

Activació dels aminoàcids glicina i lisina i dels seus homopèptids per cations de Cobalt.

Estudis teòrics i d'espectrometria de masses

erika constantino i aguilella

tesi doctoral dirigida per

Mariona Sodupe i Roure
Luis Rodríguez Santiago

sobre la contraportada

La contraportada no pretén oferir al lector un resum de la tesi, sinó donar a conèixer alguns dels aspectes més importants d'aquest treball, perquè el lector pugui formar-se una idea al respecte. Aquest treball gira entorn a la interacció metall-molècula en fase gas, concretament, en els sistemes Co(I)/Co(II)-glicina, lisina, oligoglicines, oligolisines, interacció estudiada amb l'ajuda de diverses tècniques: el DFT i l'espectrometria de masses.

Activació dels aminoàcids glicina i
lisina i dels seus homopèptids per
cations de cobalt.

Estudis teòrics i d'espectrometria de
masses

erika constantino i aguillella

Tesi doctoral dirigida per

Mariona Sodupe i Roure

Luis Rodríguez Santiago

Unitat de Química Física

Departament de Química

Universitat Autònoma de Barcelona

2009

UAB

Mariona Sodupe i Roure, catedràtica d'universitat al Departament de Química de la Universitat Autònoma de Barcelona, i Luis Rodríguez Santiago, professor titular al Departament de Química de la Universitat Autònoma de Barcelona, certifiquem que:

Erika Constantino i Agullella ha realitzat sota la nostra direcció al Departament de Química de la Universitat Autònoma de Barcelona el treball que porta per títol "Activació dels aminoàcids glicina i lisina i dels seus homopèptids per cations de cobalt. Estudis teòrics i d'espectrometria de masses" que es presenta en aquesta memòria per optar al grau de doctor en Química.

Mariona Sodupe i Roure

Luis Rodríguez Santiago

Bellaterra, 27 de març de 2009

als meus pares
als meus iaies

...els bons moments passats...

el meu inici al grup de recerca GETAB va ser un poc dubitatiu. Va començar amb un estudi de l'equilibri ceto-enòlic, que alguns recordarem de manera una mica especial durant temps. Entre aquesta col·laboració i l'inici del doctorat, estant d'Erasmus a París, vaig tindre la possibilitat de visitar amb Mariona i Luis el laboratori d'espectrometria de masses de la professora Jeanine Tortajada, a l'Université d'Évry Val d'Essonne. L'oportunitat de dedicar-me durant uns anys a un tema que m'atreia, de combinar càlculs amb una àrea bastant diferent com l'espectrometria de masses i de continuar eixint a l'estranger em va fer decidir-me finalment. Des d'aquells dies molt ha plogut, i tot i així, hi ha moments que em pareixen molt recents. Al pensar en tot aquest temps em passen els anys fragmentats en milers de seqüències, com uns fotogrames a alta velocitat. Han estat uns anys amb moltíssims bons moments, però també amb moments de dubte, de decepció, de "crisi científica", com diria el "Sr. Prat". Tot i això, no els canviaria.

les primeres gràcies són per a Mariona i Luis. Per a Mariona, per haver-me acceptat i haver-me empès en certa mida a començar. Per haver-me recolzat sempre amb les places i/o les beques, per haver-me dirigit en estos anys. Per haver-me ajudat, no sols a nivell científic, sinó també professional. La seua iniciativa i les ganes d'ajudar-nos a fer allò que ens agradava m'han permès participar en altres facetes de la ciència, poder barrejar química i docència amb una vessant més artística, aprendre a fer ful·lerens amb paper... Però sobretot, m'ha empès a "fer boniques les coses" (si més no, a intentar-ho); és a dir, a arribar on em trobe ara. Aquest seria un bon exemple on el sentiment no es pot expressar amb paraules. Luis va arribar a aquesta tesi una mica més tard, poc abans de defensar el treball de recerca, el primer que va codirigir. M'haguera encantat escriure la primera tesi codirigida per ell, però per unes coses i unes altres no va poder ser. A ell li dec també aquesta tesi, per la direcció, per la seua implicació, pels ànims i per la resposta que m'ha donat, sobretot l'últim any. Per les hores passades analitzant els espectres de masses. Així com per la feina inestimable que ha realitzat en diferents articles. Un segon exemple d'insuficiència d'una paraula. Aún así, gracias Luis. Y aún recuerdo que Marc y Xavi me preguntaban de broma si había pensado bien que me dirigieras... Fue buena elección.

en segon lloc, aquesta tesi també té un trosset de Jeanine, amb qui vaig treballar la part experimental i qui em va ajudar a aprendre a desxifrar un “maremàgnum” de pics i a conèixer una part del món de l’espectrometria de masses. Merci beaucoup Jeanine. Merci aussi à Riccardo (qui m’a aimablement accueillie la première semaine du stage), à Jean-Yves et à tout le monde du labo, pour m’avoir aidée et m’avoir accueillie si bien pendant mon stage.

també gràcies al tribunal, per haver acceptat a participar en aquesta tesi, per haver-se mirat aquest treball.

aquesta tesi també va lligada a molts records i gent que, a la seua manera, han deixat la seua petjada en aquest treball. Recorde especialment el molt bon ambient que hi havia entre grups quan vaig arribar, ja que no em va ser difícil integrar-me en un lloc on tots pareixíem ser de la mateixa família, els sopars (molts a casa de Marieta), molts riures, la tria del nom del meu PC (ondeia), recorde conèixer millor a gent amb qui havia fet la carrera i que també van seguir la mateixa via, fent la tesi a química física (Galí, David). La meua primera estructura amb cobalt optimitzada i l’alegria immensa pel temps que em va costar (i una mica de tristesa en veure la sorpresa de Maria, com si allò no fóra res excepcional). Recorde els cursos de doctorat, a Salamanca, moments en què era incapaç d’assimilar aquella pluja de conceptes; Adrià mirant sempre la pantalla del meu ordinador, que llavors em feia enrabiar i ara ho recorde amb afecte, la gent de Girona (David i Albert), moments de riure... Les calçotades de diumenge (fantàstiques) a les que ens convidava cada any Maria, amb les excursions al dissabte, on havíem arribat a anar a alguna cova, i on Maria ens havia fet fins i tot arrossegar-nos per terra. La santa paciència i els infinits moments de riure i xarrades amb Marc, Maria i Xavi, però sobretot, quant em van escoltar en moments delicats. Què haguera fet sense vosaltres? Un altre exemple on ni tan sols “mil gràcies” són suficients. Adrià, amb la seua astrologia i la seua fideuà. Xavi Prat, encarregat de posar els carrers al matí i arribar promptíssim al despatx, les seues converses, algunes als sillonets/lloc inicial de “merenars” i cafès, la seua ironia. La calma i la dolçor de Laia. Xavi Asensio. Oriol i el seu entusiasme per la ciència. Núria, el seu “xarnego power” i els seus funcionals. Tots els dinàmics i els transmet. «Pasé por tu casa y me tiraste un portafolio; no me “dólio»»: frase de la genial i entusiàstica Reixel, amb la seua alegria contagiosa. Companya dels Camins de la Química i de la Setmana de la Ciència, preparant activitats i

fent ful·lerens, animant-nos mútuament al final de la tesi, companya de dipòsit! L'energia en persona. Haurien d'inventar una nova unitat d'energia: la "reixel". La tranquil·litat contagiosa de l'estrella del futbol, Edu, sempre somrient, sempre escoltant música, sempre intentant fer-nos anar a la Filmoteca. Les seues bromes. A l'estil Galí de vegades. «mmamm la sala de màquines?». El patinatge amb Galí, Marc, Maria, Raquel... les eixides de fotografia... Ainara, sempre rient. Aleix, «busco a Jacs», o «el bon jan», com li deia Maria. Molts "merenars", molts, a les 17, a les 17.30, als bancs. Esmorzars. Gràcies Marc, per esperar-me al matí per al cafè! Carles sempre escoltant música, sempre. I discutint (en el sentit que toca de la paraula) amb Marc. Carles, gràcies per ensenyar-me qui s'amagava darrere dels auriculars, i per fer que també aquesta personeta siga una part de la meua vida... per fer-me feliç, per espantar-me en la tesi. Albert, company de camí amb les poliglicines (i Coure!!), company de llargues converses i discussions, no sols sobre aquest tema compartit, sinó també de caire personal. El mateix Albert que és pare! (sort!). Alfons, que tot i passar poc temps a la unitat em va deixar moltes converses i que ja sap que a París no es pot criticar els coloms. I sí, els càlculs que he fet sempre seran els meus xiquets. Els "cinegourmets", tan deliciosos i educatius. El despatx sempre internacional dels transmet. En fi, són molts records, associats a molta gent, alguns dels quals m'hauré deixat d'esmentar... gràcies a tots, pels bons moments, pels moments de complicitat i confiança que alguns de vosaltres m'heu ofert, per intentar fer que creguera més en mi mateixa. I als nouvinguts (Pierre, Federico, Jorge, Max, Salva...) amb qui no he pogut compartir tant de temps, ànims!

els altres químics... Úrsula (santa paciència amb mi, gràcies mil!!!), Ona, Sílvia, Manu, Jordi, Montse (un sol), Maria, Marc, David... dinars que sovint acabaven amb un «els quifis sou els més freakis».

però d'alguna manera, també han estat presents altres moments i persones durant estos anys. Persones que, tot i no tindre un vincle científic m'han donat moments d'alegria, de riure, d'amistat, de carinyo, i als que he donat molt la tabarra amb la tesi. Elena, la meua "germaneta". Sempre al meu costat. Què fariem tots sense la seua alegria i la seua bondat? És el solet de Vila-real. Un exemple més on les gràcies es queden curtes. Clara, Marta, Pedro, el nouvingut Pol, Carpi i Marisol, Rosiña, «caminante no hay camino» amb les seues bromes i la seua alegria, el Thrombocid a Donosti, el llac "asvaroset", l'arrossejat, melò-

melà, els caps d'anys... uns trossets de pa. Laia, la nostra "americana", amb el seu riure. Però també la gaspatxera Isabel, la meua "família" a Cerdanyola durant uns anys. Paula, "Mou", la "perleta" de "la república". Celia, que tantes vegades m'ha preguntat sobre la tesi, sobre el que fèiem. Mayra. Claude, ma mère "poule" française, qui m'a toujours encouragée à finir la thèse et qui s'inquiète toujours pour moi. TVTB, Claude. Tu vas enfin pouvoir être tranquille. Auri, Juan, Montse, Miquel, Pau, Xavi, Anna, Dolors, Carles (Torres), que m'han acollit com una més de la família. Carles, per estimar-me, per animar-me en moments de decaïment, però sobretot, per demostrar-me paciència. I, com no, els més importants, als que dec la vida i bona part de qui sóc. Sempre recolzant-me, sempre escoltant-me, sempre ensenyant-me a donar fins al final, a «*semblar*» per «*recollir*», a ser persona, i sobretot, sempre estimant-me. Als meus pares. Uns pares que, si haguera pogut triar-los, els hauria triat a ells. I, per suposat, als meus quatre iaïos, a qui tinc la sort de tindre encara. Iaia, ja tens una cosa menys per la que patir: ja l'he acabat!!! Com diuen molts que em coneixen, "tinc una flor". La tinc, per tindre la sort d'estar envoltada de gent a la que estime i que m'estima.

finalment, no uns agraïments o uns records, sinó uns ànims per als que defensaran o acabaran d'escriure en breu, Raquel, Xavi Asensio, Carles, Úrsula, Sílvia, Edu (acaba ja, homeeeee!!!), Aleix: endavant!!!!!!

... pels bons moments futurs, que esperem siguen molts!

gràcies

ÍNDIX

| | |
|--|----|
| INTRODUCCIÓ | 1 |
| ELS METALLS I ELS PÈPTIDS | |
| 1.1. EL DIVERS MÓN DELS METALLS | |
| 1.1.1. ELS ELEMENTS METÀL·LICS EN EL MÓN BIOLÒGIC | 2 |
| 1.1.2. TOXICITAT I REGULACIÓ DELS ELEMENTS METÀL·LICS EN EL MÓN BIOLÒGIC | 7 |
| 1.2. EL DIVERS MÓN DE LES PROTEÍNES | 8 |
| 1.2.1. FUNCIONS DE LES PROTEÍNES | 9 |
| 1.2.2. ELS AMINOÀCIDS | 10 |
| 1.2.3. L'ENLLAÇ PEPTÍDIC | 13 |
| Metal·lació de l'enllaç peptídic | 14 |
| 1.3. ESPECTROMETRIA DE MASSES I TÈCNIQUES COMPUTACIONALS: DUES VISIONS COMPLEMENTÀRIES | 15 |

| | |
|---|-----------|
| 1.3.1. ESPECTROMETRIA DE MASSES | |
| 1.3.2. QUAN L'ESPECTROMETRIA DE MASSES ES TROBA AMB LES TÈCNiques | |
| COMPUTACIONALS | 17 |
| | |
| EL COBALT I ELS OLIGOPÈPTIDS DE GLICINA I LISINA | 18 |
| | |
| 1.4. EL COBALT | |
| 1.5. LA GLICINA, LA LISINA I ELS HOMOPÈPTIDS D'AQUESTS AMINOÀCIDS | 23 |
| 1.5.1. LA GLICINA I ELS SEUS DERIVATS | |
| 1.5.1.1. L'aminoàcid | |
| 1.5.1.2. Els sistemes M^{n+} -glicina | 24 |
| 1.5.1.3. Els oligopèptids de glicina | 27 |
| Diglicina | 28 |
| Triglicina | 29 |
| Tetraglicina | |
| 1.5.1.4. Els sistemes M^{n+} -oligoglicines | 30 |
| M^{n+} -diglicina | 32 |
| M^{n+} -triglicina | 34 |
| M^{n+} -tetraglicina | 36 |
| 1.5.2. LA LISINA I ELS SEUS DERIVATS | 37 |
| 1.5.2.1. L'aminoàcid | |
| 1.5.2.2. Els sistemes M^{n+} -lisina | 39 |
| 1.6. OBJECTIUS | 41 |
| Objectius concrets | 42 |
| BIBLIOGRAFIA | 44 |
| | |
| METODOLOGIA TEÒRICA I EXPERIMENTAL | 51 |
| | |
| 2.1. METODOLOGIA COMPUTACIONAL | |
| 2.2. METODOLOGIA EXPERIMENTAL: ESPECTROMETRIA DE MASSES | 59 |
| 2.2.1. CONTEXTUALITZACIÓ HISTÒRICA. INTRODUCCIÓ | |
| 2.2.2. FONAMENTS | 60 |

| | |
|--|-----------|
| 2.2.2.1. Fonts d'ionització: electrospray | 61 |
| 2.2.2.2. Analitzadors: quadrupol | 62 |
| 2.2.2.3. Espectrometria de masses en tàndem (MS ⁿ) | 64 |
| 2.2.3. SECCIÓ EXPERIMENTAL | 68 |
| CALIBRATGE DEL MÈTODE DE CÀLCUL | 69 |
| 3.1. CÀLCULS DE CATIONS | |
| 3.2. ELS CATIONS DE COBALT I L'AIGUA | 72 |
| 3.2.1. Co(I)-H ₂ O | 73 |
| 3.2.2. Co(II)-H ₂ O | 78 |
| BIBLIOGRAFIA | 85 |
| RESULTATS I DISCUSSIÓ | 89 |
| 4. ELS CATIONS DE COBALT I ELS AMINOÀCIDS | |
| 4.1. LA GLICINA | |
| 4.1.1. Co(I)-GLICINA | |
| 4.1.2. Co(II)-GLICINA | 100 |
| 4.2. LA LISINA | 107 |
| 4.2.1. L'AMINOÀCID | |
| 4.2.2. Co(I)-LISINA | 109 |
| 4.2.3. Co(II)-LISINA | 117 |
| 4.2.4. COMPLEXOS DE TIPUS [H-Co-(lisina-H)] ⁿ⁺ | 124 |
| Co(I): estats triplets i singlets | |
| Co(II): estats quartets | 130 |
| 4.3. CONCLUSIONS | 133 |
| BIBLIOGRAFIA | 135 |
| 5. ELS CATIONS DE COBALT I LES OLIGOGLICINES | 137 |
| 5.1. EL Co(I) I LES OLIGOGLICINES | 138 |
| 5.1.1. ESTATS TRIPLETS | 140 |

| | |
|---|-----|
| 5.1.2. ESTATS SINGLETES | 151 |
| Estabilització dels estats singlets | 158 |
| 5.2. EL Co(II) I LES OLIGOLICINES | |
| 5.3. CONCLUSIONS | 169 |
| BIBLIOGRAFIA | 171 |
| | |
| 6. ÚS DE L'ESPECTROMETRIA DE MASSES EN L'ESTUDI DE POLIGLICINES I POLILISINES | 173 |
| 6.1. ANÀLISI DELS ESPECTRES DE LA FONT: EXPERIMENTS MS | 174 |
| 6.2. ANÀLISI DE LES FRAGMENTACIONS DELS COMPLEXOS $[Co,L]^{2+}$ I $[Co,L-H]^+$: EXPERIMENTS MS/MS | 182 |
| 6.2.1. $[Co,L]^{2+}$ | 184 |
| Co(II)-(glicil) _n glicines (n=2,3) | 185 |
| Co(II)-(lisil) _n lisines (n=0-3) | 188 |
| 6.2.2. $[Co,L-H]^+$ | 206 |
| 6.3. CONCLUSIONS | 218 |
| BIBLIOGRAFIA | 219 |
| | |
| CONCLUSIONS GENERALS | 221 |

1. 1. EL DIVERS MÓN DELS METALLS

metall *m.* Element químic situat a les primeres columnes de la classificació periòdica o en els períodes de transició, com l'alumini, el ferro o l'or, caracteritzat per la seva brillantor, la seva estructura cristal·lina, per ésser dúctil, mal·leable, bon conductor de la calor i de l'electricitat, i capaç de formar òxids bàsics amb l'oxigen i de substituir els ions hidrogen d'un àcid per a formar sals.

[fragment extret del *Diccionari de la llengua catalana* de l'Institut d'Estudis Catalans].

Hom sap distingir amb certa claredat un objecte metàl·lic d'un que no ho és; hom coneix noms de metalls, metalls com l'alumini, el ferro, el coure, la plata o l'or; hom sap de l'existència dels aliatges, formats per la unió de diversos metalls. Existeix una etapa de la Prehistòria que és anomenada Edat dels Metalls

(Edat de Coure, Edat de Bronze i Edat de Ferro), per tractar-se de l'època en què l'home comença a emprar els metalls i a fabricar-ne utensilis. Els qui saben una mica de música coneixen l'existència dels instruments de metall (instruments de vent, com la trompeta o el saxofon), de sonoritat característica; instruments d'altra banda, no emprats en un tipus de música que, curiosament, porta l'adjectiu "metall", el *heavy metal*. Però no és l'objectiu d'aquesta tesi parlar de música.

Des del descobriment dels metalls i el seu ús per part dels homes de la Prehistòria, els metalls s'han incorporat de manera gradual i vertiginosa a les nostres vides. Ens envolten, els fem, els necessitem sense ser-ne massa conscients. Des d'una simple finestra d'alumini fins unes agulles d'un rellotge, passant per la banda magnètica d'una tarja de crèdit. Treballem els metalls, que es troben de manera natural en el nostre entorn, per introduir-los en les nostres vides. Però tampoc és l'objectiu parlar de metal·lúrgia o siderúrgia.

Els metalls representen molt més que els objectes que amb ells fabriquem: la seua importància va més enllà de la vida quotidiana.

Quin és l'objectiu doncs?

1.1.1. ELS ELEMENTS METÀL·LICS EN EL MÓN BIOLÒGIC

Cada vegada més, alguns metalls són introduïts de manera artificial en els éssers vius, com a fruit de la interacció amb l'entorn, però també amb finalitats mèdiques: d'una banda, el seu subministrament permet l'estudi *in vivo* de l'estructura i funció de les biomolècules; d'una altra, són d'un gran ajut en la diagnosi i tractament de malalties. Així, metalls pesats com el mercuri o el plati s'usen en cristal·lografia de raigs X i en microscopia electrònica en la dilucidació d'estructures de macromolècules. Ions metàl·lics paramagnètics són importants

en aplicacions de ressonància magnètica. Compostos que contenen metalls s'han usat (i s'usen), no sols com a sondes per investigació, sinó en diagnosi i en teràpies farmacèutiques: fàrmacs de platí, contra el càncer, agents per a l'artritis basats en compostos d'or o medicaments basats en el tecneci en són només exemples. Altres elements incorporats artificialment són l'itri, el crom, el cobalt o el cadmi.¹ De fet, l'ús de metalls en medicina no és nou: ja els grecs i els hebreus usaven Fe i Cu, com van plasmar en diversos escrits. Entre els ions metàl·lics emprats habitualment al llarg de la història es podria destacar el Hg(II), en el tractament de la sífilis, el Mg(II) per a alteracions intestinals o el Fe(II) per l'anèmia. L'impacte però, que rep actualment l'ús de cations metàl·lics en la medicina és molt superior, com també són superiors els coneixements que es tenen de bioinorgànica i la tecnologia de la que es disposa. Així doncs, es donen dues vessants complementàries: la introducció de metalls en els mateixos éssers vius com a sondes i fàrmacs i, el que és més important, l'estudi dels elements metàl·lics en els éssers vius.

El motiu que els fa més importants és el fet de trobar-los de forma natural en els organismes vius. La natura ha après a emprar les propietats especials dels ions metàl·lics per portar a terme una gran varietat de funcions específiques associades amb els processos de la vida. Un exemple sorprenent i potser ben representatiu és l'existència de bacteris magnetotàctics que empen magnetita (Fe_3O_4) per orientar-se. Funcions com la respiració, moltes reaccions metabòliques, la fixació del nitrogen (reducció catalítica de N_2 a NH_3), la fotosíntesi, la transmissió nerviosa, la contracció muscular, la transducció de senyals i la protecció front a agents tòxics i mutagènics, són desenvolupades per biomolècules amb centres metàl·lics, anomenades comunament metal·lobiomolècules.¹ Es més, en ocasions la natura empra diferents metalls de transició en diferents organismes per portar a terme una funció idèntica, fet que fa augmentar llur interès.

D'elements metàl·lics n'hi ha molts, però són pocs els que tenen el privilegi de formar part dels éssers vius de manera natural. Destaquen els alcalins i alcalinoterris Na, K, Mg i Ca, uns pocs elements metàl·lics del bloc p com l'Al, Sn, Pb i Bi, tots els de la primera sèrie de transició a partir del V (V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu i Zn) i alguns pocs de la segona i tercera sèrie de transició, com el Mo i el W, Ag, Cd, Pt, el Cd o el Hg. Malgrat el seu caràcter essencial, tots ells junts però, només representen un percentatge ínfim respecte els elements estructurals (C, H, O, N, P).^{2,3} Aquests elements metàl·lics formen un conjunt químic ben divers, tan divers com les funcions que poden desenvolupar en els organismes. De fet, és aquesta diversitat química la que dóna lloc al gran ventall de funcions que desenvolupen. De tota manera, tots ells, sota les condicions que imposa la vida i sota les condicions en les que es desenvolupen els processos biològics, es troben en forma d'ions, bé formant part de compostos, bé en dissolució.

La química que donen tots aquests ions metàl·lics depèn bàsicament de la presència o absència d'orbitals d ocupats o susceptibles de ser ocupats. Aquest fet determina el tipus d'interacció metall-biomolècula i porta a una divisió d'aquests elements en dos grups: un constituït pels alcalins, alcalinoterris i metalls del bloc p i un segon integrat pels cations dels metalls de transició. Els primers, els cations alcalins i alcalinoterris, no imposen massa restriccions geomètriques, només les determinades per les repulsions lligand - lligand, podent augmentar el seu nombre de coordinació. Aquests cations donen una química bàsicament iònica, actuant habitualment com a,

- contraions,
- estabilitzadors d'estructures (el K(I) estabilitza les estructures dels telòmers, regions de DNA no codificants i trobades en els extrems dels cromosomes; el Na(I), Mg(II) estabilitzen les estructures dels àcids nucleics interaccionant amb els grups fosfats),¹
- portadors de càrrega (necessaris en molts processos bioquímics),

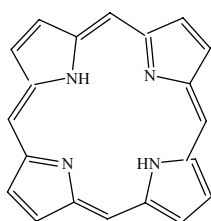
- o fins i tot com generadors de respostes cel·lulars, com en el cas dels cations Na(I) , K(I) o Ca(II) (el disparament neuronal per l'influx ràpid dels ions de sodi a través de la membrana cel·lular, la regulació de les funcions intracel·lulars per proteïnes com la calmodulina, on el catió Ca(II) , en funció de la seua concentració intracel·lular, és capaç d'induir canvis conformacionals en la calmodulina, activant o desactivant la seua funció).¹

Donades les funcions que acostumen a desenvolupar, aquests cations anteriors es localitzen habitualment en els fluids biològics.

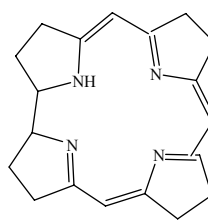
Contràriament, la presència d'orbitals d impoza restriccions geomètriques, regides per l'ocupació electrònica i per l'entorn de coordinació del catió. Els elements de transició sovint presenten diversos estats d'oxidació i, a més, diverses multiplicitats d'espín, fet que els confereix una química molt rica i interessant: és ben conegut el procés de fixació de l'O_2 per l'hemoglobina i la mioglobina, el qual comporta, no només un canvi d'estat d'oxidació del ferro (de Fe(II) a Fe(III)), sinó també un canvi d'estat d'espín (d'espín alt a espín baix després de la coordinació de l'O_2). Una altra mostra de la riquesa que manifesta la química associada a aquests elements és el fet de trobar-los en els centres de moltes metal·lobiomolècules, amb funcions tan diverses com transport i emmagatzematge (electrons, oxigen, cations metàl·lics), en molts enzims, catalitzant oxidacions i/o reduccions de substrats, reaccions d'hidròlisi o transferències de grups funcionals, per citar alguns exemples.

Tots els metalls, però de manera especial els de transició, es troben fonamentalment coordinats als constituents bàsics de les macromolècules biològiques. Per tant, no és gens estrany trobar-los interaccionant amb centres donadors com el N, l'O i el S en àcids nucleics, anells porfirínics i,

fonamentalment, entorns proteics.^{4,5} D'aquests lligands biològics potser caldria donar una certa rellevància als entorns proteics, per ser els "entorns" dels enzims, imprescindibles en molts processos bioquímics, i als anells porfirínics (i similars, com l'anell de corrina), per formar part de grups prostètics^a importants com el grup hemo de l'hemoglobina o la mioglobina; a més, es troben a les clorofil·les, les quals estan implicades en la fotosíntesi, on el catió metàl·lic és Mg(II). Les porfirines i corrines (*cf.* Figura 1.1.1) són agents quelants perfectes: anells tetrapirròlics que defineixen una cavitat interna, on els àtoms donadors de N, dirigits cap al centre de l'anell, interaccionen amb els cations metàl·lics, fixant-los (sovint cal però, la desprotonació dels NH).^b Poden acomodar molts ions metàl·lics en diferents estats d'oxidació i d'espín. Són macrocicles quasi coplanars i molt estables termodinàmicament, fet pel qual proveeixen grups funcionals bioinorgànics amb molta utilitat en bioquímica.¹



anell porfirínic



anell de corrina

Figura 1.1.1. Estructures d'una porfirina i de l'anell de corrina.

A diferència dels macrocicles anteriors, les cadenes polipeptídiques de les proteïnes embolcallen els cations, interaccionen amb ells, però sense fixar-los. Aquest fet proporciona una major labilitat. Aquest embolcall protegeix el centre metàl·lic però assegura d'una banda, un accés selectiu del substrat al centre

^a Grups no proteics que garanteixen la funcionalitat de la proteïna a la qual estan units.

^b En el cas de les cobalamines la desprotonació del NH permet la formació d'un enllaç covalent entre en N i el catió de Cobalt.

reactiu i d'una altra, la preservació de la naturalesa catiònica que manté la funció enzimàtica en el sistema considerat.

1.1.2. TOXICITAT I REGULACIÓ DELS ELEMENTS METÀL·LICS EN EL MÓN BIOLÒGIC

La interacció metall-biomolècula presenta però, una doble cara. És crucial en molts processos biològics rellevants, però també és una font de toxicitat biològica, fet que augmenta també llur importància. El fet que qualsevol catió siga susceptible d'interaccionar amb els centres bàsics de les biomolècules pot conduir a substitucions d'altres centres metàl·lics (depenent de la labilitat del lligand), a canvis estructurals i doncs, a la inhibició de la funció que realitza en l'organisme. Un exemple seria el grup hemo (la porfirina conté un ió Fe(II) o Fe(III)): tot i que les metal·loporfirines són bastant inerts cinèticament, els cations podrien ser substituïts per altres de mida similar (Co(II)), quedant la funció respiratòria inhibida. Alguns estudis posen de manifest el fet que la interacció de Cu(II) i Zn(II) amb l'amiloide A β (pèptid relacionat amb la malaltia de l'Alzheimer) juga un paper important en la neurotoxicitat d'aquest pèptid, un procés que pot comportar la mort neuronal.⁶⁻¹¹

Per aquest motiu els organismes han desenvolupat mecanismes per emmagatzemar cations metàl·lics en excés i regular-ne la seua concentració. Sistemes com la ferritina (principal proteïna emmagatzemadora de Fe en la sang), ceruloplasmina (emmagatzemadora de Cu), les metal·lotioneïnes (expressades en elevades quantitats com a resposta a altes concentracions de metalls com el Cd(II) o el Pb(II), tindrien un paper protector i podrien estar involucrades en el control del transport, emmagatzematge i concentració d'ions metàl·lics, com el Cu(II) o el Zn(II), en condicions més normals) o les fitoquelatines en plantes (emmagatzemadores de cations divalents, jugant un paper regulador d'aquests). La importància que té la regulació de metalls en els sistemes biològics ha portat al plantejament de l'existència d'altres sistemes, fins al moment desconeguts,

que emmagatzemarien altres cations metàl·lics. Aquests sistemes constitueixen un vertader repte per a la bioinorgànica.

1.2. EL DIVERS MÓN DE LES PROTEÏNES

Sovint sentim parlar de proteïnes. N'apareixen referències als mitjans de comunicació, sovint associades a investigacions relacionades amb una malaltia d'un cert impacte social (com la malaltia de Creutzfeldt–Jakob, coneguda amb el nom de malaltia de les “vaques boges”, un tipus d'encefalopatia espongiforme transmissible, els responsables de la qual són prions, agents proteics infecciosos); de vegades no són elles el centre de la notícia, però hi estan relacionades indirectament; donada la seua importància cada vegada més pren més força la paraula “proteòmica”, per analogia amb la genòmica, el genoma humà... ; cada vegada més esforços computacionals van dirigits a l'estudi de sistemes proteics, concretament dels enzims...

El terme «proteïna» deriva del grec *proteion*, primer, d'importància primera. De fet, el coneixement d'aquestes biomolècules i llur paper en els processos biològics es remunta als principis de la bioquímica, per ser més fàcilment aïllables i caracteritzables que els àcids nucleics, els lípids o els polisacàrids: la tasca portada a terme pels àcids nucleics en la transmissió i expressió de la informació genètica no va ser posada de manifest fins a principis dels anys 50; el paper dels lípids en les membranes no fou apreciat fins els anys 60; i les funcions biològiques dels polisacàrids encara són, en certa mida, misterioses.

Van ser descrites per primera vegada i anomenades per Jöns Jakob Berzelius en 1838. Però el seu paper central en els organismes vius no va ser totalment apreciat fins el 1926, quan James B. Sumner va demostrar que l'enzim ureasa era una proteïna. Només 32 anys després, la primera estructura proteica fou resolta: la protagonista, la mioglobina (Max Perutz i Sir John Cowdery Kendrew, l'any

1958, que li va suposar rebre el Premi Nobel en Química). La primera determinació de la seqüència aminoacídica completa d'una proteïna, la de la insulina bovina, la va realitzar Frederick Sanger l'any 1953, i va ser molt significativa, en mostrar que les proteïnes posseeixen una única estructura covalent.

Però què és una proteïna en realitat?

Per començar, una proteïna és una biomolècula de massa molecular normalment elevada. De les 4 categories de biomolècules, les proteïnes constitueixen la classe més abundant, ja que representen més del 50% del pes sec de les cèl·lules. Es tracta de les macromolècules biològiques que presenten les propietats físico-químiques millor definides i, per tant, són més fàcils d'aïllar i caracteritzar.

1.2.1. FUNCIONS DE LES PROTEÏNES

Les proteïnes es troben al centre d'acció en els processos biològics. Funcionen com *enzims*, que catalitzen el conjunt complex de reaccions químiques al que ens referim en conjunt com "la vida". Regulen aquestes reaccions bé directament com a components dels enzims bé indirectament en forma de missatgers químics (hormones) o com receptors d'aquestes hormones. Intervenien en el transport i emmagatzematge de substàncies d'importància biològica, com ions metàl·lics, O₂, glucosa, lípids i altres molècules. En forma de fibres musculars generen el moviment mecànic coordinat de nombrosos processos biològics entre els que es troben la separació de cromosomes durant la divisió cel·lular i el moviment dels ulls del lector d'aquesta pàgina.¹² Proteïnes com la *rodopsina*, present en la retina dels ulls, adquireixen informació sensorial. Proteïnes del sistema immunològic (*immunoglobines*), formen un sistema de defensa biològic essencial en els animals superiors. Són els elements actius de l'expressió dels gens, així com els productes de la mateixa. Però també porten a terme rols passius importants, com

el del *colagen*, que aporta als ossos, tendons i lligaments llur força de tensió característica. Així doncs, es podria dir que són un dels “pilars de construcció” de la vida.¹²

La funció d'una proteïna però, només pot entendre's a partir de la seua estructura, que pot arribar a ser molt complexa. Bàsicament, una proteïna és una cadena polimèrica relativament llarga, constituïda per més d'una cinquantena d'aminoàcids (entre 10 i 50 aminoàcids formen un **polipèptid** i amb menys de 10 aminoàcids les cadenes s'anomenen **oligopèptid**). El nombre d'aminoàcids en les proteïnes és molt variable, podent oscil·lar des de 51 (*insulina*) fins centenars de residus (DNA polimerasa, 605 residus) o milers de residus (*titina*, proteïna localitzada en molts músculs).^c

Tal i com s'ha fet palès, les proteïnes exhibeixen propietats molt diverses. Un dels motius és la capacitat que tenen per donar complexos estructuralment complicats i diferents, en funció del plegament de la cadena polipeptídica.^d Però un altre, molt important, es deu als aminoàcids que les constitueixen, i a llurs propietats físico-químiques (tals com la polaritat, l'acidesa, la basicitat, l'aromaticitat, la mida, la flexibilitat de la seua conformació, la capacitat per establir enllaços entrecruats i per formar ponts d'hidrogen i la reactivitat química).

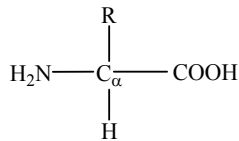
1.2.2. ELS AMINOÀCIDS

Fora del context històric i a un nivell més bàsic i científic (i tal i com s'ha esmentat) una proteïna és una cadena polimèrica de llargada variable, on les

^c Sols s'ha trobat l'estructura cristal·logràfica per diferents dominis, no la global.

^d El plegament proteic és conseqüència d'interaccions com ponts d'H (establerts dins de l'esquelet peptídic o entre diferents residus), interaccions iòniques, hidrofòbiques, Van der Waals i ponts disulfur.

baules, els elements principals, són els aminoàcids. Es denominen així per presentar un **grup amino** (normalment primari) i un **grup carboxílic** (*cf.* Esquema 1.2.1). Quan es troben units al mateix àtom de C converteixen l'aminoàcid en un α -aminoàcid, els aminoàcids trobats en tots els organismes vius, des de bacteris fins humans. En estat sòlid, existeixen com a ions dipolars (o zwitterions): el grup carboxílic es troba desprotonat, mentre que el grup amino es protona. En solució aquosa (medi on es desenvolupa la vida) i pHs fisiològics (al voltant de 7), existeix un equilibri entre la forma protonada (NH_3^+), l'ió dipolar (NH_3^+ , CO_2^-), i la forma aniònica (CO_2^-).



Esquema 1.2.1. Esquema bàsic d'un α -aminoàcid.

A més, el C_α presenta una **cadena lateral**, **R**, encarregada de donar-li identitat pròpia a l'aminoàcid i doncs, de conferir-li les seues propietats físico-químiques. D' α -aminoàcids n'hi ha molts, però només 22 formen part de les proteïnes; d'aquests, només 20 són realment emprats per les cèl·lules en la síntesi proteica. Els altres dos, de fet, són conversions de dos altres aminoàcids: cistina i hidroxiprolina, sintetitzats a partir de la cisteïna i la prolina, respectivament. La resta (*cf.* Figura 1.2.1) es divideixen en tres grans grups, en funció de l'estructura de R. A la literatura es troben diferents tipus de classificacions: d'una banda, una divisió en funció de la polaritat de la cadena lateral (polars (carregats o no) i apolars);¹² d'una altra, en neutres, àcids i bàsics, en funció de l'acidesa o basicitat de R.¹³

En general, els aminoàcids poden ser sintetitzats per tots els organismes vius. Però molts animals superiors són deficientes en la síntesi d'alguns aminoàcids.

Aquests últims, anomenats essencials, han de ser doncs incorporats en la dieta. Per als éssers humans en són 8: *valina, leucina, isoleucina, fenilalanina, triptòfan, treonina, metionina i lisina.*

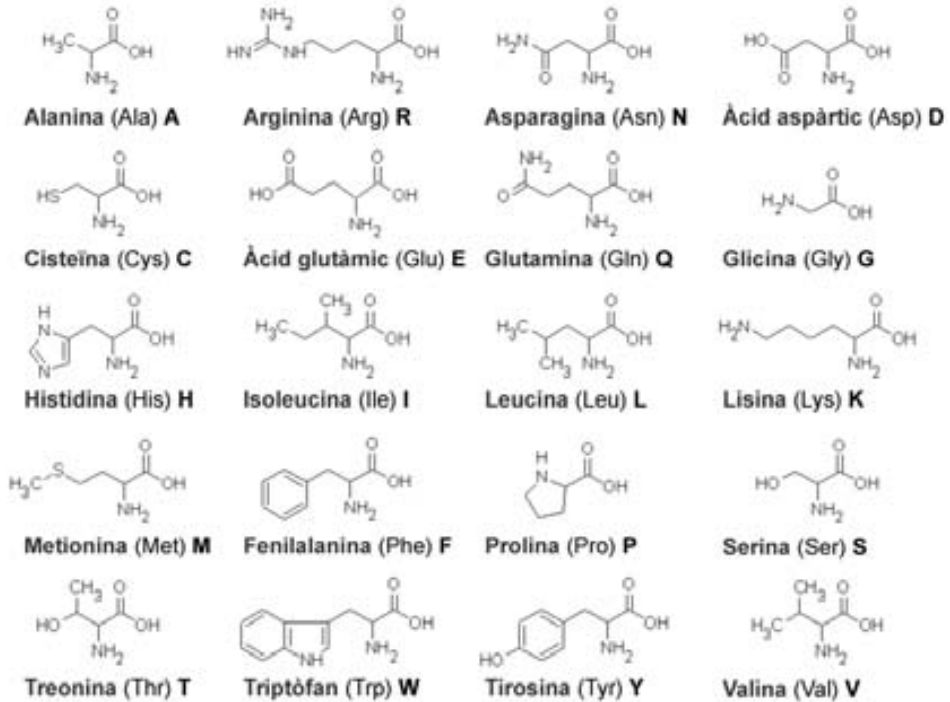


Figura 1.2.1. Els 20 α -aminoàcids presents en les proteïnes, amb les nomenclatures més habituals: nom (abreviatura) símbol.

A excepció de la glicina, el C_{α} presenta quiralitat. En general, els aminoàcids naturals són *S* i tots ells són *L*, levogirs (desvien a l'esquerra el pla de la llum polaritzada).

