

PREMIO A LAS MEJORES TESIS DE LICENCIATURA
MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS
"RAFAEL ILLESCAS FRISBIE", EN LA CATEGORÍA DE LICENCIATURA,
EDICIÓN 2015

QUIMIDETECCIÓN DE NUCLEÓTIDOS Y ANIONES INORGÁNICOS
UTILIZANDO RECEPTORES ARTIFICIALES BASADOS EN PIRIDIN-2,6-
DICARBOXIAMIDA. SÍNTESIS Y RECONOCIMIENTO MOLECULAR

Q. IVÁN JONATHAN BAZANY RODRÍGUEZ*

DIRECTOR DE TESIS: ALEJANDRO DORAZCO GONZALES**

RESUMEN

El desarrollo de quimiosensores fluorescentes para aniones es un área activa y de frontera en química supramolecular analítica. Durante la última década se ha reportado un gran número de receptores biomiméticos para aniones de interés biológico, como halogenuros y nucleótidos que son funcionales en medios no acuosos [1], lo cual limita seriamente sus aplicaciones. El presente trabajo discute el diseño, la síntesis y estudios espectroscópicos de reconocimiento de aniones de una serie de receptores catiónicos orgánicos basados en el grupo piridin,2,6,dicarboxamida como sitio de asociación y grupos quinolinio como unidades luminiscentes. A partir de las estructura cristalinas de los receptores, estudios de sus propiedades ácido-base y experimentos de RMN, se observa que la cavidad formada por grupos amida convergentes está fuertemente acidificada y puede operar como sitio de asociación en agua para

reconocer nucleótidos y halogenuros por interacciones del tipo N-H...Anión. Constantes de Stern-Volmer calculadas a partir de titulaciones fluorimétricas a pH= 6.5 muestran la siguiente selectividad para las especies aniónicas estudiadas: ATP > GTP > ADP > CTP > AMP > Cl⁻ > PPi con el receptor 1-TfO, lo cual permite detectar nucleótidos en concentraciones micro-molares.

SÍNTESIS

El Esquema I representa de manera generalizada la ruta sintética de cada uno de los compuestos empleados en este estudio. A través de las sales de triflato se llevaron a cabo los estudios de reconocimiento molecular. La caracterización de los compuestos fue realizada por Resonancia Magnética Nuclear de ¹H y ¹³C, Espectrometría de Masas (FAB/El), Espectroscopia de Infrarrojo (ATR) y Difracción de Rayos X de Monocristal.

