

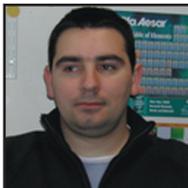
QUÍMICA HETEROSUPRAMOLECULAR: Hacia el Diseño de Dispositivos Moleculares Heterogéneos

RESUMEN

En los últimos años una de las áreas de mayor interés en Química ha sido la investigación sobre el diseño de receptores para el reconocimiento químico a nivel molecular. Sin embargo, este desarrollo no ha seguido un crecimiento paralelo en el área de los materiales que permita un avance hacia la obtención de dispositivos sólidos para aplicaciones reales como sensores, interruptores moleculares etc... En el siguiente artículo, se presenta la introducción de un sustrato sólido nanocristalino como parte del sistema y pone en evidencia la estrecha relación que existe entre la nanotecnología y la química supramolecular. La razón práctica de esta idea es que los materiales heterosupramoleculares presentan claras ventajas frente a los estudios en disolución a la hora de diseñar dispositivos. Como ejemplos se detallan dos sistemas heterosupramoleculares: un sensor bio-analítico y un sensor químico.

Introducción.

El estudio del reconocimiento de diferentes especies moleculares vía interacciones no-covalentes es un área de gran interés en bioquímica y en el área de la quími-



Emilio J. Palomares Gil
Centre for Electronic Materials and
Devices. Imperial College.
Exhibition Road. SW7 2AY.
London. U.K.
e.palomares@imperial.ac.uk

ca ha crecido de forma tan rápida que ha llegado a convertirse en un campo de investigación propio llamado química supramolecular.¹ No es extraño que los artículos publicados en los últimos años hayan creado una gran expectación sobre la posibilidad de controlar, mediante la aplicación de estímulos exteriores, la interacción de diferentes entidades a nivel molecular.

Como otros tópicos en el campo de la química, la química supramolecular tiene un origen biomimético que ha servido de inspiración para abrir diferentes líneas de investigación como por ejemplo: sensores químicos² y materiales moleculares auto-organizados^{3,4} (self-assembling). Sin embargo, el desarrollo de dispositivos sólidos no ha seguido un camino análogo a los estudios en disolución y existen muy pocos ejemplos en la bibliografía sobre dispositivos heterogéneos que exploten las interacciones supramoleculares si comparamos con el número de sistemas en disolución⁵⁻⁷. Una excepción notable ha sido la inmovilización de proteínas en superficies sólidas tales como electrodos de grafito o vidrio conductor (ITO). Este tipo de dispositivos permite el estudio de las propiedades red/ox de dichas biomoléculas en sistemas heterogéneos y su capacidad como dispositivos bio-analíticos^{8,9}. Sin embargo, en unos casos la opacidad del material utilizado como

