



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS
QUÍMICAS

“ESTUDIO DE LA INTERACCIÓN ENTRE PELÍCULAS DE PORFIRINA Y
NUCLEÓSIDOS”

TESIS

Para optar por el grado de

MAESTRA EN CIENCIAS

Presenta

Q. ESTEFANÍA GUADALUPE VERA ALVIZAR

Tutor: Dra. Margarita Rivera Hernández

Instituto de Física

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX, MARZO DEL 2021



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS
QUÍMICAS

“ESTUDIO DE LA INTERACCIÓN ENTRE PELÍCULAS DE PORFIRINA Y
NUCLEÓSIDOS”

TESIS

Para optar por el grado de

MAESTRA EN CIENCIAS

Presenta

Q. ESTEFANÍA GUADALUPE VERA ALVIZAR

Ciudad Universitaria, Cd. Mx., marzo 2021



Jurado Asignado

Presidente	Dra. Sandra Elizabeth Rodil Posada	Instituto de Inv. en Materiales, UNAM
Vocal	Dr. Jesús Ángel Arenas Alatorre	Instituto de Física, UNAM
Vocal	Dr. Ernesto Rivera García	Instituto de Inv. en Materiales, UNAM
Vocal	Dra. Rosa María Gómez Espinosa	UAE México
Secretario	Dr. Héctor García Ortega	Facultad de Química, UNAM

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

Instituto de Física

Departamento de Materia Condensada

Laboratorio 104, Electrónica Molecular, Edificio LEMA

Asesor del tema: Dra. Margarita Rivera Hernández

Sustentante: Q. Estefanía Guadalupe Vera Alvizar

Agradecimientos

Al Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Químicas de la Universidad Nacional Autónoma de México-UNAM

A la Dra. Margarita Rivera Hernández por brindarme la oportunidad de desarrollar este proyecto y guiarme durante el proceso.

Agradezco al CONACyT por la beca otorgada, con número de CVU 957659, durante los estudios de maestría.

Se agradece al laboratorio central de microscopía del IFUNAM por el uso de los microscopios óptico, electrónico de barrido y de fuerza atómica. En particular, al Dr. Carlos Magaña por la adquisición de las imágenes de SEM. Al Mtro. Manuel Aguilar por el apoyo con el equipo de fuerza atómica, y al Arq. Diego Quiterio por su ayuda en la preparación de muestras.

Se agradece al proyecto DGAPA-PAPIIT IN108017 e IN112420, por el apoyo en la compra de materiales y consumibles.

Se agradece al proyecto LANCAD-UNAM-DGTIC-289, por el apoyo de los recursos en la supercomputadora Miztli de la UNAM para los cálculos DFT.

Se agradece a las Dra. Ma. del Pilar Carreón Castro y Dra. Violeta Álvarez por el apoyo en la obtención de los espectros de UV-Vis e IR en el Instituto de Ciencias Nucleares de la UNAM.

Se agradece al M. en C. Jesús M. Rivera Cruz por su apoyo en el laboratorio de electrónica molecular, así como al Sr. Arturo Martínez.

Resumen

Este proyecto tuvo por objetivo estudiar las interacciones entre películas de porfirinas con disoluciones de nucleósidos presentes en el ARN tales como guanosina, adenosina, citidina y uridina. La cantidad de nucleósido adsorbido, así como los cambios morfológicos, espectroscópicos y de conductividad eléctrica de las películas fueron analizados para evaluar la influencia de la estructura molecular de la porfirina en el fenómeno de adsorción.

En este estudio, se emplearon dos porfirinas de similar estructura química (2,3,7,8,12,13,17,18-octaetil-21H,23H-porfirina) con sustituyentes alifáticos en las posiciones β , pero una libre de metal y otra coordinada a un centro metálico de manganeso(III). Para la fabricación de las películas se empleó la técnica de evaporación física en fase vapor sobre diferentes sustratos. Los estudios de caracterización se realizaron en todos los casos antes y después de la inmersión de las películas en las soluciones de nucleósidos para su comparación. Después de la exposición, se observó que las bases púricas presentaron mayor adsorción en las películas de porfirina sin metal (PP), mientras que para las películas de porfirina coordinadas a manganeso (PPMn), las bases pirimidínicas se adsorbieron en mayor cantidad. Adicionalmente, se determinó que las películas de porfirina con centro metálico adsorbieron más nucleósidos que las películas sin metal. Para cuantificar la cantidad de nucleósido adsorbido sobre las películas de porfirina, se obtuvieron curvas de calibración empleando la técnica de UV-Vis y la Ley de Beer-Lambert para los diferentes nucleósidos en disolución.

Las diferencias morfológicas de las superficies se estudiaron empleando microscopía electrónica de barrido y de fuerza atómica, las cuales mostraron cambios que sugieren la adsorción y agregación de nucleósidos en las interfases. Empleando espectroscopia IR, se analizaron las diferencias en las señales características de las porfirinas. Los resultados mostraron que después de la interacción hay diferencias en la intensidad de las señales y aparición de nuevas señales, lo cual sugieren un fenómeno de adsorción.

En los resultados obtenidos con espectroscopía UV-Vis se observó que los picos característicos de la porfirina (tanto para la porfirina con centro metálico como la libre de metal), conocidos como banda de Soret y bandas Q, sufren ligeros corrimientos y diferencias en la intensidad de la señal después de la interacción con los nucleósidos. Dichos cambios indican la formación de enlaces de coordinación entre el Mn y los grupos electrodonadores en los nucleósidos, específicamente con la adenosina y la citidina, así como la presencia de interacciones de tipo $\pi - \pi$ tanto para PP como para PPMn.

La respuesta eléctrica de las películas fue cuantificada usando un arreglo de dos puntas. Para este estudio, las películas se depositaron sobre sustratos de vidrio cubierto con películas de óxido de indio y estaño (ITO). Las curvas de conductividad eléctrica de las diversas superficies mostraron una reducción de la corriente con respecto al ITO limpio en todos los casos debido al depósito de las películas. Como era de esperar, las películas de porfirina con centro metálico fueron más conductoras que las películas sin metal, posiblemente debido a un mejor arreglo molecular en concordancia con resultados morfológicos. Más aún, las PPMn después de la interacción con

los nucleósidos, mostraron un cambio discernible que mostró una mejor respuesta eléctrica para las bases púricas.

Finalmente, se realizaron cálculos DFT para estudiar la interacción entre las porfirinas y los nucleósidos, y se observaron mayores energías de enlace en el caso de las bases púricas de acuerdo con los resultados experimentales.

De los estudios anteriores, se puede observar que hay interacciones importantes entre las porfirinas y los nucleósidos que van más allá de una simple adsorción física, que permitiría usar porfirinas en forma de películas delgadas como elementos de reconocimiento para estos sistemas.

Índice general

1. Introducción	10
1.1. Sistemas de detección	10
1.1.1. Diseño de sensores	12
1.2. Películas Delgadas	14
1.2.1. Evaporación térmica	15
1.3. Porphirinas	16
1.3.1. Propiedades de las porfirinas	17
1.3.2. Metaloporphirinas	20
1.3.3. Agregación de porfirinas	21
1.4. Ácidos Nucleicos	22
2. Antecedentes	24
2.1. Sistemas de detección selectivos a ácidos nucleicos	24
2.2. Interacción entre porfirinas y ácidos nucleicos	25
2.3. Porphirinas como elementos de reconocimiento	27
3. Hipótesis y Objetivos	29
3.1. Hipótesis	29
3.2. Objetivo general	29
3.3. Objetivos particulares	29
4. Metodología	30
4.1. Materiales empleados	30
4.1.1. Compuestos utilizados	30
4.1.2. Sustratos empleados	30
4.2. Formación de Películas	31
4.2.1. Evaporación térmica	32
4.3. Pruebas de interacción	32
4.4. Métodos de caracterización	32
4.4.1. Caracterización morfológica	32
4.4.2. Propiedades espectroscópicas	34
4.4.3. Pruebas de conductividad	35
4.4.4. Cálculos DFT	35
4.5. Cuantificación	35
5. Resultados y Análisis	37
5.1. Cantidad de nucleósidos adsorbidos	37
5.2. Morfología de las películas	38
5.2.1. SEM	38
5.2.2. AFM	43

5.3. Cambios espectroscópicos	46
5.3.1. Espectros IR	46
5.3.2. Espectros UV-Vis	55
5.4. Pruebas de conductividad	63
5.5. Análisis de los cálculos DFT	65
6. Conclusiones	68
A. Curvas de calibración y cuantificación	70
A.1. Interacción con PP	70
A.2. Interacción con PPMn	72
B. Gráficas de conductividad	75
B.1. Gráfica de conductividad obtenida para el ITO	75
B.2. Gráficas obtenidas para PP	76
B.3. Gráficas obtenidas para PPMn	77
Bibliografía	77

Capítulo 1

Introducción

En los últimos años, el creciente interés en la salud humana y las necesidades sociales en relación a la prevención de enfermedades nos ha llevado al desarrollo e investigación de diversas tecnologías que permitan identificar diferentes padecimientos de forma rápida, temprana y económica. [1] En este sentido, los ácidos nucleicos, así como otros derivados nucleóticos, se han convertido en objetivos de estudio importantes, ya que la expresión anormal de algunos de éstos puede relacionarse con diversas enfermedades. [2]

Para abordar esta problemática se estudian una gran variedad de materiales para su posible aplicación como elementos de detección selectivos a moléculas de importancia biológica. Entre ellos podemos destacar nanopartículas metálicas, compuestos derivados del carbono, y algunas moléculas orgánicas como las porfirinas, entre otras.

Las porfirinas son un grupo de macrociclos orgánicos que presentan propiedades eléctricas, espectroscópicas y químicas excepcionales, por la cual, tienen aplicaciones en el desarrollo de arreglos optoelectrónicos y sensores químicos y biológicos, entre muchos otros. [3]

1.1. Sistemas de detección

De manera particular, un sensor hace referencia a una serie de elementos, o detectores, que miden alguna propiedad física o química, y registran una respuesta ante el elemento a detectar. [4] Los sensores se pueden dividir en dos grandes grupos: sensores físicos y sensores químicos.

Los sensores físicos son aquellos que miden alguna propiedad física como temperatura, presión, longitud, etcétera. [4] Por otro lado, los sensores químicos son elementos que transforman información química, como cambios en composición o estructura química, en señales analíticas en tiempo real. Para estos últimos, el proceso de señalización resulta de la interacción directa entre el sensor y alguna especie química. [5,6] Muchos de los equipos que se usan en los laboratorios, como el HPLC, pueden ser considerados sensores químicos. Sin embargo, este término está reservado para equipos más versátiles y económicos.

Actualmente, el diseño y desarrollo de sensores químicos ha adquirido mucha popularidad, ya que se ha visto que pueden ser útiles en diferentes ámbitos como son la medicina, la industria alimenticia, la agricultura, investigación ambiental, entre otras. Lo anterior, aunado al desarrollo de la nanotecnología y de los procesos de miniaturización, permiten la posibilidad de fabricar dispositivos muy pequeños y económicos en comparación con los utilizados convencionalmente. Con base en lo anterior, este ámbito representa un área de investigación bastante importante.

Los sensores químicos se componen de dos unidades principales: el receptor, o elemento de

detección, y el transductor (figura 1.1). [7] El receptor es cualquier entidad química capaz de interactuar con el analito, y el transductor es el que se encarga de traducir esta interacción en una cantidad física. [8] Los biosensores son un tipo especial de sensor en donde el receptor es una biomolécula. [7]

Ya que conocemos que es un sensor y las partes que lo componen, podemos definir un sistema de detección como un arreglo previo a un sensor, el cual ya cuenta con un receptor y es capaz de sufrir cambios frente a algún estímulo, aun cuando no cuentan con toda la instrumentación electrónica necesaria para ser considerado un sensor o detector comercial.

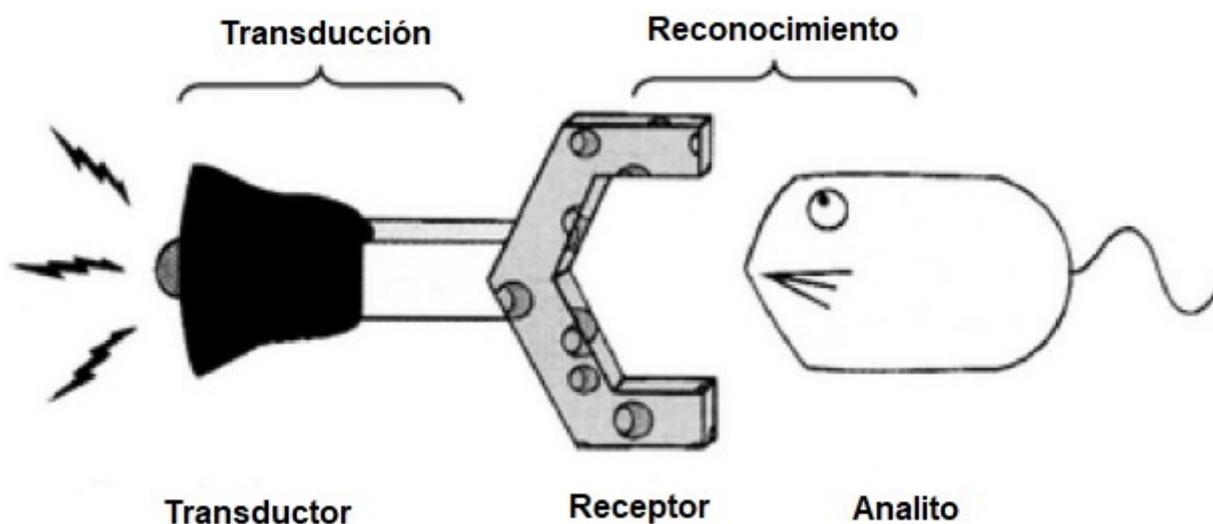


Figura 1.1: Partes que componen un sensor. [8]

La clasificación de los sensores químicos está dada principalmente por el tipo de transductor que éstos tengan. En la tabla siguiente, se muestra un resumen de los principales tipos de transductores presentes en los sensores, junto con una breve descripción de su funcionamiento.

Tabla 1.1: Tipos de transductores

Tipo de transductor	Funcionamiento
Óptico	Transforma la señal óptica producida por la interacción del analito con el receptor.
Eléctrico	La señal se produce debido al cambio en las propiedades eléctricas por la interacción con el analito.
Electroquímica	Las reacciones químicas entre el receptor y el analito son transformadas en señales eléctricas.
Piezoeléctricos	La señal se genera por cambios de presión o fuerzas sobre una superficie con propiedades piezoeléctricas.
Termométricos	Mide los cambios de calor producidos por reacciones químicas o procesos de adsorción donde esté involucrado el analito.

1.1.1. Diseño de sensores

Para diseñar un sensor químico, las primeras consideraciones que se tienen que tomar en cuenta son el analito que se desea medir, y sus propiedades químicas. Una vez definidos estos parámetros, hay que tomar en cuenta que un buen sensor químico debería de cumplir con las siguientes características: selectividad, límites de detección bajos, reversibilidad, robustes, portabilidad y facilidad de uso. [9] Con estos parámetros en mente, la selección del receptor y el transductor se facilita.

Existen diferentes arquitecturas que los sensores pueden tener, pero los modelos más comunes los podemos observar en la figura 1.2. Por otro lado, aunque la detección puede llevarse a cabo en cualquier tipo de sistema, el uso de elementos en estado sólido, en particular películas delgadas, facilita su uso y manipulación, por lo que nos vamos a enfocar en este caso particular. Así entonces, en el tipo 1, el proceso de reconocimiento implica la absorción del analito en la película sensible, mientras que en el tipo 2, este proceso es meramente superficial y ésta relacionado con la afinidad del analito a la superficie del receptor. [10]

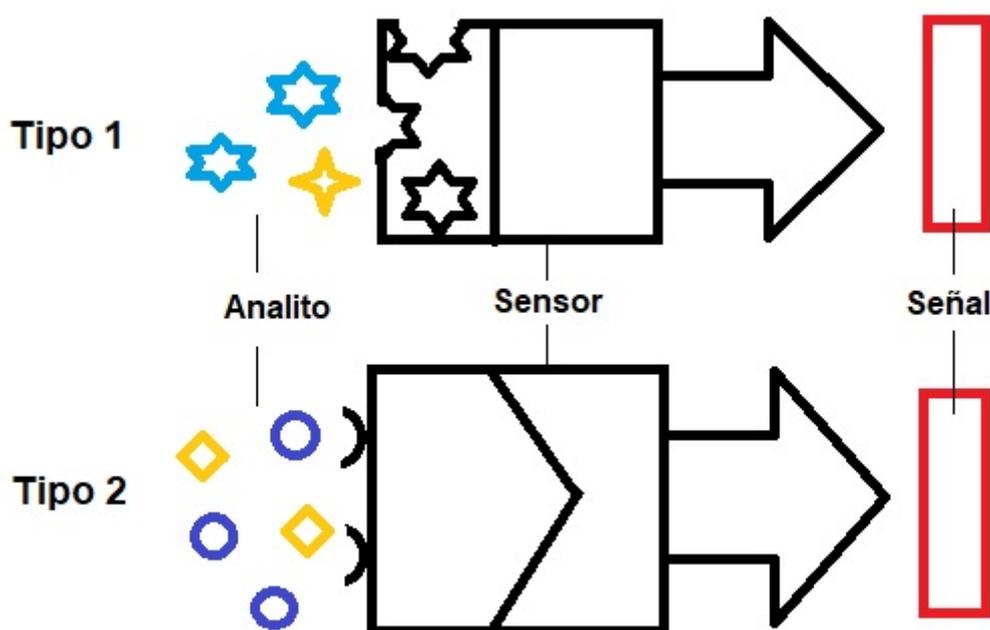


Figura 1.2: Tipos de sensores.

Escoger el receptor es el paso más importante durante el diseño de un sensor, ya que impacta directamente en la eficiencia del mismo. El proceso de reconocimiento entre el receptor (R) y el analito (A) se lleva a cabo conforme la reacción 1.1:



La reversibilidad del proceso anterior indica que el complejo P se forma por interacciones no covalentes. [4, 8] En la tabla 1.2 se mencionan algunas de las interacciones no covalente presentes en este tipo de sistemas. Para que el complejo P se forme, el receptor y el analito deben de complementarse en forma y reactividad química. [8] Por ejemplo, ciertos compuestos macrocíclicos alojan iones metálicos específicos en base a su radio iónico (figura 1.3). [10] Así mismo, este tipo de complementariedad es muy común observarla en sistemas biológicos,

por ejemplo, la estructura de doble hélice del ADN se forma por los puentes de hidrógeno complementarios de las dos hebras.

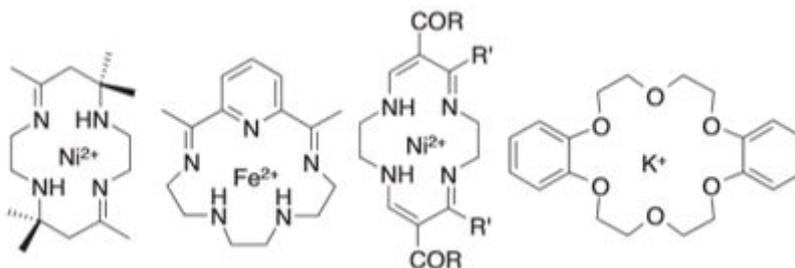


Figura 1.3: Complejos macrocíclicos.

Tabla 1.2: Interacciones no covalentes

Interacción	Fuerza (kJ/mol)
Ión-ión	200-300
Ión-dipolo	50-200
Dipolo-dipolo	5-50
Puente de hidrógeno	4-120
Catión- π	5-80
π - π	0-50
Van der Waals	>5
Efecto hidrofóbico	Efecto causado por las propiedades del disolvente

Los materiales empleados como receptores son de naturaleza muy diversa, que van desde biomoléculas y polímeros con estructuras muy complejas, hasta moléculas de bajo peso molecular. En años recientes, el uso de macrociclos tipo porfirinas, ciclodextrinas, calixarenos, curcubituriles y cavitandos (figura 1.4) como receptores, han atraído el interés de diferentes grupos de investigación. Se sabe, que este tipo de moléculas tienen excelentes propiedades de reconocimiento, son químicamente estables, y están disponibles con una alta pureza, [11] características que receptores como las biomoléculas no siempre pueden cumplir.

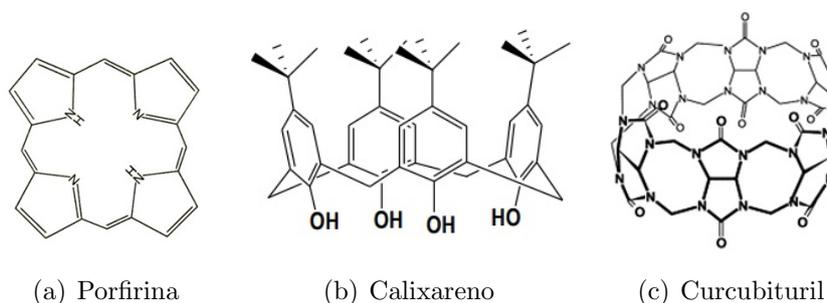


Figura 1.4: Ejemplos de receptores macrocíclicos

Métodos en la manufactura de sensores químicos

Como ya se mencionó, uno de los grandes retos en la manufactura de los sensores químicos es la conexión del receptor con el resto del complejo electrónico sin comprometer el sitio de reconocimiento. Las metodologías que se han propuesto implican procesos como adsorción física

(figura 1.5(a)), unión covalente (figura 1.5(b)), entrecruzamiento (figura 1.5(c)) y atrapamiento polimérico (figura 1.5(d)). [8]

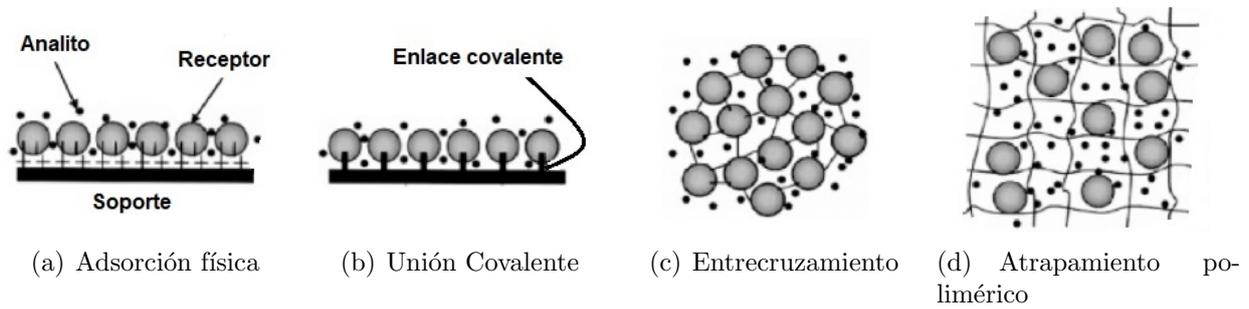


Figura 1.5: Métodos para construir una película sensible [8]

El proceso de adsorción física implica la unión de moléculas o átomos a una superficie a través de interacciones no covalentes. [12] Bajo condiciones específicas, la exposición prolongada de cualquier especie química a una superficie limpia da como resultado la formación de una película de la especie sobre dicha superficie. La película formada puede estar constituida por solo una capa de moléculas o átomos (monocapa), o por múltiples capas (multicapa). Dichos procesos están descritos por las isothermas de Langmuir y de BET, respectivamente, (figura 1.6).

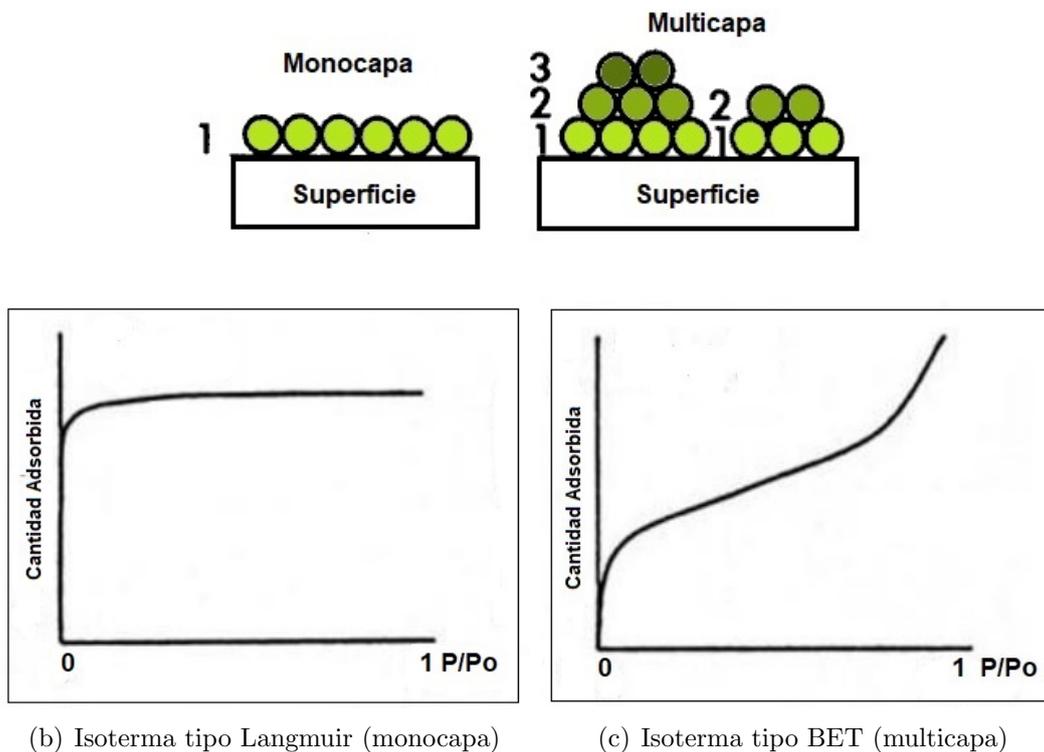


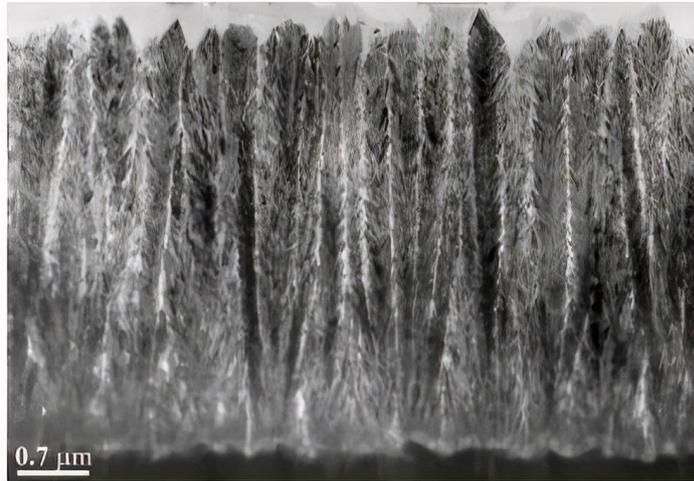
Figura 1.6: Adsorción física en arreglos mono y multicapa, y sus isothermas de adsorción correspondientes

1.2. Películas Delgadas

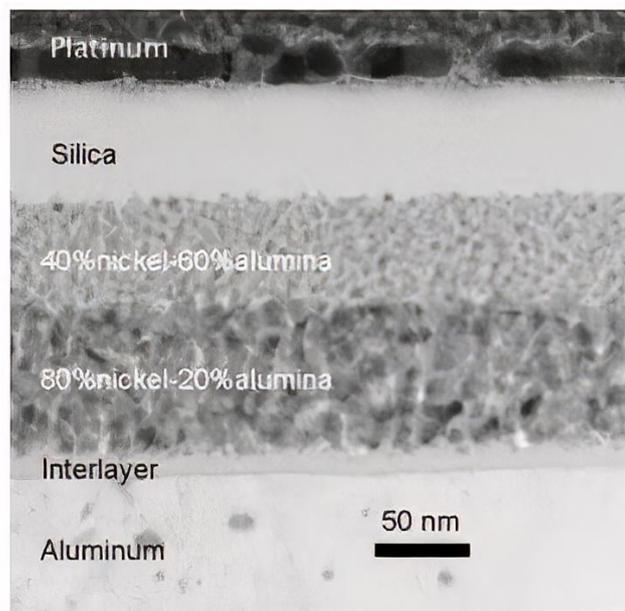
Las películas delgadas pueden encontrarse como arreglos con espesores de milímetros, micras o nanómetros. Estas últimas, son materiales en 2D, las cuales se caracterizan por tener un grosor

entre 1 nm a 100 nm. Su preparación consiste en el depósito de una ligera capa de material sobre un sustrato (figura 1.7). Actualmente, existe una gran variedad de tecnologías para formar películas delgadas, las cuales se pueden dividir en dos grandes grupos como técnicas basadas en vacío, y técnicas no basadas en vacío. [13] Las características de la especie química a depositar y del sustrato van a determinar que método se va a emplear para hacer el depósito.

En esta tesis, nos enfocaremos en el método de evaporación térmica que fue el empleado para la fabricación de las películas.



(a) Monocapa pura de TiO_2



(b) Arreglo multicapa

Figura 1.7: Imágenes de microscopía electrónica de barrido de la sección transversal de diferentes tipos de películas delgadas. [13]

1.2.1. Evaporación térmica

La evaporación térmica es una técnica de preparación de películas delgadas que está clasificado dentro de los procesos de depósito físico en fase vapor o PVD (por sus siglas en inglés). En la

PVD, las partículas o moléculas que van a formar la película delgada pasan a su estado gaseoso por un proceso físico, y son depositadas sobre un sustrato dentro de una cámara de vacío con presiones cercanas o por debajo a 10^{-1} mbar. [14]

Los procesos de evaporación son extensamente conocidos, y se utilizan tanto en investigación como a nivel industrial, ya que esta técnica es adecuada para depositar películas de ciertos elementos químicos o moléculas. [13]

El proceso de evaporación térmica más antiguo y simple consiste en utilizar un bote o alambre de algún metal refractario (tungsteno, tantalum o molibdeno) para realizar la evaporación. En estos elementos se coloca el material a depositar, y posteriormente, se hace pasar una corriente eléctrica. Bajo estas condiciones, el metal se calienta, y la evaporación se logra por la transferencia de calor entre el bote y el material a evaporar. La figura 1.8 representa esquemáticamente el arreglo para llevar a cabo este procedimiento. El depósito se hace generalmente en valores de vacío alrededor de los 10^{-5} Torr. Este método funciona bien para materiales con puntos de evaporación relativamente bajos. [14]

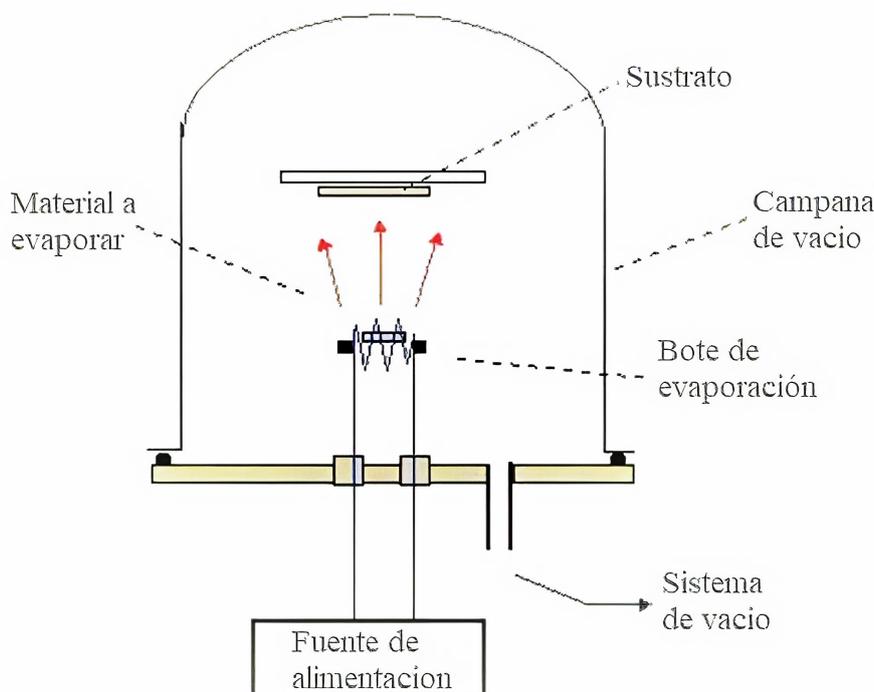


Figura 1.8: Evaporación térmica. [15]

Finalmente, las propiedades fisicoquímicas de las películas formadas van a depender del sustrato, del material depositado, y de factores relacionados con el depósito como velocidad de depósito, temperatura y presión de vacío, principalmente.

1.3. Porphirinas

Las porfirinas son un grupo de moléculas orgánicas que contienen en su estructura un macrociclo conformado por anillos de pirrol, los cuales están conectados por medio de un grupo metina. La estructura más simple que cumple estas características es un anillo tetrapirrolítico (figura 1.9), del cual las posiciones meso- y β - se pueden funcionalizar, mientras que los nitrógenos al centro de la porfirina en condiciones específicas, forman enlaces de coordinación con iones metálicos. A las porfirinas que en su centro tienen un ion metálico se les conoce como metaloporfirinas.

Tanto las porfirinas como las metaloporfirinas las podemos encontrar de forma natural, como es el caso de la clorofila y la hemoglobina (figura 1.10), y de forma sintética. [16] La síntesis de porfirinas actualmente tiene un sin número de metodologías que hacen posible obtener un gran número de derivados tetrapirrolíticos con características distintas entre sí.

