



**Universitat de les
Illes Balears**

Facultat de Ciències

Memòria del Treball de Fi de Grau

Estudi de l'efecte de la temperatura sobre les interaccions entre carbohidrats i anells aromàtics

Joan Mas Monserrat

Grau de Química

Any acadèmic 2015-16

DNI de l'alumne: 41518902S

Treball tutelat per Miquel Adrover Estelrich
Departament de Química

S'autoritza la Universitat a incloure aquest treball en el Repositori Institucional per a la seva consulta en accés obert i difusió en línia, amb finalitats exclusivament acadèmiques i d'investigació	Autor		Tutor	
	Sí	No	Sí	No
	X		X	

Paraules clau del treball:

Interacció glúcid-aromàtic, CH- π , RMN, UV-Vis, Hidratació hidrofòbica

Índex

RESUM	4
INTRODUCCIÓ	4
1.- GLÚCIDS	4
2.- AMINOÀCIDS	7
3.- INTERACCIONS GLÚCIDS-PROTEÏNES	8
3.1.- GLICOPROTEÏNES	8
3.2.- LECTINES	9
3.2.1.- INTERACCIONS PER ENLLAÇOS D'HIDROGEN	9
3.2.2.- INTERACCIÓ CH/ π	10
4.- OBJECTIU	12
MÈTODES	14
- ESPECTROSCÒPIA UV-VIS	14
- ESTUDIS MONODIMENSIONALS DE ^1H -RMN	14
- ESTUDIS DE LES INTERACCIONS INTERMOLECULARS: ^1H -NOESY I $^1\text{H},^1\text{H}$ -ROESY	14
RESULTATS	15
1.- L'ESPECTROSCÒPIA UV-VIS I RMN DEMOSTRA LA INTERACCIÓ GLÚCID-AROMÀTIC	15
2.- ARQUITECTURA DELS COMPLEXES GLÚCID-AROMÀTIC	20
3.- EFECTE DE LA TEMPERATURA SOBRE LA INTERACCIÓ GLÚCID-AROMÀTIC	24
DISCUSSIÓ	29
CONCLUSIÓ	32

Resum

La interacció entre glúcids i composts aromàtics ha estat objecte d'estudi per part de diversos treballs, tant teòrics com experimentals. Les variacions en els desplaçaments químics dels protons dels glúcids s'atribueix a la interacció CH- π entre ambdós. Aquest treball es centra en estudiar aquesta interacció comprovant, primerament, la seva existència; així com, esbrinar quina arquitectura presenta el complex glúcid-aromàtic. També s'intenta comprovar si la naturalesa de la interacció és hidrofòbica, induint la hidratació hidrofòbica del compost aromàtic. Tot això mitjançant les tècniques d'espectroscòpia RMN i UV-Vis.

Introducció

1.- Glúcids

Els glúcids són biomolècules formades per H, C i O les quals són sintetitzades per organismes fotosintètics; amb la funció d'aportar energia a la cèl·lula [1]. Hi ha diferents tipus de glúcids, en funció del nombre d'unitats que el formen. Quan el glúcid només està format per una unitat s'anomenen monosacàrids. A més, en funció del tipus de grup carbonil que presenten (aldehid o cetona) trobem dues grans famílies (Figura 1A). Cada monosacàrid presenta el seu enantiòmer. A la majoria d'organismes l'enantiòmer que s'hi troba és el D [1] (Figura 1B). Un altre factor important és l'estereoquímica del carboni anomèric (C1). Aquest carboni pot presentar el grup hidroxil orientat cap a baix (α -D-glúcid) o cap a dalt (β -D-glúcid) (Figura 1C). Aquests dos epímers presenten equilibri de mutarotació amb la seva forma lineal..

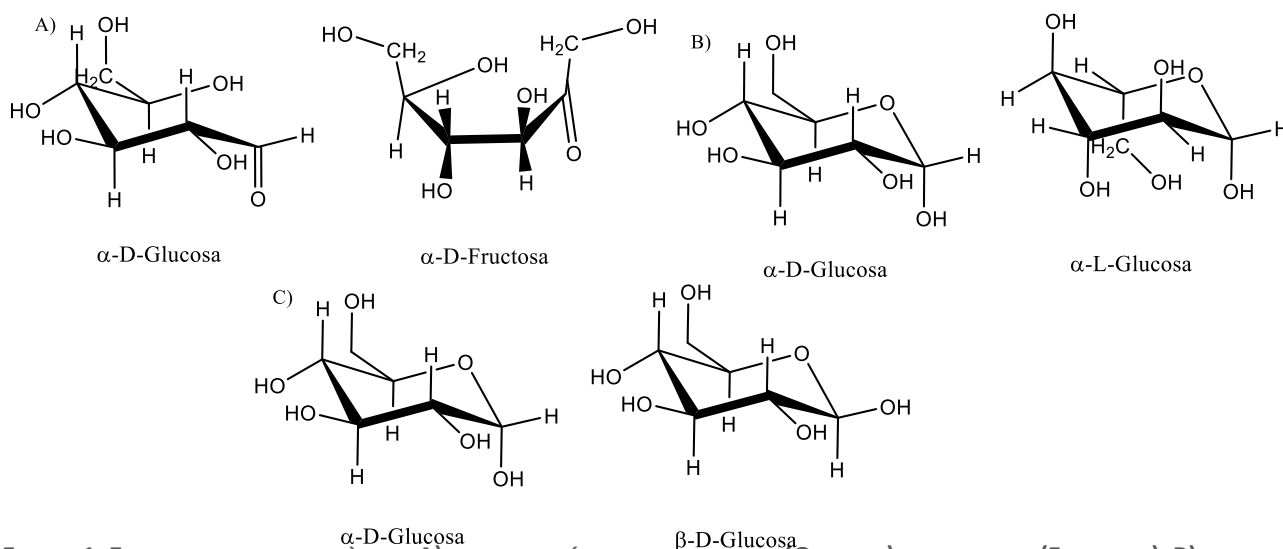


FIGURA 1: EXEMPLES DE MONOSACÀRIDS. A) COMPARACIÓ ENTRE UNA ALDOSA (GLUCOSA) I UNA CETOSA (FRUCTOSA). B) COMPARACIÓ ENTRE LES FORMES D-GLÚCID I L-GLÚCID (EL CAS DE LA GLUCOSA). C) COMPARACIÓ DE LA FORMA α I LA β D'UN MATEIX GLÚCID (GLUCOSA).

[1] *Lehninger: Principios de Bioquímica 4ª Ed*, D. L. Nelson, M. M. Cox (2005) Madrid, Ed OMEGA.

Dos monosacàrids poden unir-se formant un disacàrid (Figura 2). Les seves unions es donen per mitjà d'enllaços O-glucosídics, formats entre un grup hidroxil del primer monosacàrid amb el carboni anomèric d'un segon monosacàrid.

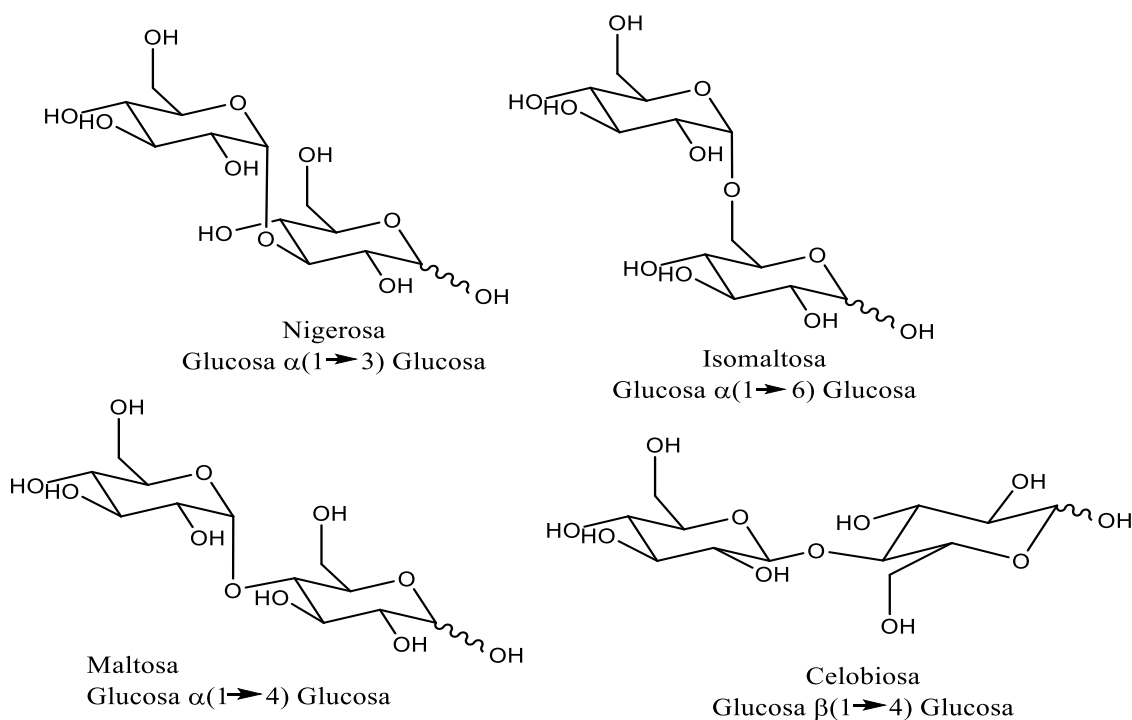


FIGURA 2: DIVERSOS EXEMPLES DE DISACÀRIDS. POT OBSERVAR-SE QUE SEMPRE HI HA UN GRUP -OH ANOMÈRIC INTERVENINT A L'ENLLAÇ O-GLUCOSÍDIC. L'ESTEREOQUÍMICA D'AQUEST GRUP DETERMINA L'ORIENTACIÓ DE L'ENLLAÇ FORMAT.

Quan són varis els monosacàrids que s'uneixen, es forma un oligosacàrid (entre 2 a 10 unitats). L'enllaç O-glucosídic, pot formar-se entre els hidroxils dels carbonis anomèrics, o només implicar a un dels hidroxils anomèrics. Si el primer monosacàrid té l'hidroxil anomèric lliure, i la molècula està formada per 6 o més monosacàrids, pot tancar-se sobre si mateixa donant lloc a un oligosacàrid cíclic.

Un exemple són les β -ciclodextrines, uns oligosacàrids cíclics resultants de la unió de varies glucopiranoses, originant una estructura tipus toroide, on els hidroxils estan exposats a l'exterior de tal manera que a l'obertura petita hi trobem els hidroxils primaris i els secundaris es troben en l'obertura major [2] (Figura 3). Aquesta disposició provoca que l'interior de la ciclodextrina presenti una cavitat hidrofòbica, fent que sigui capaç d'emmagatzemar petites molècules hidrofòbiques en el seu interior, com fàrmacs [2].

[2] M.E. Brewster, T. Loftsson *Advanced Drug Delivery Reviews* **59** (2007) 645–666

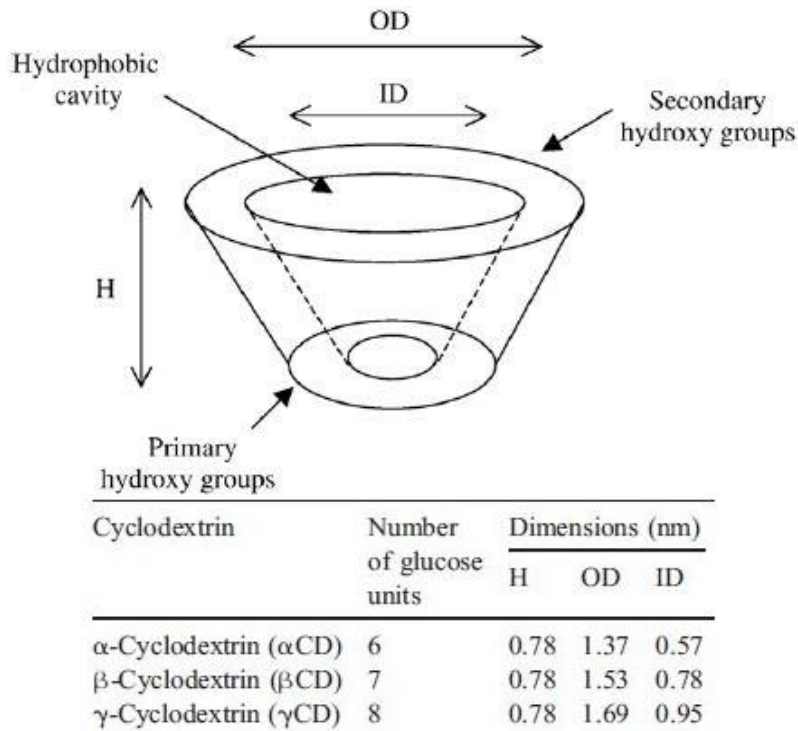


FIGURA 3: ESTRUCTURA TIPUS TOROIDE QUE PRESENTEN LES CICLODEXTRINES, AIXÍ COM LES COLOCACIONS DELS HIDROXILS PRIMARIS I SECUNDARIS. TAMBÉ PODEM VEURE ELS DIFERENTS TAMANYS DE LES CAVITATS EN FUNCIÓ DEL NOMBRE D'UNITATS DE GLUCOSA [2].

Si són més de 10 unitats les que s'uneixen es forma un polisacàrid. Podem trobar polisacàrids on tots els monosacàrids són iguals (homopolisacàrids), o polisacàrids on hi ha varis tipus de monosacàrids (heteropolisacàrids) [1]. També es poden trobar estructures on els monosacàrids presentin més d'un tipus enllaç O-glucosídic, i formin estructures ramificades (Figura 4).

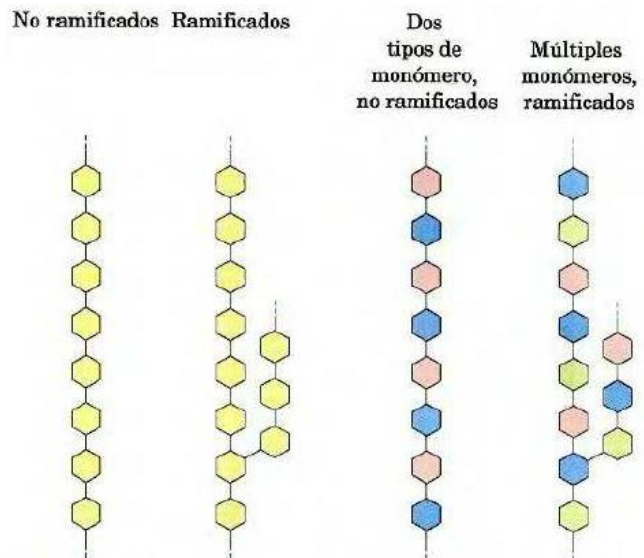


FIGURA 4: IMATGE LLIBRE POLISACÀRIDS HOMO-, HETERO-, RAMIFICATS I NO-RAMIFICATS. [1]

Al oxidar-se els glúcids es desprenen elevades quantitats d'energia. Per aquest motiu, són

biomolècules conegudes com la font energètica de l'organisme [1]. Els polisacàrids presenten la funció d'emmagatzemar l'energia per a la seva utilització quan és requerida per les cèl·lules. A les cèl·lules vegetals es troba el midó (format per dos tipus d'homopolisacàrids de glucosa, un ramificat i l'altre no-ramificat); i a les cèl·lules animals es troba el glucogen (format per un homopolisacàrid de glucosa ramificat).

