



**Universitat de les  
Illes Balears**

Facultat de Ciències

**Memòria del Treball de Fi de Grau**

# Química de coordinación de bases pirimidínicas y púricas con largas cadenas alifáticas

Aitor Anton Pamies

**Grau de Química**

Any acadèmic 2013-14

DNI de l'alumne: 43164354R

Treball tutelat per Àngel Terrón

Departament de Química Inorgànica



S'autoritza la Universitat a incloure el meu treball en el Repositori Institucional per a la seva consulta en accés obert i difusió en línea, amb finalitats exclusivament acadèmiques i d'investigació

Paraules clau del treball:

Hg(II), Pt(II), N<sup>1</sup>-hexiluracilo, N<sup>1</sup>-hexiltimina, N<sup>1</sup>-hexilcitosina, N<sup>1</sup>-(3-hidroxipropil)-5-fluorouracilo, química de coordinació



# Índice

---

<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>2</b>
<b>1.1 Historia</b> .....	<b>2</b>
<b>1.2 Interacción Metal-Par de bases</b> .....	<b>3</b>
<b>1.3 Consecuencias de la coordinación de un metal</b> .....	<b>6</b>
<b>1.4 Alteraciones irreversibles</b> .....	<b>11</b>
<b>1.5 Diseño de enlaces Metal-nucleobases entre el par de bases</b> .....	<b>13</b>
<b>2 PARTE EXPERIMENTAL</b>	<b>17</b>
<b>2.1 Descripción del trabajo realizado</b> .....	<b>17</b>
<b>2.2 Materiales y Métodos</b> .....	<b>18</b>
<b>2.3 Síntesis y caracterización de los Compuestos</b> .....	<b>19</b>
<b>3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	<b>25</b>

## Abreviaturas más utilizadas:

Adenina	A
Aciclovir	ACV
Guanina	G
Guanosína-5'-monofosfato	GMP
Citosina	C
Uracilo	U
Timina	T
Metanol	MeOH
Dimetilsulfóxido	DMSO
Metal	M

## Interés del tema

A continuación se presenta la memoria sobre el estudio de las interacciones entre metales de transición divalentes, a saber  $Hg^{+2}$  y  $Pt^{+2}$ , con una serie de bases púricas y pirimidínicas, intentando reproducir las condiciones naturales de los ácidos nucleídos. Los complejos bien caracterizados lo fueron con derivados de uracilo y citosina, aunque se hicieron muchas tentativas, y parte de las síntesis están pendientes de que cristalicen los compuestos.

# 1. Introducción

---

Los contraiones intracelulares naturales de los ácidos nucleicos son de naturaleza alcalina y alcalinotérrica principalmente:  $K^+$ ,  $Mg^{+2}$ ,  $Na^+$  y  $Ca^{+2}$  en orden decreciente de concentración. Sin embargo, la química de la interacción metal-ácidos nucleico torna relevante con la aplicación de metales de transición en ensayos bioquímicos y quimioterapéuticos. De hecho, el uso de medicamentos basados en platino para el tratamiento quimioterapéutico contra el cáncer ha impulsado considerablemente la investigación sobre estas interacciones en los últimos 35 años.

## 1.1 Historia

El estudio de dichas interacciones nace en 1920, cuando Hammarsten advierte que los contraiones naturales de los ácidos nucleicos son metales catiónicos. Durante los siguientes 30 años se realizan estudios físico-químicos con metales alcalinos y alcalinotérreos. A partir de 1950 se incluyen metales de transición en los estudios y se observa que estos forman enlaces de coordinación con las nucleobases. Los iones de transición se enlazan formando enlaces más fuertes, lo que conduce a cinéticas de coordinación más lentas y observables, que implican aumento de temperatura de fusión de los ácidos nucleicos, el desplazamiento de protones y preferencias específicas de los iones metálicos por las diferentes nucleobases<sup>1</sup>.

Uno de los puntos clave surge en 1965, Rosenberg determina que el  $cis-PtCl_2(NH_3)_2$  (cisplatino) es un potente anticancerígeno<sup>2</sup>. Este descubrimiento impulsa el estudio de este y otros metales en dicho campo, que aún sigue en vías de desarrollo, y que ha extendido sustancialmente nuestro entendimiento sobre las interacciones entre los iones metálicos y los ácidos nucleicos.

En las últimas 3 o 4 décadas, el uso de sistemas modelo (nucleótidos aislados, nucleósidos y modelos de nucleobases) y de técnicas de determinación como espectroscopia RMN y cristalografía de rayos X, ha permitido un gran desarrollo del campo<sup>3</sup>. Lo aprendido puede resumirse en tres puntos clave:

1. La manera en la que un ión metálico reacciona con el ácido nucleico es extremadamente versátil e inespecífica, no existen patrones específicos de enlace.

---

<sup>1</sup> G. L. Eichhorn (ed), *Inorganic Biochemistry*, Elsevier (1973), pp 1191-1240.

<sup>2</sup> B. Rosenberg, L. Va Camp. T. Krigas, *Nature* **205** (1965) 698-699.

<sup>3</sup> B. Lippert, "Coordinative Bond Formation between Metal Ions and Nucleic Acid Bases", en N.V. Hud (ed), *Nucleic Acid-Metal Ion Interactions*, Royal Society of Chemistry (2009) pp 39-74.

2. Una vez coordinados al ácido nucleico, el ión metálico afecta a las propiedades físico-químicas del par de bases que afectan a los equilibrios ácido-base y tautomérico de las nucleobases.
3. En un organismo vivo, la interacción entre estos metales de transición “no fisiológicos” y los ácidos nucleicos conllevan una respuesta masiva, hasta el punto de causar daños irreversibles y llevar a la célula a la apoptosis.

## 1.2 Interacción Metal-Par de bases

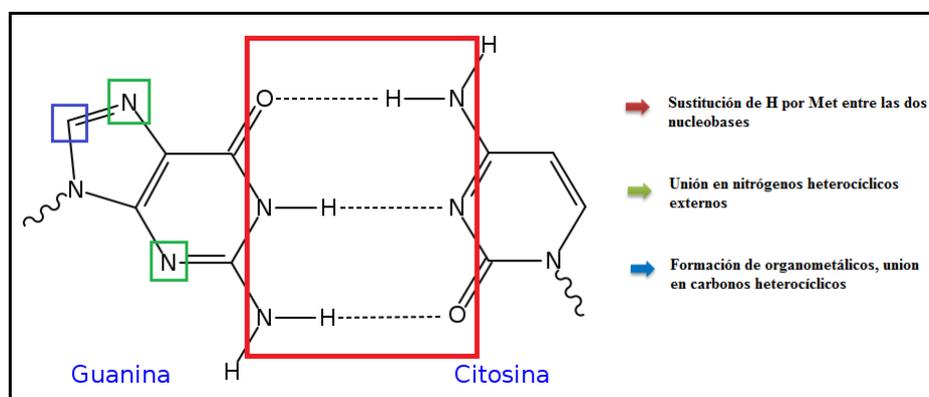
Las interacciones entre el ión metálico y el par de bases es uno de los aspectos más importantes y específico del tema, se pueden distinguir dos categorías:

- Interacciones no covalentes: Aquellas que se dan en las especies metálicas “coordinativamente saturadas” independientemente de la naturaleza del ión metálico y del ligando. Hablaríamos de fuerzas electroestáticas, enlaces de Van der Waals, enlaces de hidrógeno e interacciones  $\pi$ - $\pi$  entre el ligando del complejo y las bases heterocíclicas, entre otras.
- Enlaces de coordinación: Aquellas que se dan en el interior de la esfera de coordinación, directamente entre el metal y alguno de los átomos donadores del ligando. Así pues, un orbital lleno del átomo donador del ligando interactúa con uno de los orbitales vacíos libre del ión metálico aceptor.

A rasgos generales, las interacciones no covalentes son más débiles, en general, que los enlaces de coordinación, y estos a su vez son más débiles que los enlaces covalentes convencionales, aunque puede haber casos donde no sea así.

El enlace coordinativo es de naturaleza reversible, por lo que un nucleófilo fuerte podría desplazar el ión metálico del ligando. Sin embargo, la cinética de dicho desplazamiento puede ser muy lenta, hasta el punto de no darse, aún siendo menos termodinámicamente estable, dando complejos “virtualmente estables”.

En un par de bases establecido, hay diferentes zonas de unión donde un ión metálico puede verse involucrado, como se observa en la [Figura 1](#).



**Figura 1:** Sitios de unión del metal en el par de bases. Met significa ión metálico.

## 1.2.1 Nucleobases como ligandos

En la Figura 2 se puede observar un gráfico aproximado del rango de protonación y desprotonación de las nucleobases según el pKa. La precisión de dichos valores depende tanto de la cadena sustituyente de las posiciones N(9) (purina) y N(1) (pirimidina), como de las nucleobases del entorno de dicho par según la secuencia en una cadena de ADN<sup>3</sup>.

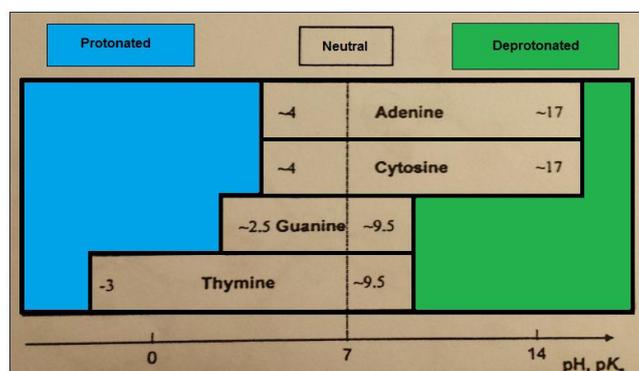


Figura 2: Rangos de protonación aproximados de las nucleobases

### 1.2.1.1 Sitios de unión convencionales en nucleobases neutras

Tanto los nitrógenos desprotonados endocíclicos como los oxígenos carbonílicos exocíclicos son lugares obvios de unión, que pueden combinarse de diversas maneras dando infinidad de estructuras.

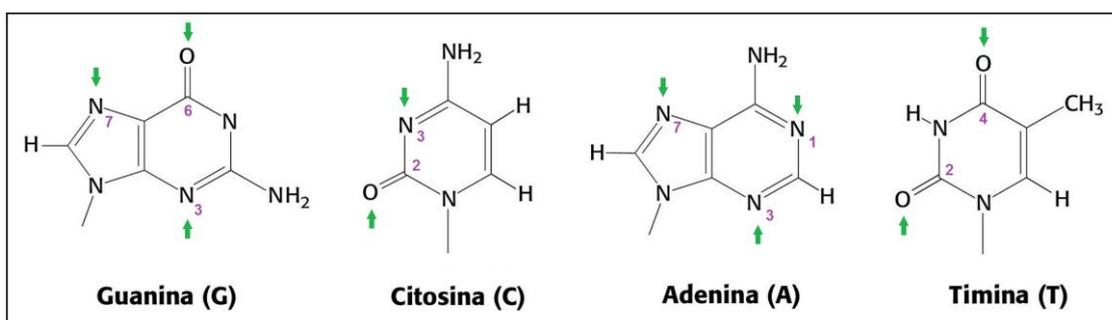


Figura 3: Centros de unión de las nucleobases neutras

También se observan grupos amino exocíclicos que son potenciales sitios de unión, aunque deben sufrir una previa desprotonación, debido a la baja basicidad del par de electrones del nitrógeno, que se encuentra deslocalizado en el sistema heterocíclico.

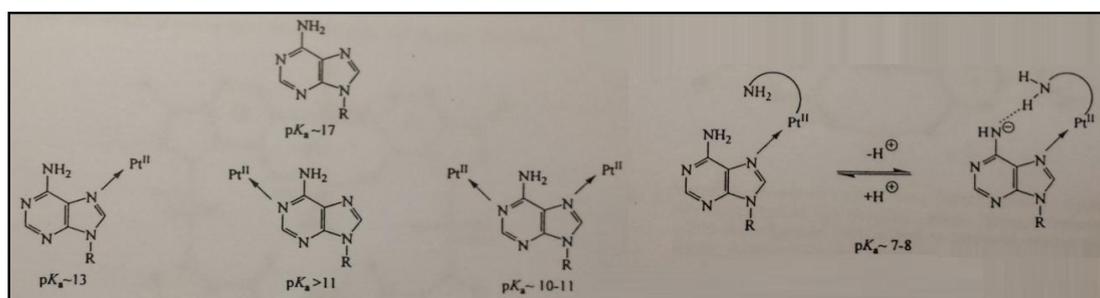
Por otro lado, también puede darse la interacción entre el ión metálico y uno de los tautómeros raros de la nucleobase, aún siendo la concentración del segundo tautómero mas abundante, del orden de  $10^5$  veces inferior.

