

Título: ESTUDIOS EN FASE GAS DE BIOMOLÉCULAS Y SUS MICROSOLVATOS

Nombre: Vaquero Vara, Vanesa

Universidad: Universidad de Valladolid

Departamento: Química física y química inorgánica

Fecha de lectura: 04/11/2010

Programa de doctorado: Estudios avanzados en química experimental

Dirección:

- > **Codirector:** JUAN CARLOS LÓPEZ ALONSO
- > **Codirector:** JOSÉ LUIS ALONSO HERNANDEZ

Tribunal:

- > **presidente:** JOSÉ MARÍA LEAL VILLALBA
- > **secretario:** SUSANA BLANCO RODRÍGUEZ
- > **vocal:** CARLOS CATIVIELA MARÍN
- > **vocal:** Ana Isabel Jiménez Sanz
- > **vocal:** JOSÉ ALBALADEJO PÉREZ

Descriptores:

- > ESPECTROSCOPIA DE MICROONDAS

El fichero de tesis ya ha sido incorporado al sistema

Localización: BIBLIOTECA REINA SOFÍA

Resumen: El trabajo de investigación presentado se centra en el estudio del espectro de rotación de biomoléculas en fase gas.

La técnica experimental empleada es la espectroscopía de rotación por transformación de Fourier en haces moleculares (MB-FTMW). Para el experimento se requiere que la muestra esté en fase gas y, debido a los altos puntos de fusión de muchas de las moléculas biológicas y a su inestabilidad térmica, se combina la ablación láser posibilitando el estudio de este tipo de compuestos sólidos. La combinación de la ablación láser (LA) y la técnica MB-FTMW, para dar lugar a la técnica LA-MB-FTMW, fue puesta a punto en el grupo de Espectroscopía Molecular de la Universidad de Valladolid y hasta el momento ha sido demostrada su aplicabilidad¹⁻²². Los principales resultados obtenidos se resumen a continuación.

β-ALANINA

La β-alanina es el β-aminoácido más simple y el único que existe en la naturaleza. Actúa como neurotransmisor y además tiene importancia a nivel astrofísico ya que se ha encontrado, en pequeñas cantidades, en cierto tipo de meteoritos. La importancia de su estudio radica en su detección en fase gas como molécula neutra y en la variedad de conformeros que coexisten en fase gas. La investigación de dicha molécula nos condujo a la

observación experimental de cuatro confórmeros, dos de ellos no vistos hasta el momento, gracias a la alta sensibilidad del espectrómetro.

El artículo en el que se resumen los resultados obtenidos, fue aceptado en una revista de prestigio internacional:

"The shape of β -alanine" M. E. Sanz, A. Lesarri, M. I. Peña, V. Vaquero, V. Cortijo, J. C. López and J. L. Alonso, J. Am. Chem. Soc. 2006, 128, 3812-3817.

URACILO

El uracilo es una base nitrogenada de tipo pirimidínico que forma parte de las cadenas de ácido ribonucleico o ARN. El ARN es el principal material genético en los virus y desempeña un papel esencial en la síntesis de proteínas. El objetivo del estudio ha sido la obtención por primera vez de la estructura del uracilo en fase gas. La técnica experimental LA-MB-FTMW ha permitido:

a/ La resolución y caracterización de la complicada estructura hiperfina del espectro de rotación del uracilo, generada por la presencia de dos núcleos con cuadrupolo.

b/ La observación de los espectros de rotación de especies tautoméricas de oxígeno, nitrógeno y carbono de escasa abundancia natural (0.2, 0.4 y 1.1%, respectivamente). El análisis de estos espectros nos ha conducido a la obtención de los parámetros estructurales de la molécula con una alta precisión.

Los resultados están en la actualidad publicados:

"The Structure of Uracil: A Laser Ablation Rotational Study", V. Vaquero, M. E. Sanz, J. C. López, J. L. Alonso, J. Phys. Chem. A., 2007, 111, 3443.

