



Benemérita Universidad Autónoma de Puebla
Facultad de Ciencias Químicas-Instituto de Ciencias

Tesis:
Estudio teórico de la correlación estructura-desplazamiento
químico de ^{51}V -RMN en complejos con aplicación en
compuestos antidiabéticos y anticancerígenos.

Que para obtener el título de
Doctor en Ciencias Químicas

Presenta:

M. en C. Abdiel Degollado Estrada

Director de tesis:

Dr. Francisco Javier Meléndez Bustamante

Puebla, Pue.

Diciembre 2014.

AGRADECIMIENTOS

DEDICATORIAS

El presente trabajo fue realizado en el Laboratorio de Química Teórica de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Puebla.

El trabajo desarrollado en la presente tesis fue parte de los proyectos:

Beca otorgada del Proyecto CONACYT 172001.

El trabajo desarrollado generó la siguiente publicación:

Francisco J. Melendez, Abdiel Degollado, Maria Eugenia Castro, Norma A. Caballero, J. Antonio Guevara-Garcia, Thomas Scior. Theoretical study of the structure, IR and NMR of the bis-peroxo-oxovanadate species containing-histidine peptides. *Inorganica Chimica Acta* 420 (2014) 149-158

Y se presentó en los congresos:

IX Reunión Mexicana de Fisicoquímica Teórica 2010 Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo ESTUDIO ESTRUCTURAL Y ESPECTROSCÓPICO DEL COMPLEJO BIS-PEROXO-OXOVANADIO (V) CON ACTIVIDAD ANTIDIABÉTICA. A. Degollado, M. E. Castro, N. A. Caballero, J. A. Guevara-García, T. Scior, F. J. Meléndez

X Reunión Mexicana de Fisicoquímica Teórica 2011 Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo “COMPARACION ESTRUCTURAL Y ESPECTROSCÓPICA DE 3 COMPUESTOS DE COORDINACIÓN CON VANADIO COMO MODELOS DE INTERACCIÓN VANADIO-PROTEÍNA A. Degollado, M. E. Castro, N. A. Caballero, J. A. Guevara-García, T. Scior, F. J. Meléndez

XXXVII Congreso de Químicos Teóricos de Expresión Latina, QUITEL 2011. Riviera Maya. ESTUDIO ESTRUCTURAL Y ESPECTROSCÓPICO DEL COMPLEJO BIS-PEROXO-OXOVANADIO (V) COMO MODELO DE INTERACCIÓN VANADIO-PROTEINA.

XI Reunión Mexicana de Fisicoquímica Teórica 2012 Universidad Autónoma del Estado de México,

1er encuentro de la calorimetría ESTUDIO DOCKING DE LA PROTEÍNA PTP1B CON UN COMPUESTO DE VANADIO. A. Degollado, M. E. Castro, F. J. Meléndez

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE FIGURAS	vi
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ABSTRACT	7
RESUMEN	8
INTRODUCCIÓN	9
CAPÍTULO I. ANTECEDENTES, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	10
1.1. Antecedentes	10
1.1.1. Vanadio	11
1.1.2. Caracterización de complejos de vanadio	13
1.1.3. Importancia biológica	17
1.1.4. RMN ⁵¹ V	26
1.2. Hipótesis	28
1.3. Objetivos	28
1.3.1. Objetivo general	
1.3.2. Objetivos específicos	
CAPÍTULO II. FUNDAMENTOS TEÓRICOS	29
2.1. Ecuación de Schrödinger y Hamiltoniano molecular	29
2.2. Métodos de estructura electrónica	30
2.3. Teoría de funcionales de la densidad	32
2.4. Funciones de base	36
2.5. Hipersuperficie de energía potencial	39
CAPÍTULO III. METODOLOGÍA	47
3.1. Métodos	49
3.2. Equipo computacional	49
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	50
4.1. Estructuras moleculares	50

4.2. Espectros de IR	58
4.3. Espectros de RMN- ¹ H, RMN- ¹³ C y RMN- ⁵¹ V	66
CONCLUSIONES	73
BIBLIOGRAFÍA	74
ANEXOS	82

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Probables sitios de interacción de vanadio con blancos moleculares intracelulares	4
Figura 2. Superficie de energía potencial multidimensional	35
Figura 3. Geometrías moleculares optimizadas de los complejos GH , GGH y GHG coordinados con el grupo $[\text{VO}(\text{O}_2)_2(\text{H}_2\text{O})]^-$ en el nivel B3LYP/6-31+G(d) y la base Lanl2DZ en fase gas	38
Figura 4. Estructura molecular de los complejos GH , GGH y GHG coordinados con el grupo $[\text{VO}(\text{O}_2)_2(\text{H}_2\text{O})]^-$. Los átomos principales están etiquetados	39
Figura 5. Espectro de infrarrojo (IR) del complejo GH coordinado con el grupo $[\text{VO}(\text{O}_2)_2(\text{H}_2\text{O})]^-$ en el nivel B3LYP/6-31+G(d) y la base Lanl2DZ en (a) fase gas, (b) en disolución con D_2O y (c) en disolución con DMSO-d_6	40
Figura 6. Espectro de infrarrojo (IR) de los complejos (a) GH , (b) GGH y (c) GHG coordinados con el grupo $[\text{VO}(\text{O}_2)_2(\text{H}_2\text{O})]^-$ en el nivel B3LYP/6-31+G(d) y la base Lanl2DZ en fase gas	42
Figura 7. Variación entre los desplazamientos químicos (in ppm) de RMN- ^{51}V NMR teóricos y experimentales de los complejos GH , GGH y GHG coordinados con el grupo $[\text{VO}(\text{O}_2)_2(\text{H}_2\text{O})]^-$	50

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Parámetros geométricos optimizados de las estructuras de equilibrio de los complejos GH , GGH y GHG en el nivel B3LYP/6-31+G(d) y la base Lanl2DZ. La convención numérica se muestra en la Figura 1. Longitudes de enlace en Å y ángulos en grados.....	33
Tabla 2. Valores de energía relativa (kcal/mol) de los complejos GH , GGH y GHG en el nivel B3LYP/6-31+G(d) y la base Lanl2DZ en ambas fases	37
Tabla 3. Frecuencias vibracionales (cm^{-1}) e intensidades relativas (%) de los complejos GH , GGH y GHG calculados en el nivel B3LYP/6-31+G(d) y la base Lanl2DZ en fase gas	43
Tabla 4. Desplazamientos químicos (en ppm) de RMN- ^1H y RMN- ^{13}C teóricos y experimentales de los complejos GH , GGH y GHG calculados en el nivel B3LYP/6-31+G(d) y la base Lanl2DZ. Los valores fueron referidos a los desplazamientos químicos del TMS calculados en el mismo nivel de teoría.....	45
Tabla 5. Desplazamientos químicos (en ppm) de RMN- ^{51}V teóricos y experimentales de los complejos GH , GGH y GHG calculados en el nivel B3LYP/6-31+G(d) y la base Lanl2DZ. Los valores fueron referidos a los desplazamientos químicos del VOCl_3 calculados en el mismo nivel de teoría	49

ABSTRACT

In recent years, diseases such as diabetes mellitus (DM) and breast cancer have occupied the top places of death in our country, which has caused concern in discover new potent drugs that help to control these diseases with the least amount of side effects. In this work, we have proposed several coordination compounds of vanadium having as specific target to the protein tyrosine phosphatase 1B (PTP1B), which is directly involved in regulating the insulin signaling as well as in metabolic regulation that affects the proliferation of cancerous tumors. The molecular structures, IR spectroscopy, ^1H , ^{13}C and ^{51}V NMR spectroscopy of three bis-peroxo-oxovanadate species containing histidine peptides were studied on theoretical grounds. The geometry optimizations and IR spectra in gas phase were carried out with the DFT (B3LYP functional) method and the spectra of the peptides under study were obtained with the gauche-including atomic orbital (GIAO) method as implemented in the GAUSSIAN 09 package. The split valence 6-31+G basis set and the core-valence effective core potential Lanl2dz were employed. New coordination modes were found in the potential curves for the rotation through the V-N coordination bond. They bent up (Bu) and down(Bd) with the imidazole ring aligned with the V-O (peroxo) bond and also bent with respect to the V-O group. In addition, the parameters describing quadrupolar and chemical shift anisotropy interactions are determined theoretically. In particular, this results help to solve apparent inconsistencies found in the ^{51}V NMR solution spectroscopy of the three bis-peroxo-oxovanadate complexes. The gathered evidence furthers the understanding of the electronic implications and structure-activity relationships in the case of histidine peptide-containing bis-peroxo-oxovanadate structures.

RESUMEN

En años recientes, enfermedades como la diabetes mellitus (DM) y el cáncer de seno han ocupado los primeros lugares de mortalidad en nuestro país, lo que ha generado interés por descubrir nuevos y potentes fármacos que ayuden al control de dichas enfermedades con la menor cantidad de efectos secundarios. Con base en ello, se han propuestos numerosos compuestos de coordinación de vanadio teniendo como blanco específico a la proteína tirosina fosfatasa 1B (PTP1B), la cual se encuentra directamente involucrada en la regulación de la cascada de insulina así como también en la regulación metabólica que afecta la proliferación de tumores cancerosos. En el presente trabajo, se estudiaron teóricamente las estructuras moleculares de tres especies de bis-peroxo-vanadatos coordinados con péptidos que contienen histidina como ligantes, mediante espectroscopia infrarroja (IR) y espectroscopia de resonancia magnética nuclear (RMN) de ^{51}V , ^1H y ^{13}C . Las optimizaciones geométricas y los espectros IR en fase gaseosa se llevaron a cabo con el método de funcionales de la densidad (DFT) utilizando el funcional B3LYP. Por otra parte, los espectros de los péptidos en estudio fueron obtenidos con el método *gauche-including atomic orbital* (GIAO) implementado en el programa GAUSSIAN 09. Se empleó un conjunto de base *split valence* 6-31+G y el pseudo potencial efectivo Lanl2dz para el átomo de V. Se encontraron nuevos modos de coordinación en las curvas de potencial para la rotación a través del enlace V-N, los cuales se desplazan hacia arriba y hacia abajo respecto al anillo imidazólico alineado con el enlace peroxo V-O y respecto al grupo V=O. Además, se determinaron teóricamente los parámetros que describen los desplazamientos químicos anisotrópicos.

Estos resultados ayudan a resolver las aparentes inconsistencias encontradas en la espectroscopia RMN de ^{51}V en solución de los tres complejos bis-peroxo-vanadatos. Las evidencias reunidas ayudarán a entender el comportamiento electrónico y la relación estructura-actividad en el caso de estructuras bis-peroxo-vanadatos que contienen péptidos de histidina.

INTRODUCCIÓN

La Mecánica Cuántica se considera uno de los logros trascendentales realizados por la comunidad científica mundial. Esta disciplina ha abierto un nuevo enfoque en las investigaciones y aplicaciones presentes y futuras de diferentes áreas de la ciencia. La aplicación de la Mecánica Cuántica a los problemas de la Química define en parte a la Química Cuántica, ya que ésta involucra también métodos de la Mecánica y Dinámica Molecular. Cuando en 1988 se otorgó el premio nobel a W. Kohn y a J. A. Pople, la Academia de Ciencias Sueca expresó: “la Química ha dejado de ser una ciencia puramente experimental”. La revolución informática ha acelerado el desarrollo de la Química Cuántica y ha dado paso a la Química Computacional. En la actualidad, la Química Cuántica y Computacional no sólo están presentes en todos los campos de la Química, sean éstas cinética, espectroscopia, diseño de materiales o diseño de fármacos, sino que también es uno de los motores básicos de su desarrollo como una herramienta eficiente y confiable.

En el presente trabajo se aborda de manera teórica-computacional el estudio de compuestos de vanadio coordinados que son de especial interés por sus posibles aplicaciones terapéuticas. Se organiza el presente documento de la siguiente manera:

En el capítulo 1, *Antecedentes y Objetivos*, se presentan los antecedentes tanto experimentales como teóricos en los que se fundamenta este estudio, así como la revisión del “estado del arte”. Se mencionan los objetivos planteados para la realización de este estudio.

En el capítulo 2, *Fundamentos teóricos*, se presentan los conceptos y paradigmas más importantes sobre los que se basan los algoritmos implementados en los diferentes programas con los que se realizaron los cálculos de los sistemas de interés.

En el capítulo 3, *Metodología*, se muestran los métodos, herramientas y técnicas utilizadas en el trabajo. Se describe el tipo de cálculos y estudios realizados, así como sus características. Este capítulo se

subdivide en dos partes, en la primera se describen estructuralmente los sistemas de estudio y en la se detallan las herramientas y técnicas usadas.

En el capítulo 4, *Discusión de resultados*, se analizan los resultados obtenidos y se interpretan. También se aborda la relevancia y las aportaciones logradas en la presente investigación.

Se presentan las *Conclusiones* a las que se ha llegado basándose en los resultados discutidos en el capítulo 4.

Se presenta la *Bibliografía* utilizada.

CAPITULO I

ANTECEDENTES Y OBJETIVOS

1.1 VANADIO

En la tabla periódica encontramos al vanadio con el número 23, en la naturaleza ocupa el lugar número 19 en abundancia. Se agrupa dentro de los metales de transición y se encuentra principalmente en minerales y en los depósitos de combustibles fósiles. Es mayor su abundancia en el medio marino que en la corteza terrestre o en la atmósfera. Se han caracterizado quince radioisótopos del vanadio, de éstos, el ^{51}V es el único isótopo estable además de ser el más abundante (> 99%). El vanadio es un metal gris plateado suave que puede existir en varios estados de oxidación diferentes: -1, 0, +2, +3, +4 y +5 [1].

El vanadio es un elemento ubicuo, fue descubierto por vez primera en 1802, mas no fue hasta 1831 que se le reconoció como un elemento nuevo [2]. Alrededor de 1876 ya se experimentaba sobre la influencia del vanadio en algunos seres vivos, para 1888 E.O. von Lippmann, dio una de las primeras evidencias de la presencia de vanadio en plantas y para 1899 ya se usaba sales de vanadio para el tratamiento de varias enfermedades incluida la Diabetes Mellitus tipo II (DM2). La importancia biológica del vanadio fue definitivamente establecida cuando en 1911 M. Henze reportó la alta presencia de pentóxido de vanadio en las jeringas de mar [3]. Luego se ha establecido la presencia de vanadio en diferentes géneros de organismos que están contenidos en los siguientes grupos: cianobacteria, proteobacteria, basidiomycota, ascomycota, phaeophyta, lichen, clorophyta y rhodophyta. Asimismo, se conoce bien la presencia de vanadio en numerosas plantas superiores y animales, donde en la mayoría de los casos la esencialidad está aún en discusión.

Los compuestos de vanadio poseen una geometría de coordinación diversa y puede encontrarse con números de coordinación que van desde tres a ocho, dando origen a muchos complejos con

interesantes propiedades bioquímicas, algunas de estas propiedades se dan por la similitud entre el vanadato y el fosfato.

En sistemas biológicos dicho elemento es un elemento traza (con pocas excepciones), aparece como co-factor esencial en algunas enzimas, actúa como agente antidiabético y se podría aplicar en la terapia del cáncer de seno, además de tener potencial como sonda biológica en la identificación de blancos moleculares en diversas enfermedades.

Bajo condiciones ambientales normales, los estados de oxidación +3, +4 y +5 son los más comunes. V^{3+} y V^{4+} actúan como cationes, pero V^{5+} , la forma más común en ambiente acuoso, reacciona como catión y como anión. En los minerales, el estado de oxidación del vanadio puede ser +3, +4 o +5. La disolución en agua oxida rápidamente el V^{3+} y el V^{4+} al estado pentavalente, que es la forma más común del metal en el medio ambiente. El vanadato, compuesto pentavalente en solución, se puede polimerizar (principalmente a las formas diméricas o triméricas), en particular a concentraciones más altas de las sales [4].

La química del vanadio es compleja. Bajo condiciones ambientales normales, el vanadio existe en estados de oxidación 3, 4 y 5. V^{4+} y V^{3+} actúan como cationes, pero V^{5+} , la forma más común en ambiente acuoso, reacciona tanto como catión y como anión análogo al fosfato. En los minerales, el estado de oxidación del vanadio puede ser 3, 4 y 5, pero la disolución de minerales rápidamente oxida V^{4+} y V^{3+} al estado pentavalente. El término vanadato se utiliza a menudo como un término generalizado para las especies de vanadio en solución. La especiación de vanadio en solución es compleja y depende en gran medida las concentraciones de vanadio. En condiciones ambientales comunes de pH y potencial redox, y en las bajas concentraciones reportadas para el vanadio en el agua natural, el vanadato está en forma monomérica principalmente. A concentraciones mayores, como los utilizados en las pruebas de toxicidad, predominan formas diméricas o triméricas y esto puede tener un efecto en cómo los compuestos de vanadio interactúan con los sistemas biológicos. Dentro de tejidos del organismo, V^{3+} y V^{4+} predominan

en gran parte debido a la reducción de las condiciones, en el plasma, sin embargo, que es rica en oxígeno, V^{5+} se forma [5].

1.1.2. Caracterización de complejos de vanadio.

Las investigaciones recientes sobre la química de complejos de peroxovanadio en solución acuosa estimuladas por el descubrimiento de su papel biológico [6-7] han mejorado la comprensión de los procesos oxidativos y de equilibrio en los que éstos están involucrados [8]. En la mayoría de estos estudios, se han llevado con éxito cálculos *ab initio* de espectroscopia RMN de ^{51}V , generando resultados que han contribuido a comprender algunos comportamientos observados experimentalmente [9]. Sin embargo, la estructura de los complejos de peroxovanadio en solución sigue siendo imprecisa [10], por lo tanto, para las especies catiónicas monoperoxo formadas mediante la adición de peróxido de hidrógeno a un precursor de vanadio (V), en solución acuosa ácida, se utiliza la nomenclatura como: $[VO(O_2)(H_2O)_n]^+$ con la finalidad de hacer hincapié en que se desconoce el número de moléculas de agua coordinadas a vanadio, y por lo tanto la geometría.

Las estructuras de estado sólido que han sido determinadas para varios complejos que contienen diferentes ligandos de monoperoxovanadio, indican una geometría bipiramidal pentagonal en el que el grupo oxo ocupa una de las dos posiciones apicales, mientras que el grupo peroxo se encuentra en la posición ecuatorial del plano [11-12]. Esto sugiere un número de coordinación de siete. Es bien sabido, sin embargo, que las disposiciones geométricas observadas en el estado sólido no se mantienen necesariamente en solución, particularmente en la coordinación en disolución [12].

Kimbling y col. en 2002 sintetizaron y caracterizaron estructuralmente compuestos de vanadio que simulan la unión directa del puente de hidrógeno entre la lisina 353 y el V(V) en la vanadio

cloroperoxidasa. Demostraron que la interacción es significativa y reportaron la energía de unión en 6 kcal/mol y sugirieron que esta unión es similar en la vanadio bromoperoxidasas [13].

En el 2008 Schneider y col., reportaron datos espectroscópicos que fueron en contra de la presencia de un intermediario catalítico hidroxilo, en presencia de complejos de peróxido de vanadio (V). Este tipo de complejos han sido usados previamente para entender la estructura y mecanismos de acción de las haloperoxidasas dependientes de vanadio [13].

Sutradhar y col. en 2006 realizan un estudio sobre compuestos de oxovanadio (V), reportando por primera vez complejos binucleares que contienen bipyridinas [14].

En 2005, Zampella y col. estudiaron la reactividad, estructura y propiedades electrónicas de las formas peroxo del cofactor de vanadio haloperoxidasa a nivel teórico (DFT). En completo acuerdo con los datos experimentales, se resaltó el papel de la protonación en la activación de los complejos de peroxovanadio y se mostró que el paso de transferencia del grupo oxo involucra un átomo de oxígeno peroxo axial desprotonado [15].

En un estudio computacional, llevado a cabo por Palacios y Galvez en el 2010, se reportó la comparación de la Iodoperoxidasa de vanadio contra las enzimas cloroperoxidasa y bromoperoxidasa, haciendo hincapié en las propiedades de sus sitios activos [16].

Mautya y col. en 2011 sintetizaron y caracterizaron complejos de oxidovanadio (IV), oxidovanadio (V) y dioxidovanadio (V) coordinados con ligandos modificados de bencimidazoles. Estudiaron la actividad catalítica así como su reactividad. La especiación de los sistemas e intermediarios plausibles involucrados en los procesos de oxidación catalítica se establecieron a partir de espectroscopia UV-Vis, EPR, ^{51}V -RMN, y estudios DFT [17].

En 1996, Guevara realizó un estudio con tres series de nuevos compuestos derivados de péptidos, bencimidazoles y ácido iminodiacético, por su importancia en la naturaleza ya establecida anteriormente, en el estudio se sintetizaron y se caracterizaron espectroscópicamente a los compuestos. Y son estos compuestos los que se estudian de manera teórica en este trabajo [18].

En los 90's los estudios realizados por Conte y col. demostraron que la molécula de histidina se encuentra ligada a la esfera de coordinación del vanadio en los sistemas biológicos [19-21] Además, en otros estudios se ha caracterizado la interacción entre mono/bis peroxo-vanadatos con pequeños péptidos en solución mediante ^{51}V -RMN [22-23]. Concretamente, se ha demostrado que los complejos de vanadio coordinados con péptidos que contienen histidina forman productos más estables que con otros péptidos [23]. Hasta el momento no se ha reportado la estructura de rayos X para complejos mono/bis peroxo-vanadatos unidos a péptidos de histidina. Sin embargo, los tipos de coordinación del vanadio unidos al anillo de imidazol de la histidina han sido caracterizados por diferentes técnicas espectroscópicas [20-23] y por diferentes estudios teóricos [23-31].

A continuación se presentan los estudios teóricos más relevantes centrados en resolver problemas de interés biológico involucrando especies de peroxo vanadatos, esto es, investigación de modelos de unión para vanadatos, así como estudios teóricos que evalúan la función de compuestos oxovanadio como posibles fármacos.

Por ejemplo, se han realizado estudios teóricos a nivel QM/MM con el fin de dilucidar los tipos de coordinación con enzimas dependientes de vanadio usando vanadatos [23-24]. Geethalakshmi y col. en 2009, reportaron los desplazamientos químicos de ^{51}V -RMN a nivel B3LYP/AE1 para la unión de peroxo vanadatos con enzimas dependientes de vanadio. También se han realizado estudios teóricos al mismo nivel de teoría que en el presente trabajo de la optimización de complejos peroxovanadatos unidos a moléculas orgánicas con el fin de conocer la esfera de coordinación del vanadio en dichos complejos [25-26]. Por otro lado, Conte y col. [27-28] estudiaron teóricamente el sistema de ligandos

$\text{NH}_4\text{VO}_3/\text{H}_2\text{O}_2/\text{histidina}$ como modelos que imitan el sitio activo de haloperoxidasas. En otros trabajos realizados por Yu y col. se estudió la reacción de diperoxovanadatos con otra serie de ligandos orgánicos en disolución $[\text{OV}(\text{O}_2)_2\text{L}]^n$ ($n=1$ o 3 , $\text{L}=\text{oxalato}$ o H_2O), sus estudios fueron complementados con cálculos teóricos B3LYP para elucidar las observaciones experimentales [29].

