

El Espectro Infrarrojo de la Bleomicina

ENRIQUE J. BARAN y SUSANA B. ETCHEVERRY

Area de Química Inorgánica, Facultad de Ciencias Exactas,
Universidad Nacional de La Plata, calles 47 y 115, La Plata 1900, Argentina

RESUMEN. Se registró el espectro infrarrojo del antibiótico antitumoral bleomicina en el intervalo entre 4000 y 250 cm^{-1} y se propone una asignación general del mismo basada en datos estructurales conocidos. Se muestra que este espectro es muy característico y puede resultar de utilidad en la identificación de la droga. Asimismo, se hacen algunos comentarios acerca del espectro electrónico del antibiótico.

SUMMARY. The infrared spectrum of the antitumor antibiotic bleomycin has been recorded in the spectral range between 4000 and 250 cm^{-1} and a general assignment based on known structural data, is proposed. It is shown, that this spectrum is very characteristic and useful for identification purposes. Some comments on the electronic spectrum of the antibiotic are also made.

INTRODUCCION

Las bleomicinas constituyen un interesante grupo de antibióticos glicopeptídicos anticancerígenos ¹⁻³. Han sido obtenidos, en forma de complejos cúpricos, en cultivos de *Streptomyces verticillus* en los que se genera una mezcla compleja de ellos constituida por once componentes estructuralmente relacionados, siendo los más abundantes las bleomicinas comúnmente identificadas como A₂ (60 - 70%) y B₂ (20 - 25%). La remoción del Cu (II) por tratamiento con sulfuro de hidrógeno en solución metanólica permite obtener las bleomicinas puras y libres del metal. La mezcla de antibióticos así preparada ha encontrado amplia difusión y aplicación

en el tratamiento de diverso tipo de carcinomas ^{1,2}.

El agregado de aminas, particularmente di y triaminas, durante el proceso de fermentación inhibe la formación de las mezclas usuales y favorece la producción de bleomicinas conteniendo las aminas agregadas. De esta manera, ha sido posible obtener unas 200 bleomicinas diferentes ^{1,2} muchas de las cuales aún no han sido adecuadamente caracterizadas y estudiadas.

En la Figura 1 se muestra la estructura básica de las bleomicinas. Las diferencias estructurales se originan en los distintos grupos que pueden ocupar la posición indicada como R, los que han sido indicados explícitamente en la figura

PALABRAS CLAVE: Bleomicina, Espectro infrarrojo; Espectro electrónico.

KEY WORDS: Bleomycin, Infrared Spectrum; Electronic Spectrum.

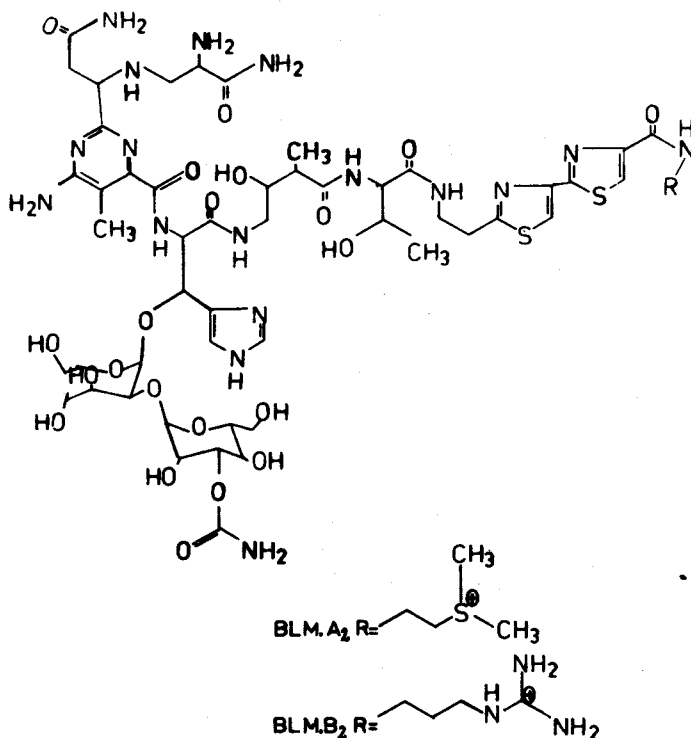


Fig. 1 Estructura de la bleomicina

para el caso de las bleomicinas A₂ y B₂.