CITOSINA

La citosina es una base nitrogenada de tipo pirimidínico que se encuentra en los ácidos nucleicos, fundamentales para la persistencia de la vida. Nuestra investigación nos ha conducido a los siguientes resultados y conclusiones:

a/ Se observaron cinco especies tautoméricas en fase gas.

b/ Se resolvió por primera vez la estructura hiperfina originada por la presencia de tres átomos de nitrógeno en cada una de estas especies observadas.

c/ Se determinó el orden de estabildades relativas entre ellos.

GUANINA

Se emprendió posteriormente el trabajo de investigación de las bases nitrogenadas púricas. Para ello se eligió la guanina, y su estudio condujo a una publicación en una revista de prestigio internacional²².

URACILO-AGUA

El uracilo tiene una importancia biológica indiscutible. Es por esto que hemos querido ahondar más en el comportamiento de esta molécula, centrándonos ahora en uno de sus estados naturales en el medio biológico: el estado solvatado.

Se observó una de las posibles formas complejadas, de la que se han obtuvieron los valores espectroscópicos necesarios para proponer su estructura.

Los resultados están en la actualidad publicados²³.

ALANINA-AGUA

La molécula de la alanina aislada había sido previamente estudiada en nuestro laboratorio. Fue así confirmada la presencia de dos de los confórmeros predichos. Con el conocimiento de su preferencia conformacional se emprendió el estudio de su microsolvatación.

Fueron observados el complejo 1:1 más estable de la alanina-agua, así como el 1:2. El hito de tal experimento reside en la observación por primera vez de un complejo de una biomolécula con dos moléculas de agua, teniendo en cuenta el uso de ablación láser.

GLICINA-AGUA

Visto el éxito logrado en el estudio de la microsolvatación de la alanina (trabajo desarrollado el pasado año), se pasó a experimentar de forma similar sobre la glicina. En este caso, el complejo 1:1 había sido ya observado y estudiado en nuestro laboratorio y publicado como portada de una revista de reconocido prestigio internacional¹². El experimento nos condujo a la observación del complejo 1:2 buscado similar al mismo encontrado para la alanina-agua.

ÁCIDOS γ -AMINOISOBUTÍRICO Y 1-AMINOCICLOPROPANO-1-CARBOXÍLICO

Se trata de dos análogos del aminoácido natural alanina. Las disposiciones conformacionales en fase gas de cualquier molécula son consecuencia de la presencia de grupos funcionales entre los que se establecen interacciones intramoleculares, así como de las restricciones impuestas por los grupos laterales. Con objeto de explicar la preferencia estructural ya sabida de algunos aminoácidos naturales se ha pasado al estudio conformacional de sus especies análogas.

Este estudio ha revelado la presencia en fase gas de las tres formas posibles de enlace de hidrógeno intramoleculares predichas para ambas moléculas, de cada una de las cuales se han extraído los datos espectroscópicos relevantes. Para la alanina, al igual que para la gran mayoría de los aminoácidos estudiados, se ha demostrado la existencia de sólo dos de estas interacciones intramoleculares en fase gas, aludiendo a la relajación del tercero de ellos para explicar su carencia. ¿Podemos entonces recurrir a la presencia de ciertos grupos laterales para evitar dichas relajaciones?.

En la actualidad, el trabajo se considera concluido y a la espera de una versión escrita para su pronta publicación.

PROLINA

Habiéndose ya detectado dos confórmeros en el 2001, se decidió continuar el trabajo con objeto de encontrar dos especies más de energías relativas inferiores a 1000 cm⁻¹. Para ello fue incorporada alguna mejora instrumental lograda durante el último año, con la que se consiguió mejorar la sensibilidad del instrumento. Una recopilación de estos nuevos resultados ha sido ya aceptada en una revista internacional²⁴.