Conte y col. en 2000 realizaron un estudio teórico-experimental. Este trabajo fue realizado a nivel *ab initio* HF/3-21G(*), en dicho estudio optimizaron geoméricamente compuestos mono y di peroxovanadatos, calcularon sus frecuencias y obtuvieron las cargas atómicas de cada uno. Reportaron que el lugar de protonación de los compuestos corresponde al oxígeno oxo. También se reportan las energías para la migración del protón en fase gas (B3LYP/Lan12DZ).

La geometría preferida del $[\text{OV}(\text{O}_2)_2]^-$ obtenida teóricamente es la que presenta el grupo peróxido perpendicular al oxígeno oxo y paralelo al otro peróxido. En consecuencia, este complejo anicónico contiene un átomo de vanadio (V) coordinado en una geometría piramidal cuadrada. El átomo de vanadio es elevado 0.5 \AA sobre el plano lo cual es observado para otros bisperoxovanadatos.

Para bisperoxos con un ligando monodentado neutro como agua, imidazol o piridina, hay dos modos de coordinación posible: (i) el ligando está en el plano ecuatorial con los átomos de oxígeno de los grupos peróxido; (ii) el ligando está *trans* al grupo oxo. El vanadio es hexa-coordinado en todos los compuestos y la geometría es piramidal pentagonal. Las energías de interacción siguen el orden nucleofílico de los ligandos [30].

Bortolini en 2003 realizó cálculos *ab initio* (DFT: b3LYP/6-311G+(d,f) sobre especies que contienen vanadio y fueron obtenidas de la reacción de monoperoxovanadatos y brominas tanto en presencia como en ausencia de solvente. Se reportaron los tres sitios de protonación de los compuestos: a) el átomo de oxígeno del grupo $\text{V}=\text{O}$, b) el átomo de oxígeno del grupo $-\text{OH}$ y c) el átomo de oxígeno del grupo $-\text{OBr}$. Tomando en cuenta los datos energéticos que encontraron, sugirieron que las especies

estudiadas están directamente involucradas en los procesos de transferencia de Br de las bromoperoxidasas [31].

Zeng y col. (2010) Estudiaron la interacción entre el vanadio y la L-prolina experimentalmente y a través de cálculos teóricos a nivel DFT (B3LYP/6-31+G(d)). Se reportan las energías relativas de los procesos de reacción. Se encontró que la coordinación de L-prolina a $[\text{VO}(\text{O}_2)(\text{H}_2\text{O})_{3/4}]^+$ para formar el compuesto $[\text{VO}(\text{O}_2)(\text{L-proline})_2]^-$ es una reacción exotérmica favorable tanto en fase gas como en disolución (PCM), los átomos de nitrógeno de ambos ligandos de prolina están en posición ecuatorial, cis respecto a los átomos de oxígeno peroxo. La posición apical está ocupada por el oxígeno del grupo $\text{V}=\text{O}$, y el sitio opuesto por el átomo de oxígeno del grupo $-\text{COO}-$. Se forma una bipirámide pentagonal distorsionada [32].

Finalmente, en el 2012 Scior como parte del grupo de investigación en el que se lleva a cabo este proyecto realiza un estudio *in silico* y experimental de un nuevo compuesto de vanadio con actividad antidiabética, el compuesto es nombrado tsag0101 [33].

1.2 IMPORTANCIA BIOLÓGICA

Se han descrito muchas funciones biológicas del vanadio, las cuales dependen del grupo de organismos en el cual actúan y al tipo de compuesto que esté formando. Algunas de sus funciones reportadas son : protección en las ascidias, en tunicados participa en el transporte de electrones en los organelos celulares y es un cofactor enzimático [34-36]. Se han reportado 3 enzimas dependientes de vanadio: la nitrogenasa, la peroxidasa y la nitrato reductasa [36]. Este elemento participa en la síntesis de clorofila en organismos fotosintéticos y es importante en el metabolismo lipídico de algunos animales [37-38].

En el ámbito farmacológico se le reconocen múltiples acciones terapéuticas, entre ellas, el tratamiento de las caries, la hipertensión, anorexia nerviosa, se ha sugerido su uso como anticonceptivo

vaginal y recientemente se ha encontrado que algunos compuestos de vanadio podrían ser útiles en el tratamiento contra el virus de la inmunodeficiencia humana [39]. Para el caso exclusivo de los mono y bis-peroxo-vanadatos la investigación en los últimos años ha alcanzado gran interés debido a su participación en diferentes mecanismos bioquímicos como son la catálisis biomimética [40], la actividad fotolítica del ADN [41], la actividad metabólica celular [42], la activación/inhibición de enzimas dependientes de fosfato [43-45], el metabolismo del calcio [46], la expresión de genes [47] y en la estructura y función de las haloperoxidasas [48-50]. Sobre todo son particularmente estudiados por sus propiedades miméticas de la insulina [51-53] y la activación/inhibición de mecanismos del cáncer [54].

Los compuestos de vanadio son capaces de estimular la captación de glucosa, la síntesis de glucógenos y lípidos en tejido muscular, adiposo y hepático, pudiendo inhibir la gluconeogénesis y la actividad de varias enzimas gluconeogénicas, tanto en el hígado como en el riñón. Se ha propuesto que la actividad insulino-mimética del vanadio se debe en parte a su capacidad de inhibir proteínas tirosina fosfatasa (PTPasa) [55]. Al inhibir PTPasas, el vanadio impide la defosforilación de la proteína quinasa de la subunidad beta del receptor insulínico, es decir, el vanadio estimula la acción de la proteína quinasa activando el IRS-1 en la cascada de señalización de la insulina. De hecho, el vanadio es un inhibidor potente de la PTP1B, la principal PTPasa que desactiva al receptor insulínico [56].

La enzima PTP-1B también está relacionada con el desarrollo y propagación de ciertos tipos de cáncer. Aun cuando no ha sido totalmente esclarecido su papel en la señalización celular en los diferentes tipos de cáncer, si está claro que inhibir a esta enzima lleva a resultados favorables en tratamientos anticancerígenos [57].

1.2.1 Diabetes Mellitus tipo 2

Cuando el páncreas es incapaz de secretar insulina o esta última no puede unirse a su receptor celular se establece lo que se conoce como diabetes mellitus.

La diabetes mellitus es una enfermedad compleja que presenta distintas clases y grados de patologías, presenta un gran componente genético. Por otra parte, el nulo ejercicio físico y la baja calidad de la alimentación ejercen un profundo efecto sobre su incidencia. El síntoma primario de la diabetes mellitus aguda es la hiperglucemia que va frecuentemente acompañada de glucosuria y poliuria, y que consiste en la excreción de grandes volúmenes de orina. Se distinguen dos tipos principales de diabetes:

Diabetes Mellitus Dependiente de Insulina (tipo 1), la cual es de iniciación juvenil.

Diabetes Mellitus No Dependiente de Insulina (tipo 2), la cual se desarrolla gradualmente después de los 40 años de edad.

En la diabetes tipo 1 la insulina está totalmente ausente debido a que el páncreas carece o tiene defectuosas las células B. La diabetes tipo 2 usualmente se presenta en individuos obesos con una predisposición genética para esta condición. Estos individuos tienen niveles normales o elevados de insulina y son resistentes a la acción de la misma, aparentemente porque cuando las células adiposas están llenas de grasa, hay una disminución en el número de receptores insulínicos disponibles en sus superficies. Han sido asociadas un número de mutaciones en el receptor de insulina con este tipo de diabetes. Estos defectos producen alteraciones en la unión con la insulina (mutaciones en las subunidades α) o en la actividad de la tirosina cinasa (mutaciones en las subunidades β) [58-60].

El fracaso de la insulina para actuar normalmente impulsando la utilización de la glucosa, con la consiguiente acumulación de esta última en la sangre, priva a las células de nutrientes y promueve unas respuestas metabólicas similares a las del ayuno. Las células hepáticas intentan generar más glucosa mediante la estimulación de la gluconeogénesis. La mayor parte de los sustratos se originan de los aminoácidos, que a su vez resultan en gran parte de la degradación de las proteínas musculares. La glucosa no puede reutilizarse para volver a sintetizar aminoácidos o ácidos grasos [59].

La diabetes tipo 2 se caracteriza por una resistencia a la insulina y/o una secreción de insulina anormal, en la que cualquiera de estas dos opciones puede predominar. Los pacientes con diabetes tipo 2 no son dependientes de insulina exógena.

Los cuadros terapéuticos actuales fueron desarrollados en las últimas cinco décadas en ausencia de blancos moleculares definidos o aun sin un sólido conocimiento de la patogénesis de la enfermedad a nivel molecular. Sin embargo, con el avance de las ciencias de salud por los conceptos de la química y farmacología molecular, en un lapso de tiempo relativamente corto, nuestro entendimiento de las rutas bioquímicas relacionadas con el desarrollo del síndrome metabólico se ha expandido de manera considerable, y actualmente existe un conjunto sin precedente de blancos o dianas moleculares potenciales para el desarrollo de fármacos.

La cascada de insulina comienza con el enlace de la insulina a la sub-unidad α extracelular del receptor de insulina (**RI**) transmembranal (Figura 1). Esto produce un cambio conformacional en la sub-unidad β intracelular del RI y la promoción de la autofosforilación de varios residuos de tirosina del propio RI. La enzima que promueve la fosforilación es la proteína tirosina kinasa del receptor (**RPTK**, por sus siglas en inglés), un regulador positivo de la transducción de la señal de insulina. En competencia con esta se encuentran las proteínas tirosina fosfatasas (**PTP**) que son reguladores negativos. La señal de la insulina se transmite luego por la transferencia del fosfato del RI, que actúa como una tirosina kinasa, a diferentes sustratos.

El primero de ellos es el IRS-1, que transfiere el grupo fosfato a proteínas citoplasmáticas (Y-prot), desencadenando los efectos metabólicos. Durante el proceso, la cascada de insulina incrementa el transporte de glucosa en células grasas y musculares estimulando la translocación del transportador de glucosa GLUT4, desde el seno del citoplasma hasta la membrana plasmática, promoviendo su exocitosis.

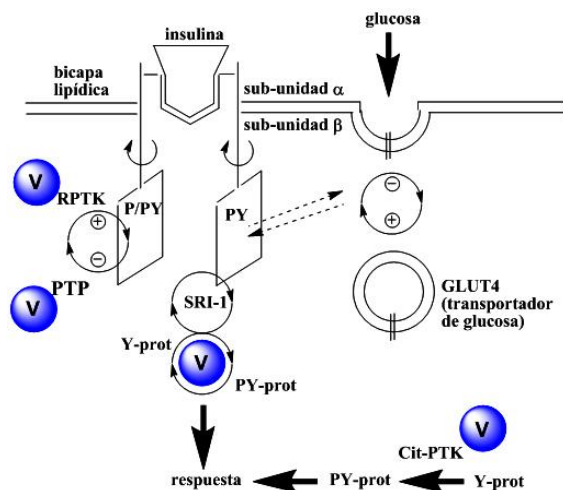


Figura 1. Probables sitios de interacción de vanadio con blancos moleculares intracelulares.

Dentro de la familia de las PTP, la PTP1B ha recibido gran atención debido a su papel protagonista como regulador negativo de la cascada de insulina. Se ha observado en ratas genéticamente deficientes de esta enzima (PTP1B^{-/-}, o ratas knockouts) que la alimentación rica en carbohidratos y grasas no produce sobrepeso debido a la actividad ininterrumpida de la insulina. Por lo tanto, la inhibición de la función de la **PTP1B** es una estrategia adecuada para el tratamiento de la diabetes y la obesidad.

Un inhibidor ideal debe enlazar eficientemente a la enzima sin impedir el trabajo catalítico normal de otras enzimas relacionadas. El diseño de tales inhibidores de la **PTP1B** para el tratamiento de la diabetes tipo 2 ha recibido considerable atención.

Desde el descubrimiento de la actividad tipo insulina del vanadato, VO₄³⁻, el vanadio ha sido reconocido como uno de los agentes con mayor actividad inhibitoria frente a las proteína tirosina fosfatasa, aunque no es selectivo (también actúa sobre un número importante de proteínas dependientes de fosfato, entre ellas las PTPasas, las ATPasas, las adenil ciclasas y los canales de calcio [61]. Por otro lado, se ha reportado una cantidad importante de compuestos de coordinación de vanadio con diferentes

grados de actividad antidiabética, siendo algunos de sus efectos el incremento de la absorción de glucosa, de la biosíntesis de glucógeno, la inhibición de la gluconeogénesis y de la lipólisis. El mecanismo biológico del vanadato y de los complejos de vanadio no se ha establecido completamente. Sin embargo, después de diferentes estudios, se sugiere que los blancos moleculares de vanadio pueden ser enzimas proteína fosfatasas en lugar de la propia insulina, el RI, o los transportadores GLUT2 y GLUT4. De hecho, existe evidencia reciente que apoya la hipótesis de que compuestos de vanadio con actividad tipo insulina pueden tener afinidad intrínseca por el sitio catalítico de la enzima **PTP1B**.

Las propiedades miméticas a insulina de los compuestos de vanadio se han demostrado tanto in vitro [58], como in vivo en ratas y ratones, así como en pacientes diabéticos. Cabe notar que los estudios clínicos se han llevado a cabo usando sales inorgánicas de vanadio, con resultados discretos; pero es con el uso de complejos orgánicos de vanadio, sin lugar a dudas, donde se espera el mayor éxito, debido al incremento de la actividad y la reducción de los efectos secundarios y/o tóxicos. Cabe mencionar que el efecto mimético de la insulina parece ser exclusivo de las sales inorgánicas de vanadio y sus compuestos, mientras que la magnitud de los beneficios parece ser más importante que la toxicidad intrínseca que presenta el vanadio, y su acumulación no parece tener efectos negativos.

Nuestro grupo demostró que los compuestos de vanadio reportados en la literatura como los antidiabéticos más activos, el bis(maltolato)-oxo-vanadio(IV) (**BMOV**) y el bis(picolinato)-oxo-vanadio(V) (**DPOV**), son inhibidores potenciales de la enzima **PTP1B**, pues los complejos formados entre estos compuestos y el sitio activo de la enzima tienen energía de interacción teórica favorable.

1.2.2 Cáncer de seno

El cáncer de mama es una grave amenaza para la salud de la mujer a nivel mundial. Esta afección es la segunda causa de muerte en mujeres de 30 a 54 años de edad y amenaza a todos los grupos socioeconómicos [62].

Además de la edad se invoca la existencia de un grupo de mujeres que poseen un “alto riesgo” de padecer cáncer de las mamas; así desde 1985, Frundd señaló la asociación de DM y Cáncer; en 1988. Algunos autores consideran que la obesidad, como estado patológico, asociado al metabolismo y producción anormal de hormonas, aumenta el riesgo de padecer cánceres hormona-dependiente [63].

Al igual que otras formas de cáncer, éste es el resultado de múltiples factores ambientales y hereditarios.

Algunos de estos factores incluyen:

1. Las lesiones en el ADN como las mutaciones genéticas. Las mutaciones que pueden llevar al cáncer de mama han sido experimentalmente vinculadas a la exposición de estrógenos.
2. El fracaso de la vigilancia inmunológica, una teoría en la cual el sistema inmune elimina las células malignas a lo largo de su vida.
3. Factor de crecimiento anormal de señalización en la interacción entre las células del estroma y las células epiteliales pueden facilitar el crecimiento de células malignas.
4. Defectos hereditarios en los genes reparadores del ADN, como BRCA1 y BRCA2 TP53.

En un estado normal, las células proliferan como respuesta a las señales externas promotoras de la proliferación hasta cumplir su función. Una vez se ha alcanzado el objetivo, se activan una serie de señales que reprimen la proliferación. Estas señales permiten que las células abandonen el ciclo de proliferación (ciclo celular) regresando a un estado inactivo (G0), mediante diferenciación o muerte celular (apoptosis). Cada una de estas funciones es efectuada por un complejo sistema de proteínas que interaccionan. La expresión constitutiva por mutación u otro cambio genético de cualquier componente del sistema de promoción de la proliferación puede desembocar en una proliferación descontrolada. El componente expresado constitutivamente se denomina oncogén.

Al contrario, la pérdida por la mutación o delección de un gen represivo que frena la proliferación, se traduce en la incapacidad de detener el ciclo celular y, por lo tanto, en una proliferación continua, que

posiblemente da lugar a un cáncer. El gen perdido se denomina gen supresor tumoral. Igualmente, la expresión constitutiva de los genes antiapoptóticos puede traducirse en la inmortalización de la célula, preparando el terreno para cambios genéticos adicionales, y en último término, la formación de un cáncer. La pérdida de genes proapoptóticos puede provocar resultados similares. Por lo tanto, la proliferación autónoma y la inmortalidad compartidas por todos los cánceres son la consecuencia final de cambios genéticos sucesivos, que pueden ser diferentes de uno a otro cáncer.

En este sentido, el cáncer de mama no es ninguna excepción. Es consecuencia de los múltiples cambios genéticos que son diferentes de los de otros cánceres y que confieren a este cáncer su fenotipo característico.

Con respecto a la regulación celular dependiente de la adhesión, las glucoproteínas transmembrana, es decir, las cadherinas epiteliales (E-cadherinas), median las interacciones célula a célula de su dominio extracelular, lo que estabiliza la célula en el tejido epitelial. Su dominio intracelular interacciona y controla los factores de transcripción B-cateninas. Una mutación o la ausencia de E-cadherinas da lugar al desprendimiento de las células, un aumento de la motilidad e invasividad y la liberación de B-cateninas, lo que regula al alza la expresión *c-myc*.

En el cáncer de mama la expresión de las E-cadherinas está regulada a la baja. Otra familia de moléculas de adhesión, las integrinas, participa en las interacciones célula a matriz. Las integrinas señalan la vía Fak-Src, que activa PI3K y AKT, dando lugar a una mayor supervivencia, proliferación y motilidad. Los principales componentes de esta vía (Fak, PI3k y AKT) son inhibidos por PTEN (es decir, la fosfatasa en el producto génico del cromosoma 10, mutado en la enfermedad de Cowden), lo que origina la supresión de la supervivencia y la apoptosis.

El potencial de PTP1B para modular el metabolismo es también crucial en la proliferación de los tumores cancerosos. Los resultados de la investigación proceden del estudio de una variedad de ratones

que suele desarrollar cáncer mamario metastático como consecuencia de la hiperactividad del gen ErbB2. Los trabajos se centraron en la inhibición de la enzima PTP1B; que es activada por ErbB2.

Estas dos sustancias centraron el interés de los científicos pues el gen ErbB2 se encuentra expresado en exceso en aproximadamente el 30% de los tumores de mama en mujeres en fase inicial y la enzima PTP1B se encuentra expresada en exceso en, al menos, un 70% de todos los tumores de mama que se producen en mujeres.

La interacción entre la matriz extracelular y el citoesqueleto de actina mediado por integrinas, desempeñan un papel central en la regulación de la migración celular en los procesos normales y patológicos, tales como metástasis tumoral. Muchos tipos de células adherentes, tales como fibroblastos, forman adherencias mediadas por la integrina, conocidas como adhesiones focales, que tienen ciclos de montaje y desmontaje durante la migración celular. Las adherencias focales se encuentran generalmente en células menos móviles y tienen la función de sujetar las fibras que contienen actina. Por el contrario, células móviles e invasivas, incluidas las células mieloides y células invasivas de cáncer, con frecuencia forman estructuras adhesivas especializadas mediada por integrinas conocidas como podosomas o invadopodia degradadora de matriz [64-65].

La regulación dinámica de la invadopodia en células de carcinoma es probablemente crítico para la capacidad invasiva de las células de cáncer metastático. Sin embargo, la comprensión de los mecanismos que regulan la dinámica de la invadopodia en células de cáncer sigue siendo limitada. Se ha avanzado últimamente en la definición de los mecanismos moleculares que regulan la dinámica del podosoma [66-67]. Por ejemplo, la tirosina quinasas Src y las proteínas cortactina de unión a actina son reguladores críticos de la formación del podosoma[68]. Las tiol proteasas calpainas intracelulares dependientes de calcio también han sido recientemente implicados en la regulación del desmontaje del podosoma en células dendríticas y osteoclastos [69]. Las calpainas unen muchas proteínas asociadas a la adherencia celular y a proteínas reguladoras de actina incluyendo talina, FAK, paxillina, cortactina, y la proteína

tirosina fosfatasa 1B [70-71], PTP1B es un regulador positivo clave de la actividad quinasa Src [72] y se expresa en niveles elevados en varios cánceres humanos [73].

Estudios recientes han atribuido a las calpains varios mecanismos involucrados en la en la regulación de estructuras de adhesión celular y protrusión de membrana, específicamente la isoforma calpaina 2 está expresada en el cáncer de mamá y su expresión se correlaciona con el aumento de propiedades invasivas de los tumores [74].

Aunque se desconocen los mecanismos que regulan a la calpaina, se han encontrado evidencia que sugieren fuertemente a PTP1B como mediador de la actividad de la calpaina. Estudios recientes han demostrado que PTP1B regula la actividad de c-Src en células de cáncer de mama [72]

. Por ejemplo, la depleción o inhibición de PTP1B impide la formación de tumores mamarios inducida por ErbB2 y el desarrollo de metástasis de pulmón en modelos de ratón [75]. Sin embargo, el mecanismo por el cual PTP1B facilita la progresión del cáncer de mama no ha sido dilucidado. En conjunto, estos hallazgos sugieren que la modulación de la función de calpaína 2/PTP1B puede proporcionar una nueva diana terapéutica para el cáncer de mama. La disponibilidad de calpaína 2 e inhibidores de PTP1B permeables a las células apoyan la utilidad de este enfoque. El control apropiado de la fosforilación por parte de las proteínas tirosinas es esencial para la homeostasis celular. Las PTP no sólo contrarrestan la acción de los receptores tirosin kinasas, sino también juegan un rol dominante en la regulación de algunos procesos fisiológicos. La PTP1B ha surgido como un importante regulador de varias redes de señalización, involucradas en enfermedades humanas como la diabetes, obesidad y cáncer.

Modelos de unión basados en péptidos

El vanadio se encuentra involucrado en un número creciente de sistemas enzimáticos, se ha encontrado en algas marinas [76], en líquenes terrestres [77], y en hongos [78], de donde se han aislado haloperoxidasas

de vanadio (VHPO) como la bromoperoxidasa de vanadio (VBrPO) [79] y la cloroperoxidasa de vanadio (VCIPO) [80]. Otras enzimas de vanadio incluyen a las nitrogenasas aisladas de bacterias [81]. Además, de esto el vanadio ha demostrado tener actividad bioquímica, debido a la habilidad de este elemento de interactuar o de modular la acción de tres proteínas de transporte principales: la Na⁺/K⁺/ATPasa [82], la tirosinofosfatasa (transportador aniónico) [83], y los transportadores de la glucosa [84]. Esta última es de gran interés ya que se ha demostrado que los compuestos de vanadio normalizan la concentración de la glucosa en animales de laboratorio con diabetes inducida, de manera similar a la insulina [85]. La investigación sobre la estructura y reactividad de modelos sintéticos de vanadio con péptidos, pueden contribuir al entendimiento de los mecanismos de la acción insulino-mimética del vanadio, así como a su papel biológico en general.

