

# Determinación de la ruta de fragmentación del sistema N-o-nitrofenilmaleimida por métodos computacionales

## N-o-nitrophenylmalimide fragmentation pathway determination employing computational methods

William David Mora Garzón<sup>1\*</sup>, Héctor Fabio Cortés Hernández<sup>2</sup>, Roberto Carlos Arrubla Jaramillo<sup>3</sup>.

*Programa Química, Universidad de Quindío, Quindío, Colombia*

*dashinji@gmail.com*

*hfcortes@uniquindio.edu.co*

*robertoarrubla@hotmail.com*

**Resumen**—Las maleimidias son compuestos que presentan actividad antiproliferativa (maleimidias bis-indol sustituidas), utilizadas en el tratamiento del cáncer y otros fines sintéticos en la protección de tejidos, plásticos y pinturas como potentes biocidas. En el presente trabajo se plantea una ruta de fragmentación para el sistema N-o-nitrofenilmaleimida en base a la carta espectral de masas y los patrones de ruptura de McLafferty, utilizando el método computacional semiempírico RM1 y el algoritmo de optimización de geometría de Fletcher-Reeves para el cálculo de la energía libre de Gibbs de cada mecanismo de fragmentación, la energía libre fue reportada en Kcal/mol a 298.15 K, siendo el pico de ion base 172 m/z el más abundante, correspondiente al sistema sin grupo nitro con energía de -50062.8 Kcal/mol.

**Palabras clave**—Energía libre de Gibbs, Fletcher-Reeves, N-o-nitrofenilmaleimida, RM1, ruta de fragmentación.

**Abstract**—The bis-indol substituted maleimides having antiproliferative activity are used in tissues, plastics and paints protection. Besides, these compounds are known by being useful in cancer treatment and as a powerful biocide. It is raised a fragmentation pathway for the N-o-nitrophenylmaleimide system based on the masses spectral and McLafferty fragmentation patterns. By employing the computational semiempirical method RM1 and the Fletcher-Reeves algorithm of geometry optimization, it is possible to obtain the free Gibbs energy for every individual reaction of fragmentation, the free energy was reported Kcal/mol at 298.15 K, the base peak ion of 172 m/z, correspond to the system without nitro group with energy of -50062.8 Kcal/mol.

**Keyword**—Free Gibbs energy, Fletcher-Reeves, N-o-nitrophenylmaleimide, pathway fragmentation, RM1.

### I. INTRODUCCIÓN

Las maleimidias son lactamas, unidas por el nitrógeno a dos grupos carbonilos formando un anillo de cinco miembros

que contiene un doble enlace en  $\alpha$ - $\beta$  con respecto a los grupos cetónicos, se sintetizan a partir de anhídrido maleico y aminas sustituidas [1]. Existen dos grupos de maleimidias alifáticas y aromáticas, siendo útiles como monómeros o copolímeros vinílicos usados en fotoiniciación de polimerización de radicales libres [2], y sus propiedades varían según el sustituyente causando mucha influencia sobre la molécula y el volumen significativo del monómero [3]. La ruptura de la maleimida se efectúa en el espectrómetro de masas, esta técnica está basada en la posibilidad de separar especies moleculares y atómicas según su masa y carga donde la reacción de conversión se inicia con un haz de electrones de alta energía (70 eV), este rompimiento parcial y/o total de la molécula genera iones positivos gaseosos (cuyas masas y abundancias relativas se muestran en la carta espectral) el esquema fragmentario es basado en rearrreglos de McLafferty [4]. El ion metaestable más abundante se puede utilizar como radical iniciador en una reacción de polimerización con unas condiciones de reacción pertinentes [5]. Además como se evidencia en el trabajo de Heinrich et al para el acetato de metilo, este tipo de estudio ayudo sustentar el ion metaestable no solo de una manera experimental sino de forma teórica por cálculos computacionales [6]. Respecto al nivel de cálculo y las bases a utilizar se debe hacer la elección teniendo en cuenta el tamaño de la molécula, en el trabajo de Bakken et al, utilizan un péptido que requiere varios niveles de cálculo para generar una descripción detallada de los modelos de fragmentación inducidos por la unión de electrones a péptidos protonados [7]. Los cálculos generados por métodos computacionales tienen una amplia aplicación, Altieri et al estudia un aerosol orgánico secundario (SOA) ya que no se conoce su composición una vez está en la atmósfera y dado esto se pueden generar descripciones de sus respectivos monómeros [8]. En el presente trabajo se realizó el mecanismo de fragmentación de la N-o-nitrofenilmaleimida por métodos computacionales, basados en la carta espectral de masas, siendo el parámetro más relevante a estimar la energía libre de Gibbs, debida a que sus resultados evidencian la estabilidad de la ruta y estructura proporcionada a nivel energético.