Una altra funció dels polisacàrids és l'estructural. Les cèl·lules eucariotes vegetals i les bacteries presenten una paret cel·lular que ajuda a donar forma i a regular l'intercanvi entre el medi i la cèl·lula. A les cèl·lules eucariotes aquesta paret està formada per un homopolisacàrid de glucoses, no-ramificat, anomenat cel·lulosa. Mentre que en les bacteries és un homopolisacàrid de glucoses ramificades anomenat dextrat.

Malgrat tot això, hi ha una tercera funció important com és el reconeixement cel·lular. Aquest reconeixement és indispensable per a que la cèl·lula interaccioni amb altres cèl·lules, enzims, anticossos o virus; i generalment ocorre degut a la interacció no-covalent entre una proteïna i un lloc concret d'un polisacàrid (com a entitat pròpia o formant lloc d'una glicoproteïna).

2.- Aminoàcids

Els aminoàcids són molècules quirals senzilles. Presenten un grup amina i un grup carboxílic. Els aminoàcids es combinen entre sí mitjançant l'enllaç peptídic. A la naturalesa, generalment, només trobem els L-alfa-aminoàcids [1](Figura 5).

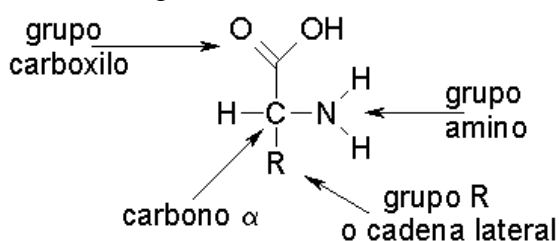


FIGURA 5: ESTRUCTURA GENERAL DELS L- α -AMINOÀCIDS, ON HI TROBEM UN CARBONI CENTRAL (ALFA) ENLLAÇAT A UN H, AL GRUP AMINA, AL GRUP CARBOXÍLIC I A UNA CADENA LATERAL R. AQUESTA CADENA LATERAL R ÉS QUI DONA PROPRIETATS CONCRETES A CADA AMINOÀCID.

En funció de la naturalesa de la cadena lateral, es troben diferents tipus d'aminoàcids, classificats en alifàtics, polars-neutres, carregats (àcids i bàsics) i aromàtics (Figura 6).

Els aminoàcids aromàtics presenten un cycle ric amb electrons deslocalitzats que permet establir interaccions hidrofòbiques o de tipus π amb altres grups [1]. En el cas del triptòfan, la seva cadena lateral és una grup indol; a la fenilalanina, és un grup fenil; mentre que a la tirosina, hi trobem un grup fenol.

Els aminoàcids poden unir-se formant estructures de major entitat. Quan s'uneixen de 2 a 10 aminoàcids, formen un oligopeptid. Quan ja són més de 10 aminoàcids, es forma un polipeptid. Les proteïnes es formen quan un polipeptid adquireix l'estructura terciària (presenta plegament tridimensional) o per la unió de varies cadenes polipeptídiques (estructura quaternària).

Els aminoàcids són les unitats individuals que formen a les proteïnes, i aquestes, tenen funcions de catàlisis, regulació, estructural, defensiva, transport i recepció.

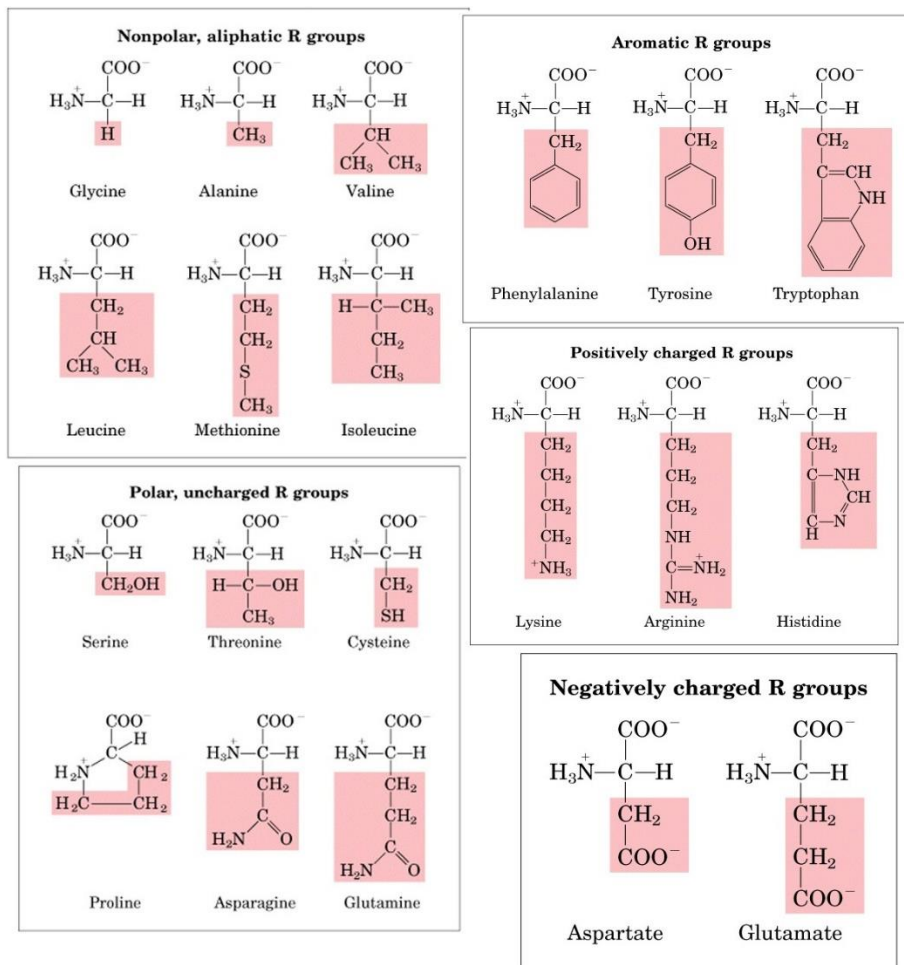


FIGURA 6: ESTRUCTURA QUÍMICA DELS 20 AMINOÀCIDS PRESENTS EN LES PROTEÏNES.

3.- Interaccions Glúcids-Proteïnes

3.1.- Glicoproteïnes

Els glúcids i les proteïnes són dos tipus de biomolècules que interaccionen entre elles *in vivo* en multitud d'escenaris. Així, aquesta intercomunicació pot trobar-se en forma d'enllaç covalent (a les glicoproteïnes), establint enllaços d'hidrogen (entre un grup -OH del glúcid i un grup acceptor de la proteïna) o interaccions del tipus CH/π.

Aquestes interaccions són importants en el reconeixement cel·lular [3]; i ocorren als processos que podem veure en la Figura 7.

[3] J. Holgersson, A. Gustafsson, M. E. Breimer; *Immunology and Cell Biology* (2005) **83**, 694–708

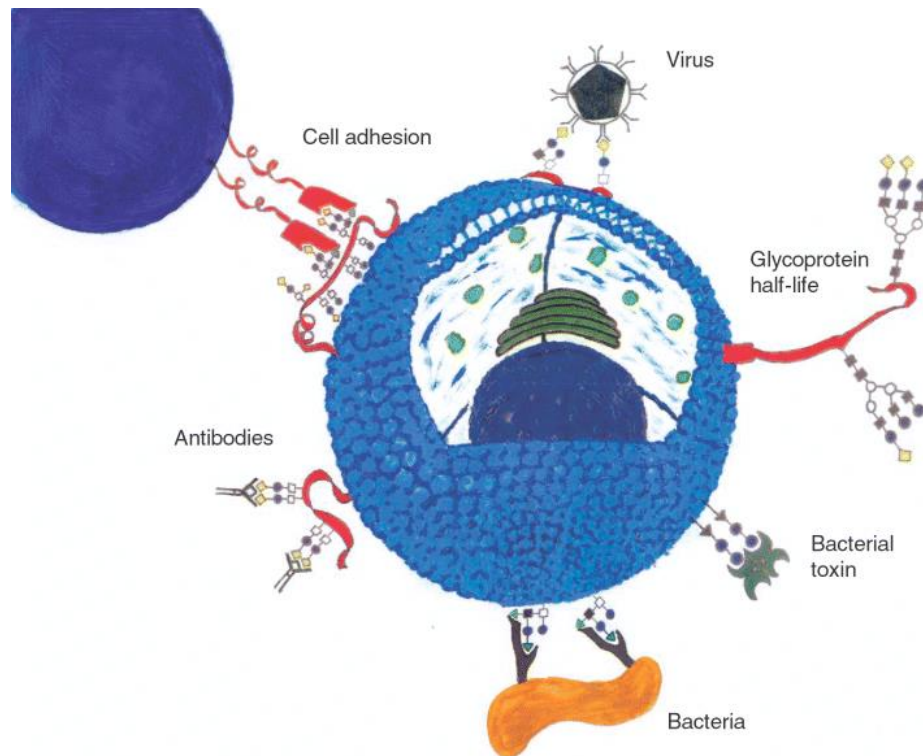


FIGURA 7: ESQUEMA DE DIFERENTS PROCESSOS DE RECONeixEMENT PROTEÏNA-GLÚCID QUE OCORREN EN LA MEMBRANA CEL·LULAR. [3]

A les glicoproteïna es forma un enllaç covalent proteïna-glúcid. Aquest es dona a través de les cadenes laterals de la serina, treonina o asparagina. En el cas de que la unió sigui a través d'un $-OH$, s'anomena unió O-glucosídica; mentre que si la unió és a través del $-NH_2$, s'anomena N-glucosídica [1,3].

3.2.- Lectines

Les lectines són proteïnes que s'uneixen als glúcids de forma no-covalent, però amb una altíssima afinitat, podent arribar a discriminar l'estereoquímica d'un sol àtom de carboni [3,4]. En concret, en el reconeixement cel·lular actuen les selectines, una família de lectines presents en la membrana cel·lular que reconeix una seqüència o motiu de glúcids i s'hi adhereixen [1]. En els centres actius presenten una zona polar, capaç d'establir interaccions per enllaços d'hidrogen entre aminoàcids i glúcids; i una zona apolar, on hi ha situats residus apolars que donen lloc a interaccions de caràcter apolar. Tot en conjunt per incrementar la selectivitat i la fortaleza de la unió.

3.2.1.- Interaccions per enllaços d'hidrogen

A les interaccions proteïna-glúcid, una de les interaccions que més contribueix a la unió són els enllaços d'hidrogen [5]. Aquest fet es deu a la gran capacitat de formació

[4] Sophie Vandebussche, Dolores Díaz, *et al.*; *Chem. Eur. J.* (2008) **14**, 7570 – 7578

[5] E. García-Hernández, A. Hernández-Arana; *Protein Science*; (1999) **8**, 1075-1086.

d'enllaços d'hidrogen que posseeixen els glúcids i a la flexibilitat dels seus grups hidroxil (Figura 7A). Els enllaços d'hidrogen no només contribueixen a l'afinitat de la lectina pel substrat, sinó que també aporten selectivitat al centre actiu ajudant a fer-la tan elevada [6]. La presència d'aigua és important. Per a la formació del complex proteïna-glúcid, primer s'han de desolvatar les dues unitats i, posteriorment, solvatar el complex [3] (Figura 7B).

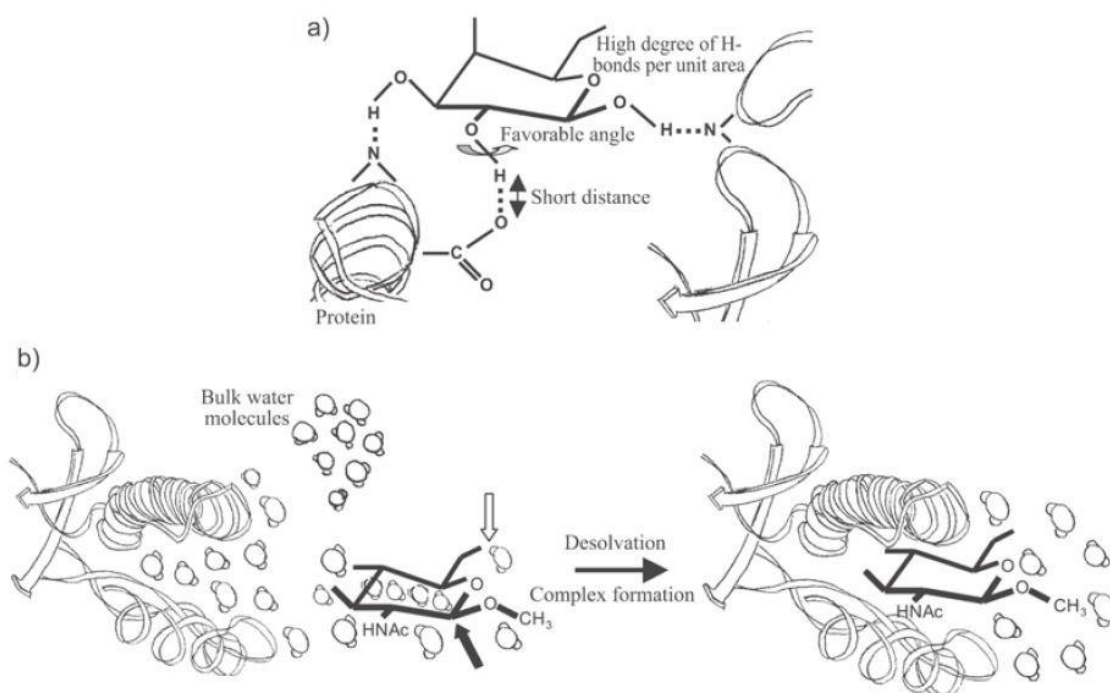


FIGURA 8: A) IL·LUSTRACIÓ DE LA INTERACCIÓ PROTEÏNA-GLÚCID MITJANÇANT ELS ENLLAÇOS D'HIDROGEN. B) PROCÉS DE DESOLVATACIÓ QUE EXPERIMENTEN ELS GLÚCIDS PER "ENCAIXAR-SE" EN LA CADENA PROTEICA I FORMAR EL COMPLEXA. AQUESTES DUES PASSES SÓN INDISPENSABLES PER A DESEQUILIBRAR LA BALANÇA DE LA COMPETÈNCIA ENTALPIA-ENTROPIA. [3]

3.2.2.- Interacció CH/ π

A més, els complexos proteïna-glúcid poden interaccionar mitjançant interaccions CH/anell π . A les proteïnes només poden torbar-se electrons π a les cadenes laterals de les fenilalanines, triptòfans i tirosines. Aquest tipus d'interaccions necessitarà d'una geometria molt particular [6,7]. També s'ha de tenir en compte que els aminoàcids aromàtics no presenten una elevada hidrofília, per tant per poder interaccionar amb els glúcids hauran de presentar una exposició desfavorable a l'aigua. La desolvatació de les cadenes hidrofòbiques i la "protecció" en front al dissolvent que els proporciona el glúcid, són factors que afavoreixen la termodinàmica de la interacció [6]. Per a que un procés

[6] M. C. Fernández-Alonso, D. Díaz, *et al.* *Current Protein and Peptide Science* (2012) **13**, 816-830
 [7] M. J. Plevin, D. L. Bryce i J. Boisbouvier; *Nature Chemistry* (2010) **2**, 466-471

sigui possible l'energia lliure de Gibbs ha de ser negativa i aquesta depèn de l'entalpia i l'entropia [8]:

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$$

A més, malgrat l'entalpia absoluta del sistema baixi (perquè les noves interaccions del complex poden no compensar els enllaços d'hidrogen romputs), al desolvatar la molècula del glúcid, l'entropia global augmenta i permet que el factor entàlpic desfavorable es compensi pel factor entròpic, fent que aquestes interaccions siguin possibles. En el medi biològic, però s'ha de tenir en compte que quan un monosacàrid s'apropa a una proteïna no s'estableixen únicament interaccions CH/ π , sinó que hi ha tota una sèrie d'interaccions (dipolars, enllaços d'hidrogen, ...) que ajuden a fer encara més favorable la interacció [3,6,9].

