



## NUEVOS COMPLEJOS BIORGANOMETALICOS CON IONES METALICOS PESADOS POR ENLACE A LA POSICION C(5) DEL URACILO Y LA CITOSINA

Zamora, F.<sup>1,2</sup>; Amo-Ochoa, P.<sup>1,3</sup>; Lippert, B.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Fachbereich Chemie, Universität Dortmund, 44221 Dortmund, Alemania.*

<sup>2</sup>*Departamento de Química Inorgánica, Universidad Autónoma de Madrid, 28049 Madrid, (España).*

<sup>3</sup>*Departamento de Tecnología Industrial. Universidad Alfonso X El Sabio, 28691 Villanueva de la Cañada, Madrid (España).*

### INTRODUCCION

Aunque la posición N(7) de las nucleobases purínicas, guanina y adenina es el principal lugar de enlace con iones metálicos pesados en la doble hélice de los ácidos nucleicos [1, 2, 3] con ácidos nucleicos desnaturalizados, (cadenas sencillas de oligonucleótidos y nucleobases aisladas), existen muchas otras posibilidades de enlace [4]. Así, se obtienen enlaces de metales a lugares no purínicos como en nucleobases pirimidínicas en pares de ácidos nucleicos. Ejemplos conocidos son el Hg(II) enlazando al C(5) del uracilo o citosina [5], el Hg(II) enlazando al N(3) de la timina [6] y el Pb(II) enlazado al O(4) del uracilo [7].

Con anterioridad a este estudio, existían algunos ejemplos de complejos conteniendo metales enlazados a la posición C(5) de purinas caracterizados por difracción de rayos X. Por ejemplo, los complejos *trans*-diaminaPt(II) [8], de Pt(III) con citosina [9], y [(OAc)Hg(1,3-DimeU-C5)] [10].

Aparte del interés general relativo a aspectos biológicos (posible toxicidad, mutagénesis) estos complejos “bioorganometálicos” son interesantes desde un punto de vista sintético que es el tema de este artículo.

## ESTUDIO DE LA QUIMICA DE COORDINACION DE HG(II) Y PT(II) EN LA POSICION C(5) DE LA CITOSINA Y EL URACILO

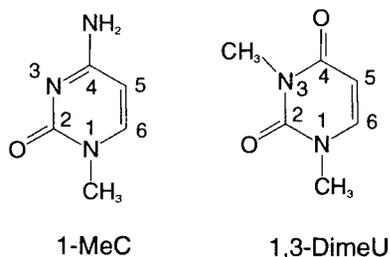


Figura 1. 1-metilcitosina (1-MeC) y 1,3-Dimetiluracilo (1,3-DimeU)

### *Compuestos con Uracilo*

El primer complejo caracterizado por difracción de rayos X con enlace al C(5) del uracilo se ha descrito recientemente [10]. Tomando como base este complejo, [(OAc)Hg(1,3-DimeU-C5)] (Figura 2), ha sido posible sintetizar diversos complejos que pasamos describir seguidamente.

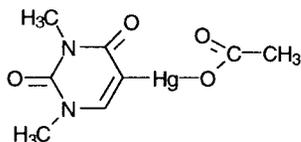


Figura 2. Vista del complejo [(OAc)Hg(1,3-DimeU-C5)]

## Formación del enlace C5-Hg(II) y reacciones de sustitución

Por reacción de acetato de Hg(II) con 1,3-DimeU en agua, en condiciones suaves (40 °C), el Hg(II) enlaza a la posición C(5) del 1,3-DimeU [11]. Los datos de rayos X del complejo así obtenido, muestran una distancia Hg(II)-C(5) de 2.07 Å, típica en complejos organomercuriales. Las reacciones de sustitución en el complejo [(OAc)Hg(1,3-DimeU-C5)] del grupo acetato con halógenos y pseudohalógenos tales como Cl, Br, I, SCN, CN<sup>-</sup> se producen de forma instantánea, pero se observa que rápidamente tiene lugar la reacción de simetrización:



## Espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear

La espectroscopía de <sup>1</sup>H RMN es una técnica extremadamente útil para determinar el enlace a la posición C(5) de las pirimidinas. La resonancia del protón H(6) queda reducida a un singlete que se desplaza a campo alto [11] y que en la mayoría de los casos muestra constantes de acoplamiento <sup>3</sup>J (Figura 3).