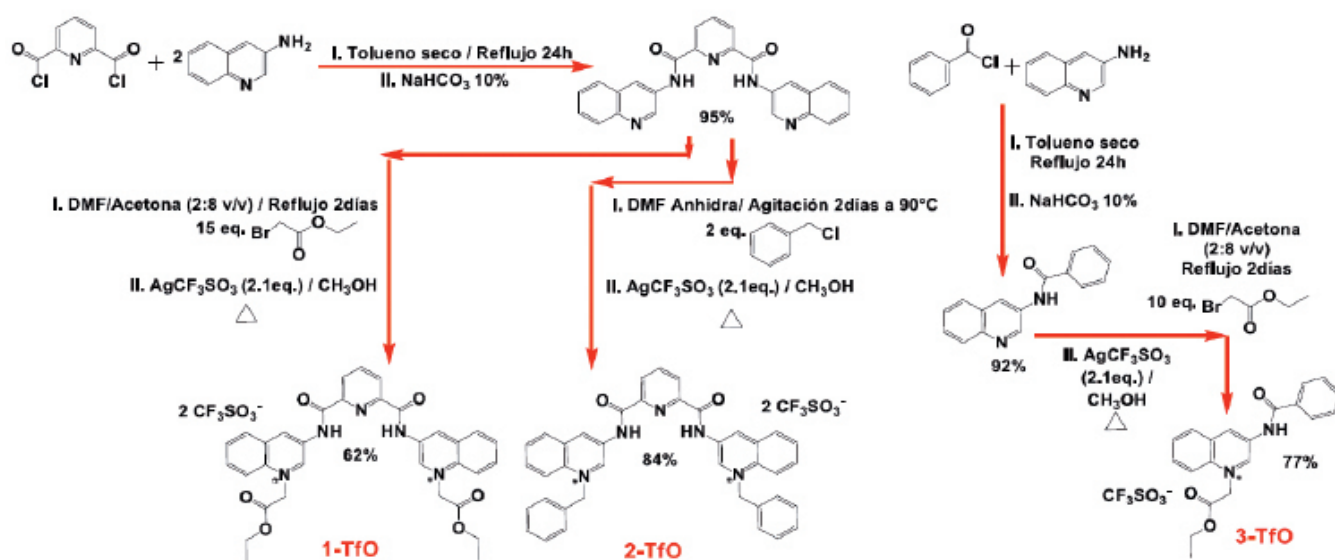


Figura I. Ruta sintética de los receptores de piridin-2,6-dicarboxiamida (1-TfO, 2-TfO) y la respectiva N-quinolin benzamida de 1-TfO.

* Centro Conjunto de Investigación en Química Sustentable, UAEM-UNAM. Instituto de Química, UNAM.

** Facultad de Química, UNAM. adg@unam.mx

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

1. Estructuras cristalinas

Las estructuras cristalinas correspondientes a las sales de triflato (1-TfO y 2-TfO) muestran que el anión está posicionado en la cavidad del receptor, a través de enlaces de hidrógeno del tipo $\text{NH}\cdots\text{X}\cdots\text{HC}$, similar a lo descrito en la literatura para algunos receptores con grupos amino o ureidopiridinio [2]. La estructura cristalina correspondiente a 3-TfO manifiesta interacciones del tipo $\text{CH}\cdots\text{X}\cdots\text{HC}$ y $\text{NH}\cdots\text{X}\cdots$, un grupo CH pertenece al anillo de la quinolina y está situado en la posición cuatro con respecto a su átomo de nitrógeno; el segundo grupo CH se encuentra posicionado en el anillo de la benzamida; el grupo NH corresponde a la amida y éste contribuye directamente con un enlace de hidrógeno. La conformación de 1-TfO y 2-TfO está preorganizada para hospedar, debido a que los grupos NH de las amidas se encuentran dentro de la cavidad, similar a los receptores de piridin-2,6-dicarboxiamida que se han informado [3]. Enfocándonos a la conformación de las sales de triflato de los receptores 1-TfO y 2-TfO, observamos que los grupos NH de amida se encuentran orientados en forma convergente hacia al centro de la cavidad y éstos forman enlaces de hidrógeno con los átomos de oxígeno de dos iones triflato. Adicionalmente, dos enlaces de hidrógeno del tipo CH aromáticos también se encuentran interaccionando de la misma manera; por lo tanto, para fines de este estudio con nucleótidos y de acuerdo con los resultados en estado sólido y solución se esperaría que la cavidad sea un sitio de interacción con los grupos fosfato y los grupos quinolinio sean sitios para interactuar con las bases de purina (ATP, GTP) o pirimidina (CTP) a través de apilamiento π , tal como lo propone la referencia 4.

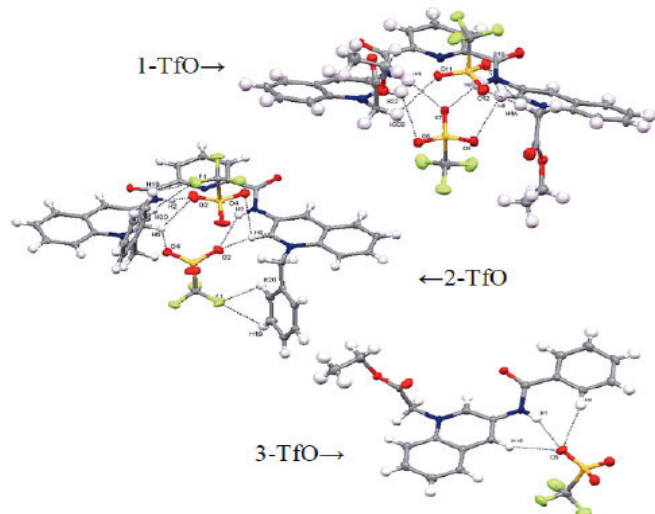


Figura 1. Estructura cristalina de las sales de triflato de los receptores

2. Constantes de asociación y perspectivas

Las sales de triflato de los compuestos sintetizados fueron estudiadas como quimiosensores para aniones con relevancia biológica, los cuales incluyen especies inorgánicas (Cl^- ,

$\text{H}_3\text{P}_2\text{O}_7^-$) y sales de sodio de nucleótidos (ATP, GTP, CTP, ADP y AMP). En general, la adición de alícuotas de aniones extingue la fluorescencia de soluciones acuosas de los quimiosensores a $\text{pH} = 6.5$ (MOPS, 40 mM).