## II. MATERIALES Y MÉTODOS

### A. Síntesis de la N-o-nitrofenilmaleimida

Se utilizara la metodología propuesta por Cortes et al [9]; Pesando 503.8 mg de anhídrido maleico (Aldrich Chemical Co., pureza del 98 %) y se adicionaron a 25 mL de éter dietílico anhidro (Merck, pureza del 99.98 %). Luego se agregó 700,2 mg de o-nitroanilina (Merck, pureza del 99.8 %) a 10 mL de éter dietílico anhidro. La primera solución se agregó lentamente a la segunda solución en agitación constante por 3 h, posteriormente se deja evaporar por 24 h a temperatura ambiente, obteniéndose un precipitado de color amarillo, lavado posteriormente con éter dietílico.

### B. Obtención del espectro de masas

Se inyectó 1  $\mu$ L de muestra (N-o-nitrofenilmaleimida) en una cámara de vaporización o puerto de inyección (PI) a 250 °C. Arrastrándose con gas portador (He) a un flujo de 1.2 mL/min en un equipo Konik HRGC (alta resolución CG) 4000B acoplado a un detector de masas Q12 con un automuestreador Robokrom (software Konik Plus). Columna de polimetilsiloxano-fenil (95/5 ms) 60 m x 0.25 mm x 0.25  $\mu$ m. Fuente de ionización de 70 eV, Temperatura de interfase 200 °C, fuente: 220°C, ajuste: 80°C x 1min, incremento de 7°C/min hasta 230°C x 5min.

### C. Métodos Computacionales

Los cálculos computacionales se realizaron por métodos semiempíricos en el programa HyperChem Professional 8.0.3 [10]; utilizando como base el método de Recife (RM1) [11]; con algoritmo de optimización de geometría Fletcher-Reeves [12], empleando para cada estructura la función de onda Hartree-Fock restringida (RHF) y sin restringir (UHF); haciendo cálculos de energía libre de Gibbs a 298.15 K previo análisis vibracional y rotacional [13].

## III. RESULTADOS

En la figura 1 observamos el espectro de masas obtenido en metanol donde se puede observar el pico ion base a 172 m/z, y el pico ion molecular a 218 m/z, además de picos representativos a 144, 90 y 54 m/z.

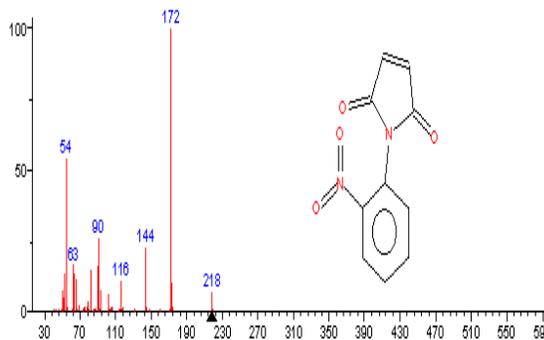


Figura 1. Espectro de masas experimental de la N-o-nitrofenilmaleimida

Para indicar los caminos de fragmentación en la figura 2 se muestra la numeración del sistema N-o-nitrofenilmaleimida.

