

# Entwicklung von nitritselektiven optischen Sensoren und Modellierung und Synthese von Oligopeptiden und Untersuchung ihrer Wechselwirkung mit Oxoanionen

**Doctoral Thesis**

**Author(s):**

Demuth, Caspar

**Publication date:**

1999

**Permanent link:**

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-003819689>

**Rights / license:**

In Copyright - Non-Commercial Use Permitted

Diss. ETH Nr. 13152

**Entwicklung von nitritselektiven optischen Sensoren  
und  
Modellierung und Synthese von Oligopeptiden und  
Untersuchung ihrer Wechselwirkung mit Oxoanionen**

ABHANDLUNG

zur Erlangung des Titels  
DOKTOR DER NATURWISSENSCHAFTEN  
der  
EIDGENÖSSISCHEN TECHNISCHEN HOCHSCHULE ZÜRICH

vorgelegt von  
Caspar Demuth  
Dipl. Chem.  
geboren am 24. September 1968  
von Zürich (ZH)

Angenommen auf Antrag von  
Prof. Dr. G. Folkers, Referent  
Prof. Dr. U.E. Spichiger, Korreferentin  
Prof. Dr. A. Beck-Sickinger, Korreferentin

Zürich 1999

# Zusammenfassung

Der erste Teil dieser Arbeit befasste sich mit der Entwicklung von optischen chemischen Sensoren (Optoden) zur Bestimmung von Nitriten. Die Sensoren basierten auf dem Prinzip der selektiven Koextraktion von Anionen und Protonen in eine weichgemachte Polymerschicht. Die sensitiven Schichten enthielten ein Cobyrinsäurederivat als nitritselektiven Ionophor sowie verschiedene lipophile pH-Indikatoren (Chromoionophore).

Die wichtigsten analytischen Parameter der nitritselektiven Optoden wurden experimentell bestimmt. Die Sensoren zeigten eine hohe Selektivität gegenüber wichtigen Störionen; Chlorid, Nitrat und Phosphat wurden um einen Faktor von mehr als 1000 diskriminiert. Mit den Optoden waren reversible Messungen im Konzentrationsbereich zwischen  $5 \cdot 10^{-6}$  und 0.1 M  $\text{NaNO}_2$  mit Ansprechzeiten von 1-4 min möglich. Die Wahl eines Chromoionophors mit einem geeigneten  $\text{p}K_a$ -Wert erlaubte es, in einem pH-Bereich von 5 bis 7 zu arbeiten. Nitritbestimmungen waren sowohl im Extinktions- als auch im Fluoreszenzmodus möglich; damit wurde die Flexibilität der Sensoren im Hinblick auf eine praktische Anwendung wesentlich erhöht.

Optoden, die auf dem Prinzip der Koextraktion von Ionen beruhen, zeichnen sich dadurch aus, dass die Abhängigkeit des Messsignals von der Aktivität des Analytens mit einfachen Modellen beschrieben werden kann. Auf dieser Basis wurde eine statistische Methode entwickelt, die es erlaubte, wichtige Kenngrößen einer nitritselektiven Optode aus der Ansprechfunktion zu ermitteln.

Im Verlauf der Arbeit stellte sich heraus, dass die nitritselektiven Optoden in der Gasphase selektiv und reversibel auf Stickoxide ansprechen. Zur Zeit werden die Optodenmembranen am Zentrum für chemische Sensoren weiterentwickelt, damit sie in Feuermeldern eingesetzt werden können.

Im zweiten Teil der Arbeit wurden neue Ionophore für Oxoanionen entwickelt, die in chemischen Sensoren eingesetzt werden können. Dabei wurde versucht, die Prinzipien der enzymatischen Erkennung von Oxoanionen in eine einfache, synthetische Struktur zu übertragen. Als Vorbild diente dazu die Erkennung von anorganischem Phosphat durch Purinnucleosid-Phosphorylase (PNP).

Die Aminosäuren der Phosphat-Bindungsstelle von PNP, je ein Arginin-, Histidin- sowie zwei Serin-Reste, wurden mit aliphatischen Aminosäuren zu linearen und cyclischen Oligopeptiden verbrückt. Für eine Reihe von Peptiden, die sich in der Art dieser Verbrückung unterschieden, wurden Moleküldynamiksimulationen mit Kraftfeld-Methoden durchgeführt, und zwar sowohl für die freien Peptide als auch für die jeweiligen Komplexe mit Dihydrogenphosphat. Die Berechnungen erlaubten es, die Wechselwirkung zwischen dem Anion und den Peptiden in qualitativer Weise abzuschätzen.

