



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

Estudio teórico para complejos de cobre con fragmentos de hIAPP: estabilidad, potenciales redox e interacciones no convencionales

TESIS

**PARA OPTAR POR EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS**

PRESENTA

Q. Andrés Felipe Álvarez García

TUTOR

Dr. Jorge Martín del Campo Ramírez
Facultad de Química

Ciudad de México, enero, 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.

Agradecimientos

Al Dr. Jorge Martín del Campo, por sus sugerencias, consejos y paciencia durante la elaboración de este proyecto de investigación.

A mi familia, Gloria Inés García, José Antonio Álvarez y Gina Paola Álvarez, por su apoyo incondicional ante todos los proyectos que emprendo.

A mis amigos, Sebastián Giraldo y Oscar Pereira, por sus consejos, motivación y convivencia durante tantos años.

A mis compañeros del grupo, Felipe Lew Yee, Alfonso Esqueda, Rodrigo Cortés y Neftalí Rodríguez por sus sugerencias y recomendaciones.

A los miembros del jurado, por su cuidadosa revisión y gratas sugerencias respecto a este trabajo.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca de maestría correspondiente al CVU 957475.

A la Dirección General de Cómputo y de Tecnologías de la Información y Comunicación (DGETIC) por los recursos de cómputo otorgados bajo la clave LANCAD-UNAM-DGETIC-270.

Al proyecto CONACYT con clave CB-2016-282791.

Al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) bajo el proyecto con clave IN114418.

Índice general

Agradecimientos	I
Lista de Abreviaturas	IV
Resumen	1
Producción	2
1. Antecedentes	3
1.1. Amilina: Estructura y función	3
1.2. Péptidos como agentes quelantes	7
1.3. Cu(II) con IAPP: oligómeros y estrés oxidativo	9
1.4. Motivación de este estudio	11
2. Metodología	14
2.1. Optimización de las estructuras y simulaciones BOMD	14
2.2. Parámetros de EPR	15
2.3. Potenciales de reducción	15
2.4. Constantes de estabilidad	17
2.5. Análisis de la densidad electrónica	18
2.6. Análisis de descomposición de la energía	20
3. Estructuras de Cu(II) con los fragmentos de IAPP	21
3.1. Estructuras de Cu(II) con HSSNN(18-22)	21
3.2. Estructura de Cu(II) con NFLVH(14-18)	25
3.3. Estructuras de Cu(II) con KCNTA(1-5)	29
3.4. Resumen	33
4. Estabilidad de los fragmentos de IAPP con Cu(II)	35
4.1. Energía de interacción y análisis de descomposición de la energía	35
4.2. Estructura del acuocomplejo de Cu(II)	37
4.3. Constantes de Estabilidad	38
5. Potenciales de Reducción Cu(II)-IAPP	41
5.1. Potenciales redox en sistemas biológicos	41
5.2. Potenciales redox de referencia	43
5.3. Potenciales de reducción para los complejos de Cu(II) con fragmentos de hIAPP	47
6. Enlace de hidrógeno no convencional M(I)···H–O	53

6.1. Estructura del complejo Cu(I)-IAPP(18-22)	56
6.2. Parámetros geométricos y cargas atómicas para la interacción de metales d^{10} con el fragmento IAPP(18-22)	58
6.3. Potencial Molecular Electrostático	61
6.4. Análisis de descomposición de la energía	62
6.5. Análisis de interacciones no covalentes	64
Apéndice A. Datos de las Dinámicas y Optimizaciones	71
Referencias	81

Lista de Abreviaturas

DT2	Diabetes Tipo 2
DFT	Density Functional Theory
EDA	Energy Decomposition Analysis
NCI	Non-Covalent Interaction
hIAPP	human Islet Amyloid Polypeptide
ROS	Reactive Oxygen Species
EPR	Electron Paramagnetic Resonance
BOMD	Born-Oppenheimer Molecular Dynamics
COSMO	COnductor-like Screening MOdel
SHE	Standard Hydrogen Electrode
RDG	Reduced Density Gradient
VMD	Visual Molecular Dynamics
CM5	Charge Model 5
BSSE	Basis Set Superposition Error
ATCUN	The Amino-Terminal Copper(II) and Nickel(II) Binding
MAE	Mean Absolute Error
LUMO	Lowest Unoccupied Molecular Orbital
ALMO	Absolutely Localized Molecular Orbitals
MEP	Molecular Electrostatic Potential
HSSNN	Histidina-Serina-Serina-Asparagina-Asparagina
KCNTA	Lisina-Cisteína-Asparagina-Treonina-Alanina
NFLVH	Asparagina-Fenilalanina-Leucina-Valina-Histidina

Resumen

En la presente investigación se desarrolló un estudio computacional del enlazamiento de Cu(II) con tres fragmentos de la hIAPP. Inicialmente, se emplearon dinámicas moleculares y optimizaciones locales para establecer los complejos de menor energía con los fragmentos KCNTA(1-5), NFLVH(14-18) y HSSNN(18-22). Se calcularon las constantes de estabilidad y las energías de interacción para la formación de las estructuras más estables. Seguidamente, se obtuvieron los potenciales de reducción para dichos modelos mediante el método isodésmico y directo. También se realizó un análisis de interacciones no covalentes para caracterizar un contacto Cu–H encontrado en el complejo Cu(I)-HSSNN(18-22). Los resultados de este trabajo indican que los complejos con anillos quelato superiores a diez miembros no son estables, mientras que la formación de anillos rígidos de cinco miembros provee gran firmeza al sitio de coordinación. Además, las constantes de estabilidad sugieren que el enlazamiento de cobre(II) se forma con mayor espontaneidad hacia la región N-terminal de la hIAPP. Respecto a los potenciales de reducción se encontró que algunos complejos con coordinación 3N1O pueden ser reducidos por agentes biológicos, por lo que serían potenciales precursores de especies reactivas de oxígeno. Finalmente, el hallazgo de un enlace de hidrógeno Cu(I)···H–O puede ampliar la perspectiva estructural de las interacciones no covalentes en catálisis homogénea y química bioinorgánica.

Producción

Este trabajo fue desarrollado en el Departamento de Física y Química Teórica de la Facultad de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México.

La producción académica derivada de este proyecto se lista a continuación:

- **Póster:** *Prediction of Reduction Potentials for Cu(II) Binding with IAPP Fragments*, expuesto en el primer congreso de Química en Twitter LatinXChem, Septiembre, 2020.
- **Póster:** *Estudio teórico del enlazamiento de Cu(I) y el fragmento IAPP(18-22)*, sección de carteles XVIII Reunión Mexicana de Fisicoquímica Teórica, Toluca, Octubre, 2019.
- **Manuscrito (En elaboración):** *Computational study on the reduction potential and non-conventional interactions of copper complexes with hIAPP fragments*, by Andres Alvarez-Garcia and Jorge M. del Campo.

1

Antecedentes

Este capítulo tiene como objetivo presentar un contexto químico y biológico del enlazamiento de Cu(II) con hIAPP. Para ello se describe la estructura y función de la amilina en las células del páncreas. Este péptido es cosecretado con la insulina y forma fibrillas de amiloide, que se encuentran en las autopsias de los pacientes con diabetes tipo 2. Además, el cobre puede cumplir un papel importante en la estabilización de oligómeros tóxicos en las células beta. Para entender mejor la interacción de cobre con hIAPP, se describe la química de coordinación en complejos cobre-péptidos y se indica cómo se da el enlazamiento a través de la cadena principal. Seguidamente, se mencionan las estructuras propuestas por diferentes grupos experimentales para los complejos de Cu(II) con fragmentos de hIAPP, también se resalta la importancia que este sistema tiene en la producción de especies reactivas de oxígeno. Finalmente, se especifican los objetivos y alcances que tendrá este proyecto de investigación.

1.1 Amilina: Estructura y función

El péptido de 37 residuos llamado amilina o IAPP (Islet amyloid polypeptide) es el mayor componente depositado en los islotes amiloides de las personas con diabetes tipo 2 (DT2), estos depósitos fueron descritos como “degeneración hialina de los islotes de Langerhans” por Opie^[1]. El término “amiloidosis” refiere a depósitos extracelulares de proteínas de estructura fibrilar en órganos y tejidos. La palabra “amiloide” fue acuñada por Virchow en 1853, debido a las características tintoriales de los depósitos amorfos al ser tratados con yodo, estos presentaban un color negruzco semejante al almidón.

La amilina es sintetizada a partir de un precursor prepropeptídico de 89 aminoácidos, la preproamilina (PreProIAPP). Donde los propéptidos amino y carboxiloterminales presentan un alto grado de variabilidad, lo que podría indicar ausencia de actividad biológica. La escisión proteolítica de la secuencia de 22 aminoácidos del péptido señal en el retículo endoplasmático rugoso libera la proamilina (ProIAPP). Esta es cortada por las prohormonas convertasas

PC(1/3) y PC2 en dos sitios dibásicos conservados, luego la carboxipeptidasa E (CPE) produce la amidación C-terminal. Las modificaciones postraduccionales, como la formación de un puente disulfuro (C2-C7) y la amidación del carboxilo terminal son relevantes para la actividad biológica de la hIAPP madura^[2].

Este péptido maduro es almacenado en los gránulos secretores de las células beta a un pH ácido. Estudios previos revelan que la tendencia a formar agregados se maximiza a valores de pH donde la solubilidad del péptido es mínima, es decir, cerca de su punto isoeléctrico. La baja agregación de la hIAPP en las condiciones ácidas (pH 5.5) de los gránulos secretores se debe al desplazamiento en la solubilidad, ya que el punto isoeléctrico de la hIAPP se ubica en 8.9^[3]. Además, la incorporación de carga positiva en la cadena peptídica hace desfavorable la agregación y conlleva a fibrillas cortas. Este polipéptido puede ser diferenciado en tres fragmentos: a) el N-terminal, que contiene los residuos 1-19 relacionado con la unión de insulina y membranas; b) un fragmento denominado de control amiloidogénico (residuos 20-29), que es la secuencia que está propensa a la agregación; c) los residuos 30-37 que podrían contribuir a procesos de autoasociación^[4]. Aunque la región del 20-29 no es la única asociada a la formación de fibrillas amiloides, otros fragmentos también pueden ser propensos a agregación.

Existen polipéptidos análogos a la hIAPP (Figura 1.1) que tienen importantes diferencias estructurales y funcionales. Los análogos más importante son: amilina de roedores (rIAPP) y pramlintida. Los roedores no forman fibrillas amiloides y no desarrollan diabetes^[5,6], esto se debe a la sustitución de la histidina 18 (H18) por arginina (R18), lo que evita la agregación del polipéptido. Mientras que otros animales que conservan la histidina 18 en su IAPP han presentado DT2, como los gatos^[7] y primates no humanos^[8], esto muestra una vinculación de las fibrillas amiloides con la diabetes en otros seres vivos. Por otro lado, la pramlintida es empleada como medicamento para pacientes con DT2, este fármaco se diferencia de la hIAPP en tres residuos de prolina (25,28,29) que le dan mayor solubilidad y evitan la agregación. Todos estos hallazgos en polipéptidos análogos dan una gran importancia a la estructura primaria de la IAPP.

hIAPP:	KCNTATCATQRLANFLVHSSN FG AILSTNVGSNTY-NH ₂
rIAPP:	KCNTATCATQRLANFLV R SSN LG PVLPPTNVGSNTY-NH ₂
Pramlintida:	KCNTATCATQRLANFLVHSSN FG PILPPTNVGSNTY-NH ₂

Figura 1.1: Estructura primaria de análogos de amilina. Las diferencias son marcadas con colores, hIAPP (azul), rIAPP (rojo) y pramlintida (verde).

Aunque se cataloga a la hIAPP como un polipéptido intrínsecamente desordenado, se ha demostrado que adopta una estructura α hélice en los residuos 5-19 (Figura 1.2). Dicha conformación es estabilizada por el puente disulfuro en la zona N-terminal del péptido. Sin embargo, la membrana celular puede catalizar el cambio estructural de una conformación helicoidal a hojas beta, induciendo la formación de amiloide en la superficie membranal^[9]. Este mecanismo podría explicar la citotoxicidad de los oligómeros y la eventual apoptosis celular.

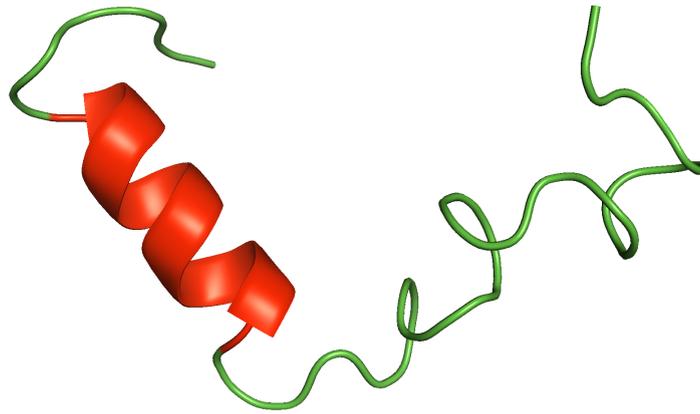


Figura 1.2: Estructura secundaria de la hIAPP en solución. El color verde representa las asas y el color rojo las hélices

La amilina es cosecretada con la insulina en condiciones basales y en respuesta a estímulos secretagogos^[10], por lo que los cambios en la secreción de insulina estarían coordinados a los cambios de la secreción de hIAPP. En el inicio de la diabetes, las concentraciones de hIAPP en plasma aumentan, mientras que al progresar la enfermedad, la secreción de amilina disminuye de forma paralela a la insulina. Se cree que este aumento inicial de amilina sería el responsable de una aceleración en el proceso de formación de fibrillas. Además, estudios epidemiológicos revelan que cerca del 95 % de los pacientes con DT2 han presentado depósitos amiloides en el páncreas. Por otro lado, la concentración de hIAPP en sangre no parece ser suficiente para inducir la autoagregación, sin embargo, el péptido es encontrado en concentraciones milimolares en los gránulos secretores intracelulares en las células β pancreáticas^[11].

Estas evidencias fisiológicas sugieren que la amilina puede actuar como hormona paracrina. Cuando este polipéptido es hipersecretado induce a la resistencia de insulina y, en consecuencia, podría actuar como un inhibidor no competitivo de la insulina. Esto podría indicar una inhibición en la síntesis de glucógeno y estimulación de la gluconólisis, a través de la activación de la glucógeno sintetasa y la inhibición de la glucógeno fosforilasa. Sin embargo, el impacto fisiológico de la hIAPP está lejos de ser elucidado, ya que la mayoría de estudios

in vitro emplean concentraciones del péptido superiores a las encontradas en su ambiente biológico.

Para entender mejor el papel fisiológico que cumple la hIAPP se debe estudiar su proceso de agregación (Figura 1.3). Este proceso inicia con la interacción entre monómeros para formar dímeros, que mediante una progresiva interacción lleva a agregados de orden superior. De este modo, la fase de latencia involucra la formación de oligómeros desordenados, seguido por un rápido crecimiento que conduce al apilamiento de hojas beta. Finalmente, se alcanza una fase de saturación formando fibrillas de amiloide^[12].

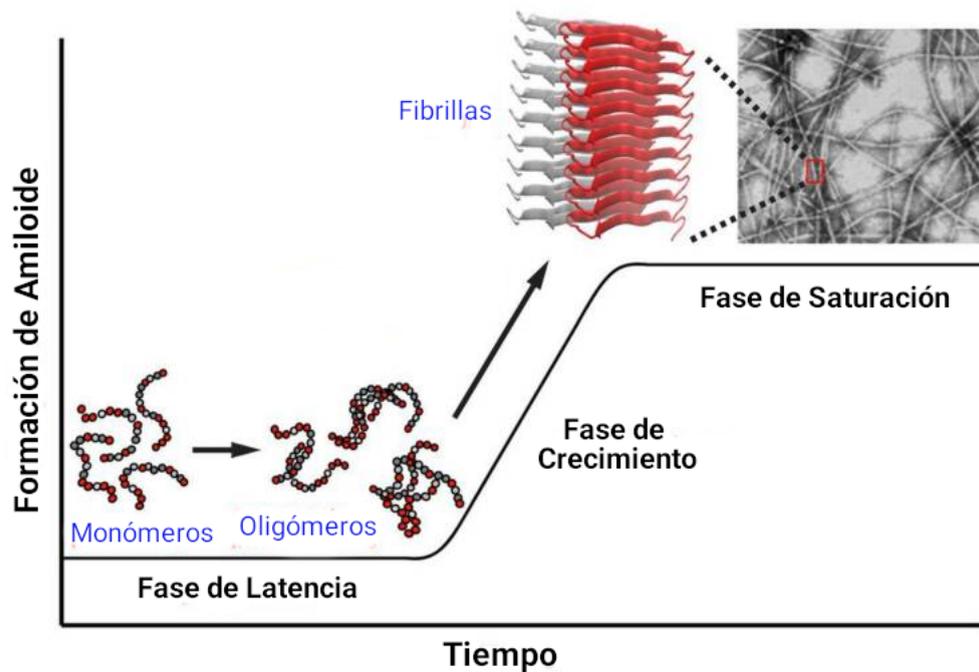


Figura 1.3: Esquema del proceso de agregación de la hIAPP^[12]. Inicia con la fase de latencia, sigue con un período de crecimiento y termina con la maduración de las fibrillas de amiloide.

La especie intermedia (oligómeros) generada en la fase de latencia puede permear la membrana celular y producir poros no selectivos^[13]. Diversos estudios^[14] sugieren que las cargas negativas de los fosfolípidos de la membrana pueden acelerar la amiloidogénesis de la hIAPP a través de nucleación estocástica. Otro mecanismo de citotoxicidad de los oligómeros^[15] se da por el cambio de conformación de α -hélice a láminas β en la membrana, causando la apoptosis celular. Por lo tanto, los oligómeros de la hIAPP son la especie más tóxica y podrían ser los causantes de la apoptosis de células beta.

Por otro lado, el cobre podría cumplir un papel relevante en la estabilización de dichos oligómeros^[16]. Algunas investigaciones han demostrado que el enlazamiento de este metal con hIAPP puede inhibir la formación de fibrillas amiloides, a través de cambios conformacionales en la estructura secundaria del péptido. Además, existen evidencias clínicas^[12] de altos niveles de cobre en pacientes con DT2, lo que incrementa con la gravedad de la enfermedad. Por lo tanto, estudiar las interacciones metal-péptido podría contribuir a la comprensión de los procesos químicos que se llevan a cabo con la estructura secundaria de la hIAPP.

1.2 Péptidos como agentes quelantes

La interacción de iones metálicos con péptidos es una de las principales áreas de la química bioinorgánica, ya que imita las propiedades de las metaloproteínas que tienen gran importancia biológica. Este proceso de enlazamiento metal-péptido presenta variaciones conformacionales que corresponden a los múltiples átomos donadores que se encuentran en la cadena peptídica^[17]. La estabilidad de los complejos formados dependerá del ion metálico, el tamaño de los anillos quelato y la posibilidad de crear enlaces de coordinación.

El cobre es el centro metálico de muchas enzimas involucradas en procesos biológicos, como transporte de electrones, transporte de oxígeno y señalización celular. Los péptidos son ligandos versátiles^[18] para los iones de Cu(II), con una variedad de geometrías de coordinación y afinidades de enlazamiento. Los grupos donadores de la cadena principal (Conocido en inglés como “peptide backbone”) pueden ser amino terminal (NH₂), amidas desprotonadas (N⁻) y carbonilos (C=O) de enlaces peptídicos^[19]. Este enlazamiento de cobre en la cadena principal puede ocurrir cuando se tiene un grupo de anclaje que facilite la desprotonación de los grupos amida.

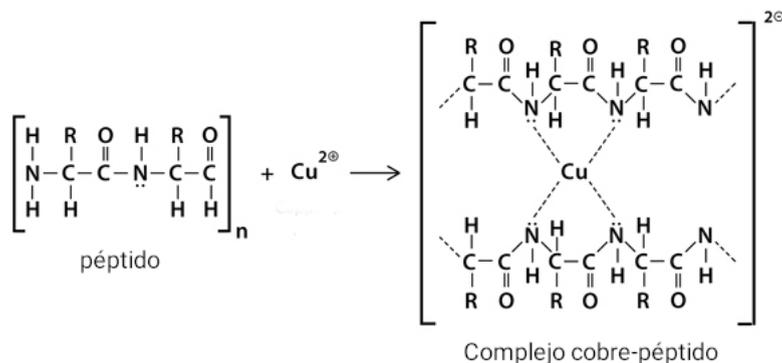


Figura 1.4: Reacción de Biuret para detección de enlaces peptídicos

Una reacción que introdujo el enlazamiento de amidas desprotonadas con cobre es la prueba de Biuret (Figura 1.4). Esta reacción muestra que los enlaces peptídicos pueden actuar como N-donadores de electrones para cobre(II) en condiciones básicas. Sin embargo, esto también puede ocurrir a pH fisiológico cuando se tiene un grupo de anclaje como amino terminal, histidina y/o cisteína^[20]. El imidazol de la histidina es el grupo de anclaje más efectivo para enlazamiento con Cu(II), seguido por el grupo tiol de la cisteína; también los carbonilos de glutamato y asparagina son buenos donadores en la interacción con cobre. Otro factor que contribuye a la desprotonación de amidas del enlace peptídico es la acción del metal, el Cu(II) es un ácido de Lewis que puede enlazarse a la cadena principal e inducir la desprotonación de amidas adyacentes a una histidina o grupo amino terminal^[21].

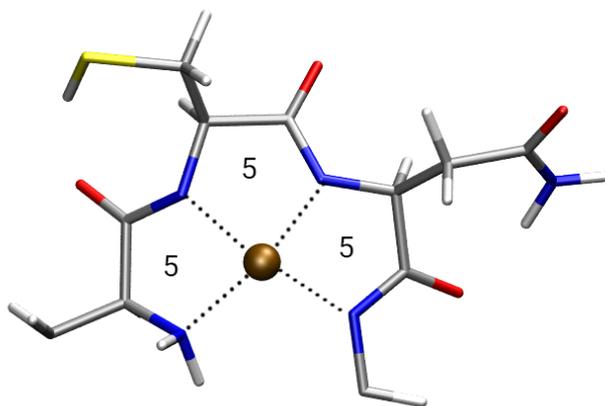


Figura 1.5: Representación esquemática de un sistema de anillos quelato (5,5,5).

Las propiedades químicas de algunos residuos involucrados en la coordinación cobre-peptidos pueden desestabilizar el enlazamiento. La presencia de residuos impedidos - como leucina, triptófano y fenilalanina - podrían reducir la estabilidad termodinámica de los complejos o generar una distorsión estructural^[20]. Por otro lado, la prolina tiene una amina secundaria que no le permite desprotonarse ni participar en la coordinación, por ello es llamada “punto de corte”^[22]. Este entorno de coordinación con grupos de cadena principal puede formar diferentes sistemas de anillos quelato. La formación de anillos con 5 y 6 miembros provee estabilidad termodinámica al entorno de coordinación, la cual disminuye cuando el tamaño del complejo aumenta^[18,23]. En algunas ocasiones se favorecen anillos quelato de mayor tamaño, especialmente cuando el radio iónico del centro metálico es grande, como el caso de Pt(II) y Au(I). Una representación esquemática de un sistema (5,5,5) es mostrada en la Figura 1.5, este sistema es muy estable y suele darse en complejos de coordinación tipo ATCUN (En inglés este acrónimo significa “The amino-Terminal Copper(II) and Nickel(II) binding”), adoptando estructuras cuadrado planares.

1.3 Cu(II) con IAPP: oligómeros y estrés oxidativo

Un péptido que se enlaza con cobre a través de la cadena principal es la amilina. La hIAPP tiene como grupo de anclaje el imidazol (Histidina 18) y el amino terminal, los cuales son puntos de referencia para establecer la coordinación con cobre. Además, el enlazamiento de Cu(II) con el imidazol interrumpe la formación de hojas beta, siendo este el primer paso de la agregación. Según diversos grupos experimentales, esta interacción con el cobre estabilizaría dichos oligómeros, evitando que se formen las fibrillas amiloides^[24,25].

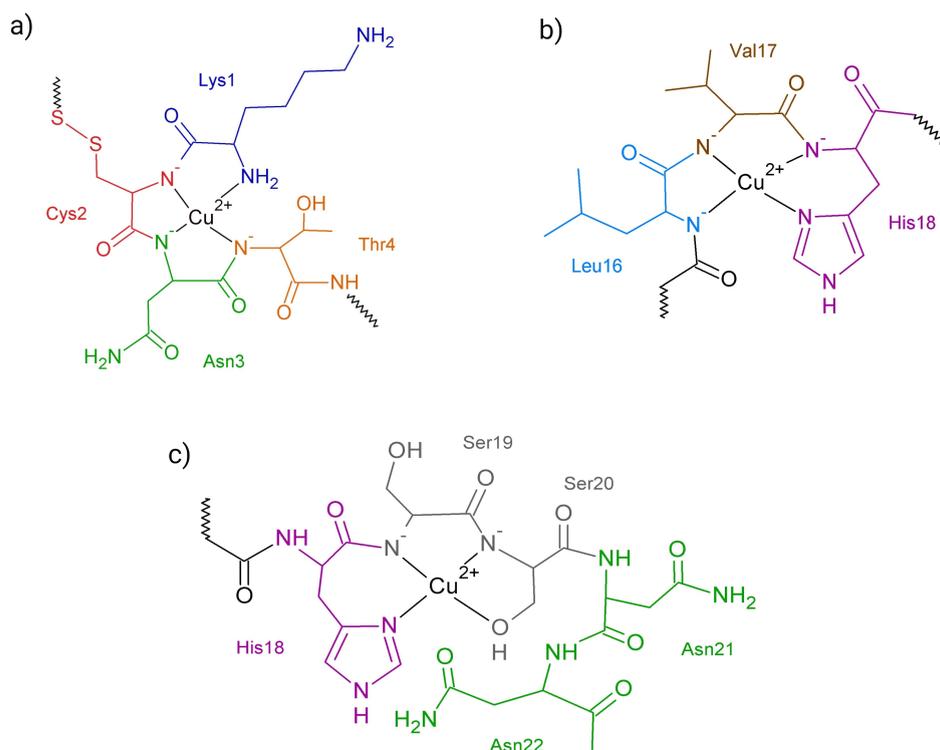


Figura 1.6: Modos de coordinación de Cu(II) con fragmentos de IAPP propuestos mediante técnicas potenciométricas y espectroscópicas. a) Coordinación 4N (NH₂, 3N⁻)^[26], b) Coordinación 4N (N_{im}, 3N⁻)^[27], c) Coordinación 3N1O (N_{im}, 2N⁻, O_{OH}) con una contribución axial CO/N22^[28].

Los estudios potenciométricos establecieron la coexistencia de dos especies químicas a pH fisiológico, las cuales tienen dos y tres amidas desprotonadas con un porcentaje de formación similar^[29]. Estos grupos de investigación con ayuda de técnicas espectroscópicas han propuesto modos de coordinación para Cu(II) con IAPP (Figura 1.6), donde el enlazamiento se ubica en diferentes sitios del polipéptido. a) La coordinación 4N enlazada en la región amino terminal^[26] presenta anillos quelato (5,5,5), b) la coordinación 4N enlazada con histidina hacia la región N-terminal^[27] tiene anillos quelato (5,5,6) y c) la coordinación 3N1O enlazada con histidina hacia la región C-terminal^[28] tiene anillos quelato (7,5,5).

Estos tres modos de coordinación reportados en la literatura han tenido diversos cuestionamientos respecto a su formación. La estructura a) tiene un enlazamiento desde el amino terminal que es una región con gran movilidad en los péptidos. La estructura b) tiene residuos con impedimento estérico que podrían distorsionar la geometría cuadrada. Finalmente, la estructura c) tiene como dificultad geométrica la formación de un anillo quelato de siete miembros, que podría dar inestabilidad al sistema. Debido a estas diferencias en grupos de anclaje, tamaño de anillos quelato e impedimento estérico de sus residuos, se requiere un análisis estructural exhaustivo del problema.

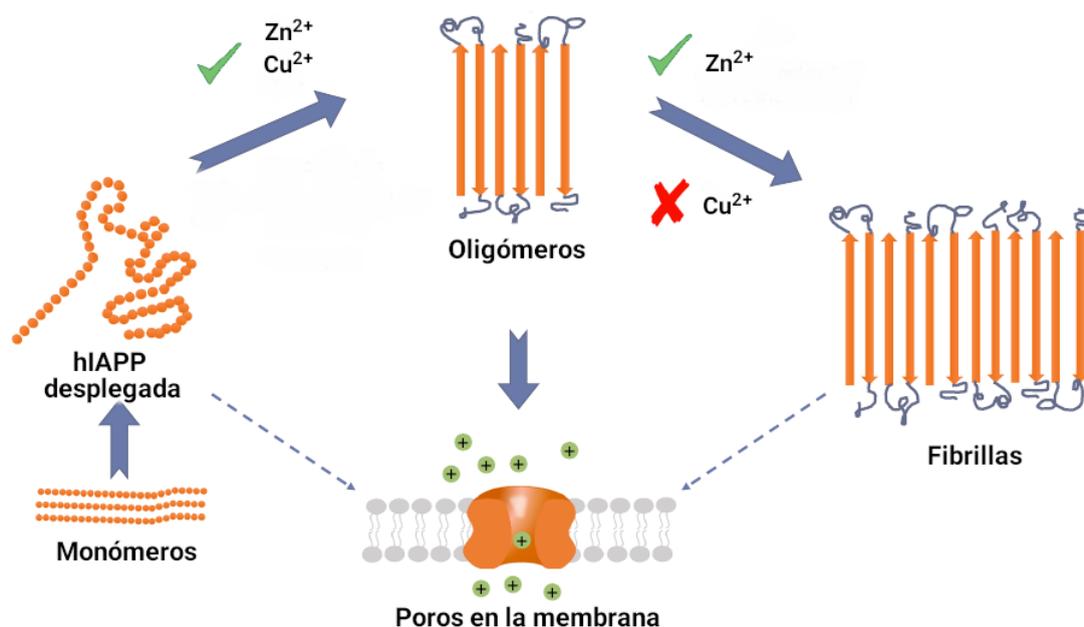


Figura 1.7: Mecanismo de acción de hIAPP con Cu(II) y Zn(II) en la células beta del páncreas^[30].

Tanto el Zn(II) como el Cu(II) pueden interactuar con la hIAPP generando cambios conformacionales relevantes (Figura 1.7). Estos metales promueven la formación de protofibrillas u oligómeros en el espacio intracelular^[31]. Ward y colaboradores^[32] emplearon fluorimetría y microscopía de transmisión de electrones (TEM) para investigar la influencia in vitro de Al(III), Fe(III), Zn(II) y Cu(II) en la formación de depósitos amiloides. Ellos llegaron a la conclusión que el Cu(II) inhibe la formación de fibrillas amiloides, pero estabiliza agregados intermedios (oligómeros) que son la especie más tóxica. Por lo anterior, el cobre podría cumplir un papel nocivo, mientras que el zinc sería un metal protector ante el desarrollo de la patología.

El enlazamiento de Cu(II) con hIAPP también cobra importancia por su potencial actividad

redox en el ambiente biológico. Algunos autores han sugerido que la presencia de cobre en depósitos amiloides puede catalizar la formación de especies reactivas de oxígeno^[3], aunque no hay evidencias claras al respecto. El potencial de reducción de Cu(II)/Cu(I) es 0.153 V, por lo que el cobre tiene la capacidad de adoptar dos estados de oxidación en solución^[33]. El Cu(I) está presente principalmente en el ambiente reductor intracelular, mientras que el Cu(II) se encuentra en el espacio oxidante extracelular. Por otro lado, la amilina tiene un potencial de -0.129 V, lo que sugiere que una cantidad significativa de IAPP existe en el retículo endoplasmático en estado reducido. Sin embargo, no se conoce el potencial redox de cobre enlazado a hIAPP, por lo que no hay evidencia de la existencia de Cu(I) en el entorno del péptido.