### 1.2.1.2 Interacción con nucleobases desprotonadas

Aunque el gráfico de la [Figura 2](#) nos indique que para que un ión metálico interactúe con una nucleobase en su forma desprotonada son necesarias condiciones alcalinas, la práctica ha demostrado que no es así. Esto es debido a dos razones concretas:

1. El poder de polarización del metal unido a la nucleobase puede hacer que los protones remotos al metal puedan sufrir una gran acidificación, haciendo que los valores de pKa de ese grupo funcional caigan, como se observa en el sistema indicado en la [Figura 4](#).<sup>4</sup>

Pero además, si el metal está unido a un coligando capaz de ceder H para la formación de enlaces de H, el pKa desciende a unos valores próximos a 7-8, entrando en el rango fisiológico, y puede desprotonarse y de esta manera para formar enlaces de H.



**Figura 4: Efectos en la acidez del grupo amino por la interacción con un ión metal (Pt<sup>+2</sup>)**<sup>4</sup>

2. Los iones metálicos suelen presentarse como Metal-OH, capaz de desprotonar los sitios clave de la nucleobase.

### 1.2.1.3. Interacción con nucleobases protonadas

Solo se conocen muy pocos ejemplos con bases púricas protonadas en el N(1) (adenina) y N(3) (guanina), y unidas al metal por el N(7)<sup>3</sup>.

### 1.2.1.4 Formación de complejos organometálicos

Son aquellos en los que el metal ha interactuado con un carbono cíclico. Se dan en agua en condiciones suaves, por lo que se deben tener en cuenta. Los pocos ejemplos conocidos son con metales como Pt<sup>+2</sup>, Au<sup>+3</sup> y Hg<sup>+2</sup>, como el complejo que se indica en la [Figura 5](#).<sup>5</sup>

<sup>4</sup> Marta Garijo Añorbe, Marc Sven Lüth, Michael Roitzsch, Marta Morell Cerdà, Patrick Lax, Gunnar Kampf, Helmut Sigel, Bernhard Lippert, *Chem. Eur. J.* **10** (2004) 106.

<sup>5</sup> F. Zamora, M. Kunsman, M. Sabat, B. Lippert, *Inorg. Chem.* **36** (1997) 1583-87

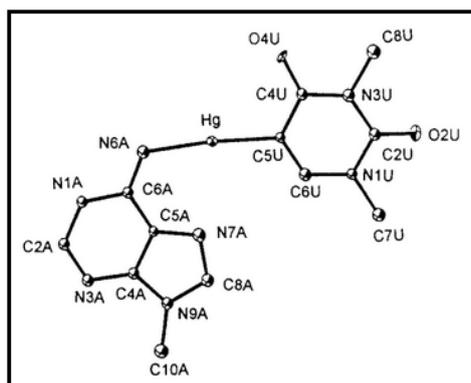


Figura 5: Ejemplo de complejo organometálico caracterizado mediante rayos X. Estructura del complejo [(1,3-dimetiluracilo-C5)Hg (9-metiladenina) ]NO<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O

### 1.2.1.5 Formación de quelatos y macroquelatos

Se conocen complejos en los que las bases actúan como quelatos (utilizando un grupo amino y un nitrógeno púrico por ejemplo). Favorecen dicha formación los iones metálicos de alta oxidación ( $\geq 6$ ) y nucleobases con varios sitios de unión.

### 1.2.1.6 Formación de complejos multinucleares

Por último, también pueden darse complejos con varios iones metálicos, unidos por los ligandos y/o por un enlace directo entre ellos. Son ciertamente interesantes por sus propiedades antitumorales en el campo de la quimioterapia.

## 1.3 Consecuencias de la coordinación de un metal

La coordinación de un metal en los anillos heterocíclicos de una nucleobase causa una redistribución electrónica en el anillo aromático, hasta el punto de afectar al equilibrio entre tautómeros <sup>3</sup>.

También las propiedades de apilamiento de las nucleobases se ven afectadas, aunque es difícil diferenciar si es debido a la coordinación del metal o de los efectos estéricos resultantes debidos a un coligando que pueda estar unido al metal.

Por otro lado, la coordinación de un metal a un átomo de nitrógeno del anillo del tautómero principal de una nucleobase acidifica el resto de grupos por polarización del metal, lo que provoca un descenso del pKa, en mayor o menor medida según los otros grupos funcionales de la base. Pero si la coordinación del metal ocurre en un tautómero raro, la variación del valor de pKa puede ser drástica. Por ejemplo, si la coordinación ocurre con una nucleobase desprotonada, la basicidad de otros grupos puede aumentar considerablemente, puesto que la carga negativa de la desprotonación no puede deslocalizarse en el enlace metal-nucleobase <sup>3</sup>.

Debido a esta causa, la unión de un metal en coordinación con una nucleobase protonada o desprotonada, en las condiciones adecuadas, puede provocar que los tautómeros se mantengan estables en todo el rango de pKa, variando el grafico de la Figura 2. Este aspecto se hace verdaderamente relevante en el estudio del papel de los

iones metálicos en reacciones catalíticas de ácidos nucleicos, como por ejemplo en el caso de algunos ARN<sup>6</sup>.

### 1.3.1 Estabilidad del par de bases

La estabilidad del par de bases está directamente relacionada con la fortaleza de los enlaces de H que unen las dos nucleobases. Cuanto, mayor sea la diferencia de valores de pK entre las dos base, más fuerte y estable será el enlace de hidrógeno, y en consecuencia el par de bases (Figura 2 en el caso de las bases sin enlace metálico)

De hecho, en el caso del par de bases GC, esta perturbación en la fortaleza fue demostrada mediante la coordinación de Pt<sup>+2</sup> en el N(7) de la guanina<sup>7</sup>. Por otro lado, estudios recientes de cálculos teóricos sobre la densidad funcional de la guanina, se han llevado a cabo con diferentes metales unidos al O(6), que hacían descender la energía de enlace con la citosina considerablemente<sup>2</sup>.

Un caso donde se observa que el comportamiento ácido-base y la formación de enlaces de H parecen estar fuertemente relacionados, es en el emparejamiento de una guanina (con Pt<sup>+2</sup> en el N(7) o libre) y una guanina desprotonada en N(1) con un Pt<sup>+2</sup> en N(7) para su estabilización. Se observan variaciones en el pKa de la guanina que vienen dadas por la unión del metal, lo que permite la formación del par de guaninas hemidesprotonadas que se observa en la Figura 6, en pH neutro e incluso ligeramente ácido<sup>3</sup>. Otro reconocimiento, que no es Watson-Crick, posible es el que se da entre dos moléculas de aciclovir Figura 7<sup>8</sup>.

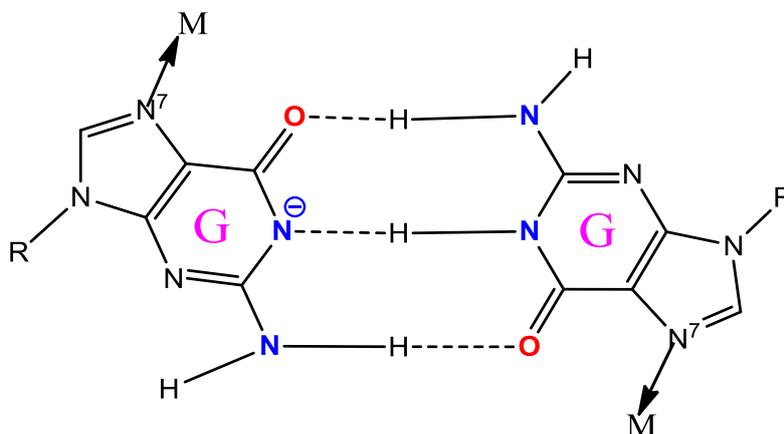
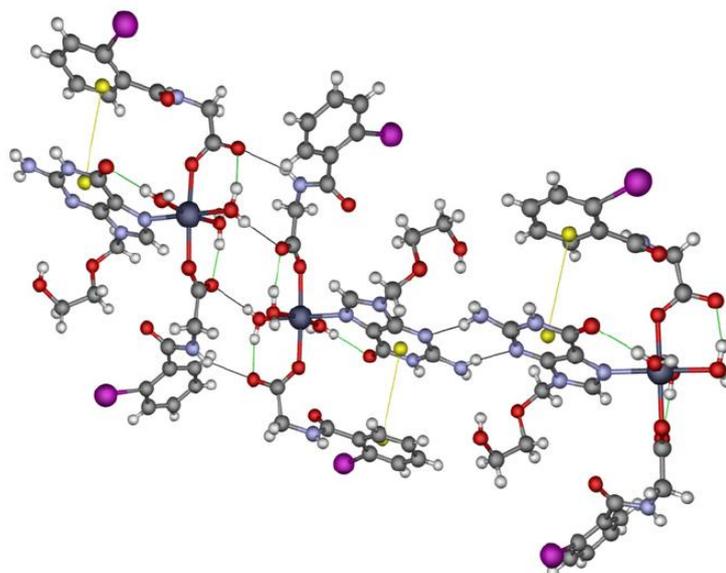


Figura 6: Representación esquemática del par GG hemidesprotonado

<sup>6</sup> A. Sigel, H. Sigel, R.K.O. Sigel (eds), *Structural and Catalytic Roles of Metal Ions in RNA*, Met. Ions. Life. Sci., **9** (2011).

<sup>7</sup> A. Erxleben, S. Metzger, J.F. Britten, C.J.L. Lock, A. Albinati, B. Lippert, *Inorg. Chim. Acta*, **339** (2002) 461.

<sup>8</sup> A. Terron, J. J. Fiol, A. García-Raso, Miquel Barceló-Oliver, V. Moreno, *Coord. Chem. Revs.* **251** (2007) 1973-1986.



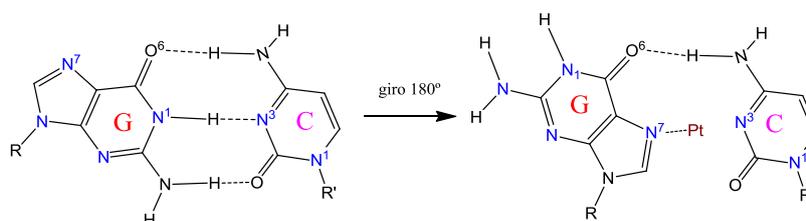
**Figura 7** En la parte derecha de la molécula se observa un tarden de reconocimiento entre dos anillos de guanina del aciclovir entre el N(3)···H-N(2) y viceversa. Este reconocimiento no es Waltson-Crick ni Hoogsteen

### 1.3.2 Estabilidad de los ácidos nucleicos

#### 1.3.2.1 Distorsión del ADN

Si tomamos como ejemplo el cisplatino, podremos observar como la distorsión causada por la coordinación de este en una hebra o entre hebras del ADN, puede llevar a la necrosis y/o apoptosis de la célula, de ahí sus propiedades como agente antitumoral.

- Enlace cruzado entre nucleobases de la misma hebra: es la reacción más abundante entre cisplatino y ADN, en particular, la reacción entre dos guaninas adyacentes. Se sitúa entre posiciones N(7) de ambas guaninas, inclinando la hebra entre 30° y 50°, de modo que perturba los enlaces de H entre la guanina y su citosina correspondiente de la otra hebra.
- Enlace cruzado entre nucleobases complementarias entre hebras: la distorsión dispuesta por este tipo es, en general, menos dramática. En el caso particular del par anterior, el Pt<sup>+2</sup> se une por el surco mayor a la N(7) de la guanina, provoca un giro de 180° sobre el enlace glucosídico, y se une al N(3) de la citosina. Esta pasa entonces de una disposición anti a syn, manteniendo únicamente el enlace de H entre el O(6) de la guanina y el N(4) de la citosina, como se observa en el compuesto modelo de la [Figura 9](#).