La interacción del vanadio con los aminoácidos y péptidos es en términos generales débil, aunque la fuerza del enlace parece aumentar con el grado de oxidación del vanadio. Así, en el caso de vanadio (III) solo se han reportado dos complejos con los péptidos gly-phe y gly-tyr [86]; mientras que para el vanadio (IV), se ha reportado la preparación de complejos con gly-gly y gly-ala [87]. Del ion oxovanadio (V) se ha caracterizado estructuralmente su complejo con el dipeptido gly-gly [88], pero son los iones peroxovanadato los que sin duda tienen la mayor afinidad por los aminoácidos y péptidos y los que han demostrado mayor actividad tipo insulina [89], por lo que su química así como sus reacciones en solución acuosa han sido objeto de estudios extensos [90].

La combinación de vanadato y peróxido de hidrógeno en solución acuosa genera un número de especies cuya concentración relativa depende de la concentración y del pH, sin embargo, los equilibrios son más sencillos que sin la presencia del peróxido [91]. Conforme se incrementa la concentración total de vanadio y de peróxido se favorecen sucesivamente las especies mono, diperoxo, triperoxo y tetraperoxo; mientras que el número de ligantes peroxo coordinados a vanadio se favorece con la alcalinidad, la acidez favorece la polimerización y reduce el número de ligantes peroxo.

Como en otros iones metálicos, existe también el proceso de descomposición del H_2O_2 catalizado por el vanadio, pero el proceso puede evitarse cuando se usan ligantes orgánicos adecuados, ya que la mayoría de los peroxovanadatos se estabilizan con ligantes bidentados que forman anillos de cinco miembros. En estos sistemas la formación de bis-peroxovanadatos se favorece en un pH cercano a la neutralidad, mientras que los monoperoxovanadatos se sintetizan en pH ácidos [92].

La mayoría de los compuestos peroxovanadatos reportados en la literatura contiene ligantes que se unen al vanadio a través de átomos de oxígeno y/o de nitrógeno. El espectro de RMN de ^{51}V muestra señales desplazadas a campo alto respecto del VOCl_3 (que se utiliza como referencia), las especies monoperoxo, muestran resonancias cerca de -600 ppm, mientras que las especies bisperoxo-vanadato muestran resonancias entre -700 y -800 ppm [93].

La geometría de coordinación que adoptan los iones mono- y bis-peroxovanadatos es bipirámide pentagonal distorsionada. Generalmente los grupos peroxo y un átomo coordinante del ligante definen el plano pentagonal [94].

En solución acuosa, el enlace del vanadato con péptidos es débil. Las constantes de formación, calculadas a partir de los espectros de RMN de ^{51}V son del orden de 1.0 a 70.0 M^{-1} ; siendo mayor al menos en un orden de magnitud cuando el péptido contiene histidina [95]. La señal de resonancia de los complejos VO-péptido aparece alrededor de -510 ppm (respecto al VOCl_3), siendo relativamente ancha debido al efecto cuadrupolar del vanadio ($I=7/2$) en un sitio de baja simetría [96]. Cuando el péptido glicilhistidina, la señal aparece desplazada, lo cual se interpreta como una interacción V-N(imidazol) en lugar de una V-N(amida).

La RMN de ^{51}V ha sido la espectroscopia adecuada para estudiar la interacción entre los iones peroxo- y diperoxo-vanadato y péptidos, en solución acuosa. Los valores de las constantes de formación son mayores que para los sistemas sin peroxo, pero también existen especies adicionales debido a

diferentes isómeros de coordinación o tautómeros, además de que su distribución es muy sensible a las condiciones de concentración y pH.

Tracey y col. [97] han postulado dos isómeros de coordinación para un anión vanadato, los cuales corresponden a la coordinación del péptido en forma monodentada por el carboxilato (aproximadamente en -717 ppm) y por el grupo amino terminal (en aproximadamente -745 ppm), con constantes de formación de 10 y 1000 M⁻¹, respectivamente. Se observan productos adicionales cuando el dipéptido está funcionalizado; en el caso de glicil-L-histidina, se obtienen dos productos adicionales por la participación en la coordinación del nitrógeno N3 y N1 del imidazol, con constantes de formación de 280 y 39 M⁻¹, respectivamente.

1.3 RMN ⁵¹V

La aplicación de la Resonancia Magnética Nuclear (RMN) del núcleo de ⁵¹V al estudio de la actividad biológica de los complejos de vanadio, principalmente de vanadio-proteínas, ha crecido rápidamente en años recientes. Para poder utilizar la RMN de ⁵¹V como una herramienta predictiva, se debe establecer una correlación entre los parámetros de este tipo de espectroscopia y la estructura química de los complejos de vanadio. Para esto se necesita construir una base de datos de los parámetros de RMN para una amplia serie de compuestos de vanadio con diferentes geometrías de coordinación y conjuntos de ligantes.

Los compuestos de vanadio se han estudiado desde el punto de vista teórico debido a su diversa actividad biológica. En los años 90, Conte et al. se enfoca en compuestos de coordinación de vanadio unidos al aminoácido histidina en sistemas biológicos, reportando las constantes de equilibrio de asociación de dichos complejos, además de estudiar su estructura y reactividad mediante estudios experimentales de resonancia magnética nuclear de vanadio 51 (⁵¹V RMN) y cálculos ab initio [28-30].

Otros grupos de investigación han estudiado el equilibrio entre mono/di peroxovanadatos con un número de di/tri péptidos en solución acuosa mediante ^{51}V RMN, obteniendo una reacción favorable con estos ligandos. Específicamente, demuestran que los complejos de vanadio que contienen Histidina producen compuestos más estables que cuando se usan péptidos con otros aminoácidos. [31] Hasta el momento, no se ha reportado la estructura de rayos-X de compuestos mono/bis peroxovanadatos unidos a péptidos de histidina, sin embargo se han caracterizado compuestos de coordinación de vanadio unidos a anillos de imidazol con histidina mediante otras técnicas espectroscópicas [29-32] o por estudios teóricos [33-41]. Estos estudios teóricos han tenido gran importancia en la solución de problemas biológicos en los cuales están involucrados compuestos mono/bis peroxovanadatos. Por ejemplo, se han realizado cálculos teóricos de mecánica cuántica/mecánica molecular (QM/MM) con el objetivo de elucidar las formas de coordinación del vanadio con enzimas dependientes de vanadio utilizando vanadatos. [33-35]. En el año 2009, Geethalakshmi et al. [35] publicó los desplazamientos químicos de ^{51}V RMN utilizando un nivel de teoría B3LYP/AE1+ para la unión de peroxovanadatos con las enzimas dependientes de vanadio. Posteriormente se realizaron estudios teóricos B3LYP para la optimización de dichos peroxovanadatos unidos a péptidos, utilizando un potencial efectivo de “core” con un conjunto base Lanl2dz para vanadio, con el propósito de determinar la esfera de coordinación de vanadio en estos compuestos [36, 37].

Sobre fundamentos teóricos, Conte et al. [38-40] estudió el sistema ligando $\text{NH}_4\text{VO}_3/\text{H}_2\text{O}_2/\text{histidine}$ como un modelo mimetizador del sitio activo de haloperoxidasas llevando a cabo cálculos ab initio. Posteriormente, Yu et al [41] estudió la reacción entre ligandos orgánicos con diperoxovanadatos $[\text{OV}(\text{O}_2)_2\text{L}]_n$ ($n = 1$ o 3 , $\text{L} = \text{oxalato}$ o H_2O) en solución. Los estudios se llevaron a cabo mediante cálculos teóricos incluyendo potencial efectivo de core con una base Lanl2dz para vanadio y el modelo solvente de PCM para explicar las observaciones experimentales. Los autores concluyeron que el efecto del solvente estabiliza un isómero en particular sobre los demás, teniendo implicaciones relevantes sobre la reactividad y estabilidad de los sistemas que contienen vanadio implicado en funciones biológicas.

1.4 HIPÓTESIS

La hipótesis central de este proyecto consiste en descifrar posibles correlaciones empíricas entre los parámetros espectroscópicos de RMN del núcleo de ^{51}V y las estructuras moleculares de compuestos de proteína-vanadio. Esto implica calcular el desplazamiento químico en complejos proteína-vanadio los cuales no han sido obtenidos previamente. El cumplimiento de esta hipótesis permitirá utilizar en un futuro al vanadio como sonda biológica y establecer la identidad de los blancos moleculares de otros iones con propiedades estructurales que pueden ser sustituidos por vanadio.

1.5 OBJETIVOS

1.5.1 OBJETIVO GENERAL

Establecer una correlación entre desplazamiento químico en RMN del núcleo de ^{51}V y la estructura molecular en compuestos biológicos de vanadio por medio de cálculos mecánico-cuánticos, y utilizar las tendencias observadas para estudiar sitios biológicos de vanadio relacionados con diversas patologías.

1.5.2 OBJETIVOS PARTICULARES

1. Desarrollar una metodología de cálculo de parámetros para RMN de ^{51}V en base a la utilización de bases externas alternas a las del paquete Gaussian 09 y la implementación de un modelo de solvatación que permita tomar en cuenta el factor del potencial del hidrógeno.
2. Validar la metodología con tres series de nuevos compuestos de vanadio: derivados de bencimidazoles, péptidos y derivados del ácido iminodiacético.

CAPITULO II

FUNDAMENTOS TEÓRICOS

La química computacional que avanza rápidamente con el desarrollo de la computación, es una herramienta eficaz y útil en diversos campos de las ciencias. Esta rama de la ciencia, contiene diversas metodologías de estudio para calcular diversas propiedades fisicoquímicas de sistemas moleculares de tamaño variable. Por un lado, se tiene la teoría desarrollada a partir de la mecánica cuántica cuyo principal objetivo es la correcta descripción de las propiedades fisicoquímicas de sistemas relativamente pequeños (menos de 50 átomos). Por otro lado, está el modelaje de sistemas químicos de gran tamaño, como son las proteínas y que basan su desarrollo en la mecánica molecular, un caso especial de este tipo de cálculos es el que estudia el acoplamiento entre moléculas (*docking*).

A continuación se presentan los fundamentos teóricos en los que se basa el presente proyecto de tesis.

CALCULOS MECANOCUÁNTICOS

2.1. Ecuación de Schrödinger y Hamiltoniano molecular

El estado de una partícula microscópica se describe mediante una función denominada función de onda, la cual se obtiene a partir de la ecuación de Schrödinger. Para un sistema molecular la ecuación de Schrödinger tiene la forma:

$$\hat{H}\psi(\vec{r}, \vec{R}) = E\psi(\vec{r}, \vec{R}) \quad (2.1)$$

donde ψ (función de onda) es una función que depende de la posición de los electrones (\vec{r}) y núcleos (\vec{R}) en la molécula. Los símbolos \vec{r} y \vec{R} representan el conjunto de las componentes de los vectores que describen la posición de cada una de las partículas, electrones y núcleos respectivamente. \hat{H} es el operador Hamiltoniano y E es la energía del sistema [42].

El Hamiltoniano del sistema, omitiendo las interacciones *spin*-órbita y todas las interacciones magnéticas y relativistas, se escribe de la siguiente forma:

$$\begin{aligned} \hat{H} = & -\frac{1}{2} \sum_{i=1}^{elec} \left(\frac{\partial^2}{\partial^2 x_i} + \frac{\partial^2}{\partial^2 y_i} + \frac{\partial^2}{\partial^2 z_i} \right) - \frac{1}{2} \sum_{\mu=1}^{nucl} \left(\frac{\partial^2}{\partial^2 x_\mu} + \frac{\partial^2}{\partial^2 y_\mu} + \frac{\partial^2}{\partial^2 z_\mu} \right) \quad (2.2) \\ & + \sum_{\mu=1}^{nucleos} \sum_{\nu>1} \frac{Z_\mu Z_\nu}{|\vec{R}_\mu - \vec{R}_\nu|} - \sum_{\mu=1}^{nucl} \sum_{i=1}^{elec} \frac{Z_\mu}{|\vec{r}_i - \vec{R}_\mu|} + \sum_{i=1}^{elec} \sum_{j>i} \frac{1}{|\vec{r}_i - \vec{r}_j|} \end{aligned}$$

donde μ y ν se refieren a los núcleos, mientras i y j se refieren a los electrones.

En esta ecuación, las coordenadas de los núcleos y electrones están referidas a un origen de coordenadas fijo en el espacio. El primer término de esta ecuación es el operador correspondiente a la energía cinética de los electrones; el segundo término del operador para la energía cinética de los núcleos, el tercero representa las repulsiones entre los núcleos, siendo R_μ y R_ν los vectores de posición de los núcleos μ y ν de número atómico Z_μ y Z_ν ; el cuarto representa la energía potencial de las atracciones entre

los electrones y el núcleo, siendo r_i y R_μ los vectores de posición del electrón i y del núcleo μ ; el último término es el operador de energía potencial de repulsión entre pares de electrones, i y j .

De acuerdo con la mecánica cuántica, la energía y muchas propiedades del estado estacionario de una molécula se obtienen al resolver la ecuación de Schrödinger para lo cual se usan diferentes métodos que incluyen ciertas aproximaciones.

2.2. Métodos de estructura electrónica

Las energías y propiedades de un átomo o molécula en diferentes estados se pueden obtener al resolver la ecuación de Schrödinger correspondiente. La función de onda electrónica de una molécula poliatómica depende de varios parámetros (distancias de enlace, ángulos de enlace y ángulos diedros), la presencia de varios núcleos hace los cálculos mecanocuánticos más costosos computacionalmente que en el caso de sistemas atómicos y diatómicos.

El tratamiento teórico de una molécula poliatómica incluye el cálculo de la función de onda electrónica para un intervalo de cada uno de los parámetros. Las distancias, ángulos de enlace y ángulos diedrales de equilibrio se obtienen como aquellos valores que minimizan la energía electrónica incluyendo la repulsión nuclear. Los métodos de estructura electrónica se caracterizan por llevar a cabo ciertas aproximaciones matemáticas durante el proceso de minimización. Los tres métodos mecano-cuánticos más importantes para calcular las propiedades moleculares son: los métodos semiempíricos, los métodos *ab initio* y los métodos DFT [43].

Los métodos semiempíricos usan un Hamiltoniano más simple que el Hamiltoniano molecular correcto. Estos métodos son versiones simplificadas de la teoría de Hartree-Fock usando correcciones

empíricas, derivadas de datos experimentales, para su ejecución. Se hacen un número adicional de aproximaciones y correcciones parametrizadas para disminuir el tiempo de cálculo y corregir el modelo aproximado mecano-cuántico. Un método semiempírico particular se caracteriza por cómo está realizada esta parametrización.

En contraste un cálculo *ab initio*, también llamado de primeros principios, usa el Hamiltoniano correcto y no emplea otros datos experimentales que no sean los valores de las constantes físicas fundamentales (velocidad de la luz, masas y cargas del electrón y del núcleo, constante de Planck). A pesar de ser un cálculo basado en los principios fundamentales (leyes de la mecánica cuántica) emplea ciertas aproximaciones que hacen que no se pueda interpretar como un cálculo cien por ciento exacto.

Finalmente, los métodos basados en la DFT no calculan la función de onda molecular, sino la densidad de probabilidad electrónica molecular, ρ , calculando la energía electrónica molecular a partir de ρ , conteniendo la misma información que la función de onda.

La ventaja de los métodos DFT es que la densidad es una función de 3 variables, independientemente del número de partículas, a diferencia de la función de onda que depende de $3N$ variables para N partículas. La desventaja es que no se conoce la forma funcional para las energías de intercambio y correlación electrónica.

2.3. Teoría de funcionales de la densidad

La DFT considera que la energía molecular, la función de onda y todas las demás propiedades electrónicas, en el caso de moléculas con un estado fundamental no degenerado, se determinan unívocamente por la densidad de probabilidad electrónica del estado fundamental, $\rho_0(x,y,z)$, una función

de solamente tres variables. Por ello DFT calcula E_0 y otras propiedades moleculares a partir de la densidad electrónica del estado fundamental, ρ_0 . El punto de partida para su aplicación química son los teoremas de Hohenberg y Kohn [44-45].

El primer teorema de Hohenberg y Kohn postula que la energía electrónica del estado fundamental E_0 queda totalmente determinada por la densidad electrónica, ρ_0 , es decir:

$$E_0 = E_0[\rho_0] \quad (2.3)$$

El segundo teorema de Hohenberg y Kohn establece que la verdadera densidad electrónica del estado fundamental ρ_0 minimiza el funcional de energía $E_0[\rho']$ igual que la verdadera función de onda normalizada del estado fundamental minimiza la integral variacional:

$$E_0[\rho'] \geq E_0[\rho_0] \quad \text{si} \quad \rho' \neq \rho_0 \quad (2.4)$$

Puesto que la energía es un funcional de la densidad, se puede afirmar que sus componentes también lo son:

$$E_0[\rho_0] = T[\rho_0] + E_{ee}[\rho_0] + E_{en}[\rho_0] + V_{nn} \quad (29)$$

donde T es la energía cinética electrónica, E_{ee} y E_{en} son las interacciones electrón-electrón y electrón-núcleo, respectivamente, y V_{nn} representa la repulsión internuclear.

Esta expresión se puede dividir en la parte dependiente del sistema, que contempla la atracción electrón-núcleo E_{en} (en la que intervienen las coordenadas específicas de los núcleos) y la independiente con validez universal que se representa como F_{HK} y define el llamado *funcional de Hohenberg-Kohn*:

$$F_{HK}[\rho_0] = T[\rho_0] + E_{ee}[\rho_0] \quad (30)$$

Si se conociera (30), se podría resolver de manera exacta la ecuación de Schrödinger, sin embargo, el problema estriba en que este funcional no es conocido.

El término de interacción electrón-electrón, $E_{ee}[\rho_0]$, del funcional se puede dividir dos términos, uno para la interacción clásica de Coulomb de la densidad electrónica consigo misma, $J[\rho_0]$, y otro para el resto de las interacciones no clásicas (intercambio, correlación o corrección a la autointeracción):

$$E_{ee}[\rho_0] = J[\rho_0] + E_{xc}[\rho_0] \quad (31)$$

La energía total queda como:

$$E_0[\rho_0] = E_{en}[\rho_0] + V_{nn} + J[\rho_0] + (T[\rho_0] + E_{xc}[\rho_0]) \quad (32)$$

donde los términos dentro del paréntesis, funcional de energía cinética y funcional de intercambio-correlación, se evalúan de acuerdo a distintos modelos.

La teoría DFT introduce las ecuaciones de Kohn y Sham [46], en este formalismo el término de energía cinética se calcula de forma exacta para un conjunto de N electrones no interaccionantes cada uno descrito por un orbital Ψ_i de forma que:

$$T = \sum_{i=1}^N \left\langle \Psi_i \left| -\frac{1}{2} \nabla^2 \right| \Psi_i \right\rangle \quad (33)$$

Se considera que la energía cinética que no se tiene en cuenta se incorpora en el término de intercambio-correlación, E_{xc} .

El problema en DFT es derivar las fórmulas para el término E_{xc} el cual se considera como la suma de un término de intercambio y otro de correlación:

$$E_{xc}[\rho_0] = E_x[\rho_0] + E_c[\rho_0] \quad (34)$$

Aplicando variaciones para minimizar la energía en función de los orbitales, se llega a las **ecuaciones de Kohn-Sham** [47], que se resuelven mediante el método SCF. El tiempo de un cálculo DFT es similar al de un cálculo HF, con la ventaja de incluir la energía de correlación.

Los métodos DFT se clasifican según el método utilizado para calcular el término de intercambio-correlación [48] en:

Métodos de densidad local

En los métodos de densidad local (LDA, por sus siglas en inglés) se considera que si ρ varía de forma extremadamente lenta con la posición, entonces $E_{xc}[\rho]$ estará dada con precisión por la ecuación:

$$E_{xc}^{LDA}[\rho] = \int \rho(\mathbf{r}) \varepsilon_{xc}(\rho) d\mathbf{r} \quad (35)$$

donde la integral se extiende en todo el espacio y $\varepsilon_{xc}(\rho)$ es la energía de intercambio más la correlación por electrón en un gas de electrones homogéneo con densidad electrónica ρ .

Dentro de estos métodos existe la denominada *aproximación densidad de spin local* (LSDA, por sus siglas en inglés). La diferencia entre estas dos aproximaciones es que en la LDA se considera que los electrones con *spin* opuesto, apareados entre sí, tienen el mismo orbital espacial, mientras que en la LSDA se

considera que dichos electrones tienen diferentes orbitales espaciales. Así, E_{xc}^{LDA} depende solamente de ρ y E_{xc}^{LSDA} depende de ρ^α y ρ^β (densidad electrónica debida a los electrones α y β , respectivamente).

Métodos $X\alpha$

La siguiente aproximación para el cálculo de E_{xc} es a través del **método $X\alpha$** (la X corresponde a la energía de intercambio). En este método se omite la contribución de la correlación a E_{xc} la cual es sustancialmente menor en magnitud que la contribución de intercambio. La contribución de intercambio se considera como:

$$E_{xc} \approx E_x^{X\alpha} = -\frac{9}{8} \left(\frac{3}{\pi}\right)^{1/3} \alpha \int [\rho(\mathbf{r})]^{4/3} d\mathbf{r} \quad (36)$$

donde α es un parámetro ajustable. El método $X\alpha$ genera resultados no muy exactos para cálculos moleculares, por lo que ha sido substituido por mejores aproximaciones a E_{xc} . Este método fue desarrollado por Slater como una aproximación al método de HF pero se considera como un caso especial de DFT [49-50].

Métodos del gradiente corregido

Estos funcionales a diferencia del LDA y LSDA, que varían lentamente con la posición, buscan corregir esta aproximación para la variación de la densidad electrónica con la posición, incluyendo los gradientes de ρ^α y ρ^β en el integrando:

$$E_{xc}^{GGA}[\rho^\alpha, \rho^\beta] = \int f[\rho^\alpha(\mathbf{r}), \rho^\beta(\mathbf{r}), \nabla\rho^\alpha(\mathbf{r}), \nabla\rho^\beta(\mathbf{r})] d\mathbf{r} \quad (37)$$

donde f es una función de las densidades de *spin* y sus gradientes. Este método recibe el nombre de *aproximación del gradiente generalizado o corregido* (GGA, *Generalized Gradient Approximation*).

Usualmente en la E_{xc}^{GGA} se modelan separadamente la parte de intercambio y correlación. Algunos funcionales GGA que se usan comúnmente son PW86 [51], B88 [52] y PWx91[53].