Uno de los aspectos químicos más interesantes de las bleomicinas es que son excelentes ligandos multidentados para diversos cationes metálicos; los aspectos salientes de esta particular química de coordinación han sido objeto de recientes revisiones bibliográficas^{4,5}. Por otra parte, existen diversas evidencias de la participación directa de cationes metálicos, y en particular del hierro, durante la acción terapéutica de la droga (ver p. ej.⁶ y las referencias allí citadas).

Por tal razón hemos iniciado el estudio del comportamiento espectroscópico de diversos complejos metálicos de la bleomicina con el objeto de obtener información más detallada acerca de las geometrías de coordina-

ción y de las propiedades electrónicas y estructurales de estos sistemas. En la etapa inicial de estos estudios, hemos obtenido y analizado el espectro de infrarrojo de la mezcla clínica de bleomicinas, comercializada en nuestro país.

Este estudio espectroscópico preliminar resultaba indispensable a efectos de tener una referencia adecuada para los trabajos posteriores. Y, por otra parte, aparecía interesante en sí mismo ya que no se encuentran todavía en la literatura referencias detalladas sobre su espectro de infrarrojo y tampoco existen esos datos en las colecciones más conocidas de espectros vibracionales de antibióticos (ver p. ej.⁷). De esta forma, contribuimos también a facilitar la identificación y caracterización de la bleomicina a través de esta útil y potente técnica espectroscópica.

DISCUSION DEL ESPECTRO INFRARROJO

El espectro IR medido en la región comprendida entre 4000 y 250 cm^{-1} se presenta en la Figura 2. El mismo resultó ser muy característico e independiente de pequeñas variaciones en

la composición de bleomicinas constituyentes. El análisis de la muestra cuyo espectro se esquematiza respondía a la siguiente composición: Blm . A₂ = 69,9 %, Blm . B₂ = 29,1 %, otras = 1,0 %.

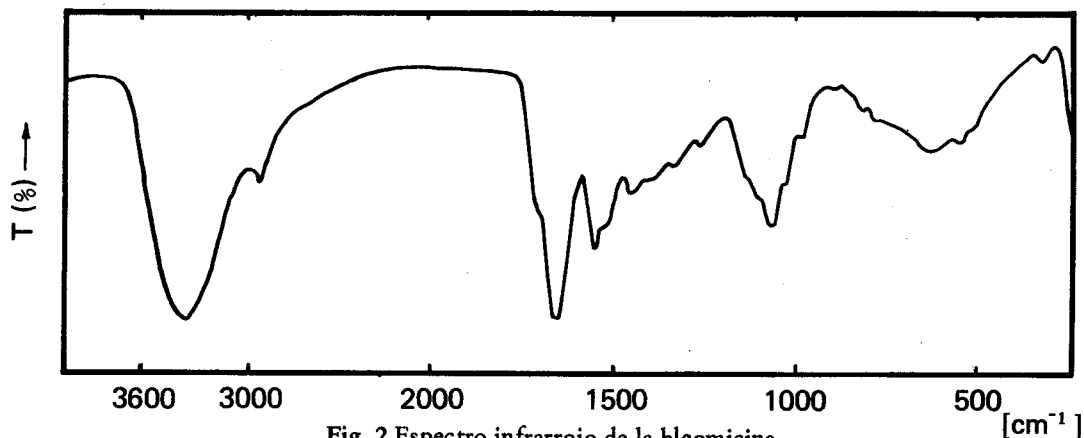


Fig. 2 Espectro infrarrojo de la bleomicina

Como puede apreciarse, el espectro es relativamente pobre en bandas y algunas de ellas aparecen escasamente definidas. Con el objeto de lograr información vibracional adicional se intentó obtener también, aunque lamentablemente sin éxito hasta ahora, el respectivo

espectro Raman.