Les peculiaritats químiques dels aminoàcids fan que, amb només 22 aminoàcids combinats d'infinites maneres, es puguin generar totes les proteïnes necessàries en els éssers vius i que presenten una diversitat i versatilitat remarcable. Conseqüentment, l'enteniment de llurs propietats àcid-base és de gran importància. La unió dels aminoàcids per donar pèptids, en la qual hi estan

involucrats el DNA, el RNA missatger i el RNA de transferència, es porta a terme en els ribosomes de les cèl·lules.

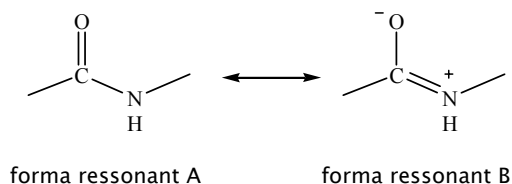
1.2.3. L'ENLLAÇ PEPTÍDIC

L'enllaç peptídic en una proteïna és extremadament estable i resistent. Un bon exemple d'aquesta estabilitat és el fet que, el temps de vida mitjà intrínsec d'aquest enllaç en la glicilglicina en solucions neutres i a temperatura ambient es troba al voltant dels 350 anys!⁴ Correspondria a barreres properes a 30 kcal mol⁻¹. Així, es requereixen catalitzadors altament efectius per hidrolitzar-lo sota condicions fisiològiques.

Químicament, dos aminoàcids s'uneixen per mitjà d'una reacció de condensació: l'extrem amino d'un reacciona amb l'extrem carboxílic de l'altre, formant-se un enllaç de tipus amida o enllaç peptídic (-CO-NH-) i eliminant-se una molècula d'aigua. Així, un pèptid constituït per $n+1$ aminoàcids presenta doncs n enllaços peptídics que, per convenció, es numeren a partir de l'extrem amino terminal del pèptid, o extrem N terminal. Per analogia, l'extrem on es troba el grup carboxílic de l'últim residu s'anomena extrem C terminal.

L'enllaç peptídic es pot representar mitjançant dues formes ressonants, una d'elles zwitteriònica (*cf.* Esquema 1.2.2). Així, al voltant del 40% del caràcter del doble enllaç es troba localitzat en l'enllaç C-N, fet que es manifesta en el valor que sol prendre la distància C-N: al voltant de 1.32 Å, un entremig entre l'enllaç simple (1.45 Å) i l'enllaç doble (1.24 Å). Els enllaços peptídics són plans i per tant, sovint els oxígens i hidrògens amídics adopten una disposició *trans*, més favorable. En amides, els dos enllaços C-N i C-O presenten quantitats comparables de caràcter simple i doble, resultant en una apreciable càrrega negativa sobre l'oxigen amídica. Si el propi enllaç amídica pot permetre de *per se* la

interacció amb protons i cations metàl·lics, aquesta deslocalització de la càrrega permet que la interacció siga màxima en aquest punt.⁴



Esquema 1.2.2. Formes ressonants de l'enllaç peptídic.

Metal·lació de l'enllaç peptídic

Per tindre una idea de la rellevància de la interacció metall–enllaç amida, es pot pensar en el transport de cations com el K(I) i el Na(I) a través dels canals transmembrana.¹⁴ En aquest transport es creu que la interacció dels cations amb els oxígens carbonílics de l'esquelet de les proteïnes de membrana és molt important.

Per a una amida neutra la interacció amb un catió metàl·lic més favorable es dóna amb l'oxigen amídic, a l'igual que la protonació. Tal i com s'esmenta a l'apartat 1.1.2, la cationització de l'enllaç peptídic comporta canvis estructurals; canvis que poden resultar en una inhibició de la funció proteica. El primer canvi estructural observat és l'afavoriment de les formes ressonants A o B en funció del punt d'interacció, amb la consegüent activació de l'enllaç peptídic. Aquesta activació sol ser xicoteta i variable.⁴ Lògicament, la metal·lació també reverteix en una activació dels enllaços adjacents; una activació que és aprofitada per l'espectrometria de masses en l'elucidació de seqüències proteiques ...

1.3. ESPECTROMETRIA DE MASSES I TÈCNIQUES COMPUTACIONALS: DUES VISIONS COMPLEMENTÀRIES

1.3.1. ESPECTROMETRIA DE MASSES

La interacció de protons i cations metàl·lics amb els residus aminoacídics i amb el propi enllaç peptídic d'una proteïna ha estat aprofitada químicament en el camp de les anomenades "òmiques": genòmica, metabolòmica, metàl·lòmica, i d'igual manera, en la proteòmica. En aquest darrer camp l'espectrometria de masses s'ha consolidat com una eina potencial en la seqüenciació de pèptids.¹⁴⁻⁴⁰

⁴¹⁻⁶¹ ⁶²⁻⁷⁴ ⁷⁵⁻⁹³ L'objectiu: buscar patrons de fragmentació per determinar la seqüència d'un pèptid, anàlogament a la digestió enzimàtica en solució, però amb metalls i en fase gas. Amb metalls, per l'especificitat d'interacció amb els diferents residus aminoacídics i per l'activació dels enllaços que comporta la interacció metall-pèptid, així com per la complementarietat als estudis de fragmentació amb protons. En fase gas, per permetre l'eliminació del solvent i d'altres compostos, simplificant així la tasca d'interpretació dels espectres obtinguts i per permetre l'estudi de les propietats intrínseques de la interacció M-pèptid. A més, molts afirmen que les reaccions que tenen lloc en els centres actius dels enzims s'assemblen en gran mesura a les reaccions en fase gas;⁹⁴ Reiter senyala que els resultats d'espectrometria de masses per a pèptids amb 4 o més aminoàcids considerats en el seu treball revelen que la química en fase gas i l'aquosa dels cations Ca(II), Co(II) i Ni(II) són fonamentalment iguals.⁴⁴ De la conjunció de la finalitat de buscar patrons de fragmentació i de l'especificitat d'interacció que presenten els metalls naix la rellevància que estan adquirint els cations metàl·lics en la proteòmica. Aquesta rellevància va acompanyada de la gran importància que han rebut, en el camp de la bioquímica, tècniques d'ionització suau com el MALDI (Matrix Assisted Laser Desorption Ionization) o l'ESI (ElectroSpray Ionization); tècniques que permeten la generació, en fase gas, d'ions estables que poden, al mateix temps, ser analitzats i/o fragmentats de

nou.⁹⁵ Així, per exemple, el desenvolupament de l'electrospray va permetre la generació en fase gas d'ions d'àcids nucleics desprotonats.¹⁴

Tot i això, quan l'objecte d'estudi és una proteïna amb un nombre elevat de residus, la seqüenciació esdevé complicada. Però la tasca se simplifica una mica si es redueix la mida de la proteïna i si, per a aquest pèptid resultant es disposa de diferents patrons de fragmentació per a diversos metalls, segons l'especificitat de cada catió per cada residu; la comparació dels espectres resultants permet una bona elucidació de la seqüència proteica. És per aquest motiu que han proliferat molts treballs d'espectrometria de masses on s'estudien les interaccions entre oligopèptids i cations metàl·lics; cations com els alcalins,^{14-17,21,22,24,26,34,39,46-49,54,56,57,60} alcalinoterris^{20,23,38,43,44} o cations de metalls de transició,^{16,25,27-38,40,44,50-53,69} molt més en boga darrerament, per establir interaccions més específiques amb els pèptids. Amb el mateix objectiu de simplificació de la problemàtica general a estudiar i facilitar el tractament dels sistemes molts estudis, a més de reduir els sistemes, empen pèptids funcionalitzats en ambdós extrems. Aquestes substitucions permeten analitzar les diferències en els espectres al protegir químicament un grup funcional o un altre. Una altra simplificació, i baixant un esglaó en l'estudi de sistemes xicotets, consistiria en l'anàlisi de la interacció metall-aminoàcid.^{14,30,40,48,53,57,63-93} Així, la necessitat de trobar cations metàl·lics capaços d'induir fragmentacions peptídiques específiques ha portat a molts experimentals a mesurar l'afinitat de diversos aminoàcids amb diversos cations metàl·lics, ajudats pel gran desenvolupament d'aquestes tècniques espectroscòpiques.^{65,72,73,84}

Diferents tècniques basades en l'espectrometria de masses han estat aplicades en l'estudi de la interacció de cations de metalls de transició amb aminoàcids: Cu(I),^{64,65,67,68,70} Ni(I)^{64,71} i Fe(I)^{64,68} amb diversos α -aminoàcids, Co(I) amb els sis aminoàcids alifàtics,⁶⁴ el Ni(I) amb la glicina,⁸¹ així com la interacció de cations

divalents, Fe(II), Co(II), Ni(II), Cu(II) i Zn(II), amb la histidina o la glicina^{69,74} o el catió Zn(II) amb la glicina i la lisina.^{76,77,86,89}

1.3.2. QUAN L'ESPECTROMETRIA DE MASSES ES TROBA AMB LES TÈCNiques COMPUTACIONALS

Els experiments d'espectrometria de masses proporcionen una informació molt valuosa sobre un determinat sistema, però sovint "parcial"; de la mateixa manera que una altra tècnica no aportaria tot el coneixement possible sobre un sistema. Així, en ocasions, punts bàsics com la localització exacta del metall, és a dir, l'entorn de coordinació del metall en sistemes M-oligopèptids, o fins i tot l'establiment, amb una certa seguretat, de mecanismes de fragmentació, esdevenen tasques complicades. Només a tall d'exemple, la coordinació dels cations alcalinoterris en diversos oligopèptids ha estat debatuda per diferents autors durant el darrer terç de la dècada dels 80 i principis del 90.^{15-19,21,22} Mallis i Russell, en diversos treballs, postulen com a llocs d'interacció del Na(I) els N de l'enllaç peptídic i el del grup amino.¹⁵ Westmore i col·laboradors aposten per una interacció del catió amb els oxígens de l'enllaç peptídic.¹⁶ Renner i Spiteller,¹⁷ a l'igual que Gross,^{17,18} proposen una coordinació amb el grup carboxilat. Finalment, Leary i col·laboradors conclouen que les fragmentacions en fase gas reflecteixen una combinació de les idees anteriors.¹⁹ Aplicant mètodes basats en la mecànica molecular i en la mecànica quàntica per realitzar un estudi de conformacions és possible donar una llum en aquesta controvèrsia entre experimentals; si més no, tot i poder ser certa l'afirmació de Leary, permetre establir quina coordinació serà més favorable energèticament. Possibiliten l'estudi de les propietats intrínseques de la coordinació M-L i la caracterització de les diferències entre diverses coordinacions del catió en diferents llocs de la proteïna. Una controvèrsia similar va sorgir en l'intent de descriure el mecanisme d'obtenció d'uns complexos característics en la fragmentació dels sistemes

[cations alcalins-pèptids]⁺;²² la mecànica quàntica podria elucidar la viabilitat dels mecanismes proposats i, assignar-ne un amb certa seguretat: permetrien racionalitzar un poc més les fragmentacions. A més d'ajudar en controvèrsies com les anteriors, les tècniques computacionals, igual que l'espectrometria de masses, permeten un estudi de les propietats intrínseques de coordinació M-L. Així, espectrometria de masses i tècniques computacionals apunten com dos tipus d'aproximacions diferents per abordar un problema, un sistema; no excloents, sinó complementàries. Aquesta complementarietat porta a la publicació, cada vegada major, de treballs enfocats des dels dos punts de vista. Uns, aporten informació conformacional;^{75,78-83,85,87,90} els altres, mecanismes de fragmentacions de complexos metall-aminoàcid^{76,77,86,89,92,93} o afinitats catióniques.^{83,84}

EL COBALT I ELS OLIGOPÈPTIDS DE GLICINA I LISINA

1.4. EL COBALT

El nom d'aquest metall deriva de l'alemany *kobold, goblin* o esperit maligne, nom que procedeix de l'antiga creença en l'existència de follets malignes que dificultaven la feina d'extracció de minerals de cobalt en algunes regions alemanyes i que feia emmalaltir els miners (per l'arseni que contenien els minerals extrets). El seu descobriment però, s'atribueix el 1735 al químic suec Georg Brandt (1694-1768).

A temperatura ambient es presenta sota la forma d'una pols grisosa. Apareix sovint combinat amb el Ni. A l'escorça terrestre es pot trobar formant part de diferents minerals, com l'esfaltita (CoAs₂), la cobaltita (CoAsS) o com l'eritrita, també conegut amb el nom "flor de cobalt" (Co₃(AsO₄)₂ · 8H₂O). Fos es combina

amb altres metalls per donar aliatges molt emprats en la indústria. En forma de sals o òxids s'utilitza com a pigment per l'obtenció de coloracions blavoses en porcellanes (blau de Sèvres), ceràmiques i esmalts. Així mateix, s'obtenen amb els derivats de cobalt dessecants, fertilitzants o fins i tot additius alimentaris per suplir carències minerals en animals.⁹⁶

A més a més de l'ampli ventall d'aplicacions esmentat, diversos estudis experimentals han fet palesa la importància biològica del cobalt. Se sap que una deficiència en aquest metall pot provocar anèmia perniciosa, així com afeccions nervioses. Es coneix la participació dels seus cations en reaccions redox de transposició i metilació, via generació de radicals, com la remetilació de l'àcid fòlic (vitamina B₉), necessari per a la síntesi de glòbuls vermells, o la transformació de l'homocisteïna en metionina. Les responsables de tots aquests processos són les cobalamines, centres emmagatzemadors de cobalt per excel·lència en els éssers vius. Es tracta de cofactors amb un catió Co(III) localitzat en el centre d'un anell de corrina. De cobalamines n'hi ha moltes, essent la més important i coneguda la vitamina B₁₂.²⁻⁴ Tot i els limitats processos metabòlics que depenen d'aquest metall, són les cobalamines les responsables de la importància que ha rebut el cobalt en el món de la bioinorgànica. A més, recentment, un gran nombre de reactius versàtils basats en les propietats coordinatives i oxidatives d'aquest metall han estat desenvolupats per promoure la modificació covalent de proteïnes i àcids nucleics.¹ Però tot i la importància del cobalt, encara es desconeix una part del paper que juga en els diferents sistemes biològics.

A més de la importància biològica que presenta el cobalt, el món de la medicina també ha dirigit la seua mirada cap a aquest metall, concretament vers l'isòtop radioactiu ⁶⁰Co. Aquest isòtop, de vida mitjana propera als 5.27 anys, és emprat com a font de radiació gamma en processos per irradiació, per l'esterilització de productes mèdics, processament de polímers i tractament a gran escala de

productes alimentaris. L'isòtop més abundant però, correspon al ^{59}Co (100%), i no presenta radioactivitat.

Cal assenyalar però, que en excés el cobalt no resulta inofensiu.^{4,96} En els darrers anys s'han descrit diversos tipus d'intoxicació, per exposició cutània, per ingestió, però fonamentalment per inhalació de pols de derivats d'aquest metall. La rellevància doncs, d'aquest metall i l'incomplet coneixement que es té dels seus mecanismes d'interacció amb les biomolècules ha derivat en un interès creixent per ell i els seus derivats, tant experimental com teòric. Aquest interès s'ha vist augmentat en els darrers anys amb la troballa de les fitoquelatines, polipèptids d'estructura general $(\gamma\text{Glu-Cys})_n\text{Gly}$, $n=2-11$, presents en organismes vegetals, les funcions de les quals semblen ser la regulació i emmagatzematge de diversos cations metàl·lics tòxics, majoritàriament divalents, entre els quals es trobaria el Co(II) .⁹⁷⁻⁹⁹ Aquestes funcions permetrien utilitzar-les en el desenvolupament d'agents vegetals de descontaminació de sòls; agents que impossibilitarien la migració i propagació d'aquests cations a través dels diferents organismes, evitant així la transmissió de la seua toxicitat. En els mamífers aquesta funció podria ser portada a terme per algunes metal·lotioneïnes: l'extrem terminal d'aquestes molècules de seqüència de tipus $-\text{Lys-Cys-Thr-Cys-Cys-Ala}$ o $-\text{Lys-Cys-Ser-Cys-Cys-Ala}$ pot complexar metalls divalents, entre ells el Co(II) .

Per tal d'entendre una mica la seua manera d'interaccionar amb els sistemes biològics cal considerar la naturalesa d'aquests cations. Químicament, el cobalt, de configuració electrònica $[\text{Ar}] 4s^2 3d^7$, es troba en els estats d'oxidació +1 (d^8), +2 (d^7) i +3 (d^6), sent el més estable el Co(II) . Tot i que és possible trobar compostos naturals amb els diferents estats d'oxidació, els estats +2 i +3 són els més habituals. El fet de tractar-se de cations de capa oberta els confereix molta importància i interès, per la presència d'orbitals d buits. El seu interès encara augmenta una mica més al considerar l'existència de diferents estats d'espín que

sorgeixen del diferent aparellament dels electrons per un estat d'oxidació determinat. Tot i això, encara va més lluny per l'existència de diferents estats electrònics (per un determinat estat d'espín), conseqüència de la diferent ocupació dels orbitals d i s, ocupació determinant en la interacció amb un lligand. Així, un aparellament màxim o mínim dels electrons origina canvis en la mida del catió i pot modificar doncs, les interaccions que estableix amb el seu entorn. Per exemple, un catió de Co(II) d'espín baix presenta un radi que el possibilita interaccionar amb un anell porfirínic; aquesta interacció però, no resulta factible quan el mateix catió és d'espín alt. Si bé pareix que aquest fet resulta enriquidor per a la química del cobalt, també el fa més tòxic, ja que pot bescanviar-se per cations semblants alterant així el correcte funcionament de la biomolècula. Un exemple d'aquesta toxicitat és l'abans esmentat bescanvi dels cations Fe(II) (en espín baix) i Fe(III) (en espín alt) en porfirines, pel Co(II) (en espín baix), amb una mida similar als anteriors.² Tampoc serà el mateix un triplet que un singlet del Co(I).

Es pot dir que els cations de cobalt presenten un caràcter intermig segons el principi de Parr i Pearson d'àcids i bases durs i tous, HSAB,¹⁰⁰ fet que els dóna afinitat per lligands N, O i S donadors i pel mateix enllaç peptídic, $-C(=O)-NH-$. De fet, s'ha observat la seua complexació per àcids nucleics, per cadenes polipeptídiques (cas de les fitoquelatines i de les metal·lotioneïnes) i per anells similars als porfirínics (com les cobalamines). Aquest caràcter intermig es fa palès a la literatura. Rulísek, en un estudi computacional, posa de manifest la tendència del Co(II) per interaccionar amb residus rics en O, com l'àcid glutàmic/glutamat, l'àcid aspàrtic/aspartat i en menor proporció, la serina i la serina desprotonada.¹⁰¹ En canvi, Liu i col·laboradors, en un estudi experimental aplicant la tècnica ECD (Electron Capture Dissociation), posen de manifest l'elevada afinitat del Co(II) pel N així com pel S de la metionina.³⁸ De la mateixa manera, Reiter i col·laboradors també posen en relleu el clar caràcter intermedi

dels cations de cobalt en un treball teòric–experimental amb pèptids que contenen aminoàcids apròtics;⁴⁴ caràcter manifestat en els fragments observats en els espectres de masses, on el Co(II) es podria trobar interaccionant amb ambdós extrems dels pèptids estudiats (tot i que són més abundants els complexos metàl·lics amb els N terminals). En canvi, amb altres cations com el Ni(II), no troben fragments on el catió interaccione amb l'extrem C, fet que evidencia la seua preferència intrínseca més gran pels N. El Co(I), per ser més tou que el Co(II), preferiria les interaccions amb N, seguides de les d'O. L'entorn de coordinació dels cations de cobalt depèn no sols del camp de lligands, sinó també de l'estat d'oxidació i de l'espín. Els entorns de coordinació trobats amb més freqüència al voltant d'un catió Co(II) són l'octaèdric i el tetraèdric.^{3,4,44,101–103} Tot i existir alguns complexos plano quadrats, són poc comuns; de vegades per imposició de la càrrega total del complex (com el compost aniònic CoCl_4^{2-}) o imposició estèrica (com el $\text{Co}(\text{tiourea})_4^{2+}$). En canvi, els compostos de Co(III) són quasi exclusivament octaèdrics.¹⁰³ Tot i això, l'entorn de coordinació depèn de l'estat d'espín i dels lligands. Tenint en compte les energies del camp cristal·lí dels diferents orbitals d, a priori per a un catió Co(I) es podria esperar un entorn O_h o D_{4h} .

Un fet observat i que diferencia una mica el catió Co(II) (a l'igual que el Pd(II), Cu(II) i Ni(II)) és la seua capacitat d'unir-se fortament a l'enllaç peptídic. Aquesta interacció és encara més forta després d'interaccionar amb el grup amino, forçant així la desprotonació d'un H amídic, amb la consegüent formació d'un anell de cinc membres amb el N amídic. Aquesta desprotonació és habitual en sistemes biològics com l'anell de corrina de la vitamina B₁₂, donat que permet una interacció màxima amb els cations Co(II) i Co(III).⁴

1.5. LA GLICINA, LA LISINA I ELS HOMOPÈPTIDS D'AQUESTS AMINOÀCIDS

1.5.1. LA GLICINA I ELS SEUS DERIVATS

1.5.1.1. L'aminoàcid

Tot i ser un aminoàcid estructuralment senzill, per rotació dels enllaços N-C, C-C i C-O_H (oxigen de la funció hidroxílica) es poden originar diverses conformacions. En dissolució, en fase líquida i en fase sòlida, la forma més estable correspon a la forma zwitteriònica. En fase gas però, aquesta conformació esdevé molt inestable;¹⁰⁴⁻¹⁰⁷ la forma més estable correspon a una estructura neutra on els dos H del grup amino estableixen interaccions d'hidrogen amb l'oxigen carbonílic (cf. Figura 1.5.1).

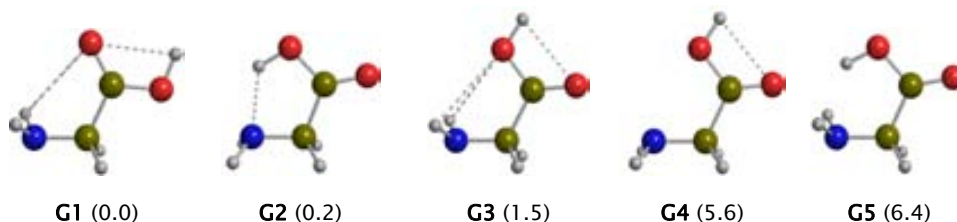


Figura 1.5.1. Conformacions més estables calculades per l'aminoàcid glicina. Entre parèntesi, energies relatives en kcal mol⁻¹.¹⁰⁶

Les interaccions d'hidrogen són fonamentals en l'estabilització d'aminoàcids i pèptids, sent els factors que garanteixen l'estructura secundària proteica. 5 són els tipus d'enllaç d'hidrogen que es poden trobar en la glicina:

- 1) $-\text{CO} \cdots \text{HO}_{\text{carbx}} \text{ (O} \cdots \text{HO)}$
- 2) $-\text{OH} \cdots \text{N} \text{ (OH} \cdots \text{N)}$
- 3) $-\text{O} \cdots \text{HN} \text{ (O} \cdots \text{HN)}$
- 4) $\text{NH}_2 \cdots \text{OC}_{\text{carbn}}$ (pont d'hidrogen bifurcat; *BifOC*)
- 5) $\text{NH}_2 \cdots \text{OH}_{\text{carbx}}$ (pont d'hidrogen bifurcat; *BifOH*)

Les energies relatives de les conformacions que presenten aquestes interaccions d'hidrogen porten a pensar en el diferent caràcter estabilitzant d'aquests tipus de pont. De fet, Barone i col·laboradors, en un estudi teòric,¹⁰⁶ posen de manifest el major caràcter estabilitzant dels dos primers i, en menor grau, del tercer.

1.5.1.2. Els sistemes M^{n+} -glicina

Tal i com s'ha deixat entreveure, en l'intent de racionalització de les interaccions entre cations metàl·lics i pèptids, un punt de partida òptim pot ser l'estudi dels sistemes metall-aminoàcid en fase gas. La interacció metàl·lica amb els centres bàsics de l'aminoàcid modifica la densitat electrònica d'aquest, induint-li una activació dels seus enllaços. Tot i això, la conseqüència més important de la presència del catió és la possibilitat de modificar completament les estabilitats relatives de les conformacions de la glicina, com l'estabilització de la forma zwitteriònica en fase gas després de la complexació metàl·lica. Aquest fet esdevé encara més sorprenent si es té en compte que, per a determinats cations metàl·lics, aquest complex és el més estable. La interacció metall-glicina depèn però, de l'estructura electrònica del catió.

Per tractar-se de l'aminoàcid més senzill, moltes mirades s'han dirigit cap a aquests sistemes. Històricament, i des d'un punt de vista teòric, els primers cations en atreure més interès van ser el H^+ ^{94,108-111} i els derivats dels metalls alcalins^{108,112-120} i alcalinoterris,^{115,116,120-125} ja que eren més coneguts i també més senzills químicament. Més recentment però, la naturalesa electrònica especial, el seu interès biològic i sobretot el potencial que ofereixen per a la seqüenciació de pèptids, ha propiciat l'enfocament de les mirades cap als cations dels metalls de transició.^{102,114-116,120,126-131} Tot això acompanyat d'un desenvolupament d'eines més potents.

La interacció entre un catió metàl·lic i la glicina pot donar lloc a múltiples coordinacions, tant bidentades com monodentades. Una mirada pausada sobre

aquests sistemes mostra la freqüent necessitat de canvis conformacionals respecte a les formes més estables de l'aminoàcid per tal d'afavorir la interacció amb el catió metàl·lic. L'estabilitat final d'una conformació és un balanç entre diversos factors com: el cost energètic que suposa deformar l'aminoàcid, la interacció electrostàtica, les interaccions d'H intramoleculars que es pugen establir en l'aminoàcid, el radi iònic del catió, les repulsions metall-ligand i la transferència de càrrega entre el metall i el lligand. Aquests factors són els responsables de la diversitat de comportaments dels sistemes M^{n+} -glicina (cf. Figura 1.5.2).

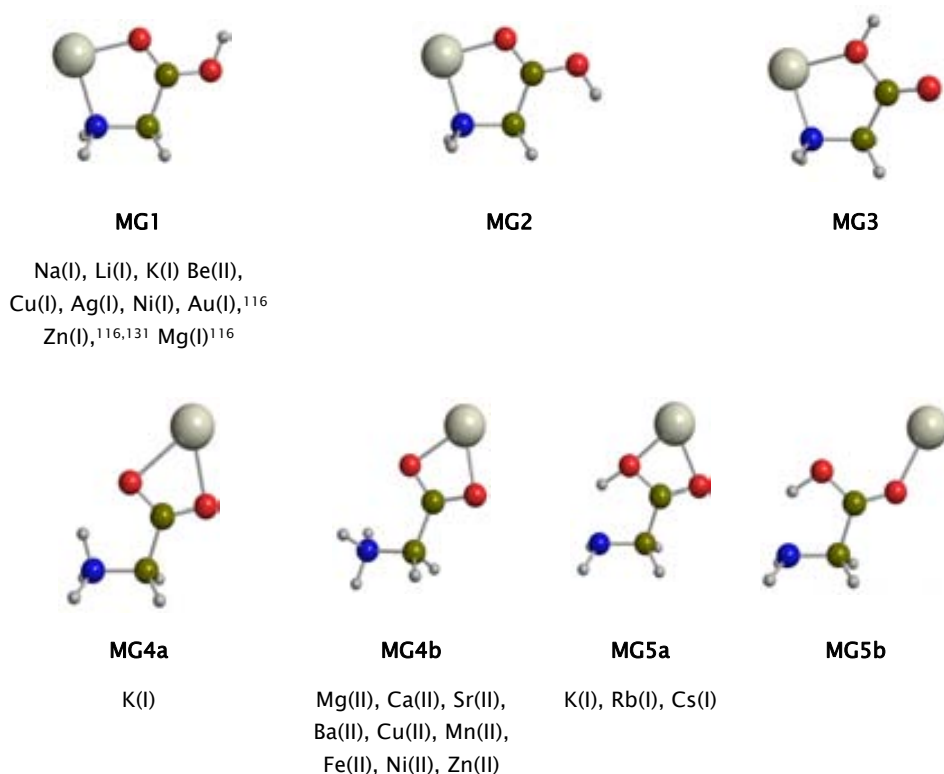


Figura 1.5.2. Conformacions més estables per a diferents sistemes M^{n+} -glicina, amb els corresponents cations metàl·lics que més les estableixen. M fa referència al catió i G a la glicina. En el cas de les estructures MG4 la naturalesa del catió determina l'existència d'un pont d'H $O \cdots HN$ o BifOC.

Així, per als alcalins la interacció és molt depenent del radi iònic: els alcalins més xicotets (Li(I) i Na(I)) tenen tendència a estabilitzar l'estructura **MG1**, tot i trobar-se la forma zwitteriònica **MG4a** molt propera en energia. A l'augmentar una mica el radi iònic, aquestes estructures, juntament amb la **MG5a**, es troben gairebé degenerades. Al passar al Rb(I) i al Cs(I), l'augment de radi esdevé prou gran com per desestabilitzar l'anell de cinc de l'estructura **MG1** i per disminuir la interacció electrostàtica amb el grup carboxilat del zwitterió, fent de la coordinació **MG5a** l'estructura més estable.^{108,113-116,118,120} L'estat d'oxidació +2 dels veïns alcalinoterris provoca que, per a aquests cations el factor predominant en la interacció M-L siga l'electrostàtic. La maximització de la interacció electrostàtica per la càrrega positiva reverteix en una gran estabilització del zwitterió, sent la **MG4b** la conformació més estable. L'excepció, el Be(II), el fort caràcter polaritzant del qual aconsegueix fer de l'estructura **MG1** la forma més estable.^{115,116,120,121,123}

Quan el catió correspon a un metall de transició, a més de la interacció electrostàtica i la deformació exercida sobre la glicina, un altre aspecte primordial que dirigeix les interaccions M-L és l'existència d'orbitals d ocupats, ja que determina la repulsió metall-glicina, sent necessària una interacció òptima que la minimitze. Per tal d'aconseguir-ho, els metalls de transició presenten certa flexibilitat per donar hibridació i promoció electrònica $s \rightarrow d$. A més, en el cas que el catió adopte una configuració electrònica de capa oberta i tinga un important caràcter oxidant (cas del Cu(II)) cal tindre present una possible transferència de càrrega de la glicina cap als orbitals d, la qual s'evidencia per la deslocalització de la càrrega i de l'espín entre el metall i el lligand. Tots aquests factors provoquen distorsions estructurals majors.

Comparant el comportament d'aquests cations amb els pertanyents als grups principals, s'observa certa semblança entre el comportament dels cations monovalents Ni(I),¹¹⁵ Cu(I),^{114-116,127,129} Ag(I)^{116,129,130} i Au(I)¹¹⁶ i els primers alcalins, Li(I) i Na(I), ja que presenten més afinitat per les dues coordinacions **MG1**

i **MG2**. Tot i això, els metalls de transició interaccionen més fortament amb la glicina que els metalls alcalins. De la mateixa manera, els cations divalents com el Mn(II),¹⁰² Fe(II),¹⁰² Ni(II),^{102,120} Cu(II)^{102,115,120,127} o el Zn(II)^{102,116,120,128,131} s'assemblen coordinativament als alcalinoterris, estabilitzant en un major grau la forma zwitteriònica. Malgrat aquesta semblança, tenen més afinitat per la glicina que els alcalinoterris (i òbviament, que els metalls de transició monovalents). A priori, els cations divalents resulten més durs, per la qual cosa solen afavorir la interacció amb els oxígens. Habitualment, la interacció dels cations divalents amb el grup carboxilat és superior i pot arribar a compensar l'energia de deformació que suposa el pas de la glicina neutra a la seua forma zwitteriònica. A més, la donació pren més importància, ajudant a estabilitzar els modes **MG4a** i **MG4b**. Tot i això, l'afinitat catiònica vindrà determinada pel resultat d'un balanç entre la interacció electrostàtica, la transferència de càrrega de la glicina cap al catió, l'energia de deformació de la glicina i la repulsió de Pauli.

1.5.1.3. Els oligopèptids de glicina

També anomenats oligoglicines, poliglicines o (glicil)_nglicines, d'estructura polimèrica NH₂CH₂(CONHCH₂)_nCOOH (n=1- ...). Cada polímer conté *n*+1 residus de glicina i *n* enllaços peptídics, enumerats des de l'extrem amino terminal (*cf.* apartat 1.2.3).

Seguint els trets químics de l'aminoàcid, en forma sòlida la diglicina i la triglicina existeixen fonamentalment com a zwitterions, amb el grup amino terminal protonat.^{132,133} En dissolució només es disposa d'informació per a la diglicina, la qual també es troba en forma zwitteriònica.¹³⁴⁻¹³⁷ Es tracta d'una estructura sense pla de simetria, amb l'enllaç peptídic en trans.¹³⁷ Per a la triglicina i tetraglicina, l'analogia amb aquests sistemes porta a pensar en la forma zwitteriònica com la més estable en fase sòlida i en dissolució. En fase gas però, no resulta tant evident. La desestabilització del zwitterió en aquesta fase prové

del fet que la càrrega positiva i la negativa es troben massa properes, motiu pel qual la transferència del H⁺ cap a l'extrem carboxilat sol ser espontània. En la triglicina i tetraglicina, l'establiment d'interaccions d'H intramoleculares podria establir una estructura zwitterònica, impossibilitant aquesta transferència protònica. Tot i això, caldria avaluar la seua estabilitat relativa respecte les formes neutres.

En les poliglicines, la possibilitat de què s'establisquen interaccions d'H intramoleculares amb l'oxigen i el nitrogen amida de l'enllaç peptídic, -CO-NH-, determina que augmente considerablement la diversitat d'aquest tipus d'interaccions. Aquestes noves interaccions són fonamentals en l'estabilització dels oligòmers de glicina i originen un plegament de la molècula que augmenta amb el nombre de residus d'aminoàcids que conformen el pèptid, originant estructures cada vegada més allunyades de la conformació β (estirada) de la glicina. Observant els canvis estructurals anteriors i a una escala molt modesta ens podem fer una xicoteta idea de com pot ser el plegament proteic.^{110,111}

Diglicina. El dipèptid més simple i tanmateix l'assignació de la seua estructura en l'estat fonamental ha estat molt discutida amb el temps. Quatre són les estructures proposades com a mínims globals (cf. Figura 1.5.3) i tres els mètodes més emprats (HF, B3LYP i MP2). Sovint els mínims trobats depenen del nivell de càlcul; però també sovint, a un mateix nivell de càlcul, 2 ó 3 estructures apareixen gairebé degenerades, resultant impossible assignar una o altra com a fonamental.

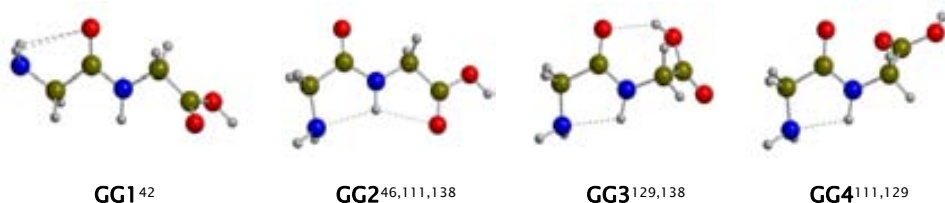


Figura 1.5.3. Estructures de la diglicina proposades com a més estables.

Triglicina. Tal i com succeeix amb la diglicina, la triglicina presenta una superfície de potencial bastant plana amb molts mínims locals. Una vegada més, l'assignació d'un mínim global resulta una tasca complicada. Si bé Strittmatter, emprant mètodes DFT i semiempírics, assigna amb facilitat una estructura similar a la **GGG1** però on el grup carboxílic hauria sofert una rotació d'uns 180° ,¹¹⁰ Rodriquez i Hopkinson ja posen de manifest la quasi degeneració de les conformacions més estables, **GGG1**, **GGG2** i **GGG3** (*cf.* Figura 1.5.4).¹³⁹ Resultats idèntics troba Shoeib, amb B3LYP i una base doble- ζ amb funcions de polarització i difoses.¹²⁹ Tot i això, la conformació lineal es troba més desestabilitzada amb càlculs puntuals MP2 amb una base de tipus triple- ζ (al voltant de $2.7 \text{ kcal mol}^{-1}$). Chung-Phillips, en un estudi teòric d'afinitats protòniques, reprèn la controvèrsia, establint com a fonamentals les estructures **GGG1** i **GGG3**.¹¹¹

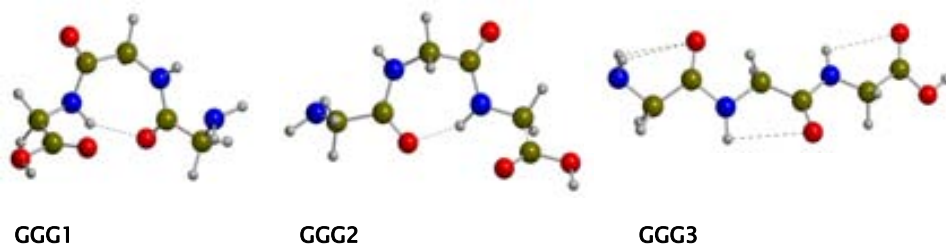


Figura 1.5.4. Estructures proposades com a més estables per a l'oligopèptid triglicina.

Tetraglicina. Tot i els treballs més exhaustius que es disposen dels oligopèptids anteriors, molt pocs són els estudis realitzats sobre les conformacions de la tetraglicina.^{110,111} Mentre Strittmatter únicament proposa l'estructura **GGGG1**,¹¹⁰ Chung-Phillips en proposa 3,¹¹¹ no coincidint cap amb la **GGGG1** (*cf.* Figura 1.5.5).

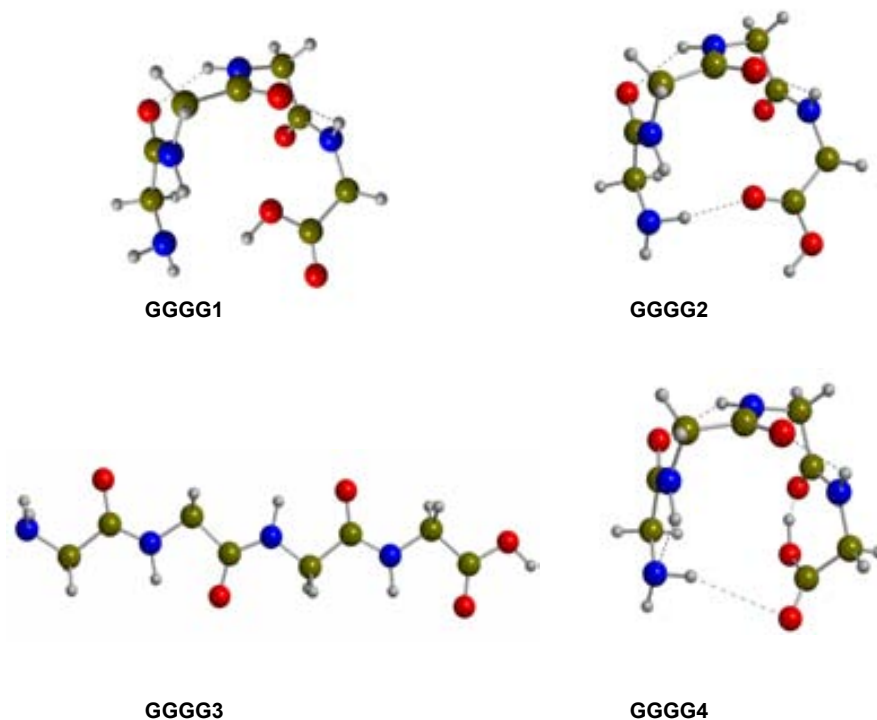


Figura 1.5.5. Estructures més estables proposades per a la tetraglicina.