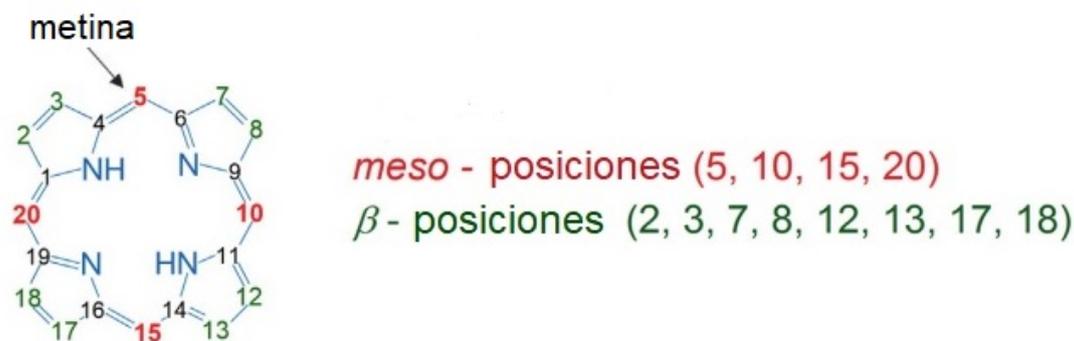


Figura 1.9: Estructura de las porfirinas. [17]

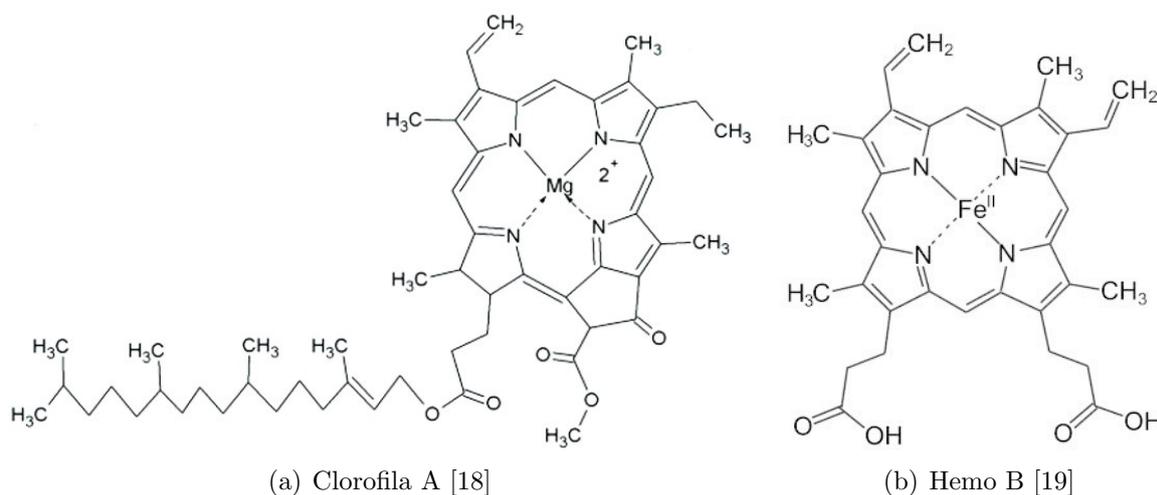


Figura 1.10: Porphirinas presentes en los seres vivos.

En la naturaleza, las porfirinas juegan un papel importante en el funcionamiento de los sistemas vivos, ya que participan en diversos procesos biológicos como son el intercambio de gases esenciales y el paso fotoquímico inicial de la fotosíntesis, entre otros. [20] Debido a su importancia biológica y sus funciones en los organismos vivos, se ha impulsado el estudio y síntesis de nuevas porfirinas para conocer sus propiedades, y poder usarlas en otros ámbitos. Estudios recientes han demostrado que tanto las porfirinas como sus complejos metálicos, pueden tener aplicaciones prometedoras en áreas relacionadas a la ciencia de superficies incluyendo catálisis heterogénea, electrocatálisis, sensores, electrónicos orgánicos, sistemas de almacenamiento de energía, etcétera. [17]

1.3.1. Propiedades de las porfirinas

Las porfirinas son sistemas aromáticos, ya que el anillo tetrapirrolítico forma una estructura plana con dobles enlaces conjugados. Las porfirinas cuentan con 22 electrones π , pero solamente 18 de éstos participan en la aromaticidad (figura 1.11), no obstante, el macrociclo cumple con la regla de Hückel. La estructura electrónica de estas moléculas determina las propiedades

espectroscópicas de transferencia de carga y químicas, entre otras. [21] La planaridad de las porfirinas se deforma en proceso de metalación, protonación y dimerización (figura 1.12), [22] lo que modifica el ambiente electrónico de la porfirina, y por tanto, sus propiedades físicas y químicas.

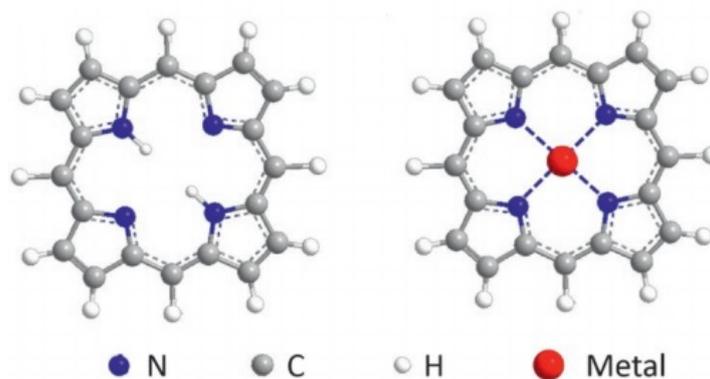


Figura 1.11: Estructura tridimensional de las porfirinas. La línea punteada alrededor del macrociclo, indica la deslocalización de los 18 e⁻. [16]

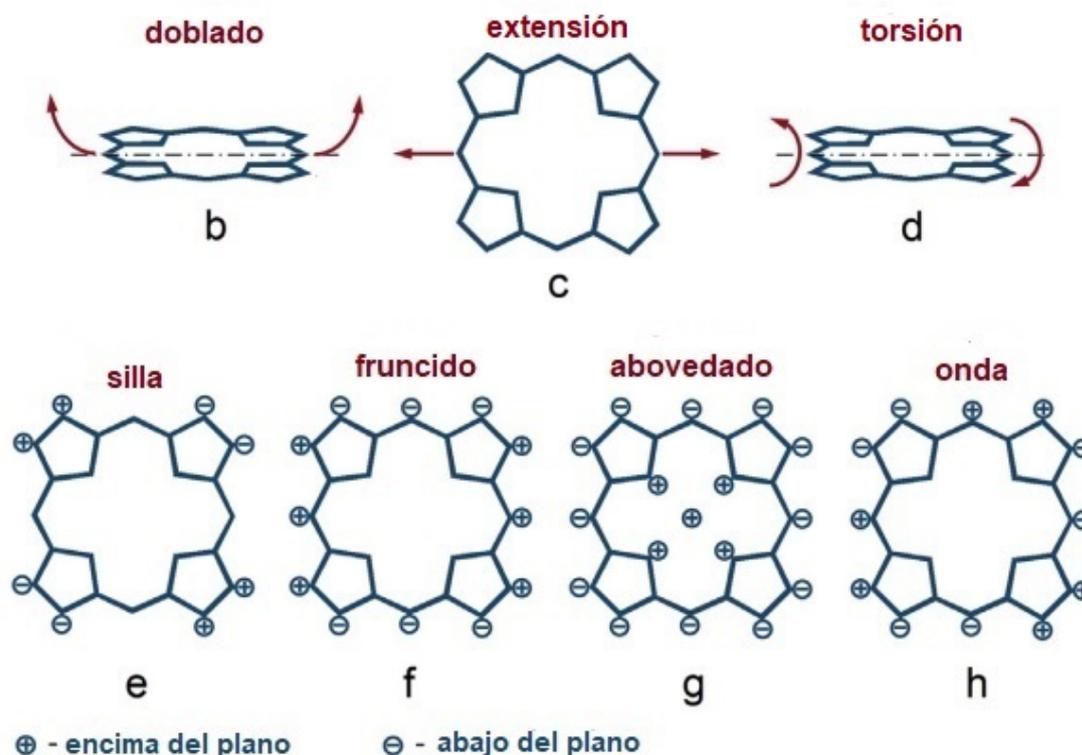


Figura 1.12: Distorsiones que puede sufrir un anillo porfirínico, siendo las más comunes e-h. [17]

Debido a su alta conjugación, las porfirinas presentan colores muy intensos y tienen un espectro UV-Vis característico inconfundible, el cual consta de dos regiones: una en el ultravioleta cercano y otra en el visible. La primera región se encuentra entre los 380-500 nm, y generalmente presenta una sola señal muy intensa que se conoce con el nombre de banda de Soret o banda

B. La segunda región está entre los 500-700 nm, en la cual podemos observar señales menos intensas que se les denomina bandas Q (figura 1.13). [23]

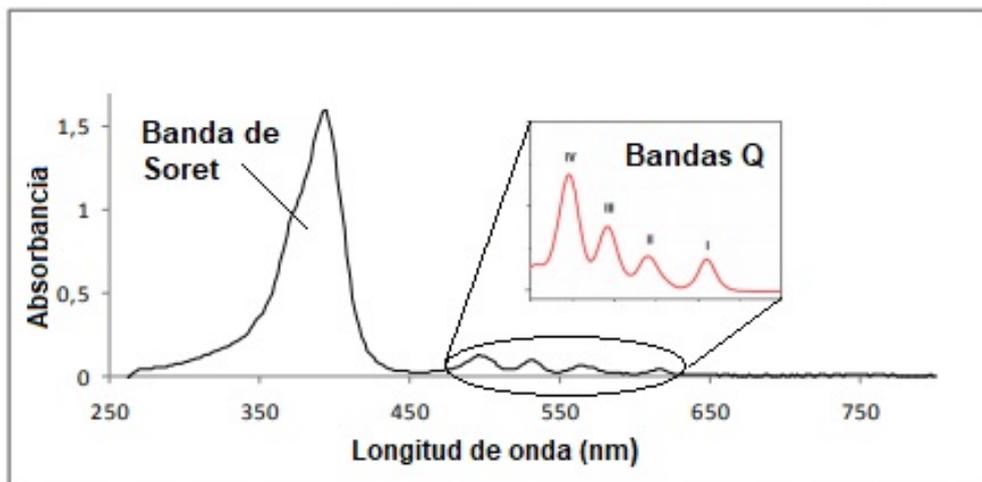


Figura 1.13: Espectro UV-Vis característico de una porfirina sin metal. [23]

El modelo más empleado para explicar los espectros de las porfirinas es el de cuatro orbitales propuesto por Gouterman en los 60s, en el cual se considera que los estados excitados se originan por transiciones entre dos orbitales π (HOMO y HOMO-1) y dos orbitales π^* (LUMO y LUMO+1). Los cálculos pertinentes para este modelo concluyen con un sistema de orbitales a_{1u} , a_{2u} (HOMOs) y un conjunto de orbitales e_g (LUMOs). [23,24] En la figura 1.14, podemos observar las transiciones que dan origen a la banda de Soret y a las bandas Q.

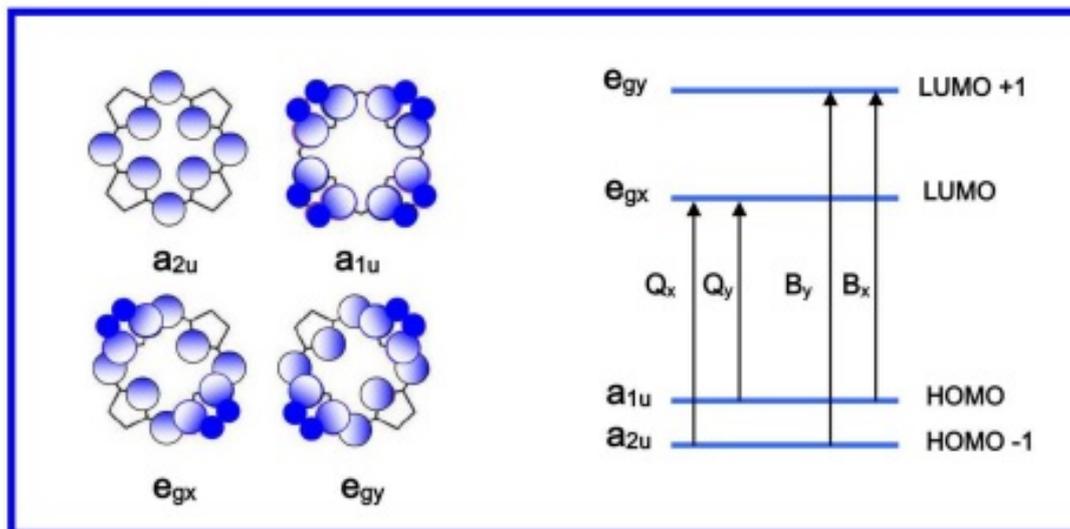


Figura 1.14: Modelo de 4 orbitales. [23]

Las porfirinas tienden a formar asociaciones no covalentes con moléculas que presentan una estructura conveniente. [22] Estas interacciones no covalentes modifican las propiedades espectroscópicas de las porfirinas, lo que hace posible un monitoreo del proceso de unión mediante estos métodos. [25]

1.3.2. Metaloporfirinas

Las porfirinas forman complejos metálicos con la mayoría de los metales en la tabla periódica y dependiendo del tamaño, estado de oxidación y multiplicidad del ion metálico es la geometría que éstas adoptarán (figura 1.15). [21] La cavidad de la porfirina puede albergar cómodamente cationes metálicos con un radio entre 55-80 pm, formando así una metaloporfirina regular (figura 1.16(a)). Cationes más grandes forman metaloporfirinas conocidas como "sitting-atop" (SAT) en donde el catión metálico está por encima del plano de la porfirina (figura 1.16(b)). [23]

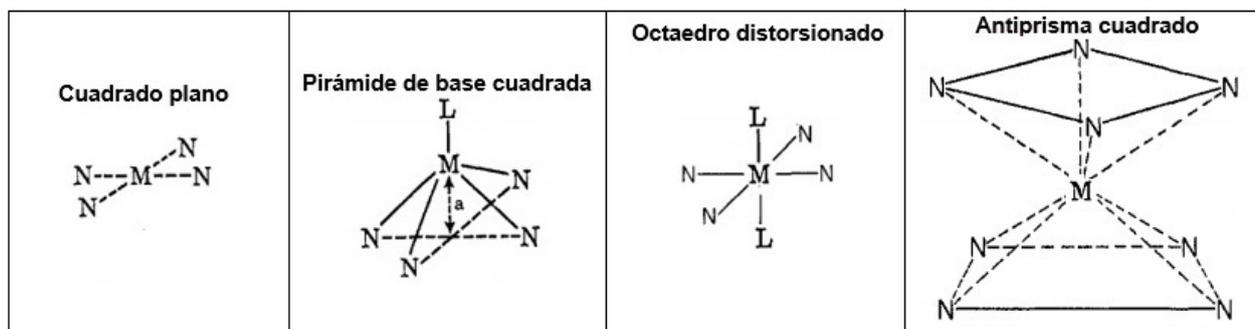


Figura 1.15: Geometrías que pueden adoptar las metaloporfirinas dependiendo de su tipo de centro metálico. [21]

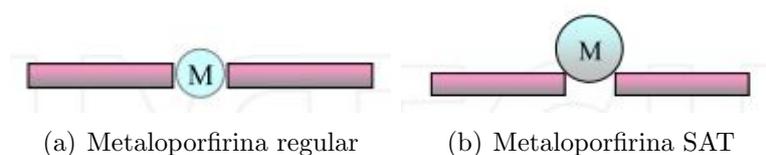


Figura 1.16: Representación esquemática de metaloporfirinas regulares y SAT. [23]

Dependiendo de sus propiedades de absorción y emisión, las metaloporfirinas se pueden clasificar en dos grupos: regulares e irregulares. El espectro UV-Vis de las metaloporfirinas regulares presenta una reducción en el número de bandas Q, a las cuales se les denomina como α y β . [26] La intensidad de estas bandas se relaciona con la estabilidad del complejo metálico. Cuando $\alpha > \beta$, el metal forma un cuadrado plano estable con la porfirina, pero cuando $\beta > \alpha$, el metal es fácilmente desplazado por los protones (figura 1.17). [27]

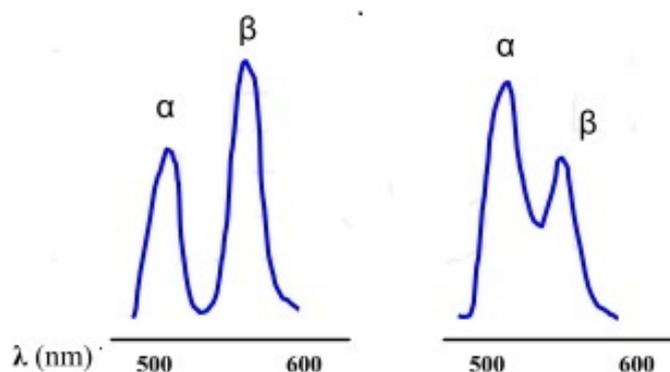


Figura 1.17: Tipos de Bandas Q en las metaloporfirinas. [23]

1.3.3. Agregación de porfirinas

La agregación de porfirinas depende en gran medida de los grupos periféricos que éstas tengan. Investigaciones recientes sobre sustratos metálicos sugieren que la primera capa de porfirinas se adsorben preferentemente con el macrociclo paralelo a la superficie. [28] Aunque, esta adsorción no siempre es igual. Las tetrafenilporfirinas (TPP) no son planas debido a repulsiones estéricas, pero al entrar en contacto con una superficie, fuerzas atractivas de tipo Van der Waals fuerzan a la molécula a tomar una conformación de silla (figura 1.18). [20] Por otro lado, moléculas como las octaetilporfirinas tienen gran flexibilidad conformacional, por lo cual no presentan deformación estructural inducida al adsorberse sobre alguna superficie sólida. [28]

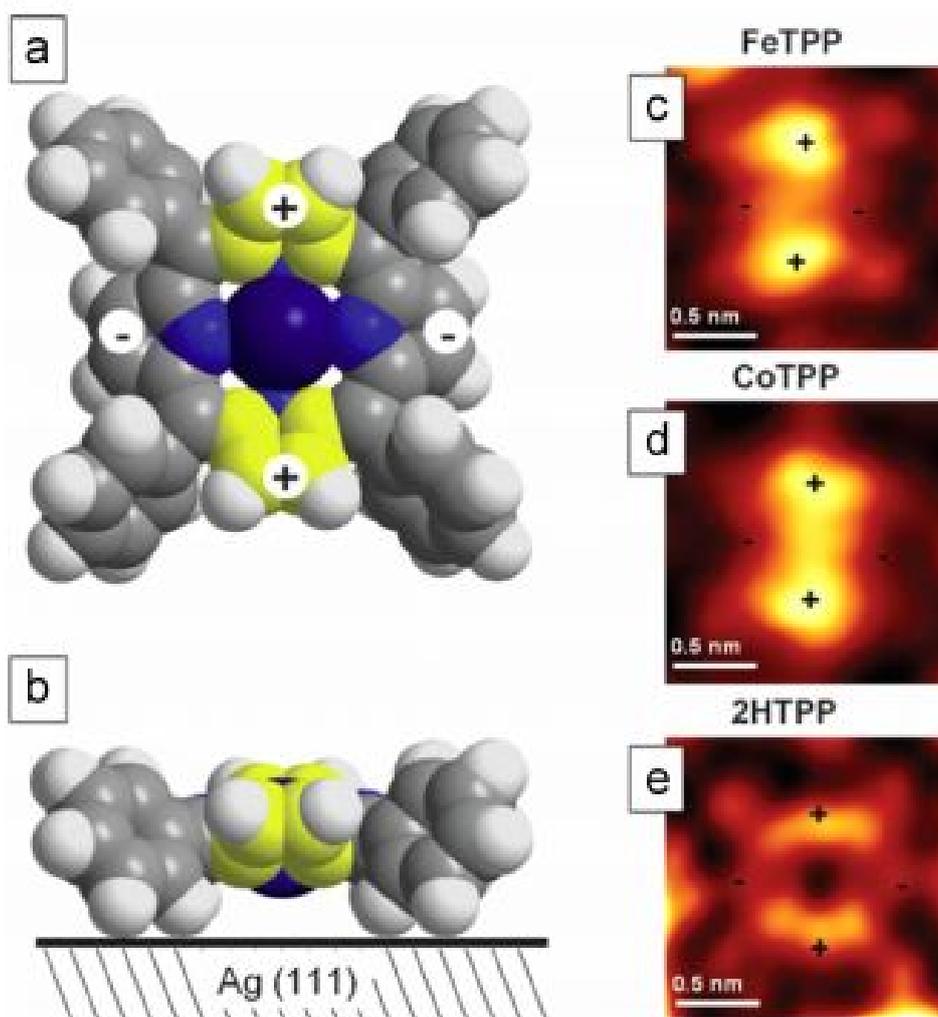
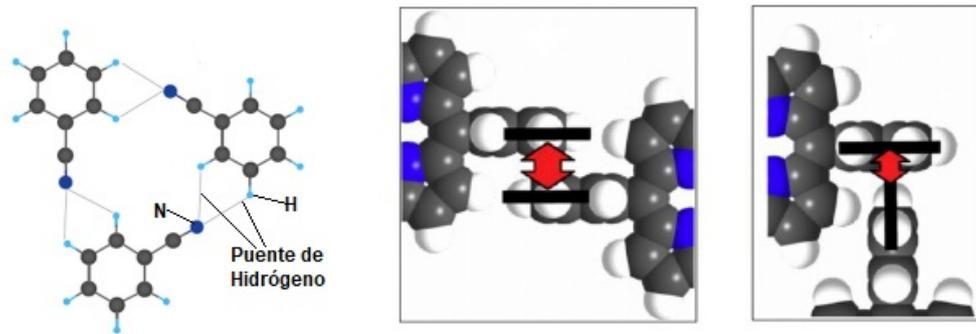


Figura 1.18: Deformación de silla en TPP (a y b). Los signos + y - representan deformaciones dentro y fuera del plano. c-e Imágenes por STM de FeTPP, CoTPP y H₂TPP, respectivamente. [28]

La estructura que adopte una multicapa de porfirinas depende de los grupos funcionales que ésta contenga. Por ejemplo, agregados con grupos funcionales como CN y OH se verán estabilizados por una red de puentes de hidrógeno (figura 1.19(a)), mientras que sustituyentes fenilo, como en el caso de la tetrafenilporfirina, estabilizarán los agregados por interacciones $\pi-\pi$ e interacciones tipo T (figuras 1.19(b), 1.19(c)). [17]

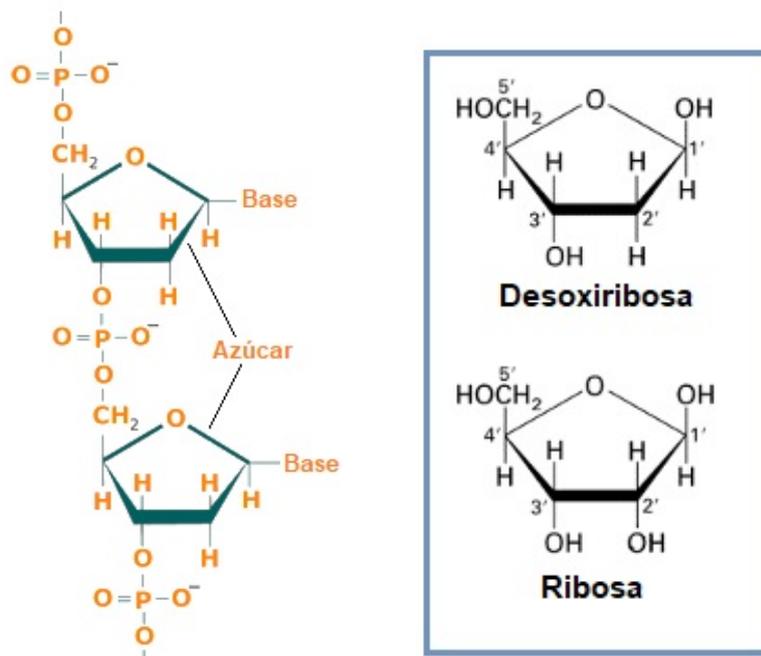


(a) Puentes de hidrógeno entre fragmentos de benzonitrilo (b) Interacciones tipo $\pi - \pi$ (c) Interacciones tipo T

Figura 1.19: Ejemplos de interacciones entre arreglos de porfirinas. [17]

1.4. Ácidos Nucleicos

Los ácidos nucleicos son compuestos poliméricos cuya espina dorsal está conformada por un poliéster, el cual deriva de la unión del ácido fosfórico y una azúcar. Podemos encontrar dos tipos de ácidos nucleicos: el ADN, si el azúcar corresponde a una desoxirribosa (figura 1.20(b) arriba), y el ARN, cuando el azúcar es una ribosa (figura 1.20(b) abajo). En los dos casos, el azúcar se encuentra en forma furanósica y está unida al fosfato por medio de los hidroxilos en C-3 y C-5, mientras que en C-1 podemos encontrar bases heterocíclicas (figura 1.21(b)) unidas por una ligadura β . Las bases presentes en el ADN son la guanina (G), la adenina (A), la citosina (C) y la timina (T). El ARN a diferencia del ADN en lugar de tener timina tiene uracilo (U).



(a) Estructura de los ácidos nucleicos (b) Azúcares presentes en el ADN y el ARN

Figura 1.20: Estructura de los ácidos nucleicos y los azúcares presentes en ellos.

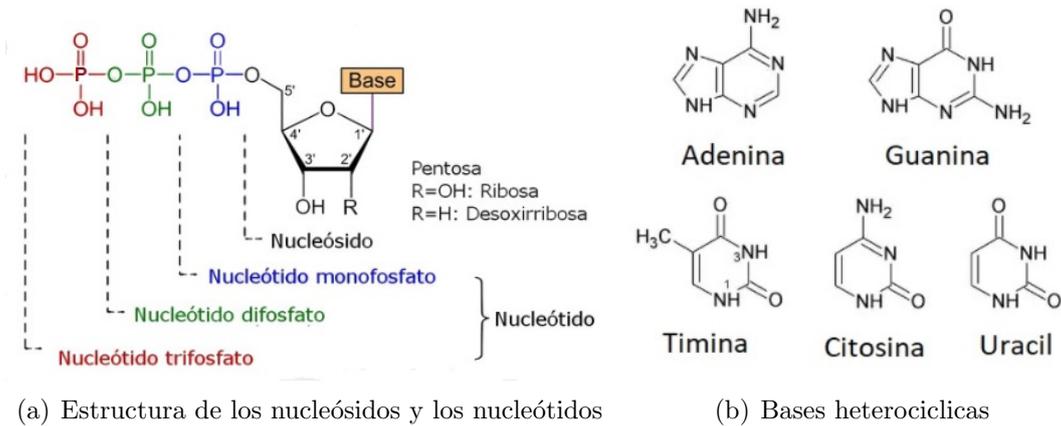


Figura 1.21: Nucleósidos, nucleótidos y bases heterocíclicas presentes en el ADN y el ARN. [29]

Los ácidos nucleicos son las principales moléculas de información dentro de las células, ya que en ellas, se almacena la información hereditaria y las instrucciones para la síntesis de proteínas. [30]

La unión de una base heterocíclica a un azúcar se le conoce como nucleósido. Si a esta unidad le agregamos un ácido fosfórico se convierte en nucleótido (figura 1.21(a)). Este tipo de compuestos son solubles en agua debido a la presencia del azúcar y del ácido fosfórico, puesto que la base heterocíclica es hidrófoba.

Los nucleósidos y nucleótidos no son solo importantes como ladrillos de construcción de los ácidos nucleicos, sino que también desempeñan otros procesos celulares, [31] son coenzimas, intermediarios energéticos y mensajeros intra y extracelulares. [32] A lo largo de los años, se ha observado que niveles anormales de alguno de estos componentes están relacionados con ciertas enfermedades. Tal es el caso de la presencia extracelular de adenosina y ATP, puesto que se ha encontrado que son componentes mayoritarios del microambiente tumoral. [32] Es por ello, que el desarrollo de sistemas de detección selectivos a ácidos nucleicos y sus derivados es fundamental en ámbitos como investigación biomédica, diagnóstico clínico y creación de tratamientos eficientes contra diversas enfermedades. [2]

Capítulo 2

Antecedentes

2.1. Sistemas de detección selectivos a ácidos nucleicos

Los métodos tradicionales para detectar ácidos nucleicos y sus derivados incluyen técnicas como Northern blot, PCR y el análisis de microarreglos, entre otros. Si bien cada uno de estos métodos es bastante efectivo, presentan limitaciones significativas ya sea en eficiencia de detección o debido a equipos y materiales costosos. [33] Es por ello, que el desarrollo de técnicas altamente sensibles y de bajo costo es tan importante. Actualmente, los nanomateriales han recibido particular atención, ya que gracias a sus propiedades físicas y químicas hacen posible el desarrollo de elementos ultrasensibles, compactos y específicos hacia diferentes analitos. [34]

En años recientes, la investigación de nanomateriales para diseñar sistemas de detección dirigidos a ácidos nucleicos y fragmentos de éstos ha crecido ampliamente, y se espera que este ámbito siga creciendo, ya que los nanomateriales nos brindan la oportunidad de diseñar un sin fin de sistemas de detección al combinar diferentes composiciones, formas, tamaños y dimensiones. [34, 35]

Los nanomateriales más populares usados en el diseño de sensores selectivos a biomoléculas incluyen nanopartículas metálicas, nanopartículas magnéticas, puntos cuánticos, nanotubos de carbono y nanomateriales en 2D. En algunas ocasiones, a estos materiales se les puede integrar una biomolécula para aumentar su selectividad. [36] En la figura 2.1, podemos observar un ejemplo de nanopartículas magnéticas utilizadas en la detección de micro ARN diseñado por R. Tavallaide y colaboradores. [37]

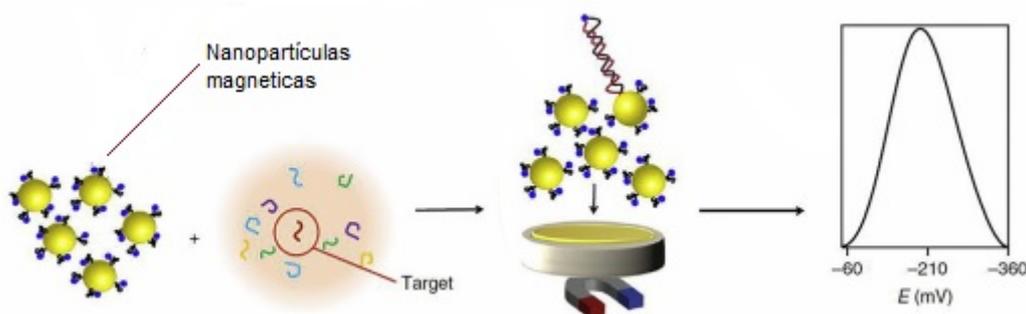


Figura 2.1: Nanopartículas magnéticas para la detección de micro ARN. [2]

Por otro lado, los materiales en 2D son una gran área de oportunidad para el diseño de sistemas

de detección. En los últimos años, se ha propuesto que el material por excelencia para desarrollar dispositivos 2D de reconocimiento de ácidos nucleicos sea el grafeno o materiales tipo grafeno (figura 2.2). [34]

El grafeno está compuesto por una monocapa de átomos de carbono empacados ordenadamente en forma de panal (figura 2.2(a)). Es un sistema aromático hidrófobo, el cual tiene muy buenas propiedades de conducción eléctrica y resistencia. [38] Se ha observado, que el grafeno es muy a fin a los ácidos nucleicos, ya que entre ellos existen fuertes interacciones tipo $\pi - \pi$. [34] Considerando las características del grafeno, otro tipo de recurso que presenta propiedades similares son los compuestos tipo porfirinas, debido a que están conformados por arreglos aromáticos en forma planar, los cuales parecen ser una opción de investigación poco explorada y muy interesante.

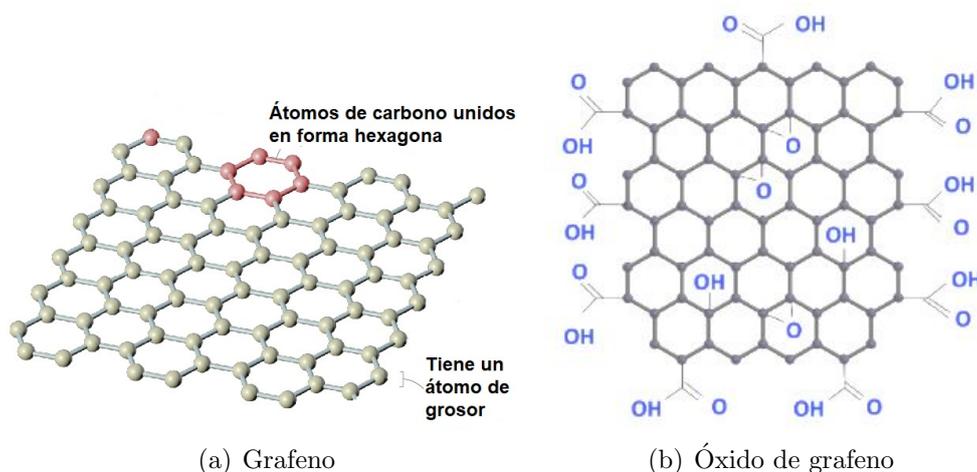


Figura 2.2: Materiales tipo grafeno.