Aunque no se han reportado estudios contundentes sobre la actividad redox del complejo Cu(II)-hIAPP, en la literatura se encuentran otros sistemas parecidos, como el Cu(II)-A β ^[34]. Este último sistema puede reducir al cobre en presencia de agentes reductores biológicos como ácido ascórbico y glutatión. Los metales con bajo estado de oxidación como el Cu(I) pueden catalizar la descomposición del peróxido de hidrógeno mediante la reacción de Fenton, produciendo radicales hidroxilo:



El radical $\cdot OH$ oxida a los residuos más susceptibles del péptido, generando un daño celular importante. Por otro lado, el complejo Cu(I)-A β puede activar al oxígeno molecular para formar el radical superóxido. Los avances que se han obtenido en este complejo podrían motivar la búsqueda de propiedades redox en Cu(II)-hIAPP.

1.4 Motivación de este estudio

Aunque se han mencionado diversos avances, quedan aspectos sin resolver en el enlazamiento de Cu(II) con hIAPP. No hay una evidencia clara del enlazamiento *in vivo* de los metales con estos péptidos intrínsecamente desordenados^[14]. Tampoco se encontró un estudio estructural para el enlazamiento de Cu(II) con el grupo amino terminal de la hIAPP, solo un reporte para sus análogos^[26]. Además, los grupos experimentales no han concordado en el sitio de enlazamiento de Cu(II) con el péptido, por lo que se han propuesto tres diferentes estructuras para el entorno de coordinación. Debido a lo anterior, se requiere una mejor comprensión del enlazamiento de Cu(II) con hIAPP, ya que este cumple un papel clave en la formación de láminas beta y fibrillas de amiloide.

Por otro lado, no hay un avance representativo en la actividad redox del complejo Cu(II)-hIAPP. La estructura de la especie reducida Cu(I)-hIAPP no ha sido reportada, lo que ha llevado a algunos autores a considerar que el Cu(I) no interacciona con hIAPP^[35]. En consecuencia, tampoco se han reportado las constantes de afinidad ni el potencial redox para esta especie. La obtención del potencial redox de Cu(II)-hIAPP daría una contribución importante de la actividad redox de la hIAPP en el espacio extracelular. Adicionalmente, esta información serviría como punto de partida para el entendimiento de la producción de especies reactivas de oxígeno, las cuales son responsables de la apoptosis de células beta en el páncreas.

En respuesta a estos interrogantes, la presente investigación realizó un estudio computacional para complejos de cobre con fragmentos de hIAPP. Se llevaron a cabo los siguientes objetivos:

- Establecer las estructuras más estables para la coordinación de Cu(II) con los fragmentos KCNTA(1-5), NFLVH(14-18) y HSSNN(18-22).
- Determinar el sitio preferente para el enlazamiento de Cu(II) en la hIAPP.
- Predecir el potencial de reducción para los complejos de Cu(II) con fragmentos de hIAPP, empleando el método directo y el método isodérmico.
- Caracterizar las interacciones no convencionales halladas en el complejo Cu(I)-HSSNN(18-22).

Dichos objetivos se lograron mediante las siguientes actividades:

- Realizar dinámicas moleculares Born-Oppenheimer y optimizaciones locales para los complejos de Cu(II) con fragmentos de hIAPP
- Calcular la energía de interacción y las constantes de estabilidad para los modelos de menor energía.
- Obtener el potencial redox para las estructuras con coordinación 3N1O y 4N de cada fragmento.
- Reportar los cambios que presentan los sitios de coordinación debido al proceso de reducción.
- Estudiar la coordinación del complejo Cu(I)-HSSNN(18-22) empleando metodologías basadas en el gradiente reducido de la densidad, el análisis de cargas y el análisis de descomposición de la energía

Estos tópicos se desarrollarán en los siguientes capítulos empleando metodologías computacionales. El establecimiento de las estructuras más estables para los complejos de Cu(II) con fragmentos de hIAPP ayudará a resolver las controversias experimentales respecto al sitio de enlazamiento. Además, el cálculo del potencial de reducción puede ser un precedente importante en la comprensión de la actividad redox del complejo. Por otro lado, la caracterización de interacciones no convencionales del complejo Cu(I)-IAPP(18-22) puede servir como un sistema modelo en el enlazamiento de Cu(I) con péptidos. De esta manera, la presente investigación busca realizar un aporte a la química bioinorgánica del cobre con hIAPP y a la etiología de la DT2.

2

Metodología

Para llevar a cabo los objetivos de este trabajo se realizaron cálculos de estructura electrónica. Las metodologías fueron empleadas para encontrar las estructuras de mínima energía, calcular los potenciales redox, determinar las constantes de estabilidad y estudiar las interacciones no covalentes en complejos de Cu(II) con fragmentos de hIAPP. Las optimizaciones de las estructuras, las dinámicas Born-Oppenheimer y las propiedades termodinámicas fueron calculadas usando la implementación de TeraChem. La determinación de parámetros de EPR se hizo en ORCA 3.0, el análisis de descomposición de la energía en Q-Chem 5.1 y el análisis de interacciones no covalentes con el programa Multiwfn. Además, para visualizar las dinámicas, los orbitales y las superficies del gradiente reducido de la densidad se empleó VMD.

2.1 Optimización de las estructuras y simulaciones BOMD

Los modelos para los complejos de Cu(II) y Cu(I) con fragmentos de hIAPP fueron construidos en Avogadro y pymol. Particularmente, se seleccionaron los fragmentos KCNTA(1-5), NFLVH(14-18) y HSSNN(18-22), los cuales tienen como sitios de anclaje el grupo imidazol y el amino terminal. Todas las estructuras se optimizaron en el software TeraChem^[36,37], empleando el funcional PBE0^[38] y el conjunto base DZVP^[39], este nivel de teoría se escogió debido a su balance entre precisión y costo computacional^[40]. Para los complejos de Cu(I) se impuso una multiplicidad singlete y para los complejos de Cu(II) una multiplicidad doblete. Se incluyó solvatación explícita mediante la adición de cuatro moléculas de agua en cada modelo. También se llevaron a cabo dinámicas moleculares Born-Oppenheimer (BOMD, por sus siglas en inglés)^[41] en un ensamble NVT con condiciones de frontera esféricas, y un integrador de tiempo de Verlet con disipación^[42]. Las dinámicas fueron de 20 ps con un paso de tiempo de 1 fs y la temperatura fue controlada a 300 K por reescalamiento de velocidades periódico. Además, se seleccionaron puntos de la simulación BOMD entre 5 y 20 ps con el objetivo de extraer estructuras estables. Posteriormente, se reoptimizaron estas estructuras y se seleccionó el modelo de menor energía. Esta metodología fue adaptada de un estudio

previo que demostró que las dinámicas cuánticas pueden ayudar a realizar una búsqueda conformacional para los complejos de hIAPP con Cu(II)^[28], realizando dinámicas superiores a 10 ps.

2.2 Parámetros de EPR

Los parámetros de EPR fueron obtenidos desde el módulo EPR/NMR implementado por el código de estructura electrónica ORCA 3.0^[43]. Estos cálculos se realizaron para las estructuras de menor energía de los complejos estudiados, con el funcional híbrido PBE0 y el conjunto base DGAUSS, este funcional ha sido empleado exitosamente para predecir parámetros de EPR en otros complejos de cobre^[44]. La inclusión de cuatro moléculas de agua mejora la descripción del entorno de coordinación y la predicción de parámetros de EPR^[28,45]. Para el metal se añadió una base con propiedades de core (CP)^[46] con funciones de polarización para mejorar la predicción del tensor **A**. También se incrementó la exactitud en los criterios de tolerancia y el mallado de integración, usando los keywords “TightSCF” y “Grid5”. Con estas especificaciones se calculó la matriz **g** y el tensor **A** para los complejos con solvatación explícita de cuatro moléculas de agua. Estos valores calculados para el tensor **A** y la matriz **g** fueron comparados con los datos experimentales disponibles.

2.3 Potenciales de reducción

Para calcular el potencial de reducción se realizaron cálculos de frecuencias y se incluyeron efectos de solvatación implícita COSMO con la implementación del software TeraChem. La evaluación de la energía libre de reducción se realizó mediante un ciclo de Born-Haber, donde la Figura 2.1 ilustra el ciclo para un complejo $[Cu^{2+}L](H_2O)_4$, donde L representa al ligando, que en este caso serán fragmentos de la hIAPP. Inicialmente, se realiza la reducción del complejo en fase gas $\Delta G_{gas}^{o,redox}$, luego se aplica la solvatación de COSMO a la especie reducida $\Delta G_s^o(Red)$ y se resta la solvatación sobre la especie oxidada $\Delta G_s^o(Ox)$, con este procedimiento se puede obtener la energía libre de reducción para las especies en estado solvatado $\Delta G_{solv}^{o,redox}$.

Aplicando este ciclo termodinámico, la energía libre redox queda:

$$\Delta G_{solv}^{o,redox} = \Delta G_g^{o,redox} + \Delta G_{solv}^o(Red) - \Delta G_{solv}^o(Ox) \quad (2.1)$$

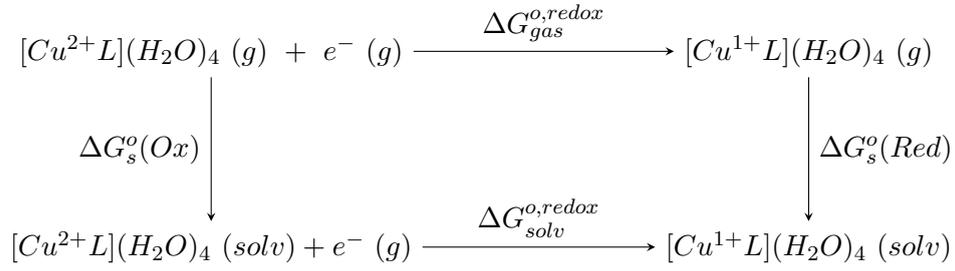


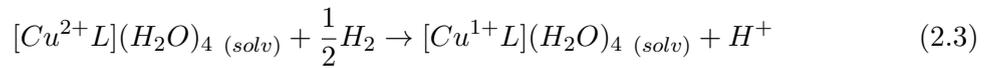
Figura 2.1: Ciclo de Born-Haber para un complejo $[Cu^{2+}L](H_2O)_4$ para calcular la energía libre de Gibbs para la reacción de reducción con efectos de solvatación $\Delta G_{solv}^{o,redox}$

Donde $\Delta G_{solv}^{o,redox}$ es la energía libre redox en estado solvatado, $\Delta G_g^{o,redox}$ es la energía libre redox en fase gaseosa, $\Delta G_{solv}^o(Red)$ es la energía libre de solvatación de la especie reducida y $\Delta G_{solv}^o(Ox)$ es la energía libre de solvatación de la especie oxidada. Esta energía libre redox para la especie solvatada se puede relacionar con el potencial así:

$$E_{redox} = -\frac{\Delta G_{solv}^{o,redox}}{n_e F} \quad (2.2)$$

Donde n_e es el número de electrones involucrados en la reacción redox, E_{redox} es el potencial de reducción absoluto y F es la constante de Faraday (23.061 kcal/mol V). Este potencial absoluto se puede relacionar con el potencial experimental mediante dos métodos: directo e isodésmico.

En el método directo se tomó el potencial de reducción estándar de hidrógeno (SHE, por sus siglas en inglés) como referencia. Así, la reacción redox queda:



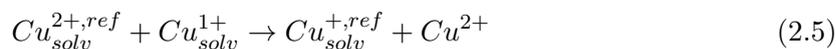
Tomamos el potencial absoluto calculado (E_{redox}) frente al potencial de referencia SHE:

$$E_{redox} = -\frac{\Delta G_{solv}^{o,redox}}{F} - E_{SHE}^o \quad (2.4)$$

El potencial SHE que se utilizó fue el recomendado por la IUPAC con un valor de 4.44 eV^[47], el cual se ha confirmado mediante un estudio experimental^[48].

En el método isodésmico^[49] se realiza el balance redox con un compuesto de referencia. Estas referencias se eligieron teniendo en cuenta^[50] lo siguiente: a) la esfera de coordinación (3N1O y 4N), b) el tamaño del ligando, c) la carga del metal catiónico, y d) el número de enlaces

del complejo oxidado y reducido. Por lo tanto, la reacción redox empleando un compuesto de coordinación es:



Y el potencial redox se obtiene con la siguiente ecuación:

$$E_{redox}^o = E_{exp}^{o,ref} - \Delta E_{red}^o \quad (2.6)$$

Donde $E_{exp}^{o,ref}$ es el potencial experimental del compuesto de referencia, y ΔE_{red}^o es la diferencia entre el potencial calculado para la referencia y el complejo de interés.

Finalmente, para ajustar el error sistemático se realizaron regresiones lineales entre potenciales calculados y experimentales. Se tomaron como referencia complejos de cobre con los siguientes ligandos: a) L-histidilo-L-histidilo-L-triptofano, b) N-acetil-L-histidilo-L-triptofilo-L-histidina, c) L-alanil-fenantrolina, d) 4,4'-dimetil-bipiridina, e) Terpiridina, f) Bipiridina, g) 2,2'-dipiridilamina, h) Piridil-imidazol. De esta manera, las ecuaciones de regresión para estas referencias se emplearon para ajustar los potenciales calculados en los complejos de Cu(II) con fragmentos de hIAPP.

2.4 Constantes de estabilidad

Las constantes de estabilidad se calcularon con la metodología cúmulo-continuo^[51], la cual realiza un ciclo termodinámico considerando solvatación explícita e implícita. Esta metodología ha sido aplicada con éxito por otros investigadores para complejos de cobre^[52,53]. Nuevamente, los cálculos de frecuencias y solvatación COSMO se desarrollaron en el software TeraChem con el mismo nivel de teoría de las optimizaciones.

Para calcular el ΔG_{aq} para la formación de los complejos de Cu(II) con fragmentos de hIAPP se siguió el ciclo termodinámico mostrado en la Figura 2.2. El punto de partida es el complejo $[Cu^{2+}(OH_2)_4]^x$, donde se da un desplazamiento de las moléculas de agua por la coordinación del ligando L^y , donde “x” y “y” representan las cargas del aquo complejo y el ligando, respectivamente. Este proceso forma un complejo $[Cu^{2+}L](H_2O)_4$, donde cuatro moléculas de agua se mantienen en la segunda esfera de coordinación. Este ciclo también muestra el cambio de fase gas a solución acuosa, mediante el cálculo de la energía libre de solvatación $\Delta G'_{solv}$ de los reactivos y productos.

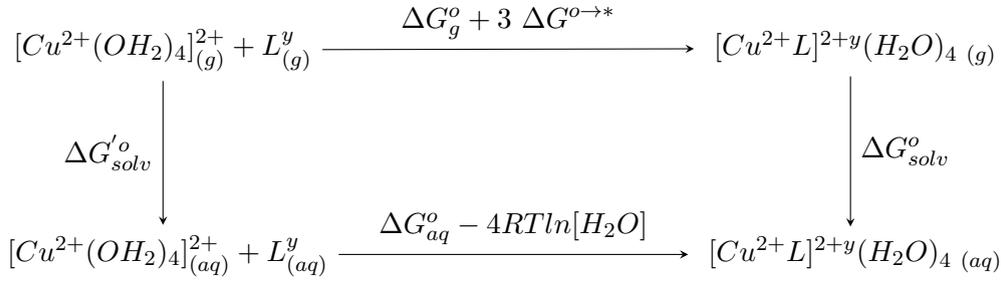


Figura 2.2: Ciclo termodinámico para la obtención de ΔG_{aq} para la formación del complejo $[Cu^{2+}L]^{2+y}(H_2O)_4$, donde L es el ligando, y “y” corresponde a su carga.

Al seguir el ciclo termodinámico se obtuvo que la expresión para el ΔG_{aq} es:

$$\Delta G_{aq} = \Delta G_g^o + 3\Delta G^{o \rightarrow *} + \Delta G_{solv}^o + 4RT \ln[H_2O] - \Delta G'_{solv} \quad (2.7)$$

Donde ΔG_g^o es la energía libre de formación en fase gas, ΔG_{solv}^o es la energía libre de solvatación del complejo formado, $\Delta G'_{solv}$ es la energía libre de solvatación para el complejo inicial, $\Delta G^{o \rightarrow *}$ es la energía libre de conversión de un gas ideal (1 atm) a una solución acuosa (1M)^[54] y $4RT \ln[H_2O]$ es una corrección para la concentración del agua. Puesto que este estudio se hizo a 300 K, estas correcciones tienen los valores: $\Delta G^{o \rightarrow *} = 1.91 \text{ kcal/mol}$ y $RT \ln[H_2O] = 2.39 \text{ kcal/mol}$.

Finalmente, esta energía libre de Gibbs se relacionó con la constante de estabilidad mediante la siguiente ecuación:

$$\log K = \log \frac{[ML]}{[M][L]} \approx \log \frac{a_{ML}}{a_M a_L} = \frac{-\Delta G_{aq}}{2.303RT} \quad (2.8)$$

Donde a_{ML} , a_M , y a_L son las actividades de las especies en equilibrio. Así, empleando esta metodología se reportó la constante de estabilidad ($\log K$) para los complejos de Cu(II) con fragmentos de hIAPP.

2.5 Análisis de la densidad electrónica

Se calculó la densidad electrónica para los complejos de metales d^{10} con el fragmento hIAPP(18-22). Los metales Ag(I), Zn(II) y Cd(II) fueron reemplazados como centros metálicos del complejo Cu(I)-IAPP(18-22), posteriormente se optimizaron las estructuras en Orca3.0. Se

empleó el funcional híbrido PBE0 y el conjunto base def2-TZVPP^[55], con una base auxiliar para el ajuste simultáneo de la componente de intercambio y coulomb (JK) según la implementación de Weigend^[56]. Se extrajeron los archivos con extensión “.molden”, los cuales sirvieron como input en el programa Multiwfn^[57]. En este software se realizó el cálculo de cargas CM5^[58], este modelo de cargas se seleccionó debido a su independencia del conjunto base y su aplicabilidad a sistemas cargados.

Adicionalmente, se calculó el potencial electrostático molecular $V(r)$, el cual esta dado por la siguiente ecuación^[59]

$$V(\vec{r}) = \sum_{A=1}^N \frac{Z_A}{|r - R_A|} - \int \frac{\rho(r') d^3r'}{|r - r'|} \quad (2.9)$$

Para obtener el potencial electrostático se tomó como partida la matriz de densidad electrónica y las coordenadas optimizadas de los complejos. Se construyó un mallado con número de puntos por sitio de 50, lo cual da una resolución media al cálculo. Se emplearon algunos scripts para generar el archivo cube en Orca y visualizar los mapas de potencial electrostáticos en VMD.

El análisis de interacciones no covalentes (NCI, por sus siglas en inglés) se desarrolló mediante el gradiente reducido de la densidad (s), el cual se expresa como:

$$s(\rho) = \frac{1}{2(3\pi^2)^{1/3}} \frac{|\nabla\rho(r)|}{\rho(r)^{4/3}} \quad (2.10)$$

Esta función se analizó con la implementación de Multiwfn, usando una caja de dimensiones 3 x 3 x 2 Å centrada en el metal, con el propósito de observar las interacciones no covalentes del plano de coordinación. Además, se empleó un grid de alta calidad con análisis RDG (Reduced Density Gradient), con esto se realizó un gráfico $s(\rho)$ vs $\text{signo}(\lambda_2)\rho$, explorando la densidad desde 0 a 0.05 a.u. También se empleó VMD^[60] para visualizar las isosuperficies del gradiente reducido de la densidad con un isovalor de 0.5 e/Å³, donde el color azul identifica al enlace de hidrógeno, el color verde a las interacciones de Van der Waals y el color rojo al efecto estérico.

2.6 Análisis de descomposición de la energía

Para comprender las energías involucradas en las interacciones no convencionales de los metales d^{10} con el fragmento hIAPP(18-22), se realizó un análisis de descomposición de la energía (EDA, por sus siglas en inglés)^[61]. Los cálculos se desarrollaron con un enfoque de segunda generación^[62] usando la implementación del código de estructura electrónica Q-Chem 5.1^[63]. Se empleó el funcional híbrido PBE0 y el conjunto base Def2-TZVPP con corrección de superposición de la base (BSSE, por sus siglas en inglés).

La energía de interacción se separó en las siguientes contribuciones:

$$\Delta E_{int} = \Delta E_{disp} + \Delta E_{pauli} + \Delta E_{elec} + \Delta E_{pol} + \Delta E_{ct} \quad (2.11)$$

Donde ΔE_{disp} es la energía de dispersión, ΔE_{pauli} es la repulsión de Pauli, ΔE_{elec} es la energía electrostática, ΔE_{pol} es la energía de polarización y ΔE_{ct} es la transferencia de carga.

3

Estructuras de Cu(II) con los fragmentos de IAPP

Los primeros resultados de esta investigación consistieron en efectuar una búsqueda estructural para el enlazamiento de Cu(II) con fragmentos de hIAPP. Se emplearon simulaciones BOMD y optimizaciones locales con el nivel de teoría PBE0/DZVP^[39] en el software TeraChem. Las simulaciones BOMD sirvieron para vincular el efecto de la temperatura y realizar una búsqueda conformacional. Se estudiaron tres fragmentos del polipéptido: KCNTA(1-5), NFLVH(14-18) y HSSNN(18-22), los cuales se seleccionaron debido a la ubicación de los sitios de anclaje imidazol y amino terminal. Se construyeron diversos conformeros para la coordinación 3N1O, considerando los O-donadores disponibles. Mientras la coordinación 4N se modeló únicamente con las amidas desprotonadas contiguas al sitio de anclaje. Además, la región C-terminal fue amidada y la N-terminal acetilada para darle una mayor similitud con el entorno biológico. Posteriormente, se seleccionaron las estructuras de mínima energía, tres modos de coordinación 3N1O y un modo 4N por fragmento. Finalmente, se calcularon los parámetros de EPR (g_z y A_z) en el software Orca 3.0, realizando cálculos de punto simple con el mismo nivel de teoría, pero incluyendo efectos relativistas sobre el átomo de cobre mediante un potencial con efectos de core.

3.1 Estructuras de Cu(II) con HSSNN(18-22)

La experiencia que tiene nuestro grupo de investigación en este fragmento permitió un mayor avance en el establecimiento de conformeros. Un estudio previo^[28] exploró la superficie de energía potencial para el complejo Cu(II)-HSSNN(18-22), esta investigación se centró en la coordinación 3N1O y determinó que la inclusión de cuatro moléculas de agua mejora la descripción del entorno de coordinación, particularmente de la predicción de parámetros de EPR. Por lo tanto, tomamos este antecedente como punto de partida para seleccionar los tres conformeros más estables de la coordinación 3N1O y proponer una estructura para la coordinación 4N.

Se realizaron tres simulaciones BOMD para los modos 3N1O que presentaron menor energía en la investigación previa. Se exploraron las estructuras con cuatro moléculas de agua y dos amidas desprotonadas contiguas al sitio de anclaje de histidina. Los modos de coordinación fueron: $3N1O_{OH/S20}O_{AX/N22}$, $3N1O_{OH/S20}$ y $3N1O_{CO/S20}$, donde los N-donadores son el imidazol y las dos amidas desprotonadas contiguas (N_{im} , $2N^-$), mientras que el O-donador presenta variaciones. Los subíndices indican el tipo de O-donador y su posición en la cadena peptídica, el subíndice “OH/S20” implica que el oxígeno que está coordinado pertenece a un grupo hidroxilo (-OH) de la serina 20 (S20), mientras que “CO/S20” indica que el oxígeno pertenece a un grupo carbonilo (-CO) de la serina 20. Finalmente, la intervención adicional de un oxígeno axial se escribe como O_{AX} .

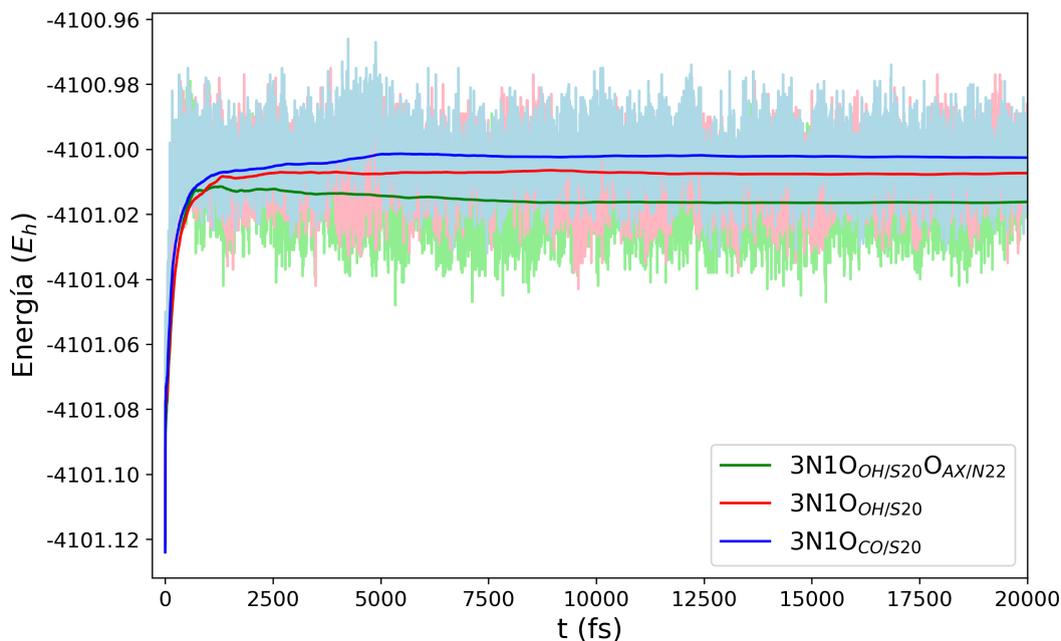


Figura 3.1: Perfiles de energía de las simulaciones BOMD para la interacción HSSNN con cobre en presencia de cuatro moléculas de agua. Los modelos presentados son: $3N1O_{OH/S20}O_{AX/N22}$ (verde), $3N1O_{OH/S20}$ (rojo) y $3N1O_{CO/S20}$ (azul). Las líneas de color oscuro corresponden al promedio dinámico de cada perfil de energía.

La figura 3.1 muestra los perfiles de energía de las simulaciones BOMD para la interacción de HSSNN con cobre. El perfil de color azul pertenece a la coordinación $3N1O_{CO/S20}$, el verde a la coordinación $3N1O_{OH/S20}O_{AX/N22}$ y el rojo a la coordinación $3N1O_{OH/S20}$. Estos perfiles muestran que las estructuras son estables a una temperatura de 300 K y que dicha estabilidad no varía considerablemente con el tiempo. Se escogieron las estructuras de menor energía para cada dinámica y se optimizaron estos modelos para establecer los conformeros más estables de la coordinación 3N1O. También se siguió este procedimiento para hacer la búsqueda conformacional del modo de coordinación $4N_{18-21}$ (Apéndice A), donde los subí-

dices 18-21 indican los residuos involucrados en la coordinación con cobre. En este modelo se desprotonó de forma adicional la amida de la asparagina 21, ya que se forma el anillo quelato de menor tamaño. La dinámica presentó una disminución de la energía con el tiempo, el modelo $4N_{18-21}$ mostró gran estabilidad estructural tanto en las simulaciones BOMD como las optimizaciones locales.

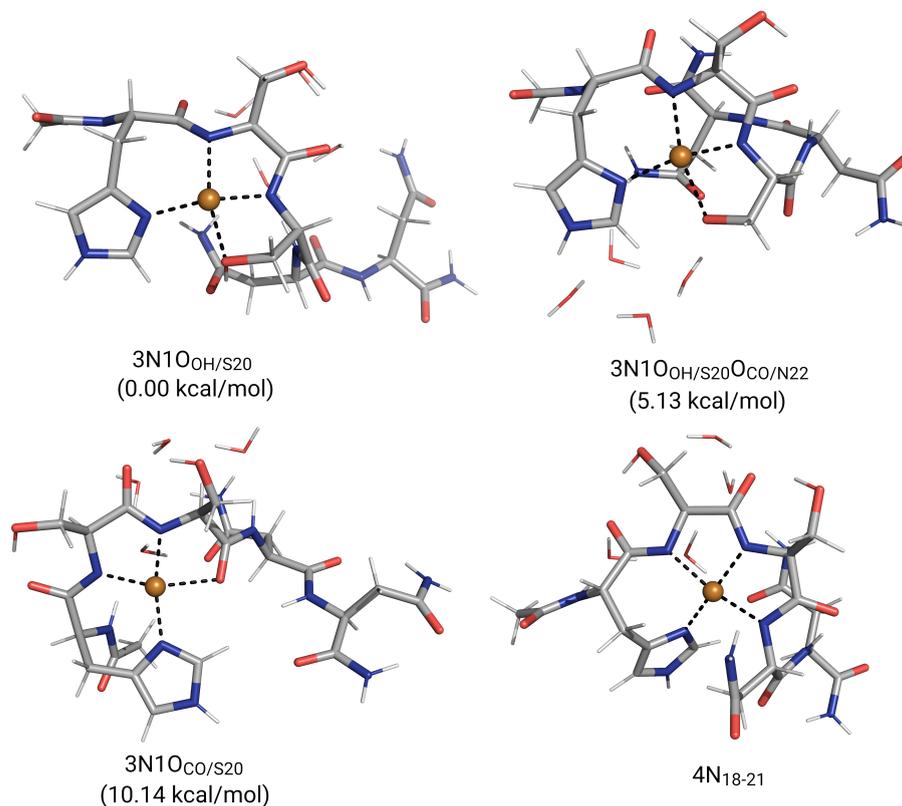


Figura 3.2: Modos de coordinación más estables para el enlazamiento de Cu(II) con HSSNN(18-22) en presencia de cuatro moléculas de agua, entre paréntesis se reporta la energía relativa. La coordinación 4N no tiene energía relativa, porque es un estado de protonación distinto.

En la Figura 3.2 se muestran las estructuras para los modos de coordinación explorados previamente, donde se presenta entre paréntesis su energía relativa. Dichas estructuras fueron el producto del muestreo de las simulaciones BOMD y su posterior optimización, además, se puede resaltar que todos los conformeros reportados para el modo de coordinación 3N1O tienen un sistema de anillos quelato (7,5,5). Sin embargo, las estructuras de menor energía corresponden a la coordinación del grupo hidroxilo en posición ecuatorial, aunque la diferencia energética es baja, por lo que se puede proponer una coexistencia de estos conformeros. Para la coordinación 4N solo se reporta la estructura más estable ($4N_{18-21}$), donde la histidina se sale ligeramente de la planaridad. Finalmente, se observa que las moléculas de agua se agrupan en cúmulos que buscan maximizar el número de puentes de hidrógeno. La inclusión de cuatro moléculas de agua mejora la descripción del entorno de coordinación, aunque no

interactúen directamente con el centro metálico.

Después de tener las estructuras más estables se midió el grado de distorsión del plano de coordinación. Este se puede expresar por medio del ángulo entre dos planos, formados por los átomos donadores y el átomo metálico (Figura 3.3). Este ángulo es 90° para la geometría tetraédrica y 0° para la geometría cuadrada. El ángulo θ puede ser normalizado dividiendo por 90° para obtener un índice de distorsión (τ) que se aproximará a cero para la geometría cuadrado planar. Esta distorsión se calculó con un programa de python que toma las coordenadas del sitio de coordinación y genera el ángulo entre los planos descritos.