**Figura 8** Giro de 180° provocado por la coordinación del Pt(II) al átomo de N(7) de la guanina.

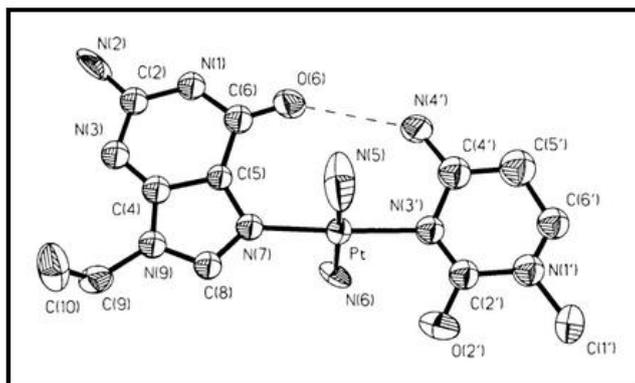


Figura 9: Interacción del M ( $Pt^{+2}$ ) del cisplatín entre el par de bases GC<sup>7</sup>

Ambas situaciones provocan que la célula reconozca como dañada la proteína y deriva a una cascada de reacciones que provocan la muerte celular por apoptosis<sup>9</sup>

Otro de los poquísimos ejemplos de estructuras cristalinas de pares de bases enlazadas a través de un metal<sup>5,7</sup> se obtuvo con el ión  $Au(III)$  como metal y con un ARN<sup>10</sup>, que puede visualizarse en la Figura 10. Fue obtenida dispersando una sal de  $Au(III)$  sobre un cristal de ARN, El oro también se unió a otros sitios de enlace pero cabe destacar esta interacción con el par de bases guanina-citosina.

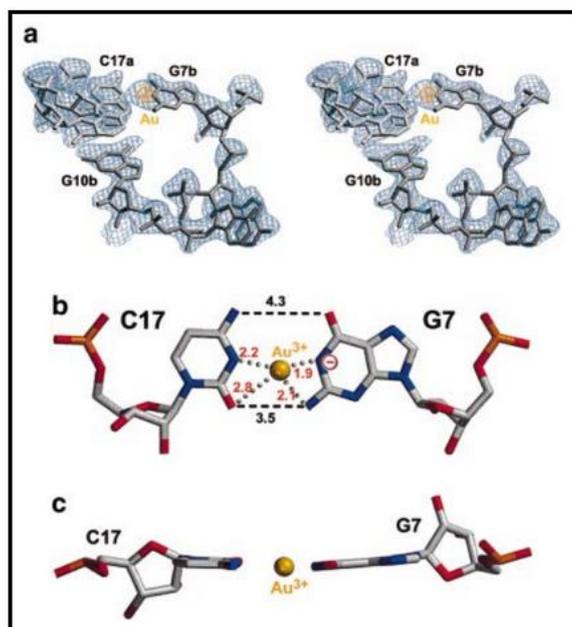


Figura 10. el  $Au(III)$  insertado entre el par de bases GC de un ARN<sup>10</sup>

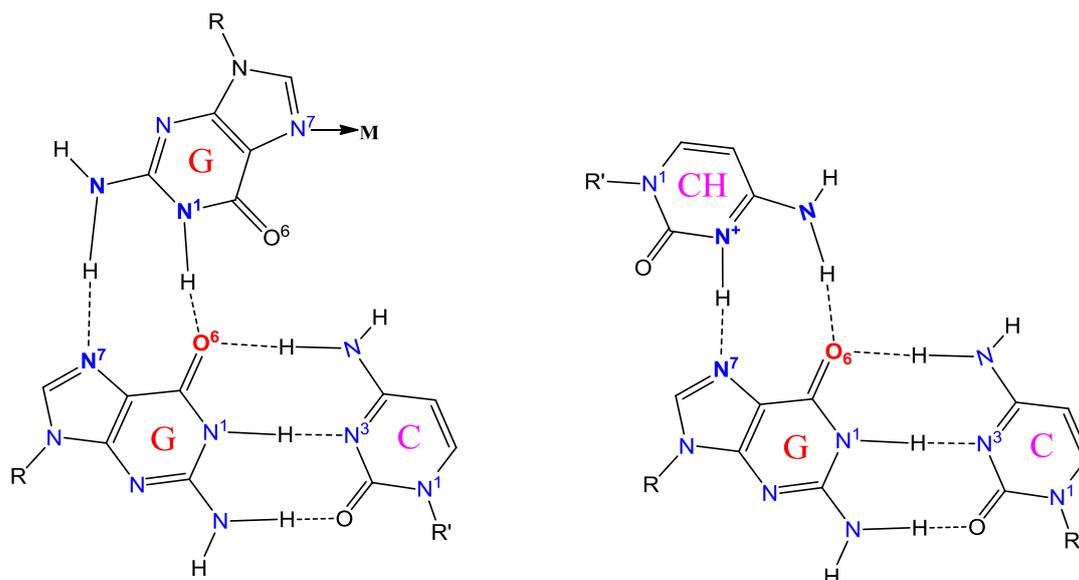
<sup>9</sup> K. R. Barnes, S.J. Lippard, "Cisplatin and Related Anticancer Drugs: Recent Advances and Insights" en A.Sigel, H. Sigel (eds), *Met. Ions Biol. System.* **42** (2004) 143-177.

<sup>10</sup> E. Ennifar, P. Walter, P. Dumas, *Nucl. Acid. Res.* **31** (2003) 2671-2682.

### 1.3.2.2 Ácidos nucleicos de más de dos hebras (o catenarias)

Es evidente que el rol de las interacciones metal-nucleobase se torna más complicado con el aumento de las hebras en juego, facilitando otros tipos de reconocimiento.

- Sistemas naturales: en la naturaleza, la unión de metales es usada para mantener la estructura de la hebra. Como se muestra en la **Figura 11**, en el caso del ADN de triple cadena, tanto la unión de metales divalentes para una tercera base púrica, como la protonación en el caso de una tercera base pirimidínicas, mantiene la catenaria unida y evita la repulsión entre fosfatos<sup>3</sup>.



**Figura 11: Tripletes naturales unidos por interacción de un M o protonación de un N**

- Sistemas Metal-Triplete y Metal-Cuarteto artificiales<sup>3</sup>, ejemplos a los que hay que sumar los recientemente obtenidos y estudiados por difracción de rayos X como el tetrámero de K y guanina<sup>11</sup> reconocido por complejos metálicos con ligandos con gran capacidad de apilamiento, o el tetrámero de Ag y N<sup>1</sup>-hexiluracilo<sup>12</sup>.
- El concepto trabajado hasta ahora de la interacción entre metales y par de bases también es aplicado para tripletes o cuartetos, en estudios bioquímicos y quimioterapéuticos. En cuanto a los cuartetos, desde 1980 se ha estudiado la producción artificial mediante iones Ag<sup>+1</sup> con adenina<sup>13</sup>. Estos, igual que los cuartetos púricos unidos mediante un metal, demuestran robustez química, que junto a su tamaño y carga positiva, pueden ser óptimos para la interacción con los

<sup>11</sup> N.H.Campbell, N. H. Abd Karim, G. N. Parkinson, M. Gunaratnam, V. Petrucci, A. K. Todd, R. Vilar, S. Neidele, *J. Med. Chem.* **55** (2012) 209-222.

<sup>12</sup> M. Barceló-Oliver, C. Estarellas, A. Terrón, A. García-Raso, A. Frontera, *Chem. Comm.* **47** (2011) 4646-4648.

<sup>13</sup> C.S.Pourohi, S. Verma, *J. Am. Chem. Soc.* **128** (2006) 400.

cuartetos naturales de guanina presentes en los telómeros de los cromosomas. Si esta unión se da correctamente, (como en los complejos descritos por Vilar<sup>11</sup>) estos compuestos artificiales podrían servir como inhibidores de la telomerasa, una enzima que se sobreexpresa en una proporción estimada del 80-90% en diversos tipos de cáncer.

## 1.4 Alteraciones irreversibles

### 1.4.1 Hidrólisis catalítica de los ácidos nucleicos

La formación y rotura hidrolítica del enlace entre el azúcar y el fosfato es el punto clave de muchas reacciones de los ácidos nucleicos, tales como la síntesis, reparación o degradación de estos. Estas reacciones son llevadas a cabo frecuentemente por proteínas que tienen dos o más iones metálicos coordinados en zonas clave de su estructura, las metaloenzimas. Estos metales realizan diferentes funciones, tales como la polarización de enlaces, generación de iones hidróxidos nucleofílicos o estabilización de estados de transición, que no están directamente involucradas en la coordinación de las bases heterocíclicas<sup>14</sup>,

También es posible la degradación hidrolítica no catalítica de los ácidos nucleicos, especialmente ARN, mediante la coordinación directa del ión metálico con las nucleobases<sup>5</sup> y los grupos fosfatos.

### 1.4.3 Otros procesos hidrolíticos

Existen otros dos ejemplos de alteraciones irreversibles en las que participan iones metálicos enlazados directamente a nucleobases.

Por un lado, es conocido que se produce la rotura del enlace N-glicosídico de los nucleótidos a pH bajo o después de una modificación química de la base, lo cual es utilizado por las glicosilasas naturales en la reparación del ADN. Dada la preferencia de muchos metales por la posición N(7) de las bases púricas, son de interés los efectos que produce la coordinación de iones metálicos en esa posición, en dichas reacciones de depuración y reparación del ADN. Estudios realizados con iones metálicos de transición ( $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Pt}^{2+}$  y  $\text{Pd}^{2+}$ ) e incluyendo nucleósidos acíclicos análogos, parecen dejar claro que la coordinación del ión metálico con las purinas (G-N(7), A-N(1),N(7)) retarda la hidrólisis ácida catalizada, porque dicho ión metálico compite con los  $\text{H}^+$  por los sitios de unión<sup>10</sup>. Sin embargo, en rangos de pH donde la nucleobase no se encuentra protonada, dicha unión metálica acelera la hidrólisis espontánea del enlace glucosídico. Así, el  $\text{Pt}^{+2}$  retarda estas reacciones de depuración de la guanina a  $\text{pH} < 4$ , pero las facilita a  $\text{pH} > 4$  debido al  $\text{pK}_a$  de 2-3 de la  $\text{GH}^+$ <sup>15</sup>.

---

<sup>14</sup> S.J. Lippard, J.M. Berg, *Principles of Bioinorganic Chemistry*, University Science Books (1994).

<sup>15</sup> S. Kuusela, H.Lönberg, *Met. Ions. Biol. Syst.* **32** (1996) 271.

Por otro lado, otro tipo de reacción de hidrólisis ocurre cuando un grupo amino exocíclico de una nucleobase pasa a ser un grupo carbonílico exocíclico. Estas reacciones ocurren bajo la influencia de un ión metálico y han sido observadas en los últimos años en algún ejemplos:

- En la coordinación de  $\text{Pt}^{+2}$  con el N(3) de la citosina, acelerando drásticamente la su conversión a uracilato a pH alcalino<sup>3,16</sup>.
- Si un proceso similar se produjera con una base 5-metilcitosina en el ADN, generaría Timina, que a diferencia del Uracilo, no sería eliminada del ADN y por lo tanto podría dar lugar a mutaciones puntuales<sup>3,17</sup>.

### 1.4.3 Química red-ox de las nucleobases

Los daños en el ADN por reacciones oxidativas están implicados en varios estados patológicos del organismo, tales como inflamaciones y cáncer, y se cree que es un factor que contribuye al envejecimiento. De todas las nucleobases, la guanina es la más rica en electrones, y con ello la que tiene el potencial de ionización más bajo, luego es la más susceptible a oxidarse. Dependiendo de las condiciones, puede haber un intercambio de uno o dos electrones en el proceso de oxidación, lo que puede llevar a un número considerable de intermediarios y productos finales<sup>3</sup>

Hay numerosos casos conocidos sobre el comportamiento red-ox en la química de las interacciones entre ión metálico y nucleobases. Cabe mencionar, a modo de ejemplo, uno de los casos que hemos podido experimentar y que será mencionado en la parte experimental de este proyecto. Hace referencia al comportamiento red-ox del  $\text{Au}^{+3}$  cuando se une al N(7) de la base modelo 9-etilguanina (N<sup>1</sup>-hexilcitosina en nuestro caso), que produce la degradación lenta del anillo de la purina, tanto en presencia como en ausencia de  $\text{O}_2$ , formando diferentes productos<sup>18</sup>.

### 1.5 Diseño de enlaces Metal-nucleobases entre el par de bases

La idea más simple para la interacción del ión metálico entre el par de bases es la sustitución de los hidrógenos que forman los puentes entre las nucleobases, por dicho ion metálico aceptor de los electrones de los heteroátomos de las nucleobases. En 1993, Lee descubrió que, a pH elevado, algunos iones metálicos divalentes como el  $\text{Zn}^{+2}$  estabilizan dobletes del DNA, sustituyendo los hidrógenos de la zona entre nucleobases. A partir de esta observación se originó toda una vía de estudio hacia el desarrollo de la posibilidad de unir nucleobases estabilizando pares de bases diferentes de los

---

<sup>16</sup> J.E. Spooner, P.J. Sanz-Miguel, L. Rodríguez-Santiago, A. Erxleben, M. Kluumm, M. Sodupe, J. Sponer, B. Lippert, *Angew. Chem. Int. Ed.* **43**, (2004) 5396.