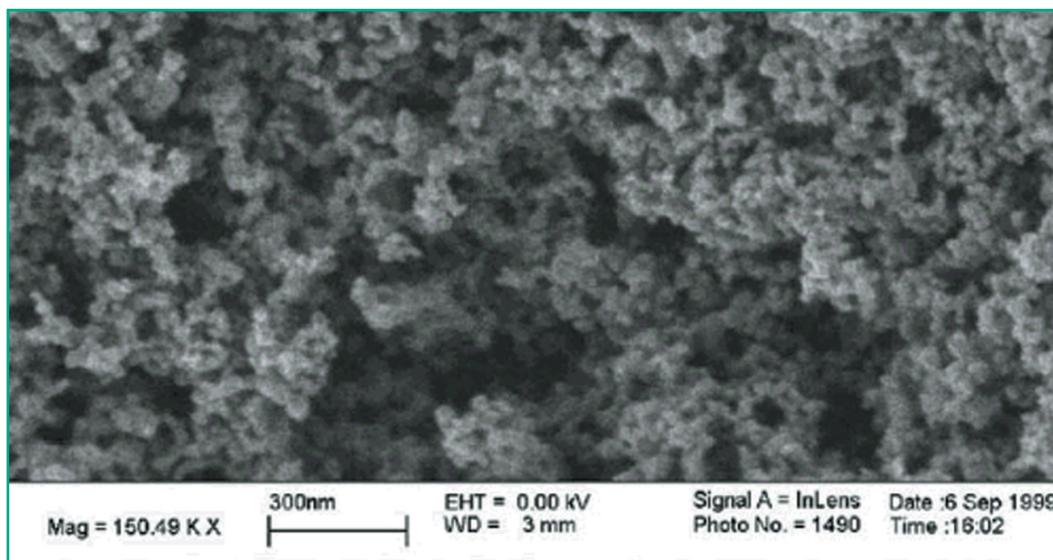


Figura 1.
Fotografía obtenida con un microscopio electrónico de alta resolución de un film mesoporoso formado por nanopartículas de TiO₂. El tamaño de las partículas es aproximadamente 15 nanómetros.

electrodo, que imposibilita la realización de análisis espectrofotométricos y en otros casos la poca área de superficie, en la que anclar la suficiente cantidad de proteína para llevar a cabo el experimento correctamente, limitan estos dispositivos.

En los últimos años ha surgido como una alternativa interesante el uso de partículas nanocrystalinas de TiO_2 o SnO_2 como sustrato.^{10,11} La **Figura 1** muestra una imagen de un film de TiO_2 .

Las partículas nanocrystalinas pueden ser depositadas para formar filmes mesoporosos de gran área superficial, transparentes en el visible y con propiedades semiconductoras. En este tipo de nanomateriales, la gran

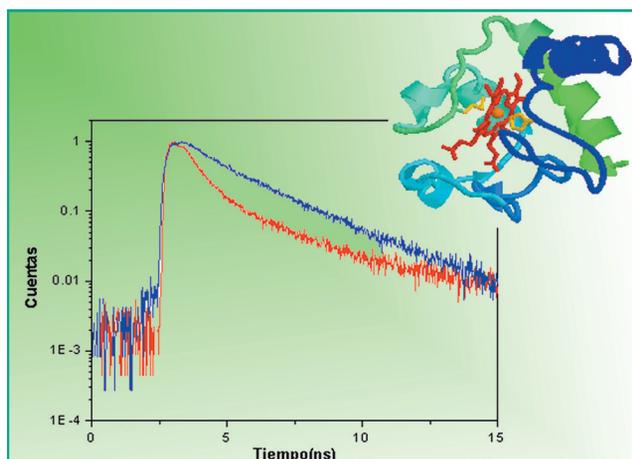


Figura 2. Decaimientos correspondientes a la cinética de desaparición del estado excitado de la proteína Zn-Cit C/ ZrO_2 (azul) y Zn-Cit C (rojo) medidos mediante la técnica de recuento individual de fotones correlacionados temporalmente. Excitación 404nm (1mHz, 0.2mWcm^{-2}) y longitud de onda de medición 550nm. Los filmes fueron inmersos en una disolución tampón a pH 7 y a la temperatura de 25 C. La Figura también muestra la estructura tridimensional del Citocromo C.