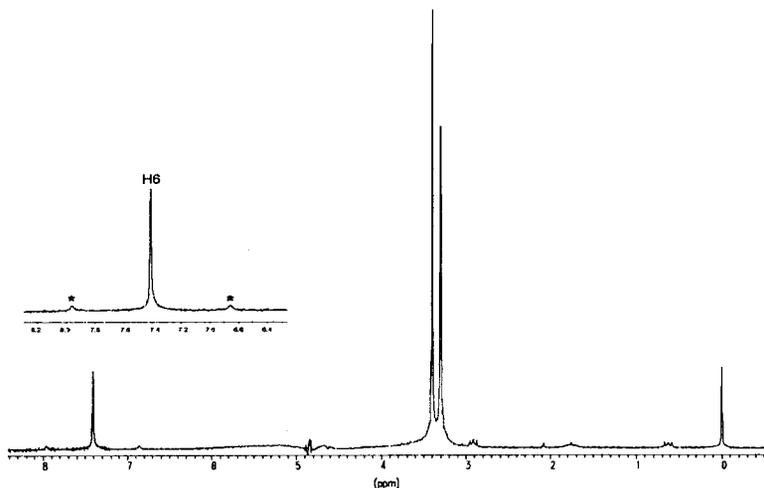
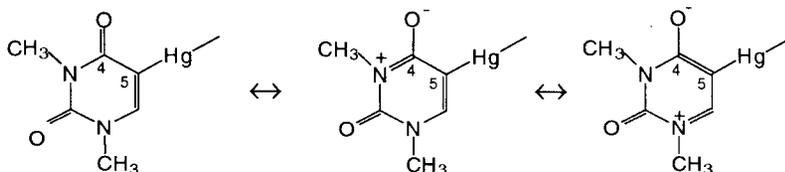


Figura 3. Espectro de <sup>1</sup>H RMN (200 MHz, D<sub>2</sub>O, pD 5.1) de Hg(1,3-DimeU-C5)(NO<sub>3</sub>), con satélites de <sup>199</sup>Hg (\*)

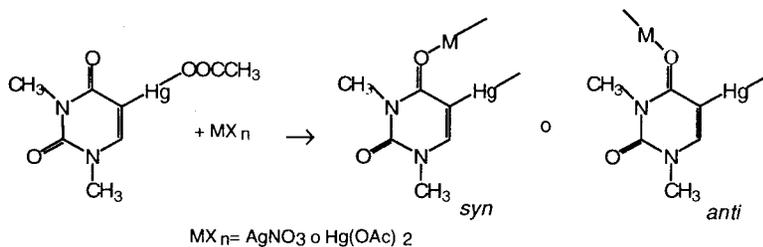
En este estudio se ha observado que el átomo donador *trans* al ligando uracilo tiene un considerable efecto en el valor de la constante de acoplamiento, así se ha observado que en los complejos sintetizados  $^3J(^1\text{H}-^{199}\text{Hg})$  decrece según  $\text{NO}_3^- > \text{OAc}^- > \text{Cl}^- \sim \text{Br}^- > \text{I}^- > \text{SCN}^- > \text{CN}^- > 1,3\text{-DimeU-C5}$ .

### Complejos Dinucleares

La sustitución del protón de la posición N(3) de las nucleobases uracilo y timina por iones metálicos como el Pt(II) [2] y Pd(II) [12] o  $\text{HgCH}_3$  [13] aumenta la basicidad de los oxígenos exocíclicos adyacentes, permitiendo la adición de nuevos metales en esas posiciones con la consiguiente formación de complejos dinucleares de gran interés [14]:

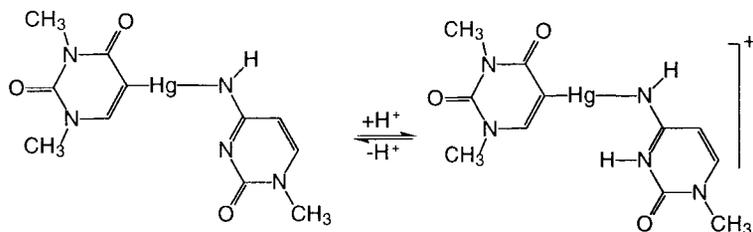


Así por reacción del complejo  $[(\text{OAc})\text{Hg}(1,3\text{-DimeU})]$  con exceso de  $\text{AgNO}_3$  o  $\text{Hg}(\text{OAc})_2$  se obtienen complejos dinucleares:



### Complejos con 1,3-DimeU y 1-MeC

La reacción del complejo (1,3-DimeU-C5)Hg(OAc) con 1-MeC produce dos complejos en los que el (1,3-DimeU-C5)Hg<sup>II</sup> está coordinado vía N(4) a la citosina. Ambos complejos difieren en su estado de protonación. El valor de pK<sub>a</sub> para la 1-MeC en el equilibrio es de 6.5 [11].

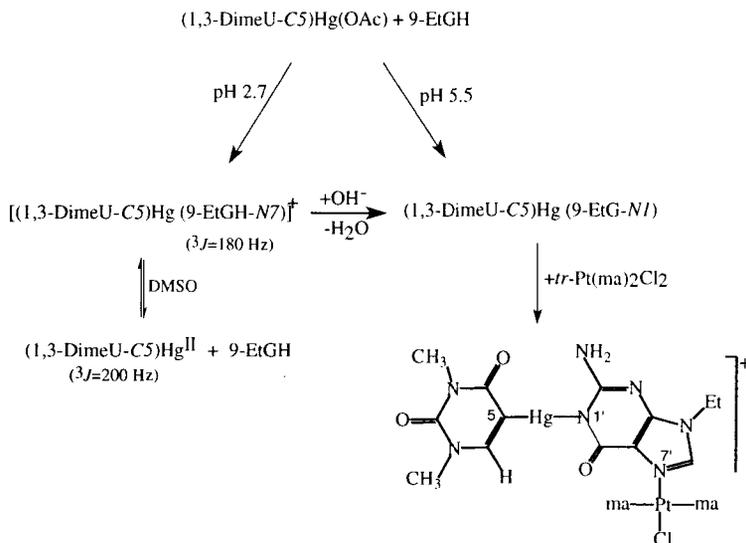


La reacción posterior de ambos complejos de citosina con exceso de Hg(OAc)<sub>2</sub> permite obtener dos complejos dinucleares idénticos con dos iones Hg(II) enlazados a las posiciones N(3) y N(4) de la citosina [15, 16].

### Complejos con 1,3-DimeU y 9-EtGH

Por reacción del complejo de acetato con 9-EtGH es posible obtener la coordinación del mercurio de la unidad (1,3-DimeU-C5)Hg<sup>II</sup> a las posiciones N(1) y N(7) de la 9-EtGH en función del pH, como se representa a continuación:

Además, por reacción entre el complejo *trans*-Pt(ma)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> y el complejo de Hg(II), que presenta el Hg(II) coordinado al N(1) de la 9-EtGH, es posible obtener el complejo dinuclear Pt-Hg representado en el esquema anterior.



### Complejo con 1,3-DimeU y 9-MeA

La reacción del complejo (1,3-DimeU-C5)Hg(OAc) con 9-EtGH a pH 1.2 origina la formación de un complejo en el que el Hg(II) se enlaza a la adenina via N(6) encontrándose el N(1) protonado (Figura 4). De esta forma se aisló y caracterizó por difracción de rayos X por primera vez el imino tautómero de la adenina, el cual representa el tautómero más raro de esta nucleobase [17].

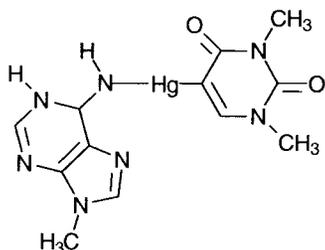


Figura 4. Vista del catión de [(1,3DimeU-C5)Hg(9-MeA-N6)]NO<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O.

## Compuestos con Citosina

Aparte de la coordinación a la posición N(3), ya conocida desde hace mucho tiempo, han sido recientemente caracterizados enlaces de dos metales a las posiciones N(3) y N(4) de la citosina mediante el uso de difracción de rayos X. La posición N(4) está desprotonada, (caso especial donde además existe un enlace metal-metal [18-21]) (Figura 6), enlaces a las posiciones N3 y O2, y enlaces de tres metales a las posiciones N(3), N(4) y O(2) de la citosina (Figura 5).