<sup>17</sup> K. D. Klika and J. Arpalathi, *Chem. Commun.* **1** (2004) 666 .

<sup>18</sup> A. Schimanski, E. Freisinger, A. Erxleben, B. Lippert, *Inorg. Chim. Acta* **283** (1998) 223.

apareamientos de Watson-Crick y Hoogsteen. Un ejemplo conocido de par de bases no estándar, timina-timina, el cual se consiguió estabilizar con  $\text{Hg}^{+2}$ , propuesto por Karz<sup>19</sup> y estudiado por Marzilli por RMN<sup>20</sup>. Recientemente, Ono<sup>21</sup> ha propuesto (como se observa en la Figura 12) un modelo tanto para los pare U-Hg-U como para el par T-Hg<sup>2+</sup>-T (que muy recientemente ha conseguido cristalizar en un dúplex con presencia de timinas Figura 13)<sup>22</sup> como para otro par de bases no biológico, C-Ag<sup>+</sup>-C<sup>23</sup>.

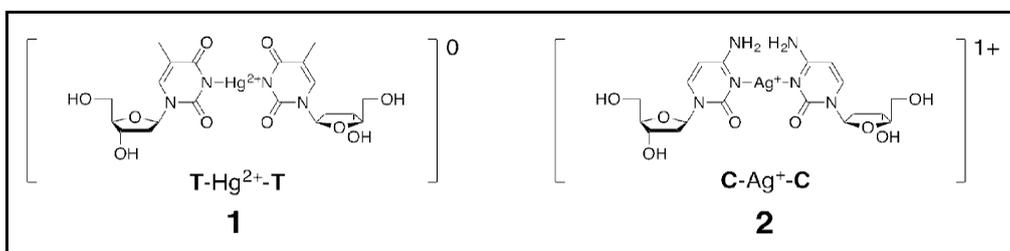


Figura 12: Estructuras de pares de bases mal emparejados estabilizados mediante la interacción con un metal entre las nucleobases

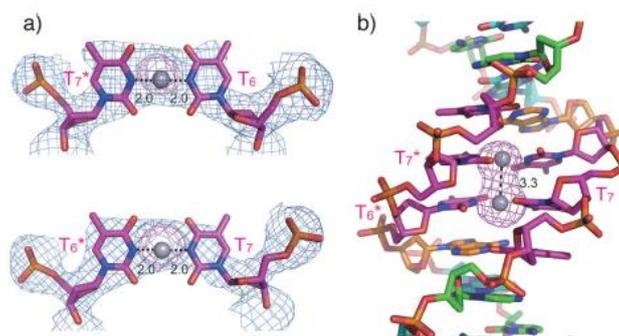


Figura 13 Estructuras de pares de bases T-Hg-T en un dúplex<sup>21</sup>

El grupo de Bioinorgánica de la UIB ha proporcionado, previamente a la estructura de Ono<sup>22</sup>, los buenos ejemplos, que existen en la bibliografía, para las interacciones entre uracilos U-Hg-U y para la plata enlazando pares de uracilos<sup>24</sup>.

La primera corresponde a  $[\text{Hg}(\text{N}^1\text{-hexil-5-fluorouracilato})_2]_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , complejo mostrado en la parte derecha de la Figura 14. La unidad básica del complejo corresponde a  $[\text{Hg}(\text{N}^1\text{-hexil-5-fluorouracilato})_2]$ , observada en la parte izquierda de la Figura 14. En su

<sup>19</sup>S. Katz, *Biochim. Biophys. Acta* **68** (1963) 240–253.

<sup>20</sup>Z. Kuklenyik, L.G. Marzilli, *Inorg. Chem.* **35** (1996) 5654–5662.

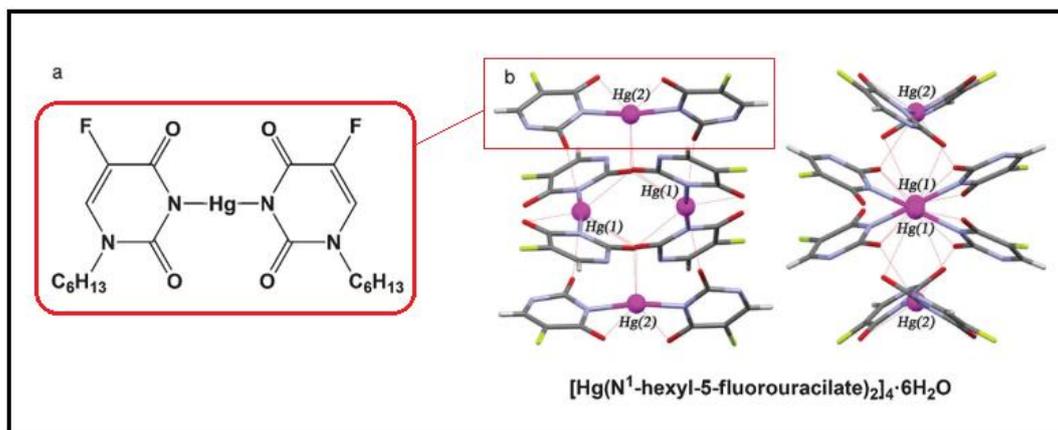
<sup>21</sup>A. Ono, H. Togasshi, *Angew. Chem. Int. Ed.* **43** (2004) 4300-4302.

<sup>22</sup>J. Kondo, T. Yamada, C. Hirose, I. Okamoto, Y. Tanaka, A. Ono, *Angew. Chem. Int. Ed.* **53** (2014) 2385-88.

<sup>23</sup>T. Ono, K. Yoshida, Y. Saotome, R. Sakabe, I. Okamoto, A. Ono., *Chem. Comm.* **47** (2011) 1542-1544.

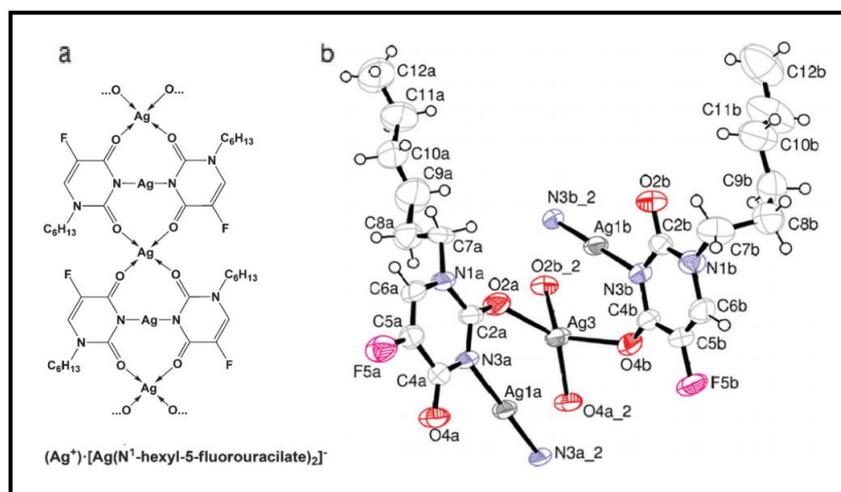
<sup>24</sup>M. Barceló-Oliver, B.A. Baquero, A. Bauzá, A. García-Raso, R. Vic, I. Mata, E. Molins, A. Terrón, A. Frontera, *Dalton Trans* **42** (2013) 7631-7642.

determinación se observaron enlaces directos entre los átomos N(3) de los anillos de ambos uracilos con el Hg, además de la interacción entre este y los oxígenos colindantes a estos nitrógenos. Como se observa en la figura, los dos anillos no son coplanares, si no que están dispuestos como las palas de una hélice, presentando ángulos de 32.95° [Hg (1)] y 68,10° [Hg (2)] entre los planos del anillo de cada uracilo del par. Esta torsión de la hélice es observada en muchas de las estructuras de ADN, produciendouna mejora del apilamiento de las bases de las hebras<sup>24</sup>.



**Figura 14** Estructura determinada para  $[\text{Hg}(\text{N}^1\text{-hexil-5-fluorouracilato})_2]_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  donde las colas alifáticas de cada uracilo han sido omitidas.

La segunda corresponde a un compuesto complejo,  $(\text{Ag}^+) \cdot [\text{Ag}(\text{N}^1\text{-hexil-5-fluorouracilato})_2]^-$  observado en la **Figura 15**, el cual forma una cadena 1D infinita en la que encontramos dos tipos de interacción mediante Ag. Por un lado, se disponen átomos de Ag entre los pares de uracilos que presentan una coordinación lineal perfecta a través de los N(3) de ambos anillos. Este metal Ag ocupa el lugar del protón en una interacción base-base hipotética, que forma un par de bases metalado. Por otro lado, se encuentra un segundo átomo de Ag coordinado por cuatro átomos de oxígeno en un ambiente tetraédrico distorsionado. Estos iones alinean las distintas unidades monoméricas.



**Figura 15:** Estructura de la unidad asimétrica del compuesto polimérico  $(\text{Ag}^+) \cdot [\text{Ag}(\text{N}^1\text{-hexil-5-fluorouracilato})_2]^-$

### 1.5.1 Estabilización del dúplex de ADN mediante un Metal entre nucleobases de un par de bases

La característica más distintiva de los pares de bases con ion metálico entre nucleobases, incorporados dentro del ADN es su potencial para aumentar la estabilidad general dúplex del ADN. Esto es de esperar debido a que las energías de enlace de la coordinación con el metal son, por lo general, dos o tres veces mayor que la de los enlaces de hidrógeno.<sup>20</sup>

Este efecto de estabilización puede estimarse mediante mediciones de Temperatura de fusión del ADN ( $T_m$ , *melting temperatures*), que representa aquella temperatura a la que se ha desnaturalizado la mitad del ADN, o lo que es lo mismo, temperatura de transición del dúplex a una sola hebra. En 2002, los estudios de Tanaka et al. sobre el valor de  $T_m$  para la secuencia 15-mer ADN dúplex [d(5'-CACATTAHTGTTGTA-3')·d(3'-GTGTAATHACAACAT-5')], que contiene nucleótidos artificiales de hidroxipiridinas (**H**), demostraron el efecto de estabilización proporcionado en dicho caso por un ión  $\text{Cu}^{+2}$ . Observaron que el valor de  $T_m$  para esta sección en ausencia de ion metálico era de 37°C, indicando que el par de bases (**H-H**) se comporta como un no coincidente y desestabilizan el dúplex. Mientras que en presencia de 1 equivalente de  $\text{Cu}^{+2}$ , el valor de  $T_m$  alcanza los 50.1°C debido a la coordinación del metal entre las nucleobases (**H-Cu<sup>+2</sup>-H**), como se observa en la estructura de la izquierda en la Figura 16.<sup>21</sup>

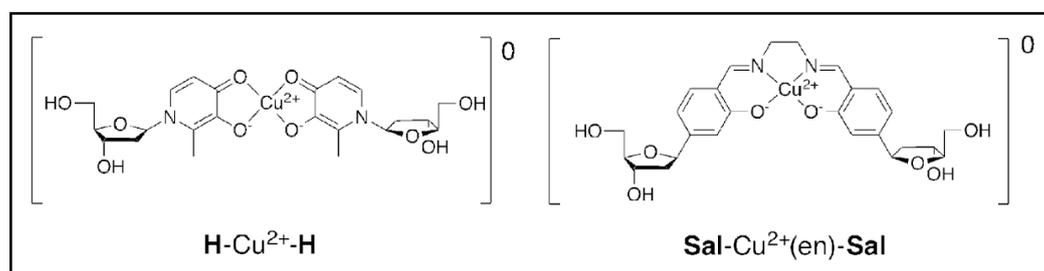
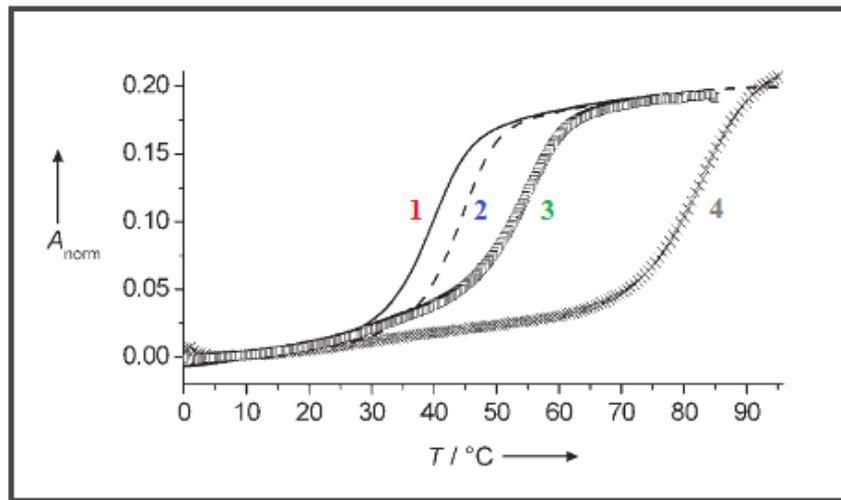