2.2. Interacción entre porfirinas y ácidos nucleicos

Las interacciones porfirinas-ácidos nucleicos son un área de investigación muy importante, ya que, por sus propiedades, las porfirinas tienen aplicaciones en terapia fotodinámica (PDT, por sus siglas en inglés) y pueden ser buenas candidatas para el diseño de nuevos tratamientos antivirales. [39,40] Este campo de investigación está particularmente reservado para porfirinas y metaloporfirinas catiónicas (figura 2.3), ya que son ligeramente solubles en agua, cromóforos muy intensos, y en la mayoría de los casos, son fluorescentes. Lo anterior, hace que el monitoreo de las interacciones con los ácidos nucleicos sea más sencillo. [41]

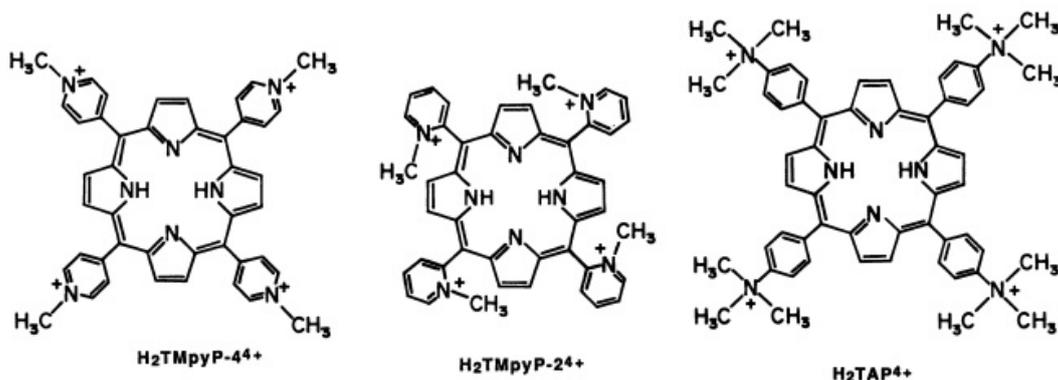
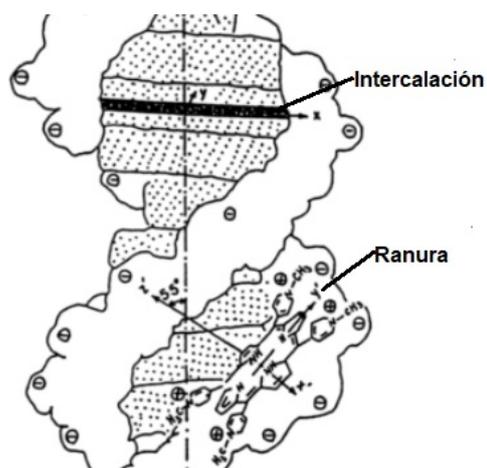
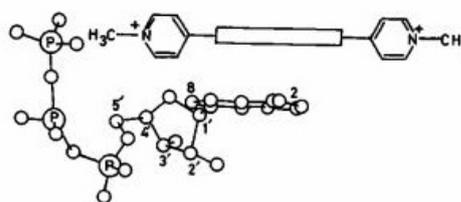


Figura 2.3: Ejemplos de porfirinas catiónicas que interactúan con ácidos nucleicos.

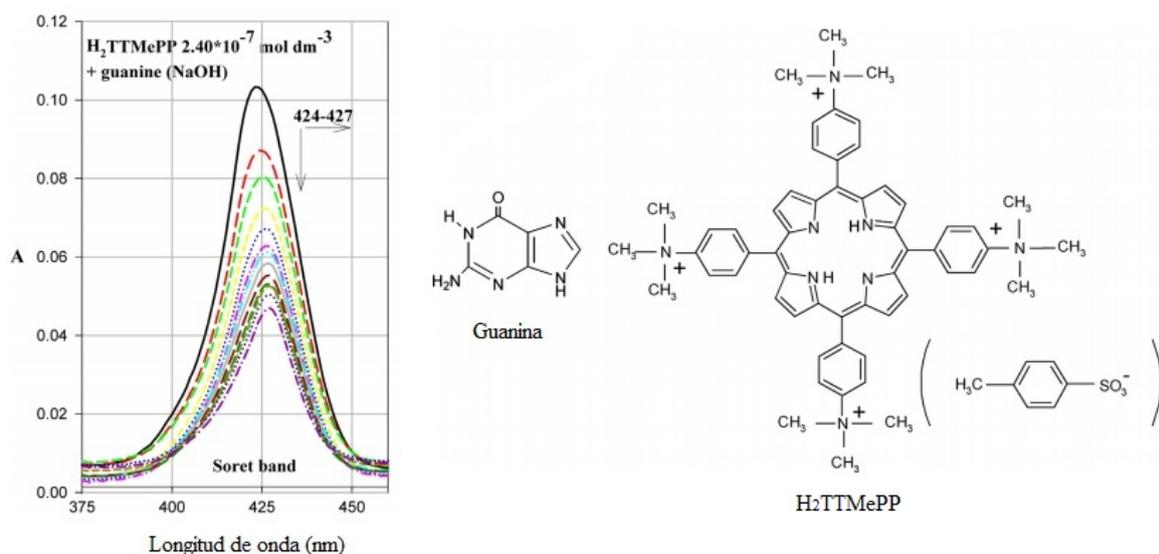
Los principales modos de unión entre las porfirinas con el ADN y el ARN son intercalación, unión de ranura y apilamiento (figura 2.4(a)). El modo de unión depende de los sustituyentes de la porfirina y del metal central. [41] La intercalación se da preferentemente en sitios ricos en pares G-C, mientras que la unión de ranura se observa en sitios con pares A-T. [42] Por otro lado, las interacciones entre porfirinas y agentes nucleicos (bases heterocíclicas, nucleósidos y nucleótidos) se han investigado con el principal objetivo de entender mejor las interacciones porfirina-ADN. De acuerdo con varios estudios, se ha encontrado que en disolución, las interacciones $\pi - \pi$ entre las porfirina y diversos agentes nucleicos resulta en desplazamientos batacrómicos e hipocrómismo de las bandas de absorción de la porfirina (figura 2.4(c)). [43] Así mismo, se ha encontrado que el posible complejo formado entre las porfirinas y el ATP, como el que se observa en la figura 2.4(b), muestra que la adenina interactúa con el centro hidrófobo de la porfirina. [42]



(a) Interacción porfirina-ADN



(b) Interacción porfirina-ATP



(c) Espectro de absorción de $H_2TTMePP$ al interactuar en disolución con diferentes concentraciones de guanina (las líneas punteadas indican un aumento en la concentración de guanina)

Figura 2.4: Diferentes interacciones entre porfirinas-ácidos nucleicos y agentes nucleóticos. [40, 42, 43]

Existen diversos estudios relacionados con las interacciones porfirinas-nucleósidos, pero la mayoría de éstos son en disolución. Sin embargo, los nucleósidos son moléculas que tienen gran

importancia biológica, de acuerdo con lo ya citado en la introducción, sino porque también forman parte de otras biomoléculas (figura 2.5) como son el ATP, ADP, GTP, Acetil CoA, CDP colina, entre muchas otras.

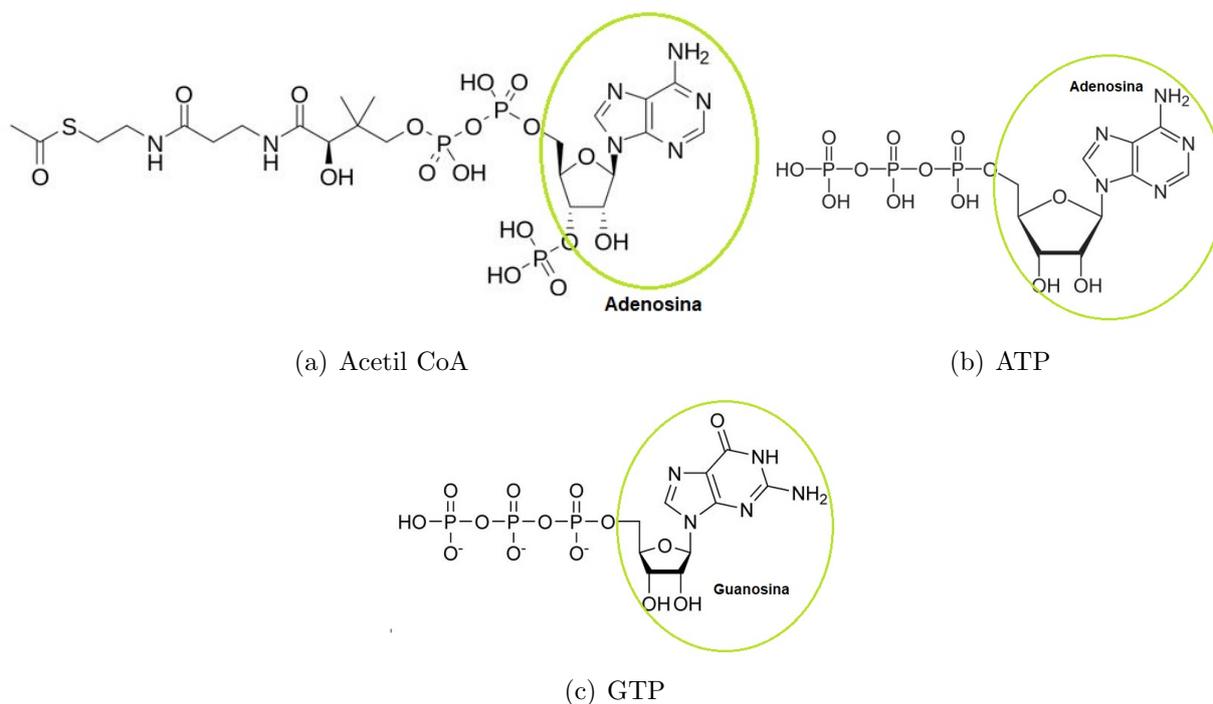


Figura 2.5: Biomoléculas que contienen un nucleósido dentro de su estructura.

Como se mencionó anteriormente, los estudios de interacciones entre ácidos nucleicos-porfirinas se han llevado a cabo mayormente en disolución. Lo anterior, limita el número de porfirinas que se pueden utilizar para estos estudios, ya que muchas de ellas no son solubles en agua. No obstante, en aplicaciones donde se tengan sistemas heterogéneos (sólido-líquido) como son los sistemas de detección, esta desventaja se vuelve una ventaja.

2.3. Porphirinas como elementos de reconocimiento

Las propiedades de las porfirinas y de las metaloporfirinas las hacen excelentes candidatas como receptores en el diseño de sensores, ya que a) la estructura de las porfirinas ofrece muchas opciones de interacción con el analito (fuerzas de Van der Waals, interacciones π y coordinación con el metal central), b) sus propiedades ópticas facilitan el monitoreo de dichas interacciones, y c) la agregación porfirina-sustrato modula el desempeño del sensor. [44]

En su mayoría, los reportes que existen de porfirinas empleadas como receptores, estudian la detención de moléculas como aminas, CO, NO_x, y otros compuestos orgánicos en fase gas (figura 2.6). [45–48]

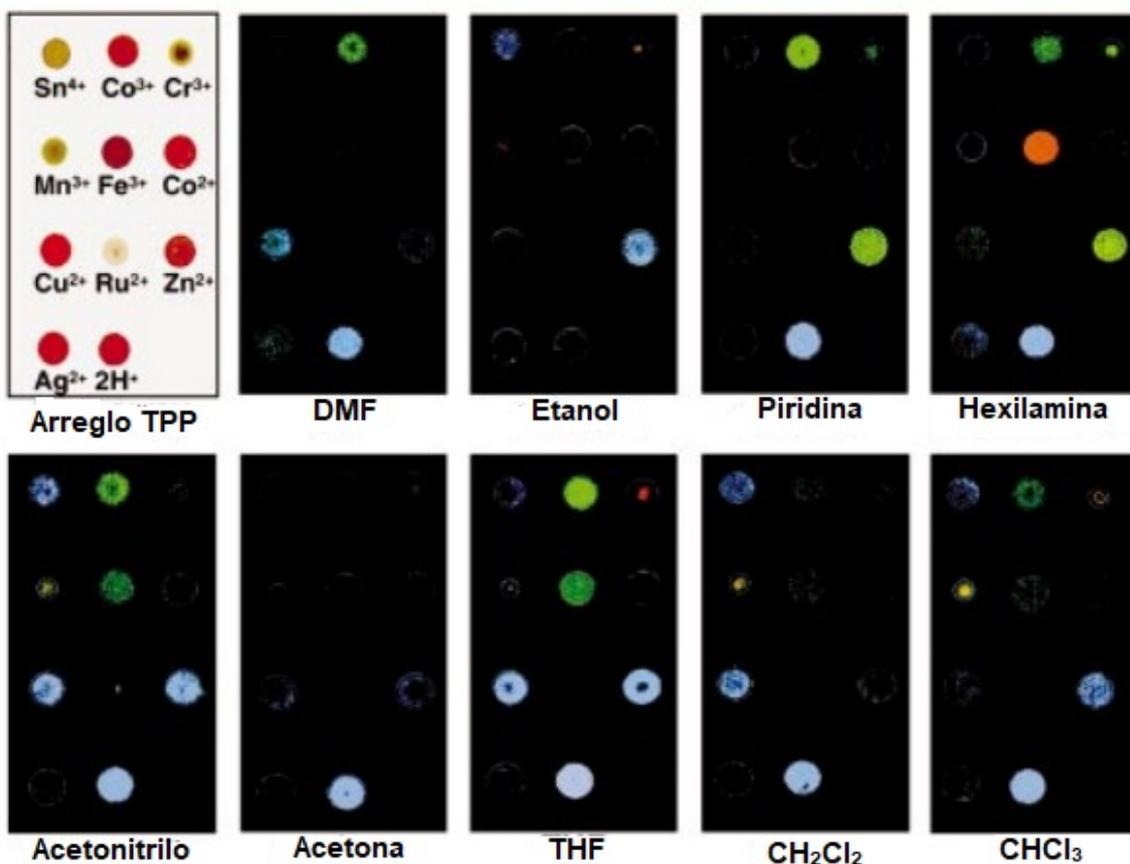
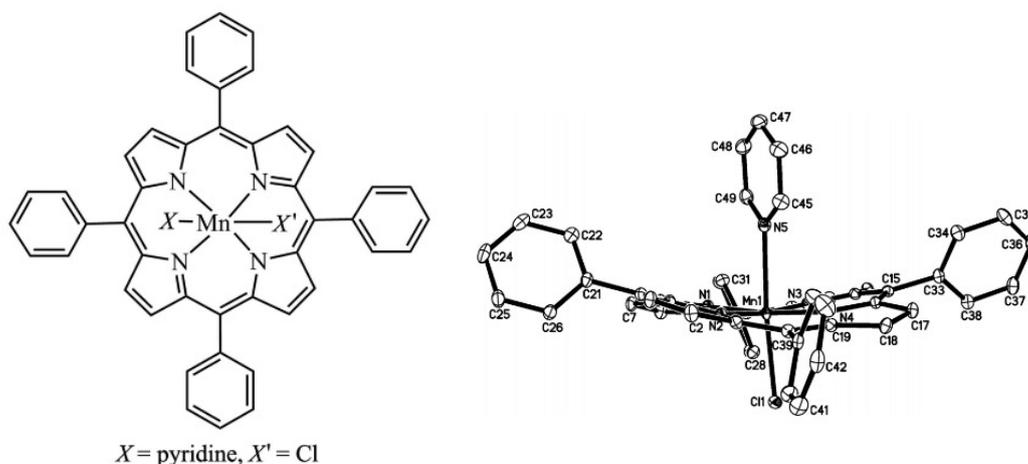


Figura 2.6: Cambio de color debido a la interacción de metaloporfirinas con diferentes gases de compuestos orgánicos. Las imágenes se obtuvieron mediante un escáner de cama plana (HP Scanjet 3c) y fueron procesadas en el programa Adobe Photoshop. [3]

Cabe mencionar que las interacciones entre compuestos con grupos electrodonadores y porfirinas han sido estudiados ampliamente en metaloporfirinas de Fe, Ni y Zn, entre otras. Lo cual, no ha sucedido en derivados de Mn, aunque se ha observado que este tipo de metaloporfirinas forma complejos con aminas (figura 2.7), [49]. Lo anterior, podría ofrecer resultados interesantes para el diseño de nuevos sistemas de detección.



(a) Esquema de $(\text{Mn}(\text{TPP})\text{Cl}(\text{py}))^+$ (b) Estructura de rayos X de $(\text{Mn}(\text{TpP})\text{Cl}(\text{py}))^+$

Figura 2.7: Enlace de coordinación $\text{Mn}(\text{TPP})\text{Cl}$ -piridina. [49]

Capítulo 3

Hipótesis y Objetivos

3.1. Hipótesis

Se observarán diferencias de la interacción entre nucleósidos con películas delgadas de dos porfirinas, una libre de metal y otra con centro metálico de Mn(III), que serán detectables por medio de cambios morfológicos, espectroscópicos y eléctricos en las películas.

3.2. Objetivo general

Estudiar las interacciones entre películas de dos porfirinas comerciales, una coordinada a un centro metálico de Mn(III) y otra sin metal, con diferentes nucleósidos que conforman al ARN (guanósina, adenosina, citidina y uridina) a través de cambios en la morfología, la respuesta espectroscópica y la conductividad eléctrica de las películas.

3.3. Objetivos particulares

- Formar películas delgadas con moléculas de porfirinas (libres de metal y coordinadas a un centro metálico de manganeso) empleando la técnica de evaporación térmica.
- Cuantificar la cantidad de nucleosido adsorbido sobre las películas de porfirina como función de su estructura química.
- Evaluar los cambios morfológicos de las películas antes y después de la interacción con las bases nitrogenadas empleando diferentes técnicas de microscopía (óptica, electrónica de barrido, y de fuerza atómica).
- Caracterizar espectroscópicamente las películas antes y después de la interacción con los nucleosidos mediante las técnicas de IR y UV-Vis.
- Evaluar los cambios en conductividad eléctrica de las películas para comparar su comportamiento antes y después de la interacción.
- Emplear la técnica de teoría de funcionales de la densidad (DFT) para identificar sitios de interacción y energías de enlace.

Capítulo 4

Metodología

4.1. Materiales empleados

4.1.1. Compuestos utilizados

Para este proyecto se utilizaron dos porfirinas comerciales, el esqueleto de las porfirinas fue el mismo, lo que cambio entre ellas es que una tiene un centro metálico de Mn(III), mientras que la otra no. De esta forma, se estudió la influencia de dicho centro metálico en las propiedades de reconocimiento de las películas.

Las porfirinas utilizadas fueron la 2,3,7,8,12,13,17,18-octaetil-21H,23H-porfirina y el cloruro de 2,3,7,8,12,13, 17,18-octaetil-21H,23H-porfirina de manganeso(III) (figura 4.1). Se obtuvieron de sigma aldrich con una pureza \geq al 95 % y se utilizaron sin tratamiento previo.

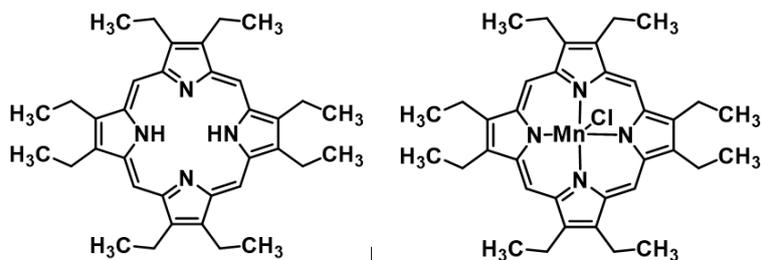


Figura 4.1: Estructura de las porfirinas utilizadas. Izq. sin centro metálico, y Der. con centro metálico de manganeso

Por otro lado, los nucleósidos empleados fueron guanósina (G), adenosina (A), citidina (C) y uridina (U). La estructura de estos compuestos se encuentra en la sección de introducción (ver figura 1.21). Al igual que las porfirinas, se obtuvieron de sigma aldrich con una pureza mayor del 98 % y se utilizaron si tratamiento previo.

4.1.2. Sustratos empleados

Los sustratos empleados fueron vidrio y óxido de indio y estaño (ITO). Antes de formar el depósito, estos sustratos debieron de ser limpiados adecuadamente. El método de limpieza se describirá en párrafos posteriores junto con las características de los sustratos.

Vidrio

El vidrio empleado se obtuvo a partir de porta objetos de la marca MADESA que fueron cortados a un tamaño de 2.5x1 cm. Este tipo de sustratos debe estar libre de polvo y residuos orgánicos para evitar defectos en la película que afecten sus propiedades.

Para el lavado del vidrio se utilizó disolución piraña, que es una mezcla de ácido sulfúrico y peróxido de hidrógeno en proporción 3:1, respectivamente. El procedimiento consistió en:

1. Preparar la disolución piraña con cuidado, tomando en cuenta las recomendaciones de las hojas de seguridad.
2. Colocar los sustratos en un vaso de precipitados grande, y agregar lentamente la disolución piraña hasta cubrirse.
3. Calentar la mezcla anterior por 30 min a 70° C.
4. Pasado el tiempo, retirar los vidrios de la disolución y enjuagarlos con agua corriente de tipo mili-Q.
5. Colocar los sustratos en otro recipiente de vidrio con agua mili-Q y sonicar por 5 min.
6. Por último, secar los sustratos con aire comprimido y guardar en recipientes cerrados.

Óxido de indio y estaño

El ITO es un compuesto ampliamente usado en aplicaciones fotovoltaicas debido a que es un buen semiconductor transparente (permite el paso de luz visible). [50] Este material se encuentra disponible comercialmente en forma de una película delgada sobre sustratos de vidrio. Para este proyecto, se emplearon muestras de ITO de la marca NANOCS de 30 nm de espesor con una resistividad de 100 Ohm/sq sobre portaobjetos convencionales.

Cabe señalar que se empleó este óxido, ya que se requería de un sustrato conductor para realizar las mediciones de conductividad eléctrica.

Antes de depositar las porfirinas sobre ITO, al igual que en el caso del vidrio, debió ser lavado siguiendo el siguiente procedimiento:

1. Colocar los sustratos de ITO en un recipiente de vidrio. Agregar un poco de detergente y agua mili-Q. Sonicar por 10 min.
2. Retirar el detergente y el agua. Agregar nuevamente agua mili-Q y sonicar por 10 min.
3. Decantar el agua, y colocar acetona. Sonicar por 10 min.
4. Cambiar la acetona por isopropanol. Nuevamente, sonicar por 10 min.
5. Finalmente, quitar el isopropanol, enjuagar los sustratos con agua mili-Q, secar con aire comprimido y guardar en recipientes cerrados.

4.2. Formación de Películas

Las películas se formaron a través de un depósito físico en fase vapor, usando el siguiente procedimiento.

4.2.1. Evaporación térmica

Como ya se explicó en la introducción, la evaporación térmica es un proceso ampliamente utilizado para obtener películas de grosor nanométrico. Debido a sus características, resultó ser la técnica ideal para formar las películas de porfirinas.

Para el depósito físico se utilizó una evaporadora térmica modelo VCM600 (figura 4.2(a)). Los sustratos de vidrio e ITO se colocaron dentro de la campana de evaporación junto con las porfirinas en un arreglo como se muestra en la disposición de partes del equipo.

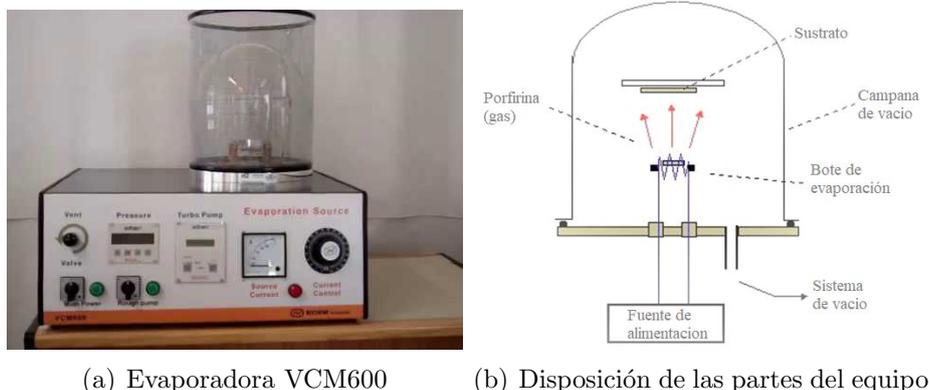


Figura 4.2: Evaporación térmica

La evaporación se llevó a cabo a una presión alrededor de 10^{-5} mbar a temperatura ambiente. Al terminar la evaporación, los sustratos fueron retirados y almacenados para prevenir su contaminación.

4.3. Pruebas de interacción

La interacción entre las películas y los nucleósidos se realizó en disolución. Para lo cual, se prepararon disoluciones de cada uno de los nucleósidos en buffer de fosfatos (pH=7) para asegurar que la disolución se mantuviera en pH neutro. Primero, se preparó un stock de 4000 ppm y se diluyó a 1000 ppm. El equipo empleado para este paso consistió en una balanza analítica, matraces volumétricos de 25 mL, y una pipeta de 10 mL.

Las películas se sumergieron por separado en las disoluciones de cada nucleósido y en el buffer de fosfatos de manera pura. Este último paso se realizó para observar si el buffer por sí solo, cambiaba las características de las películas. El tiempo de inmersión fue de 1 h en todos los casos.

4.4. Métodos de caracterización

Los métodos de caracterización se realizaron por separado, tanto para la porfirina sin metal, como para la porfirina con Mn como se describe a continuación.

4.4.1. Caracterización morfológica

SEM

Las imágenes de la superficie de las películas se obtuvieron por microscopía electrónica de barrido (SEM por sus siglas en inglés). Esta caracterización se llevó a cabo en un equipo

de alta resolución (JEOL JSM-7800F) (figura 4.3). Para obtener las imágenes, se utilizaron electrones secundarios a bajos voltajes de aceleración y distancias de trabajo menores a 10 cm.

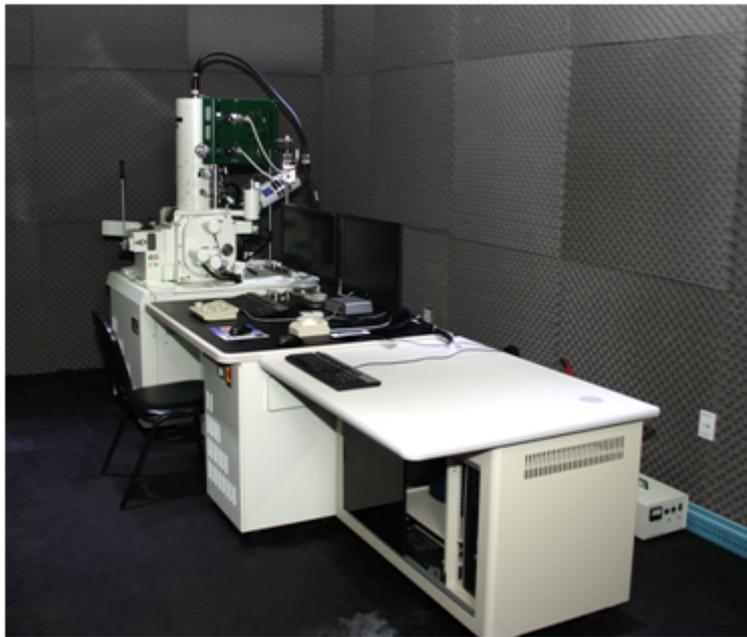


Figura 4.3: Microscopio electrónico de barrido JEOL JSM-7800F

AFM

La caracterización por microscopía de fuerza atómica se llevó a cabo en el microscopio JEOL JSPM4210 (figura 4.4). Para este análisis, se utilizó el modo intermitente y se realizaron barridos de 10 y 5 μm de lado. Las imágenes obtenidas fueron procesadas en el software WSxM Develop 9.4. [51]



Figura 4.4: Microscopio de fuerza atómica JEOL JSPM4210

Grosor de las películas

El grosor de las películas se determinó mediante la técnica de AFM. Una vez que ya se habían formado las películas, con ayuda de unas pinzas se realizó un pequeño rayón en una de las

esquinas de la película para retirar la porfirina depositada en esa zona. Posteriormente, se obtuvo una imagen de AFM de la zona con el rayón. Mediante el software WSxM Develop 9.4 se determinó el grosor de la película.

4.4.2. Propiedades espectroscópicas

Se emplearon dos técnicas de caracterización espectroscópica: IR y UV-Vis. A continuación se describe la metodología empleada para cada una de ellas.

Espectroscopia IR

Para hacer esta caracterización se usó un equipo Perkin Elmer modelo Spectrum TWO (figura 4.5), con el cual se obtuvieron los espectros del vidrio limpio, de la película sin tratamiento previo, la película sumergida en buffer, y las películas sumergidas en cada una de las disoluciones de nucleósidos. El ruido ocasionado por el vidrio fue retirado mediante un procesamiento de datos.



Figura 4.5: IR Perkin Elmer Spectrum TWO

Espectroscopia UV-Vis

Esta caracterización se realizó en un equipo Perkin Elmer modelo Lambda 35 (figura 4.6). La caracterización consistió en la calibración del equipo colocando un sustrato de vidrio limpio como blanco. Posteriormente, se obtuvo el espectro de absorbancia de la película sin tratamiento previo, la película sumergida en buffer y cada una de las películas sumergidas en las disoluciones de los nucleósidos empleados.



Figura 4.6: Espectrofotómetro UV-Vis Perkin Elmer Lambda 35

4.4.3. Pruebas de conductividad

Estas pruebas se realizaron en un equipo casero para evaluar conductividades eléctricas. Se midieron los cambios de voltaje de las películas antes y después de sumergirlas en las disoluciones, así como el cambio de voltaje para el ITO limpio. El arreglo de puntas se conectó a una fuente de precisión Keithley Source Meter, la cual imponía una corriente eléctrica lineal y media la diferencia de potencial correspondiente. Los datos obtenidos fueron graficados, y a partir de ellos se calculó el valor de resistencia correspondiente.

4.4.4. Cálculos DFT

Los cálculos empleando teoría de funcionales de la densidad se realizaron en la supercomputadora Miztli de la UNAM usando el programa Gaussian. De manera inicial, se corrieron todas las moléculas de forma independiente en agua (dado que la interacción inicial se dio en la solución buffer), para encontrar sus configuraciones de mínima energía empezando desde métodos semiempíricos hasta DFT. La base final empleada fue B3LYP/6-31+G(d), ya que se había empleado en otros trabajos con buenos resultados. [52]

Una vez que se tuvieron todas las moléculas individuales optimizadas a esta base, se corrieron 4 configuraciones iniciales para la interacción entre las moléculas PP y PPMn con cada nucleósido en agua. Las corridas se iniciaron usando métodos semiempíricos hasta B3LYP/6-31+G(d), para ser consistente con los estados de mínima energía de cada molécula individual. Una vez finalizadas las optimizaciones, se calcularon las energías de enlace y se identificó la configuración de mínima energía para ser representada en los resultados de cada interacción.

4.5. Cuantificación

Es importante conocer la cantidad de nucleósido que se adsorbió en cada película, dado que este dato nos habla de la eficiencia de dicho proceso. Para ello, se cuantificó la concentración remanente de nucleósidos en las disoluciones empleadas después de retirar las películas. Ya que los nucleósidos presentan señales en la región del UV (tabla 4.1), la cuantificación se realizó a través de una curva de calibración por espectroscopia UV-Vis. Para realizar este paso, se empleó un espectrofotómetro E-Chrom modelo CT-8600 con una ventana de 190 a 1100 nm empleando celdas de cuarzo.

Tabla 4.1: Valores de absorbancia de nucleósidos

Nucleósido	Guanosina	Adenosina	Citicina	Uridina
Máximo de Absorbancia (nm)	251	258	270	261

El proceso de cuantificación implicó la preparación de disoluciones con concentraciones de 8 ppm a 24 ppm, a partir de un stock de 1000 ppm (tabla 4.2). Una vez que ya se contaba con estas disoluciones, se realizaron las mediciones en el mismo equipo (previamente calibrado). Se tomó el máximo de absorbancia para cada una de las disoluciones, y se relacionó con su concentración correspondiente. Lo anterior, permitió obtener una curva con tendencia lineal entre absorbancia y concentración (Ley de Beer-Lambert).

Una vez que se tenía la curva de calibración (figura 4.7), se realizaron las mediciones de las disolución desconocidas. En este caso, la disolución donde previamente se había sumergido la película. Para hacer la cuantificación, se realizaron diluciones de tal forma que se obtuvieran

concentraciones entre 17-16 ppm para evitar la saturación de la señal. A la nueva disolución, se le midió su absorbancia en el equipo de UV-Vis, y con ayuda de la curva de calibración, se obtuvo la concentración de la dilución buscada empleando la siguiente ecuación:

$$\frac{10mL \cdot C_{dilución}}{V_{aliquota(mL)}} = C_{disolución} \quad (4.1)$$

Tabla 4.2: Alicuotas tomadas para hacer las diluciones

Stock 1000 ppm	
Alicuotas (μ L)	Concentración (ppm)
80	8
100	10
120	12
140	14
160	16
180	18
200	20
220	22
224	24

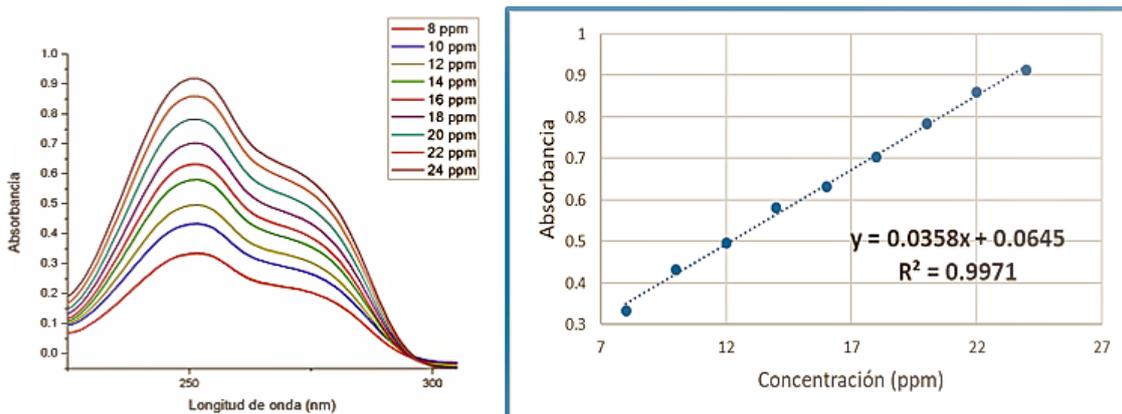


Figura 4.7: Curva de calibración para la guanosina

Esta metodología se llevó a cabo para los cuatro nucleósidos utilizados. Las curvas de calibración junto con los espectros de absorbancia se encuentran en el Apéndice A.

Capítulo 5

Resultados y Análisis

En este capítulo, se analizarán y se compararán los resultados obtenidos para cada porfirina.

Para hacer más fácil la identificación de las películas de 2,3,7,8,12,13,17,18-octaetil-21H,23H-porfirina y del cloruro de 2,3,7,8,12,13,17,18-octaetil-21H,23H-porfirina de manganeso(III) se denominarán PP y PPMn, respectivamente. Así mismo, a lo largo del siguiente texto, van a aparecer constantemente las abreviaturas B, G, A, C, y U que se utilizan para identificar el buffer de fosfatos y a cada uno de los nucleósidos empleados en este proyecto según su letra inicial.

Es importante mencionar que debido a la pandemia causada por el COVID-19, no están completos los resultados para la interacción de las películas con la guanosina.