Estudis recents donen a les interaccions CH/ π un paper important als processos de reconeixement cel·lular, en l'adopció de la conformació funcional de les proteïnes i essencialment en el reforç de la unió produïda per enllaços d'hidrogen [3-5,10,11]. Però, com són aquest tipus d'interaccions tan poc estudiades?

Aquestes es basen en la interacció de dos grups: un deficient en electrons (el grup CH) i un grup amb excés d'electrons (l'anell π) [7,10]. Un estudi dut a terme al 2010 [7] va determinar els paràmetres geomètrics de la interacció CH/ π mitjançant raigs X i càlculs teòrics (Figura 8): $d < 4,3 \text{ \AA}$, $\theta < 25^\circ$ i $\varphi > 120^\circ$. En aquest estudi, s'arribà a la conclusió de que per haver-hi interacció CH/ π , s'han de complir les condicions esmentades. També observen que l'increment de θ no afecta a l'energia, mentre que l'increment de d , si que ho fa.

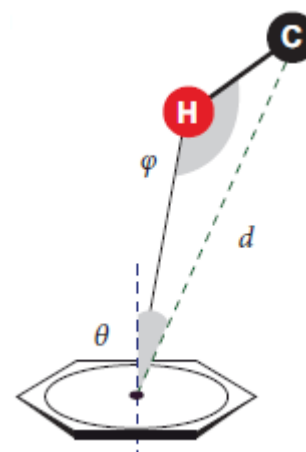


FIGURA 9: REPRESENTACIÓ DELS TRES PARÀMETRES ESTUDIATS (d , θ , φ). AQUESTS PARÀMETRES ES DEFINEIXEN COM: LA DISTÀNCIA (d) ENTRE EL CARBONI DEL GRUP DONADOR I EL CENTRE DE L'ANELL AROMÀTIC; L'ANGLE (θ) FORMAT PER LA NORMAL DE L'ANELL I EL VECTOR DISTÀNCIA (d); I L'ANGLE (φ) FORMAT ENTRE L'ENLLAÇ C-H I EL VECTOR H-ANELL [6].

Per altre banda, quan hi ha grups pròxims que acidifiquen (activen) el grup C-H, la interacció és més intensa, degut a que hi ha un major component electrostàtic [4,7,11]. En aquets casos també hi ha una major dependència de la direcció d'interacció. Un exemple de sistema on hi ha aquesta "activació" del C-H són els glúcids, on els grups hidroxil acidifiquen el protó.

En el cas dels glúcids, s'ha de tenir en compte la cara del monosacàrid per la qual interacciona amb el compost aromàtic. De forma general, la interacció és proporcional als hidrògens axials presents al

[8] *Química Física 4ª Ed*, T. Engels, P. Reid (2006) Madrid, Addison-Wesley

[9] A. G. Santana, E. Jiménez-Moreno, *et al.*; *J. Am. Chem. Soc.* (2013) **135**, 3347–3350

[10] S. Kozmon, R. Matuska, *et al.*; *Phys. Chem. Chem. Phys.* (2011) **13** 14215–14222

[11] E. Jiménez-Moreno, A. M. Gómez, *et al.*; *Angew. Chem. Int. Ed.* (2015) **54**, 4344–4348

glúcid [12]. Les dues cares són diastereotòpiques, per tant, la presència de grups amb un cert volum poden influir creant un impediment estèric [9].

Un exemple és la galactopiranososa, on el grup hidroxil del C4 es troba en posició axial, per tant, no pot haver-hi interacció CH/ π per aquesta cara [9]. A més, s'ha vist que els parells lliures de l'oxigen de l'anell estableixen una interacció n/ π menys estable que les CH/ π .

L'últim factor, però no menys important, que afecta a les interaccions CH/ π és el dissolvent (i la seva constant dielèctrica). A les interaccions febles, com és la CH/ π , és molt important la polaritat del dissolvent. Si les dissolucions es preparen en una mescla d'aigua/acetonitril (disminuint així la constant dielèctrica), no es veu cap interacció CH/ π [11]. Aquest fet s'explica perquè el dissolvent competeix amb el glúcid per interaccionar amb la molècula orgànica. Per tant, variacions en la constant dielèctrica del medi, pot modificar notablement la interacció.

4.- Objectiu

L'objectiu d'aquest treball de fi de grau és determinar la naturalesa de les interaccions CH/ π . Les metes plantejades són la comprovació de l'existència d'interaccions CH/ π per mitjà d'espectroscòpia UV-Vis i RMN, estudiar l'arquitectura dels complexos mitjançant RMN i la inducció del procés d'hidratació hidròfoba (reduint la temperatura) per a determinar si les interaccions glúcid-aminoàcid són de naturalesa hidrofòbica.

Per fer-ho utilitzarem els glúcids metil- α -D-glucopiranososa, metil- β -D-glucopiranososa, metil- β -D-galactopiranososa i β -ciclodextrina (Figura 9). Els monosacàrids es troben metilats a l'hidroxil del carboni anomèric per evitar l'existència de diferents formes isomèriques en equilibri de mutarotació. Així, ens assegurem que només hi ha una sola estructura present en la mostra.

Com a compost aromàtics utilitzem el fenol, indol, *p*-cresol i N-metilindol (Figura 9). Els dos primers els seleccionem per ser les estructures presents en les cadenes laterals de fenilalanina i triptòfan. Mentre que als dos darrers, els utilitzem per veure com afecta la presència d'un grup metil a la interacció. El grup metil provoca dos fenòmens: la variació de la densitat electrònica en els anells aromàtics i la presència d'un grup amb cert volum pròxim a la zona de interacció.

Per comprovar si la interacció CH/ π segueix un model hidrofòbic, disminuïm la temperatura fins a fer possible la hidratació hidrofòbica. La possibilitat de que les interaccions CH/ π siguin de naturalesa hidròfoba ja ha estat estudiada per altres treballs

[12] J. L. Asensio, A. Ardá, *et al.*; *Accounts of Chemical Research* (2013) **46**, 946–954

[11-13], però no demostrada. A la hidratació hidrofòbica, les molècules d'aigua passen de formar 3,5 enllaços d'hidrogen per molècula a 4 enllaços, degut a la inestabilitat energètica causada per l'apropament d'una zona amb càrrega electrostàtica (l'aigua) a una zona hidrofòbica (en aquest cas els composts aromàtics). Aquest reordenament implica una estabilització entàlpica (degut al major nombre d'enllaços d'hidrogen, fent-la lleugerament negativa), però una desestabilització entròpica (elevada i negativa) [14,15]. Per tant, aquest procés només ocorre a baixes temperatures, on el factor entròpic ($T\Delta S$) és menyspreable front al factor entalpia (ΔH)[16].

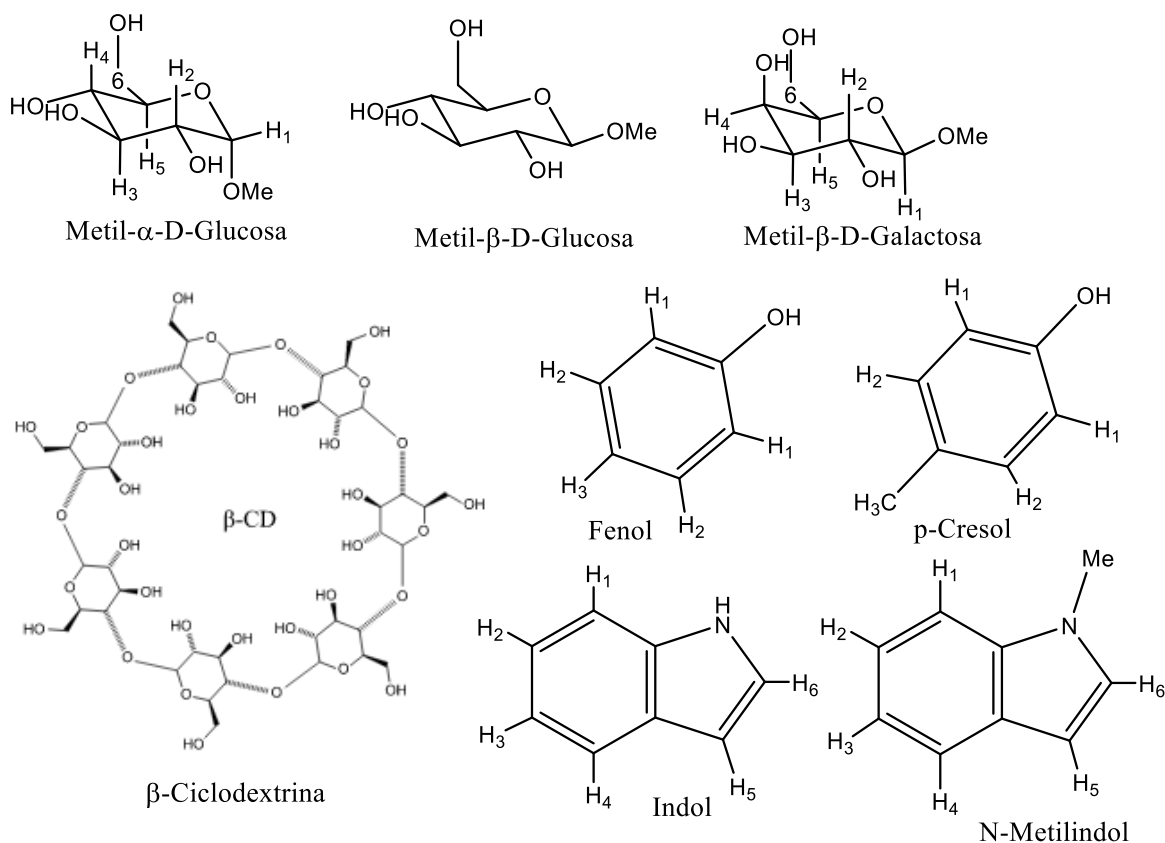


FIGURA 10: REPRESENTACIÓ DELS GLÚCIDS I DELS COMPOSTS AROMÀTICS UTILITZATS EN EL TREBALL.

[13] C. D. Tatko i M. L. Waters, *J. Am. Chem. Soc.* (2004) **126**, 2028-2034

[14] K. A. Dill, *Biochem.* (1990) **29**, 7133-7155

[15] K. Soda, *Adv. Biophys.* (1993) **29**, 1-54

[16] P. M. Wiggins, *Phys. A* (1997) **238**, 113-128

Mètodes

- Espectroscòpia UV-Vis

Es varen adquirir els espectres UV-Vis del fenol ($3 \times 10^{-4} \text{M}$), *p*-cresol ($3 \times 10^{-4} \text{M}$), indol ($2 \times 10^{-4} \text{M}$) i N-metilindol ($2 \times 10^{-4} \text{M}$) en tampó TIP7 20mM a pH 7,05 [17] i a diferents temperatures entre 5 a 30°C. Els espectres foren enregistrats entre les longituds d'ona 230-320nm emprant l'espectrofotòmetre Shimadzu UV-2401 PC i amb cubetes de quars de 1cm de pas òptic. Per adquirir els espectres realitzats a menys de 20°C utilitzàrem una bombona de N₂, introduint nitrogen gas dins la cambra per tal de desplaçar l'aigua de l'ambient i evitar la condensació sobre les cubetes. També s'enregistraren els espectres de cada compost aromàtic en presència de metil- α -D-glucopiranososa (0,2M), metil- β -D-glucopiranososa (0,2M), metil- β -D-galactopiranososa (0,2M) i β -ciclodextrina (0,01M) emprant les mateixes condicions descrites. L'addició dels sucres es feu directament en estat sòlid dins de les cubetes. El contingut fou filtrat amb un filtre de nylon de 0,45 μm .

- Estudis monodimensionals de ^1H -RMN

Es varen adquirir els espectres de ^1H -RMN de la metil- α -D-glucopiranososa i de la metil- β -D-galactopiranososa a diferents temperatures entre 0 a 60°C a concentracions 3mM, utilitzant tampó fosfat 0,1M a pD 7,0 en presència i absència de fenol (0,6M). S'utilitzaren tubs de 5mm per a la mostra i un tub coaxial que contenia DSS (0,6mM) com a referència externa. Els espectres de ^1H -RMN s'enregistraren amb un espectròmetre Bruker Avance 300 amb sonda inversa BBI $^1\text{H}/\text{BB}/\text{D}$.

- Estudis de les interaccions intermoleculares: ^1H -NOESY i $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -ROESY

Es varen adquirir els espectres 1D ^1H -NOESY i 2D $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -ROESY a 10°C de diferents mescles que contenen: a) metil- α -D-glucopiranososa (0,4M) o metil- β -D-galactopiranososa (0,4M) en presència de fenol (0,25M); b) metil- α -D-glucopiranososa (0,2M) o metil- β -D-galactopiranososa (0,2M) en presència de *p*-cresol (0,18M); c) metil- α -D-glucopiranososa (40mM) o metil- β -D-galactopiranososa (40mM) en presència d'indol (20mM); i d) metil- α -D-glucopiranososa (3mM) o metil- β -D-galactopiranososa (3mM) en presència de N-metilindol (3mM). Els espectres 1D ^1H -NOESY s'enregistraren irradiant sobre les freqüències corresponents a cada protó dels glúcids.