1 A. Lesarri, S. Mata, J. C. López, J. L. Alonso, Rev. Sci. Instrum., 2003, 74, 4799.

2 A. Lesarri, S. Mata, E. J. Cocinero, S. Blanco, J. C. López, J. L. Alonso, Angew. Chem. Int. Ed., 2002, 41, 4673.

3 A. Lesarri, S. Mata, S. Blanco, J. C. López, J. L. Alonso, J. Chem. Phys., 2004, 120, 6191.

4 S. Blanco, A. Lesarri, J. C. López, J. L. Alonso, J. Am. Chem. Soc. 2004, 126, 11675.

5 A. Lesarri, E. J. Cocinero, J. C. López, J. L. Alonso, Angew. Chem. Int. Ed. 2004, 43, 605.

- 6 A. Lesarri, R. Sánchez, E. J. Cocinero, J. C. López, J. L. Alonso, *J. Am. Chem. Soc.* 2005, 127, 12952.
- 7 A. Lesarri, E. J. Cocinero, J. C. López, J. L. Alonso, *J. Am. Chem. Soc.* 2005, 127, 2572.
- 8 A. Lesarri, E. J. Cocinero, J. C. López, J. L. Alonso, *ChemPhysChem*, 2005, 6, 1559.
- 9 M. E. Sanz, V. Cortijo, W. Caminati, J. C. López, J. L. Alonso, *Chem. Eur. J.* 2006, 12, 2564.
- 10 M. E. Sanz, A. Lesarri, I. Peña, V. Vaquero, V. Cortijo, J. C. López, J. L. Alonso, *J. Am. Chem. Soc.* 2006, 128, 3812.
- 11 E. J. Cocinero, A. Lesarri, M. E. Sanz, J. C. López, J. L. Alonso, *ChemPhysChem*. 2006, 7, 1481.
- 12 J. L. Alonso, E. J. Cocinero, A. Lesarri, M. E. Sanz, J. C. López, *Angew. Chem. Int. Ed.* 2006, 45, 3471.
- 13 S. Blanco, J. C. López, A. Lesarri, J. L. Alonso, *J. Am. Chem. Soc.* 2006, 128, 12111.
- 14 E. J. Cocinero, A. Lesarri, J.-U. Grabow, J. C. López, J. L. Alonso, *ChemPhysChem*. 2007, 8, 599.
- 15 E. J. Cocinero, P. Villanueva, A. Lesarri, M. E. Sanz, S. Blanco, S. Mata, J. C. López, J. L. Alonso, *Chem. Phys. Lett.* 2007, 435, 336.
- 16 V. Vaquero, M. E. Sanz, J. C. López, J. L. Alonso, *J. Phys. Chem. A.*, 2007, 111, 3443.
- 17 J. C. López, M. I. Peña, M. E. Sanz, J. L. Alonso, *J. Chem. Phys.*, 2007, 126, 191103.
- 18 S. Blanco, M. E. Sanz, J. C. López, J. L. Alonso, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2007, 104, 20183.
- 19 M. E. Sanz, S. Blanco, S. Mata, J. C. López, J. L. Alonso, contribution M7, *Isolated Biomolecules and Biomolecular Interactions IBBI08*, Valladolid (Spain), 13-18 April 2008.
- 20 M. E. Sanz, S. Blanco, J. C. López, J. L. Alonso, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2008, 120, 6312.
- 21 J. L. Alonso, C. Pérez, M. E. Sanz, J. C. López, S. Blanco, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2009, 11, 617.
- 22 J. L. Alonso, M. I. Peña, J. C. López, V. Vaquero, *Angew. Chem. Int. Ed.*, accepted.
- 23 J. C. López, J. L. Alonso, I. Peña, V. Vaquero, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2010, 12, 14128
- 24 S. Mata, V. Vaquero, C. Cabezas, M. I. Peña, C. Pérez, J. L. Alonso, J. C. López, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2009, 11, 4141.