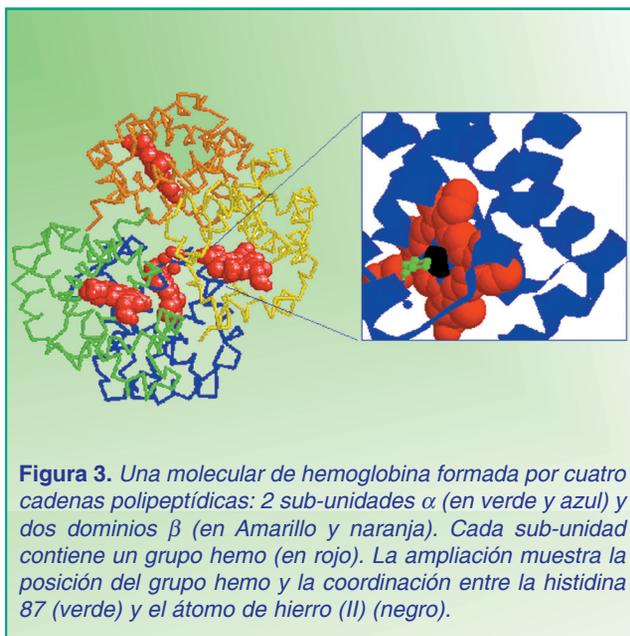


Figura 3. Una molécula de hemoglobina formada por cuatro cadenas polipeptídicas: 2 sub-unidades α (en verde y azul) y dos dominios β (en Amarillo y naranja). Cada sub-unidad contiene un grupo hemo (en rojo). La ampliación muestra la posición del grupo hemo y la coordinación entre la histidina 87 (verde) y el átomo de hierro (II) (negro).

área superficial permite la adsorción de una cantidad mayor de proteína si se compara con la concentración de proteína adsorbida en un vidrio conductor y a su vez, las propiedades semiconductoras del sustrato permiten modular el estado de oxidación de las proteínas electroquímicamente sin tener que utilizar reactivos químicos y al ser transparente en el visible, se puede seguir mediante espectros-copia Uv-Vis la evolución del sistema heterosupramolecular durante los ensayos de reconocimiento molecular o estudiar alguna de sus propiedades fotofísicas como por ejemplo la transferencia de electrones entre el semiconductor y la proteína. La **Figura 2** muestra la desactivación del estado excitado singlete del sistema Zn-Cit C/ TiO_2 (Cit = Citocromo C) al transferir un electrón a la banda de conducción del semiconductor y la ausencia de transferencia de electrones para el sistema Zn-Cit C/ ZrO_2 debido a la imposibilidad de inyectar un electrón en la banda de conducción del ZrO_2 .

La transparencia del sustrato resulta de gran utilidad práctica si se pretende realizar ensayos colorimétricos como veremos en el segundo ejemplo, donde se muestra la detección de especies aniónicas con un sensor químico. El diseño de receptores químicos para aniones supone un gran reto para el químico sintético, puesto que la mayoría de los aniones poseen valores elevados para la energía de solvatación en agua y existe una seria competencia por el anion entre el receptor y el medio acuoso. Si además tenemos en cuenta que se necesita el uso de disoluciones tamponadas para evitar cambios en el pH de la disolución que afecten al receptor, esto incrementa la dificultad del proceso selectivo de reconocimiento molecular ya que la mayoría de disoluciones tampón contiene por si mismas especies aniónicas como acetatos y fosfatos que pueden interferir en los ensayos analíticos.

Los sistemas heterogéneos basados en receptores anclados o adsorbidos a películas mesoporosas de partículas nanocrystalinas de TiO_2 resuelven algunos de los problemas mencionados en el párrafo anterior. Por ejemplo, variaciones en la síntesis del material permiten la obtención de una elevada superficie hidroxilada, con un valor de pH alrededor de 5.5, ofreciendo un control sobre la protonación/desprotonación de la superficie del film evitando el uso de disoluciones tamponadas

La elección del receptor.

En el caso de los sensores bio-analíticos, depende en gran medida de la carga en la superficie de la proteína. Por ejemplo, la Hemoglobina (Hb) (64 kDa), **Figura 3**, es una proteína tetramérica que se encuentra en los eritrocitos y es responsable del transporte de oxígeno.¹² La presencia de aminoácidos cargados positivamente (ejem. lisina y arginina.) en el exterior de la proteína facilitan su adsorción al semiconductor, si sumamos a esto la habilidad de la Hb para unirse a NO (óxido nítrico) este sistema resulta especialmente interesantes para su estudio en un sistema heterogéneo.