[17] El tampó TIP7 conté un 60% de HEPES i un 40% de KH₂PO₄, sent per tant; 12mM en HEPES i 8mM en KH₂PO₄. S'utilitza aquest tampó perquè casi no varia el pH en funció de la temperatura. N. A. Clark, J. E. Swain; *Chem. Commum.* (2013) **30**, 865–875

Resultats

1.- L'espectroscòpia UV-Vis i RMN demostra la interacció glúcid-aromàtic

Inicialment s'utilitzà l'espectroscòpia UV-Vis per estudiar la interacció glúcid-aromàtic i veure com aquesta afecta a l'espectre dels composts aromàtics. La presència de metil- α -D-glucopiranososa provoca una variació en l'espectre del fenol, mentre que l'addició de metil- β -D-glucopiranososa no induïx aquesta variació. Per tant, la l'estereoquímica del carboni anomèric pareix jugar algun paper en la interacció glúcid-aromàtic. Pel que fa a la metil- β -D-galactopiranososa, s'observa un lleu eixamplament de la banda espectral, de manera pareguda al induït per la metil- β -D-glucopiranososa, indicant que l'estereoquímica dels altres carbonis no pareix tenir un paper tan important en la interacció amb el fenol. En la β -ciclodextrina, hi ha variacions significatives a l'espectre, tan pel que fa a l'absorbància (s'incrementa), com en la posició del màxim. Totes aquestes variacions es podrien atribuir a la interacció concreta entre fenol i els glúcids (Figura 11).

Adicionalment, per confirmar que les variacions observades a l'espectre UV-Vis del fenol són degudes a una interacció glúcid-aromàtic, també varen ser enregistrats els espectres de ^1H -RMN emprant diferents proporcions de fenol:metil- α -D-glucopiranososa (0:1, 5:1, 15:1 i 25:1) (Figures 12 i 13). Al anar augmentant la proporció de fenol, des de 0:1 a 25:1 es veu com el desplaçament químic dels protons de la glucosa es desplaça cap a camp alt, el que confirma la interacció glúcid-aromàtic que suggerien els estudis de UV-Vis.

Per altre banda, en el cas de l'indol, la presència dels tres monosacàrids provoca la disminució de l'absorbància en una proporció similar, indicant que la interacció indol-glúcid no depèn tant de l'estereoquímica dels carbonis del monosacàrid. La β -ciclodextrina pràcticament no afecta a l'absorbància de l'indol (Figura 14). Aquest fet suggereixen que la β -ciclodextrina interacciona molt lleument, fet que pot ser degut al volum de l'indol en relació a la cavitat interior de la β -ciclodextrina (la distància màxima entre els dos hidrògens més llunyans és de $6,1\text{\AA}$ ⁱ, mentre que la cavitat interior de $7,8\text{\AA}$ (Figura 3)).

A continuació es va estudià com afecta la metilació, tan del fenol com de l'indol, a la interacció. Així, en el cas del *p*-cresol es veu que la seva interacció amb la metil- α -D-glucopiranososa provoca un eixamplament de la banda UV-Vis amb major proporció que l'observada al fenol. Aquest fet pareix indicar que la interacció glúcid-aromàtic és més important en el cas del *p*-cresol (Figura 15).

ⁱ Geometria optimitzada mitjançant B3LYP 6-311G** amb el programa GAUSSIAN 09W.

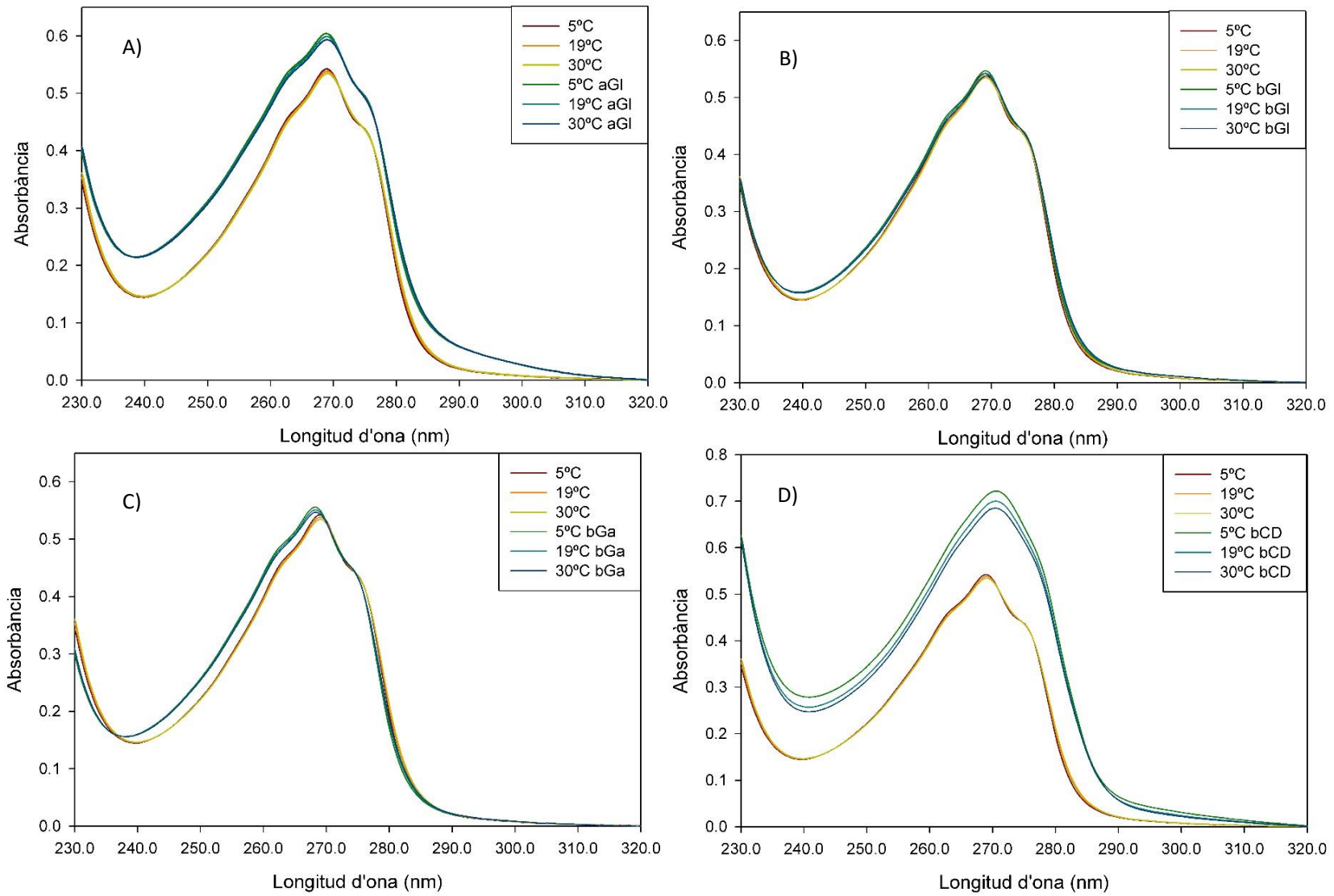


FIGURA 11: ESPECTRES D'ABSORBÀNCIA DEL FENOL A DIFERENTS TEMPERATURES EN PRESENCIA I EN ABSÈNCIA DELS DIFERENTS GLÚCIDS. A) METIL- α -D-GLUCOPIRANOSA (aGI) B) METIL- β -D-GLUCOPIRANOSA (bGI) C) METIL- β -D-GALACTOPIRANOSA (bGa) D) β -CICLODEXTRINA (bCD).

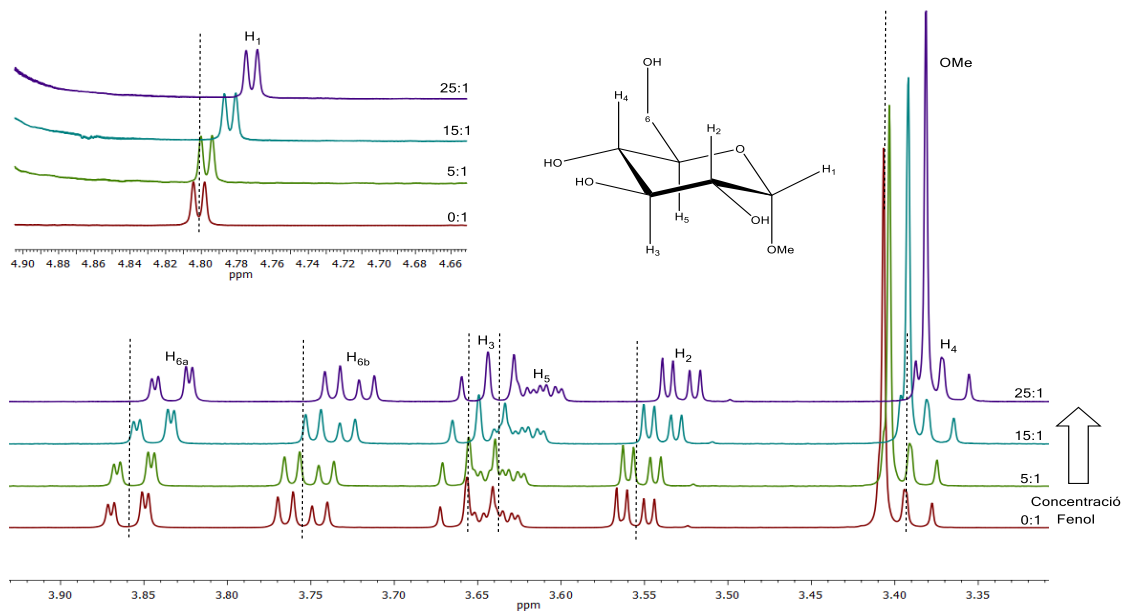


FIGURA 12: ESPECTRES DE RMN-H¹ DE LA METIL- α -D-GLUCOPIRANOSA AMB FENOL A DIFERENTS CONCENTRACIONS (FENOL:GLUCOSA, 0:1, 5:1, 15:1 I 25:1) A 10°C I pD 7 AMB TAMPÓ FOSFAT 0,1M.

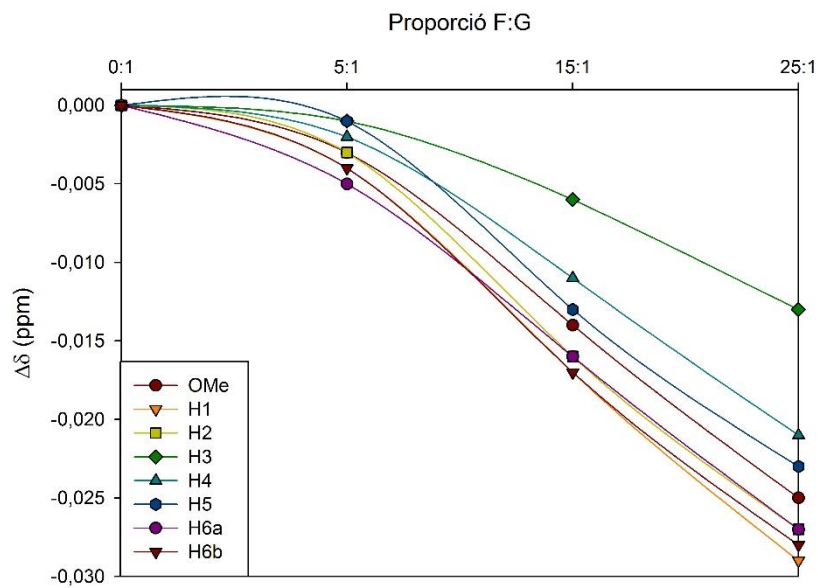


FIGURA 13: INCREMENT DELS DESPLAÇAMENTS QUÍMICS ($\Delta\delta = \delta_{GI+F} - \delta_{Glsola}$) DELS HIDRÒGENS DE LA METIL- α -D-GLUCOPIRANOSA AMB FENOL EN FUNCIÓ DE LA CONCENTRACIÓ DE FENOL A 10°C I pD 7 AMB TAMPÓ FOSFAT 0,1M. PER A PODER COMPARAR, S'HAN RESTAT ELS DESPLAÇAMENTS QUÍMICS DE LA MESCLA AMB ELS DE LA METIL- α -D-GLUCOPIRANOSA SOLA.

En el cas del N-metilindol, l'addició dels monosacàrids provoca la disminució de l'absorbància en una proporció similar entre els diferents glúcids, indicant al igual que a l'indol, que no hi ha dependència de l'estereoquímica dels glúcids com en el fenol (Figura 15).

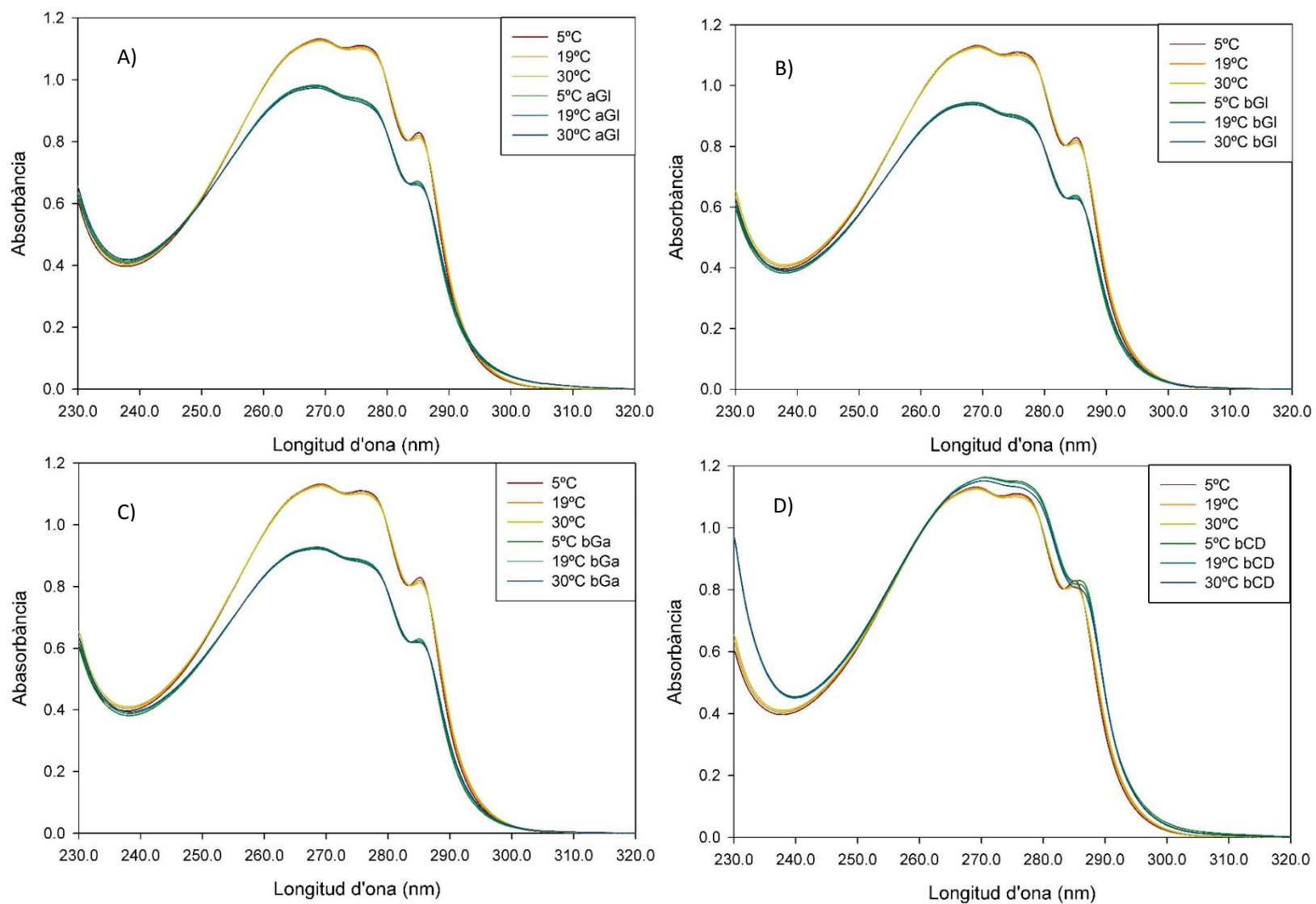


FIGURA 14: ESPECTRES D'ABSORBÀNCIA DE L'INDOL A DIFERENTS TEMPERATURES EN PRESENCIA I EN ABSÈNCIA DELS DIFERENTS GLÚCIDS. A) METIL- α -D-GLUCOPIRANOSA (aGI) B) METIL- β -D-GLUCOPIRANOSA (bGI) C) METIL- β -D-GALACTOPIRANOSA (bGa) D) β -CICLODEXTRINA (bCD).