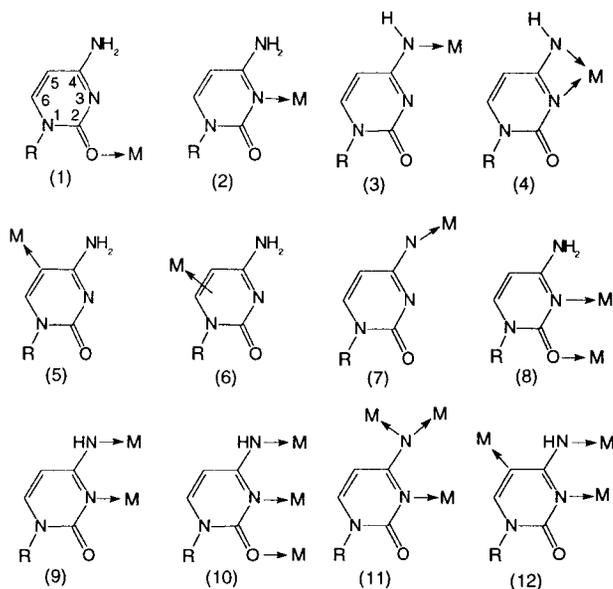


Figura 5. Modos de enlace metálico en complejos de citosinas N(1) sustituidas

### *Complejos con Citosina que contienen dos o más iones metálicos enlazados simultáneamente*

El número de posibles combinaciones de enlaces metálicos a diferentes posiciones de la citosina y, en consecuencia, de la creación de

nuevos complejos multi- y heteronucleares con citosina, aumenta enormemente si se considera el enlace a la posición C(5) como se muestra en la Figura 5.

Para conseguir el enlace del metal a la posición C(5) de la nucleobase citosina se parte del complejo bis citosina *trans*-diamino de platino(II), el cual existe en disolución en equilibrio entre dos rotámeros , cabeza-cabeza y cabeza-cola (Figura 6). Se sintetizó primero el complejo dinuclear de Pt-Hg mediante la adición de Hg a las dos posiciones N(4) de

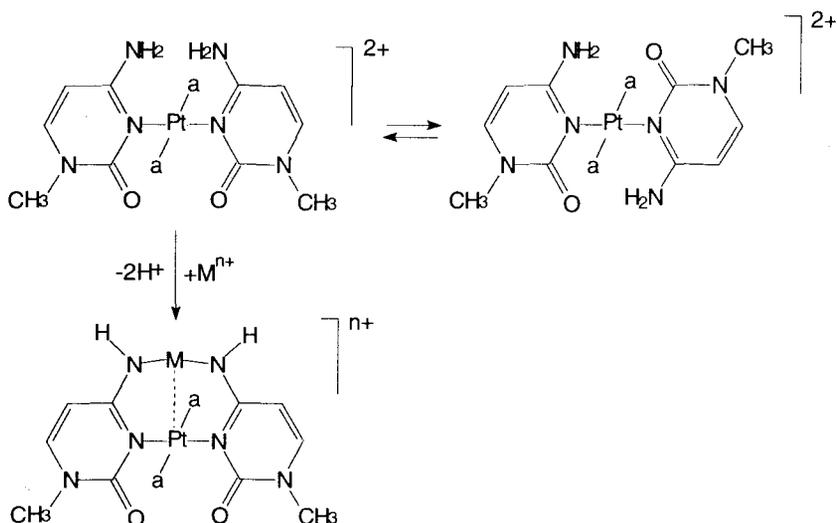


Figura 6. Formación de complejos mixtos Pt,M con citosina

la citosina estabilizando así, el rotámero cabeza-cabeza. Este complejo ha sido caracterizado unos años atrás [22]. En un segundo y tercer paso respectivamente, uno y dos átomos de mercurio son enlazados a las posiciones C(5) de cada una de las dos citosinas (Figura 7).