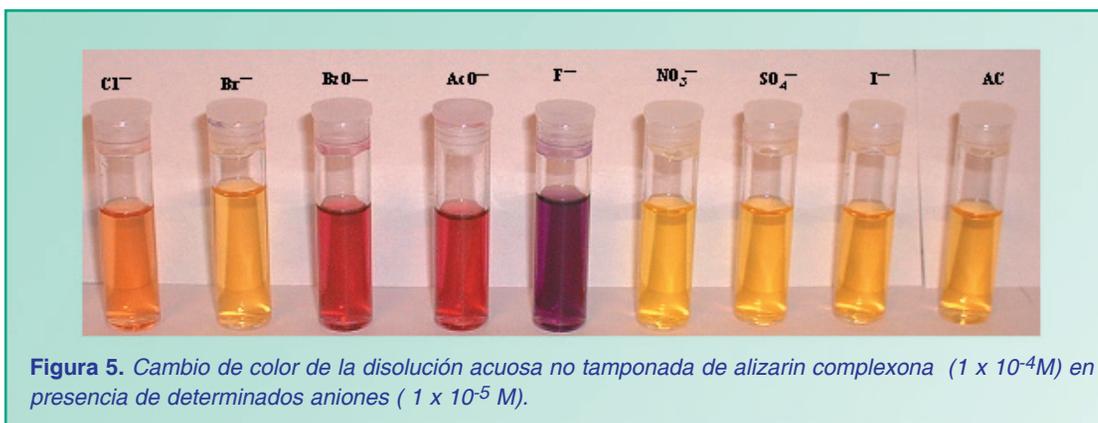


Figura 5. Cambio de color de la disolución acuosa no tamponada de alizarin complexona ($1 \times 10^{-4}M$) en presencia de determinados aniones ($1 \times 10^{-5} M$).

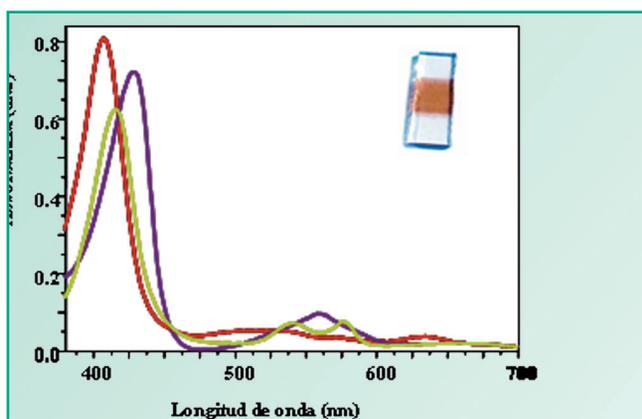
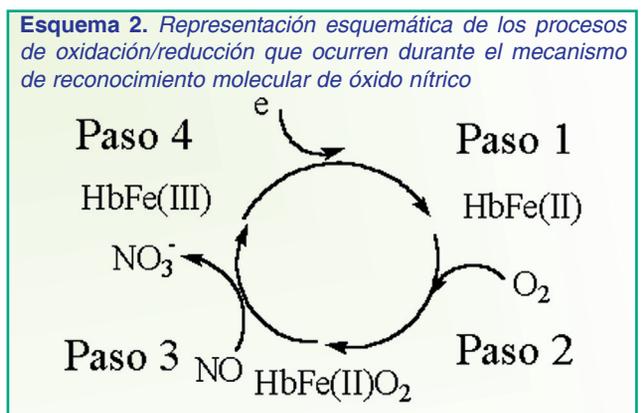
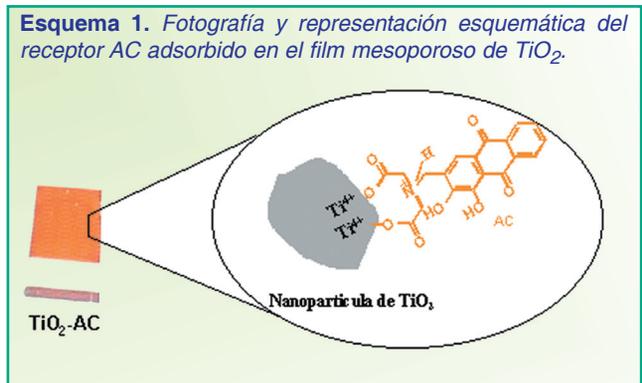