Per a oligòmers més grans, Chung-Phillips considera fins l'hexaglicina en el seu estudi d'afinitats protòniques;¹¹¹ mentre que Strittmatter avalua aquesta magnitud en poliglicines fins la decaglicina.¹¹⁰

1.5.1.4. Els sistemes M^{n+} -oligoglicines

Des d'un punt de vista històric i en un context de seqüenciació de pèptids molts són els treballs sobre protonació d'oligoglicines que han centrat l'interès d'experimentalistes i teòrics.^{41,42,45,48,55,58,61,110,111,139} El punt de protonació determina els patrons de fragmentació de l'ió generat en experiments d'espectrometria de masses, el qual, al seu torn, proporciona informació estructural sobre el pèptid. D'ací naix l'interès per obtenir patrons de fragmentació. Per aquest motiu s'ha intentat avaluar profusament l'afinitat

protònica (PA) i la basicitat en fase gas (GB), fonamentalment mitjançant dos mètodes experimentals, el mètode cinètic (KM)⁴² i el mètode *reaction bracketing* (RB).⁴¹ Les discrepàncies observades entre els dos mètodes han fet dirigir les mirades cap als càlculs *ab initio* per tal de donar valors de les magnituds anteriors el més acurats possible.^{42,45,110,111}

Seguint els interessos d'aquesta germana petita de la proteòmica, l'estudi de les poliglicines ha derivat cap a estudis, tant experimentals com teòrics, de llur interaccions amb cations metàl·lics, com els cations dels metalls alcalins,^{14,17,19,46,48,49,54,56,57,60,138,140,141} els alcalinoterris i,²³ de més interès, els cations dels metalls de transició.^{30,53,125,129,142-144}

L'interès d'aquests sistemes metall-oligoglicines és triple: en primer lloc, la interacció del catió amb els centres bàsics de les oligoglicines pot modificar i/o trencar les interaccions d'H intramoleculares, alterant el plegament normal del pèptid i podent ocasionar un incorrecte funcionament d'aquest; en segon lloc, la seua especificitat per determinats residus pot induir fragmentacions més selectives, aportant més informació estructural sobre el pèptid; finalment, la manca de cadenes laterals en les oligoglicines les fa idònies per a l'estudi de la interacció metàl·lica amb el propi enllaç peptídic.

La característica més rellevant d'aquests sistemes és l'augment dels centres bàsics susceptibles d'interaccionar amb el catió, fet que comporta la possibilitat d'augmentar el nombre de coordinació al seu voltant, generant estructures més diverses. Aquest fet però, comporta una major deformació de les poliglicines a l'intentar maximitzar la interacció metall-ligand; òbviament, major quant més gran siga el lligand considerat.

El nombre de treballs teòrics publicats per a aquests sistemes disminueix molt amb la mida de l'oligopèptid. Així, mentre existeixen nombrosos treballs que

tracten les diglicines, pocs són els treballs que estudien la interacció metall-triglicina, i encara menors les referències sobre els sistemes metall-tetraglicina.

Mⁿ⁺-diglicina. Cerda i col·laboradors, l'any 1998 i en un treball teòric-experimental, són els primers a considerar les interaccions entre la glicilglicina i els cations metàl·lics, concretament amb el Na(I).⁴⁶ Posteriorment i fins l'actualitat han aparegut diversos treballs, la majoria dels quals tracten cations de capa tancada, com el Li(I),^{140,141} Na(I),^{46,60,140,141} K(I),^{138,141} Cu(I)^{129,142,144} i Ag(I).¹²⁹ Més recents són els treballs on s'estudien les interaccions de la glicilglicina amb cations de capa oberta, fent referència al Ni(I),¹⁴² Cu(II),¹⁴⁴ tots dos d⁹, Co(I),¹⁴² i Fe(II)¹⁴³, d⁸ i d⁶ respectivament. En general, el mètode escollit en aquests estudis conformacionals és el B3LYP, amb diferents bases, i en determinades ocasions el BHandHLYP o el MP2.

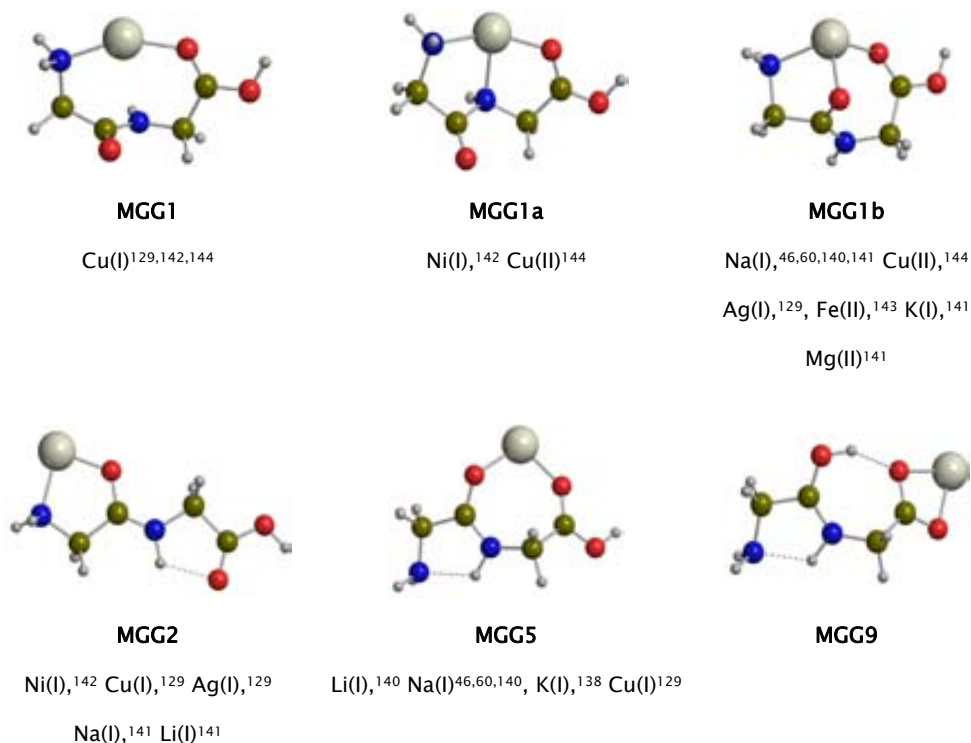


Figura 1.5.6. Conformacions més estables publicades per als sistemes Mⁿ⁺-glicilglicina per a diferents cations. M fa referència al metall. La nomenclatura correspon a l'emprada pel grup en un article sobre el Cu(I), Ni(I) i Co(I).¹⁴²

Tal i com mostra la Figura 1.5.6, la preferència per un entorn de coordinació o un altre depèn molt del catió, de la seua mida, de la seua naturalesa química i electrònica. Cations com els alcalins tendeixen a afavorir de manera especial una estructura bidentada (**MGG5**) on el catió interacciona amb els 2 oxígens carbonílics. Per al Na(I) però, aquesta estructura es troba pràcticament degenerada amb la tricoordinada **MGG1b**,^{46,60,140} i, segons Ai, amb la **MGG2**.¹⁴¹ Anàlogament, llur veí, el Mg(II), estabilitza preferentment l'estructura **MGG5**.¹⁴¹ Per als cations dels metalls de transició la naturalesa de la interacció metall–ligand és més complexa, influint–hi factors com l'electrostàtic (dominant en els sistemes alcalins–glicilglicines), la repulsió metal–ligand, la promoció $s \rightarrow d$ o la hibridació.

Un fet remarcable és la importància que prenen les estructures tricoordinades, sobretot la **MGG1b**. Aquesta estructura, a excepció dels cations Fe(II) i Cu(II), es troba sovint en competència directa amb altres estructures dicoordinades. Tot i que freqüentment es considera la interacció del catió amb l'O amida, també pot interaccionar amb el N. De fet, aquesta estructura, **MGG1a**, és una de les més estables, juntament amb la **MGG2**, per al Ni(I). També ho és, juntament amb la **MGG1b** però, per al Cu(II). Quan el catió és el Cu(I) la controvèrsia fa la seua aparició: Shoeib i col·laboradors proposen 3 estructures més estables (**MGG2**, **MGG1** i **MGG5**), depenent el mínim global del nivell de càlcul emprat.¹²⁹ Les dues primeres apareixen quasi degenerades a un nivell MP2, mentre que la **MGG2** i la **MGG5** competeixen a un nivell B3LYP; un estudi realitzat en el nostre grup i a un nivell B3LYP mostra però, una clara estabilització de l'estructura **MGG1**,¹⁴² fet que estaria d'acord amb la tendència del Cu(I) per donar entorns de coordinació gairebé lineals. Tot i això, la **MGG2** només es troba a 3.6 kcal mol⁻¹.

Tot i que la interacció del catió amb les formes zwitteròniques permet llur estabilització en fase gas, no són les més estables: la possibilitat d'augmentar el nombre de centres bàsics units al catió en uns casos i la mida del catió en uns

altres, prenen més importància, disminuint la major interacció electrostàtica existent entre el metall i el grup carboxilat. El catió determina però, que apareguen més o menys estabilitzades. Aquestes observacions posen de relleu, una vegada més, la complexitat de la interacció metall-ligand. Per als cations estudiats, l'estructura més estabilitzada correspon a la **MGG9**, una estructura on la protonació no té lloc en el grup amino, sinó en l'O amida.

Mⁿ⁺-triglicina. A nivell teòric aquests sistemes han estat molt poc estudiats: pocs són els treballs dels quals es coneix l'existència. Treballs com el publicat per Ai i col·laboradors amb cations alcalins (Li(I), Na(I), K(I)) i alcalinoterris (Be(II), Mg(II), Ca(II)), també a nivell B3LYP;¹⁴¹ un estudi de Shoeib i col·laboradors, on es consideren els sistemes Ag(I)/Cu(I)-triglicina a nivell B3LYP;¹²⁹ o la tesi realitzada per Albert Rimola, on s'estudien els sistemes Cu(I)/Cu(II)-triglicina amb els funcionals B3LYP i BHandHLYP.^{144,151} Els resultats de tots aquests treballs es resumeixen en la Figura 1.5.7.

La interacció dels cations alcalins i els alcalinoterris Mg(II) i Ca(II) amb la triglicina condueix a un complex molt estabilitzat de tipus **MGGG4**. El Be(II) però, dóna lloc a una estructura fonamental de tipus **MGGG2**. Aquesta diferència de comportaments ja es manifesta quan aquests cations interaccionen amb la glicina.¹²¹

Quan el catió és el Ag(I), apareixen dues estructures gairebé degenerades, tal i com succeïa en el sistema Ag(I)-diglicina (*cf.* Figura 1.5.6). La primera, **MGGG4**, molt similar a la **MGG1b**; la segona, una coordinació tridentada establerta únicament amb els dos oxígens amides i l'oxigen carbonílic de l'extrem C terminal, **MGGG3**.

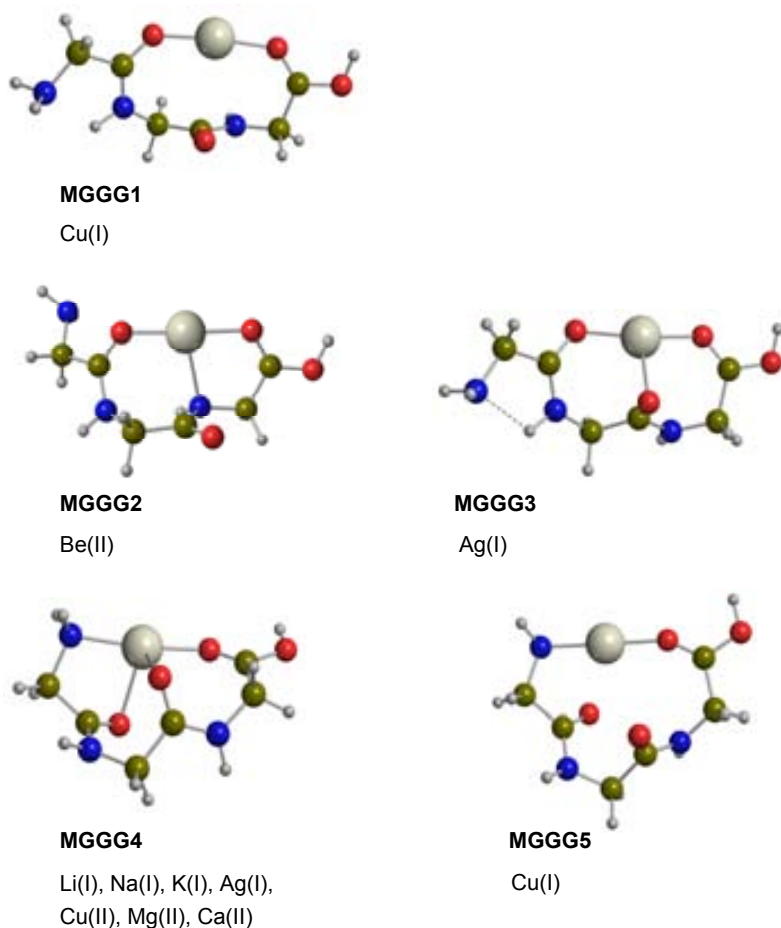


Figura 1.5.7. Coordinacions més estables per als sistemes M–triglicina. En les estructures **CuGGG1** i **CuGGG2**, Cu fa referència al catió Cu(I).

Amb el Cu(I), són també dues les estructures que competeixen. Les dues però, posen de manifest la tendència anteriorment observada pel Cu(I) de formar entorns de coordinació propers a la linealitat. Així, donada la llargada del lligand, és factible una coordinació d'aquest tipus amb el Cu(I) interaccionant amb el primer O amida i l'O carbonílic del grup C terminal, fet que contrasta amb l'estructura **MGG5**, on l'angle de coordinació no permetia la seua estabilització. Cal dir que, mentre Shoeib i col·laboradors troben com a més estable la **MGG5**, Rimola dona com a més estable la **MGGG1**. Tot això, les diferències energètiques entre les dues oscil·len entre 1.3 i 1.8 kcal mol⁻¹. Contràriament, el canvi d'estat

d'oxidació de +1 a +2 determina l'estabilització preferent d'una estructura de tipus **MGGG4** pel Cu(II).

Mⁿ⁺-tetraglicina. Sobre aquests sistemes pocs són els estudis realitzats, entre els quals, el treball realitzat per Albert Rimola en la seua tesi doctoral.^{144, 151}

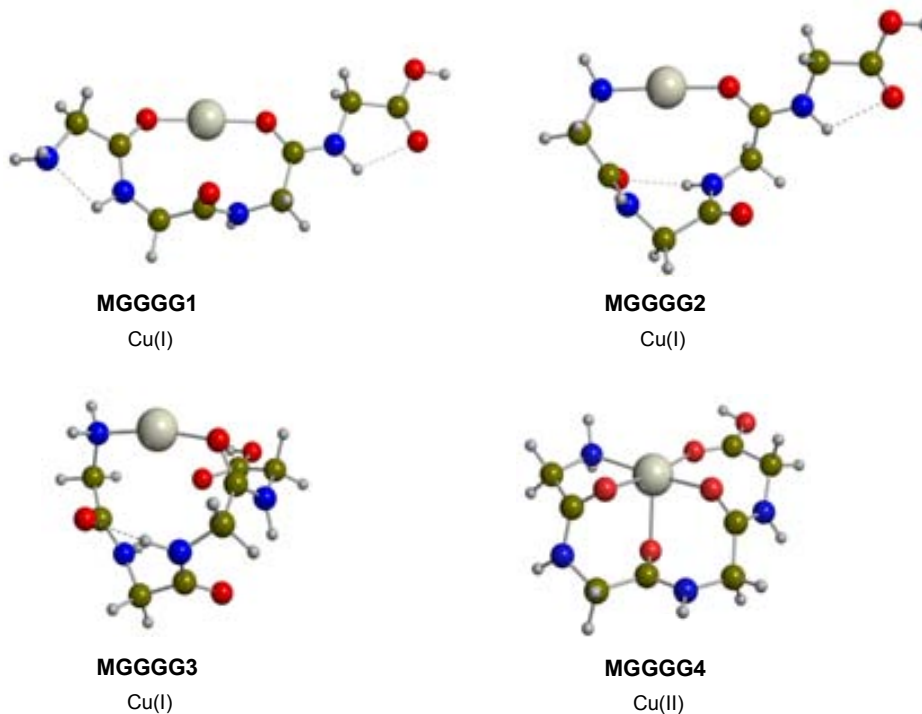


Figura 1.5.8. Coordinacions més estables per als sistemes Cu(I)/Cu(II)-tetraglicina.

Les peculiaritats del catió Cu(I) respecte el Cu(II) es tornen a retrobar en aquests sistemes. Així, per al Cu(I)-tetraglicina, 3 són les estructures trobades en un rang de 1.5 kcal mol⁻¹ (cf. Figura 1.5.8); les dues primeres, estructures que recorden les formes **CuGGG1** i **CuGGG2** de l'apartat anterior. Contràriament, el Cu(II) estabilitza molt l'estructura **MGGGG4**.

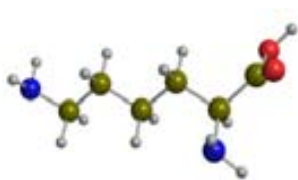
1.5.2. LA LISINA I ELS SEUS DERIVATS

1.5.2.1. L'aminoàcid

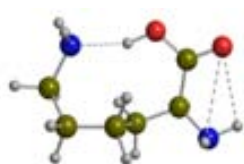
L-lisina, lisina, Lys, K. És un dels aminoàcids bàsics (juntament amb l'arginina i la histidina), de massa 146 u.m.a. i fórmula $\text{NH}_2\text{CH}[(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2]\text{COOH}$. Com gairebé tots els aminoàcids que presenten quiralitat, la forma trobada en les proteïnes correspon a la *S*. Desvia el pla de la llum polaritzada cap a l'esquerra, fet pel qual també s'anomena *L*-lisina.

La lisina forma part del grup d'aminoàcids essencials (la nutrició humana en requereix 1.5 grams diaris), no podent ser sintetitzada pels humans. La seua deficiència pot revertir en una deficiència en niacina (Vitamina B₃ o àcid nicotínic), causant la malaltia anomenada pel·lagra. La ingestió de lisina es pot fer a través dels llegums, d'alguns vegetals i dels peixos. A nivell biològic, té un gran paper en l'absorció del calci, en la construcció de la proteïna dels músculs, en la recuperació de ferides d'esports o cirurgia, així com en la producció d'hormones, enzims i anticossos.

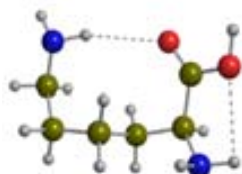
La cadena lateral dels aminoàcids constitueix l'element distintiu. En el cas de la lisina, aportant el caràcter bàsic que presenta aquest aminoàcid ($\text{pK}_a = 10.5$). És un punt d'establiment d'interaccions d'H intramoleculares, però també un punt d'interacció amb protons i cations metàl·lics. La importància d'aquesta cadena encara augmenta si es té en compte que, en moltes ocasions, les fragmentacions depenen molt de les cadenes laterals. Així, determinats mecanismes de fragmentació típics i establerts que requereixen la complexació metàl·lica en un punt concret poden esdevindre minoritaris si existeix una forta competència en la cationització per part de les cadenes laterals.²²



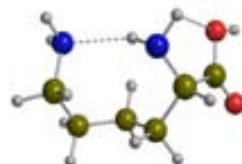
K1



K2



K3



K4

Figura 1.5.9. K1 i K2: conformacions més estables de la lisina senyalades a la literatura. K3, K4: altres estructures estabilitzades per interaccions d'H intramoleculars establerts amb la cadena lateral.

La riquesa química aportada per la cadena lateral d'aquest aminoàcid es tradueix però, en complexitat estructural. Si per rotació dels enllaços de la glicina es podien originar diverses conformacions, la presència de la cadena lateral fa augmentar molt el nombre d'estructures possibles. Tot i que no s'han trobat treballs que realitzen un estudi exhaustiu de la superfície d'energia potencial, per analogia als sistemes de glicina estudiats en l'apartat anterior, cal pensar en una major estabilització de la forma zwitteriònica en dissolució, en fase líquida i en fase sòlida, on s'esperaria que fóra la conformació més estable. En fase gas però, cal esperar una gran desestabilització d'aquesta estructura respecte les formes neutres. Segons Bliznyuk (amb mètodes semiempírics)¹⁴⁵ i Maksić (amb càlculs MP2)⁹⁴ la conformació més estable de la lisina correspon a l'estructura K1 de la Figura 1.5.9, una estructura similar a la de la glicina neutra. Però el plegament de la cadena lateral i les interaccions d'H intramoleculars amb els grup amino i carboxílic, originen estructures estabilitzades com la K2, K3 o K4 de la figura anterior. De fet, Shoeib i col·laboradors, en un estudi B3LYP de la interacció del

catió Ag(I) amb els 20 α -aminoàcids, proposen com a fonamental una conformació del tipus K2, on l'OH es troba interaccionant amb el grup amino de la cadena lateral.¹³⁰

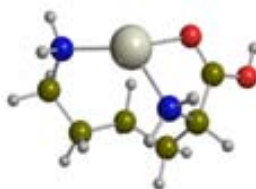
1.5.2.2. Els sistemes M^{n+} -lisina

Així com la glicina, al llarg dels anys, ha tingut un paper protagonista en el món dels aminoàcids i se li han dedicat articles on ella és l'única protagonista, la lisina no ha tingut aquest paper. Pocs són els estudis realitzats sobre els sistemes M^{n+} -lisina i tots generalistes, ja que senyalen tendències, comparacions, entre els diferents α -aminoàcids. En un primer bloc de treballs on s'hi troba s'estableixen escales (relatives i absolutes) d'afinitats protòniques,⁹⁴ o d'afinitats de diversos cations, com el Na(I),^{84,114} Cu(I),^{65,73,114,126} i Ag(I),^{72,130} pels α -aminoàcids. Mentre les escales relatives es construeixen mitjançant tècniques experimentals (mètode cinètic i mètode *bracketing*), les escales absolutes empren mètodes *ab initio*. En general, són el resultat de la conjunció de les dues metodologies, experimental i teòrica: es construeixen en base a l'escala relativa ja establerta, a partir de l'afinitat d'un catió per un determinat residu aminoacídic (l'alanina en el cas del Na(I)⁸⁴ i la glicina per al Cu(I)¹²⁶) determinada a nivell computacional. Diversos estudis però, construeixen escales absolutes determinant l'afinitat (protònica o catiónica) de cada aminoàcid pel catió únicament amb mètodes *ab initio*, com Maksic per al H^+ ⁹⁴ o Shoeib per al catió Ag(I).¹³⁰ La influència de la cadena en la coordinació metàl·lica s'aprecia amb facilitat si es té en compte que la lisina mostra afinitats catióniques entre 13 i 20 kcal mol⁻¹ superiors a la glicina.

Un segon bloc d'estudi d'aquests sistemes el conformen una sèrie de treballs d'espectrometria de masses en els que s'intenten identificar els fragments observats i fins i tot establir algun mecanisme de fragmentació. Estudis com el de Bouchonnet,⁶² sobre els aminoàcids protonats, el de Lei,⁶⁸ amb Cu(I) i Fe(I), el de Wen o Lavanant,^{67,70} sobre formació i fragmentació d' α -aminoàcids amb Cu(I) o el

de Yu,⁸⁹ on s'investiga el comportament en espectroscòpia de masses d'un complex de Zn(II) amb dues lisines.

Quan es vol fer una ullada a aquests sistemes i analitzar les conformacions o el tipus d'interacció metall-ligand la informació que es troba fa referència únicament a interaccions de la lisina amb cations alcalins i Ag(I). Per als primers, uns estudis teòric-experimental de Wyttenbach i Bush i col·laboradors,^{79,152} proposen com a mínim global dels sistemes Na(I)/Li(I)-K un complex tricoordinat, **MK1**, mostrat en la Figura 1.5.10. Per al K(I), però, el mínim seria un complex on la lisina es trobaria en forma zwitteriònica, amb l'extrem NH₂ terminal protonat. Per a l'Ag(I), Shoeib i col·laboradors, apunten com a conformació més estable, l'estructura neutra tridentada **MK1**, posant de manifest una vegada més el paper de la cadena lateral.¹³⁰



MK1

Figura 1.5.10. Conformació més estable trobada a la literatura per als sistema Ag(I)/Na(I)/Li(I)-lisina.

L'intent d'analitzar l'efecte de la cadena lateral en complexos M-oligolisines però, no és factible, ja que no es coneixen treballs teòrics sobre aquests sistemes. Tot i això, sí és observable en oligopèptids on aquest aminoàcid hi és present. Així, segons senyalen Kish i Wesdemiotis, un residu de lisina en una posició interna de l'oligopèptid afavoreix en gran mesura el trencament de l'enllaç amida de l'extrem C terminal. Aquest fet encara esdevé més revelador si es té en compte que l'agent iniciador d'aquesta reacció és el grup amino de la cadena lateral de la lisina.³⁴ Una reacció que no podria iniciar la glicina ...

1.6. OBJECTIUS

Quan una persona comença a treballar en un projecte que ha d'esdevindre algun dia una tesi, amb cos, cara i ulls, poc s'imagina del camí que prendrà el seu estudi. El viatge comença amb uns objectius concrets i poc a poc es modifiquen lleugerament, s'enriqueixen ...

Tal i com s'ha fet palès, dos són els punts de mira de tot el treball: l'estudi de sistemes on participen cations de capa oberta, en concret els cations Co(I) i Co(II) i sistemes xicotets basats en oligopèptids. Dues també, les tècniques emprades: els mètodes de la química quàntica i l'espectrometria de masses. A l'inici de la tesi, moltes eren les publicacions on s'analitzava la interacció entre un catió i un aminoàcid, bastant freqüentment la glicina, per la seua senzillesa estructural. Els cations més estudiats eren però, cations de capa tancada com els del grup dels alcalins i dels alcalinoterris i metalls de transició com el Cu(I), Ag(I), Au(I) o Zn(II); en quant als cations de capa oberta tractats, només existien treballs amb Cu(II) i Ni(II), tots dos d^9 . Els cations Co(I) i Co(II) doncs, es mostraven com a repte computacional: cations amb una configuració electrònica fonamental d^8 (3F) i d^7 (4F) respectivament, que poden trobar-se en diferents estats d'espín (3F , 1G (ambdós d^8) i 5F ($3d^7 4s^1$) per al Co(I), 4F , 2G (tots dos d^7) i 6D ($3d^6 4s^1$) per al Co(II)) i diferents estats electrònics en funció de l'ocupació d . L'anàlisi dels sistemes Co(I)/Co(II)-glicina apuntava doncs, com a porta d'entrada a l'estudi de la interacció d'aquests cations amb oligoglicines, models més senzills d'oligopèptids. Aquests darrers estudis, amb un aminoàcid exempt de cadena lateral, aporten informació valuosa sobre l'activació de l'esquelet peptídic per efecte de la cationització. Són nombrosos els treballs que tracten els sistemes M-oligoglicines amb eines d'espectrometria de masses.^{14,17,19,23,30,46,48,49,53,56,60} Habitualment apareix una seqüència de 2 ó 3 glicines formant part d'un oligopèptid més gran,^{17,20-22,29,34,35,39,47} tripèptids amb dos glicines i un tercer aminoàcid, com la histidina,¹⁵ el triptòfan,¹⁷ la prolina,^{23,58} la valina,²⁰⁻²³

l'alanina,^{28,33} la leucina^{17,23,33} la isoleucina³³ o la fenilalanina,^{16,21,23,33,58} interaccionant amb diferents cations (Li(I), Sr(II), Ag(I)) o fins i tot un complex de dues diglicines amb Cu(II).³⁰ Considerar sistemes amb homopèptids permet estudiar les fragmentacions observades en funció de la llargada de l'oligopèptid. Considerar-los computacionalment permet racionalitzar-les i explicar les propietats intrínseques de la coordinació M-L.

Tal i com s'ha esmentat, la cadena lateral conté la identitat dels diferents aminoàcids, fent-los únics. A més, pot interaccionar amb els cations metàl·lics. Com influeix doncs, la presència d'una cadena lateral en les interaccions M-pèptid? En aquest sentit, diversos aspectes teòrics es coneixen sobre les interaccions metàl·liques amb l'alanina,^{114,126,146,147} la serina,¹²⁶ la cisteïna,^{126,148} la valina,^{80,85} o amb els aminoàcids aromàtics.^{78,88,93,149,150} Però poc sobre les establertes amb la lisina. En major o menor mesura les fragmentacions de molts aminoàcids amb cadenes laterals i cationitzats amb diferents metalls han estat estudiades.^{62,64,66-68,70,71,74} Però molt poc la del Co-lisina; gens la de les oligolisines-Co. Sembla doncs, un aminoàcid adient per a l'estudi de l'efecte de la cadena.

Objectius concrets

El primer objectiu d'aquesta tesi és avaluar l'aplicabilitat del funcional B3LYP en l'estudi de sistemes amb Co(I) (³F, ¹G, ⁵F) i Co(II) (⁴F, ²G), així com escollir una base òptima per a llur descripció.

Un cop complert el primer objectiu, es pretén aplicar-lo a l'estudi de la naturalesa de la interacció Co(I)/Co(II)-aminoàcids i Co(I)/Co(II)-oligopèptids i els factors que la regeixen. En concret, es planteja analitzar:

- l'existència de diferències derivades de l'estat d'oxidació del catió, així com derivades del seu estat electrònic,

- la influència de la cadena lateral en la coordinació d'un aminoàcid als cations Co(I) i Co(II),
- la possible variació de l'entorn de coordinació del catió metàl·lic a mesura que augmenta la llargada de l'oligopèptid,
- la participació de l'enllaç peptídic en l'entorn de coordinació dels cations de cobalt, així com la possibilitat d'inducció de modificacions sobre aquest enllaç,
- l'afinitat dels sistemes escollits pels cations Co(I) i Co(II).

D'altra banda, es pretén oferir una visió complementària dels sistemes Co(II)-(glicil)_nglicina (n=1-3) i Co(II)-(lisil)_nlisina (n=0-3), estudiant-los des del punt de vista de l'espectrometria de masses. Els espectres obtinguts serviran per observar patrons de fragmentació del catió Co(II) amb diferents entorns peptídics. A més a més, els càlculs ajudaran a interpretar i racionalitzar els espectres. En concret, de l'aplicació de l'espectrometria de masses es planteja:

- per a un mateix residu aminoacídic, l'avaluació de la influència de la llargada de l'esquelet peptídic en les fragmentacions observades,
- per a la glicina i la lisina, l'estudi de l'efecte de la cadena lateral en les fragmentacions d'homopèptids d'igual llargada constituïts per diferents aminoàcids,
- l'anàlisi dels patrons de fragmentació dels sistemes [Co,L]²⁺ i [Co,L-H]⁺ i la possibilitat d'aplicació dels resultats observats en l'obtenció d'informació estructural rellevant en la seqüenciació d'un pèptid de cadena desconeguda. És a dir, decidir si el Co(II) seria útil en aquesta àrea.

BIBLIOGRAFIA

- (1) Lippard, S. J.; Berg, J. M. *Principles of Bioinorganic Chemistry*, University Science Books: Mill Valley, California, 1994.
- (2) Lehninger, A. L., Ed. *Principles of Biochemistry*, Worth Publishers Inc., 2000.
- (3) Wilkins, P. C.; Wilkins, R. G. *Inorganic chemistry in biology*, Oxford University Press, 1997.
- (4) Sigel, A.; Sigel, H. *Probing of proteins by metal ions and their low-molecular-weight complexes*; Marcel Dekker, Inc.: New York, 2001; Vol. 38.
- (5) Remko, M. R. B. M. *Chem. Phys. Lett.* **2000**, *316*, 489-494.
- (6) Bush, A. I.; Pettingell, W. H.; Multhaup, G.; d Paradis, M.; Vonsattel, J. P.; Gusella, J. F.; Beyreuther, K.; Masters, C. L.; Tanzi, R. *Science* **1994**, *265*, 1464.
- (7) Garzon-Rodriguez, W.; Sepulveda-Becerra, M.; Milton, S.; Glabe, C. G. *J. Biol. Chem.* **1997**, *272*, 21037.
- (8) Huang, X.; Atwood, C. S.; Moir, R. D.; Hartshorn, M. A.; Vonsattel, J. P.; Tanzi, R. E.; Bush, A. I. *J. Biol. Chem.* **1997**, *272*, 26464.
- (9) Atwood, C. S.; Moir, R. D.; Huang, X.; Scarpa, R. C.; Bacarra, N. M.; Romano, D. M.; Hartshorn, M. A.; Tanzi, R. E.; Bush, A. I. *J. Biol. Chem.* **1998**, *273*, 12817.
- (10) Atwood, C. S.; Scarpa, R. C.; Huang, X.; Moir, R. D.; Jones, W. D.; Fairlie, D. P.; Tanzi, R. E.; Bush, A. I. *J. Neurochem.* **2000**, *75*.
- (11) Syme, C. D.; Nadal, R. C.; Rigby, S. E. J.; Viles, J. H. *J. Biol. Chem.* **2004**, *279*, 18169.
- (12) Voet, D.; Voet, J. G. *Bioquímica*; John Wiley & Sons, Inc.: New York, 1990.
- (13) Solomons, T. W. G. *Organic Chemistry sixth edition*; John Wiley & Sons, Inc.: New York, 1996.
- (14) Klassen, J. S.; Anderson, S. G.; Blades, A. T.; Kebarle, P. *J. Phys. Chem.* **1996**, *100*, 14218.
- (15) Russell, D. H.; McGlohon, E. S.; Mallis, L. M. *Anal. Chem.* **1988**, *60*, 1818.
- (16) Tang, X.; Ens, W.; Standing, K. G.; Westmore, J. B. *Anal. Chem.* **1988**, *60*, 1791.
- (17) Grese, R. P.; Cerny, R. L.; Gross, M. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 2835.
- (18) Grese, R. P.; Gross, M. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 5098.
- (19) Leary, J. A.; Zhou, Z.; Ogden, S. A.; Williams, T. O. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **1990**, *1*, 473.
- (20) Teesch, L. M.; Adams, J. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 4110.
- (21) Teesch, L. M.; Adams, J. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 812.

- (22) Teesch, L. M.; Orlando, R. C.; Adams, J. J. *Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 3668.
- (23) Hu, P.; Gross, M. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 9153.
- (24) Becchi, M.; Rebuffat, S.; Dugast, J.-Y.; Hilmi, S.; Bodo, B.; Molle, G. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **1995**, *9*, 37.
- (25) Hu, P.; Loo, J. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 11314.
- (26) Morgan, D. G.; Bursley, M. M. *J. Mass Spectrom.* **1995**, *30*, 473.
- (27) Best, S. L.; Chattopadhyay, T. K.; Djuran, M. I.; Palmer, R. A.; Sadler, P. J.; Sóvágó, I.; Varnagy, K. J. *Chem. Soc. Dalton Trans.* **1997**, 2587.
- (28) Lee, V. W.-M.; Li, H.; Lau, T.-C.; Siu, K. W. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 7302.
- (29) Chu, I. K.; Guo, X.; Lau, T.-C.; Siu, K. W. M. *Anal. Chem.* **1999**, *71*, 2364.
- (30) Seto, C.; Stone, J. A. *Int. J. Mass Spectrom.* **1999**, *192*, 289.
- (31) Shields, S. J.; Bluhm, B. K.; Russell, D. H. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2000**, *11*, 626.
- (32) Payne, A. H.; Glish, G. L. *Int. J. Mass Spectr.* **2001**, *204*, 47.
- (33) Vaisar, T.; Gatlin, C.; Rao, R. D.; Seymour, J. L.; Turecek, F. *J. Mass Spectrom.* **2001**, *36*, 306.
- (34) Kish, M. M.; Wesdemiotis, C. *Int. J. Mass Spectr.* **2003**, *227*, 191.
- (35) Wortmann, A.; Rossi, F.; Lelais, G.; Zenobi, R. *J. Mass Spectrom.* **2005**, *40*, 777.
- (36) Gunawardena, H. P.; O'Hair, R. A. J.; McLuckey, S. A. *J. Proteom. Res.* **2006**, *5*, 2087.
- (37) Lagarrigue, M.; Bossée, A.; Afonso, C.; Fournier, F.; Bellier, B.; Tabet, J.-C. *J. Mass Spectrom.* **2006**, *41*, 1073.
- (38) Liu, H.; Hakansson, K. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2006**, *17*, 1731.
- (39) Talaty, E. R.; Cooper, T. J.; Piland, D. L.; Bateman, D. J.; Syed, A.; Stevenson, W.; Stipdonk, J. V. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2006**, *20*, 3007.
- (40) Schmidt, A.-C.; Koppelt, J.; Neustadt, M.; Otto, M. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2007**, *21*, 153.
- (41) Wu, J.; Lebrilla, C. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 3270.
- (42) Zhang, K.; Zimmerman, D. M.; Chung-Phillips, A.; Cassady, C. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 10812.
- (43) Zhao, H.; Reiter, A.; Teesch, L. M.; Adams, J. J. *Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 2854.
- (44) Reiter, A.; Adams, J.; Zhao, H. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 7827.

- (45) Zhang, K.; Cassady, C. J.; Chung-Phillips, A. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 11512.
- (46) Cerda, B. A.; Hoyau, S.; Ohanessian, G.; Wesdemiotis, C. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 2437.
- (47) Lee, V. W.-M.; Kim, H. S.; Beauchamp, J. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 3188.
- (48) Wyttenbach, T.; Brushnell, J. E.; Bowers, M. T. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 5098.
- (49) Feng, W. Y.; Gronert, S.; Lebrilla, C. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 1365.
- (50) Parac, T. N.; Ullmann, G. M.; Kostic, N. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 3127.
- (51) Chu, I. K.; Rodriquez, C. F.; Lau, T.-C.; Hopkinson, A. C.; Siu, M. K. W. *J. Phys. Chem. B* **2000**, *104*, 3393.
- (52) Bluhm, B. K.; Shields, S. J.; Bayse, C. A.; Hall, M. B.; Russell, D. H. *Int. J. Mass Spectrom.* **2001**, *204*, 31.
- (53) Chu, I. K.; Shoeib, T.; Guo, X.; Rodriquez, C. F.; Lau, T.-C.; Hopkinson, A. C.; Siu, M. K. W. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2001**, *12*, 163.
- (54) Grewal, R. N.; El Aribi, H.; Smith, J. C.; Rodriquez, C. F.; Hopkinson, A. C.; Siu, M. K. W. *Int. J. Mass Spectr.* **2002**, *219*, 89.
- (55) El Aribi, H.; Rodriquez, C. F.; Almeida, D. R. P.; Ling, Y.; Mak, W. W.-N.; Hopkinson, A. C.; Siu, K. W. M. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 9229.
- (56) Feng, W. Y.; Gronert, S.; Fletcher, K. A.; Warres, A.; Lebrilla, C. B. *Int. J. Mass Spectr.* **2003**, *222*, 117.
- (57) Cox, H. A.; Julian, R. R.; Lee, S. W.; Beauchamp, J. L. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 6485.
- (58) Grewal, R. N.; El Aribi, H.; Harrison, A. G.; Siu, K. W. M.; Hopkinson, A. C. *J. Phys. Chem. B* **2004**, *108*, 4899.
- (59) Jalkanen, K. J.; Elstner, M.; Suhai, S. *J. Mol. Struct. (Theochem)* **2004**, *675*, 61.
- (60) Kish, M. M.; Wesdemiotis, C.; Ohanessian, G. *J. Phys. Chem. B* **2004**, *108*, 3086.
- (61) Cooper, T.; Talaty, E.; Grove, J.; Stipdonk, M. V.; Suhai, S.; Paizs, B. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2006**, *17*, 1654.
- (62) Bouchonnet, S.; Denhez, J.-P.; Hoppilliard, Y.; Mauriac, C. *Anal. Chem.* **1992**, *64*, 753.
- (63) Bojesen, G.; Breindahl, T.; Anderson, U. N. *Org. Mass Spectrom.* **1993**, *28*, 1448.
- (64) Bouchonnet, S.; Hoppilliard, Y.; Ohanessian, G. *J. Mass Spectrom.* **1995**, *30*, 172.
- (65) Cerda, B. A.; Wesdemiotis, C. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 9734.
- (66) Gatlin, C. L.; Turecek, K.; Vaisar, T. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 3637.