Esta reacción fue seguida mediante el uso de espectroscopía de RMN y la formación de los enlaces Hg-N(4) se detectó mediante el uso de <sup>1</sup>H y <sup>195</sup>Pt RMN. El espectro de <sup>1</sup>H RMN muestra una constante de acoplamiento <sup>5</sup>J(Hg-H6) de 20Hz, que indica la coordinación del Hg-N(4). En

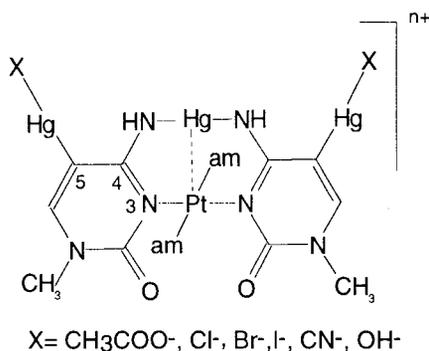


Figura 7. Complejos  $\text{trans-[Pt(am)}_2\text{(1-MeC}^2\text{-N}_3\text{,N}_4\text{,C}_5\text{)Hg}_3\text{X}_2\text{]}^n$

una segunda etapa se observa la formación del enlace C(5)-Hg, por la aparición de un singlete desplazado a campo alto después de la metalación y que, además, muestra satélites  $^{199}\text{Hg-H}(6)$ . La ausencia de los dobletes correspondientes a H(6) y H(5) del anillo de la 1-MeC confirma que, en un tercer paso, la coordinación del mercurio al C(5) de una segunda molécula de citosina ha tenido lugar. Acorde con la existencia de un rotámero cabeza-cabeza en el complejo de Pt y Hg con citosina, solamente se observa un singlete en el espectro de  $^1\text{H}$  RMN de este complejo [23].

### *Reacciones de sustitución al Mercurio*

De la misma manera que para los complejos de 1,3-DimeU y 1-MeC con C(5)-Hg se han realizado reacciones de sustitución de este complejo  $\text{PtHg}_3$  con halógenos y pseudohalógenos. Las reacciones son instantáneas y, de igual manera los átomos donadores trans a la nucleobase afectan a la constante de acoplamiento  $^3J$  del H(6) y Hg.

### *Enlace metálico a las posiciones N3, N4 y C5: un hexágono molecular*

La reacción del complejo bis-citosina-*trans*-diamino de platino(II) con nitrato de mercurio produce un complejo tetranuclear  $\text{PtHg}_3$ , que dimeriza para producir un complejo cíclico octanuclear. Este complejo

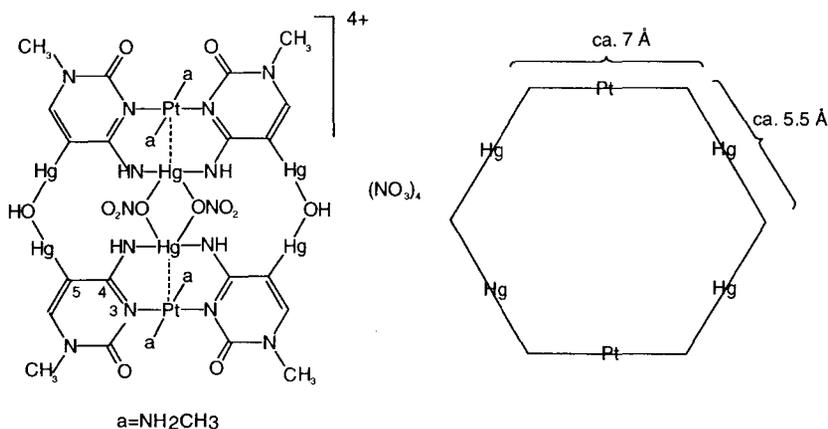


Figura 8. Representación esquemática del complejo octanuclear trans-[(am)<sub>4</sub>Pt<sub>2</sub>(1-MeC<sup>2</sup>-N3,N4,C5)<sub>4</sub>Hg<sub>6</sub>(OH)<sub>2</sub>(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>](NO<sub>3</sub>)<sub>4</sub>

ha sido caracterizado por difracción de rayos X confirmando la formación de una estructura dímica, donde el ligando 1-MeC actúa como tridentado coordinado a través del N(3) al Pt(II) y del N(4) y C(5) al Hg(II) (Figura 8) [23].

La distancia de enlace Hg(II)-C(5) de la 1-MeC es 2.01 Å, acorde con otros compuestos de organomercuriales. El átomo de Hg enlazado al N(4) tiene otros dos enlaces Hg-O (de dos grupos nitratos) mucho más débiles.