Figura 4. Cambios en la posición de los máximos de absorción en el espectro UV-Vis para el sistema Hb/TiO₂ dependiendo del complejo Fe(II)-Ligando. HbFe(III)/TiO₂(---), Oxy-HbFe(II)/TiO₂(---) y Desoxy-HbFe(II)/TiO₂(---). La Figura incluye la fotografía de la proteína Hb adsorbida en el film mesoporoso de TiO₂(Oxy-HbFe(II)/TiO₂)



El espectro de Uv-Vis y las propiedades electroquímicas de la Hb son mayoritariamente determinadas por sus grupos alostéricos. La Hemoglobina contiene en su estructura 4 grupos Hemo (**Figura 3**) formados por porfirinas con átomo central de hierro (II). Los diferentes espectros que se pueden estudiar de la Hb vendrán determinados por el estado de oxidación del metal (**Figura 4**) y la posición de las bandas de absorción en el espectro de Uv-Vis del sistema Hb/TiO₂ respecto a la Hb en disolución confirman la no desnaturalización de la proteína al ser adsorbida en el film.

En el caso del sensor químico la elección del receptor se basa fundamentalmente en la presencia de grupos que permitan la adsorción de la molécula sin tener que realizar una modificación de la superficie del sólido, generalmente grupos carboxilo (-COOH) o grupos hidroxilo (-OH.).

La molécula comercial Alizarin Complexona (AC) (ácido 3,4-dihidroxi-2-(antraquinolil)metil-imidodiacético) (**Esquema 1**) resulta un excelente ejemplo para su estudio como sensor heterosupramolecular ya que ha sido descrita anteriormente como un excelente sensor colorimétrico para el anión fluoruro en disoluciones tamponadas.^{13,14} cuando forma complejos con metales de transición (Zn^{II}, Cu^{II} etc...) o lantánidos (Ce^{III}) y sin embargo en ausencia de un medio tamponado la selectividad a la presencia de anión fluoruro disminuye de forma drástica como se observa en la **Figura 5**.

El Dispositivo Molecular.

El sistema heterosupramolecular formado por Hb/TiO₂ puede ser utilizado como sensor ópto-electrónico para el reconocimiento molecular de NO en condiciones aeróbicas (**Esquema 2**). La reducción electroquímica de Hb^{III}/TiO₂ a Hb^{II}/TiO₂ se lleva a cabo fácilmente con un cambio del potencial desde -0.6 V a 0V vs. Ag/AgCl en presencia de oxígeno, dando como resultado un desplazamiento del máximo de absorción de la banda Soret desde 406 nm a 428 nm y la aparición de una nueva banda de absorción a 541 y 576 nm.

La **Figura 6** muestra la oxidación del sistema HbFe^{II}O₂/TiO₂ a HbFe^{III}/TiO₂ como resultado de añadir

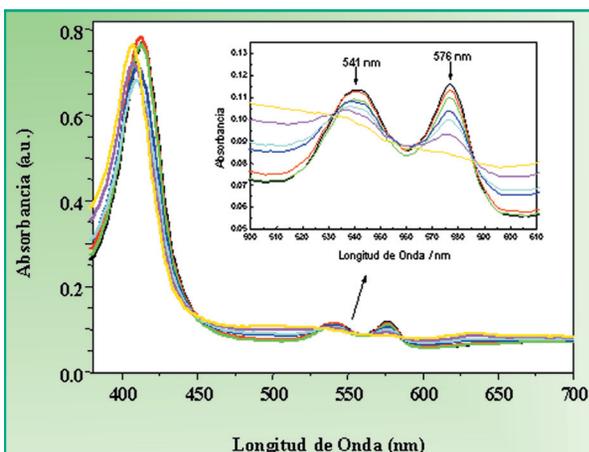


Figura 6. Oxidación del sistema $HbFe(II)O_2/TiO_2$ a $HbFe(III)/TiO_2$ mediante la adición de alícuotas de NO (2-40 μ L). Dentro de la gráfica hay una ampliación de la región visible (500-610 nm) donde se observa el decrecimiento de las bandas a 541 y 576 nm.