Nucleótido/ Anión inorgánico	1-TCATF			3-TCATF		
	K_{ass}	K_{sv}	ρ	K_{ass}	K_{sv}	ρ
ATP	1759(70)	105(2)	0.40	356(63)	28(2)	0.8
ADP	731(43)	83(3)	0.45	-	29(0.3)	-
AMP	284(121)	53.81 416nm	0.5	-	17(0.6)	-
GTP	1128(19)	131(1.1) 416nm	0.45	303	4	0.9
CTP	455(60)	90(5)	0.6	-	-	-
PPi	239(20)	10.0(0.5) 416nm	0.7	368.9(63)	2.0(0.4)	0.85
Cl ⁻	-	42(0.6) 416nm	-	-	412nm	-
Br ⁻	-	83(1) 416nm	-	-	11.9(0.3) 412nm	-

Tabla 1. Constantes de asociación, de Stern-Volmer y ρ de 1-TfO y 3-TfO con nucleótidos y aniones inorgánicos

Una inspección a los valores de las constantes de asociación colectadas en la Tabla 1 indica que el receptor dicatiónico 1-TfO se asocia con aniones mucho más fuertes que su análogo monocatiónico 3-TfO. Este fenómeno se repite para el caso de las constantes de Stern-Volmer. Las constantes de Stern-Volmer ($K_{\text{sv}} = 2 - 131$) muestran que los receptores pueden detectar concentraciones milimolares de nucleótidos y aniones con una tendencia $\text{ATP} > \text{GTP} > \text{ADP} > \text{CTP} > \text{AMP} > \text{Cl}^- > \text{PPi}$.

Los perfiles de fluorescencia de 1-TfO para cloruro y bromuro muestran una tendencia que es típica de estos aniones, en los que el mecanismo de extinción de la emisión de la fluorescencia describe a un único proceso de índole dinámico donde colisiones aleatorias entre el sensor y el anión provocan que disminuya la emisión de la fluorescencia. El perfil de este tipo de mecanismo tiende a la linealidad donde la pendiente corresponde a la constante de Stern-Volmer (Figura 2.) Para el caso del perfil de fluorescencia de 1-TfO-pirofosfato se observa un mecanismo de extinción de la fluorescencia dinámico y estático con un adulto fluorescente; los datos experimentales se ajustan a la ecuación del proceso tres (comportamiento parabólico). Los perfiles de fluorescencia de 1-TfO muestran asociación con los nucleótidos estudiados manifestando una selectividad para ATP ($K_{\text{ass}} = 1759 \pm 70 \text{ M}^{-1}$, $K_{\text{sv}} = 105$). Los datos experimentales se ajustan a un mecanismo dinámico (colisiones) y estático (asociación Huésped-Sensor) para la extinción de la fluorescencia de 1-TfO (Figura 3).

Este mecanismo comprende una combinación de apagamiento dinámico y estático con la formación de un aducto fluorescente. En este caso, el apagador (nucleótido) se une al sensor y forman un complejo supramolecular donde la emisión del sistema huésped-anfitrión no se extingue por completo. Para fines de este estudio con nucleótidos y de acuerdo con los resultados en estado sólido y solución se propone un modo de asociación (receptor-nucleótido), en el que la cavidad de los receptores dicatiónicos funciona como un sitio de interacción con los grupos fosfato, mientras que los grupos quinolinio actúan como sitios de

interacción con las bases de purina (ATP, GTP) o pirimidina (CTP) a través de apilamiento π .

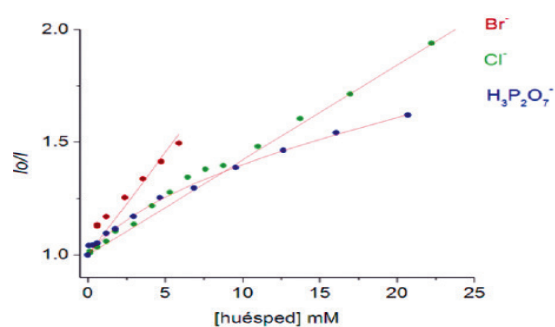


Figura 2. Perfiles de las titulaciones fluorescentes de BQ3RTf con cloruro, bromuro y pirofosfato

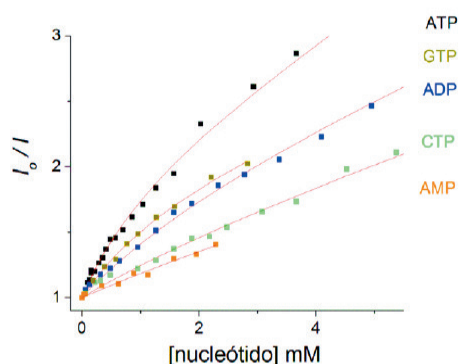


Figura 3. Perfiles de las titulaciones fluorescentes de BQ3RTf con nucleótidos.