Métodos híbridos

Los funcionales híbridos incluyen una mezcla de intercambio de Hartree-Fock con intercambio-correlación DFT. Se considera que se obtiene un valor exacto del término de intercambio mediante el método HF, E_x^{HF} , con un determinante de Slater si no hay interacción interelectrónica y se aproxima el valor de E_x y E_c con una expresión adecuada de los funcionales, obteniendo una expresión para la parte de intercambio y otra para la correlación. Las dos expresiones se combinan como una suma de parámetros que se eligen al ajustarse adecuadamente a datos experimentales. Uno de los funcionales híbridos más utilizados es el B3LYP, que contiene tres parámetros funcionales de intercambio de Becke, usualmente abreviado como *B*, este funcional ha corregido el comportamiento asintótico de la densidad de energía a gran distancia e incorpora un único parámetro empírico; y el funcional de correlación de Lee-Yang-Parr (LYP) [54-55]:

$$E_{ci}^{B3LYP} = (1 - a_0 - a_i)E_i^{LSDA} + a_0E_i^{exacto} + a_iE_i^{B88} + (1 - a_c)E_c^{VWN} + a_cE_c^{LYP} \quad (38)$$

donde E_i^{exacto} es E_x^{HF} y donde los parámetros a_0 , a_i y a_c se eligieron de un ajuste a las energías de atomización molecular experimentales. De los funcionales híbridos modernos, B3LYP es el más popular hasta la fecha, debido a que su rendimiento y exactitud son suficientemente buenos en la mayoría de cálculos.

En la actualidad los métodos DFT híbridos son extensivamente utilizados, ya que han probado dar resultados exactos por una amplia variedad de sistemas moleculares orgánicos y son computacionalmente asequibles.

Los métodos híbridos incluyen una mezcla de intercambio de Hartree-Fock con intercambio – correlación DFT. Se considera que se obtiene un valor exacto del término de intercambio mediante el método HF, con un determinante de Slater si no hay interacción interelectrónica y se aproxima el valor de la correlación con una expresión adecuada de los funcionales, obteniendo una expresión para la parte de intercambio y otra para la correlación. Las dos expresiones se combinan como una suma de parámetros que se eligen al ajustarse adecuadamente a datos experimentales. Uno de los funcionales híbridos más utilizados es el B3LYP, que contiene tres parámetros funcionales de intercambio de Becke y el funcional de correlación de Lee-Yang-Parr (LYP) [56-57]. Los resultados que se obtienen para valores en equilibrio usando el funcional B3LYP son muy precisos. Otros funcionales híbridos que se utilizan comúnmente son mPW1PW91 [58], PBE1PBE o PBE0 [59], los funcionales híbridos de Truhlar y Zhao (M06, M06HF, M062X) [60] y funcionales corregidos de largo alcance (LC, *Longe-Correction*) [61].

2.4. Funciones de base

Un conjunto de base es un grupo de funciones utilizadas para describir la forma de los orbitales en el átomo. Los orbitales moleculares y la función de onda son creadas tomando una combinación lineal de funciones base y funciones angulares. La combinación lineal de orbitales atómicos (CLOA) utilizada como función de base para átomos en moléculas tiene como principio construir un conjunto de base útil

para la solución de la ecuación de Schrödinger. Fundamentalmente se utilizan dos tipos de funciones de base atómicas:

Las funciones de tipo Slater (STO) (Slater-Type Orbitals) tienen la forma:

$$X^{STO} = N r^{n-1} e^{-\zeta r} Y_{lm}(\Theta, \Phi) \quad (2.5)$$

donde N es la constante de normalización, ζ es la constante denominada exponente del orbital y determina el tamaño del mismo, r es la distancia electrón-núcleo, n es el número cuántico principal e Y_{lm} es un armónico esférico. Estas funciones proporcionan una descripción razonable de los orbitales atómicos, aunque el cálculo de las integrales bielectrónicas es muy lento [62].

Las funciones de tipo Gaussianas (GTO) (Gaussian-Type Orbitals) introducidas por Boys, exhiben un conjunto de propiedades que las hacen muy adecuadas para la realización de cálculos moleculares, tienen la forma:

$$X^{GTO} = N x^l y^m z^n e^{-\alpha r^2} \quad (2.6)$$

donde α es el exponente de la gaussiana. $L=l+m+n$, a través de los distintos valores que puede tomar, da nombre a las distintas funciones: con $L=0$ se tiene una función s , con $L=1$ una función p , con $L=2$ una función tipo d , etc. [63].

Las funciones gaussianas son una representación menos precisada los orbitales atómicos pero se reduce el cálculo de integrales moleculares, lo cual es menos costoso a evaluar.

Algunos tipos de funciones de bases más utilizadas son:

Base mínima

Un conjunto de base mínimo contiene el número mínimo de funciones de base requeridas por cada átomo para describir sus orbitales de valencia. Es decir, la dimensión del conjunto es igual al número de orbitales atómicos de todas las capas de los átomos individuales aislados. Esta base usa orbitales atómicos de tamaño fijo, y se denota como STO-NG. Aquí N indica la contracción de N gaussianas primitivas para cada función de base u orbital de Slater. Los coeficientes y exponentes de la contracción se eligen para que la contracción se aproxime al orbital de Slater. Como ejemplo, se tiene el conjunto de base STO-3G, que es la más común de las bases mínimas. Ésta usa tres gaussianas primitivas por función de base (3G) por cada función STO. En general este tipo de bases requieren poco tiempo de cálculo y se pueden utilizar para moléculas grandes, pero los resultados obtenidos no son precisos [64].

Base extendidas o *split-valence*

Las bases extendidas o *split-valence* usan más de una función para representar un orbital atómico. El uso de dos funciones de base para cada orbital se denomina conjunto de base *doble Z*. Si se usan tres, *triple Z* y así sucesivamente. Si el desdoblamiento de la base se restringe solo a la capa de valencia, el conjunto de funciones de base se denomina de capa de valencia desdoblada (*split-valence*).

La denominación de una base *split-valence doble Z* según nomenclatura de Pople [65] es L-MNG, que consiste en utilizar una contracción de L gaussianas primitivas para los orbitales internos o de core y dos gaussianas contraídas para los orbitales de valencia, siendo la primera de M gaussianas primitivas y la segunda de N gaussianas primitivas. Algunas de las bases existentes son: 3-21G [66-67], 4-31G [68], 5-31G [69] o 6-31G [70].

Una mejora de las bases *split valence* es añadir a la base funciones de polarización. Las funciones de polarización permiten cambiar la forma de los orbitales aumentando la flexibilidad y permitiendo una mayor deformación de la nube electrónica de los átomos en el campo de la molécula. Se utilizan funciones de base tipo-*p* para los átomos de hidrógeno y orbitales tipo-*d* para los átomos pesados [71]. Cuando se añaden funciones de tipo *d* a la base, en la nomenclatura se indica como L-MNG(*d*), o bien L-MNG*. Si además, se añaden orbitales *p*-, se denota como L-MNG (*d,p*), o L-MNG**.

Las bases con funciones difusas incluyen funciones de tipo *p* y *s* en las bases extendidas. Las funciones difusas se utilizan para que los orbitales ocupen una región del espacio más grande y son útiles en sistemas donde los enlaces son débiles, como es el caso de enlaces por puente de hidrógeno y donde los electrones están lejos de los núcleos, como los aniones. Las funciones difusas se representan por un signo + en la función [72].

Los átomos metálicos y metaloides se tratan de manera diferente, ya que el número de electrones se incrementa. La función de base que se usó para el cálculo del átomo de Van der Waals es el potencial de *core* efectivo propuesto por Hay y Wadt [73] llamado LANL2DZ. Los pseudo potenciales son un modelo para sustituir un potencial por los electrones de *core* del elemento y obtener una mejor aproximación.

2.5. Hipersuperficie de energía potencial

En el marco de la aproximación de Born-Oppenheimer el potencial V para el movimiento de los núcleos queda definido por la energía total de la molécula. Como este potencial V depende de las posiciones de los núcleos, se tiene una función de varias variables. La geometría de una molécula con N núcleos se define mediante $3N-6$ coordenadas nucleares independientes y el potencial V es una función de esas coordenadas. La función de potencial V define lo que se llama superficie, o hipersuperficie, de energía potencial (PES, Potential Energy Surface) de la molécula.

Existen muchos algoritmos para encontrar un mínimo local de una función de varias variables. Aplicadas a la función V estos procedimientos encuentran el mínimo local más próximo a la geometría inicial. El proceso de obtención de tal mínimo se denomina optimización de la geometría o minimización de la energía. Una optimización de geometría comienza en estructura molecular especificada que se mueve a lo largo de la superficie de energía potencial.

Dada una función de varias variables $f(q_1, q_2, \dots, q_n)$, las primeras derivadas con respecto a cada una de las variables forman un vector que se denomina gradiente:

$$\nabla f(q_\alpha) = \frac{\partial f(q_\alpha)}{\partial q_\alpha} \quad \forall \alpha \rightarrow \vec{\nabla} = (\nabla_1 + \nabla_2, \dots, \nabla_n) \quad (2.7)$$

Matemáticamente, si las primeras derivadas con respecto a todas las variables son cero aparece un punto crítico o punto estacionario:

$$\frac{f(q_\alpha)}{\partial q_\alpha} = 0 \quad \forall \alpha \quad (2.8)$$

Por otro lado, las segundas derivadas de la función con respecto a todas las coordenadas forman una matriz denominada Hessiano:

$$h_{\alpha\beta} = \frac{\partial^2 f(q_\alpha)}{\partial q_\alpha \partial q_\beta} = 0 \quad \forall \alpha, \beta \rightarrow \mathbf{H} = \begin{bmatrix} h_{11} & h_{12} & \dots & h_{1n} \\ \vdots & \vdots & 0 & \vdots \\ h_{n1} & h_{n2} & 0 & h_{nn} \end{bmatrix} \quad (2.9)$$

Los puntos críticos sobre la superficie pueden ser mínimos, máximos o puntos de silla y se caracterizan por los valores propios del Hessiano. Los mínimos son puntos críticos donde el hessiano es positivo, es decir, con todos sus valores propios mayores que cero. En una PES pueden aparecer varios mínimos que corresponden a estructuras de equilibrio. Un mínimo puede ser un mínimo local lo que significa que este es el punto más bajo en alguna región limitada de la PES, o puede ser el mínimo global lo que implica que es el punto de energía más bajo en toda la superficie. Los máximos son puntos críticos donde el hessiano es negativo, es decir, con todos sus valores propios menores que cero. Al igual que en el caso de los mínimos, se pueden tener varios máximos sobre la PES, de los cuales uno de ellos es el máximo absoluto y los demás son máximos locales. Los puntos de silla son puntos en la superficie que son máximos en algunas direcciones y mínimos en las demás. En particular, un punto de silla de primer orden, donde el orden indica el número de dimensiones en los cuales el punto de silla es un máximo, puede corresponder con un estado de transición en un sistema molecular. En tal caso aparece un único valor

propio negativo en el hessiano. La figura 2 ilustra los puntos críticos sobre una superficie multidimensional.

La determinación de los puntos mínimos sobre la hipersuperficie de energía potencial es de interés especial para un estudio conformacional. Existen muchos algoritmos para encontrar mínimos de una función de varias variables. Si se aplica uno de ellos sobre la función potencial se dice que se realiza una optimización de la geometría o minimización de la energía [74].

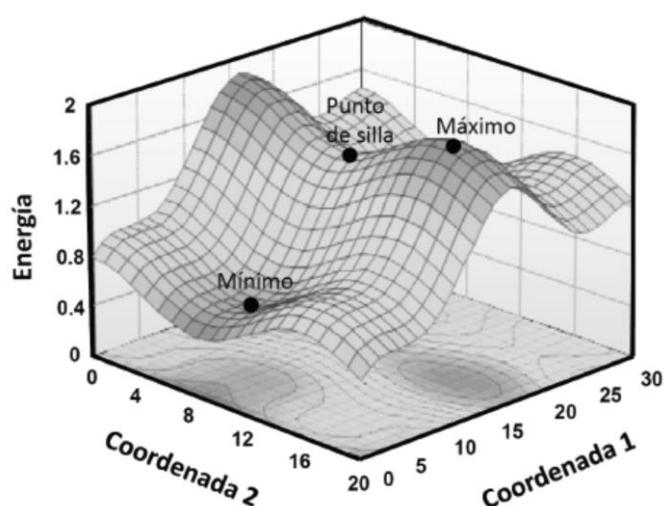


Figura 2. Superficie de energía potencial multidimensional.

MÉTODOS PARA EL CÁLCULO DE LOS ESPECTROS DE RMN

La Resonancia Magnética Nuclear (RMN) consiste en la absorción de radiación electromagnética de una muestra bajo ciertas condiciones en un campo magnético en cierta radio frecuencia. La absorción es una función de un núcleo en la molécula.

Todos los núcleos tienen una carga, la circulación de esta carga nuclear de *spin* genera un dipolo magnético a lo largo del eje nuclear. El momento angular de la carga de *spin* se puede describir en términos del número cuántico de *spin*, I , con valores de 0, 1/2, 1, 3/2, etc., donde $I=0$ denota la ausencia

de *spin* nuclear. La magnitud intrínseca del dipolo generado se expresa en términos del momento magnético nuclear, μ . El número de *spin* I se puede determinar a partir de la masa atómica y el número atómico del núcleo.

Un núcleo con número atómico o número de masa impar tiene *spin nuclear* de $1/2$. En ausencia de un campo magnético externo los *spin* nucleares se orientan al azar, pero al colocarlos entre los polos de un magneto adoptan orientaciones específicas, se alinean de forma paralela o antiparalela al campo externo aplicado. El estado de orientación paralela es menor en energía y se favorece sobre la orientación antiparalela. Si se aplica radiación electromagnética de la frecuencia apropiada a los núcleos orientados ocurre una absorción de energía y el estado de menor energía cambia de orientación al estado de mayor energía, se dice entonces que el núcleo está en resonancia con la radiación aplicada.

Al aplicar el campo magnético externo a una molécula los electrones que se mueven alrededor de los núcleos crean su propio campo magnético local, el cual actúa en oposición al campo externo, el campo efectivo que sienten los núcleos es más débil que el campo aplicado y se dice que los núcleos están protegidos. Cada núcleo en la molécula tiene un ambiente electrónico diferente, en consecuencia es protegido en diferente medida y siente un campo efectivo diferente. Así la frecuencia de absorción no es la misma para todos los ^1H de una molécula y es posible ver diferentes señales en un espectro de RMN de ^1H .

Una gráfica de las frecuencias de los picos de absorción contra las intensidades constituye un espectro de RMN. El desplazamiento químico depende directamente de una constante de apantallamiento, σ . Se sabe que el campo magnético de los electrones generalmente se opone al campo magnético β aplicado y es proporcional a éste. La contribución electrónica al campo magnético en un núcleo es $-\sigma\beta$, donde la constante de proporcionalidad es la constante de apantallamiento

Para calcular los espectros de RMN teóricamente se usa un Hamiltoniano efectivo de la forma:

$$H^{RMN} = - \sum_K \mathbf{B}^T (1 - \sigma_K) \mathbf{m}_K + \frac{1}{2} \sum_{K \neq L} \mathbf{m}_K^T (\mathbf{D}_{KL} + \mathbf{K}_{KL}) \mathbf{m}_L \quad (47)$$

donde σ_K es el tensor de constantes de apantallamiento, \mathbf{K}_{KL} es el tensor de constantes de acoplamiento indirecto *spin-spin* (acoplamiento por polarización) y D_{KL} es el tensor de constantes de acoplamiento directo *spin-spin* (acoplamiento a través del espacio). Todos los efectos relacionados con la estructura electrónica están contenidos en σ_K y K_{KL} .

Las constantes de apantallamiento se tratan como modificaciones al campo magnético externo. Dicha modificación se debe al campo generado por los electrones que se mueven en torno al núcleo, de tal forma que:

$$\mathbf{B}_K^{loc} = (1 - \sigma_K) \mathbf{B} \quad (48)$$

En medio isotrópico (donde las moléculas rotan libremente) el Hamiltoniano efectivo tiene la siguiente forma:

$$H_{iso}^{NMR} = - \sum_K B (1 - \sigma_K) m_{K,Z} + \frac{1}{2} \sum_{K \neq L} K_{KL} m_K^T m_L \quad (49)$$

En este caso σ_K y K_{KL} son las trazas de los tensores σ_K y \mathbf{K}_{KL} , respectivamente:

$$\sigma_K = \frac{1}{3} Tr \sigma_K \quad (50)$$

$$K_{KL} = \frac{1}{3} Tr \mathbf{K}_{KL} \quad (51)$$

σ_K está relacionado con los desplazamientos químicos, δ_K , según la siguiente ecuación:

$$\delta_K = \frac{\sigma_K(referencia) - \sigma_K(muestra)}{1 - \sigma_K} \cong \sigma_K(referencia) - \sigma_K(muestra) \quad (52)$$

Existen varios métodos para el cálculo de tensores de apantallamiento de RMN, sin embargo, para predecir propiedades magnéticas de manera precisa se requiere de procedimientos de *gauge* invariante en los cuales el campo magnético aparece en el Hamiltoniano en forma de un vector potencial cuyo origen debe estar fijo. Algunos de estos procedimientos, tanto a nivel HF como DFT, son el método GIAO [75-80], el método CSGT [81] y el método IGAM [82].

El método GIAO (*Gauge-Including Atomic Orbital*) usa funciones de base que tienen dependencia explícita con el campo, mientras que el método CSGT (*Continuous Set of Gauge Transformations*) logra la invariancia de *gauge* ejecutando un conjunto de transformaciones *gauge*, una para cada punto en el espacio real, obteniendo una descripción precisa con lo cual se pueden determinar tensores de apantallamiento. Por otra parte, el método IGAIM (*Individual Gauges for Atoms in Molecules*) trata a las moléculas en base al modelo del átomo topológico de Bader [83], de tal manera que los apantallamientos se descomponen en contribuciones de densidad electrónica provenientes de cada esfera atómica en la molécula.

El método CSGT es una mejora del método IGAIM por lo cual a continuación se describen solamente los fundamentos de los métodos GIAO y CSGT, en cuanto al método IGAIM únicamente se precisa la diferencia con respecto al método CSGT.

El conjunto de base que usa el método GIAO es el siguiente:

$$\chi_{\mu}(\vec{\mathbf{B}}) = \exp\left[-\frac{i}{2c}(\vec{\mathbf{B}} \times \vec{\mathbf{R}}_{\mu}) \cdot \vec{r}\right] \chi_{\mu} \vec{\mathbf{O}} \quad (53)$$

donde $\vec{\mathbf{R}}_{\mu}$ es el vector posición de la función base χ_{μ} y $\chi_{\mu} \vec{\mathbf{O}}$ denota las funciones de base dependientes del campo magnético externo.

La derivada con respecto a la dirección del campo magnético i de una función de base dependiente del campo es:

$$\chi_{\mu}^{B_i} = -\frac{i}{2c} (\vec{R}_{\mu} \times \vec{r})_i \chi_{\mu} \vec{O} \quad (54)$$

Definiendo $\vec{R}_{\mu\nu} = \vec{R}_{\mu} - \vec{R}_{\nu}$, las derivadas de las matrices de traslape \mathbf{S} y del Hamiltoniano \mathbf{h} , con respecto al campo magnético externo en la base de orbitales atómicos son:

$$\mathbf{S}_{\mu\nu}^{B_i} = -\frac{i}{2c} (\vec{R}_{\mu\nu} \times \vec{r})_i \langle \chi_{\mu} | \chi_{\nu} \rangle \quad (55)$$

$$\mathbf{h}_{\mu\nu}^{B_i} = \langle \chi_{\mu}^{B_i} | \hat{\mathbf{h}} | \chi_{\nu} \rangle + \langle \chi_{\mu} | \hat{\mathbf{h}}^{B_i} | \chi_{\nu} \rangle + \langle \chi_{\mu} | \hat{\mathbf{h}} | \chi_{\nu}^{B_i} \rangle$$

donde la derivada del operador Hamiltoniano es:

$$\hat{\mathbf{h}}^{B_i} = -\frac{i}{2c} (\vec{r} \times \nabla)_i \quad (56)$$

Por otra parte, el método CSGT calcula la densidad de corriente eléctrica inducida de primer orden, esto se logra introduciendo la función $d(\vec{r})$, la cual es el desplazamiento del origen *gauge* y se define como una función del campo del espacio real.

La expresión para la densidad de corriente para un campo magnético aplicado a lo largo del eje x usando un conjunto continuo de transformaciones *gauge* es:

$$\begin{aligned} \mathbf{J}^{(1)}(\vec{r}) = & \frac{1}{c} \sum_{i=1}^{n/2} B [\psi_i^* \hat{\mathbf{p}} \psi_i^{L_x} + \psi_i^{*L_x} \hat{\mathbf{p}} \psi_i - d_y(\vec{r}) (\psi_i^* \hat{\mathbf{p}} \psi_i^{P_z} + \psi_i^{*P_z} \hat{\mathbf{p}} \psi_i) \\ & + d_z(\vec{r}) (\psi_i^* \hat{\mathbf{p}} \psi_i^{P_y} + \psi_i^{*P_y} \hat{\mathbf{p}} \psi_i)] \vec{B}(\vec{r} - d(\vec{r})) \rho(\vec{r}) \end{aligned} \quad (57)$$

donde ρ es la densidad electrónica, $\hat{\mathbf{p}} = -i\nabla$ y los orbitales ψ_i , ψ_i^L y ψ_i^P se definen como:

$$\psi_i = \sum_{\mu} c_{\mu i} \chi_{\mu}$$

$$\psi_i^L = \sum_{\mu} c_{\mu i}^L \chi_{\mu} \quad (58)$$

$$\psi_i^p = \sum_{\mu} c_{\mu i}^p \chi_{\mu}$$

En la ecuación (58), $c_{\mu i}$ son los coeficientes de expansión de los orbitales moleculares y los superíndices L y p denotan las derivadas con respecto a las perturbaciones de momento angular y momento lineal, respectivamente.

Si $d(\vec{r})$ es una constante en la ecuación (57) se obtiene el método *Single Origin* [84], el cual es otro método de aproximación para el cálculo de tensores de apantallamiento de RMN que usa un solo origen de *gauge*, pero que en general no produce buenos resultados [85].

Por último cabe precisar que la diferencia entre el método IGAIM y el método CSGT es que el método IGAIM usa orígenes de *gauge* centrados en los átomos para calcular la corriente de densidad dentro de la esfera de un solo átomo mientras que el método CSGT usa un *gauge* diferente para cada posición donde se calcula la corriente inducida.

CAPITULO III

METODOLOGÍA

A continuación se describe la metodología utilizada en el presente trabajo:

Estudio conformacional.

Se realizó un estudio conformacional de una series de compuestos de vanadio coordinados con péptidos utilizando el paquete **Gaussian 09**. No existe reporte de su estructura cristalizada para los compuestos elegidos.

Para cada uno de los compuestos estudiados se construyó la matriz-Z en coordenadas internas. Se llevaron a cabo cálculos de estructura electrónica en su estado electrónico fundamental usando la teoría del funcional de la densidad (DFT) a nivel B3LYP [30-31]. En dichos complejos el V se encuentra en su estado de coordinación de +5.

Para el átomo de vanadio se usa un pseudopotencial del tipo Wadt-Hay relativista de core efectivo para sustituir a los electrones del core interno y representar de forma explícita a los 13 electrones del core externo, para tal fin se usa el conjunto de base Lanl2dz [32]. Para los átomos ligeros se utilizó el conjunto de base 6-31+G(d) [33]. Las geometrías se optimizaron completamente sin restricciones de simetría.