### Reacción de Condensación

Se ha demostrado mediante un análisis de la estructura obtenida por rayos X que este compuesto representa un hexágono de dimensiones 7Å (2 lados) y 5.5Å (4 lados), con los seis iones metálicos coplanares formando las caras del hexágono (Figura 8). Cuatro nucleobases y los dos grupos OH representan las esquinas del hexágono. Los Hg enlazados a las posiciones N(4) son también coplanares con los otros seis metales. En principio, es posible reemplazar los dos grupos OH por dos nuevas nucleobases y generar un hexágono molecular con todos los lados de 7 Å de longitud (Figura 9).

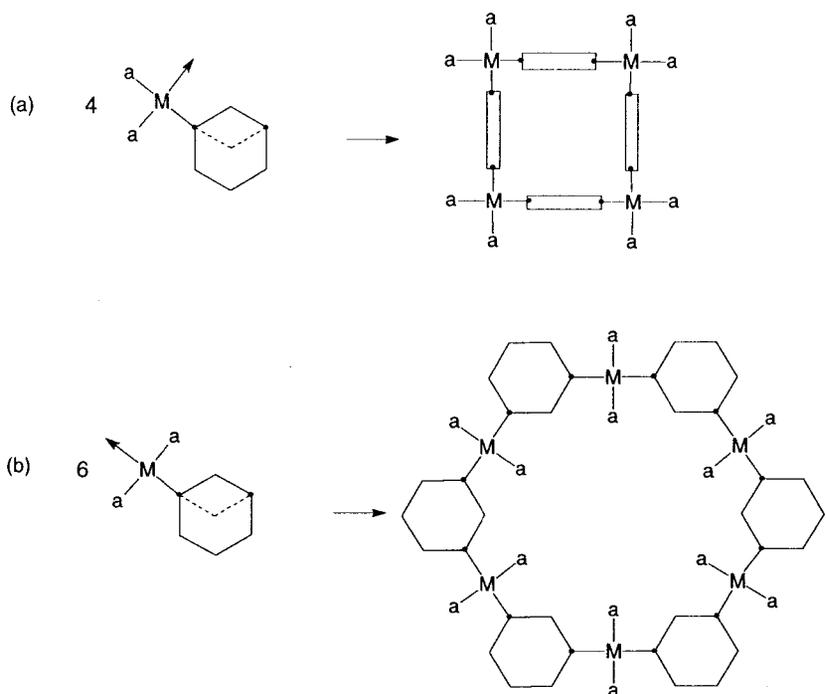


Figura 9. Posibles vías de ciclación N(1),N(3); N(1),C(5), o N(3),C(5) de nucleobases pirimidínicas con *cis*- $a_2M$  (a) y *trans*- $a_2M$  (b)

La formación de hexágonos moleculares similares con nucleobases pirimidínicas es flexible usando cualquiera de las combinaciones metal nucleobase siguientes: N(1),N(3); N(1),C(5), y N(3),C(5).

## CONCLUSIONES

Los iones metálicos no sólo enlazan a los átomos donadores de N y O sino que también lo hacen a los átomos de carbono de los anillos heterocíclicos formando especies organometálicas.

El Hg(II) también desplaza a los protones débilmente ácidos de los grupos amino exocíclicos de las nucleobases.

Con nucleobases pirimidínicas existen posibilidades de múltiple metalación. Estos hallazgos pueden ser interesantes en los estudios de toxicidad de átomos pesados.

Los compuestos de C(5)-Hg pueden ser posibles precursores en la síntesis de nuevos complejos de pirimidinas 5-sustituidas con propiedades antivirales [24, 25].

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen la financiación por parte del programa EC (Human Capital and Mobility y programa ERASMUS) y a la Deutsche Forschungsgemeinschaft. También agradecemos a las siguientes personas por su ayuda en la resolución de las estructuras de rayos X: Dr. M. Sabat, Charlottesville, y E. Freisinger, Dortmund. Y, finalmente, a Elena Flores, Pontificia Universidad Católica del Perú, y al Instituto de Cooperación Iberoamericana por la Beca de Cooperación Interuniversitaria.