Mit Festphasen-Peptidsynthese wurden mehrere Peptide synthetisiert, deren Interaktionen mit Oxoanionen aufgrund der Modellrechnungen günstig schienen. Die Wechselwirkungen zwischen den Peptiden und einer Reihe von Anionen wurden zunächst in Lösung untersucht. Messungen des Circular dichroismus in Methanol zeigten, dass Sulfationen bei einigen Peptiden Konformationsänderungen hervorrufen. 2D-NMR-Experimente bestätigten, dass diese Konformationsänderungen auf spezifische Wechselwirkungen zurückzuführen sind. Für ein lineares Peptid konnte gezeigt werden, dass die Wechselwirkung mit dem Oxoanion in Methanol zu einer hochgeordneten, partiell helikalen Struktur führt.

Von einigen der Peptide wurden lipophile Derivate hergestellt, damit sie in polymere Sensorschichten von ionenselektiven Elektroden implementiert werden können. Eine Extraktion von Oxoanionen in diese Sensorschichten – und damit ein signifikantes Ansprechen der chemischen Sensoren – konnte aber nicht nachgewiesen werden.

## Summary

The first part of the present work aimed at developing optical chemical sensors (optodes) for the determination of nitrite ions. The sensors were based on the selective coextraction of anions and protons into a solvent polymeric membrane. The sensitive layers contained a cobyrrinate derivative as a nitrite-selective ionophore and different lipophilic pH indicators (chromoionophores).

The most important analytical parameters of the optodes were determined experimentally. The sensors proved to be highly selective towards many interfering anions. Chloride, nitrate and phosphate ions were discriminated by a factor of more than 1000. With the optodes, reversible measurements of nitrite concentrations were possible in the range of  $5 \cdot 10^{-6}$  to 0.1 M  $\text{NaNO}_2$  with response times of 1-4 min. The availability of different chromoionophores with suitable  $\text{p}K_a$  values allowed measurements to be carried out in a pH range between 5 and 7. Nitrite determinations could be performed in both absorbance and fluorescence mode. Thus, the versatility of the sensors was greatly enhanced in view of a practical application.

The response functions of optodes based on the coextraction of ions can be described by means of relatively simple theoretical models. Based on such a model, a statistical method was developed that allowed to estimate important parameters of the optodes with nonlinear regression analysis.

It could be shown that the nitrite-selective optodes investigated in this work can also be applied to measurements in the gas phase. The sensors reacted selectively and reversibly with nitrogen oxides. In a new project at the Centre for Chemical Sensors, new optodes for use as fire detectors are currently being developed.

The second part of this work describes the development of new ionophores for oxoanions for use in chemical sensors. The project aimed at transferring the principles of the enzymatic recognition of oxoanions into a simple, synthetic structure. The recognition of inorganic phosphate by purine nucleoside phosphorylase (PNP) was taken as a basis for the development of the ionophores.

The aminoacids of the phosphate binding site of PNP, an arginine, a histidine and two serine residues, were linked by aliphatic aminoacids to form linear or cyclic oligopeptides. For a number of peptides, molecular dynamics simulations based on force field methods were carried out. These calculations were performed for the free peptides as well as their complexes with dihydrogen phosphate. The calculations allowed to estimate the interaction between the anion and the peptides in a qualitative way.

Several of the peptides showing a favorable interaction with oxoanions in the modeling calculations were synthesized using solid phase peptide synthesis. First, the interactions between the peptides and anions were studied in solution. Circular dichroism spectroscopy experiments in methanol showed that some of the peptides undergo a conformational change when sulfate ions are added. 2D-NMR investigations confirmed that these structural changes were due to specific interactions with sulfate ions. For a linear peptide, a highly ordered, partially helical structure of the sulfate complex was found in methanol solution.

In order to use the peptides as ionophores in solvent polymeric membranes of ion-selective electrodes, lipophilic derivatives were synthesized. However, no evidence of an extraction of oxoanions into these membranes was found, and none of the sensors showed a significant response towards oxoanions.