Todos los cálculos se realizaron tanto en **fase gas** como en **disolución**. Los cálculos que incluyeron el efecto del disolvente se realizaron con el modelo de continuo polarizable PCM [36,37], usando como disolvente el D₂O ($\epsilon=88$) y DMSOd6 ($\epsilon=46.7$). Bajo esta aproximación, la cavidad se crea a través de una serie de esferas sobrepuestas. Cada vez que se realiza el cálculo del Campo Auto Consistente (SCF), se

calcula el campo de reacción debido a los campos electrostáticos de la función de onda del soluto. Este campo de reacción se incluye en el operador de Fock con el fin de calcular los orbitales de la función de onda del funcional de densidad del soluto.

Cálculos espectroscópicos

Cálculos de IR

Una vez obtenidas las conformaciones más estables para cada compuesto se calcularon los **espectros IR** de ^1H , ^{13}C y ^{51}V de cada uno de los compuestos y **RMN** para el caso de los compuestos de V(V). Las frecuencias vibracionales se calcularon usando el mismo pseudopotencial y el mismo conjunto de funciones de base en todos los átomos para obtener los espectros de IR. Los mínimos de energía se verificaron con los valores de las frecuencias mayores a cero. Estas frecuencias se escalaron usando un factor de 0.9600 [34].

Cálculos de ^1H , ^{13}C y ^{51}V RMN

Para la asignación unívoca de los desplazamiento químicos de ^{51}V -RMN, ^{13}C -RMN y ^1H -RMN se empleó el método GIAO [35] implementado en Gaussian 09 sobre las geometrías optimizadas. GIAO es un método capaz de reproducir en una buena aproximación los resultados experimentales.

3.2 Equipo computacional

Todos los cálculos se realizarán con la infraestructura computacional y de software que se encuentra disponible en el Laboratorio de Química Teórica (LabQT) de la Facultad de Ciencias Químicas de la BUAP.

Actualmente el laboratorio LabQT cuenta con un cluster de 17-nodos Opteron 64 biprocesadores de los cuales 5 tienen 2 MB de RAM y discos de 120 GB, mientras 5 nodos cuentan solamente con 1 GB de RAM y discos de 40 GB, los 7 nodos restantes no cuentan por el momento con memoria RAM ni discos duros.

Además, en el laboratorio LabQT el laboratorio también cuenta con una supercomputadora Ultra Sun con 4 procesadores de 450 MHz, por procesador Ultra-12 258 Mb de RAM y 3 discos duros de 16 Gb. Sistema operativo SOLARIS. Igualmente con 5 PC's Dell multiprocesador y 7 PC's, en todos los equipos se encuentra instalado el software necesario para llevar a cabo los cálculos de estructura electrónica molecular y RMN de los compuestos de vanadio con propiedades farmacológicas que se mencionan en los objetivos.

Programas y equipos

Se usaron los siguientes programas de cálculo en la realización del presente trabajo: Gaussian 09, GaussView, Chemcraft.

El programa Gaussian contiene una jerarquía de procesos dependiendo de los diferentes métodos de aproximación implementados, comúnmente referidos como niveles de cálculo o niveles de teoría, además de definir el conjunto de base como una representación analítica de los orbitales en una molécula[]. Así el conjunto base representa la localización de cada uno de los electrones en una región

particular del espacio. Por tal motivo, a medida que se alarga la base existe más flsí el conj para describir los electrones y en consecuencia los orbitales moleculares pueden obtenerse con una mejor aproximación. Se debe considerar que cuando se decide expandir la base, el programa necesitará más recursos computacionales.

CAPITULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los cálculos se realizaron para los tres complejos, **GH**, **GGH** y **GHG**, los cuales fueron previamente sintetizados a partir de los péptidos mediante la reacción con V_2O_5 y NH_4OH [59]. Los resultados se dividen en dos partes: 1) el análisis de las estructuras moleculares en fase gas e incluyendo el efecto de los disolventes D_2O y $DMSOd_6$, 2) el estudio espectroscópico de IR, RMN- 1H , RMN- ^{13}C y RMN- ^{51}V en fase gas y disolución.

4.1. Estructuras moleculares

En la Tabla 1 se reportan los parámetros optimizados de los complejos **GH**, **GGH** y **GHG** en fase gas y con los disolventes D_2O y $DMSOd_6$ obtenidos en el nivel de teoría B3LYP/6-31+G(d) y usando la base Lanl2dz [60-62] empleando un potencial de core efectivo (ECP) para el átomo de vanadio.

La convención numérica y símbolos de los átomos incluidos en el grupo $[VO(O_2)_2(H_2O)]^-$ coordinado con el anillo de imidazol se muestran en la Figura 4. Las geometrías iniciales de los complejos **GH**, **GGH** y **GHG**, se obtuvieron a partir de los rayos-X del ion bis-peroxo oxovanadato [63], así como de estudios teóricos del ion en coordinación con histidina [64-66].

En general, para los tres complejos, los valores de las distancias de enlace, los ángulos de valencia y los ángulos diedros no mostraron diferencias significativas con los parámetros

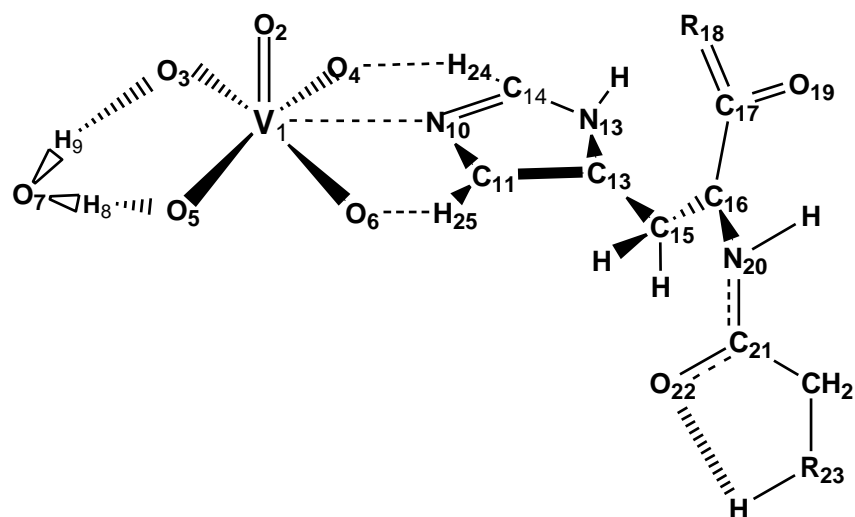
previamente reportados para otros complejos de vanadio similares [65-66]. Por lo tanto, se confirma que la metodología usada en este estudio es la adecuada para realizar los cálculos de este tipo de moléculas [67].

Tabla 1. Parámetros geométricos optimizados de las estructuras de equilibrio de los complejos **GH**, **GGH** y **GHG** en el nivel B3LYP/6-31+G(d) y la base Lanl2DZ. La convención numérica se muestra en la Figura 4. Longitudes de enlace en Å y ángulos en grados.

Parámetros	Disolución								
	Fase gas			D ₂ O			DMSO ₆		
	GH	GGH	GHG	GH	GGH	GHG	GH	GGH	GHG
<i>Enlaces</i>									
V1=O2 ^a	1.599	1.592	1.599	1.602	1.603	1.603	1.602	1.603	1.603
V1-O3 ^a	1.895	1.894	1.893	1.901	1.898	1.897	1.901	1.898	1.897
V1-O4 ^a	1.857	1.867	1.858	1.861	1.863	1.863	1.860	1.863	1.863
O3-O4 ^a	1.444	1.426	1.444	1.446	1.445	1.445	1.446	1.445	1.445
O5-O6 ^a	1.445	1.424	1.445	1.446	1.447	1.446	1.446	1.447	1.446
V1-N10 ^a	2.167	2.141	2.165	2.127	2.121	2.122	2.128	2.122	2.123
O4-H16 ^a	2.497	2.432	2.444	2.469	2.397	2.408	2.475	2.397	2.408
O6-H17 ^a	2.358	2.486	2.432	2.450	2.699	2.551	2.445	2.968	2.548
N10-C11	1.374	1.378	1.373	1.383	1.384	1.383	1.383	1.384	1.383
C11-C12	1.374	1.374	1.375	1.374	1.375	1.375	1.374	1.375	1.375
C12-N13	1.386	1.382	1.386	1.381	1.381	1.381	1.381	1.381	1.381
N10-C14	1.322	1.352	1.323	1.331	1.331	1.332	1.331	1.331	1.332
C12-C15	1.495	1.498	1.495	1.499	1.499	1.500	1.500	1.500	1.500
C15-C16	1.553	1.554	1.555	1.557	1.559	1.557	1.557	1.560	1.557
C16-C17	1.581	1.578	1.563	1.568	1.565	1.564	1.568	1.565	1.564
C17-R18	1.242	1.256	1.295	1.262	1.268	1.310	1.262	1.267	1.310
C17-O19	1.273	1.260	1.289	1.257	1.257	1.274	1.257	1.257	1.274
C16-N20	1.475	1.466	1.473	1.471	1.459	1.469	1.471	1.459	1.470
N20-C21	1.284	1.324	1.283	1.299	1.342	1.297	1.298	1.341	1.297
C21-O22	1.314	1.246	1.315	1.298	1.241	1.300	1.298	1.241	1.300

CH ₂ -R23	1.464	1.456	1.464	1.463	1.452	1.463	1.463	1.452	1.463
O3-H9	1.988	2.032	1.993	1.913	1.932	1.933	1.914	1.935	1.933
O5-H8	1.957	2.002	1.948	1.924	1.902	1.898	1.924	1.900	1.898
N13-H	1.023	1.033	1.025	1.032	1.035	1.046	1.032	1.035	1.046
N20-H	1.076	1.033	1.085	1.027	1.019	1.032	1.028	1.019	1.032
O22-H	0.997	1.844	0.996	1.031	2.135	1.029	1.031	2.131	1.029
<i>Ángulos de valencia</i>									
O3-V1-O5 ^a	90.8	89.7	90.7	89.8	89.8	89.7	89.8	89.8	89.7
O4-V1-O6 ^a	133.0	134.0	133.2	136.1	136.0	136.0	136.0	136.0	136.0
O3-V1-O4	45.3	44.5	45.3	45.2	45.2	45.2	45.2	45.2	45.2
O2-V1-O3	109.1	109.1	109.5	106.8	107.7	107.4	106.9	107.7	107.5
O2-V1-O6	112.4	112.2	112.2	111.2	111.3	111.4	111.3	111.3	111.4
O5-H8-O7	149.5	148.3	150.3	148.1	150.1	150.2	148.1	150.4	150.1
H8-O7-H9	98.6	99.3	98.5	98.9	98.9	98.9	98.9	99.0	98.9
V1-N10-C11	126.5	126.3	125.4	127.5	125.9	126.4	127.5	125.9	126.4
C12-N13-C14	107.7	108.1	105.5	108.7	105.3	108.5	108.6	108.8	108.5
R18-C17-O19	129.6	128.7	130.3	127.4	126.4	128.8	127.5	126.4	128.9
N20-C21-O22	121.5	126.2	121.7	121.1	124.3	121.3	121.1	124.3	121.3
<i>Ángulos diedros</i>									
O2-V1-O3-O4	102.9	103.0	102.6	103.8	102.8	103.1	103.8	102.8	103.1
O5-H8-O7-H9	4.5	6.9	5.7	4.1	5.4	4.3	4.0	5.4	4.3
O2-V1-N10-C14	-85.4	-94.7	-97.1	-84.9	-110.7	-98.4	-84.5	-110.6	-98.3
N10-V1-O4-H24 ^a	-22.1	-13.8	-13.0	-20.2	0.98	-9.3	-20.7	0.88	-9.4
N10-V1-O6-H25 ^a	14.2	23.1	23.7	16.6	32.2	26.2	16.1	32.1	26.1
C11-C12-C15-C16	123.1	128.8	117.7	133.7	133.8	133.0	133.5	133.7	133.0
H-N20-C21-O22	171.3	171.0	171.5	175.5	172.8	175.4	175.5	172.7	175.3
O22-C21-CH ₂ -R23	9.8	1.7	11.0	0.0	2.0	0.6	0.0	2.2	0.64

^aReferencia [68]. Molécula de histidina: 1.606 Å; 1.884 Å; 1.865 Å; 1.448 Å; 91.2°; 133.9°; -21.9°; 21.6°.



Complex	R ₁₈	R ₂₃
GH	O	NH₂
GGH	O	HNCOCH₂NH₃
GHG	NCH₂COOH	NH₂

Figura 4. Estructura molecular de los complejos **GH**, **GGH** y **GHG** coordinados con el grupo $[\text{VO}(\text{O}_2)_2(\text{H}_2\text{O})]^-$. Los átomos principales están etiquetados.

En las geometrías optimizadas de los tres complejos no se encontraron diferencias importantes entre los parámetros geométricos. Los parámetros del grupo $\text{VO}(\text{O}_2)_2$ obtenidos en fase gas cambiaron ligeramente respecto a los calculados en disolución con D_2O y DMSO_d_6 . Sin embargo, se observaron algunas diferencias particulares (ver Tabla 1):

De los datos se observa que la distancia de enlace $r(\text{O}_4\text{--H}_{16})$ varía en el siguiente orden **GH** > **GHG** > **GGH** y la distancia $r(\text{O}_6\text{--H}_{17})$ en el orden **GGH** > **GHG** > **GH**, en ambas fases, gas y disolución. Además, hay una variación de 0.031 Å y 0.141 Å entre los valores de la fase gas y en disolución, respectivamente, para los tres complejos. La distancia $r(\text{V}_1\text{--N}_{10})$ solamente varía 0.034 Å entre ambas fases.

Se encontró que en los complejos estudiados los ligandos unidos a los átomos de metal por medio del enlace V–N, las longitudes de enlace en el anillo de imidazol caen en el intervalo de 1.322 – 1.384 Å, como se ha reportado previamente para el imidazol en estado sólido [68,69].

Por otro lado, en el complejo **GH** los valores para las distancias $r(\text{C16–C17})$, $r(\text{C17–R18})$ y $r(\text{C17–O19})$ son 1.581, 1.242 y 1.273 Å en fase gas, respectivamente, y caen en el intervalo de 1.257 – 1.565 Å para la fase de disolución, mientras que ambos conjuntos de datos son similares para los complejos **GGH** y **GHG**. Además, la distancia del enlace $r(\text{C17–R18})$ varió en el orden **GH** > **GGH** > **GHG** en ambas fases, por lo tanto, este efecto puede deberse al tamaño del sustituyente.

Sin embargo, los enlaces $r(\text{C21–O22})$ y $r(\text{N20–H})$ calculados son más cortos en **GGH** que en **GH** y **GHG** en ambas fases. Para el complejo **GH** las distancias de enlace $r(\text{O3–H9})$, $r(\text{O5–H8})$ y $r(\text{O22–H})$ son 1.988, 1.957 y 0.997 Å, respectivamente, las cuales son más cortas que en los complejos **GHG** y **GGH** que están en el intervalo de 0.996 – 2.032 Å. En contraste, todas las distancias de enlace son más cortas al incluir el efecto del disolvente, sin embargo, las distancias $r(\text{N20–C21})$ y $r(\text{N13–H})$ tienen valores más altos de 1.023 – 1.324 Å en fase gas.

Respecto a los ángulos de enlace, los ángulos calculados entre los átomos O3–V1–O5 y O4–V1–O6 para el complejo **GGH** fue ligeramente menor que para **GH** y **GHG** por 1°, este resultado concuerda con el valor reportado por Yu y *col.* [68]. En ambas fases, los valores están en los intervalos de 89 – 91° y 133 – 136°, respectivamente. Los tres complejos muestran un ángulo O3–V1–O4 de ca. 45°. Se observó el carácter tetraédrico del grupo $[\text{VO}(\text{O}_2)_2]^-$, con ángulos de valencia O2–V1–O3 y O2–V1–O6 en el intervalo de 107 – 112°. Las tendencias en la distorsión de la molécula de agua sobre la sustitución de ligandos de tipo histidina son correctas, con

ángulos menores a 109° para todos los complejos aislados y en disolución. También se encontró que con los sustituyentes con ligandos tipo histidina, el ángulo V1–N10–C11 varía en el orden **GH** > **GGH** > **GHG**, mientras que el ángulo C12–N13–C14 varía en el orden **GGH** > **GH** > **GHG** con diferencias de 2° . Para los ángulos R18–C17–O19 y N20–C21–O22 el orden de los valores es **GHG** > **GH** > **GGH** para ambas fases.

Los ángulos diedros mostraron una gran variación para los diferentes ligandos, excepto el ángulo formado por los átomos O2–V1–O3–O4 cuyos valores permanecieron en el intervalo de $102 - 103^\circ$. La tendencia en los valores del ángulo diedro O5–H8–O7–H9 en la molécula de agua respecto al grupo $[\text{VO}(\text{O}_2)_2(\text{H}_2\text{O})]^-$ se incrementó de 4.5° a 5.7° de **GH** a **GHG** y 6.9° en **GGH**, en la fase gas, mientras que en disolución los valores decrecieron. Los valores del ángulo diedro O2–V1–N10–C14 en fase gas son -85.4 , -94.7 y 97.1° para **GH**, **GGH** y **GHG**, respectivamente. Sin embargo, con los disolventes D₂O y DMSO₆, el orden en los valores es **GGH** > **GHG** > **GH**. Para el ángulo torsional N14–V1–O4–H24 los valores se incrementan de -13.0° a -13.8° de **GHG** a **GGH** y después a -22.1° de **GH**, mientras que para N14–V1–O4–H25 decrecen de 23.7° a 23.1° y después a 14.2° . Comparando el valor de los ángulos torsionales con los reportados por otros autores [68], se observa que la sustitución sobre el sustituyente imidazol se mueve ligeramente fuera del plano. En contraste, los valores promedio de 0.93° para **GGH** y -9.35° para **GHG** son menores en disolución. Finalmente, el ángulo diedro O22–C21–CH₂–R23 de la cadena molecular se incrementa de 1.7° a 9.8° de **GGH** a **GH** y 11.0° para **GHG** en fase gas, mientras que al considerar el efecto del disolvente el valor del ángulo es casi 0° dependiendo del sustituyente en cada complejo. En la Figura 3 se muestran las estructuras optimizadas de los tres complejos **GH**, **GGH** y **GHG** en fase gas.

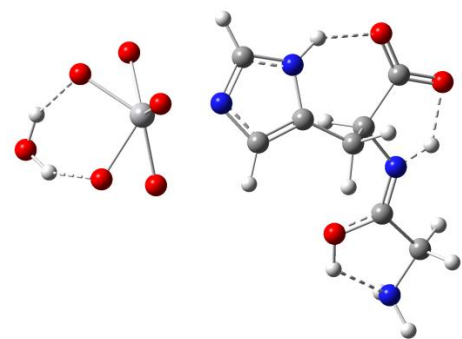
La Tabla 2 muestra los valores de energía relativa para los complejos respecto al más estable en ambas fases. Los tres complejos fueron más estables en el disolvente D₂O, seguidos de aquellos en DMSO_d₆ y finalmente en fase gas, con diferencias de energía de 1.12 y 96.68 kcal/mol para **GH** y **GHG**, respectivamente, mientras que el complejo **GGH** fue el que tuvo la mayor diferencia de energía con 1.52 y 130.32 kcal/mol, respectivamente.

Como se esperaba, **GHG** fue la estructura energética más estable, seguida de **GGH** con diferencia de energía de 4.64 kcal/mol en fase gas, mientras que **GH** tuvo una energía estimada por exceso. En contraste, **GGH** es más estable que **GHG** en los disolventes D₂O y DMSO_d₆, con diferencias de energía de 29.00 y 28.61 kcal/mol, respectivamente. De los resultados, se observa que la reactividad de los sustituyentes con ligandos del tipo histidina (**GH**, **GGH** y **GHG**) depende del efecto combinado de la fuerza del enlace intrínseco entre el ligando y el ion [VO(O₂)₂(H₂O)]⁻ en los tres complejos [68].

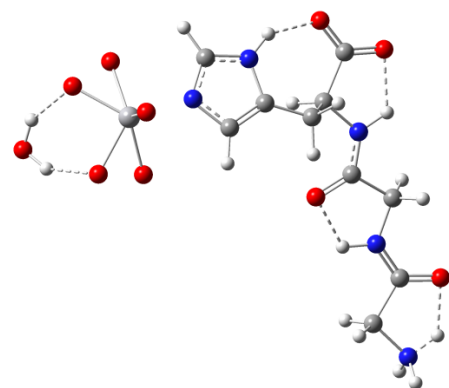
Tabla 2. Valores de energía relativa (kcal/mol) de los complejos **GH**, **GGH** y **GHG** en el nivel B3LYP/6-31+G(d) y la base Lanl2DZ en ambas fases.

Fase	GH	GGH	GHG
Gas	96.68	130.32	96.68
D ₂ O	0.00 ^a	0.00 ^b	0.00 ^c
DMSO _d ₆	1.12	1.52	1.12

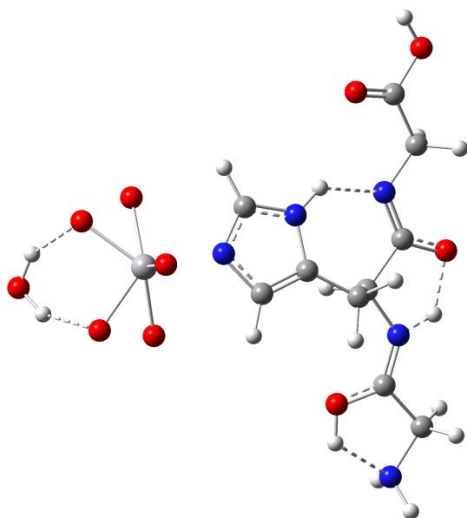
^{a)} -1280.7129 u.a., ^{b)} -1488.6991 u.a., ^{c)} -1488.7065 u.a.



GH



GGH



GHG

Figura 4. Geometrías moleculares optimizadas de los complejos **GH**, **GGH** y **GHG** coordinados con el grupo $[\text{VO}(\text{O}_2)_2(\text{H}_2\text{O})]^-$ en el nivel B3LYP/6-31+G(d) y la base Lan12DZ en fase gas.

Por otro lado, también se obtuvieron los valores de momento dipolar en fase gas para GH, GGH y GHG con valores de 17.45, 20.63 y 15.95 Debye, respectivamente. Mientras que en disolución con D₂O, los valores son 25.07, 45.61 y 26.52 Debye y con DMSO_{d6} son 24.90, 45.48 y 26.40 Debye, respectivamente. Los datos obtenidos son consistentes con los previamente reportados para otros complejos de vanadio similares a los estudiados en este trabajo, por lo que se considera que el nivel de teoría utilizado para el estudio estructural de estos complejos de vanadio es apropiado.