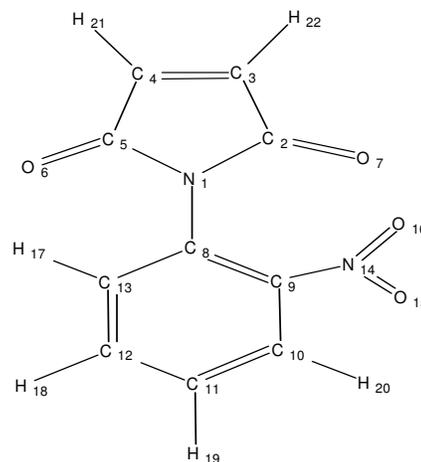


Figura 2. Estructura numerada del sistema N-o-nitrofenilmaleimida

La figura 3 muestra la ruta de fragmentación propuesta con sus respectivos valores energéticos.



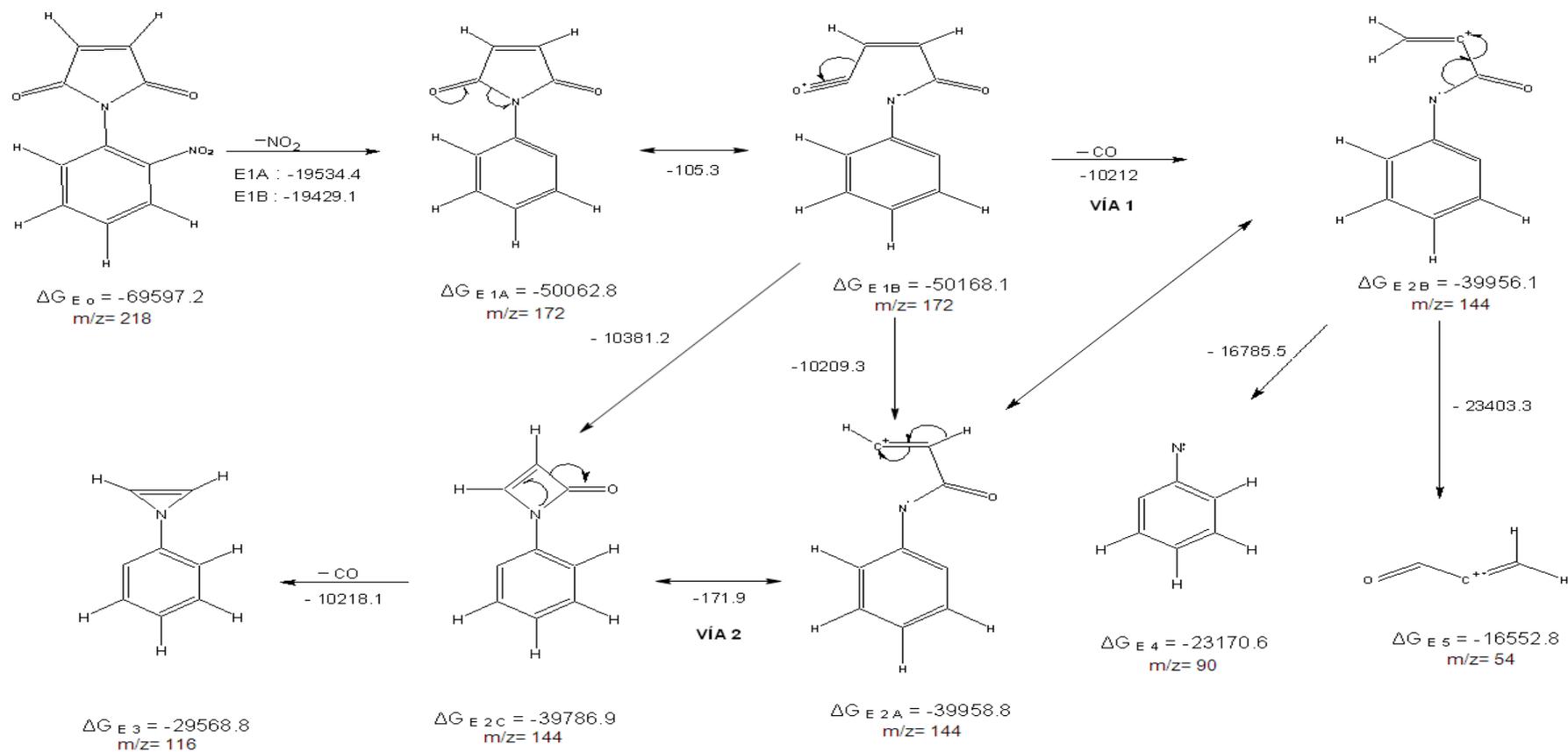


Figura 3. Ruta de Fragmentación propuesta para el sistema *N*-*o*-nitrofenilmaleimida. Los valores que acompañan las flechas (en Kcal/mol) representan la energía libre ( $\Delta G$ ) para cada fragmentación utilizando RM1 como método semiempírico y el algoritmo Fletcher-Reeves para optimización de geometría.

En la carta espectral (figura 1) se observa una primera pérdida de M-46 que corresponde al pico ion base de 172 m/z; debiéndose a la ruptura del grupo nitro por atraer alta densidad electrónica debilitando el enlace carbono-nitrógeno entre Ar-NO<sub>2</sub> por transferencia de carga existente