CONCLUSIONES

Se han diseñado y sintetizado tres nuevos quimiosensores fluorescentes para nucleótidos y aniones inorgánicos con relevancia biológica. Cada sensor químico ha sido caracterizado por técnicas espectroscópicas y por difracción de rayos X de monocristal. Los sensores 1-TfO y 2-TfO son derivados de piridin-2,6-dicarboxamida con grupos N-alquil y N-bencil quinolinio insertados en el fragmento de los grupos amida. Las constantes de Stern-Volmer ($K_{sv} = 2 - 131$) muestran que los receptores pueden detectar concentraciones milimolares de nucleótidos y aniones con una ten-

dencia $ATP > GTP > ADP > CTP > AMP > Cl^- > PPI$. Los estudios en solución acuosa permitieron el análisis de los diferentes procesos que extinguen la emisión de la fluorescencia en los sistemas huésped-anfitrión a partir de los perfiles de Stern-Volmer. Los perfiles de fluorescencia de 1-TfO muestran asociación con los nucleótidos estudiados manifestando una selectividad para ATP ($K_{ass} = 1759 \pm 70$ M⁻¹ $K_{sv} = 105$). Los datos experimentales se ajustan a un mecanismo dinámico (colisiones) y estático (asociación huésped-sensor) para la extinción de la fluorescencia de 1-TfO. Por otra parte, los perfiles de fluorescencia de 1-TfO para cloruro y bromuro muestran una tendencia que es típica de estos aniones en los que el mecanismo de extinción de la emisión de la fluorescencia describe un único proceso de índole dinámico, donde colisiones aleatorias entre el sensor y el anión provocan que disminuya la emisión de la fluorescencia. Por otra parte, las estructuras cristalinas de los receptores dicatiónicos (1-TfO, 2-TfO) muestran una conformación preorganizada para hospedar aniones debido a que los grupos NH de las amidas se encuentran dentro de la cavidad y éstos forman dos enlaces de hidrógeno que interaccionan con uno de los átomos de oxígeno que componen el anión triflato, por lo que aniones tetraédricos como HP2O7³⁻ o bien la cadena secuencial de tres grupos fosfato en los nucleótidos sea similar. Combinando los estudios en estado sólido y en solución acuosa y en particular debido a la selectividad que manifestó el receptor BQ3RTf por ATP frente a otros nucleótidos alientan a abrir una perspectiva donde el receptor 1-TfO puede competir en afinidad y/o selectividad con los receptores informados hasta la fecha que detectan ATP en solución acuosa.

Referencias bibliográficas

1. Amendola, V., Fabbrizzi, L. y Mosca, L. 2010. Chem. Soc. Rev. 39, 3889-3915.
2. Turner, D. R., Parerson, M. J. y Steed, J. W. 2006. J. Org. Chem. 71, 1598-1608.
3. Bowman-James, K. 2005. Acc. Chem. Res. 38, 671.
4. Dorazco-González, A., Flores-Alamo, M., Godoy-Alcántar, C., Höpfl, H., Yatsimirsky, A. K. 2014. The RSC Adv. 4, 455-466.
5. Fischer, E. 1894. Ber. Dt. Chem. Ges. 27, 2985-2993.
6. Steed, J. W. 2006. Chem. Commun.
7. Schneider, J. y Yatsimirsky, A. 2000. Principles and Methods in Supramolecular Chemistry. Londres, Wiley-VCH.
8. Gale, P. A., Camiolo, S., Sessler, J. L., Atwood, J. L. y Steed, J. W. (eds.). The Encyclopedia of Supramolecular Chemistry, Nueva York, Marcel Dekker.
9. Fabbrizzi, L., Licchelli, M., Pallavicini, P., Parodi, L., Taglietti, A. 1999. Transition Metals in Supramolecular Chemistry, Nueva York, Wiley.