2.3 del capítulo 4. Así, se sustrajeron las señales VCD de los aceites minerales nujol y fluorolube a los correspondientes espectros VCD de las muestras. En el caso de los compuestos YODJIM y YODJOS, se corrigieron primeramente los espectros VCD de los dos enantiómeros helicoidales, es decir, de las hélices *P* y *M* de cada uno de ellos, restándoles las señales VCD correspondientes al nujol, y se realizó posteriormente la media de estos dos espectros VCD, obteniendo de esta manera la línea de base VCD, que entonces se restó a los espectros VCD de cada uno de los enantiómeros (corregidos con nujol), obteniendo así los espectros VCD corregidos de cada uno de los dos enantiómeros de los cristales de esos perfluoroindazoles. Para estos dos compuestos, intentamos registrar los espectros VCD de algunos *single crystals* grandes emulsionados en nujol, pero los espectros VCD obtenidos fueron de menos intensidad y más baja calidad. Por esta razón, se realizó entonces el registro de espectros VCD de varios *single crystals* mezclados y emulsionados en nujol. Los espectros obtenidos fueron así más intensos y de más alta calidad, similares a los obtenidos con *single crystals* individuales.

### 6.1.3. Resultados y Discusión: resolución espontánea en los sistemas INDAZL, LIDGEL, YODJIM y YODJOS

La estrategia para el estudio de estos compuestos en fase sólida fue la siguiente: 1) Registro de los espectros **RMN** de YODJIM y YODJOS y análisis de los mismos con los cálculos correspondientes; 2) Registro de los espectros **IR** (incluyendo **FarIR**) y **Raman** de INDAZL, LIDGEL, YODJIM y YODJOS; 3) **Comparación** de estos espectros con los calculados para los monómeros y oligómeros al nivel **B3LYP/6-31G(d)**; 4) Registro de los espectros **IR** y **VCD** en suspensiones de **nujol y fluorolube** y 5) **Comparación** de los espectros VCD experimentales con los **calculados** para los **oligómeros** al mismo nivel de teoría mencionado en el punto anterior.

En todos los casos estudiados en este apartado, ya referidos más arriba, se pudo llegar a establecer inequívocamente la configuración absoluta de cada uno

de los cristales objeto de estudio mediante un análisis sinérgico en cada caso que conllevó el registro de sus espectros vibracionales tanto sensibles (VCD) como no sensibles (IR y Raman) a la quiralidad y la realización de los correspondientes cálculos químico cuánticos tanto de sus estructuras (geometrías) como de sus referidos espectros, incluyendo los correspondientes análisis vibracionales de las diferentes especies químicas estudiadas en cada caso. Fue de una singular importancia para el logro del objetivo fijado en estos casos la coadyuvación entre los datos experimentales y teóricos relativos a sus espectros VCD.

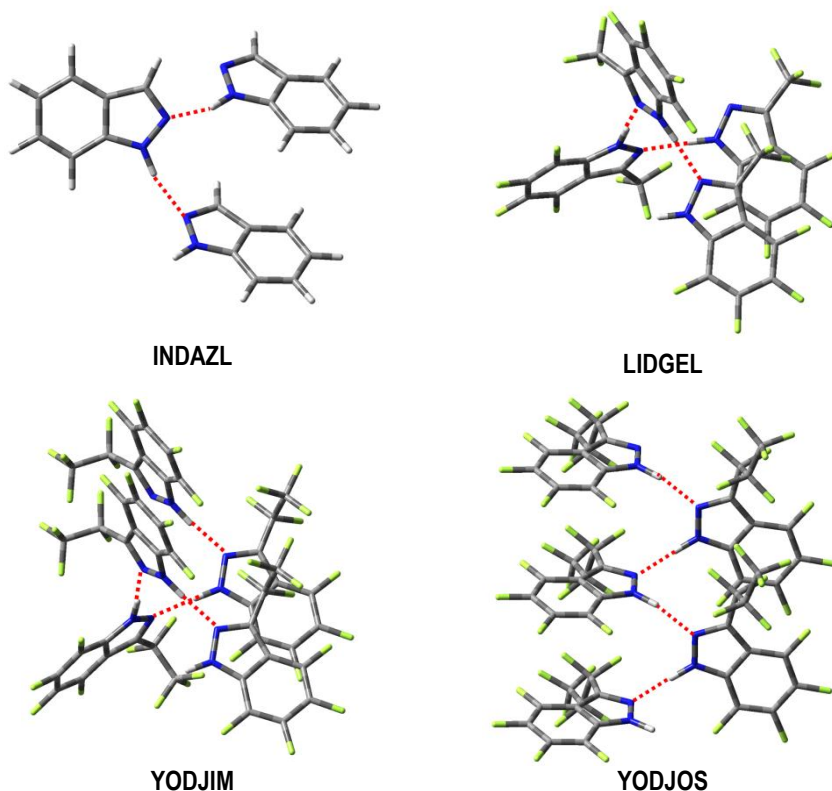
Hay que añadir, sin embargo, que para los casos del YODJIM y del YODJOS también se pudo llegar a **determinar la configuración absoluta** de *single crystals* seleccionados mediante **difracción de rayos X** [3], utilizando radiación  $\text{CuK}\alpha$ .

Remarcar, como ya ha sido mencionado con anterioridad, que la interpretación de las características VCD complejas se facilita si se realiza un análisis vibracional previo empleando las espectroscopías IR y Raman y cálculos químico cuánticos. La determinación de la configuración absoluta de organizaciones supramoleculares cristalinas quirales requiere realizar una comparación de los espectros VCD experimentales con el espectro VCD calculado para un enantiómero. Cuando la quiralidad aparece en la estructura secundaria, es necesario el **cálculo de catémeros** con un **número creciente de monómeros** hasta que el **experimento** llegue a **reproducirse de forma aceptable** [1-23].

#### *i. Rayos X y RMN*

Las estructuras cristalinas de los compuestos INDAZL, LIDGEL, YODJIM y YODJOS habían sido analizadas mediante **rayos X** en estudios previos [9,13,14], que confirmaron que los mismos cristalizaban como **conglomerados**. Los grupos espaciales determinados por rayos X para ellos son  $P2_1$  (INDAZL),  $P3_2$  (LIDGEL y YODJIM) y  $P2_12_12_1$  (YODJOS). INDAZL y YODJOS forman hélices de orden 2, mientras que LIDGEL y YODJIM forman catémeros helicoidales de orden 3. En la *Fig. 6.2* se pueden observar las estructuras cateméricas de los cristales de dichos compuestos.

Como se ha comentado anteriormente, el trabajo sobre el **INDAZL** [1] se realizó en el grupo de investigación de la doctoranda previamente al inicio de su tesis doctoral. En él se empezó llevando a cabo un refinamiento de la estructura del INDAZL, confirmando que el átomo de H del grupo NH se encuentra fuera del plano formando un ángulo intermolecular  $\text{N1-H1}\cdots\text{N2}$  de  $165.5^\circ$ . Este ángulo se forma debido a efectos de empaquetamiento del cristal porque la molécula es plana ( $C_s$ ) en fase gas según los cálculos teóricos.



**Figura 6.2:** Hélices quirales modelizadas de los derivados indazólicos no centrosimétricos INDAZL, LIDGEL, YODJIM y YODJOS.

En ese trabajo también se propuso una explicación sobre **cómo** una **molécula aquiral** como el **1*H*-indazol** **crystaliza** en un **grupo espacial no centrosimétrico**,  $P2_1$ , de tal forma que independientemente de la conformación del grupo NH, un indazol dímero o trímero puede adoptar una conformación quiral. Lo que ocurre es que la quiralidad **en un catémero está influenciada por los catémeros circundantes**, dando lugar a una estructura cristalina en la que todos los catémeros presentan la misma conformación *M* o *P*. La presencia de motivos quirales **inter-catémero** en el cristal sugiere un mecanismo para la cristalización en un grupo espacial no centrosimétrico.

Adicionalmente, aunque las estructuras cristalinas de **YODJIM** y **YODJOS** habían sido analizadas anteriormente mediante rayos X en el trabajo que se recoge en la referencia [14], se determinaron de nuevo en el trabajo relativo a esta tesis [3] con radiación  $\text{CuK}\alpha$ , habiéndose podido obtener adicionalmente en este caso, tal y como ya fue mencionado anteriormente, la **configuración absoluta de las hélices**. Se analizaron dos *single crystals* de YODJIM, uno de ellos (CCDC 1511341) resultó ser una hélice *M* y el otro (CCDC 1511342) contenía hélices *P* y

*M.* En el caso de YODJOS se analizó un *single crystal* que contenía un único enantiómero con configuración *M*.

Los resultados de **RMN en estado sólido** permitieron concluir que las muestras que se iban a usar para espectroscopía vibracional se comportaban como los *single crystals* usados para rayos X, en particular en lo que concierne a la conformación de las cadenas perfluoroalquiladas. Además, las geometrías de mínima energía calculadas teóricamente predijeron bien los desplazamientos químicos medidos en fase sólida, y ese es un dato a favor, por lo tanto, de su uso para la construcción de los catémeros requeridos para la discusión de los resultados vibracionales.

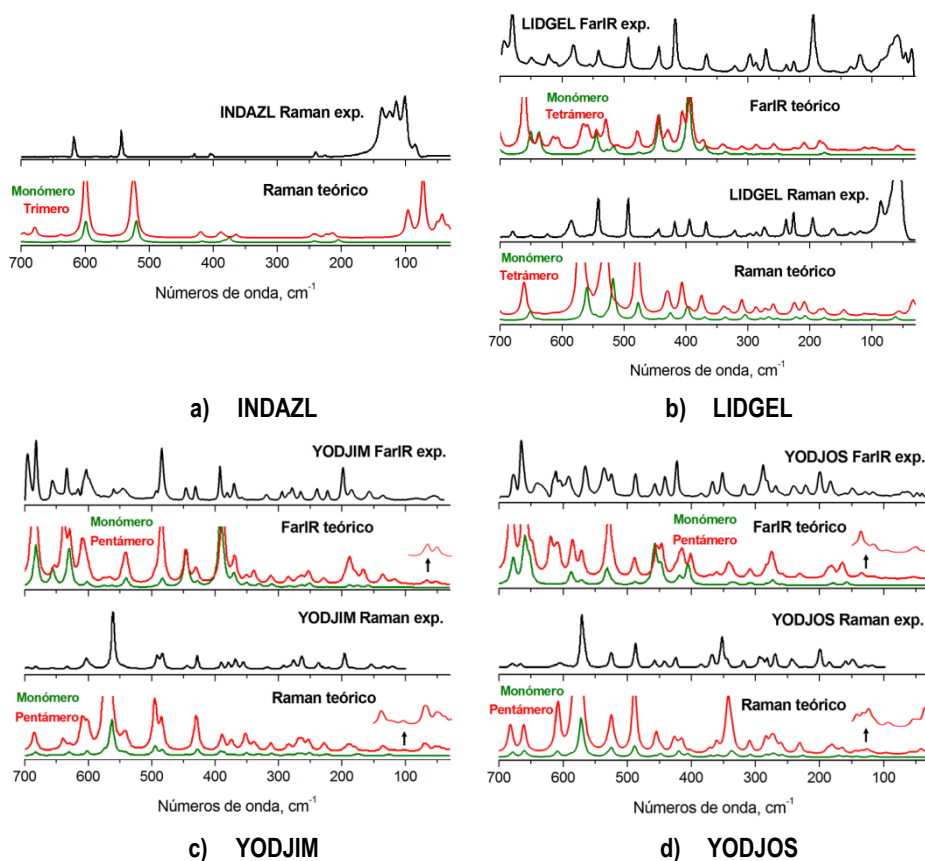
## *ii. Espectroscopías IR y Raman*

Primero voy a comentar los resultados obtenidos mediante las técnicas **IR** y **Raman**, centrándome en los registros realizados en la región de bajas frecuencias (**FarIR**) 700-30  $\text{cm}^{-1}$  (*Fig. 6.3*). En esta región, hay presentes bandas que corresponden a modos normales con contribuciones de waggings, rockings y modos de torsión. Por ello, la región que está por debajo de 700  $\text{cm}^{-1}$  es muy **útil** para **distinguir las diferentes estructuras** de los compuestos INDAZL, LIDGEL, YODJIM y YODJOS. Los espectros de las regiones IR y Raman intermedias (2000-700  $\text{cm}^{-1}$ ) se muestran en la *Fig. 9* de la referencia 1 (INDAZL), la *Fig. 1S* del material suplementario de la referencia 2 (LIDGEL) y las *Figs. 2S y 3S* del material suplementario de la referencia 3 (YODJIM y YODJOS), estando los correspondientes análisis de dichas regiones recogidos en las mismas. También se recogen en los paneles superiores de la *Fig. 6.4*.

Los *paneles a y b* de la *Fig. 6.3* muestran algunos ejemplos de bandas asociadas a los modos comentados anteriormente para los compuestos **INDAZL** y **LIDGEL**, como aquellas observadas experimentalmente en el espectro Raman a 430  $\text{cm}^{-1}$  y a 405  $\text{cm}^{-1}$  que corresponden a movimientos de deformación asimétrica de anillo y de torsión del INDAZL. Otro ejemplo de banda Raman en el INDAZL es aquella que aparece a 400  $\text{cm}^{-1}$ , la cual se asigna al modo normal wagging de N-H. Un último ejemplo de bandas que aparecen para este compuesto en su espectro Raman son también aquellas observadas a 240  $\text{cm}^{-1}$  y a 226  $\text{cm}^{-1}$  que se asignan a una torsión asimétrica de anillo y a un movimiento *butterfly*, respectivamente.

Por su parte, en los espectros FarIR y Raman del LIDGEL podemos destacar la banda experimental observada a 492  $\text{cm}^{-1}$ , la cual se corresponde con contribuciones de deformación asimétrica de anillo, que aparecía a 430  $\text{cm}^{-1}$  en el espectro Raman del INDAZL. Otros ejemplos de bandas que aparecen tanto en

el espectro IR como en el Raman de este compuesto son aquellas a  $319\text{ cm}^{-1}$  (IR y Raman),  $294\text{ cm}^{-1}$  (IR y Raman) y a  $268\text{ cm}^{-1}$  (IR,  $269\text{ cm}^{-1}$  en Raman), las cuales se asignan a modos normales de rockings de C-H de los anillos de benceno y pirazol. Otro ejemplo de banda observada en los espectros IR y Raman del LIDGEL es el de la banda a  $193\text{ cm}^{-1}$ , que aparece tanto en uno como en otro, y que se asigna al movimiento *butterfly*, el cual es asignado para el INDAZL a una banda observada a  $226\text{ cm}^{-1}$  en su espectro Raman. Adicionalmente, comentar que los espectros **FarIR** y **Raman experimentales** de ambos compuestos se **reproducen mejor** a partir de los espectros teóricos de los modelos de las **unidades cateméricas** simuladas de **mayor tamaño**, esto es, **triméricas** en el caso del INDAZL y **tetraméricas** en el caso del LIDGEL.



**Figura 6.3:** Espectros FarIR y Raman experimentales y teóricos escalados de los compuestos INDAZL, LIDGEL, YODJIM y YODJOS en fase sólida (polvo) en la región espectral  $700\text{-}30\text{ cm}^{-1}$ .

En los *paneles c y d* de la *Fig. 6.3* podemos observar la región de bajas frecuencias para los compuestos **YODJIM** y **YODJOS**, respectivamente. Para el compuesto YODJIM, ejemplos de estos modos los constituyen las bandas a  $603$

$\text{cm}^{-1}$  (IR y Raman),  $484 \text{ cm}^{-1}$  (IR y Raman),  $446 \text{ cm}^{-1}$  (IR,  $444 \text{ cm}^{-1}$  en Raman) y  $431 \text{ cm}^{-1}$  (IR,  $428 \text{ cm}^{-1}$  en Raman), las cuales se asignan a movimientos complejos de deformación y torsión, tales como deformaciones de anillo en el plano o fuera de él y waggings de N-H, involucrando dos o más subunidades monoméricas unidas mediante enlaces de hidrógeno. Estas cuatro bandas aparecen debido a la existencia de catémeros, ya que los espectros IR y Raman teóricos del monómero las predicen con diferentes intensidades o simplemente no las predicen. Para el compuesto YODJOS ocurre algo parecido, esto es, el modelo de una **unidad catemérica pentámera predice mucho mejor** las bandas experimentales que aparecen a  $611 \text{ cm}^{-1}$  (IR,  $606 \text{ cm}^{-1}$  en Raman),  $566 \text{ cm}^{-1}$  (IR,  $571 \text{ cm}^{-1}$  en Raman) y  $487 \text{ cm}^{-1}$  (IR y Raman).

Finalmente, hay que resaltar que teóricamente los monómeros de los cuatro compuestos referidos aquí no deberían presentar ninguna banda por debajo de  $160 \text{ cm}^{-1}$ , región en la que, sin embargo, sí aparecen algunas bandas registradas en los espectros IR y Raman de sus cristales (además de otra serie de bandas a lo largo de todo el espectro, adicionales a las anteriormente citadas), y que sí pueden ser predichas desde los modelos de las unidades cateméricas que han sido simuladas para ellos. Se puede concluir, por tanto, que tales **estructuras cateméricas** deberán estar presentes en los mencionados **cristales**.

En el caso del INDAZL, cabe resaltar las cinco bandas presentes en el espectro Raman a  $136$ ,  $124$ ,  $114$ ,  $101$  y  $85 \text{ cm}^{-1}$ , que según los cálculos teóricos son asignadas a modos normales de torsión de una subunidad de INDAZL con respecto a la otra. En el caso de los espectros FarIR y Raman del LIDGEL se pueden resaltar las tres bandas que aparecen a  $132 \text{ cm}^{-1}$  (IR y Raman),  $117 \text{ cm}^{-1}$  (IR y Raman) y a  $82 \text{ cm}^{-1}$  (IR,  $84 \text{ cm}^{-1}$  en Raman). La primera ( $132 \text{ cm}^{-1}$ ) se asigna al movimiento *butterfly* de la conexión entre anillos, la segunda ( $117 \text{ cm}^{-1}$ ) a una deformación de esqueleto (*framework*) y la tercera ( $82 \text{ cm}^{-1}$ ) a modos normales de torsión de una subunidad LIDGEL con respecto a las otras. Son particularmente importantes las cinco bandas que se observan a  $157 \text{ cm}^{-1}$  (FarIR,  $155 \text{ cm}^{-1}$  en Raman),  $136 \text{ cm}^{-1}$  (FarIR,  $134 \text{ cm}^{-1}$  en Raman),  $120 \text{ cm}^{-1}$  (Raman),  $83 \text{ cm}^{-1}$  (FarIR) y  $56 \text{ cm}^{-1}$  (FarIR) en los espectros FarIR y Raman del compuesto YODJIM, así como las 4 bandas que aparecen a  $148 \text{ cm}^{-1}$  (FarIR y Raman),  $129 \text{ cm}^{-1}$  (FarIR y Raman),  $117 \text{ cm}^{-1}$  (FarIR y Raman) y  $64 \text{ cm}^{-1}$  (FarIR) en los espectros del compuesto YODJOS, que se asignan a modos normales de torsión de una subunidad con respecto a las otras.

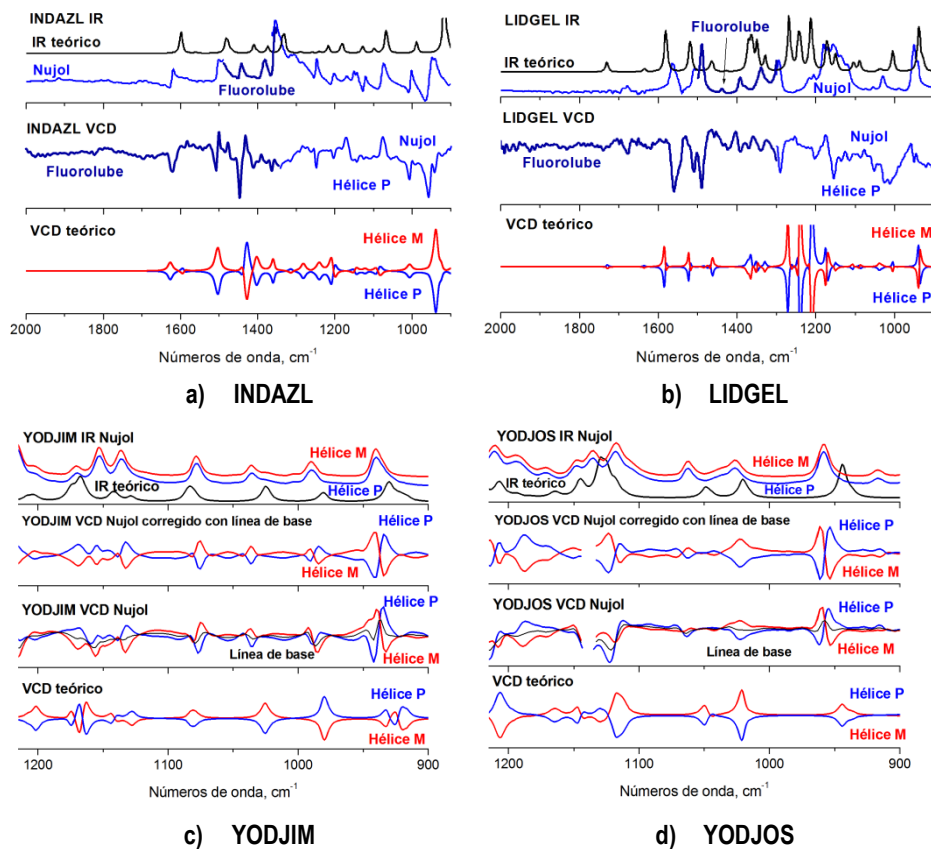
*iii. Respuesta quiro-óptica*

Hasta ahora se ha analizado la región de bajas frecuencias de los espectros IR y Raman considerando las especies monoméricas y los modelos de unidades cateméricas de los compuestos INDAZL, LIDGEL, YODJIM y YODJOS; concluyendo que las estructuras de las unidades cateméricas de tamaño más grande mejoran el análisis. El siguiente paso es arrojar luz sobre la posible quiralidad, así como sobre la **configuración absoluta de los catémeros de estos compuestos en estado sólido**. Aunque los monómeros son aquirales en fase gas y en disolución, la quiralidad supramolecular está presente en los cristales de estos compuestos en forma de **hélices *M* y/o *P***, con predominio de catémeros con hélices de uno o del otro tipo (**exceso enantiomérico**) en los casos estudiados. Este predominio tiene lugar, sea porque pudiese darse una mayor proporción de uno u otro en aquellos cristales en lo que ambos tipos de hélices pueden estar presentes en sus celdillas unidad, o porque esa mayor proporción pueda estar presente en los cristales conteniendo, unos, catémeros sólo con un tipo de hélice y, otros, catémeros sólo con el otro tipo de tales hélices en los conglomerados, según se verá a continuación.

La determinación de la configuración absoluta de las estructuras cristalinas del INDAZL, LIDGEL, YODJIM y YODJOS se llevó a cabo mediante una **combinación de espectroscopía VCD y cálculos químico cuánticos**. Los signos de la fuerza del rotador son de gran utilidad para determinar la configuración de los catémeros de estos compuestos, es decir, si se tratan de hélices *M* o *P* [15,16]. Además, como se dijo anteriormente, en los casos del YODJIM y del YODJOS también se hizo paralelamente una determinación de sus configuraciones absolutas mediante el uso de la técnica de difracción de rayos X de alta resolución.

En la parte intermedia de los paneles de la *Fig. 6.4* se muestran los **espectros VCD experimentales** de los cristales de los 4 compuestos estudiados registrados en suspensiones de **nujol** y **fluorolube** y en la parte inferior los **teóricos** de los trímeros de INDAZL, tetrámeros LIDGEL y pentámeros YODJIM y YODJOS, calculados al nivel B3LYP/6-31G(d). En todos los casos, el espectro correspondiente a la **hélice *M*** se representa en color **rojo** y el correspondiente a la ***P*** en color **azul**. Una comparación de los espectros obtenidos experimentalmente con aquellos calculados teóricamente permite ver el acuerdo razonable existente entre ellos, pudiendo concluirse la existencia (o predominancia) de catémeros con hélices *P* en los cristales de INDAZL y LIDGEL analizados. En el caso de YODJIM y YODJOS, sin embargo, se consiguieron muestras de cristales que mostraron, unos, la existencia (o predominancia) de catémeros con hélices *P* y, otros, la existencia (o

predominancia) de catémeros con hélices *M* y, por tanto, para ambos compuestos se llegaron a obtener (como se recoge en la referencia 3 y se ha comentado anteriormente) conglomerados de catémeros de cada una de sus dos formas enantioméricas (o, al menos, en las que se da una predominancia de una u otra) y registrar sus correspondientes espectros VCD.



**Figura 6.4:** Espectros IR experimentales y teóricos (panel superior) y espectros VCD experimentales (paneles intermedios superiores e inferiores) y teóricos (panel inferior) de los compuestos INDAZL, LIDGEL, YODJIM y YODJOS en suspensiones de nujol y fluorolube en la región espectral 2000-900  $\text{cm}^{-1}$ . En INDAZL y LIDGEL se muestran los espectros VCD corregidos con nujol y fluorolube, según corresponda, y en el panel intermedio inferior de YODJIM y YODJOS se muestran los espectros VCD corregidos con nujol (ver subapartado *ii.b* del punto 6.1.2.). En YODJIM y YODJOS, la media de los espectros VCD de las hélices *P* y *M* corregidos con nujol proporciona la línea de base adoptada en estos casos, la cual se resta a estos dos espectros VCD, dando lugar así a los espectros VCD corregidos con dicha línea de base y que son mostrados en el panel intermedio superior.

A continuación se va a llevar a cabo un análisis de las bandas VCD (color azul) experimentales que confirman la presencia de una hélice *P* en los cuatro compuestos estudiados:

- 1) **INDAZL**: El modelo de hélice *P* predice bien las cuatro bandas (-,+,-,+), que aparecen a 1620 cm<sup>-1</sup> (VCD, 1623 cm<sup>-1</sup> en IR y 1622 cm<sup>-1</sup> en Raman), 1595 cm<sup>-1</sup> (VCD, hombro a 1584 cm<sup>-1</sup> en IR y 1582 cm<sup>-1</sup> en Raman), 1507 cm<sup>-1</sup> y 1500 cm<sup>-1</sup> (VCD, ambas a 1501 cm<sup>-1</sup> en IR y 1503 cm<sup>-1</sup> en Raman), que se asignan a stretchings asimétricos de C=N y C=C. También predice bien las cinco bandas (-,+,-,-,+) a 1445 cm<sup>-1</sup>, 1431 cm<sup>-1</sup> (VCD, ambas a 1435 cm<sup>-1</sup> en IR y 1444 cm<sup>-1</sup> en Raman), 1408 cm<sup>-1</sup>, 1362 cm<sup>-1</sup> (VCD, ambas a 1388 cm<sup>-1</sup> en IR y Raman) y 1356 cm<sup>-1</sup> (VCD, 1348 cm<sup>-1</sup> en IR y 1357 cm<sup>-1</sup> en Raman), y las bandas (-,+), observadas a 1355 cm<sup>-1</sup> (VCD, 1348 cm<sup>-1</sup> en IR y 1357 cm<sup>-1</sup> en Raman) y a 1321 cm<sup>-1</sup> (VCD, 1314 cm<sup>-1</sup> en IR y 1315 cm<sup>-1</sup> en Raman), todas ellas asignadas a rockings de C-H de los anillos de benceno y pirazol. Las tres bandas (-,-,-) que se observan a 1203 cm<sup>-1</sup> (VCD, 1204 cm<sup>-1</sup> en IR y Raman), 1006 cm<sup>-1</sup> (VCD, 1002 cm<sup>-1</sup> en IR y 1001 cm<sup>-1</sup> en Raman) y 956 cm<sup>-1</sup> (955 cm<sup>-1</sup> en IR y 950 cm<sup>-1</sup> en Raman) son igualmente bien predichas por el modelo de hélice *P*. La primera se asigna a un modo normal de rocking de C-H del anillo de benceno, la segunda a uno de deformación del mismo y la tercera a uno de wagging de C-H.
- 2) **LIDGEL**: En este caso, hay una serie de bandas VCD (-,-,-) que se predicen bien teóricamente a partir del modelo de hélice *P* y que aparecen a 1560 cm<sup>-1</sup> (VCD, IR y Raman), 1510 cm<sup>-1</sup> (VCD, 1506 cm<sup>-1</sup> en IR y Raman) y 1490 cm<sup>-1</sup> (VCD e IR, 1497 cm<sup>-1</sup> en Raman). Las dos primeras se asignan a stretchings de C-N y C=C (aromático) del anillo de pirazol y la tercera al modo normal de wagging de N-H. Otros ejemplos de bandas que se predicen bien usando el modelo de hélice *P* pueden ser aquellas (-,+,-,-) observadas a 1289 cm<sup>-1</sup> (VCD, IR y Raman), 1194 cm<sup>-1</sup> (VCD e IR, 1210 cm<sup>-1</sup> en el espectro Raman), 1172 cm<sup>-1</sup> (VCD e IR, 1163 cm<sup>-1</sup> en el espectro Raman) y 1150 cm<sup>-1</sup> (VCD e IR). La primera y la cuarta de tales bandas se asignan a movimientos de deformaciones de los anillos de la molécula y la segunda y la tercera a bendings asimétricos de CF<sub>3</sub>.
- 3) **YODJIM**: En el espectro VCD experimental de color azul, las tres bandas (-,-,-,+) que aparecen a 1075 cm<sup>-1</sup> (VCD, 1078 cm<sup>-1</sup> en IR y 1080 cm<sup>-1</sup> en Raman), 1036 cm<sup>-1</sup> (VCD, IR y Raman) y 986 cm<sup>-1</sup> (VCD, 989 cm<sup>-1</sup> en IR, 991 cm<sup>-1</sup> en Raman) y el couplet (-,+), a 941 cm<sup>-1</sup> y 933 cm<sup>-1</sup> (VCD, 939 cm<sup>-1</sup> en IR y Raman) se corresponden bien con la presencia de una hélice *P*, de acuerdo con el espectro azul teóricamente calculado,

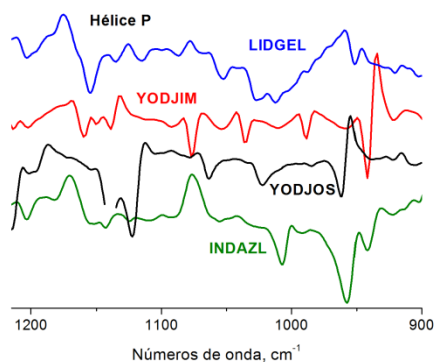
confirmando que el cristal se organiza como una hélice que gira en sentido horario.