entre los orbitales paralelos del anillo aromático y nitrógeno con sus respectivos oxígenos [14]. Además se plantea este primer rompimiento ya que la distancia de enlace calculada entre C(9)-N(14) presentó el valor más elevado (1.494 Å), requiriendo menos energía para generar la primera ruptura, en la figura 4 se muestran las estructuras optimizadas para la *N*-*o*-nitrofenilmaleimida y la estructura E1A presentando un  $\Delta G$  de -69597.2 y -50062.8 Kcal/mol respectivamente.

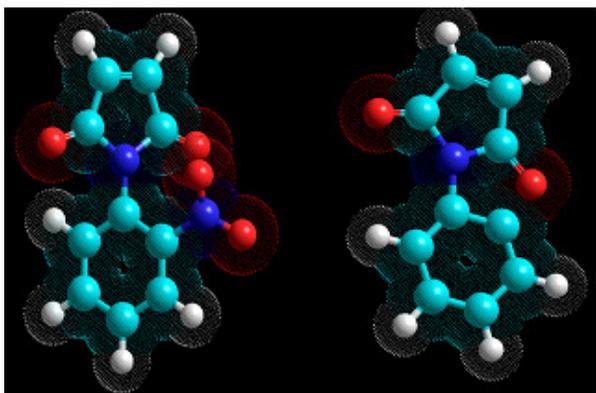


Figura 4. Estructura optimizada de la *N*-*o*-nitrofenilmaleimida (izquierda), la molécula con la pérdida del grupo nitro E1A (derecha).

La figura 5 muestra la estructura inicial con las distancias de enlace calculadas.

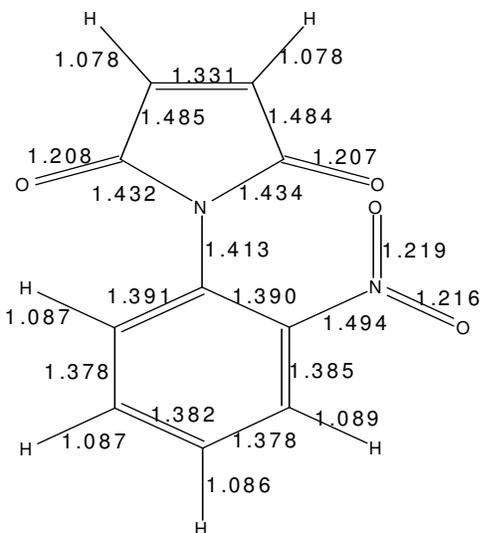


Figura 5. Distancias de enlace para la *N*-*o*-nitrofenilmaleimida.