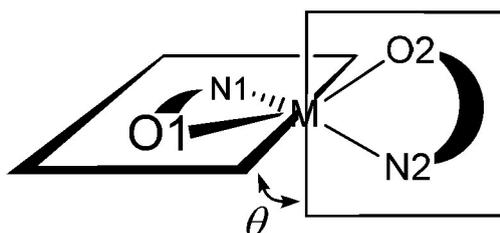


Figura 3.3: Esquema de los planos empleados para medir el índice de distorsión^[64] en los sitios de coordinación.

Se tabularon los parámetros de EPR y las distancias para las estructuras de menor energía del complejo Cu(II)-HSSNN (Tabla 3.1). El enlace Cu(II)-N presenta distancias más cortas respecto al enlace Cu(II)-O, esto puede indicar que la interacción de los N-donadores con Cu(II) tiene un mayor carácter covalente. El índice de distorsión (τ) muestra que las estructuras se aproximan a una geometría cuadrado planar (≈ 0.0), donde la contribución axial le da una mayor planaridad al entorno de coordinación. La predicción del parámetro A_z tiene gran sensibilidad a la geometría optimizada y el conjunto base empleado, el modelo que mejor se ajusta al parámetro A_z es $3N1O_{OH/S20}$, mientras que g_z no presenta cambios representativos entre modelos. La coordinación 4N forma un sistema de anillos quelato (7,5,5), donde los anillos de cinco miembros forman un plano, mientras el anillo de siete se sale de este ($\tau = 0.22$). El aumento en el error relativo en A_z para la coordinación 4N puede estar asociado a la referencia escogida, ya que el reporte experimental estudia un fragmento más largo de la IAPP que el modelado.

Posteriormente, se quitaron las moléculas de agua y se reoptimizaron las estructuras con el mismo nivel de teoría (Apéndice A). Se ve favorecida la estructura con la coordinación axial, ya que en un entorno sin agua la cadena lateral se puede mover con mayor libertad para coordinar con cobre. Respecto a las distancias, la mayor magnitud se presentó para Cu-O, mostrando que este es el sitio más débil en la coordinación 3N1O. En la estructura de la coor-

Tabla 3.1: Parámetros de EPR y distancias de enlace para las estructuras del complejo Cu(II)-HSSNN con cuatro moléculas de agua. Entre paréntesis se reporta el porcentaje de error relativo respecto a los parámetros de EPR experimentales, tanto para la coordinación 3N1O^[28] como 4N^[65].

Parámetros	3N1O _{OH/S20}	3N1O _{OH/S20} O _{AX/N22}	3N1O _{CO/S20}	4N ₁₈₋₂₁
Cu-N _{H18} (Å)	1.97	1.96	1.95	1.99
Cu-N _{S19} (Å)	2.00	1.99	1.96	2.02
Cu-N _{S20} (Å)	1.89	1.90	1.90	1.90
Cu-O _{S20} (Å)	2.11	2.16	2.21	—
Cu-N _{N21} (Å)	—	—	—	2.01
τ	0.18	0.11	0.17	0.22
A_z (MHz)	487.59 (2.86 %)	494.46 (4.32 %)	499.80 (5.44 %)	586.97 (9.99 %)
g_z	2.156 (3.70 %)	2.159 (3.57 %)	2.164 (3.35 %)	2.148 (3.07 %)

dinación 4N, se encontró que todos los ligandos tienen aproximadamente la misma distancia al cobre, ya que todos son N-donadores con una similar afinidad al metal. Por otro lado, no se calcularon parámetros de EPR para estas estructuras, ya que investigaciones previas mostraron la importancia de las moléculas de agua en esta predicción. Respecto a la distorsión cuadrado planar (τ), se mantienen las tendencias con un ligero aumento en la distorsión para algunos modelos. Por lo tanto, no hubo un cambio considerable para el entorno de coordinación de las estructuras sin moléculas de agua, solo algunos movimientos de cadena lateral.

3.2 Estructura de Cu(II) con NFLVH(14-18)

Este fragmento se estudió motivado por el reporte de dos grupos experimentales de un enlazamiento anclado a la histidina en dirección N-terminal^[27,65]. Ellos reportaron diagramas de formación para el complejo Cu²⁺-PEG-hIAPP(14-22), donde se observa la coexistencia de dos estados de protonación, correspondientes a los modos de coordinación 3N1O y 4N. Aunque estos grupos solo propusieron una estructura para la coordinación 4N, sin dar un panorama estructural más amplio. De este modo, en esta sección se exploraron diversos modos de coordinación para este fragmento, tomando como partida estos antecedentes experimentales.

El complejo Cu(II)-NFLVH(14-18) fue difícil de estabilizar, se exploraron diversas posibilidades de enlazamiento pero solo unas pocas lograron mantenerse en las modelaciones. Esto se debe a sus residuos con impedimento estérico, como lo son: la leucina, la valina y la fenilalanina. En una primera exploración, se lograron estabilizar tres estructuras para la coordinación 3N1O, que fueron: 3N1O_{CO/F15}, 3N1O_{OH/H2O} y 3N1O_{CO/N14b}. El subíndice “CO/N14b” indica que el enlazamiento del O-donador se hizo con un carbonilo de la asparagina 14,

perteneciente a la ramificación (b, proviene del inglés “branch”) del aminoácido y no del carbonilo del enlace peptídico, como se hizo en la sección anterior. Estas estructuras tienen importantes diferencias, el modo de coordinación $3N1O_{CO/F15}$ tiene un sistema de anillos quelato (7,5,6), el modo $3N1O_{OH/H2O}$ un sistema (5,6), y finalmente, el modo $3N1O_{CO/N14b}$ un sistema (13,5,6).

Se realizaron simulaciones BOMD con estas estructuras para evaluar su estabilidad energética, determinar el arreglo estructural de las moléculas de agua y realizar una búsqueda conformacional exhaustiva. En la Figura 3.4 se muestra el perfil de energía de las simulaciones BOMD realizadas para la coordinación $3N1O$, considerando una solvatación explícita de cuatro moléculas de agua. La energía del modo $3N1O_{CO/F15}$ se presenta de color rojo, el modo $3N1O_{OH/H2O}$ de color verde y el modo $3N1O_{CO/N14b}$ de color azul. Podemos notar que el modo $3N1O_{CO/F15}$ tiene la menor energía relativa, lo que puede relacionarse con una estabilidad superior frente a las otras estructuras.

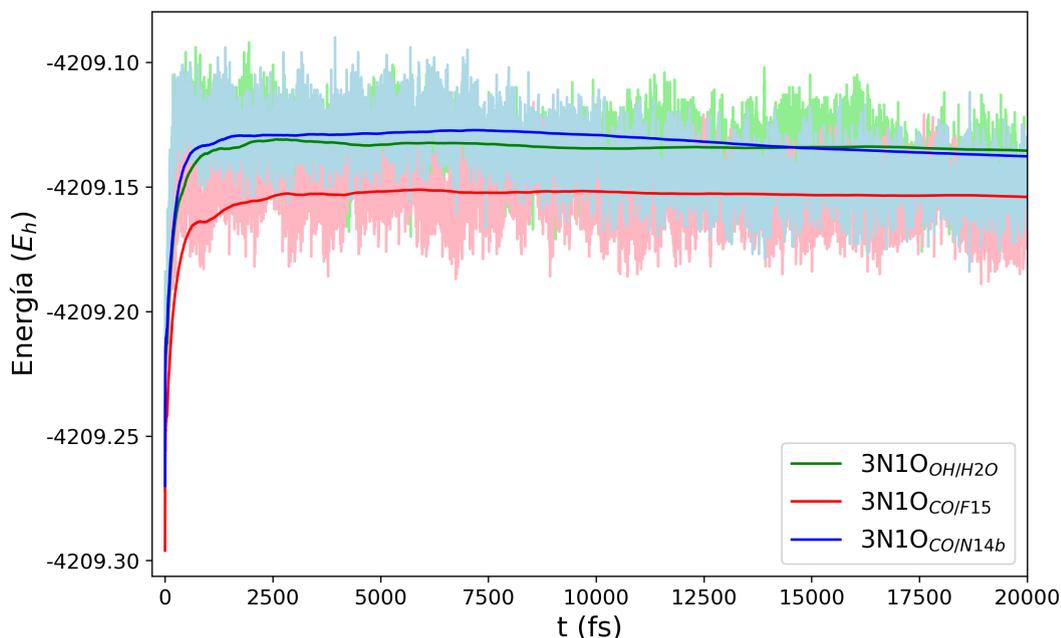


Figura 3.4: Perfiles de energía de las simulaciones BOMD para la interacción NFLVH(14-18) con cobre(II) en presencia de cuatro moléculas de agua. Los modelos presentados son: $3N1O_{CO/F15}$ (rojo), $3N1O_{OH/H2O}$ (verde) y $3N1O_{CO/N14b}$ (azul). Las líneas de color oscuro corresponden al promedio dinámico para cada perfil de energía.

Para determinar los cambios estructurales se graficaron las distancias $\text{Cu}-\text{O}_x$ a través de la dinámica (Figura 3.5), se seleccionó esta distancia debido a su importancia como sitio de enlazamiento. El modo de coordinación $3\text{N}1\text{O}_{\text{CO}/\text{N}14b}$ (color azul) presenta un desprendimiento del O-donador, lo que evidencia que en estos sistemas los anillos quelato grandes no son estables a 300 K, por lo que se favorece una coordinación 3N_{16-18} . Por otro lado, la coordinación de una molécula de agua en posición ecuatorial ($3\text{N}1\text{O}_{\text{OH}/\text{H}2\text{O}}$) se mantiene estable, con una distancia promedio de 2.4 Å. Finalmente, la distancia $\text{Cu}-\text{O}_{\text{CO}/\text{F}15}$ (magenta) tiene la mayor estabilidad estructural con una distancia promedio de 2.0 Å, por lo que podría ser el sitio más probable de enlazamiento.

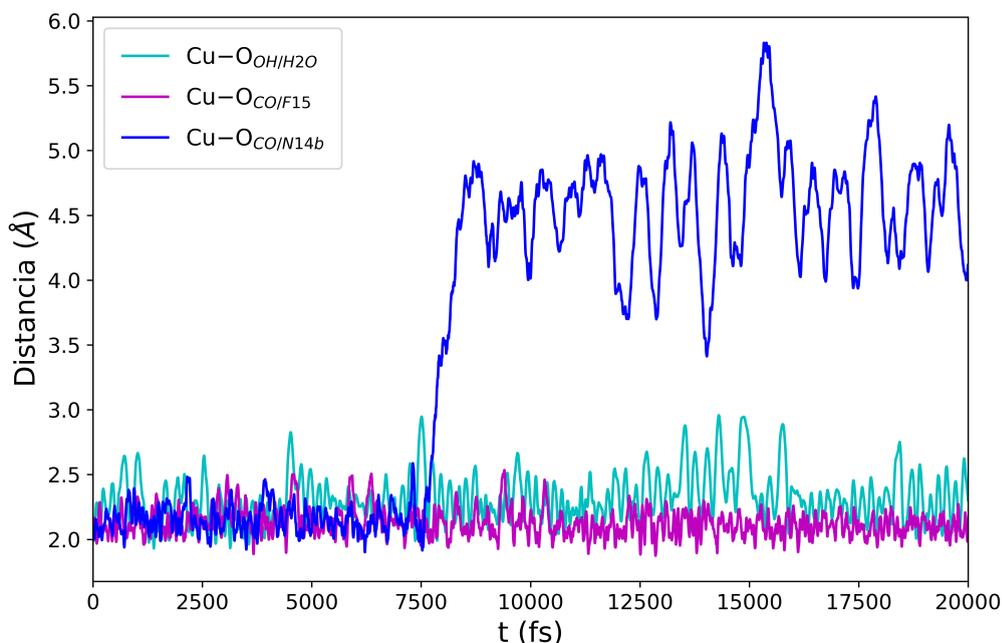


Figura 3.5: Distancia del enlace de coordinación $\text{Cu}-\text{O}_x$ durante la simulación BOMD del complejo $\text{Cu}(\text{II})\text{-NFLVH}(14-18)$ para la coordinación $3\text{N}1\text{O}$.

La coordinación 4N también se exploró mediante simulaciones BOMD (Apéndice A), partiendo del enlazamiento reportado en la literatura. Se estableció un enlazamiento 4N_{16-18} , donde el subíndice “16-18” indica los residuos involucrados en la coordinación de los N-donadores con cobre. Esta coordinación mostró gran estabilidad durante el tiempo de simulación, con algunas fluctuaciones previas a las 10 ps. Además, para evaluar la estabilidad estructural del modo de coordinación 4N_{16-18} se midieron sus distancias $\text{Cu}-\text{N}_{im}$ y $\text{Cu}-\text{N}_{T4}$ (Apéndice A). Dichas distancias se mantienen en un promedio dinámico de 2.0 Å, lo que evidencia una estabilidad semejante al modo de coordinación 4N_{18-21} explorado en la sección anterior.

Con la información de estas simulaciones se seleccionaron las estructuras más estables para los modos de coordinación 3N1O y 4N (Figura 3.6). Las moléculas de agua formaron cúmulos cerca del plano de coordinación, ubicadas en la cara superior de la estructura. Por otro lado, el conformero 3N1O_{CO/F15} presenta la menor energía, lo que indica que es la estructura más probable para este estado de protonación. También se observa que existe una competencia entre los conformeros 3N₁₆₋₁₈ y 3N1O_{OH/H2O}, esto podría indicar que el agua en posición ecuatorial tiene una baja afinidad por Cu(II), aunque este tipo de enlazamiento ha sido propuesto por Antonio Magrí^[66]. La interacción sería diferente para centros metálicos de capa cerrada como Zn(II), donde existe una mayor afinidad por las moléculas de agua en posición ecuatorial. Finalmente, la coordinación 4N₁₆₋₁₈ muestra gran estabilidad debido a sus anillos quelato (5,5,6) y es el sitio de enlazamiento propuesta en la literatura para este fragmento.

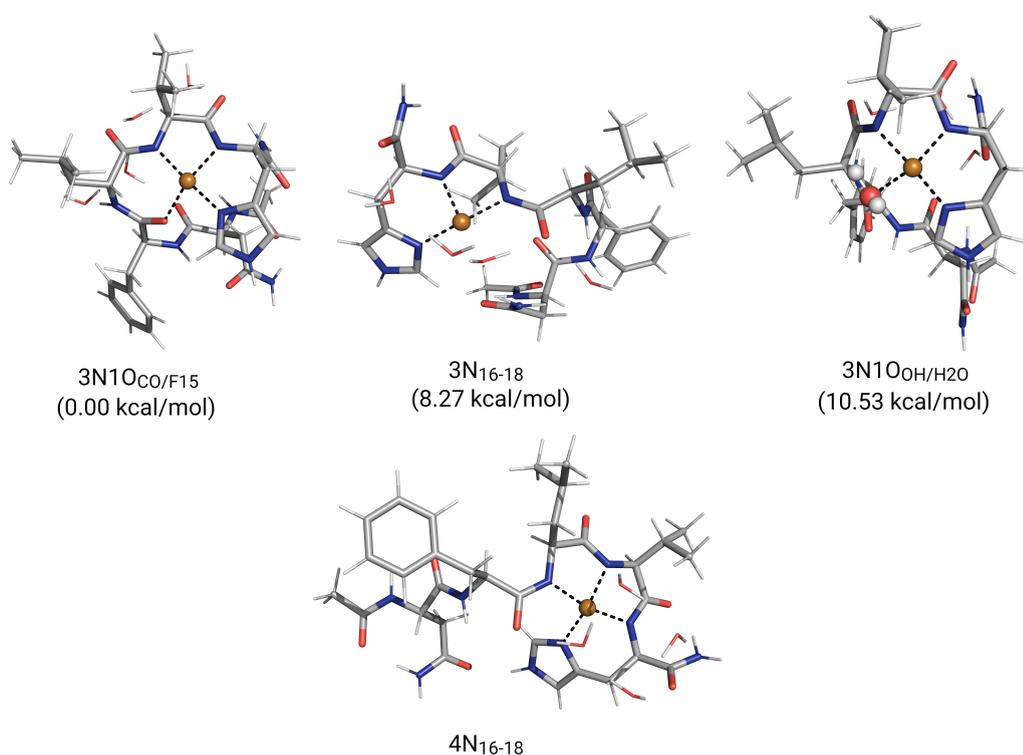


Figura 3.6: Modos de coordinación de Cu(II) con el fragmento NFLVH(14-18) en presencia de cuatro moléculas de agua, entre paréntesis se reporta la energía relativa. La coordinación 4N no tiene energía relativa, porque es un estado de protonación distinto.

Estas estructuras se analizaron a través de la medición de parámetros de EPR y distancias de enlace reportadas en la Tabla 3.2. Cabe resaltar que las distancias Cu-N_{im}, Cu-N_{H18} y Cu-N_{V17} no presentan cambios importantes entre estructuras, ya que la fuerte afinidad de estos N-donadores al cobre mantienen estables dichas distancias. Sin embargo, la distancia

Cu–O es más corta para la coordinación del carbonilo (CO/F15) respecto a la molécula de agua (OH/H2O), lo cual tiene buena correspondencia con las distancias graficadas en la dinámica. El índice de distorsión (τ) es alto para todos nuestros modelos, debido al impedimento estérico de la valina y la leucina. Dicha distorsión de la planaridad es mayor para la coordinación del agua, ya que su afinidad al cobre es débil. Finalmente, el parámetro A_z en la coordinación $3N_{16-18}$ se desvía considerablemente del valor reportado, lo que podría sugerir que esta estructura no es muy probable y que se requiere otro donador en la posición faltante.

Tabla 3.2: Parámetros de EPR y distancias de enlace para las estructuras del complejo Cu(II)-NFLVH(14-18) con cuatro moléculas de agua. Entre paréntesis se reporta el porcentaje de error relativo respecto a los parámetros de EPR experimentales, tanto para la coordinación $3N_{1O}$ como $4N$ ^[65]

Parámetros	$3N_{1O_{CO/F15}}$	$3N_{16-18}$	$3N_{1O_{OH/H2O}}$	$4N_{16-18}$
Cu– N_{im} (Å)	1.98	1.98	1.93	2.05
Cu– N_{H18} (Å)	1.95	1.93	1.91	1.97
Cu– N_{V17} (Å)	1.92	1.95	1.95	1.94
Cu–O (Å)	2.10	–	2.20	–
Cu– N_{L16} (Å)	–	–	–	2.00
τ	0.36	–	0.57	0.40
A_z (MHz)	523.20 (4.02 %)	556.46 (10.63 %)	509.32 (1.26 %)	562.27 (5.36 %)
g_z	2.162 (3.45 %)	2.171 (3.06 %)	2.154 (3.81 %)	2.154 (2.83 %)

Después se quitaron las moléculas de agua y se reoptimizaron las estructuras con el mismo nivel de teoría (Apéndice A). En este enfoque desaparece la coordinación $3N_{1O_{OH/H2O}}$, y aumenta la barrera energética entre $3N_{1O_{CO/F15}}$ y $3N_{16-18}$, lo cual reafirma la idea que el confórmero con mayor contribución es $3N_{1O_{CO/F15}}$. Por otro lado, la coordinación $4N_{16-18}$ mantiene su enlazamiento, mostrando algunos desplazamientos de las cadenas laterales. La medición de parámetros estructurales muestra que, tanto las distancias como los índices de distorsión no presentan cambios significativos en el entorno de coordinación. Así, la eliminación de las moléculas de agua no tiene un impacto relevante en los sitios de coordinación para este fragmento.

3.3 Estructuras de Cu(II) con KCNTA(1-5)

El enlazamiento de Cu(II) con la sección N-terminal ha sido estudiada en péptidos homólogos a la hIAPP, como lo son la pramlintida y la amilina de rata (rIAPP)^[26]. Estos péptidos forman complejos estables y monoméricos, donde la pramlintida tiene dos sitios de enlazamiento que coexisten en solución: una coordinación $4N$ enlazada con la región N-terminal y otra coordinación $4N$ enlazada con el anillo imidazol de la histidina 18. Además, esta región

N-terminal de la pramlintida tiene los mismos residuos que la hIAPP, lo que podría permitir una aplicación de este enlazamiento a nuestro péptido de interés. Así, este antecedente experimental sirvió como punto de partida para el estudio teórico del enlazamiento de Cu(II) con el fragmento KCNTA(1-5) de la hIAPP.

Inicialmente, se construyeron los modelos para la coordinación 3N1O, dándole prelación a los anillos quelato de menor tamaño. Además, los N-donadores se tomaron de las amidas desprotonadas contiguas al grupo amino terminal. Los confómeros que obtuvimos con mayor estabilidad fueron: 3N1O_{CO/N3}, 3N1O_{CO/N3b} y 3N1O_{OH/T4}, donde el subíndice “CO/N3b” implica que el O-donador es un carbonilo perteneciente a la asparagina 3 en cadena lateral (b, proviene del inglés “branch”), mientras que “CO/N3” toma el carbonilo de la cadena principal (enlace peptídico). El subíndice “OH/T4” indica que el O-donador es un grupo hidroxilo perteneciente a la treonina 4. Estas estructuras tienen diferencias significativas en su efecto quelato, la coordinación 3N1O_{CO/N3} tiene un sistema de anillos (5,5,5), la coordinación 3N1O_{CO/N3b} un sistema de anillos (5,5,6), y finalmente la coordinación 3N1O_{OH/T4} un sistema (5,5,8).

Se realizaron simulaciones BOMD con estas estructuras para evaluar su estabilidad energética, determinar el arreglo estructural de las moléculas de agua y realizar una búsqueda más exhaustiva de los confómeros. Podemos notar que los perfiles de energía (Figura 3.7) se mantienen estables hasta el final de la dinámica y no se presentan diferencias energéticas considerables entre confómeros. Además, se graficaron las distancias Cu–O_x para observar el comportamiento del O-donador (Figura 3.8). La mayor fluctuación se presentó para el grupo hidroxilo (color cian), mientras las distancias Cu–O_{CO/N3} (color magenta) y Cu–O_{CO/N3b} (color azul) se mantienen cerca de los 2.0 Å. Estos resultados pueden estar asociados al tamaño de los anillos quelato, donde la distancia más lábil (Cu–O_{OH/T4}) pertenece al anillo de ocho miembros.

La coordinación 4N se construyó a partir del reporte experimental, enlazando el Cu(II) con el sitio de anclaje N-terminal y las amidas desprotonadas contiguas. Se realizó la simulación BOMD para el modelo 4N₁₋₄ con el propósito de evaluar su estabilidad y hacer una mejor búsqueda conformacional (Apéndice A), el subíndice “1-4” indica que los N-donadores pertenecen a dichos residuos de la hIAPP. La energía se mantiene estable a través de la dinámica y no se observa un cambio estructural significativo en el entorno de coordinación. Las distancias de los N-donadores se mantienen en un promedio de 2.0 Å, lo que evidencia un fuerte enlazamiento con el cobre(II). Por lo tanto, esta dinámica permitió comprobar que la estructura reportada se mantiene a 300 K durante los 20 ps de simulación.

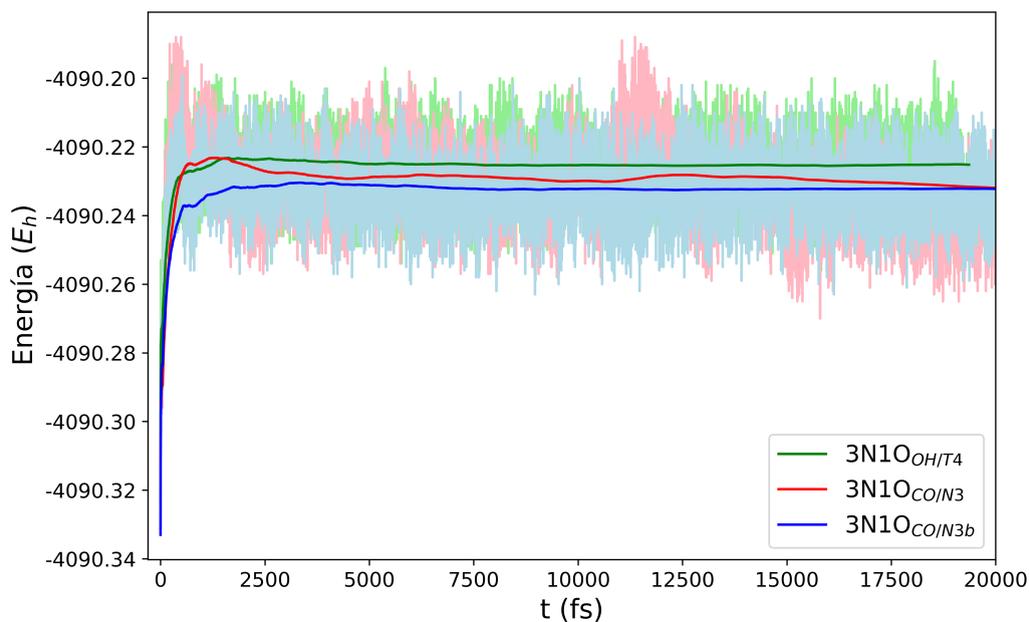


Figura 3.7: Perfiles de energía de las simulaciones BOMD para la interacción KCNTA(1-5) con cobre(II) en presencia de cuatro moléculas de agua. Los modelos presentados son: $3N1O_{CO/N3}$ (Rojo), $3N1O_{OH/T4}$ (verde) y $3N1O_{CO/N3b}$ (azul). Las líneas de color oscuro corresponden al promedio dinámico para cada perfil de energía.

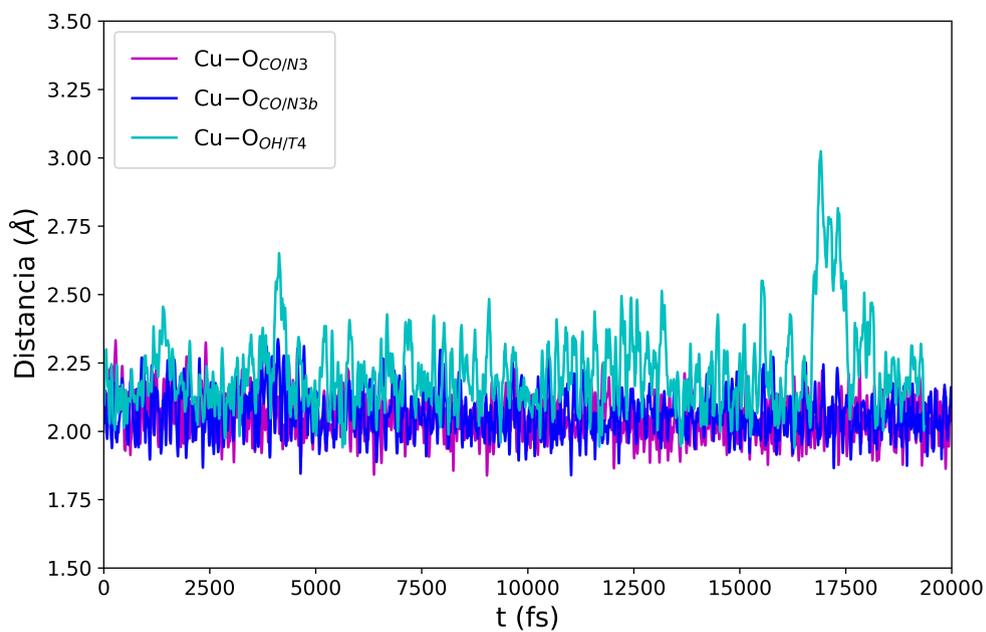


Figura 3.8: Distancias de enlace $Cu-O_x$ durante la simulación BOMD del complejo $Cu(II)$ -KCNTA(14-18) para la coordinación $3N1O$ con cuatro moléculas de agua.

Con la información de estas simulaciones se seleccionaron las estructuras más estables para los modos de coordinación 3N1O y 4N (Figura 3.9). En este fragmento, las moléculas de agua formaron cúmulos cerca del cobre, usualmente en la cara superior. La coordinación 3N1O presenta diferencias energéticas menores a 5 kcal/mol entre conformeros, lo que sugiere una coexistencia de estas estructuras. Sin embargo, cabe resaltar que el orden energético tiene una correspondencia con el tamaño del anillo quelato, donde el orden de estabilidad sería $5 > 6 > 8$. Por otro lado, la coordinación $4N_{1-4}$ es el sitio de enlazamiento propuesto experimentalmente y sus cadenas laterales adquieren una forma compacta.

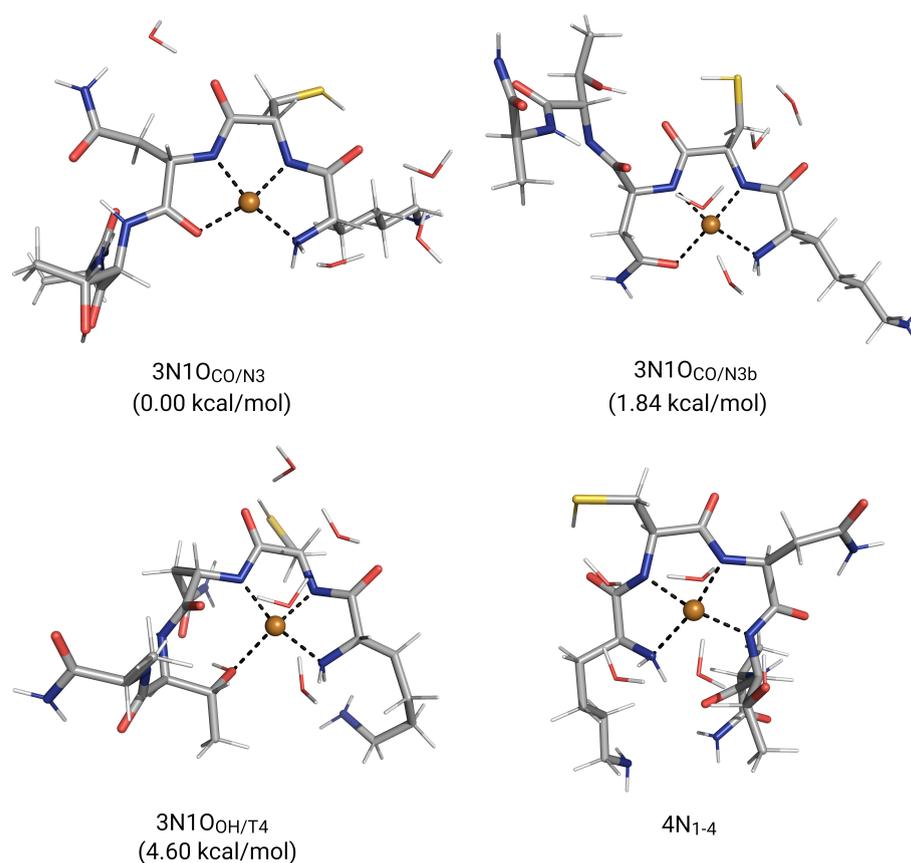


Figura 3.9: Modos de coordinación de Cu(II) con el fragmento KCNTA(1-5) en presencia de cuatro moléculas de agua, entre paréntesis se reporta la energía relativa. La coordinación 4N no tiene energía relativa, porque es un estado de protonación distinto.

Estas estructuras se analizaron mediante la medición de parámetros de EPR y distancias de enlace reportadas en la Tabla 3.3. Todas las distancias se aproximan a 2.0 Å y solo se presenta una leve desviación en la distancia Cu–O_{OH/T4} (2.11 Å), lo que evidencia que el enlazamiento del cobre(II) en la región N-terminal tiene estabilidad estructural. Por otra parte,

los índices de distorsión (τ) muestran una tendencia a geometrías cuadrado planares ($\tau \approx 0$), donde la mayor desviación es presenta por los conformeros $3N1O_{CO/N3b}$ y $3N1O_{OH/T4}$. Los parámetros de EPR se muestran sin porcentajes de error, ya que los valores experimentales reportan estos parámetros para el polipeptido completo, por lo que no se puede hacer una comparación directa con nuestro modelo.