5.1. Cantidad de nucleósidos adsorbidos

El proceso para conocer la cantidad de nucleósidos adsorbidos se explicó detalladamente en el capítulo anterior. Los resultados obtenidos para cada película fueron los siguientes:

Tabla 5.1: Nucleosidos adsorbidos por las películas

Nucleósido	Cantidad adsorbida (ppm)	
	PP	PPMn
Guanosina	37.75	43.60
Adenosina	12.35	37.89
Citidina	4.52	111.78
Uridina	2.22	303.33

Como ya sabemos, los nucleósidos empleados tienen en su estructura una sección idéntica que corresponde a la ribosa. Sin embargo, cada uno de ellos se adsorbe en cantidades distintas como se observa en la tabla 5.1, lo cual indica, que no solo la ribosa interactúa con la película sino que también la base nitrogenada impacta en la interacción. De la tabla 5.1, también podemos observar que en PP el nucleósido que se absorbe más es la guanosina seguido por la adenosina. Lo anterior, evidencia que la película libre de metal es más afín a adsorber bases púricas, caso contrario ocurre en PPMn, donde observamos que se absorben más las bases pirimidínicas, estando en primer lugar la uridina y en segundo lugar la citidina. Estos resultados coinciden con lo encontrado en la literatura, dado que se sabe que los nucleósidos púricos tienden a

interactuar más fuertemente con las porfirinas, en cambio, esta tendencia no siempre es igual para las metaloporfirinas. [53]

Cabe mencionar que, independientemente de que nucleósido se adsorbió en mayor proporción, las películas PPMn adsorbieron una cantidad mucho mayor en relación a todos los nucleósidos. Lo anterior, se puede atribuir a la presencia del Mn (III), ya que como se mencionó en los antecedentes, existe amplia evidencia de que los sistemas porfirina-Mn son atractivos a grupos electrodonadores.

5.2. Morfología de las películas

5.2.1. SEM

Es importante conocer la morfología de la superficie de las películas antes de realizar cualquier modificación, ya que así, no solo se puede asegurar que se tiene una película de buena calidad, sino también, para comparar las superficies después de las interacciones. Para este fin, las películas PP y PPMn se caracterizaron morfológicamente de manera inicial con la técnica de SEM. A continuación, se presentan los resultados obtenidos.

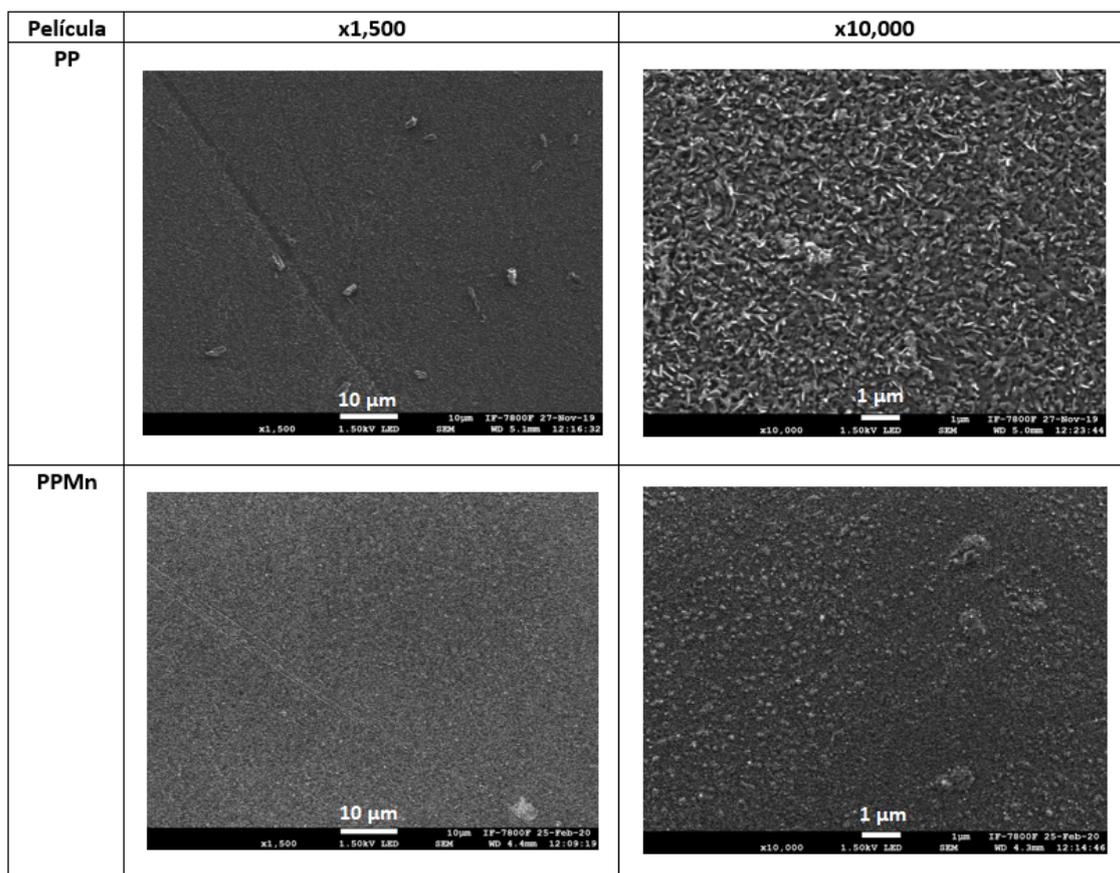


Figura 5.1: Imágenes SEM de las películas PP y PPMn puras a x1,500 y x10,000 aumentos

En la figura 5.1, podemos observar las películas puras de las porfirinas sin metal (PP) y con centro metálico de manganeso (PPMn) en acercamientos de x1,500 y x10,000 aumentos. Para ambos casos, se puede decir que las películas se encuentran depositadas de manera regular, formando una superficie compacta con algunos agregados de tamaño pequeño distribuidos aleatoriamente. En particular, en PP se observan algunas protuberancias a lo largo de la película, lo que probablemente indique que al final de la evaporación se empezaba a formar una nueva

capa de porfirina. Este comportamiento no se observa evidente para PPMn a grandes escalas. Por otro lado, en las imágenes a x10,000 aumentos se ve que las dos películas son rugosas, puesto que a lo largo de las películas hay agregados distribuidos sobre toda la superficie. No obstante, la forma de esta rugosidad es distinta para cada caso. Mientras que en PP se observan agregados amorfos, PPMn tiene estructuras de tipo semicircular bien definidas.

Una vez analizada la morfología de las películas sin ninguna modificación, se observaron los cambios morfológicos que estas interfases sufrieron al realizar las pruebas de interacción con el buffer y los nucleósidos. Para esta parte del análisis, se escogieron las imágenes a x1,500 y x5,000 aumentos, ya que a estas magnificaciones fueron donde se apreciaron los cambios más destacados.

En la figura 5.2, podemos encontrar las imágenes que corresponden a PP de las cuales se observa que la interacción con el buffer no cambia la textura superficial de la película de manera significativa. De las imágenes que corresponden a la interacción con los nucleósidos, podemos observar que la adenosina es la que más se adsorbe y forma crecimientos alargados sobre la película. En el caso de PPC y PPU en la imagen a x1,500 aumentos, no se observa ningún cambio importante, pero en la imagen a x5,000, aumentos observamos pequeños crecimientos de forma circular sobre la superficie de la película. Cabe destacar que en PPC estos crecimientos están más dispersos y grandes, mientras que en PPU son mucho más pequeños y se encuentran más juntos. Finalmente, en PPC y PPU la adsorción de los nucleósidos es más uniforme que en PPA.

Las imágenes obtenidas por SEM para PPMn se aprecian en la figura 5.3. Aquí, se ve que el buffer cambia ligeramente la forma de la superficie, pero no parece degradar la película. De estas imágenes, lo primero que salta a la vista es que los nucleósidos se adsorben en mayor proporción comparándola con la superficie PP, lo cual coincide con los resultados obtenidos de la cuantificación. Estas imágenes muestran la formación no solo de recubrimiento completos en las superficies, sino también, el crecimiento de estructuras de tipo alargado sobre toda la interfase. Los crecimientos de adenosina tienen forma definida, lo que daría a pensar que son de tipo cristalino, mientras que los de citidina y uridina son amorfas. En este caso, no hay uniformidad en la adsorción de ninguno de los nucleósidos.

En la figura 5.4, se muestra un acercamiento de las estructuras observadas para PPMnA, y se indica con varios colores, la forma y tipo de ángulos que presentan cada una de estas estructuras. De estas imágenes, se puede ver que las estructuras tienen forma de paralelepípedos, con extremos en forma de punta facetada, y cuyas longitudes se encuentran alrededor de $1 \mu\text{m}$. Cabe señalar que la estructura cristalina de la adenosina fue reportada por primera vez en 1982. Se sabe, que corresponde a una celda cristalina monoclinica, grupo espacial $P2_1$, y hay dos moléculas por celda. [54] La forma regular de las estructuras observadas en las imágenes para PPMnA, parece corresponder a un sistema monoclinico. Analizando las formas regulares de esta interacción, es posible identificar una cara cuyos lados forman un ángulo de 90 grados, mientras que otra de las caras tiene un ángulo de 145 grados, aproximadamente. Lo anterior, sugiere que la adenosina se agrega en la superficie conservando su arreglo cristalino.

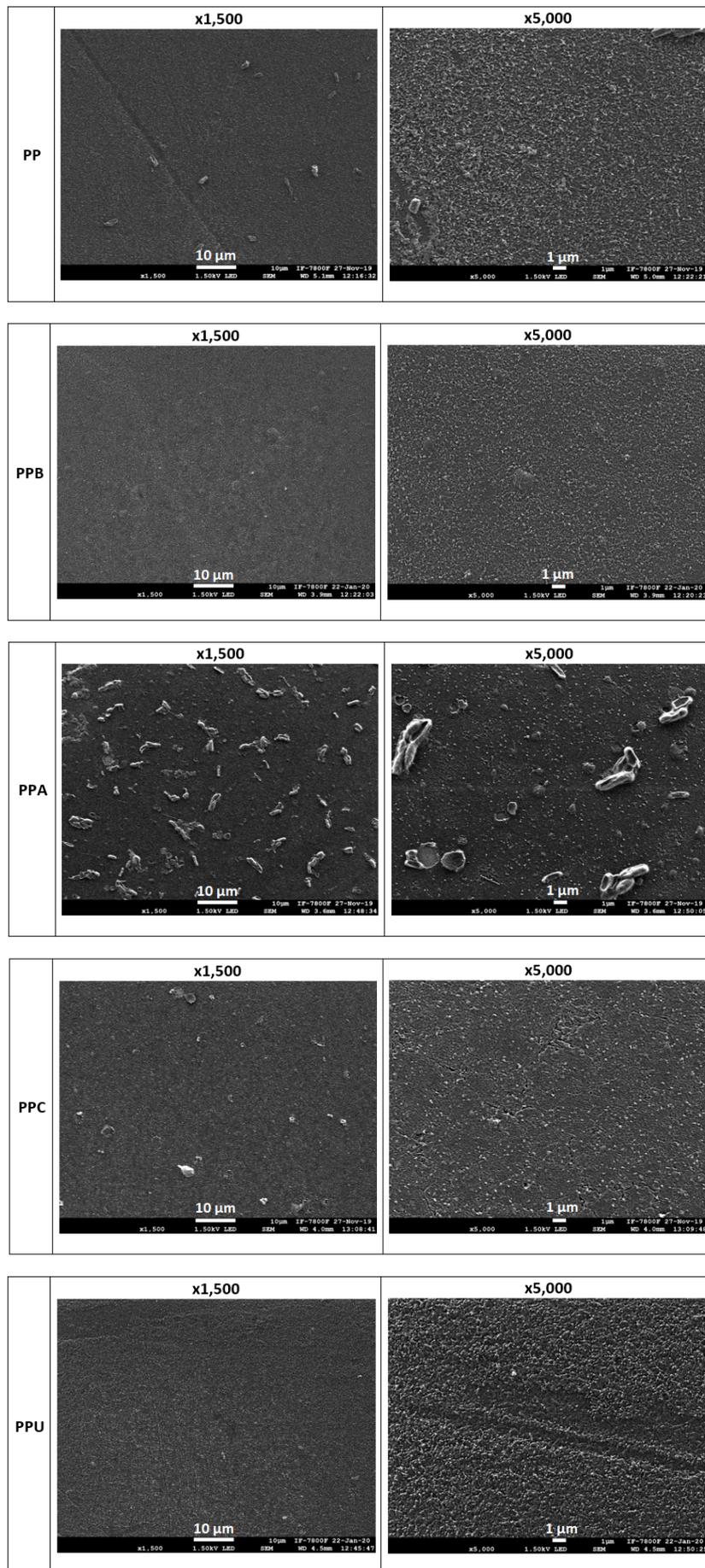


Figura 5.2: Imágenes de SEM de PP después de ser expuestas a los nucleósidos

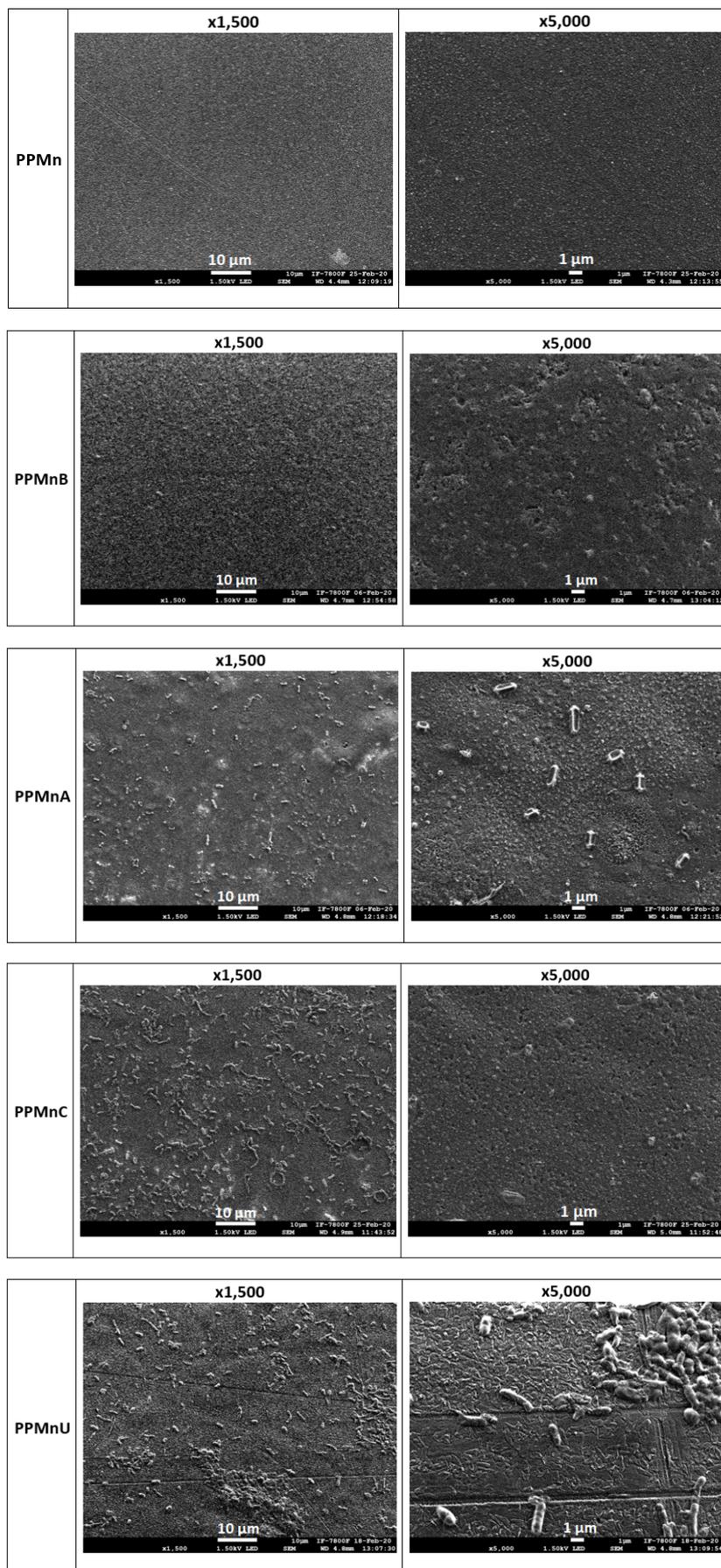


Figura 5.3: Imágenes de SEM de PPMn después de ser expuestas a los nucleósidos

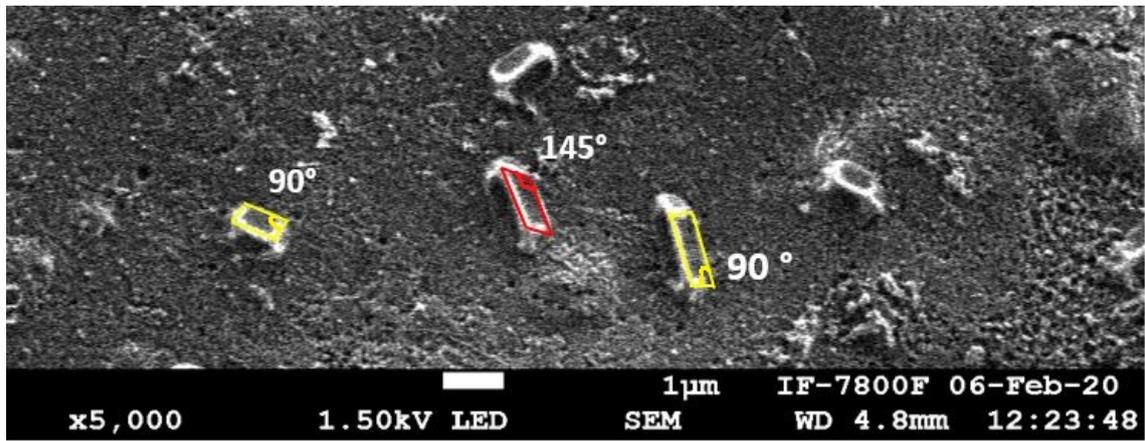
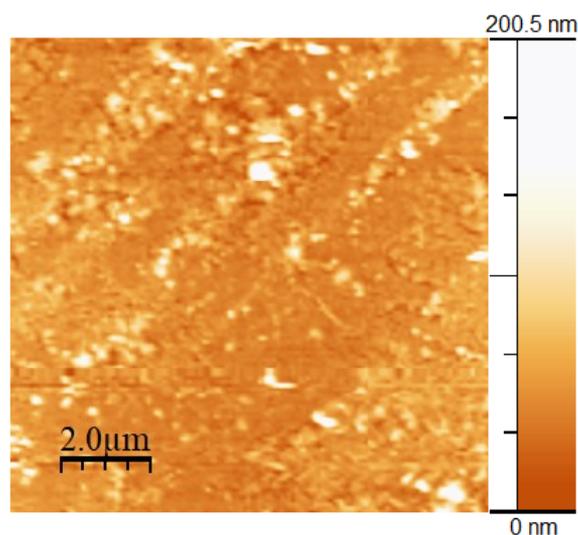


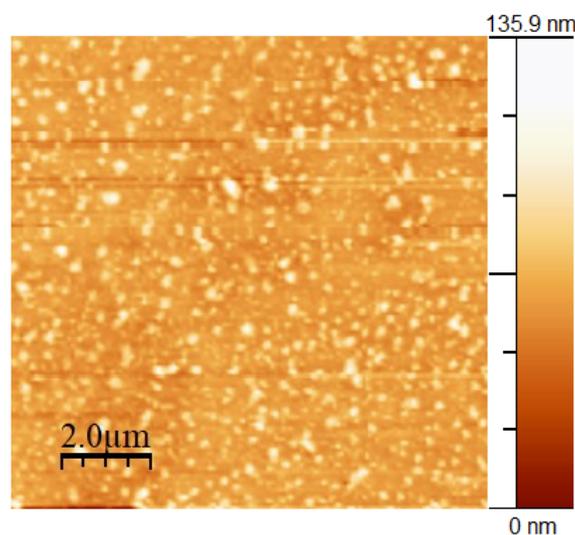
Figura 5.4: Cristales de adenosina

5.2.2. AFM

Las imágenes obtenidas por AFM tanto para PP como para PPMn se observan en la figura 5.5. De esta figura, podemos ver que la película más irregular es PP, y como ya se mencionó en la sección anterior, PPMn tiene una morfología de tipo granular. Los granos de esta superficie son de tamaño muy similar, mientras que los presentes en PP no tienen una forma definida. De estas imágenes, también se puede observar que la superficie PPMn es más compacta y más plana en comparación con la PP. Esto se refleja en la barra de alturas, en donde se ve que la mayor diferencia de alturas corresponde a la película PP, y la menor a PPMn.



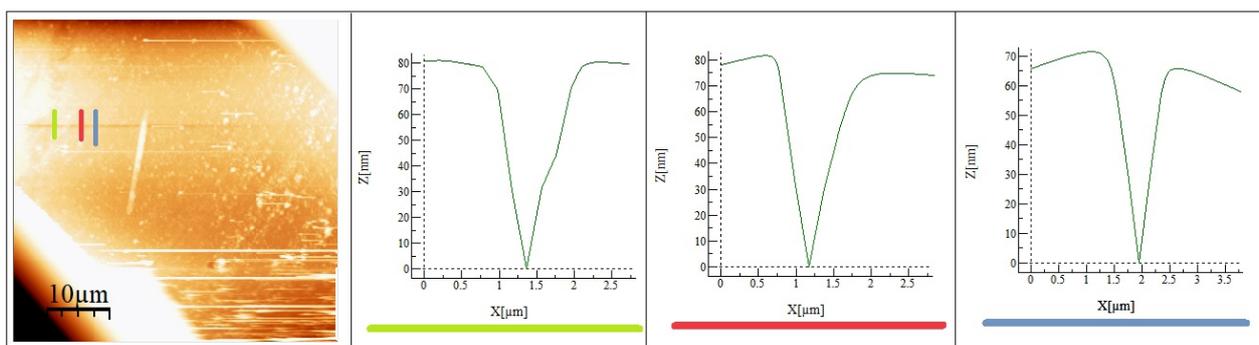
(a) PP a $10\mu\text{m}$



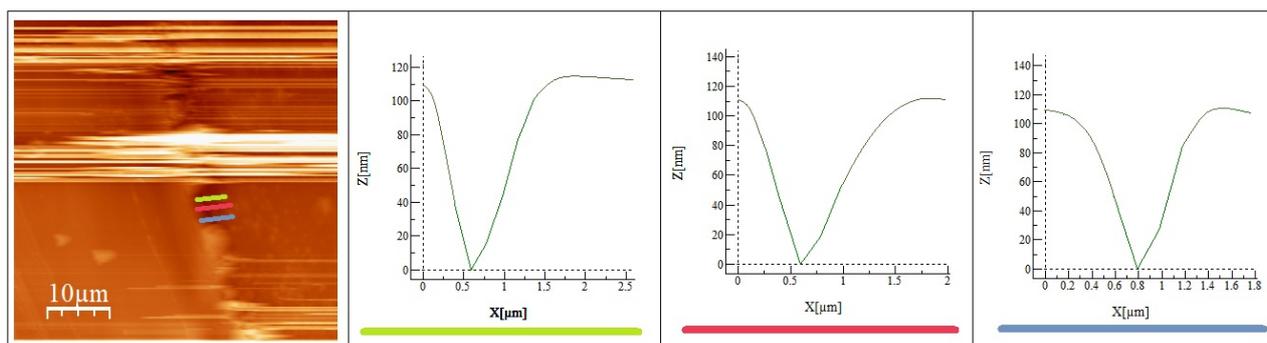
(b) PPMn a $10\mu\text{m}$

Figura 5.5: Imágenes de AFM para PP y PPMn

En la figura 5.6, se puede observar que PPMn tiene un espesor promedio de 110 nm, aproximadamente, mientras que PP presenta un espesor promedio de 75 nm. No es ninguna sorpresa que PPMn sea más gruesa que PP, ya que, aunque las condiciones de evaporación de las dos porfirinas fueron prácticamente iguales, la estructura tridimensional de la porfirina de Mn corresponde a una pirámide de base cuadrada, la cual ocupa más espacio que la porfirina sin metal que simplemente es de tipo planar.



(a) Grosor PP



(b) Grosor PPMn

Figura 5.6: Espesor de las películas de porfirina

Las imágenes que corresponden a las películas que interactuaron con el buffer y los nucleósidos se encuentran en las figuras 5.7 y 5.8, mientras que la información correspondiente a la rugosidad de las películas se encuentra en la tabla 5.2. En las imágenes correspondientes a PP antes y después de la interacción podemos notar un cambio en PPB. Esta superficie presenta una estructura granular con agregados grandes de tamaños similares, y dispersos uniformemente a lo largo de la película. Lo anterior, le da una menor rugosidad a diferencia de PP, en donde la morfología es distinta y la rugosidad es mayor. Ahora bien, no se observa el depósito de material sobre la película ni degradación de ésta, por lo cual, podemos concluir que la interacción con el buffer únicamente altera la textura de la superficie de PP. Esto se puede deber a la hidrofobicidad de la película, que al entrar en contacto con el buffer, sufre de una adsorción superficial.

Tabla 5.2: Rugosidad de las películas

	PP	PPB	PPA	PPC	PPU
Rugosidad	19.05 nm	24.38 nm	93.40 nm	59.62 nm	28.50 nm
	PPMn	PPMnB	PPMnA	PPMnC	PPMnU
Rugosidad	9.45 nm	44.51 nm	375.90 nm	220.70 nm	113.2 nm

De las imágenes para las películas PP que interactuaron con los nucleósidos, podemos observar que PPA y PPC presentan recubrimientos de la superficie casi completos. En ciertas regiones, se alcanzan a distinguir algunas zonas irregulares que no fueron cubiertas por las moléculas dejando huecos distribuidos aleatoriamente. De igual manera, sobre la superficie de las películas de nucleósidos, se ven agregados alargados y amorfos a lo largo de la nueva interfase.

Por otro lado, PPU presenta un recubrimiento más uniforme de la superficie con agregados de tipo esférico y tamaños similares, distribuidos uniformemente por toda la interfase. En

algunas regiones, se puede ver el inicio del crecimiento de agregados de mayor tamaño. Estas observaciones concuerdan con el análisis de SEM. Además, a partir de la rugosidad de las películas podemos inferir que los crecimientos de adenosina y citosina son los más grandes, ya que estos valores de altura y rugosidad están por arriba de $1 \mu\text{m}$ y 50 nm , respectivamente, mientras que PPU tiene valores menores a 30 nm , muy cercanos al valor del buffer.

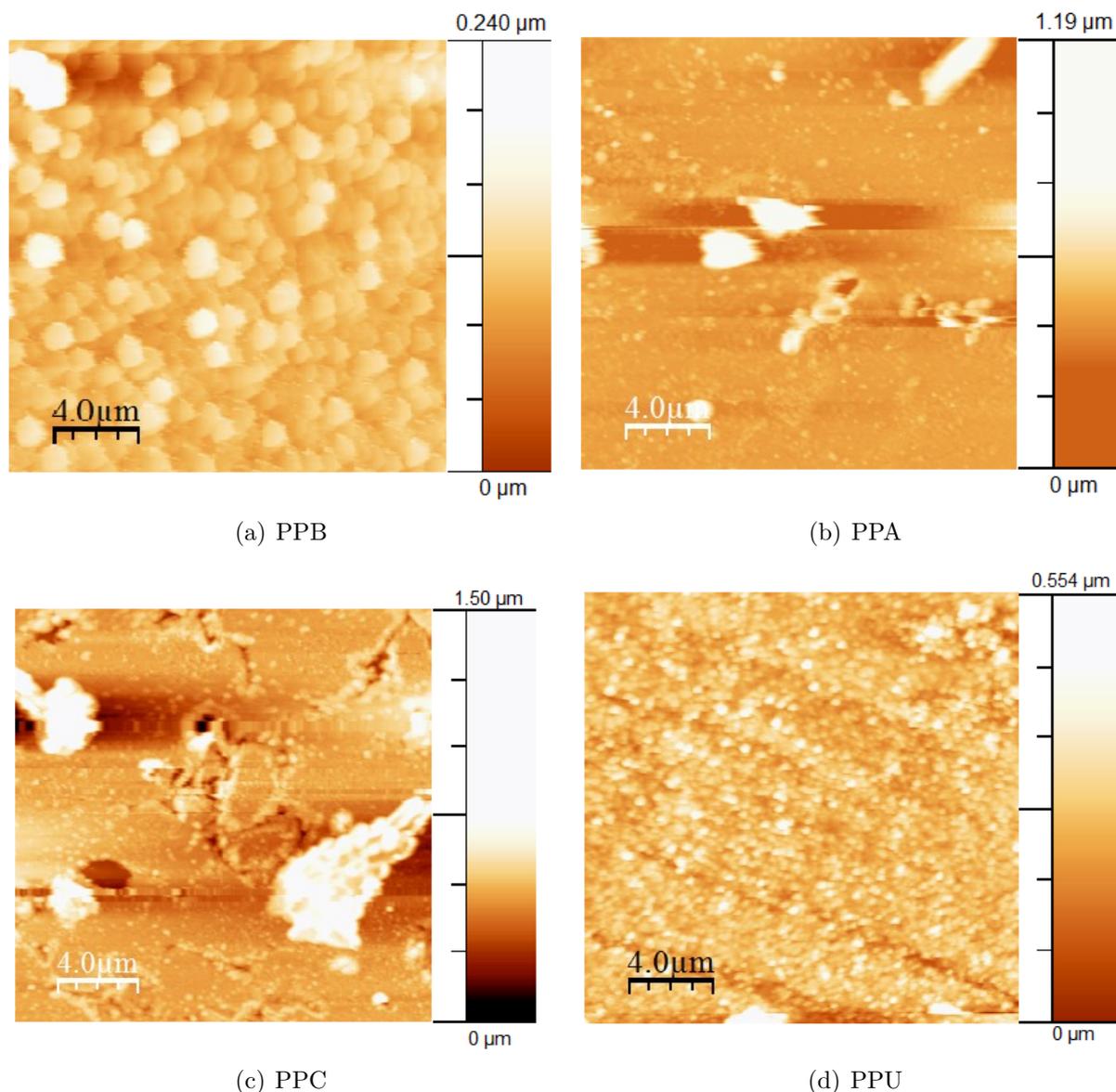


Figura 5.7: Imágenes de AFM para las películas PP que interactuaron con los diferentes nucleósidos

En el caso de PPMn (figura 5.8), también podemos notar un cambio a causa de la interacción con el buffer, ya que PPMnB no presenta la misma textura que PPMn. Este cambio a causa del buffer se puede deber, como ya se mencionó, a la hidrofobicidad de la película. Por otro lado, en PPMnA, PPMnC, y PPMnU podemos observar los crecimientos alargados que se observaron en SEM. Considerando los datos de rugosidad, la película más rugosa es la que interactuó con la adenosina, lo cual puede deberse a que siendo el nucleósido que se adsorbió menos, se encuentra más disperso a lo largo de la película.

De manera general, tanto en las películas de PP y PPMn vistas por AFM, podemos ver cambios en la textura, altura y rugosidad de las películas después de interactuar con las soluciones, por

lo que se puede decir que si hubo un fenómeno de adsorción en cada caso.

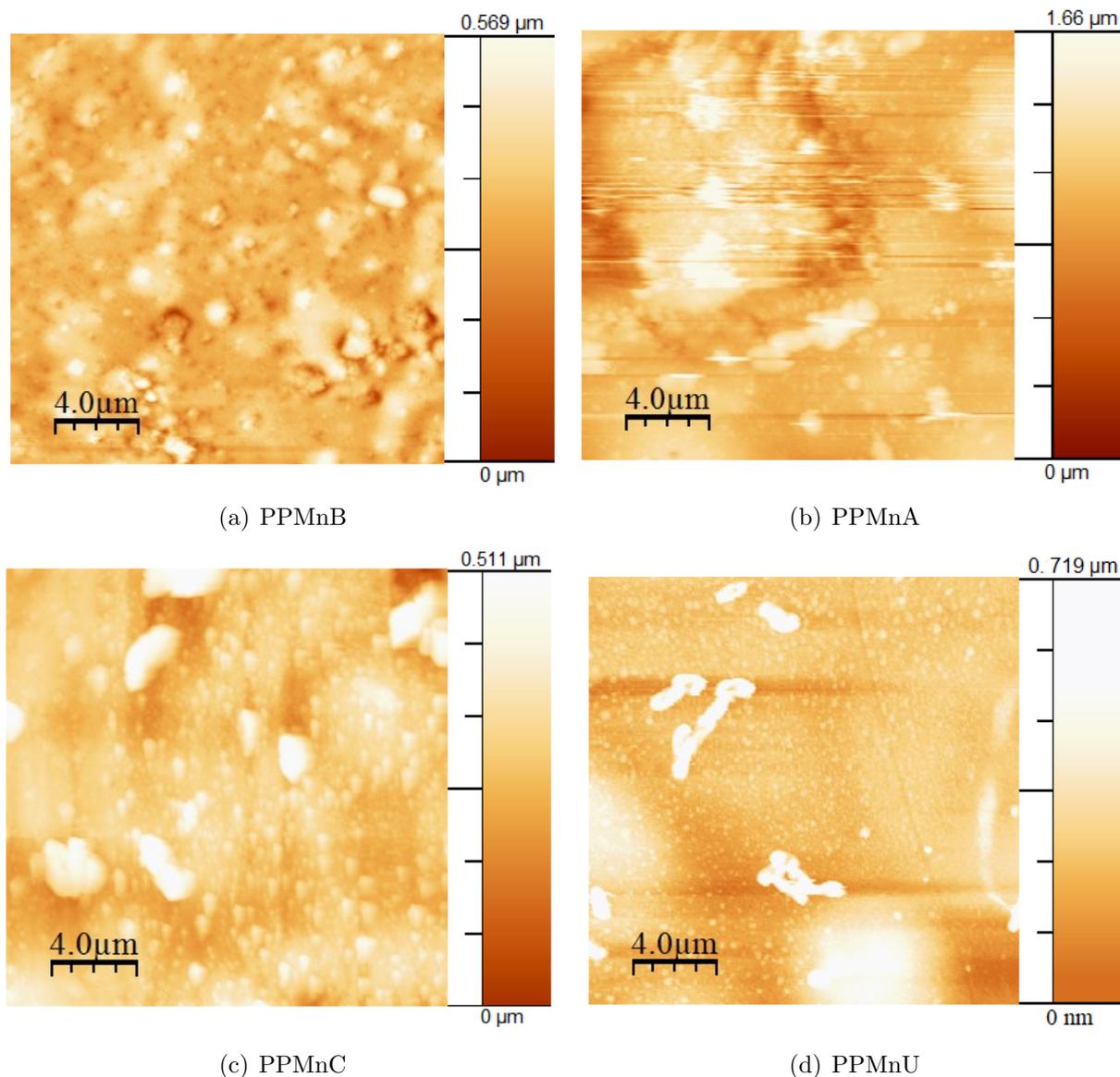


Figura 5.8: Imágenes de AFM para las películas PPMn que interactuaron con los diferentes nucleósidos

5.3. Cambios espectroscópicos

5.3.1. Espectros IR

El espectro obtenido para PP se presenta a continuación (figura 5.9). Como podemos observar, las señales en este espectro no son intensas y su interpretación se complica. Lo anterior, pudo deberse a que los estudios se realizaron en una región de la película de bajo espesor. Afortunadamente, el espectro obtenido para PPB está mejor definido, y las señales se encuentran en la misma posición que para el IR de PP, por lo que utilizaremos este espectro para identificar las señales características de la porfirina.