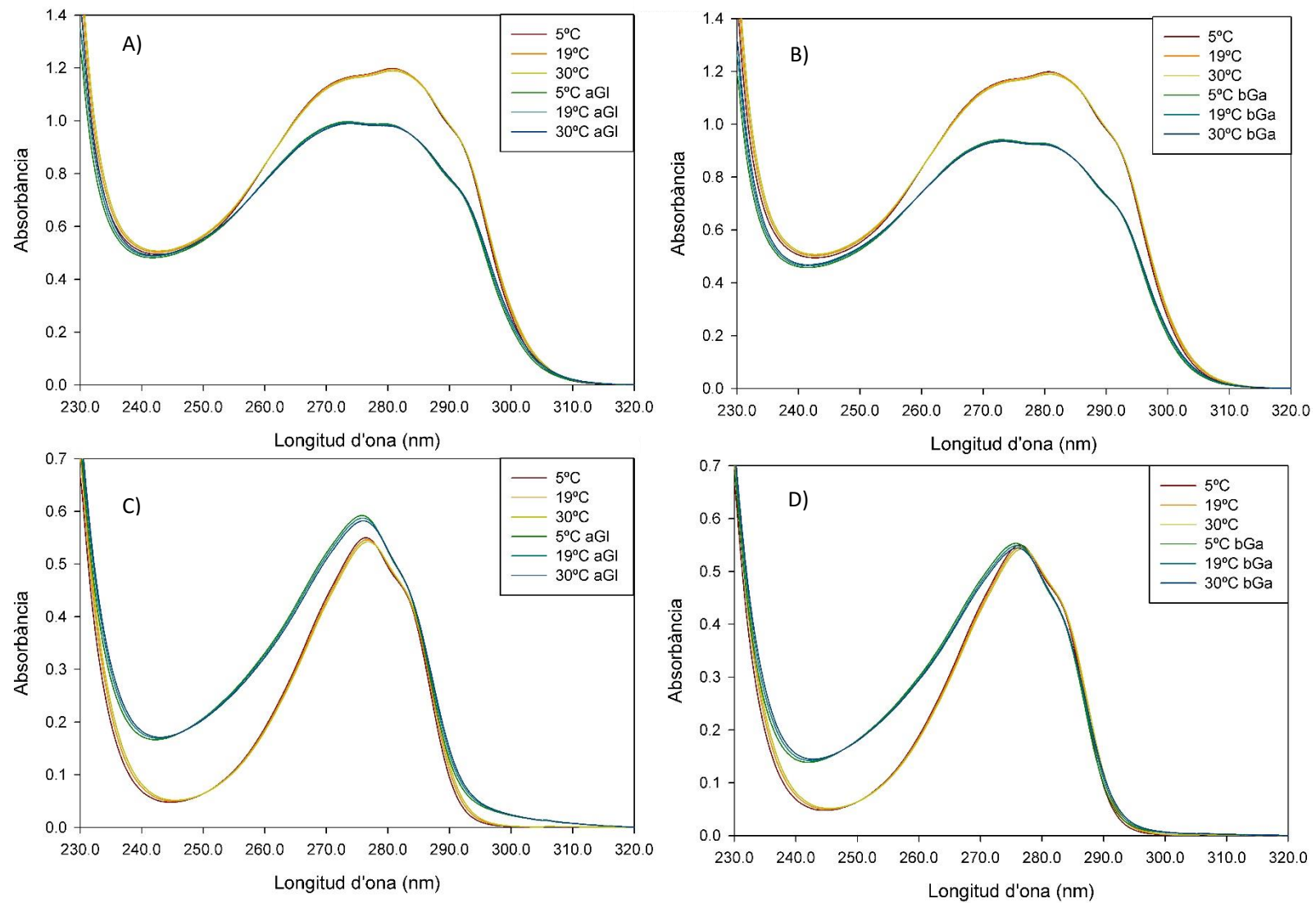


FIGURA 15: ESPECTRES D'ABSORBÀNCIA DEL N-METILINDOL (A SOBRE) I P-CRESOL (A SOTA) A DIFERENTS TEMPERATURES EN PRESENCIA I EN ABSÈNCIA DELS DIFERENTS GLÚCIDS. A) P-CRESOL + METIL- α -D-GLUCOPIRANOSA (aGl) B) P-CRESOL + METIL- β -D-GALACTOPIRANOSA (bGa) C) N-METILINDOL + METIL- α -D-GLUCOPIRANOSA (aGl) D) N-METILINDOL + METIL- β -D-GALACTOPIRANOSA (bGa).

2.- Arquitectura dels complexos glúcid-aromàtic

Els estudis de UV-Vis i de RMN suggereixen una interacció glúcid-aromàtic. Per tal d'intentar descriure l'arquitectura dels complexos s'adquiriren els espectres ^1H -NOESY i $^1\text{H},^1\text{H}$ -ROESY.

L'espectre ROESY de la mescla de fenol/metil- α -D-glucopiranososa mostra l'aparició de senyals ROES intermoleculares (Figura 16). La metil- α -D-glucopiranososa interacciona amb el fenol a través del H1, un dels H6 i del grup OMe i/o del H4, mentre que el fenol ho fa majoritàriament amb els H1 i H2 i en menor mesura amb l'H3ⁱⁱ.

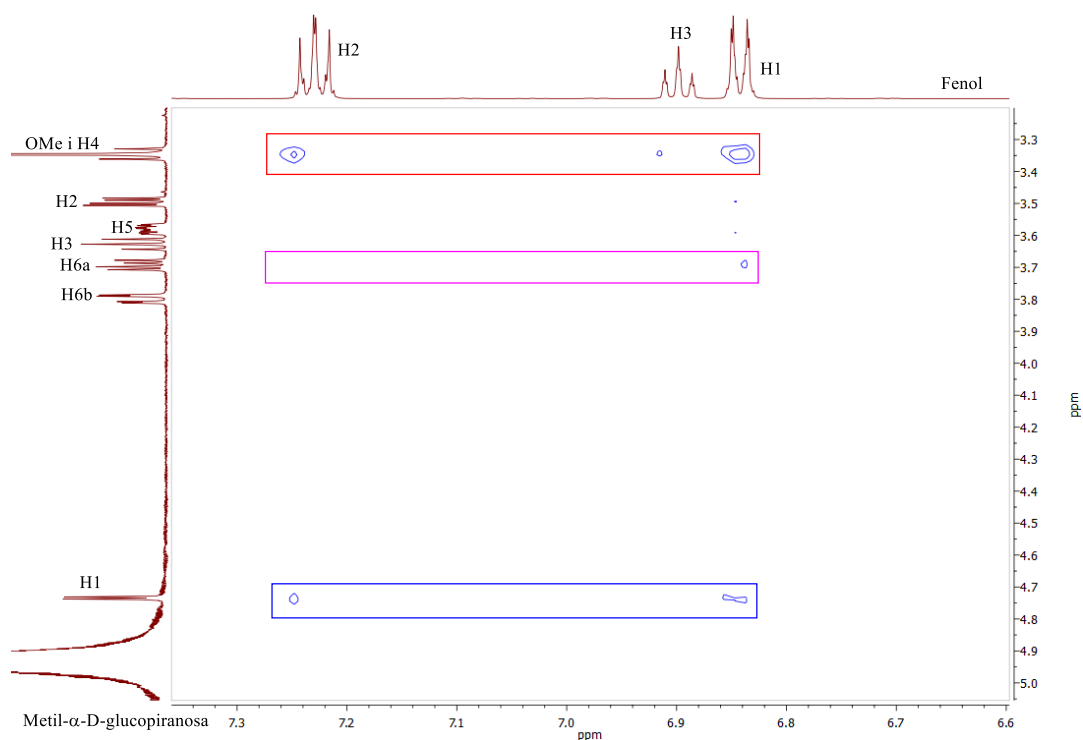


FIGURA 16: ESPECTRE ROESY DE LA METIL- α -D-GLUCOPIRANOSA (0,4M) AMB FENOL (0,25M) A 10°C I pD 7 AMB TAMPÓ FOSFAT 0,1M. EN VERMELL LES INTERACCIONS DEL CONJUNT OME-H4, EN BLAU LES DEL H1 I EN ROSA UN DELS H6ⁱⁱ.

Amb els 1D-NOESY (les freqüències de cada hidrogen s'han obtingut de [20]), pareix que tots els protons interaccionen de forma feble amb el fenol. Solapant tots els 1D-NOESY es pot veure com els pics de major intensitat són els dels espectres irradiats de forma selectiva sobre H4 i/o OMe, i H1 del monosacàrid.

En els $^1\text{H},^1\text{H}$ -ROESY obtinguts per a la mescla de fenol/metil- β -D-galactopiranososa, demostra que els protons del glúcid que interaccionen amb el fenol són tots menys H2 (Figura 17).

ⁱⁱ La numeració dels hidrògens segueix la mostrada en la Figura 10
[20] M. U. Roslund *et al.*, *Carbohydrate Research* (2008) **343**, 101–112

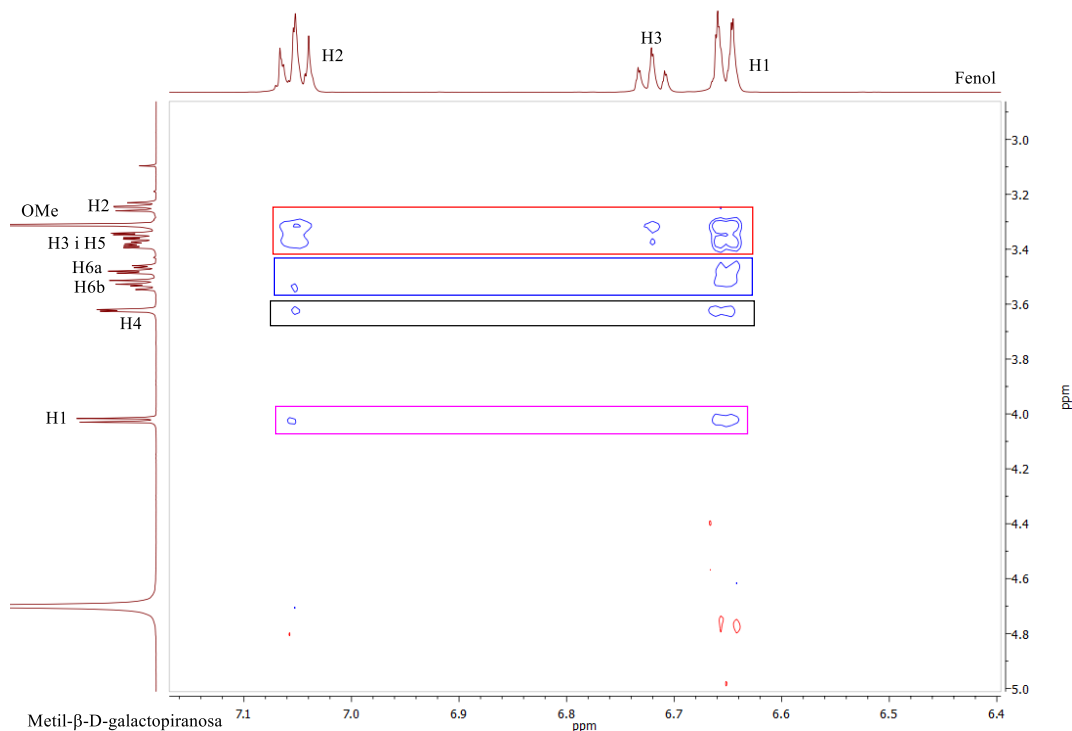


FIGURA 17: ESPECTRE ROESY DE LA METIL- β -D-GALACTOPIRANOSA (0,4M) AMB FENOL (0,25M) A 10°C I pH 7 AMB TAMPÓ FOSFAT 0,1M. EN VERMELL LES INTERACCIONS DEL CONJUNT OME-H3-H5; EN COLOR BLAU LES DELS H6; EN NEGRE LES DEL H4; I EN LILA EL H1 ⁱⁱ.

Amb els 1D-NOESY (les freqüències de cada hidrogen s'han obtingut de [21]), no es veu interacció amb el H2; mentre que si amb la resta de protons (Figura 18).

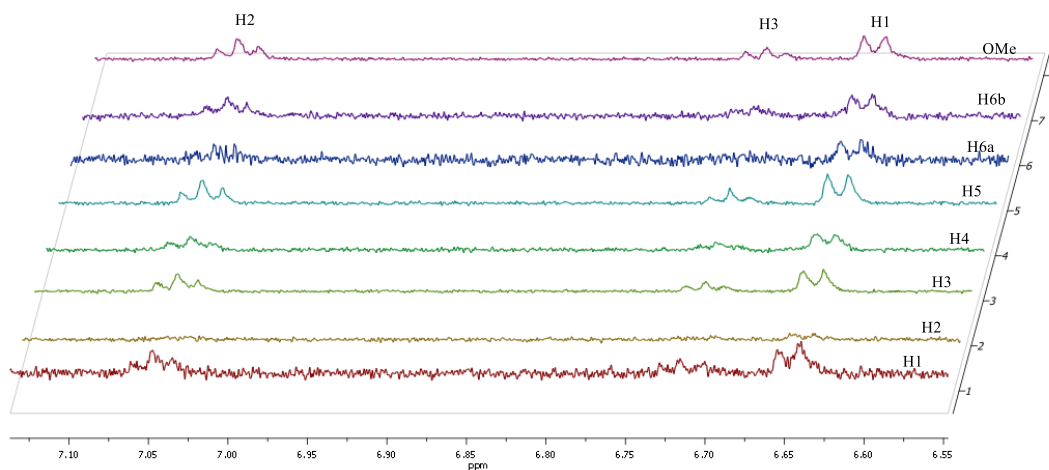


FIGURA 18: ESPECTRE 1D-NOESY DE LA METIL- β -D-GALACTOPIRANOSA (0,4M) AMB FENOL (0,25M) A 10°C I pH 7 AMB TAMPÓ FOSFAT 0,1M.