- (67) Wen, D.; Yalcin, T.; Harrison, A. G. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **1995**, *9*, 1155.
- (68) Lei, Q. P.; Amster, I. J. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **1996**, *7*, 722.
- (69) Xu, Y.; Zhang, X.; Yergey, A. L. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **1996**, *7*, 25.
- (70) Lavanant, H.; Hoppilliard, Y. *J. Mass Spectrom.* **1997**, *32*, 1037.
- (71) Yalcin, T.; Wang, J.; Wen, D.; Harrison, A. G. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **1997**, *8*, 749.
- (72) Lee, V. W.-M.; Li, H.; Lau, T.-C.; Guevremont, R.; Siu, K. W. M. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **1998**, *9*, 760.
- (73) Cerda, B. A.; Wesdemiotis, C. *Int. J. Mass Spectrom.* **1999**, *185/186/187*, 107.
- (74) Lavanant, H.; Hecquet, E.; Hoppilliard, Y. *Int. J. Mass Spectrom.* **1999**, *185/186/187*, 11.
- (75) Wytenbach, T.; Witt, M.; Bowers, M. T. *Int. J. Mass Spectrom.* **1999**, *182/183*, 243.
- (76) Hoppilliard, Y.; Rogalewicz, F.; Ohanessian, G. *Int. J. Mass Spectrom.* **2000**, *204*, 267.
- (77) Rogalewicz, F.; Hoppilliard, Y.; Ohanessian, G. *Int. J. Mass Spectrom.* **2000**, *201*, 307.
- (78) Ryzhov, V.; Dunbar, R. C.; Cerda, B.; Wesdemiotis, C. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2000**, *11*, 1037.
- (79) Wytenbach, T.; Witt, M.; Bowers, M. T. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 3458.
- (80) Jockusch, R.; Lemoff, A. S.; Williams, E. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 12255.
- (81) Rodríguez-Santiago, L.; Sodupe, M.; Tortajada, J. *J. Phys. Chem. A* **2001**, *105*, 5340.
- (82) Moision, R. M.; Armentrout, P. B. *J. Phys. Chem. A* **2002**, *106*, 10350.
- (83) Talley, J. M.; Cerda, B. A.; Ohanessian, G.; Wesdemiotis, C. *Chem. Eur. J.* **2002**, *8*, 1377.
- (84) Kish, M. M.; Ohanessian, G.; Wesdemiotis, C. *Int. J. Mass Spectrom.* **2003**, *227*, 509.
- (85) Lemoff, A. S.; Bush, M. F.; Williams, E. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 13576.
- (86) Rogalewicz, F.; Hoppilliard, Y.; Ohanessian, G. *Int. J. Mass Spectrom.* **2003**, *227*, 439.
- (87) Moision, A. M.; Armentrout, P. B. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2004**, *6*, 2588.
- (88) Ruan, C.; Rodgers, M. T. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 14600.
- (89) Yu, S.; Lee, S.; Chung, G.; Oh, H. *Bull. Korean Chem. Soc.* **2004**, *25*, 1477.
- (90) Ruan, C.; Yang, Z.; Hallowita, N.; Rodgers, M. T. *J. Phys. Chem. A* **2005**, *109*, 11539.
- (91) Barlow, C. K.; Moran, D.; Radom, L.; McFadyen, W. D.; O'Hair, R. A. J. *J. Phys. Chem. A* **2006**, *110*, 8304.

- (92) Corral, I.; Mó, O.; Yáñez, M.; Salpin, J.-Y.; Tortajada, J.; Moran, D.; Radom, L. *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 6787.
- (93) Rimola, A.; Sodupe, M.; Tortajada, J.; Rodríguez-Santiago, L. *Int. J. Mass Spectr.* **2006**, *257*, 60.
- (94) Maksic, Z. B.; Kovacevic, B. *Chem. Phys. Lett.* **1999**, *307*, 497.
- (95) De Hoffmann, E.; Charette, J.; Stroobant, V. *Mass Spectrometry. Principles and applications*; Masson: Paris, 2000.
- (96) Bonnard, N.; Brondeau, M. T.; Miraval, S.; Lafon, D.; Protois, J. C.; Reynier, M.; Schneider, O. In *Fiche Toxicologique n° 128*, INRS, 2000.
- (97) Rauser, W. E. *Annu. Rev. Biochem.* **1990**, *59*, 61–86.
- (98) Cobbett, C. S. *Plant Physiology* **2000**, *123*, 825.
- (99) Oven, M.; Grill, E.; Golan-Goldhirsh, A.; Kutchan, T. M.; H., Z. M. *Phytochem.* **2002**, *60*, 467–474.
- (100) Pearson, R. G. *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, *85*, 3533.
- (101) Rulísek, L. H., Z. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 10428–10439.
- (102) Marino, T.; Toscano, M.; Russo, N.; Grand, A. *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 24666.
- (103) Huheey, J. E.; Keiter, E. A.; Keiter, R. L. *Inorganic Chemistry: Principles of Structure and Reactivity, Fourth Edition*; HarperCollins College Publishers: New York, 1993.
- (104) Bonaccorsi, R.; Palla, P.; Tomasi, J. *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 1945.
- (105) Császár, A. G. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 9568.
- (106) Barone, V.; Adamo, C.; Lelj, F. *J. Chem. Phys.* **1995**, *102*, 364.
- (107) Stepanian, S. G.; Reva, I. D.; Radchenko, E. D.; Rosado, M. T. S.; Duarte, M. L. T. S.; Fausto, R.; Adamowicz, L. *J. Phys. Chem. A* **1998**, *102*, 1041.
- (108) Jensen, F. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 9533.
- (109) Noguera, M.; Rodríguez-Santiago, L.; Sodupe, M.; Bertran, J. *J. Mol. Struct. (THEOCHEM)* **2001**, *537*, 307.
- (110) Strittmatter, E. F.; Williams, E. R. *Int. J. Mass Spectrom.* **1999**, *185/186/187*, 935.
- (111) Chung-Phillips, A. *J. Phys. Chem. A* **2005**, *109*, 5917.
- (112) Bouchonnet, S.; Hoppilliard, Y. *Org. Mass Spectrom.* **1992**, *27*, 71.
- (113) Hoyau, S.; Ohanessian, G. *Chem. Eur. J.* **1998**, *4*, 1561.
- (114) Marino, T.; Russo, N.; Toscano, M. *J. Inorg. Biochem.* **2000**, *79*, 179.

- (115) Pulkkinen, S.; Noguera, M.; Rodríguez-Santiago, L.; Sodupe, M.; Bertrán, J. *Chem. Eur. J.* **2000**, *6*, 4393.
- (116) Hoyau, S.; Pélicier, J.-P.; Rogalewicz, F.; Hoppilliard, Y.; Ohanessian, G. *Eur. J. Mass Spectrom.* **2001**, *7*, 303.
- (117) Ai, H.; Bu, Y.; Han, K. *J. Chem. Phys.* **2002**, *117*, 7593.
- (118) Wong, C. H. S.; Siu, F. M.; Ma, N. L.; Tsang, C. W. *Journal of Molecular Structure (Theochem)* **2002**, *588*, 9.
- (119) Selvarengan, P.; Kolandaivel, P. *Int. J. of Quantum Chem.* **2005**, *102*, 427.
- (120) Remko, M.; Rode, B. M. *J. Phys. Chem. A* **2006**, *110*, 1960.
- (121) Strittmatter, E. F.; Lemoff, A. S.; Williams, E. R. *J. Phys. Chem. A* **2000**, *104*, 9793.
- (122) Ai, H.; Bu, Y.; Chen, Z. *J. Chem. Phys.* **2003**, *118*, 1761.
- (123) Ai, H.; Bu, Y.; Li, P. *Int. J. of Quantum Chem.* **2003**, *94*, 205.
- (124) Remko, M.; Rode, B. M. *Chem. Phys. Lett.* **2000**, *316*, 489.
- (125) Remko, M.; Rode, B. M. *Struct. Chem.* **2004**, *15*, 223.
- (126) Hoyau, S.; Ohanessian, G. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 2016.
- (127) Bertrán, J.; Rodríguez-Santiago, L.; Sodupe, M. *J. Phys. Chem. B* **1999**, *103*, 2310.
- (128) Rogalewicz, F.; Ohanessian, G.; Gresh, N. *J. Comput. Chem.* **2000**, *21*, 963.
- (129) Shoeib, T.; Rodríguez, C. F.; Siu, K. W. M.; Hopkinson, A. C. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2001**, *3*, 853.
- (130) Shoeib, T.; Siu, K. W. M.; Hopkinson, A. C. *J. Phys. Chem. A* **2002**, *106*, 6121.
- (131) Ai, H.; Bu, Y.; Han, K. *J. Chem. Phys.* **2003**, *118*, 10973.
- (132) Kameda, T.; Takeda, N.; Ando, S.; Ando, I.; Hashizume, D.; Ohashi, Y. *Biopolymers* **1998**, *45*, 333.
- (133) Zubavichus, Y.; Zharnikov, M.; Schaporenko, A.; Grunze, M. *J. Electron Spectroscopy and Related Phenomena* **2004**, *134*, 25.
- (134) Sieler, G.; S-Stenner, R. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 1720.
- (135) Holtz, J. S. W.; Li, P.; Asher, S. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 3762.
- (136) Gould, I. R.; Cornell, W. D.; Hillier, I. H. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 9250.
- (137) Nandini, G.; Sathyanarayana, D. N. *J. Phys. Chem. A* **2003**, *107*, 11391.
- (138) Wong, C. H. S.; Ma, N. L.; Tsang, C. W. *Chem. Eur. J.* **2002**, *8*, 4909.

- (139) Rodriguez, C. F.; Cunje, A.; Shoeib, T.; Chu, I. K.; Hopkinson, A. C.; Siu, K. W. M. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 3006.
- (140) Benzakour, M.; Mcharfi, M.; Cartier, A.; Daoudi, A. *Journal of Molecular Structure (Theochem)* **2004**, *710*, 169.
- (141) Ai, H.; Li, Y.; Zhang, C.; Feng, J. *Chem. Phys.* **2007**, *334*, 64.
- (142) Constantino, E.; Rimola, A.; Rodríguez-Santiago, L.; Sodupe, M. *New J. Chem.* **2005**, *12*, 1585.
- (143) Xu, J. *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM* **2005**, *757*, 171.
- (144) Rimola, A. In *Activation of amino acids and peptides by interaction of Cu⁺ and Cu²⁺ cations and aluminosilicate surfaces*, Departament de Química; Universitat Autònoma de Barcelona: Bellaterra, 2007, p 217.
- (145) Bliznyuk, A. A.; Schaefer III, H. F.; Amster, I. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 5149.
- (146) Marino, T.; Russo, N.; Toscano, M. *J. Mass Spectrom.* **2002**, *37*, 786.
- (147) Abirami, S.; Xing, Y. M.; Tsang, C. W.; Ma, N. L. *J. Phys. Chem. A* **2005**, *109*, 500.
- (148) Spezia, R.; Tournois, G.; Cartailier, T.; Tortajada, J.; Jeanvoine, Y. *J. Phys. Chem. A* **2006**, *110*, 9727.
- (149) Siu, F. M.; Ma, N. L.; Tsang, C. W. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 3397.
- (150) Siu, F. M.; Ma, N. L.; Tsang, C. W. *Chem. Eur. J.* **2004**, *10*, 1966.
- (151) Rimola, A.; Constantino, E.; Rodríguez-Santiago, L.; Sodupe, M. *J. Phys. Chem. A* **2008**, *112*, 3444.
- (152) Bush, M. F.; Forbes M. W.; Jockush R. A.; Oomens, J.; Polfer, N. C.; Saykally, R. J.; Williams, E. R. *J. Phys. Chem. A* **2007**, *111*, 7753.



METODOLOGIA

TEÒRICA I EXPERIMENTAL

2.1. METODOLOGIA COMPUTACIONAL

Es podria dir que la química computacional és un camp vell i alhora jove. Vell perquè els seus fonaments provenen del desenvolupament de la mecànica quàntica a principis del segle XX. Jove en el sentit que la seua eclosió ha tingut lloc gràcies al gran desenvolupament dels ordinadors, els quals han permès l'aplicació i desenvolupament de noves metodologies teòriques, com el Hartree-Fock, els mètodes post Hartree-Fock, la Teoria del Funcional de la Densitat, mètodes de mecànica molecular o mètodes híbrids de tipus QM/MM, els quals combinen mètodes *ab initio* amb mètodes de mecànica molecular, per citar-ne algunes. Això sense oblidar els nous funcionals que sovint apareixen.

Des d'un punt de vista històric el mètode Hartree-Fock fou molt emprat en un principi per estudiar l'estructura electrònica i molecular de molts sistemes

químics, per donar energies i geometries relativament acurades (malgrat donar distàncies d'enllaç massa curtes). Tot i això, presenta deficiències per a l'estudi de sistemes metall–ligand; *i.e.*, per al sistema Cu(I)–glicina aquest mètode proporciona una ordenació incorrecta de les diferents conformacions, a més de descriure incorrectament les distàncies metall–ligand.¹ Si a més es considera que sovint s'obtenen energies d'enllaç menys precises i el fet que descriu deficientment les interaccions d'H, no resulta ser un bon mètode per tractar sistemes de tipus M–L. El motiu d'aquestes deficiències es troben en el fet que en el mètode Hartree–Fock els electrons es mouen en un camp de potencial mitjà creat pels altres electrons. Així, la funció d'ona Hartree–Fock no és una funció correlacionada, ja que inclou la correlació de Fermi (per a electrons d'espín paral·lel) però no la correlació de Coulomb (per a electrons d'espín contrari).²

Posteriorment, per pal·liar aquests problemes van sorgir altres mètodes que incloïen la correlació electrònica (anomenats post–Hartree–Fock): els mètodes variacionals basats en la interacció de configuracions (CI), mètodes multiconfiguracionals (*MultiConfigurational Self-Consistent-Field*, MCSCF), mètodes pertorbacionals basats en el mètode Møller–Plesset (MP) i el mètode *Coupled Cluster* (CC), a més dels mètodes basats en la teoria del funcional de la densitat (DFT).

El mètode pertorbacional de segon ordre, MP2, tot i sobreestimar una mica les distàncies d'enllaç, proporciona ordenacions energètiques correctes i s'ha emprat de manera satisfactòria al llarg del temps en molts sistemes orgànics. No és el cas però de sistemes amb metalls de transició, ja que s'han observat desviacions de fins ± 0.1 Å en les distàncies metall–ligand per a sistemes de capa tancada saturats coordinativament. Encara és més greu quan el sistema és insaturat coordinativament, de capa oberta i el centre metàl·lic pertany a la primera sèrie de transició.³ No pareix doncs, la millor elecció per tractar sistemes amb Co(I) i Co(II) (de configuració electrònica d^8 i d^7 respectivament). A més, tant el HF com

el MP2 fallen en el càlcul d'energies atòmiques, dificultant una bona estimació de l'energia d'interacció en complexos metàl·lics.⁴

Els mètodes *Coupled Cluster*, definits per Cramer com “una de les tècniques matemàticament més elegants per estimar l'energia de correlació”, són dels que donen resultats més acurats, ja que inclouen estesa la correlació electrònica.^{5,6} Els mètodes *Coupled Cluster* es basen en una expansió no lineal de la funció d'ona, la forma de la qual és exponencial i assegura, al mateix temps, una correcta separabilitat dels diferents fragments del sistema. La funció d'ona *Coupled Cluster* (Ψ_{CC}) es troba a partir de la funció d'ona HF i d'un operador, \hat{T} :

$$|\Psi_{CC}\rangle = e^{\hat{T}} |\Psi_0\rangle \quad [2-1]$$

Així, aquesta funció, Ψ_{CC} , no és lineal, sinó exponencial, tal i com es mostra en l'equació [2-1]. L'operador \hat{T} (operador *Coupled-Cluster*) és descomponible en excitacions electròniques de diferent ordre (simples, dobles, triples...): $\hat{T} = \hat{T}_1 + \hat{T}_2 + \hat{T}_3 + \dots$, on \hat{T}_1 és l'operador de les excitacions simples, \hat{T}_2 el de les excitacions dobles i \hat{T}_3 el de les triples.

El desavantatge d'aquest tipus de mètodes és que presenten una demanda computacional elevada, sobretot per a sistemes de capa oberta amb lligands grans, com els sistemes estudiats en aquesta tesi, Co-aminoàcids i Co-oligoglicines. Així, no sempre és factible el seu ús.

La Teoria del Funcional de la Densitat suposa una forma alternativa als mètodes anteriors d'incloure la correlació electrònica. Es basen en el teorema de Hohenberg i Kohn, segons el qual l'energia de l'estat fonamental d'un sistema es pot determinar si es coneix la seua densitat electrònica $\rho(\vec{r})$. Tot i això, el teorema no informa sobre la forma exacta del funcional o sobre com construir-lo. El gran pas que va permetre aplicar aquest formalisme a la química quàntica va

ser donat per Kohn i Sham al considerar un sistema de 2N electrons sense interaccionar de forma que la densitat electrònica d'aquest sistema coincidia amb la del sistema real, on sí hi ha interaccions. Aquesta consideració permet calcular de manera molt acurada la major part de l'energia cinètica. La resta (T_C), es troba barrejada amb les contribucions no clàssiques a la repulsió electró–electró (també desconegudes). Tot i això, normalment representa un percentatge petit. Així, la major informació possible és calculada de manera exacta, deixant només una petita part de l'energia total, que és determinada per un funcional aproximat. De les equacions resultants que permeten la determinació de l'energia de l'estat fonamental la dificultat bàsica roman en trobar expressions adequades per al terme de bescanvi–correlació, $E_{XC}[\rho]$ ($E_{XC}[\rho] \equiv T_C[\rho] + E_{ncI}[\rho]$, on E_{ncI} fa referència a les contribucions electrostàtiques no clàssiques). Les expressions de $E_{xc}(\rho)$ són necessàries per a la correcta descripció de magnituds termodinàmiques.⁴ Per trobar-les s'han emprat diferents aproximacions: l'aproximació de la densitat local (LDA, la qual té en compte la densitat d'un gas homogeni d'electrons), el seu homòleg per a sistemes de capa oberta (aproximació de la densitat d'espín local, LSD) del gradient generalitzat (GGA, on l'energia depèn també del gradient de la densitat, cosa que permet tindre en compte la no homogeneïtat de la densitat electrònica real, obviada pel LDA), l'aproximació meta-GGA (on s'inclou la dependència amb l'energia cinètica) o la introducció de part de bescanvi exacte Hartree–Fock en el funcional de bescanvi, donant lloc als anomenats funcionals híbrids. Les expressions d'algunes d'aquestes aproximacions es presenten en les equacions [2–2] i [2–3], on ϵ_{XC} representa l'energia de correlació–bescanvi per partícula,

$$E_{XC}^{LDA}[\rho] = \int \rho(\vec{r}) \epsilon_{XC} \rho(\vec{r}) d\vec{r} = \int \rho(\vec{r}) (\epsilon_X \rho(\vec{r}) + \epsilon_C \rho(\vec{r})) d\vec{r} \quad [2-2.1]$$

$$E_{XC}^{LSD}[\rho_\alpha, \rho_\beta] = \int \rho(\vec{r}) \epsilon_{XC}(\rho_\alpha(\vec{r}), \rho_\beta(\vec{r})) d\vec{r} \quad [2-2.2]$$

$$E_{XC}^{GGA}[\rho_\alpha, \rho_\beta] = \int f(\rho_\alpha(\vec{r}), \rho_\beta(\vec{r}), \nabla\rho_\alpha(\vec{r}), \nabla\rho_\beta(\vec{r})) d\vec{r} \quad [2-3]$$

Des de principis dels anys 90 els funcionals híbrids (els quals tenen en compte una part del bescanvi exacte) han conegut un èxit sense precedents. En particular, el B3LYP (combinació del funcional de bescanvi de Becke (B3), que inclou un 20% del bescanvi exacte,^{7,8} i del funcional de correlació de Lee, Yang i Parr⁹) ha estat l'estrella, arribant a convertir-se ràpidament en un dels funcionals més emprats, empès pels bons resultats obtinguts en molts estudis de sistemes químics, inclosos els metalls de transició de capa oberta.^{4,10-14} Per a aquests darrers sistemes, el B3LYP proporciona resultats acurats amb un cost raonable, a més de permetre l'obtenció de bons paràmetres geomètrics i freqüències vibracionals, així com una bona estimació de la termoquímica,⁴ fins i tot per a complexos formats amb poliglicines.¹⁵ Ja que, a més a més, descriu millor les interaccions d'H intramoleculares en el lligand que els funcionals anteriors. L'expressió de l'energia del terme de bescanvi-correlació es mostra en l'equació [2-4], on a, b i c són coeficients obtinguts a partir d'un ajustament a dades experimentals termodinàmiques (a=0.20, b=0.72 i c=0.81).

$$E_{XC}^{B3LYP} = (1-a)E_X^{LSD} + aE_{XC}^{\lambda=0} + bE_X^{B88} + cE_C^{LYP} + (1-c)E_C^{LSD} \quad [2-4]$$

Així, a priori, el mètode B3LYP pareix idoni per a l'estudi dels sistemes de Co(I)/Co(II)-L, on L=glicina, (glicil)_nglicina (n=1-3), lisina i dilisina. Tot i això, aquest funcional i d'altres presenten les seues deficiències: solen sobreestimar les energies d'enllaç (en contraposició als mètodes post Hartree-Fock), especialment en situacions de deslocalització de càrrega^{16,17} (fet palès en sistemes de tipus Cu(II)-L).^{18,19} D'altra banda, els mètodes DFT tendeixen a desestabilitzar artificialment les configuracions de tipus 4s¹3dⁿ⁻¹ respecte les 3dⁿ,

degut a una sobreestimació del bescanvi d-d (pel major compactament dels orbitals de la capa de valència d) en relació al bescanvi s-d.^{4,20}

Tot i això, en sistemes amb deslocalització d'espín, l'aplicació de funcionals híbrids amb un major grau de bescanvi exacte, com el BHandHLYP,^{8,17} proporciona una millor estimació de les energies d'enllaç, així com de les barreres energètiques, donant resultats comparables al mètode CCSD(T), altament correlacionat. Aquest funcional híbrid és combinació d'un 50% de bescanvi GGA (Becke88) i un 50% de bescanvi exacte amb el funcional de correlació de Lee, Yang, Parr (*cf.* equació [2-5], on $\lambda=0$ representa el bescanvi exacte (sistema no interaccionant) i $\lambda=1$ l'energia de bescanvi-correlació per a un sistema interaccionant). Per aquest motiu, en aquesta tesi, a més del B3LYP, s'ha emprat el BHandHLYP en la determinació d'energies d'interacció per als sistemes de Co(II), per tal d'efectuar una comparació amb el valor procedent del B3LYP. En aquests darrers anys s'han desenvolupat nous funcionals, com els funcionals del Truhlar o els metahíbrids, que intenten pal·liar les deficiències del B3LYP. Tot i això, en global el B3LYP és altament emprat, descriu acceptablement els sistemes centre del nostre interès i fou el funcional amb el que es va iniciar aquesta tesi.

$$E_{XC}^{BHHLYP} = \frac{1}{2} E_{XC}^{\lambda=0} + \frac{1}{2} E_{XC}^{\lambda=1} + c E_C^{LYP} + (1-c) E_C^{LSD} \quad [2-5]$$

Així i tot, s'ha considerat convenient validar l'aplicabilitat del B3LYP en sistemes de cobalt, per comparació amb el mètode post Hartree-Fock CCSD(T),²¹ que inclou les excitacions simples i dobles en l'operador *Coupled-cluster* i estima l'efecte de les triples de forma pertorbativa. Aquest estudi previ de calibratge del B3LYP s'ha realitzat de forma exhaustiva pels cations Co(I)/Co(II) sols i pel sistema Co(I)/Co(II)-H₂O. La molècula d'aigua, a més de ser senzilla químicament, sovint es troba present en la primera i/o segona esfera de coordinació del centre metàl·lic d'una proteïna i participant en processos catalítics; participació deguda

a l'activació de l'enllaç O-H com a conseqüència de la interacció de la molècula d'aigua amb el catió. A més, es disposa de dades experimentals publicades que permeten avalar els resultats derivats del calibratge, discutits en l'apartat 3. En els casos en què la mida ho permet (glicina i lisina) s'han realitzat càlculs puntuals CCSD(T).

Dues són les bases emprades en aquesta tesi, l'ús de les quals en els sistemes més petits ha permès analitzar l'efecte de l'augment de la base. En la primera, **base 1** (b1), les funcions del Co estan basades en el conjunt de primitives (14s9p5d) de Wachters²² que inclou a més, quatre funcions difoses, una *s*, dos *p* i una *d*, així com una funció de polarització de tipus *f*, sent el conjunt de funcions final [10s7p4d1f]. Per a l'O, el N, el C i els H, s'ha emprat el conjunt 6-31++G(d,p). En la segona, **base 2** (b2), el Co és descrit amb el mateix conjunt de funcions de la base 1 incloent, a més, una funció *f* de polarització més ([10s7p4d2f]). La resta d'àtoms han estat tractats amb el conjunt 6-311++G(2df,2p).

Les estructures estudiades han estat optimitzades amb el B3LYP emprant les dues bases (Co-H₂O, Co-glicina) o la base 1 (Co-lisina, Co-dilisina, Co-oligoglicina), així com determinades les seues freqüències al corresponent nivell de càlcul. L'anàlisi de la naturalesa de l'enllaç s'ha efectuat emprant l'anàlisi NPA de Weinhold i Carpenter.²³ Els càlculs d'optimització i de freqüències han estat realitzats amb els paquets Gaussian98 i Gaussian03.^{24,25}

Quan es passa de la glicina a l'estudi d'aminoàcids amb cadena lateral o bé d'oligopèptids, la major flexibilitat d'aquests sistemes origina un major nombre de conformacions. Així, cal una exploració prèvia exhaustiva, ràpida i efectiva de les possibles conformacions i que ens permeta seleccionar aquelles que resulten químicament interessants. Aquesta cerca inicial s'ha realitzat mitjançant la mecànica molecular, la qual suposa l'aplicació de la mecànica newtoniana al

càlcul molecular. Així, tracta els àtoms com a esferes carregades i els enllaços com a molles. A més, emprava camps de forces per determinar l'energia del sistema. Les expressions d'aquests camps contenen termes que permeten calcular l'energia de *stretching*, de *bending* i de torsió dels angles, les interaccions dels àtoms no units (els quals interaccionen per forces de Van der Waals, repulsions estèriques i repulsions/atraccions electrostàtiques), així com una sèrie de paràmetres necessaris per ajustar l'energia del sistema. Aquests paràmetres són propis de cada camp. Camps de forces n'hi ha molts, però en aquesta tesi s'ha utilitzat l'AMBER* (*Assisted Model Building and Energy Refinement*),^{28,29} per proporcionar resultats òptims en la seua aplicació a l'estudi de l'esquelet peptídic. La recerca conformacional s'ha realitzat utilitzant el programa MacroModel 7.0²⁶ i el mètode MCMM (*Multiconfiguration Molecular Mechanics*).²⁷ Donada la dificultat per trobar paràmetres per als cations de cobalt, s'ha escollit el catió alcalí Li(I) per modelitzar la interacció electrostàtica en els sistemes estudiats. Tot i les diferències en la interacció M-L (com la no inclusió de la repulsió de Pauli o la transferència de càrrega, de vital importància per a una correcta descripció de la interacció Co-L), el Li(I) presenta un radi iònic no gaire diferent al del Co(II) (0.60Å i 0.74Å, respectivament) i els resultats que es desprenen d'aquesta cerca proporcionen un bon punt de partida per a l'estudi *ab initio* dels sistemes Co-L. S'han generat 10.000 estructures a l'atzar (no minimitzades), per rotació dels diferents enllaços i s'ha imposat un rang energètic de 10 kcal mol⁻¹ per a cadascun dels sistemes estudiats. De les geometries resultants minimitzades i incloses dins el rang energètic anterior (un centenar d'estructures), únicament s'han escollit aquelles que presenten entorns de coordinació metàl·lica diferents per a llur estudi *ab initio*.

2.2. METODOLOGIA EXPERIMENTAL: ESPECTROMETRIA DE MASSES

2.2.1. CONTEXTUALITZACIÓ HISTÒRICA. INTRODUCCIÓ

El naixement de l'espectrometria de masses (fonamentada en la generació d'ions) sorgeix, entre altres factors, del desig de trobar una forma de calcular el pes molecular de biopolímers (important en llur caracterització) més acurada que la proporcionada per les tècniques que aportaven aquesta informació (electroforesi, cromatografia o ultracentrifugació), del descobriment dels ions positius (Goldstein, 1886) i negatius (Thomson, 1912), de l'estudi dels ions positius en camps magnètics (Wien, 1898) i de l'anàlisi dels raigs catòdics emprant camps elèctrics i magnètics en paral·lel (Kaufmann, 1901).

Des dels primers experiments de J. J. Thomson (amb l'obtenció de l'espectre de masses de l'O₂, N₂, CO, CO₂ i COCl₂ o el descobriment dels ions metaestables^a), l'any 1912, l'espectrometria de masses ha comptat amb innumbrables millores, des de la generació d'ions, fins a la sensibilitat dels aparells. En quant a la primera, l'obligació de treballar amb analits en fase gas (compostos volàtils o amb possibilitat de ser funcionalitzats per fer-los volàtils) i el fet de poder analitzar compostos no volàtils de masses només fins a 5000 Da,^b limitava considerablement l'aplicació de l'espectrometria de masses a sistemes petits i volàtils. Així, el desenvolupament dels mètodes d'ionització per desorció basats en l'emissió d'ions pre-existents en un líquid o una superfície sòlida (*Plasma Desorption* (PD), *Fast Atom Bombardment* (FAB), *Laser Desorption* (LD)) van permetre superar aquest primer obstacle en l'anàlisi de biomolècules. Des d'aleshores, els esforços van ser dirigits cap a l'anàlisi dels compostos amb una sensibilitat i resolució òptimes. A principis dels anys 90, dos nous mètodes d'ionització (*Electrospray Ionization* (ESI, desenvolupada per Fenn l'any 1988) i

^a El temps de vida d'aquests ions oscil·la entre 10⁻⁷ i 10⁻⁶ s.

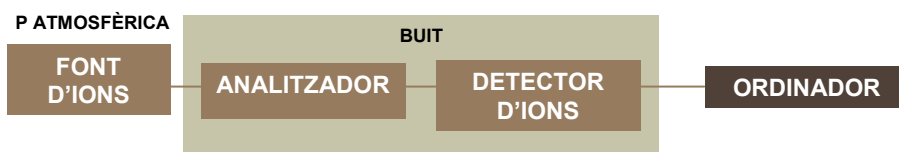
^b Un Dalton (Da) equival al pes atòmic de l'àtom d'hidrogen, 1.008 g mol⁻¹.

Matrix Assisted Laser Desorption Ionization (MALDI, Hillenkamp, 1985)) van ser desenvolupats, podent superar els inconvenients anteriors i continuant revolucionant el paper de l'espectrometria de masses en la recerca biològica. Aquests mètodes permeten l'anàlisi de biomolècules amb pesos moleculars molt grans (fins a centenars de milers de Dalton) amb una gran precisió.

A més, l'espectrometria de masses ha sofert grans millores amb l'acoblament amb altres tècniques, com la cromatografia. Aquest acoblament cromatografia-espectrometria de masses (1958) va revolucionar l'anàlisi de compostos volàtils, així com l'estudi de compostos no volàtils com pèptids, oligosacàrids, fosfolípids i sals biliars els anys 80. En combinació amb el desenvolupament de l'espectrometria de masses en tàndem i l'acoblament amb altres tècniques de separació com HPLC o electroforesi capil·lar, els nous instruments (llunyans del primer espectròmetre comercial, construït l'any 1942), permeten obtenir informació significativa de barreges de productes naturals o compostos sintètics.

2.2.2. FONAMENTS

La primera etapa en l'anàlisi mitjançant espectrometria de masses és la generació, en la font, d'ions del compost o complex a analitzar (ions moleculars) en fase gas. Posteriorment, aquests ions són separats en funció de llur massa i càrrega (m/z), en els analitzadors, i finalment detectats (*cf.* Esquema 2.2.1). El gran desenvolupament que ha sofert l'espectrometria de masses ha donat lloc a una gran varietat de tipus de fonts i analitzadors. La combinació d'uns amb altres proveeix aquest camp d'una gran quantitat d'espectròmetres de tipus diferents.



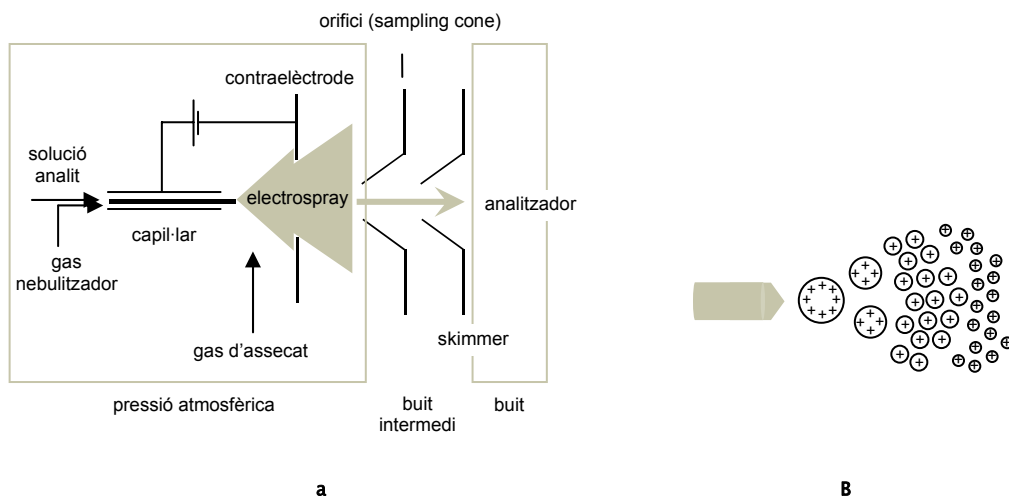
Esquema 2.2.1. Esquema bàsic d'un espectròmetre de masses.

2.2.2.1. Fonts d'ionització: electrospray

El tipus de font s'ha anat adaptant i especialitzant en funció de la naturalesa de l'analit. Així, són habituals fonts com la ionització per impacte electrònic, ionització química, ionització de tipus FAB (*Fast Atom Bombardment*), desorció de camp (*Field Desorption*), desorció amb làser (*Laser Desorption*), desorció per plasma (PD), termospray (TSP), electrospray (ESI) o plasma acoblat inductivament (ICP). En els estudis d'aquesta tesi però, s'ha emprat la ionització per electrospray.

L'electrospray, desenvolupat per Fenn l'any 1988 (descriu per ell ja el 1984 i l'aplicació del qual a l'anàlisi de biomolècules el feu meritori del Premi Nobel de Química l'any 2002)⁵⁰ és una tècnica d'ionització suau, apropiada per a la generació d'ions en fase gas de proteïnes i altres biomolècules. Es caracteritza per la formació d'ions estables (ja que només tenen un petit excés d'energia) que pre-existeixen en solució. Consisteix en la formació d'un aerosol carregat a partir d'una solució líquida per aplicació d'un camp elèctric fort a pressió atmosfèrica (obtingut amb una diferència de potencial de 3–6 kV entre el capil·lar i el contraelèctrode). Aquest camp elèctric indueix una acumulació de càrrega sobre la superfície del líquid en la punta del capil·lar i es trenca, formant gotes carregades. Un gas, anomenat gas nebulitzador (*nebulizing gas*), normalment N₂, ajuda a dirigir l'aerosol des del capil·lar fins a l'espectròmetre. Les gotes carregades disminueixen llur mida per evaporació del solvent, procés assistit per un flux d'un gas inert escalfat (o no) a una determinada temperatura (gas d'assecat, o *drying gas* (N₂)). L'eliminació del solvent provoca un augment de la densitat de càrrega en la superfície de les gotes, fins que les forces de repulsió esdevenen superiors a les forces de cohesió i les gotes es trenquen. Aquest procés es repeteix successivament, formant-se gotes cada vegada menors, fins al punt d'obtindre's ions carregats lliures de solvent, que es desprenen de les gotes. Alguns passen a través d'un orifici de mostratge (*sampling cone*) a una regió amb

un buit intermedi, sent dirigits des d'ací cap a l'analitzador, dins del qual existeixen condicions de buit (*cf.* Esquema 2.2.2).



Esquema 2.2.2. Esquema de la font d'ionització ESI (a) i generació de l'electrospray (b).

2.2.2.2. Analitzadors: quadrupol

A l'igual que succeeix amb les fonts, molts són els analitzadors emprats en l'actualitat: de tipus quadrupol, de trampa iònica (*quadrupol ion trap* o *quisto*), temps de vol (*Time-of-flight*, TOF), analitzadors elèctrics i magnètics, ressonància ciclotrònica (*Ion Cyclotron Resonance*) o de transformada de Fourier.

La Figura 2.2.1 representa un esquema típic d'un analitzador de tipus quadrupol, l'emprat en els experiments de masses d'aquesta tesi. Els fonaments del quadrupol van ser descrits per Paul i Steinweger, a la Universitat de Bonn l'any 1953. Van començar amb un treball de recerca realitzat per l'enginyer Christophilos l'any 1951 a Atenes, el qual tractava sobre la direcció d'ions. Des de llavors han estat desenvolupats per convertir-los en aparells comercialment disponibles mitjançant la feina de Shoulders, Finnigan i Story.⁴⁸

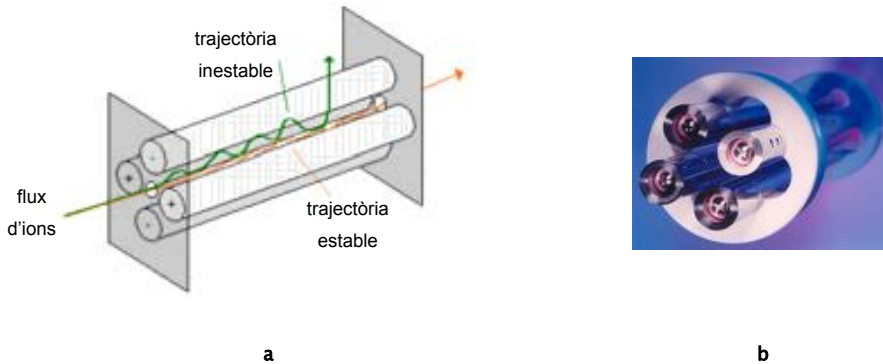


Figura 2.2.1. Esquema típic d'un analitzador de tipus quadrupol (a). Fotografia dels quatre cilindres del quadrupol (b).

Físicament estan constituïts per quatre cilindres de secció preferiblement hiperbòlica o, en el seu defecte, circular. Aquests cilindres es troben carregats, dos positivament ($+\Phi_0$) i dos negativament ($-\Phi_0$), i col·locats de manera que els que tenen el mateix signe es disposen paral·lelament, a una distància de $2r_0$, on r_0 és el radi dels cilindres. Així, generen un camp elèctric en l'espai que delimiten. Aquest tipus d'analitzador es fonamenta en la generació de trajectòries estables dels ions per separar-los d'acord amb la relació m/z (on m i z representen la massa i la càrrega de l'ió, respectivament). Per tant, cal assegurar que aquests ions no topen amb les parets dels cilindres ni que són desviats entre dos cilindres, cap a l'exterior. Si el potencial dels cilindres fos constant, un ió d'un determinat signe seria dirigit cap a un cilindre de signe contrari, col·lidint amb ell i doncs, descarregant-se. Per evitar-ho, els cilindres canvien de signe de forma sinusoidal amb el temps: $\Phi_0 = U - V \cos(\omega t)$, on Φ_0 és el potencial aplicat als cilindres, U és potencial directe i $V \cos(\omega t)$, un camp alternant de ràdiofreqüència, d'amplitud V i freqüència angular ω . Modificant U i V (r_0 és constant per a un quadrupol determinat i ω es fixa de manera que resta invariable) s'aconsegueixen trajectòries estables, no sols per a un ió m/z concret, sinó per a diferents ions.