Luego de la salida del grupo nitro, la molécula presentaría una ruptura que se propone como el desplazamiento electrónico hacia el nitrógeno por su capacidad de atraer carga (debido a su electronegatividad según Mulliken) y a la influencia del benceno por efecto inductivo, generando un rompimiento entre N(1)-C(5) estabilizado por el anillo aromático, esta ruptura produce un intermediario característico que se encuentra en el espectrómetro de masas llamado ion radical acilium por reordenamiento molecular (figura 6) [15].

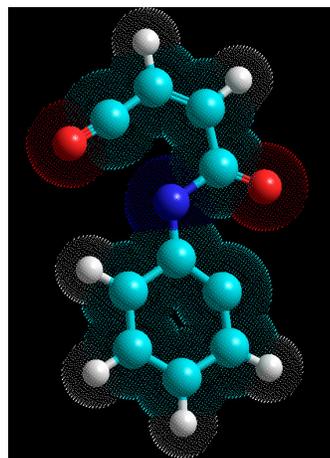


Figura 6. Ion radical acilium de la *N*-*o*-nitrofenilmaleimida.

La distancia de enlace calculada entre el N(1)-C(5) para generar el intermediario acilium fue de 1.492 Å generando un rompimiento heterolítico favorecido por el átomo de nitrógeno y su energía de estabilización fue de -50168.1 Kcal/mol (figura 7).

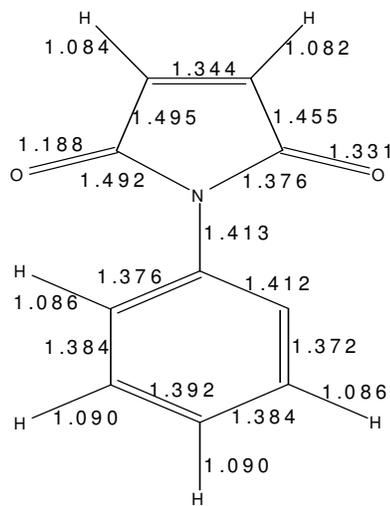


Figura 7. Distancias de enlace estructura E1A.

Posteriormente se produce un rompimiento homolítico entre el C(4)-C(5) ya que el intermediario acilium presenta una

deficiencia de carga localizada sobre el átomo de oxígeno propiciando la salida del grupo carbonilo (CO), una vez expulsado se produce una mayor deficiencia de densidad electrónica sobre el C(4) el cual sufre una migración de hidrogeno de C(3) a C(4) para producir el catión más estable (catión primario  $\rightarrow$  catión secundario (*vía 1*)) esta estructura presentó una energía libre de Gibbs de -39956.1 Kcal/mol (figura 8) [16].

La estructura E2B representa el mecanismo *vial*.

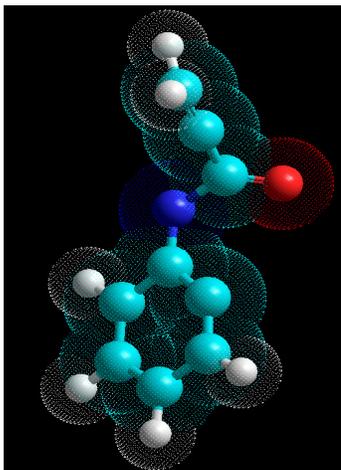


Figura 8. Estructura E2B.

En la figura 9 se muestra las distancias de enlace calculadas para la estructura E2B manifestando una distancia de enlace entre el N(1)-C(2) de 1.446 Å, propiciando el rompimiento entre el heteroátomo y el átomo de carbono para generar las estructuras E4 y E5 (figura 10) producidas por la *vía 1*.