Totes aquestes senyals de proximitat observades en les mesclades de fenol amb metil- α -D-glucopiranososa o metil- β -D-galactopiranososa es troben resumides en la Taula 1.

[21] S. Vandenbussche, D. Díaz *et al.*, *Chem. Eur. J.* (2008) **14**, 7570-7578

TAULA 1: RESUM DE LES INTERACCIONS OBSERVADES ALS ROESY. LES CASELLES MARCADES AMB X SIGNIFICA QUE S'OBSEVA UN PIC CORRESPONENT A DITA INTERACCIÓ.

Fenol/ Metil- α -D-Glucopiranososa	H1	H2	H3	Fenol/ Metil- β -D-Galactopiranososa	H1	H2	H3
H1	X			H1	X	X	
H2				H2			
H3				H3	X		
H4				H4	X	X	
H5	X			H5	X	X	
H6a				H6a	X		
H6b				H6b	X	X	
OMe	X	X	X	OMe	X	X	X

A la mescla de reacció metil- β -D-galactopiranososa amb *p*-cresol igualment s'observen ROES dèbils entre els protons del OMe i el H4 amb els protons del *p*-cresol (Figura 19).

En el cas de la mescla de metil- α -D-glucopiranososa i el *p*-cresol, no s'observen ROES entre els hidrògens del sucre i l'anell aromàtic. Això, suggereix l'oposat a l'observat per UV-Vis on es veu que en la mescla de *p*-cresol/metil- α -D-glucopiranososa hi ha variació en l'absorbància de l'aromàtic. El factor que potser es el responsable d'aquesta contradicció és la concentració, degut a que el *p*-cresol té una baixa solubilitat en aigua (20g/L), el que obligà a realitzar els experiments a baixa concentració, fet que dificultarà a la detecció dels ROES.

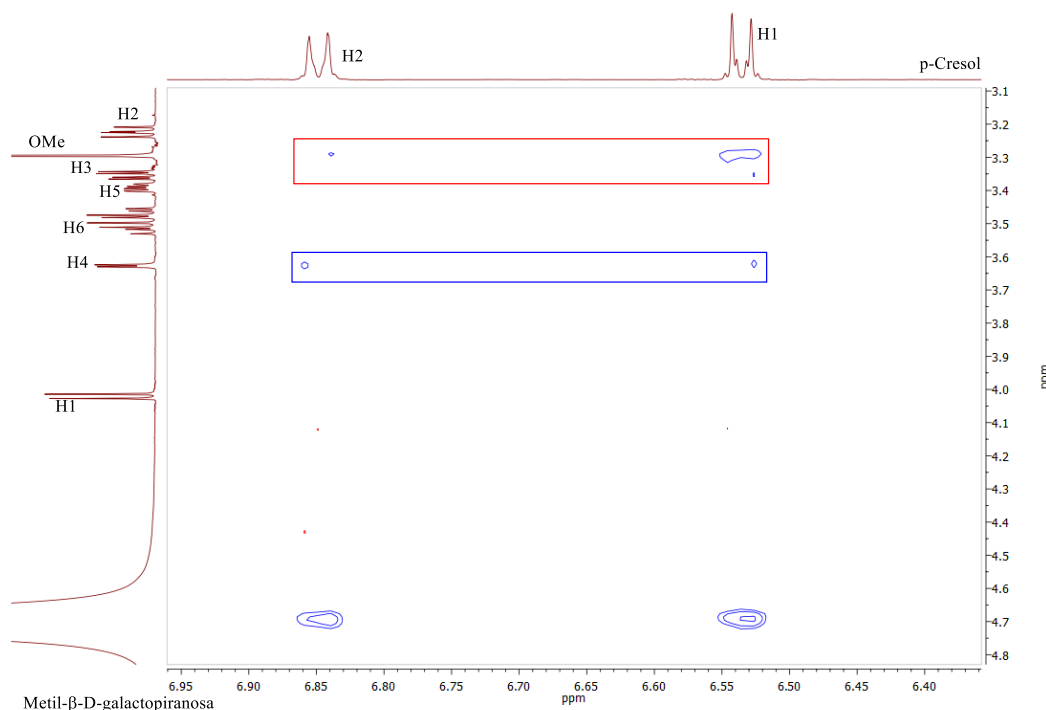


FIGURA 19: ESPECTRES ROESY DE LA METIL- β -D-GALACTOPIRANOSA (0,2M) AMB *p*-CRESOL (0,18M) A 10°C I pD 7 AMB TAMPÓ FOSFAT 0,1M. EN VERMELL LES SENYALS DEL OMe I EN BLAU LES SENYALS DEL H4 (CASI A NIVELL DE RENOU) ⁱⁱ.

A l'espectre ^1H , ^1H -ROESY obtingut de la mescla de metil- α -D-glucopiranososa amb indol o N-metilindol no s'observa cap ROES entre ells (Figura 20). Aquests resultats tornen a ser contradictoris als observats per UV-Vis, molt probablement degut a la concentració de l'indol i del N-metilindol (amb unes solubilitats de 3,56g/L i 0,432g/L respectivament [22]), per tant només es va poder realitzar dissolucions 20mM en indol i de 3mM per al N-metilindol. Al ser una interacció feble i dependent de la proporció aromàtic:glúcid (com es pot veure en les Figures 11 i 12) pot ser hi ha interacció, però no es pot veure degut a la baixa sensibilitat de l'espectroscòpia de RMN.

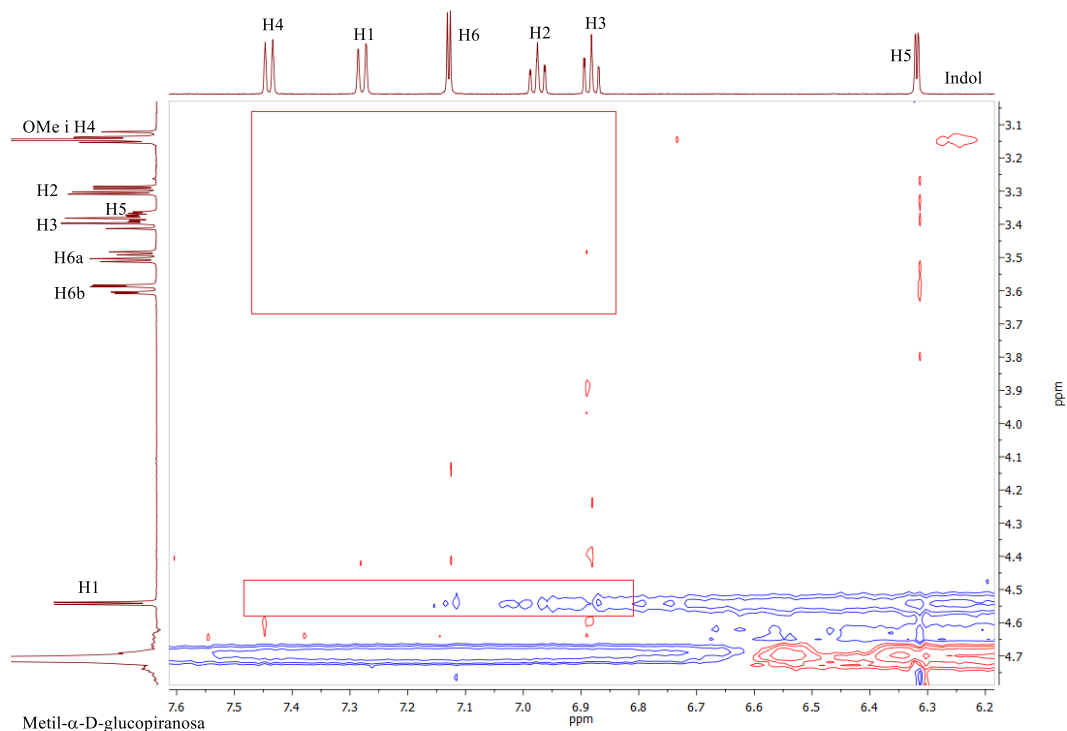


FIGURA 20: ESPECTRE ROESY DE LA METIL- α -D-GLUCOPIRANOSA (40mM) AMB INDOL (20mM) A 10°C I pD 7 AMB TAMPÓ FOSFAT 0,1M. EN LES DUES ZONES D'ESTUDI, ELS REQUADRES EN VERMELL, NO S'OBSERVEN SENYALS QUE INDUQUIN INTERACCIÓ ENTRE L'INDOL I EL MONOSACÀRID ⁱⁱ.

[22] *Aquasol Database of Aqueous Solubility Version 5*, Yalkowsky SH, Dannenfelser RM; College of Pharmacy, University of Arizona - Tucson, AZ. PC (1992)

3.- Efecte de la temperatura sobre la interacció glúcid-aromàtic

Per tal d'entendre la naturalesa de la interacció es va estudiar com varien els espectres de UV-Vis i de RMN en funció de la temperatura. Si la interacció és de caràcter hidrofòbic s'espera una ruptura del complex a baixes temperatures degut a la hidratació hidrofòbica.

Per tal d'observar aquest efecte es varen restar els espectres UV-Vis dels composts aromàtics dels obtinguts en presència de glúcid a diferents temperatures. Així, i segons la Llei de Lambert-Beer: l'absorbància d'una mescla a una longitud d'ona, si no hi ha interaccions entre les diferents espècies, és la suma de les absorbàncies de cada un dels components a la mateixa longitud d'ona [23]:

$$A_t = A_{\text{complex}} + A_{\text{aromàtic}} ; A_{\text{complex}} = A_t - A_{\text{aromàtic}}$$

A les tres mescles dels monosacàrids amb fenol podem veure un increment de la variació de l'absorbància així com disminueix la temperatura, fins a una certa temperatura (sobre els 11°C) on la variació de l'absorbància comença a disminuir al seguir baixant la temperatura (Figura 21A). Aquest fet podria ser degut a que la naturalesa de la interacció glúcid-aromàtic és de tipus hidròfob i que es produeix una disminució de la interacció degut a la hidratació hidrofòbica de l'aromàtic.

A les mescles d'indol amb els tres monosacàrids (Figura 21B), el comportament és similar. Així com disminueix la temperatura s'incrementa la variació de l'absorbància i pareix arribar a una temperatura (sobre els 7°C) on la variació és màxima. Aquest tipus de comportament també podria indicar una interacció hidrofòbica. El desplaçament de la temperatura a la qual es comença a rompre el complexa glúcid-aromàtic, indica una major fortalesa de la interacció pel cas de l'indol, respecta al fenol. L'indol presenta una major mida i un major "núvol π " que el fenol, fent-lo més polaritzable.

En el cas del N-metilindol i *p*-cresol en presència de metil- α -D-glucopiranososa i metil- β -D-galactopiranososa (Figura 21), les variacions de l'absorbància no pareixen dependre de la temperatura, mantenint-se relativament constants durant tot l'interval estudiat.

Aquest possible efecte de desestabilització del complexa degut a la hidratació hidrofòbica va ser estudiat també per RMN. Les assignacions dels espectres de ^1H -RMN de la metil- α -D-glucopiranososa i de la metil- β -D-galactopiranososa van ser obtinguts a 25°C

[23] *Principios de Análisis Instrumental 5ª Ed*, D. A. Skoog, F. J. Holler i T. A. Nieman, Madrid (2001) McGRAW-HILL

de referències bibliogràfiques [24,25]. Es veu clarament que la formació del complex modifica els desplaçaments dels protons del glúcid (Figura 22).

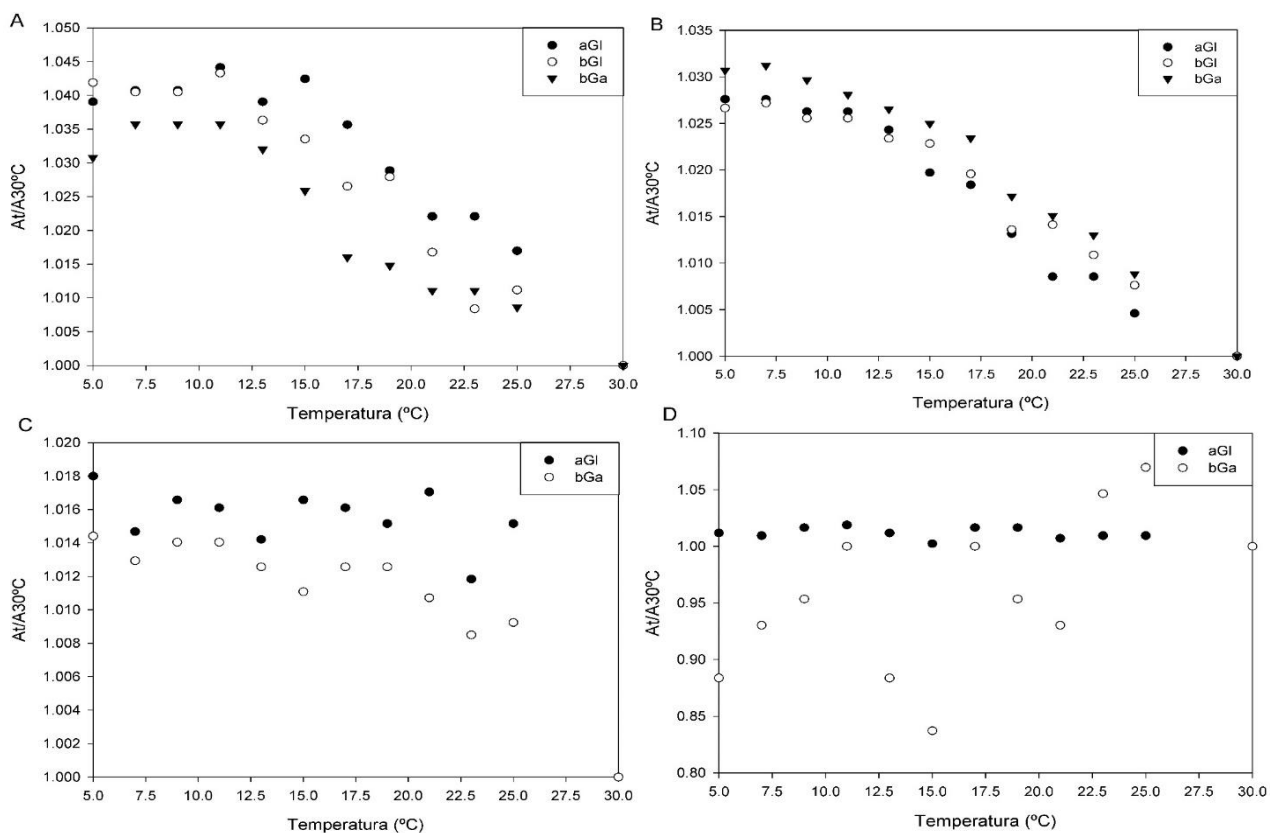


FIGURA 21: REPRESENTACIONS DE L'ABSORBÀNCIA MÀXIMA A CADA TEMPERATURA NORMALITZANT AMB EL VALOR A 30°C. A) COMPLEXES DE FENOL B) COMPLEXES D'INDOL C) COMPLEXES DE N-METILINDOL D) COMPLEXES DE P-CRESOL

Es va veure que els protons del complex glúcid-aromàtic es desplacen lleugerament a camp fort a mesura que baixa la temperatura.