- 4) **YODJOS**: En el espectro VCD experimental de color azul, nuevamente las respuestas quiro-ópticas apuntan la presencia (o predominancia) de catémeros con hélices *P*, cuando el mismo es comparado con el de color azul calculado desde la teoría. El conjunto de bandas (-,-,-,-) a 1124 cm<sup>-1</sup> (VCD, 1119 cm<sup>-1</sup> en IR y Raman), 1065 cm<sup>-1</sup> (VCD, 1062 cm<sup>-1</sup> en IR y Raman), 1026 cm<sup>-1</sup> (VCD, IR y Raman) y 961 cm<sup>-1</sup> (VCD, 958 cm<sup>-1</sup> en IR y Raman) permiten asignar de forma inequívoca la presencia de una hélice *P* a esta estructura supramolecular.

En resumen, comparando los espectros VCD teóricos de color azul y los registrados (experimentales) del mismo color para las muestras de los cristales de los 4 compuestos estudiados en esta sección, esto es, INDAZL, LIDGEL, YODJIM y YODJOS, que dan lugar a ellos, puede apreciarse que la **correspondencia teórico-experimental** apunta a la **existencia (o predominancia)** en las mismas de catémeros con **hélices *P***. Además, como ya ha sido mencionado con anterioridad, para los cuatro compuestos se logra la **mejor correspondencia teórico-experimental** con unidades cateméricas modelizadas de **mayor tamaño** en cada caso, esto es, trímeros en el INDAZL, tetrámeros en el LIDGEL y pentámeros en YODJIM y YODJOS. Además, en el caso de los compuestos YODJIM y YODJOS también se pudieron registrar los espectros VCD de otras muestras de cristales que evidenciaron la existencia (o predominancia) en ellas de catémeros con hélices *M*. Cuando se obtuvieron cristales de YODJIM y YODJOS mediante sublimación, los signos de las bandas VCD confirmaron la existencia de hélices *M* y *P*, respectivamente. Disolviendo estos cristales obtenidos mediante sublimación, en acetona y usando un agitador magnético y una corriente de N<sub>2</sub> para eliminar el disolvente se obtuvieron las hélices enantioméricas para ambos, esto es, la hélice *P* para YODJIM y la *M* para YODJOS.

La *Fig. 6.5* muestra una **superposición** de los **espectros VCD** correspondientes a la hélice *P* de los compuestos INDAZL, LIDGEL, YODJIM y YODJOS para poder ver más claramente las similitudes y diferencias espectrales entre todos ellos.

A primera vista, puede apreciarse que los **espectros VCD** de los cuatro compuestos son **distintos**, aunque hay algunas bandas en ellos que aparecen a, aproximadamente, los mismos números de ondas y con el mismo signo. Ejemplos de esto que decimos pueden ser: 1) el **couplet (-,+)** que aparece a  $962\text{ cm}^{-1}$  y  $955\text{ cm}^{-1}$  en el espectro VCD de YODJOS y a  $958\text{ cm}^{-1}$  y  $949\text{ cm}^{-1}$  en el de INDAZL, 2) la banda (-) que se observa a  $942\text{ cm}^{-1}$  para YODJIM e INDAZL y 3) la banda (-) que aparece a  $1159\text{ cm}^{-1}$  para YODJIM y a  $1155\text{ cm}^{-1}$  para LIDGEL. También hay algunas otras bandas que aparecen al mismo número de ondas pero con signo diferente, como la observada a  $1077\text{ cm}^{-1}$  con signo negativo en el caso de YODJIM y con signo positivo en INDAZL. Finalmente, hay algunas más que solo aparecen para uno de los compuestos y no para el resto, como es el caso de la banda (-) a  $1008\text{ cm}^{-1}$  en INDAZL y la de igual signo (-) observada a  $989\text{ cm}^{-1}$  en YODJIM. Pensamos que es interesante (e incluso, en cierta medida, es sorprendente) percatarse de cómo la diferencia en la **longitud de la cadena lateral** en los **monómeros** de estos compuestos llega a modificar de forma tan drástica las **características espectrales** de las **estructuras supramoleculares** cateméricas de los mismos.



**Figura 6.5:** Comparación de los espectros VCD experimentales obtenidos para las hélices *P* de los compuestos INDAZL (verde), LIDGEL (azul), YODJIM (rojo) y YODJOS (negro) en suspensiones de nujol en la región espectral 1215-900  $\text{cm}^{-1}$  con corrección de la línea de base hecha con el propio registro VCD del medio usado para hacer la suspensión, esto es, el nujol.

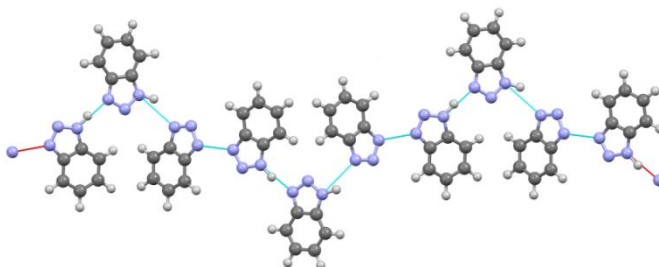
Los grupos espaciales determinados por rayos X para los cristales de estos 4 compuestos [1,3,9,13,14] fueron:  $P2_1$  (INDAZL),  $P3_2$  (LIDGEL y YODJIM) y  $P2_12_12_1$  (YODJOS), habiéndose tomado los resultados de geometrías moleculares de dichos estudios como punto de partida para los cálculos estructurales llevados cabo para ellos en este trabajo (ver punto 6.1.2., subapartado *i*).

#### 6.1.4. Polimorfos quirales y aquirales en el sistema 1*H*-benzotriazol

Se ha comenzado el estudio de **dos polimorfos** del 1*H*-benzotriazol,  $\alpha$  y  $\beta$ . El polimorfo  $\alpha$  cristaliza en un grupo espacial no centrosimétrico y el  $\beta$  en uno centrosimétrico, siendo  $\alpha$  quiral dando lugar a **conglomerados (BZTRAZ)** y  $\beta$  **aquiral (BZTRAZ01)**. Los dos polimorfos se están caracterizando mediante

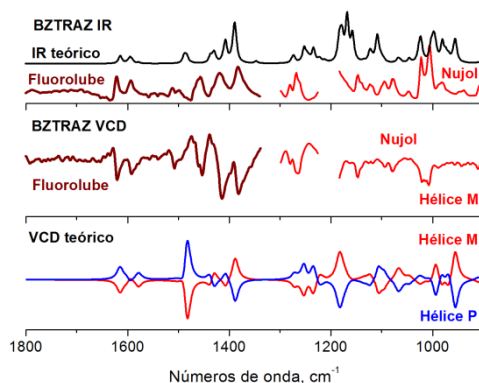
**crystalografía de rayos X**, **RMN** en estado sólido y espectroscopías **IR**, **Raman** y **VCD**, junto con **cálculos químico cuánticos**. En este estudio, además de los grupos del IQM del CSIC y de la UNED, junto con los Profs. D<sup>a</sup>. Dolores Santa María (UNED) y D. Felipe Reviriego (IQM, CSIC), también están colaborando en él los Profs. D<sup>a</sup>. Maria Gdaniec (Universidad Adam Mickiewicz, Poznan) y D. Fco. Javier Zúñiga (UPV, Bilbao).

A continuación se van a mostrar algunos de los resultados preliminares obtenidos para el **polimorfo  $\alpha$  (BZTRAZ)**. En 1974 se pudo concluir mediante el uso de la técnica de difracción de rayos X que de las dos posibles hélices que se podían formar en este polimorfo, únicamente una de ellas se encontraba presente en el cristal, pero su configuración absoluta no fue determinada [17,18]. En la *Fig. 6.6* se muestra una vista del fragmento de 10 moléculas que se ha modelizado teóricamente en este trabajo para la reproducción de los espectros IR y VCD.



**Figura 6.6:** Fragmento de cadena de diez moléculas de la estructura BZTRAZ, con indicación de los enlaces de hidrógeno que se forman entre las mismas.

Por otro lado, en la *Fig. 6.7* se muestran los espectros IR y VCD experimentales correspondientes al registro de una muestra de polimorfo  $\alpha$  cristalizada en acetona, comparados con los respectivos IR y VCD teóricos. Si nos fijamos en el signo y posición de algunas bandas VCD, como las bandas (-,-) que aparecen a 1621  $\text{cm}^{-1}$  (VCD e IR) y 1594  $\text{cm}^{-1}$  (VCD e IR) y la serie de bandas (-,-,-) observadas a 1508  $\text{cm}^{-1}$  (VCD, 1510  $\text{cm}^{-1}$  en IR), 1453  $\text{cm}^{-1}$  (VCD, 1457  $\text{cm}^{-1}$  en IR) y



**Figura 6.7:** Espectros IR experimentales y teóricos (panel superior) y espectros VCD experimentales (panel intermedio) y teóricos (panel inferior) del compuesto BZTRAZ en suspensiones de nujol y fluorolube en la región espectral 1800-900  $\text{cm}^{-1}$ . Se muestran los espectros VCD corregidos con nujol o fluorolube, según corresponda.

1415  $\text{cm}^{-1}$  (VCD, 1418  $\text{cm}^{-1}$  en IR), podemos afirmar que los resultados preliminares apuntan la existencia de una hélice *M* en los cristales de BZTRAZ.

#### 6.1.5. Pureza enantiomérica inesperada en el sistema 2-propil-1*H*-benzimidazol

Los **imidazoles** y sus benzo derivados (**benzimidazoles**) son subestructuras moleculares comunes que se encuentran en moléculas biológicas importantes (histidina, vitamina B12, etc.), productos naturales (alcaloides) y en fármacos con propiedades antibacterianas y antifúngicas [19].

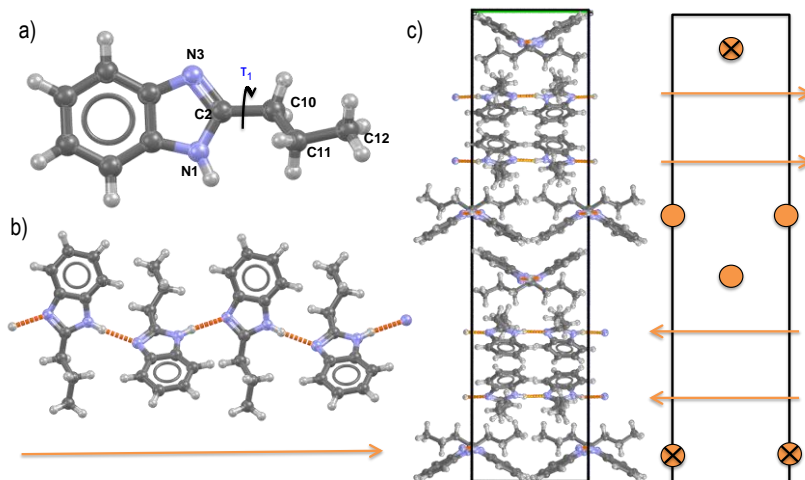
La química de los imidazoles puede ser compleja porque el compuesto es una base fuerte, que muestra **taumerismo** y puede **transportar protones** [20]. En la industria energética podemos encontrar una explotación interesante de las propiedades de la conductividad protónica de los imidazoles. Por ejemplo, los polímeros que contienen imidazol presentan altos puntos de fusión, lo cual hace que sean una alternativa mejorada al agua en las celdas de combustible, dentro de ser conductores de protón [21,22].

Dentro de los trabajos de colaboración que el grupo de investigación de esta doctoranda viene manteniendo con el grupo de los Profs. D. José Elguero y D. Ibón Alkorta, del IQM del CSIC en Madrid, y con el grupo de la Prof. D<sup>a</sup>. Rosa M<sup>a</sup> Claramunt, del departamento de Química Orgánica y Bio-Orgánica de la UNED también de Madrid, hay uno de ellos que se encuentra dirigido al estudio de las propiedades supramoleculares quirales de los cristales del derivado benzimidazólico denominado 2-propil-1*H*-benzimidazol (que abreviaremos en adelante con el acrónimo **2-PrBzIm**), el cual se encuentra ya en un nivel de desarrollo muy avanzado y que está proporcionando algunos resultados realmente singulares y sorprendentes, sobre todo cuando se comparan, por ejemplo, con los obtenidos para los casos de los derivados del 1*H*-indazol discutidos en el apartado anterior e incluso con los datos conocidos de estudios semejantes en la bibliografía. Esto, bajo nuestro punto de vista, pensamos que los hace ciertamente interesantes, máxime considerando que, al igual que en el caso de los derivados indazólicos, los antes referidos grupos del IQM-CSIC y de la UNED, que participan en este trabajo de colaboración, tienen una dilatada y aquilatada experiencia trabajando también con derivados benzimidazólicos (y otros diferentes tipos de heterocompuestos) semejantes al aquí objeto de estudio [23-25], esto es, el 2PrBzIm. Los citados resultados obtenidos hasta ahora en esta colaboración (no sólo con los dos anteriormente citados grupos de Madrid, sino también con el Prof. D. Javier Zúñiga Lagares, de la Universidad del País Vasco, y la Dra. D<sup>a</sup> Aurora José Cruz Cabeza, de la Universidad de Manchester) para

este derivado benzimidazólico, aparentemente común, serán expuestos y discutidos a continuación.

El primero de ellos puede decirse que ha sido la inesperada observación siempre del mismo espectro VCD de sus cristales obtenidos a partir de muestras comerciales recristalizadas de distintas formas y con diferentes condiciones (cambios de disolventes, con y sin agitación en uno y otro sentido de giro, con sublimación previa, etc.), registrado incluso con diferentes instrumentos de distintas casas comerciales disponibles en otras universidades andaluzas, además del existente en la UJA. Así, aunque la termodinámica predice que debe existir el 50% de probabilidad de que se forme uno u otro enantiómero de una determinada especie supramolecular quiral catemérica al hacer repetitivamente (y en las mismas condiciones) un determinado número de ensayos de preparación de los cristales de la misma (cristalizaciones) a partir de sus monómeros aquirales en disolución [3,12], el hecho (por eso sorprendente) ha sido que, como decimos, el espectro VCD registrado para los cristales del 2PrBzIm (OHUZUO) ha sido siempre el mismo, con independencia del camino utilizado en su preparación.

En la **estructura cristalina**, las moléculas de 2-PrBzIm adoptan una **configuración “Syn”** (*panel a* de la *Fig. 6.8*) mostrando un motivo de **cadena** formada mediante la unión de monómeros a través de **enlaces de hidrógeno**, la cual se encuentra comúnmente en los imidazoles (*panel b* de la *Fig. 6.8*). Sin embargo, a diferencia de otros derivados de 1*H*-benzimidazol con sustituyentes en el átomo de carbono C2, el 2-PrBzIm cristaliza en un **crystal quiral** con el grupo espacial  $P2_12_12_1$  y 4 moléculas en la unidad asimétrica (ver *panel c* de la *Fig. 6.8*) [26]. Existen distintas razones por las cuales moléculas aquirales pueden cristalizar dando lugar a cristales quirales (ver discusión de más abajo) y su observación no está fuera de lo común. Lo **inesperado** en el estudio de este compuesto ha sido el hecho de que, como se acaba de decir un poco más arriba, con independencia del camino seguido para la obtención de sus cristales (desde muestras comerciales en estado sólido de este compuesto) y de los diferentes equipos utilizados para su registro, el espectro VCD de las suspensiones de dichos cristales en nujol y fluorolube ha sido siempre el mismo a temperatura ambiente. Esto conduce de manera lógica a pensar en la existencia siempre en los catémeros formados en los mismos de un **exceso enantiomérico** (cuando no de una **pureza enantiomérica**) debido a preponderancia (o existencia) en ellos de uno (solo) de los dos enantiómeros para **todas las muestras** de 2-PrBzIm estudiadas.

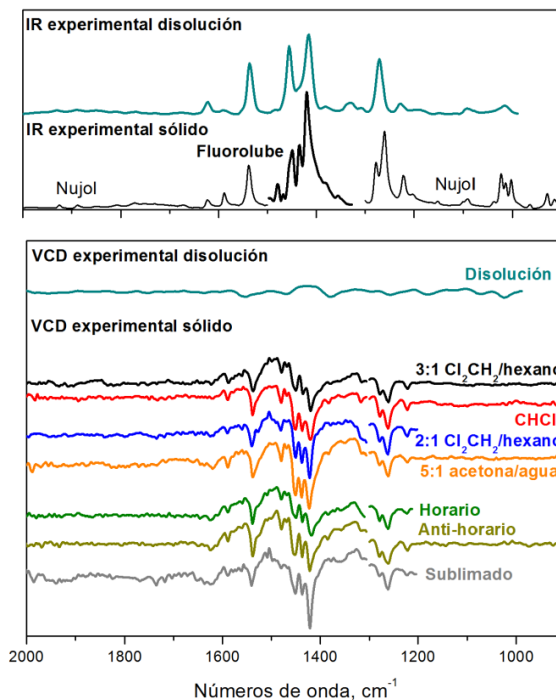


**Figura 6.8:** a) Estructura molecular y numeración de los átomos de 2-PrBzIm. b) Cadena formada mediante el establecimiento de enlaces de hidrógeno de moléculas de 2-PrBzIm tal y como se encuentran en el cristal con flechas indicando la dirección de propagación de los enlaces de hidrógeno. c) Representaciones de la celdilla unidad atomística y esquemática de la estructura cristalina del 2-PrBzIm. Los círculos naranjas en (c) representan las flechas perpendiculares al plano apuntando hacia dentro o hacia fuera.

Al igual que con los demás estudios presentados a lo largo de esta tesis doctoral, se empleó la técnica **VCD** para estudiar la **quiralidad del 2-PrBzIm** en fase sólida (**suspensiones** de nujol y fluorolube) y en **disolución de  $\text{CDCl}_3$** , realizando asimismo los correspondientes registros IR. En la *Fig. 6.9* se muestra una selección de los espectros IR y VCD registrados de las muestras de distintos orígenes de cristalización. El hecho de que el 2-PrBzIm no presente respuesta quiro-óptica en disolución (espectro VCD, color azul claro en la *Fig. 6.9*) confirma la previsible teórica **aquiralidad** de las **especies monoméricas** de partida para la formación de los cristales de esta especie química, las cuales no presentan ningún centro estereogénico o cualquier otra fuente de quiralidad cuando se encuentran en disolución o fase gas.

Como puede apreciarse en la *Fig. 6.9*, **todos los espectros VCD** registrados de las muestras sólidas (**suspensiones** de cristales) del 2PrBzIm mostraron un **perfil concreto y consistente**, distinto al registrado para la disolución. El primer espectro VCD registrado en suspensiones de nujol y fluorolube fue el de la muestra de 2-PrBzIm cristalizado en una mezcla **3:1  $\text{Cl}_2\text{CH}_2/\text{hexano}$** . Para poder comprobar si la preparación de la muestra había podido influir en el exceso (o pureza) enantiomérico de los polvos cristalinos utilizados, se repitió el primer experimento cuatro veces a través de cristalizaciones independientes dando lugar siempre al mismo espectro VCD.

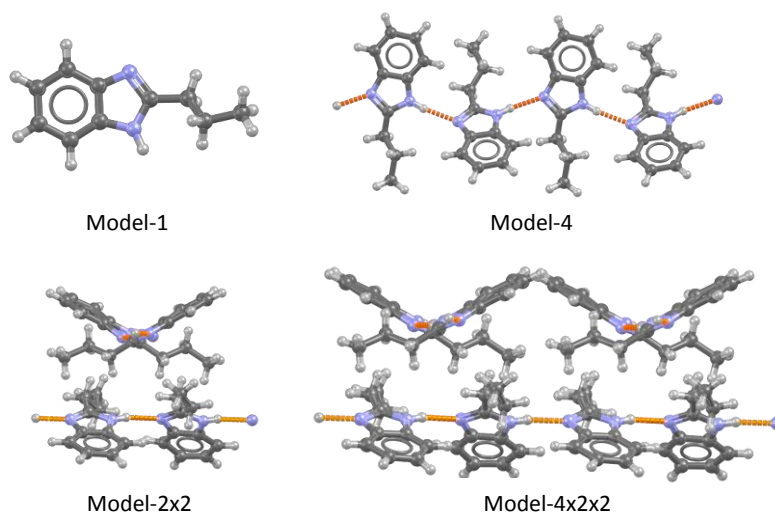
Adicionalmente, recristalizamos las muestras de los mismos en diversos disolventes ( $\text{CHCl}_3$ , 2:1  $\text{Cl}_2\text{CH}_2$ /hexano y 5:1 acetona/agua) e incluso usando **agitación horaria y anti-horaria** (Fig. 6.9). Finalmente, también se obtuvieron muestras llevando a cabo un proceso de sublimación, haciendo uso de un “dedo frío”. Como ya se ha dicho, todas las muestras estudiadas dieron **espectros VCD idénticos**, confirmando que las mismas presentaban **idénticos excesos (o purezas) enantioméricos, independientemente del método de preparación.**



**Figura 6.9:** Espectros IR (panel superior) y VCD (panel inferior) registrados para las muestras líquidas y sólidas de 2-PrBzIm.

Para tratar de entender el **origen de la quiralidad** de estos cristales de 2-PrBzIm, intentamos reproducir los **espectros IR y VCD** usando **cálculos teóricos** con la ayuda colaborativa de la Dra. Cruz-Cabeza, de la Universidad de Manchester, que es una reconocida especialista en la Química e Ingeniería de Cristales y, particularmente, en la simulación de sistemas químicos en estado sólido. Para ello se construyeron cuatro modelos moleculares diferentes (ver Fig. 6.10). El llamado **Model-1** es simplemente un monómero del 2PrBzIm, **Model-4** es una unidad tetramérica modelo formada por cuatro monómeros unidos mediante enlaces de hidrógeno, **Model-2x2** es una unidad modelo constituida por dos unidades diméricas de dos cadenas cateméricas perpendiculares y el **Model-4x2x2** es un modelo estructural que contiene una unidad tetramérica, por un lado, y por otro, dos cadenas de unidades diméricas de dos catémeros orientados en direcciones perpendiculares a la tetramérica (Fig. 6.10). Las optimizaciones geométricas y los cálculos de los espectros IR y VCD de los modelos de la Fig. 6.10 se realizaron al nivel de teoría **M06-2X/6-31G(d,p)**, empleando el paquete de programas Gaussian09. El Model-1 fue simplemente

optimizado en fase gas, mientras que el Model-4 se optimizó empleando las denominadas **condiciones de enlace periódicas (PBC**, del inglés *periodic boundary conditions*) en una dirección y, finalmente, los modelos Model-2x2 y Model-4x2x2 se optimizaron usando la aproximación PBC en dos direcciones. Debido a la posibilidad de tautomerización, todos los modelos se reoptimizaron y los espectros se recalcularon después de migrar el protón de N1 a N3 (ver *panel a* de la *Fig. 6.8*). Como los resultados obtenidos para los modelos con el átomo de hidrógeno en N1 fueron mejores y la estructura *single crystal* mediante rayos X también confirmó la posición del protón sobre el nitrógeno N1, solamente se comentan los resultados del tautómero principal (Syn) en el texto.

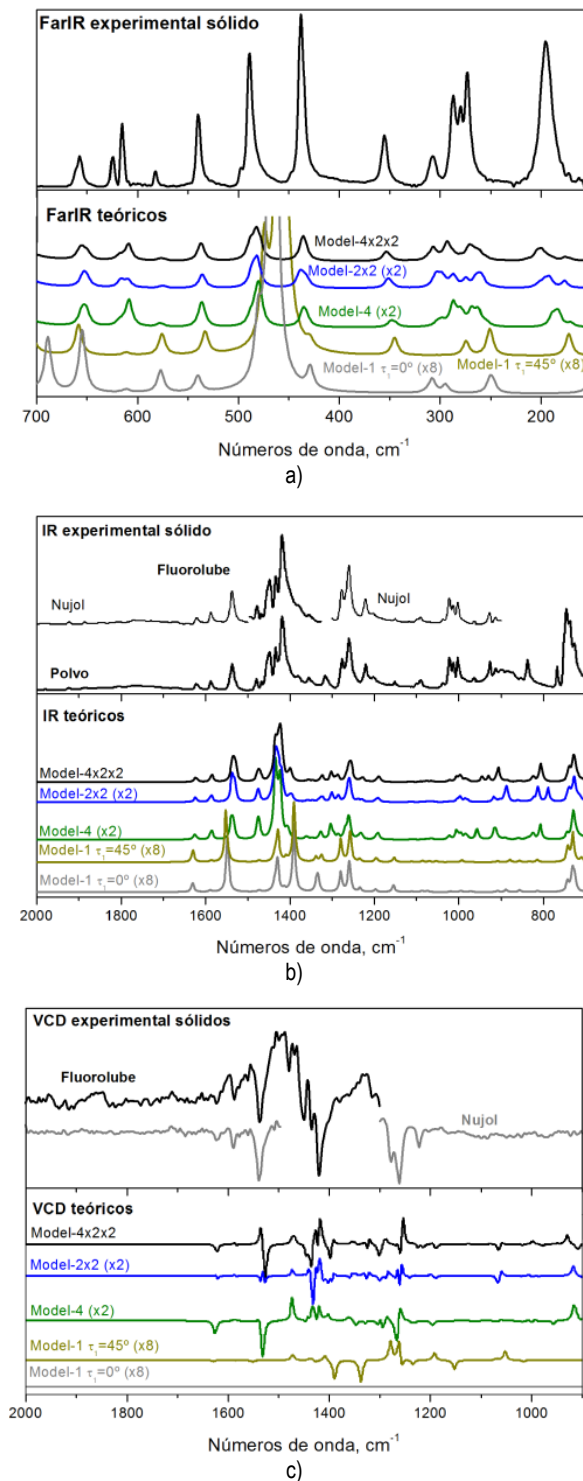


**Figura 6.10:** Modelos moleculares estructurales de las unidades cateméricas de los cristales de 2PrBzIm usados para los cálculos de sus espectros IR y VCD.

En la *Fig. 6.11* se muestra una **comparación teórico-experimental** de los espectros IR y VCD para los cristales de 2PrBzIm. Los espectros IR teóricos reproducen razonablemente bien los experimentales, a excepción del espectro IR del modelo monómero (Model-1). En la **región de bajas frecuencias**, donde las interacciones intermoleculares pueden influir parcialmente en los modos normales de algunas de las vibraciones que allí aparecen, se observa que el **mejor acuerdo espectral teórico-experimental** se da para el **Model-4x2x2**, que es el más complejo de los propuestos (ver *panel a* de la *Fig. 6.11*). Los espectros VCD calculados fueron los más sensibles al modelo teórico usado. Así, Model-1 y Model-4, de una única cadena, no reproducen de forma adecuada el espectro VCD experimental. De hecho, solamente comienza a producirse una **buena correspondencia teórico-experimental** en los espectros VCD cuando se tiene en cuenta el **apilamiento de dos cadenas** en el modelo (ver *panel c* de la *Fig. 6.11*).

**Figura 6.11:** a) Espectros FarIR, b) IR medio y c) VCD experimentales (panel superior) y teóricos (panel inferior) de los cristales del 2-PrBzIm. Paneles superiores: Espectro IR experimental de la muestra en polvo y espectros IR y VCD en suspensiones de nujol y fluorolube. Parte inferior: Espectros IR y VCD teóricos de Model-4x2x2 (negro), Model-2x2 (azul), Model-4 (verde) y Model-1 (amarillo oscuro con  $\tau_1 = 45^\circ$  y gris con  $\tau_1 = 0^\circ$ ) calculados al nivel M06-2X/6-31G(d,p).

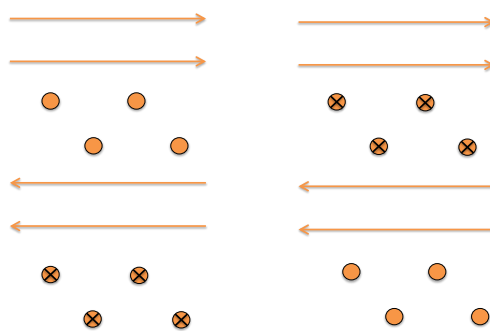
La cristalización de moléculas aquirales en cristales quirales no es tan infrecuente como se podría pensar. Así, *Dryzun* y *Avmir* [27] reportaron que el 32% de los cristales de la CSD [28] son cristales quirales. De estos, un 57% está formado por moléculas que son aquirales, pero que adoptan conformaciones homoquirales “congeladas” cuando cristalizan [27]. Los casos más comunes de moléculas aquirales que cristalizan en cristales quirales involucran conforma-



ciones quirales. De hecho, el 2-PrBzIm podría adoptar conformaciones quirales mediante rotación de  $\tau_1$  o  $\tau_2$  (*panel a* de la *Fig. 6.8*), siendo  $\tau_1$  el ángulo de torsión definido por N1-C2-C10-C11 y  $\tau_2$  el definido por C2-C10-C11-C12). A menos que  $\tau_1$  y  $\tau_2$  sean igual a 0 o a  $180^\circ$  (conformaciones planas), las conformaciones de 2-PrBzIm son quirales. Mientras que  $\tau_2$  tenga un valor cercano a  $180^\circ$  en las conformaciones de 2-PrBzIm encontradas en la estructura cristalina,  $\tau_1$  adopta valores de  $\approx 45^\circ$ . La estructura tiene cuatro moléculas independientes en la unidad asimétrica, dos de las cuales adoptan valores  $\tau_1$  de  $\approx +45^\circ$  y las otras dos de  $\approx -45^\circ$ , debido a pseudo-simetrías locales de segundo orden, relacionando pares de moléculas consecutivas a lo largo de las cadenas formadas mediante el establecimiento de enlaces de hidrógeno. Así, los dos conformeros quirales están presentes en el cristal en cantidades iguales, por lo cual no debería darse lugar a respuesta quiral debido a la conformación. Por tanto, podría afirmarse que **el origen de la quiralidad en los cristales de 2PrBzIm no estaría en la conformación que en ellos adoptarían las moléculas de esta especie química**, como tampoco podría asociarse **a la cadena formada por monómeros unidos mediante enlaces de hidrógeno**, la cual se dispone paralelamente a un eje quiral  $2_1$ .