A continuación observamos las distancias de enlace calculadas para el catión más estable después de una posible migración de hidrogeno de C(3) a C(4) previo desprendimiento del grupo carbonilo (figura 9) [17].

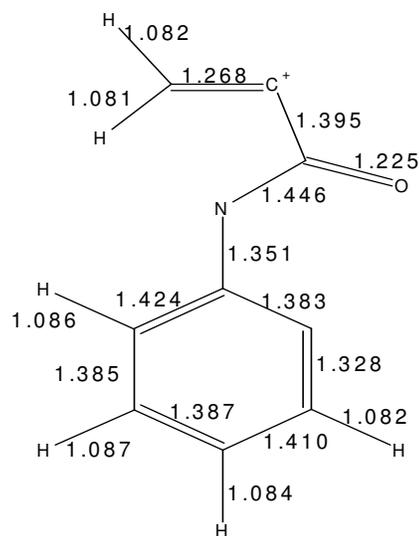
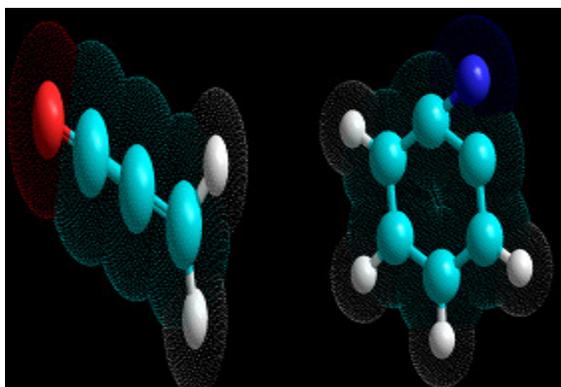


Figura 9. Catión más estable (E2B).

Las estructuras E4 y E5 presentaron una relación  $m/z=54$  y  $m/z=90$  registradas en el espectrómetro de masas y su energía libre calculada por el programa fue de -23170.6 y -16552.8 Kcal/mol respectivamente (figura 10).



Estructuras (izquierda) E4 y E5 (derecha).

Figura 10.

La *vía 2* presenta una ciclación entre N(1)-C(4) generando una especie con relación  $m/z=144$  y una energía calculada de -39786.9 Kcal/mol; a partir de esta estructura con un ciclo de cuatro miembros; se produce la salida de CO por reordenamiento proveniente del átomo de nitrógeno y por ruptura heterolítica entre C(4)-C(5) puesto que el átomo de oxígeno produce desplazamiento electrónico por inducción para formar el fragmento que posee un ciclo de tres miembros con una relación  $m/z=116$  y una energía libre de -29568.8 Kcal/mol (figura 11) [18].

Las estructuras descritas a continuación representan la *vía 2* y se generan gracias a la posible ciclación producida entre el N(1) y el C(4) [19].

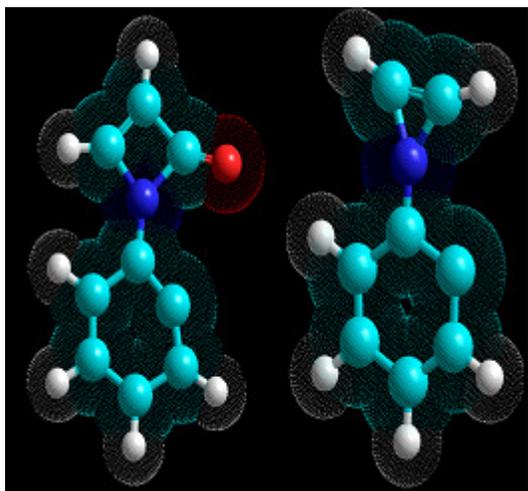


Figura 11. E2C (izquierda), E3 (derecha).