2.2.2.3. Espectrometria de masses en tàndem (MSⁿ)

L'espectrometria de masses en tàndem, també referida amb les sigles MS/MS (o MS²) és una tècnica per la qual un ió determinat de l'espectre font (espectre inicial de la mostra) és aïllat i fragmentat posteriorment per estudiar-ne la seua reactivitat o estructura. Aquest mètode requereix com a mínim dos analitzadors disposats seqüencialment: mentre en el primer se selecciona l'ió d'interès (ió pare, ió precursor), en el segon té lloc la fragmentació i l'anàlisi dels ions producte (o ions fills). Alhora, amb més analitzadors, un d'aquests ions productes podria ser seleccionat i fragmentat. I així successivament, donant lloc a experiments de tipus MSⁿ (o MS/MS/MS(/...)).

Per a què un ió procedent de la font pugui ser aïllat i fragmentat en un analitzador cal que tinga un temps de vida superior a 10^{-7} s: si és inferior, fragmenta abans d'abandonar la font i només se'n detecten els ions producte; si és molt superior ($>10^{-6}$ s) és molt estable i arriba al detector abans de donar ions producte. Però si posseeix un temps de vida intermedi, entre 10^{-7} i 10^{-6} s (ió anomenat metaestable), és prou estable com per ser seleccionat en el primer analitzador, però alhora conté un excés d'energia suficient que permet la seva fragmentació abans d'arribar al segon analitzador. Tot i això, aquells ions amb un temps de vida superior a 10^{-6} s poden ser fragmentats en l'analitzador mitjançant llur activació per col·lisions. Una tècnica molt emprada per a aquest objectiu és l'activació iònica per col·lisió (CAD/CID, *Collision-Activated Ion Decomposition*): els ions seleccionats són accelerats i es fan col·lidir de manera inelàstica amb molècules d'un gas inert (normalment N₂, però també Ar, Xe, Kr). Aquesta col·lisió provoca la transferència d'una fracció d'energia cinètica de l'ió a energia interna, que permet la fragmentació. Aquesta primera etapa és molt ràpida, de l'ordre de 10^{-14} – 10^{-16} s. Si la magnitud d'aquesta fracció és suficient per trencar enllaços l'ió descompon de manera unimolecular. El fet que la pressió a l'interior de l'analitzador siga petita garanteix una única col·lisió entre un ió i una

molècula del gas. La fracció màxima d'energia de translació que pot ser convertida en energia interna ve donada per la següent equació,

$$E_{con} = E_{lab} \frac{M_i}{M_t + M_i} \quad [3-1]$$

on M_i fa referència a la massa de l'ió seleccionat, M_t a la massa del gas de col·lisió, E_{con} a la fracció màxima d'energia que pot ser convertida en energia interna i E_{lab} a l'energia cinètica de l'ió en el laboratori. Aquest darrer paràmetre també rep el nom d'energia de col·lisió (ce).

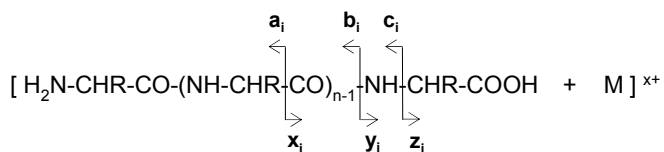
L'acceleració dels ions pot ser molt energètica (de l'ordre de keV) o poc (entre 1 i 100 eV). Mentre el primer tipus només és possible amb analitzadors de tipus electromagnètic o de tipus híbrid (instruments que combinen diversos tipus d'analitzadors), el segon se sol emprar amb analitzadors híbrids o amb analitzadors de tipus triple quadrupol, QqQ, com l'emprat en aquesta tesi. En el triple quadrupol, el primer i tercer quadrupol actuen com a analitzadors, mentre el segon actua com a cambra de col·lisió. Amb acceleracions poc energètiques com la utilitzada en aquesta tesi, l'energia d'excitació dels ions té un caràcter fonamentalment vibracional.⁵¹

Donada l'elevada afinitat protònica dels sistemes peptídics, tradicionalment els experiments de fragmentació s'han basat en la protonació d'aquestes biomolècules, totalment o parcial. Tot i això, la seqüenciació amb H^+ ha demostrat no ser sempre l'òptima, ja que els enllaços peptídics es trenquen de manera no selectiva:⁴⁰⁻⁴² el protó resulta massa mòbil i tot i interaccionar amb els centres amb més afinitat protònica de seguida es mou per donar altres isòmers, dificultant l'estudi de l'espectre resultant. Aquesta no selectivitat permet determinar els aminoàcids integrants, però no la disposició que adopten en la

proteïna. La cerca d'una major especificitat d'interacció amb uns centres bàsics concrets va portar a dirigir les mirades cap als cations metàl·lics, inicialment cap a cations de metalls alcalins i alcalinoterris, i posteriorment als cations de metalls de transició. Amb aquests s'elimina (o, si més no, es minimitza) la problemàtica de la mobilitat del H^+ . A més d'una interacció metall-pèptid específica, també ha de ser d'una magnitud tal que pugui permetre la fragmentació del complex $[M, \text{ligand}]^{n+}$; és a dir, ni excessivament gran (fragmentaria poc o gens) ni gaire petita (s'observaria majoritàriament el catió metàl·lic). Finalment, l'afinitat catiònica per un fragment ha de ser superior a l'afinitat catiònica del pèptid sense fragmentar, per a poder observar l'ió $[M, F_i]^{n+}$ (on F_i és un fragment del pèptid original).⁴³ Mallis i Russell, l'any 1986, són els primers en suggerir que l'activació de complexos metall-pèptid proporciona informació estructural útil.⁴⁴ Les fragmentacions depenen del tipus d'aminoàcids que conformen la seqüència peptídica i la posició que ocupen dins la cadena, del tipus de catió i de la mida del catió. Així, per exemple, la fragmentació de 3 seqüències dels aminoàcids histidina i glicina (HGG, GHG i GGH) és diferent en funció de com s'encadenen els aminoàcids.⁴³

L'estudi amb cations metàl·lics es fonamenta en el fet que la càrrega del metall indueix fragmentació en el lloc d'interacció,⁴⁵ resultant d'una activació del pèptid deguda a la coordinació amb el metall. Però això no exclou la possibilitat de trobar reaccions que es donen en altres punts del pèptid, allunyats del centre de coordinació metàl·lica, tot i que són menys importants. Disposant de metalls amb especificitats diferents pels residus peptídics, es poden obtenir espectres de fragmentació diferents, sèries de fragmentacions (per exemple, tots els ions on participen els extrems N i C del pèptid) dels trencaments del major nombre possible d'enllaços peptídics (idealment tots) i doncs, determinar la seqüència peptídica.^{42,46}

Per tal de generar dades estructurals mitjançant l'espectrometria de masses la molècula que s'està estudiant ha de patir fragmentacions en un o diversos enllaços, de manera que concorde la relació m/z dels fragments formats amb l'estructura química. En el cas de fragmentacions de pèptids, els fragments obtinguts se solen classificar en dos categories: aquells derivats del trencament dels enllaços de l'esquelet peptídic i aquells que provenen del trencament de la cadena lateral dels residus aminoacídics. Els primers fragments identificats van ser els de la primera categoria, els quals poden obtindre's per trencament d'un enllaç $C_{\alpha}-C_p$, C_p-N_p i N_p-C_{α} . Aquests originen sis tipus d'ions, anomenats mitjançant la nomenclatura suggerida inicialment per Roepstorff i Fohlman i posteriorment modificada per Biemann:⁴⁷⁻⁴⁹ a_n , b_n , c_n (quan la càrrega positiva es manté en l'extrem N terminal) i x_m , y_m i z_m (quan la càrrega es localitza en l'extrem C terminal), com es mostra en l'Esquema 2.2.3.



Esquema 2.2.3. Esquema d'un complex $[M,L]^{n+}$ (M =metall, H i L =pèptid) amb la nomenclatura emprada per a les fragmentacions peptídiques, on n correspon al nombre d'enllaços peptídics existents: $n=1-3$, $i=1,2,\dots,n$ i $j=n+1-i$. R fa referència a la cadena lateral d'un aminoàcid.

A més, es poden obtindre altres ions procedents del trencament de més de dos enllaços de l'esquelet peptídic: són els fragments interns, en els quals es perden dels extrems inicials N i C (s'anomenen amb lletres simples corresponents a la seqüència del fragment), així com ions de tipus imoni, anomenats amb una lletra que identifica a l'aminoàcid del qual provenen. Tots dos s'observen a energies de col·lisió baixes i altes.

2.2.3. SECCIÓ EXPERIMENTAL

Els experiments s'han realitzat emprant l'instrument MDS Sciex API2000, d'Applied Biosystems, constituït per una font d'ionització de tipus electrospray i un analitzador de tipus triple quadrupol (QqQ), al Laboratoire d'Analyse et Environnement de la Universitat Evry Val d'Essonne, a París. La introducció de les solucions problema a la font electrospray s'ha realitzat amb una xeringa de 4.61 mm, a una velocitat de $10 \mu\text{l min}^{-1}$. La formació de l'electrospray de les mostres s'ha aconseguit aplicant un potencial de 5 kV. Per tal d'afavorir l'eliminació del solvent ($\text{H}_2\text{O}:\text{CH}_3\text{OH}$ al 50% en volum) s'ha escalfat la mostra en la font fins una temperatura de 70°C . S'hi han aplicat diferents valors del potencial de con (DP, *Declustering Potential*), de 0 a 140 V, per tal d'escollir el valor òptim (valor per al qual s'observa una major intensitat relativa de l'ió $[\text{Co},\text{ligand}]^{2+}$). En general, aquest és de 30 V, a excepció de l'estudi del complex Co–lisina, enregistrat amb una DP de 5 V per no observar-se el complex $[\text{Co},\text{K}]^{2+}$ al potencial de 30 V. En l'estudi MS/MS s'ha utilitzat N_2 com a gas de col·lisió, fent-se col·lidir amb els ions d'interès amb diferents energies de col·lisió, les quals oscil·len entre 0 i 40 eV. En els experiments MS (obtenció de l'espectre font) la pressió dins l'analitzador (pressió de fons, *background pressure*) oscil·la al voltant de $0.7 \cdot 10^{-5}$ torr, mentre que augmenta fins $1.3\text{--}1.4 \cdot 10^{-5}$ torr en els experiments MS/MS (obtenció dels espectres de fragmentació), quan el gas de col·lisió hi és present (pressió total, *total pressure*).

La solució emprada, de concentració propera a 10^{-4} M, s'ha obtingut barrejant una solució en $\text{H}_2\text{O}:\text{CH}_3\text{OH}$ al 50% en volum que conté el lligand ((glicil) $_n$ glicina, (lisil) $_n$ lisina, on $n=1\text{--}3$, o lisina) i la sal de Co(II) $\text{CoSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$. Els lligands emprats en aquestes solucions, de puresa del 98–99% i productes de Sigma–Aldrich i Fluka BioChemika, són sòlids fins blancs. Per a cada barreja Co(II)–lligand s'ha emprat la relació Co:L que dóna lloc a una major intensitat relativa del complex $[\text{Co},\text{L}]^{2+}$ (adequada per a la correcta selecció d'aquest ió i de la seua posterior

fragmentació en experiments de MS/MS) i amb la que s'obté, alhora, una menor intensitat dels ions que contenen molècules de dissolvent. Aquesta és de 4:1 (oligoglicines i (lisil)₃lisina), 1:1 (lisina i dilisina) i 2:1 ((lisil)₂lisina).



CALIBRATGE DEL MÈTODE DE CÀLCUL

3.1. CÀLCULS DE CATIONS

Quan es considera la naturalesa electrònica d'un àtom o d'un ió, hom pot pensar en la poca importància que pot tenir col·locar els electrons d'una subcapa parcialment plena d'una manera o d'una altra. Però el fet és que existeixen molts estats possibles associats a una configuració electrònica i no tots ells són igual de favorables energèticament. Es requereixen doncs, mètodes capaços de tractar bé les diferències subtils d'energia de correlació i bescanvi existents en els diferents estats.

Cadascuna de les maneres de distribuir els electrons d i que pertanyen a un mateix terme espectral poden presentar-se mitjançant un determinant de Slater, però no totes aquestes representacions monodeterminantals corresponen a funcions pròpies dels operadors \hat{L}^2 i \hat{S}^2 . Així, cal triar només aquelles ocupacions dels orbitals atòmics amb representacions monodeterminantals del terme desitjat; en el nostre cas, el fonamental. A excepció del d_0 , els orbitals atòmics tenen representacions complexes. Així, només certes ocupacions dels orbitals reals representen l'estat d'espín i el moment angular correctes. Per facilitar l'estudi dels termes fonamentals dels cations dels metalls de transició, l'any 1977 Hay⁴ va establir les ocupacions dels orbitals reals que a compleixen els

requeriments de l'espín i del moment angular, ocupacions presentades en la Taula 3.1.1.

Taula 3.1.1 Ocupacions donades per Hay dels orbitals reals que representen de manera correcta el terme espectral fonamental de les configuracions d^n . Les ocupacions d^1 , d^4 , d^6 i d^9 són arbitràries.

| | | |
|-------|---------|--|
| d^1 | 2D | $(d_z^2)^1$ |
| d^2 | 3F | $(d_z^2)^1 (d_{x^2-y^2})^1$ |
| d^3 | 4F | $(d_{xy})^1 (d_{xz})^1 (d_{yz})^1$ |
| d^4 | 5D | $(d_{x^2-y^2})^1 (d_{xy})^1 (d_{xz})^1 (d_{yz})^1$ |
| d^5 | 6S | $(d_{x^2-y^2})^1 (d_z^2)^1 (d_{xy})^1 (d_{xz})^1 (d_{yz})^1$ |
| d^6 | 5D | $(d_z^2)^2 (d_{x^2-y^2})^1 (d_{xy})^1 (d_{xz})^1 (d_{yz})^1$ |
| d^7 | 4F | $(d_z^2)^2 (d_{x^2-y^2})^2 (d_{xy})^1 (d_{xz})^1 (d_{yz})^1$ |
| d^8 | 3F | $(d_z^2)^1 (d_{x^2-y^2})^1 (d_{xy})^2 (d_{xz})^2 (d_{yz})^2$ |
| d^9 | 2D | $(d_z^2)^1 (d_{x^2-y^2})^2 (d_{xy})^2 (d_{xz})^2 (d_{yz})^2$ |

Tot i considerar l'ocupació adequada existeixen però, dificultats tècniques a l'hora de calcular l'energia d'un àtom d'un element de transició. D'una banda, habitualment es donen barreges no desitjades entre els orbitals nd i el $(n+1)s$, donant lloc a situacions que no descriuen cap configuració electrònica en concret. D'una altra, amb els mètodes DFT l'energia dels determinants que representen el mateix terme espectral depèn de l'ocupació dels orbitals d reals, ja que la densitat electrònica associada a l'orbital d_z^2 és diferent a l'associada als orbitals d restants. Un cas clar on s'observa aquest fet és a la configuració d^1 : tot i que totes les ocupacions possibles representen el terme 2D , no s'obté la mateixa energia per a cadascuna d'elles. Aquestes diferències però, són petites. Tal i com afirmen W. Koch i M. C. Holthausen, «... *there is no unambiguous reference energy for atoms in approximate density functional theory*».⁴ En aquesta tesi, on s'ha treballat amb ocupacions d^6 , d^7 i d^8 , en el cas on aquestes podien ser

arbitràries (d^6) s'ha considerat sempre el determinant que proporciona l'energia més baixa.

Efectivament, les ocupacions trobades per als termes espectrals fonamentals dels cations Co(I) i Co(II) (3F i 4F respectivament) i presentades en la Taula 3.1.2 es corresponen amb les donades per Hay. A més dels termes fonamentals s'han considerat els termes excitats 1G (procedent de la configuració d^8 , com el 3F) i 5F (provinent de la configuració $3d^74s^1$) per al Co(I) i el 2G per al Co(II), derivat, a l'igual que el 4F , de la configuració d^7 .

Taula 3.1.2 Energies relatives B3LYP i CCSD(T) amb la base1 (entre parèntesi, base2), en eV, dels termes espectrals 3F , 1G , 5F i 4F , 2G dels cations Co(I) i Co(II), respectivament. Ocupacions dels orbitals reals corresponents als termes estudiats. En negreta, els orbitals monoocupats i completament buits.

| | | ocupació dels orbitals d | | | | B3LYP | CCSD(T) | exp. ³⁰ |
|--------|------------|--------------------------|---|--|------------------------|-------------|-------------|--------------------|
| Co(I) | d^8 | 3F | $(d_z^2)^1$ $(d_{x^2-y^2})^1$ | $(d_{xz})^2$ $(d_{yz})^2$ $(d_{xy})^2$ | | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 |
| | | 1G | $(d_z^2)^2$ $(d_{x^2-y^2})^2$ | $(d_{xz})^2$ $(d_{yz})^2$ $(d_{xy})^0$ | | 2.66 (2.65) | 2.19 (2.23) | 2.29 |
| | $3d^74s^1$ | 5F | $(d_z^2)^2$ $(d_{x^2-y^2})^2$ | $(d_{xz})^1$ $(d_{yz})^1$ $(d_{xy})^1$ | (s)¹ | 0.75 (0.75) | 0.46 (0.50) | 0.43 |
| Co(II) | d^7 | 4F | $(d_z^2)^2$ $(d_{x^2-y^2})^2$ | $(d_{xz})^1$ $(d_{yz})^1$ $(d_{xy})^1$ | | 0.00 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.00 |
| | | 2G | $(d_z^2)^1$ $(d_{x^2-y^2})^0$ | $(d_{xz})^2$ $(d_{yz})^2$ $(d_{xy})^2$ | | 2.64 (2.64) | 2.71 (2.71) | 2.05 |

Les energies relatives per a aquestes ocupacions obtingudes amb els mètodes B3LYP i CCSD(T) es presenten també en la Taula 3.1.2. Mentre en el Co(I) el CCSD(T) proporciona valors propers als experimentals, amb el B3LYP s'obtenen diferències de 0.32 eV per a la transició $^3F \rightarrow ^5F$ i de l'ordre de 0.37 eV en el cas de l'excitació $^3F \rightarrow ^1G$.

Tal i com s'esmenta en l'apartat de metodologia els funcionals híbrids presenten deficiències per determinar l'energia relativa entre configuracions $3d^n-14s^1$ i $3d^n$,

ja que tenen tendència a sobreestabilitzar les ocupacions d^n . Aquest és el motiu del gran valor B3LYP obtingut per a la diferència ${}^5F-{}^3F$ (0.75 eV) comparat amb el CCSD(T), 0.46 eV. Aquest mateix motiu és el causant de la diferència ${}^1G-{}^3F$, 2.66 eV *versus* 2.19 eV, ja que malgrat procedir tots dos de la mateixa configuració d^8 la magnitud del bescanvi $d-d$ és major en el terme 3F , estabilitzant-lo encara més.

A nivell teòric Irigoras et al.³¹ van tractar les diferències energètiques existents entre els termes 3F i 5F amb el B3LYP i el CCSD(T) i la base TZVP+G(3df,2p). Els resultats obtinguts per a aquesta transició, 0.72 i 0.53 eV respectivament, concorden amb els presentats en la Taula 3.1.2. Sobre la transició ${}^3F \rightarrow {}^1G$ però, no s'han trobat referències de treballs teòrics.

Quan el catió estudiat és el Co(II) la situació canvia considerablement: els dos mètodes proporcionen valors molt semblants per a l'excitació ${}^4F \rightarrow {}^2G$, 2.64 i 2.71 eV amb el B3LYP i el CCSD(T) respectivament, però s'allunyen considerablement de l'energia d'excitació trobada experimentalment, 2.05 eV. Lògicament, també en aquest cas es retroba la sobreestabilització del quartet degut al bescanvi; a més però, pot influir la naturalesa del catió Co(II), el qual, per ser més compacte, necessita una millor descripció de la correlació electrònica. Cal assenyalar que tampoc en aquest cas s'han trobat referències teòriques en les que s'estudie aquesta transició.

3.2. ELS CATIONS DE COBALT I L'AIGUA

La diferent ocupació dels orbitals d dels cations Co(I) i Co(II) en els sistemes Co(I)/Co(II)-H₂O origina l'aparició d'estats electrònics diferents. Així, l'estudi d'aquest sistema, a més de tindre una finalitat de calibratge, també permet una primera aproximació als sistemes Co-L i la racionalització dels factors que regulen la interacció metall-ligand.

Així, s'han optimitzat els estats derivats de les configuracions $3d^8$ i $3d^7 4s^1$ per al Co(I) i d^7 per al Co(II) amb el funcional híbrid B3LYP i realitzat els càlculs de freqüències corresponents. Aquests càlculs s'han comparat amb els càlculs puntuals CCSD(T) (amb correlació de tots els electrons de valència dels àtoms Co , O i H , i els $3s$ i $3p$ del Co) realitzats sobre les geometries B3LYP.

3.2.1. $\text{Co(I)}-\text{H}_2\text{O}$

Des de finals de la dècada dels 80 diversos estudis, teòrics³¹⁻³⁵ i experimentals,³⁶⁻³⁸ s'han portat a terme sobre el sistema $\text{Co(I)}-\text{H}_2\text{O}$, reflectint-se en tots ells el fort caràcter electrostàtic de la interacció cobalt-aigua per l'atracció entre una càrrega positiva i el moment dipolar de l'aigua. En aquests sistemes la interacció total és un balanç entre l'atracció electrostàtica i la repulsió de Pauli. En el cas del Co(I) , els cinc orbitals d del metall es desdoblen quan interaccionen amb la molècula d'aigua, donant lloc a diferents estats electrònics segons l'ocupació d'aquests orbitals d . Un factor determinant quan es calcula l'estat electrònic fonamental és el diferent solapament dels orbitals d metàl·lics, així com del $4s$ en el cas dels quintuplets, amb els orbitals de la molècula d'aigua. Per a una simetria C_{2v} i el complex en el pla yz (on l'eix z és l'eix de simetria) aquests solapaments segueixen l'ordre $3d_{xy}(d\delta) \approx 3d_{x^2-y^2}(d\delta) < 3d_{xz}(d\pi) < 3d_{yz}(d\pi) < 3d_{z^2}(d\sigma) < 4s(\sigma)$. Els orbitals moleculars de l'aigua es mostren en la Figura 3.2.1.

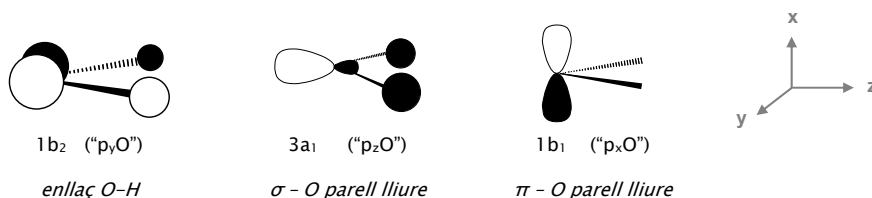


Figura 3.2.1. Orbitals moleculars de la molècula d'aigua que interaccionen amb el catió.

Així doncs, la repulsió de Pauli es veurà minimitzada per la monoocupació de l'orbital d_{z^2} (orientat cap a la molècula d'aigua), seguida dels orbitals d_{xz} (b_1) i d_{yz}

(b₂), a més de la desocupació de l'orbital 4s. A més d'aquest criteri, existeixen una sèrie d'estratègies per ajudar a minimitzar al màxim les repulsions, com la polarització dels orbitals monoocupats per barreja amb altres orbitals, donant-se les barreges més comunes entre el 3d_z², 3d_{x²-y²} i el 4s (d'idèntica simetria).

En aquest apartat s'han estudiat set estats triplets amb component M_s=1, tres estats quintuplets amb component M_s=2 i un singlet a capa tancada. D'aquests darrers estats només s'han considerat els més estables, per tractar-se d'estats menys afavorits energèticament. La Taula 3.2.1 mostra els estats electrònics escollits per al calibratge, l'ocupació orbitalària, així com la càrrega i l'espín del catió i la distància Co-H₂O, amb la respectiva energia B3LYP i CCSD(T) (amb correccions de punt zero). Per als singlets i quintuplets s'ha afegit una correcció corresponent a la diferència teòrico-experimental observada en les transicions ⁵F-³F i ¹G-³F en el catió sol (7.4 i 8.5 kcal mol⁻¹, respectivament). Donat que els valors de les dues bases són molt semblants, només es presenten els resultats amb la base 1. El valor del diagnòstic t_1 (suggerit per Lee i col·laboradors per estimar el caràcter multireferencial de la funció d'ona ψ)³⁹ per als diferents estats electrònics, inferior a 0.02, indica que aquests no presenten un caràcter multireferencial. Sí el presenten però, els estats ³B₁ i ³B₂ ($t_1 = 1.14$) més alts en energia. De fet, per a aquests dos estats els valors esperats de S² de la funció de referència són elevats, indicant que no corresponen a triplets purs.

Tal i com tenia lloc amb el catió sol, els triplets es troben lleugerament sobreestabilitzats amb el B3LYP degut a la sobreestimació del bescanvi d-d. Tot i això, aquestes diferències entre mètodes disminueixen quan es té en compte la correcció esmentada en el paràgraf anterior.

Taula 3.2.1. Energies relatives amb correcció de punt zero (en kcal mol⁻¹) i de Gibbs obtingudes amb els mètodes B3LYP i CCSD(T) i les dues bases, b1 i b2 (entre parèntesi) per a cada estat electrònic del sistema Co(I)-H₂O. El CCSD(T) conté les correccions obtingues amb el B3LYP i la base corresponent. Els valors per als singlets i quintuplets contenen la correcció teòrico-experimental esmentada en el text. Orbitals d i s monoocupats (o desocupats, en el singlet) del cobalt en els estats electrònics estudiats amb la respectiva simetria. Poblacions NPA sobre el Co i distàncies d_{Co-O} (Å) al nivell B3LYP/b1.

| | ΔE | | ΔG ⁰ ₂₉₈ | | ocupació | població NPA Co | | | | d _{Co-O} |
|----------------------------------|----------------|----------------|--------------------------------|----------------|--|-----------------|------|------|------|-------------------|
| | B3LYP | CCSD(T) | B3LYP | CCSD(T) | | 4s | 3d | q | s | |
| ³A₂ | 0.0 (0.0) | 0.0 (0.0) | 0.0 (0.0) | 0.0 (0.0) | (d _{z²}) ¹ (d _{xy}) ¹ a ₁ a ₂ | 0.06 | 7.98 | 0.96 | 1.98 | 1.993 |
| ³B₁ | 0.2 (0.3) | 0.3 (0.4) | 0.7 (1.2) | 0.7 (1.2) | (d _{x²-y²}) ¹ (d _{xz}) ¹ a ₁ b ₁ | 0.14 | 7.91 | 0.95 | 1.99 | 1.972 |
| ³A₁ | 0.3 (0.4) | 0.3 (0.4) | 0.7 (1.2) | 0.7 (1.2) | (d _{z²}) ¹ (d _{x²-y²}) ¹ a ₁ a ₁ | 0.06 | 7.98 | 0.96 | 1.98 | 1.995 |
| ³B₂ | 2.2 (2.2) | 1.9 (2.0) | 2.3 (2.6) | 2.1 (2.5) | (d _{x²-y²}) ¹ (d _{yz}) ¹ a ₁ b ₂ | 0.13 | 7.91 | 0.96 | 2.00 | 2.009 |
| ³B₂ | 6.5 (6.5) | 12.0 (13.2) | 6.8 (7.3) | 12.4 (14.0) | (d _{xz}) ¹ (d _{xy}) ¹ b ₁ a ₂ | 0.28 | 7.77 | 0.93 | 2.00 | 1.947 |
| ³A₂ | 9.5 (9.5) | 5.9 (6.3) | 9.9 (10.3) | 6.2 (7.0) | (d _{xz}) ¹ (d _{yz}) ¹ b ₁ b ₂ | 0.10 | 7.94 | 0.96 | 2.00 | 2.002 |
| ³B₁ | 10.1 (10.0) | 16.6 (17.6) | 9.9 (10.9) | 16.6 (18.6) | (d _{yz}) ¹ (d _{xy}) ¹ b ₂ a ₂ | 0.26 | 7.78 | 0.95 | 2.01 | 2.003 |
| ⁵B₂ | 15.4 (15.6) | 16.1 (14.4) | 15.4 (15.8) | 16.1 (14.4) | (d _{z²}) ¹ (d _{xz}) ¹ (d _{xy}) ¹ (s) ¹ a ₁ b ₁ a ₂ a ₁ | 1.00 | 7.03 | 0.93 | 3.96 | 2.069 |
| ⁵B₁ | 17.7 (17.7) | 17.7 (16.2) | 17.4 (17.9) | 17.4 (16.3) | (d _{z²}) ¹ (d _{yz}) ¹ (d _{xy}) ¹ (s) ¹ a ₁ b ₂ a ₂ a ₁ | 1.01 | 7.02 | 0.95 | 3.98 | 2.119 |
| ⁵B₁ | 20.5 (20.5) | 19.2 (17.8) | 20.5 (21.0) | 19.3 (18.3) | (d _{z²}) ¹ (d _{x²-y²}) ¹ (d _{xz}) ¹ (s) ¹ a ₁ a ₁ b ₁ a ₁ | 1.00 | 7.05 | 0.92 | 3.94 | 2.040 |
| ¹A₁ | 49.9 (50.0) | 52.6 (50.1) | 51.1 (51.6) | 53.8 (51.7) | (d _{xz}) ⁰ b ₁ b ₁ | 0.13 | 7.93 | 0.92 | 0.00 | 1.923 |

Seguint la tendència trobada en el catió sol, l'estabilitat relativa dels diferents estats segueix l'ordre triplet > quintuplet > singlet. Tot i la quasi-degeneració dels estats triplets més estables (3A_2 , 3B_1 i 3A_1) l'estat electrònic 3A_2 es troba una mica més estabilitzat, fet més acusat en la magnitud ΔG_{298}^0 i amb la base 2. La dificultat en assignar un estat fonamental ja és present als diferents treballs publicats anteriorment. En un treball inicial, Rosi i Bauschlicher assignen el 3B_1 com a estat més estable amb el MCPDF, trobant els altres tres estats molt propers: 0.7 kcal mol⁻¹ per als 3A_2 i 3A_1 i 1.8 kcal mol⁻¹ per al 3B_2 .^{32,33} Posteriorment, Trachtman et al., amb el mètode MP2 (full) i el CCSD(T)(full) mostren una dependència respecte del mètode utilitzat trobant el 3B_1 amb el primer mètode i el 3A_2 amb l'últim.³⁴ Una mica més tard, Irigoras et al., en un estudi de reactivitat del Co(I) amb aigua utilitzant el B3LYP, tornen a posar de manifest aquesta problemàtica obtenint el 3A_2 com a estat fonamental.³¹ L'estabilització dels tres estats anteriors respon a diferents motius. Així, per als estats 3A_2 i 3A_1 , tots dos amb ocupacions que no minimitzen la repulsió metall-ligand, el motiu de la seua estabilització radica en el fet de provenir del terme espectral fonamental 3F del Co(I). En canvi, l'estabilització del 3B_1 , derivat d'una barreja 3F - 3P prové, en part, de la barreja dels orbitals d que hi té lloc, que li permet una reducció més eficient de la repulsió metall-ligand. A més, aquest estat està afavorit per la monoocupació de l'orbital d_{xz} ($d\pi$) i una certa transferència $d \rightarrow s$ (cf. Taula 3.2.1).

Per als quintuplets, l'estat més estable correspon al 5B_2 , tal i com prediuen Irigoras et al.³¹ El major afavoriment d'aquest respecte els altres provindria de la monoocupació dels orbitals $3d_{z^2}$ i $3d_{xz}$. En el cas del singlet, tot i que hom esperaria trobar completament buit l'orbital d amb més solapament, el d_{z^2} , aquest estat no correspon a cap mínim de la superfície d'energia potencial. Per a aquest estat d'espín, l'estat fonamental resulta de la desocupació del d_{xz} (b_1 , $d\pi$).

Pel que fa als paràmetres geomètrics (*cf.* Taula 3.2.1), es pot observar que l'angle H–O–H es manté invariable (108°), mentre la distància Co–O és directament proporcional a la magnitud de la repulsió de Pauli: singlet (1.923 Å) < triplet (1.947–2.009 Å) < quintuplet (2.040–2.119 Å).

En la Taula 3.2.2 es presenten les energies d'interacció dels estats triplets més estables, calculades amb les bases b1 i b2, així com els valors experimentals.

Taula 3.2.2. Energies d'interacció B3LYP/b1 i CCSD(T)/b1 (en kcal mol⁻¹) per als estats més estables del Co(I)–H₂O, calculades respecte al terme espectral fonamental ³F del Co(I): E(³F Co(I)) + E(H₂O) – E(Co(I)–H₂O). Entre parèntesi, valors obtinguts amb la base 2. Les correccions energètiques D₀, ΔH⁰₂₉₈ i ΔG⁰₂₉₈ realitzades sobre el CCSD(T) corresponen a les obtingudes per a cada magnitud amb el B3LYP, per a cada estat amb la base corresponent.

| | D _e | | D ₀ | | ΔH ⁰ ₂₉₈ | | ΔG ⁰ ₂₉₈ | |
|-----------------------------|----------------------------|----------------|----------------|----------------|--------------------------------|----------------|--------------------------------|----------------|
| | B3LYP | CCSD(T) | B3LYP | CCSD(T) | B3LYP | CCSD(T) | B3LYP | CCSD(T) |
| ³ A ₂ | 41.2 (39.8) | 38.6 (37.7) | 39.7 (38.5) | 37.1 (36.3) | 40.4 (39.1) | 37.8 (37.0) | 34.1 (33.4) | 31.5 (31.2) |
| ³ B ₁ | 41.3 (39.9) | 38.6 (37.7) | 39.4 (38.1) | 36.8 (35.9) | 40.4 (39.1) | 37.7 (36.8) | 33.5 (32.2) | 30.8 (30.0) |
| ³ A ₁ | 41.2 (39.8) | 38.6 (37.6) | 39.4 (38.1) | 36.8 (35.9) | 40.3 (39.0) | 37.7 (36.8) | 33.4 (32.2) | 30.9 (30.1) |
| <i>D₀ exp</i> | 41.05 ± 1.15 ³¹ | | | | | | | |
| | 37.1 ³⁶ | | | | | | | |
| | 40.1 ³⁷ | | | | | | | |
| | 38.5 ± 1.4 ³⁸ | | | | | | | |

En general, el B3LYP proporciona valors d'energies d'interacció molt acceptables, ja que són molt similars als calculats amb el mètode CCSD(T), sent la diferència en general, inferior a 3 kcal mol⁻¹. Per als estats triplets més estables (³A₂, ³B₁, ³A₁) l'energia d'interacció (D₀) B3LYP/b1 és de 39.7 per al primer i 39.4 kcal mol⁻¹

per als dos darrers, valors que concorden amb el rang de valors experimentals disponibles: $37.1 - (41.05 \pm 1.15)$ kcal mol⁻¹. A més, es troben en bona concordança amb altres valors teòrics trobats a la literatura: 37.2 kcal mol⁻¹ (ΔH_{298}^0)³⁴ i 40.8 kcal mol⁻¹ (D_0)³¹ per al ³B₁; 37.1 kcal mol⁻¹ (ΔH_{298}^0)³⁴ per al ³A₂. Per al ³A₁, el valor de D_0 trobat a la literatura és de 38.2 kcal mol⁻¹.³²

Compilant totes les dades, el B3LYP sembla ser un mètode apropiat per a la descripció del sistema Co(II)-H₂O. Aquest mètode, juntament amb l'ús de la base 1, proporciona energies relatives similars a les CCSD(T) així com energies d'interacció en bon acord amb les proporcionades pel CCSD(T) i amb les publicades en altres treballs, teòrics i experimentals. Per a alguns estats electrònics però, les lleugeres diferències que existeixen entre ambdós mètodes es deuen a què en aquests estats en el càlcul CCSD(T) s'observa més caràcter multireferencial.

3.2.2. Co(II)-H₂O

Químicament, el sistema Co(II)-H₂O s'assembla molt al Co(I)-H₂O. En aquest sentit, la interacció és fonamentalment de tipus càrrega-dipol, però el balanç d'aquesta interacció electrostàtica i les repulsions metall-ligand resulta més determinant en l'estabilitat dels diferents estats: per tractar-se d'un catió d⁷ l'ocupació dels orbitals d metàl·lics per minimitzar les repulsions esdevé més important. A més, per ser un catió divalent, es pot pensar en la contribució d'un tercer factor en la interacció cobalt-aigua, la transferència de càrrega, contribució observada en diversos càlculs realitzats sobre el sistema Cu(II)-H₂O.^{19,34}

Contràriament al cas del Co(I)-H₂O s'han publicat menys estudis referents a aquest sistema,³⁴ no disposant-se de dades experimentals que quantifiquen la magnitud de la interacció metall-ligand en aquest complex i centrant-se, els pocs treballs teòrics publicats, únicament en els quartets. És per aquest motiu

que en aquest apartat s'ha volgut tindre en compte algun doblet, també procedent de la configuració electrònica d^7 . Paral·lelament s'han realitzat diverses proves amb sextuplets ($3d^6 4s^1$), les quals posen de manifest la inestabilitat d'aquests estats. A més, romanen massa alts energèticament com per ser considerats (el primer sextuplet per al catió Co(II) trobat experimentalment, el 6D , es localitza a 5.73 eV ($132.1 \text{ kcal mol}^{-1}$) respecte el terme fonamental 4F). Així, en aquest apartat s'han estudiat sis quartets amb component $M_s=3/2$ i dos doblets amb component $M_s=1/2$. La determinació del diagnòstic t_1 per a cadascun d'aquests estats permet afirmar que no presenten un caràcter multireferencial. Tots aquests estats i l'ocupació que dona lloc a la respectiva simetria es presenten en la Taula 3.2.3, on es mostra, a més, l'energia relativa obtinguda per a cadascun d'ells amb les dues metodologies (en el cas dels doblets, donada la diferència energètica calculada per a la transició ${}^4F \rightarrow {}^2G$ respecte a l'experimental, s'ha considerat la corresponent correcció energètica). Aquests resultats mostren que, si bé existeixen algunes desviacions entre els dos mètodes (cas del segon quartet 4B_2 i del segon quartet 4A_2), el B3LYP proporciona energies relatives acceptables comparades amb el CCSD(T). També per a aquests estats amb les dues bases s'obtenen valors molt similars no sols d'energies, sinó també de poblacions i de paràmetres geomètrics. Per aquest motiu, l'anàlisi no energètica s'ha efectuat amb la base 1.

En aquest sistema es torna a posar de manifest la major estabilitat dels estats d'espín alt front als d'espín baix, situació que sembla lògica si es té en compte que provenen de l'asíptota més estable del catió despul·lat. Tot i això, la diferència quartet-doblet disminueix respecte les $47.3 \text{ kcal mol}^{-1}$ ($60.9 \text{ kcal mol}^{-1}$ (2.64 eV) sense correcció) calculades per a la transició ${}^4F \rightarrow {}^2G$. Aquesta disminució s'explica per la major repulsió de Pauli existent en els estats quartets en relació als doblets. De fet, aquesta situació ja s'observava en la diferència triplet-singlet del $\text{Co(I)}\text{-H}_2\text{O}$ (tots dos provinents de la configuració d^8).