## BIBLIOGRAFIA

1. Martin, R.B. 1996. Dichotomy of Metal Ion Binding to N1 and N7 of Purines, *Metal Ions Biol. Syst.*, **32**, 61-89.
2. Lippert, B. 1989. Platinum Nucleobase Chemistry, *Prog. Inorg. Chem.* **37**, 1-97.
3. Reedijk, J. 1996. Improved Understanding in Platinum Antitumor Chemistry, *J. Chem. Soc., Chem. Comm.* 801-806.
4. (a) Lusty, J.R. 1990. *Handbook of Nucleobase Complexes*, Vol. I, CRC Press, Boca Raton.  
(b) Lusty, J.R., Wearden, P., and Moreno, V. 1992. *Handbook of Nucleobase Complexes*, Vol. II, CRC Press, Boca Raton.
5. Dale, R.M.K., Martin, E., Livingston, D.C., and Ward, D.C. 1975. Direct Covalent Mercuriation of Nucleotides and Polynucleotides, *Biochemistry*, **14**, 2447-2457.
6. Frfysteijn, N. A., and Sletten, E. 1994. Interaction of Hg(II) with the DNA Dodecamer (GCGAATTTCGCG), a <sup>1</sup>H- and <sup>15</sup>N-NMR Study, *J. Am. Chem. Soc.*, **116**, 3240-3250.
7. Brown, R.S., Hingerty, B.E., Dewan, J.C., and Klug, A. 1983. Pb(II)-catalysed cleavage of the sugar-phosphate backbone of yeast

- tRNA<sup>phe</sup>- implications for lead toxicity and self-splicing RNA. *Nature*, **303**, 543-546.
8. (a) Comess, K.M., Costello, C.E., and Lippard, S.J. 1990. Identification and Characterization of a Novel Linkage Isomerization in the Reaction of *trans*-Diamminedichloroplatinum(II) with 5'-d(TCTACGCGTTCT). *Biochemistry*, **29**, 2102-2110.  
(b) Dalbies, R., Payet, D., and Leng, M. 1994. DNA double helix promotes a linkage isomerization reaction in *trans*-diamminedichloroplatinum(II)-modified DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **91**, 8147-8151.
  9. Schöllhorn, H., Thewalt, U., and Lippert, B. 1986. Pt(III) Coordination through C5 of 1-Methyluracil: The First Example of a Pt-Nucleobase Complex Containing a Pt-C Bond, *J. Chem. Soc., Chem. Comm.*, 258-260.
  10. Höpp, M., Erxleben, A., Rombeck, I., and Lippert, B. 1996. The Uracil C(5) Position as a Metal Binding Site: Solution and X-ray Crystal Structure Studies of Pt<sup>II</sup> and Hg<sup>II</sup> Compounds, *Inorg. Chem.*, **35**, 397-403.
  11. Zamora, F., Sabat, M., and Lippert, B. 1996. (1,3-Dimethyl-5-yl)mercury(II): Preparative, Structural and NMR Spectroscopic Studies of an Analogue of CH<sub>3</sub>Hg(II). *Inorg. Chem.*, **35**, 4858-4864.
  12. Micklitz, W., Lippert, B., Lianza, F., and Albinati, A. 1994. Simultaneous binding of soft and hard metals to a pyrimidine nucleobase: preparation and X-ray structure of [(en)Pd(1-MeT)<sub>2</sub>Na<sub>2</sub>](NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>H<sub>2</sub>O (1-MeT= 1-methylthymine anion), *Inorg. Chim. Acta*, **227**, 5-10.
  13. (a) Prizant, L., Rivest, R., and Beauchamp, A.L. 1981. Complexes of methylmercury(II) with 1-methylcytosine and crystal structure of m-(1-methylcytosinato-N3,N4)bis(methylmercury(II)) nitrate, *Can. J. Chem.* **59**, 2290-2297.  
(b) Guay, F., and Beauchamp, A.L. 1982. Role of the Carbonyl Groups in the N3-coordinated Thymine Ring. Crystal Structure of (1-Methylthyminato) methylmercury(II) Hemihydrate and its Mixed Compound with Sodium Nitrate, *Inorg. Chim. Acta* **66**, 57-63.
  14. Schöllhorn, H., Thewalt, U., and Lippert, B. 1989. Metal-Stabilized Rare Tauto-mers of Nucleobases. 2. 2-Oxo-4-hydroxo Form of Uracil: Crystal Structures and Solution Behavior of Two Platinum(II) Complexes Containing Iminol Tautomers of 1-Methyluracil, *J. Am. Chem. Soc.*, **111**, 7213-7221.