La salida del grupo carbonilo es sustentada por las distancias de enlace calculadas para la estructura E2C entre los átomos de N(1)-C(2) y C(2)-C(3) con unos valores de 1.522 Å y 1.494 Å respectivamente (figura 12) [20].

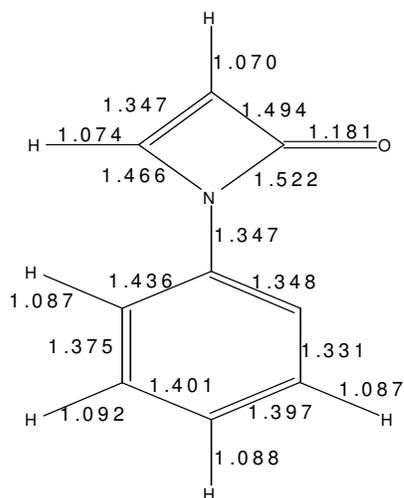


Figura 12. Distancias de enlace calculadas para la estructura E2C.

A continuación se muestra la tabla de valores energéticos para cada fragmento (tabla 1).

ESTRUCTURAS	$\Delta G$ (Kcal/mol)
Eo	-69597.2
E1A	-50062.8
E1B	-50168.1
E2A	-39958.8
E2B	-39956.1

E2C	-39786.9
E3	-29568.8
E4	-23170.6
E5	-16552.8

Tabla 1. Datos de energía de cada fragmento.

Debido a que en el espectro de masas se evidencia el ion pico base a  $m/z=172$ , se explica por la distribución de Boltzman que manifiesta que entre menor energía mas niveles poblacionales existen según la ecuación 1.

$$N_i/N_j = e^{(-\Delta E/KT)} \quad (1).$$

Donde  $N_i$  es el estado fragmentado de la molécula,  $N_j$  es el estado fundamental en este caso el inicial,  $\Delta E$  es la variación de energía,  $K$  es la constante de Boltzman y  $T$  la temperatura en escala absoluta [21]. Observando que la energía mas baja es el paso de salida del grupo nitro ( $E_o \rightarrow E1A$ ) soportados en una energía libre de Gibbs altamente negativa ocasiona que el pico ion base sea E1A, aunque el paso ( $E2B \rightarrow E5$ ) presenta energías mas bajas, la energía libre de Gibbs calculada para cada fragmento es elevada, resultando en alta abundancia y poca estabilidad, por eso es el segundo pico de mayor población.

## CONCLUSIONES

El análisis energético realizado mediante el método semiempírico RM1 y el algoritmo de Fletcher-Reeves proporcionó valores de energía libre de Gibbs negativos para los fragmentos e iones isoméricos propuestos, resultando ser procesos exergónicos, además el ion pico base con relación  $m/z=172$  fue el más abundante y se identificó como una de las especies características presentes en el espectrómetro de masas (catión acilium). En la proposición de los fragmentos generados se tomó como base de sustentación la expresión matemática de los orbitales de tipo Slater para sustentar la elección de cada fragmento por medio de las distancias de enlace siendo de gran ayuda en la determinación de los pasos de fragmentación.

## REFERENCIAS

- [1] Cox, P.; Parker, S. *Acta Crystallographica*. **1996**, section C, No. 52, 2578-2580.
- [2] Major, J.; Blanchard, G. *Chem. Mater.* **2002**, Vol. 14, No. 6, 2567-2573.
- [3] Inventores: DHINGRA, URVASHI, HOODA HURYN, DONNA, MARY KE, JUNE WEBER, GIUSEPPE, FEDERICO. Maleimidias bisindol sustituidas para la inhibición de la proliferación molecular.