En el cas de la metil- α -D-glucopiranososa amb fenol (Figures 23 i 24) aquesta variació es dona en major grau a tots els protons, excepte en H3 i H4; el que confirma els resultats dels ROESY que indicaven que els H3 i H4 no establien interaccions amb el fenol.

En el cas de la metil- β -D-galactopiranososa amb fenol (Figures 25 i 26) la major variació es té lloc en els H1 i H5; mentre que H2 presenta la menor, confirmant la geometria de la interacció que deriva dels experiments ROESY.

Tot i això, en ambdós experiments s'observa que la variació del desplaçament dels protons s'incrementa a mesura que disminueix la temperatura de forma pràcticament lineal. Per tant, no s'observa que la $\Delta\delta$ disminueixi a baixes temperatures, el que estaria en concordança amb els resultats de UV-Vis i indicaria una desestabilització del complex degut a la hidratació hidrofòbica.

[24] M. U. Roslund *et al.*, *Carbohydrate Research* (2008) **343**, 101–112

[25] S. Vandenbussche, D. Díaz *et al.*, *Chem. Eur. J.* (2008) **14**, 7570-7578

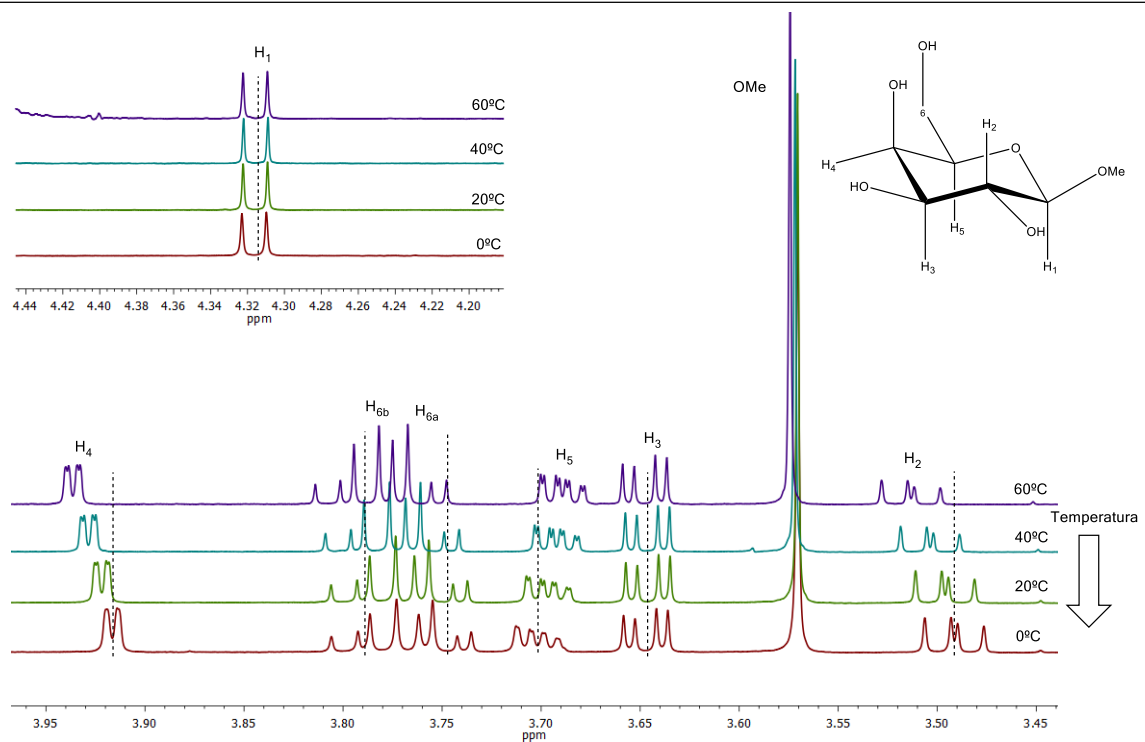
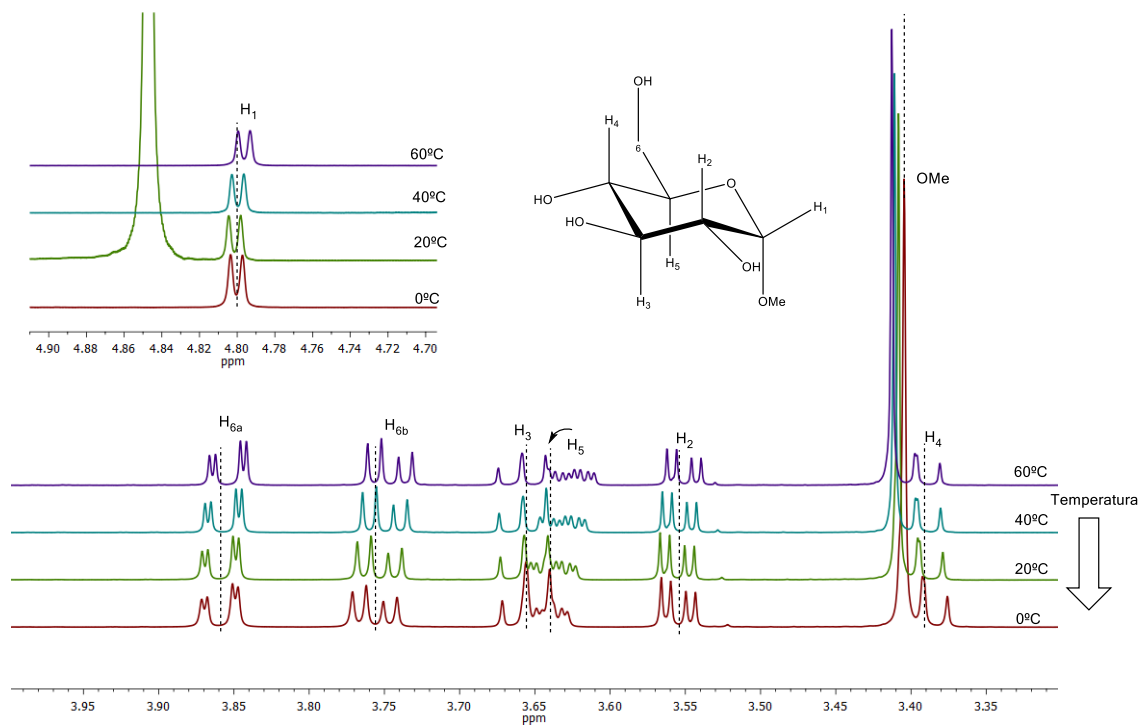


FIGURA 22: ESPECTRES DE ^1H -RMN DE LA METIL- α -D-GLUCOPIRANOSA (3mM) (A SOBRE) I LA METIL- β -D-GALACTOPIRANOSA (3mM) (A SOTA) A DIFERENTS TEMPERATURES (0, 20, 40 I 60°C) AMB UNES CONDICIONS DE pD 7 I TAMPÓ FOSFAT 0,1M.

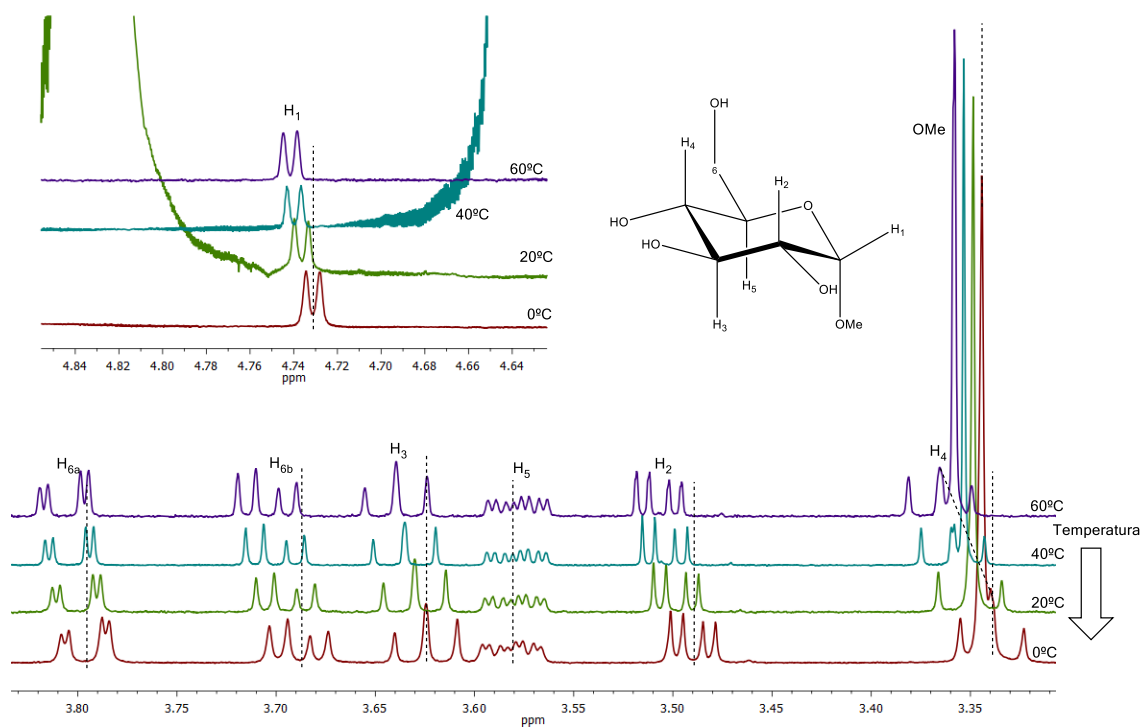


FIGURA 23: ESPECTRES DE ^1H -RMN DE LA METIL- α -D-GLUCOPIRANOSA (3mM) AMB FENOL (0,6M) A DIFERENTS TEMPERATURES (0, 20, 40 I 60°C) A pD 7 I TAMPÓ FOSFAT 0,1M.

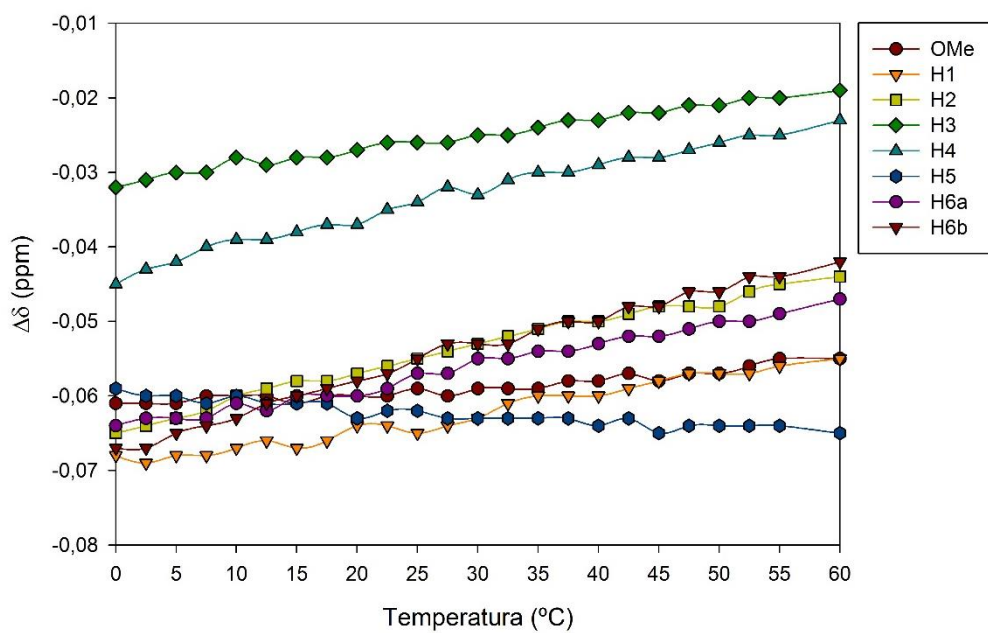


FIGURA 24: INCREMENT DELS DESPLAÇAMENTS QUÍMICS ($\Delta\delta = \delta_{\text{GI+F}} - \delta_{\text{GIsola}}$) DELS HIDRÒGENS DE LA METIL- α -D-GLUCOPIRANOSA AMB FENOL EN FUNCIÓ DE LA TEMPERATURA.

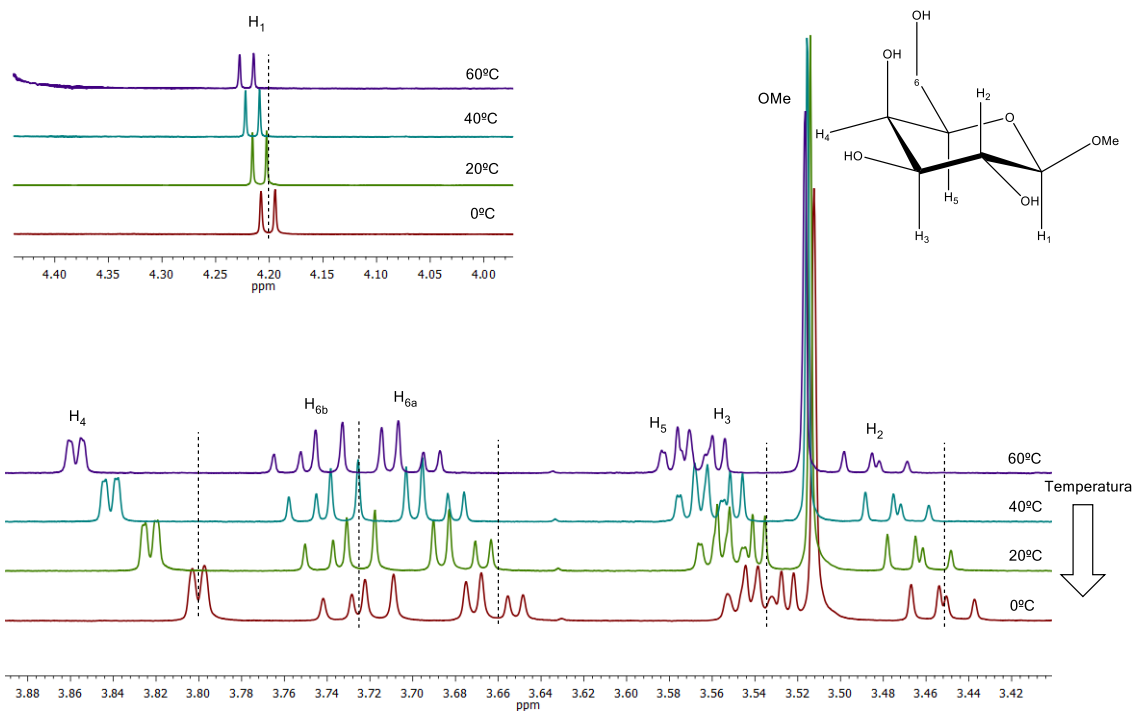


FIGURA 25: ESPECTRES DE ^1H -RMN DE LA METIL- β -D-GALACTOPIRANOSA (3mM) AMB FENOL (0,6) A DIFERENTS TEMPERATURES (0, 20, 40 I 60°C) A pD 7 I AMB TAMPÓ FOSFAT 0,1M.