En la Tabla I se presenta la posición exacta de las bandas medidas en el espectro, las que se han ordenado en cinco zonas de absorción a efectos de facilitar la discusión del mismo.

Frecuencias de vibración (cm^{-1})	
I.	3330,3190 sh ,2970,2920
II.	1720 sh ,1652,1545,1512,1440
III.	~1390,~1326,1250
IV.	1130 sh ,1090,1052,1020,971
V.	880,807,773,730,~660,620,548,~332
	(sh = inflexión)

Tabla I - Posición de las bandas medidas en el espectro IR de la bleomicina.

Si bien una asignación total del espectro es, obviamente, imposible dada la complejidad estructural y los previsibles acoplamientos entre diferentes tipos de vibradores, puede realizarse una

asignación muy general en cada una de las cinco regiones en que arbitrariamente se dividió el espectro, basada en el conocimiento de la estructura del sistema y utilizando tablas de frecuencia caracte-

rísticas para los diversos grupos funcionales y residuos presentes⁷⁻⁹.

La banda muy ancha e intensa ubicada entre 3700 y 3000 cm^{-1} involucra, esencialmente, los estiramientos de valencia de los grupos NH, NH_2 y OH. El doblete débil siguiente estaría, entonces asociado a los estiramientos de grupos con uniones CH, aunque no se descarta la posibilidad de que también la inflexión en 3190 cm^{-1} esté asociada con alguna vibración de este tipo.

El segundo grupo de bandas (1800 - 1400 cm^{-1}) se asocia, fundamentalmente, con deformaciones en el plano de los grupos NH_2 con los estiramientos de los grupos carbonilo y con las muy características bandas identificadas comúnmente como "Amida I" y "Amida II" y que corresponden, respectivamente, a la vibración de estiramiento de los carbonilos y a la deformación δ (NH) de los grupos peptídicos. En el presente caso, estas dos últimas bandas deben caer muy próximas y probablemente en la zona de los 1650 cm^{-1} . En esta misma región espectral, y probablemente entre 1550 y 1400 cm^{-1} se esperan bandas asociadas a estiramientos de uniones $\text{C} = \text{N}$ y $\text{C} = \text{C}$ presentes en la pirimidina sustituida, en el imidazol y en los grupos tiazol.

En la región entre 1400 y 1200 cm^{-1} el espectro aparece escasamente definido, en forma de unas pocas y muy débiles bandas, lo que en principio es justificable dado que en esta zona se esperan sólo bandas de tipo deformacional, asociadas a los grupos CH_2 , CH_3 y $\text{C}-(\text{OH})$ así como las asociadas a los esqueletos $\text{C}-\text{C}$.

El grupo siguiente, ubicado entre 1200 y 900 cm^{-1} , con la banda intensa centrada en 1052 cm^{-1} incluye los es-

tiramientos de las uniones $\text{C}-\text{NH}$, $\text{C}-\text{OH}$ y $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ así como, muy probablemente otras deformaciones que involucren grupos con enlaces $\text{N}-\text{H}$ y $\text{C}-\text{H}$.

El último grupo de bandas, a partir de 900 cm^{-1} , también poco definido, está esencialmente asociado a deformaciones de grupos con uniones $\text{C}-\text{H}$ así como a vibraciones características de los anillos (pirimidina, imidazol, azúcar, tiazol). También el estiramiento $\text{C}-\text{S}$ de los grupos tiazol se espera en esta zona, probablemente en la zona de los 600 cm^{-1} .

La asignación general propuesta está pues en concordancia con las predicciones más simples que pueden hacerse en base a la estructura de la bleomicina y muestran que, a pesar de la relativa complejidad de ésta, el espectro resulta ser bastante sencillo debido a la fuerte superposición de bandas en diversas regiones espectrales. Por otra parte, reiteramos, el espectro es muy característico y resulta por lo tanto útil como herramienta de identificación de este antibiótico.