15. Krizanovic, O., Sabat, M., Beyerle-Pfnür, R., and Lippert, B. 1993. Metal-Modified Nucleobase Pairs: Mixed Adenine, Thymine Complexes of *trans*-a<sub>2</sub>Pt<sup>II</sup> (a= NH<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub>NH<sub>2</sub>) with Watson-Crick and Hoogsteen Orientations of the Bases. *J. Am. Chem. Soc.*, **115**, 5538-5548.
16. Guay, F., and Beauchamp, A.L. 1985. Preparation, Infrared Spectra, and Crystal Structure of Two Modifications of the (thymidinato-*N3*)methylmercury(II). *Can. J. Chem.* **63**, 3456-3463.
17. Zamora, F., Kunsman, M., Sabat, M., and Lippert, B. 1997. Metal-Stabilized Rare Tautomers of Nucleobases. 6. Imino Tautomer of Adenine in a Mixed Nucleobase Complex of Hg(II). *Inorg. Chem.*, **36**, 1583-1587.
18. Mealli, C., Pichierri, F., Randaccio, L., Zangrando, E., Krumm, M., Holthenrich, D., and Lippert, B. 1995. Theoretical Aspects of the Heteronuclear Dimers with the *T over Square* Structural Motif. Synthesis and Structure of a Heteronuclear Platinum and Palladium Complex with 1-Methylcytosinato Bridging Ligands. *Inorg. Chem.*, **34**, 3418-3424.
19. Krumm, M., Zangrando, E., Randaccio, L., Menzer, S., and Lippert, B. 1993. Strong Metal-Metal Bonds between of *trans*-(amine)<sub>2</sub>Pt<sup>II</sup> and -Pd<sup>II</sup> in Heteronuclear Complexes of Cytosine Nucleobases: Preparation, X-ray Structures, and NMR Spectroscopy. *Inorg. Chem.*, **32**, 700-712.
20. Fusch, G., Fusch, E.C., Erxleben, A., Hüttermann, J., Scholl, H., and Lippert, B. 1996. Heteronuclear m-1-methylcytosinato, *N3,N4* complexes containing very short Pt→Cu dative bonds, *Inorg. Chim. Acta*, in press.
21. Krumm, M., Zangrando, E., Randaccio, L., Menzer, S., Danzmann, A., Holthenrich, D., and Lippert, B. 1993. Mixed Platinum(II)-Mercury(II) Cytosine Nucleobase Complexes with Metal-Metal Bonds, *Inorg. Chem.*, **32**, 2183-2189.
22. Holthenrich, D., Krumm, M., Zangrando, E., Pichierri, F., Randaccio, L., and Lippert, B. 1995, Cytosine Nucleobase as a Tridentate Ligand: Metal Binding to N(3), N(4) and O(4) in *trans*-(NH<sub>2</sub>Me)<sub>2</sub>Pt(dmcyt)<sub>2</sub>Ag<sub>2</sub>[[NO<sub>3</sub>]<sub>2</sub>] (dmcyt=1,5-dimethylcytosinate). *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* 3275-3279.
23. Rauter, H., Mutikainen, I., Blomberg, M., Lock, C.J.L., Amo-Ochoa, P., Freisinger, E., Randaccio, L., Zangrando, E., Chiarparin, E., y Lippert, B. 1997. Cyclic Metal Complexes of Nucleobases and

Other Heterocycles: Molecular Boxes, Rectangles, and Hexagons. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **36**, 1296-1299.

24. Bergstrom, D.E., Ruth, J.L., and Warwick, P. 1981. C5-Substituted Pyrimidine Nucleosides. 3. Reaction of Allylic Chlorides, Alcohols, and Acetates with Pyrimidine Nucleoside Derived Organopalladium Intermediates. *J. Org. Chem.*, **46**, 1432-1441.
25. De Clercq, E. (1985) in *Approaches to Antiviral Agents*, M.R. Hamden ed., VCH, Great Britain.