Figura 16: Estructuras propuestas para pares de bases con  $\text{Cu}^{+2}$ , una de ellas tipo salen (derecha)

Por otro lado, este efecto de estabilización se ve aumentado cuando entran en juego las estructuras con pares de bases tipo salen. Es el tipo de par de bases más estable conocido hasta la fecha y se compone de dos nucleobases unidas por medio de un metal coordinativamente y por un puente de etilendiamina (en) covalente. En 2005, mediante la adición de un equivalente de  $\text{Cu}^{+2}$  a un par de bases sal-sal, en exceso de etilendiamina, Clever et al. observaron que el par de bases resultantes que se observa en la estructura de la derecha de la Figura 16, aumentaba el valor de  $T_m$  drásticamente, alcanzando valores de 82.4°C<sup>22,25</sup>. Por último, Clever et al. confirmó dichos efectos

<sup>25</sup> G. H. Clever, C. Kaul, T. Carey, *Angew. Chem. Int. Ed.* **46** (2007) 6226-6236, y la citas allí incluidas.

estabilizadores, observando cómo variaban las curvas de fusión para la secuencia d(5'-CACATTASTGTTGTA-3')·d(3'-GTGTAATSACAACAT-5') según el tipo de interacción, como muestra la grafica de la Figura 17.<sup>22</sup>



**Figura 17:** Comparación de las curvas de fusión de la secuencia d(5'-CACATTASTGTTGTA-3')·d(3'-GTGTAATSACAACAT-5'): **1-** Sin adiciones (39.9°C); **2-** Con puente de etilendiamina (45.5°C); **3-** Coordinación con Cu<sup>+2</sup> (54.9°C); **4-** Con Cu<sup>+2</sup> y etilendiamina (82.4°C)

## 2. Parte Experimental

### 2.1 Descripción general del trabajo de laboratorio realizado

En el este apartado se recogen, a título informativo, todas y cada uno de los intentos de síntesis llevados a cabo en el laboratorio en mi Trabajo de Fin de Grado durante los meses de marzo, abril y mayo. Se han utilizado  $\text{Pt}^{+2}$  y  $\text{Hg}^{+2}$  como iones metálicos divalentes, así como  $\text{Ag}^{+1}$  y  $\text{Au}^{+3}$ . Todos estos iones metálicos se han escogido por la facilidad con la que forman enlaces lineales. Como ligandos se han utilizado pares de bases púricas y pirimidínicas substituidas como también algunos nucleósidos o nucleótidos semejantes a los descritos en la bibliografía. Las dos tablas que se presentan a continuación recogen las síntesis llevadas a cabo de complejos monosustituídos con un solo tipo de base (Tabla 1) y complejos disustituídos (con dos tipos de bases complementarias o que pudieran serlo) (Tabla 2).

	ACV	N <sup>1</sup> -hexilcitosina	N <sup>1</sup> -(3-hidroxi- propil)- 5-fluorouracilo	N <sup>1</sup> -hexiluracilo	N <sup>1</sup> -hexiltimina
Hg <sup>+2</sup>	-	-	<b>A-O</b>	-	<b>A-9</b>
Pt <sup>+2</sup>	-	<b>A-5</b>		<b>A-7/A-8</b>	<b>A-6</b>
Ag <sup>+1</sup>	<b>A-3</b>	-			-
Au <sup>+3</sup>	-	<b>A-4</b>			-

Tabla 1: Síntesis de complejos con una base pirimidínica llevadas a cabo

	9-metilguanina/ N <sup>1</sup> -hexilcitosina	9-butiladenina/ N <sup>1</sup> -hexiluracilo	Adenosina/ N <sup>1</sup> -hexiluracilo	GMP/ N <sup>1</sup> -hexilcitosina	9-butiladenina/ N <sup>1</sup> -hexiltimina
Hg <sup>+2</sup>	<b>A-1 / A-2</b>	<b>A-10</b>	-	<b>A-12</b>	<b>A-13</b>
Pt <sup>+2</sup>	-	-	<b>A-11</b>	-	-

Tabla 2: Síntesis de complejos con un par de bases complementarias llevadas a cabo

De las síntesis reflejadas en ambas tablas, algunas corresponden a productos bien caracterizados y otras están en vías de caracterización. También se dieron ciertos casos en los que se llegó a la conclusión, mediante análisis espectroscópicos, que correspondían a intentos de síntesis fallidos, o a compuestos binarios (en el caso de los pares de bases) ya descritos.

Obviamente estas síntesis forman parte de un proyecto mucho más amplio que la presente memoria de fin de grado que se está continuando en el grupo de Química Bioinorgánica y Bioorgánica.

Por último, cabe mencionar que se realizó un proceso de separación y purificación de la N<sup>1</sup>-hexiltimina, que sería utilizada como ligando en síntesis posteriores.

## 2.2 Materiales y métodos

Todos los reactivos, tanto orgánicos como inorgánicos, fueron adquiridos de Sigma-Aldrich, de calidad pro análisis y han sido usados sin purificación previa. Las bases sustituidas de cadena larga fueron sintetizadas de acuerdo con la bibliografía<sup>26, 27, 28, 29, 30</sup>. En el caso de la N<sup>1</sup>-hexiltimina se realizó un tratamiento para mayor purificación con base para formar el anión que se disuelve en agua y separarla de las impurezas de las timinas disustituidas en las posiciones N(1) y N(3).

Los análisis elementales se llevaron a cabo en micro-analizadores Carlo Erba, modelo EA 1108, y Thermo Finnigan, modelo Flash EA 1112, por el servicio de microanálisis del instituto de química avanzada de Cataluña (IQAC) en Pedralbes Barcelona.

Los espectros de infrarrojo (IR) se tomaron en estado sólido (pastillas de KBr) y se midieron en el espectrómetro de la casa Broker Tensor 27, en un rango de número de onda de 4000 a 400 cm<sup>-1</sup>.

Los espectros de resonancia magnética nuclear (NMR) de <sup>1</sup>H se tomaron en el espectrómetro Bruker AMX300 a temperatura ambiente, empleando como disolventes dimetilsulfoxido deuterado (DMSO-d<sub>6</sub>) y agua, usando sus correspondientes señales residuales como referencia. El desplazamiento químico de referencia para ambos es <sup>1</sup>H-NMR residual es δDMSO = 2.47 ppm y δD<sub>2</sub>O = 4.79 ppm.

MALDI: Las mediciones de los espectros de masas se realizaron en un espectrómetro de masas Autoflex III MALDI-TOF/TOF (Bruker Daltonics, Leipzig, Alemania) equipado con un láser de 200 Hz Smartbeam. Los espectros se registraron mediante el modo de

---

<sup>26</sup> M. Barceló-Oliver, C. Estarellas, A. García-Raso, A. Terrón, A. Frontera, D. Quiñonero, E. Molins, P. M. Deyà, *CrystEngComm* **12** (2010) 362–365.

<sup>27</sup> M. Barceló-Oliver, C. Estarellas, A. García-Raso, A. Terrón, A. Frontera, D. Quiñonero, I. Mata, E. Molins, P. M. Deyà, *CrystEngComm* **12**, (2010)3758–3767

<sup>28</sup> M. Barceló-Oliver, B. A. Baquero, A. Bauzá, A. García Raso, A. Terró, I. Mata, E. Molins, A. Frontera, *CrystEngComm* **14** (2012) 5777-5784

<sup>29</sup> M. Barceló-Oliver, A. Bauzá, B. A. Baquero, A. García-Raso, A. Terrón, E. Molins, A. Frontera, *Tetrahedron Letters* **54** (2013) 5355-5360

<sup>30</sup> M. Barceló Oliver, Tesis Doctoral: *Interaccions entre Ions Metàl·lics i Compostos d' Interès Biològic (Halouracils i derivats sintètics, Hipurats i Aciclovir)*, Universitat de les Illes Balears (2009)

reflexión positiva dentro del rango de masas de 60 a 1000 Da. La tensión IS1 era de 19 kV, la tensión del IS2 se mantuvo en 16.70 kV, la tensión de la lente era 8,10 kV, Reflector = 21.00 kV, Reflector 2 = 9,60 kV y el tiempo de retraso de extracción fue de 40 ns. La matriz empleada es trans-2-[3-(4-tert-Butilfenil)-2-metil-2-propenilidina]malononitrilo DCTB. En una proporción 50:10 matriz:muestra. Se depositaron 0.5 microlitros en una placa de maldi bruker (ground steel). Se realizaron un total de 500 disparos en tandas de 100 en 5 posiciones distintas de la placa. Se calibró internamente con PEG (polietilenglicol).

Los cristales seleccionados del compuesto [Hg(N<sup>1</sup>-(3-hidroxiopropil)-5-fluorouracilato)<sub>2</sub>] se cubrieron con aceite (Infineum V8512, formalmente conocido como Paratone-N), sobre una punta de fibra de vidrio en un sistema de difracción Oxford Diffraction Xcalibur, con un detector de rubí usando grafito monocromado de radiación MoK $\alpha$  ( $\lambda=0.7107\text{\AA}$ ). Los datos cristalográficos se recogieron a 183(2) K. Se usó el conjunto de programas CRYALISPro para la recolección de datos, con corrección de absorción semiempírica<sup>31</sup>. La estructura fue resuelta con métodos directos usando SHELXS-97<sup>32</sup>, y ajustada por métodos de mínimos cuadrados a matriz completa en F<sup>2</sup> con SHELXS-97<sup>32</sup>. Se comprobó la no existencia de mayor simetría de la estructura con la ayuda del programa PLATON<sup>33</sup>. Los átomos no hidrógenos fueron refinados anisotrópicamente y los átomos de hidrógeno fueron introducidos en posiciones calculadas y refinados con respecto a los átomos que se enlazan al metal.

## 2.3 Síntesis y caracterización de los compuestos.

A continuación se listan todas las síntesis realizadas, así como la purificación de la N<sup>1</sup>-hexiltimina:

### 2.3.1 Síntesis de [Hg(N<sup>1</sup>-(3-hidroxiopropil)-5-fluorouracilato)<sub>2</sub>]

Se disolvieron en un vaso de precipitado 0.25 mmol de acetato de mercurio en 15 mL de MeOH y se añadieron gota a gota a una disolución de 0.50 mmol de N<sup>1</sup>-(3-hidroxiopropil)-5-fluorouracilo de 15 mL de MeOH. Tras 30 min de agitación se filtró la disolución clara resultante y se dejó evaporar lentamente el disolvente. Tras la evaporación surgió un precipitado cristalino. Alguno de los cristales fue adecuado para su estudio por difracción de rayos X, cuyos parámetros de refinamientos se pueden observar en la [Tabla 3](#) y ORTEP ([Figura 18](#)).

- **Análisis elemental:** C<sub>14</sub>H<sub>16</sub>F<sub>2</sub>HgN<sub>4</sub>O<sub>6</sub>: C: 29.25 (calculado), 29.22 (experimental); H: 2.81 (cal.), 3.00 (exp.) y N: 9.75 (cal.), 9.64 (exp.).

---

<sup>31</sup> Oxford Diffraction Ltd., CRYSTALPro Software System, 171.32 ed., Oxford, UK.