El **origen estructural de la quiralidad** en los cristales de 2PrBzIm está así más bien relacionado con el **empaquetamiento de las cadenas formadas mediante enlaces de hidrógeno** en la forma en la que trata de representarse esquemáticamente en la *Fig. 6.12*. Así, una cadena que apunta hacia la derecha puede empaquetarse sobre las cadenas perpendiculares próximas a ellas que apuntan hacia el plano o bien fuera de él.

Esta sutil diferencia en el empaquetamiento es la que diferencia entre sí a los dos enantiómeros en los cristales del 2-PrBzIm. Por ello, no es sorprendente que los espectros VCD teóricos comiencen a parecerse al experimental solamente cuando se incluye el empaquetamiento de las cadenas en los modelos, como antes se ha dicho al comentar los distintos modelos teóricos propuestos para las unidades estructurales que conforman los cristales de este compuesto.

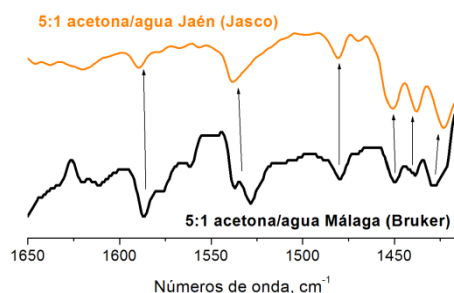


**Figura 6.12:** Representación esquemática del empaquetamiento adoptado por los dos cristales enantioméricos esperados en la estructura cristalina del 2-PrBzIm.

Mientras que pensamos que ha sido posible entender y racionalizar la naturaleza de la quiralidad en este sistema químico, aparentemente común pero de una alta complejidad estructural, aún **no sabemos por qué siempre se observa la misma respuesta quiral antes descrita en nuestros experimentos VCD**. Hasta donde ahora mismo conocemos, el hecho es que, a pesar de que ambos cristales enantioméricos son energéticamente idénticos y a pesar de la naturaleza sutil del origen de la quiralidad en ellos, la misma forma enantiomérica (o el mismo exceso de ella) se obtiene de forma consistente e independientemente del camino seguido para la obtención de los mismos a temperatura ambiente por recristalización de las muestras comerciales existentes en el mercado para el 2PrBzIm. Recientemente, otros autores parecen haber observado situaciones similares para otros compuestos químicos [29-31], sin que en ningún caso, que conozcamos, haya podido darse tampoco una explicación del porqué de los hechos observados. Pensamos que, al menos, algunas de las respuestas a estas observaciones podrían quizás llegar a alcanzarse a partir de un mejor conocimiento de los procesos de **nucleación** y **mecanismos de crecimiento** de estos cristales [32]. Mientras tanto, pensamos que durante algún tiempo, seguirá siendo un misterio el llegar a entender cómo se favorece la formación de un cristal enantiomérico sobre el otro en este sistema y en qué etapa se produce.

Finalmente, comentar que también se realizó el registro de algunas muestras de 2-PrBzIm en otros equipos VCD disponibles en otras universidades de nuestro entorno, esto es, un espectrómetro IR Bruker Vertex 70 equipado con el módulo PMA 50, disponible en la Universidad de Málaga, y un equipo ChiralIR-2X, de la casa comercial Biotools, disponible en la Universidad de Córdoba. Las bandas de los espectros VCD

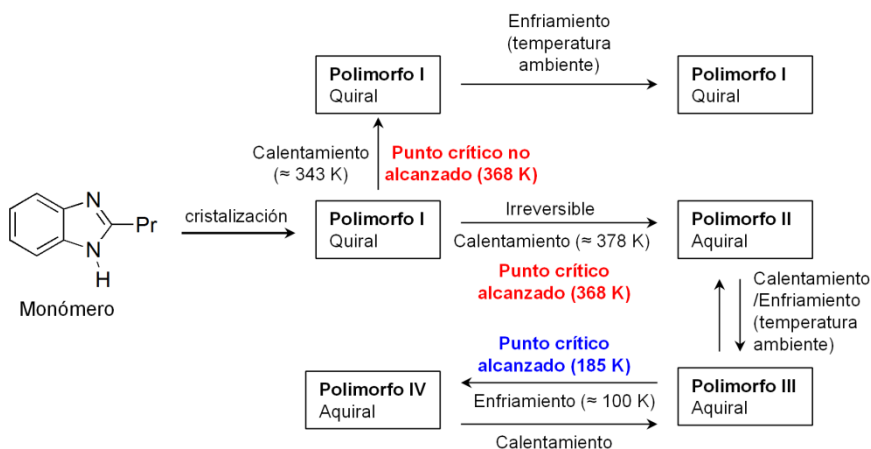
obtenidos con estos dos equipos mostraron la misma posición y signo que las obtenidas mediante el uso del espectropolarímetro FVS-4000 de la casa comercial Jasco que se encuentra en la Universidad de Jaén. A modo de ejemplo, en la *Fig. 6.13* se muestra una comparación de los espectros VCD de una de las muestras de 2-PrBzIm, en concreto la que fue recristalizada en una mezcla 5:1 acetona/agua, registrados con los equipos disponibles en las Universidades de Málaga y Jaén.



**Figura 6.13:** Espectros VCD de la muestra 2-PrBzIm recristalizada en una mezcla 5:1 acetona/agua en suspensiones de fluorolube, registrados en un equipo VCD Bruker (Málaga) y en un equipo VCD Jasco (Jaén).

6.1.6. Variaciones estructurales del 2-propil-1*H*-benzimidazol con la temperatura

Una última serie de experimentos se realizaron para este compuesto, que comenzaron con el registro de sus espectros VCD a varias temperaturas por encima de la del laboratorio (298 K) y que condujeron a la observación de que hasta llegar a, aproximadamente, 373 K, el espectro VCD iba perdiendo intensidad, pero sus patrones espectrales quiro-ópticos eran los mismos que a temperatura ambiente. Sin embargo, al llegar a 373 K las señales espectrales VCD desaparecían por completo. A raíz de este experimento, se registraron sus curvas **DSC** (del inglés *Differential Scanning Calorimetry*) para comprobar si el mismo sufría cambios estructurales al variar la temperatura. A partir de él, pudimos deducir que el compuesto presentaba un **punto crítico a 368 K** y otro a **185 K**.



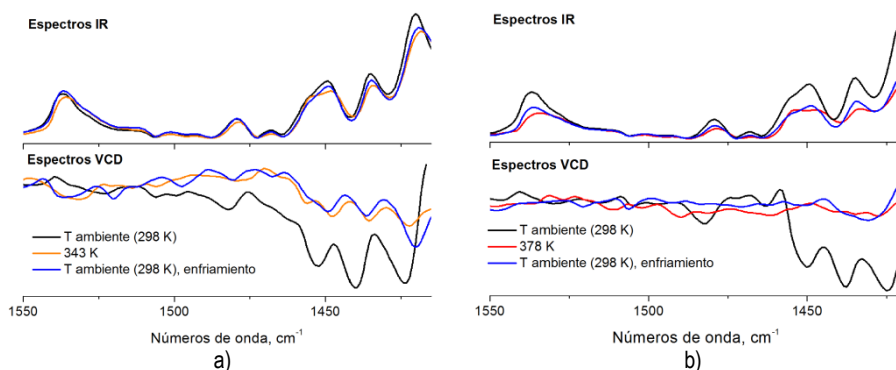
**Figura 6.14:** Esquema explicativo de las variaciones estructurales del 2-PrBzIm según la temperatura.

De forma complementaria a los resultados DSC, abordamos el estudio estructural de este compuesto a **diferentes temperaturas** con rayos X, concluyendo la existencia de cuatro polimorfos del mismo según la temperatura (ver *Fig. 6.14*): a temperatura ambiente existe un polimorfo I (quiral), si sometemos al mismo a una temperatura superior a la del punto crítico (368 K), esto es, por ejemplo  $\approx 378$  K, obtenemos un polimorfo II, que es aquiral. Este paso es irreversible, y una vez que obtenemos el polimorfo II, ya no volvemos a obtener el I. El polimorfo II (aquiral), estable a temperaturas superiores a 368 K, se transforma en el polimorfo III (también aquiral) si enfriamos hasta cualquier temperatura inferior a 368 K (excepto  $T < 185$  K, como veremos a continuación), siendo este paso reversible y pudiendo obtenerse así de nuevo el polimorfo II si volvemos a calentar a  $T > 368$  K. El polimorfo III es estable a

una temperatura comprendida entre 368 K y 185 K. Si enfriamos por debajo de 185 K obtenemos un polimorfo que hemos denominado IV, el cual es también aquiral y es estable a  $T < 185$  K. Este último paso de transformación entre los polimorfos III y IV también es reversible.

Por otro lado, si no alcanzamos el punto crítico de 368 K al calentar el polimorfo I, no se produce cambio estructural alguno.

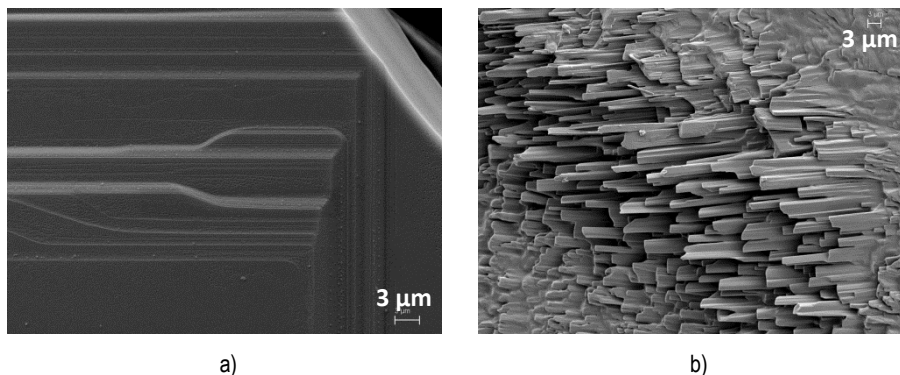
La estructura de estos cuatro polimorfos ha sido determinada mediante difracción de rayos X. En el *panel a* de la *Fig. 6.15* se muestran los espectros VCD registrados a temperatura ambiente (298 K), a 343 K y de nuevo a temperatura ambiente después de haber dejado enfriar el sistema, pudiéndose observar que los signos de las bandas VCD no sufren variación alguna al variar la temperatura y que simplemente se produce un ligero desplazamiento en la posición de las bandas, indicativo de la presencia del mismo polimorfo a estas temperaturas, esto es, el polimorfo I. Sin embargo, si calentamos hasta 378 K (*panel b* de la *Fig. 6.15*), sobrepasamos el punto crítico de 368 K y se obtiene entonces un espectro VCD plano, indicativo de la ausencia de quiralidad en el nuevo polimorfo formado, esto es, el polimorfo II. Al enfriar hasta temperatura ambiente (298 K), volvemos a obtener un espectro VCD plano, en este caso correspondiente al polimorfo III, que también es aquiral.



**Figura 6.15:** Espectros VCD del compuesto 2-PrBzIm a distintas temperaturas: a) Temperatura ambiente (298 K, negro), 343 K (naranja) y de nuevo a temperatura ambiente después de haber dejado enfriar (azul) y b) Temperatura ambiente (298 K, negro), 378 K (rojo) y temperatura ambiente después de haber dejado enfriar (298 K, azul).

Finalmente, realizamos el registro de imágenes de algunos cristales de los polimorfos I y III mediante el uso de la técnica SEM (del inglés *Scanning Electron Microscope*), las cuales se pueden observar en la *Fig. 6.16*. En el *panel a* se muestra una imagen correspondiente al polimorfo I, donde se puede apreciar que su estructura cristalina está compuesta por capas “cuadradas o rectangulares”

apiladas unas sobre otras. En el *panel b* se muestra una imagen correspondiente al polimorfo III, cuya estructura está formada por capas compuestas por filamentos.



**Figura 6.16:** Imágenes SEM de cristales de los polimorfos I (panel a) y III (panel b) de 2-PrBzIm.

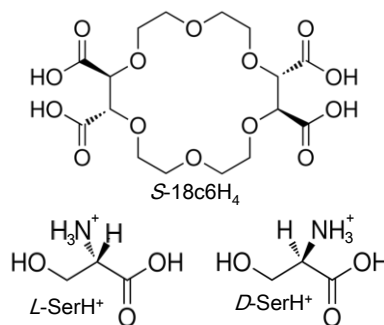
## 6.2. Reconocimiento molecular y preferencia enantiomérica

En este apartado voy a presentar uno de los resultados más relevantes obtenidos durante mi tesis, la demostración teórico-experimental del reconocimiento quiral del enantiómero *L* del aminoácido serina por el éter corona ácido (*all-S*)-(18-corona-6)-2,3,11,12-tetracarboxílico, (**S-18c6H<sub>4</sub>**). Para ello se emplearon las espectroscopías IR y VCD combinadas con cálculos químico cuánticos. Terminaré este apartado con los resultados preliminares obtenidos sobre el reconocimiento quiral de los enantiómeros del aminoácido *L/D*-CysH<sup>+</sup> por el éter corona **S-18c6H<sub>4</sub>**.

### 6.2.1. Motivaciones

Los **éteres corona** han jugado un papel clave en el desarrollo de la **química supramolecular** durante las pasadas décadas [33]. La importancia de los mismos se puede atribuir en gran medida a su habilidad para formar **complejos de inclusión** con **especies catiónicas**, concretamente aminas primarias y secundarias protonadas [34]. Esta propiedad ha motivado el diseño de éteres corona quirales y sustituidos, principalmente para **aplicaciones** en separación asimétrica con electroforesis [34] y cromatografía de líquidos de alta resolución [35].

La mayoría de éteres corona que se han investigado hasta la fecha se basan en el ácido **(18-corona-6)-2,3,11,12-tetracarboxílico**. La estructura del enantiómero (*all S*-), estudiado en el trabajo que se presenta (**S-18c6H<sub>4</sub>**), se muestra en la *Fig. 6.17*. Existen estudios previos sobre la estructura del mismo y de sus complejos no covalentes con varios huéspedes catiónicos (quirales o no) mediante el uso de espectrometría de masas, espectroscopía infrarroja, difracción de rayos X [36], resonancia magnética nuclear [37] y **dicroísmo circular electrónico** [38,39].



**Figura 6.17:** Estructuras de las moléculas receptor y huésped estudiadas.

Recientemente, el grupo en el que se encuentra la doctoranda ha llevado a cabo el estudio del paisaje conformacional del hospedador cíclico mediante espectroscopías **IR** y **VCD** complementadas con el uso de **cálculos químico cuánticos** [40]. En ese trabajo se analizan de forma detallada los enlaces de hidrógeno intramoleculares que aparecen en los conformeros más estables del éter corona en un disolvente que interacciona muy poco, como es el CDCl<sub>3</sub>. Los enlaces de hidrógeno en esta molécula se pueden dar entre los **dos grupos COOH** o entre **un grupo COOH** y un átomo de **oxígeno** del anillo del **éter**. Estas interacciones dan lugar a dos tipos de estructuras generales, i) las llamadas **bowl-like** y **funnel-like** son cóncavas y en ellas una de las caras del macrociclo está abierta de forma más amplia y expuesta al entorno, ii) y las llamadas **barrel-like** que muestran características más simétricas en los dos lados del anillo del corona. Más adelante se verá la alteración de estas conformaciones en los procesos de complejación estudiados en este trabajo.

En este trabajo, hemos aplicado las espectroscopías **IR** y **VCD** a la investigación de los **complejos** formados entre **S-18c6H<sub>4</sub>** y los **dos enantiómeros** (por separado y en presencia equimolar) de una amina primaria (el aminoácido **serina protonado**). Los puntos principales que se van a tratar son: i) Las interacciones predominantes y las conformaciones de los complejos corona-serina, ii) La habilidad de la técnica VCD para diferenciar los complejos formados por los dos enantiómeros y iii) La habilidad conjunta de la técnica VCD y los cálculos químico cuánticos para diferenciar el **enlazamiento selectivo** del éter corona a uno de los dos enantiómeros de la serina (en presencia de los dos enantiómeros en condiciones equimolares), dando lugar a **reconocimiento quiral**.

Se eligió el aminoácido serina protonado (*L/D-SerH*<sup>+</sup>, ver *Fig. 6.17*) como molécula huésped referencia por diferentes razones: i) La serina constituye un ladrillo modelo clave para los materiales usados en catálisis asimétrica y separación enantiomérica; ii) En la estructura de esta molécula nos encontramos con tres grupos polares (COH, COOH y NH<sub>3</sub><sup>+</sup>), los cuales hacen que sea un buen modelo para estudiar los **enlaces de hidrógeno intermoleculares** con el receptor corona; iii) Existen distintos trabajos experimentales que han estudiado el reconocimiento quiral de los enantiómeros de la serina por el éter corona 18c6H<sub>4</sub> [36-39]. El trabajo que aquí se presenta tiene como objetivo profundizar en el entendimiento del **contexto conformacional** y microscópico que asiste el proceso de enlazamiento selectivo. La serina se ha estudiado en disolución acuosa a diferentes pH y en fase sólida mediante las técnicas IR y VCD combinadas con cálculos químico cuánticos (ver punto 5.1 del capítulo 5) [41]. Por tanto, el sistema **(S-18c6H<sub>4</sub>)-(L/D-SerH<sup>+</sup>)** constituye una **referencia valiosa** para futuras investigaciones en el campo del reconocimiento quiral.

## 6.2.2. Metodologías

### *i. Experimental*

Se prepararon **disoluciones equimolares** de éter corona *S*-18c6H<sub>4</sub> (0.057 M) y uno o ambos enantiómeros de serina usando agua bidestilada. Se añadió **HCl** suficiente para asegurar la forma neutra de los grupos **COOH** del éter corona y la **protonación** del grupo amino de la serina. Finalmente, se registraron los espectros **IR** y **VCD** de **películas delgadas** preparadas a partir de estas disoluciones. Los detalles experimentales se detallan en el punto 4.2.3. del capítulo 4. Concretamente, la preparación de películas delgadas se especifica en el subapartado *ii.a.2*). Por otro lado, la resolución y las acumulaciones de los espectros IR y VCD registrados se recogen en el subapartado *iii.* de este punto 4.2.3. Para la corrección de la línea de base de los espectros VCD se llevó a cabo la “corrección sólo con el *background*” explicada en el subapartado *iv.* del mencionado punto. Así, se sustrajeron las señales VCD del soporte de KCl a los correspondientes espectros VCD registrados para las distintas películas.

### *ii. Teórica*

Los pasos que se llevaron a cabo para caracterizar teóricamente estos sistemas fueron los siguientes:

- a) Se llevó a cabo una **búsqueda conformacional** de los complejos formados entre el éter corona (*all-S*)-18c6H<sub>4</sub> y los dos enantiómeros del aminoácido Ser (*L*-Ser y *D*-Ser) mediante **Simulated Annealing** usando

el campo de fuerzas PCFF implementado en el programa “Materials Studio” [42].

- b) Los 20 **conformeros más estables** de la búsqueda conformacional se optimizaron al nivel **B3LYP/6-31+G(d)**. Para confirmar la **influencia** de la **quiralidad** de la **serina** sobre las conformaciones más estables se consideraron conformaciones iniciales diferentes (partiendo de las estructuras de equilibrio) cambiando la quiralidad de la serina y manteniendo la conformación del éter corona invariable. Al optimizar estas estructuras, se obtuvieron complejos con distintas estructuras y energías a los ya optimizados, lo cual nos indicó que la quiralidad del huésped desempeña un papel clave. Además, se optimizaron conformeros adicionales siguiendo la intuición química y estructuras encontradas en la bibliografía.
- c) Posteriormente, los 10 más estables de estos 20 (energías relativas menores a 50 kJ/mol), se optimizaron al nivel **M06-2X/6-311++G(d,p)**. En este punto c) y en el anterior punto b) se calcularon las energías relativas, estructuras y los espectros IR-VCD armónicos con el programa Gaussian09.

La mayoría de los cálculos se realizaron en la aproximación de la **molécula aislada**. Para los conformeros **más estables** de cada complejo también se modelizó la influencia del disolvente (agua) mediante el formalismo **IEF-PCM** implementado en Gaussian09.

Para el análisis vibracional se han empleado los factores únicos de escala en frecuencias tomados de la base de datos del NIST para los niveles B3LYP/6-31+G(d) (0.964) y M06-2X/6-311++G(d,p) (0.94). Las energías relativas se presentan como **energías libres de Gibbs**, calculadas como la suma de las energías electrónicas y las contribuciones de entropía térmicas. En cualquier caso, el orden de estabilidad de los distintos conformeros no se ve alterado si se consideran energías electrónicas o entalpías en lugar de energías libres de Gibbs.

En el estudio de los complejos formados entre el éter corona (*all-S*)-18c6H<sub>4</sub> y los dos enantiómeros de la Ser, se llevó a cabo también un **análisis NBO** (*Natural Bond Orbitals* en inglés) [43] al nivel **B3LYP/6-31+G(d)** para estudiar la **transferencia de carga** en los **enlaces de hidrógeno intermoleculares** formados entre el éter corona y los enantiómeros del aminoácido. Básicamente, el análisis NBO nos proporciona un cuadro de orbitales lo más cercano posible a una estructura de Lewis clásica para una molécula [44]. Da una descripción tipo enlace de valencia de la función de ondas. Hay que tener en cuenta que es un

modelo conceptual porque se basa en orbitales, y cuando la molécula no puede ser bien representada mediante estructuras de Lewis surgen limitaciones a la hora de usarlo [44].

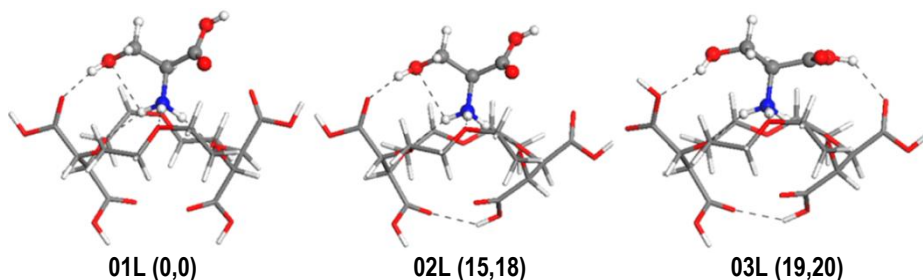
### 6.2.3. Resultados y Discusión

#### *i. Conforméromos más estables de los complejos (all-S)-18c6H<sub>4</sub> y L-/D-SerH<sup>+</sup>*

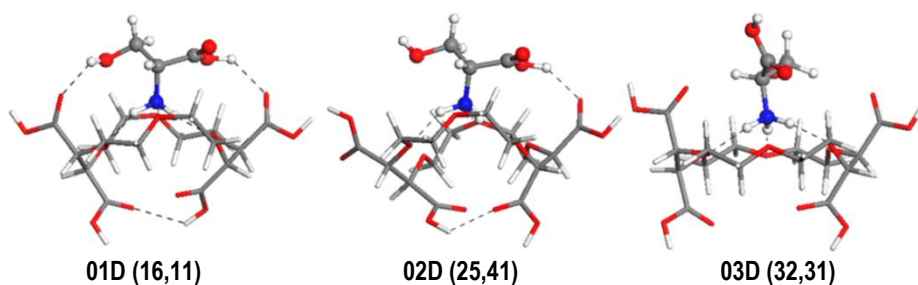
Como se ha comentado en el subapartado *ii.* del anterior punto 6.2.2., el primer paso en la modelización teórica fue la realización de una búsqueda conformacional mediante **Simulated Annealing**. Posteriormente, se evaluó la actuación de dos funcionales DFT diferentes, **B3LYP** y **M06-2X**, en la predicción de los conforméromos más estables. Como se vio en el punto 3.3.3. del capítulo 3, el funcional M06-2X se recomienda (entre otros) en lugar del B3LYP a la hora de tratar interacciones no covalentes. Además, es una buena elección en términos de precisión y coste (ver punto 3.3.5. del capítulo 3).

Los cuatro brazos carboxílicos del 18c6H<sub>4</sub> son los responsables de su carácter **quiral** y su libertad de orientación produce el **paisaje conformacional** tan **rico** que conduce a su comportamiento de **complejación**. Estos grupos carboxílicos son responsables de la aparición de **enlaces de hidrógeno intramoleculares**, los cuales logran estabilizar conformaciones muy interesantes como las llamadas *bowl-like* o *barrel-like*. La importancia de estos enlaces de hidrógeno se ha detallado en la introducción [40]. Cuando el éter corona se compleja con algún huésped, es inevitable que estos enlaces de hidrógeno intramoleculares se vean afectados. Sin embargo, existen estudios previos basados en espectroscopías IR y VCD [40], difracción de rayos X y RMN [36] que muestran que las estructuras ***bowl-like* y *barrel-like* conservan su importancia** en complejos formados entre el éter corona y aminas primarias, o con cationes como H<sub>3</sub>O<sup>+</sup> o NH<sub>4</sub><sup>+</sup>.

Las *Figs. 6.18 y 6.19* recogen las **tres conformaciones más estables** de los complejos formados entre *S*-18c6H<sub>4</sub> y *L*-SerH<sup>+</sup> o entre el éter corona y *D*-SerH<sup>+</sup>, respectivamente. Las energías libres de los conforméromos se han calculado respecto al mínimo absoluto, el **01L**, correspondiente al complejo (*S*-18c6H<sub>4</sub>)-(*L*-SerH<sup>+</sup>). Los cálculos teóricos predicen para el conforméromo más estable del complejo (*S*-18c6H<sub>4</sub>)-(*D*-SerH<sup>+</sup>), **01D**, una energía libre con 16 (B3LYP) o 11 kJ/mol (M06-2X) por encima del 01L, lo cual indica una **preferencia del receptor corona por el enantiómero *L*** de la serina protonada.



**Figura 6.18:** Estructuras moleculares de los 3 conforméros más estables del complejo  $(S\text{-}18c6H_4)\text{-}(L\text{-}SerH^+)$  representados como 01L, 02L y 03L, respectivamente. Entre paréntesis se indican las energías libres relativas calculadas con B3LYP/6-31+G(d) y M06-2X/6-311++G(d,p) en kJ/mol.



**Figura 6.19:** Estructuras moleculares de los 3 conforméros más estables del complejo  $(S\text{-}18c6H_4)\text{-}(D\text{-}SerH^+)$  representados como 01D, 02D y 03D, respectivamente. Entre paréntesis se indican las energías libres relativas calculadas con B3LYP/6-31+G(d) y M06-2X/6-311++G(d,p) en kJ/mol.

Estas estructuras abarcan unas energías libres relativas de hasta 20-30 kJ/mol tanto para el complejo *L* como para el *D*. Los conforméros **01L** y **01D** se sitúan considerablemente **más bajos en energía** que cualquier otro conforméromo de su tipo. Se encontró un conjunto de conformaciones 01L o 01D cercanas en energía dentro de un rango inferior a 2 kJ/mol, que diferían por distorsiones pequeñas del esqueleto o por rotaciones de grupos laterales que interactuaban de forma débil. Sin embargo, dichos conforméromos no se van a tener en cuenta en la discusión porque no aportan nuevas características estructurales ni provocan cambios espectrales significativos al considerar su contribución en el espectro teórico. Más adelante se podrá comprobar que teniendo en cuenta los espectros teóricos de los conforméromos 01L y 01D se pueden interpretar de forma adecuada los espectros IR y VCD experimentales de cada complejo.

En todos los conforméromos que se han mostrado en las *Figs. 6.18* y *6.19* el éter corona mantiene una forma *bowl-like* y la **serina protonada se une al éter corona** mediante **coordinación tripodal** del grupo amino protonado  $R\text{-NH}_3^+$  a los átomos de **oxígeno del anillo central del éter**. Es llamativo que, en lugar de ello, en algunos conforméromos de energía más elevada (>30 kJ/mol sobre 01L o

01D) uno de los enlaces N-H del grupo amino interactúa con los oxígenos de un grupo COOH lateral del corona. Además, se modelizó de forma **implícita** el **disolvente** (agua) usando el formalismo **IEF-PCM** para los confórmeros 01L y 01D al nivel B3LYP/6-31+G(d). Los **resultados** en términos de estructura y de energía relativa fueron **similares** a los obtenidos con la aproximación de la molécula **aislada** que se ha descrito anteriormente.

Si **comparamos** las estructuras de los confórmeros **02L** y **03L** con la de **01L**, podemos ver que 02L y 03L presentan **enlaces de hidrógeno adicionales**. En estas dos últimas estructuras, los grupos COOH más bajos del corona se unen entre sí mediante enlaces de hidrógeno, reforzando así la **forma bowl-like** del corona. En el confórmero 03L, el grupo carboxílico de la *L*-SerH<sup>+</sup> se une mediante un enlace de hidrógeno al grupo COOH del corona. La incorporación de estos enlaces de hidrógeno provoca un incremento en energía libre de aprox. 15 kJ/mol. Este hallazgo era algo inesperado, pero está en consonancia con resultados previos de los complejos 18c6H<sub>4</sub> - NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, donde se mostró que las configuraciones moleculares más estables no tienen por qué ser necesariamente las que presenten mayor número de enlaces de hidrógeno intra o intermoleculares [36]. Esta tendencia está relacionada con dos hechos que serán discutidos a continuación: i) La formación de **enlaces de hidrógeno** implica algún grado de **distorsión** en la **serina** y en el anillo y brazos laterales del **éter corona** y ii) La formación de **múltiples enlaces de hidrógeno** provoca que haya **menos ángulos O-H...O** y **distancias de interacción favorables** en cada uno de los enlaces.