Tabla 3.3: Parámetros de EPR y distancias de enlace para las estructuras del complejo Cu(II)-KCNTA(1-5) con cuatro moléculas de agua.

Parámetros	$3N1O_{CO/N3}$	$3N1O_{CO/N3b}$	$3N1O_{OH/T4}$	$4N_{1-4}$
Cu-N _{NH2} (Å)	2.00	2.02	2.00	2.03
Cu-N _{C2} (Å)	1.92	1.88	1.92	1.96
Cu-N _{N3} (Å)	1.92	1.95	1.97	1.91
Cu-O _x (Å)	2.01	2.03	2.11	—
Cu-N _{T4} (Å)	—	—	—	1.98
τ	0.11	0.20	0.24	0.12
A_z (MHz)	612.39	624.30	572.44	632.00
g_z	2.143	2.144	2.158	2.124

Finalmente, se quitaron las moléculas de agua y se reoptimizaron las estructuras con el mismo nivel de teoría (Apéndice A). La estabilidad energética mantiene las mismas tendencias, lo que reafirma la coexistencia de estos conformeros en la coordinación $3N1O$. Los parámetros estructurales son conservados y solo se aprecian variaciones muy pequeñas en la planaridad. Estos datos indican que la eliminación de las moléculas de agua no tiene un impacto relevante en los sitios de coordinación para este fragmento. Por lo que se requiere un mayor número de moléculas de agua para apreciar cambios considerables en la coordinación del cobre.

3.4 Resumen

En síntesis, este estudio teórico seleccionó tres estructuras con el modo de coordinación $3N1O$ y una estructura con el modo $4N$ por cada fragmento (Tabla 3.4). Para el enlazamiento de Cu(II) con el fragmento HSSNN(18-22) se seleccionaron las estructuras: $3N1O_{OH/S20}O_{AX/N22}$, $3N1O_{OH/S20}$, $3N1O_{CO/S20}$ y $4N_{18-21}$, las cuales podrían coexistir debido a que presentan estabilidad similar. Para el enlazamiento de Cu(II) con el fragmento NFLVH(14-18) se seleccionaron las estructuras: $3N1O_{CO/F15}$, $3N1O_{OH/H2O}$, $3N_{16-18}$ y $4N_{16-18}$, donde el modo $3N1O_{CO/F15}$ muestra mayor estabilidad respecto a sus análogos. Finalmente, para el enlazamiento de Cu(II) con el fragmento KCNTA(1-5) se seleccionaron las estructuras: $3N1O_{CO/N3}$, $3N1O_{CO/N3b}$, $3N1O_{OH/T4}$ y $4N_{1-4}$, las cuales podrían coexistir debido a que presentan estabilidad similar.

Tabla 3.4: Resumen de las estructuras de mínima energía para los complejos de Cu(II) con fragmentos de hIAPP

Fragmento	Coordinación	Anillos	E_{rel} (kcal/mol)*
HSSNN(18-22)	3N1O _{OH/S20}	(7,5,5)	0.00
	3N1O _{OH/S20} O _{CO/N22}	(7,5,5)	5.13
	3N1O _{CO/S20}	(7,5,5)	10.14
	4N ₁₈₋₂₁	(7,5,5)	—
NFLVH(14-18)	3N1O _{CO/F15}	(7,5,6)	0.00
	3N ₁₆₋₁₈	(5,6)	8.27
	3N1O _{OH/H2O}	(5,6)	10.53
	4N ₁₆₋₁₈	(5,5,6)	—
KCNTA(1-5)	3N1O _{CO/N3}	(5,5,5)	0.00
	3N1O _{CO/N3b}	(5,5,6)	1.84
	3N1O _{OH/T4}	(5,5,8)	4.60
	4N ₁₋₄	(5,5,5)	—

* La coordinación 4N no tiene energía relativa, porque es un estado de protonación distinto.

Los resultados estructurales se racionalizaron con base en el efecto quelato y el tipo de donador (ligando). En las exploraciones realizadas no se lograron estabilizar anillos quelato grandes, específicamente cuando su tamaño fue superior a 10 miembros. Por el contrario, la mayor estabilidad se dio para anillos de cinco, seis y siete miembros, respectivamente. El tipo de donador también tuvo gran importancia en la estabilidad de estos complejos, los donadores N⁻, NH₂ y N_{im} presentaron la mayor afinidad al Cu(II), dándole gran estabilidad al sitio de coordinación. Los O-donadores CO y OH presentaron una afinidad intermedia al cobre(II), por lo que se presentaron pequeñas fluctuaciones del enlace Cu–O en las simulaciones BOMD. Por lo tanto, la estabilidad estructural de estos complejos de Cu(II) se vio influenciada por un efecto sinérgico entre el tamaño del anillo quelato y el tipo de donador.

Por último, estas estructuras se estudiaron colocando cuatro moléculas de agua para dar una mejor descripción del entorno de coordinación en la predicción de parámetros de EPR. Las moléculas de agua formaron cúmulos alrededor del sitio de coordinación, lo que favorece geometrías cuadrado planares, pero dificulta la coordinación de un sustituyente axial. Sin embargo, las reoptimizaciones de las estructuras sin agua mantienen la coordinación y en la mayoría de los casos la solvatación explícita no marca una diferencia, por lo que se requiere dar una descripción más realista de la solvatación. No obstante, los enfoques cuánticos tienen un alto costo computacional, por lo que aumentar el número de moléculas de disolvente es un desafío prevalente en la química computacional.

4

Estabilidad de los fragmentos de IAPP con Cu(II)

Aunque las optimizaciones dieron energías relativas que se pueden asociar a estabilidad, no representan un parámetro adecuado para comparar todas las estructuras modeladas. Una propiedad conocida en química es la constante de estabilidad, que permite comparar la afinidad por un ligando o centro metálico. En este contexto, se tomaron las estructuras de menor energía para los complejos de Cu(II) con fragmentos de hIAPP, con el propósito de evaluar la estabilidad de dichos modelos. Inicialmente, se calculó la energía de interacción metal-ligando y se realizó un análisis de descomposición de dicha energía para racionalizar los resultados. Seguidamente, se modelaron las constantes de estabilidad tomando en cuenta las propiedades termodinámicas y los efectos de solvatación. Esto permitió evaluar los sitios preferentes para el enlazamiento de Cu(II) en el polipéptido hIAPP.

4.1 Energía de interacción y análisis de descomposición de la energía

Un parámetro que puede ser útil para evaluar la estabilidad de los modelos en fase gas es la energía de interacción, esta es la diferencia entre la energía del complejo y la energía de los monómeros a la geometría del complejo^[67]. Para nuestro caso los monómeros fueron el metal y el ligando, con el propósito de medir la fuerza del enlazamiento de Cu(II) con los átomos vecinos. Sin embargo, se debe aclarar que este parámetro no tiene en cuenta efectos de solvatación implícita ni calcula la energía libre para la formación del complejo. Por lo anterior, la energía de interacción es una primera aproximación para medir la estabilidad en compuestos de coordinación.

En la Figura 4.1 se graficaron las energías de interacción para los complejos de Cu(II) con fragmentos de hIAPP. Las energías de interacción se muestran en una escala relativa y se organizaron los modelos según el fragmento. Se puede observar que la mayor energía de interacción pertenece a los complejos con coordinación 4N, ya que estas estructuras presentan un ligando con mayor carga negativa. Por otra parte, la energía de interacción para los

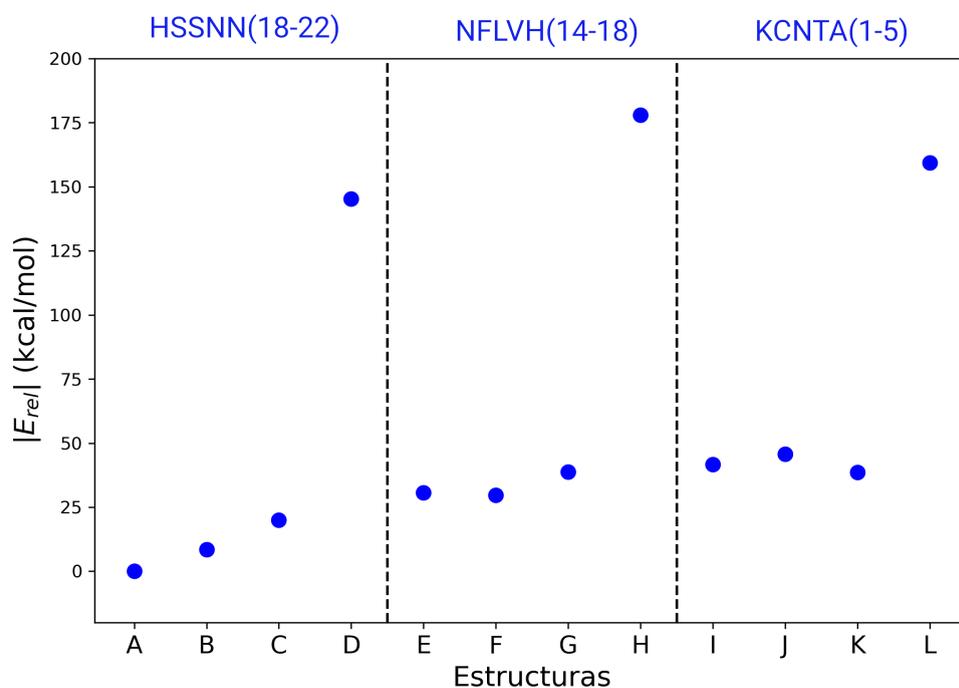


Figura 4.1: Energía de interacción para complejos de Cu(II) con fragmentos de hIAPP. A) $3N1O_{OH/S20}$, B) $3N1O_{OH/S20}O_{AX/N22}$, C) $3N1O_{CO/S20}$, D) $4N_{18-21}$, E) $3N1O_{CO/F15}$, F) $3N_{16-18}$, G) $3N1O_{OH/H2O}$, H) $4N_{16-18}$, I) $3N1O_{CO/N3}$, J) $3N1O_{CO/N3b}$, K) $3N1O_{OH/T4}$, L) $4N_{1-4}$.

complejos $3N1O$ es inferior, con valores similares tanto para los donadores tipo OH y CO. Solo se observa una diferencia importante (40 kcal/mol) entre la coordinación $3N1O_{OH/S20}$ y $3N1O_{OH/T4}$, a pesar de tener el mismo entorno de coordinación y un tamaño de ligando similar. Estos resultados evidencian que la coordinación $4N$ es más estable que la $3N1O$, pero no se observan cambios importantes para los modelos que tienen el mismo modo de coordinación.

Ante los resultados obtenidos surgen dos preguntas: ¿Qué fuerzas hacen que haya una mayor interacción para los complejos $4N$ respecto a los $3N1O$? ¿Por qué es más grande la interacción en el modo $3N1O_{OH/T4}$ respecto a $3N1O_{OH/S20}$? Para responder a estos cuestionamientos recurriremos al análisis de descomposición de la energía. La Figura 4.2 muestra las energías que contribuyen en la interacción metal-ligando para los modelos $3N1O_{OH/S20}$, $3N1O_{OH/T4}$ y $4N_{1-4}$. Podemos notar que no hay un cambio significativo en la transferencia de carga (verde), polarización (azul), repulsión de Pauli (magenta) y dispersión (azul claro) para estos modelos. Las diferencias se presentan en la contribución electrostática (color rojo), donde el mayor valor se reporta para la coordinación $4N_{1-4}$, esto sucede porque el ligando tiene una mayor carga negativa (-3) dando una mayor atracción electrostática. Por otro lado, la diferencia entre los modelos $3N1O_{OH/S20}$ y $3N1O_{OH/T4}$ también radicaría en su componente electrostática, aunque en una menor magnitud. Para estos dos modelos la diferencia podría

estar vinculada a la naturaleza estructural y química de los residuos involucrados.

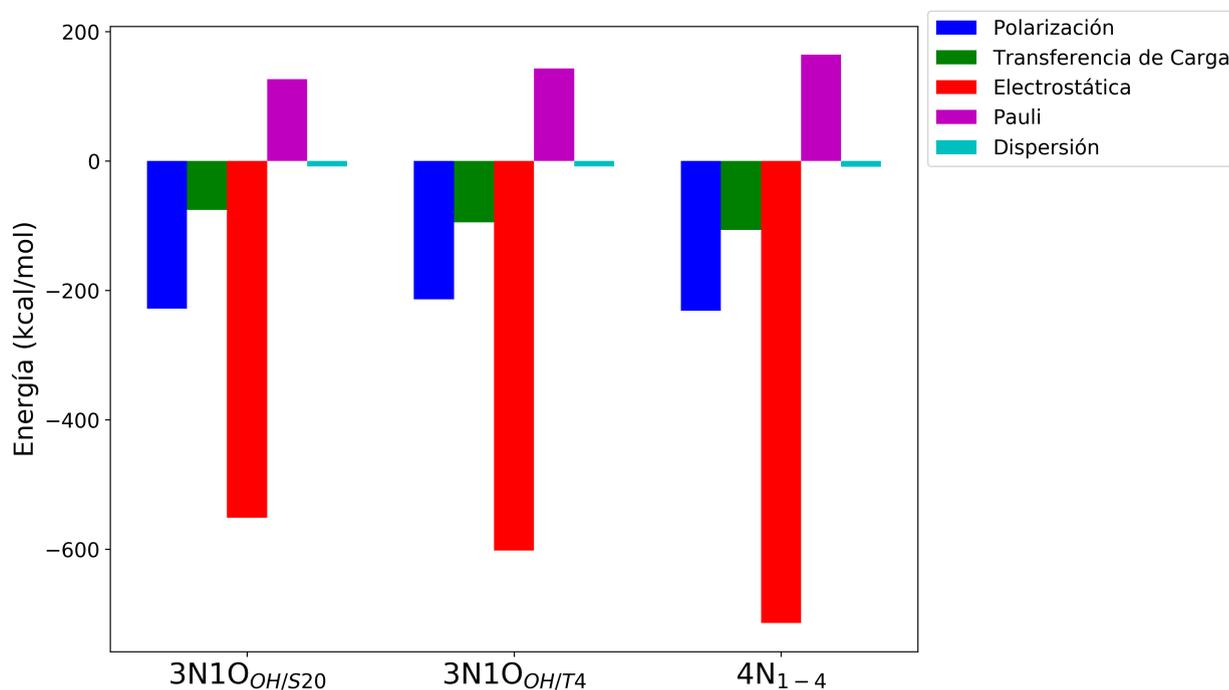


Figura 4.2: Análisis de descomposición de la energía para los modos de coordinación $3N1O_{OH/S20}$, $3N1O_{OH/T4}$ y $4N_{1-4}$, la primera coordinación se extrajo del fragmento HSSNN(18-22) y las dos últimas del KCNTA(1-5).

4.2 Estructura del acuocomplejo de Cu(II)

Para calcular las constantes de estabilidad se requiere partir de una estructura para el Cu(II) en disolución. Este metal tiene un sistema de capa abierta d^9 con un estado electrónico basal 2E_g que presenta degeneración orbital. La distorsión Jahn-Teller^[68] disminuye la simetría de los complejos octaédricos de cobre rompiendo dicha degeneración, esto repercute en una distorsión tetragonal que puede presentar elongación o contracción en el eje z. Jeanet Conradié^[69] hizo un estudio topológico de la distorsión Jahn-Teller en el hexaacuo complejo de Cu(II), demostrando que hay una concentración de densidad electrónica en el eje z, por lo que se induciría una elongación para formar una geometría pirámide cuadrada o cuadrado planar.

El ambiente de coordinación de Cu(II) en solución ha sido estudiado^[70] tanto experimental como teóricamente. Pasquarello^[71] combinó experimentos de difracción de neutrones y simulaciones de dinámica molecular para comprobar que la estructura más probable corresponde un complejo pentacoordinado, lo que es una consecuencia de la estructura electrónica del Cu(II). Otro estudio basado en teoría de funcionales de la densidad^[72] concluyó que existe

una preferencia por coordinaciones insaturadas en los complejos $\text{Cu}^{2+}(\text{H}_2\text{O})_n$, especialmente se favorece la formación de una geometría cuadrado planar.

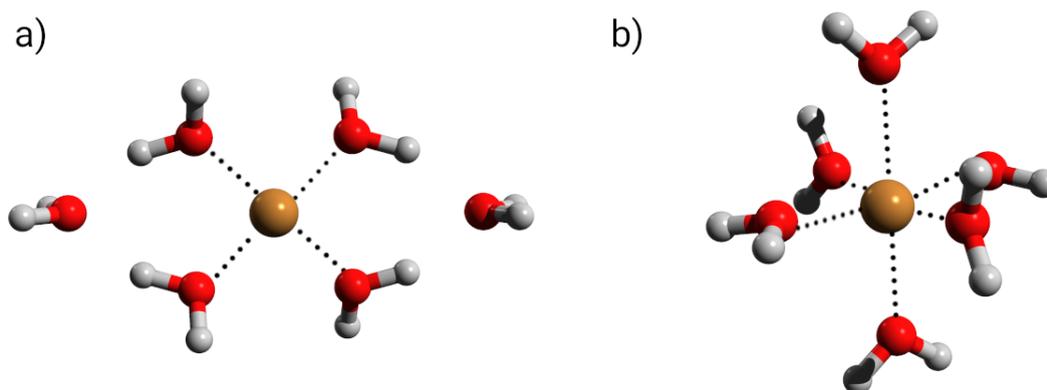


Figura 4.3: Complejos de Cu(II) con moléculas de agua. a) $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_4]^{2+}(\text{H}_2\text{O})_2$, b) $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$.

Por estas razones, en esta investigación se modelaron algunos complejos de cobre con moléculas agua (Figura 4.3). Se optimizaron modelos para los acuocomplejos de Cu(II) con el nivel de teoría PBE0/DZVP en el programa de estructura electrónica TeraChem. Se corroboró que la estructura $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_4]^{2+}(\text{H}_2\text{O})_2$ es el mínimo de energía a aproximadamente 10.0 kcal/mol del complejo $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$. Por lo tanto, se seleccionó la geometría cuadrada como punto de partida para el cálculo de las constantes de estabilidad de los complejos de Cu(II) con fragmentos de hIAPP.

4.3 Constantes de Estabilidad

La constante de estabilidad es una buena aproximación para estudiar la formación de complejos, ya que incluye efectos de solvatación y tiene en cuenta la espontaneidad del proceso. La reacción que se tomó como base fue:



Se parte del complejo tetraacuado de Cu(II) y el ligando para obtener el complejo formado con cuatro moléculas de agua en segunda esfera de coordinación. Para establecer la estructura de referencia para los ligandos se desarrollaron dinámicas moleculares de 10 ps, tomando como partida diferentes complejos. En la Figura 4.4 se grafican los perfiles de energía para dos

conórmeros del fragmento HSSNN(18-22), como una ilustración de la búsqueda estructural que se realizó. Se extrajeron diversos modelos de estas simulaciones para elegir la estructura de menor energía, dicho procedimiento se aplicó por cada fragmento. De manera general, se observó que los ligandos que provenían de complejos muy estables resultaban ser los mínimos de energía para el fragmento solo, como es el caso del ligando extraído del complejo $3N1O_{OH/S20}$ (Color cían) .

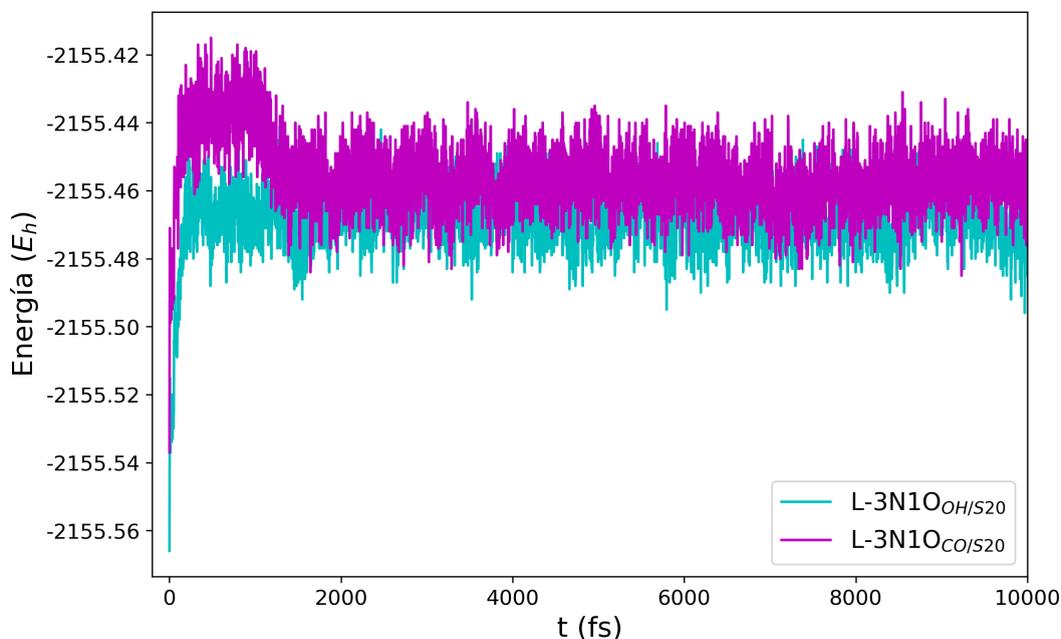


Figura 4.4: Perfil de energía para las simulaciones BOMD de los ligandos de las estructuras $3N1O_{OH/S20}$ y $3N1O_{CO/S20}$.

Se calcularon las constantes de estabilidad para los complejos de Cu(II) con fragmentos de hIAPP (Figura 4.5). Vale la pena resaltar que estos valores para las constantes de estabilidad son obtenidos como una tendencia, ya que no se ajustó el error sistemático con parámetros experimentales^[73]. En la coordinación $3N1O$ los modelos más estables fueron $3N1O_{CO/N3}$ y $3N1O_{CO/N3b}$, mientras en la coordinación $4N$ el modelo más estable fue $4N_{16-18}$. Estos hallazgos indican que el fragmento KCNTA(1-5) forma los complejos más estables para la coordinación $3N1O$ y el fragmento NFLVH(14-18) para la coordinación $4N$. Por el contrario, todos los complejos con el fragmento HSSNN(18-22) mostraron menor estabilidad.

En resumen, para evaluar la estabilidad de los complejos se calculó la energía de interacción. Este parámetro no tuvo en cuenta efectos de solvatación o espontaneidad del proceso, por lo que es una aproximación en fase gas. Los resultados indicaron que los modos $4N$ son más estables que los $3N1O$, pero no se logró evidenciar la influencia de la segunda esfera de coordinación. El análisis EDA mostró que la mayor estabilidad del modo $4N$ se debe a un

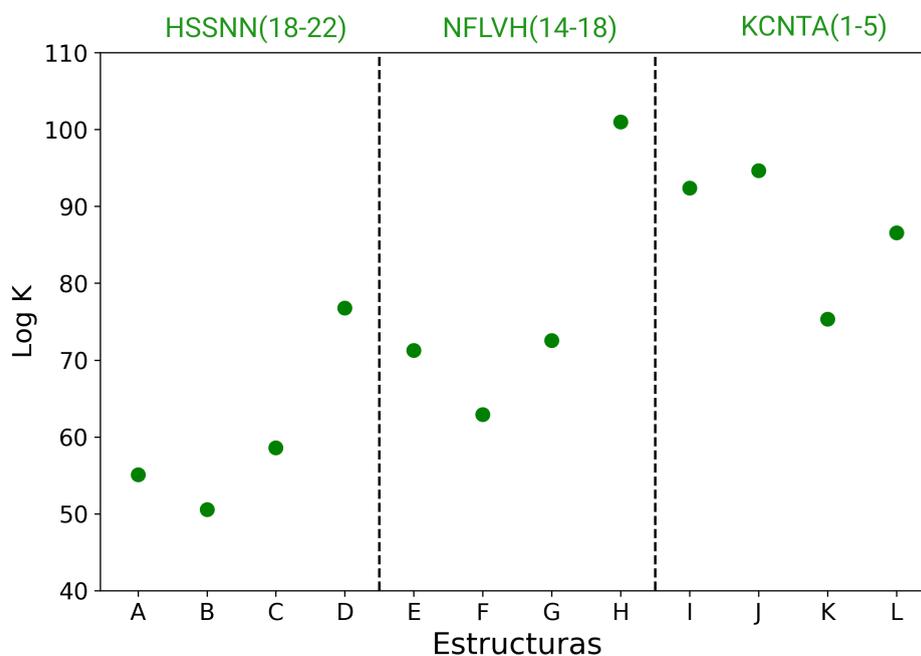


Figura 4.5: Constantes de estabilidad para complejos de Cu(II) con fragmentos de hIAPP. A) $3N1O_{OH/S20}$, B) $3N1O_{OH/S20}O_{AX/N22}$, C) $3N1O_{OH/H2O}$, D) $3N1O_{OH/T4}$, E) $3N1O_{CO/S20}$, F) $3N1O_{CO/F15}$, G) $3N_{16-18}$, H) $3N1O_{CO/N3}$, I) $3N1O_{CO/N3b}$, J) $4N_{18-21}$, K) $4N_{16-18}$, L) $4N_{1-4}$.

aumento en la contribución electrostática a la energía de interacción. Además, la diferencia energética que se observa entre $3N1O_{OH/S20}$ y $3N1O_{OH/T4}$ también estaría asociado a la componente electrostática.

Una medida más realista es la constante de estabilidad, la cual toma en cuenta la solvatación y la termodinámica en la formación de los complejos. Este parámetro se calculó para obtener una tendencia en la estabilidad de los complejos de Cu(II) con fragmentos de hIAPP. Se demostró que el fragmento HSSNN(18-22) forma los modelos menos estables con Cu(II). Por otro lado, el fragmento KCNTA(1-5) desarrolla los complejos más estables en la coordinación $3N1O$ y el fragmento NFLVH(14-18) forma el complejo más estable con coordinación $4N$. Estos hallazgos permiten sugerir que se favorece la coordinación del Cu(II) hacia la sección N-terminal del péptido, por lo que estos resultados estarían a favor de los grupos experimentales de Antonio Magrí^[65] y Rowinska-Zyrek^[27], los cuales han estudiado el fragmento hIAPP(1-19).

5

Potenciales de Reducción Cu(II)-IAPP

Para introducir el estudio de la actividad redox de los complejos formados por Cu(II) con fragmentos de hIAPP, se realiza una predicción computacional de sus potenciales de reducción. Inicialmente, se presentan algunos antecedentes para los potenciales redox en sistemas biológicos, esto como un contexto de los avances registrados en la literatura. Luego se exponen los resultados obtenidos para los complejos de referencia, los cuales tuvieron características estructurales y electrónicas similares al complejo Cu(II)-hIAPP, estos cálculos fueron realizados con el fin de corregir el error sistemático. Posteriormente, se reportan los potenciales de reducción para Cu(II) con fragmentos de hIAPP mediante el método directo e isodésmico. Finalmente, se presentan algunas características químicas y estructurales de la especie reducida Cu(I)-IAPP.

5.1 Potenciales redox en sistemas biológicos

El potencial de reducción mide la tendencia de una especie química a perder o ganar electrones, el cual se obtiene de forma experimental por voltametría cíclica. Sin embargo, la alta reactividad de muchas especies que participan en reacciones electroquímicas o la complejidad mecanística de las reacciones redox puede dificultar la medición experimental directa de un potencial de reducción determinado. Por esta razón, la química computacional ofrece una valiosa alternativa para caracterizar las reacciones redox, tanto en sus propiedades electrónicas como estructurales.

De esta manera, los estudios teóricos de potenciales de reducción han hecho aportes importantes en la comprensión de los procesos redox. Las principales fuerzas que contribuyen al potencial en complejos de coordinación son la interacción metal-ligando y los enlaces de hidrógeno^[74]. También se ha evidenciado que las interacciones electrostáticas dominan la estabilidad de la primera esfera de coordinación, por lo que las carga del metal y del ligando resultan relevantes^[75]. Además, se ha demostrado que ante mayores sean los cambios estructurales debido a la reducción, mayores errores se tendrán en el cálculo del potencial redox.

Dichos potenciales son un parámetro importante en las reacciones de transferencia de electrones, ya que determinan la fuerza impulsora de los procesos redox^[76]. Además, muchos complejos formados por la interacción de Cu(II) con péptidos pueden reducirse e involucrarse en la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés). Estas especies químicas desarrollan estrés oxidativo, lo que causa oxidación de proteínas e incremento en la peroxidación lipídica. Esto puede conllevar a la apoptosis celular, lo cual ha estado asociado con la etiología de diferentes patologías degenerativas.

Por otro lado, un tipo de enlazamiento importante a nivel biológico es el denominado AT-CUN, que tiene como grupos donadores al amino terminal y a la histidina en tercera posición. Esta coordinación es muy estable y presenta una geometría cuadrado planar, lo cual hace de este enlazamiento un sistema modelo. Sodupe y colaboradores^[77] estudiaron tripéptidos con coordinación ATCUN para obtener sus potenciales mediante voltametría cíclica y cálculos DFT. Ellos reportan que los potenciales más negativos corresponden a ligandos cargados y con geometrías de coordinación rígidas, también observaron que el modo 3N1O presenta una descoordinación del O-donador debido a la reducción. Finalmente, se mostró a nivel experimental que la reducción podría protonar un ligando cargado de nitrógeno (N^-).

Otro sistema redox importante a nivel biológico es el complejo Cu(II) con β amiloide, ya que la interacción del cobre con este péptido podría estar asociado con los depósitos de amiloide en pacientes con alzheimer. El potencial para este complejo a nivel experimental depende de tres factores: pH, estequiometría y rango de escaneo. En un pH ácido el potencial se encuentra en el rango de 0.228 a 0.300 V, mientras que en pH básico va de -0.177 a -0.121 V^[78]. Para inducir la reducción de sistemas Cu(II)- $A\beta$ se requieren agentes reductores biológicos, como: NAD⁺ (-0.32 V), FAD (-0.33 V), ácido ascórbico (0.05 V) y glutatión (-0.23 V)^[79]. Esto muestra que la reducción del centro metálico se puede dar más fácilmente a pH ácido y bajo la acción de un agente biológico presente en el medio.

Un estudio teórico del complejo Cu(II)- $A\beta$ consideró diferentes estructuras según el pH e introdujo una corrección por el error sistemático de los cálculos^[80]. Ellos observaron que la reducción induce un decrecimiento en el número de coordinación del metal, lo que conlleva a complejos tricoordinados con una geometría en forma de T. Otro estudio teórico empleó pequeños modelos para representar el complejo Cu(I)- $A\beta$ en su interacción con el oxígeno molecular. Se demostró que ciertas configuraciones del péptido lograban activar el oxígeno para formar el radical superóxido (barreras inferiores a 5 kcal/mol). Por lo tanto, la interacción de Cu(II) con beta amiloide contribuye de forma representativa al estrés oxidativo, mediante la formación de especies reactivas de oxígeno, como el radical superóxido^[34].

Otro polipéptido con relevancia biológica es la amilina (hIAPP), aunque solo se han reportado algunos estudios iniciales sobre su actividad redox. La hIAPP se puede reducir en el retículo endoplasmático con un potencial de -0.129 V, lo que implica una mayor agregación respecto al estado oxidado^[9]. Diversos autores concluyen que el complejo Cu(II)-IAPP es activo redox, y el péptido reducido puede transferir electrones al centro metálico^[81]. Sin embargo, otros autores consideran que el sistema Cu-IAPP no genera un aumento considerable en la producción de ROS, incluso algunos metales inactivos redox como el níquel presentan un rendimiento similar^[82]. Por otro lado, no se tienen reportes de potenciales de reducción Cu(II)-IAPP ni se conoce la estructura de Cu(I)-IAPP en el ambiente biológico^[35].