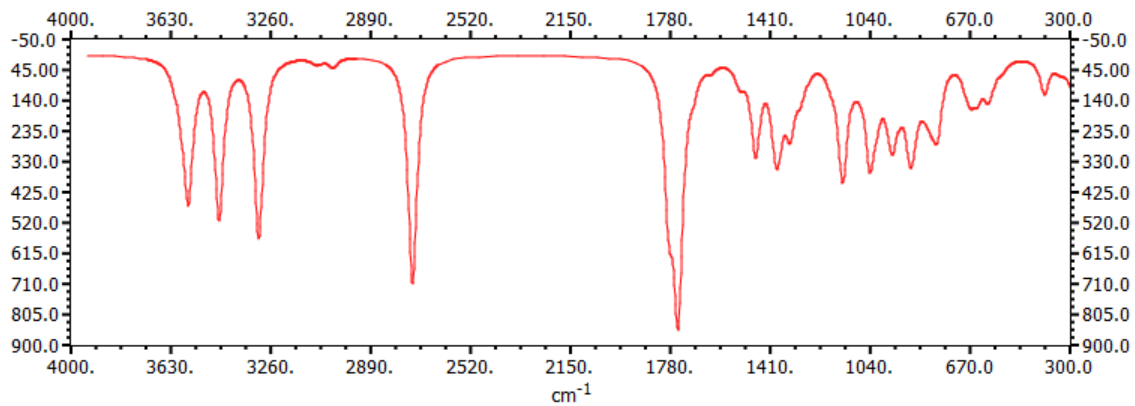
4.2. Espectros de IR

La figura 3 muestra que las frecuencias calculadas en el intervalo 300 – 4000 cm⁻¹ a nivel B3LYP con las base 6-31+G(d) y LanL2DZ en fase gas y disolución del complejo **GH** coordinado con el grupo [VO(O₂)₂(H₂O)]⁻. No se obtuvieron frecuencias imaginarias en las tres fases, indicando que las estructuras predichas corresponden a mínimos sobre la superficie de energía potencial. Los datos experimentales reportados para este compuesto muestran dos bandas similares a aquellas obtenidas a partir de péptidos antes de formar los complejos. Las bandas experimentales se encuentran entre 950 – 970 cm⁻¹ y están asignadas al modo vibracional de *stretching* del grupo V=O. Además, la banda en 870 cm⁻¹ se asignó a otro modo de *stretching* del grupo O–O, la cual es típica para compuestos peroxooxovanadato [70,71].

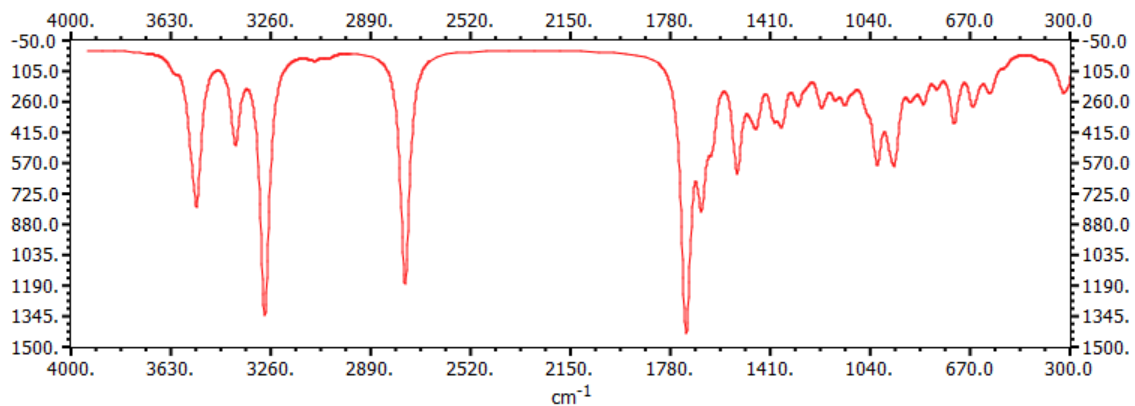
Teóricamente, los espectros de IR del complejo **GH** coordinado con el grupo [VO(O₂)₂(H₂O)]⁻ es similar en las tres fases (Figura 4). En ambas fases se observan las vibraciones debidas a las vibraciones de *stretching* $\nu(\text{V}=\text{O})$ y $\nu(\text{O}-\text{O})$, por ejemplo en fase gas se

observa una banda intensa en 1044 cm^{-1} relacionada con la señal $\nu(\text{V}=\text{O})$ y otra banda intensa en el intervalo de $968 - 977\text{ cm}^{-1}$ asignada al *stretching* simétrico $\nu(\text{O}-\text{O})$.

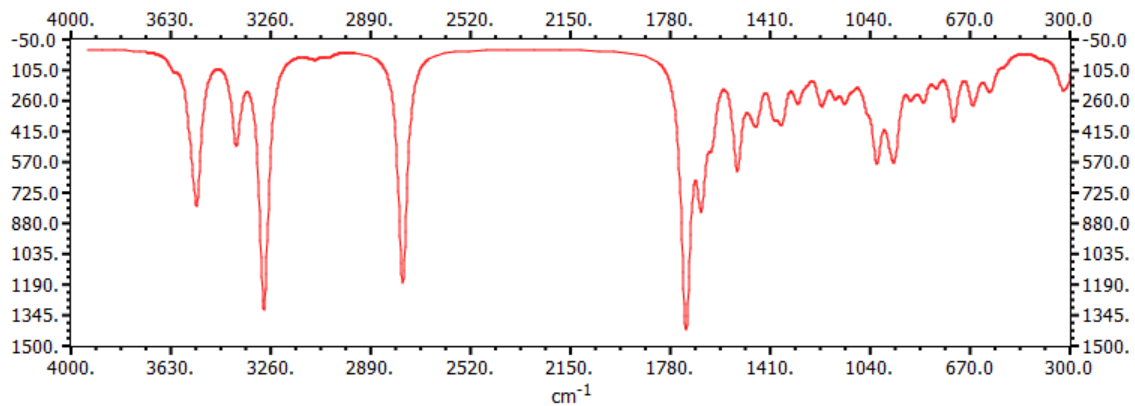
También en esta región se muestra una banda intensa en 959 correspondiente al *stretching* asimétrico $\nu_{as}(\text{O}-\text{O})$. Respecto al residuo de glicina (Gly), el acoplamiento de los modos vibracionales de deformaciones *scissors* con el modo de *bending* $\delta(\text{HOH})$ del H_2O , se calculó en el intervalo $1751 - 1758\text{ cm}^{-1}$ con gran intensidad.



(a)



(b)

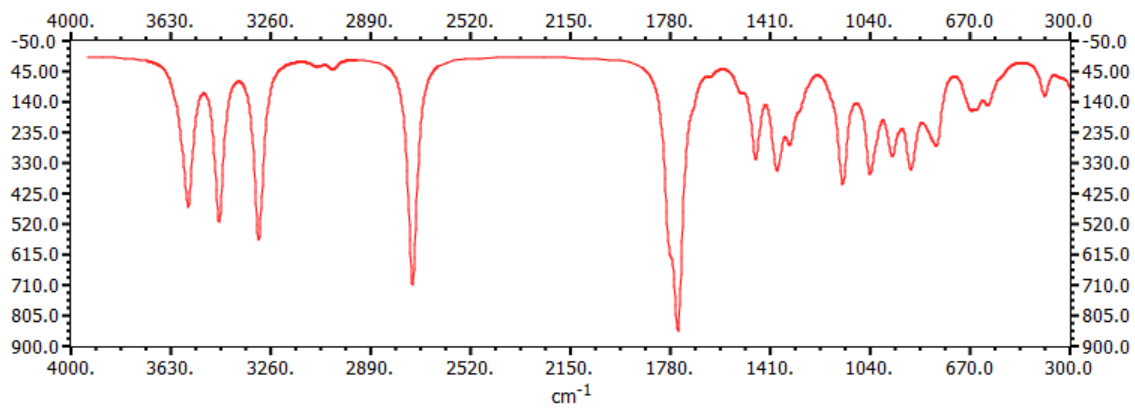


(c)

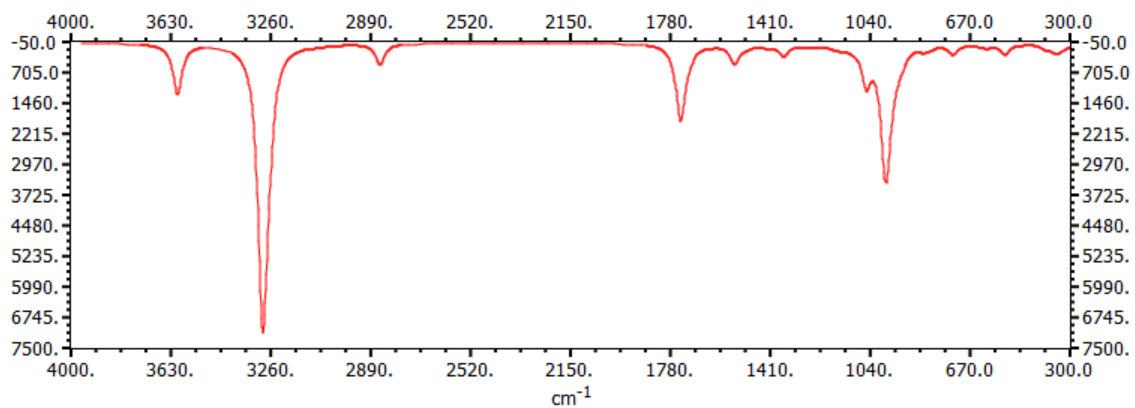
Figura 5. Espectro de infrarrojo (IR) del complejo **GH** coordinado con el grupo $[\text{VO}(\text{O}_2)_2(\text{H}_2\text{O})]^-$ en el nivel B3LYP/6-31+G(d) y la base Lanl2DZ en (a) fase gas, (b) en disolución con D_2O y (c) en disolución con DMSO_6 .

El *stretching* de la glicina, denotado como $\nu(\text{Gly N-C})$, se calculó en 1789 cm^{-1} con intensidad alta. Como se ve en la Figura 5, varias vibraciones aparecen en frecuencias más altas caracterizadas por tres bandas agudas en 3308 , 3454 y $3568 - 3595 \text{ cm}^{-1}$ de intensidades relativas, correspondientes al *stretching* $\nu(\text{Gly N-C=O}\dots\text{H})$ en el grupo amida, el *stretching* $\nu(\text{N-H})$ del grupo imidazol y a los *stretching* simétrico $\nu_s(\text{O-H})$ y asimétrico $\nu_{as}(\text{O-H})$ en la molécula de agua, respectivamente.

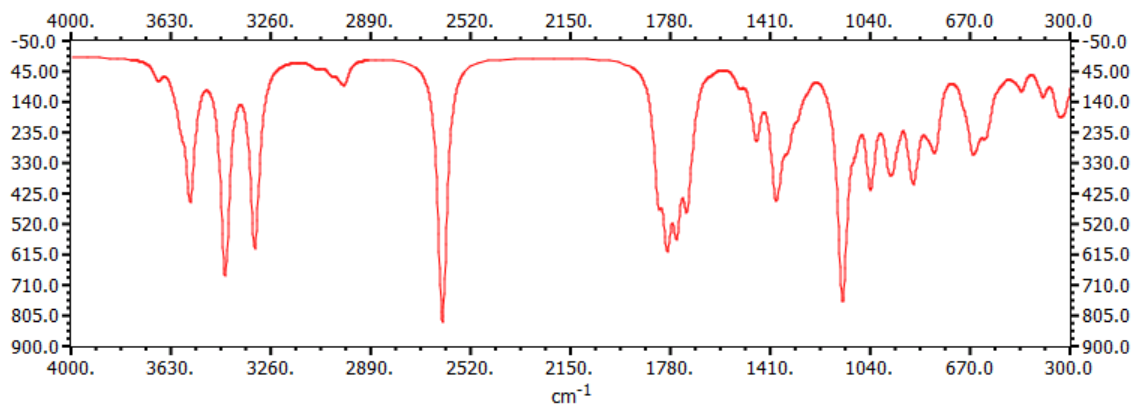
Los espectros IR de **GGH** y **GHG** coordinados con el grupo $[\text{VO}(\text{O}_2)_2(\text{H}_2\text{O})]^-$ exhibieron características similares de las bandas en fase gas y en disolución con D_2O y DMSO-d_6 . La Figura 6 muestra los espectros IR calculados en fase gas de los tres complejos. Todas las frecuencias son positivas correspondiendo a mínimos en la superficie de energía potencial. La tabla 3 contiene los valores de las frecuencias armónicas teóricas y las intensidades más representativas en fase gas. Las intensidades relativas en porcentaje se muestran en las columnas 2, 4 y 6 de la Tabla 3, las cuales fueron normalizadas a la intensidad de la señal más fuerte. La Tabla 3 incluye las contribuciones relativas de los diferentes modos vibracionales considerando las frecuencias calculadas.



(a)



(b)



(c)

Figura 6. Espectro de infrarrojo (IR) de los complejos (a) **GH**, (b) **GGH** y (c) **GHG** coordinados con el grupo $[\text{VO}(\text{O}_2)_2(\text{H}_2\text{O})]^-$ en el nivel B3LYP/6-31+G(d) y la base Lanl2DZ en fase gas.

Tabla 3. Frecuencias vibracionales (cm^{-1}) e intensidades relativas (%) de los complejos **GH**, **GGH** y **GHG** calculados en el nivel B3LYP/6-31+G(d) y la base Lanl2DZ en fase gas.

No.	GH		GGH		GHG		Asignación de frecuencias IR
	Frecuencias	Intensidades	Frecuencias	Intensidades	Frecuencias	Intensidades	
1	959	30	971	8	959	22	$\nu_{as}(\text{O}-\text{O}) + \nu_{as}(\text{O}-\text{O})$
2	977	11	987	100	976	12	$\nu_s(\text{O}-\text{O}) + \nu_s(\text{O}-\text{O}) + \delta(\text{Imi})$
3	1044	50	1056	44	1044	41	$\nu(\text{V}=\text{O})$
4	1751	81	1712	10	1720	52	$\nu(\text{C}-\text{H}) + \nu(\text{C}-\text{H}) + \delta(\text{N}-\text{H}) + \delta(\text{H}_2\text{O})$
5	1789	74	1771	5	1794	63	$\nu(\text{GliN}-\text{C}) + \delta(\text{GliO}-\text{H}) + \delta(\text{GliCH}_2)$
6	3308	100	2858	26	3322	86	$\nu(\text{GliN}-\text{C}=\text{O}\dots\text{H})$
7	3454	91	3281	51	3432	100	$\nu(\text{ImiN}-\text{H})$
8	3568	77	3608	62	3561	61	$\nu_s(\text{O}-\text{H})_{\text{agua}}$
9	3595	16	3645	1	3597	18	$\nu_{as}(\text{O}-\text{H})_{\text{agua}}$

4.3. Espectros de RMN-¹H, RMN-¹³C y RMN-⁵¹V

Los espectros teóricos de los tres complejos se calcularon usando el método GIAO usando como datos iniciales los valores de las estructuras optimizadas calculadas a nivel B3LYP en fase gas y en disolución. Para expresar los desplazamientos químicos, δ (ppm), los espectros de RMN-¹H y RMN-¹³C de la molécula de tetrametilsilano (TMS) fueron determinados para usar el mismo método y conjunto de base para usar como referencia. Los valores de las constantes de desplazamiento isotópico σ_i fueron transformadas a desplazamientos químicos relativos al TMS en fase gas, usando la expresión δ_i (ppm) = $\sigma_{TMS} - \sigma_i$, donde $\sigma_{TMS} = 32.07$ y 190.85 ppm para los átomos de H y C, respectivamente. Además, los datos obtenidos a partir de los σ_{TMS} para H y C son similares a los obtenidos incluyendo el efecto del disolvente.

Los niveles de energía estudiados en RMN tratan los estados propios de spin de los núcleos químicamente enlazados en presencia de un campo magnético externo. A pesar de la naturaleza compleja de las interacciones de los momentos magnéticos de los núcleos activos en RMN con el campo magnético, las principales características de los espectros RMN deben tomarse en cuenta satisfactoriamente de la solución de la ecuación de la energía que involucra un Hamiltoniano de spin efectivo, i.e., los electrones no aparecen del todo, y los núcleos se representan solamente por sus spines intrínsecos así como por sus momentos magnéticos asociados [72]. Los espectros de RMN-¹H y RMN-¹³C se obtuvieron a 75.43 MHz con un espectrómetro Jeol GSX-300 MHz en soluciones de D₂O y DMSO-d₆ usando TMS como estructura de referencia.

Para el compuesto **GH** fue posible obtener los espectros de RMN-¹H y RMN-¹³C en soluciones de D₂O y DMSO-d₆ y en estado sólido, los cuales fueron comparados con aquellos que se

obtuvieron en fase gas e incluyendo el efecto de los disolventes D₂O y DMSO-d₆ en el nivel de teoría B3LYP/6-31+G(d) y el conjunto base Lanl2DZ. Sin embargo, para los complejos **GGH** y **GHG** solo fue posible obtener los espectros experimentales de RMN-¹³C en estado sólido y con el disolvente D₂O, los cuales se compararon con los calculados en el mismo nivel de teoría. Los desplazamientos químicos experimentales [59] y teóricos de ¹H y ¹³C, in ppm, se muestran en la Tabla 4.

En general como se muestra en la Tabla 4, los desplazamientos teóricos δ (ppm) concuerdan con los valores experimentales para los tres complejos (**GH**, **GGH** y **GHG**). Los desplazamientos calculados de H aparecen en el intervalo de 2.6 – 8.7 ppm en ambas fases. De estos resultados se puede asumir que los valores calculados en el intervalo 2.0 – 4.0 ppm se han predicho adecuadamente. Éstos caen en el intervalo de valores de desplazamientos químicos típicos de protones medidos experimentalmente en 2.6 ppm, los cuales son típicamente reportados para grupos etilo [73].

Tabla 4. Desplazamientos químicos (en ppm) de RMN-¹H y RMN-¹³C teóricos y experimentales de los complejos **GH**, **GGH** y **GHG** calculados en el nivel B3LYP/6-31+G(d) y la base Lanl2DZ. Los valores fueron referidos a los desplazamientos químicos del TMS calculados en el mismo nivel de teoría.

Complejo	Teórico				Experimental ^{a)}		
	Átomo	Fase gas	D ₂ O	DMSO-d ₆	Estado sólido	D ₂ O	DMSO-d ₆
GH	H1	3.88	3.63	3.58	-----	3.62	4.79
	H3	4.48	4.33	4.50	-----	4.38	4.60

	H5	2.65,3.03	3.03,3.10	2.89,3.00	-----	2.89,3.11	3.15,3.47
	H7	8.30	7.08	7.70	-----	7.06	7.37
	H8	8.26	8.04	8.70	-----	8.00	8.68
	C1	39.38	35.91	40.15	41.6	35.8	46.7
	C2	157.40	161.16	161.31	167.3	161.8	177.4
	C3	61.13	49.63	52.53	54.8	49.9	56.0
	C4	170.08	171.34	172.24	177.0	172.2	179.8
	C5	32.43	22.45	28.55	28.1	22.8	27.9
	C6	125.28	124.73	132.34	128.8	123.8	129.8
	C7	123.12	119.44	116.65	117.8	120.3	117.2
	C8	131.43	130.04	134.83	137.0	132.4	133.2
GGH	H1	3.60	3.85	3.56	-----	3.77	-----
	H3	3.71	3.98	3.68	-----	3.86	-----
	H5	3.74	3.86	3.57	-----	4.41	-----
	H7	3.08	2.98	2.70	-----	3.02,3.16	-----
	H9	7.63	7.29	7.00	-----	7.13	-----
	H10	8.10	7.77	7.50	-----	8.10	-----
	C1	45.42	41.40	34.66	42.6	40.8	-----
	C2	168.68	157.35	148.48	170.0	167.9	-----
	C3	43.94	42.45	35.68	42.6	42.7	-----
	C4	151.40	160.44	171.60	170.0	170.5	-----
	C5	58.06	56.82	48.09	56.1	54.4	-----
	C6	163.45	170.56	175.74	177.4	177.0	-----
	C7	30.87	29.72	22.97	27.7	27.5	-----
	C8	129.03	126.32	123.48	128.7	125.0	-----
	C9	121.28	120.10	111.39	120.0	117.0	-----
	C10	129.02	135.32	139.57	136.6	137.1	-----
GHG	H1	3.51	3.73	3.82	-----	3.68	-----
	H3	3.83	4.18	4.47	-----	4.53	-----
	H5	4.20	4.03	3.59	-----	3.74	-----
	H7	2.87/2.90	2.89,3.02	2.88/3.01	-----	3.09,3.20	-----
	H9	7.88	7.38	7.18	-----	7.18	-----

H10	7.19	8.02	7.09	-----	8.09	-----
C1	43.38	41.42	33.64	42.6	40.7	-----
C2	155.68	167.67	158.81	171.0	167.2	-----
C3	53.26	56.15	51.42	53.0	53.0	-----
C4	158.79	163.82	155.00	171.0	171.8	-----
C5	49.39	50.87	42.13	42.6	43.5	-----
C6	170.09	173.30	164.47	176.0	176.6	-----
C7	32.21	31.27	22.55	28.0	27.1	-----
C8	127.25	126.65	117.75	127.4	125.6	-----
C9	123.53	119.95	111.23	118.0	117.8	-----
C10	131.43	136.17	120.48	137.1	137.6	-----

^a)Referencia [59]

También, los valores coincidieron con los reportados en la literatura de 8.5 ppm para compuestos de imidazol [74].

Para **GH**, el δ para ^{13}C en las posiciones 1 a 8 (C1 a C8) se encontraron con grandes desplazamientos, las frecuencias más altas de las señales de los átomos de carbono de la cadena de amino ácido muestra una coordinación de los átomos de oxígeno del grupo carbonilo con el vanadio. Los valores calculados de δ se obtuvieron en el intervalo de 60.0 a 170.0 ppm en fase gas, mientras que incluyendo el efecto de los disolventes D_2O y DMSO-d_6 , los datos computacionales reproducen los valores experimentales en el intervalo de desplazamientos químicos en el caso de ^{13}C , asegurando una buena descripción de la fuerte interacción con el disolvente usando el modelo teórico de solvatación (PCM).

Los desplazamientos químicos teóricos de las señales de RMN- ^{13}C de los átomos de carbono en las posiciones 1 a 10 para **GGH** y **GHG** también coincidieron con los valores experimentales. Los valores se obtuvieron en el intervalo de 30.0 – 170.0 ppm en fase gas para

ambos complejos. En particular, los valores promedio obtenidos con respecto a los valores experimentales en estado sólido fueron de 5.2 y 3.1 ppm, respectivamente. Sin embargo, los porcentajes de error disminuyeron ligeramente usando el modelo PCM con el disolvente D₂O.

Los valores en fase gas del espectro de RMN-¹³C del **GH** son comparables con los obtenidos en las simulaciones usando los disolventes D₂O y DMSO-d₆. Los resultados indican una posible interacción a través del anillo de imidazol y carboxilato de histidinina, ya que ellos están ligeramente desplazados a campos bajos. Se obtuvieron efectos similares en los espectros RMN de **GGH** y **GH**, ya que los valores calculados de desplazamiento químico se encontraron en el mismo intervalo.