El confórmero 01D presenta el mayor número de enlaces de hidrógeno intra e intermoleculares que se pueden formar en el complejo, de una forma cualitativamente similar a la descrita para el confórmero 03L. Una vez más, comparando con el confórmero 01L, el hecho de que se formen más enlaces de hidrógeno no significa que la situación energética sea más favorable. Se llevó a cabo una **optimización reemplazando la *L*-SerH<sup>+</sup> por la *D*-SerH<sup>+</sup>** en el confórmero **01L** (reorientando los enlaces C-H y C-COOH del carbono  $\alpha$  y dejando el resto del complejo inalterado) y se obtuvo como estructura final el confórmero **01D**. Por tanto, parece que el confórmero 01D es particularmente estable en el complejo (*S*-18c6H<sub>4</sub>)-(*D*-SerH<sup>+</sup>). En este caso, la relajación de los enlaces de hidrógeno dando lugar a los complejos 02D y 03D es energéticamente desfavorable.

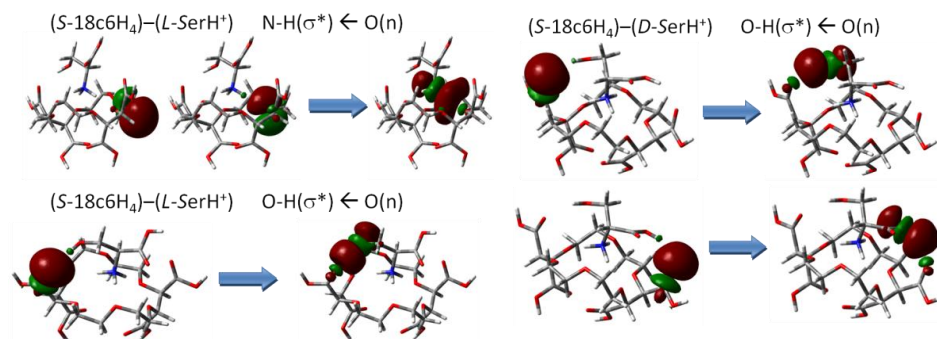
Las diferentes tendencias encontradas para los complejos *L* y *D* demuestran que el equilibrio entre enlaces de hidrógeno óptimos y distorsión de las estructuras del receptor corona y la serina es bastante sutil y relevante en términos energéticos. Por ello se llevó a cabo una **comparación cuidadosa** del

**paisaje conformacional** de los complejos estudiados con dos funcionales diferentes, B3LYP y M06-2X.

*ii. Estabilización de los complejos a través de la transferencia de carga en los enlaces de hidrógeno intermoleculares receptor-huésped*

Se llevó a cabo un **análisis NBO** para analizar de forma detallada la **transferencia de carga existente** entre los grupos **N-H** y **O-H** de la **serina** con los átomos de **oxígeno** del **anillo central** y de los **COOH** del **corona**, respectivamente. Se analizaron los 6 conformeros mostrados en las *Figs. 6.18 y 6.19*, pero solamente se van a describir los conformeros más estables de cada complejo, esto es, **01L** y **01D**, ya que son representativos del análisis. La primera conclusión general que se extrae del análisis NBO es que ambos complejos muestran interacciones receptor-huésped con un **98.5% de estructura Lewis** y un **1.5% no Lewis**. El significado de estos valores es que existe un grado apreciable de **deslocalización de carga** en los **enlaces de hidrógeno intermoleculares** que estabilizan los complejos.

Los análisis estructurales y de transferencia de carga (NBO) descritos debajo indican claramente que la estabilidad mayor del complejo (*S*-18c6H<sub>4</sub>)-(*L*-SerH<sup>+</sup>) respecto al (*S*-18c6H<sub>4</sub>)-(*D*-SerH<sup>+</sup>) es debida a formación de **enlaces de hidrógeno favorables** entre los grupos NH<sub>3</sub><sup>+</sup> y COH del enantiómero *L*-serina con el éter corona. En la *Fig. 6.20* se muestran algunas características específicas de la transferencia de carga que tiene lugar en los enlaces de hidrógeno NH $\cdots$ O y OH $\cdots$ O de cada uno de los complejos.



**Figura 6.20:** NBOs involucrados en la transferencia de carga de los enlaces de hidrógeno intramoleculares corona-serina formados en los conformeros 01L (izquierda) y 01D (derecha) al nivel B3LYP/6-31+G(d).

Tanto en el conformero 01L como en el 01D se produce una **transferencia de carga significativa** en los **tres enlaces de hidrógeno** formados entre el grupo NH<sub>3</sub><sup>+</sup> de la *L*-SerH<sup>+</sup> y los átomos de **oxígeno** del **anillo** del éter corona.

La transferencia de carga tiene lugar desde los pares solitarios del átomo de oxígeno al orbital antienlazante  $\sigma^*$  del enlace N-H, como se puede observar en la *Fig. 6.20*. En general la **coordinación NH $\cdots$ O** es **más favorable** en el conformero **01L** que en el **01D**. El conformero 01L muestra tres enlaces NH $\cdots$ O casi colineales (ángulo de enlace aprox. 170°) con distancias de 1.95, 1.95 y 2.21 Å y energías de interacción NBO de aprox. 40, 40 y 20 kJ/mol, respectivamente.

En el conformero 01D, nos encontramos con dos enlaces de hidrógeno próximos a la colinealidad (170°) pero con distancias H $\cdots$ O diferentes, esto es, 1.88 y 2.05 Å. El tercer enlace de hidrógeno se desvía de la linealidad (152°, 2.05 Å) y es compartido en parte por un segundo átomo de oxígeno (118°, 2.40 Å) en un enlace de hidrógeno bifurcado. Las energías de interacción para estos enlaces son 50, 25 y 20 kJ/mol, respectivamente.

La transferencia de carga asociada a los enlaces de hidrógeno entre los **OH** de la **serina** y los grupos **COOH** del **éter corona** también muestra diferencias apreciables entre los conformeros 01L y 01D. En ambos casos, la transferencia de carga tiene lugar entre el par solitario del oxígeno del éter corona y el orbital  $\sigma^*$  del enlace O-H de la serina. Sin embargo, la **energía de interacción** es considerablemente **más alta** en el único enlace de hidrógeno del conformero **01L** (35 kJ/mol) que en cada uno de los enlaces de hidrógeno del conformero **01D** (15 kJ/mol). De hecho, la *Fig. 6.20* muestra que la transferencia de carga es más eficiente en el enlace de hidrógeno del conformero **01L** porque la **coordinación O-H $\cdots$ O** es **más colineal y fuerte** (170°, 1.88 Å) que cualquiera de los dos enlaces de hidrógeno del conformero 01D (136°, 2.00 Å y 140°, 2.05 Å para los enlaces de hidrógeno formados por los grupos COH y COOH terminales de la serina, respectivamente).

### *iii. Respuesta quiro-óptica de los complejos (all-S)-18c6H<sub>4</sub> y L/D-SerH<sup>+</sup>*

Los espectros IR y VCD de los complejos formados entre (all-S)-18c6H<sub>4</sub> y L-SerH<sup>+</sup> y D-SerH<sup>+</sup> se muestran en las *Figs. 6.21* y *6.22*, respectivamente. Estos espectros se obtuvieron de películas delgadas formadas a partir de **disoluciones acuosas equimolares de receptor** (éter corona) y **huésped** (L-SerH<sup>+</sup> en la *Fig. 6.21* y D-SerH<sup>+</sup> en la *Fig. 6.22*). Asimismo, aparecen recogidos los espectros de (all-S)-18c6H<sub>4</sub>, L-SerH<sup>+</sup> y D-SerH<sup>+</sup> como sistemas individuales. Se pueden observar **diferencias apreciables** entre los espectros registrados de los **sistemas individuales** y los registrados de cada **complejo** huésped/receptor, las cuales corroboran de forma inequívoca la **formación** de los mencionados **complejos**. Adicionalmente, los *paneles c* y *d* de las *Figs. 6.21* y *6.22* muestran los espectros IR y VCD artificiales que resultan de la suma de los espectros de las

especies individuales (*all-S*)-18c6H<sub>4</sub> y *L*-SerH<sup>+</sup> por un lado, y (*all-S*)-18c6H<sub>4</sub> y *D*-SerH<sup>+</sup> por otro, en cantidades equimolares. También se muestran los espectros IR y VCD diferencia calculados como los IR y VCD de los complejos menos los IR y VCD del (*all-S*)-18c6H<sub>4</sub>, de la *L*-SerH<sup>+</sup> o de la *D*-SerH<sup>+</sup>.

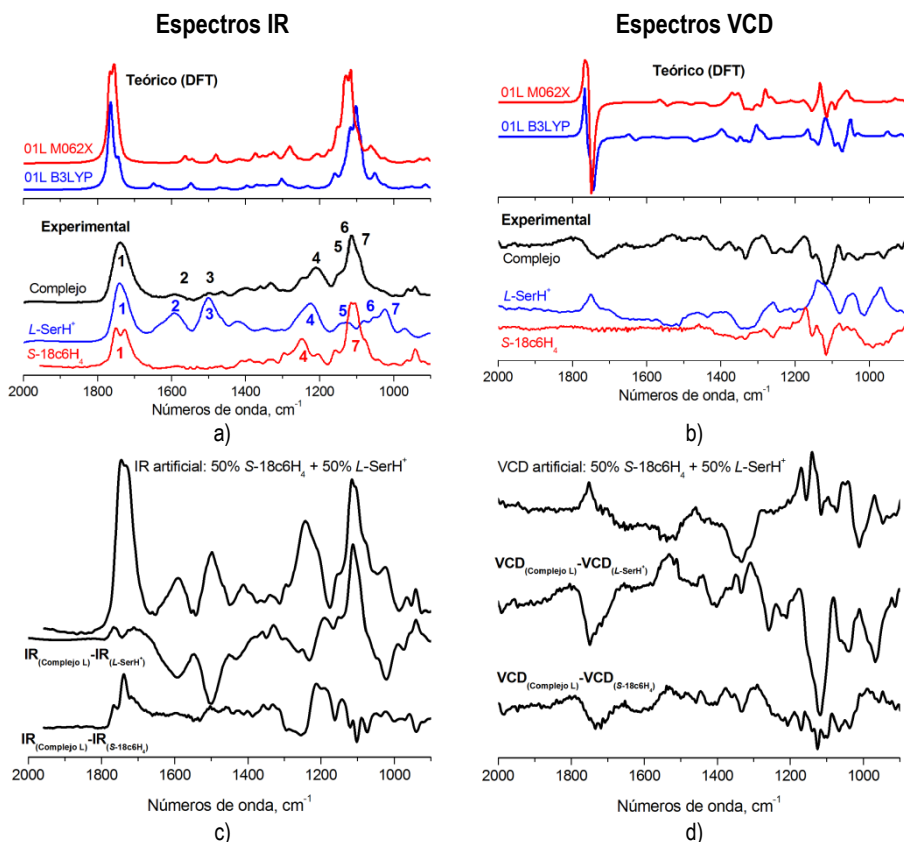
En el panel superior de las *Figs. 6.21* y *6.22* aparecen los espectros teóricos calculados a los niveles B3LYP/6-31+G(d) y M06-2X/6-311++G(d,p) de los conformeros más estables de los complejos, esto es, 01L y 01D. Como se puede observar, la **correspondencia teórico-experimental** es bastante **buena**, por lo que los espectros teóricos se tomaron como referencia para asignar las distintas bandas de los espectros experimentales.

Las regiones más representativas de los espectros IR y VCD son las relativas a los modos normales de **C=O stretching** (1800-1600 cm<sup>-1</sup>), **C-O-H bending** (1400-1100 cm<sup>-1</sup>) y **C-O stretching** (1200-950 cm<sup>-1</sup>), y eventualmente la presencia de los modos normales de wagging y rocking de CH<sub>2</sub> y CH.

En la *Fig. 6.21* se muestra el análisis del complejo (**S-18c6H<sub>4</sub>**)-(L-SerH<sup>+</sup>). A continuación voy a resaltar las principales características espectrales IR y VCD:

- i) Comenzando por el rango de altos números de onda, nos encontramos con una banda centrada a 1740 cm<sup>-1</sup> (banda ancha) en el IR, correspondiente al modo normal de **C=O stretching** y que muestra un couplet (+,-) a 1785 y 1726 cm<sup>-1</sup> en el espectro VCD, en **buen acuerdo** con los espectros teóricos del complejo 01L. La componente positiva del couplet puede asignarse al modo C=O stretching de los 4 grupos COOH del corona y a uno de la serina. Sin embargo, la componente negativa corresponde al modo C=O stretching nuevamente, pero en este caso de los 4 grupos COOH del corona.
- ii) Posteriormente en el espectro IR aparecen dos bandas débiles a 1590 y 1490 cm<sup>-1</sup> que pueden asignarse a los modos de **bending asimétrico y simétrico de NH<sub>3</sub><sup>+</sup>**, respectivamente, y que no mostraron una respuesta VCD medible, exceptuando la banda (-) a 1500 cm<sup>-1</sup>.
- iii) Las bandas VCD (+,-,-,+,-,+,-) que se observan a 1380, 1358, 1331, 1287, 1248 y 1171 cm<sup>-1</sup> se atribuyen principalmente a vibraciones **bending de COH**. En esta región, las bandas IR y VCD experimentales aparecen bastante estructuradas y, además, se reproducen bien con los correspondientes espectros teóricos. Los cálculos atribuyen la estructuración de las bandas a la participación del modo bending de COH en componentes diferentes de vibraciones concertadas de los grupos carboxílicos del éter corona y del aminoácido. La primera banda

se puede asignar a las vibraciones de bending de COH de la serina acopladas con modos normales de wagging de CH<sub>2</sub>. Las siguientes 4 bandas a las vibraciones bending de COH de los cuatro grupos COOH del corona acopladas con vibraciones de wagging de CH<sub>2</sub>. La última banda se corresponde con vibraciones bending de COH de los cuatro grupos COOH del corona acopladas con stretchings de C-O de esta especie.



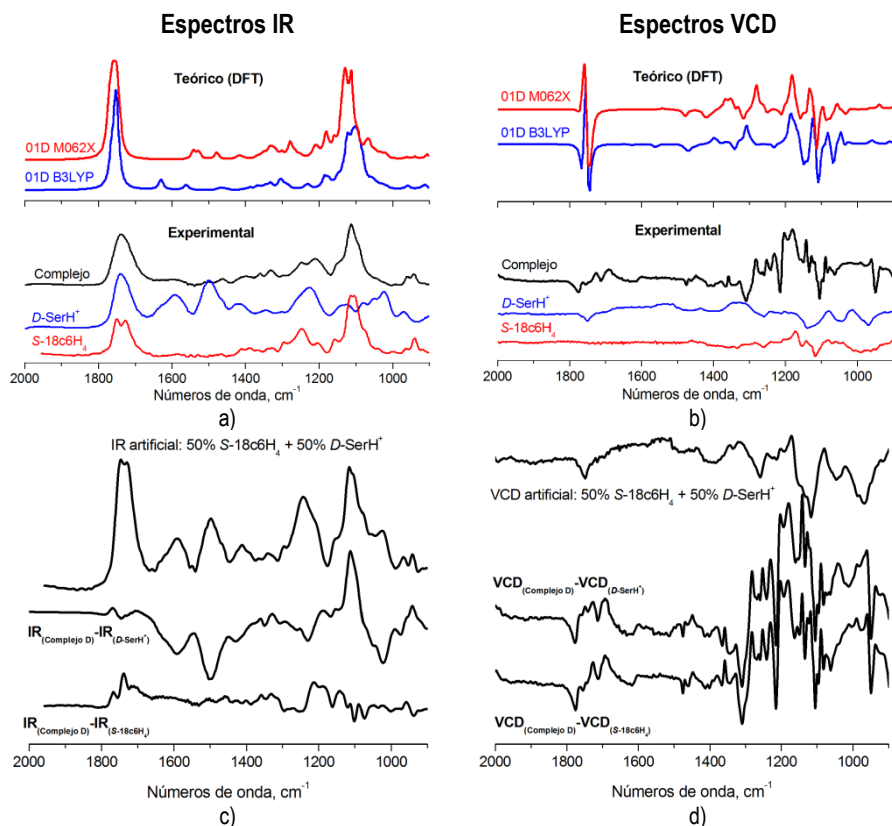
**Figura 6.21:** Espectros IR (panel a) y VCD (panel b) de las moléculas *L*-SerH<sup>+</sup> y *S*-18c6H<sub>4</sub> y del complejo (*S*-18c6H<sub>4</sub>)-(*L*-SerH<sup>+</sup>). Los paneles c y d muestran los espectros IR y VCD artificiales, respectivamente, obtenidos de la suma ponderada de los espectros de la *L*-SerH<sup>+</sup> y del *S*-18c6H<sub>4</sub>, así como los espectros IR y VCD que resultan de restar los espectros del complejo menos los espectros de la *L*-SerH<sup>+</sup> o del *S*-18c6H<sub>4</sub>. Los espectros IR y VCD teóricos que se muestran se realizaron a los niveles B3LYP/6-31+G(d) y M06-2X/6-311++G(d,p). Las bandas numeradas del 1 al 7 en los espectros IR corresponden a los siguientes modos vibracionales: 1) C=O stretch.; 2) -NH<sub>3</sub><sup>+</sup> bend. asim.; 3) -NH<sub>3</sub><sup>+</sup> bend. sim.; 4) -COH bend.; 5) C-N stretch. + CH<sub>2</sub> rock.; 6) C-N stretch.; y 7) C-O stretch.

- iv) A números de onda más bajos, la región **C-O stretching** (1175-950  $\text{cm}^{-1}$ ) muestra una serie particularmente estructurada de bandas IR y VCD que se correlacionan bastante bien con las estructuras de los espectros teóricos. En particular, las bandas VCD (-,-,+,-) que se observan a 1150, 1115, 1081 y 1067  $\text{cm}^{-1}$  se identifican teóricamente como stretchings de C-O y C-N del conformero 01L. La primera banda (1150  $\text{cm}^{-1}$ ) se asigna a movimientos de stretching de C-O del corona acopladas con bending de COH del mismo. La segunda (1115  $\text{cm}^{-1}$ ) corresponde a vibraciones stretching de C-O del corona acopladas con movimientos de rocking de  $\text{CH}_2$ . La tercera banda (1081  $\text{cm}^{-1}$ ) se atribuye al movimiento de stretching de C-O del corona junto con stretching de C-N y rocking de  $\text{CH}_2$ . La última banda (1067  $\text{cm}^{-1}$ ) se puede asignar a los movimientos acoplados de stretching de C-N y rocking de  $\text{CH}_2$ .

También se puede extraer información importante de los *paneles c y d* de la *Fig. 6.21*, donde se han construido unos espectros **IR y VCD artificiales** con la suma de las contribuciones **50% de L-SerH<sup>+</sup>** y **50% de S-18c6H<sub>4</sub>** para mostrar la diferencia entre los mismos y el espectro del complejo (S-18c6H<sub>4</sub>)-(L-SerH<sup>+</sup>) y confirmar así su formación. Estas diferencias se pueden apreciar sobre todo en las regiones espectrales C=O, C-O y C-O-H. Además, los espectros **IR y VCD diferencia** muestran claramente cómo la región de stretching de C=O aumenta su intensidad cuando se forma el complejo y cómo la región de bending de COH se desplaza a frecuencias más bajas debido a la formación de enlaces de hidrógeno intermoleculares. También se puede ver cómo disminuye de intensidad la región de bending simétrico y asimétrico de  $-\text{NH}_3^+$  cuando se forma el complejo.

La *Fig. 6.22* muestra un análisis similar para el complejo (S-18c6H<sub>4</sub>)-(D-SerH<sup>+</sup>). Si comparamos esta figura con la *Fig. 6.21* podemos ver que los espectros **IR** son **similares**, pero que los espectros **VCD** de los complejos formados entre el éter corona y el enantiómero *L* o *D* de la serina protonada muestran **diferencias significativas**. Las principales diferencias espectrales que se observan son las siguientes:

- i) En la región **C=O stretching**, el espectro VCD experimental muestra una secuencia estructurada de bandas (-,+,-,+,-,+) a 1773, 1763, 1742, 1728, 1711 y 1692  $\text{cm}^{-1}$  que se pueden asignar al stretching de C=O de los 4 grupos COOH del corona y al de la serina, en buen acuerdo con la estructura 01D. El espectro VCD muestra esta secuencia de bandas en lugar de las bandas (+,-) que mostraba el complejo *L*.



**Figura 6.22:** Espectros IR (panel a) y VCD (panel b) de las moléculas  $D\text{-SerH}^+$  y  $S\text{-18c6H}_4$  y del complejo  $(S\text{-18c6H}_4)\text{-}(D\text{-SerH}^+)$ . Los paneles c y d muestran los espectros IR y VCD artificiales, respectivamente, obtenidos de la suma ponderada de los espectros de la  $D\text{-SerH}^+$  y del  $S\text{-18c6H}_4$ , así como los espectros IR y VCD que resultan de restar los espectros del complejo menos los espectros de la  $D\text{-SerH}^+$  o del  $S\text{-18c6H}_4$ . Los espectros IR y VCD teóricos que se muestran se realizaron a los niveles B3LYP/6-31+G(d) y M0-62X/6-311++G(d,p).

- ii) Sin embargo, en la región de  **$\text{NH}_3^+$  bending**, los complejos  $L$  y  $D$  muestran características espectrales similares. En el espectro IR se observan dos bandas débiles a  $1590$  y  $1490\text{ cm}^{-1}$ , las cuales no muestran una respuesta VCD medible, exceptuando la banda (-) a  $1497\text{ cm}^{-1}$ . Estas bandas corresponden a modos de bending asimétrico y simétrico de  $\text{NH}_3^+$ , respectivamente.
- iii) En la región de **COH bending**, la respuesta VCD es más compleja, mostrando las bandas  $(-, +, -, -, +)$  a  $1364, 1354, 1331, 1306$  y  $1281\text{ cm}^{-1}$ , en lugar del patrón  $(-, -, -, -)$  más simple que mostraba el complejo  $L$ . Estas bandas pueden asignarse a vibraciones bending de COH de los 4 grupos COOH del corona acopladas con vibraciones de wagging de  $\text{CH}_2$ . Además, las bandas VCD  $(+, +)$  a  $1204$  y  $1180\text{ cm}^{-1}$  se atribuyen a

vibraciones bending de COH de la serina acopladas con waggings de CH<sub>2</sub> y NH<sub>3</sub><sup>+</sup>.

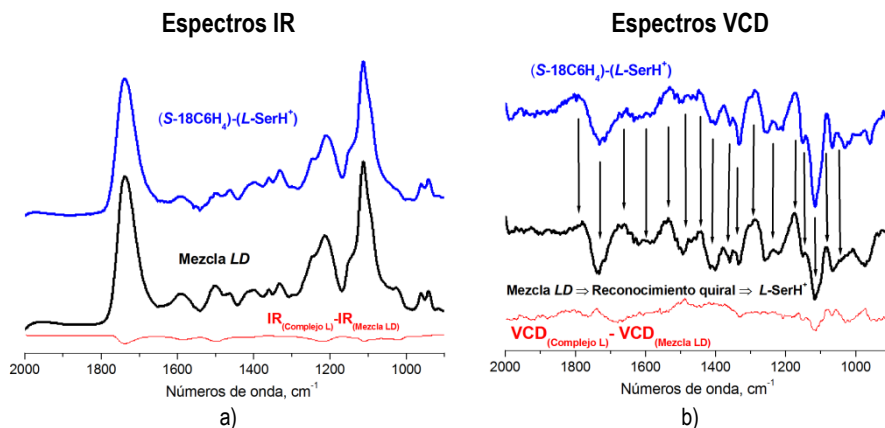
- iv) En la región de **C-O stretching**, el complejo *D* muestra bandas VCD más intensas y con estructura distinta a las del complejo *L*. En el espectro VCD del complejo *D*, se pueden observar las bandas (-,-,+,+) a 1148, 1104, 1080 y 1063 cm<sup>-1</sup>, mientras que el complejo *L* mostraba el patrón (+,-,-,+). La primera banda (1148 cm<sup>-1</sup>) se atribuye a las vibraciones stretching de C-O y bending de COH del corona. La segunda y la última banda (1104 y 1063 cm<sup>-1</sup>) se asignan a stretching de C-O acoplado con los movimientos rocking de CH<sub>2</sub> del corona. La tercera (1080 cm<sup>-1</sup>) se puede asignar a las vibraciones stretching de C-O de la serina acopladas con movimientos rocking de CH<sub>2</sub>.

Al igual que en la Fig. 6.21, en los paneles *c* y *d* de la Fig. 6.22 se muestran los espectros IR y VCD artificiales obtenidos con la suma 50% espectro *D*-SerH<sup>+</sup> y 50% espectro *S*-18c6H<sub>4</sub>, observándose claramente que son diferentes a los espectros registrados del complejo *D*.

Se puede concluir que la **técnica VCD** permite **discernir** entre los **complejos** formados por el receptor (éter corona) y cada uno de los huéspedes (el enantiómero *L* de la serina protonada o el *D*), mostrando ambos complejos espectros **IR similares** pero **distintos VCD** que son bien reproducidos por los conformeros más estables 01L y 01D. A raíz de este resultado, la pregunta evidente es *¿podemos detectar, analizar y comprender el problema del reconocimiento molecular y la selectividad quiral del éter corona sobre la complejación competitiva de los dos enantiómeros de serina protonada?*

*iv. Reconocimiento molecular y preferencia enantiomérica de L-SerH<sup>+</sup> por S-18c6H<sub>4</sub>*

Para analizar el **reconocimiento quiral** de la *L*-SerH<sup>+</sup> o *D*-SerH<sup>+</sup> por *S*-18c6H<sub>4</sub>, se registraron los espectros IR y VCD de películas delgadas formadas a partir de **disoluciones acuosas equimolares** de éter corona y ambos enantiómeros de serina protonada. Estos espectros se recogen en la Fig. 6.23 y se puede observar la **similitud** que existe entre los mismos y los registrados para el **complejo L** (ver Fig. 6.21).



**Figura 6.23:** Espectros IR (panel a) y VCD (panel b) del complejo  $(S\text{-}18c6H_4)\text{-}(L\text{-}SerH^+)$  (azul), de una disolución con concentraciones equimolares de éter corona y ambos enantiómeros de serina protonada (negro) y espectros IR y VCD diferencia (rojo, resultantes de sustraer los espectros de color negro a los espectros de color azul). La similitud existente entre los espectros de color azul y negro prueba que el receptor  $S\text{-}18c6H_4$  se une preferentemente al enantiómero  $L\text{-}SerH^+$  (ver discusión en texto).

Los espectros IR de los complejos formados entre el éter corona y la  $L$  o  $D$  serina protonada son muy similares, y también lo son al espectro IR registrado de la mezcla equimolar de las tres especies. Por tanto, la **espectroscopía IR** por sí sola **no** permite la **diferenciación** de los **complejos  $L$  y  $D$** . Por el contrario, la comparación de los correspondientes espectros **VCD** proporciona una evidencia mucho más clara de la **selectividad quiral de la  $L\text{-}SerH^+$  por  $S\text{-}18c6H_4$** . La disolución que contiene cantidades equimolares de las tres especies muestra un espectro VCD muy parecido al obtenido para el complejo  $(S\text{-}18c6H_4)\text{-}(L\text{-}SerH^+)$ . Concretamente, en la *Fig. 6.23* se puede observar que el signo y la posición de algunas bandas VCD en las regiones de  $C=O$  stretching,  $NH_3^+$  bending,  $COH$  bending y  $C-O$  stretching, apuntan la **presencia del complejo 01L**. Estas bandas son (i) el couplet (+,-) a  $1775$  y  $1740\text{ cm}^{-1}$ , (ii) la banda (+) a  $1532\text{ cm}^{-1}$  y (iii) las bandas (-,-,+,-,-,+) a  $1250$ ,  $1213$ ,  $1174$ ,  $1142$ ,  $1110$  y  $1087\text{ cm}^{-1}$ . La mayoría de estas bandas no aparecen en el espectro VCD del complejo  $(S\text{-}18c6H_4)\text{-}(D\text{-}SerH^+)$  (ver discusión del subapartado anterior y *Fig. 6.22*).

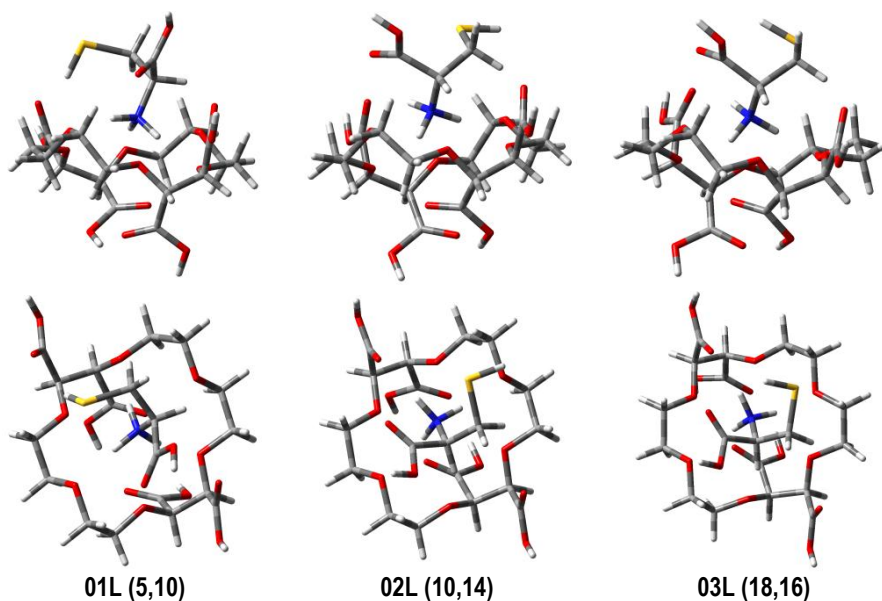
Finalmente, la *Fig. 6.23* muestra los espectros IR y VCD diferencia que resultan de sustraer los espectros registrados para el complejo  $L$  y los de la mezcla con los enantiómeros  $L$  y  $D$ . En ambos casos, la diferencia es prácticamente cero: i) en el caso del **IR**, esta diferencia sólo nos indica que hemos formados **complejos corona-serina**, pero en ningún caso nos confirma una posible preferencia configuracional del corona por un enantiómero

específico; ii) en cambio, el **VCD** nos ofrece una información fundamental ya que podemos comprobar cómo el espectro VCD en presencia de los dos enantiómeros es muy similar el VCD obtenido en presencia exclusiva del enantiómero *L*, corroborando así el **reconocimiento quiral del enantiómero *L*** de la serina mediante la técnica VCD.