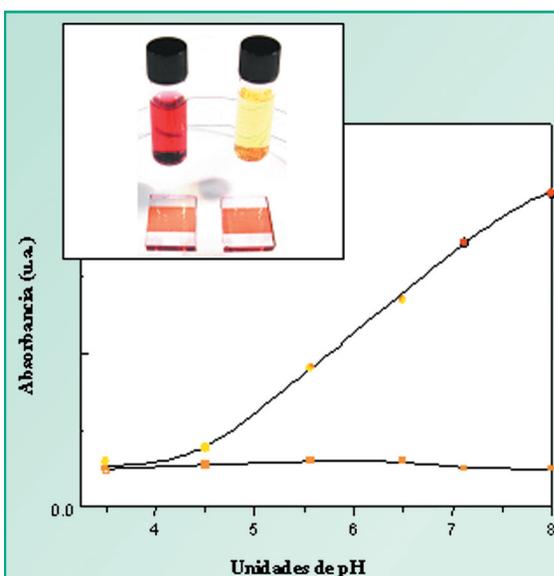


Figura 7. Representación gráfica del cambio en la absorbancia ($\lambda = 525$ nm) vs. incremento de pH. (●) Una disolución 1 mM de Alizarin Complexona en acetónitrilo: agua (1:1) y (■) después de introducir el sistema AC/ TiO_2 en disoluciones acuosas con los diferentes valores de pH (eje X). La figura también muestra una fotografía del cambio de color en disolución (amarillo pH ~ 4 y rojo pH ~ 8) en contraste con la ausencia de dicho cambio en el sistema AC/ TiO_2 .

sucesivas alícuotas (2-40 μ L) de óxido nítrico (1 mM) en condiciones aeróbicas. La unión de NO a la estructura heterosupramolecular da como resultado un cambio en el espectro de absorción, reflejado en los desplazamientos de la banda Soret de 428 nm a 406 nm y la desaparición de las bandas a 541 nm y 576 nm. Para restablecer la configuración original del sistema solo se necesita volver a reducir electroquímicamente la forma $HbFe^{III}/TiO_2$ a la forma $HbFe^{II}/TiO_2$.

En nuestro segundo ejemplo, nos centraremos, en primer lugar, en papel del film mesoporoso de TiO_2

como sistema regulador de los cambios de pH. La **Figura 7** ilustra el drástico cambio de color que sufre la disolución de Alizarin Complexona a diferentes pH y la ausencia de cambio de color en el sistema heterogéneo AC/ TiO_2 . Este simple experimento control nos muestra la independencia del dispositivo a los cambios de pH, permitiendo llevar a cabo su función en medios no tamponados.

La **Figura 8** muestra el cambio de color, detectable a simple vista, del sistema AC/ TiO_2 en presencia de fluoruro y cianuro. El cambio de color es total en 1-2 segundos. Además la selectividad del sistema en presencia de otros aniones, demostrada anteriormente en medios tamponados, no es impedida por la adsorción del receptor al TiO_2 al igual que su sensibilidad (**Figura 9**).

Al igual que ocurría en el dispositivo molecular Hb/ TiO_2 el sistema AC/ TiO_2 es reversible. Los cambios de color debidos a la presencia de fluoruro o cianuro en el sistema son totalmente reversibles solo con el lavado del dispositivo en agua destilada. La **Figura 10** muestra un ciclo de regeneraciones del sistema en el que el film AC/ TiO_2 .

Conclusiones y Perspectivas Futuras.