ESPECTRO ELECTRONICO

También pudieron obtenerse los espectros electrónicos de varias muestras de bleomicina, los que coinciden satisfactoriamente con el descrito previamente en la literatura³. Este espectro, que también resulta útil como elemento de identificación, presenta dos bandas muy intensas centradas respectivamente en 290 nm (con una débil inflexión en ca. 310 nm) y 235 nm. Esta última banda está parcialmente solapada por una tercera banda, que es la más intensa del espectro, cuyo máximo se ubica debajo de los 200 nm y que no pudimos medir con exactitud debido a

limitaciones instrumentales.

La banda de 290 nm está aparentemente asociada a transiciones electrónicas que involucran los grupos tiazol³. Entonces, la de 235 nm podría asignarse a transiciones $\pi \rightarrow \pi^*$ en el anillo pirimidínico sustituido¹⁰ mientras que la muy característica e intensa transición $n \rightarrow \pi^*$ de los grupos carbonilo seguramente es la banda que cae debajo de los 200 nm, solapada probablemente con la banda $n \rightarrow \pi^*$ del imidazol¹⁰.

PARTE EXPERIMENTAL

Las muestras de clorhidrato de bleomicina liofilizadas, utilizadas en este estudio, fueron donadas gentilmente por Laboratorios Dr. Gador y Cía. SACI. Los espectros IR se midieron utilizando un espectrofotómetro Perkin Elmer 580 B, empleando la técnica de micropastillas de KBr. Los intentos realizados para obtener espectros Raman se hicieron midiendo directamente la bleomicina sólida

así como dispersada en KBr o en soluciones acuosas concentradas (hasta 100 mg/ml), utilizando un espectrómetro SPEX - Ramalog de doble monocromador y utilizando la línea de 514,5 nm de un láser de ion argón como fuente excitatriz. En ningún caso pudieron detectarse señales espectrales claramente definidas. Los espectros electrónicos se midieron con un espectrofotómetro Shimadzu UV-300, entre 200 y 800 nm, trabajando con soluciones acuosas de la bleomicina.

AGRADECIMIENTOS: Este trabajo se realizó con el apoyo del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas de la República Argentina (Programa QUINOR) y la Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Bs. Aires. Agradecemos muy especialmente al Dr. H. A. González de Laboratorios Dr. Gador y Cía. SACI, la gentil donación de las muestras de bleomicina y a la Lic. S. E. Ronco por su ayuda en la medición de los espectros electrónicos.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Pettit, G. R. (1977), "*Biosynthetic Products for Cancer Chemotherapy*", Vol. 1, 157-60. Plenum Press, New York
2. Hecht, S. (Editor) (1979), "*Bleomycin: Chemical, Biochemical and Biological Aspects*". Springer Verlag, New York
3. Umezawa, H. y T. Takita (1980) *Struct. Bonding* 40: 73-99
4. Dabrowiack, J. C. (1980) *J. Inorg. Biochem.* 13: 317-37
5. Dabrowiack, J.C. (1980) en "*Metal Ions in Biological Systems*" (H. Sigel, Editor), Vol. 11, 305-36
6. Vos, C. M. G. Westera y D. Shipper (1982) *J. Inorg. Biochem.* 16: 245-52
7. Parker, F. S. (1971) "*Applications of Infrared Spectroscopy in Biochemistry, Biology and Medicine*", Cap. 16. Adam Hilger, London
8. Bellamy, L. J. (1955) "*Ultrarot-Spektrum und Chemische Konstitution*" D. Steinkopff Verlag, Darmstadt
9. Nakanishi K. (1962), "*Infrared Absorption Spectroscopy*". Holden & Day, San Francisco y Nankodo Co. Ltd., Tokyo
10. Rao, C. N. R. (1967), "*UV and Visible Spectroscopy*", Butterworths, London