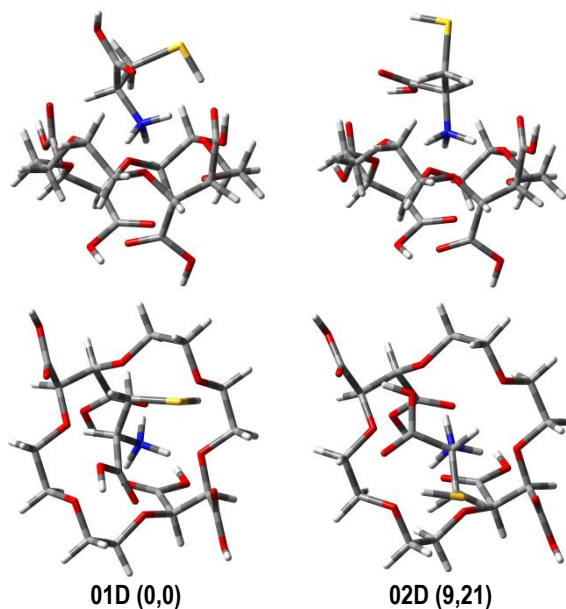
#### 6.2.4. Reconocimiento molecular en el sistema (*S*-18c6H<sub>4</sub>)-(L/*D*-CysH<sup>+</sup>): resultados preliminares

El estudio conformacional teórico y los registros experimentales se llevaron a cabo de forma similar a los descritos para los complejos formados entre *S*-18c6H<sub>4</sub> y los dos enantiómeros de serina protonada. El estudio conformacional teórico de los complejos (***S*-18c6H<sub>4</sub>)-(L-CysH<sup>+</sup>)** y (***S*-18c6H<sub>4</sub>)-(D-CysH<sup>+</sup>)** está casi finalizado. En la búsqueda conformacional mediante Simulated Annealing se encontraron 16 conformeros para el complejo (*S*-18c6H<sub>4</sub>)-(L-CysH<sup>+</sup>) y 17 para el (*S*-18c6H<sub>4</sub>)-(D-CysH<sup>+</sup>), los cuales se optimizaron al nivel B3LYP/6-31+G(d). Los conformeros más estables resultantes de esta última optimización se reoptimizaron al nivel M06-2X/6-311++G(d,p).

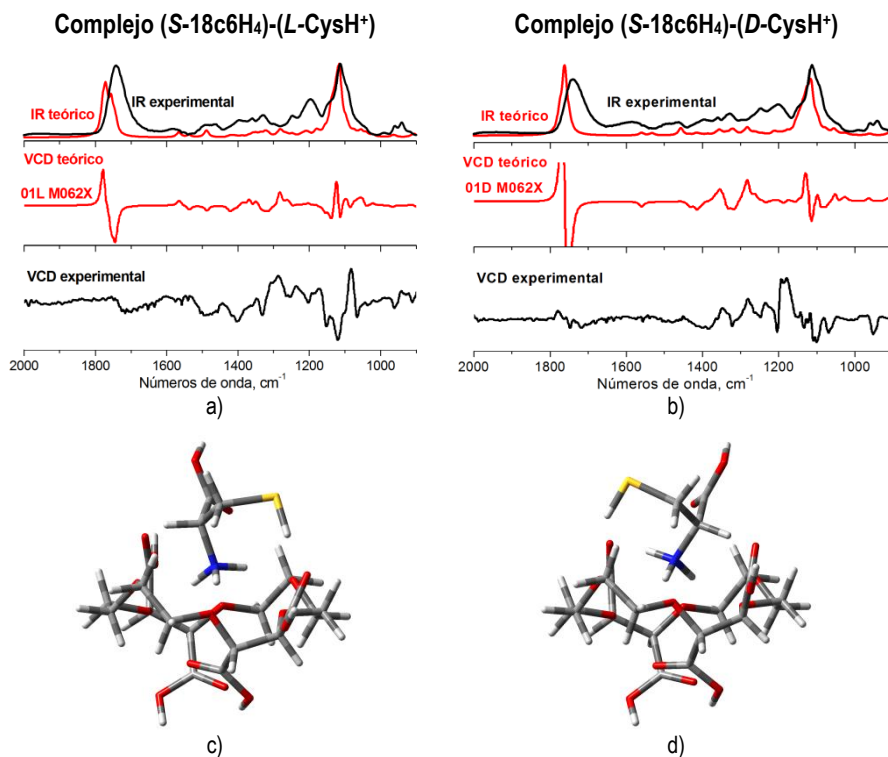
Las energías relativas corregidas con la energía del punto cero de los conformeros se han calculado respecto al mínimo global, el **01D**, correspondiente al complejo (*S*-18c6H<sub>4</sub>)-(D-CysH<sup>+</sup>). Como resultado, se encontraron 3 conformeros del complejo (*S*-18c6H<sub>4</sub>)-(L-CysH<sup>+</sup>) en un rango de energía relativa de 10 kJ/mol (ver *Fig. 6.24*) y para el complejo (*S*-18c6H<sub>4</sub>)-(D-CysH<sup>+</sup>) un solo conformero con energía relativa < 10 kJ/mol (ver *Fig. 6.25*), que resultó ser 10 kJ/mol más estable que el conformero más estable de los complejos *L*. Necesitaremos completar las búsquedas conformacionales para concluir qué enantiómero de la cisteína da los complejos más estables. Se puede observar que el siguiente conformero *D* más estable después del 01D se encuentra a 21 kJ/mol por encima del mismo (conformero 02D), según el nivel de teoría M06-2X/6-311++G(d,p). Los registros experimentales IR y VCD de los complejos (*S*-18c6H<sub>4</sub>)-(L-CysH<sup>+</sup>) y (*S*-18c6H<sub>4</sub>)-(D-CysH<sup>+</sup>) se muestran en la *Fig. 6.26*, comparados con los espectros teóricos de los conformeros más estables de cada complejo calculados al nivel M06-2X/6-311++G(d,p). Se puede observar que existe una **buena correspondencia teórico-experimental**.



**Figura 6.24:** Vistas laterales (panel superior) y desde arriba (panel inferior) de las estructuras moleculares de los 3 conformeros más estables del complejo (*S*-18c6H<sub>4</sub>)-(L-CysH<sup>+</sup>) representados como 01L, 02L y 03L, respectivamente. Entre paréntesis se indican las energías relativas (corregidas al punto cero,  $\Delta E_0$ ) calculadas con B3LYP/6-31+G(d) y M06-2X/6-311++G(d,p) en kJ/mol.



**Figura 6.25:** Vistas laterales (panel superior) y desde arriba (panel inferior) de las estructuras moleculares de los 2 conformeros más estables del complejo (*S*-18c6H<sub>4</sub>)-(D-CysH<sup>+</sup>) representados como 01D y 02D, respectivamente. Entre paréntesis se indican las energías relativas (corregidas al punto cero,  $\Delta E_0$ ) calculadas con B3LYP/6-31+G(d) y M06-2X/6-311++G(d,p) en kJ/mol.



**Figura 6.26:** a) y b) Espectros IR experimentales y teóricos (panel superior) y VCD (paneles intermedio e inferior) de los complejos (*S*-18c6H<sub>4</sub>)-(L-CysH<sup>+</sup>) y (*S*-18c6H<sub>4</sub>)-(D-CysH<sup>+</sup>), respectivamente; c) y d) Estructuras de los conformeros 01L y 01D, respectivamente, calculados al nivel teórico M06-2X/6-311++G(d,p).

Aún quedan por realizar los registros de los espectros IR y VCD experimentales de películas delgadas formadas a partir de disoluciones acuosas equimolares de *S*-18c6H<sub>4</sub>, *L*-CysH<sup>+</sup> y *D*-CysH<sup>+</sup>, para comprobar si el receptor *S*-18c6H<sub>4</sub> tiene alguna preferencia enantiomérica por *L*-CysH<sup>+</sup> o *D*-CysH<sup>+</sup>.

### 6.3. Referencias

- [1] J. J. L. González, F. P. Ureña, J. R. A. Moreno, I. Mata, E. Molins, R. M. Claramunt, C. López, I. Alkorta, J. Elguero, *New J. Chem.* **36**, 749–758 (2012).
- [2] J. R. Avilés-Moreno, M. M. Quesada-Moreno, J. J. López-González, R. M. Claramunt, C. López, I. Alkorta, J. Elguero, *ChemPhysChem* **14**, 3355–3360 (2013).
- [3] M. M. Quesada-Moreno, J. R. Avilés-Moreno, J. J. López-González, K. Jacob, L. Vendier, M. Etienne, I. Alkorta, J. Elguero, R. M. Claramunt, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **19**, 1632–1643 (2017).

- [4] J. R. Avilés-Moreno, M. M. Quesada-Moreno, J. J. López-González, B. Martínez-Haya, *J. Phys. Chem. B* **117**, 9362–9370 (2013).
- [5] J. Jacques, A. Collet, S. H. Wilen, *Enantiomers, Racemates and Resolutions*, Krieger Publishing Co, Malabar, 1994.
- [6] A. Guijarro, M. Yus, *The Origin of Chirality in the Molecules of Life*, Royal Society of Chemistry, Cambridge, 2009.
- [7] C. Foces-Foces, *Acta Crystallogr. Sect. E* **61**, o337–o339 (2005).
- [8] a) Cambridge Structural Database, F. H. Allen, *Acta Crystallogr. Sect. B* **58**, 380–388 (2002); b) F. H. Allen, W. D. S. Motherwell, *Acta Crystallogr. Sect. B* **58**, 407–422 (2002); c) Cambridge Structural Database (CSD), versión 5.32, actualizada Febrero 2011. <http://www.ccdc.cam.ac.uk>.
- [9] J. Teichert, P. Oulíé, K. Jacob, L. Vendier, M. Etienne, R. M. Claramunt, C. López, C. Pérez Medina, I. Alkorta, J. Elguero, *New J. Chem.* **31**, 936–946 (2007).
- [10] M. M. Quesada-Moreno, J. R. Avilés-Moreno, J. J. López-González, R. M. Claramunt, C. López, I. Alkorta, J. Elguero, *Tetrahedron: Asymmetry* **25**, 507–515 (2014).
- [11] L. Pérez-García, D. B. Amabilino, *Chem. Soc. Rev.* **31**, 342–356 (2002).
- [12] J. S. Siegel, *Chirality* **10**, 24–27 (1998).
- [13] A. Escande, J. Lapasset, *Acta Crystallogr., Sect. B: Struct. Crystallogr. Cryst. Chem.* **30**, 2009–2012 (1974).
- [14] B. K. Muñoz, W.-S. Ojo, K. Jacob, N. Romero, L. Vendier, E. Despagnet-Ayoub, M. Etienne, *New J. Chem.* **38**, 2451–2461 (2014).
- [15] P. J. Stephens, F. J. Devlin, J. R. Cheeseman, *VCD Spectroscopy for Organic Chemists*, CRC Press, Boca Raton (2012).
- [16] P. J. Stephens, F. J. Devlin, C. F. Chabalowski, M. J. Frisch, *J. Phys. Chem.* **98**, 11623–11627 (1994).
- [17] A. Escande, J. L. Galigné, J. Lapasset, *Acta Crystallogr. Sect. B* **30**, 1490–1495 (1974).
- [18] A. Escande, J. Lapasset, R. Faure, E. J. Vincent, J. Elguero, *Tetrahedron* **30**, 2903–2909 (1974).
- [19] L. Luca, *Curr. Med. Chem.* **13**, 1–23 (2006).
- [20] S. Horiuchi, F. Kagawa, K. Hatahara, K. Kobayashi, R. Kumai, Y. Murakami, Y. Tokura, *Nat. Commun.* **3**, 1308 (2012).
- [21] S. Scheiner, M. Yi, *J. Phys. Chem.* **100**, 9235–9241 (1996).
- [22] S. Bureekaew, S. Horike, M. Higuchi, M. Mizuno, T. Kawamura, D. Tanaka, N. Yanai, S. Kitagawa, *Nat. Mater.* **8**, 831–836 (2009).

- [23] J. Catalan, J. Elguero, R. Flammang, A. Maquestiau, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **22**, 411–418 (1983).
- [24] R. Notario, M. Herreros, E. Ballesteros, M. Essefar, J.-L. M. Abboud, I. D. Sadekov, V. I. Minkin, J. Elguero, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, 2341–2344 (1994).
- [25] I. Alkorta, O. Picazo, J. Elguero, *J. Phys. Chem. A* **110**, 2259–2268 (2006).
- [26] P. Cabildo, R. M. Claramunt, F. J. Zuñiga, I. Alkorta, J. Elguero, *Z. Für Krist. - Cryst. Mater.* **230**, 427–438 (2015).
- [27] C. Dryzun, D. Avnir, *Chem. Commun.* **48**, 5874–5876 (2012).
- [28] F. H. Allen, *Acta Crystallogr. B* **58**, 380–388 (2002).
- [29] S. Azeroual, J. Surprenant, T. D. Lazzara, M. Kocun, Y. Tao, L. A. Cuccia, J.-M. Lehn, *Chem. Commun.* **48**, 2292–2294 (2012).
- [30] K. Ziach, J. Jurczak, *Chem Commun.* **51**, 4306–4309 (2015).
- [31] A. Lennartson, M. Håkansson, *New J. Chem.* **39**, 5936–5943 (2015).
- [32] R. J. Davey, S. L. M. Schroeder, J. H. ter Horst, *Angew. Chem. Int. Ed.* **52**, 2166–2179 (2013).
- [33] G. W. Gokel, *Crown Ethers and Cryptands*, Royal Society of Chemistry, Cambridge, 1994.
- [34] R. Kuhn, *Electrophoresis* **20**, 2605–2613 (1999).
- [35] S. Shen, S. Ma, H. Lee, C. Manolescu, M. Grinberg, N. Yee, C. Senanayake, N. Grinberg, *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.* **33**, 153–166 (2010).
- [36] H. Nagata, H. Nishi, M. Kamigauchi, T. Ishida, *Chirality* **20**, 820–827 (2008).
- [37] H. Duddeck, E. Díaz Gómez, *Chirality* **21**, 51–68 (2009).
- [38] V. Farkas, L. Szalay, E. Vass, M. Hollósi, G. Horváth, P. Huszthy, *Chirality* **15**, S65–S73 (2003).
- [39] S. Szarvas, L. Szalay, E. Vass, M. Hollósi, E. Samu, P. Huszthy, *Chirality* **17**, 345–351 (2005).
- [40] J. R. Avilés Moreno, F. Partal Ureña, J. J. López González, F. Gámez, B. Martínez-Haya, *Tetrahedron: Asymmetry* **23**, 294–299 (2012).
- [41] M. M. Quesada-Moreno, J. R. Avilés-Moreno, A. Á. Márquez-García, F. Partal-Ureña, J. J. López González, *J. Mol. Struct.* **1046**, 136–146 (2013).
- [42] Accelrys Materials Studio 4.4, Accelrys, Inc., San Diego, CA, 2008.
- [43] J. P. Foster, F. Weinhold, *J. Am. Chem. Soc.* **102**, 7211–7218 (1980).
- [44] C. J. Cramer, *Essentials of Computational Chemistry. Theories and Models*, Wiley, Chichester, 2015.

## 7. CONCLUSIONES

---





## 7. CONCLUSIONES

Bloque 1. Quiralidad molecular de ladrillos modelo de interés biológico y de sistemas de interés atmosférico

- 1) Se han analizado desde el punto de vista teórico (**DFT** y **MP2**) y experimental (**IR**, **Raman** y **VCD**) las preferencias conformacionales de cuatro aminoácidos: **L-Ser** (solo IR y Raman), **L-Threo**, **L-Cys** y **L-Val** en disolución acuosa a distintos pHs (6.00, 1.00 y 13.00), habiéndose determinado para todos ellos el conjunto más estable de conformeros de sus respectivas especies zwitteriónicas, catiónicas y aniónicas. Resaltar aquí que el modelo implícito PCM de simulación del disolvente reproduce razonablemente bien las características espectrales, aunque el modelo híbrido (PCM + agua explícita), usado en el caso de la **L-Val**, mejora los acuerdos entre los espectros teóricos y experimentales (especialmente en el caso del VCD).
- 2) Mediante una combinación de una rigurosa búsqueda conformacional (miles de estructuras) teórica, usando cálculos químico cuánticos de alto nivel (**DFT** y **MP2**), y técnicas espectroscópicas vibracionales (**IR**, **Raman** y **VCD**), se han analizado las preferencias configuracionales (cadena abierta,  $\alpha$ - y  $\beta$ - piranosa y  $\alpha$ - y  $\beta$ - furanosa) y conformacionales de la **D-ribosa** y de la **2-deoxi-D-ribosa** en disoluciones acuosas y en fase sólida, concluyéndose la **presencia mayoritaria** de formas  $\alpha$ - y  $\beta$ - **piranosa** en las mismas y encontrándose que las primeras están en mayor proporción en ambos carbohidratos en un **ratio  $\alpha/\beta$  de 3:1**, aproximadamente. Decir que nuevamente el modelo teórico implícito PCM del disolvente vuelve a reproducir bien de forma general los espectros experimentales para estos sistemas, pero que hay algunas regiones espectrales en las que el acuerdo teórico-experimental se mejora cuando se añade una molécula de agua explícita al modelo implícito (modelo híbrido).
- 3) Se hizo un estudio teórico-experimental del **tautomerismo aldosenediolato** del **glicolaldehído** mediante una combinación de cálculos *ab initio* de alto nivel (**MP2/aug-cc-pVDZ**) y espectroscopía **Raman**. De dicho estudio se pudo deducir que, por un lado, esta especie química puede existir en forma de tres estructuras moleculares distintas en disolución acuosa a pH **neutro**, esto es, **aldehídos hidratados**, **aldehídos** y **dímeros**, con un **ratio**, respectivo, de **4:0.25:1**, aproximadamente y que, por otro, para reproducir el espectro Raman experimental en medio **básico** fue necesario un **ratio 1.5:1 aldehído:Z-**

**enediolato**, junto con la proporción mencionada anteriormente para hidratos y dímeros, llegándose a la conclusión de que el tautomerismo aldo-enediolato nunca ocurre en medio neutro, pero que, sin embargo, el uso de un reactivo básico favorece el que el mismo llegue a darse.

- 4) Se han determinado por primera vez los paisajes conformacionales en fase gas de las moléculas **R-(+)-óxido de limoneno**, **R-(+)-pulegona** y  **$\gamma$ -terpineno** usando una combinación de espectroscopía de **microondas** y **cálculos químico cuánticos** de alto nivel. En el caso del **óxido de limoneno**, se identificaron cuatro conformeros ecuatoriales y uno axial (se diferencian según la posición del grupo isopropenilo), el cual, sorprendentemente, mostró tener abundancia similar a la de algunos conformeros ecuatoriales, cuestionando de esta forma el supuesto usualmente aceptado de que las formas ecuatoriales son generalmente más estables que las axiales, y que refleja el delicado equilibrio de fuerzas que participan en el óxido de limoneno, las cuales incluyen interacciones atractivas que involucran al anillo epóxido, interacciones dispersivas que involucran al grupo isopropenilo y efectos estéricos. Por su parte, para la **pulegona** y el  **$\gamma$ -terpineno** se han identificado uno y dos conformeros ecuatoriales en fase gas, respectivamente. La alta sensibilidad del espectrómetro empleado para el registro del espectro rotacional de la pulegona, permitió obtener los espectros rotacionales de las especies con los átomos de  $^{12}\text{C}$  sustituidos por otros de  $^{13}\text{C}$  del único conformero ecuatorial detectado para esta especie química, pudiendo así poder ser determinadas las posiciones de todos los átomos de carbono de dicho conformero en fase gas. El compuesto  $\gamma$ -terpineno ha sido estudiado, además de por espectroscopía MW, también mediante las espectroscopías IR y Raman en las fases gas (solo IR), líquida y sólida, concluyendo también para ellas la presencia de los dos antes referidos conformeros ecuatoriales en fase gas.
- 5) Para diferentes mezclas en fase líquida y sólida preparadas con diferentes proporciones conocidas de **R** y **S-alcanfor**, se determinaron los **excesos enantioméricos** de las mismas mediante el uso de la técnica **RMN**, en **disolución** de  $\text{CCl}_4$ , y mediante **VCD**, en disolución de  $\text{CCl}_4$  y en **suspensiones de nujol**. Aún nos queda por realizar el registro de una muestra ciega (con cantidades desconocidas de uno y otro enantiómero) con el empleo de ambas técnicas. Registrando los espectros VCD de esta muestra ciega, conoceremos su  $\Delta\text{Abs.}$ , y podremos realizar su interpolación en las rectas de calibrado preparadas con anterioridad para conocer su exceso enantiomérico. La puesta a punto de una metodología

VCD para el análisis de muestras en fase sólida (suspensiones en nujol) podría conllevar su aplicación para la caracterización de muestras sólidas quirales de otros tipos de compuestos y sistemas de diferente grado de complejidad.

- 6) En el trabajo realizado para la **colchicina**, se analizaron dos muestras racémicas y dos quirales (*L*) de este compuesto mediante el uso de las técnicas **RMN**, difracción de **rayos X** y **VCD**, complementadas con cálculos químico cuánticos (**B3LYP/6-311++G(d,p)**), concluyendo la presencia del diastereoisómero (***R<sub>s</sub>***, **7S**) en las muestras quirales. Se analizaron en disolución de CHCl<sub>3</sub> y en fase sólida (suspensiones de nujol y fluorolube).

## Bloque 2. Quiralidad supramolecular: resolución espontánea y reconocimiento molecular

- 7) Se determinó la configuración absoluta de muestras policristalinas de los compuestos derivados del 1*H*-indazol **LIDGEL**, **YODJIM** y **YODJOS** mediante una combinación de las técnicas vibracionales IR, Raman y VCD y las de difracción de **rayos X** y **RMN** (estas dos últimas excepto para LIDGEL), complementadas con cálculos químico cuánticos **DFT**. Con el uso de la técnica VCD y los cálculos DFT, se concluyó la presencia de **hélices P** en los cristales analizados de **LIDGEL**, mientras que para **YODJIM** y para **YODJOS**, la configuración absoluta determinada fue **M** y **P**, respectivamente, cuando los cristales se obtuvieron mediante **sublimaciones** repetidas, y **P** y **M**, respectivamente, cuando las muestras procedentes de las sublimaciones anteriores se recrystalizaron en acetona y se eliminó el disolvente con el empleo de un **agitador magnético** y un **flujo de N<sub>2</sub>**. Mediante el uso de la cristalografía de rayos X se analizaron dos *single crystals* del compuesto YODJIM (de la muestra obtenida mediante sublimaciones repetidas), concluyendo para uno de ellos la presencia de una hélice *M* y, para el otro, la presencia de hélices *M* y *P*. En el cristal analizado de YODJOS, se observó la presencia de un solo tipo de hélice enantiomérica, que fue precisamente aquella con configuración *M*. Los datos procedentes de las espectroscopías **IR** (incluyendo **FarIR**) y **Raman**, combinadas con cálculos **DFT**, habían mostrado previamente un mejor acuerdo teórico-experimental con los espectros teóricos de los **oligómeros** (o unidades cateméricas) **modelizados de mayor tamaño**, esto es, pentámeros en el caso de YODJIM y YODJOS y tetrámeros para el LIDGEL, indicando así la posible presencia de catémeros (más

que monómeros o unidades diméricas o triméricas) en los cristales de estos compuestos, principalmente a partir de los datos de la región de bajas frecuencias (700-30  $\text{cm}^{-1}$ ).

- 8) En los casos de los cristales de otros compuestos derivados del 1*H*-indazol, 1*H*-benzimidazol y 1*H*-benzotriazol estudiados también en esta tesis, mediante la metodología trazada en el punto anterior (empleando todas o solo algunas de las técnicas señaladas allí):
- 8.1) Se pudo confirmar la aquiralidad de los cristales de **LIDFUA**, considerando la presencia en ellos de dímeros en fase sólida.
  - 8.2) Para los cristales de **LABHEB** (cuyos monómeros eran ya quirales), se concluyó la presencia en ellos de trímeros quirales en fase sólida y mayoritariamente monómeros en disoluciones diluidas.
  - 8.3) Para los cristales del 2-propil-1*H*-benzimidazol (**OHUZUO**), cabe resaltar como más significativo, de manera breve, que todos los registros realizados con la técnica **VCD** conducen a un único espectro para ellos, independientemente del camino seguido en sus procesos de cristalización y de los diferentes equipos usados para llevar a cabo los mismos. Asimismo, a partir de una serie de unidades modelo estructurales usadas hasta el momento presente para la simulación de dicho espectro, puede concluirse que el **origen de la quiralidad** en su estructura parece deberse al tipo de empaquetamiento de las cadenas unidas mediante enlaces de hidrógeno, desconociéndose aún la causa de por qué siempre se obtiene un mismo exceso enantiomérico en ellos.

Debe también ser destacado aquí que, desde un primer estudio llevado a cabo con la técnica **VCD** a **varias temperaturas** por encima de la de laboratorio, se encontraron datos (también a priori, sorprendentes) que, acompañados por otros obtenidos posteriormente con otras diversas técnicas (DRX, DSC, etc.), han permitido observar la presencia de dos puntos críticos, uno a alta (368 K) y otro a baja temperatura (185 K), así como la aparición de hasta **4 polimorfos diferentes**, en una especie de ciclo similar a los de histéresis, de modo que una vez traspasado por primera vez el punto crítico de alta temperatura por calentamiento, ya no es posible alcanzar de nuevo el polimorfo de partida, mediante posteriores procesos de enfriamiento/calentamiento, todo lo cual parece indicar una considerable y compleja riqueza estructural asociada a las formas sólidas de un compuesto químico, a priori, común como es este.

- 8.4) Los resultados preliminares de los trabajos llevados a cabo hasta ahora para los cristales del polimorfo  $\alpha$  del 1*H*-benzotriazol (**BZTRAZ**) parecen indicar la presencia de catémeros con hélices tipo *M*.
- 9) Mediante una combinación de las espectroscopías **IR** y **VCD**, junto con **cálculos químico cuánticos**, se caracterizó el proceso de reconocimiento quiral de los dos enantiómeros del aminoácido serina en forma protonada por el hospedador (*all-S*)-18c6H<sub>4</sub>. Mientras que los espectros IR de los complejos (*S*-18c6H<sub>4</sub>)-(L-SerH<sup>+</sup>) y (*S*-18c6H<sub>4</sub>)-(D-SerH<sup>+</sup>) fueron similares, los respectivos espectros VCD de los mismos fueron muy diferentes, mostrando así la formación de los citados complejos a partir de disoluciones acuosas equimolares de los sistemas (*S*-18c6H<sub>4</sub>)-(L-SerH<sup>+</sup>) o (*S*-18c6H<sub>4</sub>)-(D-SerH<sup>+</sup>) y pudiéndose concluir el **reconocimiento molecular quiral del éter corona (*S*-18c6H<sub>4</sub>) por la L-SerH<sup>+</sup> respecto a la D-SerH<sup>+</sup>**.

### ***Perspectivas:***

Finalmente, se comentará brevemente algo referente a las perspectivas del trabajo relacionado con esta tesis que está previsto ser llevado a cabo por la doctoranda durante los 6 meses del contrato puente postdoctoral que le ha sido concedido por la UJA, dentro de su Plan Propio de I+D+i, una vez que la tesis haya sido presentada con éxito. Dicho trabajo estará básicamente centrado en tratar de conseguir la finalización y publicación de los diferentes asuntos pendientes de conclusión y de los que se ha hablado en los apartados que correspondía de esta memoria.

- 1) Para el compuesto  **$\gamma$ -terpineno**, se llevará a cabo la comparación de los espectros IR (incluyendo FarIR) y Raman registrados en fase gas (solo IR, Synchrotron Soleil de París), líquida y sólida (ambas en la Universidad de Jaén), para estudiar la influencia que sobre la estructura y los **espectros vibracionales y rotacionales** tiene el entorno: **cambios producidos** cuando pasamos de la fase gas (espectros microondas y FarIR) a distintas disoluciones (distintos disolventes) y a estado sólido.
- 2) Para la **pulegona**, el paso que resta dar es el estudio de su **quiralidad molecular en fase gas** mediante el análisis de sus dos enantiómeros (el *R* y el *S*), usando para ello la técnica de microondas *three wave mixing*, que, como ya se dijo con anterioridad, en los últimos años está probando ser exitosa para el logro de dicho objetivo, dentro del propio grupo de investigación de Hamburgo con el que se está colaborando en este trabajo.