De esta manera, la predicción de un potencial de reducción Cu(II)-IAPP puede contribuir como un punto de partida para la comprensión de la actividad redox de este sistema. Así, en este capítulo se calculó el potencial de reducción para Cu(II) con fragmentos de hIAPP, mediante metodologías basadas en DFT. Las estructuras tomadas para este estudio fueron los modelos de menor energía que se obtuvieron de las dinámicas y optimizaciones realizadas. Además, se eligieron ocho complejos de referencia con el propósito de ajustar el error sistemático de los potenciales. Finalmente, se analizaron los cambios estructurales y electrónicos que tuvieron lugar debido a la reducción de los complejos.

5.2 Potenciales redox de referencia

Los potenciales de los sistemas de referencia se calcularon en el software TeraChem con un nivel de teoría PBE0/DZVP. Se siguieron los ciclos termodinámicos y las ecuaciones expuestas en el capítulo de metodología, además, se emplearon dos métodos para relacionar los potenciales absolutos con los potenciales experimentales: directo e isodésmico. Estos potenciales calculados se compararon con sus valores experimentales para obtener una ecuación de ajuste, la cual se empleó para corregir los potenciales calculados para los complejos de Cu(II) con fragmentos de hIAPP.

Con el propósito de ajustar el error sistemático que resulta del cálculo computacional de potenciales redox, se escogió un conjunto de complejos de referencia. Dichos complejos se eligieron con base en los siguientes criterios: (1) carga del metal, (2) tipo de modo de coordinación, (3) tamaño del ligando, (4) número de enlaces del complejo oxidado y reducido. Por lo anterior, se seleccionaron complejos de Cu(II) con modos de coordinación 3N1O y 4N con ligandos de tamaño similar a los fragmentos de hIAPP. Los ligandos escogidos^[77,83]

fueron los siguientes (entre paréntesis se coloca su abreviatura): **1**). L-histidilo-L-histidilo-L-triptofano (HHW), **2**). N-acetil-L-histidilo-L-triptofilo-L-histidina (Ac-HWH), **3**). L-alanil-fenantrolina (Ala-phen), **4**). 4,4'-dimetil-bipiridina (Me₂bpy), **5**). Terpiridina (terpy), **6**). Bipiridina (bpy), **7**). 2,2'-dipiridilamina (dipa), **8**). Piridil-imidazol (pyim). Estos ligandos se optimizaron con Cu(II) para obtener sus respectivos compuestos de coordinación (Figura 5.1), donde la mayoría de las estructuras presentan una geometría cuadrado planar.

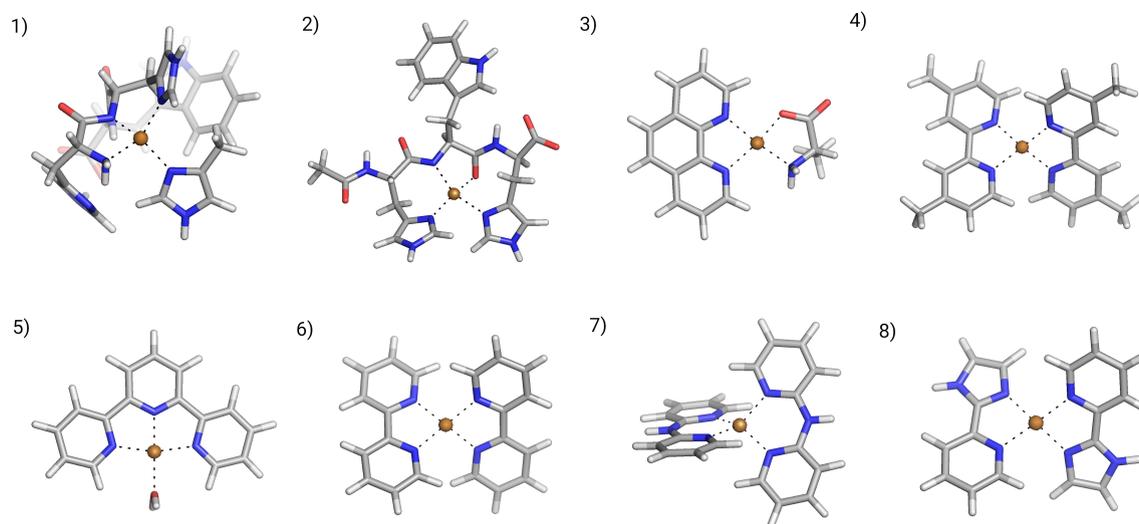


Figura 5.1: Estructuras optimizadas para los compuestos de coordinación de cobre(II). 1) [Cu(HHW)(Im)], 2) [Cu(Ac-HWH)], 3) [Cu(Ala)(Phen)]¹⁺, 4) [Cu(Me₂bpy)₂]²⁺, 5) [Cu(terpy)(H₂O)]²⁺, 6) [Cu(bpy)₂]²⁺, 7) [Cu(dipa)₂]²⁺, 8) [Cu(pyim)₂]²⁺.

El primer método que se utilizó para calcular los potenciales de estos complejos es el método directo. Este relaciona la energía libre del proceso redox con el potencial experimental mediante un electrodo de referencia, para esta investigación se utilizó el potencial estándar de hidrógeno (SHE, por sus siglas en inglés), ya que esta es la referencia recomendada para complejos en solución acuosa. Sin embargo, este potencial tiene valores diferentes en la literatura (4.24 – 4.73 V), por lo que dicha incertidumbre se redujo escogiendo el potencial de SHE reportado por la IUPAC (4.44 V). Otra debilidad de este método radica en los errores sistemáticos que se pueden acumular por efectos de solvatación. A pesar de estas limitaciones, el método directo ha tenido buenos resultados en compuestos orgánicos^[84] dando errores promedio de ± 0.087 V, por lo que se ha empleado en la predicción de potenciales para complejos de coordinación.

Se realizó un gráfico de los potenciales calculados frente a los potenciales experimentales (Figura 5.2) y se desarrolló una regresión lineal con estos datos. Los potenciales calculados presentan una buena correlación con sus valores experimentales ($R^2 = 0.94$), aunque la ecuación de la recta muestra una desviación significativa en la predicción. Sin embargo, los resultados presentan buenas tendencias debido a la similitud química de las referencias escogidas, por lo que el error sistemático asociado es parecido. Lo anterior evidencia que el método directo puede ser confiable mientras se realice una adecuada curva de calibración.

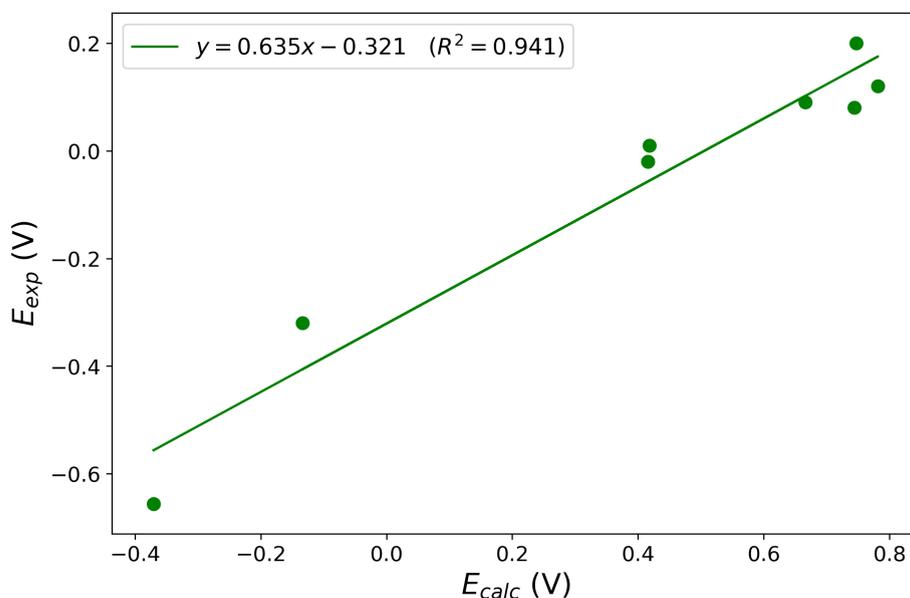


Figura 5.2: Regresión lineal de los potenciales calculados con los potenciales experimentales mediante el método directo.

En el método isodésmico se seleccionó una referencia por cada complejo para ajustar el error sistemático asociado a los cálculos. Esta metodología ha sido utilizada con éxito en complejos de uranio^[50], obteniendo una exactitud aproximada de ≈ 0.12 V respecto al valor experimental, esta es una exactitud buena ya que los efectos relativistas en el uranio son importantes y una predicción desde el método directo no había sido posible. Un punto crítico en estos cálculos es la selección del complejo de referencia, ya que este cumplirá el mismo papel del potencial SHE en el método directo. La Tabla 5.1 muestra los potenciales calculados con el método isodésmico, los cuales muestran buena concordancia con los valores experimentales. El error absoluto medio (MAE, por sus siglas en inglés) para las predicciones realizadas es bajo (0.06 V) y la mayor desviación de los cálculos corresponde a 0.122 V. Esto demuestra que el método logró un error inferior a 0.1 V, lo cual se debe a una buena selección de las referencias.

Tabla 5.1: Potenciales método isodésmico

Estructura	Referencia	E_{calc} (V)	E_{exp} (V)	$ \Delta E ^*$ (V)
[Cu(HWH)(Im)]	[Cu(Ac-HHW)]	-0.778	-0.656	0.122
[Cu(Ac-HHW)]	[Cu(terpy)(H ₂ O)] ²⁺	-0.017	0.010	0.027
[Cu(Ala)(Phen)] ¹⁺	[Cu(Ac-HHW)]	-0.420	-0.542	0.122
[Cu(Me ₂ bpy) ₂] ²⁺	[Cu(bpy) ₂] ²⁺	0.005	0.090	0.085
[Cu(terpy)(H ₂ O)] ²⁺	[Cu(Ac-HHW)]	0.007	-0.020	0.027
[Cu(bpy) ₂] ²⁺	[Cu(Me ₂ bpy) ₂] ²⁺	0.205	0.120	0.085
[Cu(dipa) ₂] ²⁺	[Cu(Me ₂ bpy) ₂] ²⁺	0.171	0.200	0.029
[Cu(pyim) ₂] ²⁺	[Cu(bpy) ₂] ²⁺	0.082	0.080	0.002
MAE**				0.062

* $|\Delta E| = |E_{calc} - E_{exp}|$, **Mean Absolute Error

Con esta información se realizó la correlación lineal para los potenciales calculados frente a sus valores experimentales (Figura 5.3). Se obtuvo una buena correlación de los datos ($R^2 = 0.96$), además, la ecuación de la recta muestra menor desviación respecto a la obtenida en el método directo. Así, estos resultados demuestran que el método isodésmico reduce los errores sistemáticos y permite dar una buena predicción de los potenciales de reducción de un electrón en estos complejos de coordinación.

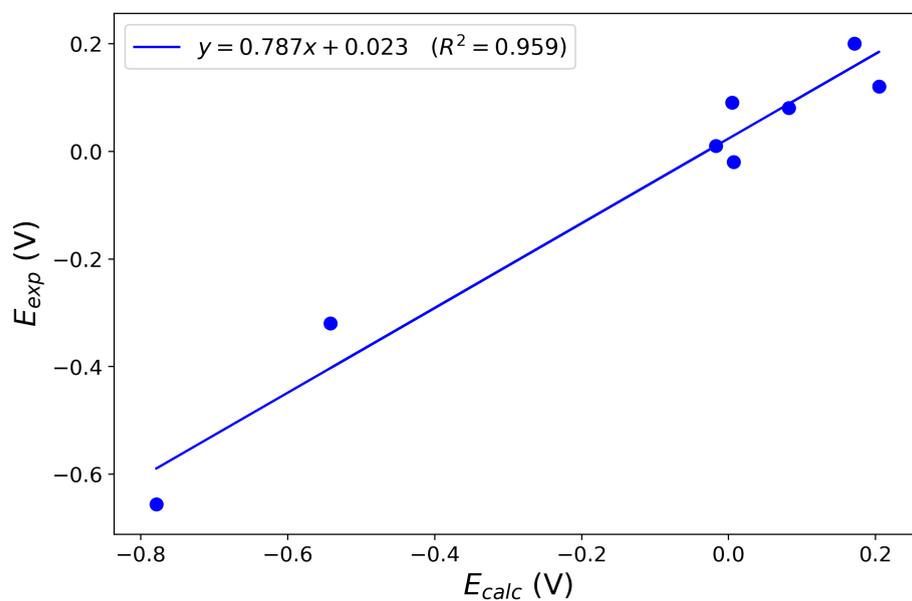


Figura 5.3: Regresión lineal de los potenciales calculados con los potenciales experimentales mediante el método isodésmico.

En conclusión, se empleó el método directo e isodésmico para calcular los potenciales de los complejos de referencia. El método isodésmico generó mejores predicciones de los valores experimentales, ya que se disminuye el error sistemático mediante el uso referencias. La ecuación de regresión para el método directo fue $E_{exp} = 0.635E_{calc} - 0.321$ y para el método isodésmico fue $E_{exp} = 0.787E_{calc} + 0.023$, estas ecuaciones de ajuste se emplearán para predecir los potenciales de reducción de los complejos de Cu(II) con fragmentos de hIAPP.

5.3 Potenciales de reducción para los complejos de Cu(II) con fragmentos de hIAPP

La actividad redox del Cu(II) enlazado con hIAPP puede dar valiosa información sobre la citotoxicidad de este metal en las células beta. El potencial de reducción de Cu(II)/Cu(I) es 0.153 V vs SHE, por lo que el cobre tiene la capacidad de adoptar dos estados de oxidación en solución^[33], siendo un reconocido metal activo redox. El Cu(I) está presente principalmente en el ambiente reductor intracelular, mientras que el Cu(II) se encuentra en el espacio oxidante extracelular. Por otro lado, la amilina tiene un potencial de -0.129 V, lo que sugiere que una cantidad significativa de hIAPP existe en el reptículo endoplasmático en estado reducido. Sin embargo, no se ha explorado a profundidad el potencial redox de cobre enlazado a hIAPP, por lo que no hay evidencia de la existencia de Cu(I) en el entorno del péptido.

Solo se encontró un reporte experimental para el potencial de hIAPP con cobre^[85], en este artículo se clasifican los modos de coordinación en cuatro componentes según el pH. Ellos reportan potenciales entre 0.206 V y 0.257 V, los cuales son dados para el fragmento hIAPP(1-19). Sin embargo, los modos de coordinación propuestos en este artículo no concuerdan con las investigaciones hechas por otros autores, por lo que no se tomó este antecedente como un punto de referencia.

Se calcularon los potenciales para los complejos de Cu(II) con fragmentos de hIAPP empleando los métodos descritos en la sección anterior, estos potenciales se escalaron teniendo en cuenta las ecuaciones de ajuste que se obtuvieron para los compuestos de referencia. En la Tabla 5.2 se muestran los valores calculados para los potenciales de los complejos con cuatro moléculas de agua como solvatación, ΔG_{redox} es la energía libre obtenida con los ciclos termodinámicos, E_{abs} es el potencial absoluto calculado con la ecuación de Faraday, E_{dir} es el potencial calculado con el método directo, E_{iso} es el potencial calculado con el método isodésmico, y finalmente, $|\Delta E|$ es la diferencia entre los potenciales obtenidos mediante los dos métodos. Además, para el método isodésmico se emplearon los complejos [Cu(HWH)(Im)] y [Cu(Ac-HHW)] como referencias de los modos de coordinación 4N y 3N1O, respectivamente.

Se puede observar que los potenciales más negativos corresponden a los modos de coordinación 4N, mientras los potenciales menos negativos corresponden a la coordinación 3N1O. Esto se debe a que el O-donador presenta un enlazamiento más débil con el Cu(II), lo que genera mayores cambios estructurales debido a la reducción. Cabe resaltar que la predicción de los potenciales para los fragmentos HSSNN(18-22) y NFLVH(14-18) muestran valores muy parecidos, debido a que tienen el mismo grupo de anclaje. Por otro lado, los potenciales más negativos se obtuvieron con el fragmento KCNTA(1-5), lo cual se puede asociar a la gran estabilidad de su efecto quelato (forma anillos de cinco miembros). Finalmente, el valor de $|\Delta E|$ es inferior a 0.1 V en la mayoría de las predicciones, por lo que se puede afirmar que se obtienen potenciales muy parecidos con las dos metodologías.

Tabla 5.2: Potenciales redox para los complejos de Cu(II) con fragmentos de hIAPP (Cada estructura tiene una solvatación explícita de cuatro moléculas de agua)

Modelo	ΔG_{redox}	E_{abs}	E_{dir} (V)	E_{iso} (V)	$ \Delta E ^*$ (V)
HSSNN(18-22)					
3N1O _{OH/S20}	-107.464	4.660	-0.175	-0.117	0.058
3N1O _{OH/S20} O _{CO/N22}	-120.673	4.452	-0.307	-0.280	0.026
3N1O _{CO/S20}	-96.641	4.191	-0.473	-0.486	0.013
4N ₁₈₋₂₁	-77.149	3.345	-1.010	-1.055	0.045
NFLVH(14-18)					
3N1O _{H2O}	-107.545	4.664	-0.173	-0.114	0.059
3N1O _{CO/F15}	-100.230	4.346	-0.376	-0.364	0.010
3N ₁₆₋₁₈	-98.049	4.252	-0.434	-0.438	0.004
4N ₁₆₋₁₈	-77.239	3.349	-1.007	-1.052	0.045
KCNTA(1-5)					
3N1O _{OH/T4}	-95.546	4.143	-0.503	-0.524	0.021
3N1O _{CO/N3}	-83.246	3.610	-0.842	-0.943	0.102
3N1O _{CO/N3b}	-73.378	3.182	-1.114	-1.280	0.167
4N ₁₋₄	-75.986	3.295	-1.042	-1.095	0.053

$$*|\Delta E| = |E_{dir} - E_{iso}|$$

En la Tabla 5.3 se muestran los potenciales redox para los complejos de Cu(II) con fragmentos de hIAPP sin solvatación explícita. Estos potenciales son más negativos que los calculados para las estructuras con solvatación explícita, ya que la inclusión de moléculas de agua aumenta la reorganización energética. Sin embargo, se puede observar que las tendencias de los potenciales para estas estructuras se mantienen, con excepción de los modos de coordinación 3N₁₆₋₁₈ y 3N1O_{CO/N3b}. Nuevamente, la diferencia entre las metodologías $|\Delta E|$ es baja, aunque cabe resaltar que las mayores desviaciones se presentan para los potenciales inferiores a -0.9 V, dado que dichos valores están fuera de los potenciales de referencia mostrados en la sección anterior.

Tabla 5.3: Potenciales redox para los complejos de Cu(II) con fragmentos de hIAPP

Modelo	ΔG_{redox}	E_{abs} (V)	E_{dir} (V)	E_{iso} (V)	$ \Delta E ^*$ (V)
HSSNN(18-22)					
3N1O _{OH/S20}	-104.646	4.538	-0.253	-0.213	0.039
3N1O _{OH/S20} O _{CO/N22}	-95.982	4.162	-0.491	-0.509	0.018
3N1O _{CO/S20}	-92.219	3.999	-0.595	-0.637	0.042
4N ₁₈₋₂₁	-82.228	3.566	-0.870	-0.882	0.012
NFLVH(14-18)					
3N1O _{CO/F15}	-97.928	4.246	-0.438	-0.442	0.005
3N ₁₆₋₁₈	-108.280	4.695	-0.152	-0.089	0.063
4N ₁₆₋₁₈	-71.772	3.112	-1.158	-1.239	0.081
KCNTA(1-5)					
3N1O _{OH/T4}	-88.550	3.840	-0.696	-0.762	0.067
3N1O _{CO/N3}	-71.902	3.118	-1.154	-1.331	0.176
3N1O _{CO/N3b}	-80.614	3.496	-0.914	-1.033	0.119
4N ₁₋₄	-61.677	2.675	-1.436	-1.583	0.147

* $|\Delta E| = |E_{dir} - E_{iso}|$

Rorabacher y colaboradores^[86,87] han estudiado el efecto de los anillos quelato en reacciones de transferencia de electrones para complejos de Cu(II). Ellos mostraron que el mayor cambio geométrico que generó la transferencia de electrones fue la inversión de dos átomos donadores. También designaron una mayor estabilidad a los modos de coordinación con anillos de cinco y seis miembros. En este trabajo con el propósito de observar los cambios estructurales y electrónicos que ocurren debido a la reducción de los complejos de Cu(II) con fragmentos de hIAPP, se eligieron los modos de coordinación 3N1O_{OH/S20} y 4N₁₋₄. Dichos modelos se tomaron como casos ilustrativos, ya que los resultados en las otras estructuras siguen las mismas tendencias. Además, entender estos cambios en los modos de coordinación pueden ayudar a racionalizar los resultados obtenidos en los potenciales.

Los cambios estructurales y electrónicos para la estructura 3N1O_{OH/S20} son presentados en la Figura 5.4. Los N-donadores presentan cambios pequeños en sus distancias de enlace, el grupo de anclaje (N_{H18}) se mantiene y los átomos cargados (N⁻) siguen coordinados al metal. Por otro lado, el O-donador se descoordina pasando de 2.14 Å a 3.18 Å, lo cual explica por qué los complejos 3N1O tiene potenciales menos negativos. Esto hace que los complejos de Cu(I) para el fragmento HSSNN(18-22) en el modo de coordinación 3N1O tengan un sistema de anillos (7,5), mientras que en el fragmento NFLVH(14-18) se forman anillos (6,5). Estas diferencias no repercuten de forma importante en el valor de potencial. Por otro lado, el análisis de cargas CM5 evidencia que la reducción se da principalmente en el centro metálico, ya que este presenta una disminución considerable en su carga atómica (0.81 → 0.52 e).

También estos resultados permiten afirmar que este fragmento de la hIAPP actúa como un “ligando inocente”, esto quiere decir que no participa de forma activa en el proceso redox.

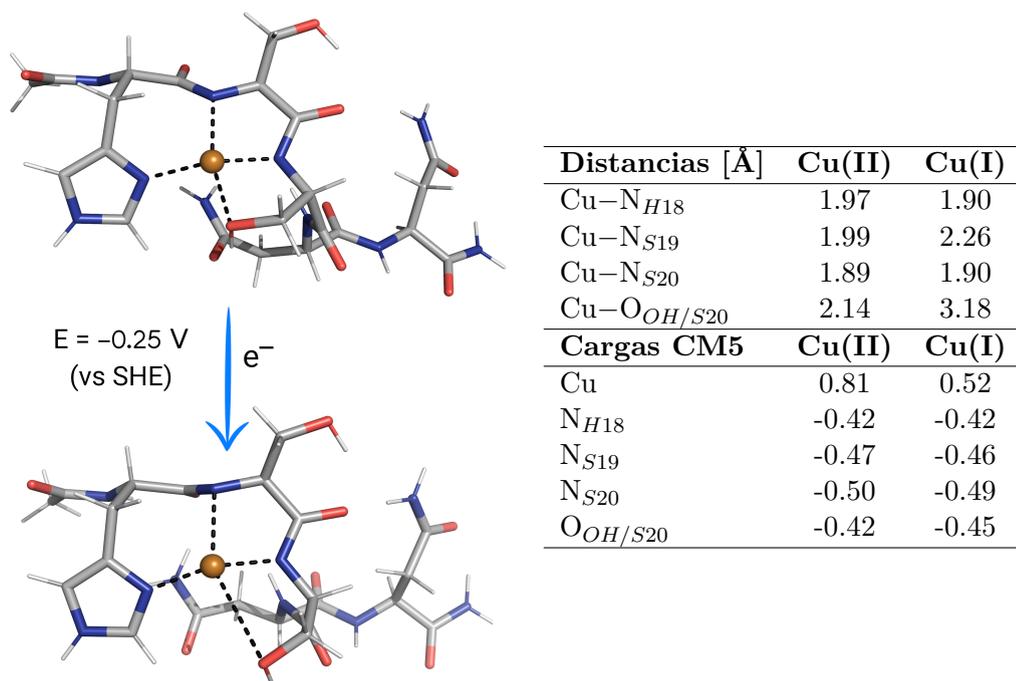


Figura 5.4: Cambios estructurales y electrónicos debido a la reducción del complejo Cu(II)-HSSNN(18-22) en el modo de coordinación 3N1O_{OH/S20}.

Otra estructura que se seleccionó como ilustración fue el modo de coordinación 4N₁₋₄, donde sus cambios estructurales y electrónicos son mostrados en la Figura 5.5. Notamos que la distancia Cu–N_{NH2} aumenta ligeramente después de la reducción (2.06 Å → 2.22 Å), aunque no podemos considerar que esto sea representativo para afirmar la descoordinación. Así, los complejos estudiados en Cu(II) tenían una coordinación saturada en el plano ecuatorial (cuadrado planar) y al ser reducidos intentaron descoordinar el ligando más débil. Para el caso de la coordinación 4N no se presentaron cambios importantes, ya que su fuerte interacción electrostática estabiliza el enlazamiento, por lo que esto se ve reflejado en potenciales más negativos. También este comportamiento se observa para el fragmento KCNTA(1-5), donde no hay un cambio en el efecto quelato, por lo que su estabilidad repercute en potenciales más negativos. Además, el análisis de cargas CM5 evidencia que la reducción se presenta principalmente en el metal (0.83 → 0.45 *e*).

Un análisis adicional de estos modelos ilustrativos consistió en graficar los orbitales frontera. En la Figura 5.6 se muestran los orbitales LUMO (por sus siglas en inglés, Lowest Unoccupied Molecular Orbital) para los complejos de Cu(II) en la coordinación 3N1O_{OH/S20} y 4N₁₋₄. Este orbital es relevante, ya que representa los lugares más probables para la ubicación del

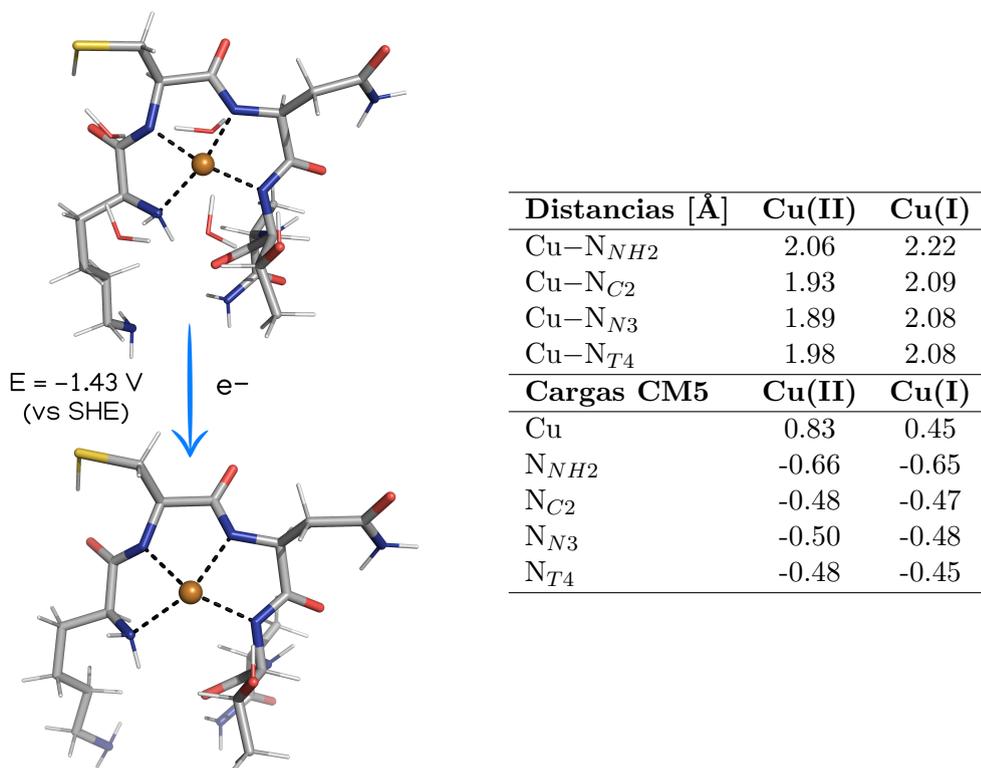


Figura 5.5: Cambios estructurales y electrónicos debido a la reducción del complejo Cu(II)-KCNTA(1-5) en el modo de coordinación 4N₁₋₄.

electrón añadido en el proceso de reducción. Se puede observar que estos orbitales se localizan principalmente en el metal y tienen una pequeña contribución en los átomos donadores. Esto tiene relación con el análisis de cargas atómicas previo, puesto que la disminución de la carga se localiza principalmente en el cobre.

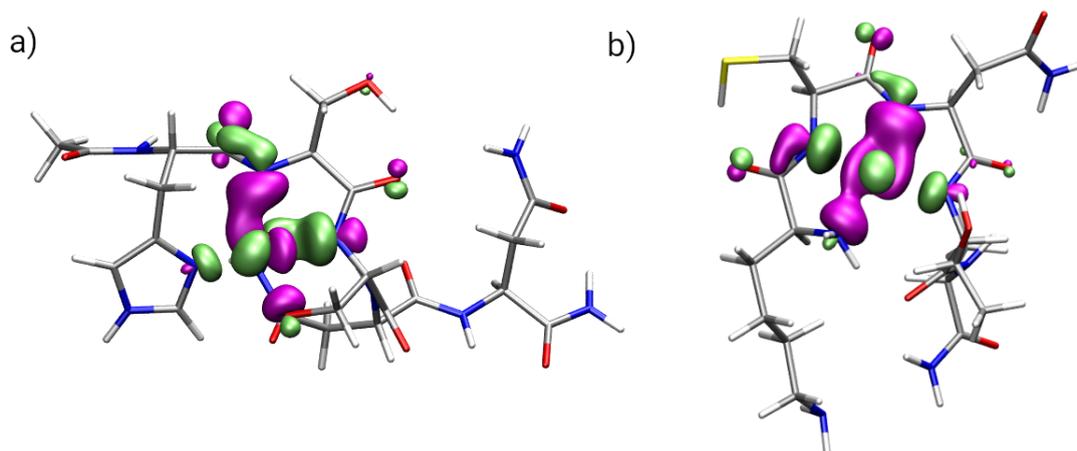


Figura 5.6: Orbitales LUMO para complejos de Cu(II) con fragmentos de hIAPP. a) 3N1OH/S₂₀, b) 4N₁₋₄.

Estos potenciales redox calculados para el Cu(II) con fragmentos de hIAPP tienen relevancia biológica. Los potenciales de reducción son la fuerza impulsora de las reacciones de transferencia de electrones^[88], usualmente esto se da en presencia de un agente reductor biológico. Para los potenciales de Cu(II) con hIAPP se observa que los modos de coordinación 4N y las estructuras propuestas para el fragmento KCNTA(1-5) no pueden ser reducidas en ambiente biológico, ya que su potencial es inferior a -0.33 V (potencial del agente biológico FAD). Por otro lado, los modos de coordinación $3\text{N}1\text{O}_{\text{OH}/\text{S}20}$ y $3\text{N}1\text{O}_{\text{H}2\text{O}}$ pueden ser reducidos por el NAD+, FAD y glutatión, mientras que los modos $3\text{N}1\text{O}_{\text{OH}/\text{S}20}\text{O}_{\text{CO}/\text{N}22}$ y $3\text{N}1\text{O}_{\text{CO}/\text{F}15}$ solo podrían ser reducidos por NAD+ y FAD.

En síntesis, se empleó el método directo y el método isodésmico para calcular los potenciales de los complejos formados por Cu(II) con fragmentos de hIAPP. Se eligieron ocho compuestos de referencia con un ambiente químico similar, con el propósito de hacer un ajuste del error sistemático de los potenciales calculados. De esta manera, los resultados obtenidos para los complejos de interés fueron corregidos mediante una regresión lineal, lo cual mejoró el nivel predictivo de esta investigación. Finalmente, los potenciales que se reportaron con el método isodésmico presentaron un valor similar al método directo.