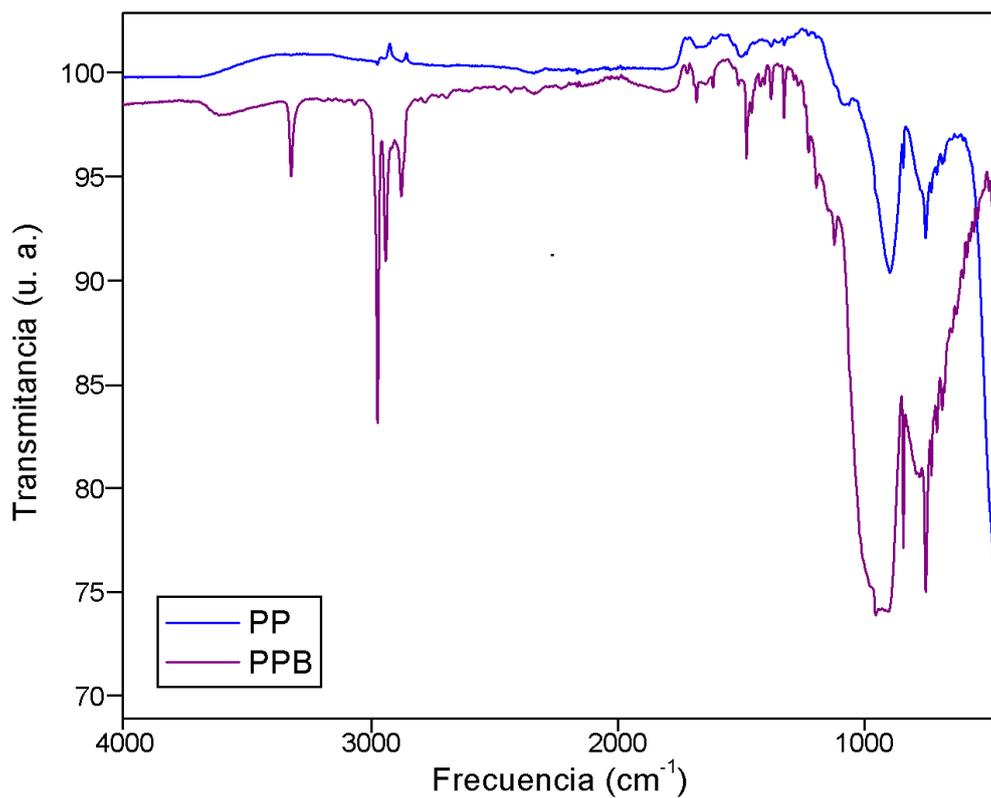


Figura 5.9: Espectros IR para PP y PPB

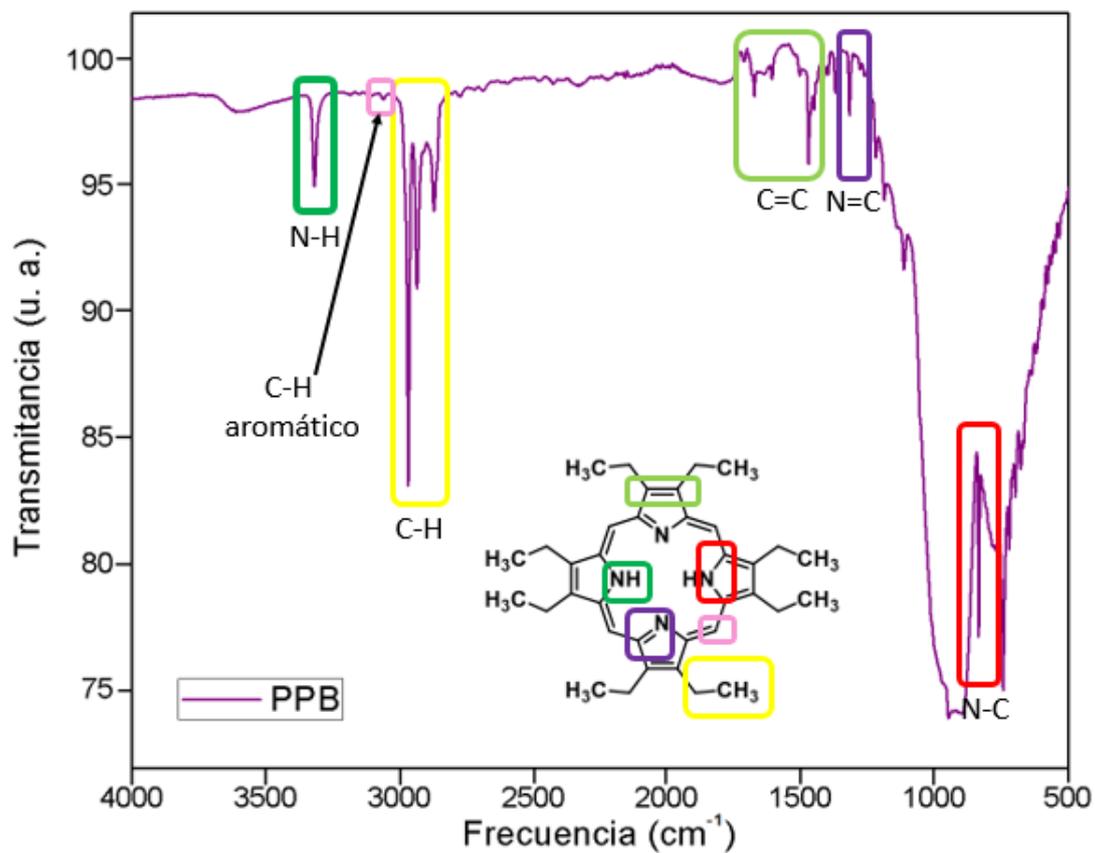


Figura 5.10: Análisis del IR correspondiente a PPB

En el espectro que corresponde a PPB (figura 5.10), podemos observar las señales características que corresponden al esqueleto de la porfirina como son los estiramientos para N-H, C-H aromático; C=C, N=C y N-C. También, se observan las señales correspondientes a los estiramientos C-H de las cadenas alifáticas.

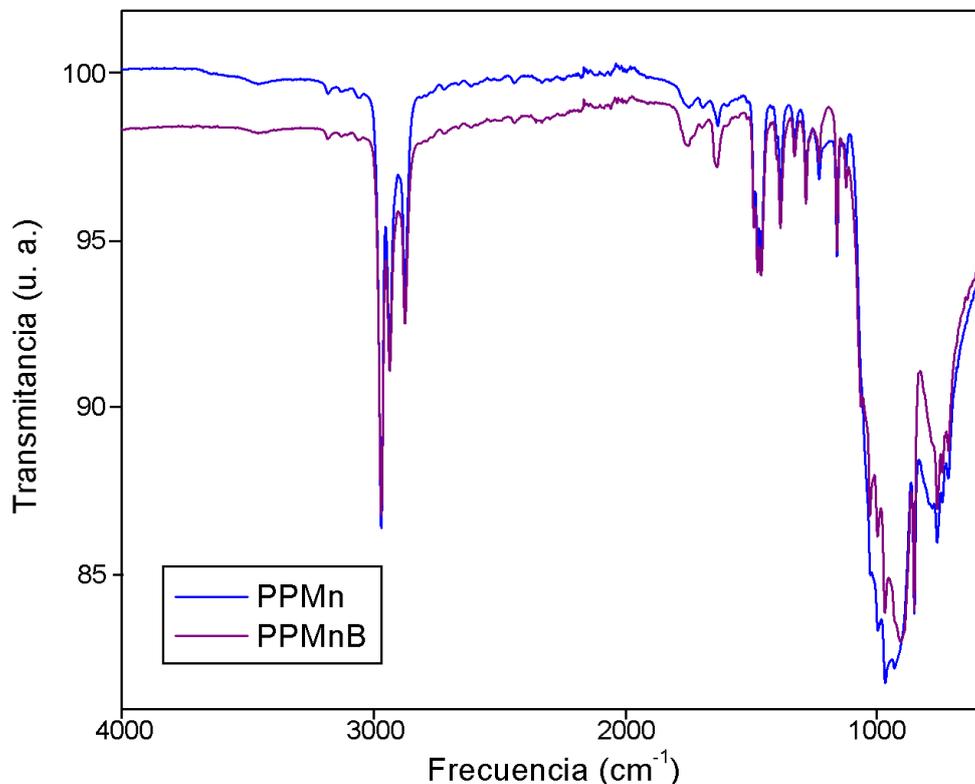


Figura 5.11: Espectros IR para PPMn y PPMnB

Por otro lado, los IR para PPMn y PPMnB se observan en la figura 5.11. En este caso, los dos espectros presentan señales intensas y bien definidas. Sin embargo, el análisis lo realizaremos con el IR de PPMnB para ser congruentes en nuestros análisis y resultados.

La figura 5.12 corresponde al IR de PPMnB, en el que podemos observar las señales características correspondientes al esqueleto de la porfirina (N-H, C-H aromático; C=C, N=C y N-C), así como los estiramientos C-H, señales de las cadenas alifáticas. Por otro lado, la señal correspondiente al estiramiento Mn-Cl que se observa a frecuencias entre 300-200 cm⁻¹, [55] no fue posible detectarlo, ya que el equipo que se utilizó no tiene una ventana tan amplia para observar esta señal. Finalmente, en valores alrededor de 475 cm⁻¹ se alcanzan a ver algunas señales que podrían corresponder al estiramiento Mn-N, pero ya que el equipo no alcanza a cubrir todo el rango en donde pueden aparecer estas señales, no podremos concluir que este pico corresponda a ese enlace.

Los IR de PPB y PPMnB son prácticamente iguales entre sí, aunque las principales diferencias entre ellos son la señal alrededor de 3400 cm⁻¹ en PPB que corresponde al estiramiento N-H, y la señal en 475 cm⁻¹ del IR de PPMnB, la cual corresponde al estiramiento Mn-N.

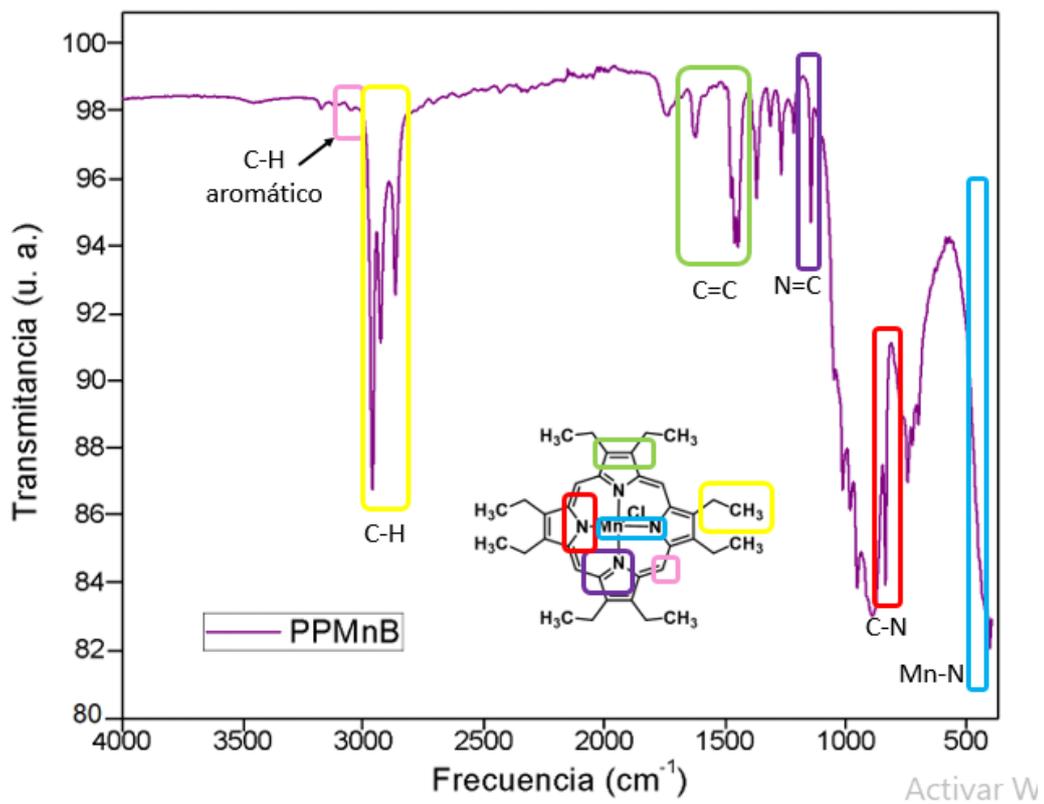


Figura 5.12: Análisis del IR correspondiente a PPMnB

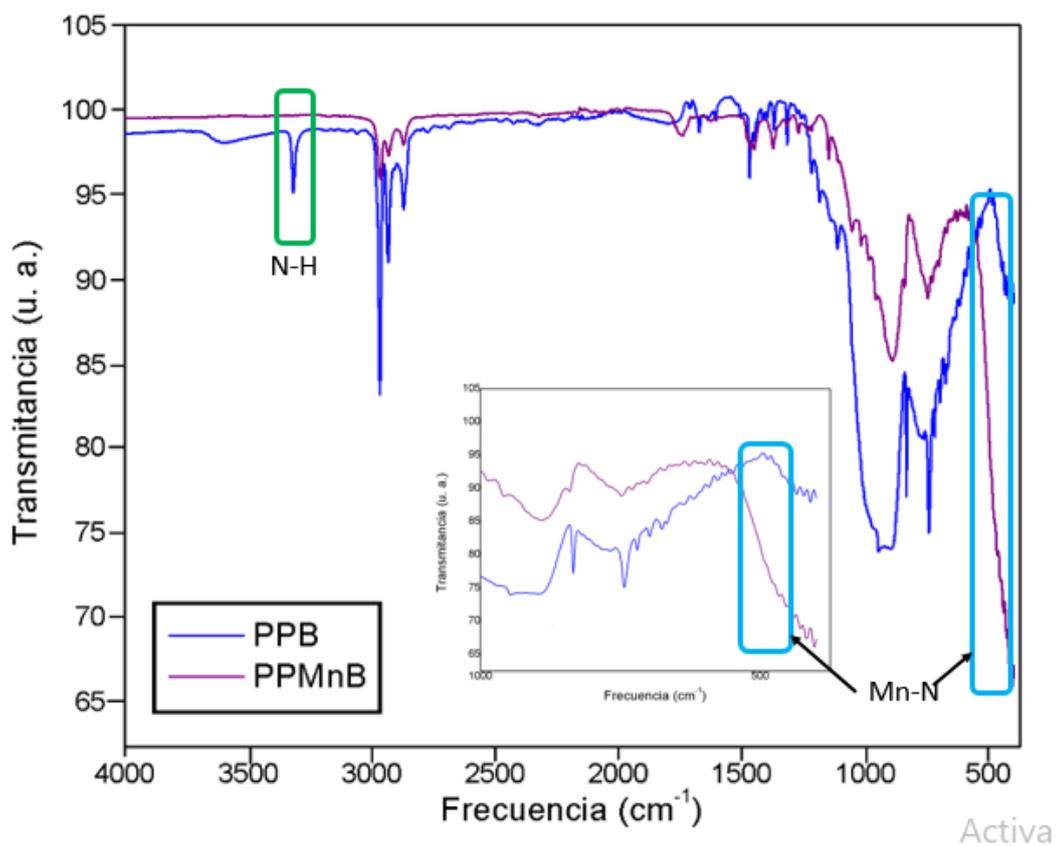


Figura 5.13: Comparación entre los IR de PPB y PPMnB

A continuación, se presentarán los espectros IR obtenidos de la interacción de las películas con los nucleósidos. Para facilitar el análisis de los mismos, se dividirán en secciones donde se observaron las señales representativas de las porfirinas.

IRs obtenidos de la interacción de PP con los nucleósidos

En la figura 5.14 podemos observar los espectros IR para las películas PP que interactuaron con los diferentes nucleósidos. A simple vista, los espectros correspondientes a la interacción con los nucleósidos presentan señales menos intensas, lo cual probablemente esté relacionado al depósito del nucleósido sobre la película.

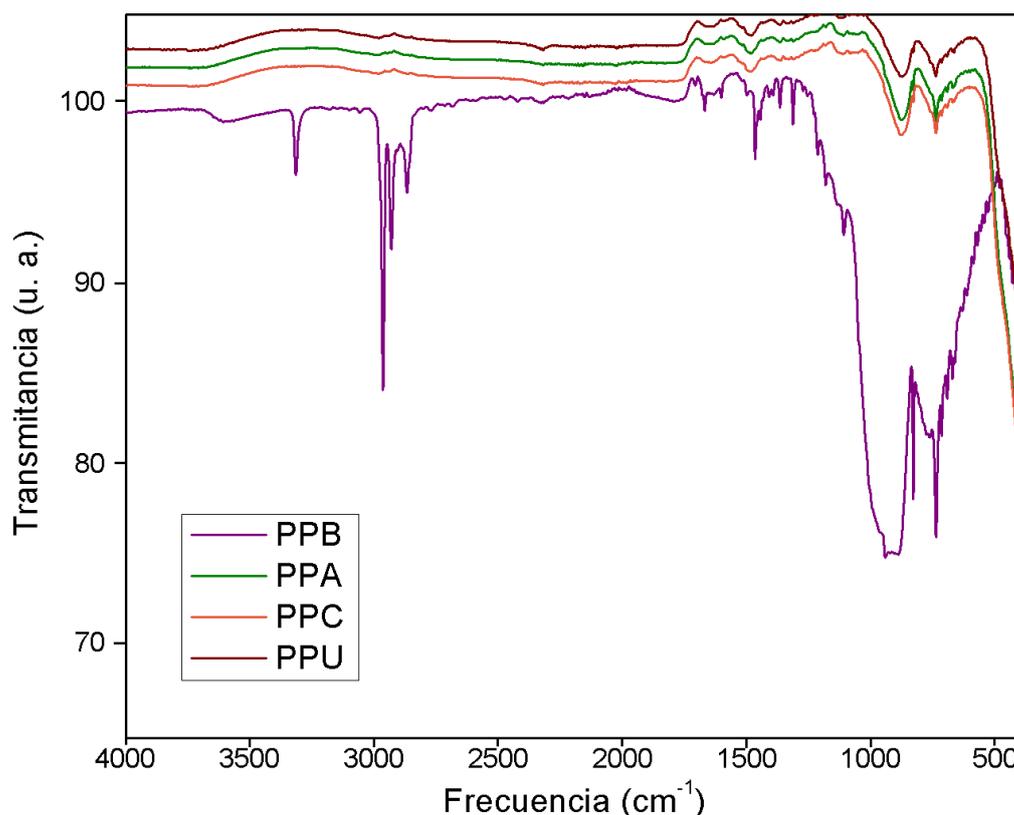


Figura 5.14: IRs obtenidos para las películas PP que interactuaron con los diferentes nucleósidos

La primera zona del espectro que analizaremos corresponde a la que se encuentra en las frecuencias más altas (figura 5.15). En esta región, podemos apreciar que las señales que corresponden al estiramiento C-H en las cadenas alifáticas y la señal C-H aromático, prácticamente desaparecen. Lo anterior, se puede deber a que al adsorberse los nucleósidos en la película interfieren con estas señales. El mismo fenómeno lo podemos observar con la señal del estiramiento N-H. Estos resultados son iguales para los sistemas PPA, PPC y PPU.

La siguiente zona a analizar es la que se observa en la figura 5.16. En esta región podemos observar que las señales que corresponden al estiramiento C=C de la porfirina desaparecen. Así mismo, la señal que corresponde al estiramiento N=C se mantiene, pero es menos intensa. No se observa la aparición de señales nuevas.

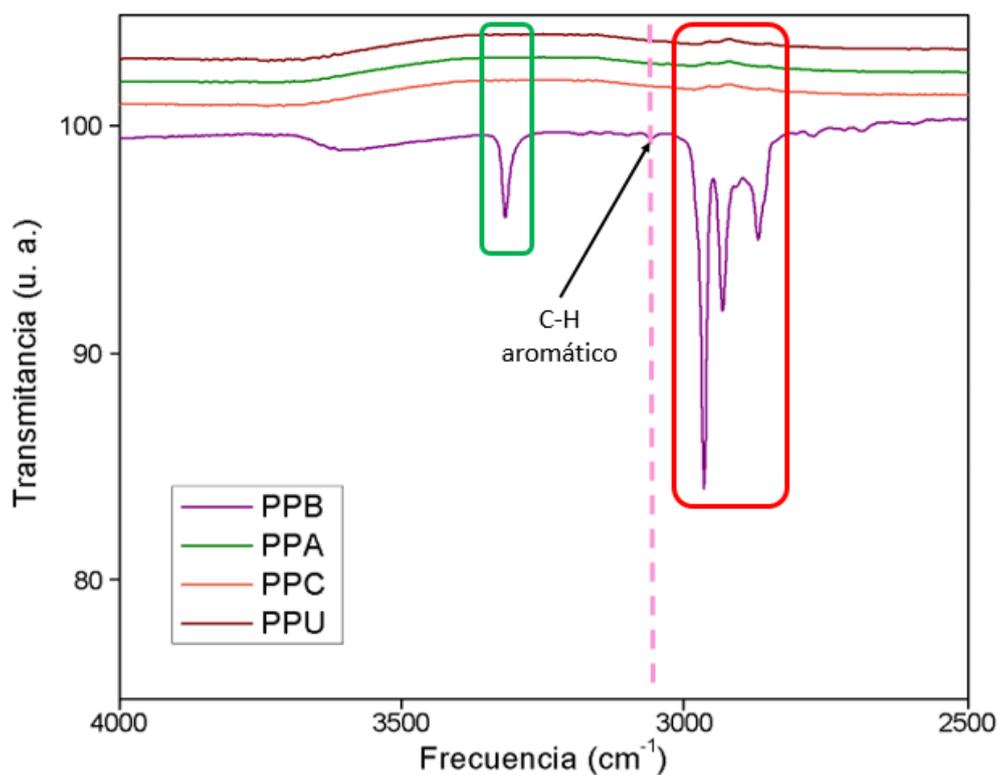


Figura 5.15: Análisis Zona I de los IRs que corresponde a la interacción de PP con diferentes nucleósidos

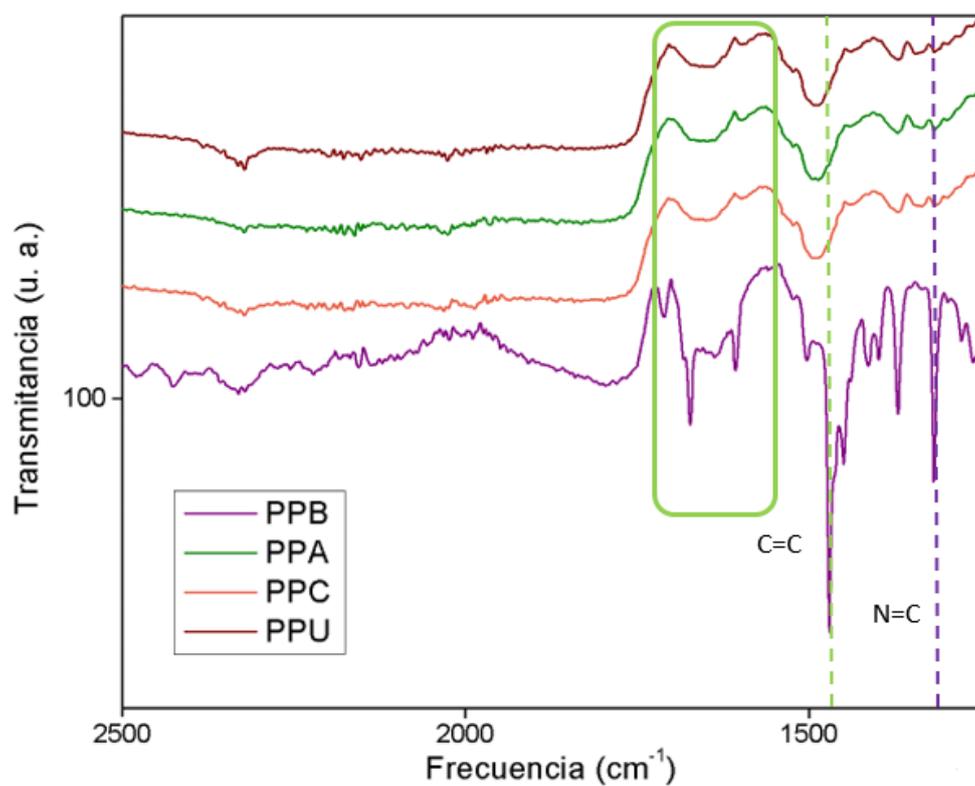


Figura 5.16: Análisis Zona II de los IRs correspondientes a la interacción de PP con diferentes nucleósidos

Finalmente, en la figura 5.17, se muestra las señales de la Zona III, las cuales se mantienen para todos los sistemas. No se aprecia la aparición de alguna señal nueva ni tampoco el desplazamiento de señales.

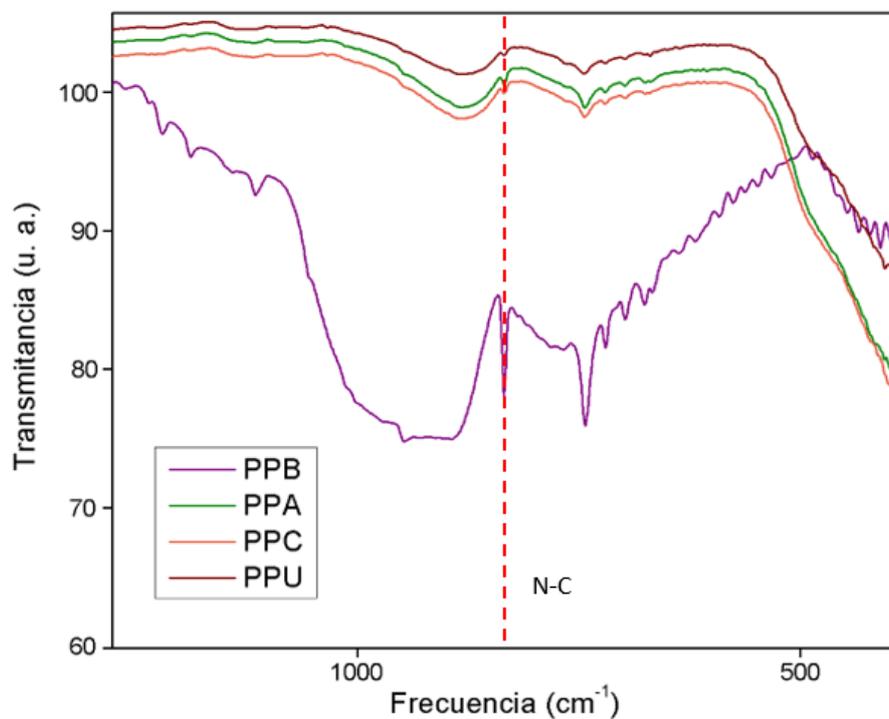


Figura 5.17: Análisis Zona III de los IRs correspondientes a la interacción de PP con diferentes nucleósidos

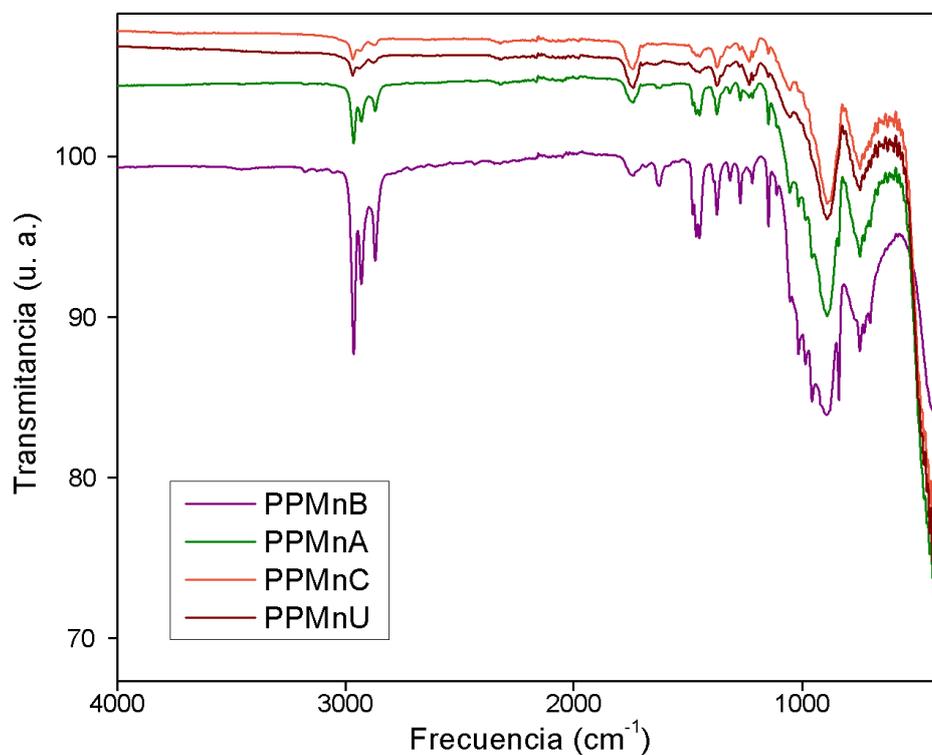


Figura 5.18: IRs obtenidos para las películas PPMn que interactuaron con los diferentes nucleósidos

IRs obtenidos de la interacción de PPMn con los nucleósidos

Al igual que en el caso anterior, a simple vista los IRs obtenidos de la interacción de los nucleósidos con PPMn (figura 5.18) presentan señales poco intensas.

En la zona de frecuencias mayores (figura 5.19) podemos observar las señales correspondientes al estiramiento C-H de las cadenas alifáticas. Aun así, en la citidina y la uridina son muy poco intensas. De los resultados anteriores se pudo determinar que estos nucleósidos son los que más se adsorben sobre esta película. Por lo cual, es lógico que interfieran con la señal. Por otro lado, si ponemos atención en la señal que corresponde al estiramiento C-H aromático, podemos observar que en las películas que adsorbieron los nucleósidos desaparece dicha señal.

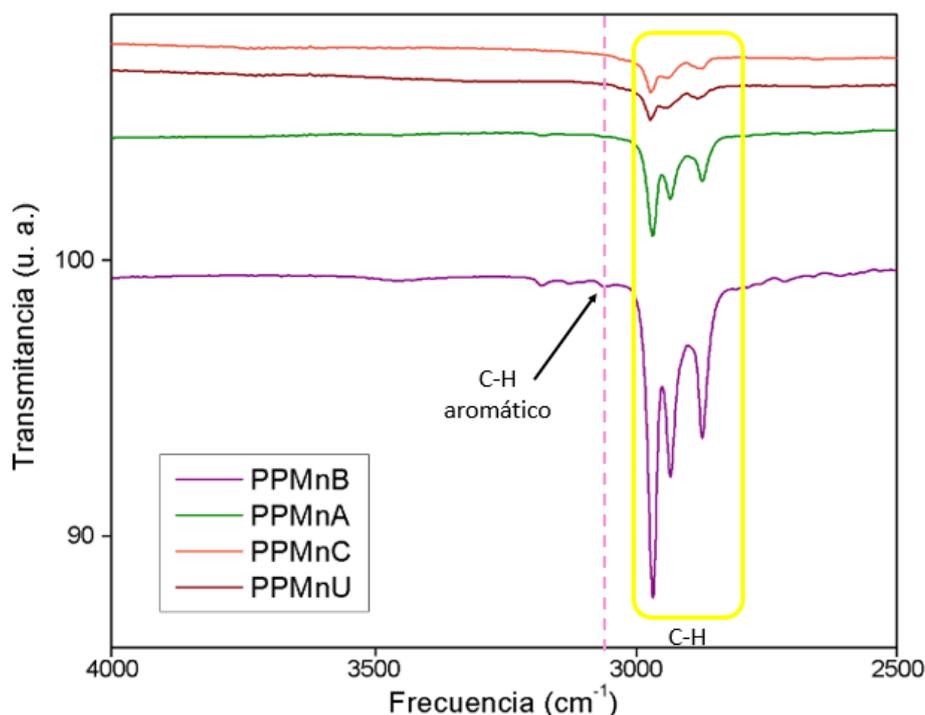


Figura 5.19: Análisis Zona I de los IRs correspondientes a la interacción de PPMn con diferentes nucleósidos

En la siguiente zona a analizar (figura 5.20), podemos observar que la señal que se encuentra alrededor de 1700 cm^{-1} es más intensa para PPMnC y PPMnU. Lo anterior, se puede deber a que los nucleósidos con los que interactuó la película presentan un grupo carbonilo, y la señal podría superponerse con la señal correspondiente al estiramiento C=C. También podemos observar que la señal cercana a 1600 cm^{-1} , que también corresponde al estiramiento C=C, desaparece en PPMnC y PPMnU.

Las señales que se encuentran por 1500 cm^{-1} se conservan en todas las películas, pero son menos intensas y definidas dependiendo del nucleósido con el que hayan interactuado. En esta parte del espectro también podemos observar la aparición de nuevas señales en 1232 y 1348 cm^{-1} , las cuales asignamos al estiramiento C-O y C-N, grupos presentes en los nucleósidos adsorbidos.