- 3) En el caso del **alcanfor**, se terminarán de completar los registros que restan por hacer, fundamentalmente, una **muestra ciega con exceso enantiomérico desconocido**, mediante interpolación del  $\Delta$ Abs. de algunas de sus bandas a partir de las regresiones lineales obtenidas anteriormente con muestras de mezclas de proporciones conocidas de sus dos enantiómeros, para poder así tratar de determinar el exceso enantiomérico de la misma, tanto en disolución como en fase sólida (suspensiones en nujol). Este último experimento probaría la eficacia de la metodología desarrollada y podría abrir una puerta de aplicación en el campo de la quiralidad para el análisis cuantitativo de excesos enantioméricos en muestras sólidas (suspensiones en nujol) mediante el uso de la técnica VCD.
- 4) En cuanto a los dos polimorfos del 1*H*-benzotriazol, **BZTRAZ** y **BZTRAZ01**, queda por terminar el análisis IR (incluyendo FarIR), Raman y VCD de muestras de los cristales de BZTRAZ, obtenidas por recristalización en nitrometano y tolueno, así como el correspondiente análisis de BZTRAZ01 y de algunas muestras que contienen una mezcla de ambos polimorfos.
- 5) El estudio del 2-propil-1*H*-benzimidazol (**OHUZUO**) será completado realizando más registros VCD de distintas muestras recristalizadas. También se quiere intentar aplicar la metodología de cristalización utilizada más recientemente en la recristalización de YODJIM y YODJOS (que tan buenos resultados ha proporcionado con ellos, al permitir obtener cristales con los enantiómeros contraparte de los que hubieron sido obtenidos mediante sublimación), esto es, recristalizar los cristales en un disolvente adecuado (podría ser quizás también la acetona, como en el caso de YODJIM y YODJOS) y eliminar después el mismo usando un agitador magnético y un flujo de N<sub>2</sub>, para comprobar si así se obtienen cristales que pudieran dar alguna respuesta quiral distinta a la obtenida hasta ahora, en los múltiples casos de cristales estudiados y obtenidos por diferentes vías de cristalización, como ya se explicó en el lugar correspondiente de esta memoria. Asimismo, se tratará de finalizar el estudio relativo a los distintos polimorfos que aparecen al variar la temperatura de los cristales de partida existentes a temperatura ambiente.
- 6) Finalmente, se llevarán a cabo los registros de los espectros IR y VCD experimentales de películas delgadas formadas a partir de disoluciones acuosas equimolares del éter corona (*all*)-*S*-18c6H<sub>4</sub> y de los enantiómeros *L* y *D* de la cisteína protonada (CysH<sup>+</sup>), para comprobar

de esta forma **si el receptor *S*-18c6H<sub>4</sub> tiene alguna preferencia enantiomérica selectiva por *L*-CysH<sup>+</sup> o *D*-CysH<sup>+</sup>**. Adicionalmente, en este caso se pretende ir más allá de lo que se ha hecho en esta tesis para el caso de la serina y estudiar también la posible preferencia enantiomérica del otro enantiómero del referido éter corona, esto es, del (*all*-*R*)-18c6H<sub>4</sub>, por una de las dos formas enantioméricas (*L* y *D*) de la cisteína protonada (CysH<sup>+</sup>).



# ENGLISH SUMMARY

---



## ENGLISH SUMMARY

### 1. Motivations

**Chirality** is present in the most important processes **related with life** as we know it currently [1]. From the formation of the first chiral molecules in the primitive universe (**origin of life**) to the chiral **molecular recognition** processes at molecular level [2].

Traditionally, one of the most powerful tools to characterize molecular systems in different matter phases has been the **vibrational spectroscopy, IR and Raman** techniques being its classic side. They have been developed to a great degree to analyze chiral systems in condensed phases thanks to the commercialization during the last decade of their sensible to chirality techniques, that is, the **Vibrational Circular Dichroism (VCD)** and the Raman Optical Activity (ROA), respectively [3]. In addition, **the implementation of theoretical computational methods** by Stephens *et al.* [4] has contributed to the extended use of these techniques, since these methods allow the simulation of chiroptical properties of the above mentioned systems.

From a chemical point of view, I can divide into **three big groups** the systems studied in this doctoral thesis. First, systems with **“per se” or molecular chirality** are included. Second, molecular aggregates which present chiroptical properties in terms of chiral supramolecular organizations. Moreover, this **supramolecular** chirality can arise spontaneously due to the existence of **non-covalent interactions** among achiral or chiral monomeric subunits [5,6]. If the monomers are achiral we could have the case of **spontaneous resolution**. Supramolecular chirality can also be **induced**, for instance, in a photochemical way [7], or by the presence of specific solvents [8], etc. Third, and related to the second group, it can be included the case of supramolecular chirality determined by the magnitude of the interaction between two isolated entities [2b], according to the **host-guest** model (enantioselective and enantiospecific chiral recognitions).

In all these cases, the sensitive to chirality vibrational technique (**VCD**) and the non-sensitive ones (**IR and Raman**), supported by high level quantum chemical calculations, are used as tools to accomplish the **conformational** and/or the configurational analysis, including the determination of the **absolute configuration** of the system under study.

In this PhD, I deal with (1) the study of some molecules with biological (**amino acids, carbohydrates and one alkaloid**) or atmospheric interest

(**terpenes**) which had not been fully characterized by the mentioned techniques and (2) the study of supramolecular aggregates in two research lines: on the one hand, (2.1) the **chiral recognition** processes between (***all-S***)-**18c6H<sub>4</sub> crown ether** and the **R/S**-enantiomers of **serine** amino acid (previously studied as an individual system) and (2.2) the determination of the absolute configuration of some **1*H*-indazole** derivatives in the solid phase. Additional works on the determination of **enantiomeric excess**, characterization of structures in gas phase by **rotational spectroscopy** and understanding the **aldo-enediolate tautomerism** by studying a carbohydrate model have also been carried out.

## 2. Objectives

The **aims** of this PhD are:

- 1) To obtain the most stable **conformations** and/or **configurations** of the selected molecular systems (**amino acids, carbohydrates, terpenes and one alkaloid**) in **solution** and/or **solid** phases, following a strategy adapted to the problem combining high level quantum chemical calculations and experimental data coming from IR-Raman-VCD spectroscopies.
- 2) To verify and understand the **spontaneous resolution phenomenon** of chiral structures using **1*H*-indazole** derivatives and **2-propyl-1*H*-benzimidazole** and **1*H*-benzotriazole** compounds as models, by means of a combination of theory and experiments. During this PhD, all the efforts have been focused on the experimental determination, supported by theory, of the configuration of the catemer present in the crystalline structure.
- 3) To determine the **enantiomeric excess** in **solution** and **solid** phase (nujol mull) for **camphor** using the **VCD** technique. This is a difficult task because it is necessary to develop an experimental (and theoretical) methodology to determine enantiomeric excesses in solid samples, which is not trivial.
- 4) To understand and clarify the **aldo-enediolate tautomerism of glycolaldehyde** in basic aqueous solutions. For this, a combination of Raman spectroscopy and high level quantum chemical calculations was used.
- 5) To characterize three **terpenes** by **rotational spectroscopy (microwave)** and one of them by **IR** spectroscopy in the **gas phase** (AILES beamline at synchrotron SOLEIL), also with the help of high level quantum chemical calculations.

- 6) To determine the conformational preferences and, especially, the **enantiomeric preferences** of the complexes formed between (***all-S***)-**18c6H<sub>4</sub>** crown ether and the ***R/S***-enantiomers of **serine** amino acid (previously studied as an individual system) in dried films formed from aqueous solutions. The strategy followed also combines quantum chemical calculations and IR-VCD techniques.

### 3. Summary of the works

The research of this doctoral thesis can be divided into two main blocks, as I said previously:

- 1) Chirality and conformational landscape of buildings blocks with biological and some atmospheric interest
- 2) Supramolecular chirality and molecular recognition
  - 2.1) Molecular recognition and enantiomeric preference
  - 2.2) Spontaneous resolution of 1*H*-indazole family

I explain each block below:

- 1) Chirality and conformational landscape of buildings blocks with biological and some atmospheric interest

Although the **spectroscopic techniques** and ***ab initio*** and **DFT computational chemistry** methods had been used to a great extension for the study of the structures of a variety of molecules with biological interest [9-12], there were aspects that had not been studied thoroughly, such as the analysis of the most stable cyclic (furanose and pyranose) and linear conformations of ***D***-**ribose** and **2-deoxy-*D***-**ribose** and hydrated aldehyde, aldehyde and dimeric forms of **glycolaldehyde**, including their conformational preferences [13,14]. The same occurs for the conformational preference of the zwitterionic, anionic and cationic forms of some **amino acids** [15-19]. For this reason, I carried out a detailed study of their **conformations** and **configurations** in **water** solution and **solid** phase (except for glycolaldehyde) by a combination of the mentioned nonchiroptical (**IR-Raman**) and chiroptical (**VCD**) techniques together with **DFT** (B3LYP and M06-2X) and **MP2** calculations.

1) Glycolaldehyde was analyzed experimentally only with **Raman** spectroscopy, due to its achirality and the weak Raman spectrum of water. In addition, its **aldo-enediolate tautomerism** in **basic** aqueous solutions was also studied, since there were not complete studies about it. In fact, our work

corrected much of the literature that provided erroneous results when an enediol structure was assigned in neutral medium.

2) In works on **D-ribose**, **2-deoxy-D-ribose** and **glycolaldehyde** a collaboration was carried out with Dr. Luis Miguel Azofra, Prof. Ibon Alkorta and Prof. José Elguero, from Instituto de Química Médica (CSIC, Madrid) [20], who carried out the computational part.

3) **Natural** and **racemic** forms of **colchicine** [21] were also characterized by DFT studies, NMR, IR, Raman and VCD techniques in collaboration with several groups from Universitat Autònoma de Barcelona, UNED (Madrid), UCM (Madrid) and CSIC (Madrid). This work was done like a small review with a dedication to Artur Bladé-Font.

4) The conformational analysis of certain **terpenes**, with not only biochemical interest [22] but also atmospheric one (as Biogenic Organic Volatile Compounds, BOVCs [23]) have also been studied due to the lack of their structure characterization by **microwave spectroscopy** in the **gas phase** [24].

The studies on **limonene oxide** and  **$\gamma$ -terpinene** could be carried out thanks to a stay of one month (May 2014) in Laboratoire PhLAM (Laboratoire de Physique des Lasers, Atomes et Molécules), UFR de Physique, Université des Sciences et Technologies de Lille in **Lille (France)**, thanks to economic support from the research group headed by **Prof. Thérèse Huet** through contract ANR-10-BLAN-724-5 NCPCHEM. The supervisors were **Dr. Juan Ramón Avilés Moreno** and Prof. Thérèse Huet. Thanks to them I could learn about molecular beam microwave Fourier transform (**MB-MWFT**) spectroscopy.

All these works can be found in the corresponding references. Below I sum the works that are not finished yet:

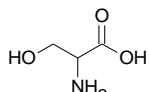
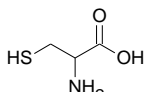
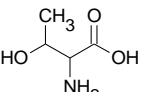
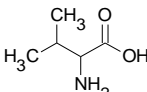
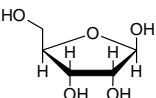
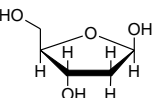
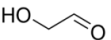
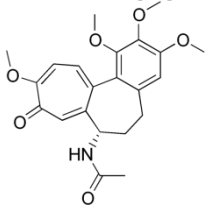
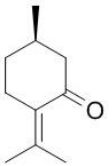
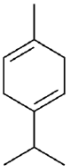
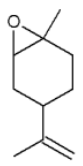

5) **Enantiomeric excesses** in **liquid** and **solid (nujol mulls)** phases were determined for **camphor** by a combination of **NMR** technique and **VCD** spectroscopy (see 5.3.6. section). Further checkings have to be carried out for the part in nujol mull. The determination of enantiomeric excesses in mulls by VCD technique would open an **application door** in the chirality field, since there are **no previous studies** about it.

6) As I mentioned previously, the recording of the **IR** spectrum in **gas phase** for  **$\gamma$ -terpinene** was also carried out (AILES beamline at **synchrotron SOLEIL**). The aim of this work is to be able to describe the **environmental influence** on the structure and the vibrational and rotational spectra: changes when molecules go from **gas phase** (microwave and FIR spectra) to **liquid**

phase and, later, to **solid** phase (IR and Raman spectra). The **discussion** of the work is **in progress**, although all the experimental and theoretical results are finished (see 5.3.4. section).

7) In the work about **pulegone**, our aim was to apply **chirality-sensitive broadband microwave spectroscopy** on the two enantiomers of this molecule and to analyze its rotational spectrum. The analysis of the **rotational spectrum** is **in progress**, the most stable conformer of pulegone (the equatorial one) has been identified in the rotational spectrum. With the combination of the broadband microwave spectroscopy and the three wave mixing technique it is possible to differentiate between enantiomers within a mixture of chiral molecules in gas phase. The **chiral study** in gas phase is also **in progress** (see 5.3.5. section).

The following table shows a summary of the studied systems specifying those in progress and, therefore, not finished yet:

<b>Amino acids*</b>			
<i>Published [16]</i>  <b>L-Serine</b>	<i>Published [18]</i>  <b>L-Cysteine</b>	<i>Published [17]</i>  <b>L-Threonine</b>	<i>Published [19]</i>  <b>L-Valine</b>
<b>Monosaccharides</b>			<b>Alkaloid</b>
<i>Published [14]</i>  <b>D-ribose</b>	<i>Published [14]</i>  <b>2-deoxy-D-ribose</b>	<i>Published [13]</i>  <b>Glycolaldehyde</b>	<i>Published [21]</i>  <b>(R<sub>8</sub>, 7S)-Colchicine</b>
<b>Terpenes</b>			
<i>Under analysis</i>  <b>R/S-Pulegone</b>	<i>Under analysis</i>  <b>γ-Terpinene</b>	<i>Published [24]</i>  <b>R-Limonene Oxide</b>	<i>Under analysis</i>  <b>R/S-Camphor</b>

**Table 1.** Molecular structures of the amino acids, monosaccharides, terpenes and the alkaloid studied in this doctoral thesis.

\*L-phenylalanine and L-tyrosine were also studied in their zwitterionic forms in the solid state (see ref. [15]).

Part of this last work on **pulegone** was realized during a stay of two months (May 12<sup>th</sup> to July 12<sup>th</sup>, 2015) in the Max-Planck Research Group "Structure and Dynamics of Cold and Controlled Molecules", Max-Planck-Institut für Struktur und Dynamik der Materie in **Hamburg (Germany)**, thanks to a Max Planck mobility grant within the Max Planck Prince of Asturias Mobility Programme for Spanish junior. The supervisor was **Dr. Melanie Schnell** and thanks to the help of all her group I could learn about **broadband microwave spectroscopy**.

## 2) Supramolecular chirality and molecular recognition

### 2.1) Molecular recognition and enantiomeric preference

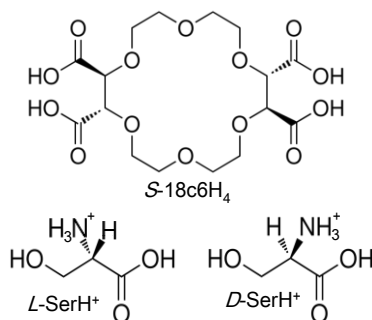
In this part, complexes between **(*all-S*)-18c6H<sub>4</sub> crown ether** and the **R/S**-enantiomers of **serine** amino acid (previously studied as an individual system) were studied, especially the stereoselective (or even enantiospecific) interactions [2,16,25]. A great variety of physical-chemistry and biochemical processes are involved in the host-guest molecular recognition processes [26]. It has been proved that the inclusion complexes which arise from these processes play an important role in supramolecular chemistry, especially in the interactions between the **host (crown ether)** and the **guest species (amino acids** for instance). If the guest and/or the host are chiral, **stereoselective interactions**, or even stereospecific ones, can take place. It can be obtained, for instance, a **chiral preference of *L*-amino acid relative to *D*-amino acid by the crown ether**.

This part was studied in collaboration with Prof. Bruno Martínez [27], who is expert in macrocyclic chemistry, particularly crown ethers. He has a broad experience in supramolecular recognition studies in gas phase [28-30].

Previous to the beginning of this PhD, the research group where I have done my doctorate carried out the **conformational analysis of the (*all-S*)-18c6H<sub>4</sub> crown ether** in different organic solvents [25].

To sum up, it was reported a combined **experimental** and **computational** study of the **chiral recognition** of the amino acid serine in protonated form (***L/D*-SerH<sup>+</sup>**), by the crown ether (*all-S*)-(18-crown-6)-2,3,11,12-tetracarboxylic acid (***S*-18c6H<sub>4</sub>**, see Fig. 1). Infrared and vibrational circular dichroism spectroscopies (**IR-VCD**) were employed to characterize the chiroptical response of the complexes formed by *S*-18c6H<sub>4</sub> with the *L*-SerH<sup>+</sup> and *D*-SerH<sup>+</sup> enantiomers in **dried thin films** obtained from **aqueous** solutions. The experimental spectra were analyzed in combination with a computational

structural survey and optimization at different levels of **density functional theory** [2b].



**Figure 1.** Molecular structure of the *S*-18c6H<sub>4</sub> crown ether and the two enantiomers of the protonated serine amino acid.

The theoretical study of the conformational landscape of the complexes formed between (*all-S*)-18c6H<sub>4</sub> crown ether and the two enantiomers of **cysteine** amino acid has been carried out, but some IR-VCD recordings have to be carried out to finish completely the study (see 6.2.4. section). In this case, I want to go further and also to analyze the complexes formed between (*all-R*)-18c6H<sub>4</sub> crown ether and the *R/S*-enantiomers of **cysteine**.

## 2.2) Spontaneous resolution of 1*H*-indazole family

### 2.2.a) 1*H*-indazole derivatives

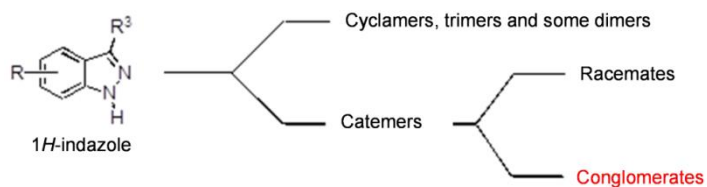
In these times, it is unknown how to design compounds with **spontaneous resolution**, but it is possible explain it by analogy. Some indazoles present a remarkable property: upon crystallization, **chiral supramolecular** structures are formed from **achiral monomers** in terms of **chiral helices or catemers**.

It is known that 1*H*-indazoles [5,6,31] crystallize in different structures as **dimers, cyclic trimers or catemers** (chains), in this last case by forming **helices** that can be of two types: *P* (right-handed helix) and *M* (left-handed helix). Both enantiomeric chains are usually found in the crystal (**racemates, centrosymmetric** crystallization group), but in some cases, the crystal contains only one chain (**conglomerates, non-centrosymmetric** crystallization group) [32]. When a compound crystallizes as a conglomerate (spontaneous resolution), it often means that the compound crystallizes as a catemer in which only one enantiomer is present in the unit cell for a given crystal that can be separated manually [32].;Error! Marcador no definido. In this doctoral thesis, I have focused on this case (see Fig. 2).

Although *M* and *P* enantiomers have the same probability to be formed, a **50:50 mixture** of crystals is **never formed** [33]; due to ripening processes related to the different size of the crystals, an enantiomer always predominates in each crystallization experiment. As the number of crystallizations becomes very large **the ratio** of the two enantiomers becomes **close to one**.

Therefore, these catemers of 1*H*-indazoles are good candidates to understand the spontaneous resolution phenomenon of chiral structures, that is, how a system is able to crystallize in a chiral structure where **one of the *P* or *M* helices is in excess** (enantiomeric excess, e.e.) [5,6,31]. It is important to stand out that the role of the **N-H...N hydrogen bonds** are crucial to understand the helicity of their crystalline structures.

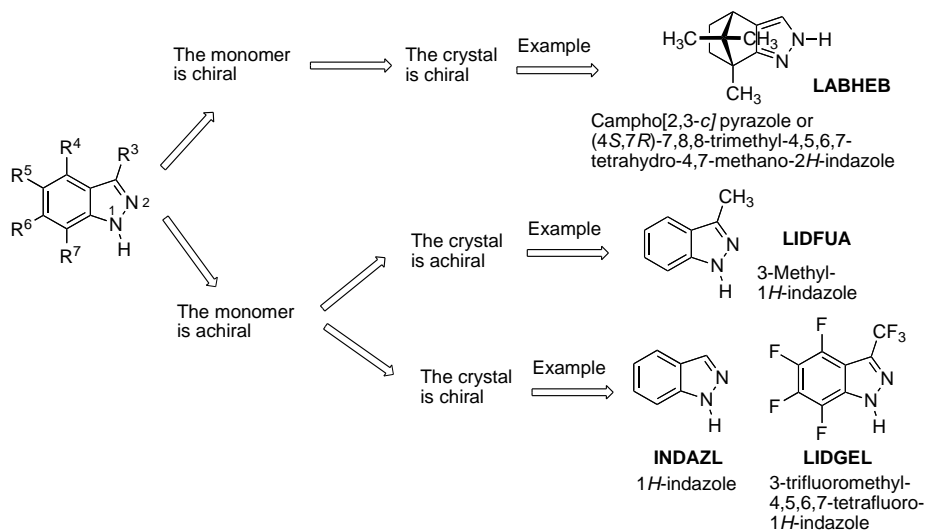
The difficulty of the structural analysis of this type of compounds is thus clear. A complete strategy is outlined to determine the structures and configurations (***M* or *P* helices**) of the enantiomers (helices) forming the conglomerates based on the different solid state vibrational spectroscopies that I have mentioned previously, that is, the sensitive (**VCD**) and not sensitive (**FIR, IR and Raman**) to chirality ones, together with quantum chemical calculations (**DFT**).



**Figure 2.** Scheme of the formation of different structures in the solid state of 1*H*-indazole and its derivatives.

The subject of spontaneous resolution of achiral molecules has become very relevant because it is related to the **origins of life** [1,5,32]. Moreover, 1*H*-indazoles are very relevant from the **medical** point of view [34].

Previous to the beginning of this doctoral thesis, the research group where I have done it analyzed the 1*H*-indazole (refcode **INDAZL**) [5]. In this thesis, the following compounds have been studied: 3-trifluoromethyl-4,5,6,7-tetrafluoro-1*H*-indazole (refcode **LIDGEL**) [6], (4*S*,7*R*)-7,8,8-trimethyl-4,5,6,7-tetrahydro-4,7-methano-2*H*-indazole (refcode **LABHEB**) [35] and 3-methyl-1*H*-indazole (refcode **LIDFUA**) [6]. **INDAZL** and **LIDGEL** form **conglomerates**, whereas **LIDFUA** crystals are **achiral** and **LABHEB** crystals are **chiral trimers**. The monomers of **INDAZL**, **LIDGEL** and **LIDFUA** are achiral, and the **LABHEB** ones are chiral (see Fig. 3).



**Figure 3.** Different possibilities found in 1*H*-indazoles crystals.

For this part of the work, it was necessary the **collaboration** of Profs. José Elguero and Ibon Alkorta (computational part) from Instituto de Química Médica (CSIC, Madrid) [36], and Profs. Rosa Claramunt and Concepción López (synthesis and sample preparation), from Departamento de Química Orgánica (UNED, Madrid) [37]. They have a broad experience in the synthesis and characterization of indazoles [38-40].

Other studied 1*H*-indazole derivatives are 3-(perfluoroethyl)-4,5,6,7-tetrafluoro-1*H*-indazole (refcode **YODJIM**) and 3-(perfluoropropyl)-4,5,6,7-tetrafluoro-1*H*-indazole (refcode **YODJOS**) [31]. They crystallize as **conglomerates** (achiral monomers). The same procedure was carried out for them, with the additional study of the crystalline structures by solid state **NMR** technique (Rosa M. Claramunt) and by **X-ray crystallography** by Michel Etienne and his group, from Laboratoire de Chimie de Coordination du CNRS (LCC), in Toulouse (France).

These studies **open a door** to the study of spontaneous resolution of achiral molecules. In this last study, the absolute configuration of the crystalline structures could be determined by VCD and X-ray crystallography and even, the absolute configuration of the **two enantiomeric helices (*P* and *M*) for each compound with the VCD technique**. We have provided a useful methodology for studying this kind of systems.

### 2.2.b) 1*H*-benzotriazole

Looking for another example of spontaneous resolution, **two polymorphs** of 1*H*-benzotriazole are studied,  $\alpha$  and  $\beta$  ones.  $\alpha$  polymorph crystallizes in a non-centrosymmetric crystallization group and  $\beta$  in a centrosymmetric one, the first one being **chiral** and forming conglomerates (refcode **BZTRAZ**) and the second one **achiral** (refcode **BZTRAZ01**). The two polymorphs are characterized by **X-ray crystallography, solid state NMR and IR-Raman-VCD** spectroscopies, together with **quantum chemical calculations**. Once again, collaboration with Prof. José Elguero, Prof. Ibon Alkorta and Prof. Rosa Claramunt was necessary, with the additional help in this case of Maria Gdaniec, Fco. Javier Zúñiga, Dolores Santa María and Felipe Reviriego. All the results obtained up to now for this work can be seen on 6.1.4. section. They are in progress and, therefore, the work is not finished.

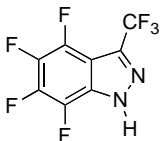
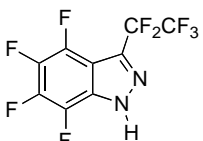
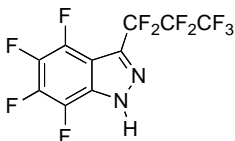
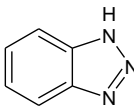
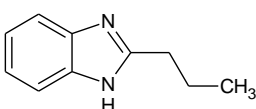
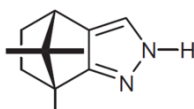
### 2.2.c) 2-propyl-1*H*-benzimidazole

Additionally, 2-propyl-1*H*-benzimidazole (refcode **OHUZUO**) compound is being studied in a collaboration work with Prof. José Elguero, Prof. Ibon Alkorta and Prof. Rosa Claramunt again and with the additional help of Pilar Cabido (sample preparation), Aurora J. Cruz-Cabeza (calculations) and Francisco J. Zúñiga (X-ray crystallography).

According to X-ray crystallography, this compound **should be achiral**, because *P* and *M* helices are present in equal amounts in the crystal. But I recorded the VCD spectra of a variety of samples of different nature and crystallization origins and they **always resulted in identical VCD spectra** (the same enantiomer was always in excess). We tried to explain it by quantum chemical calculations with the help of Aurora Cruz-Cabeza, who carried out **PBC** (periodic boundary conditions) **calculations** for them by reproducing the experimental IR and VCD spectra. We were able to conclude that the origin of the chirality in this structure related to the **packing of the hydrogen-bonded chains**, but we do not know why an enantiomeric excess of the same enantiomer was always obtained. For this reason, this work is still in progress (see 6.1.5. and 6.1.6. sections).

We want to carry out more VCD recordings of different recrystallized samples and a successful method used in **YODJIM** and **YODJOS** work, *i.e.*, to recrystallize the crystals in a solvent by removing the solvent using a magnetic stirrer and a N<sub>2</sub> flow.

In the following table the molecular structures of the 1*H*-indazole derivatives, 2-propyl-1*H*-benzimidazole and 1*H*-benzotriazole compounds are shown.

<b>1<i>H</i>-indazoles derivatives</b>		
<p><i>Published [6]</i></p>  <p><b>LIDGEL</b> <math>P_{3_2}</math> catemer</p>	<p><i>Published [31]</i></p>  <p><b>YODJIM</b> <math>P_{3_2}</math> catemer</p>	<p><i>Published [31]</i></p>  <p><b>YODJOS</b> <math>P_{2_12_12_1}</math> catemer</p>
<b>1<i>H</i>-benzotriazole</b>	<b>2-propyl-1<i>H</i>-benzimidazole</b>	<b>1<i>H</i>-indazole derivative</b>
<p><i>Under analysis</i></p>  <p><b>BZTRAZ</b> <math>P_{2_1}</math> catemer</p>	<p><i>Under analysis</i></p>  <p><b>OHUZUO</b> <math>P_{2_12_12_1}</math> catemer</p>	<p><i>Published [35]</i></p>  <p><b>LABHEB</b> <math>P_{2_1}</math> chiral trimers</p>

**Table 2.** Structures of the studied or in progress 1*H*-indazole derivatives, 1*H*-benzotriazole and 2-propyl-1*H*-benzimidazole.

#### 4. Conclusions

- 1) Chirality and conformational landscape of buildings blocks with biological and some atmospheric interest

##### a) Amino acids

The **conformational preferences** of *L*-Phe, *L*-Tyr, *L*-Ser, *L*-Threo, *L*-Cys and *L*-Val at different protonation states have been studied from theoretical and experimental points of view. Thus, on the one side, the **complex energy surfaces** of the molecular systems were described correctly using quantum chemical calculations. On the other side, we have recorded the **IR, Raman and VCD** spectra of these amino acids (only IR and Raman for *L*-Phe, *L*-Tyr and *L*-Ser) in **aqueous solution at different pH values** as well as in the **solid state** (*L*-Phe and *L*-Tyr only in the solid state, *i.e.*, zwitterion). The spectra at different pH conditions displayed quite distinct features. For this reason, we focused on the zwitterionic, cationic and anionic forms of these amino acids that exist at pH values of 6.00 (neutral), 1.00 (strongly acid) and 13.00 (strongly basic), respectively.

In all the cases, PCM formalism was used to take into account the solvent effects, except in the case of *L*-Val, where DFT calculations in **PCM–water** (implicit model) and in **PCM plus water explicit molecules** (hybrid model) were accomplished. They allowed us to highlight properly the differences in the ability for predicting the experimental spectra using one and another theoretical approach. Thus, the agreements between the recorded and simulated IR, Raman, and VCD spectra were **noticeably improved** with the inclusion of the **valine-water hydrogen-bonding interactions**; this combined use of both models (implicit plus explicit) for the treatment of the solvent influence was especially relevant for the reproduction of the complex VCD signatures.

## b) Carbohydrates

### *D*-ribose and 2-deoxy-*D*-ribose

The most stable set of conformers of each form of *D*-ribose and 2-deoxy-*D*-ribose was determined thanks to an exhaustive analysis of the quantum chemical calculations. Five possible configurations for both carbohydrates were studied: **open-chain**,  **$\alpha$ -pyranose**,  **$\beta$ -pyranose**,  **$\alpha$ -furanose**, and  **$\beta$ -furanose** forms. A large number of conformational minima were obtained, especially for the open-chain configurations. In the two molecules studied, the  **$\alpha$ -pyranose conformers are the most populated**, followed by the  $\beta$ -pyranose ones. Only B3LYP results indicate the presence of significant populations of open chain and furanose forms, in contrast with the results obtained using the M06-2X hybrid functional.

According to our results for these types of molecules, the **M06-2X functional is recommended, instead of the B3LYP** one, in order to obtain better results with regard to the estimation of their relative populations and the interpretation of their IR, VCD, and Raman spectra.