- www.espatentes.com/pdf/2203111\_t3) publicado el 01/04/2004. Consultado en el año 2009.
- [4] McLafferty, F. W.; Interpretación de los Espectros de Masas. Primera Edición. Editorial Reverté S.A. México. 1969.
- [5] BUSH, F. MATTHEW. OOMENS, JOS. SAYKALLY, J. RICHARD. WILLIAMS, R. EVAN. "Effects of Alkaline Earth Metal Ion Complexation on Amino Acid Zwitterion Stability: Results from Infrared Action Spectroscopy". *J. Am. Chem. Soc.* Vol 130. pp 6463-6471.
- [6] HEINRICH, NIKOLAUS. SCHMIDT, JOCHEN. SCHWARDS, HELMUT. APELOIG, YITZHAK. "On the Mechanism of (C, H<sub>3</sub>, O). Loss from Ionized Methyl Acetate. An ab Initio Molecular Orbital Study". *J. Am. Chem. Soc.* Vol 109. No 5. pp 1317-1322.
- [7] BAKKEN, VEBJORN. HELGAKER, TRYGVE. UGGERUD, EINAR. "Models of Fragmentations Induced by Electron Attachment to Protonated Peptides". *J Mass Spectrom.* Vol 10. pp 625-638.
- [8] ALTIERI, K.E. SEITZINGER, S.P. CARLTON, A.G. TURPIN, B.J. KLEIN, G.C. MARSHALL, A.G. "Oligomers formed through in-cloud methylglyoxal reactions: Chemical composition, properties, and mechanisms investigated by ultra-high resolution FT-ICR mass spectrometry". *Atmospheric environment.* Vol 42. pp 1476-1490.
- [9] Cortés, H. Héctor F.; Valencia, H.; Determinación estructural y cristalográfica de la *N*-(o-nitrofenil)maleimida. Universidad del Quindío. 2006.
- [10] Hyperchem Versión 8.0.3; Hypercube Inc. 2007.
- [11] Gerd Bruno Rocha, Ricardo Oliveira Freire, Alfredo Mayall Simas\*, and James J. P. Stewart. *Journal of Computational Chemistry* 27(10), 1101-1111, 2006, RM1: a Reparameterization of AM1 for H, C, N, O, P, S, F, Cl, Br, and I.
- [12] R. Fletcher, *Practical Methods of Optimization* (Wiley, New York, 1980).
- [13] Cuevas, G.; Cortés, F.; Introducción a la Química Computacional. Fondo de Cultura Económica. México. 2003.
- [14] Pavia D.L.; Introduction to Spectroscopy. Tercera Edición. Editorial Harcourt. New York. 2001.
- [15] Levine, Ira N. Físicoquímica. Quinta Edición. McGraw-Hill. España. 2004.
- [16] McMurry, J.; Química Orgánica. Quinta Edición. Thomson Editores. México. 2000.
- [17] ALLEGRETTI, PATRICIA E. SCHIAVONI, M DE LAS MERCEDES. "Tautomeric equilibria studies by mass spectrometry". *LADECOR.* pp 1-15.
- [18] SAWYER, HOLLY ANN. "Investigation of the effect of Intra-Molecular interactions on the gas-phase conformation of peptides as probed by ion mobility-mass spectrometry, gas phase hydrogen/deuterium exchange, and molecular mechanics". Ph.D. Dissertation. Texas A&M University, 2004.
- [19] WEIBEL, DOUGLAS B. ATTYGALLE, ATHULA B. SHEVY, LAURA E. MEINWALD, JERROLD. "Cycloalkene budding: mass spectrometric studies of competitive and dual cycloalkene extrusion reactions from doubly unsaturated aldehyde *N,N*-dimethylhydrazones". *Rapid communications in mass spectrometry.* Vol 14. pp 1105-1109.
- [20] FLAMMANG, ROBERT. NGUYEN, MINH THO. BOUCHOUX, GUY. GERBAUX, PASCAL. "Characterization of ionized carbenes in the gas phase". *International Journal of Mass Spectrometry.* Vol 202. pp A8-A25.
- [21] [Silverstein, R.; Spectrometric Identification of Organic Compounds. Fifth Edition. John Wiley & Sons Editorial. New York. 1991.