<sup>32</sup> G.M. Sheldrick, *Acta Crystallogr. A* **64** (2008) 112-122

<sup>33</sup> A.L. Spek, *J. Appl. Crystallogr.* **36** (2003) 7-13

2.3.1.1 Datos espectroscópicos del complejo obtenido  $[Hg(N^1-(3-hidroxispropil)-5-fluorouracilato)_2]$

- Datos de difracción de rayos X de un monocristal del compuesto:

Tabla 3: Resumen del ajuste de parámetros Cristalográficos

PARÁMETROS	VALOR	PARÁMETROS	VALOR
Fórmula empírica	$C_{14}H_{16}F_2HgN_4O_6$	Reflexiones recogidas	22850
Peso Molecular	574.90	Reflexiones independientes	4103 [R(int)=0,032]
Temperatura (K)	183(2)	Completado ángulo $\theta$ max (%)	100
Sistema cristalino	monoclínico	Transmisión máxima y mínima	0.7118 y 0.3417
Grupo espacial	$P2_1/n$	Método de ajuste	Mínimos cuadrados en $F^2$ a matriz completa
Dimensiones de la celda unitaria	a = 5.2976(2) Å b = 15.2807(4) Å c = 10.8116(4) Å $\beta = 103.788(4)^\circ$	Índice de rangos	$-8 \leq h \leq 8, -25 \leq k \leq 25, -18 \leq l \leq 18$
Volumen (Å <sup>3</sup> )	849.99(5)	Datos / restricciones / parámetros	4103 / 0 / 125
Z	2	$F^2$	0.888
Densidad calculada (Mg/m <sup>3</sup> )	2.246	Índices R final [ $I > 2\sigma(I)$ ]	$R_1 = 0.0173,$ $wR_2 = 0.0339$
Coefficiente de absorción (mm <sup>-1</sup> )	9.117	Índices R (todos los datos)	$R_1 = 0.0445,$ $wR_2 = 0.0358$
F(000)	548	Mayor diferencia entre picos y huecos (e. Å <sup>-3</sup> )	1.03 y -0.97
Tamaño de cristal (mm <sup>3</sup> )	0,04 x 0,05 x 0,15	Longitud de onda (Å)	0.7107
Rango theta para la recolección de datos (°)	2.7 – 36.3		

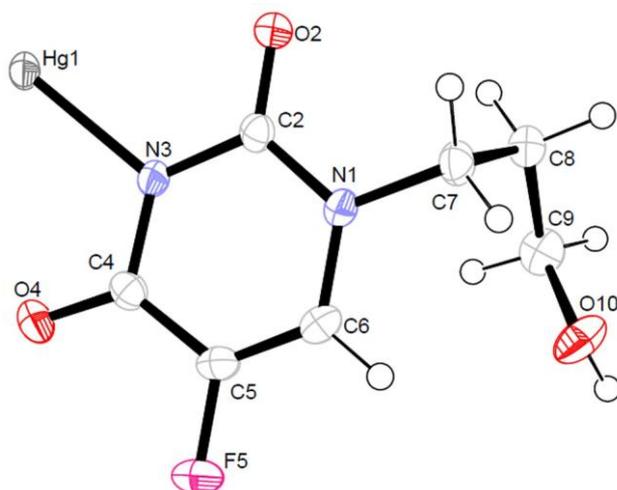


Figura 18 ORTEP (50%probabilidad) del compuesto  $([Hg(N^1-(3-hidroxispropil)-5-fluorouracilato)_2])$

Tabla 4: Distancias de enlace y ángulos seleccionados

ENLACE	DISTANCIA	ANGULOS	GRADOS
Hg(1)-N(3)	2.094 Å	O(4)-Hg(1)-N(3)	48.48°
		N(3)-Hg(1)-N(3)	180°
Hg(1)-O(4)	3.028 Å	O(4)-Hg(1)-N(3)	131.52°
Hg(1)-O(10')	2.838 Å	O(4)-Hg(1)-O(4)	180°
		O(10)-Hg(1)-O(10')	180°
		O(4)-Hg(1)-O(10')	97,2
		N(3)-Hg(1)-O(10')	72,03
		O(4)-Hg(1)-N(3)-C(4)	Torsión - 4.6°

- **IR (cm<sup>1</sup>):** 434m, 448s, 511 w, 590m, 689w, 689s, 755m, 788m, 862m, 899m, 937s, 954s, 1040s, 10665s, 1089s, 1128s, 1183s, 1226s, 1273s, 1347s, 1366s, 1380s, 1422s, 1448s, 1462s, 1482m, 1621 vs(br), 1661vs, 2902s, 2930m, 2952m, 3081m, 3167s(br), 3354 s(br).

- **<sup>1</sup>HRMN (DMSOd<sub>6</sub>):** δ (ppm) 7.98 [d, 1H, H(6), J<sub>F-H(6)</sub>= 5 Hz], 4.55 [t, 1H, H(10), <sup>2</sup>J= 5 Hz], 3.70 [t, 2H, H(7), <sup>2</sup>J= 5 Hz], 3.40 [q 2H, H(9), <sup>2</sup>J= 5 Hz ], 1.74 [q, 2H, H(8), <sup>2</sup>J= 5 Hz]. Espectro realizado con un RMN BrukerAV2-500

- **<sup>13</sup>C-RMN(DMSOd<sub>6</sub>):** δ (ppm) 159.5 [ C(4)=O], 152.4 [C(2)=O], 140.7 [d, C(5)-F, J<sub>F-C(5)</sub> = 231.2 Hz], 130.5 [d, C(6), J<sub>F-C(6)</sub> = 33.8 Hz], 57,7 [C(7)], 46.6 [C(9)], 31.3 [C(8)]. Espectro realizado con un RMN BrukerAV2-500.

### 2.3.1.2 Datos espectroscópicos del ligando de partida (*N*<sup>1</sup>-(3-hidroxipropil)-5-fluorouracilo)<sup>30</sup>

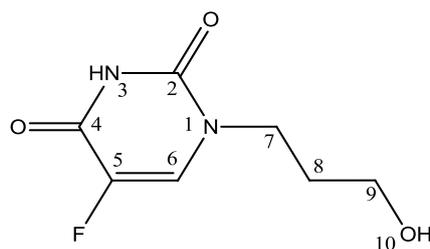


Figura 19. (N<sup>1</sup>-(3-hidroxipropil)-5-fluorouracilo

Al no ser parte experimental de esta memoria se indican como una nota al pie de página.<sup>34</sup>

<sup>34</sup> **IR (cm<sup>1</sup>):** 419m, 436s, 566m, 673w, 704s, 750m, 805m, 874m, 907m, 933s, 1064s, 1091s, 1133s, 1222vs, 1240vs, 1278s, 1349s, 1389m, 1431s, 1450s, 1473s, 1514w, 1686vs(br), 2839s, 3030vs(br), 3167s(br), 3346s(br).

### 2.3.2 Síntesis de trans-[Pt(1-hexilcitosina)<sub>2</sub>(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>]Cl<sub>2</sub>

Se dispersó en un vaso de precipitado 0,5 mmol de trans-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>] en 15 mL de H<sub>2</sub>O MiliQ. Seguidamente se disolvieron 0,5 mmol de citosina en 10 mL de MeOH y se añadieron gota a gota a la dispersión de Pt. Tras la adición se observó un aumento leve de la temperatura así como ciertas burbujas en las paredes del vaso de precipitados. Esto nos llevó a pensar que podría estar dándose alguna reacción red-ox. Pasados 30 minutos se observó cierto precipitado amarillento, el que parecía corresponder al producto. Se optó por añadir 5 mL de HCl a la disolución, teniendo así una disolución rica en Cl libres, lo que favorece la formación del complejo monosustituido y en medio ácido para evitar reacciones red-ox<sup>35</sup>. Tras 1 día en agitación se filtró con un crisol de placa filtrante y se obtuvo un precipitado amarillento depositado y una disolución. El precipitado amarillo corresponde al producto de partida, identificándose por el espectro infrarrojo:

- **IR (cm<sup>-1</sup>):** 511w, 827m, 1296vs, 1538m, 1597m, 1639m, 2071w, 2128w, 2410w, 2574m, 3194s, 3286vs.

De la disolución precipitó un compuesto blanco microcristalino que corresponde a Pt(N<sup>1</sup>-hexilcitosina)<sub>2</sub>(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>.

- **Análisis elemental:** C<sub>20</sub>H<sub>40</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>8</sub>O<sub>2</sub>Pt: C: 34.78 (calculado), 33.99 (experimental); H: 5.84 (cal.), 5.98 (exp.) y N: 16.23 (cal.o), 15.48 (exp.).

#### 2.3.2.1 Datos espectroscópicos del complejo ([Pt(N<sup>1</sup>-hexilcitosina)<sub>2</sub>(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>]Cl<sub>2</sub>)

- **IR(cm<sup>-1</sup>):** 556w, 618m, 643m, 724w, 773m, 791m, 1122w, 1194m, 1264m, 1399s, 1466s, 1510s, 1530s, 1652vs(br), 1723s, 2857s, 2927s, 2956s, 3167s(br).

- **<sup>1</sup>H NMR (D<sub>2</sub>O): δ (ppm)** 7.62- 756 [s (br), 1H, H(6),], 5.96 [s (br), 1H, H(5)], 3,72 [s (br), 2H, H(7)], 1.58 [s(br), H(8)], 1.18-1.05 [s(br), 6H, H(9,10,11)], 0.74 [s (br). 3H, H(12)].

- **MALDI:** Masa experimental 620.20674, (resolución: 6453), masa teórica 620.207968, 1.09 ppm.; corresponde al pico [C<sub>20</sub>H<sub>34</sub>ClN<sub>6</sub>O<sub>2</sub>Pt]<sup>+</sup>. (Este pico realizado con referencia interna corresponde a un átomo de platino enlazado a dos citosinas, que hubiera perdido los dos ligandos amminos, y está enlazado a un cloruro).

---

**<sup>1</sup>HRMN (DMSO<sub>d</sub><sub>6</sub>): δ (ppm)** 11.68 [bd, 1H, N(3)-H], 7.99 [d, 1H, H(6), J<sub>F-H(6)</sub> = 6.9 Hz], 3.64 [t, 2H, H(7), J = 6.6 Hz], 1.70 [m, 2H, H(8), J = 6.6 Hz].

**<sup>13</sup>C-RMN(DMSO<sub>d</sub><sub>6</sub>/D<sub>2</sub>O): δ (ppm)** 158.6 [bd, C(4)=O], 150.1 [C(2)=O], 139.8 [d, C(5)-F, J<sub>F-C(5)</sub> = 230.0 Hz], 131.0 [d, C(6), J<sub>F-C(6)</sub> = 33.4 Hz], 58.2 [C(7)], 46.2 [C(9)], 31.0 [C(8)].

<sup>35</sup> F.J. Britten, B. Lippert, C.J.L. Lock, P. Piolon, *Inorg. Chem.* **21** (1982) 1936-1941.

### 2.3.2.2 Datos espectroscópicos del ligando de partida (*N*<sup>1</sup>-hexilcitosina)<sup>29</sup>

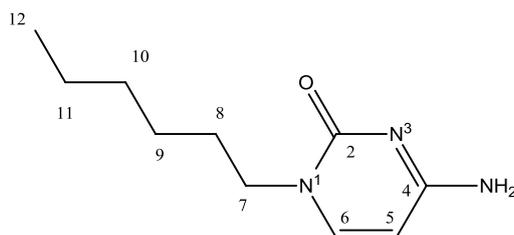


Figura 20. (*N*<sup>1</sup>-hexilcitosina)

Se indican también como una nota al pie de página<sup>36</sup>

### 2.3.3 Síntesis de *trans*-[Pt(1-hexiluracilato)<sub>2</sub>(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>]

Se dispersó en un vaso de precipitado 0.5 mmol de *trans*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>] en 7 mL de H<sub>2</sub>O MiliQ. Seguidamente se añadió 1 mmol de AgNO<sub>3</sub> y se dejó seis horas en agitación y ausencia de luz, tras las cuales se observó disolución completa. Tras dos días de reposo se observó un escaso precipitado blanquecino que corresponde al típico precipitado de AgCl, lo que nos llevó a pensar que el platino había perdido los cloruros, estaba activado y listo para la reacción.

Se pesó 1 mmol de *N*<sup>1</sup>-hexiluracilo en un matraz, se añadió la disolución de Pt gota a gota, y se calentó la mezcla a baño maría a 60° hasta disolución completa. Tras 30 minutos se observó un precipitado plateado, con un leve tono azulado. Pasadas 24 horas se filtró con un crisol de placa filtrante obteniendo un precipitado azul oscuro de apariencia no metálica. Tras un análisis elemental, IR y <sup>1</sup>H RMN, se determinó que se trataba de *N*<sup>1</sup>-hexiluracilo libre:

- **Análisis elemental:** C<sub>21</sub>H<sub>36</sub>N<sub>4</sub>O<sub>5</sub> (corresponde a dos moléculas de *N*<sup>1</sup>-hexilcitosina con una del disolvente metanol) C: 59.41 (calculado), 58.89 (experimental); H: 8.55 (cal.), 8.04 (exp.) y N: 13.20 (cal.), 12.96 (exp.).