Taula 3.2.3. Energies relatives amb correcció de punt zero (en kcal mol⁻¹) i de Gibbs obtingudes amb els mètodes B3LYP i CCSD(T) i les dues bases, b1 i b2 (entre parèntesi) per a cada estat electrònic del sistema Co(II)-H₂O. El CCSD(T) conté les correccions obtingues amb el B3LYP i la base corresponent. Els estats dobles contenen la correcció teòrico-experimental. Orbitals d i s monoocupats o desocupats (singlet) del cobalt en els estats electrònics estudiats amb la respectiva simetria. Poblacions NPA sobre el Co i distàncies d_{Co-O} (Å) al nivell B3LYP/b1.

| | ΔE | | ΔG ⁰ ₂₉₈ | | ocupacions | Poblacions NPA sobre el cobalt | | | | d _{Co-O} |
|------------------------------------|----------------|----------------|--------------------------------|----------------|--|--------------------------------|------|------|------|-------------------|
| | B3LYP | CCSD(T) | B3LYP | CCSD(T) | | 4s | 3d | q | s | |
| ⁴B₂ | 0.0 (0.0) | 0.0 (0.0) | 0.0 (0.0) | 0.0 (0.0) | (d _{z²}) ¹ (d _{xz}) ¹ (d _{xy}) ¹ a ₁ b ₁ a ₂ | 0.05 | 7.15 | 1.80 | 2.86 | 1.879 |
| ⁴B₁ | 3.4 (3.4) | 2.2 (2.4) | 3.4 (3.4) | 2.2 (2.4) | (d _{z²}) ¹ (d _{x²-y²}) ¹ (d _{xz}) ¹ a ₁ a ₁ b ₁ | 0.04 | 7.17 | 1.78 | 2.83 | 1.869 |
| ⁴A₂ | 9.4 (9.5) | 8.2 (8.5) | 9.4 (9.4) | 8.1 (8.4) | (d _{x²-y²}) ¹ (d _{xz}) ¹ (d _{yz}) ¹ a ₁ b ₁ b ₂ | 0.07 | 7.09 | 1.83 | 2.89 | 1.944 |
| ⁴A₁ | 9.6 (9.7) | 8.2 (8.5) | 9.5 (9.6) | 8.2 (8.5) | (d _{xz}) ¹ (d _{yz}) ¹ (d _{xy}) ¹ b ₁ b ₂ a ₂ | 0.07 | 7.09 | 1.84 | 2.90 | 1.944 |
| ⁴B₂ * | 11.5 (10.8) | 6.7 (6.7) | 10.9 (10.9) | 6.1 (6.7) | (d _{z²}) ¹ (d _{x²-y²}) ¹ (d _{yz}) ¹ a ₁ a ₁ b ₂ | 0.05 | 7.08 | 1.86 | 2.94 | 1.916 |
| ⁴A₂ | 16.1 (15.9) | 9.7 (10.3) | 16.1 (15.8) | 9.6 (10.3) | (d _{z²}) ¹ (d _{x²-y²}) ¹ (d _{xy}) ¹ a ₁ a ₁ a ₂ | 0.06 | 7.06 | 1.87 | 2.97 | 1.924 |
| ²A₁ | 35.9 (36.2) | 42.7 (43.1) | 36.4 (36.2) | 42.7 (43.1) | (d _{x²-y²}) ¹ (d _{xz}) ⁰ a ₁ (b ₁) ² | 0.04 | 7.30 | 1.65 | 1.22 | 1.892 |
| ²A₂ | 52.0 (52.0) | 51.9 (53.4) | 52.3 (52.0) | 51.9 (53.4) | (d _{xz}) ⁰ (d _{xy}) ¹ (b ₁) ² a ₂ | 0.05 | 7.35 | 1.60 | 1.29 | 1.942 |

* Mínim de simetria C₁: prové de l'estat ⁴B₂ amb simetria C_{2v}, el qual presenta dues freqüències imaginàries.

Tots dos mètodes permeten l'assignació d'un estat fonamental sense cap ambigüitat, el ⁴B₂. Aquesta assignació es correspon amb la proposada per Trachtman³⁴ et al. i és factible per l'estabilització ben diferenciada dels diversos quartets, ja que en general, els estats estudiats són molt sensibles a l'ocupació d

i, per tant, a la repulsió de Pauli existent amb els electrons de l'aigua. Tot i que l'estat 4B_2 prové d'una barreja ${}^4F - {}^4P$ (a diferència dels 4A_2 i 4A_1 , els quals sí provenen del terme espectral fonamental 4F), esdevé més estable ja que minimitza les repulsions monoocupant l'orbital amb solapament més important, el d_{z^2} , sent el segon i el tercer el d_{xz} i el d_{xy} , de tipus $d\pi$ i $d\delta$, respectivament.

Així com en el sistema $\text{Co(I)}-\text{H}_2\text{O}$ la barreja $d_{z^2} - d_{x^2-y^2}$ i la polarització $d \rightarrow s$ eren determinants en la disminució de les repulsions, per al sistema $\text{Co(II)}-\text{H}_2\text{O}$ no s'observen aquests efectes.

Una vegada més, la magnitud de la repulsió existent en cada estat determina en gran mesura el valor de la distància $\text{Co}-\text{O}$. Així, la completa ocupació de l'orbital d_{xz} i sobretot del d_{z^2} , amb un major solapament amb els orbitals de l'aigua, provoca un allargament d'aquesta distància, podent arribar a 1.944 Å (estats 4A_1 , 4A_1 i 2A_2). D'altra banda, la major atracció electrostàtica en els estats quartets provoca una activació dels enllaços $\text{O}-\text{H}$ de l'aigua superior a la produïda pel Co(I) . Aquesta activació es fa més palesa en els estats doblets perquè a més, té lloc una certa transferència de càrrega de l'oxigen cap al catió (0.40 front a valors entre 0.13 i 0.22 trobats en els quartets). Concretament, aquesta transferència té lloc de l'orbital b_1 de l'aigua cap al d_{xz} del Co(II) . Al mateix temps, existeix una petita oxidació de l'aigua, de l'ordre de l'observada en el complex $\text{Cu(II)}-\text{H}_2\text{O}$.

La Taula 3.2.4 mostra els valors de les magnituds D_e , D_0 , ΔH^0_{298} i ΔG^0_{298} dels quatre estats quartets més estables.

Taula 3.2.4. Energies d'interacció B3LYP/b1 i CCSD(T)/b1 (en kcal mol⁻¹) per al Co(II)-H₂O calculades respecte al terme espectral fonamental ⁴F del Co(II): E(⁴F Co(II)) + E(H₂O) - E(Co(II)-H₂O). Entre parèntesi, els valors obtinguts amb la base 2. Les correccions energètiques D₀, ΔH⁰₂₉₈ i ΔG⁰₂₉₈ realitzades sobre el CCSD(T) corresponen a les obtingudes per a cada magnitud amb el B3LYP, per a cada estat amb la base corresponent.

| | D _e | | D ₀ | | ΔH ⁰ ₂₉₈ | | ΔG ⁰ ₂₉₈ | |
|----------------------------------|----------------|---------|----------------|---------|--------------------------------|---------|--------------------------------|---------|
| | B3LYP | CCSD(T) | B3LYP | CCSD(T) | B3LYP | CCSD(T) | B3LYP | CCSD(T) |
| ⁴B₂ | 101.9 | 92.1 | 100.0 | 90.3 | 101.2 | 91.4 | 93.9 | 84.1 |
| | (100.2) | (91.1) | (98.5) | (89.4) | (99.7) | (90.6) | (92.3) | (83.2) |

Com és d'esperar, la interacció Co(II)-H₂O (D₀=100.0 kcal mol⁻¹) és més forta que l'existent en el Co(I)-H₂O (39.7 kcal mol⁻¹). D'altra banda, les diferències B3LYP-CCSD(T) augmenten significativament en aquests estats respecte les calculades pel Co(I), fins 9.8 kcal mol⁻¹. Aquestes diferències es podrien explicar per la tendència del B3LYP a sobreestimar lleugerament l'estabilitat d'un sistema amb més deslocalització de la densitat d'espín. L'ús d'una base més gran, com la base 2, proporciona resultats molt similars als calculats amb la base 1.

Els valors de ΔH⁰₂₉₈ calculats per a l'estat fonamental ⁴B₂ (101.2 kcal mol⁻¹) s'apropen als publicats, 94.7-96.6 kcal mol⁻¹, el primer valor obtingut amb el mètode MP2(full) i el segon amb el CCSD(T)(full).³⁴ Així, tot i no disposar de dades experimentals pareix que la concordança entre aquests resultats precedents i els nostres aporta una certa garantia al calibratge.

Recapitulant una mica, tot i que la interacció electrostàtica entre el Co(II) i la molècula d'aigua i la minimització de la repulsió de Pauli són fonamentals en aquest sistema, apareix un tercer factor que contribueix a la interacció total, la transferència de càrrega. Si bé en el cas de l'aigua és relativament petita, pot esdevenir més important en la coordinació de lligands més grans i amb més centres donadors, com els aminoàcids i els pèptids.

Dels resultats d'aquest calibratge es desprèn que el B3LYP combinat amb la base 1 pot descriure de manera molt acceptable els sistemes de Co(I) i Co(II). Així, es considera que aquest mètode i aquesta base poden ser emprats en l'estudi de sistemes més grans de Co(I) i Co(II), com els aminoàcids i els pèptids, sistemes centrals d'aquesta tesi.

*Activació dels aminoàcids glicina i lisina i dels seus homopèptids per cations de Cobalt.
Estudis teòrics i d'espectrometria de masses*

BIBLIOGRAFIA

- (1) Hoyau, S.; Ohanessian, G. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 2016.
- (2) Bertran, J.; Branchadell, V.; Moreno, M.; Sodupe, M. *Química Cuántica*; Editorial Síntesis, S. A.: Madrid, 2000.
- (3) Holthausen, M. C.; Koch, W. *A Chemist's Guide to Density Functional Theory*; Wiley-VCH Verlag GmbH, 2001.
- (4) Koch, W.; Holthausen, M. C., Eds. *A Chemists's Guide to Density Functional Theory*, Second ed.; WILEY-VCH Verlag: Weinheim, Federal Republic of Germany, 2001.
- (5) Cizek, J. *J. Chem. Phys.* **1966**, *45*, 4256.
- (6) Raghavachari, K.; Trucks, G. W.; Pople, J. A.; Head-Gordon, M. *Chem. Phys. Letters* **1989**, *157*, 479.
- (7) Becke, A. D. *J. Chem. Phys.* **1993**, *98*, 5648.
- (8) Becke, A. D. *J. Chem. Phys.* **1993**, *98*, 1372.
- (9) Lee, C.; Yang, W.; Parr, R. G. *Phys. Rev. B* **1988**, *37*, 785.
- (10) Holthausen, M. C.; Mohr, M.; Koch, W. *Chem. Phys. Lett.* **1995**, *240*, 245.
- (11) Blomberg, M. R. A.; Siegbahn, P. E. M.; Svensson, M. *J. Chem. Phys.* **1996**, *104*, 9546.
- (12) Rodríguez-Santiago, L.; Sodupe, M.; Branchadell, V. *J. Chem. Phys.* **1996**, *105*, 9966.
- (13) Bauschlicher, C. W.; Ricca, A.; Partridge, H.; Langhoff, S. R. *Recent Advances in Density Functional Theory, Part II*; World Scientific Publishing Co: Singapore, 1997.
- (14) Luna, A.; Alcamí, M.; Mó, O.; Yáñez, M. *Chem. Phys. Lett.* **2000**, *320*, 129.
- (15) Strittmatter, E. F.; Williams, E. R. *Int. J. Mass Spectrom.* **1999**, *185/186/187*, 935.
- (16) Braïda, B.; Hiberty, P. C.; Savin, A. *J. Phys. Chem. A* **1998**, *102*, 7872.
- (17) Sodupe, M.; Bertran, J.; Rodríguez-Santiago, L.; Baerends, E. J. *J. Phys. Chem. A* **1999**, *103*, 166.

- (18) Bertrán, J.; Rodríguez-Santiago, L.; Sodupe, M. *J. Phys. Chem. B* **1999**, *103*, 2310.
- (19) J. Poater; M. Sola; A. Rimola; L. Rodríguez-Santiago; Sodupe, M. *J. Phys. Chem. A* **2004**, *108*, 6072.
- (20) Rablen, P. R.; Lockman, J. W.; L., J. W. *J. Phys. Chem. A* **1998**, *102*, 3782.
- (21) Raghavachari, K. T., G. W.; Pople, J. A.; Head-Gordon, M. *Chem. Phys. Lett.* **1989**, *157*, 479.
- (22) Wachters, A. J. H. *J. Chem. Phys.* **1970**, *52*, 1033.
- (23) Weinhold, F.; Carpenter, J. E. *The Structure of Small Molecules and Ions*; Plenum: New York, 1988.
- (24) Frisch, M. J.; Trucks, G. W.; Schlegel, H. B.; Scuseria, G. E.; Robb, M. A.; Cheeseman, J. R.; Zakrzewski, V. G.; Montgomery, J., J. A.; Stratmann, R. E.; Burant, J. C.; Dapprich, S.; Millam, J. M.; Daniels, A. D.; Kudin, K. N.; Strain, M. C.; Farkas, O.; Tomasi, J.; Barone, V.; Cossi, M.; Cammi, R.; Mennucci, B.; Pomelli, C.; Adamo, C.; Clifford, S.; Ochterski, J.; Petersson, G. A.; Ayala, P. Y.; Cui, Q.; Morokuma, K.; Malick, D. K.; Rabuck, A. D.; Raghavachari, K.; Foresman, J. B.; Cioslowski, J.; Ortiz, J. V.; Baboul, A. G.; Stefanov, B. B.; Liu, G.; Liashenko, A.; Piskorz, P.; Komaromi, I.; Gomperts, R.; Martin, R. L.; Fox, D. J.; Keith, T.; Al-Laham, M. A.; Peng, C. Y.; Nanayakkara, A.; Challacombe, M.; Gill, P. M. W.; Johnson, B.; Chen, W.; Wong, M. W.; Andres, J. L.; Gonzalez, C.; Head-Gordon, M.; Replogle, E. S.; and Pople, J. A.; Gaussian 98, Gaussian, Inc.: Pittsburg PA, 1998.
- (25) Frisch, M. J.; Trucks, G. W.; Schlegel, H. B.; Scuseria, G. E.; Robb, M. A.; Cheesman, J. R.; Montgomery, J. A.; Vreven, T.; Kudin, K. N.; Burant, J. C.; Millam, J. M.; Iyengar, S. S.; Tomasi, J.; Barone, V.; Mennucci, B.; Cossi, M.; Scalmani, G.; Rega, N.; Petersson, G. A.; Nakatsuji, H.; Hada, M.; Ehara, M.; Toyota, K.; Fukuda, R.; Hasegawa, J.; Ishida, M.; Nakajima, T.; Honda, Y.; Kitao, O.; Nakai, H.; Klene, M.; Li, X.; Knox, J. E.; Hratchian, H. P.; Cross, J. B.; Adamo, C.; Jaramillo, J.; Gomperts, R.; Stratmann, R. E.; Yazyev, O.; Austin, A. J.; Cammi, R.; Pomelli, C.; Ochterski, J. W.; Ayala, P. Y.; Morokuma, K.; Voth, G. A.; Salvador, P.; Dannenberg, J. J.; Zakrzewski, V. G.; Dapprich, S.; Daniels, A. D.; Strain, M. C.; Farkas, O.; Malick, D. K.; Rabuck, A. D.; Raghavachari, K.; Foresman, J. B.; Ortiz, J. V.; Cui, Q.; Baboul, A. G.; Clifford, S.; Cioslowski, J.; Stefanov, B. B.; Liu, G.; Liashenko, A.; Piskorz, P.; Komaromi, I.; Martin, R. L.; Fox, D. J.; Keith, T.; Al-Laham, M. A.; Peng, C. Y.; Nanayakkara, A.; Challacombe, M.; Gill, P. M. W.; Johnson, B.; Chen, W.; Wong, M. W.; Gonzalez, C.; Pople, J. A.; Gaussian Inc.: Wallingford CT, 2004.
- (26) Mohamadi, F.; Richards, N. G. J.; Guida, W. C.; Liskamp, R.; Lipton, M.; Caufield, C.; Chang, G.; Hendrickson, T.; Still, W. C. *J. Comput. Chem.* **1990**, *11*, 440.

- (27) Saunders, M.; Houk, K. N.; Wu, Y. D.; Still, W. C.; Lipton, M. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 1419.
- (28) Weiner, S. J.; Kollman, P. A.; Case, D. A.; Singh, U. C.; Ghio, C.; Alagona, G.; Profeta Jr., S.; Weiner, P. *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 765.
- (29) Weiner, S. J.; Kollman, P. A.; Nguyen, D. T.; Case, D. A. *J. Comput. Chem.* **1986**, *7*, 230.
- (30) NIST.
- (31) Irigoras, A.; Elizalde, O.; Silanes, I.; Fowler, J. E.; Ugalde, J. M. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 114.
- (32) Rosi, M.; Bauschlicher, J., C. W. *J. Chem. Phys.* **1989**, *90*, 7264.
- (33) Rosi, M.; Bauschlicher, J., C. W. *J. Chem. Phys.* **1989**, *92*, 1876.
- (34) Trachtman, M.; Markham, G. D.; Glusker, J. P.; George, P.; Bock, C. W. *Inorg. Chem.* **1998**, *37*, 4421.
- (35) Nakao, Y.; Hirao, K.; Taketsugu, T. *J. Chem. Phys.* **2001**, *114*, 5216.
- (36) Magnera, T. F.; David, D. E.; Stulik, D.; Orth, R. G.; Jonkman, H. T.; Michl, J. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 5036.
- (37) Marinelli, P. J.; Squires, R. R. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 4101.
- (38) Dalleska, N. F.; Honma, K.; Sunderlin, L. S.; Armentrout, P. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 3519.
- (39) Jensen, F. *Introduction to Computational Chemistry*, John Wiley & Sons Ltd.: Chichester, UK, 2002.
- (40) Dongré, A. R.; Jones, J. L.; Somogyi, A.; Wysocki, V. H. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 8365.
- (41) Nold, M. J.; Wesdemiotis, C.; Yalcin, T.; Harrison, A. G. *Int. J. Mass Spectrom. and Ion Processes* **1997**, *164*, 137.
- (42) Kish, M. M.; Wesdemiotis, C. *Int. J. Mass Spectr.* **2003**, *227*, 191.

- (43) Russell, D. H.; McGlohon, E. S.; Mallis, L. M. *Anal. Chem.* **1988**, *60*, 1818.
- (44) Mallis, L. M.; Russell, D. H. *Anal. Chem.* **1986**, *58*, 1076.
- (45) Hu, P.; Loo, J. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 11314.
- (46) Biemann, K. *Methods in Enzymology* **1990**, *193*, 455.
- (47) Roepstorff, P.; Fohlman, J. *Biomed. Mass Spectrom.* **1984**, *11*, 601.
- (48) De Hoffmann, E.; Charette, J.; Stroobant, V. *Mass Spectrometry. Principles and applications*; Masson: Paris, 2000.
- (49) Biemann, K.; Martin, S. A. *Mass Spectrom. Rev.* **1987**, *6*, 1.
- (50) Yamashita, M.; Fenn, J. B. *J. Chem. Phys.* **1984**, *80*, 4451.
- (51) Schwartz, R. N.; Slawsky, Z. I.; Herzfeld, K. F. *J. Chem. Phys.* **1952**, *20*, 1591.

RESULTATS I DISCUSSIÓ

4. ELS CATIONS DE COBALT I ELS AMINOÀCIDS

4.1. LA GLICINA

Recordant el paper dels cations de cobalt en el món biològic i en la seqüenciació de pèptids, resulta clara la major importància del catió Co(II) front al Co(I). Així, si el sistema Co(II)-glicina pot semblar més interessant a l'hora d'estudiar-lo mitjançant espectrometria de masses^a és convenient iniciar l'estudi d'aquests complexos amb el tractament de la interacció Co(I)-glicina, ja que els efectes de polarització o de transferència de càrrega són menors.

4.1.1. Co(I)-GLICINA

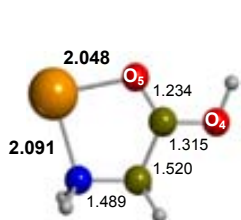
^a Amb el tipus d'ionització emprada en els experiments d'espectrometria de masses descrita a l'apartat de Metodologia es poden estudiar complexos amb cations divalents, però no amb monovalents com el Co(I).

Anàlogament al treball de calibratge efectuat en el capítol de Metodologia, s'ha considerat important l'estudi, no sols dels triplets ($M_S=1$), sinó també dels quintuplets ($M_S=2$) i singlets a capa tancada ($M_S=0$). Aquest estudi permet establir el paper de la coordinació d'un lligand més gran i amb més centres donadors com és la glicina en l'estabilització de les diferents multiplicitats d'espín i determinar si varia l'estabilitat relativa d'un mode de coordinació determinat en funció de la multiplicitat d'espín del catió.

Tot i que la forma zwitteriònica de la glicina no existeix en fase gas,¹⁻⁴ la interacció amb cations permet estabilitzar-la, en alguns casos arribant a ser la forma més estable.⁵⁻²¹ Per aquest motiu, no sols s'ha considerat la interacció del cobalt amb els tres centres donadors de la glicina neutra, sinó també amb el grup carboxilat del zwitterió. L'elecció de les coordinacions estudiades s'ha efectuat tenint en compte estudis previs trobats a la literatura, els quals evidencien que es tracta dels modes més favorables, per maximitzar la interacció catió-glicina.^{5,7,9-11,13-15,18,22-24} Els complexos resultants, en llur estat electrònic més estable (per a una multiplicitat d'espín donada) es mostren en la Figura 4.1.1. La nomenclatura emprada per a aquests compostos és de tipus **CoGn_A**, on **Co** i **G** fan referència al metall i a l'aminoàcid, **n** a un número assignat segons l'ordenació dels triplets i **A** a la multiplicitat d'espín: T (triplet), S (singlet) i Qn (quintuplet); la lletra **a** d'algunes coordinacions indica l'establiment d'una única interacció d'H entre el NH_3^+ i el CO_2^- de l'aminoàcid i la lletra **m**, una coordinació de tipus monodentada. Concretament, en les coordinacions **CoG1**, **CoG2** i **CoG3**, el catió interacciona simultàniament amb els grups amino i carboxílic, amb l'O carbonílic (O_C) en les dues primeres i amb l'O hidroxílic (O_H) en la darrera. La **CoG4a** correspon a una estructura bidentada on la interacció té lloc amb el grup carboxilat de la glicina zwitteriònica. Finalment, l'estructura **CoG5m** és de tipus monodentada amb el grup carboxílic.

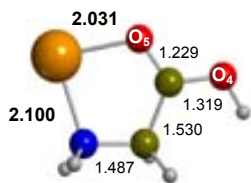
La interacció del cobalt i la glicina resulta en complexos amb simetria C_1 quan el grup amino es coordina al cobalt i en complexos de tipus C_s quan la coordinació té lloc únicament a través dels oxígens. Per a aquestes darreres estructures s'han calculat els estats triplet i singlet més baixos en energia pertanyents a les dues simetries, A' i a A''.

a) Estats triplets



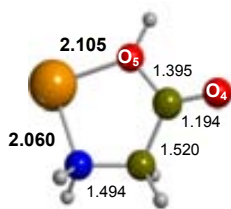
CoG1_T (3A)

0.0 (0.0)



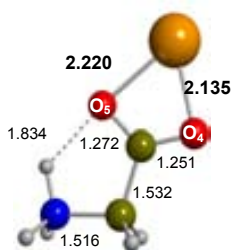
CoG2_T (3A)

6.3 (5.6)



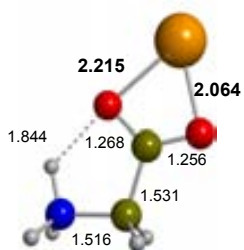
CoG3_T (3A)

11.1 (11.4)



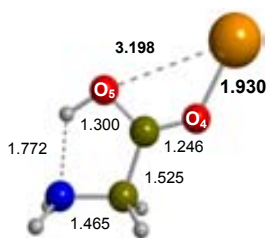
CoG4a_T ($^3A'$)

11.7 (11.8)



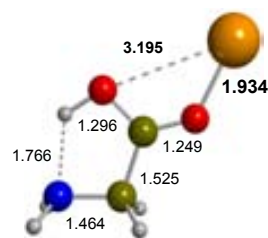
CoG4a_T ($^3A''$)

12.1 (12.2)



CoG5m_T ($^3A'$)

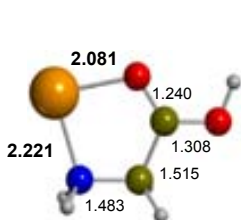
13.4 (13.5)



CoG5m_T ($^3A''$)

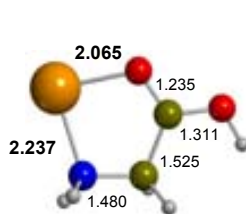
14.4 (14.5)

b) Estats quintuplets



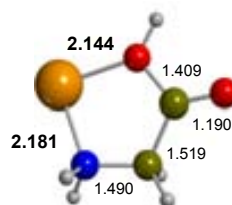
CoG1_Qn (⁵A)

17.9 (17.9)



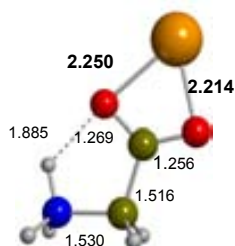
CoG2_Qn (⁵A)

24.2 (23.4)



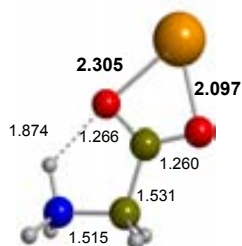
CoG3_Qn (⁵A)

30.8 (31.2)



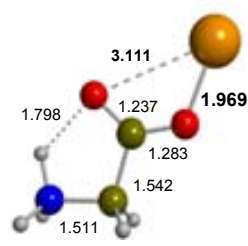
CoG4a_Qn (⁵A'')

23.5 (23.6)



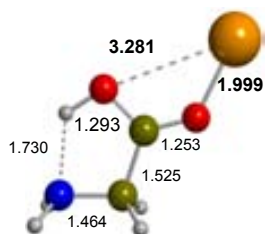
CoG4a_Qn (⁵A')

25.4 (25.5)



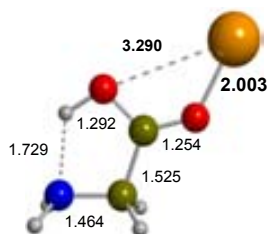
CoG4m_Qn (⁵A')

25.0 (25.0)



CoG5m_Qn (⁵A'')

27.5 (27.7)



CoG5m_Qn (⁵A')

28.5 (28.6)

c) Estats singlets

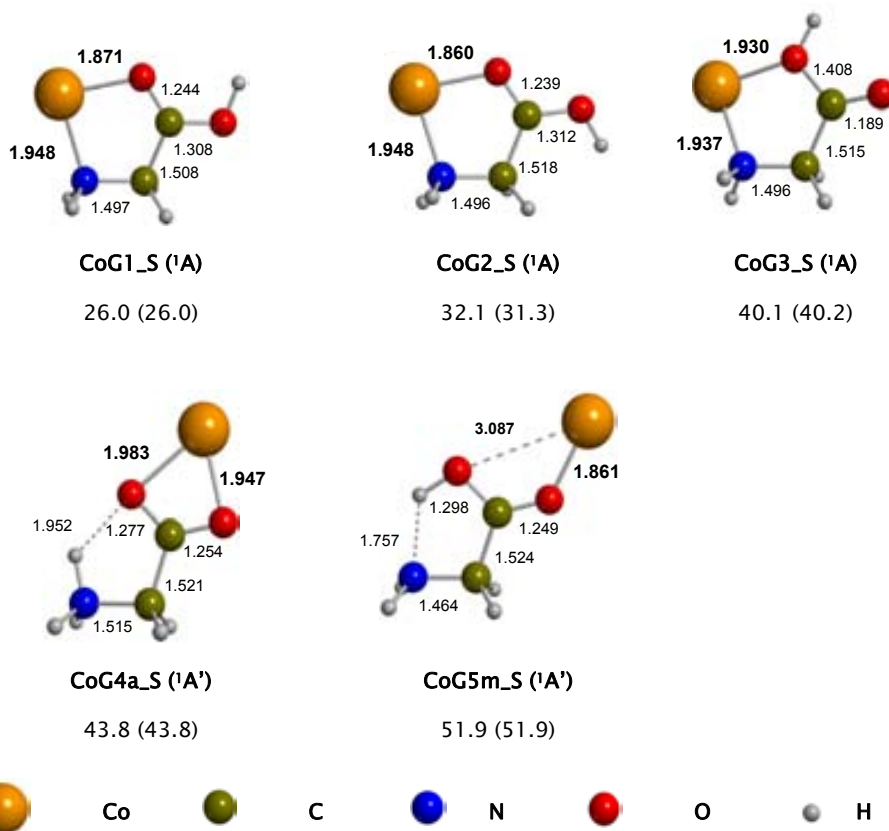


Figura 4.1.1. Distàncies (Å) B3LYP/b1 de les estructures estudiades: a) triplets, b) quintuplets, c) singlets. Per a cada coordinació s'indica l'estat electrònic més estable així com l'energia relativa a la coordinació més estable (**CoG1_T**) amb correcció de punt zero calculada amb el B3LYP i la base1 (base 2 entre parèntesi). Aquestes energies contenen la correcció efectuada per al catió despulat en l'apartat de calibratge.

Lògicament, la interacció de la glicina amb el catió metàl·lic origina una lleugera activació dels enllaços del lligand, més pronunciada en els enllaços adjacents a la coordinació metàl·lica. Per a un mateix complex, els paràmetres geomètrics de la glicina no varien considerablement d'un estat d'espín a un altre. En general té lloc un allargament de la distància C-N (1.448 Å en la conformació més estable de la glicina) així com de l'enllaç C-O_C ($d_{O-C \text{ glicina}} = 1.213 \text{ Å}$); allargaments ocasionats per la polarització de la densitat electrònica σ . Contràriament, l'enllaç C-O_H

($d_{\text{C-OH glicina}} = 1.356 \text{ \AA}$) esdevé més curt (el motiu podria ser la polarització de la densitat electrònica π originada en el grup carboxílic com a conseqüència de la interacció de la glicina amb el catió). En quant a la distància C-C, varia poc, escurçant-se lleugerament (amb l'excepció d'algun complex concret, on s'allarga). Les variacions més importants entre els diferents estats d'espín s'observen en les distàncies metall-ligand. Comparant les distàncies metall-ligand per a una mateixa coordinació s'observa que els singlets presenten interaccions més fortes amb el cobalt, mentre que la coordinació es veu més afeblida en els quintuplets, ja que l'ocupació de l'orbital 4s provoca un augment de la repulsió M-L, reflectida en un allargament de les distàncies M-L; contràriament, la disminució de les repulsions M-L en el singlet (veure més endavant) per desocupació de l'orbital d del Co que presenta un major solapament amb els orbitals de la glicina comporta una disminució d'aquestes distàncies respecte els triplets.

Els valors d'aquestes distàncies en les estructures amb coordinació N,O mostren que la interacció és lleugerament més important amb l'O que amb el N: la distància Co-O oscil·la entre 1.860 i 2.144 Å, mentre que la distància Co-N es troba entre 1.937 i 2.237 Å. En el cas dels complexos amb la glicina zwitteriònica l'establiment d'una interacció d'H entre l'O₅ i el grup amino provoca un allargament de la interacció Co-O₅, repercutint en una coordinació del catió al CO₂⁻ no perfectament simètrica. En les estructures monodentades, la interacció amb un sol O (del grup carboxil) porta a un enfortiment de la interacció Co-O i doncs a valors més petits per a aquesta distància que els trobats en el mode de coordinació anterior: 1.861 – 2.003 Å. En aquestes estructures, la formació d'una interacció d'hidrogen N ··· HO₅ ajuda a estabilitzar-les.

Taula 4.1.1. Energies relatives B3LYP/b1 amb correcció de punt zero (en kcal mol⁻¹) dels complexos Co(I)-glicina estudiats (entre parèntesi, energies relatives dins dels estats quintuplet i singlet). Càrrega, espín i poblacions NPA 4s i 3d del cobalt. Les energies relatives dels quintuplets i singlets contenen la correcció experimental efectuada per al catió despullat. O_C, O_H fan referència a l'O carbonílic i hidroxílic respectivament.

| estructura | coordinació | estat | energia relativa | població del Co | | q Co (1.00) | s Co (2.00) |
|------------|------------------|------------------|------------------|-----------------|------|----------------|----------------|
| | | | | 4s | 3d | | |
| CoG1_T | N,O _C | ³ A | 0.0 | 0.11 | 8.01 | 0.87 | 1.95 |
| CoG2_T | N,O _C | ³ A | 6.3 | 0.11 | 8.01 | 0.88 | 1.95 |
| CoG3_T | N,O _H | ³ A | 11.1 | 0.11 | 8.01 | 0.87 | 1.95 |
| CoG4a_T | O,O ⁻ | ³ A' | 11.7 | 0.11 | 8.00 | 0.88 | 1.98 |
| | | ³ A'' | 12.1 | 0.19 | 7.94 | 0.86 | 1.96 |
| CoG5m_T | O _C | ³ A' | 13.4 | 0.12 | 7.96 | 0.92 | 1.99 |
| | | ³ A'' | 14.4 | 0.22 | 7.87 | 0.90 | 1.99 |
| CoG1_Qn | N,O _C | ⁵ A | 17.9 (0.0) | 1.02 | 7.10 | 0.84 | 3.88 |
| CoG4a_Qn | O,O ⁻ | ⁵ A'' | 23.5 (5.6) | 1.03 | 7.10 | 0.83 | 3.82 |
| CoG2_Qn | N,O _C | ⁵ A | 24.2 (6.3) | 1.02 | 7.10 | 0.84 | 3.88 |
| CoG4m_Qn | O ⁻ | ⁵ A'' | 25.0 (7.1) | 1.01 | 7.09 | 0.86 | 3.89 |
| CoG4a_Qn | O,O ⁻ | ⁵ A' | 25.4 (7.5) | 1.05 | 7.08 | 0.84 | 3.83 |
| CoG5m_Qn | O _C | ⁵ A'' | 27.5 (9.6) | 1.01 | 7.07 | 0.89 | 3.90 |
| | | ⁵ A' | 28.5 (10.6) | 1.01 | 7.07 | 0.89 | 3.91 |
| CoG3_Qn | N,O _H | ⁵ A | 30.8 (12.9) | 1.04 | 7.08 | 0.84 | 3.89 |
| CoG1_S | N,O _C | ¹ A | 26.0 (0.0) | 0.29 | 8.02 | 0.69 | 0.00 |
| CoG2_S | N,O _C | ¹ A | 32.1 (6.1) | 0.28 | 8.02 | 0.69 | 0.00 |
| CoG3_S | N,O _H | ¹ A | 40.1 (14.1) | 0.27 | 8.04 | 0.70 | 0.00 |
| CoG4a_S | O,O ⁻ | ¹ A' | 43.8 (17.8) | 0.26 | 8.01 | 0.72 | 0.00 |
| CoG5m_S | O _C | ¹ A' | 51.9 (25.9) | 0.04 | 8.10 | 0.86 | 0.00 |

Les estabilitats relatives de les diferents coordinacions trobades per als triplets, quintuplets i singlets es presenten en la Taula 4.1.1. Donada la gran semblança entre els resultats proporcionats per ambdues bases, la discussió es realitzarà amb la base 1.

Les tres multiplicitats d'espín del cobalt coincideixen a estabilitzar de manera preferent la coordinació **CoG1**, on el catió s'uneix al N i a l'O carbonílic (O_C); les segones més estabilitzades són la coordinació **CoG2** (similar a la **CoG1** amb l'H carboxílic en *syn*) per al triplet i singlet, mentre que per al quintuplet és la **CoG4a** (⁵A"), on el catió interacciona amb el CO₂⁻ de la glicina zwitteriònica. Aquestes estructures apareixen a 6.3 kcal mol⁻¹, 6.1 kcal mol⁻¹ i 5.6 kcal mol⁻¹, respectivament. A partir d'aquest segon complex més estable, la diferència energètica entre les següents coordinacions disminueix. L'afavoriment de la coordinació **CoG1** ja ha estat observada per als cations monovalents de metalls de transició estudiats anteriorment, Cu(I), Ni(I), Ag(I) i Au(I).^{6,14,23,24} En el cas concret del Cu(I), Hoyau i Ohanessian recorren a les energies d'enllaç de complexos petits com Cu(I)-NH₃, Cu(I)-H₂O i Cu(I)-H₂CO per explicar els motius pels quals, en un gran nombre de conformacions, el Cu(I) interacciona amb el grup amino. La raó, la major afinitat d'aquest catió pel NH₃.^{23,25}

Per a cada coordinació l'estabilitat relativa dels estats electrònics estudiats segueix el mateix ordre trobat en el catió metàl·lic: triplet > quintuplet > singlet. Tot i això, per a una coordinació donada, la diferència quintuplet-triplet augmenta entre 1.6 i 9.9 kcal mol⁻¹ respecte a l'obtinguda per al catió despullat (9.9 kcal mol⁻¹), per l'augment de la repulsió metall-ligand, tal i com succeeix en el complex Co(I)-H₂O. Contràriament, la diferència singlet-triplet disminueix considerablement des de 52.8 kcal mol⁻¹ fins a 25.8 - 38.5 kcal mol⁻¹ (depenent de la coordinació). Aquesta disminució es deu a dos fets: d'una banda, la menor repulsió metall-ligand existent en els singlets; d'una altra, la major transferència de càrrega del ligand cap al Co ¹G. De fet, mentre en els triplets i quintuplets la

càrrega del sistema es troba sobre el Co (0.83–0.92), la càrrega sobre aquest àtom en les estructures singlet bidentades és de 0.69–0.72, evidenciant una significativa transferència de càrrega entre el lligand i el catió.

Amb la finalitat d'entendre millor la interacció entre el cobalt i la glicina s'ha realitzat una anàlisi energètica que considera dos tipus de contribucions: l'energia de deformació de l'aminoàcid necessària per donar un complex determinat (factor desestabilitzant) i l'energia electrostàtica i de polarització entre el catió i l'aminoàcid deformat (factor estabilitzant), considerant la interacció d'aquest amb una càrrega puntual +1. Els resultats obtinguts es presenten en la Taula 4.1.2. Tenint en compte únicament les dues contribucions analitzades s'aconsegueixen explicar bastant acceptablement les energies relatives dins de cada multiplicitat d'espín, evidenciant que la interacció en aquest tipus de sistema és fonamentalment un balanç entre l'energia de deformació i l'energia electrostàtica posades en joc en la complexació de la glicina. Així, la coordinació **CoG1** (N,O_c) compensa la menor interacció electrostàtica (respecte l'existent en els complexos derivats de la forma zwitteriònica) amb el baix cost de deformació de la glicina requerit en la complexació del catió, esdevenint llavors la coordinació més estabilitzada per a cada multiplicitat. Les petites discrepàncies que es pugen trobar (com les trobades per a la conformació bidentada **CoG4a** en triplets i quintuplets) es poden entendre tenint en compte que el model escollit considera una càrrega, no un catió amb uns orbitals donats. Així, caldria tindre en compte altres factors com la repulsió de Pauli i la transferència de càrrega del lligand cap al catió existents en aquests sistemes. En general però, aquests dos darrers factors es mantenen bastant constants dins d'una mateixa multiplicitat d'espín.