The experimental and theoretical spectra agree well for both carbohydrates. The implicit model reproduces well the experimental spectra, but there are some spectral regions in which the **agreement is improved** when an **explicit molecule of water** is added to continuum solvent calculations.

The **IR, Raman and VCD** spectra in solution and in solid phase show evidence of the **major presence of  $\alpha$ - and  $\beta$ -pyranose forms**, with the first ones in major proportion as much for *D*-ribose as for 2-deoxy-*D*-ribose, with an  **$\alpha/\beta$  ratio of 3:1**, approximately, according to the theoretical calculations. Besides, IR-Raman spectroscopies throw light on the presence of open-chain forms in solution in the case of 2-deoxy-*D*-ribose, because of the presence of a weak band at 1650 cm<sup>-1</sup>. By VCD technique the existence of **open-chain** forms

was not rechecked because of too weak VCD signals. Furanose forms could be present, but it was not possible to observe **any spectral feature** which could be unambiguously assigned to the presence of **furanose** structures.

A general contribution of the shown studies ( a) amino acids and b) carbohydrates) is the illustration of that chiroptical (VCD) and non-chiroptical (IR–Raman) techniques in combination with quantum chemical calculations are an **attractive methodology** to explore the structural behavior of **highly flexible chiral biological molecules** and their conformational distributions in an aqueous environment.

### Glycolaldehyde

We have conducted the **first Raman spectroscopic study**, combined with **high-level quantum chemical calculations**, of the aldo-enediol and **aldo-enediolate tautomerisms** of glycolaldehyde, the simplest sugar related molecule.

The recorded Raman spectra of aqueous solutions of glycolaldehyde at **neutral and basic pH values** displayed quite distinct features. For this reason, the study was focused on the **vibrational modes** associated to them, which were closely related to the formation of enediol/enediolate, the increase in the concentration of aldehyde forms and the decrease in the amount of hydrated aldehyde and dimer structures of glycolaldehyde, namely, the C=C, C=O, C-C and C-O stretchings, CH<sub>2</sub> scissoring and COH bending normal modes, among others.

**High-level *ab initio* calculations (MP2/aug-cc-pVDZ)** allowed us to properly explain the spectral differences, since the theoretical spectra agreed well with the experimental ones. On the one hand, the glycolaldehyde molecule exists as three different structures in **aqueous solution at neutral pH**, that is, **hydrated aldehydes, aldehydes and dimers, with a respective ratio of 4:0.25:1**, approximately. On the other hand, together with the previous proportion of **hydrates and dimers, a ratio of .1.5:1 aldehyde:Z-enediolate** was enough to reproduce the experimental Raman spectrum in **basic** medium. Through this analysis, the complex energy surface of the system under study was correctly described. We conclude that **aldo-enediol tautomerism never happens via neutral medium**; however, the inclusion of a **basic reagent** promotes the existence of aldo-enediolate tautomerism.

In addition, this methodology can also be useful for the study of the **enolization of other carbohydrates** and for the exploration of their conformational landscapes.

### c) Terpenes

#### ***R*-(+)-limonene oxide, *R*-(+)-pulegone and $\gamma$ -terpinene**

Systematic and detailed conformational studies using **microwave spectroscopy** for *R*-(+)-limonene oxide, *R*-(+)-pulegone and  $\gamma$ -terpinene in the **gas phase** have been accomplished for the first time. Analysis of the experimental data aided by **high-level quantum chemical calculations** allowed us to characterize the conformational landscapes of these relevant atmospheric species. For limonene oxide, four equatorial and one axial conformations were identified, referring the position of the isopropenyl group. The observed conformers include *cis* and *trans* forms. For pulegone, one equatorial conformer was detected. In the case of  $\gamma$ -terpinene, two equatorial conformers were found.  $\gamma$ -Terpinene was also studied by **IR** and **Raman** spectroscopies in the **gas** (only IR), **liquid** and **solid** phases, also finding that these two conformers were present.

For **limonene oxide**, the observation of an axial conformer with similar abundance as some equatorial conformers **challenges assumptions** that equatorial forms are generally more stable, and reflects the delicate balance of forces at play in limonene oxide, which include attractive interactions involving the epoxide ring, dispersive interactions involving the isopropenyl group, and steric effects.

#### ***R/S*-Camphor**

We recorded the **NMR** and **VCD** spectra in **CCl<sub>4</sub> solution** and VCD ones in **nujol mulls** of mixtures of ***R/S*-camphor** with **different enantiomeric excesses**. Linear regressions were carried out by plotting  $\Delta$ Abs. vs. enantiomeric excess. For solution, results from NMR and VCD agree. For nujol mulls, preliminary VCD results show a reasonable linear response. The VCD analysis in nujol mulls need to be checked but the results are promising. The work is not finished because we want to interpolate the  $\Delta$ Abs. of a sample with unknown % ee in the linear regressions in solution and in the solid state. The main result concerns the **determination of enantiomeric excess of solid samples**, camphor in this case, which would be of interest for many other systems presenting chirality in the solid state.

## d) Colchicine (alkaloid)

The **IR**, **Raman** and **VCD** spectra of four samples of colchicine (**two racemic and two (-)-samples**) were recorded in **solution** as well as in the **solid** state, and all bands, excluding overtones and combinations, were assigned based on scaled **B3LYP/6-311++G(d,p)** calculations. Eventually, we compared the VCD spectra recorded in  $\text{CHCl}_3$  and nujol/fluorolube mulls with those calculated for the four samples studied in this work. That comparison allowed the determination of the **absolute configuration** of colchicine crystals as well as its configuration in solution.

### 2) Supramolecular chirality and molecular recognition

#### 2.1) Molecular recognition and enantiomeric preference

A combination of **IR and VCD** spectroscopies with **quantum chemical computations** has been employed to characterize the microscopic framework underlying the chiral recognition of the **protonated serine** by the crown ether host (***all-S***)-**18c6H<sub>4</sub>**. The study has been focused on some of the vibrational modes more closely related to the **host-guest H-bonding interactions**, namely, the C-O and C=O stretching modes, and on the C-O-H bending mode. While the IR spectra of the (*S*-18c6H<sub>4</sub>)-(L-SerH<sup>+</sup>) and (*S*-18c6H<sub>4</sub>)-(D-SerH<sup>+</sup>) complexes show minor differences from each other, their corresponding **VCD spectra display quite distinct features**. This finding has allowed us to monitor the **chiral recognition of L-SerH<sup>+</sup> relative to D-SerH<sup>+</sup>** by the crown ether: the chiroptical response recorded for a thin film obtained from a solution equimolar in the crown ether and in each of the two serine enantiomers leads to a VCD spectrum resembling the complex of L-SerH<sup>+</sup>.

The computations performed at different levels of density functional theory (B3LYP and M062X functionals) predict low energy conformers in which the crown ether maintains a roughly bowl-like shape. The docking of the protonated serine then involves a **tripodal coordination of its R-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>** protonated amine group with the **oxygen atoms of the central ether ring**, and of its -COH and -COOH end groups with the side carboxylic arms of the crown ether. The most stable theoretical conformations for the complex of each serine enantiomer (01L and 01D in Figure 2 of the article) lead to simulated IR and VCD spectra in **good agreement with experiments**. Importantly, the computation corroborates the preferential binding of L-SerH<sup>+</sup> by *S*-18c6H<sub>4</sub> and attributes the chiral recognition to the formation of **host-guest H-bonds** with **favorable distances and orientations**.

A general contribution of the present study has been the illustration of the potential of the **combination of IR-VCD** spectroscopies and **computational techniques** for the elucidation of the conformational landscape of flexible **chiral molecules** and their **H-bonded** networks in complexes with specific **enantiomeric guests**. We hope that this contribution encourages further work in this direction on related **inclusion supramolecular systems**.

## 2.2) Spontaneous resolution of 1*H*-indazole family

### a) 1*H*-indazole derivatives

Polycrystalline samples of **LIDGEL**, **YODJIM** and **YODJOS** have been studied in detail by a combination of **X-ray crystallography** (except for LIDGEL), solid state **NMR** techniques (except for LIDGEL), non sensitive (**IR and Raman**) and sensitive (**VCD**) to chirality vibrational spectroscopies, and quantum chemical calculations. The analysis of low-frequency region (700-30 cm<sup>-1</sup>) in the FarIR and Raman spectra deserves a special mention since it has been of valuable importance to determine the presence of catemers in the crystals of these compounds.

After a detailed analysis of their VCD spectra, we concluded that the configurations of the catemers corresponding to **YODJIM** and **YODJOS** were **M** and **P** helices, respectively, when the crystals were obtained by repeated **sublimations**, and the **opposite P** and **M** helices when a recrystallization in acetone by removing the solvent using a **magnetic stirrer** and a **N<sub>2</sub> flow** was used. Although dimer, trimer, tetramer and pentamer models predicted adequately the experimental FarIR, MIR, Raman and VCD spectra of crystals of YODJIM and YODJOS, the **pentamer model** improved the agreement significantly. In the case of **LIDGEL**, we concluded that the configuration of the catemer was a **P helix**. In addition, the experimental spectra were also better reproduced by the calculated highest-molecular-weight oligomer, *i.e.*, tetramers.

With this technique well in hand, it should be possible to select a single crystal, increase its size by crystal growth, and then determine its **absolute configuration**. This work illustrates the importance of using **synergistically** different solid state experimental techniques, such as **NMR, IR, Raman** and **VCD**, combined with **quantum chemical calculations** for the elucidation of the structures and the chirality, including the **absolute configurations**, of crystalline supramolecular organizations.

For **LABHEB**, a similar methodology was followed, by using IR (including FarIR), Raman and VCD spectroscopies. **Trimers** were the only ones present in

the **crystal**. Our results are in agreement with the absolute configuration previously determined for this species from crystallographic and solid CPMAS NMR studies. The **solution** spectra showed a major proportion of **monomers**, especially for the most dilute solutions, but evidence of possible oligomeric structures was found for the more concentrated solutions. The analysis of the **low frequency** region ( $700\text{-}25\text{ cm}^{-1}$ ) in the Raman and Far-IR spectra provided **important information** in order to determine the presence of trimers in the solid phase.

### b) 1*H*-benzotriazole

$\alpha$  **polymorph** of 1*H*-benzotriazole compound (**BZTRAZ**) has also been characterized by a combination of solid state **NMR** techniques, non sensitive (**IR and Raman**) and sensitive (**VCD**) to chirality vibrational spectroscopies, and quantum chemical calculations. After a detailed analysis of its VCD spectra, we concluded that the absolute configuration of the catemer corresponding to  $\alpha$  **polymorph** is **M helix**.

### c) 2-propyl-1*H*-benzimidazole

For this compound, we followed the same strategy above mentioned, *i.e.*, **IR** (including **FarIR**), **Raman** and **VCD**, together with quantum chemical calculations. We could conclude that the origin of the chirality in this structure related to the **packing of the hydrogen-bonded chains**, but we do not know why an enantiomeric excess of the same enantiomer was always obtained. For this reason, this work is still in progress.

## 5. References

- 
- [1] A. G. Cairns-Smith, *Seven Clues to the Origin of Life*, Cambridge University Press, Cambridge, 1985.
- [2] a) C. Merten, M. H. Hyun, Y. Xu, *Chirality* **25**, 294–300 (2013); b) J. R. Avilés-Moreno, M. M. Quesada-Moreno, J. J. López-González, B. Martínez-Haya, *J. Phys. Chem. B* **117**, 9362–9370 (2013); c) Y. Machida, M. Kagawa, H. Nishi, *J. Pharm. Biomed. Anal.* **30**, 1929–1942 (2003); d) H. Nagata, H. Nishi, M. Kamiguchi, T. Ishida, *Chem. Pharm. Bull.* **54**, 452–457 (2006).
- [3] L. A. Nafie, *Vibrational Optical Activity. Principles and Applications*, Wiley, New York, 2011.

- [4] a) P. J. Stephens, F. J. Devlin, C. F. Chabalowski, M. J. Frisch, *J. Phys. Chem.* **98**, 11623–11627 (1994); b) J. R. Cheeseman, M. J. Frisch, F. J. Devlin, P. J. Stephens, *Chem. Phys. Lett.* **252**, 211–220 (1996).
- [5] J. J. L. González, F. P. Ureña, J. R. A. Moreno, I. Mata, E. Molins, R. M. Claramunt, C. López, I. Alkorta, J. Elguero, *New J. Chem.* **36**, 749–758 (2012).
- [6] J.R. Avilés-Moreno, M. M. Quesada-Moreno, J. J. López-González, R. M. Claramunt, C. López, I. Alkorta, J. Elguero, *ChemPhysChem* **14**, 3355–3360 (2013).
- [7] a) R. M. Tejedor, L. Oriol, J. L. Serrano, F. Partal, J. J. López González, *Adv. Funct. Mater.* **17**, 3486–3492 (2007); b) J. R. Avilés, F. Partal, J. J. López González, F. Vera, M. B. Ros, T. Sierra, *J. Phys. Chem. B* **116**, 5090–5096 (2012).
- [8] E. Debie, P. Bultinck, W. Herrebout, B. van der Veken, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **10**, 3498–3508 (2008).
- [9] M. Eugenia Sanz, A. Lessari, M. Isabel Peña, V. Vaquero, V. Cortijo, J. C. Lopez, J. L. Alonso, *J. Am. Chem. Soc.* **128**, 3812–3817 (2006).
- [10] <http://www-lfp.cca.fr/>
- [11] W. Chin, F. PiuZZi, I. Dimicoli, M. Mons, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **8**, 1033–1048 (2006).
- [12] P. Çarçal, I. Huenig, D. P. Gamblin, B. Liu, R. A. Jockusch, R. T. Kroemer, L. C. Snoek, A. J. Fairbanks, B. G. Davis, J. P. Simons, *J. Am. Chem. Soc.* **128**, 1976–1981 (2006).
- [13] M. M. Quesada-Moreno, L. M. Azofra, J. R. Avilés-Moreno, I. Alkorta, J. Elguero, J. J. López-González, *J. Phys. Chem. B* **117**, 14599–14614 (2013).
- [14] L. M. Azofra, M. M. Quesada-Moreno, I. Alkorta, J. R. Avilés-Moreno, J. Elguero, J. J. López-González, *ChemPhysChem* **16**, 2226–2236 (2015).
- [15] J. R. Avilés-Moreno, M. M. Quesada-Moreno, F. Partal Ureña, J. J. López González, *Tetrahedron: Asymmetry* **23**, 1084–1092 (2012).
- [16] M. M. Quesada-Moreno, J. R. Avilés-Moreno, A. Á. Márquez-García, F. Partal-Ureña, J. J. López González, *J. Mol. Struct.* **1046**, 136–146 (2013).
- [17] M. M. Quesada-Moreno, A. Á. Márquez-García, J. R. Avilés-Moreno, J. J. López-González, *Tetrahedron: Asymmetry* **24**, 1537–1547 (2013).
- [18] M. M. Quesada-Moreno, J. R. Avilés-Moreno, A. Á. Márquez-García, J. J. López González, *J. Mol. Model.* **20**, 2229 (2014).

- 
- [19] M. M. Quesada-Moreno, J. R. Avilés-Moreno, J. J. López González. *Tetrahedron: Asymmetry* **26**, 1314–1327 (2015).
- [20] <http://are.iqm.csic.es/>
- [21] A. Virgili, M. M. Quesada-Moreno, J. R. Avilés-Moreno, J. J. López-González, M. Á. García, R. M. Claramunt, M. R. Torres, M. L. Jimeno, F. Reviriego, I. Alkorta, J. Elguero, *Heb. Chim. Acta* **97**, 471–490 (2014).
- [22] K.-H Wagner, I. Elmadfa, *Ann Nutr. Metab.* **47**, 95–106 (2003).
- [23] R. Atkinson, J. Arey, *Atmos. Environ.* **37**, 197–219 (2003).
- [24] M. M. Quesada-Moreno, D. Loru, J. R. Avilés-Moreno, N. Jarman, T. R. Huet, J. J. López-González, M. E. Sanz. *ChemPhysChem*, accepted November 2016, DOI 10.1002/cphc.201600991R1
- [25] J. R. Avilés Moreno, F. Partal Ureña, J. J. López González, F. Gámez, B. Martínez-Haya, *Tetrahedron-Asymmetry* **23**, 294–299 (2012).
- [26] J. Wang, *J. Am. Chem. Soc.* **132**, 6611–6611 (2010).
- [27] <https://www.upo.es/depa/webdex/quimfis/bruno/bmhesp.htm>
- [28] B. Martínez Haya, P. Hurtado, A. R. Hortal, S. Hamad, J. D. Steill, J. Oomens, *J. Phys. Chem. A* **114**, 7048–7054 (2010).
- [29] F. Gámez, P. Hurtado, B. Martínez Haya, G. Berden, J. Oomens, *Int. J. Mass. Spectrom.*, **308**, 217–224 (2011).
- [30] P. Hurtado, F. Gámez, S. Hamad, B. Martínez-Haya, J. D. Steill, J. Oomens, *J. Phys. Chem. A* **115**, 7275–7282 (2011).
- [31] M. M. Quesada-Moreno, J. R. Avilés-Moreno, J. J. López-González, K. Jacob, L. Vendier, M. Etienne, I. Alkorta, J. Elguero, R. M. Claramunt, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **19**, 1632–1643 (2017).
- [32] J. Jacques, A. Collet, S. H. Wilen, *Enantiomers, Racemates and Resolutions*, Krieger Publishing Co, Malabar, 1994.
- [33] J. S. Siegel, *Chirality* **10**, 24–27 (1998).
- [34] X. Chen, M. F. Sassano, L. Zheng, V. Setola, M. Chen, X. Bai, S. V. Frye, W. C. Wetsel, B. L. Roth, J. Jin, *J. Med. Chem.* **55**, 7141–7153 (2012).
- [35] M. M. Quesada-Moreno, J. R. Avilés-Moreno, J. J. López-González, R. M. Claramunt, C. López, I. Alkorta, J. Elguero, *Tetrahedron: Asymmetry* **25**, 507–515 (2014).
- [36] <http://are.iqm.csic.es/>
-

[37] <http://www.uned.es/dpto-quim-org-bio/rmcv/index.htm>

[38] M. Pérez-Torrallba, C. López, C. Pérez Medina, R. M. Claramunt, E. Pinilla, M. R. Torres, I. Alkorta, J. Elguero, *Cryst. Eng. Commun.* **12**, 4052–4055 (2010).

[39] C. Pérez-Medina, C. López, R. M. Claramunt, J. Elguero, *Eur. J. Org. Chem.* 890–899 (2010).

[40] R. M. Claramunt, C. López, A. López, C. Pérez-Medina M. Pérez-Torrallba, I. Alkorta, J. Elguero, G. Escames, D. Acuña Castroviejo, *Eur. J. Med. Chem.* **46**, 1439–1447 (2011).

# ANEXO

---



## GLOSARIO

- AC:** Absolute Configuration.
- AIM:** Atoms in Molecules.
- ATR:** Attenuated Total Reflectance.
- aug-cc-pVnZ:** augmented correlation-consistent and polarized valence *n*-zeta.
- AWG:** Arbitrary Waveform Generator.
- BCP:** Bond Critical Point.
- BO:** Born-Oppenheimer.
- BVOCs:** Biogenic Volatile Organic Compounds.
- CB:** Circular Birefringence.
- CBS:** Completed Basis Set.
- CC:** Coupled Cluster.
- CD:** Circular Dichroism.
- CICT:** Centro de Instrumentación Científico-Técnica.
- CP-FTMW:** Chirped-Pulse Fourier Transform Microwave spectrometer.
- DFT:** Density Functional Theory.
- e.e.:** exceso enantiomérico.
- ECD:** Electronic Circular Dichroism.
- FC:** Frozen Core.
- FID:** Free-Induction Decay.
- FIR:** Far Infrared.
- FT-IR:** Fourier Transform Infrared.
- FT-Raman:** Fourier Transform-Raman.
- Gn:** Gaussian-*n*.
- GTO:** Gaussian Type Orbital.
- HEAT:** High Accuracy Extrapolated Ab initio Thermochemistry.
- HF:** Hartree-Fock.
- IC:** Interacción de Configuraciones.
- IEF-PCM:** Integral Equation Formalism-Polarizable Continuum Model.
- IR:** Infrared.
- KS:** Kohn-Sham.
- L.C.A.O.:** Linear Combination of Atomic Orbitals.
- LB:** Lambert-Beer.
- LB:** Linear Birefringence.
- LCP:** Left Circularly Polarized.
- LDA:** Local Density Approximation.
- MM:** Molecular Mechanics.
- MPn:** Møller-Plesset.
- MW:** Microwave.
- NL/LDA:** Non-Local/Local Density Approximation.
- ORD:** Optical Rotatory Dispersion.
- Post-HF:** Post-Hartree-Fock.
- RHF:** Restricted Hartree Fock.
- RMN:** Resonancia Magnética Nuclear.
- ROA:** Raman Optical Activity.
- SCF:** Self-Consistent-Field.
- STO:** Slater Type Orbital.
- UHF:** Unrestricted Hartree-Fock.
- VA:** Vibrational Absorbance.
- VCD:** Vibrational Circular Dichroism.
- LIA:** Lock-In Amplifier.
- LP:** Linearly Polarized.
- MB-MWFT:** Molecular Beam-Microwave Fourier Transform spectrometer.
- MIR:** Mid Infrared.
- NBO:** Natural Bond Orbital.
- NIR:** Near Infrared.
- NP:** Non-Polarized.
- PBC:** Periodic Boundary Conditions.
- PEM:** Photoelastic Modulator.
- RCP:** Right Circularly Polarized.
- SEM:** Scanning Electron Microscope.
- SM8:** Solvation Model 8.
- SOAs:** Secondary Organic Aerosols.
- Wn:** Weizmann-*n*.
- ZPE:** Zero Point Energy.

## PRODUCCIÓN CIENTÍFICA

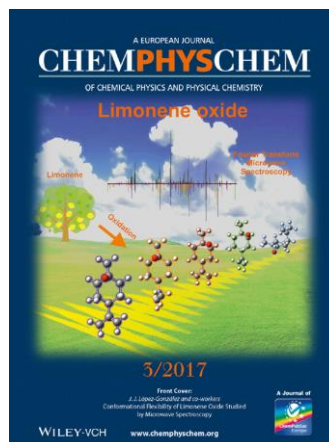
### Lista de publicaciones

16 publicaciones, 14 pertenecientes a revistas del JCR (recogidos en esta tesis doctoral) y 2 publicaciones llevadas a cabo durante la Licenciatura de Química:

1. **María Mar Quesada-Moreno, Donatella Loru, Juan Ramón Avilés-Moreno, Natasha Jarman, Thérèse R. Huet, Juan Jesús López-González, M. Eugenia Sanz.**

« *Conformational Flexibility of Limonene Oxide Studied by Microwave Spectroscopy.* »

*ChemPhysChem* aceptado Noviembre 2016. DOI 10.1002/cphc.201600991. Portada del número 03/2017.



2. **María Mar Quesada-Moreno, Juan Ramón Avilés-Moreno, Juan Jesús López-González, Kane Jacob, Laure Vendier, Michel Etienne, Ibon Alkorta, José Elguero, Rosa M<sup>a</sup> Claramunt.**

« *Supramolecular organization of perfluorinated 1H-indazoles in the solid state using X-ray crystallography, SSNMR and sensitive (VCD) and non sensitive (MIR, FIR and Raman) to chirality vibrational spectroscopies.* »

*Phys. Chem. Chem. Phys.* 19 (2017) 1632-1643.

3. **Luis Miguel Azofra, María Mar Quesada-Moreno, Ibon Alkorta, Juan Ramón Avilés-Moreno, José Elguero, Juan Jesús López-González.**

« *Understanding the Aldo-Enediolate Tautomerism of Glycolaldehyde in Basic Aqueous Solutions.* »

*ChemPhysChem* 16 (2015) 2226-2236.

4. **María Mar Quesada-Moreno, Juan Ramón Avilés-Moreno, Juan Jesús López-González.**

« *Structural behavior of neutral, protonated, and deprotonated l-valine in aqueous solutions: A combined study using chirality sensitive (VCD) and non sensitive (IR and Raman) vibrational spectroscopies and quantum chemical calculations.* »

*Tetrahedron: Asymmetry* 26 (2015) 1314-1327.

5. **María Mar Quesada-Moreno, Juan Ramón Avilés-Moreno, Ana África Márquez-García, Juan Jesús López-González.**

---

« *Molecular properties of zwitterionic, protonated, deprotonated and double deprotonated forms of L-cysteine by vibrational spectroscopy (IR, Raman, VCD) and quantum chemical calculations.* »

*Journal of Molecular Modeling*, 20 (2014), artículo n° 2229, págs. 1-15.

6. **María Mar Quesada-Moreno, Juan Ramón Avilés-Moreno, Juan Jesús López-González, Rosa M. Claramunt, C. López, Ibon Alkorta, José Elguero.**

« *Chiral self-assembly of enantiomerically pure (4S,7R)-campho[2,3-c]pyrazole in the solid state: a vibrational circular dichroism (VCD) and computational study* »

*Tetrahedron: Asymmetry* 25 (2014) 507–515.

7. **Albert Virgili, M. Mar Quesada-Moreno, Juan Ramón Avilés-Moreno, Juan Jesús López-González, M. Ángeles García, Rosa M. Claramunt, M. Rosario Torres, M. Luisa Jimeno, Felipe Reviriego, Ibon Alkorta, José Elguero.**

« *A Spectroscopic Study of Colchicine in the Solid State and in Solution by Multinuclear Magnetic Resonance and Vibrational Circular Dichroism* »

*Helv. Chim. Acta* 97 (2014) 471–490.

8. **Luis Miguel Azofra, María Mar Quesada-Moreno, Ibon Alkorta, Juan Ramón Avilés-Moreno, Juan Jesús López-González, José Elguero.**

« *Carbohydrates in the gas phase: conformational preference of D-ribose and 2-deoxy-D-ribose* »

*New J. Chem.* 38 (2014) 529-538.

9. **María Mar Quesada-Moreno, Luis Miguel Azofra, Juan Ramón Avilés-Moreno, Ibon Alkorta, José Elguero, Juan Jesús López-González.**

« *Conformational Preference and Chiroptical Response of Carbohydrates D-Ribose and 2-Deoxy-D-ribose in Aqueous and Solid Phases* »

*J. Phys. Chem. B* 117 (2013) 14599–14614.

10. **María Mar Quesada-Moreno, Ana África Márquez-García, Juan Ramón Avilés-Moreno, Juan Jesús López González.**

« *Conformational landscape of L-Threonine in neutral, acid and basic solutions from vibrational circular dichroism spectroscopy and quantum chemical calculations* »

*Tetrahedron: Asymmetry* 24 (2013) 1537-1547.

11. **Juan Ramón Avilés-Moreno, M. Mar Quesada-Moreno, Juan Jesús López-González, Bruno Martínez-Haya.**

« *Chiral Recognition of Amino Acid Enantiomers by a Crown Ether: Chiroptical IR-VCD Response and Computational Study* »

*J. Phys. Chem. B* 117 (2013) 9362–9370.

**12. J. R. Avilés Moreno, M. M. Quesada Moreno, J. J. López González, R. M. Claramunt, C. López, I. Alkorta, J. Elguero.**

« *Self-Assembly Structures of 1H-Indazoles in the Solution and Solid Phases: A Vibrational (IR, FIR, Raman, and VCD) Spectroscopy and Computational Study* »

*ChemPhysChem* 14 (2013) 3355-3360.

**13. M. Mar Quesada-Moreno, Juan Ramón Avilés-Moreno, Ana África Márquez-García, Francisco Partal-Ureña, Juan Jesús López González.**

« *L-Serine in aqueous solutions at different pH: Conformational preferences and vibrational spectra of cationic, anionic and zwitterionic species* »

*J. Mol. Struct.* 1046 (2013) 136–146.

**14. Juan Ramón Avilés Moreno, M<sup>a</sup> del Mar Quesada Moreno, Francisco Partal Ureña, Juan Jesús López González.**

« *Conformational preference of short aromatic amino acids from the FT-IR, FT-Raman and Far-IR spectroscopies, and quantum chemical calculations: L-phenylalanine and L-tyrosine* »

*Tetrahedron: Asymmetry* 23 (2012) 1084–1092.

**15. Profesora Natividad Ramos Martos y alumnos de las asignaturas “Química Analítica Avanzada” y “Química Analítica Alimentaria”, 3<sup>o</sup> y 4<sup>o</sup>, respectivamente, de la Licenciatura de Química, Universidad de Jaén.**

« *Experiencia multidisciplinar para la adquisición de competencias en seguridad alimentaria (I y II)* »

Colección Innovación Docente. I.S.B.N. 978-84-8439-624-6.

Depósito legal: J-494-2012. Área de Química Analítica. Departamento de Química Física y Analítica. Universidad de Jaén. Año: 2012.

**16. Profesora Paloma Arranz Mascarós y alumnos de la asignatura “Química Inorgánica de los Sistemas Naturales”, 4<sup>o</sup> curso de la Licenciatura de Química, Universidad de Jaén.**

« *Química Inorgánica de los Sistemas Naturales* »

Colección Innovación Docente. I.S.B.N. 978-84-8439-586-7. Depósito legal: GR-1956-2011. Área de Química Inorgánica. Departamento de Química Inorgánica y Orgánica. Universidad de Jaén. Año: 2011.

## Organización de congresos

La doctoranda formó parte del comité organizador del congreso denominado “VII Jornadas de Jóvenes Investigadores en Física Atómica y Molecular (J2IFAM 2015)”, el cual tuvo lugar en la Universidad de Jaén los días 18, 19 y 20 de marzo de 2015.

## Participación en congresos

30 contribuciones a congresos: 8 comunicaciones orales (1 en congreso Internacional, 3 en Ibéricos y 4 en congresos Nacionales), 19 posters (10 en congresos Internacionales, 7 en Ibéricos y 2 en congresos Nacionales, uno de ellos como alumna de una asignatura de la Licenciatura de Química) y 3 comunicaciones relacionadas con eventos de divulgación científica.