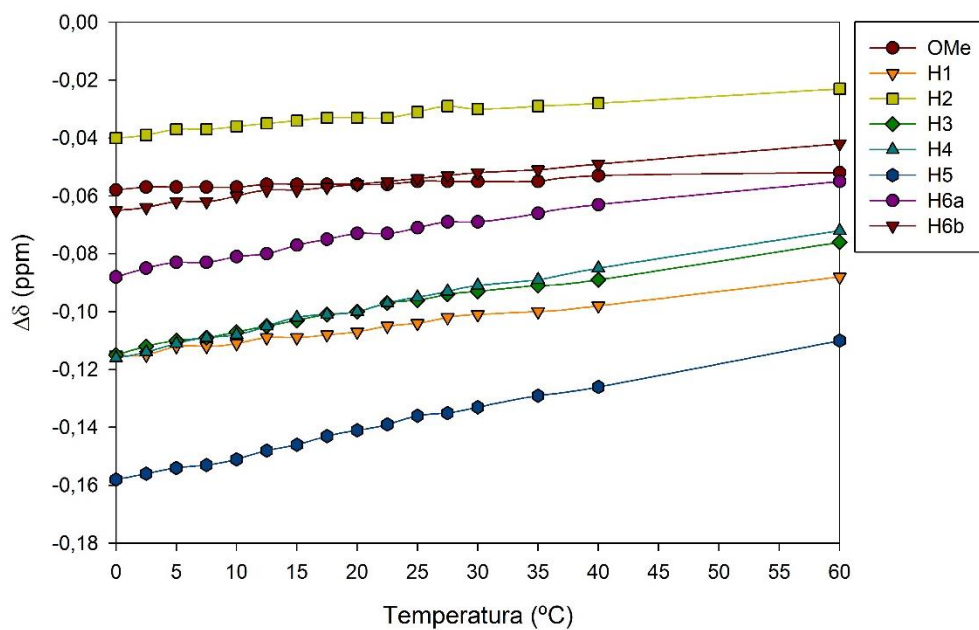


FIGURA 26: INCREMENT DELS DESPLAÇAMENTS QUÍMICS ($\Delta\delta = \delta_{\text{Ga+F}} - \delta_{\text{Gasola}}$) DELS HIDRÒGENS DE LA METIL- β -D-GALACTOPIRANOSA AMB FENOL EN FUNCIÓ DE LA TEMPERATURA

Discussió

Aquest treball de fi de grau presenta l'objectiu fonamental de determinar si s'estableix interacció glúcid-aromàtic en mitjà aquós i a alhora, determinar la naturalesa d'aquesta interacció.

Inicialment es va emprar la espectroscòpia de RMN per demostrar la formació del complex glúcid-aromàtic. Per això, es va analitzar una mescla de fenol/metil- α -D-glucopiranos. Es va observar que a mesura que s'augmentà la proporció entre ambdós, les senyals dels protons del glúcid es desplaçaven cada vegada cap a camp més alt. Aquest fet concorda amb resultats ja publicats per a sistemes similars [26], i demostra l'establiment d'interaccions glúcid-aromàtic entre ambdós.

Adicionalment es va utilitzar l'espectroscòpia UV-Vis per les possibles interaccions entre diferents glúcids i diferents compostos aromàtics. S'ha demostrat que el fenol és únicament capaç d'interaccionar determinats carbohidrats, mitjançant un procés que pareix estar condicionat per l'estereoquímica dels mateixos. Així, l'espectre UV-Vis del fenol es veu modificat per la presència de metil- α -D-glucopiranos, però no en presència de metil- β -D-glucopiranos, el que suggereix que la interacció està fortament condicionada per la inversió d'estereoquímica en el carboni anomèric. Per contra, el canvi d'estereoquímica dels altres carbonis de l'hexosa no pareix tenir un efecte dràstic damunt la interacció, ja que l'efecte de la metil- β -D-glucopiranos damunt l'espectre UV-Vis del fenol es pràcticament similar al induït per la metil- β -D-galactopiranos.

Emperò els resultats obtinguts demostren que aquesta especificitat en la interacció observada pel fenol, no pareix ésser un comportament general per a tots els aromàtics quan aquests estableixen interaccions amb glúcids. Així, s'ha observat que la presència de metil- α -D-glucopiranos, metil- β -D-glucopiranos o metil- β -D-galactopiranos indueix un efecte paregut damunt l'espectre UV-Vis d'un altre compost aromàtic, com és l'indol. Aquest efecte es podria explicar amb el fet que l'indol, al tenir un major radi que el fenol, la seva interacció no depèn en tanta mesura de la disposició espacial dels grups CH com en el cas del fenol. Cal dir també, que les diferents col·locacions de diferents monosacàrids respecte a l'indol ja ha estat calculada teòricament a un treball ja publicat [27].

Adicionalment, s'ha aplicat l'espectroscòpia UV-Vis a l'estudi de l'efecte de la metilació, tant del fenol com de l'indol, a les seves interaccions amb els glúcids. Resultats obtinguts demostren que el *p*-cresol pareix presentar unes interaccions condicionades per l'estereoquímica del carboni anomèric. Així, la presència de metil- α -D-glucopiranos

[26] S. Vandenbussche, D. Díaz, *et al.*; *Chem. Eur. J.* (2008) **14**, 7570 – 7578

[27] S. Tsuzuki, T. Uchamaru i M. Mikami; *J. Phys. Chem. A* (2011) **115**, 11256–11262

indueix l'eixamplament de la banda espectral del *p*-cresol i una disminució de la seva intensitat, mentre que la presència de metil- β -D-galactopiranososa no induïx una variació notable de la intensitat espectral. En canvi, en el cas del N-metilindol, tant la metil- α -D-glucopiranososa com la metil- β -D-galactopiranososa pareix induir un efecte similar al seu espectre UV-Vis. Així aquests resultats demostren que la metilació dels anells aromàtics no alteren la selectivitat de les interaccions glúcid-aromàtic.

Una vegada constatada la dependència de la interacció glúcid-aromàtic tant amb la naturalesa química del glúcid com amb la del compost aromàtic, es varen adquirir diferents experiments de RMN (^1H -NOESY i ^1H , ^1H -ROESY) per tal de descriure l'arquitectura dels complexos formats. Així, la mescla fenol/metil- α -D-glucopiranososa evidencià la presència de senyals indicatives de proximitat (ROEs) entre els hidrògens H1, un dels H6 i OMe i/o H4 del glúcid amb els H1 i H2 del fenol. Amb aquestes dades, es pot suposar que el fenol és col·loca a la cara inferior de l'anell, pròxim al grup OMe (Figura 27A), tal com a es suggereix en l'estudi [28]. Però, aquesta arquitectura pareix ser molt específica del complex estudiat, ja que estudis previs demostren que la interacció entre metil- α -D-glucopiranososa i naftalè es dona per la cara superior del carbohidrat [29 i 30]. La diferència essencial pareix venir que el fenol, a diferència del naftalè, es capaç de formar un enllaç d'hidrogen mitjançant el seu grup hidroxil i un parell lliure del oxigen de l'anell del monosacàrid, fet que condiciona notablement l'arquitectura del complex format.

En canvi, la mescla fenol/metil- β -D-galactopiranososa mostra la aparició de senyals de proximitat pels H1, H3, H4, H5, els H6 i el OMe amb els H1 i H2 del fenol. Per tant, el fenol, al interaccionar amb la metil- β -D-galactopiranososa es torna situar a la cara inferior del carbohidrat (Figura 27B). La formació d'aquesta complexa ha estat també estudiat teòricament per altres autors, demostrant que el fenol pot col·locar-se en dos llocs de la cara inferior: pròxim a H1, H2 i H3 o pròxim a H3, H4 i H5 [24,27,31]. Els resultats experimentals obtinguts en aquest treball són més partidaris de la presència de dues o més formes de col·locació a la cara inferior, degut a que tots els hidrògens, excepte H2, presenten alguna senyal de proximitat.

L'arquitectura dels complexos glúcid-aromàtic pels altres compostos analitzats en aquest treball (indol, *p*-cresol i N-metilindol) no s'han pogut determinar degut a les baixes solubilitats dels mateixos i al baix desplaçament de l'equilibri de complexació, fets que han impossibilitat obtenir senyals vàlides dins l'escala de sensibilitat de la RMN.

[28] M. S. Suhatha, Y. U. Sasidhar i P. V. Balaji; *Protein Sci.* (2004) **13**, 2502–2514

[29] A. G. Santana, E. Jiménez-Moreno, *et al.*; *J. Am. Chem. Soc.* (2013) **135**, 3347–3350

[30] E. Jiménez-Moreno, A. M. Gómez, *et al.*; *Angew. Chem. Int. Ed.* (2015) **54**, 4344–4348

[31] Motohiro Nishio; *Phys. Chem. Chem. Phys.* (2011) **13**, 13873–13900

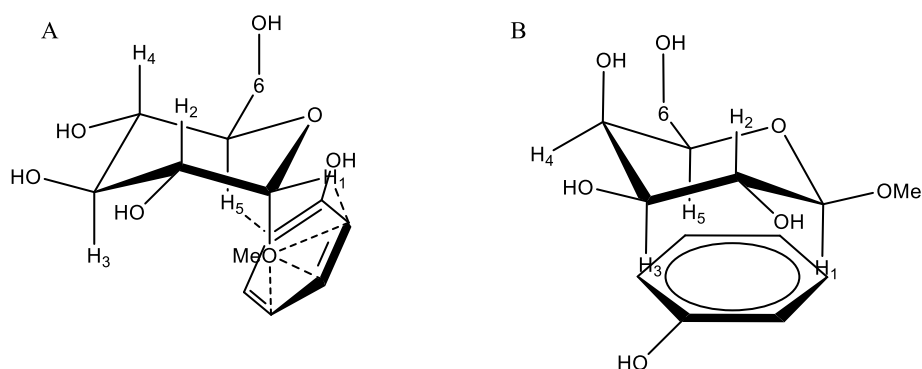


FIGURA 27: REPRESENTACIÓ DE LA COL·LOCACIÓ DEL FENOL I DELS DOS MONOSACÀRIDS (A: METIL- α -D-GLUCOPIRANOSA I B: METIL- β -D-GALACTOPIRANOSA) EN FUNCIÓ DE LES INTERACCIONS OBSERVADES EN ELS ROESYS, RESUMITS EN LA Taula 1. EN EL CAS A LA INTERACCIÓ POT VEURE'S REFORÇADA PER UN ENLLAÇ D'HIDROGEN ENTRE EL GRUP HIDROXIL DEL FENOL I ELS PARELLS LLIURES DEL OXIGEN DE L'ANELL.

La part final d'aquest treball de fi de grau es va focalitzar en determinar la naturalesa química de la interacció glúcid-aromàtic. Concretament es va estudiar si aquesta era de tipus hidròfob. Si fos el cas, s'esperaria una pèrdua de l'estabilitat del complexa format a baixes temperatures degut a l'aparició de la hidratació hidròfoba, la qual es podria visualitzar analitzant la variació de l'absorbància (ΔA) del compost aromàtic i la variació dels desplaçaments químics dels protons ($\Delta\delta$) del glúcid. Les mescles glúcid-fenol evidencien un increment de la ΔA a mesura que disminueix la temperatura, indicatiu d'un increment en la proporció del complex format. Però aquest increment arriba al seu màxim a 11°C, temperatura a partir de la qual comença a disminuir lleugerament. En el cas de l'indol, el comportament és paregut, però amb el màxim de la ΔA a una temperatura inferior, al voltant dels 7°C. Aquest fet indica que pareix ésser que la interacció glúcid-indol és més fort (però menys selectiu) que la interacció glúcid-fenol. Estudis teòrics han demostrat que l'increment en la mida de la molècula i el major tamany dels orbitals π pot provocar una major polarització dels orbitals i facilitar que s'estableixin major nombre d'interaccions CH- π entre el monosacàrid i l'indol [25]. Per altre banda, s'ha vist que la metilació dels anells aromàtics provoca que la variació de l'absorbància no depengui de la temperatura. La metilació provoca una modificació de la densitat electrònica de l'anell aromàtic, a més d'incrementar el caràcter hidrofòbic del compost; per tant, és possible que es formin complexos més estables que amb el fenol i l'indol.

Aquestes dades obtingudes demostrarien, en principi, que la interacció glúcid-aromàtic presenta naturalesa hidròfoba. Emperò les dades de RMN no permeten afirmar de forma conclusiva aquest fet, ja que es va constatar que la $\Delta\delta$ s'incrementa de forma lineal amb la temperatura.

Conclusió

Les conclusions que podem extreure del present treball són:

1.- La comprovació de l'establiment d'una interacció entre diversos monosacàrids i els composts aromàtics estudiats mitjançant les tècniques de RMN i UV-Vis.

2.- Com el tamany del compost aromàtic és un factor important. S'ha vist que en el fenol el grau d'interacció depèn de l'estereoquímica del glúcid; mentre que l'indol no presenta aquesta dependència.

3.- Com la metilació dels composts aromàtics no provoca una alteració en la selectivitat de l'aromàtic.

4.- Per altra banda, s'ha pogut obtenir l'arquitectura dels complexos fenol/metil- α -D-glucopiranososa i fenol/metil- β -D-galactopiranososa mitjançant l'espectroscòpia de RMN. En ambdós casos el fenol es situa en la cara inferior del monosacàrid, confirmant les arquitectures que es troben en varies referències bibliogràfiques.

5.- Finalment, es va intentar induir la hidratació hidrofòbica del compost aromàtic. Amb els estudis duts a terme mitjançant RMN i UV-Vis s'obtenen resultats contradictoris i no es pot arribar a cap conclusió.