Taula 4.1.2. Descomposició energètica B3LYP/b1 de la interacció Co–glicina en dos factors, energia de deformació (E_{def}) i energia electrostàtica i de polarització (E_{el+pol}), en kcal mol⁻¹. S'indica l'energia relativa de la interacció d'una càrrega puntual amb la glicina (ΔE_{q+-G}) i l'energia electrònica relativa de cada conformació del sistema Co(I)–glicina (ΔE_{Co+-G}).

| coordinació | | | E_{def} | $E_{(el+pol)}$ | ΔE_{q+-G} (ΔE_{Co+-G}) |
|-------------|------------------|------------------|-----------|----------------|--|
| CoG1_T | N,Oc | ³ A | 7.5 | -87.9 | 0.0 (0.0) |
| CoG2_T | N,Oc | ³ A | 14.2 | -87.7 | 6.9 (6.5) |
| CoG3_T | N,O _H | ³ A | 6.2 | -75.9 | 10.7 (11.3) |
| CoG4a_T | O,O ⁻ | ³ A' | 24.3 | -89.5 | 15.2 (11.8) |
| | | ³ A'' | 24.5 | -90.5 | 14.4 (12.2) |
| CoG5m_T | Oc | ³ A' | 3.0 | -67.6 | 15.8 (14.3) |
| | | ³ A'' | 3.3 | -67.8 | 15.9 (15.4) |
| CoG1_Qn | N,Oc | ⁵ A | 8.5 | -81.2 | 0.0 (0.0) |
| CoG4a_Qn | O,O ⁻ | ⁵ A'' | 25.9 | -88.5 | 10.1 (5.5) |
| CoG2_Qn | N,Oc | ⁵ A | 15.3 | -81.1 | 6.9 (6.5) |
| CoG4m_Qn | O ⁻ | ⁵ A'' | 23.7 | -87.2 | 9.2 (7.2) |
| CoG4a_Qn | O,O ⁻ | ⁵ A' | 25.4 | -87.8 | 10.3 (7.6) |
| CoG5m_Qn | Oc | ⁵ A'' | 4.1 | -64.3 | 12.5 (10.6) |
| | | ⁵ A' | 4.2 | -64.1 | 12.8 (11.6) |
| CoG3_Qn | N,O _H | ⁵ A | 7.7 | -69.3 | 11.1 (13.3) |
| CoG1_S | N,Oc | ¹ A | 9.9 | -102.8 | 0.0 (0.0) |
| CoG2_S | N,Oc | ¹ A | 16.8 | -102.9 | 6.8 (6.2) |
| CoG3_S | N,O _H | ¹ A | 8.6 | -88.3 | 13.2 (14.4) |
| CoG4a_S | O,O ⁻ | ¹ A' | 29.2 | -104.9 | 17.2 (17.8) |
| CoG5m_S | Oc | ¹ A' | 3.5 | -72.7 | 23.7 (27.0) |

Per la coordinació més estable, en l'estat fonamental triplet, **CoG1_T**, l'energia d'interacció B3LYP es presenta en la Taula 4.1.3. A més, aquesta magnitud s'ha avaluat amb el funcional BHandHLYP (ja que proporciona bons resultats en sistemes amb deslocalització de càrrega, com és el cas dels sistemes amb Co(II), analitzats posteriorment) i amb el mètode post-HF CCSD(T). Per enriquir aquesta comparativa d'energies d'interacció en la taula també es presenten els valors publicats per al Cu(I) (d¹⁰), Ni(I) (d⁹) i Ag(I) (d¹⁰), els quals també estableixen preferentment aquesta coordinació bidentada a través del N i de l'O_c. En el cas de l'estructura **CoG1_T**, el B3LYP reproduïx acceptablement l'energia d'interacció obtinguda amb el mètode CCSD(T). Aquesta energia d'interacció B3LYP, 75.1 kcal mol⁻¹, és molt similar a la trobada per al Cu(I)-glicina, 75.2 kcal mol⁻¹ i inferior a la calculada per al Ni(I)-glicina, 84.6 kcal mol⁻¹.

Taula 4.1.3. Energies d'interacció B3LYP/b1 (kcal mol⁻¹) calculades per a la coordinació **CoG1** en l'estat fonamental, triplet. Entre parèntesi, valors B3LYP/b2. La magnitud D₀ CCSD(T) s'ha determinat a partir del valor CCSD(T) i les freqüències harmòniques B3LYP. Les magnituds ΔH⁰₂₉₈ i ΔG⁰₂₉₈ amb CCSD(T) contenen les respectives correccions tèrmiques determinades a nivell B3LYP i la base corresponent. S'inclouen també els valors d'energia d'interacció corresponents a aquesta complexació publicades per al Ni(I), el Cu(I) i el catió Ag(I).

| | | Co(I) | Ni(I) ²⁴ | Cu(I) ⁶ | Ag(I) ¹⁴ |
|--------------------------------|------------------|----------------|---------------------|--------------------------|--------------------------|
| | | ³ A | ² A | ¹ A | ¹ A |
| D _e | B3LYP | 75.1 (74.2) | 84.6 | 75.2 | |
| | BHandHLYP | 69.7 (68.8) | | | |
| | CCSD(T) | 71.5 (72.4) | | 67.1 | |
| D ₀ | B3LYP | 73.1 (72.2) | | | |
| | CCSD(T) | 69.5 (70.4) | | 66.2 | |
| ΔH ⁰ ₂₉₈ | B3LYP | 73.9 (73.0) | | 70.5, 68.6 ²⁶ | 49.3, 48.1 ²⁶ |
| | CCSD(T) | 70.3 (71.2) | | 66.9 | |
| ΔG ⁰ ₂₉₈ | B3LYP | 64.9 (64.3) | | | 40.7 |
| | CCSD(T) | 61.4 (62.5) | | 58.7 | |

Aquesta tendència anterior es troba relacionada amb les variacions dels valors de les distàncies metall-ligand. Tenint en compte la variació del radi iònic, $r_{\text{Cu(I)}} < r_{\text{Ni(I)}} < r_{\text{Co(I)}}$, caldria esperar l'ordre $d_{\text{Cu(I)-L}} < d_{\text{Ni(I)-L}} < d_{\text{Co(I)-L}}$. Considerant les distàncies M-O i M-N observades en els tres complexos però, la tendència es compleix per al Ni(I) (d^9) i el Co(I) (d^8) però s'inverteix per al Cu(I) (d^{10}), el qual presenta les distàncies més llargues: Ni(I) (1.981; 2.018 Å),²⁴ Co(I) (2.048; 2.091 Å), Cu(I) (2.057; 2.050 Å).⁶ Aquesta variació en les distàncies metall-ligand respon a un balanç entre el radi iònic i la repulsió de Pauli. Així, en el sistema Cu(I)-glicina té lloc un augment de les repulsions metall-glicina com a conseqüència, no sols de tancar la subcapa d, sinó d'ocupar completament l'orbital més repulsiu en aquest tipus de sistemes M-glicina (*cf.* Figura 4.1.2). Aquest augment de la repulsió M-L condueix a distàncies M-L més llargues del que caldria esperar i doncs, a energies d'interacció menors. En quant al complex Ag(I)-glicina, tot i no disposar de dades estructurals, cal esperar un allargament de les distàncies M-O i M-N de la coordinació més estable, la **CoG1**, en relació al Co(I), Cu(I) i Ni(I), donat que pertany a la segona sèrie de transició ($r_{\text{Ag(I)}} = 113 \text{ pm}$). Aquest allargament es reflectiria en la disminució de la interacció plata-glicina, tal i com es mostra en la Taula 4.1.3.

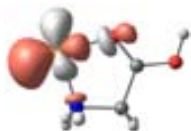


Figura 4.1.2. Orbital més repulsiu amb contribució d del catió metàl·lic trobat en les coordinacions bidentades dels sistemes M-glicina.

4.1.2. Co(II)-GLICINA

En fase gas, en experiments d'espectrometria de masses amb electrospray (ESI), no s'evidencia l'existència del complex $[\text{Co,glicina}]^{2+}$. Malgrat tot, s'observen

adductes del tipus $[\text{Co}(\text{glicina})_2]^{2+}$, $[\text{Co}(\text{glicina-H})(\text{glicina})]^+$ i altres complexos de cobalt i glicina amb molècules de dissolvent (H_2O i CH_3OH).

Tot i això, com s'ha comentat abans, la glicina suposa un bon punt de partida per a un estudi teòric de la interacció d'aminoàcids amb cations dipositius de capa oberta com és el Co(II) , amb una configuració electrònica d^7 . Malgrat el gran interès posat en els estats quartets i dobles derivats d'aquesta configuració, les dificultats trobades han permès únicament l'estudi dels primers: amb la metodologia emprada no ha estat possible aconseguir un estat doblet pur, ja que el valor de S^2 és tan elevat que fa pensar en el fort caràcter multireferencial d'aquests estats. Tot i això, els dobles es troben molt més alts en energia (com s'observa en el sistema $\text{Co(II)}-\text{H}_2\text{O}$ de l'apartat de Metodologia) i no s'espera que participen en els experiments d'espectrometria de masses.

L'estudi s'ha realitzat seguint les pautes metodològiques establertes en l'apartat anterior, estudiant-se les mateixes coordinacions del catió amb la glicina. A més de l'estat fonamental, en aquelles coordinacions en les que existeixen estats electrònics de diferent simetria, A^1 i $A^{1,b}$ s'ha estudiat l'estat més estable per a cadascuna d'elles. Per al complex **CoG4b_Q**, la lletra **b** fa referència a una interacció d'H entre el grup NH_3^+ i el CO_2^- de tipus bifurcat. Les geometries dels complexos resultants es presenten en la Figura 4.1.3.

Fins a aquest punt, l'estudi d'aquests complexos podria semblar tediós i potser repetitiu. No obstant, els resultats obtinguts posen de manifest un comportament coordinatiu bastant diferent i molt més interessant químicament del Co(II) (d^7) respecte al Co(I) (d^8). Aquest diferent comportament de l'estat +1 i +2 d'un mateix metall ja havia estat observat amb anterioritat en els sistemes $\text{Cu(I)}/\text{Cu(II)}$ -glicina.⁶

^b Estructures on el NH_2 no participa en la coordinació metàl·lica.

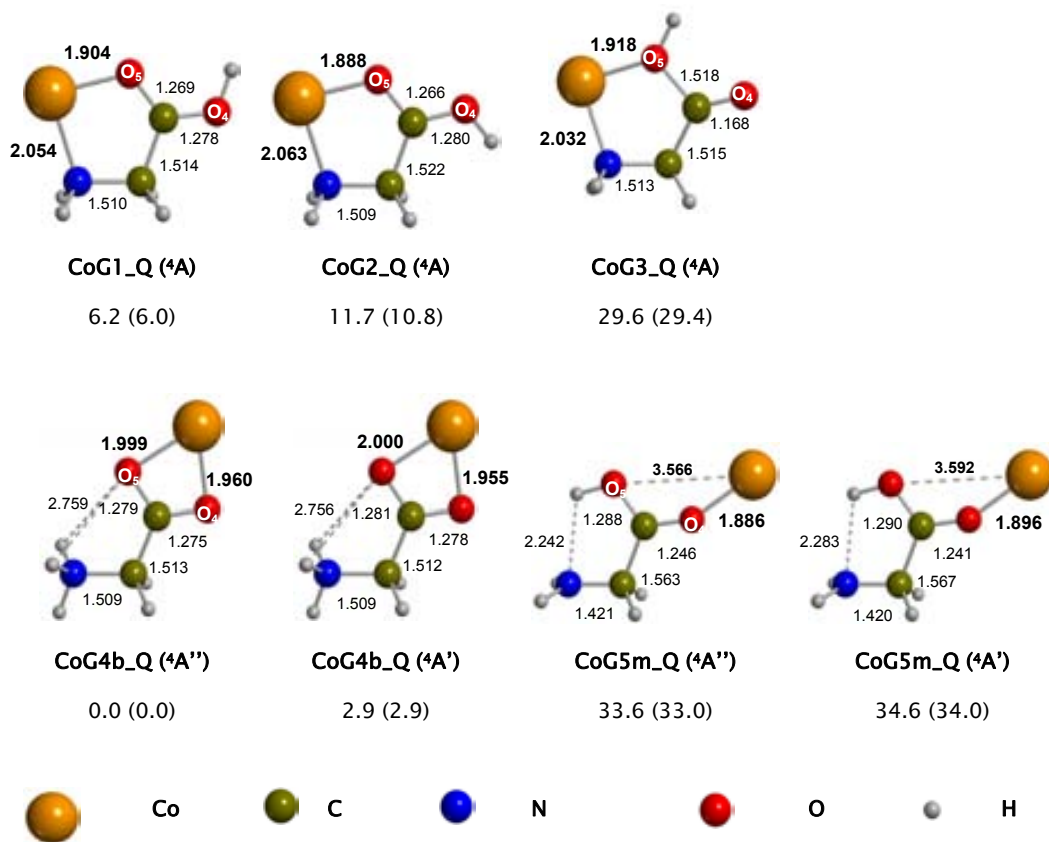


Figura 4.1.3. Distàncies B3LYP/b1 (Å) de les estructures estudiades per al sistema Co(II)-glicina en estat quartet. Per a cada coordinació s'indica l'energia relativa amb correcció de punt zero calculada amb el B3LYP i la base1 (base 2 entre parèntesi).

El menor radi iònic del Co(II) respecte el del Co(I) ³F i el fet de ser divalent determina en gran mesura les distàncies metall-glicina, que repercuteixen al seu torn en la resta de paràmetres geomètrics dels complexos resultants i en la magnitud de l'enllaç metall-ligand. En aquest sentit no és inversemblant observar distàncies Co-O (c) i Co-N inferiors a les presentades pels estats triplets de l'apartat anterior (*cf.* Figura 4.1.1), indicant una major interacció del Co(II) amb la glicina així com una activació més acusada dels enllaços adjacents. L'activació generalitzada de les coordinacions estudiades arriba al seu punt màxim en el

^c En general, a distància C=O augmenta quan la interacció M-L és de tipus Co-O_C, però disminueix quan és de tipus Co-O_H.

gran allargament de la distància C-O₅ (1.518 Å) observat en el complex **CoG3_Q**: 0.162 Å respecte la glicina neutra ($d_{\text{C-O}_5 \text{ glicina}} = 1.356 \text{ \AA}$). Aquest allargament de la distància C-O₅ també té lloc en el sistema Zn(II)-glicina, ~ 0.143 Å.⁹

En les conformacions derivades del zwitterió la coordinació del Co(II) al CO₂⁻ esdevé més simètrica. Aquest fet ve determinat per dos factors: a) l'increment de la interacció electrostàtica del Co(II) amb la glicina i b) l'allargament de la interacció d'H entre el grup amino i l'O₅, conseqüència de la disminució de la basicitat d'aquest àtom (pèrdua de densitat electrònica) ocasionada per una certa oxidació de l'aminoàcid (l'espín sobre els àtoms d'O pren valors entre 0.11 i 0.14).^d Anàlogament, tot i que la interacció més forta del Co(II) amb l'O₄ en les estructures de tipus **CoG5m_Q** augmenta l'acidesa del grup carboxílic, la disminució del caràcter acceptor del N com a conseqüència d'una certa oxidació de la glicina (l'espín sobre l'àtom de N és de 0.41 (A'') i 0.46 (A')) provoca un allargament de la interacció O₅H ··· N. Aquesta oxidació comporta, a més, l'allargament de la distància C-C, allargament ja observat en el catió radical de la glicina sola en relació a la seua conformació neutra.²⁷

La major interacció del Co(II) amb la glicina provoca, no sols una inversió de l'ordre d'estabilitats dels corresponents complexos amb Co(I) (*cf.* Taula 4.1.4) sinó que, a més, aconsegueix que la interacció del Co(II) amb la conformació zwitteriònica de la glicina, inestable en fase gas, resulte la més afavorida de totes les possibles, seguint la tendència mostrada pels cations divalents.^{6,9,10}

L'oxidació major del catió Co(II) respecte el Co(I) (d'altra banda ja observada per al parell Cu(I)/Cu(II)),⁶ el seu radi iònic menor possibilitant un major apropament a la glicina, la disminució de les repulsions establertes amb la glicina per la disminució dels electrons d (recordem que el Co(II) presenta una configuració d⁷), l'ocupació convenient dels orbitals moleculars per minimitzar la repulsió de Pauli

^d Aquest allargament de la interacció d'H provoca que esdevinga de tipus bifurcada.

i sobretot la càrrega +2, repercuteixen en valors més importants de la interacció electrostàtica; però també en un augment de la deformació exercida sobre la glicina, deformació apreciable per l'activació dels seus enllaços. Tanmateix, el valor que pren en aquests complexos la transferència de càrrega de la glicina cap al catió, entre 0.40 i 0.64 (*cf.* Taula 4.1.4), fa palès el paper vital que juga aquest factor en l'estabilització de les diferents coordinacions. Per aquest motiu, una anàlisi energètica similar a l'efectuada en l'apartat 4.1.1 del model q^{2+} -glicina no permet explicar acceptablement les energies relatives dels complexos Co(II)-glicina.

Taula 4.1.4. Energies relatives B3LYP/b1 (en kcal mol⁻¹) amb correcció de punt zero dels complexos metàl·lics Co(II)-glicina estudiats, càrrega, espín i poblacions NPA dels orbitals 4s i 3d del Co. S'especifica el tipus de coordinació i la simetria de l'estat (o estats) electrònics estudiats. Entre parèntesi, valors corresponents a la base 2.

| | coordinació | estat | energia relativa | població NPA del Co | | | |
|----------------|------------------------|------------------------------|---------------------|---------------------|------|-----------------|-----------------|
| | | | | 4s | 3d | q(Co) (2.00) | s(Co) (3.00) |
| CoG4b_Q | O,O⁻ | ⁴ A ^{''} | 0.0 (0.0) | 0.14 | 7.28 | 1.57 | 2.63 |
| | | ⁴ A ['] | 2.9 (2.9) | 0.17 | 7.24 | 1.57 | 2.73 |
| CoG1_Q | N,O_c | ⁴ A | 6.2 (6.0) | 0.16 | 7.24 | 1.59 | 2.77 |
| CoG2_Q | N,O_c | ⁴ A | 11.7 (10.8) | 0.15 | 7.25 | 1.59 | 2.76 |
| CoG3_Q | N,O_H | ⁴ A | 29.6 (29.4) | 0.15 | 7.23 | 1.60 | 2.79 |
| CoG5m_Q | O_c | ⁴ A ^{''} | 33.6 (33.0) | 0.06 | 7.54 | 1.39 | 2.46 |
| | | ⁴ A ['] | 34.6 (34.0) | 0.05 | 7.59 | 1.36 | 2.41 |

La major interacció electrostàtica existent en els complexos de Co(II) respecte els de Co(I) i la major transferència de càrrega del lligand cap al catió repercuteixen en valors superiors de l'energia d'interacció (D_e) i de l'afinitat catiònica (ΔH^0_{298}) del Co(II)-glicina, 204.6 i 202.8 kcal mol⁻¹ respectivament. Aquests es presenten

en la Taula 4.1.5. En aquest apartat s'inclouen, a més, els valors MP2 obtinguts per a les diferents magnituds, amb la finalitat de poder establir una comparació més directa amb el catió Zn(II).

Taula 4.1.5 Energies d'interacció B3LYP (en kcal mol⁻¹) calculades amb les dues bases per a la coordinació més estable, **CoG4b_Q**. Entre parèntesi es donen els valors corresponents a la base 2. Els valors CCSD(T) de les magnituds D_0 , ΔH^0_{298} i ΔG^0_{298} s'han calculat tenint en compte les correccions d'aquestes a nivell B3LYP i la base corresponent. S'inclouen a més, les energies d'interacció dels cations Cu(II) i Zn(II) amb la glicina.

| | | Co(II) | Cu(II) ⁶ | Zn(II) ⁹ |
|--------------------------------------|------------------|------------------|---------------------|---------------------|
| | | ⁴ A'' | ² A' | ¹ A' |
| D_e | B3LYP | 204.6 (203.3) | 243.0 | |
| | BHandHLYP | 189.4 (188.7) | 215.2 | |
| | CCSD(T) | 191.0 (190.5) | 210.5 | |
| | MP2 | 187.4 (187.3) | | |
| D₀ | B3LYP | 202.2 (200.9) | | |
| | CCSD(T) | 188.6 (188.0) | 212.7 | |
| | MP2 | 185.0 (184.8) | | |
| ΔH^0_{298} | B3LYP | 202.8 (201.6) | | |
| | CCSD(T) | 189.2 (188.7) | 213.4 | |
| | MP2 | 185.7 (185.5) | | 190.1 |
| ΔG^0_{298} | B3LYP | 194.2 (192.9) | | |
| | CCSD(T) | 180.6 (180.1) | 203.4 | |
| | MP2 | 177.1 (176.9) | | 181.8 |

En el cas del Co(II), com en el Cu(II), la deslocalització d'espín que té lloc en el complex porta associada una sobreestimació de l'energia d'interacció B3LYP del sistema M(II)-glicina. Efectivament, com es mostra en la Taula 4.1.5, tot i que la sobreestimació és major en el complex de Cu(II) (15.4% de sobreestimació energètica en D_e respecte el CCSD(T)), no és menyspreable en el nostre catió:

7.1%. La introducció en aquests sistemes del 50% del bescanvi exacte amb l'ús del funcional BHandHLYP proporciona valors més propers als obtinguts amb mètodes post Hartree-Fock com el CCSD(T).⁶ Comparant els dos funcionals, el BHandHLYP pareix proporcionar valors d'energies d'interacció més acurats en sistemes amb cations divalents on la transferència de càrrega del lligand cap al catió és important. Malgrat tot, el B3LYP proporciona bons paràmetres geomètrics, freqüències vibracionals i una bona estimació de la termoquímica, així com resultats acurats per al sistema Co(I)-glicina. Per aquest motiu hem escollit aquest funcional tant per al Co(I) com per al Co(II) al llarg de tota la tesi. Tot i això, sense deixar de costat la sobreestimació energètica en els sistemes de Co(II), les energies d'interacció seran calculades també amb el BHandHLYP.

Comparant l'afinitat catiònica (ΔH^{0}_{298}) CCSD(T) del quartet més estable amb les publicades per als cations Cu(II) i Zn(II), els quals també estableixen preferentment la forma zwitteriònica de la glicina, s'obté l'ordre $\Delta H^{0}_{298}(\text{Co(II)-L}) \sim \Delta H^{0}_{298}(\text{Zn(II)-L}) < \Delta H^{0}_{298}(\text{Cu(II)-L})$. Així, hom esperaria trobar les distàncies metall-ligand més llargues (i similars amb el Zn) en el complex de cobalt. El que es troba però, és la variació $d_{\text{Zn(II)-L}} > d_{\text{Co(II)-L}} > d_{\text{Cu(II)-L}}$. Numèricament aquestes distàncies C-O₄ i C-O₅ prenen valors de 1.986 i 2.018 Å en el complex Zn(II)-glicina, 1.960 i 1.999 Å en el Co(II)-glicina i 1.951 i 1.984 Å en el Cu(II)-glicina, coherents amb la variació dels radis iònics, $r_{\text{Zn(II)}} (83 \text{ pm}) \sim r_{\text{Co(II)}} (82 \text{ pm}) > r_{\text{Cu(II)}} (72 \text{ pm})$. En el Zn(II), d¹⁰, el lleuger augment del radi iònic i la total ocupació dels orbitals 3d condueix a distàncies M-L més llargues que les observades en el Co(II)-glicina. Tanmateix, la lleugera oxidació del lligand per complexació amb el Co(II), disminuint la densitat electrònica sobre el grup CO₂⁻ i doncs, la interacció electrostàtica, i la formació d'un enllaç datiu entre el Zn i l'O₅, compensaria l'augment de la repulsió M-L i la menor transferència de càrrega (0.27, estimada per Hoyau et al.¹¹), incrementant-se lleugerament l'afinitat catiònica per al Zn(II) respecte el Co(II).

4.2. LA LISINA

4.2.1. L'AMINOÀCID

Si bé per a la glicina diversos treballs han realitzat una anàlisi exhaustiva de la superfície d'energia potencial,^{1,3,28-32} molt menor és l'atenció que ha rebut aquest aminoàcid bàsic. Per tal d'estudiar acuradament la seua interacció amb els cations de cobalt és important dedicar-li uns paràgrafs.

En la lisina són molts els enllaços simples que poden rotar, originant un nombre molt superior de conformacions respecte a la glicina. Per aquest motiu s'ha realitzat una cerca conformacional (MCMM) prèvia emprant el programa Macromodel i el camp de forces AMBER*. A més, s'han considerat altres estructures no obtingudes amb aquest programa. Les conformacions seleccionades, **K1-K9** (on K fa referència a la lisina), es presenten en la Figura 4.2.1. Com té lloc en gairebé tots els aminoàcids, en fase gas les estructures més estabilitzades corresponen a les formes neutres, les tres més estables de les quals es troben pràcticament degenerades. Tot i que les interaccions d'H que estableix el grup amino lateral en les formes plegades porten a pensar en una estabilització extra d'aquestes conformacions, dos de les tres estructures més favorables energèticament (**K1**, **K2**) presenten la cadena lateral estirada: en aquestes, els H d'un grup CH₂ de la cadena es troben en la forma alternada respecte el grup CH₂ adjacent; quan té lloc el plegament però, es troben en una disposició intermèdia entre l'alternada i l'eclipsada, menys favorable energèticament per factors estèrics. La quasi degeneració de la conformació **K3** pot entendre's pel fet que el grup amino terminal actua simultàniament com a acceptor d'H (del grup hidroxílic) i donador (al NH₂ de la cadena (ϵ), grup amb una major tendència per actuar com a acceptor d'H donada la seua major basicitat: pKa=10.5, front a 9.16 del NH₂ α). A més, aquesta segona interacció d'H es veu afavorida pel fet de ser lineal.

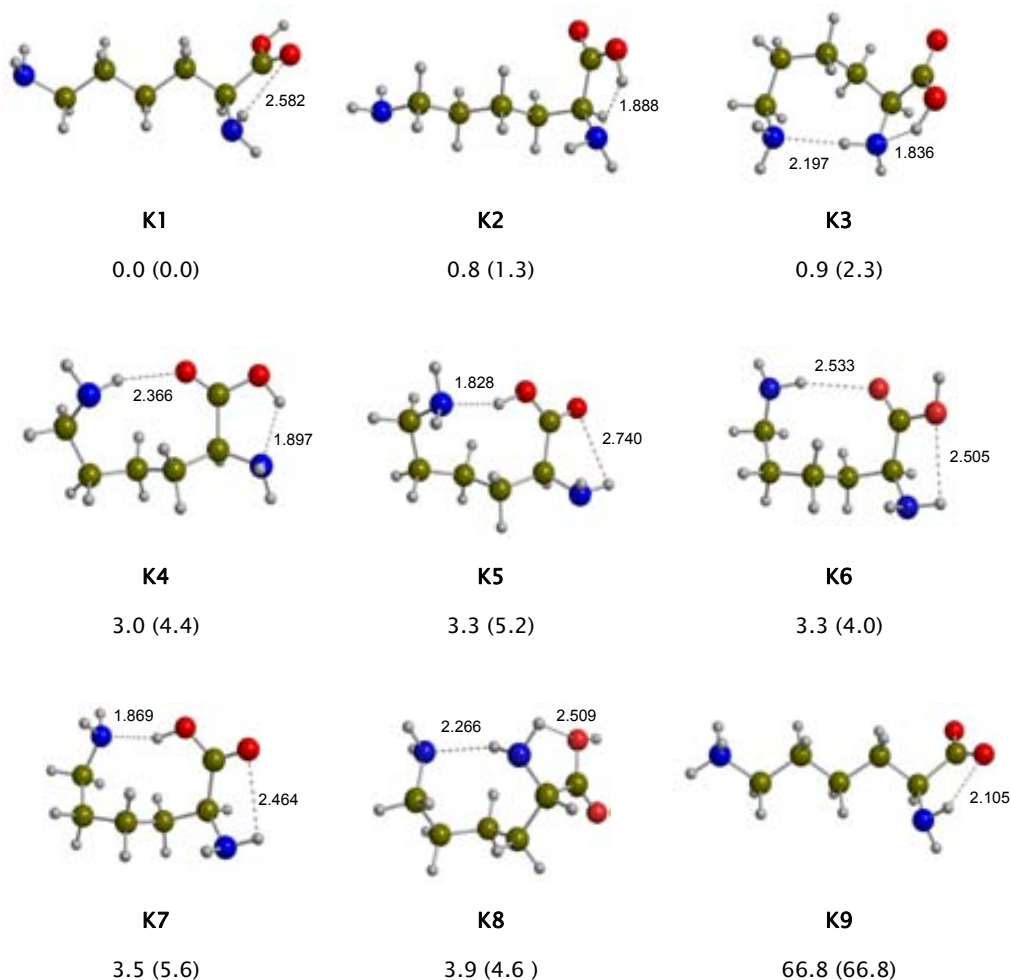


Figura 4.2.1. Conformacions neutres i zwitteriònica més estables de la lisina amb la corresponent energia relativa, amb correcció de punt zero (en kcal mol⁻¹), calculada amb el B3LYP i la base1. Entre parèntesi, ΔG⁰₂₉₈ al mateix nivell de càlcul.

La presència de dos grups amino capaços de ser protonats en aquesta molècula permet pensar en l'existència d'una gran varietat d'estructures zwitteriòniques. Tot i això, en gairebé tots els casos, quan s'intenten obtenir aquestes estructures la reprotonació del grup carboxilat és espontània, evolucionant cap a formes neutres de l'aminoàcid. L'únic zwitteriò trobat correspon a la conformació **K9**, on la protonació té lloc en el punt més bàsic de l'aminoàcid; a més, la disposició estirada de la cadena lateral impossibilita la reprotonació del grup carboxilat, al mateix temps que garanteix una major separació de les càrregues (respecte la

glicina), permetent la seua existència. Tot i això, es troba molt desestabilitzada energèticament respecte a les conformacions més estables (66.8 kcal mol⁻¹).

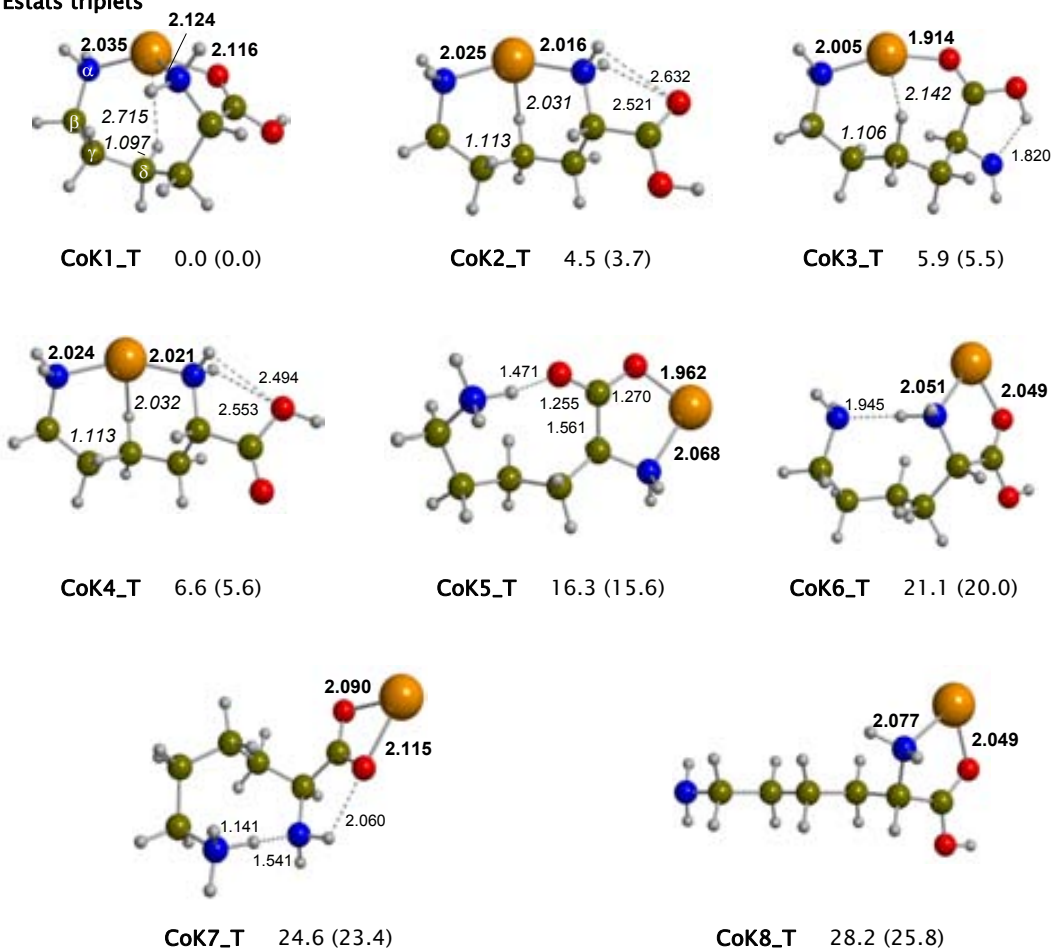
4.2.2. Co(I)-LISINA

A més dels tres centres bàsics presents a la glicina, la lisina aporta un quart centre, el N de la cadena lateral (N_l), repercutint en més riquesa coordinativa; fet que permet l'avaluació del paper que pot jugar la cadena lateral en la cationització de l'aminoàcid en fase gas. Per tal de portar a terme l'estudi, com a etapa inicial s'ha realitzat una cerca conformacional amb mecànica molecular (*cf.* apartat de Metodologia), emprant el Li com a catió metàl·lic (de radi iònic similar al Co(I)). A més, s'han tingut en compte estructures coordinativament interessants no obtingudes en la cerca anterior. Vuit són els complexos cobalt-lisina escollits en aquest treball, derivats de la interacció del cobalt amb la lisina neutra així com amb la seva forma zwitteriònica, els quals corresponen a les estructures més estables per un tipus d'entorn de coordinació donat: N_lN_tO_C, N_lN_t, N_lO_C, N_tO_C, N_tO⁻, OO⁻. La nomenclatura emprada es correspon amb la descrita per al Co-glicina. Totes aquestes conformacions es mostren en la Figura 4.2.2. Els complexos estudiats presenten simetria de tipus C₁ i en general es poden classificar en dos grups en funció de si la cadena lateral forma part de l'entorn de coordinació del catió (grup I, estructures **CoK1–CoK4**) o no (grup II, estructures **CoK5–CoK8**). Els complexos pertanyents al grup I es caracteritzen per la formació d'anells de 8 i 9 baules amb el Co, mentre que els integrants del grup II són coordinativament similars a la glicina, amb la formació d'anells de 4 (cas de la complexació de la forma zwitteriònica) o de 5 baules, amb el grup amino terminal i l'oxigen carbonílic. La formació d'aquest darrer anell és freqüent en pèptids metal·lats, però sovint l'O carbonílic correspon a l'O amídic de l'enllaç adjacent.³³ En aquest darrer grup cal destacar la forma **CoK5**, obtinguda per la transferència espontània de l'H hidroxílic al NH₂ lateral, la qual evidencia el fort caràcter bàsic

de la cadena lateral d'aquest aminoàcid. De fet, segons Bliznyuk i Maksic^{34,35} la protonació de la lisina neutra és més favorable en aquest punt. En l'altra estructura zwitteriònica, **CoK7**, la protonació també té lloc en el NH₂ lateral, tal i com ocorre en la lisina sense cationitzar.

Els estats quintuplets del Co(I) ⁵F (3d⁷ 4s¹) presenten una major repulsió amb el lligand que els estats derivats del Co(I) ³F (3d⁸), com es desprèn de l'estudi Co(I)-glicina. Cal esperar doncs, una major desestabilització d'aquests estats a l'augmentar el nombre de centres bàsics coordinats al catió. Per aquest motiu, en aquest capítol s'han considerat únicament els estats triplets i singlets.

a) Estats triplets



b) Estats singlets

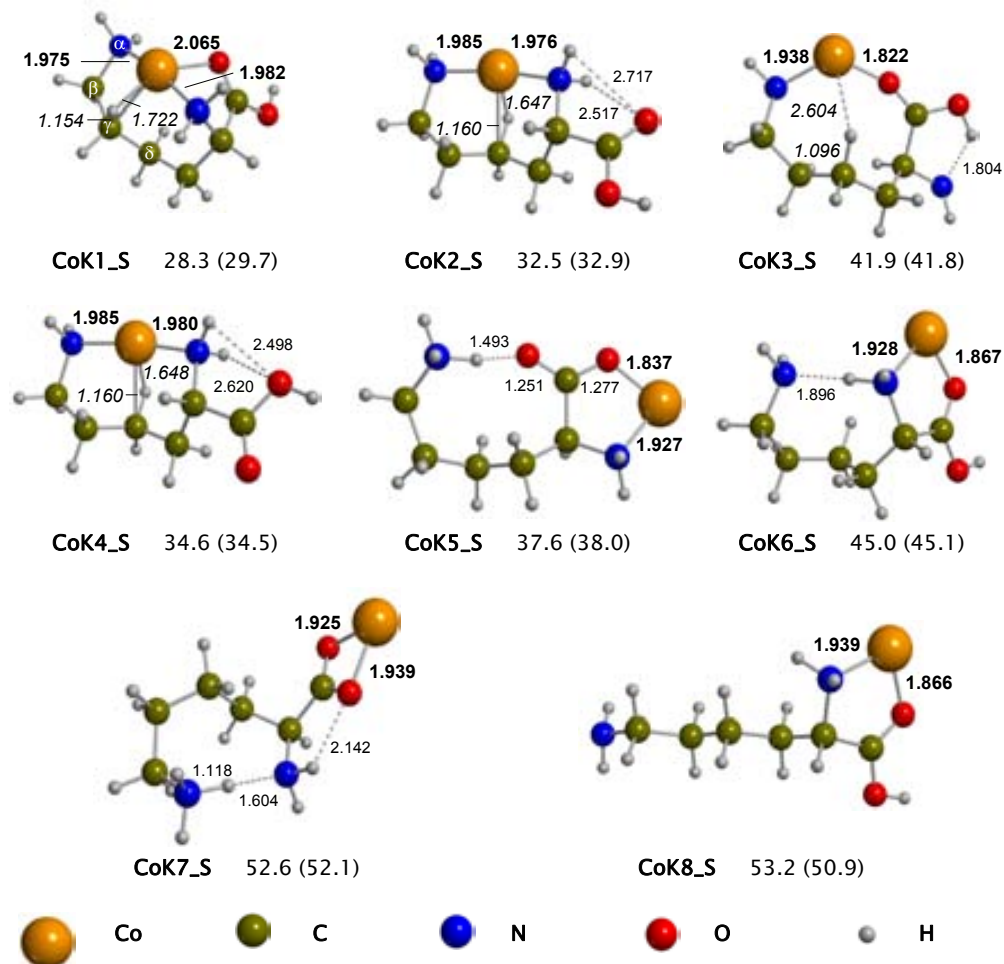


Figura 4.2.2. Distàncies (Å) M-L (negreta) i Co-H, C-H (cursiva) de les coordinacions Co(l)-lisina estudiades en estat triplet (a) i en estat singlet (b), obtingudes a nivell B3LYP/b1. Energies relatives amb correcció de punt zero (ΔG_{298}^0 entre parèntesi) en kcal mol⁻¹ al mateix nivell de càlcul. Amb lletres gregues, nomenclatura emprada per a les interaccions agòstiques.

La menor repulsió M-L existent en els singlets es reflecteix de nou en distàncies cobalt-lisina més curtes que les obtingudes per als triplets. Les diferències s'accentuen especialment en el paràmetre Co-N_{terminal} de l'estructura **CoK1** i en les estructures que conformen el grup II (**CoK5-CoK8**): $\Delta d_{T-S} = 0.125-0.184$ Å. En aquests, on l'entorn de coordinació està constituït per anells de 4 i 5 àtoms, les

distàncies depenen més de la repulsió M-L. No és el cas però, de les estructures del grup I (anells de 8 i 9 baules), on els centres bàsics de la lisina es poden acomodar amb més facilitat, compensant-se la repulsió M-L, fet que dóna lloc a distàncies més semblants en ambdues multiplicitats d'espín ($\Delta d_{T-S} = 0.039-0.092 \text{ \AA}$).

El valor de les distàncies cobalt-lisina depèn força de l'entorn de coordinació de les conformacions. En general, obviant l'estructura **CoK1_T**, es pot dir que el rang de valors que prenen les distàncies Co-N és similar i petit en totes dues multiplicitats d'espín: entre 2.005 Å (**CoK3_T**) i 2.077 Å (**CoK7_T**) en triplets, entre 1.927 Å (**CoK5_S**) i 1.985 Å (**CoK2_S**, **CoK4_S**) en singlets. Contràriament, la variabilitat del paràmetre Co-O és més gran: entre 1.914 Å (**CoK3_T**) i 2.116 Å (**CoK1_T**) en triplets, entre 1.822 Å (**CoK3_S**) i 2.065 Å (**CoK1_S**) en singlets.