Los ejemplos presentados en este artículo demuestran el gran potencial y las ventajas que tienen los sistemas heterosupramoleculares para la formación de dispositivos funcionales. La introducción de un material sólido como parte de la estructura receptora permite un mayor control sobre las propiedades del receptor y mejora algunos problemas que encontramos cuando trabajamos en disoluciones acuosas. Aunque todavía existen pocos ejemplos en la literatura sobre estos sistemas, en comparación a los descritos en disolución, estos dejan una puerta abierta a un diseño racional de receptores moleculares más selectivos, que unifiquen la nanotecnología y la química supramolecular para conseguir la conexión entre la individualidad del sistema molecular y el ensamblaje de sistemas macroscópicos.

Este mismo concepto se puede aplicar para el diseño de dispositivos opto-electrónicos que permitan el almacenamiento de información mediante la excitación de uno de los componentes del sistema y la posterior transferencia de electrones entre los diferentes centros red/ox del dispositivo heterosupramolecular o la formación de células de biofuel formadas por proteínas que catalicen la oxidación de moléculas orgánicas como por ejemplo glucosa.

Estos representan solo un par de ejemplos de entre el gran abanico de posibilidades que ofrecen los sistemas heterosupramoleculares. Como escribió Don Miguel de Cervantes en el clásico más universal de la literatura española: **Esto nos es el final, sino el principio...**

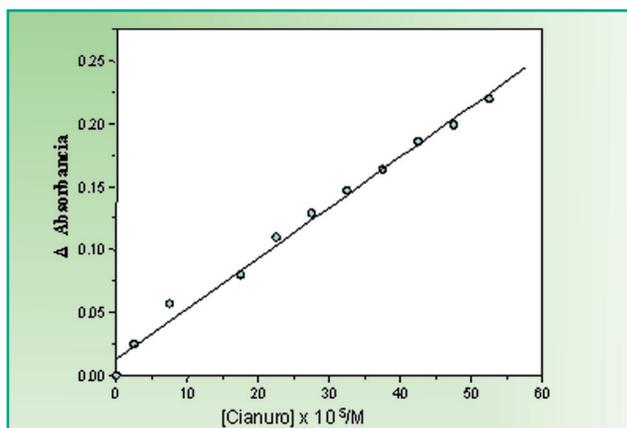


Figura 9. La gráfica muestra el cambio en la absorbancia ($\lambda = 550 \text{ nm}$) para el sistema AC/TiO₂ en función de la concentración de cianuro (volumen total de la celda de cuarzo $V_T = 20 \text{ mL}$).

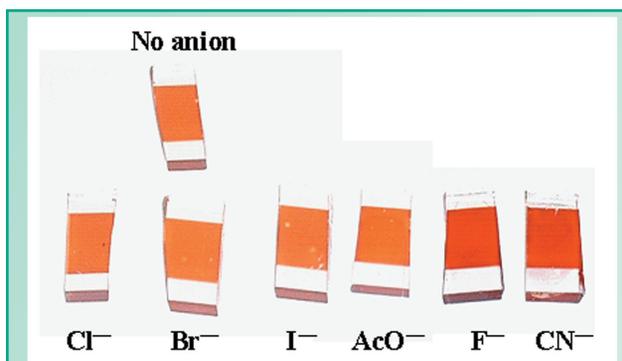


Figura 8. Fotografía que muestra el cambio de color después de introducir las muestras en disoluciones acuosas (concentración 1mM) que contenían los aniones indicados en la figura. Todos los aniones fueron utilizados a partir de sus sales de tetrabutilamonio. Como se puede observar, el cambio de color solo se produce por reconocimiento de fluoruro o cianuro.

Agradecimientos:

EP quiere dar su mas sincero agradecimiento al Dr. Ramon Vilar Compte y al Dr. James R. Durrant por su ayuda tanto en la realización de los experimentos como en los consejos a la hora de escribir este artículo.