Por otro lado, Guevara y col.. no obtuvieron buenos espectros RMN usando el disolvente DMSO-d₆ para el complejo **GHG**, debido a la fuerte interacción de este disolvente con los complejos [59], por lo tanto del espectro teórico de RMN-¹³C de **GHG** se predijeron los desplazamientos químicos para los átomos de C usando el modelo PCM, obteniendo los valores calculados en el intervalo de 33.0 – 165.0 ppm, indicando que hay una interacción adicional a través de los grupos carbonilo.

Curiosamente, la señal experimental en el espectro de RMN-⁵¹V de los complejos de coordinación de imidazol o N-metilimidazol bis-peroxovanadato fue encontrada en -750 ppm, posiblemente atribuidas al nitrógeno coordinado con el vanadio [75]. Además, dos señales aparecieron en -750 y -740 ppm para los complejos de coordinación de histidina, los cuales corresponden a la coordinación del imidazol o a un quelato hecho a partir de imidazol y grupos carbonilo [75,76]. Un experimento HETCOR podría asignar las resonancias.

Los espectros de RMN-⁵¹V se obtuvieron a 78.85 MHz y los valores de desplazamiento químico fueron referidos al VOCl₃ usando un ancho espectral de 10⁵ Hz y con números transitorios (64 – 300).

Además, la espectroscopia de RMN-⁵¹V ha llegado a ser una excelente herramienta analítica para varios compuestos de vanadio [77,78]. Las geometrías del átomo de vanadio en muchos complejos no cambian significativamente tras la oxidación [79]. Estudios previos revelaron que el inusual desplazamiento de las resonancias de ⁵¹V para el complejo catecolato de vanadio se puede atribuir a un número de incrementos estructurales a partir del efecto de los sustituyentes, y que la contribución más grande surge de la naturaleza no-oxo de estos complejos [80]. Propiedades como el gradiente de campo eléctrico (EFG), anisotropía de desplazamiento químico (CSA) y desplazamiento químico de ⁵¹V (con una precisión de aproximadamente 100 ppm), se pueden calcular usando la metodología apropiada DFT [81].

En este trabajo, también se reportan los resultados teóricos de RMN-⁵¹V de los complejos de vanadato **GH**, **GGH** y **GHG**. En la Tabla 5 se muestran los resultados obtenidos con el nivel de teoría GIAO-B3LYP/6-31+G(d)/Lanl2DZ y los valores experimentales para los tres complejos.

Los resultados en la Tabla 5 mostraron que la mayor aproximación se obtiene considerando el efecto del disolvente. Estos complejos de vanadato se caracterizaron por valores de desplazamiento químico $\delta(^{51}\text{V})$ de -748, -752 y -754 ppm para **GH**, **GGH** y **GHG**, respectivamente.

Tabla 5. Desplazamientos químicos (en ppm) de RMN-⁵¹V teóricos y experimentales de los complejos **GH**, **GGH** y **GHG** calculados en el nivel B3LYP/6-31+G(d) y la base Lanl2DZ. Los valores fueron referidos a los desplazamientos químicos del VOCl₃ calculados en el mismo nivel de teoría.

	Teórico			Experimental ^{a)}
Desplazamiento químico, δ (ppm)				
[⁵¹ VO(O ₂) ₂ •H ₂ O] ⁻				
Complejo	Fase gas	D ₂ O	DMSO-d ₆	D ₂ O
GH	-686.71	-784.02	-782.92	-752.0
GGH	-706.15	-784.93	-783.84	-754.0
GHG	-674.51	-786.18	-785.02	-748.0

^{a)}Referencia [59]

Se obtuvieron valores similares en el nivel GIAO-B3LYP para los tres complejos con diferencias de $\Delta\delta = 32, 31$ y 38 ppm y $\Delta\delta = 30, 30$ y 37 ppm incluyendo el efecto de los disolventes D₂O y DMSO-d₆, respectivamente.

En fase gas, las diferencias calculadas se desplazaron ligeramente alrededor de 62 ppm ($\delta = -687, 706$ y 674 ppm para **GH**, **GGH** y **GHG**, respectivamente).

Una posible razón de estos resultados podría ser considerar el efecto de solvatación en los cálculos así como tomar en cuenta una única molécula de agua, lo cual puede ser muy importante para aniones tales como [VO(O₂)₂•H₂O]⁻ o [VO(O₂)•H₂O]⁻ [82].

La desviación de 40 ppm se considera todavía dentro del margen de error para este tipo de cálculos, obteniendo una secuencia correcta en los espectros de resonancia reproducidos correctamente si se considera el efecto del disolvente, pero desestimada cuando los resultados se obtienen únicamente en fase gas (Figura 7).

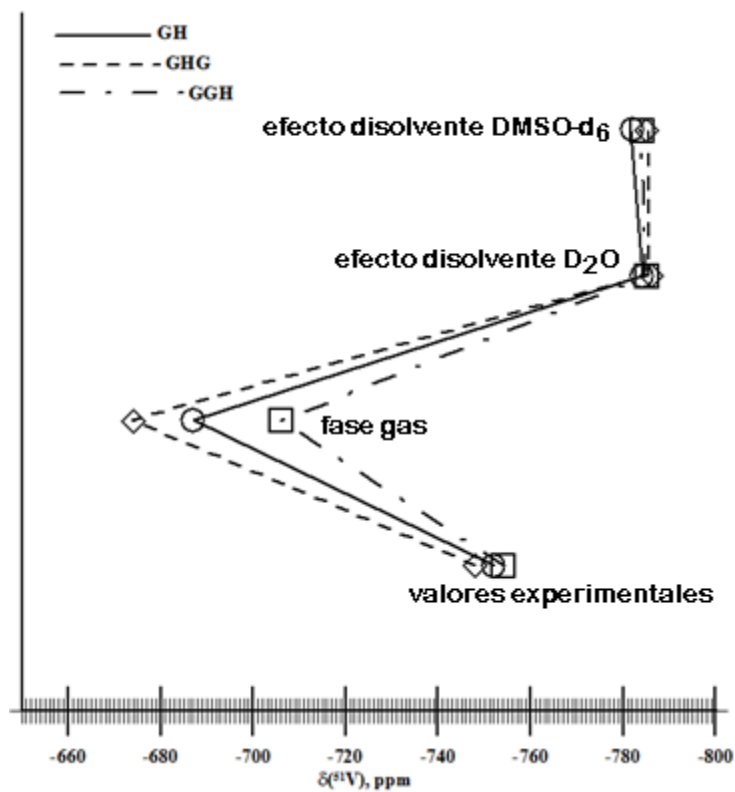


Figura 7. Variación entre los desplazamientos químicos (in ppm) de RMN-⁵¹V NMR teóricos y experimentales de los complejos **GH**, **GGH** y **GHG** coordinados con el grupo [VO(O₂)₂(H₂O)]⁻.

CONCLUSIONES

1. Se obtuvieron las geometrías totalmente optimizadas para los complejos de los tres bis-peroxo-especies oxovanadato que contienen péptidos de histidina, mediante cálculos DFT que muestran parámetros muy cercanos a los datos de rayos X reportados para los compuestos similares.
2. Se reprodujeron satisfactoriamente las energías, geometrías moleculares y los espectros experimentales de ^1H , ^{13}C y ^{51}V . Para una mejor caracterización espectroscópica se incluyó el efecto disolvente de D_2O en el modelo de PCM.
3. Los espectros teóricos de IR y NMR de ^1H , ^{13}C y de ^{51}V reproducen adecuadamente los datos experimentales. La asignación de los modos normales de vibración de *stretching* simétrico y asimétrico $\nu_{\text{as}}(\text{O-O})$ y $\nu_{\text{s}}(\text{O-O})$ respectivamente, para el grupo $\text{VO}(\text{O}_2)_2$ se calcularon y asignaron teóricamente de manera adecuada.
4. De la misma manera, el modo $\nu(\text{GlyN-C=O}\cdots\text{H})$ que no se había asignado experimentalmente, mostró una banda en el rango de $2800\text{-}3300\text{ cm}^{-1}$ para los tres complejos.
5. Las bandas para los modos vibracionales $\nu_{\text{s}}(\text{O-H})_{\text{agua}}$ y $\nu_{\text{as}}(\text{O-H})_{\text{agua}}$ de los tres complejos GH, GGH y GHG fueron reproducidos y asignados en un rango de $3500\text{-}3600\text{ cm}^{-1}$ empleando la Teoría de Funcionales de la Densidad a un nivel B3LYP / 6-31 + G (d) /Lanl2DZ. Estas bandas aparecen en esta región IR debido a que la molécula de agua no está coordinada al vanadio, señalando la interesante posibilidad de que los cambios en la primera o segunda esfera de

coordinación del vanadio produjeron un cambio notable en los valores de desplazamiento químico de ^{51}V calculados de hasta aproximadamente 62 ppm.

6. El efecto disolvente puede ser un factor importante que rige los desplazamientos químicos y será la base para una futura asignación estructural de complejos de VO que contengan péptidos de Histidina basados en espectroscopia electrónica, vibracional y de NMR de ^{51}V , y podría mejorar la comprensión de las características estructurales de complejos de vanadio con ligandos biogénicos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Crans et al. 2004 Chem. Rev. 104, 849-902
2. Caswell L.R. 2003. Andrés del Río, Alexander von Humboldt, and the Twice-discovered Element. Bull. Hist. Chem., 28(1), 35-41.
3. Henze. M. 1911. Z. Physiol. Chem. 72, 494-50.
4. Butler. A, 1994 Chem. Rev. 94,625-638
5. Crans D. C. 1998. En: Tracey A. S., Crans D. C. (eds.), Vanadium Compounds: Chemistry, Biochemistry, and Therapeutic Applications. Am. Chem. Soc., Washington, D.C. Vol. 711, pp. 82-103.
6. Li J., Guo S. J., Su H., Han L. J., Shi D. Y. 2008. Total synthesis of bis-(2,3-dibromo-4,5-dihydroxyphenyl)-methane as potent PTP1B inhibitor. Chinese Chemical Letters, en prensa.
7. Li M., Ding W., Baruah B., Crans D. C., Wang R. 2008. Inhibition of protein tyrosine phosphatase 1B and alkaline phosphatase by bis(maltolato)oxovanadium (IV). Journal of Inorganic Biochemistry 102:1846–1853.
8. Sun J.-P., Fedorov A. A., Lee S.-Y., Guo X.-L., Shen K., Lawrence D. S., Almo S. C., Zhang Z.-Y. 2003. Crystal Structure of PTP1B Complexed with a Potent and Selective Bidentate Inhibitor. J. Biol. Chem. 278(14): 12406-12414.
9. Knaul FM, Nigenda G, Lozano R, Arreola-Ornelas H, Langer A, Frenk J. Cáncer de mama en México: una prioridad apremiante. Salud Publica Mex 2009;51 supl 2:S335-S344
10. Cooperman, A.M: Panorama general del cáncer mamario. Clín Quir Nort Am 1994, 64:1047- 055.
11. Buccione , R. , J.D. Orth , and M.A. McNiven . 2004 . Foot and mouth: podosomes, invadopodia and circular dorsal ruffles. Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 5 : 647 – 657 .
12. Linder , S. 2007. The matrix corroded: podosomes and invadopodia in extracellular matrix degradation. Trends Cell Biol. 17: 107 – 117.

13. Calle , Y. , H.C. Chou , A.J. Thrasher , and G.E. Jones . 2004 . Wiskott-Aldrich síndrome protein and the cytoskeletal dynamics of dendritic cells. *J. Pathol.* 204 : 460 – 469.
14. Yamaguchi , H. , and J. Condeelis . 2007 . Regulation of the actin cytoskeleton in cancer cell migration and invasion. *Biochim. Biophys. Acta.* 1773 : 642 – 652.
15. Luxenburg, C., L. Addadi, and B. Geiger . 2006 . The molecular dynamics of osteoclast adhesions. *Eur. J. Cell Biol.* 85: 203 – 211.
16. Marzia, M., R. Chiusaroli, L. Neff, N.Y. Kim, A.H. Chishti, R. Baron, and W.C. Horne . 2006 . Calpain is required for normal osteoclast function and is down-regulated by calcitonin. *J. Biol. Chem.* 281: 9745 – 9754.
17. Frangioni, J. V., Oda, A., Smith, M., Salzman, E. W., and Neel, B. G. (1993) *EMBO J.* 12, 4843–4856.
18. C.L. Cortesio, K.T. Chan, B.J. Perrin, N.O. Burton, S. Zhang, Z.Y. Zhang, A. Huttenlocher, Calpain 2 and PTP1B function in a novel pathway with Src to regulate invadopodia dynamics and breast cancer cell invasion, *J. Cell Biol.* 180 (2008) 957–971.
19. J.D. Bjorge, A. Pang, D.J. Fujita, Identification of PTP1B as the major tyrosine phosphatase activity capable of dephosphorylating and activating c-Src in several human breast cancer cell lines, *J. Biol. Chem.* 275 (2000) 41439– 41446.
20. M. Bentires-Alj, B.G. Neel, Protein-tyrosine phosphatase 1B is required for HER2/ Neu-induced breast cancer, *Cancer Res.* 67 (2007) 2420–2424.
21. Franco, S.J., M.A. Rodgers, B.J. Perrin, J. Han, D.A. Bennin, D.R. Critchley , and A. Huttenlocher . 2004b . Calpain-mediated proteolysis of talin regulates adhesion dynamics. *Nat. Cell Biol.* 6: 977 – 983.
22. Franco, S., B. Perrin, and A. Huttenlocher . 2004a. Isoform specific function of calpain 2 in regulating membrane protrusion. *Exp. Cell Res.* 299: 179 – 187.
23. Nuzzi, P.A., M.A. Senetar , and A. Huttenlocher . 2007. Asymmetric localization of calpain 2 during neutrophil chemotaxis. *Mol. Biol. Cell* . 18: 795 – 805.

24. Libertini, S.J., B.S. Robinson, N.K. Dhillon, D. Glick, M. George, S. Dandekar, J.P. Gregg, E. Sawai, and M. Mudryj. 2005. Cyclin E both regulates and is regulated by calpain 2, a protease associated with metastatic breast cancer phenotype. *Cancer Res.* 65: 10700 – 10708.
25. Julien, S.G., N. Dube, M. Read, J. Penney, M. Paquet, Y. Han, B.P. Kennedy, W.J. Muller, and M.L. Tremblay. 2007. Protein tyrosine phosphatase 1B deficiency or inhibition delays ErbB2-induced mammary tumorigenesis and protects from lung metastasis. *Nat. Genet.* 39: 338 – 346.
26. Wiener, J.R., B.J. Kerns, E.L. Harvey, M.R. Conaway, J.D. Iglehart, A. Berchuck, and R.C. Bast Jr. 1994. Overexpression of the protein tyrosine phosphatase PTP1B in human breast cancer: association with p185c-erbB-2 protein expression. *J. Natl. Cancer Inst.* 86: 372 – 378.
27. Tonks, N.K., and S.K. Muthuswamy. 2007. A brake becomes an accelerator: PTP1B – a new therapeutic target for breast cancer. *Cancer Cell.* 11: 214 – 216.
28. V. Conte, F.D. Furia, S. Moro, *J. Mol. Catal.* 94 (1994) 323.
29. V. Conte, F.D. Furia, S. Moro, *J. Mol. Catal. A: Chem.* 120 (1997) 93.
30. V. Conte, F.D. Furia, S. Moro, in: S. Tracey, D.C. Crans (Eds.), *Vanadium Compounds, Chemistry, Biochemistry, and Therapeutic Applications*, vol. 711 American Chemical Society, Washington, 1998, p. 90.
31. J.S. Jaswal, A.S. Tracey, *J. Am. Chem. Soc.* 115 (1993) 5600.
32. J.A. Guevara Garcia, N. Barba Behrens, R. Contreras, G. Mendoza Diaz, in: S. Tracey, D.C. Crans (Eds.), *Vanadium Compounds. Chemistry, Biochemistry, and Therapeutic Applications*, vol. 711, American Chemical Society, Washington, 1998, p. 126.
33. M. Buhl, *Inorg. Chem.* 44 (2005) 6277.
34. M.P. Waller, K.R. Geethalakshmi, M. Buhl, *J. Phys. Chem. B.* 112 (2008) 5813.
35. K.R. Geethalakshmi, M.P. Waller, W. Thiel, M. Buhl, *J. Phys. Chem. B.* 113 (2009) 4456.

36. X. Yu, R. Liu, H. Peng, H. Huang, X. Li, B. Zheng, P. Yi, Z. Chen, *Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* 75 (2010) 1095.
37. X. Yu, J. Zhang, B. Zeng, P. Yi, S. Cai, Z. Chen, *Spectrochim. Acta, Part A* 71 (2008) 644.
38. V. Conte, O. Bortolini, M. Carraro, S. Moro, *J. Inorg. Biochem.* 80 (2000) 41.
39. O. Bortolini, M. Carraro, V. Conte, S. Moro, *Eur. J. Inorg. Chem.* 2003 (2003) 42.
40. O. Bortolini, M. Carraro, V. Conte, S. Moro, *Eur. J. Inorg. Chem.* 1999 (1999) 1489.
41. X.Y. Yu, S.H. Cai, X. Xu, C. Chen, *Inorg. Chem.* 44 (2005) 6755.
42. I. N. Levine, *Quantum chemistry*, 4ta edición, Editorial Prentice Hall, New Jersey, USA, 1991.
43. P. Hohenberg, W. Kohn, Inhomogeneous Electron Gas, *Phys. Rev.* 1964, 136: B864-B871.
44. W. Kohn, L.J. Sham, Self-Consistent Equations Including Exchange and Correlation Effects, *Phys. Rev.*, 1965, 140: 1133-1138.
45. A. D. Becke, Density-functional thermochemistry. III. The role of exchange, *J. Chem. Phys.*, 1993, 98: 5648-5652.
46. T. G. Lee, S.C. Park, M.S. Kim, Reaction dynamics of the four-centered elimination $\text{CH}_2\text{OH}^+ \rightarrow \text{CHO}^+ + \text{H}_2$: Measurement of kinetic energy release distribution and classical trajectory calculation, *J. Chem. Phys.*, 1996, 104: 4517-4529.
47. J. C. Slater, *The Self-Consistent Field for Molecular and Solids, Quantum Theory of Molecular and Solids*, Editorial McGraw-Hill Vol. 4, New York, USA, 1974.
48. S. F. Boys, Construction of Molecular Orbitals to be Approximately Invariant for Changes from One Molecule to Another, *Rev. Mod. Phys.*, 1960, 32: 296-299.
49. R. A. Kendall, T. H. Dunning Jr., R. J. Harrison, Electron affinities of the first-row atoms revisited. Systematic basis sets and wave functions, *J. Chem. Phys.*, 1992, 96: 6796-6806.
50. J. S. Binkley, J. A. Pople, W. J. Hehre, Self-Consistent Molecular Orbital Methods. 21. Small Split-Valence Basis Sets for First-Row Elements, *J. Am. Chem. Soc.*, 1980, 102: 939-947.

51. M. S. Gordon, The isomers of silacyclopropane, *Chem. Phys. Lett.*, 1980, 76: 163-68.
52. R. Ditchfield, W. J. Hehre, J. A. Pople, Self-Consistent Molecular Orbital Methods. 9. Extended Gaussian-type basis for molecular-orbital studies of organic molecules, *J. Chem. Phys.*, 1971, 54: 724.
53. W. J. Hehre, R. Ditchfield, J. A. Pople, Self-Consistent Molecular Orbital Methods. 12. Further extensions of Gaussian-type basis sets for use in molecular-orbital studies of organic-molecules, *J. Chem. Phys.*, 1972, 56: 2257-2261.
54. J. A. Pople, J. S. Binkley, R. Seeger, Theoretical Models Incorporating Electron Correlation, *Int. J. Quantum Chem., Suppl.*, 1976, 10: 1-19.
55. P. C. Hariharan, J. A. Pople, Influence of polarization functions on molecular-orbital hydrogenation energies, *Theor. Chem. Acc.*, 1973, 28: 213-222.
56. T. Clark, J. Chandrasekhar, G. W. Spitznagel, P. v. R. Schleyer, Efficient diffuse function-augmented basis-sets for anion calculations. 3. The 3-21+G basis set for 1st-row elements, Li-F, *J. Comp. Chem.*, 1983, 4: 294-301.
57. P. J. Hay, W.R. Wadt, *Ab initio* effective core potentials for molecular calculations. Potentials for main group elements Na to Bi., *J. Chem. Phys.*, 1985, 82: 270-283.
58. F. Jensen, Introduction to Computational Chemistry, *John Wiley & Sons Ltd*, England, 2007.
59. J.A. Guevara García, N. Barba Behrens, R. Contreras, G. Mendoza Díaz, Vanadium compounds. Chemistry, biochemistry, and therapeutic applications, in: A. S. Tracey and D.C. Crans (Eds.), American Chemical Society, Washington, Vol. 711 1998, pp. 126–135.
60. P.J. Hay, W.R. Wadt, *Ab initio* effective core potentials for molecular calculations. Potentials for the transition metal atoms Sc to Hg, *J. Chem. Phys.* 82 (1985) 270–283.
61. P.J. Hay, W.R. Wadt, *Ab initio* effective core potentials for molecular calculations. Potentials for K to Au including the outermost core orbitals, *J. Chem. Phys.* 82 (1985) 299–310.
62. W.R. Wadt, P.J. Hay, *Ab initio* effective core potentials for molecular calculations.