Finalmente, la señal que corresponde al estiramiento C=N se mantiene, pero es menos intensa en las películas que interactuaron con los nucleósidos. Como ya se explicó anteriormente, se puede deber a que la presencia de estas moléculas interfiere con esta señal de la porfirina.

La última zona del espectro a analizar la podemos apreciar en la figura 5.21. En ella, se observa que la señal que corresponde al estiramiento C-N en la porfirina disminuye su intensidad hasta

prácticamente desaparecer. Por otro lado, aparece una nueva señal en los espectros correspondientes a las películas que interactuaron con los nucleósidos que asignaremos a su estiramiento C-N.

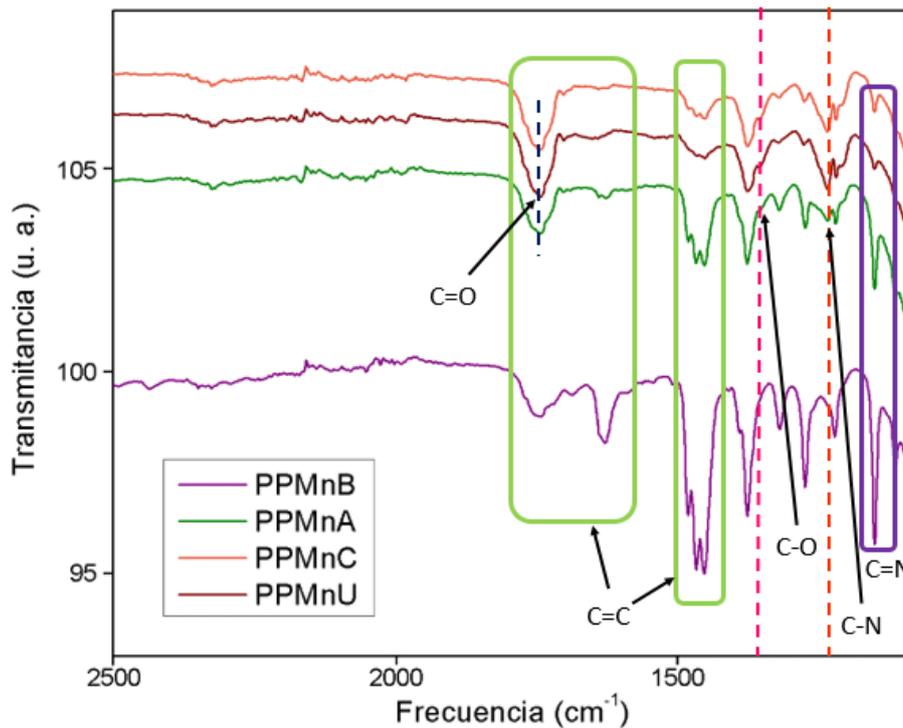


Figura 5.20: Análisis Zona II de los IRs correspondientes a la interacción de PPMn con diferentes nucleósidos

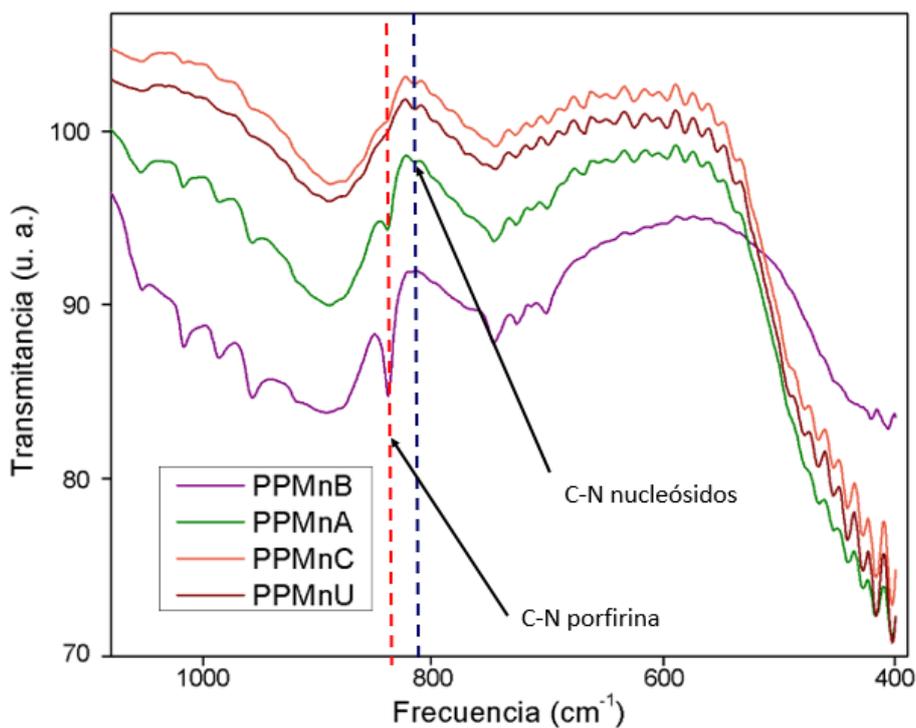


Figura 5.21: Análisis Zona II de los IRs correspondientes a la interacción de PPMn con diferentes nucleósidos

De los resultados obtenidos en esta sección es importante resaltar que, a diferencia de lo encontrado en los IRs para PP, los espectros aquí presentes tienen señales nuevas que corresponde a los nucleósidos. Lo anterior, concuerda con lo ya observado, puesto que PPMn adsorbió una mayor cantidad de cada uno de los nucleósidos a diferencia de PP donde se adsorbió menos cantidad, por lo que es lógico que las señales que corresponden a los grupos funcionales de éstos sean detectables por espectroscopia IR.

5.3.2. Espectros UV-Vis

En el espectros de absorbancia obtenidos para PP (figura 5.22), podemos ver las señales características de la porfirina. La banda de Soret tiene su máximo de absorbancia en 387 nm, mientras que las cuatro bandas Q se encuentran entre los 490-673 nm. Este espectro nos indica que las propiedades de adsorción de las películas es muy buena, ya que todas las señales se definen muy bien.

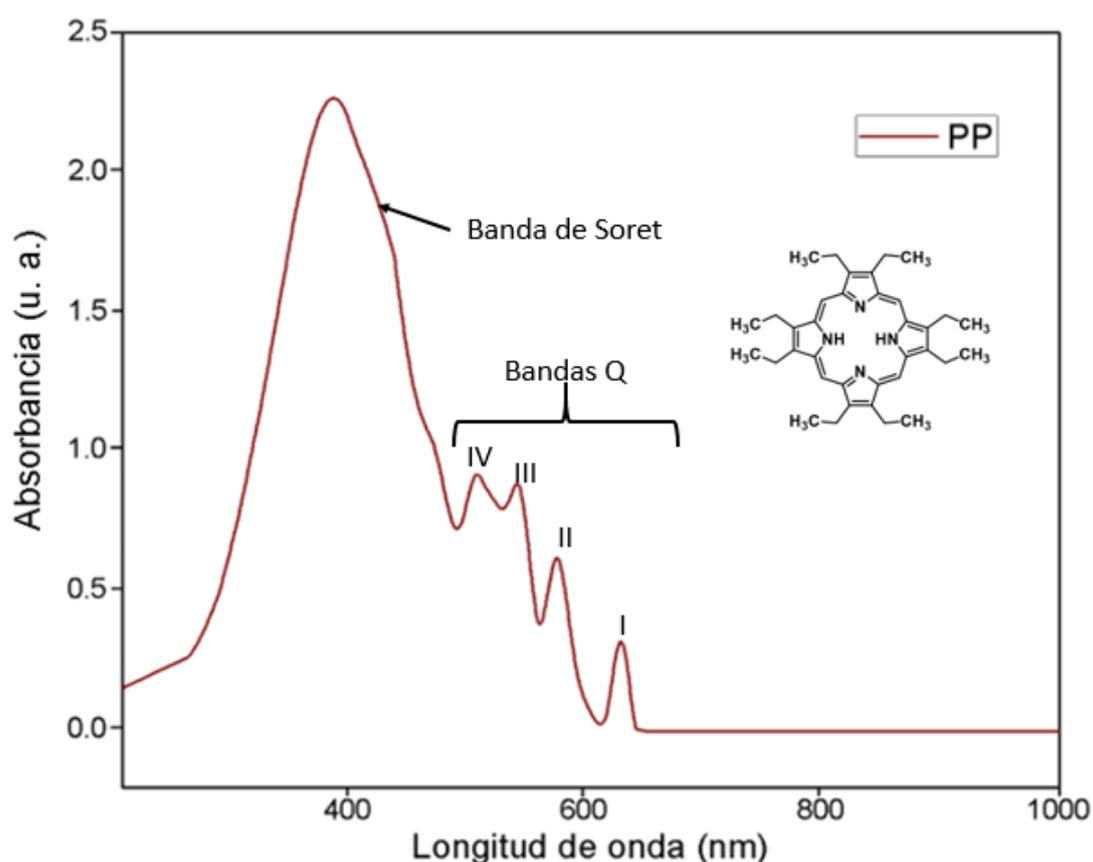


Figura 5.22: Espectro de absorbancia de PP

El espectro de absorción correspondiente a PPMn se muestra en la figura 5.23. En este espectro podemos observar que el máximo de la banda de Soret se encuentra en 359 nm. Por otro lado, el número de bandas Q se reduce a dos, lo cual indica que nuestra metaloporfirina es regular. Aquí, la banda α (474 nm) es más intensa que la banda β (566 nm). Esto quiere decir, que el Mn(III) forma un cuadrado plano estable con la porfirina.

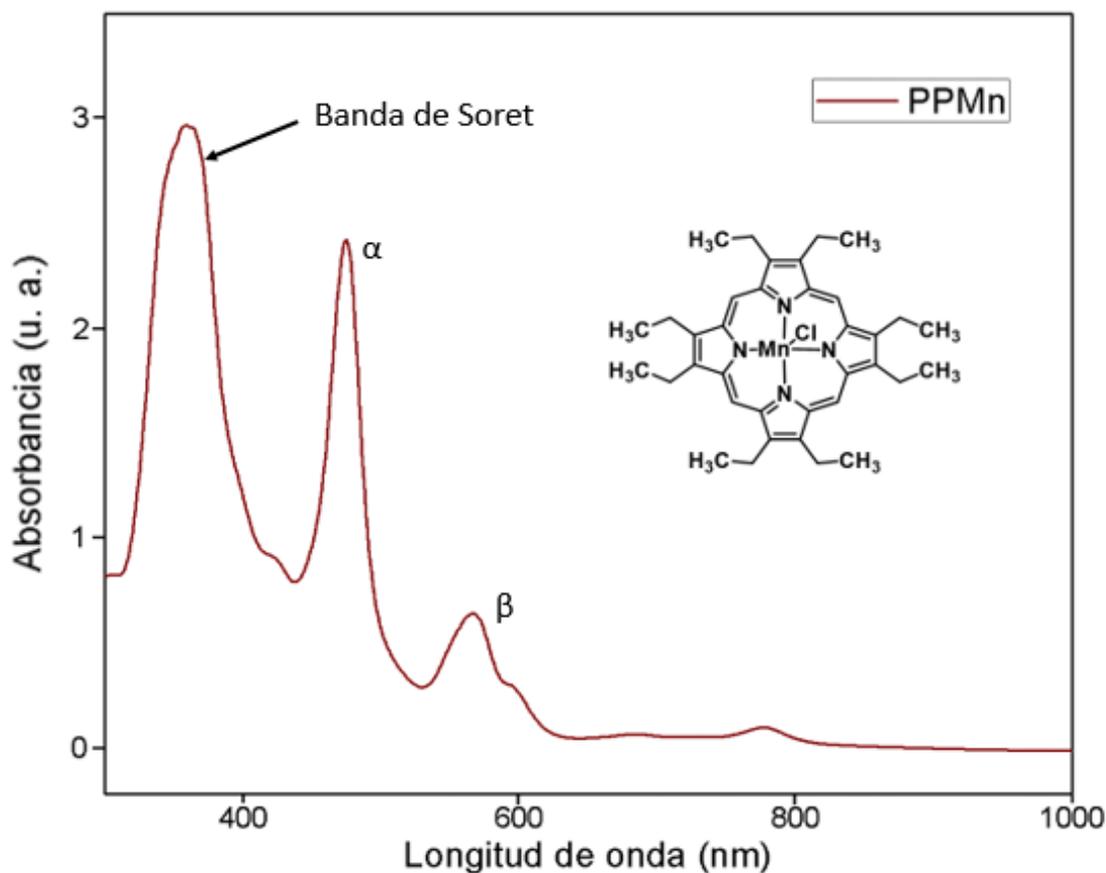


Figura 5.23: Espectro de absorción de PPMn

Análisis de los espectros de absorción obtenidos de la interacción entre PP y los nucleósidos

En la figura 5.24 podemos observar la comparación entre los espectros de absorción de PP, PPB, PPA, PPC y PPU. En todos ellos se pueden observar la banda de Soret y las bandas Q. La banda de Soret para PPB, PPC y PPU presentan un desplazamiento hipsocrómico con respecto a PP. El que PPB presente este desplazamiento indica que la interacción con el buffer cambia las propiedades de absorción de la película, lo cual coincide con los resultados obtenidos hasta el momento, puesto que en todos los casos se ha observado que el buffer cambia las propiedades de la película inicial. El máximo de la banda de Soret para PPB se encuentra en 373 nm con una intensidad de 1.9 u. Estos cambios probablemente se deban a un mejor apilamiento π entre las porfirinas depositadas en la película. Las bandas Q para PPB se encuentran en los mismos valores de longitud de onda que PP.

Para tener un análisis más detallado de los cambios en los espectros de absorción de PPA, PPC y PPU, estos se analizarán por separado y se compararán contra PP y PPB, respectivamente.

La figura 5.25 nos muestra el espectro de absorción correspondiente a PPA donde el máximo de absorción de la banda de Soret para esta película se encuentra en 393 nm, mientras que la intensidad de absorción es de 1.62 u. Si comparamos estos valores con los de PP, podemos observar que la banda de Soret de PPA sufre un desplazamiento batocrómico de 6 nm mientras que la intensidad de la señal es menor. Ahora bien, si hacemos la comparación contra PPB también observamos un desplazamiento batocrómico de 20 nm de la banda de Soret de PPA, y al igual que en PP, la intensidad de la señal es menor. Los cambios en las bandas Q corresponden a

un desplazamiento batocrómico de la II y uno hipsocrómico de la III, que resultan del reacomodo de las cadenas laterales de la porfirina en la película.

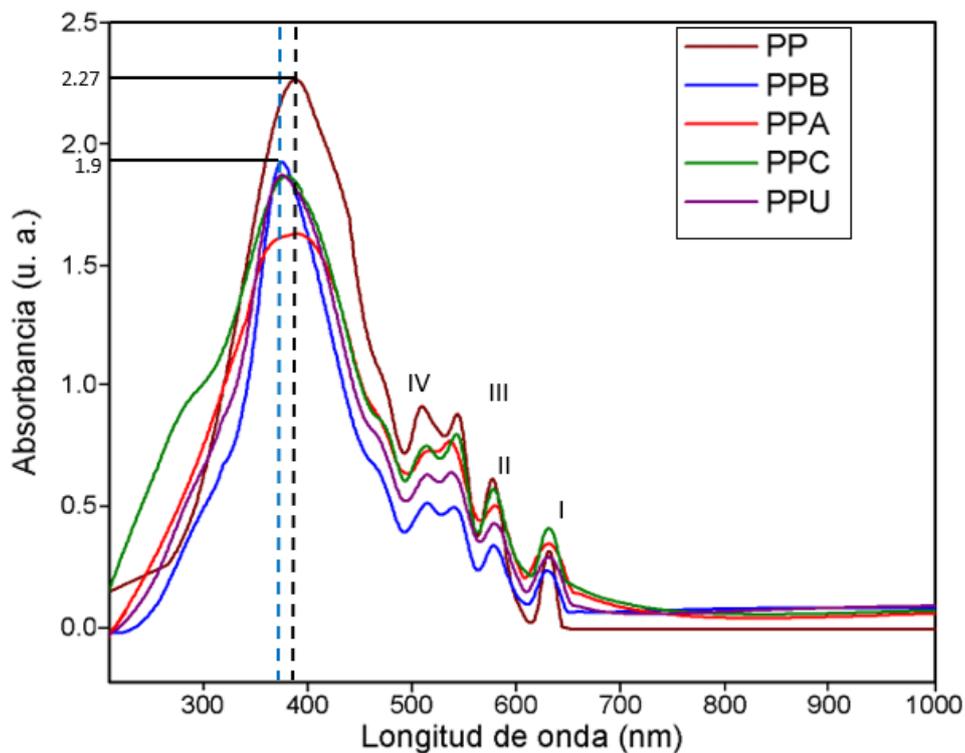


Figura 5.24: Comparación de los espectros de absorción para PP, PPB y las películas que interactuaron con los nucleosidos

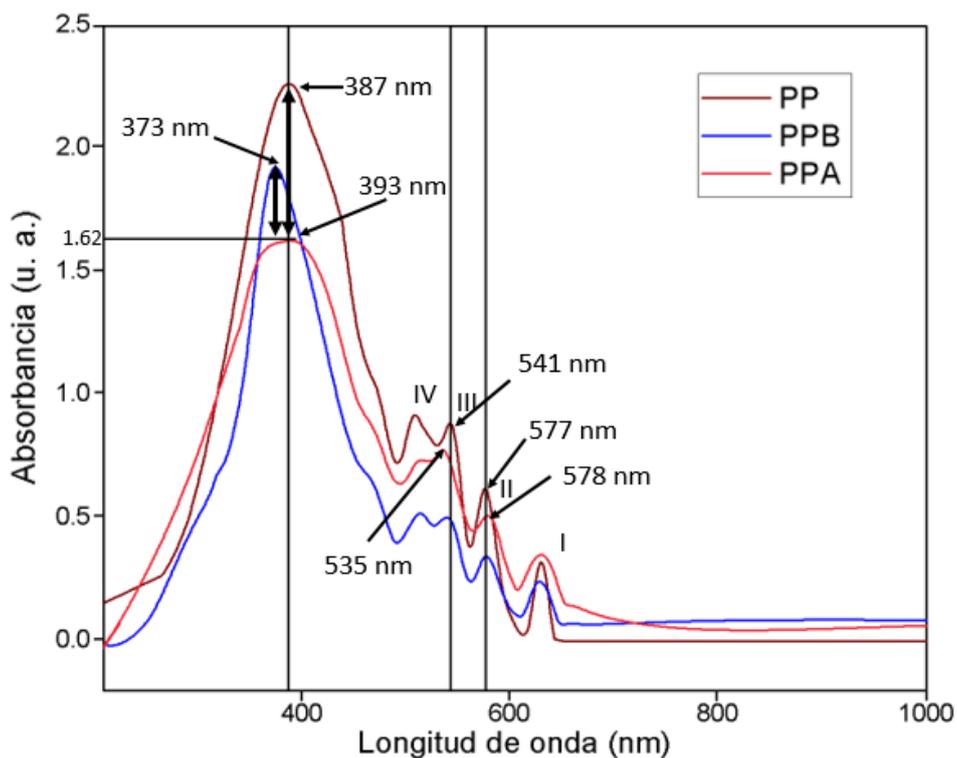


Figura 5.25: Análisis del espectro de absorción de PPA

A continuación se presenta el espectro de absorción para PPC (figura 5.26). En éste, podemos observar que el máximo de absorción para la banda de Soret se encuentra en 378 nm con una intensidad de 1.87 u. Comparando estos resultados con PP, vemos que PPC presenta un desplazamiento hipsocrómico de la banda de Soret de 9 nm y la intensidad de la señal disminuye. Mientras que al comparar los resultados con PPB, observamos que la banda de Soret de PPC sufre un desplazamiento batocrómico de 5 nm con una intensidad ligeramente menor. Las bandas Q de PPC realmente no sufren ningún cambio relevante, únicamente II se desplaza ligeramente a longitudes de onda mayores.

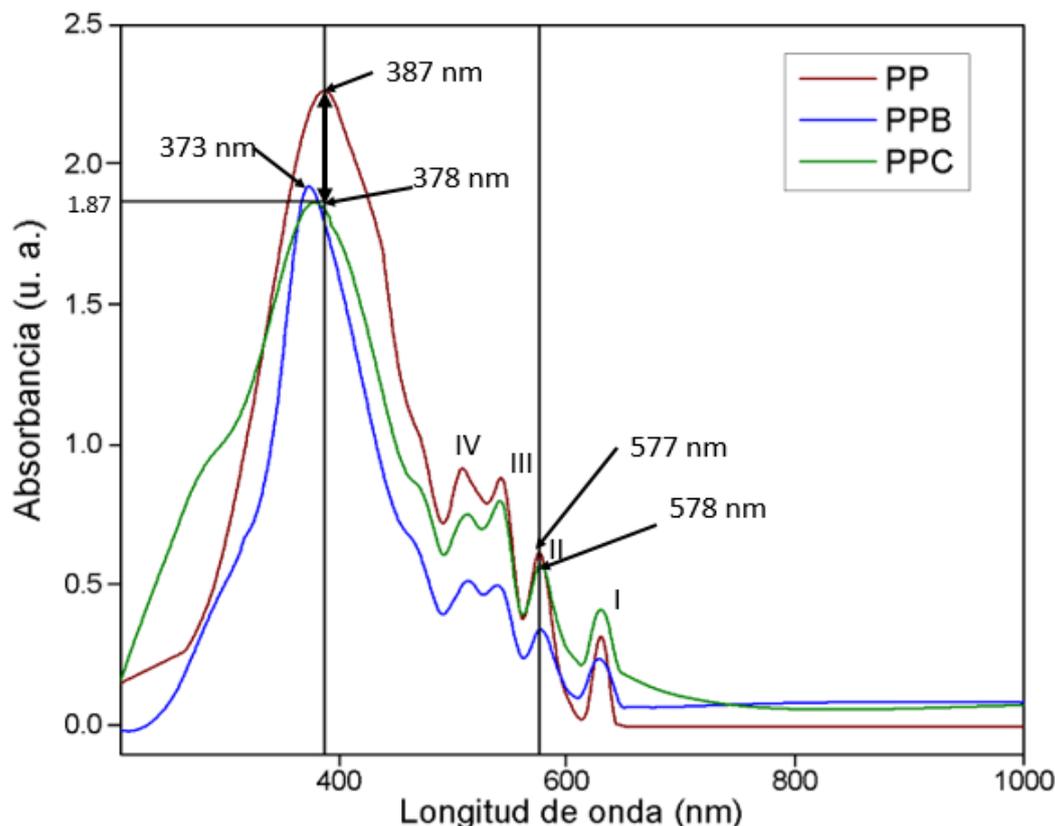


Figura 5.26: Análisis del espectro de absorción de PPC

La figura 5.27 corresponde al espectro de absorción de PPU. Para esta película, el máximo de absorción de la banda de Soret se encuentra en 373 nm con una intensidad de 1.86 u, lo que implica un desplazamiento hipsocrómico y una disminución de la intensidad de la señal respecto a PP. Al comparar con PPB, el máximo de absorción de la banda de Soret se encuentra a la misma longitud de onda, pero la intensidad de la señal es ligeramente menor. En las bandas Q podemos observar dos cambios importantes, la banda III presenta un desplazamiento hipsocrómico, mientras que la II tiene un ligero corrimiento al rojo.

De acuerdo con lo encontrado en la literatura, la presencia de interacciones $\pi - \pi$ entre las porfirina y diversos agentes nucleicos resulta en desplazamientos batocrómicos, así como hipocromismo (disminución de la intensidad de las señales), de la banda de Soret de la porfirina. [43] Teniendo esto en mente y considerando los datos colocados en la tabla 5.3, podemos determinar que todos los nucleósidos estudiados presentan cierta interacción $\pi - \pi$ con la película de porfirina, pero la adenosina, por mucho, es el nucleósido que interactúa con más fuerza. Lo anterior, coincide con el hecho de que este sea de los nucleósidos que más se adsorbió en la película.

En el caso de las bandas Q, el cambio que observamos en los espectros, también está relacionado

con las interacciones entre los nucleósidos y la película de porfirina.

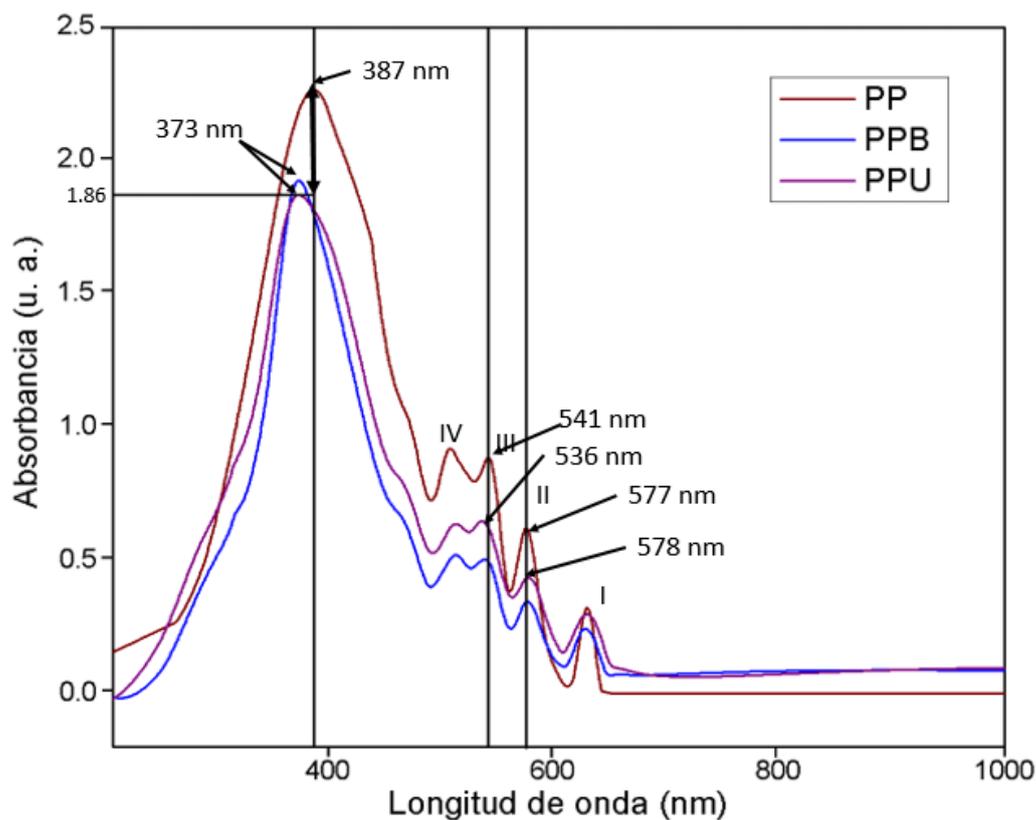


Figura 5.27: Análisis del espectro de absorción de PPU

Tabla 5.3: Cambios observados en los espectros de PPA, PPC y PPU

Banda de Soret					
Desplazamiento					
	PPA		PPC	PPU	
PP	Desplazamiento batocrómico		Desplazamiento hipsocrómico	Desplazamiento hipsocrómico	
PPB	Desplazamiento batocrómico		Desplazamiento hipsocrómico	Sin desplazamiento	
Diferencia de Intensidades					
PP	0.65		0.40	0.41	
PPB	0.28		0.03	0.04	
Bandas Q					
	PPA		PPC	PPU	
	II	III	II	II	III
PP	Desplazamiento batocrómico	Desplazamiento hipsocrómico	Desplazamiento batocrómico	Desplazamiento batocrómico	Desplazamiento batocrómico
PPB	Desplazamiento batocrómico	Desplazamiento hipsocrómico	Desplazamiento batocrómico	Desplazamiento batocrómico	Desplazamiento batocrómico

Análisis de los espectros de absorbancia obtenidos de la interacción entre PPMn y los nucleósidos

En la figura 5.28 se encuentran todos los espectros de absorción obtenidos para PPMn, PPMnB y para las películas que interactuaron con cada uno de los nucleósidos. A simple vista podemos observar que hay cambios muy interesantes en todos los espectros.

Al igual que en PP, la interacción de PPMn con el buffer (PPMnB) cambia la intensidad de la banda de Soret, pero la posición del máximo de absorción para esta señal no cambia. El cambio en la intensidad antes mencionado probablemente se deba a que la interacción con el buffer mejore la señal de las porfirinas que se encuentran en la interfase. Las bandas Q no cambian la posición del máximo de absorción, pero si la intensidad de estas señales. Esto coincide con los resultados obtenidos hasta el momento, ya que se ha observado que las propiedades de PPMn cambian al interactuar con el buffer.

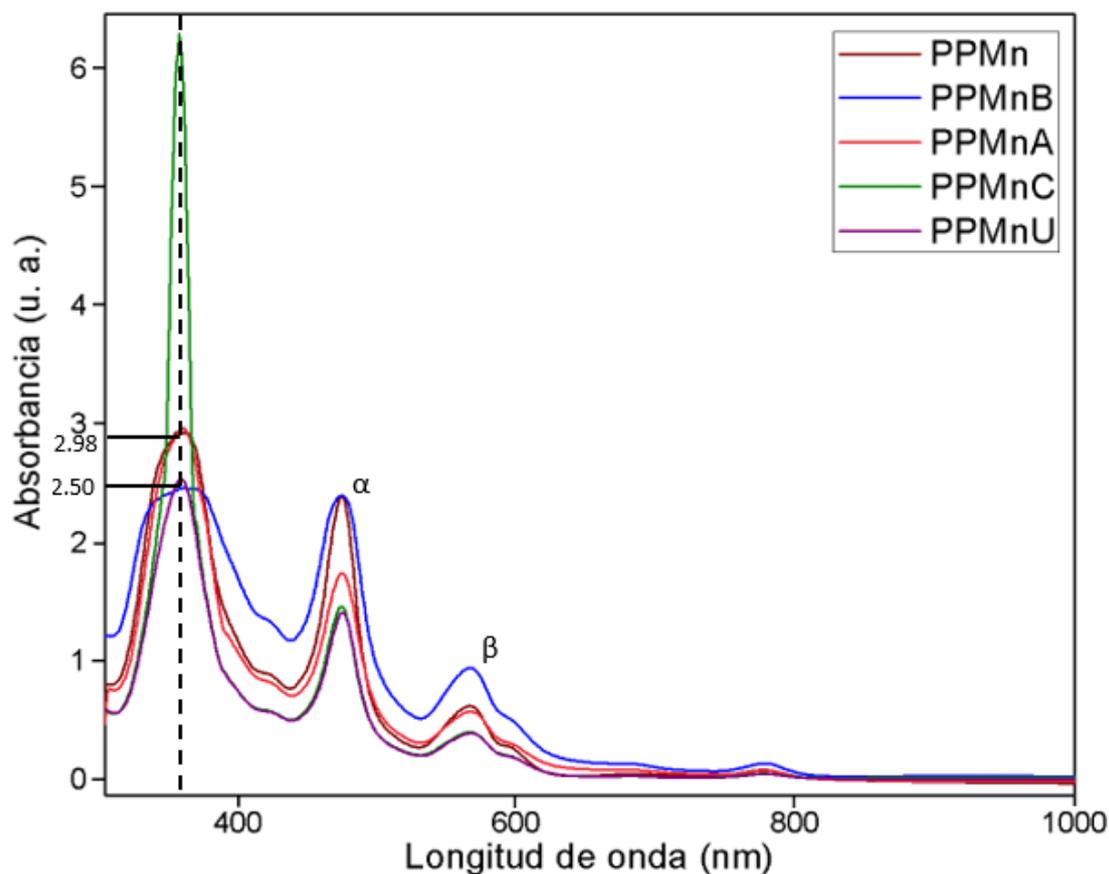


Figura 5.28: Comparación de los espectros de absorción para PPMn, PPMnB y las películas que interactuaron con los nucleósidos

El análisis de PPMnA, PPMnC y PPMnU se realizará por separado, y se comparará contra PPMn y PPMnB, respectivamente.

El espectro de absorción para PPMnA se aprecia en la figura 5.29. En él podemos observar que la banda de Soret sufre un desplazamiento batocrómico de 3 nm, pese a ello, la intensidad de ésta es mayor a la de PPMn y PPMnB (0.01 y 0.49 u), respectivamente. Por otro lado, también podemos ver un desplazamiento batocrómico de la banda β.

La figura 5.30 corresponde al espectro de absorción de PPMnC. En él, podemos observar que no hay desplazamiento de ninguna de las señales. Sin embargo, el cambio más notorio es en la banda de Soret que aumenta drásticamente su intensidad y no es tan ancha en comparación con PPMn y PPMnB. Lo anterior, podría indicar un mejor acoplamiento electrónico entre el nucleósido y la porfirina.