- **IR(cm<sup>-1</sup>):** 422m, 441w, 465w, 495w, 543m, 558m, 619w, 724m, 761m, 815m, 887m, 988m, 1120w, 1150m, 1178m, 1232m, 1251m, 1307m, 1369s, 1384s, 1420s, 1461s, 1653vs(br), 1693vs(br), 1974w, 2400w, 2820m, 2861s, 2931s, 2954s, 3046s, 3097m, 3156m, 3401w.

- **<sup>1</sup>H RMN (DMSO-d<sub>6</sub>), δ(ppm):** los datos corresponden al ligando libre con pequeñas impurezas<sup>30</sup>.

---

<sup>36</sup> **IR(cm<sup>-1</sup>):** 552w, 582w, 622m, 669m, 711w, 788m, 1129w, 1204m, 1269m, 1388s, 1488s, 1522m, 1617vs, 1665s, 2855m, 2928m, 2955m, 3104m, 3351s.

**<sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): d (ppm)** 7.57 [d, 1H, H(6), J = 7.2 Hz], 7.20 [br s, 1H, N(4)-H2], 7.00 [br s, 1H, N(4)-H2], 5.62 [d, 1H, H(5), J = 7.2 Hz], 3.58 [t, 2H, H(7), J = 7.2 Hz], 1.51 [m, 2H, H(8), J = 6.9 Hz], 1.23 [br s, 6H, H(9,10,11)], 0.82 [t, 3H, H(12), J = 6.9 Hz]

Tras 24 horas de la primera filtración apareció un segundo precipitado. Tras filtrarlo, este se observó como de color blanco con un ligero tono azulado, el cual correspondía a  $\text{trans-[Pt(N}^1\text{-hexiluracilato)}_2(\text{NH}_3)_2]$ .

- **Análisis elemental:**  $\text{C}_{21}\text{H}_{40}\text{N}_6\text{O}_5\text{Pt}$ : C: 38.70 (calculado), 38.44 (experimental); H: 6.19 (cal.), 5.79 (exp.) y N: 12.90 (cal.), 12.86 (exp.).

### 2.3.3.1 Datos espectroscópicos del complejo ( $[\text{trans-[Pt(N}^1\text{-hexiluracilato)}_2(\text{NH}_3)_2]$ )

- **IR( $\text{cm}^{-1}$ ):** 459w, 556w, 594w, 728w, 774w, 802w, 813w, 872w, 1032w, 1072w, 1121w, 1154w, 1194w, 1238w, 1261w, 1290w, 1342m, 1366m, 1384m, 1455s, 1578vs, 1650s, 2858w, 2933m, 2957m, 3240m(br), 3279m(br), 3346m, 3442w(br).

-  **$^1\text{H RMN (D}_2\text{O)}$ ,  $\delta(\text{ppm})$ :** 7.50[s (br), 1H, C(6)-H], 5.68[s(br), 1H, C(5)-H], 3.64[s, 2H, C(7)-H], 1.54[s, 2H, C(8)-H], 1.17[s, 6H, C(9,10,11)-H] y 0.73[s, 3H, C(12)-H].

- **MALDI:** Masa experimental 692,09852, (resolución: 6797), masa teórica 692,09659, 3,576 ppm.; corresponde al pico  $[\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{AgN}_4\text{O}_6\text{Pt}]^+$ . (Este pico realizado con referencia interna corresponde a un átomo de platino enlazado a dos ligandos uracilato que hubiera perdido los dos grupos amminos y haya incorporado un átomo de Ag(I) para adquirir la carga positiva necesaria para ser detectado por MALDI)

### 2.3.3.2 Datos espectroscópicos del ligando de partida ( $\text{N}^1\text{-hexiluracilo}$ )

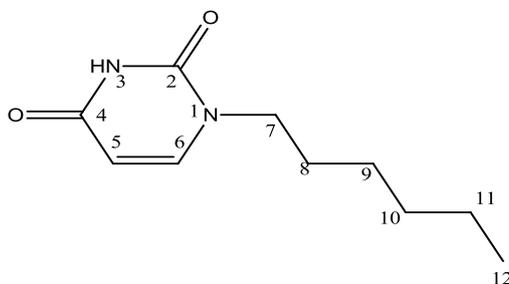


Figura 21. ( $\text{N}^1\text{-hexiluracilo}$ )

Se indican como una nota al pie de página<sup>37</sup>.

<sup>37</sup> **IR( $\text{cm}^{-1}$ ):** 421m, 442w, 465 w, 494w, 543w, 558w, 619w, 725w, 760w, 816m, 886m, 987w, 1154m, 1178m, 1231m, 1251m, 1307w, 1368s, 1420s, 1466s, 1649vs, 1693vs, 2819m, 2862m, 2931s, 3044m(br), 3097m, 3154m.

**$^1\text{H RMN (dmsO-d}_6\text{)}$ ,  $\delta(\text{ppm})$ :** 11.16[s, 1H, N(3)-H], 7.61[d, 1H, C(6)-H, J=8,1 Hz], 5.51[d, 1H, C(5)-H, J=8,1 Hz], 3.60[t, 2H, C(7)-H, J=6.9Hz], 1.52[t, 2H, C(8)-H, J=6.9Hz], 1.22[s, 6H, C(9,10,11)-H] y 0.82[t, 3H, C(12)-H, J=6.9Hz].

## 3. Resultados y discusión

### 3.1 [Hg(N<sup>1</sup>-(3-hidroxiopropil)-5-fluorouracilato)<sub>2</sub>]

Los datos de espectroscopia infrarroja nos certifican la presencia del ligando enlazado. Se observa por comparación con el ligando libre el desplazamiento de muchas de las bandas de anillo  $\nu\text{C}=\text{O}$ ,  $\nu\text{C}=\text{C}$  y  $\nu\text{C}=\text{N}$ <sup>38</sup>, que aparecen en el ligando a 1686vs(br)  $\text{cm}^{-1}$  como una banda ancha, nos aparece en el complejo de mercurio como dos bandas bien definidas a 1621 vs(br), 1661vs  $\text{cm}^{-1}$  (En el N<sup>1</sup>-metiluracilo aparecen a 1644 y1691 $\text{cm}^{-1}$ ) en nuestra asignación tentativa.

Estos datos se confirman en los espectros de RMN, en efecto en el complejo desaparece la banda de 11.68 [bd, 1H, N(3)-H], ya que el Hg(II) ha desprotonado el N(3) por para formar el complejo. Ello ocurre incluso cuando se obtiene el compuesto utilizando agua como disolvente a pH=1. Las otras bandas aparecen con muy ligeros desplazamientos, algo que es habitual en los complejos metálicos con bases púricas y pirimidínicas.

Todos estos datos están en concordancia con la estructura de rayos X (Figura 18). No sólo el Hg(II) se une a dos uracilos, casi coplanares, sino que también enlaza (y es una novedad bibliográfica) con el átomo de oxígeno del alcohol terminal O(10'). Este compuesto es un magnífico modelo de la interacción de Hg con nucleósidos, para utilizar en la técnica de PAC (Perturbed Angular Correlation). Cabe destacar que en la referencia <sup>28</sup>, se describen las únicas estructuras cristalinas similares en las que hay un enlace U-Hg-U.

El compuesto se presenta como un complejo polimérico en estado sólido (Figura 22) donde el Hg se enlaza por los grupos hidroxilo O(10) para formar planos, a través de los enlaces Hg- OH que extienden la estructura en dos direcciones.

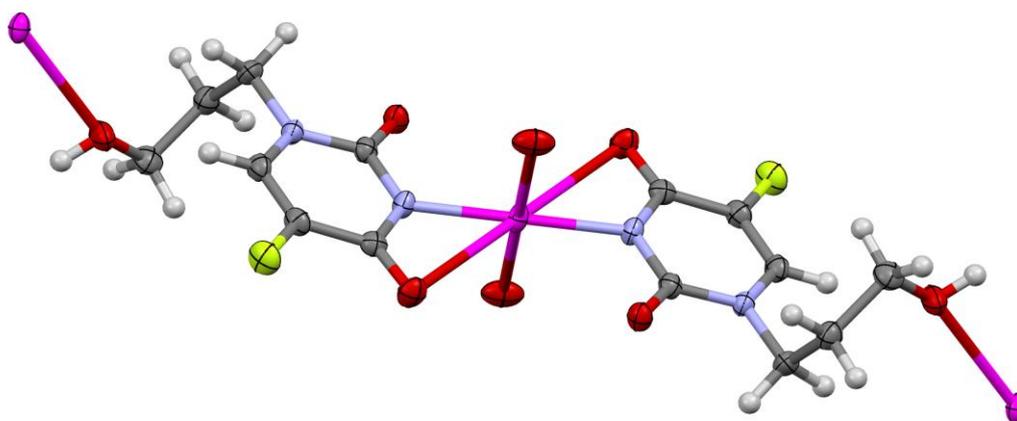
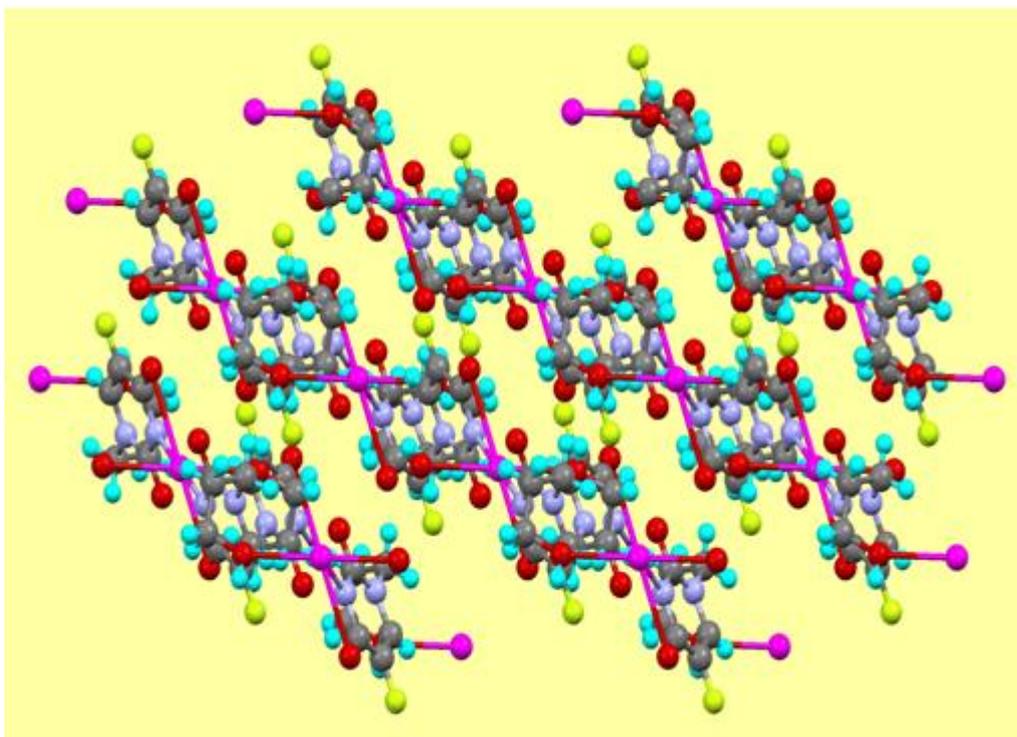


Figura 22. Estructura lineal del compuesto [Hg(N<sup>1</sup>-(3-hidroxiopropil)-5-fluorouracilato)<sub>2</sub>]

<sup>38</sup> J. Dúchense, *Physico-chemical properties of Nucleic Acids*, vol. 2, Academia Press, New York (1973).

En la [Tabla 4](#) se indican las distancias a las posiciones de coordinación N(3), enlace ancilar al O(4) que refuerza la coordinación y al grupo hidroxilo terminal. Se observa una distancia entre Hg-N(3) de 2.094 Å, distancia muy cercana al valor obtenido por el grupo de Bioinorgánica en el complejo  $[\text{Hg}(\text{N}^1\text{-hexyl-5-fluorouracilate})_2]_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , de 2.016 Å<sup>24</sup>, pese a esta ligera diferencia de menos de 0,1 Å, debida a la pequeña variación entre sustituyente en N<sup>1</sup> de los ligandos fluorouracilato de los dos complejos. Cabe destacar también la absoluta linealidad de los enlaces N(3)-Hg-N(3) que dan un ángulo de 180°. El mercurio, el átomo de N(3), el átomo de O(4) y el átomo de C(2) están casi en un plano (ángulo de torsión 4,6°)

Entre las diversas cadenas que se forman, se generan capas a través de interacciones Hg-OH ([Figura 23](#)) y también se presentan interacciones *lone pair* - $\pi$  entre el fluoruro sustituido y el grupo carbonilo del uracilo semejante a los ya descritos previamente por el grupo de investigación de Bioinorgánica de la UIB<sup>39</sup>.