- Potentials for main group elements Na to Bi, *J. Chem. Phys.* 82 (1985) 284–298.
63. D.C. Crans, A.D. Keramidas, H. Hoover Litty, O.P. Anderson, M.M. Miller, L.M. Lemoine, S. Pleasic Williams, M. Vandenberg, A.J. Rossomando, L.J. Sweet, Synthesis, Structure, and Biological Activity of a New Insulinomimetic Peroxovanadium Compound: Bisperoxovanadium Imidazole Monoanion, *J. Am. Chem. Soc.* 119 (1997) 5447–5448.
64. K.R. Geethalakshmi, M.P. Waller, W. Thiel, M. Buhl, ^{51}V NMR Chemical Shifts Calculated from QM/MM Models of Peroxo Forms of Vanadium Haloperoxidases, *J. Phys. Chem. B.* 113 (2009) 4456–4465.
65. X. Yu, R. Liu, H. Peng, H. Huang, X. Li, B. Zheng, P. Yi, Z. Chen, NMR and theoretical study on interactions between diperoxovanadate complex and pyrazole-like ligands, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy.* 75 (2010) 1095–1099.
66. X. Yu, J. Zhang, B. Zeng, P. Yi, S. Cai, Z. Chen, NMR and theoretical study on interactions between diperoxovanadate complex and 4-substituted pyridines, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy.* 71 (2008) 644–649.
67. M.E. Castro, M.J. Percino, V.M. Chapela, M. Ceron, G. Soriano-Moro, J. Lopez-Cruz, F.J. Melendez, Theoretical and Experimental Spectroscopic Analysis of Cyano-Substituted Styrylpyridine Compounds, *Int. J. Mol. Sci.* 14 (2013) 4005–4029.
68. X.Y. Yu, S.H. Cai, X. Xu, Z. Chen, NMR and Theoretical Study on the Coordination and Solution Structures of the Interaction between Diperoxovanadate Complexes and Histidine-like Ligands, *Inorg. Chem.* 44 (2005) 6755–6762.
69. J. Elguero, A. Fruchier, V. Pellegrin, Annular tautomerism in the solid state: a high

- resolution nmr study, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, (1981) 1207–1208.
70. A. Butler, J.V. Walker, Marine haloperoxidases, *Chem. Rev.* 93 (1993) 1937–1944.
71. K. Nakamoto, *Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds; Part B*, John Wiley and Sons Inc., New York, 1997.
72. T. Helgaker, M. Jaszunski, K. Ruud, Ab Initio methods for the calculations of NMR shielding and indirect spin-spin coupling constants, *Chem. Rev.* 99 (1999) 293–352.
73. D.H. Williams, I. Fleming, *Spectroscopic Methods in Organic Chemistry*; third ed., McGraw-Hill, Maidenhead, 1980.
74. R.M. Silverstein, F.X. Webster, *Spectrometric Identification of Organic Compounds*; sixth ed., John Wiley and Sons, Inc.: Hoboken, New Jersey, 1997.
75. A.S. Tracey, J. S. Jaswal, Reactions of peroxovanadates with amino acids and related compounds in aqueous solution, *Inorg. Chem.* 32 (1993) 4235–4243.
76. J. Mukherjee, S. Ganguly, M. Bhattacharjee, Synthesis, characterisation, and reactivity of vanadium(V) complexes containing coordinated peroxide and histidine- A model for the active site of the enzyme bromoperoxidase, *Indian J. Chem.* 35A (1996) 471–474.
77. O.W. Horwath, Vanadium-51 NMR, *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* 22 (1990) 453–485.
78. D. Rehder, in: P.S. Pregosin (Ed.), *Transition metal nuclear magnetic resonance*, Elsevier, Amsterdam, 1991, pp. 1–58.
79. K.J. Ooms, S.E. Bolte, B. Baruah, M.A. Choudhary, D.C. Crans, T. Polenova, ^{51}V solid-state NMR and density functional theory studies of eight-coordinate non-oxo vanadium complexes: oxidized amavadin, *Dalton Trans.* 17 (2009) 3262–3269.
80. K. R. Geethalakshmi, M. P. Waller and M. Buhl, The presumption of innocence? A DFT-directed verdict on oxidized amavadin and vanadium catecholates complexes, *Inorg.*

Chem. 46 (2007) 11297–11307.

81. M. Buhl, F.A. Hamprecht, Theoretical investigations of NMR chemical shifts and reactivities of oxovanadium (V) compounds, *J. Comput. Chem.* 19 (1998) 113–122.
82. M. Buhl, Theoretical study of a vanadate peptide complex, *J. Comput. Chem.* 20 (1999) 1254–1261.
83. 30 (Valeria Conte, Olga Bortolini, Mauro Carraro, Stefano Moro, Models for the active site of vanadium-dependent haloperoxidases: insight into the solution structure of peroxo vanadium compounds, *Journal of Inorganic Biochemistry*, Volume 80, Issues 1–2, 30 May 2000, Pages 41-49, ISSN 0162-0134, [http://dx.doi.org/10.1016/S0162-0134\(00\)00038-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0162-0134(00)00038-6).)

ANEXO 1

ANEXO 2

Coordenadas cartesianas del compuesto GH

1	V	0.000000		
2	O	1.597720	0.000000	
3	O	1.883340	2.845687	0.000000
4	O	1.874043	2.893431	1.443262
5	O	1.886380	2.853612	2.645499
6	O	1.872033	2.881167	3.348854
7	O	3.300155	4.896478	3.178388
8	H	2.782584	4.333271	3.058664
9	H	2.838728	4.397712	2.379982
10	N	2.162395	2.836279	3.605798
11	C	3.173054	3.692573	4.813608
12	C	4.347475	4.809829	5.812970
13	N	4.310269	4.796510	5.445032
14	C	3.141987	3.714714	4.129486
15	C	5.758524	6.168621	7.270543
16	C	6.665339	7.319784	7.954774
17	C	7.533146	8.095496	8.667141
18	O	7.094079	7.595898	8.085027
19	O	8.767367	9.318244	9.918565
20	N	7.828366	8.486914	9.186853
21	C	8.034444	8.772020	9.429125
22	O	7.321470	8.142142	8.719977
23	C	9.541478	10.267246	10.939613
24	N	9.631748	10.411573	11.037748
25	H	10.040841	10.709808	11.540056
26	H	10.242414	11.122623	11.550234
27	H	8.511757	9.329987	9.909796
28	H	10.113118	10.931124	11.393130
29	H	10.072293	10.656621	11.559574

30	H	8.657323	9.266380	9.970743
31	H	6.231314	7.099672	7.367530
32	H	6.369674	6.543418	7.914220
33	H	5.864649	6.270319	7.496138
34	H	5.258534	5.733145	6.238911
35	H	3.344343	3.897394	3.848321
36	H	3.300747	3.765869	5.072288

Coordenadas cartesianas del compuesto GGH

1	V	0.000000		
2	O	1.591820	0.000000	
3	O	1.893824	2.844446	0.000000
4	O	1.867444	2.879625	1.425546
5	O	1.899566	2.837977	2.675834
6	O	1.868656	2.876373	3.345655
7	O	3.752852	5.067093	2.897156
8	H	3.204361	4.482439	2.833309
9	H	3.226406	4.511332	2.032367
10	N	2.141443	2.800313	3.605583
11	C	3.158788	3.616469	4.833396
12	C	4.329874	4.721603	5.832736
13	N	4.287641	4.727595	5.451329
14	C	3.124600	3.682513	4.128298
15	C	5.747891	6.056510	7.307306
16	C	6.737078	7.273435	8.095219
17	C	7.525510	7.959476	8.723800
18	O	7.021336	7.420795	8.056938
19	O	8.760066	9.156756	9.982604
20	N	7.908948	8.432898	9.348262
21	C	8.129838	8.744562	9.609915
22	O	7.413540	8.133794	8.888502
23	C	9.636433	10.216615	11.137142
24	N	9.847325	10.499074	11.352556
25	C	11.035827	11.671325	12.552773
26	O	12.107521	12.686711	13.643261
27	C	11.243224	11.937837	12.726534
28	N	12.709305	13.359686	14.212895
29	H	13.287791	14.022500	14.717060

30 H 13.016497 13.626760 14.545146
31 H 12.953034 13.518880 14.512542
32 H 11.136212 11.961643 12.507340
33 H 10.696817 11.322075 12.234525
34 H 8.997837 9.709645 10.483445
35 H 10.271722 10.926258 11.672756
36 H 10.048650 10.472869 11.635435
37 H 8.735588 9.198683 10.137731
38 H 6.373290 7.134181 7.589891
39 H 6.287506 6.343454 7.873426
40 H 5.872528 6.185294 7.549293
41 H 5.252316 5.671916 6.269219
42 H 3.333887 3.901003 3.838641
43 H 3.296977 3.688265 5.103986

Coordenadas cartesianas del compuesto GHG

1	V	0.000000		
2	O	1.599422	0.000000	
3	O	1.892704	2.856532	0.000000
4	O	1.858104	2.877325	1.444148
5	O	1.899245	2.847653	2.698570
6	O	1.860050	2.874661	3.354120
7	O	3.668570	5.026126	2.864584
8	H	3.112243	4.426197	2.799057
9	H	3.147935	4.470485	1.992620
10	N	2.164696	2.802264	3.623649
11	C	3.164061	3.614033	4.834743
12	C	4.345209	4.745043	5.841378
13	N	4.318869	4.768939	5.475177
14	C	3.154283	3.709174	4.154127
15	C	5.742603	6.072318	7.298906
16	C	6.647432	7.243564	8.011375
17	C	7.594229	8.128654	8.798150
18	O	8.830737	9.345488	10.066082
19	N	7.194167	7.695948	8.230713
20	C	8.354138	8.792576	9.244978
21	C	8.150489	8.506342	8.825740
22	O	7.192298	7.500262	7.782530
23	O	9.412614	9.737001	9.974218
24	N	7.779582	8.362101	9.225078
25	C	7.968947	8.598556	9.471499
26	O	7.103302	7.803822	8.620569
27	C	9.420037	10.019751	10.942321
28	N	9.630394	10.302660	11.137388
29	H	9.393968	9.662342	9.818240

30 H 7.740958 8.449686 9.256972
31 H 10.089623 10.883228 11.491233
32 H 10.272385 10.849190 11.845121
33 H 10.079620 10.745541 11.512951
34 H 9.787045 10.224557 11.403401
35 H 8.625868 9.169850 10.016902
36 H 6.199733 7.016438 7.428427
37 H 6.373322 6.479515 7.932933
38 H 5.821559 6.104633 7.511881
39 H 5.258446 5.701749 6.256070
40 H 3.367343 3.931741 3.873254
41 H 3.281153 3.656618 5.089388
42 H 9.025795 9.601954 9.818712
43 H 9.058714 9.357398 10.062939

ANEXO 3

Frecuencias calculadas para el compuesto GH

X	Y	DY/DX
-149.0000000000	0.0056161721	0.0000730953
-140.0000000000	0.0274146647	0.0003613996
-131.0000000000	0.0309815857	0.0004342197
-122.0000000000	0.0420967103	0.0006148288
-113.0000000000	0.0566556876	0.0008615508
-104.0000000000	0.0652937728	0.0010679444
-95.0000000000	0.0860669311	0.0014717903
-86.0000000000	0.1131720046	0.0020393015
-77.0000000000	0.1467850154	0.0028177743
-68.0000000000	0.1760553521	0.0037477514
-59.0000000000	0.2169086022	0.0051786300
-50.0000000000	0.2900782363	0.0076861853
-41.0000000000	0.3782762148	0.0117475096
-32.0000000000	0.5149050832	0.0195458829
-23.0000000000	0.7586701464	0.0373142975
-14.0000000000	1.3443902613	0.0914042239
-5.0000000000	3.0274116628	0.3703515339
4.0000000000	13.1563731676	1.3541327661
13.0000000000	32.3253828702	2.8356365927
22.0000000000	8.4962257055	-1.0307980018
31.0000000000	9.6684183307	0.7443275773
40.0000000000	12.5430170501	0.3960049218
49.0000000000	9.5301554227	-1.2970669993
58.0000000000	10.0834436590	1.3795914302
67.0000000000	32.6787960472	-0.3082250356
76.0000000000	25.2602914585	-0.3858591858
85.0000000000	6.9531490058	-0.6214267175
94.0000000000	7.0500034242	0.6740831861

103.0000000000	23.5875980569	0.4177586869
112.0000000000	13.7745105951	-0.9604859413
121.0000000000	7.7569926586	0.0243945502
130.0000000000	16.9312704786	2.7539079329
139.0000000000	88.2663378697	-2.4804652946
148.0000000000	16.0138909931	-2.4042424543
157.0000000000	8.5744188550	0.1622349970
166.0000000000	16.7873199126	-1.0290506454
175.0000000000	20.1726471329	0.2507847803
184.0000000000	16.8535973074	1.6618513421
193.0000000000	12.1715075476	0.1371419729
202.0000000000	36.2001521011	7.8892364103
211.0000000000	51.7247384868	-11.4075439535
220.0000000000	16.8817615749	0.1521563682
229.0000000000	48.1502193986	0.2655491958
238.0000000000	11.6104529498	-1.3488823466
247.0000000000	7.4057603067	0.0487343161
256.0000000000	12.3184161501	0.0382570032
265.0000000000	11.1803668833	0.5397356524
274.0000000000	25.2987054910	3.4675916828
283.0000000000	144.0937828774	23.2045705903
292.0000000000	75.7737021245	1.4935420389
301.0000000000	146.4173458408	-15.3586437293
310.0000000000	41.3565388848	-2.1309861167
319.0000000000	23.1938777588	-1.4169503499
328.0000000000	39.5429138338	7.1400119850
337.0000000000	52.8583364700	-10.3353983480
346.0000000000	34.7709327278	4.6532870072
355.0000000000	26.9610831826	-4.8758686991
364.0000000000	11.6236198399	-0.2960759057
373.0000000000	13.0649447821	0.6048870885

382.0000000000	25.9494914981	2.8291585920
391.0000000000	108.3486646083	24.0853052661
400.0000000000	259.4340943706	-52.5040221306
409.0000000000	44.2482769740	-7.0625841858
418.0000000000	15.0300568546	-1.3733072932
427.0000000000	7.6533115634	-0.4739236636
436.0000000000	4.8287046925	-0.2135235915
445.0000000000	3.3578907381	-0.1019911551
454.0000000000	3.1596439777	0.0589343704
463.0000000000	2.6659529563	-0.1696794845
472.0000000000	1.9985313610	-0.0316475437
481.0000000000	1.8247514320	-0.0080844151
490.0000000000	2.0025103728	0.0092459802
499.0000000000	2.1144006380	0.0279263430
508.0000000000	2.5237936137	0.0611806660
517.0000000000	3.5834187220	0.1773515065
526.0000000000	8.0124746514	0.8623976986
535.0000000000	8.1979004200	0.3350977387
544.0000000000	20.6166650114	3.4837118793
553.0000000000	76.1475240832	-10.0901053123
562.0000000000	20.0652437127	-0.7852540542
571.0000000000	42.0431108815	6.4621627011
580.0000000000	28.2158910222	-0.5782703713
589.0000000000	64.7957186986	12.3466065697
598.0000000000	107.5988967576	-7.0179256161
607.0000000000	291.7282494445	10.8975584923
616.0000000000	67.7046568793	-7.7553333312
625.0000000000	68.9734490063	-3.4956355370
634.0000000000	47.6624231147	3.1270668163

Frecuencias calculadas para el compuesto GH

X	Y	DY/DX
0.000000000	2.4309979409	0.2566576209
9.000000000	9.6623444080	1.9458023939
18.000000000	22.3038648074	-3.9105324943
27.000000000	10.3620552028	0.2674777626
36.000000000	8.8942667624	0.9345226457
45.000000000	23.0756151655	1.3568892380
54.000000000	11.8252404438	-1.6128360610
63.000000000	14.9572615896	2.1620489303
72.000000000	24.7026107296	-1.7506342054
81.000000000	24.0454330539	1.4450403362
90.000000000	7.3930692207	-0.6776979892
99.000000000	9.5032475125	1.0464292409
108.000000000	12.0133999083	-0.7931845586
117.000000000	5.6593569924	-0.0297798633
126.000000000	9.7549623163	1.1661223945
135.000000000	53.3784967281	12.3914116815
144.000000000	26.3564902177	-5.5801414606
153.000000000	8.1165107196	-0.4761144680
162.000000000	8.4809316785	0.0549078356
171.000000000	16.4068286833	2.8018248304
180.000000000	34.0293800086	2.3627898065
189.000000000	26.1497889726	1.8616969349
198.000000000	41.5074982735	-1.8201967302
207.000000000	55.5938930920	-8.9702574316
216.000000000	29.1500994980	2.8481886555
225.000000000	64.8264439372	-12.3552958340
234.000000000	13.0242603482	-1.4044523342
243.000000000	8.1360453315	-0.0465668728
252.000000000	14.1797012682	1.9241219605

261.0000000000	15.1471662315	-1.8628924879
270.0000000000	10.4460497169	0.2846072930
279.0000000000	20.2574023721	2.5990231945
288.0000000000	70.8715998850	12.1050322664
297.0000000000	51.7457917216	-1.4715538170
306.0000000000	60.9539813251	-1.6164863918
315.0000000000	106.5065497868	12.7536518567
324.0000000000	220.0811919560	-38.1684310043
333.0000000000	152.4108218547	-5.5648428972
342.0000000000	276.2282715794	44.6259984061
351.0000000000	130.6993730384	-9.7824958061
360.0000000000	70.4615847235	-13.2153984918
369.0000000000	23.6236739796	-1.5796927606
378.0000000000	17.7559868333	0.0161116404
387.0000000000	24.4514201754	1.8293308375
396.0000000000	79.2468079724	15.8424334926
405.0000000000	233.0599548637	-45.8141907778
414.0000000000	68.6234050288	2.0070352828
423.0000000000	26.7515481163	-3.8364536874
432.0000000000	11.6762801846	-0.6591592061
441.0000000000	8.5250080404	-0.1415293897
450.0000000000	8.9028939141	0.2131175949
459.0000000000	13.1884184057	0.2474216739
468.0000000000	22.6535399931	2.4030855758
477.0000000000	100.0016715685	23.4182352879
486.0000000000	132.0426847661	-31.7839530637
495.0000000000	28.8994292859	-2.5909905267
504.0000000000	27.8597147101	2.7787756436
513.0000000000	76.9536230674	-10.7171598761
522.0000000000	21.0359657923	-1.3713838467
531.0000000000	12.6776891069	-0.0976856304

540.0000000000	18.3261404581	1.7199657872
549.0000000000	81.0218653535	12.3379010573
558.0000000000	31.8415878046	-2.9162790038
567.0000000000	44.8453938561	7.3798565580
576.0000000000	54.7161355826	-9.4824609404
585.0000000000	30.2608710844	0.6714089508
594.0000000000	61.6460156356	8.5993762955
603.0000000000	226.3218739560	38.5613170298
612.0000000000	195.4445625977	-20.5665073913
621.0000000000	347.2082389651	-15.1176516874
630.0000000000	97.7715442853	-4.0977717382
639.0000000000	124.6817526568	13.0406893409
648.0000000000	336.8874127889	-47.4426124424
657.0000000000	214.0002203647	29.5563594002
666.0000000000	399.6459401146	24.9339296522
675.0000000000	156.7011742230	-30.2626036187
684.0000000000	55.2411105778	-2.4128036042
693.0000000000	87.4048552205	14.5935388104
702.0000000000	120.8372855193	-27.1107290898
711.0000000000	28.1405408413	-2.7762182914
720.0000000000	15.8283474067	-0.5704597482
729.0000000000	15.6836338352	0.6239190970
738.0000000000	29.5870772738	-2.5584755272
747.0000000000	13.4593503440	-0.3780849805
756.0000000000	13.1886719992	0.1979262365
765.0000000000	16.7680848905	0.6545457877
774.0000000000	27.8965509076	2.3549502263
783.0000000000	56.4985291771	3.0052376330
792.0000000000	186.3824383435	38.9489015224

Frecuencias calculadas para el compuesto GHG

X	Y	DY/DX
0.000000000	2.9251098761	0.3643884367
9.000000000	14.7953021348	3.2462800059
18.000000000	14.8947982134	-2.8254551650
27.000000000	13.0094406836	1.1278658025
36.000000000	14.0419717664	1.4175713394
45.000000000	6.4331387958	-0.5179438483
54.000000000	9.3900594007	-0.3606549448
63.000000000	8.0856695407	0.3818609386
72.000000000	8.3380747398	0.9128924022
81.000000000	14.1701754993	1.1005624663
90.000000000	7.5964218662	-0.4096142254
99.000000000	13.3449627693	1.2870773318
108.000000000	42.5116201491	2.5748174143
117.000000000	12.6365418097	-1.2237895030
126.000000000	16.5693740477	-0.2558877670
135.000000000	8.1088846721	-0.0786724243
144.000000000	12.0323147723	1.0850730433
153.000000000	25.9192097001	3.0153542234
162.000000000	138.2632984742	32.4565647958
171.000000000	100.8114836477	-20.0901992295
180.000000000	54.2979084395	-6.1306220913
189.000000000	37.4828865988	1.6127966818
198.000000000	13.6996063092	-1.0348281225
207.000000000	8.7647419964	-0.4960597557
216.000000000	8.3600899155	0.3642838605
225.000000000	24.5755980463	4.9057400303
234.000000000	17.1399392550	-2.6645643333
243.000000000	9.4413197854	-0.0334067978
252.000000000	12.5399827141	0.8188367934

261.0000000000	32.2641949391	3.6372696284
270.0000000000	108.2257554575	-6.3440174310
279.0000000000	67.0456590430	7.9156100251
288.0000000000	157.6396797165	-25.4188008338
297.0000000000	72.3312845571	-10.3977326184
306.0000000000	30.6172342183	-0.2968469553
315.0000000000	37.6842776320	3.1747823234
324.0000000000	149.1554946921	19.1124033140
333.0000000000	152.9691343599	11.9515255856
342.0000000000	207.9335545121	35.9319969755
351.0000000000	312.6451484727	-33.3964863464
360.0000000000	315.5614309274	48.4161386237
369.0000000000	117.2960480499	-20.3635815057
378.0000000000	53.4839315873	-0.3219270999
387.0000000000	115.3194421224	21.2860286411
396.0000000000	262.7275781309	-57.1034863235
405.0000000000	57.5187414117	-2.9077228707
414.0000000000	31.4786816611	-4.5892707021
423.0000000000	13.3611181295	-0.8178458076
432.0000000000	8.8189775654	-0.3003746772
441.0000000000	7.0304941208	-0.1142878205
450.0000000000	6.9736086431	0.1515229364
459.0000000000	6.6511085597	0.0170532553
468.0000000000	8.5285379389	0.2730159928
477.0000000000	13.4293233149	1.4272469621
486.0000000000	55.0325861452	1.6922619204
495.0000000000	16.4351090809	-1.3568674691
504.0000000000	13.4319394496	0.2205009811
513.0000000000	18.3474258636	0.9783362434
522.0000000000	34.2623196645	2.9975378344
531.0000000000	96.5217225288	14.7256431462

540.0000000000	633.1432542062	139.2909983146
549.0000000000	248.6305595559	-49.4198780893
558.0000000000	68.4568007472	-8.6814256927
567.0000000000	29.2889432893	-1.7265878577
576.0000000000	23.7919720420	0.5298738191
585.0000000000	61.0658602605	8.7574827062
594.0000000000	42.4147293851	0.6911117433
603.0000000000	125.0250792145	2.5227118615
612.0000000000	147.6670104703	26.9894626195
621.0000000000	74.7686584505	-13.8371657636
630.0000000000	46.7549790328	-0.0829128891
639.0000000000	20.9054473068	-0.6009580087
648.0000000000	40.1472376057	7.2993314411
657.0000000000	39.1844430744	-5.9446560261
666.0000000000	45.1063198049	7.8287614728
675.0000000000	35.6924151554	-5.8248520766
684.0000000000	13.8418513826	-0.7505673628
693.0000000000	11.8987277979	0.0902440815
702.0000000000	14.7344594029	0.5638021748
711.0000000000	23.1688276503	1.6226032768
720.0000000000	53.5100512456	6.6213011073
729.0000000000	194.6459902362	36.0479678433
738.0000000000	702.3396648173	-119.8910819572
747.0000000000	120.7764188834	-16.2944836990
756.0000000000	37.9489549955	-3.6951731441
765.0000000000	19.4744994715	-1.0565798934
774.0000000000	14.8682179317	-0.0643855216
783.0000000000	16.1868938793	-1.0792937556
792.0000000000	13.2122503659	0.1347704333