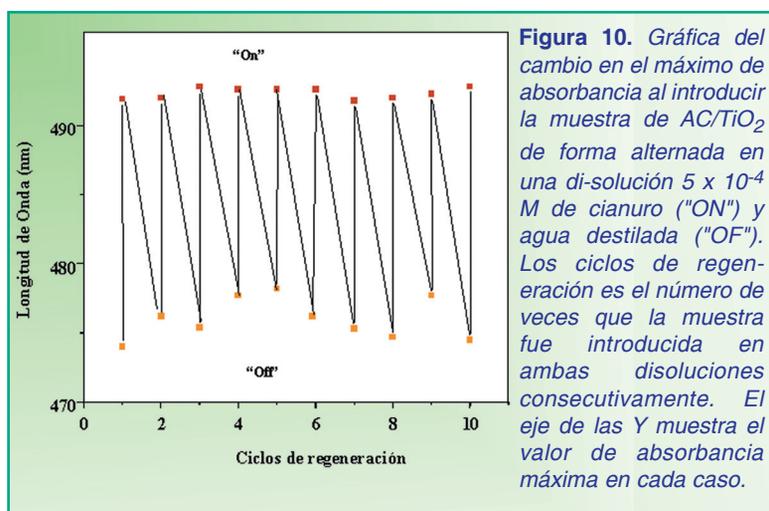


Figura 10. Gráfica del cambio en el máximo de absorbancia al introducir la muestra de AC/TiO₂ de forma alternada en una di-solución $5 \times 10^{-4} \text{ M}$ de cianuro ("ON") y agua destilada ("OF"). Los ciclos de regeneración es el número de veces que la muestra fue introducida en ambas disoluciones consecutivamente. El eje de las Y muestra el valor de absorbancia máxima en cada caso.

REFERENCIAS

- Lehn, J.-M., *Supramolecular Chemistry*. ed.; VCH: Weinheim, 1995.
- Anslyn, E. V.; Lavigne, J. J., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, 40, 3118-3130.
- Lee, M.; Yoo, Y.-S., *J. Mat. Chem.* **2002**, 12, 2161-2168.
- Elemans, J. A. A. W.; Rowan, A. E.; Nolte, R. J. M., *J. Mat. Chem.* **2003**, 13, 2661-2670.
- Coronado, E.; Forment, A., A.; Gavina, P.; Romero, F. M., *Inorg. Chem.* **2003**, 42, (22), 6959-6961.
- Collier, C. P.; Gunter, M.; Wong, E. W.; Y., L.; Beverly, K.; Sampaio, J.; Raymo, F. M.; Stoddart, J. F.; Heath, J. R., *Science* **2000**, 289, 1172-1175.
- Collier, C. P.; Wong, E. W.; Belohradsky, M.; Raymo, F. M.; Stoddart, J. F.; Kuekes, P. J.; Williams, R. S.; Heath, J. R., *Science* **1999**, 285, 391-394.
- Morikawa, M.; Kimizuka, N.; Yoshihara, M.; Endo, T., *Chem. Eur. J.* **2002**, 8, (24), 5580-5584.
- Butt, J. N.; Sucheta, A.; Armstrong, F. A.; Breton, J.; Thomson, A. J.; Hatchikian, E. C., *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 1413-1421.
- Topoglidis, E.; Campbell, C. J.; Palomares, E. J.; Durrant, J. R., *Chem. Commun.* **2002**, 14, 1518-1519.
- Topoglidis, E.; Astuti, Y.; Duriaux, F.; Graetzel, M.; Durrant, J. R., *Chem. Commun.* **2003**, 19, (17), 6894-6900.
- Voet, D.; Voet, J., *Biochemistry*. 2 ed.; John Wiley and Sons: 1995.
- Yamamura, S. S.; Wade, M. A.; Sikes, J. H., *Anal. Chem.* **1962**, 34, (10), 1308-1312.
- Leonard, M. A.; West, T. S., *J. Chem. Soc.* **1960**, 4477-4486.