Los potenciales más negativos fueron obtenidos para los modos de coordinación 4N en cada fragmento, esto indica que el proceso de reducción no se ve favorecido, puesto que la carga neta del complejo oxidado es -1 y al añadir el electrón aumenta la repulsión. Por otro lado, los complejos con coordinación 3N1O y O-donador OH (hidroxilo o agua) presentan potenciales menos negativos, esto se debe a la descoordinación del oxígeno que aumenta la reorganización del sistema. Además, el análisis de cargas y el gráfico de orbitales LUMO demostró que la reducción ocurre principalmente en el metal, por lo que el ligando no participa en el proceso redox.

Finalmente, los resultados obtenidos se pueden relacionar con la química redox de la hIAPP en el ambiente celular. Los modos de coordinación 4N y las estructuras del fragmento KCNTA(1-5) no pueden reducirse por agentes biológicos, ya que son muy estables y presentan potenciales muy negativos. Por otro lado, los modos de coordinación $3\text{N}1\text{O}_{\text{OH}/\text{S}20}$, $3\text{N}1\text{O}_{\text{H}2\text{O}}$, $3\text{N}1\text{O}_{\text{OH}/\text{S}20}\text{O}_{\text{CO}/\text{N}22}$ y $3\text{N}1\text{O}_{\text{CO}/\text{F}15}$ podrían reducirse por la acción de agentes reductores como el FAD, NAD+ y glutatión. Dichas estructuras tendrían la capacidad de generar especies reactivas de oxígeno catalizadas por Cu(I), lo cual conlleva al estrés oxidativo y una subsiguiente apoptosis de células beta.

6

Enlace de hidrógeno no convencional $M(I)\cdots H-O$

El enlace de hidrógeno es una interacción no covalente, que es relativamente fuerte y altamente direccional. El papel que desempeña esta interacción en los sistemas biológicos es innegable, esta es la responsable de la estructura secundaria de las proteínas y la formación de la doble hélice del ADN. Las hojas beta y las hélices alfa de las proteínas se forman por enlaces de hidrógeno entre aminoácidos de cadenas adyacentes, dando lugar a interacciones del tipo amino-carbonilo ($NH\cdots O=C$)^[89]. Las bases nitrogenadas forman enlaces de hidrógeno complementarios Guanina-Citosina(G-C) y Adenina-Timina(A-T), los cuales son los responsables de la conformación del ADN y también proveen propiedades de conducción. Esta interacción es responsable de las propiedades físicas de los biomateriales, por ejemplo, entre cadenas de polisacáridos se desarrollan propiedades mecánicas robustas a través de los enlaces de hidrógeno de grupos hidroxilo ($-OH$).

Los enlaces de hidrógeno son descritos como interacciones entre un dipolo ($D-H$) y una región de alta densidad electrónica (par de electrones libres, orbital molecular π , par enlazante σ). Esto genera una interacción global de tres centros y cuatro electrones ($3c-4e$), donde sus componentes son: un átomo de hidrógeno, un átomo aceptor (A) y un átomo donador (D). Los enlaces de hidrógeno tienen una direccionalidad lineal ($D-H\cdots A$), una energía asociada inferior a 40 kcal/mol y una distancia inferior a la suma de los radios de Van der Waals de los átomos involucrados. Sin embargo, estas características convencionales no abarcan las particularidades de los enlaces de hidrógeno en sistemas inorgánicos, por ejemplo, la visión netamente electrostática del enlace de hidrógeno es incompleta, ya que otras fuerzas pueden estabilizar dicha interacción^[90].

Recientemente, se ha propuesto que los metales de transición pueden ser potenciales aceptores (A) de enlace de hidrógeno^[91,92]. Algunos criterios que caracterizan estos enlaces de hidrógeno no convencionales han sido formulados por Brammer^[93]: a) El metal aceptor es rico en electrones con capa d llena, b) La geometría del enlace de hidrógeno es aproximadamente lineal ($130 < \text{M}-\text{H}-\text{D} < 180$). Otras características reportadas en estas interacciones son contribuciones de polarización predominantes y transferencia de carga del tipo $\text{M} \rightarrow \text{H}-\text{D}$.

Un metal ampliamente estudiado que presenta estas características es Au(I), ya que tiene una alta afinidad electrónica que le permite ser un aceptor de hidrógeno ideal en procesos catalíticos^[94]. El complejo $[\text{Au}(\text{CH}_3)_2](\text{H}_2\text{O})_x$ se ha caracterizado mediante difracción de rayos X y cálculos teóricos (Figura 6.1), esta estructura puede formar uno o dos enlaces de hidrógeno $\text{Au}(\text{I}) \cdots \text{H}-\text{O}_w$ con moléculas de agua, este fenómeno es conocido como hidratación inversa. También se ha encontrado este tipo de enlazamiento en clusters de oro interactuando con donadores de protones en bases nitrogenadas y otras moléculas orgánicas^[95,96]. Estudios complementarios de espectroscopía de masas y resonancia magnética nuclear^[97] han identificado sitios de contacto $\text{Au} \cdots \text{H}$ en compuestos de coordinación, los cuales se han corroborado empleando cálculos teóricos mediante el análisis de interacciones no covalentes (NCI, por sus siglas en inglés). Estos hallazgos demuestran que el oro (en configuración de capa cerrada) es un metal que induce enlaces de hidrógeno no convencionales en compuestos de coordinación.

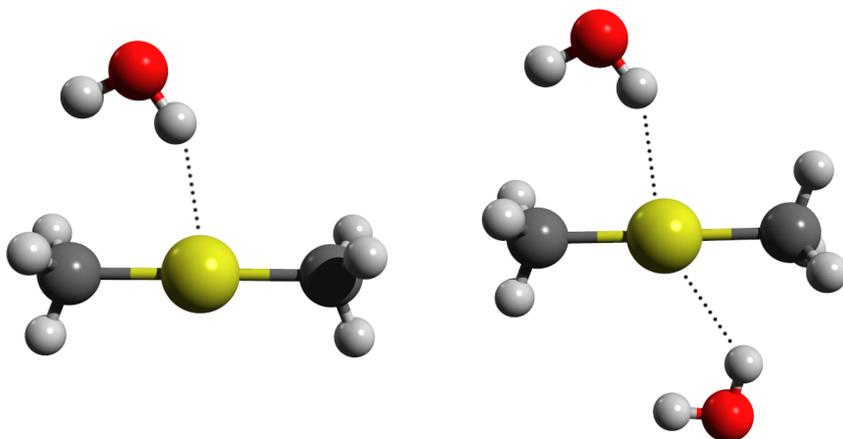


Figura 6.1: Estructura del complejo $[\text{Au}(\text{CH}_3)_2](\text{H}_2\text{O})_x$ estudiado en fase gas y simulaciones en fase acuosa. Las moléculas de agua pueden formar un enlace de hidrógeno $\text{Au}(\text{I}) \cdots \text{H}-\text{O}_w$ mediante hidratación inversa (Esta Figura ha sido adaptada de la referencia^[98]).

El Cu(I) es un metal de transición del mismo grupo de Au(I), ambos tienen una configuración electrónica de capa cerrada d^{10} . Este metal tiene importancia biológica debido a su capacidad de producir grandes cantidades de especies reactivas de oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés), donde un exceso de cobre podría estar asociado con estrés oxidativo^[99]. El radical hidroxilo formado por Cu(I) puede dañar proteínas, ácidos nucleicos y lípidos, conllevando a la apoptosis celular^[100]. Por estas razones, el enlazamiento de Cu(I) con agentes quelantes biológicos puede contribuir a la química bioinorgánica de diversas enfermedades degenerativas.

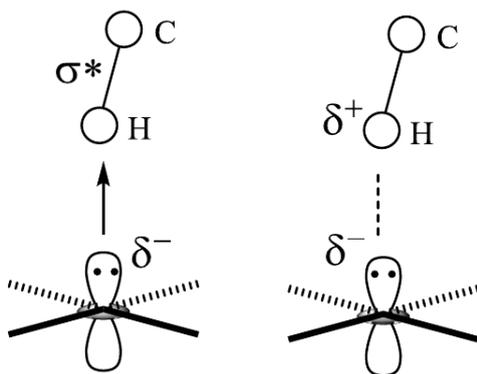


Figura 6.2: Enlace de hidrógeno Cu(I)···H–C donde el metal cumple el papel de aceptor. El ligando tiene un acercamiento axial al metal que se estabiliza mediante una transferencia de carga $M \rightarrow H$.

Un estudio novedoso con complejos de cobre(I) demostró que este metal puede actuar como un aceptor de hidrógeno con un ligando en posición axial (Figura 6.2). La interacción Cu(I)···H–C se estudió por análisis de difracción de rayos X, resonancia magnética nuclear y modelación computacional a nivel de DFT^[101]. Los parámetros geométricos de los complejos estudiados revelan que la distancia Cu(I)···H cae en el rango 1.9–2.3 Å y la mayoría de las estructuras tienen un ángulo cercano a 180°. El análisis de orbitales naturales de enlace (NBO, por sus siglas en inglés) indica que ocurre una donación de carga desde el Cu(I) al hidrógeno, esta transferencia de carga minimiza la repulsión entre el orbital lleno d_{z^2} y el orbital antienlazante σ^* del C–H. También se estudió la densidad en el punto crítico de enlace Cu–H, donde su valor es cercano a 0.03. Estas características de la estructura electrónica sugieren que el contacto Cu(I)···H–C es un enlace de hidrógeno no convencional con carácter parcialmente covalente.

En este estudio, el enlazamiento de cobre con el polipéptido IAPP es de especial interés. En el capítulo anterior mostramos que el Cu(II) puede reducirse con agentes biológicos en el modo de coordinación $3N1O_{OH/S20}$, lo cual indica la existencia de Cu(I) en este entorno. Las simulaciones BOMD del complejo Cu(I)-HSSNN(18-22) mostraron que existe un contacto Cu(I)···H–O a través del grupo hidroxilo en posición ecuatorial. Este hallazgo puede ser novedoso ya que no encontramos reportes donde muestren que el Cu(I) pueda ser aceptor de hidrógeno con un ligando en posición ecuatorial. Este modelo se extrajo para darle una mejor descripción a su entorno de coordinación mediante una reoptimización en el software Orca con el nivel de teoría PBE0/Def2TZVPP-JK. Con el propósito de ampliar esta discusión, se seleccionaron 3 centros metálicos de configuración electrónica d^{10} : Ag(I), Zn(II) y Cd(II). Se colocaron estos metales como centros de coordinación del fragmento IAPP(18-22) relajando los modelos con optimizaciones locales.

Las estructuras establecidas se estudiaron con diversos parámetros geométricos y análisis electrónicos. Se midieron distancias metal-hidrógeno (M–H) y se reportó el ángulo metal-hidrógeno-oxígeno (M···H–O) para evaluar los criterios geométricos del enlace de hidrógeno. Se calcularon las cargas atómicas mediante el modelo de carga 5 (CM5) para establecer la transferencia de carga M→H–O. Se efectuó un análisis de descomposición de la energía (EDA) con el propósito de identificar las contribuciones energéticas implicadas en la interacción. Finalmente, el análisis de interacciones no covalentes (NCI) establece la existencia del enlace de hidrógeno y su fuerza asociada.

6.1 Estructura del complejo Cu(I)-IAPP(18-22)

El contacto Cu(I)–H se halló mediante una simulación Born-Oppenheimer del complejo Cu(I)-IAPP(18-22) con 20 ps de dinámica y una temperatura de 300 K. Para identificar la estabilidad geométrica de esta interacción se graficó la distancia Cu–H (Figura 6.3) y el ángulo \angle Cu···H–O (Figura 6.4) a través de la dinámica. La simulación inicia con un contacto Cu–H que se pierde entre los 5.0 y 10.5 ps, pero después se mantiene esta interacción Cu···H–O hasta finalizar la dinámica. El enlace Cu–H se estabiliza en 2.3 Å, esta longitud final es inferior a la suma de los radios de Van der Waals de los átomos involucrados. El ángulo \angle Cu···H–O presenta linealidad después de los 10.5 ps, ya que se encuentra en el rango de 130° a 180°. Estas características estudiadas durante la dinámica molecular permiten establecer que el contacto Cu–H es estable y que sus parámetros geométricos son típicos de un enlace de hidrógeno no convencional.

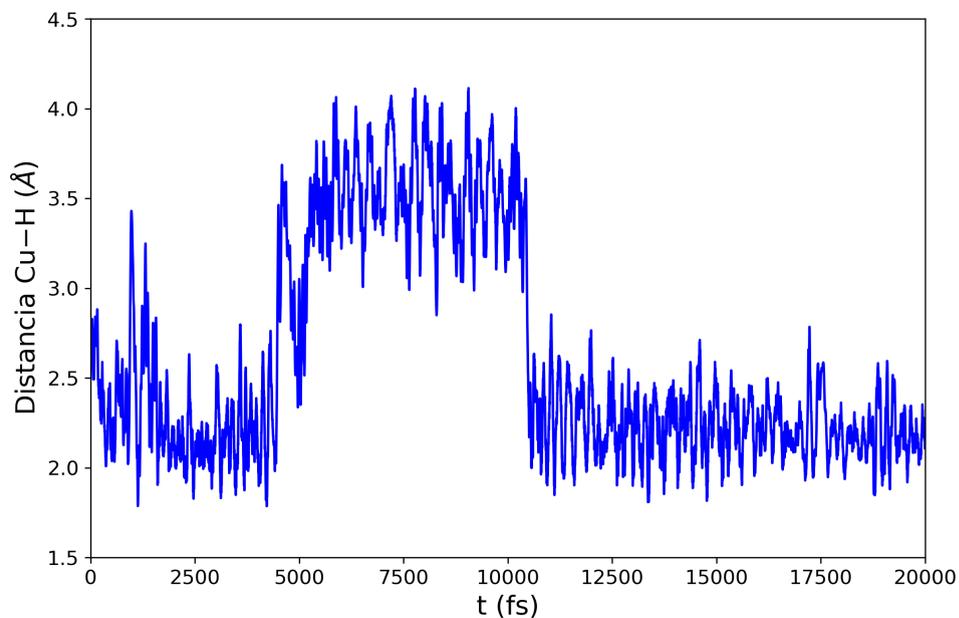


Figura 6.3: Distancia de la coordinación de $\text{Cu}-\text{H}_{\text{OH}/\text{S}_{20}}$ para la simulación molecular Born-Oppenheimer de $\text{Cu}(\text{I})$ con IAPP(18-22) en presencia de 4 moléculas de agua.

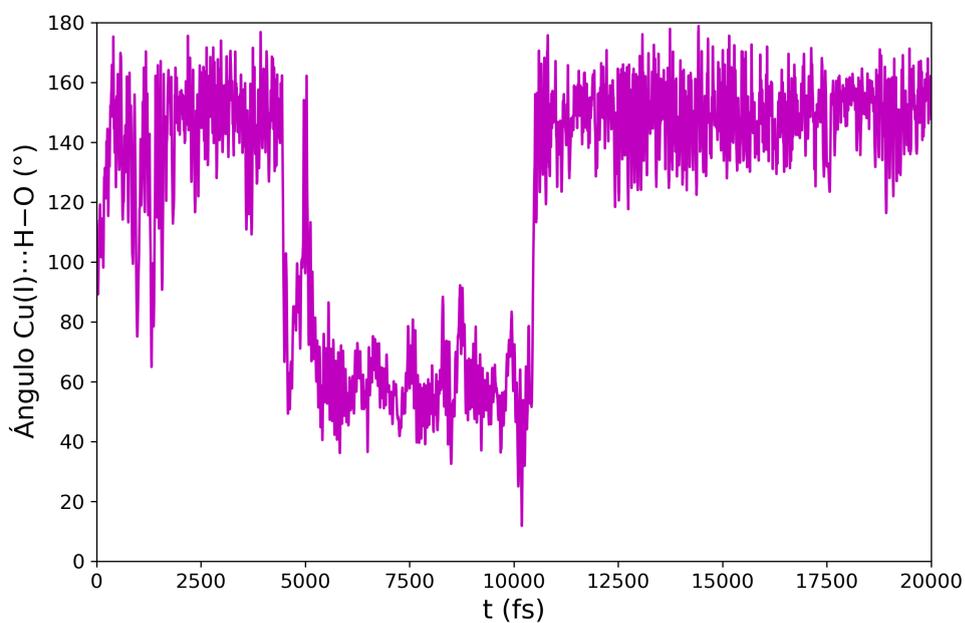


Figura 6.4: Ángulo del enlace de hidrógeno $\text{Cu}\cdots\text{H}-\text{O}_{\text{OH}/\text{S}_{20}}$ para la simulación molecular Born-Oppenheimer de $\text{Cu}(\text{I})$ con IAPP(18-22) en presencia de 4 moléculas de agua.

La estructura de menor energía extraída de la dinámica molecular fue optimizada con el mismo nivel de teoría, esta estructura mantiene el enlace de hidrógeno $\text{Cu}\cdots\text{H}-\text{O}$ y las moléculas de agua forman un cluster que no interactúa directamente con el centro metálico. En la figura 6.5 se muestran los parámetros geométricos y las cargas CM5 para los átomos involucrados en la coordinación con el cobre. La distancia $\text{Cu}-\text{H}$ se mantiene por debajo de la suma de sus radios de Van der Waals (3.2 \AA)^[102], lo que corrobora la estabilidad de este contacto^[103]. El ángulo $\angle\text{Cu}-\text{H}-\text{O}$ se encuentra por encima de los 150° , lo que evidencia la permanencia en la linealidad del enlace de hidrógeno. Las cargas indican que la coordinación $\text{Cu}-\text{N}$ se debe en gran parte a fuerzas electrostáticas, mientras que el enlace $\text{Cu}-\text{H}$ presenta una interacción repulsiva, lo que indica que otras fuerzas deben intervenir para garantizar su estabilidad.

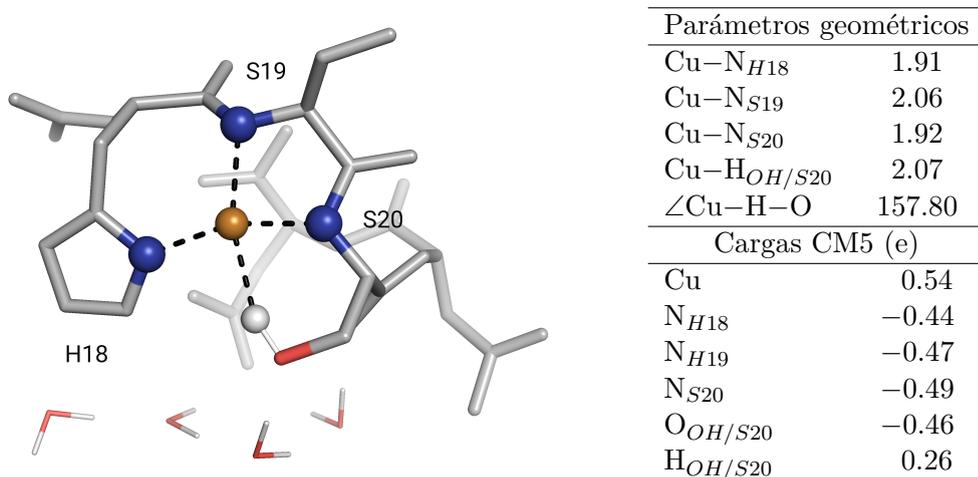


Figura 6.5: Parámetros geométricos para Cu(I) enlazado con IAPP en el modo de coordinación $3N1H_{OH/S20}$ con cuatro moléculas de agua. Las distancias están reportadas en Angstroms y los ángulos en grados.

6.2 Parámetros geométricos y cargas atómicas para la interacción de metales d^{10} con el fragmento IAPP(18-22)

Para estudiar la influencia del centro metálico en la formación del enlace de hidrógeno ecuatorial, se seleccionaron metales con configuración d^{10} : Cu(I), Ag(I), Zn(II) y Cd(II). El estudio de metales de segunda serie de transición requiere un conjunto base que describa de forma correcta los efectos relativistas y la correlación electrónica en estos sistemas. Para ello se empleó el programa de estructura electrónica Orca3.0 con el nivel de teoría PBE0/Def2-TZVPP con una base auxiliar para el ajuste simultáneo de la componente de intercambio y coulomb (JK), con esta metodología se reoptimizaron las estructuras para dar una mejor descripción del entorno de coordinación.

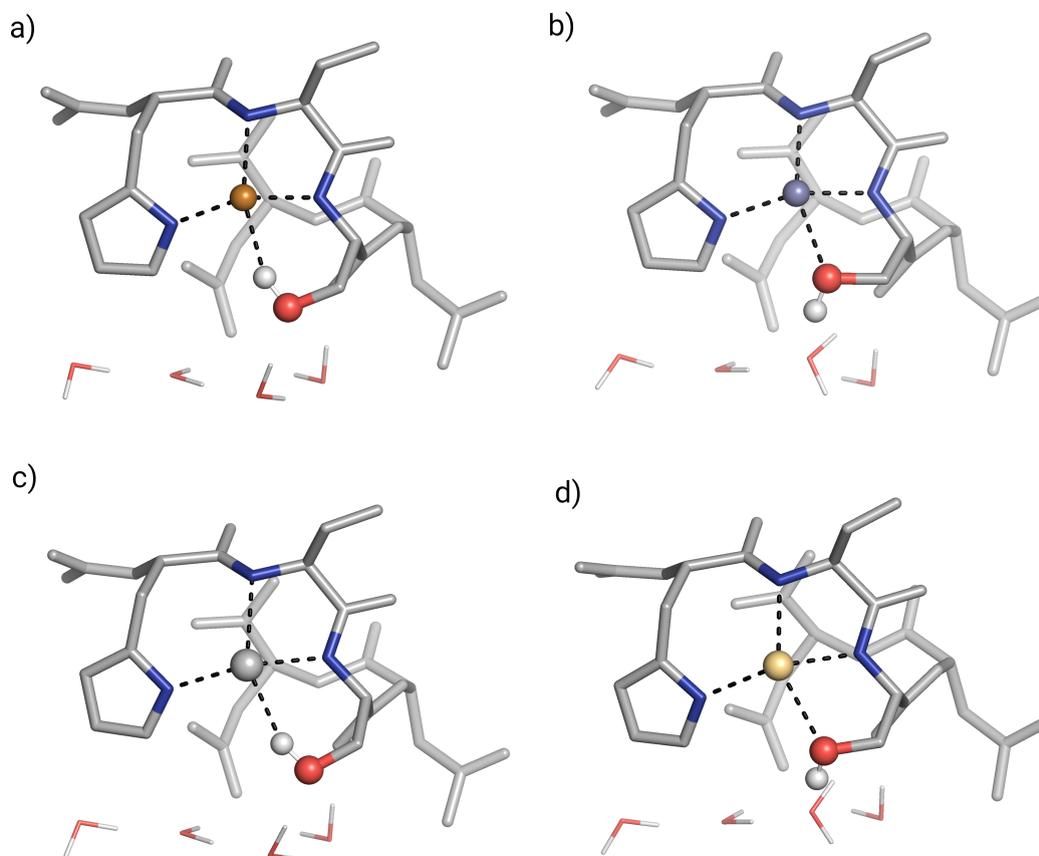


Figura 6.6: Estructuras para la interacción de metales d^{10} con el fragmento HSSNN. a) Cu(I)-IAPP(18-22), b) Zn(II)-IAPP(18-22), c) Ag(I)-IAPP(18-22), d) Cd(II)-IAPP(18-22).

La estructura de menor energía de las simulaciones BOMD se tomó como punto de partida para las reoptimizaciones con Orca3.0. Los metales Ag(I), Zn(II) y Cd(II) fueron reemplazados como centros metálicos del complejo Cu(I)-IAPP(18-22) y se reoptimizaron en Orca3.0. En la figura 6.6 se muestran las estructuras para los complejos calculadas con el nivel de teoría PBE0/Def2-TZVPP, dichos modelos no presentan cambios representativos en las ramificaciones de la IAPP ni se producen desplazamientos considerables para las moléculas de agua. Se puede observar que los metales Ag(I) y Cu(I) mantienen el enlace de hidrógeno en posición ecuatorial, mientras que Zn(II) y Cd(II) realizan una coordinación convencional $M(II) \cdots O-H$. Se espera que dichas tendencias se mantengan para la 3^o fila de transición, es decir, que el Au(I) presente enlace de hidrógeno ecuatorial, mientras Hg(II) no mantenga esta interacción. Estos metales más pesados no serán tomados en cuenta para este estudio, debido a los fuertes efectos relativistas que demandan un enfoque Douglas-kroll-Hess (DKH) de segundo orden, lo cual es una metodología muy costosa computacionalmente.

Las distancias para los átomos involucrados en la coordinación son reportadas (Tabla 6.1). Se puede observar que los complejos Cu(I)-IAPP(18-22) y Ag(I)-IAPP(18-22) presentan un enlace de hidrógeno no convencional M(I)···H–O, ya que la distancia M–H es inferior a los 3.0 Å y el ángulo \angle M–H–O es superior a 130°. El Cu(I) muestra mayor linealidad y cercanía en el contacto con el átomo de hidrógeno, lo que podría estar asociado con una mayor fuerza de enlazamiento. Por otro lado, Zn(II) y Cd(II) presentan parámetros geométricos alejados de los requerimientos del enlace de hidrógeno, lo que muestra la pérdida del contacto metal-hidrógeno, favoreciendo la coordinación convencional desde el oxígeno.

Tabla 6.1: Distancias de enlace e índice de distorsión para la interacción de IAPP(18-22) con centros metálicos de configuración d^{10} (M)

Complejo	M–N _{H18} (Å)	M–N _{S19} (Å)	M–N _{S20} (Å)	M–H _{S20} (Å)	\angle Cu–H–O
Cu(I)-IAPP	1.91	2.06	1.93	2.06	159.60
Ag(I)-IAPP	2.20	2.29	2.22	2.32	139.50
Zn(II)-IAPP	1.95	1.99	1.93	3.07	43.00
Cd(II)-IAPP	2.17	2.22	2.15	3.07	45.30

El análisis de cargas con el modelo de carga 5 (CM5) se reporta para los átomos involucrados en la coordinación (Tabla 6.2). La carga de los átomos de nitrógeno es negativa y la carga para los metales es positiva con una magnitud inferior para los átomos cobre y plata. Para los complejos de Cu(I)-IAPP(18-22) y Ag(I)-IAPP(18-22) existe una donación de carga desde el metal al hidrógeno ($\Delta q_H < 0$), donde la transferencia de carga decrece con la distancia M(I)–H. Esto muestra que aunque los contactos Cu(I)–H y Ag(I)–H tienen una interacción repulsiva, esta repulsividad se puede minimizar por medio de la transferencia de carga M(I)→H–O. Por otro lado, los complejos Zn(II)-IAPP(18-22) y Cd(II)-IAPP(18-22) presentan una donación de carga desde el ligando hidroxilo al metal M(II)←O–H, por lo que no existe un enlace de hidrógeno metal-ligando. Estos resultados pueden estar asociadas a la carga y naturaleza del metal, donde una menor carga positiva puede favorecer eventos de transferencia de carga que establezcan el enlace de hidrógeno no convencional en los átomos de Cu(I) y Ag(I).

Tabla 6.2: Cargas CM5 para los átomos involucrados en la coordinación de IAPP(18-22) con centros metálicos de configuración d^{10} (M)

Complejo	M	N _{H18}	N _{S19}	N _{S20}	O _{OH/S20}	H _{OH/S20}	Δq_H^*
Cu(I)-IAPP	0.54	-0.45	-0.48	-0.50	-0.43	0.27	-0.06
Ag(I)-IAPP	0.48	-0.42	-0.46	-0.47	-0.43	0.30	-0.04
Zn(II)-IAPP	0.78	-0.40	-0.46	-0.47	-0.44	0.31	0.02
Cd(II)-IAPP	0.89	-0.42	-0.47	-0.48	-0.44	0.31	0.02

* $\Delta q_H = q(H)_{complejo} - q(H)_{Ligando}$

6.3 Potencial Molecular Electrostático

Una estrategia empleada por muchos años para caracterizar las interacciones no covalentes en las moléculas es el potencial electrostático molecular (MEP, por sus siglas en inglés)^[59]. Este es un observable físico que puede dar razón de los sitios negativos y positivos de la isosuperficie de densidad electrónica, dando de esta manera un panorama de la reactividad molecular. Este enfoque considera que las interacciones no covalentes se dan por fuerzas puramente coulombicas (electrostáticas + polarización) basado en el teorema de Hellmann-Feynman, por lo que no da cuenta de la transferencia de carga, la repulsión de Pauli o la dispersión^[104].

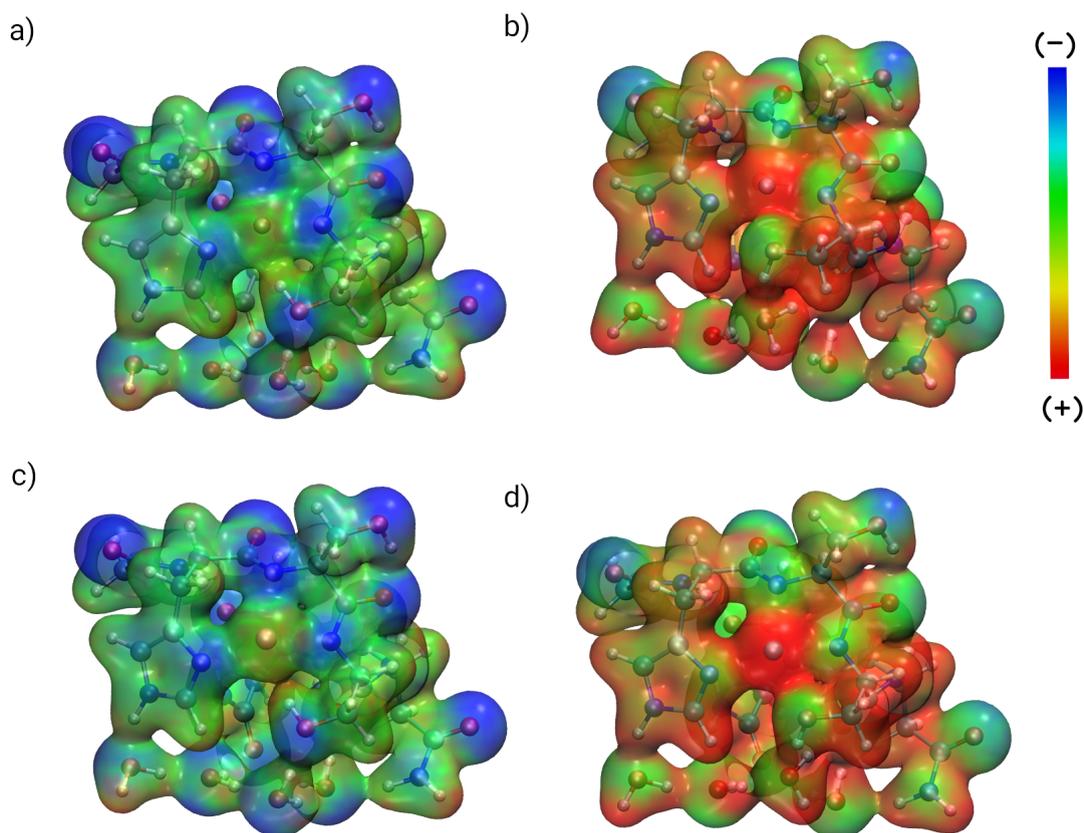


Figura 6.7: Mapa de potencial electrostático en la superficie de la densidad electrónica de los complejos: a) Cu(I)-IAPP(18-22), b) Zn(II)-IAPP(18-22), c) Ag(I)-IAPP(18-22), d) Cd(II)-IAPP(18-22).