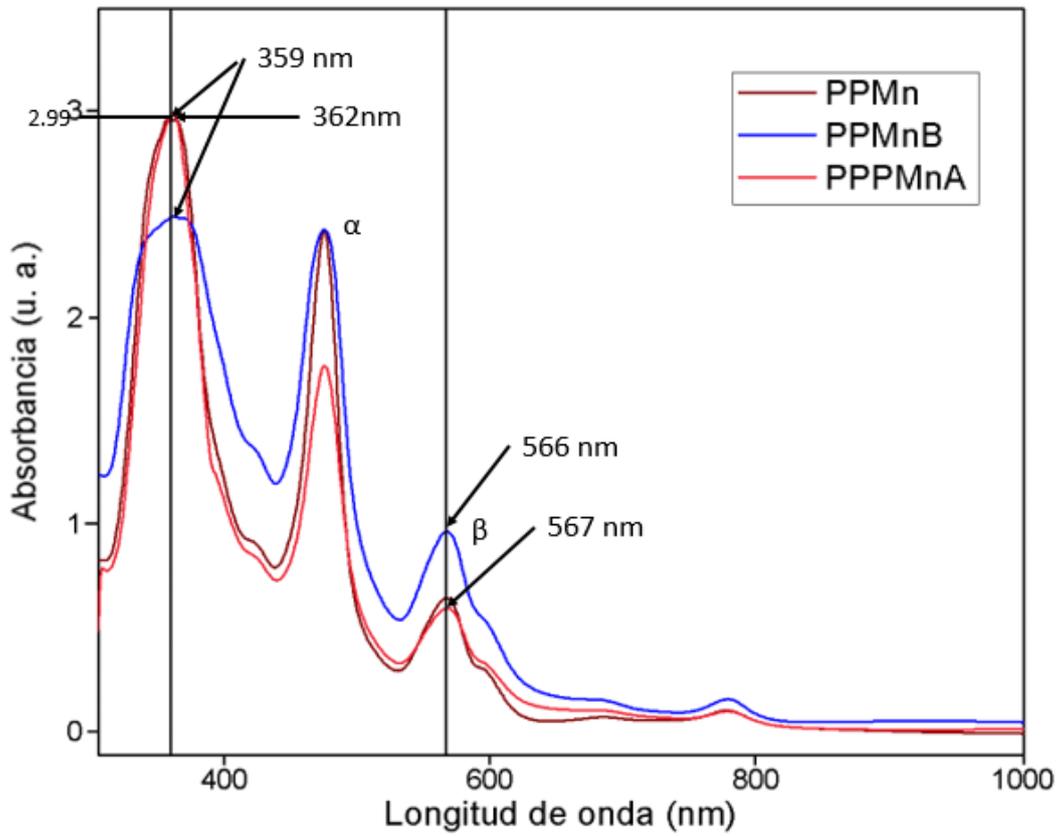


Figura 5.29: Análisis del espectro de absorción de PPMnA

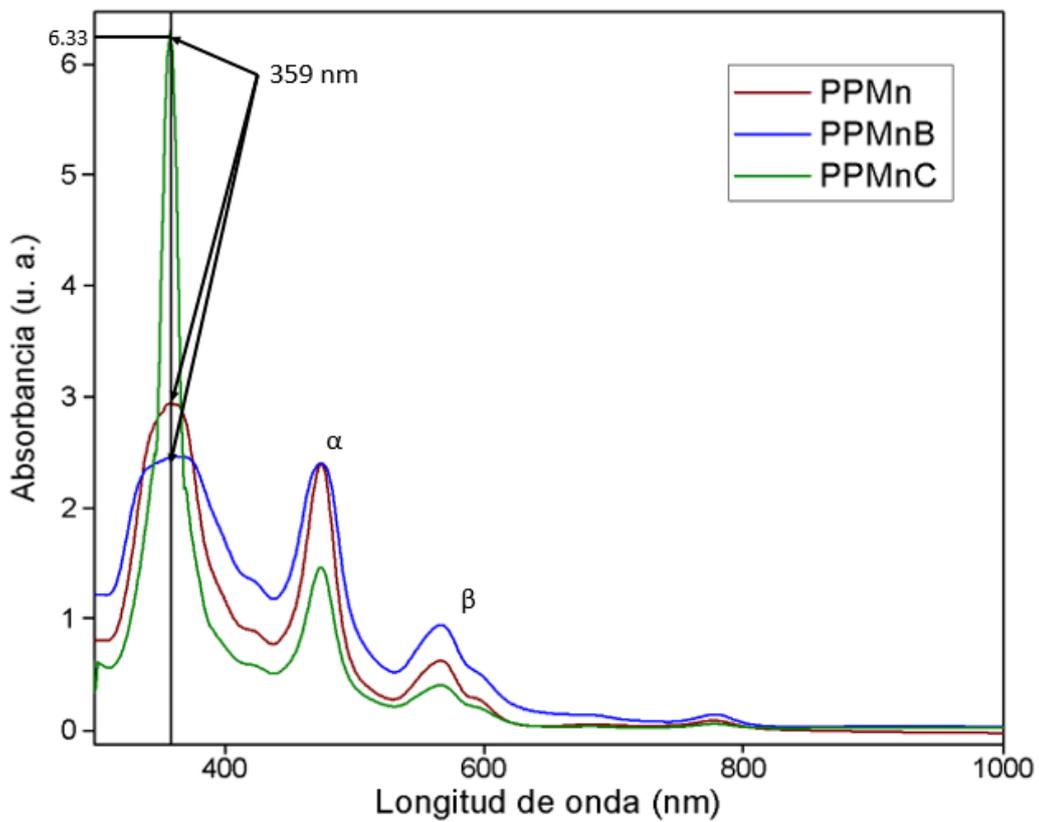


Figura 5.30: Análisis del espectro de absorción de PPMnC

Como podemos observar en la figura 5.31, el espectro correspondiente a PPMnU presenta cambios en las bandas Q, ya que tienen un ligero desplazamiento batocrómico de 2 (α) y 3 nm (β), respectivamente. La banda de Soret no sufre ningún desplazamiento, pero si disminuye su intensidad si la comparamos con respecto a PPMn. Además, aumenta ligeramente su intensidad al comparar con PPMnB.

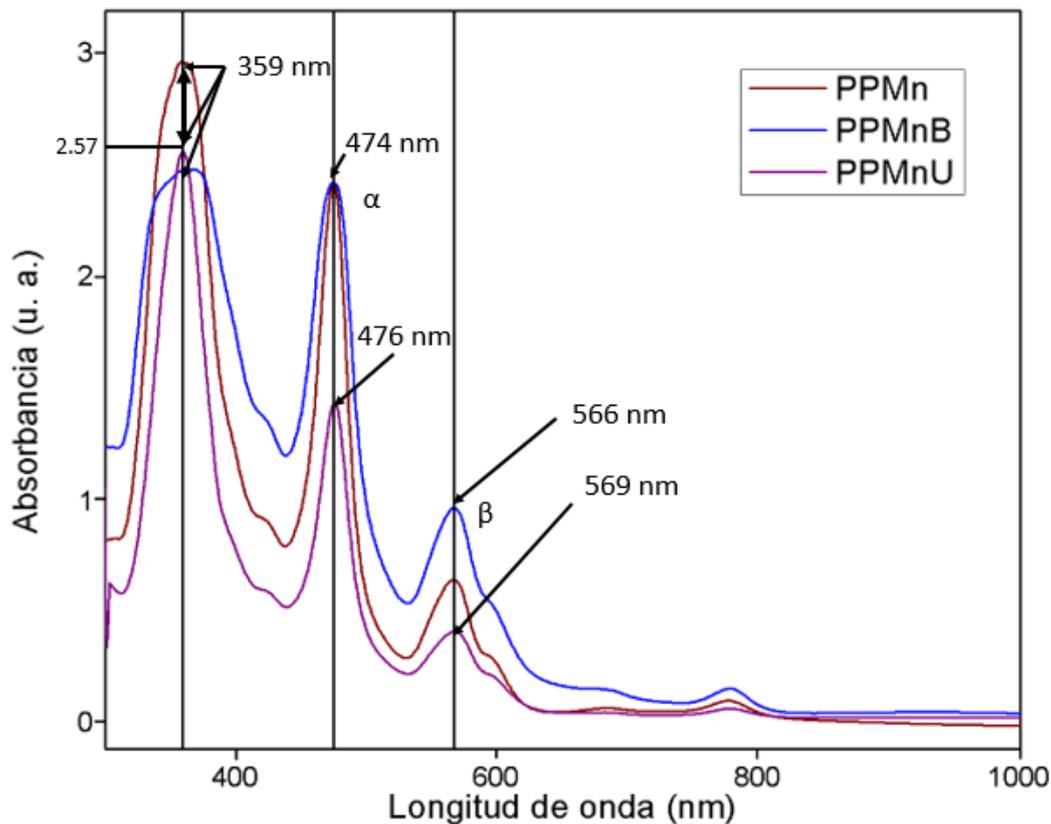


Figura 5.31: Análisis del espectro de absorción de PPMnU

Tabla 5.4: Cambios observados en los espectros de PPA, PPC y PPU

Banda de Soret			
Desplazamiento			
	PPMnA	PPMnC	PPMnU
PPMn	Desplazamiento batocrómico	Sin desplazamiento	Sin desplazamiento
PPMnB			
Diferencia de Intensidades			
PPMn	-0.01	-3.35	0.41
PPMnB	-0.49	-3.83	-0.07
Bandas Q			
	PPMnA	PPMnC	PPMnU
	α	No hay cambios	α β
PPMn	Desplazamiento batocrómico		Desplazamiento batocrómico
PPMnB			

En la tabla 5.4 se resumen los cambios espectroscópicos causados por la interacción de las películas con cada uno de los nucleósidos. El signo negativo en las diferencias de intensidades

indica que la intensidad de la señal para la película-nucleósido es mayor a la de PPMn o PPMnB. De acuerdo con esta tabla, PPMnA y PPMnC tienen un aumento en la intensidad de la banda de Soret, lo cual no ocurre con PPMnU. Si recordamos la estructura de estos nucleósidos, la adenosina y la citidina tienen una sección muy parecida, sin contar a la ribosa, (figura 5.32), la cual, probablemente influya en la interacción con la película. Posiblemente, estos nucleósidos estén formando un enlace de coordinación con el Mn, que sea el causante del aumento de intensidad de la señal. Lo anterior, ya que se sabe que la interacción de metaloporfirinas con aminas puede provocar este tipo de cambio en el espectro de absorción [49]. Considerando que; entre la adenosina y la citidina; la citidina se adsorbe más en la película y que es la que causa un mayor incremento de la banda de Soret es razonable pensar que este nucleósido forma un enlace de coordinación más estable con el Mn.

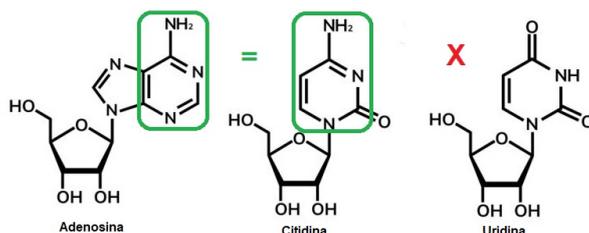


Figura 5.32: Comparación de las estructuras de la adenina, citidina y uracil

En el caso de PPMnU, los cambios observados en el espectro concuerdan con una interacción $\pi - \pi$ entre la metaloporfirina y el nucleósido. Esta interacción es bastante estable, ya que es el nucleósido que más se adsorbe sobre la película.

5.4. Pruebas de conductividad

En esta sección, solo se presentará el resumen de los resultados obtenidos. Los datos completos se encuentran en el Apéndice B.

Primero, vamos a analizar cómo es la respuesta de las películas PP y PPMn en comparación con el ITO. En la figura 5.33, podemos apreciar que las dos películas conducen y esta conducción es distinta a la del ITO por sí solo. Para las dos películas, podemos observar que ambas presentan una respuesta prácticamente lineal. Aunque, PP tiene una resistencia mucho mayor a PPMn, lo cual es bastante lógico, ya que el centro metálico en PPMn aumenta el número de electrones en el sistema, y por lo tanto, favorece el transporte de carga.

Para que el análisis de la interacción de las películas con los nucleósidos sea más sencillo, se realizará por separado para cada porfirina.

Resultados obtenidos para PP

En el caso de esta porfirina podemos observar que aún después de la interacción con el buffer (PPB) y los nucleósidos, la película sigue siendo conductora y la conducción mejora notablemente (figura 5.34). Esta mejora probablemente se deba a dos causas principales: (1) la interacción con el buffer modificó el arreglo de las porfirinas cerca de la interfase en la película (como se observó en las imágenes de AFM), y (2) los nucleósidos que se adsorbieron, únicamente citidina y uridina, se apilaron de tal forma que promovieron el paso de corriente.

Como pudimos observar en resultados anteriores, los nucleósidos forman interacciones $\pi - \pi$ con PP. Ahora bien, la citidina y la uridina se depositaron más uniformemente que la adenosina,

por lo cual, la conducción de estos arreglos fue mejor.

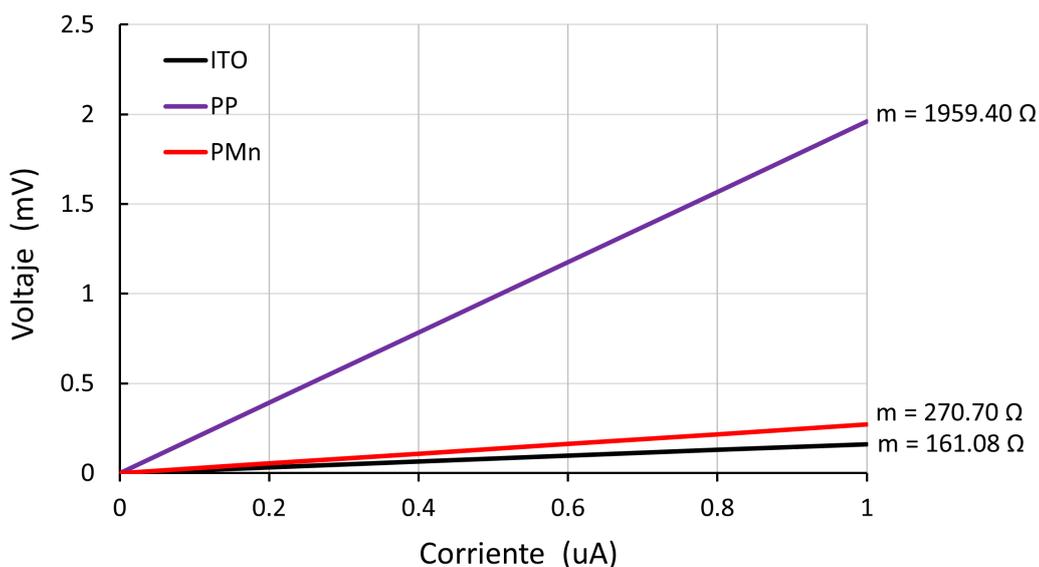


Figura 5.33: Gráfica comparativa I vs V de ITO, PP y PPMn

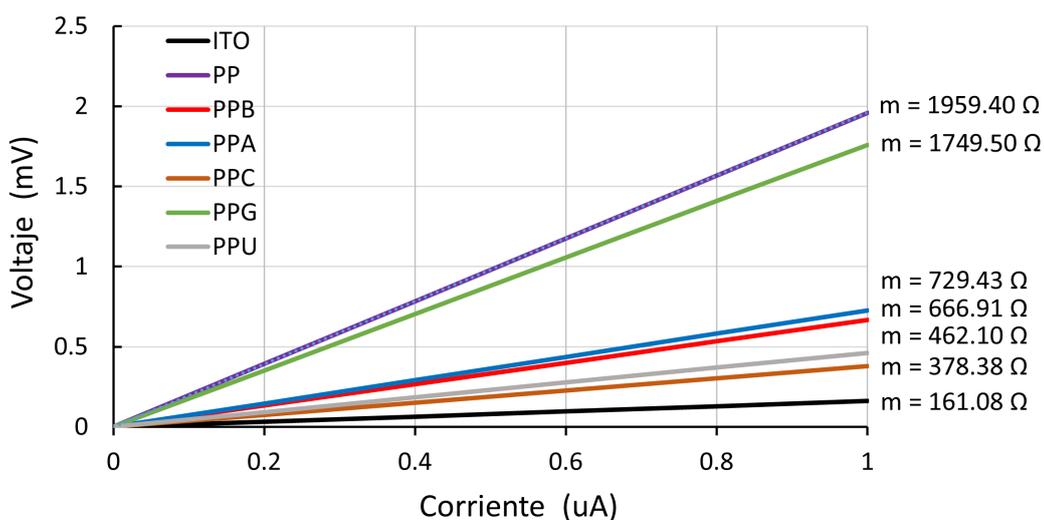


Figura 5.34: Gráfica I vs V para PP. Las diferentes curvas corresponden a la película pura e interaccionado con el buffer y los nucleósidos

Resultados obtenidos para PPMn

En el caso de PPMn, en la figura 5.35 a simple vista podemos observar que tanto la película sumergida solo en buffer (PPMnB), como las que interactuaron con los nucleósidos, tienen una pendiente mayor a la de PPMn, es decir, la película tiene una resistencia mayor después de sumergirse en las diferentes disoluciones.

PPMnA permite más paso de corriente que PPMnC y PPMnU. Estos resultados son bastante lógicos, ya que si recordamos las imágenes de SEM, los sitios de nucleación para la citidina y la uridina estaban dispersos por toda la película y se veían bastante desordenados. Por otro lado, para la adenosina, estos centros de crecimiento estaban más ordenados. Adicionalmente, la

adenosina fue el ácido nucleico que se depositó menos sobre la película, por lo cual, es razonable que interfiera menos con el paso de corriente eléctrica.

A pesar de que PPMnU es el nucleosido que más se depositó sobre la película, PPMnC presenta una mayor resistencia. Lo anterior, de acuerdo con los resultados de UV-Vis, la citidina forma enlaces de coordinación con Mn muy fuertes, cosa que no sucede con la uridina. Por otro lado, en el caso particular de PPMnG observamos que esta película tiene una menor resistencia que PPMnA a pesar de que la guanosina se adsorbió más sobre la película. Lo anterior, se puede deber a que la interacción entre la película y el nucleósido promueve el paso de corriente más eficientemente que en el caso de PPMnA

También, podemos observar que PPMnG tiene una pendiente menor a PPMnB, lo cual, podría ser el resultado de un mejor apilamiento de PPMnG. Lo anterior, podría compensar los pequeños cambios estructurales provocados por sumergir la película en el buffer.

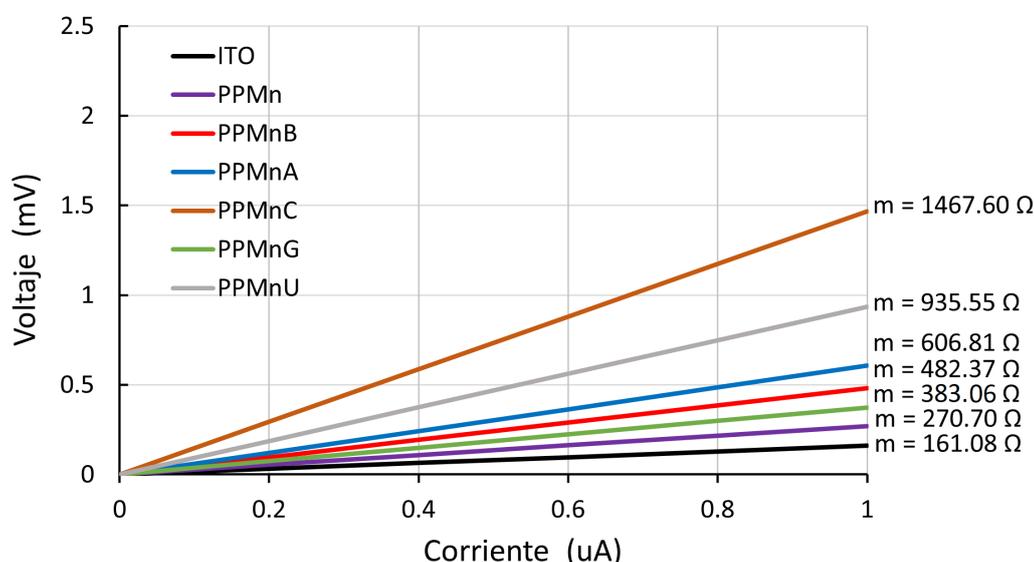


Figura 5.35: Gráfica I vs V para PPMn. Las diferentes curvas corresponden a la película pura e interaccionado con el buffer y los nucleósidos

5.5. Análisis de los cálculos DFT

En la figura 5.36, se muestran las geometrías optimizadas en los estados de mínima energía de las interacciones de una molécula de porfirina libre de metal con los diferentes nucleósidos.

Como se mencionó en la sección de metodología, se corrieron 4 configuraciones iniciales diferentes para cada nucleósido, y únicamente se muestran en la figura aquellas de menor energía de interacción. En la figuras 5.36a y 5.36b, que corresponden a PPA y PPC, se observa que las interacciones se dan entre el centro del macrociclo con los carbonos de la pentosa mediante puentes de hidrógeno. Las bases nitrogenadas se encuentran apuntando contrarias al macrociclo, y se ubican en la zona exterior del anillo de la porfirina. Por otro lado, en la figura 5.36c que corresponde a PPG, se observa que la base se coloca casi paralela a la porfirina, pero debido a su tamaño y a que el hidrógeno del C1 de la pentosa forma un puente de hidrógeno con uno de los nitrógenos del macrociclo, se presenta una deformación en la planaridad de la molécula. Sin embargo, a pesar de esta deformación, se puede ver una buena interacción entre ambas moléculas. Finalmente, en la figura 5.36d, se muestra la interacción PPU. Aquí, se puede ver que se forman puentes de hidrógeno entre el hidrógeno del C1 de la pentosa con uno de los

carbonos del macrociclo, y entre uno de los hidrógenos de la cadena lateral de la porfirina con un oxígeno del azúcar. Debido a que la posición del nucleósido está muy hacia la periferia de la porfirina, la interacción entre ambas moléculas es muy reducida.

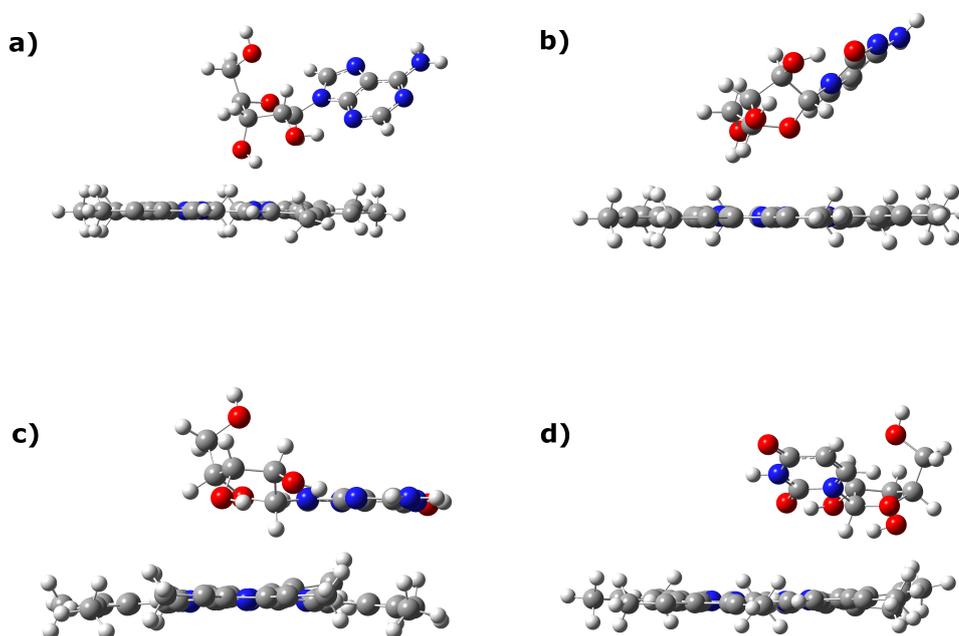


Figura 5.36: configuraciones optimizadas de la interacción entre PP y los nucleósidos. a) PPA, b) PPC, c) PPG y d) PPU

En la tabla 5.5 se muestran las energías de enlace calculadas para cada conformación de mínima energía.

Tabla 5.5: Energías de enlace obtenidas mediante DFT para las configuraciones de la figura 5.36

Nucleósido	Guanosina	Adenosina	Citidina	Uridina
Energía de Enlace (kJ/mol)	-147.30	-106.06	-98.53	13.56

Como se puede observar de la tabla anterior, las energías de enlace en forma decreciente fueron para PPG>PPA>PPC>PPU. De esta secuencia, se puede ver que la mayor interacción fue con la guanosina. Por otro lado, la mínima interacción fue con la uridina, que al ser positiva, sugiere una interacción inestable. Estos resultados, están en concordancia con los valores obtenidos en la cuantificación de adsorción que se mostró al inicio del capítulo.

Considerando los resultados anteriores se esperaría que el espectro de absorbanza correspondiente a PPG presentara cambios importantes (batocromismo e hipocromía) en la banda de Soret, dado que la figura 5.36c sugiere la presencia de interacciones $\pi-\pi$ entre las moléculas. [53] De igual manera se esperaría que los cambios espectroscópicos de PPG sean más notorios que en cualquiera de las otras películas, debido a que este nucleósido tiene una mayor interacción con la porfirina.

Desafortunadamente, debido a problemas de convergencia en las corridas, no fue posible concluir las simulaciones para las interacciones con PPMn. A pesar de ello, hubiéramos esperado valores de mayor energía de enlace dados los resultados obtenidos de las simulaciones con PP y las demás técnicas de caracterización.

Capítulo 6

Conclusiones

Se formaron exitosamente películas delgadas de dos porfirinas con centro metálico de Mn(III) y sin centro metálico, mediante la técnica de evaporación térmica. Estas películas fueron caracterizadas morfológica, espectroscópica y conductivamente.

- Mediante las técnicas de SEM y AFM se encontró que la morfología de las películas y el grosor de la interfase cambiaba dependiendo de la presencia o ausencia del centro metálico. PPMn fue más gruesa que PP. La superficie de las dos es distinta, aunque se pudo observar que la interfase de la PPMn era más plana, como resultado de un mejor acomodo molecular debido a la interacción entre las moléculas por la presencia del centro metálico.
- Los análisis por espectroscopia IR y UV-Vis presentan las señales esperadas para cada una de las porfirinas. PPMn tiene mejores propiedades espectroscópicas, ya que su IR está mejor definido que el que corresponde a PP, posiblemente debido a un mejor acoplamiento molecular en la película.
- En las pruebas de conductividad, observamos que las dos películas son conductoras, pero PPMn conduce mejor que PP, aunque ambas son menos conductoras que el sustrato puro (ITO).

Se estudió la interacción de las películas con disoluciones de diferentes nucleósidos mediante el monitoreo de los cambios morfológicos, espectroscópicos y de conductividad que presentaron después de la interacción. Los resultados obtenidos nos llevan a las siguientes conclusiones:

- La interacción con el buffer de fosfatos cambia las propiedades tanto de PP como de PPMn. Estos cambios podrían deberse a modificaciones en el arreglo conformacional de las moléculas en la interfase después de entrar en contacto con el buffer.
- En PP, el nucleosido que se adsorbió más fue la guanosina, y en PPMn fue la uridina. PP presento una tendencia notable a adsorber bases púricas, mientras que PPMn adsorbió preferentemente bases pirimidínicas.
- Los cambios en el espectro de absorbancia para PP al interactuar con los nucleósidos indican una asociación no covalente de tipo $\pi - \pi$ entre la porfirina y los nucleósidos. La interacción más fuerte se forma con la adenosina.
- Para el caso de PPMn los cambios en el espectro de absorbancia denotan la formación de un enlace de coordinación entre el Mn(III) y alguno de los grupos electrodonadores de la adenosina y la citidina. Mientras que con la uridina, se forma interacciones tipo $\pi - \pi$.

- La citidina es el nucleósido que forma el enlace de coordinación más fuerte con PPMn.
- La respuesta eléctrica después de la interacción con PP, muestra que todas las películas se vuelven más resistivas que el ITO, pero más conductoras que la película de porfirina sin metal. Por otro lado, las interacciones con PPMn, mostraron que todas las película se vuelven más resistivas que la películas de porfirina con centro metálico, así como el ITO. Aunque en ambos casos aumenta la resistividad superficial, la diferencia de resistencia entre cada nucleósido está bien definida, lo que podría considerarse como un criterio de selectividad.
- Finalmente, los cálculos DFT de energías de interacción entre las películas PP con los nucleósidos, mostraron que las interacciones se dan principalmente en la región de la pentosa. Además, se obtuvieron las energías de enlace para los arreglos de mínima energía, y se observó que las interacciones de mayor a menor energía coinciden con la cuantificación de adsorción experimental.

Finalmente, los resultados obtenidos para los estudios de interacción entre las películas formadas con las moléculas 2,3,7,8,12,13,17,18-octaetil-21H, 23H-porfirina y el cloruro de 2,3,7,8,12,13,17,18-octaetil-21H,23H-porfirina de manganeso(III) con diferentes nucleósidos, indican interacciones distinguibles dependiendo del nucleósido empleado, por lo que podrían ser buenas candidatas para el desarrollo de elementos de detección de estos sistemas.

Apéndice A

Curvas de calibración y cuantificación

Las curvas de calibración se realizaron el mismo día en que se cuantificó la concentración de la disolución problema. Hay dos curvas de calibración por cada nucleósido que corresponden a las dos porfirinas utilizadas, ya que la cuantificación para cada caso se llevo a cabo en días diferentes.

A.1. Interacción con PP

Guanosina

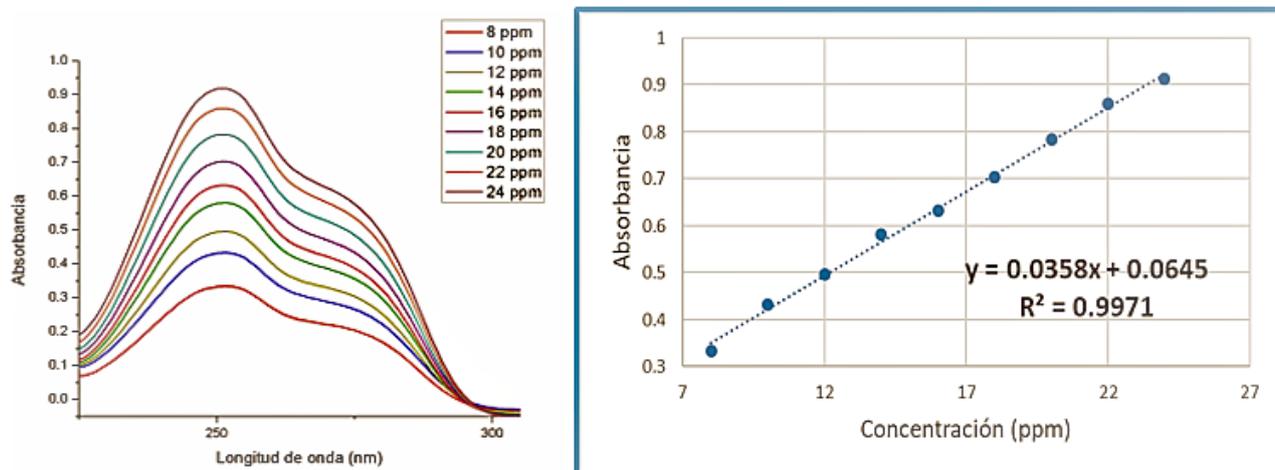


Figura A.1: Espectro de absorción y curva de calibración para la guanosina

Concentración remanente de la disolución problema:

Tabla A.1: Resultados obtenidos de la interacción PPG

Disolución	Concentración inicial	Alicuota	Dilución	Concentración remanente	Concentración adsorbida
Guanosina	1000 ppm	170 μ L	10 mL	962.25 ppm	37.75 ppm

Adenosina

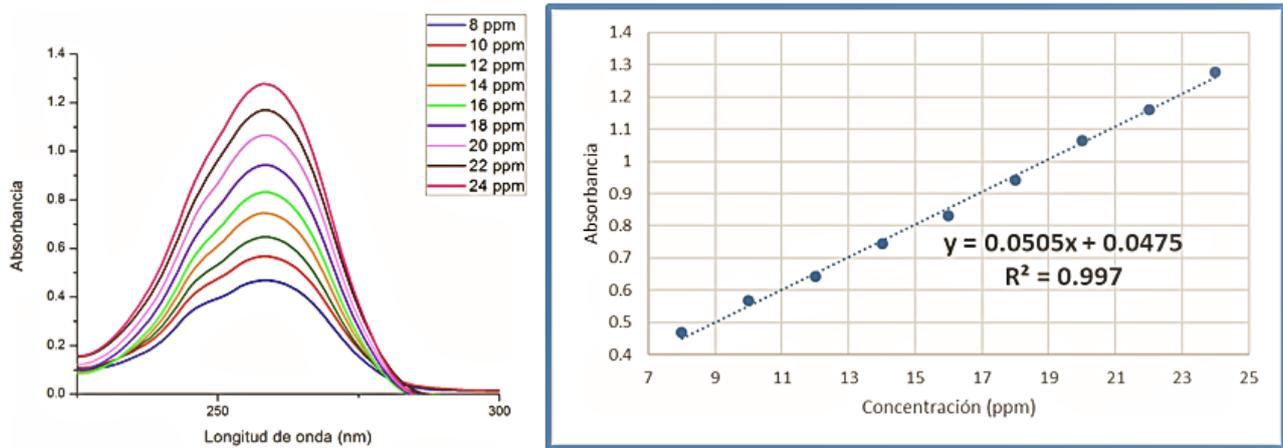


Figura A.2: Espectro de absorción y curva de calibración para la adenosina

Concentración remanente de la disolución problema:

Tabla A.2: Resultados obtenidos de la interacción PPA

Disolución	Concentración inicial	Alicuota	Dilución	Concentración remanente	Concentración adsorbida
Adenosina	1000 ppm	140 μ L	10 mL	987.65 ppm	12.35 ppm

Citidina

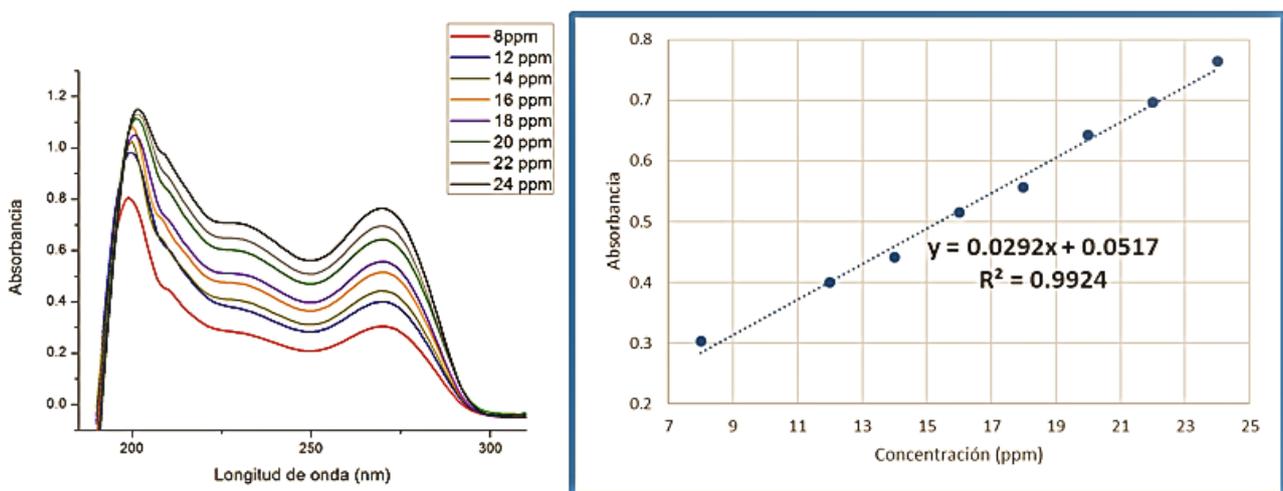


Figura A.3: Espectro de absorción y curva de calibración para la citidina

Concentración remanente de la disolución problema:

Tabla A.3: Resultados obtenidos interacción PPC

Disolución	Concentración inicial	Alicuota	Dilución	Concentración remanente	Concentración adsorbida
Citidina	1000 ppm	177 μL	10 mL	995.48 ppm	4.52 ppm

Uridina

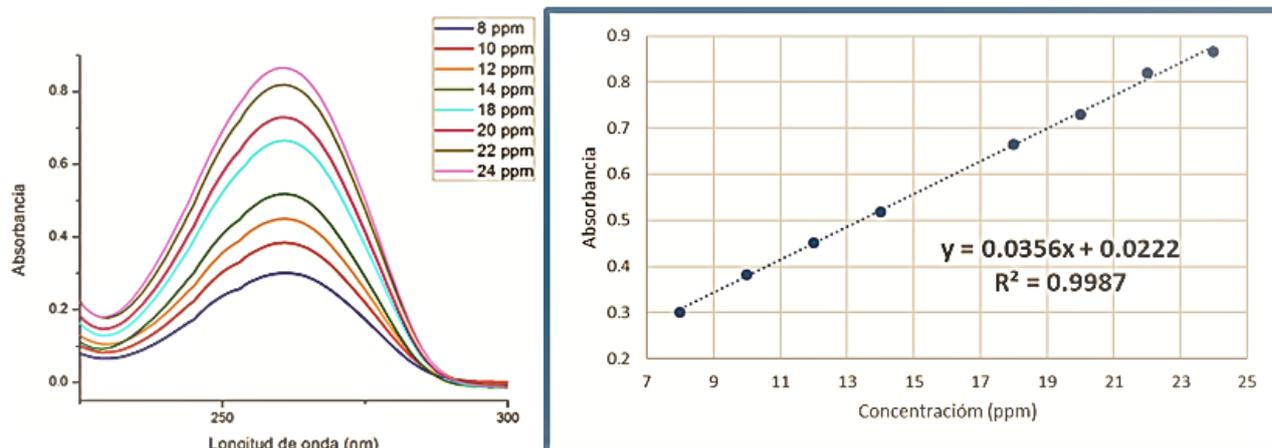


Figura A.4: Espectro de absorción y curva de calibración para la uridina

Concentración remanente de la disolución problema:

Tabla A.4: Resultados obtenidos de la interacción PPU

Disolución	Concentración inicial	Alicuota	Dilución	Concentración remanente	Concentración adsorbida
Uridina	1000 ppm	180 μL	10 mL	997.79 ppm	2.22 ppm

A.2. Interacción con PPMn

Guanosina

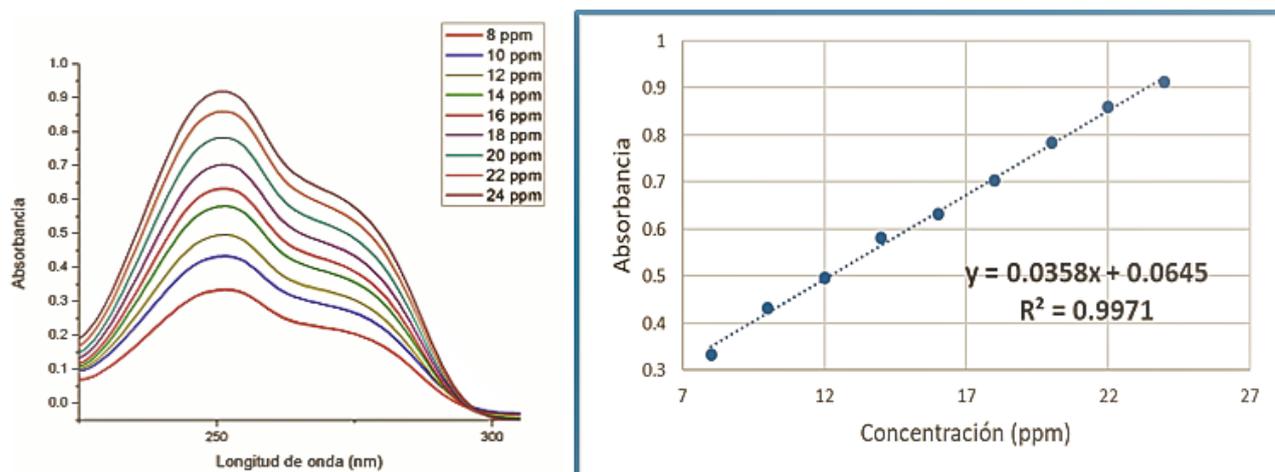


Figura A.5: Espectro de absorción y curva de calibración para la guanosina

Concentración remanente de la disolución problema:

Tabla A.5: Resultados obtenidos de la interacción PPMnG

Disolución	Concentración inicial	Alicuota	Dilución	Concentración remanente	Concentración adsorbida
Guanosina	1000 ppm	170 μL	10 mL	956.40 ppm	43.60 ppm

Adenosina

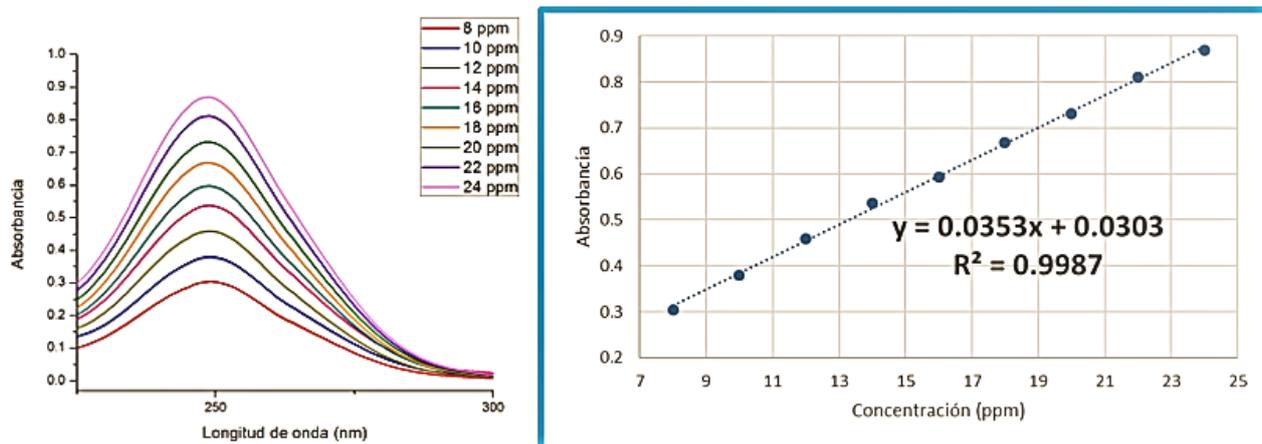


Figura A.6: Espectro de absorción y curva de calibración para la adenosina

Concentración remanente de la disolución problema:

Tabla A.6: Resultados obtenidos de la interacción PPMnA

Disolución	Concentración inicial	Alicuota	Dilución	Concentración remanente	Concentración adsorbida
Adenosina	1000 ppm	170 μL	10 mL	962.11 ppm	37.89 ppm

Citidina

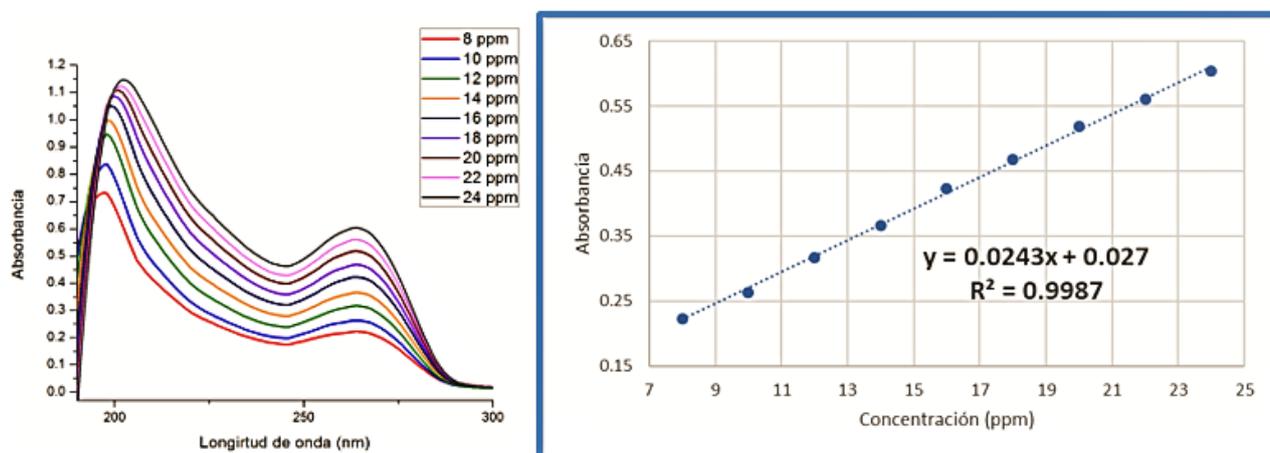


Figura A.7: Espectro de absorción y curva de calibración para la citidina

Concentración remanente de la disolución problema:

Tabla A.7: Resultados obtenidos de la interacción PPMnC

Disolución	Concentración inicial	Alicuota	Dilución	Concentración remanente	Concentración adsorbida
Citidina	1000 ppm	170 μL	10 mL	888.22 ppm	111.78 ppm

Uridina

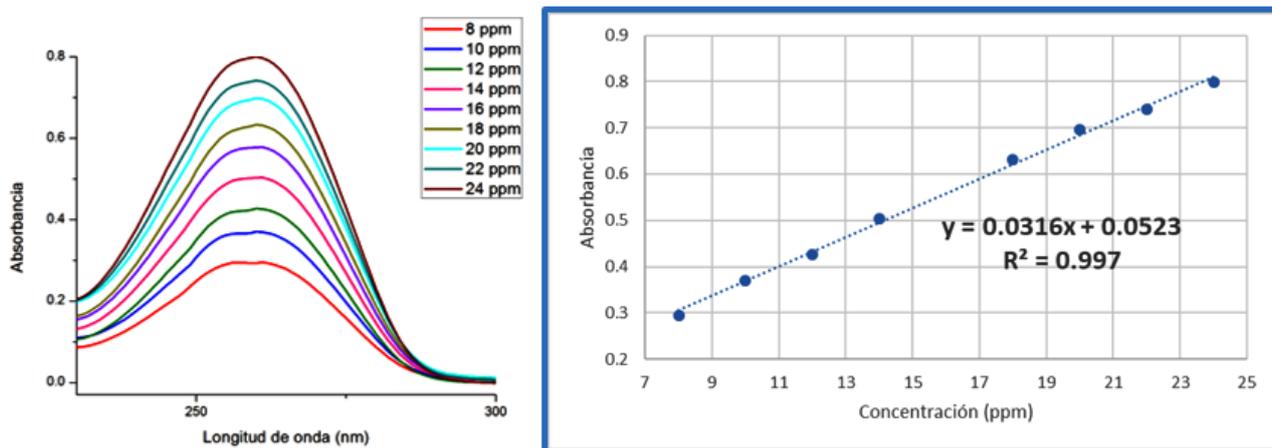


Figura A.8: Espectro de absorción y curva de calibración para la uridina

Concentración remanente de la disolución problema:

Tabla A.8: Resultados obtenidos de la interacción PPMnU

Disolución	Concentración inicial	Alicuota	Dilución	Concentración remanente	Concentración adsorbida
Uridina	1000 ppm	170 μL	10 mL	696.68 ppm	303.33 ppm

Apéndice B

Gráficas de conductividad

B.1. Gráfica de conductividad obtenida para el ITO

A continuación, se presenta la gráfica de conductividad obtenida para el ITO limpio. Este paso se realizó para conocer el comportamiento del ITO y tenerlo como un valor de referencia.

Cabe señalar que en la gráfica se muestra el valor de la pendiente real obtenida de los datos del equipo. Sin embargo, hay que recordar que dado que estamos midiendo sobre una superficie se debe de incluir un factor de corrección geométrico, que está dado por las características del arreglo de medición y que involucra la distancia entre puntas, el área de contacto, etc y que para nuestro arreglo corresponde a 0.63. Con este dato, vemos que el valor real de la resistencia de la película es de 101.2 ohms/cuadrados, que es cercano al valor de 100 ohms/cuadrados que reporta el fabricante.

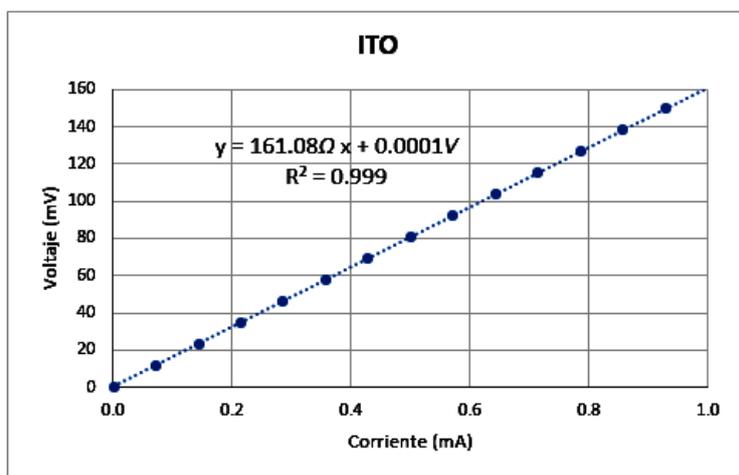
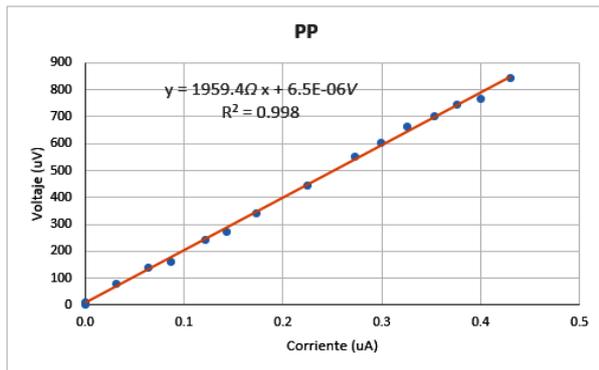
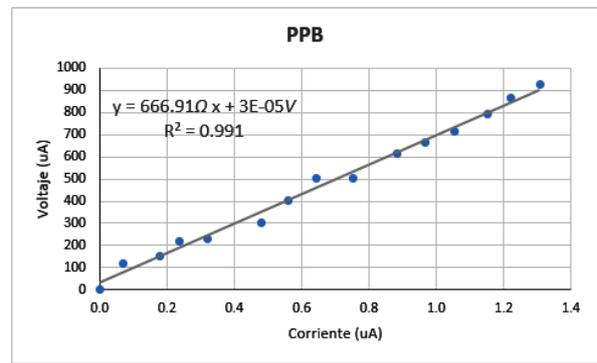


Figura B.1: Gráfica de conductividad para el ITO limpio

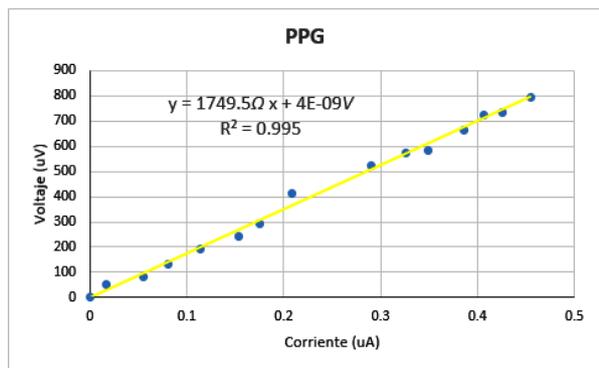
B.2. Gráficas obtenidas para PP



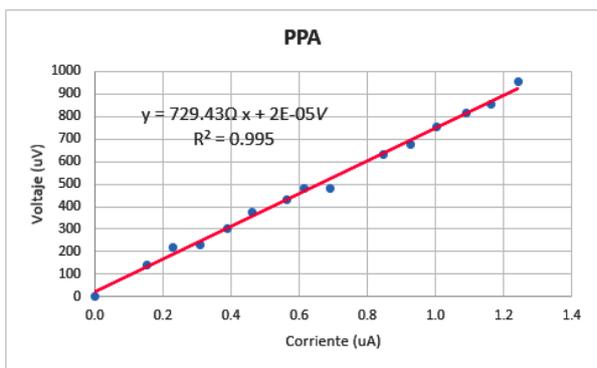
(a) Gráfica de conductividad para PP



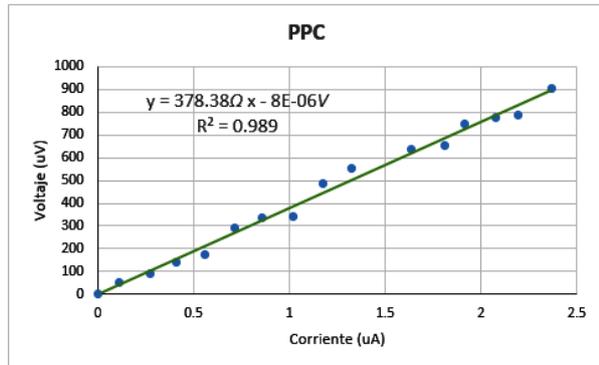
(b) Gráfica de conductividad para PPB



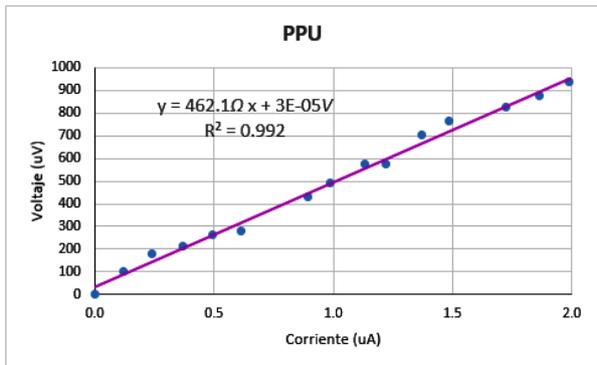
(c) Gráfica de conductividad para PPG



(d) Gráfica de conductividad para PPA



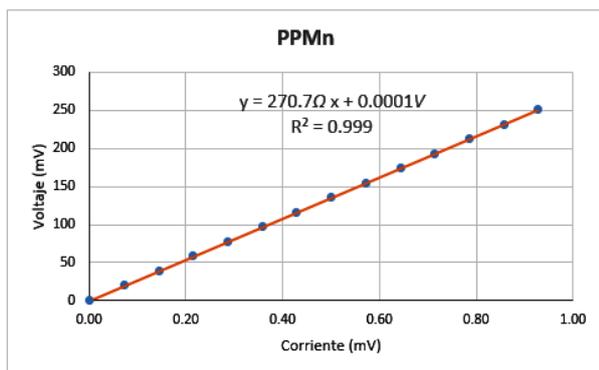
(e) Gráfica de conductividad para PPC



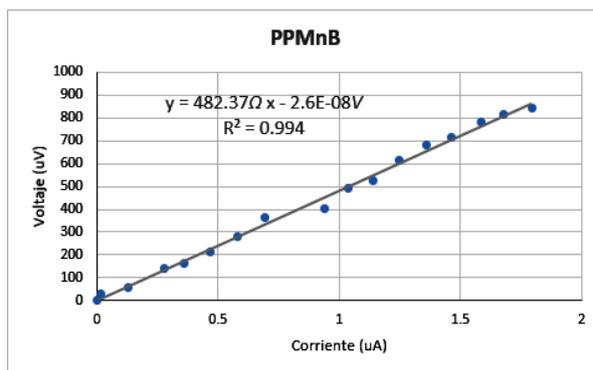
(f) Gráfica de conductividad para PPU

Figura B.2: Gráficas de conductividad para PPs

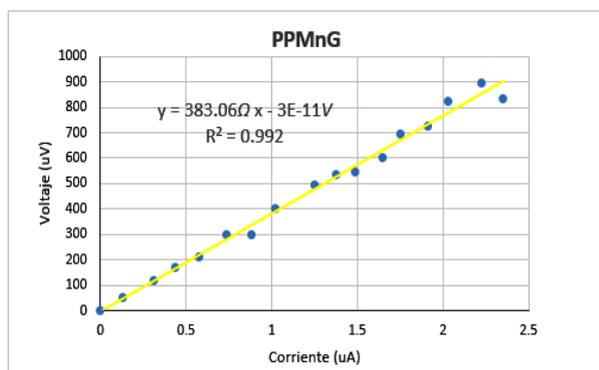
B.3. Gráficas obtenidas para PPMn



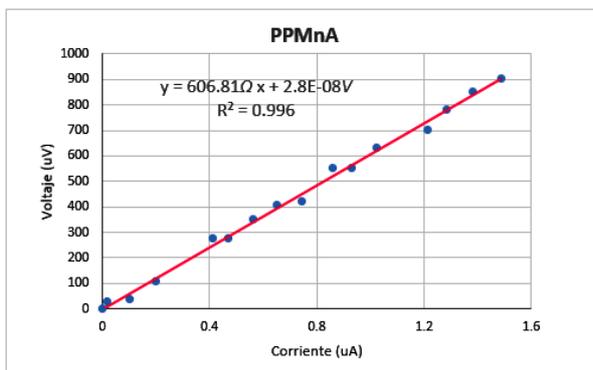
(a) Gráfica de conductividad para PPMn



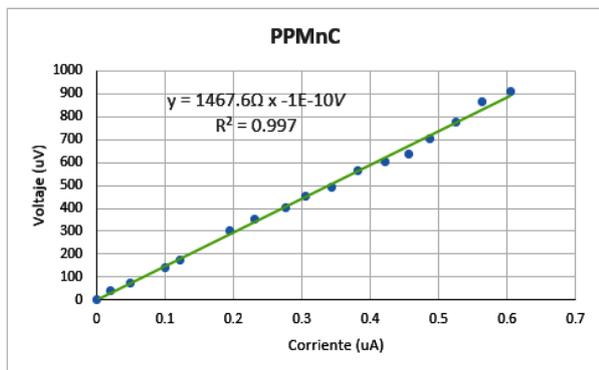
(b) Gráfica de conductividad para PPMnB



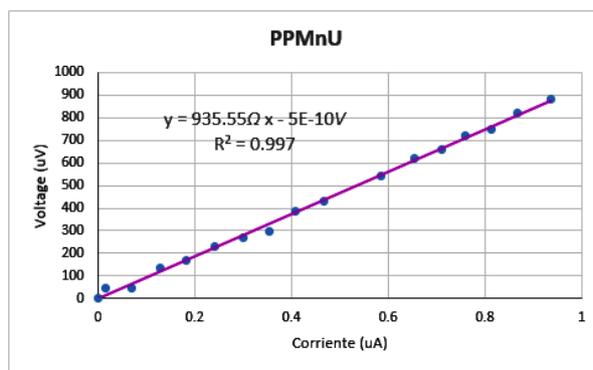
(c) Gráfica de conductividad para PPMnG



(d) Gráfica de conductividad para PPMnA



(e) Gráfica de conductividad para PPMnC



(f) Gráfica de conductividad para PPMnU

Figura B.3: Gráficas de conductividad para PPMns

Bibliografía

- [1] Mustafa, F., Hassan, R. Y. A., and Andreescu, S. (2017) Multifunctional nanotechnology-enabled sensors for rapid capture and detection of pathogens. *Sensores*, **17**, 2121.
- [2] Zhoua, H., Liua, J., Xub, J.-J., Zhanga, S., and Chen, H.-Y. (2019) Advances in DNA/RNA detection using nanotechnology. *Adv. Clin. Chem.*, **91**, 31.
- [3] Suslick, K. S., Rakow, N. A., Kosal, M. E., and Chou, J.-H. (2000) The materials chemistry of porphyrins and metalloporphyrins. *J. Porphyr. Phthalocya.*, **4**, 4007.
- [4] Eggins, B. R. (2002) Chemical sensors and biosensors, John Wiley and sons, England first edition.
- [5] Hulanicki, A., Geab, S., and Ingman, F. (1991) Chemical sensors definitions and classification. *Pure Appl. Chem.*, **63**, 1247.
- [6] Janata, J. (2009) Principles of chemical sensors, Springer, second edition.
- [7] Sha, R. and Badhulika, S. (2020) Recent advancements in fabrication of nanomaterial based biosensors for diagnosis of ovarian cancer: a comprehensive review. *Microchim. Acta*, p. 181.
- [8] Banica, F.-G. (2012) Chemical sensors and biosensors: fundamentals and applications, John Wiley and sons, first edition.
- [9] Orellana, G. and Moreno-Bondi, M. C., (eds.) (2005) Frontiers in chemical sensors: novel principles and techniques, Springer, first edition.
- [10] Spichiger-Keller, U. E. (1998) Chemical sensors and biosensors for medical and biological applications, WILEY-VCH, first edition.
- [11] Pinalli, R., Pedrini, A., and Dalcanale, E. (2018) Biochemical sensing with macrocyclic receptors. *Chem. Soc. Rev.*, **47**, 7006.
- [12] Bruch, L., Cole, M. W., and Zaremba, E. (2007) Physical adsorption: forces and phenomena, Dover Publications, first edition.
- [13] Granqvist, C. G. (2012) Preparation of thin films and nanostructured coatings for clean tech applications: A primer. *Sol. Energy Mater. Sol. Cells*, **99**, 166.
- [14] Reichelt, K. and Jiang, X. (1990) The Preparation of thin films by physical Vapour deposition methods. *Thin Solid Films*, **191**, 91.
- [15] Albella, J. M. (2003) https://www.icmm.csic.es/fis/espa/evaporacion_resistencia.html. **20/10/2020**.
- [16] Jiang, Y.-B. and Sun, Z. (2019) Self-assembled porphyrin and macrocycle derivatives: From synthesis to function. *MRS Bulletin*, **44(3)**, 167.

- [17] Kuzmin, S., Chulovskaya, S., and Parfenyuk, V. (2018) Structures and properties of porphyrin-based film materials part I. The films obtained via vapor-assisted methods. *Adv. Colloid Interface Sci.*, **253**, 23.
- [18] Vallejo, W., Diaz, C., Alvis, M., and Fajardo, A. C. G. C. (2018) Methylene blue degradation under visible irradiation on TiO₂ electrodes sensitized by dye chlorophyll extract from *Spinacia Oleria*/Degradación de azul de metileno bajo irradiación visible sobre electrodos de TiO₂ sensibilizados con pigmentos de clorofila.. *Prospectiva*, **16**, 7.
- [19] Queijeiro, A. V. (2014) https://www.researchgate.net/figure/Figura-1-Estructura-del-grupo-hemo-se-pueden-observar-Figura-1-Estructura-del-grupo_fig1_260105332. **10/02/2021**.
- [20] Auwärter, W., Écija, D., Klappenberger, F., and Barth, J. V. (2015) Porphyrins at interfaces. *Nat. Chem.*, **7**, 105.
- [21] Fleischer, E. B. (1970) Structure of porphyrins and metalloporphyrins. *Acc. Chem. Res.*, **3**(3), 105.
- [22] Makarska-Bialokoz, M. (2018) Comparative study of binding interactions between porphyrin systems and aromatic compounds of biological importance by multiple spectroscopic techniques: A review. *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.*, **200**, 263.
- [23] Giovannetti, R. (2012) Macro To Nano Spectroscopy, IntechOpen: eBook, first edition.
- [24] Nemykin, V. N. and Hadt, R. G. (2010) Interpretation of the UV-vis spectra of the meso(ferrocenyl)-containing porphyrins using a TDDFT approach: is Gouterman's classic four-orbital model still in play?. *J. Phys. Chem. A*, **114**, 12062.
- [25] Natale, C. D., Paolesse, R., and D'Amico, A. (2007) Metalloporphyrins based artificial olfactory receptors. *Sensors Actuat. B-Chem.*, **121**, 238.
- [26] Dolphin, D., (ed.) (1978) The Porphyrins V3:Physical Chemistry, Part A, Academic Press, first edition.
- [27] Milgrom, L. R., (ed.) (1917) The colours of life. An introduction to the chemistry of porphyrins and related compounds, Oxford university press, .
- [28] Gottfried, J. M. (2015) Surface chemistry of porphyrins and phthalocyanines. *Surf. Sci. Rep.*, **70**, 259.
- [29] Corchón, A. L. (2020) <https://www.asturnatura.com/articulos/nucleotidos-acido-nucleico-adn/nucleosidos-nucleotidos.php>. **22/10/2020**.
- [30] Morrison, R. T. and Boyd, R. N., (eds.) (1998) Química Orgánica, Pearson, 5ta edition.
- [31] Cooper, G. M. and Hausman, R. E., (eds.) (2007) La Célula, Marbán, 3ra edition.
- [32] Virgilio, F. D. and Adinolf, E. (2017) Extracellular purines, purinergic receptors and tumor growth. *Oncogene*, **36**, 293.
- [33] Tian, T., Wang, J., and Zhou, X. (2015) A review: microRNA detection methods. *Org. Biomol. Chem.*, DOI:10.1039/c4ob02104e.
- [34] Wang, L., Xiong, Q., Xiao, F., and Duan, H. (2017) 2D nanomaterials based electrochemical biosensors for cancer diagnosis. *Biosens. Bioelectron.*, **89**, 136.
- [35] Graybill, R. M. and Bailey, R. C. (2016) Emerging biosensing approaches for microRNA analysis. *Anal. Chem.*, **88**, 431.

- [36] Holzinger, M., Goff, A. L., and Cosnier, S. (2014) Nanomaterials for biosensing applications: a review. *Front. Chem.*, **2**, 1.
- [37] R.Tavallaie, McCarroll, J., Grand, M. L., Ariotti, N., Schuhmann, W., Bakker, E., Tilley, R., Hibbert, D., Kavallaris, M., and Gooding, J. (2018) Nucleic acid hybridization on an electrically reconfigurable network of gold-coated magnetic nanoparticles enables microRNA detection in blood. *Nat. Nanotechnol.*, **13**, 1066.
- [38] Zhang, X., Wan, S., Pu, J., Wang, L., and Liu, X. (2011) Highly hydrophobic and adhesive performance of graphene films. *J. Mater. Chem.*, **21**, 12251.
- [39] Sigel, A. and Sigel, H., (eds.) (2007) Metal Ions in Biological Systems: Volumen 33, Marcel Decker, 1ra edition.
- [40] Ramesh, J., Sujatha, S., and Arunkumar, C. (2016) Synthesis, structure, electrochemical, DNA interaction and antimicrobial studies of fluorinated trans-dicationic pyridinium porphyrins. *RSC Adv.*, **6**, 63271.
- [41] Pasternack, R. F. and Gibbs, E. J., (eds.) (1989) In Metal-DNA Chemistry, ACS Symposium Series, .
- [42] Tabata, M., Sakai, M., Yoshioka, K., and Kodama, H. (1990) Proton nuclear magnetic resonance spectrometric spectrophotometric studies on hydrophobic and electrostatic interactions of cationic watersoluble porphyrin with nucleotides. *Anal. Sci.*, **6**, 651.
- [43] Makarska-Bialokoz, M. (2014) Fluorescence quenching effect of guanine interacting with water-soluble cationic porphyrin. *J. Lumin.*, **147**, 27.
- [44] Magnaa, G., Zor, S. D., Catini, A., Capuanoa, R., Basoli, F., Martinelli, E., Paolesse, R., and Natale, C. D. (2017) Surface arrangement dependent selectivity of porphyrins gas sensors. *Sensors Actuat. B-Chem.*, **251**, 524.
- [45] Filippini, D., Alimelli, A., Natale, C. D., Paolesse, R., D'Amico, A., and Lundstrom, I. (2006) Chemical sensing with familiar devices. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **45**, 3800.
- [46] Rakow, N. A. and Suslick, K. S. (2000) A colorimetric sensor array for odour visualization. *Nature*, **406**, 710.
- [47] Rivera, M., Rivera, J. M., Amelines-Sarria, O., and Martínez-García, M. (2019) Evaporated porphyrin films as nitrogen dioxide gas sensors. *Bulletin of Materials Science*, **42**, 50.
- [48] Rivera, M., Rivera, J. M., Amelines-Sarria, O., and Wang, Y. A. (2018) Different Interaction Mechanisms of Evaporated Porphyrin Films Exposed to NO₂. *Advances in Materials Physics and Chemistry*, **8**, 441.
- [49] Lahanas, N., Kucheryavy, P., Lalancette, R. A., and Lockard, J. V. (2019) Crystallographic identification of a series of manganese porphyrin complexes with nitrogenous bases. *Acta. Cryst. C*, **C75**, 304.
- [50] O'Dweyer, C., Szachowicz, M., Visimberga, G., Lavayen, V., Newcomb, S. B., and Torres, C. M. S. (2009) Bottom-up growth of fully transparent contact layers of indium tin oxide nanowires for light-emitting devices. *Nat. Nanotechnol.*, **4**, 239.
- [51] Horcas, I., Fernandez, R., Gomez-Rodriguez, J., Colchero, J., Gomez-Herrero, J., and Baro, A. M. (2007) WSXM: A software for scanning probe microscopy and a tool for nanotechnology. *Rev. Sci. Instrum.*, **78**, 013705.

- [52] Rajith, L., Jissy, A. K., Kumar, K. G., and Datta, A. (2011) Mechanistic Study for the facile oxidation of trimethoprim on a manganese porphyrin incorporated glassy carbon electrode. *J. Phys. Chem. C*, **115**(44), 21858.
- [53] Pasternack, R. F., Gibbs, E. J., Gaudemer, A., A. Antebi, S. B., Poy, L. D., Turner, D. H., Williams, A., Laplace, F., Lansard, M. H., Merienne, C., and Perree-Fauvet, M. (1985) Molecular Complexes of Nucleosides and Nucleotides with a Monomeric Cationic Porphyrin and Some of Its Metal Derivatives. *J. Am. Chem. Soc.*, **107**, 8179.
- [54] Lai, T. F. and Marsh, R. E. (1972) The crystal structure of Adenosine. *Acta. Cryst.*, **B28**, 1982.
- [55] Nakamoto, K. (2006) Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds. *Handbook of Vibrational Spectroscopy*, DOI: [10.1002/9780470027325.s4104](https://doi.org/10.1002/9780470027325.s4104).