**Figura 23. Capas formadas a partir de las cadenas del compuesto**

Las interacciones del tipo *lone pair* - $\pi$  (O más concretamente entre el grupo C-F y el enlace C=O de dos capas consecutivas) pueden verse mejor en la [Figura 24](#) que se indica a continuación. La distancia es de sólo 3.102 Å, en paralelo a interacciones similares descritas por el grupo de Bioinorgánica de la UIB<sup>12, 24, 26, 27, 28, 29, 30, 39</sup>.

---

<sup>39</sup> J. J. Fiol, M. Barceló-Oliver, A. Tasada, A. Frontera, A. Terrón, A. García Raso, *Coord.Chem. Revs.* **257** (2013) 2705-2715.

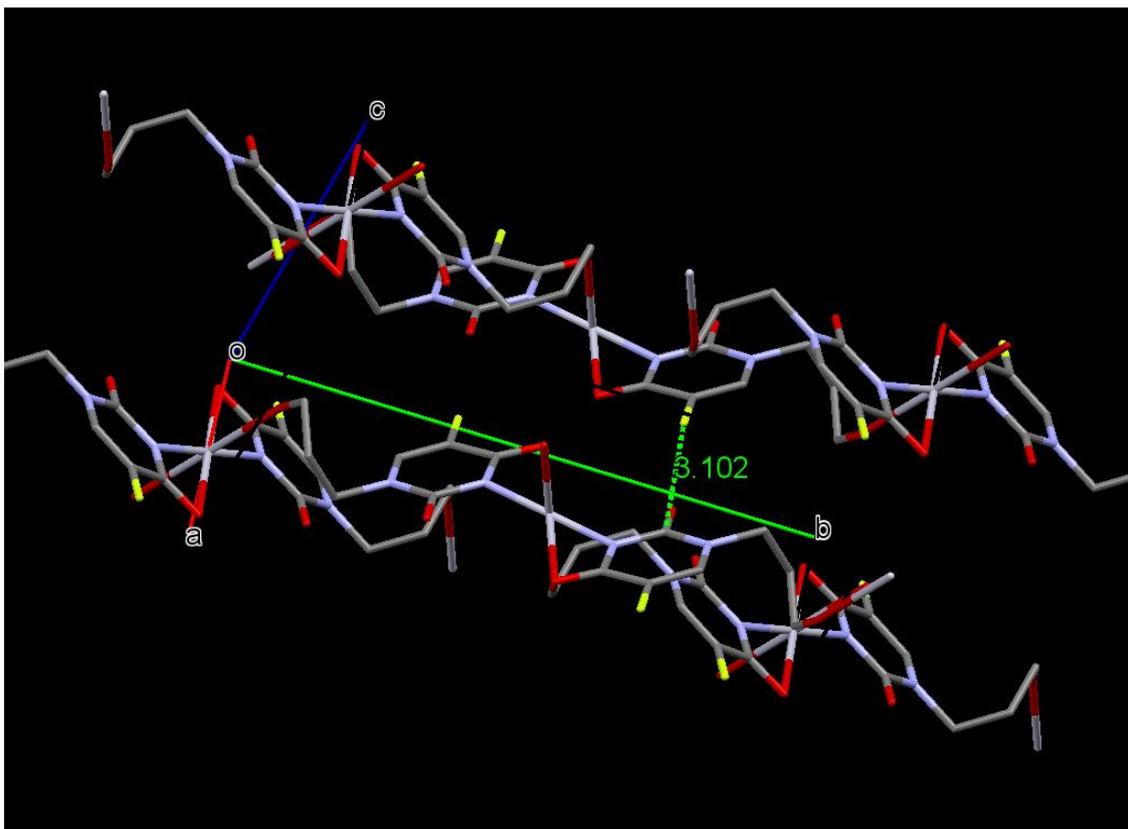


Figura 24. Interacción lone pair- $\pi$  entre el fluoruro en la posición 5' de un anillo de uracilo y la base del plano más próximo a través del C(2). Se indican los ejes a, b, c de la estructura.

### 3.2 $\text{trans-[Pt(1-hexilcitosina)}_2(\text{NH}_3)_2]\text{Cl}_2$

El complejo presenta las bandas propias de la N<sup>1</sup>-hexilcitosina en las que se aprecian corrimiento en las bandas específicas del anillo<sup>38</sup>. Las bandas del ligando a 1617vs, 1665s  $\text{cm}^{-1}$ , correspondientes a tensiones C=C y C=O aparecen desplazadas a 1723 y 1653  $\text{cm}^{-1}$ . Este incremento del número de ondas se da también en el caso de las citosinas protonadas obtenidas por el grupo de Bioinorgànica<sup>28, 29</sup>.

Los datos de RMN, a pesar de la poca calidad del espectro debido a la poca solubilidad del compuesto en D<sub>2</sub>O y al hecho de que éste pueda alterarse en disolución o bien que las citosinas ligadas por el N(3) tengan capacidad de ir rotando en disolución, es concordante con la unión en trans de dos citosinas al Pt(II) conservando los ligandos amminos; lo que concuerda también con el análisis elemental del compuesto. Pero, a falta de cristales adecuados para el estudio de difracción de rayos X, el espectro de masas MALDI confirma esta hipótesis. En efecto se detecta el pico correspondiente al platino enlazado a dos citosinas y a un cloruro que ha perdido los dos ligandos ammino, como se indica en la parte experimental. La posibilidad de que haya un ligando citosina enlazado y otro libre se considera poco probable ya que sería muy difícil interpretar el espectro de masas partiendo de esta hipótesis. La estructura probable se indica en la Figura 25.

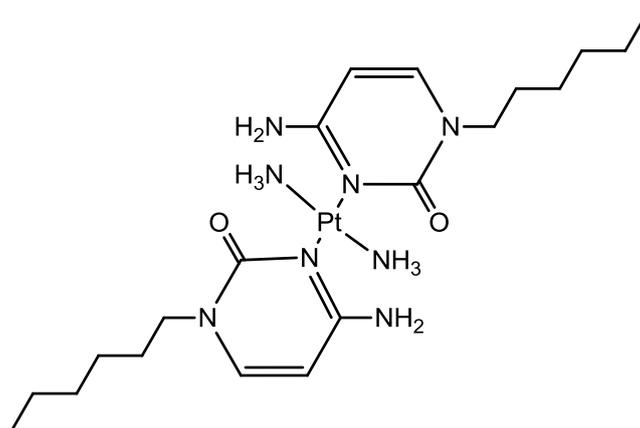


Figura 25. Cation  $[Pt(N^1\text{-hexilcitosina})_2(NH_3)_2]^{2+}$

### 3.3 trans-[Pt(N<sup>1</sup>-hexiluracilato)<sub>2</sub>(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>]

Los datos de espectroscopia infrarroja nos certifican la presencia del ligando enlazado. Se observa por comparación con el ligando libre el desplazamiento de muchas de las bandas de anillo  $\nu C=O$ ,  $\nu C=C$  y  $\nu C=N$ <sup>38</sup>, que aparecen en el complejo muy nítidamente a 1650 y 1578  $cm^{-1}$ , observándose un desplazamiento importante o la desaparición de la banda 1693  $cm^{-1}$  en el complejo por la pérdida del H(3). En el N<sup>1</sup>-metiluracilo aparecen a 1644 y 1691 mientras que en el ligando N<sup>1</sup>-hexiluracilo aparecen a 1649vs, 1693vs) en nuestra asignación tentativa.

La banda de 593  $cm^{-1}$  se puede asignar tentativamente como  $\nu Pt-NH_3$  ya que no aparece en el ligando, y en el trans-diamminodichloruroplatino(II) aparece a 572  $cm^{-1}$ <sup>40</sup>. Las bandas de tensión Pt-pirimidina aparecen por debajo de 400  $cm^{-1}$  y por tanto no son observables en el espectro de 4000 a 400  $cm^{-1}$  realizado.

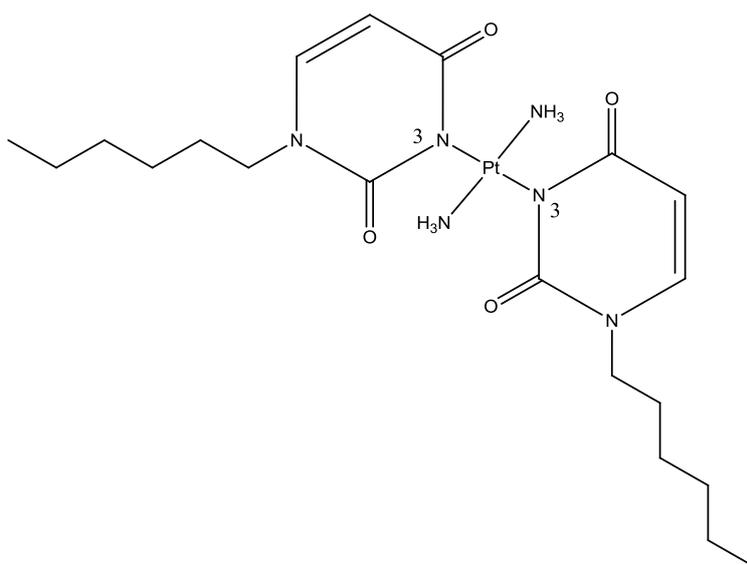
Los datos de RMN, a pesar de la poca calidad del espectro debido a la pequeña solubilidad del compuesto en D<sub>2</sub>O y al hecho de que éste pueda alterarse en disolución o bien que los uracilos enlazados por el N(3) tengan capacidad de ir rotando en disolución, es concordante con la unión en trans de dos uracilos al Pt(II) conservando los ligandos amminos y se observa la desaparición de la señal que correspondería al H(3). Al no poder comparar con el espectro del ligando, que no es soluble en agua pero sí en DMSO, no se pueden inferir más conclusiones.

Pero, a falta de cristales adecuados para el estudio de difracción de rayos X, el espectro de masas MALDI confirma esta hipótesis. En efecto se detecta el pico correspondiente al platino enlazado a dos uracilos y que ha perdido los dos grupos ammino, como se indica en la parte experimental, y atendiendo a que el complejo es neutro se incorpora

<sup>40</sup> K. Nakamoto, *Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds*, 5<sup>th</sup> edition, John Wiley and Sons (1997), part B. pp 11.

un átomo de Ag(I) que se adicionó como matriz. La correspondencia entre resultado experimental y calculado con la abundancia isotópica es muy buena. Recordemos lo ya indicado en la parte experimental  $[C_{20}H_{30}AgN_4O_6Pt]^+$ ,  $m_{exp}=692,09852$  (res. 6797),  $m_{teor}= 692,096594$  que implica una diferencia de sólo 3,576 ppm.

Por tanto es plausible proponer la estructura que se indica en la [Figura 26](#).



**Figura 26.** Posible estructura del complejo neutro  $[Pt(N^1\text{-hexiluracilato})_2(NH_3)_2]$

### 3.4 Comentario general sobre el trabajo realizado

Se han sintetizado otros complejos que están pendientes de cristalización y caracterización atendiendo al periodo limitado de trabajo de este TFG. En algunos casos el intento de obtener complejos con dos bases diferentes (púrica y pirimidínica) ha dado lugar a la obtención de complejos con sólo una de ellas. Se ha trabajado por tanto en la síntesis de estos sistemas duales, y la información de parte del trabajo realizado se utilizará posteriormente en esta línea de investigación más amplia. Se trabajó también con Au(III) y dio lugar a problemas con reacciones red-ox no controladas que se intentará soslayar con síntesis posteriores ( con un férreo control del pH por ejemplo). En la

[Tabla 2](#) hay un resumen de toda la actividad realizada durante la parte experimental.

En este TFG el alumno ha aprendido a

- 1) Trabajar en la búsqueda de la bibliografía de un tema científico concreto.
- 2) Realizar una síntesis de la información disponible para ofrecerla de una manera clara como introducción de su trabajo.
- 3) Diseñar y ejecutar síntesis no descritas en la bibliografía.
- 4) Valorar la información de técnicas espectroscópicas sobre los compuestos obtenidos. En concreto espectroscopia IR, RMN y MALDI.
- 5) Utilizar el programa del CCDC Mercury para manejar la información contenida en un estudio de monocristal de difracción de rayos X.
- 6) Redactar un artículo científico, citando correctamente la bibliografía requerida, y a ponderar en la discusión el rigor de la información que se le ofrece.