La superficie molecular empleada para los MEPs fue dada por el contorno externo de la densidad electrónica, esto se calculó en el software Orca con el mismo nivel de teoría de las optimizaciones^[105]. El mapa de potencial electrostático para los complejos formados por metales d^{10} con el fragmento IAPP(18-22) es presentado en la Figura 6.7, se puede observar una marcada diferencia entre los metales M(I) y M(II). El potencial que se encuentra en

el contacto $M(I)\cdots H-O$ es aproximadamente neutro, esto indicaría que la estabilidad del enlace de hidrógeno no se ve favorecido por fuerzas coulómbicas. Por otro lado, la coordinación convencional $M(II)\cdots O-H$ muestra una fuerte polarización de la carga, por lo que este enlace se vería estabilizado por atracción electrostática. Estos resultados sugieren que es necesario recurrir a otras metodologías para caracterizar la interacción no convencional $M(I)\cdots H-O$.

6.4 Análisis de descomposición de la energía

Para caracterizar la interacción entre metales d^{10} con el polipéptido IAPP se realizará un análisis de descomposición de la energía. Esta metodología se llevó a cabo en el programa de estructura electrónica Q-Chem con el nivel de teoría PBE0/Def2-TZVPP, se empleó este software debido a su implementación de metodologías por fragmentos. El análisis EDA se ha utilizado para estudiar interacciones no-covalentes en fragmentos representativos de sistemas biológicos, este análisis descompone la energía de interacción en componentes físicamente significativos bajo el formalismo de orbitales moleculares absolutamente localizados (ALMO, por sus siglas en inglés)^[62]. Para enlaces de hidrógeno no convencionales se ha mostrado mediante EDA que existe una transferencia de carga del tipo $M\rightarrow H-X$, donde las fuerzas electrostáticas no son una contribución dominante en la energía de interacción, sino la polarización^[93].

La energía de interacción metal-ligando fue calculada para los complejos formados por Cu(I), Ag(I), Zn(II) y Cd(II) con el fragmento IAPP(18-22) bajo la metodología de EDA, los valores obtenidos fueron: -283.85 , -246.21 , -690.52 y -623.24 kcal/mol, respectivamente. Para ampliar esta perspectiva, la descomposición de la energía de interacción para estos complejos fue reportada (Figura 6.8), este cálculo se hizo para conocer las energías que dominan el entorno de coordinación de los complejos, mas no caracteriza puntualmente la interacción que estamos estudiando. Las barras de color rojo corresponden a la energía electrostática y domina la contribución estabilizante con signo negativo; las barras magenta corresponden a dispersión de Pauli con una contribución positiva; las barras azules corresponden a polarización con una contribución favorable de signo negativo; las barras verdes pertenecen a la transferencia de carga entre fragmentos, que aportan a la estabilidad de la interacción; finalmente las barras azul claro son la dispersión que tiene una contribución menor.

La favorabilidad de la interacción está liderada por fuerzas electrostáticas atractivas, mientras la energía de polarización es compensada con la repulsión de Pauli. Los efectos de dispersión son despreciables en estos sistemas. Los metales Ag(I) y Cu(I) presentan menores contribuciones electrostáticas, lo que se debe a su carga asociada. Sin embargo, para establecer la naturaleza del enlace de hidrógeno se debe analizar un fragmento que pueda representar de

forma más puntual la interacción que se desea estudiar.

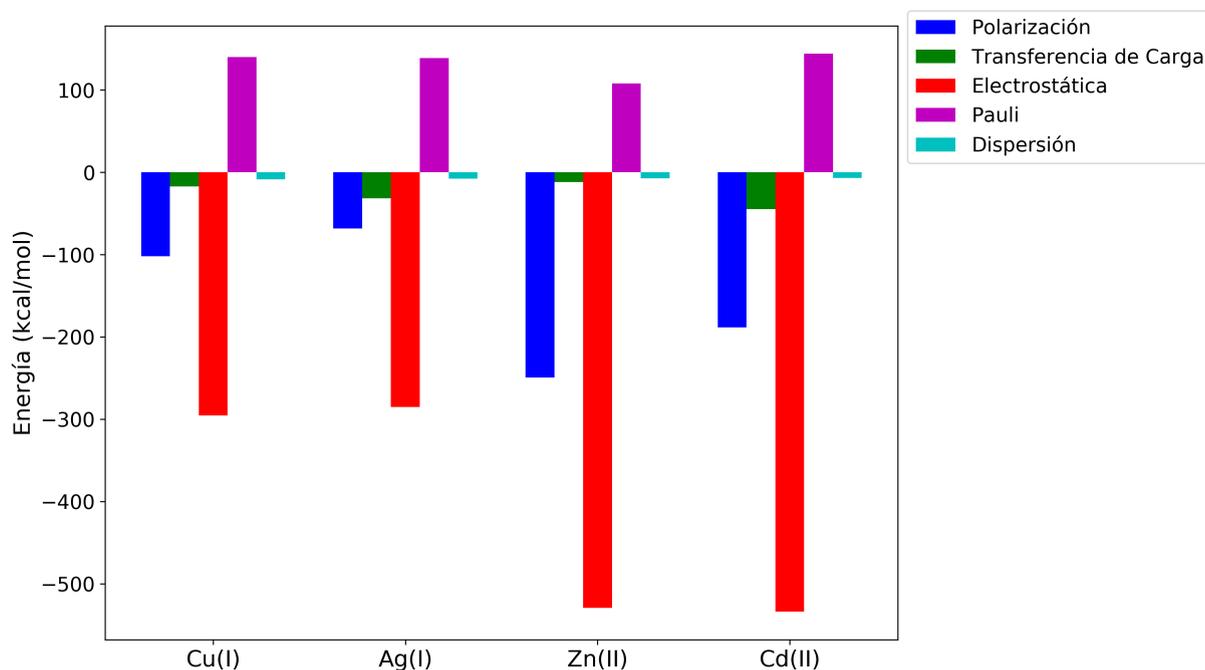


Figura 6.8: EDA para los complejos formados por metales d^{10} con el fragmento IAPP(18-22).

Se tomó el fragmento de la serina 20 que estaba involucrado en el enlace de hidrógeno (Figura 6.9). La energía de interacción para este nuevo fragmento con los metales Cu(I), Ag(I), Zn(II) y Cd(II) fue: -16.65 , -11.58 , -139.70 y -124.22 kcal/mol, respectivamente. En este fragmento se evidencia que la interacción aumenta en un factor de ocho para los metales con estado de oxidación +2, lo que demuestra la gran influencia que tiene la carga del metal. Además, los metales de la primera serie de transición tienen energías de interacción mayores con el ligando, respecto a sus análogos en la segunda fila. Cabe resaltar que la magnitud de la energía de interacción calculada con EDA no corresponde específicamente a la fuerza del enlace de hidrógeno, ya que la interacción entre fragmentos no describe de forma tan puntual el enlace de hidrógeno como lo hace NCI.

El estudio EDA para los sistemas que presentan enlace de hidrógeno $M(I)\cdots H$ exhiben un componente electrostático repulsivo, mientras que las interacciones $M(II)\cdots O-H$ tienen una fuerte contribución atractiva. Se puede notar que la polarización no tiene relación con la energía electrostática, ya que dichas contribuciones varían de forma drástica. Para el enlace de hidrógeno $Cu(I)\cdots H-O$ y $Ag(I)\cdots H-O$, la transferencia de carga $M\rightarrow H-O$ y la polarización favorecen la estabilidad con un efecto sinérgico. Como se trata de un enlace de hidrógeno de fuerza moderada, la energía de dispersión tuvo una magnitud baja. La transferencia de

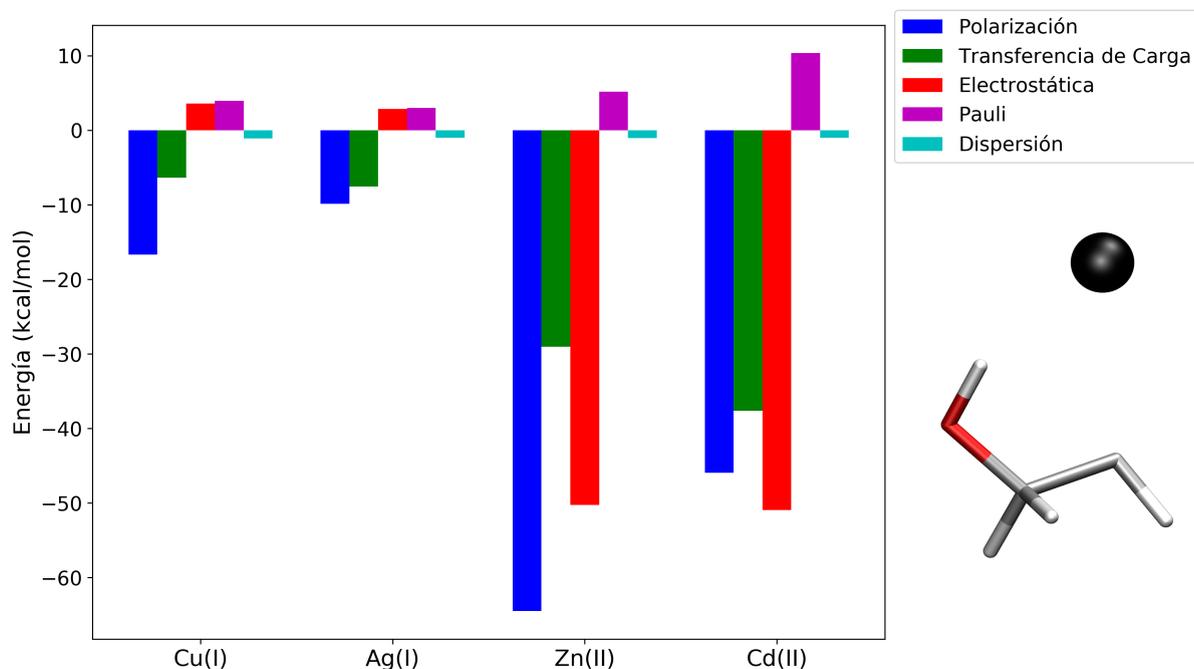


Figura 6.9: EDA para los complejos formados por metales d^{10} con un fragmento de la serina 20.

carga cobra importancia en la favorabilidad del enlace de hidrógeno no convencional, lo cual puede estar relacionado con la transferencia de carga que expuso en la sección anterior.

6.5 Análisis de interacciones no covalentes

Hasta el momento se reconocieron las energías que contribuyen a la estabilización del enlace de hidrógeno no convencional $M(I) \cdots H-O$, pero falta un estudio más específico del sitio de interacción. Para lograr esto, los enlaces de hidrógeno se pueden caracterizar mediante el gradiente reducido de la densidad^[106], esta metodología permite clasificar las interacciones no covalentes como: enlace de hidrógeno, fuerzas de Van der Waals y repulsión estérica. Las fuerzas de Van der Waals (vdW) se deben a fluctuaciones temporales de la carga que forman dipolos inducidos y las repulsiones estéricas son contribuciones desestabilizadoras de la energía, que surgen con el solapamiento de las nubes electrónicas de dos átomos cercanos.

El gradiente reducido de la densidad (s) funciona como un descriptor de interacciones no covalentes en el espacio real^[107], particularmente de enlaces de hidrógeno. Este descriptor contiene la densidad y su primera derivada, lo que permite obtener información importante de la topología molecular. Un gráfico de $s(\rho)$ vs ρ en todo los puntos del espacio permite encontrar enlaces covalentes, pero si se restringe el valor a bajas densidades y bajos gradientes

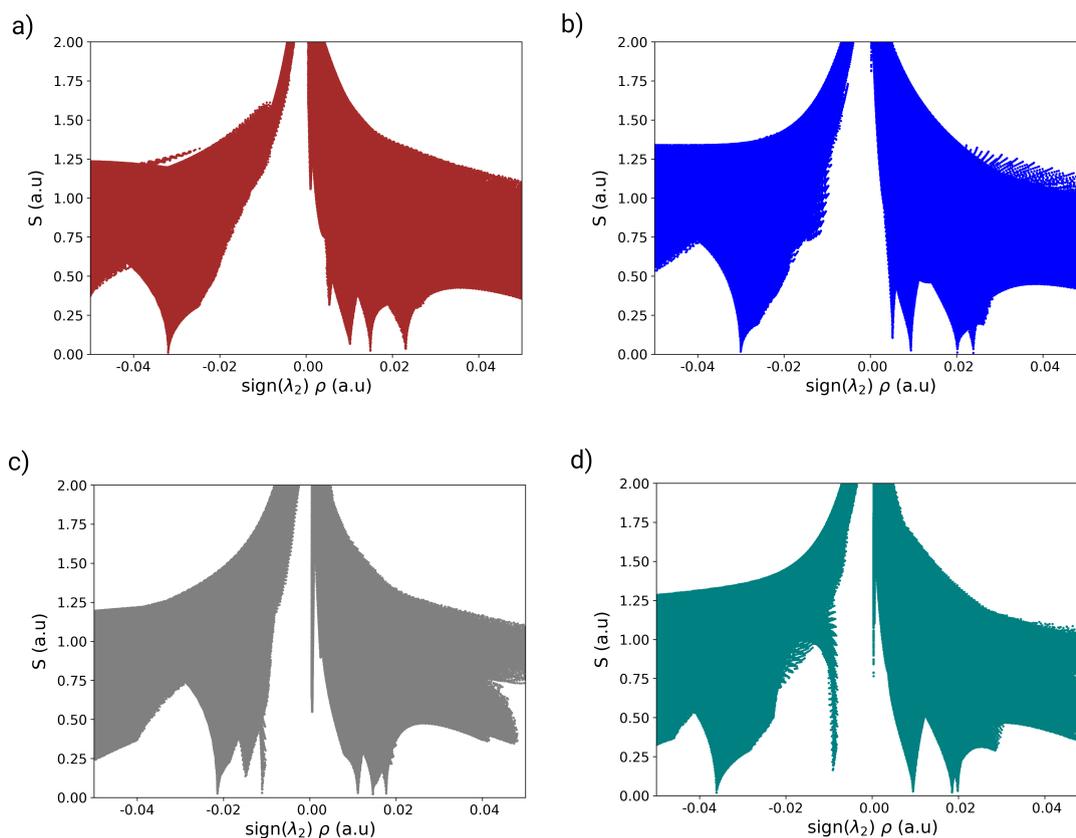


Figura 6.10: Gradiente reducido de la densidad para el entorno de coordinación de los centros metálicos d^{10} con el fragmento IAPP(18-22). a) Cu(I)-IAPP(18-22), b) Zn(II)-IAPP(18-22), c) Ag(I)-IAPP(18-22), d) Cd(II)-IAPP(18-22).

reducidos se pueden encontrar interacciones débiles. Además, si se multiplica la densidad por el signo del segundo valor propio de la hessiana (λ_2) se pueden clasificar en: Van der Waals ($\lambda_2 \approx 0$), repulsión estérica ($\lambda_2 > 0$) y enlace de hidrógeno ($\lambda_2 < 0$).

Las densidades se extrajeron de los complejos optimizados en Orca3.0 y el análisis de la densidad se desarrolló con el paquete Multiwfn. La Figura 6.10 muestra un gráfico de S vs $\text{sign}(\lambda_2)\rho$ para el plano de coordinación de las estructuras más estables con centros metálicos d^{10} . La repulsión estérica se ubica en el rango de 0.00 a 0.022 en los modelos, mostrando tres picos que están asociados a los anillos quelato. Por otro lado, la zona de interacciones atractivas muestra un sólo pico, para los metales Zn(II) y Cd(II) este corresponde a la coordinación convencional $M(\text{II}) \cdots \text{O}-\text{H}$, mientras que para Cu(I) y Ag(I) correspondería al enlace de hidrógeno no convencional. Así, estos picos atractivos muestran cuantitativamente la existencia de estos enlaces de hidrógeno, clasificando el enlace $\text{Cu}(\text{I}) \cdots \text{H}-\text{O}$ como moderado (-0.03) y el enlace $\text{Ag}(\text{I}) \cdots \text{H}-\text{O}$ como débil (-0.02).

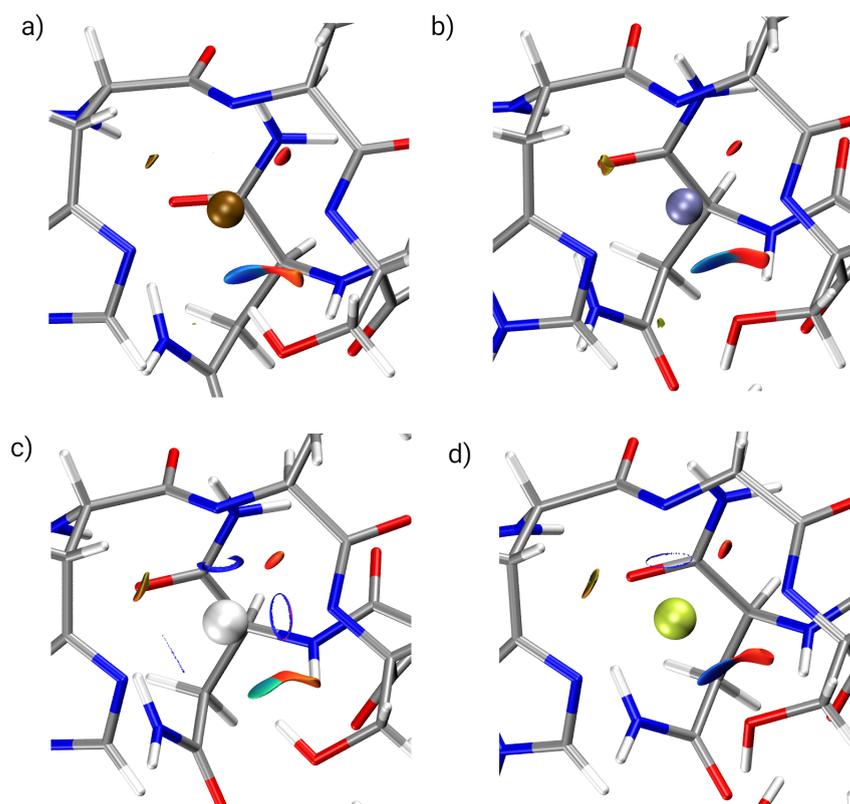


Figura 6.11: Isosuperficie del gradiente reducido de la densidad para el plano de coordinación de centros metálicos d^{10} con el polipéptido IAPP. a) Cu(I)-IAPP(18-22), b) Zn(II)-IAPP(18-22), c) Ag(I)-IAPP(18-22), d) Cd(II)-IAPP(18-22). Las superficies NCI corresponden a un isovalor de 0.4 y la escala de colores es $-0.05 < \rho < 0.05$ a.u.

Un análisis en tres dimensiones se puede desarrollar representando isosuperficies del gradiente en el espacio real con colores en términos del signo(λ_2) ρ ^[108]. En la Figura 6.11 se muestran las isosuperficies del plano de coordinación para las estructuras estudiadas. El color azul representa interacciones no covalentes atractivas como el enlace de hidrógeno, el color rojo muestra la repulsión estérica y el color verde las interacciones de Van der Waals. En los caminos de enlace de los N-donores no se encuentran interacciones débiles, lo que indica que la coordinación de dichos átomos tienen un carácter principalmente covalente. En los anillos quelato hay isosuperficies correspondientes a repulsión estérica (color rojo), donde la menor repulsión se encuentra en el anillo de siete miembros (color amarillo). La interacción atractiva se encuentra en las regiones M(I)···H–O y M(II)···O–H, donde se puede observar que la interacción Ag(I)···H–O tiene un color verde que indica una atracción débil, mientras que Cu(I)···H–O presenta una isosuperficie azul que lo caracteriza como un enlace de hidrógeno de fuerza moderada. Este es un hallazgo novedoso, ya que no encontramos un reporte de un enlace de hidrógeno no convencional en la posición ecuatorial.

En resumen, se estudiaron los centros metálicos Cu(I), Ag(I), Zn(II) y Cd(II) en su interacción con el polipéptido IAPP(18-22). Las optimizaciones mostraron que los metales Cu(I) y Ag(I) mantienen el enlace de hidrógeno, mientras que Zn(II) y Cd(II) pierden este contacto. Los parámetros geométricos corroboraron que los contactos Cu(I)···H–O y Ag(I)···H–O presentan la linealidad y la distancia necesarias para ser enlaces de hidrógeno. El mapa de potencial electrostático muestra que el contacto M(I)···H–O no está estabilizado por fuerzas coulombicas, mientras que la coordinación convencional M(II)···O–H esta favorecida por atracción electrostática. Por lo que el potencial electrostático demuestra que la carga del metal tiene una gran influencia en la vecindad de carga del entorno de coordinación. Por otro lado, el análisis de cargas CM5 evidenció una transferencia de carga M(I)→H–O que sería la responsable de estabilizar la interacción M(I)···H–O. Así, la diferencia de comportamiento entre metales M(I) y M(II) podría estar atribuida a la densidad de carga de sus centros metálicos.

La coordinación M(II)···O–H es una interacción convencional metal-ligando. El análisis EDA mostró que las energías electrostática y polarización son las responsables de estabilizar la coordinación. El análisis NCI identificó una isosuperficie azul en el enlazamiento M(II)···O–H, que se interpreta como una interacción atractiva habitual metal-ligando. Estos resultados muestran que los metales M(II) no pueden crear enlaces de hidrógeno, sino que prefieren coordinarse mediante fuerzas electrostáticas.

Llamamos al enlace de hidrógeno M(I)···H–O “no convencional”, debido a las fuerzas que lo estabilizan. El análisis EDA identificó que las energías de polarización y transferencia de carga son las responsables de estabilizar el enlace de hidrógeno, lo cual tiene congruencia con el análisis de cargas CM5. Este comportamiento es especial, porque la idea convencional de estabilidad ha estado puesta en la contribución electrostática. El análisis NCI indicó la existencia del enlace de hidrógeno por medio del gradiente reducido de la densidad, donde la interacción Cu(I)···H–O presenta mayor fuerza que el Ag(I)···H–O. Este hallazgo es novedoso, ya que es la primera vez que se reporta un enlace de hidrógeno no convencional para una coordinación en posición ecuatorial.

Conclusiones y Perspectivas

En el presente trabajo se estudiaron tres fragmentos del polipéptido hIAPP en su enlazamiento con el Cu(II): KCNTA(1-5), NFLVH(14-18) y HSSNN(18-22). El fragmento NFLVH(14-18) fue difícil de estabilizar, debido al impedimento estérico de sus residuos, mientras que los otros fragmentos se enlazaron con geometrías planares y rígidas. Las simulaciones BOMD fueron vitales para establecer los modelos de menor energía para los modos de coordinación 3N1O y 4N en cada fragmento. Las exploraciones realizadas demostraron que no se estabilizan anillos quelato mayores a 10 miembros, mientras que los anillos de cinco y seis miembros tiene importante estabilidad termodinámica como ha sido establecido por algunos grupos experimentales^[23,86]. Los N-donadores del entorno de coordinación (N^- , NH_2 , N_{im}) tuvieron gran afinidad al metal y sus distancias Cu–N se mantuvieron estables a través de las dinámicas moleculares. Los O-donadores implicados en la coordinación (OH, CO, H_2O) presentaron una mayor fluctuación, aunque no se descoordinaron, sus distancias estuvieron en un rango aceptable para considerar su enlazamiento. De esta manera, esta investigación propone que la formación de los complejos se ve influenciada por el tamaño del anillo quelato, la naturaleza del residuo y el tipo de donador.

Con base en estas exploraciones se eligieron los confórmeros de menor energía para cada fragmento y se calcularon sus constantes de estabilidad. Para el primer fragmento KCNTA(1-5) se eligieron las estructuras: 3N1O_{CO/N3}, 3N1O_{CO/N3b}, 3N1O_{OH/T4} y 4N₁₋₄. Para el segundo fragmento NFLVH(14-18) se eligieron las estructuras: 3N1O_{CO/F15}, 3N1O_{OH/H2O}, 3N₁₆₋₁₈ y 4N₁₆₋₁₈. Finalmente, para el tercer fragmento HSSNN(18-22) se eligieron las estructuras: 3N1O_{OH/S20}O_{AX/N22}, 3N1O_{OH/S20}, 3N1O_{CO/S20} y 4N₁₈₋₂₁. Las constantes de estabilidad mostraron que las estructuras más estables para la coordinación 3N1O se formaron con el fragmento KCNTA(1-5) y la estructura más estable para la coordinación 4N con el fragmento NFLVH(14-18), por lo que se propone que el enlazamiento de Cu(II) se ve más favorecido hacia la región N-terminal de la hIAPP.

Como respuesta a la falta de un potencial de reducción para Cu(II) con hIAPP, se calculó esta propiedad mediante el método directo e isodésmico. Los potenciales más negativos se obtuvieron para los modos de coordinación 4N, debido a la estabilidad de estos complejos con Cu(II) y a la carga total negativa de su estructura (–1). Por otro lado, los potenciales para los complejos 3N1O son menos negativos, esto se debe a la descoordinación del oxígeno como producto de la reducción. Tras la reducción no hay cambios significativos en el efecto quelato para estos sistemas, solo hay una pequeña apertura de un anillo para la coordinación 3N1O que no repercute de forma importante en el proceso de reducción. Es-

tas tendencias en los cambios estructurales se han reportado también para la reducción del complejo Cu(II)- β amiloide^[80,109]. Por otro lado, los fragmentos de amilina no presentan cambios considerables en sus cargas, por lo que se propone que la reducción ocurre principalmente en el metal. Los modos de coordinación $3N1O_{OH/S20}$, $3N1O_{H2O}$, $3N1O_{OH/S20}O_{CO/N22}$ y $3N1O_{CO/F15}$ podrían reducirse por la acción de agentes biológicos como FAD, NAD⁺ y glutatión. Con base en estos resultados se podría inferir que estas estructuras son potenciales generadoras de estrés oxidativo, ya que el Cu(I) ha sido reportado como un catalizador de especies reactivas de oxígeno.

Ante la posibilidad de reducción del modo de coordinación $3N1O_{OH/S20}$ se encontró un contacto Cu(I)···H-O en las simulaciones BOMD. Las optimizaciones efectuadas con metales de configuración d^{10} mostraron que Cu(I) y Ag(I) mantienen dicho contacto M···H-O con una linealidad y una distancia características de un enlace de hidrógeno, mientras que los metales Zn(II) y Cd(II) no presentaron esta interacción. Esto se debe a que los complejos de Cu(I) y Ag(I) presentan una transferencia de carga M(I)→O-H que estabilizaría el enlace de hidrógeno. Además, el análisis NCI corroboró la existencia de dicho enlace de hidrógeno mediante el gradiente reducido de la densidad, donde la interacción Cu(I)···H-O tiene mayor fuerza que la Ag(I)···H-O. Para racionalizar estos resultados, el análisis EDA identificó que las energías estabilizantes de la interacción corresponden a polarización y transferencia de carga. Por lo anterior, esta investigación propone un enlace de hidrógeno no convencional en posición ecuatorial para los complejos de Cu(I) y Ag(I) con el fragmento HSSNN(18-22) de la hIAPP.

Perspectivas

Este estudio teórico realizó contribuciones a la estructura, estabilidad y actividad redox de los complejos de Cu(II) con fragmentos de hIAPP. Sin embargo, quedan algunos aspectos por explorar en estos sistemas:

- Proponer un mecanismo para la producción de especies reactivas de oxígeno por parte de los complejos con coordinación $3N1O_{OH/S20}$, $3N1O_{H2O}$, $3N1O_{OH/S20}O_{CO/N22}$ y $3N1O_{CO/F15}$. Esto permitiría conocer las barreras energéticas para la producción de radicales libres, como lo son hidroxilo y superóxido. También se podría entender si la hIAPP genera más estrés oxidativo respecto a otros péptidos que se pueden enlazar a cobre.
- Realizar un estudio computacional para la competencia entre Cu(II) y Zn(II) por el enlazamiento de hIAPP, lo cual podría resolver la controversia sobre la relevancia de estos metales en las células beta. Esto se desarrollaría con el sitio de anclaje común

para estos metales que es el imidazol de la histidina, aunque sería un desafío comparar sus sitios de enlazamiento.

- Explorar otros sistemas químicos que puedan desarrollar enlaces de hidrógeno no convencionales con Cu(I) o Ag(I), con el propósito de consolidar este tipo de interacciones en la literatura química. Estos metales cumplen un papel catalítico en múltiples reacciones químicas, por lo que podría impactar en la activación de moléculas con valor agregado.
- Desarrollar una metodología para calcular los potenciales redox del Cu(II) con fragmentos más grandes de la hIAPP. Esto podría conllevar a simulaciones más realistas, obteniendo información más contundente de la actividad redox del enlazamiento de Cu(II) con hIAPP. Un fragmento grande que se ha estudiado mucho es hIAPP(1-19), por lo que se podría modelar con metodologías como QM/MM y comparar sus resultados con los hallazgos experimentales de Ghosh Dey^[85].

A

Datos de las Dinámicas y Optimizaciones

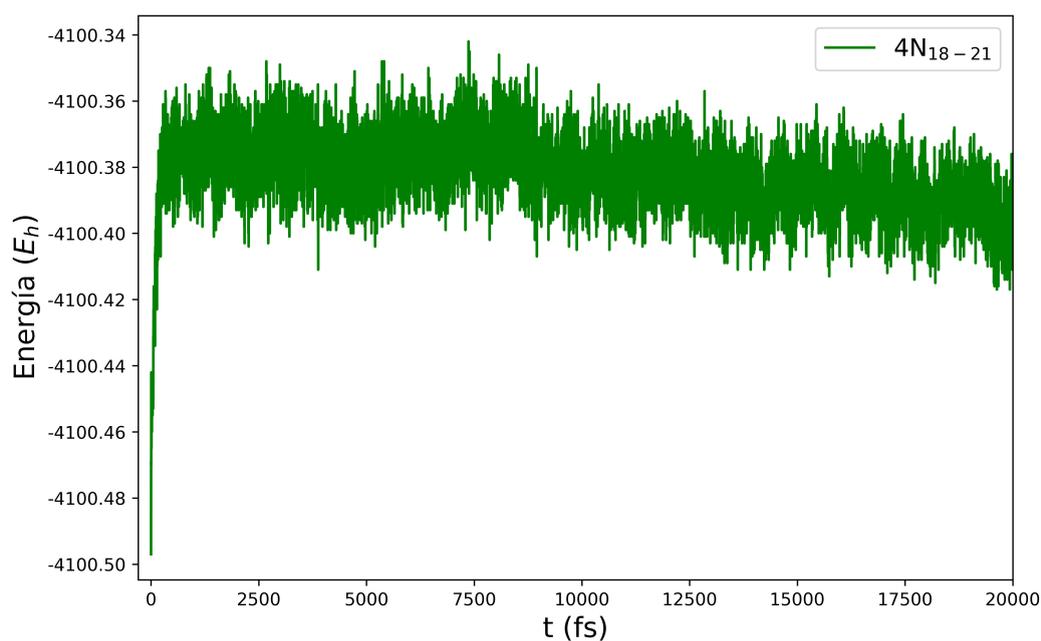


Figura A.1: Perfiles de energía de las simulaciones BOMD para la interacción HSSNN con cobre en presencia de cuatro moléculas de agua en la coordinación 4N.

Tabla A.1: Energía relativa y parámetros geométricos para las estructuras del complejo Cu(II)-HSSNN sin incluir solvatación explícita.