## Estancias en otros grupos de investigación

**14 Mayo 2012 – 18 Mayo 2012:** Estancia para realizar la asignatura “Experimentación Avanzada con Láser” del máster QUIMILÁSER en el grupo “Química Atmosférica, Calidad del aire y Fotoquímica”. Dr. José Albaladejo Pérez. Departamento de Química Física, Universidad de Castilla La Mancha (Ciudad Real).

**1 Mayo 2014 – 31 Mayo 2014:** Estancia en Lille (Francia) para aprender sobre espectroscopía de microondas. En concreto se llevó a cabo el estudio de moléculas de interés atmosférico mediante el empleo de un espectrómetro microondas en chorro supersónico con transformada de Fourier. Laboratoire PhLAM (Laboratoire de Physique des Lasers, Atomes et Molécules), UFR de Physique, Université des Sciences et Technologies de Lille. Responsables: Dr. Juan Ramón Avilés Moreno y Dra. Thérèse Huet.

**12 Mayo 2015 – 12 Julio 2015:** Estancia en Hamburgo en el “Max Planck Institute for the Structure and Dynamics of Matters” para aprender sobre diferenciación enantiomérica usando espectroscopía rotacional de banda ancha. La estancia se realizó como resultado de la concesión de una beca del programa de movilidad “Max Planck Prince of Asturias Mobility Programme for Spanish junior”. Max-Planck Research Group “Structure and Dynamics of Cold and Controlled Molecules”, Max-Planck-Institut für Struktur und Dynamik der Materie, Center for Free Electron Laser Science. Responsable: Dra. Melanie Schnell.

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 2.1:</b> Regiones en las que se puede dividir el espectro electromagnético en función de la longitud de onda y efectos moleculares de la radiación en las mismas.....	13
<b>Figura 2.2:</b> Esquema de los modos normales de vibración principales de una molécula .....	14
<b>Figura 2.3:</b> a) Energía potencial para el modelo del oscilador armónico y b) Energía potencial para el modelo del oscilador anarmónico.....	22
<b>Figura 2.4:</b> Enantiómeros de la molécula de serina.....	27
<b>Figura 2.5:</b> Conformaciones de un derivado del bifenilo estéricamente impedido .....	28
<b>Figura 2.6:</b> Hélices <i>M</i> (izquierda) y <i>P</i> (derecha) que forman los monómeros del 3-(perfluoropropil)-4,5,6,7-tetrafluoro-1 <i>H</i> -indazol mediante enlaces de hidrógeno.....	28
<b>Figura 2.7:</b> a) Onda electromagnética polarizada linealmente, b) Descomposición del vector campo eléctrico en las componentes <i>x</i> e <i>y</i> linealmente polarizadas y c) Superposición de dichas componentes para producir luz circularmente polarizada .....	29
<b>Figura 2.8:</b> A la izquierda, luz plana polarizada (vector campo eléctrico <i>E</i> ) como resultante de las dos componentes circularmente polarizadas <i>E<sub>L</sub></i> y <i>E<sub>R</sub></i> . A la derecha, representación de la trayectoria elíptica del vector eléctrico como resultado de la diferente interacción de cada una de las dos componentes circularmente polarizadas <i>E<sub>L</sub></i> y <i>E<sub>R</sub></i> , esto es, la componente <i>E<sub>R</sub></i> absorbe más que la componente <i>E<sub>L</sub></i> .....	31
<b>Figura 2.9:</b> Diagrama sobre la obtención de un espectro IR y de un espectro VCD.....	32
<b>Figura 2.10:</b> Diagrama en el que se muestran los fenómenos de dispersión Raman Stokes y anti-Stokes .....	38
<b>Figura 2.11:</b> Espectros IR, Raman y VCD de la molécula <i>D</i> -ribosa registrados en disolución acuosa.....	41

<b>Figura 2.12:</b> Definición de los ángulos de Euler $\Theta$ , $\Phi$ , $X$ para el paso del sistema de referencia fijo en el espacio (X, Y, Z) al sistema de referencia fijo en el centro de masas (O) del sistema molecular (x, y, z) .....	43
<b>Figura 2.13:</b> Ejemplo de transiciones rotacionales $\Delta J = J' - J'' = +1$ . Según las reglas de selección sobre $K_a$ y $K_c$ nos encontramos las transiciones tipo a, b o c. ....	44
<b>Figura 3.1:</b> Esquema de los métodos teóricos.....	53
<b>Figura 3.2:</b> Definición de una función Gaussiana .....	62
<b>Figura 3.3:</b> Definición de una función de Dunning.....	62
<b>Figura 3.4:</b> Diagrama esquemático del programa SCF .....	63
<b>Figura 3.5:</b> a) Relación entre coste y precisión en los distintos métodos computacionales y b) Relación entre el método y la base empleada (panel b) .....	79
<b>Figura 3.6:</b> Esquema en el que se ilustra el proceso teórico seguido en la obtención de los conformeros más estables y sus correspondientes espectros para una determinada especie química de tamaño medio de las estudiadas en este trabajo, tomando como ejemplo concreto el caso de la forma zwitteriónica del aminoácido <i>L</i> -valina.....	81
<b>Figura 4.1:</b> Esquema básico de un espectrómetro infrarrojo con transformada de Fourier (FT-IR) .....	89
<b>Figura 4.2:</b> Componentes internos del espectrómetro FT-IR Bruker Vertex .....	90
<b>Figura 4.3:</b> a) Diagrama esquemático del interferómetro Michelson e interferencia entre dos haces de luz. b) Construcción de un interferograma .....	92
<b>Figura 4.4:</b> Sensibilidad según el número de onda de los detectores DTGS y MCT.....	94
<b>Figura 4.5:</b> Medida de un espectro FT-IR .....	95
<b>Figura 4.6:</b> Transmitancia de varios materiales ópticos a la radiación IR según su número de ondas en el rango espectral entre 6000 y 400 $\text{cm}^{-1}$ .....	97

<b>Figura 4.7:</b> a) Proceso de reflexión y b) Foto del espectrómetro FT-IR Bruker Vertex 70 con el accesorio ATR utilizado en los trabajos de esta tesis doctoral .....	101
<b>Figura 4.8:</b> Diagrama del dispositivo experimental de un espectrómetro FT-IR VCD.....	101
<b>Figura 4.9:</b> Regiones a las que se puede acceder según el filtro óptico empleado (y el correspondiente detector).....	102
<b>Figura 4.10:</b> Retardo ( $\delta$ ) producido por la compresión (o tensión) del bloque de ZnSe.....	103
<b>Figura 4.11:</b> Imagen del espectropolarímetro Jasco FVS-4000 de la Universidad de Jaén, con indicación de su configuración. ....	107
<b>Figura 4.12:</b> a) Imagen que ilustra la preparación de una película fina sobre un soporte de KCl y b) Celda de líquidos desmontable de PIKE Technologies (izquierda) y ventanas de BaF <sub>2</sub> circulares (derecha) empleadas para el registro de espectros IR-VCD.....	112
<b>Figura 4.13:</b> Espectros IR (panel superior) y VCD (panel inferior) de las caras A (verde, anverso) y B (azul, reverso) de un pellet de KBr del compuesto 2-propil-1H-benzimidazol.....	113
<b>Figura 4.14:</b> Espectros IR experimentales y teóricos (panel superior) y espectros VCD experimentales (paneles intermedios superiores e inferiores) y teóricos (panel inferior) del compuesto 3-(perfluoroetil)-4,5,6,7-tetrafluoro-1H-indazol (YODJIM) en suspensión de nujol en la región espectral 1215-900 cm <sup>-1</sup> .....	116
<b>Figura 4.15:</b> Esquema ilustrativo del dispositivo VCD empleado .....	118
<b>Figura 4.16:</b> a) Rotaciones de la muestra con la dirección de propagación del haz de luz infrarroja como eje z; b) Espectros IR (panel superior) y VCD (panel inferior) de la muestra 2-propil-1H-bencimidazol en fluorolube, mostrando los espectros registrados en 4 orientaciones diferentes: cara A (0°), cara A (90°), cara B (90°) y cara B (0°) .....	119
<b>Figura 4.17:</b> Imagen del espectrómetro Bruker FT-Raman MultiRAM Stand Alone de la Universidad de Jaén en la que se indican simplíficadamente las partes que lo componen.....	123

- Figura 4.18:** Diagrama que muestra esquemáticamente las distintas partes de un espectrómetro FT-Raman.....124
- Figura 4.19:** a) Cámara de vacío de la celda de temperatura variable para líquidos y bomba de vacío, b) Pletina para calentamiento de muestras sólidas y c) Sistema termostático Dewar con  $\gamma$ -terpineno congelado en el interior del portamuestras .....126
- Figura 4.20:** a) Imagen de uno de los espectrómetros microondas disponibles en Lille y b) Esquema de la geometría de la cavidad resonante Fabry-Pérot.....128
- Figura 4.21:** Esquema simplificado del funcionamiento de un espectrómetro microondas con transformada de Fourier .....129
- Figura 4.22:** Esquema del espectrómetro microondas COMPACT disponible en Hamburgo.....131
- Figura 5.1:** Estructura molecular y numeración adoptada para los átomos en las especies zwitteriónica, catiónica y aniónica de la *L*-Val y la *L*-Threo.....139
- Figura 5.2:** Estructuras de los conformeros más estables de *ValZW* y *ThreoZW* obtenidos con PCM y PCM combinado con 5 moléculas de agua explícita (este último caso únicamente para la *L*-Val) y calculadas al nivel M06-2X/6-311++G(d,p).....145
- Figura 5.3:** Estructuras de los conformeros más estables de *ValCAT* y *ThreoCAT* obtenidos con los modelos PCM y PCM con 8 moléculas de agua explícita (este último caso únicamente para la *L*-Val), calculadas al nivel M06-2X/6-311++G(d,p) .....147
- Figura 5.4:** Estructuras de los conformeros más estables de las especies aniónicas de la *L*-Val y la *L*-Threo con PCM y PCM con 5 moléculas de agua explícitas (este último únicamente para la *L*-Val) calculadas al nivel M06-2X/6-311++G(d,p).....148
- Figura 5.5:** Espectros IR (a y b) y Raman (c y d) de las especies zwitteriónicas de la *L*-Threo (a y c) y la *L*-Val (b y d) comparados con los espectros teóricos escalados en la región espectral 2000-500  $\text{cm}^{-1}$ .....151

**Figura 5.6:** Espectros IR (a y b) y Raman (c y d) de las especies catiónicas de la *L*-Threo (a y c) y la *L*-Val (b y d) comparados con los espectros teóricos escalados en la región espectral 2000-500 cm<sup>-1</sup>.....153

**Figura 5.7:** Espectros IR (a y b) y Raman (c y d) de las especies aniónicas de la *L*-Threo (a y c) y la *L*-Val (b y d) comparados con los espectros teóricos escalados en la región espectral 2000-600 cm<sup>-1</sup>.....155

**Figura 5.8:** Las gráficas intermedias de cada panel muestran los espectros VCD experimentales de las especies ZW (a), CAT (b) y AN (c) de la *L*-Val comparados con los espectros teóricos ponderados con las poblaciones de los conformeros más estables obtenidos con B3LYP y M06-2X y el modelo de solvatación implícito, y con el método M06-2X y el modelo explícito, los cuales se muestran en la parte inferior .....157

**Figura 5.9:** Metodología teórica seguida para el estudio de las formas lineales,  $\alpha/\beta$ -furanosas y  $\alpha/\beta$ -piranosas de los carbohidratos *D*-ribosa y 2-deoxi-*D*-ribosa .....161

**Figura 5.10:** Los conformeros más estables de las formas de cadena abierta de la 2-deoxi-*D*-ribosa y de la *D*-ribosa en PCM y PCM más una molécula explícita de agua, calculados al nivel computacional M06-2X/6-311++G(d,p) .....163

**Figura 5.11:** Los conformeros más estables de las formas  $\alpha$ - y  $\beta$ - piranosas de la 2-deoxi-*D*-ribosa en PCM y PCM más una molécula explícita de agua, calculados al nivel computacional M06-2X/6-311++G(d,p) .....164

**Figura 5.12:** Los conformeros más estables de las formas  $\alpha$ - y  $\beta$ - piranosas de la *D*-ribosa en PCM y PCM + H<sub>2</sub>O, calculados al nivel M06-2X/6-311++G(d,p) .....164

**Figura 5.13:** Espectros IR experimentales (parte superior) y teóricos (parte inferior) de la *D*-ribosa (panel a) y de la 2-deoxi-*D*-ribosa (panel b) en la región espectral 2000-400 cm<sup>-1</sup> .....169

**Figura 5.14:** Espectros Raman experimentales (parte superior) y teóricos (parte inferior) de la *D*-ribosa (panel a) y de la 2-deoxi-*D*-ribosa (panel b) en la región espectral 2000-350 cm<sup>-1</sup> .....170

**Figura 5.15:** Espectros Raman experimentales (parte superior) y teóricos (parte inferior) de la *D*-ribosa (panel a) y de la 2-deoxi-*D*-ribosa (panel b) en la región

espectral 2000-350  $\text{cm}^{-1}$ . En los dos paneles se muestran los espectros Raman experimentales en disolución acuosa a diferentes temperaturas: 25 °C (negro), 50 °C (verde) y 80 °C (rojo) .....172

**Figura 5.16:** Espectros VCD experimentales (parte superior) y teóricos (parte inferior) de la *D*-ribosa (panel a) y de la 2-deoxi-*D*-ribosa (panel b) en la región espectral 2000-900  $\text{cm}^{-1}$  .....173

**Figura 5.17:** Especies del glicolaldehído ( $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$ ): aldehído (en el centro), isómeros *E* y *Z* del enediolato (arriba, medio básico), aldehído hidratado (abajo) y anillos formados por la condensación de dos monómeros aldehído (derecha) .....177

**Figura 5.18:** Metodología teórica utilizada para el estudio de las formas aldehído, *E/Z*-enediol, hidrato y dímero del glicolaldehído en medio neutro y de las formas aldehído y *E/Z*-enediolato en medio básico .....179

**Figura 5.19:** Estructuras moleculares de los conformeros más estables de las formas aldehído hidratado (panel a), aldehído (panel b) y dímero (panel c) en medio neutro y aldehído (panel d) y *Z*-enediolato (panel e) en medio básico, calculadas al nivel computacional MP2/aug-cc-pVDZ con PCM en presencia de moléculas de  $\text{H}_2\text{O}$  explícitas .....181

**Figura 5.20:** Evolución con el tiempo (7 días) del espectro Raman del glicolaldehído en medio básico (25  $\mu\text{l}$  NaOH se añadieron): a) Se muestra el primer espectro Raman registrado cada día en la región 1800-700  $\text{cm}^{-1}$  y las flechas señalan las 3 regiones más relevantes que cambian con el tiempo, y b) Espectro Raman diferencia entre el último espectro registrado el día 7 y el registrado en medio neutro (ver explicación en texto) .....183

**Figura 5.21:** Espectros Raman experimentales (panel superior) y teóricos (panel inferior) del glicolaldehído en disolución acuosa en medio neutro .....184

**Figura 5.22:** Espectros Raman experimentales (panel superior) y teóricos (panel inferior) del glicolaldehído en disolución acuosa básica .....188

**Figura 5.23:** Esquema que muestra la metodología teórica seguida para el estudio teórico del  $\gamma$ -terpineno, b), c) y d) recogen las estructuras moleculares de los conformeros más estables del  $\gamma$ -terpineno, *S*-(-)-óxido de limoneno y *R*-(+)-pulegona, respectivamente, con los enlaces rotables señalados con flechas rojas .....193

**Figura 5.24:** Esquema de la estructura del óxido de limoneno con la numeración de sus átomos indicada .....195

**Figura 5.25:** Barridos (*scans*) de las superficies de energía potencial calculados a lo largo del ángulo diedro <C8C7C4C5 al nivel MP2/6-311++G(d,p) para las configuraciones *cis* (en azul) y *trans* (en rojo) del óxido de limoneno con el grupo isopropenilo en las posiciones a) ecuatorial y b) axial .....198

**Figura 5.26:** a) Espectro rotacional de banda ancha del óxido de limoneno (370k FIDs) en la región de frecuencia 2-8 GHz registrado con el equipo de Londres. b) Espectro experimental de las transiciones puras rotacionales del óxido de limoneno en la región 6.80-7.35 GHz, registrado con el equipo de Lille (10 acumulaciones por punto cada 150 kHz) .....199

**Figura 5.27:** Transiciones rotacionales puras del espectro observado del  $\gamma$ -terpineno en la región 5-7.2 GHz (10 acumulaciones por punto cada 150 kHz), estructuras moleculares predichas de los dos conformeros al nivel MP2/6-311++G(d,p). b) Transición rotacional medida en alta resolución y centrada a 13736.3667 MHz .....206

**Figura 5.28:** Parte inferior: espectros experimentales de las secciones eficaces IR del  $\gamma$ -terpineno registrado en fase gas (color negro) usando la técnica FT-IR, en las regiones 0-700  $\text{cm}^{-1}$  (panel a) y 700-2000  $\text{cm}^{-1}$  (panel b). Parte superior: Espectros IR experimentales registrados para las fases líquida (azul) y sólida (rojo). En la parte inferior también se muestran los espectros IR teóricos calculados .....208

**Figura 5.29:** Espectro rotacional de la R-(+)-pulegona. Se señalan también algunas transiciones rotacionales tipo *b* y se muestra una comparación de las posiciones calculadas (amarillo) y experimentales (azul) de los átomos de carbono, así como los valores determinados experimentalmente de las constantes rotacionales del conformero ecuatorial detectado .....210

**Figura 5.30:** a) Espectros IR (panel superior) y VCD (panel inferior) del R-(+)-alcanfor (100% ee, rojo) y S-(-)-alcanfor (-100% ee, azul) en disolución de  $\text{CCl}_4$ . b) Espectro IR experimental (panel superior, rojo) del R-(+)-alcanfor y espectros VCD experimentales (panel inferior) de los dos enantiómeros puros y de distintas mezclas enantioméricas en disolución de  $\text{CCl}_4$  .....213

- Figura 5.31:** Representación de la intensidad de la banda VCD observada a  $1244.8\text{ cm}^{-1}$  frente al % de exceso enantiomérico, mostrando la ecuación de la recta y los parámetros de la regresión lineal resultante.....213
- Figura 5.32:** a) Espectros IR (panel superior) y VCD (panel inferior) del R-(+)-alcanfor (100% ee, rojo) y S-(-)-alcanfor (-100% ee, azul) en suspensión de nujol. b) Espectro IR experimental (panel superior, rojo) del R-(+)-alcanfor y espectros VCD experimentales (panel inferior) de los dos enantiómeros puros y de distintas mezclas enantioméricas en suspensión de nujol.....215
- Figura 5.33:** a) Estructura molecular de la colchicina y b) Enantiomerización de la colchicina .....217
- Figura 5.34:** Espectros IR (panel superior) y VCD experimentales (panel intermedio) y teóricos (panel inferior) de las muestras: a) COLCDH y b) (-)-colchicina anhidra.....219
- Figura 6.1:** Posibles situaciones en cristales de NH-indazoles. ....230
- Figura 6.2:** Hélices quirales modelizadas de los derivados indazólicos no centrosimétricos INDAZL, LIDGEL, YODJIM y YODJOS. ....237
- Figura 6.3:** Espectros FarIR y Raman experimentales y teóricos escalados de los compuestos INDAZL, LIDGEL, YODJIM y YODJOS en fase sólida (polvo) en la región espectral  $700\text{-}30\text{ cm}^{-1}$ .....239
- Figura 6.4:** Espectros IR experimentales y teóricos (panel superior) y espectros VCD experimentales (paneles intermedios superiores e inferiores) y teóricos (panel inferior) de los compuestos INDAZL, LIDGEL, YODJIM y YODJOS en suspensiones de nujol y fluorolube en la región espectral  $2000\text{-}900\text{ cm}^{-1}$  .....242
- Figura 6.5:** Comparación de los espectros VCD experimentales obtenidos para las hélices P de los compuestos INDAZL (verde), LIDGEL (azul), YODJIM (rojo) y YODJOS (negro) en suspensiones de nujol en la región espectral  $1215\text{-}900\text{ cm}^{-1}$  con corrección de la línea de base hecha con el propio registro VCD del medio usado para hacer la suspensión, esto es, el nujol.....245
- Figura 6.6:** Fragmento de cadena de diez moléculas de la estructura BZTRAZ, con indicación de los enlaces de hidrógeno que se forman entre las mismas. ....246

**Figura 6.7:** Espectros IR experimentales y teóricos (panel superior) y espectros VCD experimentales (panel intermedio) y teóricos (panel inferior) del compuesto BZTRAZ en suspensiones de nujol y fluorolube en la región espectral 1800-900  $\text{cm}^{-1}$ . .....246

**Figura 6.8:** a) Estructura molecular y numeración de los átomos de 2-PrBzIm. b) Cadena formada mediante el establecimiento de enlaces de hidrógeno de moléculas de 2-PrBzIm tal y como se encuentran en el cristal con flechas indicando la dirección de propagación de los enlaces de hidrógeno. c) Representaciones de la celdilla unidad atomística y esquemática de la estructura cristalina del 2-PrBzIm. ....249

**Figura 6.9:** Espectros IR (panel superior) y VCD (panel inferior) registrados para las muestras líquidas y sólidas de 2-PrBzIm. ....250

**Figura 6.10:** Modelos moleculares estructurales de las unidades cateméricas de los cristales de 2PrBzIm usados para los cálculos de sus espectros IR y VCD... .....251

**Figura 6.11:** a) Espectros FarIR, b) IR medio y c) VCD experimentales (panel superior) y teóricos (panel inferior) de los cristales del 2-PrBzIm .....252

**Figura 6.12:** Representación esquemática del empaquetamiento adoptado por los dos cristales enantioméricos esperados en la estructura cristalina del 2-PrBzIm. ....253

**Figura 6.13:** Espectros VCD de la muestra 2-PrBzIm recristalizada en una mezcla 5:1 acetona/agua en suspensiones de fluorolube, registrados en un equipo VCD Bruker (Málaga) y en un equipo VCD Jasco (Jaén).....254

**Figura 6.14:** Esquema explicativo de las variaciones estructurales del 2-PrBzIm según la temperatura. ....255

**Figura 6.15:** Espectros VCD del compuesto 2-PrBzIm a distintas temperaturas: a) Temperatura ambiente (298 K, negro), 343 K (naranja) y de nuevo a temperatura ambiente después de haber dejado enfriar (azul) y b) Temperatura ambiente (298 K, negro), 378 K (rojo) y temperatura ambiente después de haber dejado enfriar (298 K, azul). .....256

**Figura 6.16:** Imágenes SEM de cristales de los polimorfos I (panel a) y III (panel b) de 2-PrBzIm .....257

**Figura 6.17:** Estructuras de las moléculas receptor y huésped estudiadas .....258

**Figura 6.18:** Estructuras moleculares de los 3 conforméromos más estables del complejo (*S*-18c6H<sub>4</sub>)-(L-SerH<sup>+</sup>) representados como 01L, 02L y 03L, respectivamente. Entre paréntesis se indican las energías libres relativas calculadas con B3LYP/6-31+G(d) y M06-2X/6-311++G(d,p) en kJ/mol.....262

**Figura 6.19:** Estructuras moleculares de los 3 conforméromos más estables del complejo (*S*-18c6H<sub>4</sub>)-(D-SerH<sup>+</sup>) representados como 01D, 02D y 03D, respectivamente. Entre paréntesis se indican las energías libres relativas calculadas con B3LYP/6-31+G(d) y M06-2X/6-311++G(d,p) en kJ/mol.....262

**Figura 6.20:** NBOs involucrados en la transferencia de carga de los enlaces de hidrógeno intramoleculares corona-serina formados en los conforméromos 01L (izquierda) y 01D (derecha) al nivel B3LYP/6-31+G(d) .....264

**Figura 6.21:** Espectros IR (panel a) y VCD (panel b) de las moléculas L-SerH<sup>+</sup> y *S*-18c6H<sub>4</sub> y del complejo (*S*-18c6H<sub>4</sub>)-(L-SerH<sup>+</sup>) .....267

**Figura 6.22:** Espectros IR (panel a) y VCD (panel b) de las moléculas D-SerH<sup>+</sup> y *S*-18c6H<sub>4</sub> y del complejo (*S*-18c6H<sub>4</sub>)-(D-SerH<sup>+</sup>) .....269

**Figura 6.23:** Espectros IR (panel a) y VCD (panel b) del complejo (*S*-18c6H<sub>4</sub>)-(L-SerH<sup>+</sup>) (azul), de una disolución con concentraciones equimolares de éter corona y ambos enantiómeros de serina protonada (negro) y espectros IR y VCD diferencia (rojo, resultantes de sustraer los espectros de color negro a los espectros de color azul) .....271

**Figura 6.24:** Vistas laterales (panel superior) y desde arriba (panel inferior) de las estructuras moleculares de los 3 conforméromos más estables del complejo (*S*-18c6H<sub>4</sub>)-(L-CysH<sup>+</sup>) representados como 01L, 02L y 03L, respectivamente .....273

**Figura 6.25:** Vistas laterales (panel superior) y desde arriba (panel inferior) de las estructuras moleculares de los 2 conforméromos más estables del complejo (*S*-18c6H<sub>4</sub>)-(D-CysH<sup>+</sup>) representados como 01D y 02D, respectivamente .....273

**Figura 6.26:** a) y b) Espectros IR experimentales y teóricos (panel superior) y VCD (paneles intermedio e inferior) de los complejos (*S*-18c6H<sub>4</sub>)-(L-CysH<sup>+</sup>) y (*S*-18c6H<sub>4</sub>)-(D-CysH<sup>+</sup>), respectivamente; c) y d) Estructuras de los conforméromos 01L y 01D, respectivamente, calculados al nivel teórico M06-2X/6-311++G(d,p) .....274

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 2.1:</b> Regiones de la radiación infrarroja, rango espectral ( $\text{cm}^{-1}$ ) e información que proporcionan .....	26
<b>Tabla 2.2:</b> Transiciones rotacionales permitidas por las reglas de selección .....	43
<b>Tabla 3.1:</b> Clasificación de los distintos funcionales DFT y algunos ejemplos de los más usados.....	72
<b>Tabla 3.2:</b> Comparación detallada de las metodologías G3 y G4 .....	78
<b>Tabla 4.1:</b> Materiales que transmiten radiación infrarroja .....	98
<b>Tabla 4.2:</b> Técnica y tratamiento de muestra empleados para el estudio de los distintos sistemas moleculares analizados en esta tesis doctoral.....	110
<b>Tabla 4.3:</b> Características principales del nuevo espectrómetro microondas de cavidad instalado en Lille .....	129
<b>Tabla 5.1:</b> Clasificación de los aminoácidos “estándares” según las propiedades fisicoquímicas de sus cadenas laterales.....	138
<b>Tabla 5.2:</b> Ángulos diedros de las geometrías optimizadas para las especies zwitteriónicas, catiónicas y aniónicas de <i>L</i> -Threo y <i>L</i> -Val calculadas al nivel M06-2X/6-311++G(d,p), usando los modelos PCM e híbrido (este último solo para <i>L</i> -Val) .....	144
<b>Tabla 5.3:</b> Resumen de la búsqueda conformacional para la 2-deoxi- <i>D</i> -ribosa y <i>D</i> -ribosa.....	163
<b>Tabla 5.4:</b> Energías relativas en kJ/mol para los mínimos más estables (por debajo de 3 kJ/mol de energía relativa con respecto al mínimo global), de la 2-deoxi- <i>D</i> -ribosa .....	165
<b>Tabla 5.5:</b> Energías relativas en kJ/mol para los mínimos más estables (por debajo de 3 kJ/mol de energía relativa con respecto al mínimo global) de la <i>D</i> -ribosa .....	166

<b>Tabla 5.6:</b> Poblaciones de Boltzmann en porcentaje para la 2-deoxi- <i>D</i> -ribosa y <i>D</i> -ribosa a los niveles computacionales M06-2X/6-311++G(d,p) y MP2(full)/6-311++G(3df,2p)//M06-2X/6-311++G(d,p) .....	167
<b>Tabla 5.7:</b> Energías relativas (kJ/mol) de los mínimos más estables de las formas aldehído hidratado (H), aldehído ( <i>A-n</i> ) y dímero (D), por debajo de 3, 5 y 10 kJ/mol, respectivamente, al nivel computacional MP2/aug-cc-pVDZ en medio neutro .....	185
<b>Tabla 5.8:</b> Energías relativas (kJ/mol) de los mínimos más estables de las formas aldehído (B-A) y enediol desprotonado (B-E), por debajo de 5 kJ/mol, al nivel MP2/aug-cc-pVDZ en medio básico .....	188
<b>Tabla 5.9:</b> Energías relativas de los 12 conformeros del óxido de limoneno calculadas con diferentes métodos teóricos .....	196
<b>Tabla 5.10:</b> Constantes espectroscópicas experimentales de los 5 conformeros observados del óxido de limoneno.....	200
<b>Tabla 5.11:</b> Energías relativas calculadas (corregidas al punto cero, $\Delta E_0$ , excepto las señaladas con *, que son energías relativas de equilibrio, $\Delta E_c$ ) de los dos conformeros observados experimentalmente para el $\gamma$ -terpineno en fase gas ...	205
<b>Tabla 5.12:</b> Constantes espectroscópicas experimentales y teóricas calculadas al nivel teórico MP2/6-311++G(d,p) (incluyendo las correcciones de la energía al punto cero) para los dos conformeros detectados de la molécula $\gamma$ -terpineno ..	207
<b>Tabla 5.13:</b> Energía relativa calculada para los conformeros ecuatorial y axial de la pulegona.....	209
<b>Tabla 5.14:</b> Regresiones lineales obtenidas mediante la técnica VCD en disolución de CCl <sub>4</sub> correspondientes a $10^6 \Delta \text{Abs.} = a + b$ ee %.....	214
<b>Tabla 5.15:</b> Regresiones lineales obtenidas mediante la técnica VCD en suspensiones de nujol correspondientes a $10^6 \Delta \text{Abs.} = a + b$ ee %.....	215