Parámetros	3N1O _{OH/S20}	3N1O _{OH/S20} O _{AX/N22}	3N1O _{CO/S20}	4N ₁₈₋₂₁
E. relativa (kcal/mol)	4.85	0.00	10.03	–
Cu–N _{H18} (Å)	1.97	1.96	1.97	1.99
Cu–N _{S19} (Å)	1.99	1.99	1.94	1.99
Cu–N _{S20} (Å)	1.89	1.89	1.89	1.89
Cu–O _{S20} (Å)	2.14	2.23	2.15	–
Cu–N _{N21} (Å)	–	–	–	2.02
τ	0.20	0.11	0.28	0.33

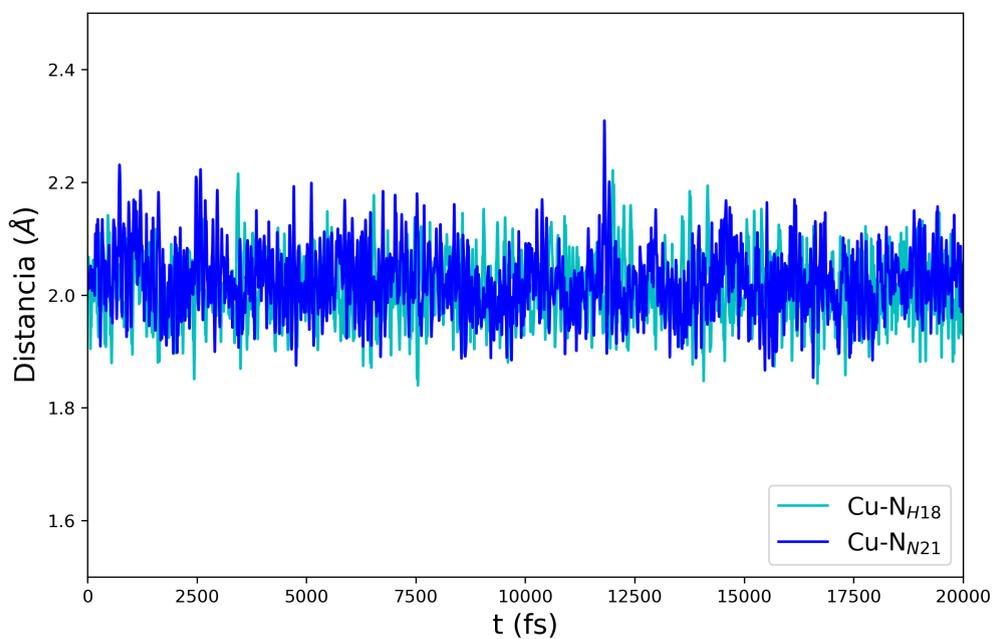


Figura A.2: Distancias relevantes Cu–ligando durante la simulación BOMD del complejo Cu(II)-IAPP(18-22) para la coordinación 4N.

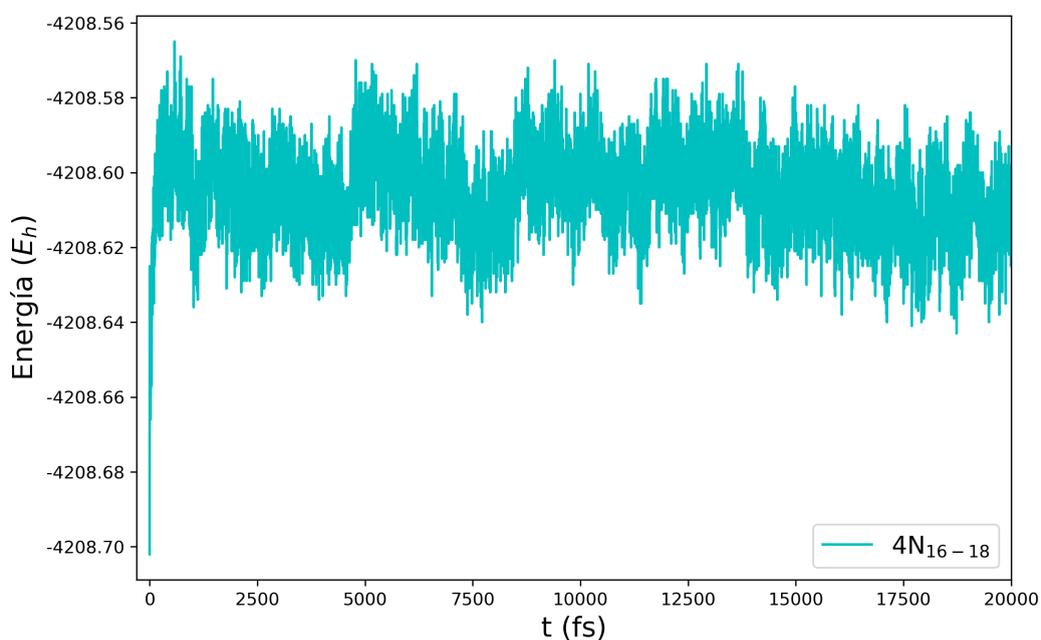


Figura A.3: Perfiles de energía de las simulaciones BOMD para la interacción del fragmento NFLVH(14-18) con cobre(II) en presencia de cuatro moléculas de agua para la coordinación 4N.

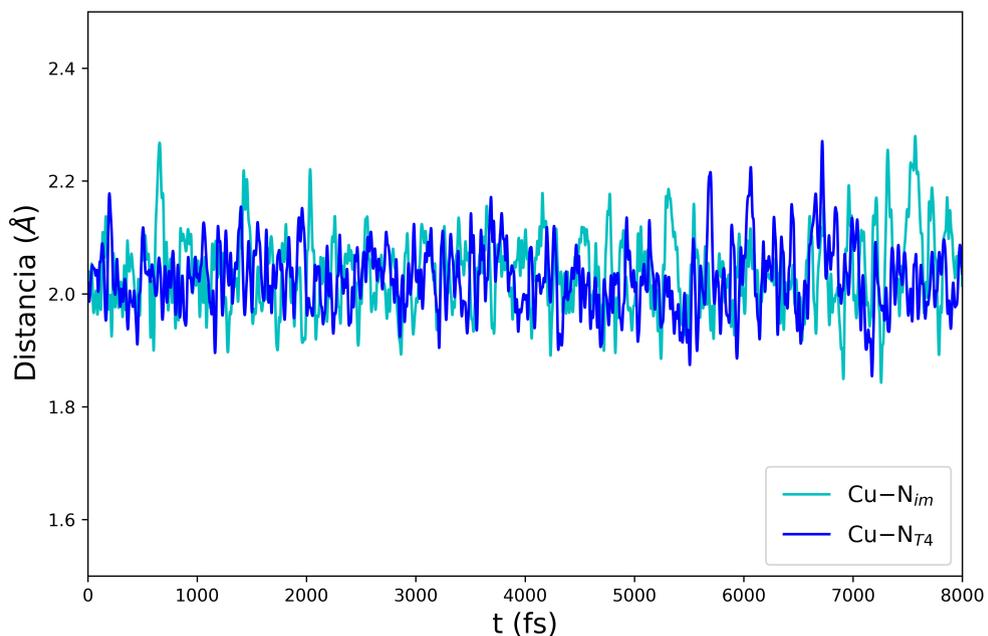


Figura A.4: Distancias de enlace Cu–N durante la simulación BOMD del complejo Cu(II)-NFLVH(14-18) para la coordinación 4N con solvatación explícita de cuatro moléculas de agua.

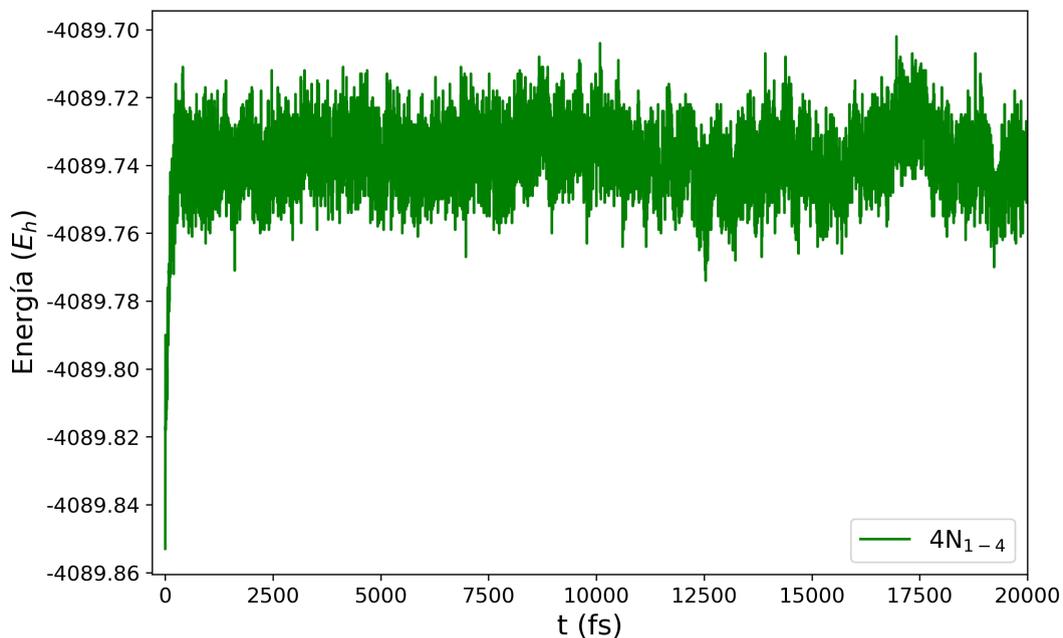


Figura A.5: Perfiles de energía de las simulaciones BOMD para la interacción del fragmento KCNTA(1-5) con cobre(II) en presencia de cuatro moléculas de agua para la coordinación 4N.

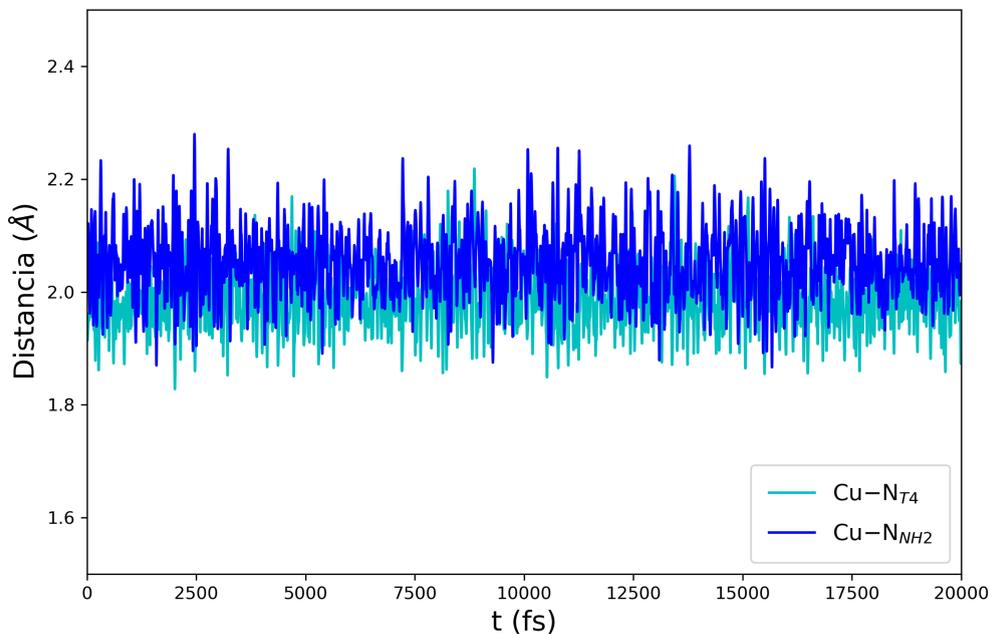


Figura A.6: Distancias de enlace Cu–N durante la simulación BOMD del complejo Cu(II)-KCNTA(1-5) para la coordinación 4N con solvatación explícita de cuatro moléculas de agua.

Tabla A.2: Energía relativa y parámetros geométricos para las estructuras del complejo Cu(II)-NFLVH(14-18) sin incluir solvatación explícita.

Parámetros	3N1O _{CO/F15}	3N ₁₆₋₁₈	4N ₁₆₋₁₈
E. Relativa (kcal/mol)	0.00	17.03	–
Cu–N _{im} (Å)	1.98	1.93	2.01
Cu–N _{H18} (Å)	1.93	1.94	1.98
Cu–N _{V17} (Å)	1.91	1.86	1.90
Cu–O (Å)	2.16	–	–
Cu–N _{L16} (Å)	–	–	1.99
τ	0.36	–	0.38

Tabla A.3: Energía relativa y parámetros geométricos para las estructuras del complejo Cu(II)-KCNTA(1-5) sin incluir solvatación explícita.

Parámetros	3N1O _{CO/N3}	3N1O _{CO/N3b}	3N1O _{OH/T4}	4N ₁₋₄
Energía relativa	0.00	2.56	5.50	–
Cu–N _{NH2} (Å)	2.02	2.04	2.02	2.06
Cu–N _{C2} (Å)	1.92	1.88	1.89	1.93
Cu–N _{N3} (Å)	1.90	1.93	1.94	1.88
Cu–O _x (Å)	2.04	2.02	2.10	–
Cu–N _{T4} (Å)	–	–	–	1.98
τ	0.12	0.18	0.23	0.14

Bibliografía

- [1] Opie, E. L., *The Journal of Experimental Medicine*, 1901, **5**, 527–541.
- [2] Roberts, A. N.; Leighton, B.; Todd, J. A.; Cockburn, D.; Schofield, P. N.; Sutton, R.; Holt, S.; Boyd, Y.; Day, A. J.; Foot, E. A.; Willis, A. C.; Reid, K. B. and Cooper, G. J., *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1989, **86**(24), 9662–9666.
- [3] Detoma, A. S.; Salamekh, S.; Ramamoorthy, A. and Lim, M. H., *Chemical Society Reviews*, 2012, **41**(2), 608–621.
- [4] Jaikaran, E. T. and Clark, A., *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease*, 2001, **1537**(3), 179–203.
- [5] Betsholtz, C.; Christmansson, L.; Engström, U.; Rorsman, F.; Svensson, V.; Johnson, K. H. and Westermark, P., *FEBS Letters*, 1989, **251**(1-2), 261–264.
- [6] Pappalardo, G.; Milardi, D.; Magrì, A.; Attanasio, F.; Impellizzeri, G.; La Rosa, C.; Grasso, D. and Rizzarelli, E., *Chemistry - A European Journal*, 2007, **13**(36), 10204–10215.
- [7] Westermark, P.; Wernstedt, C.; O'Brien, T. D.; Hayden, D. W. and Johnson, K. H., *American Journal of Pathology*, 1987, **127**(3), 414–417.
- [8] Howard, C. F., *Diabetologia*, 1986, **29**(5), 301–306.
- [9] Rodriguez Camargo, D. C.; Tripsianes, K.; Buday, K.; Franko, A.; Göbl, C.; Hartlmüller, C.; Sarkar, R.; Aichler, M.; Mettenleiter, G.; Schulz, M.; Böddrich, A.; Erck, C.; Martens, H.; Walch, A. K.; Madl, T.; Wanker, E. E.; Conrad, M.; De Angelis, M. H. and Reif, B., *Scientific Reports*, 2017, **7**(March), 1–11.
- [10] Khemtémourian, L.; Doménech, E.; Doux, J. P.; Koorengel, M. C. and Killian, J. A., *Journal of the American Chemical Society*, 2011, **133**(39), 15598–15604.
- [11] Hutton, J. C., *Diabetologia*, 1989, **32**(5), 271–281.
- [12] Moore, S. J.; Sonar, K.; Bharadwaj, P.; Deplazes, E. and Mancera, R. L., *Molecules*, 2018, **23**(9).
- [13] Altamirano-Bustamante, M. M.; Altamirano-Bustamante, N. F.; Larralde-Laborde, M.; Lara-Martínez, R.; Leyva-García, E.; Garrido-Magaña, E.; Rojas, G.; Jiménez-García, L. F.; Revilla-Monsalve, C.; Altamirano, P. and Calzada-León, R., *Scientific Reports*, 2019, **9**(1), 1–14.

- [14] Zhang, L.; Chen, Q.; Li, P.; Yuan, L.; Feng, Y.; Wang, J.; Mao, X. and Liu, L., *Chemical Communications*, 2019, **55**(95), 14359–14362.
- [15] Engel, M. F.; Khemtémourian, L.; Kleijer, C. C.; Meeldijk, H. J.; Jacobs, J.; Verkleij, A. J.; De Kruijff, B.; Killian, J. A. and Höppener, J. W., *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2008, **105**(16), 6033–6038.
- [16] Kim, M. J. and Kim, H. T., *European Journal of Mass Spectrometry*, 2012, **18**(1), 51–58.
- [17] Krupa, K.; Korabik, M. and Kowalik-Jankowska, T., *Journal of Inorganic Biochemistry*, 2019, **201**(September 2019), 110819.
- [18] Nagaj, J.; Stokowa-Sołtys, K.; Zawisza, I.; Jezowska-Bojczuk, M.; Bonna, A. and Bal, W., *Journal of Inorganic Biochemistry*, 2013, **119**, 85–89.
- [19] Dunbar, R. C.; Martens, J.; Berden, G. and Oomens, J., *Journal of Physical Chemistry A*, 2018, **122**(25), 5589–5596.
- [20] Sóvágó, I.; Kállay, C. and Várnagy, K., *Coordination Chemistry Reviews*, 2012, **256**(19–20), 2225–2233.
- [21] Alies, B.; Hureau, C. and Faller, P., *Metallomics*, 2013, **5**(3), 183–192.
- [22] Pettit, L. D.; Steel, I.; Formicka-Kozłowska, G.; Tatarowski, T. and Bataille, M., *Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions*, 1985, (3), 535–539.
- [23] Hancock, R. D. and Ngwenya, M. P., *Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions*, 1987, (12), 2911–2915.
- [24] Alghrably, M.; Czaban, I.; Jaremko, Ł. and Jaremko, M., *Journal of Inorganic Biochemistry*, 2019, **191**(November 2018), 69–76.
- [25] Exley, C.; Mold, M.; Shardlow, E.; Shuker, B.; Ikpe, B.; Wu, L. and Fraser, P. E., *Journal of Diabetes Research and Clinical Metabolism*, 2012, **1**(1), 3.
- [26] Alghrably, M.; Dudek, D.; Emwas, A. H.; Jaremko, Ł.; Jaremko, M. and Rowińska-Żyrek, M., *Inorganic Chemistry*, 2020, **59**, 2527–2535.
- [27] Rowińska-Żyrek, M., *Dalton Transactions*, 2016, **45**(19), 8099–8106.
- [28] Sánchez-López, C.; Cortés-Mejía, R.; Miotto, M. C.; Binolfi, A.; Fernández, C. O.; Del Campo, J. M. and Quintanar, L., *Inorganic Chemistry*, 2016, **55**(20), 10727–10740.
- [29] Magrì, A.; Pietropaolo, A.; Tabbì, G.; La Mendola, D. and Rizzarelli, E., *Chemistry - A European Journal*, 2017, **23**(71), 17898–17902.

- [30] Alghrably, M.; Czaban, I.; Jaremko, Ł. and Jaremko, M., *Journal of Inorganic Biochemistry*, 2019, **191**(November 2018), 69–76.
- [31] Yu, Y. P.; Lei, P.; Hu, J.; Wu, W. H.; Zhao, Y. F. and Li, Y. M., *Chemical Communications*, 2010, **46**(37), 6909–6911.
- [32] Ward, B.; Walker, K. and Exley, C., *Journal of Inorganic Biochemistry*, 2008, **102**(2), 371–375.
- [33] Jomova, K.; Baros, S. and Valko, M., *Transition Metal Chemistry*, 2012, **37**(2), 127–134.
- [34] Mirats, A.; Alí-Torres, J.; Rodríguez-Santiago, L. and Sodupe, M., *Theoretical Chemistry Accounts*, 2016, **135**(3), 1–9.
- [35] Atrián-Blasco, E.; Gonzalez, P.; Santoro, A.; Alies, B.; Faller, P. and Hureau, C., *Coordination Chemistry Reviews*, 2018, **371**, 38–55.
- [36] Ufimtsev, I. S. and Martínez, T. J., *Journal of Chemical Theory and Computation*, 2008, **4**(2), 222–231.
- [37] Titov, A. V.; Ufimtsev, I. S.; Luehr, N. and Martinez, T. J., *Journal of Chemical Theory and Computation*, 2013, **9**(1), 213–221.
- [38] Adamo, C. and Barone, V., *Journal of Chemical Physics*, 1999, **110**(13), 6158–6170.
- [39] Godbout, N.; Salahub, D. R.; Andzelm, J. and Wimmer, E., *Canadian Journal of Chemistry*, 1992, **70**(2), 560–571.
- [40] Bergès, J.; De Oliveira, P.; Fourré, I. and Houée-Levin, C., *Journal of Physical Chemistry B*, 2012, **116**(31), 9352–9362.
- [41] Paquet, E. and Viktor, H. L., *Advances in Chemistry*, 2018, **2018**, 1–14.
- [42] Niklasson, A. M.; Steneteg, P.; Odell, A.; Bock, N.; Challacombe, M.; Tymczak, C. J.; Holmström, E.; Zheng, G. and Weber, V., *Journal of Chemical Physics*, 2009, **130**(21).
- [43] Neese, F., *WIREs Computational Molecular Science*, 2012, **2**(February), 73–78.
- [44] Sciortino, G.; Lubinu, G.; Maréchal, J.-D. and Garribba, E., *Magnetochemistry*, 2018, **4**(4), 55.
- [45] Ames, W. M. and Larsen, S. C., *Physical Chemistry Chemical Physics*, 2009, **11**(37), 8266–8274.
- [46] Neese, F., *Inorganica Chimica Acta*, 2002, **337**, 181–192.
- [47] Tti, S. T., *Pure and Applied Chemistry*, 1986, **58**(7), 955–966.
- [48] Fawcett, W., *Langmuir*, 2008, **24**(17), 9868–9875.

- [49] Arumugam, K. and Becker, U., *Computational redox potential predictions: Applications to inorganic and organic aqueous complexes, and complexes adsorbed to mineral surfaces*, Vol. 4, 2014.
- [50] Arumugam, K. and Burton, N. A., *Physical Chemistry Chemical Physics*, 2019, **21**(6), 3227–3241.
- [51] Pliego, J. R. and Riveros, J. M., *Journal of Physical Chemistry A*, 2001, **105**(30), 7241–7247.
- [52] Gutten, O. and Rulišek, L., *Inorganic Chemistry*, 2013, **52**(18), 10347–10355.
- [53] Vukovic, S.; Hay, B. P. and Bryantsev, V. S., *Inorganic Chemistry*, 2015, **54**(8), 3995–4001.
- [54] Ben-Naim, A., *Journal of Physical Chemistry*, 1978, **82**(7), 792–803.
- [55] Weigend, F. and Ahlrichs, R., *Physical Chemistry Chemical Physics*, 2005, **7**(18), 3297–3305.
- [56] Weigend, F., *Physical Chemistry Chemical Physics*, 2006, **8**(9), 1057–1065.
- [57] Lu, T. and Chen, F., *Journal of Computational Chemistry*, 2012, **33**(5), 580–592.
- [58] Marenich, A. V.; Jerome, S. V.; Cramer, C. J. and Truhlar, D. G., *Journal of Chemical Theory and Computation*, 2012, **8**(2), 527–541.
- [59] Murray, J. S. and Politzer, P., *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science*, 2011, **1**(2), 153–163.
- [60] Humphrey, W.; Dalke, A. and Klaus, S., *Journal of Molecular Graphics*, 1996, **14**(1), 33–38.
- [61] Zhao, L.; von Hopffgarten, M.; Andrada, D. M. and Frenking, G., *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science*, 2018, **8**(3), 1–37.
- [62] Horn, P. R.; Mao, Y. and Head-Gordon, M., *Physical Chemistry Chemical Physics*, 2016, **18**(33), 23067–23079.
- [63] Shao, Y., *Molecular Physics*, 2015, **113**(2), 184–215.
- [64] Enamullah, M.; Uddin, A. K.; Pescitelli, G.; Berardozzi, R.; Makhouloufi, G.; Vasylyeva, V.; Chamayou, A. C. and Janiak, C., *Dalton Transactions*, 2014, **43**(8), 3313–3329.
- [65] Magrì, A.; La Mendola, D.; Nicoletti, V. G.; Pappalardo, G. and Rizzarelli, E., *Chemistry - A European Journal*, 2016, **22**(37), 13287–13300.
- [66] Magrì, A.; Pietropaolo, A.; Tabbì, G.; La Mendola, D. and Rizzarelli, E., *Chemistry - A European Journal*, 2017, **23**(71), 17898–17902.

- [67] Sánchez-Sanz, G.; Alkorta, I.; Elguero, J.; Yáñez, M. and Mó, O., *Physical Chemistry Chemical Physics*, 2012, **14**(32), 11468–11477.
- [68] Solomon, E. I.; Heppner, D. E.; Johnston, E. M.; Ginsbach, J. W.; Cirera, J.; Qayyum, M.; Kieber-Emmons, M. T.; Kjaergaard, C. H.; Hadt, R. G. and Tian, L., *Chemical Reviews*, 2014, **114**(7), 3659–3853.
- [69] Conradie, J., *Inorganica Chimica Acta*, 2019, **486**(May 2018), 193–199.
- [70] Arrigoni, F.; Breglia, R.; Gioia, L. D.; Bruschi, M. and Fantucci, P., *Journal of Physical Chemistry A*, 2019, **123**(32), 6948–6957.
- [71] Pasquarello, A.; Petri, I.; Salmon, P. S.; Parisel, O.; Car, R.; Tóth, É.; Powell, D. H.; Fischer, H. E.; Helm, L. and Merbach, A. E., *Science*, 2001, **291**(5505), 856–859.
- [72] Rios-Font, R.; Sodupe, M.; Rodríguez-Santiago, L. and Taylor, P. R., *Journal of Physical Chemistry A*, 2010, **114**(40), 10857–10863.
- [73] Devarajan, D.; Lian, P.; Brooks, S. C.; Parks, J. M. and Smith, J. C., *ACS Earth and Space Chemistry*, 2018, **2**(11), 1168–1178.
- [74] Fowler, N. J.; Blanford, C. F.; Warwicker, J. and de Visser, S. P., *Chemistry - A European Journal*, 2017, **23**(61), 15436–15445.
- [75] Yan, L.; Lu, Y. and Li, X., *Physical Chemistry Chemical Physics*, 2016, **18**(7), 5529–5536.
- [76] Guilloureau, L.; Combalbert, S.; Sournia-Saquet, M.; Mazarguil, H. and Faller, P., *ChemBioChem*, 2007, **8**(11), 1317–1325.
- [77] Mena, S.; Mirats, A.; Caballero, A. B.; Guirado, G.; Barrios, L. A.; Teat, S. J.; Rodríguez-Santiago, L.; Sodupe, M. and Gamez, P., *Chemistry - A European Journal*, 2018, **24**(20), 5153–5162.
- [78] Wiloch, M. Z.; Wawrzyniak, U. E.; Ufnalska, I.; Bonna, A.; Bal, W.; Drew, S. C. and Wróblewski, W., *Journal of the Electrochemical Society*, 2016, **163**(13), G196–G199.
- [79] Dryhurst, G.; Kadish, K.; Scheller, F. and Renneberg, R., *Biological Electrochemistry*, Vol. 1, Academic press, 1982.
- [80] Alí-Torres, J.; Mirats, A.; Maréchal, J. D.; Rodríguez-Santiago, L. and Sodupe, M., *Journal of Physical Chemistry B*, 2014, **118**(18), 4840–4850.
- [81] Masad, A.; Tabner, B. J.; Mayes, J. and Allsop, D., *Free Radical Biology and Medicine*, 2011, **51**(4), 869–875.
- [82] Yu, Y. P.; Lei, P.; Hu, J.; Wu, W. H.; Zhao, Y. F. and Li, Y. M., *Chemical Communications*, 2010, **46**(37), 6909–6911.

- [83] Chaparro, D. and Alí-Torres, J., *Journal of Molecular Modeling*, 2017, **23**(10).
- [84] Namazian, M.; Almodarresieh, H. A.; Noorbala, M. R. and Zare, H. R., *Chemical Physics Letters*, 2004, **396**(4-6), 424–428.
- [85] Seal, M. and Dey, S. G., *Inorganic Chemistry*, 2018, **57**(1), 129–138.
- [86] Galijasevic, S.; Krylova, K.; Koenigbauer, M. J.; Jaeger, G. S.; Bushendorf, J. D.; Heeg, M. J.; Ochrymowycz, L. A.; Taschner, M. J. and Rorabacher, D. B., *Dalton Transactions*, 2003, (8), 1577–1586.
- [87] Rorabacher, D. B., *Chemical Reviews*, 2004, **104**(2), 651–697.
- [88] Cheignon, C.; Tomas, M.; Bonnefont-Rousselot, D.; Faller, P.; Hureau, C. and Collin, F., *Redox Biology*, 2018, **14**(October 2017), 450–464.
- [89] Głowacki, E. D.; Irimia-Vladu, M.; Bauer, S. and Sariciftci, N. S., *Journal of Materials Chemistry B*, 2013, **1**(31), 3742–3753.
- [90] Goswami, M. and Arunan, E., *Physical Chemistry Chemical Physics*, 2009, **11**(40), 8974–8983.
- [91] Groenewald, F.; Dillen, J.; Raubenheimer, H. G. and Esterhuysen, C., *Angewandte Chemie - International Edition*, 2016, **55**(5), 1694–1698.
- [92] Kumar, M. and Kozłowski, P. M., *Coordination Chemistry Reviews*, 2017, **333**(I), 71–81.
- [93] Brammer, L., *Journal of the Chemical Society. Dalton Transactions*, 2003, **3**(16), 3145–3157.
- [94] Straka, M.; Andris, E.; Vícha, J.; Ružička, A.; Roithová, J. and Rulíšek, L., *Angewandte Chemie - International Edition*, 2019, **58**(7), 2011–2016.
- [95] Schmidbaur, H.; Raubenheimer, H. G. and Dobrzańska, L., *Chemical Society Reviews*, 2014, **43**(1), 345–380.
- [96] Kryachko, E. S., *Journal of Molecular Structure*, 2008, **880**(1-3), 23–30.
- [97] Schmidbaur, H., *Angewandte Chemie - International Edition*, 2019, **58**(18), 5806–5809.
- [98] Kumar, M. and Francisco, J. S., *Journal of the American Chemical Society*, 2020.
- [99] Festa, R. A. and Thiele, D. J., *Current Biology*, 2011, **21**(21), R877–R883.
- [100] Iakovidis, I.; Delimaris, I. and Piperakis, S. M., *Molecular Biology International*, 2011, **2011**, 1–13.
- [101] Smirnova, E. S.; Acuña-Parés, F.; Escudero-Adán, E. C.; Jelsch, C. and Lloret-Fillol, J., *European Journal of Inorganic Chemistry*, 2018, **2018**(23), 2612–2620.

- [102] Bondi, A., *Journal of Physical Chemistry*, 1964, **68**(3), 441–451.
- [103] Jeffrey, G. A., *Hydrogen bonding in biological structures*, Springer, Germany, 1991.
- [104] Murray, J. S. and Politzer, P., *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science*, 2017, **7**(6), 1–10.
- [105] Dhumal, N. R., *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2011, **79**(3), 654–660.
- [106] Johnson, E. R.; Keinan, S.; Mori-Sánchez, P.; Contreras-García, J.; Cohen, A. J. and Yang, W., *Journal of the American Chemical Society*, 2010, **132**(18), 6498–6506.
- [107] Boto, R. A.; Contreras-García, J.; Tierny, J. and Piquemal, J. P., *Molecular Physics*, 2016, **114**(7-8), 1406–1414.
- [108] Contreras-García, J.; Johnson, E. R.; Keinan, S.; Chaudret, R.; Piquemal, J. P.; Beratan, D. N. and Yang, W., *Journal of Chemical Theory and Computation*, 2011, **7**(3), 625–632.
- [109] Alí-Torres, J.; Mirats, A.; Maréchal, J. D.; Rodríguez-Santiago, L. and Sodupe, M., *AIP Advances*, 2015, **5**(9).