A més de l'interès coordinatiu de la cadena lateral al catió Co, un altre fet distintiu és l'establiment d'interaccions agòstiques (interaccions d'H no clàssiques de tipus X-H...M), més o menys importants, entre el cobalt i un enllaç σ C-H. El terme agòstic, procedent del grec ("apropar-se alguna cosa a sí mateix") va ser encunyat per primera vegada en química organometàl·lica per Malcom Green i Maurice Brookhart, per descriure una interacció feble entre un metall de transició i un enllaç C-H proper al centre metàl·lic a través d'un enllaç π o σ addicional.³⁶ Aquestes interaccions portaven a desplaçaments inusuals cap a camps baixos en l'espectre NMR de ^1H ,³⁷ allargament de la distància C-H, freqüències de *stretching* del C-H menors³⁸ i distàncies metall-hidrogen significativament curtes.³⁹ Si bé inicialment Cotton et al. les va descriure com a interaccions a tres centres i dos electrons,³⁹ recentment s'ha proposat un tipus d'interacció a 3 centres i n electrons ($2 \leq n \leq 4$), amb una donació de l'enllaç σ a un orbital metàl·lic buit, seguida d'una retrodonació d'un orbital d ocupat a l'orbital antienllaçant σ^* de l'enllaç.^{40,41} Enllaços σ C-H, Si-H, Ge-H,⁴²⁻⁴⁶ B-H, Al-H, Ga-H,⁴⁷ S-H, P-H, N-H, C-P, C-B, C-N, C-C, Si-C poden formar agòstics,⁴⁸ i estarien

afavorits en entorns de tipus pla quadrat. Aquest tipus d'interaccions fou observat abans per a complexes de Cu(I) i Ni(I).⁴²⁻⁴⁵ S'anomenen amb lletres gregues en funció de la posició de l'enllaç σ interaccionant dins del lligand, a partir del primer àtom unit al centre metàl·lic més proper a l'enllaç σ que interacciona amb els orbitals del catió.

Aquestes interaccions, normalment de tipus δ en els sistemes que ens ocupen, apareixen principalment i generalment en les estructures del grup I, sent més importants en els singlets. Per a aquestes, les distàncies Co-H oscil·len entre 1.647 Å i 1.722 Å en singlets i entre 2.031 Å i 2.142 Å en triplets. Com a conseqüència, les distàncies C-H en els singlets (1.154–1.160 Å) esdevenen més llargues que en els estats triplets (1.106–1.113 Å). La interpretació d'aquesta interacció en termes de donació-retrodonació s'aplica plausiblement en aquest cas. Així, per exemple, l'anàlisi NBO de l'estructura **CoK2_S** mostra una donació des de l'orbital enllaçant σ C₈-H als orbitals buits 3d i 4s, amb una energia d'interacció associada de 33 kcal mol⁻¹. Simultàniament, té lloc una retrodonació des d'un orbital ple del Co a l'orbital σ^* antienllaçant C₈-H, retrodonació associada amb una energia de 10 kcal mol⁻¹.

Les energies relatives de les conformacions estudiades, en el corresponent estat electrònic fonamental, es presenten en la Taula 4.2.1. Donada la poca diferència mostrada entre les dues bases b1 i b2 en l'estudi amb la glicina, les energies d'aquest apartat s'han obtingut només al nivell B3LYP/b1.

L'estabilització preferent dels estats triplets en el catió Co(I) i en els sistemes Co(I)-H₂O i Co(I)-glicina es torna a fer palesa quan el lligand és la lisina. En aquest cas, per a una coordinació donada, la diferència S-T (entre 21.4 i 36.0 kcal mol⁻¹) disminueix lleugerament respecte a la calculada per a les conformacions de Co(I)-glicina (25.8–38.5 kcal mol⁻¹).

Taula 4.2.1. Energies relatives B3LYP/b1 amb correcció de punt zero (entre parèntesi, energia relativa a la conformació més estable en estat singlet), en kcal mol⁻¹, de les coordinacions estudiades en els estats triplets (T) i singlets (S). N_l, N_t i O_c fan referència als grups amino lateral i terminal i a l'oxigen carbonílic, respectivament. Les energies dels estats singlets contenen la correcció energètica efectuada per al catió despullat. Es mostra a més, la càrrega, espín del Co (NPA), així com la població dels orbitals 4s i 3d del catió.

| estructura | coordinació | estat | energia relativa | població NPA del Co | | q(Co) (1.00) | s(Co) (2.00) |
|---------------|--|----------------|---------------------|---------------------|------|-----------------|-----------------|
| | | | | 4s | 3d | | |
| CoK1_T | N _l , N _t , O _c | ³ A | 0.0 | 0.34 | 7.89 | 0.76 | 1.93 |
| CoK2_T | N _l , N _t | ³ A | 4.5 | 0.42 | 7.85 | 0.71 | 1.96 |
| CoK3_T | N _t , O _c | ³ A | 5.9 | 0.43 | 7.80 | 0.76 | 1.96 |
| CoK4_T | N _l , N _t | ³ A | 6.6 | 0.42 | 7.85 | 0.71 | 1.96 |
| CoK5_T | N _t , O _c | ³ A | 16.3 | 0.22 | 7.94 | 0.82 | 1.91 |
| CoK6_T | N _t , O _c | ³ A | 21.1 | 0.13 | 8.00 | 0.85 | 1.94 |
| CoK7_T | O, O ⁻ | ³ A | 24.6 | 0.18 | 7.97 | 0.84 | 1.95 |
| CoK8_T | N _t , O _c | ³ A | 28.2 | 0.12 | 8.00 | 0.87 | 1.95 |
| CoK1_S | N _l , N _t , O _c | ¹ A | 28.3 (0.0) | 0.24 | 8.17 | 0.57 | 0.00 |
| CoK2_S | N _l , N _t | ¹ A | 32.5 (4.2) | 0.24 | 8.16 | 0.59 | 0.00 |
| CoK4_S | N _l , N _t | ¹ A | 34.6 (6.3) | 0.24 | 8.16 | 0.59 | 0.00 |
| CoK5_S | N _t , O _c | ¹ A | 37.6 (9.3) | 0.36 | 8.01 | 0.61 | 0.00 |
| CoK3_S | N _t , O _c | ¹ A | 41.9 (13.6) | 0.37 | 7.94 | 0.68 | 0.00 |
| CoK6_S | N _t , O _c | ¹ A | 45.0 (16.7) | 0.32 | 8.02 | 0.65 | 0.00 |
| CoK7_S | O, O ⁻ | ¹ A | 52.6 (24.3) | 0.34 | 8.00 | 0.65 | 0.00 |
| CoK8_S | N _t , O _c | ¹ A | 53.2 (24.9) | 0.30 | 8.02 | 0.67 | 0.00 |

Una vegada més, triplets i singlets tendeixen a establir preferentment la mateixa estructura, **CoK1**, on el catió interacciona amb els dos grups amino i l'oxigen carbonílic. Estructura d'altra banda proposada com a més estable en la interacció del catió Ag(I) amb la lisina.¹⁴ En general, ambdós estats tendeixen a establir en major grau aquelles conformacions on la cadena lateral es troba interaccionant amb el catió, fet relacionat amb la major basicitat del grup amino lateral i la possibilitat d'establiment de la interacció agòstica. L'ordenació de les diferents conformacions és fonamentalment la mateixa en ambdós estats d'espín.

Les estructures **CoK5** i **CoK7** són les úniques on la lisina interacciona amb el Co(I) en la seua forma zwitteriònica. En totes dues, la protonació té lloc sobre el NH₂ de la cadena i el catió interacciona amb la càrrega negativa del grup carboxilat, bé a través d'un O, amb la consegüent formació d'un anell de 5 membres (**CoK5**), bé a través dels dos O (**CoK7**), donant lloc a un anell de 4, més tensat. La major estabilització de la forma **CoK5** es podria deure a la tendència a la formació de cicles de 5 membres amb el grup amino terminal i un O carbonílic,³³ l'angle d'enllaç favorable per a la interacció amb un catió amb orbitals d com el Co(I) o la mida del catió.

Tot i el cost energètic de deformació que suposa la complexació del Co(I) per la lisina, superior al de la glicina, l'energia d'interacció electrostàtica també és molt superior, com es reflecteix en una descomposició energètica en aquestes dues components, anàloga a l'efectuada per al sistema Co(I)-glicina. Tot i que per als estats triplets aquesta anàlisi reproduïx acceptablement l'energia relativa de les diferents conformacions, falla per als singlets, indicant una major complexitat de la interacció Co(I)-lisina, on la transferència de càrrega és més important; *i. e.*, la càrrega atòmica del cobalt és significativament inferior en els singlets, com s'observa en la Taula 4.2.1.

L'augment de centres bàsics coordinats al cobalt ocasiona un augment de la repulsió metall–l·ligand en aquestes estructures. Aquest fet comporta una major hibridació d–s, apreciable pels valors de la població 4s del Co presentats en la Taula 4.2.1, superiors als obtinguts per al sistema Co(I)–glicina, així com la polarització dels orbitals més repulsius, per tal de minimitzar aquesta repulsió M–L. A més, té lloc una certa transferència de càrrega de la lisina cap al cobalt, més acusada en les estructures pertanyents al grup I (**CoK1–CoK4**) i, fonamentalment, en les estructures singlet, ja que en aquestes últimes la donació té lloc cap a un orbital 3d buit del catió. Tot i aquesta transferència de càrrega, l'espín es localitza fonamentalment en el cobalt, indicant que no existeix oxidació del l·ligand.

Taula 4.2.2. Energies d'interacció Co(I)–lisina B3LYP/base1 per a la coordinació més estable, **CoK1** (N_i, N_i, O_c) en l'estat triplet, en kcal mol⁻¹. La magnitud D₀ CCSD(T) s'ha determinat a partir del valor CCSD(T) i les freqüències harmòniques B3LYP. Les magnituds ΔH⁰₂₉₈ i ΔG⁰₂₉₈ amb CCSD(T) contenen les correccions tèrmiques determinades a nivell B3LYP i la base b1. També es presenta l'afinitat catiónica (Δ⁰H₂₉₈) per al catió Ag(I) trobada a la literatura.

| | | CoK1T | |
|---------------------------------|-----------|-------|---------------------|
| | | Co(I) | Ag(I) ¹⁴ |
| D _e | B3LYP | 107.8 | |
| | BHandHLYP | 99.2 | |
| | CCSD(T) | 109.9 | |
| D ₀ | B3LYP | 104.2 | |
| | CCSD(T) | 106.3 | |
| Δ ⁰ H ₂₉₈ | B3LYP | 105.8 | 71.0 |
| | CCSD(T) | 107.8 | |
| Δ ⁰ G ₂₉₈ | B3LYP | 93.2 | 62.4 |
| | CCSD(T) | 95.3 | |

Les energies d'interacció B3LYP, BHandHLYP i CCSD(T), per a la conformació més estable, **CoK1_T**, es presenten en la Taula 4.2.2. Com mostren els valors de les energies d'interacció, la coordinació de la cadena lateral de la lisina al cobalt, molt bàsica, i doncs, l'augment del nombre de coordinació del Co, repercuteix en una interacció Co–lisina $31.9 \text{ kcal mol}^{-1}$ més gran que la que té lloc en el Co(I)–glicina (ΔH_{298}^0 lisina = $105.8 \text{ kcal mol}^{-1}$; ΔH_{298}^0 glicina = $73.9 \text{ kcal mol}^{-1}$). L'afinitat de la lisina pel Co(I) és superior també, a l'obtinguda per al catió Ag(I) ($71.0 \text{ kcal mol}^{-1}$), el qual estabilitza la mateixa conformació tricoordinada, **CoK1**. Això és degut a l'augment del radi iònic, la total ocupació dels seus orbitals 3d i doncs, l'augment de les repulsions M–L. Aquest resultat concorda amb l'allargament de les distàncies Ag–lisina ($r_{\text{Ag-Nlateral}} = 2.342 \text{ \AA}$, $r_{\text{Ag-Nterminal}} = 2.446 \text{ \AA}$, $r_{\text{Ag-O}} = 2.500 \text{ \AA}$), tal i com succeeix en el sistema Ag(I)–glicina.¹⁴

La deslocalització d'espín per a la conformació més estable del sistema Co(I)–lisina és petita (*cf.* Taula 4.2.1), i els valors de les diferents magnituds de l'energia d'interacció B3LYP es troben en bon acord amb els respectius valors CCSD(T). De fet, les diferències entre ambdós mètodes són lleugerament menors que les observades per a la conformació fonamental del sistema Co(I)–glicina, pel que cal esperar una bona predicció de l'energia d'interacció B3LYP en augmentar el nombre de coordinació del Co(I).

4.2.3. Co(II)–LISINA

Al llarg de la tesi, el catió Co(II) (d^7), a l'interaccionar amb lligands com l'aigua o la glicina, ha mostrat un comportament diferent respecte al catió Co(I). Per citar un parell d'exemples, aquest catió presenta un cert caràcter oxidant i és capaç d'estabilitzar molt la conformació zwitterònica de la glicina, esdevenint el complex resultant el més estable. Quines peculiaritats s'observen quan interacciona amb un aminoàcid bàsic com la lisina?

Per començar, a diferència de la glicina, és factible la detecció del complex Co(II)–lisina en fase gas mitjançant la ionització amb electrospray (ESI) d'una barreja de CoSO₄ i lisina en aigua i metanol (1:1) (*cf.* Figura 4.2.3). Amb una intensitat feble però, del 4.8 %.

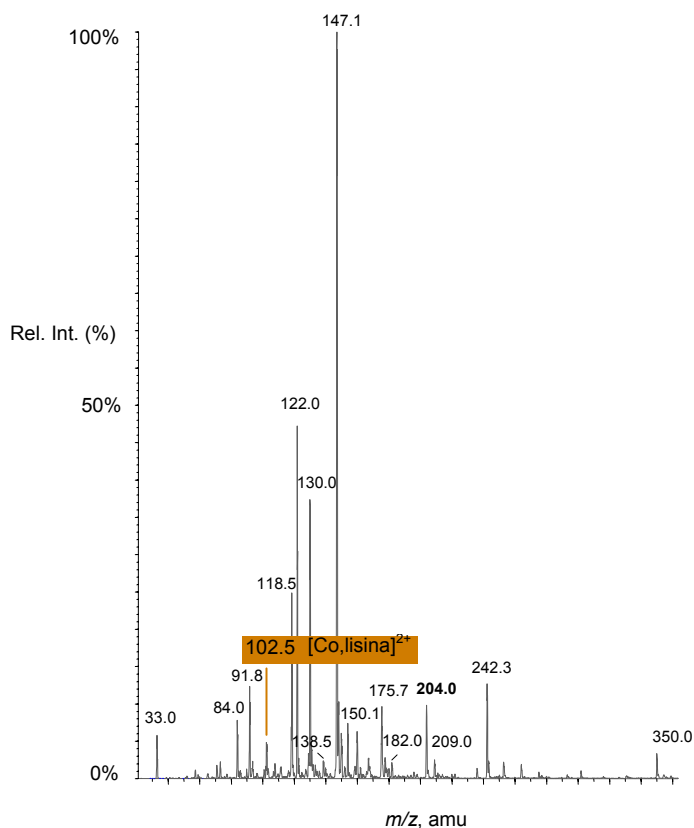


Figura 4.2.3. Espectre de la font obtingut per a una barreja equimolar de CoSO₄·H₂O i lisina en metanol–aigua (50/50 v/v), aplicant un potencial de con de 5 V i emprant l'ESI com a font d'ionització.

A nivell computacional, per tal d'estudiar la interacció entre el Co(II) i la lisina, s'ha procedit de manera similar als apartats anteriors, considerant-se les mateixes coordinacions que en l'apartat 4.2.1 i només els estats quartets. En aquest estudi conformacional, cal esmentar el poc èxit obtingut a l'optimitzar l'estructura **CoK6_Q**, donat que evoluciona espontàniament cap a una estructura on un H del grup amino terminal és transferit al grup amino lateral, el qual

s'allunya de l'entorn de coordinació. En aquesta estructura, anomenada **CoK9_Q**, el catió interacciona amb l'O_C i un grup amidur (NH⁻). Totes les conformacions estudiades mostren simetria C₁. Aquestes, en l'estat electrònic més estable, es presenten en la Figura 4.2.4.

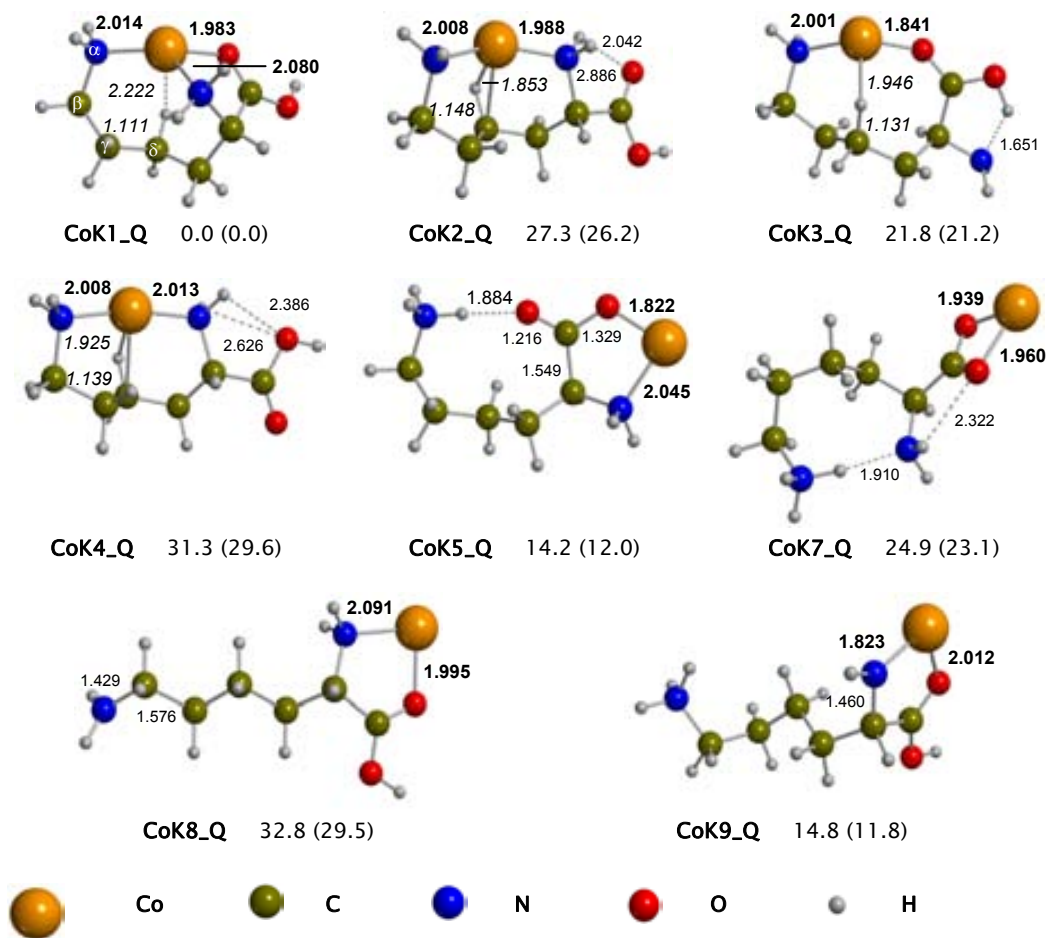


Figura 4.2.4. Geometries B3LYP/b1 de les conformacions estudiades per al sistema Co(II)-lisina en estat quartet. En negreta, distàncies M-L. En cursiva, distàncies M-H i C-H. Totes les distàncies es donen en Å. S'indica a més, l'energia relativa amb correcció de punt zero (ΔG^0_{298}) al mateix nivell de càlcul. Les energies es donen en kcal mol⁻¹.

Tal i com té lloc en els sistemes Co(II)-glicina, les distàncies metall-ligand són menors que les observades en les conformacions anàlogues Co(I)-lisina triplet, però més llargues que les dels singlets. Aquesta disminució respecte els triplets

comprèn un ampli rang, entre 0.004 i 0.140 Å. Amb una excepció, la distància Co-N en el complex **CoK8_Q**, la qual s'allarga 0.014 Å. Lògicament, aquesta interacció més forta del Co(II) amb la lisina origina una activació superior dels enllaços d'aquest aminoàcid respecte els triplets, sobretot dels enllaços adjacents, que es veuen més afeblits.

L'establiment d'interaccions agòstiques d'un enllaç σ C-H amb el Co en aquestes estructures torna a ser un fet present. Tot i que, contràriament als triplets i singlets, s'estableixen en totes les conformacions del grup I: **CoK1_Q-CoK4_Q**. En general, són de tipus δ i provoquen un allargament de la distància C-H a mig camí entre l'observat en els estats triplets i singlets del capítol anterior. A més, en els complexos **CoK2_Q** i **CoK4_Q**, la distància $C_\gamma-H_\gamma$ s'allarga una mica, indicant una possible i lleugera interacció de tipus γ (les distàncies $C_\gamma-H_\gamma$ i $H_\gamma-Co$ prenen valors de 1.101 i 2.729 Å en la conformació **CoK2_Q**, i 1.109 i 2.413 Å en la conformació **CoK4_Q**).

Si en els triplets i singlets del Co(I)-lisina el major allargament de la distància $C_\delta-H_\delta$ es dona, per igual, en les estructures **CoK2** i **CoK4**, en els quartets la interacció agòstica δ provoca un allargament un poc superior d'aquest enllaç C-H en la conformació **CoK2_Q** ($d_{C_\delta-H_\delta} = 1.148$ Å) respecte la **CoK4_Q** ($d_{C_\delta-H_\delta} = 1.139$ Å). Aquest allargament va acompanyat del tancament de l'angle N_t-Co-N_l (142.1°) respecte el valor observat per a l'estructura **CoK4_Q** (167.3°), afavorint la interacció agòstica. Com a conseqüència, una de les dues interaccions d'H entre el NH_2 terminal i l' O_c trobades en les estructures anàlogues **CoK2_T** i **CoK2_S** del Co(I)-lisina es trenca ($d_{H-O_c} = 2.042$ i 2.886 Å). Tots aquests canvis van acompanyats d'una oxidació dels grups amino molt petita (l'espín sobre els dos grups bàsics és de 0.07 per al lateral i 0.08 per al terminal).

Tal i com s'observa en la Taula 4.2.3, on es mostren les energies relatives, la càrrega i l'espín de les diferents conformacions, l'estructura més estabilitzada pel

catió Co(II) és la forma tricoordinada **CoK1_Q**: tots dos cations doncs, Co(I) i Co(II), estabilitzen preferentment el mateix tipus de complex en interaccionar amb la lisina. Els complexos derivats de la interacció del Co(II) amb formes zwitteriòniques, **CoK5_Q**, **CoK9_Q** i **CoK7_Q**, es troben a 14.2, 14.8 i 24.9 kcal mol⁻¹ per sobre l'estructura fonamental. Aquestes energies posen de manifest el fet que la interacció amb tres centres bàsics i l'establiment de la interacció agòstica compensen l'elevada interacció electrostàtica existent entre el catió i la càrrega negativa del grup carboxilat o de l'amidur existent en aquests complexos anteriors. Es mostra doncs, la importància de la cadena lateral en l'estabilitat de les estructures neutres de la lisina, ja que per a la glicina l'estructura més estable correspon a la **CoG4b_Q**, on la glicina es troba en la seua forma zwitteriònica. A més, l'estructura **CoK1_Q** apareix molt estabilitzada, trobant-se la segona estructura més estable, **CoK5_Q**, a 14.2 kcal mol⁻¹. Tot i això, la interacció electrostàtica superior en les darreres estructures zwitteriòniques les estabilitza més que altres conformacions, originant una ordenació energètica molt diferent a l'obtinguda per al sistema Co(I)-lisina: **CoK1_Q** > **CoK5_Q** > **CoK9_Q** > **CoK3_Q** > **CoK7_Q** > **CoK2_Q** > **CoK4_Q** > **CoK8_Q**.

Tot i que l'energia de deformació és important, per poder explicar correctament l'estabilització de les diferents conformacions cal recórrer a factors com l'energia d'interacció electrostàtica, més important en aquests sistemes que en els homòlegs amb Co(I), la transferència de càrrega ($q_{Co}=1.12-1.50$) i d'espín (entre 2.22 i 2.81), també més acusada, la repulsió de Pauli o la interacció agòstica. Tot i això, la variabilitat de la magnitud d'aquests paràmetres no permet una explicació adequada de l'ordenació energètica mitjançant una anàlisi que considere únicament els termes de l'energia de deformació i de l'energia electrostàtica.

Taula 4.2.3. Energies relatives B3LYP/b1 amb correcció de punt zero (ΔG^{0}_{298} entre parèntesi), en kcal mol⁻¹, de les coordinacions en estat quartet (Q) estudiades per al sistema Co(II)–lisina, on N_t, N_i i O_c fa referència a grup amino terminal, grup amino lateral i oxigen carbonílic, respectivament. S'inclouen a més, la càrrega i espín NPA i l'ocupació (NPA) dels orbitals 4s i 3d del Co(II).

| estructura | coordinació | estat | energia relativa | població Co | | | |
|---------------|--|----------------|------------------|-------------|------|----------------|----------------|
| | | | | 4s | 3d | q Co (2.00) | s Co (3.00) |
| CoK1_Q | N _t , N _i , O _c | ⁴ A | 0.0 (0.0) | 0.26 | 7.25 | 1.46 | 2.74 |
| CoK5_Q | N _t , O _c | ⁴ A | 14.2 (12.0) | 0.18 | 7.33 | 1.48 | 2.64 |
| CoK9_Q | N _t ⁻ , O _c | ⁴ A | 14.8 (11.8) | 0.19 | 7.49 | 1.30 | 2.46 |
| CoK3_Q | N _i , O _c | ⁴ A | 21.8 (21.2) | 0.24 | 7.26 | 1.49 | 2.73 |
| CoK7_Q | O, O ⁻ | ⁴ A | 24.9 (23.1) | 0.17 | 7.31 | 1.50 | 2.68 |
| CoK2_Q | N _t , N _i | ⁴ A | 27.3 (26.2) | 0.30 | 7.24 | 1.44 | 2.76 |
| CoK4_Q | N _t , N _i | ⁴ A | 31.3 (29.6) | 0.30 | 7.22 | 1.45 | 2.81 |
| CoK8_Q | N _t , O _c | ⁴ A | 32.8 (29.5) | 0.12 | 7.75 | 1.12 | 2.22 |

En general, respecte la glicina, la presència de la cadena lateral bàsica de la lisina permet una major transferència de càrrega de l'aminoàcid al cobalt, donats els valors menors de la càrrega sobre el Co. Aquesta és especialment important en l'estructura bidentada **CoK8_Q**, anàloga a la segona coordinació més estable del Co(II)–glicina, ja que el Co(II) es redueix pràcticament a Co(I). El caràcter més bàsic de la cadena lateral (pKa=10.5) i el fet de no trobar-se coordinada al centre metàl·lic permet una oxidació de la mateixa (*cf.* Figura 4.2.5), ja que l'espín localitzat sobre el NH₂ lateral és de 0.63, disminuint així el seu caràcter acceptor de protons. Fruit d'aquesta disminució de la basicitat el NH₂ lateral esdevé pla i l'enllaç C–C adjacent s'allarga (1.576 Å). Al mateix temps, aquest allargament va acompanyat de l'estirament de la cadena, el qual minimitza la repulsió entre aquest grup menys bàsic i carregat positivament, i el catió.

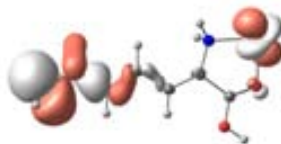


Figura 4.2.5. Orbital monoocupat on es localitza l'espín de la lisina en l'estructura **CoK8_Q**.

La Taula 4.2.4 mostra les energies d'interacció per a la conformació més estable del sistema Co(II)–lisina. La coordinació d'un tercer centre bàsic, com és el grup amino de la cadena lateral de la lisina, a un catió Co(II) unit a un grup amino terminal i un grup carboxílic resulta molt favorable, ja que l'afinitat catiònica (ΔH_{298}^0) augmenta en 73.8 kcal mol⁻¹ al passar del Co(II)–glicina (202.8 kcal mol⁻¹) al Co(II)–lisina (276.6 kcal mol⁻¹). A més, i com és d'esperar, l'energia d'interacció (D_e) calculada per a la conformació **CoK1_Q** (278.8 kcal mol⁻¹) és molt superior a l'obtinguda per a l'estructura anàloga del Co(I)–lisina en estat triplet (107.8 kcal mol⁻¹).

Taula 4.2.4. Energies d'interacció B3LYP i BHandHLYP amb la base b1, en kcal mol⁻¹, de la conformació més estable, **CoK1_Q**. La magnitud D_0 CCSD(T) s'ha determinat a partir del valor CCSD(T) i les freqüències harmòniques B3LYP/b1. Les magnituds ΔH_{298}^0 i ΔG_{298}^0 amb CCSD(T) contenen les correccions tèrmiques determinades a nivell B3LYP i la base b1.

| CoK1_Q | | |
|--------------------|-----------|-------|
| D_e | B3LYP | 278.8 |
| | BHandHLYP | 265.0 |
| | CCSD(T) | 271.8 |
| D_0 | B3LYP | 274.4 |
| | CCSD(T) | 267.6 |
| ΔH_{298}^0 | B3LYP | 276.6 |
| | CCSD(T) | 269.6 |
| ΔG_{298}^0 | B3LYP | 263.1 |
| | CCSD(T) | 256.0 |

Tot i que el B3LYP presenta la tendència a sobreestimar lleugerament l'energia d'interacció de sistemes amb deslocalització de càrrega, la coordinació d'un tercer centre bàsic (la cadena lateral de la lisina) així com una quarta interacció, de tipus agòstica, present en la conformació fonamental, fan disminuir aquesta sobreestimació respecte el mètode CCSD(T) en un 4.4%, passant d'un 7% en el Co(II)-glicina, a un 2.6% en el Co(II)-lisina. Una tendència molt similar s'observa al comparar el B3LYP amb el BHandHLYP (la sobreestimació del primer respecte el segon passa d'un 8.0% en el Co(II)-glicina a un 5.2% en el Co(II)-lisina). Cal doncs, esperar valors més semblants entre el B3LYP i el CCSD(T) i entre el B3LYP i el BHandHLYP a l'augmentar el nombre de coordinació entorn el Co(II).

4.2.4. COMPLEXOS DE TIPUS [H-Co-(lisina-H)]ⁿ⁺

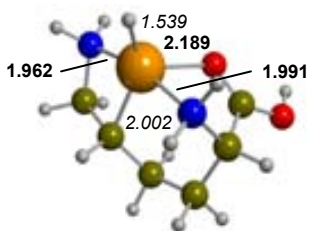
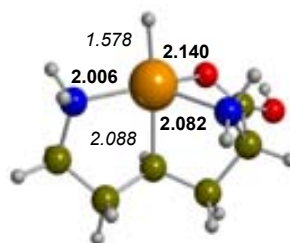
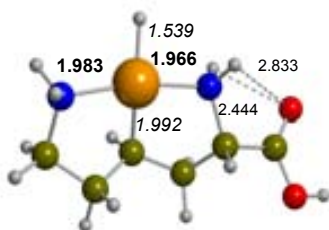
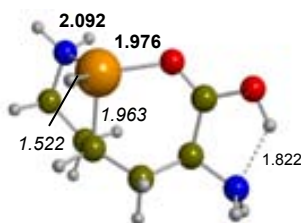
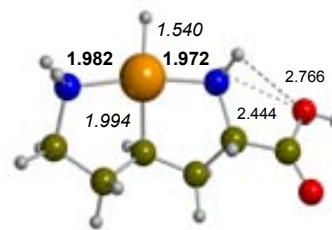
La troballa d'estructures amb interaccions agòstiques i la possibilitat de trobar complexos resultants de la migració de l'H de l'enllaç σ que interacciona amb el cobalt cap a aquest catió, va fer pensar en llur possible intervenció en els processos de fragmentació del complex Co(II)-lisina. És interessant doncs, determinar llur estabilitat respecte els complexos dels apartats anteriors, partint però, com sempre, dels complexos en estat singlet i triplet. Són més estables que les respectives estructures Co(I)/Co(II)-lisina?

Co(I): estats triplets i singlets

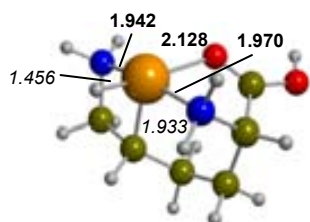
Com a punt de partida s'han seleccionat tots els complexos derivats de les migracions d'un H γ o un H δ en estat singlet, complexos anomenats **CoKn_S-Hm**: **CoKn_S** fa referència a l'estructura Co(I)-lisina de partida (**CoK1-CoK4**) i **Hm** a l'H transferit en cada cas, γ o δ . Donada la major estabilitat de les formes δ en l'estat singlet i el tipus d'interacció agòstica més habitual en les estructures Co-lisina, δ , per als triplets s'han descartat les formes γ ; a excepció de l'estructura **CoK1_T**, on la manca d'interacció agòstica ha portat a considerar adequat incloure-les. Per

simplificar, i donat el diferent caràcter de l'H migrat, el fragment de la lisina sense aquest H serà anomenat lisina-H. Les geometries dels complexos resultants, per als dos estats d'espín, així com l'energia relativa a la conformació fonamental per al Co(I)-lisina, **CoK1_T**, incloent la correcció de punt zero, es presenten en la Figura 4.2.6. Cal dir que en l'optimització del complex **CoK1_S-H δ** té lloc una migració espontània de l'H γ donant lloc a un doble enllaç C-C entre els carbonis γ i δ ($r_{C=C} = 1.365 \text{ \AA}$) i a una interacció de tipus π entre el cobalt i aquest enllaç ($r_{Co-C\gamma} = 2.201 \text{ \AA}$, $r_{Co-C\delta} = 2.268 \text{ \AA}$, $r_{Co-(C=C)} \sim 2.125 \text{ \AA}$ (distància perpendicular al doble enllaç, similar a la trobada per Sodupe i col·laboradors en un estudi sobre la interacció dels cations de la primera sèrie de transició amb l'etilè)).⁴⁹

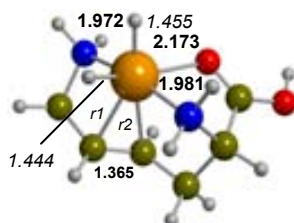
a) Triplets

**CoK1_T-H γ** 34.9 (35.7)**CoK1_T-H δ** 34.4 (35.1)**CoK2_T-H δ** 40.3 (39.7)**CoK3_T-H δ** 33.7 (33.7)**CoK4_T-H δ** 42.6 (41.8)

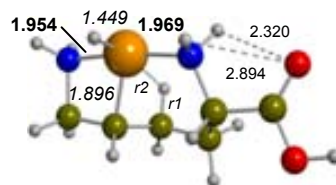
b) Singlets



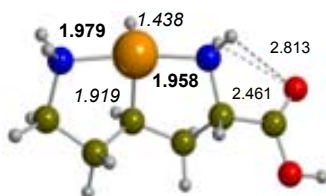
CoK1_S-Hy 12.0 (13.8)



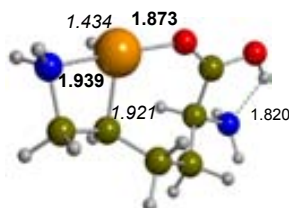
CoK1_S-Hδ 26.3 (28.3)
*r*₁=2.201 Å *r*₂=2.268 Å



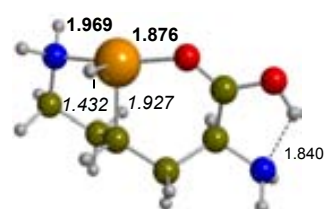
CoK2_S-Hy 26.5 (27.1)
*r*₁=1.124 Å *r*₂=2.111 Å



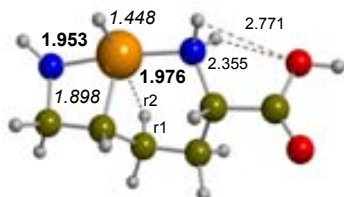
CoK2_S-Hδ 23.2 (23.5)



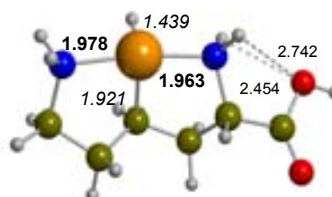
CoK3_S-Hy 28.9 (30.0)



CoK3_S-Hδ 25.8 (26.8)



CoK4_S-Hy 29.0 (29.2)
*r*₁=1.122 Å *r*₂=2.150 Å



CoK4_S-Hδ 25.5 (25.5)



Figura 4.2.6. Distàncies (Å) més importants dels complexos [H-Co-(lisina-H)]⁺: **a)** en estat triplet, **b)** en estat singlet. En negreta, distàncies M-L. En cursiva, distàncies Co-H i Co-C. S'inclou l'energia relativa B3LYP/b1 amb correcció de punt zero (ΔG_{298}^0 entre parèntesi) en kcal mol⁻¹, respecte a la conformació més estable **CoK1_T**.

En la Taula 4.2.5 es presenten les energies relatives amb correcció de punt zero dels diferents complexos, així com la càrrega i l'espín.

Taula 4.2.5. Energies B3LYP/b1 relatives (referides a la conformació **CoK1_T**) amb correccions de punt zero en kcal mol⁻¹, dels complexos [H-Co-(lisina-H)]⁺, en estat triplet i singlet. Entre parèntesi, energies relatives respecte a la conformació més estable en estat singlet. Les energies dels singlets contenen la correcció S-T del catió despulatat. A més, s'especifica la població NPA dels orbitals 4s i 3d del Co, així com la càrrega i espín del Co (NPA) i dels àtoms de C i H units al catió. Per a l'estructura **CoK1_S-Hδ** es mostren les càrregues de l'Hδ i del Cδ, així com de l'H_γ i del C_γ (a sota i en cursiva).

| estructura | coord. | estat | energia relativa | població Co | | q (s) | | |
|-----------------------------|--|----------------|---------------------|-------------|------|-----------------------|--------------------------|--------------------------|
| | | | | 4s | 3d | Co | H | C-H |
| CoK3_T-Hδ | Ni, O _c , C, H | ³ A | 33.7 | 0.41 | 7.51 | 1.06 (2.10) | -0.23 (0.04) | -0.05 (-0.26) |
| CoK1_T-Hδ | Ni, N _t , O _c , C, H | ³ A | 34.4 | 0.37 | 7.39 | 1.21 (2.10) | -0.37 (0.00) | -0.30 (-0.19) |
| CoK1_T-H_γ | Ni, N _t , O _c , C, H | ³ A | 34.9 | 0.39 | 7.61 | 0.98 (1.52) | -0.23 (0.19) | -0.25 (0.23) |
| CoK2_T-Hδ | Ni, N _t , C, H | ³ A | 40.3 | 0.42 | 7.56 | 0.99 (1.67) | -0.25 (0.12) | -0.21 (0.21) |
| CoK4_T-Hδ | Ni, N _t , C, H | ³ A | 42.6 | 0.42 | 7.57 | 0.99 (1.67) | -0.25 (0.12) | -0.22 (0.20) |
| CoK1_S-H_γ | Ni, N _t , O _c , C, H | ¹ A | 12.0 (0.0) | 0.35 | 7.98 | 0.65 | -0.09 | -0.05 |
| CoK2_S-Hδ | Ni, N _t , C, H | ¹ A | 23.2 (11.2) | 0.38 | 7.99 | 0.62 | -0.01 | -0.03 |
| CoK4_S-Hδ | Ni, N _t , C, H | ¹ A | 25.5 (13.5) | 0.38 | 7.99 | 0.62 | -0.02 | -0.03 |
| CoK3_S-Hδ | Ni, O _c , C, H | ¹ A | 25.8 (13.8) | 0.36 | 7.94 | 0.69 | 0.01 | -0.07 |
| CoK1_S-Hδ | Ni, N _t , O _c , C, H | ¹ A | 26.3 (14.3) | 0.37 | 8.17 | 0.42 | 0.01 <i>0.00</i> | -0.05 <i>0.02</i> |
| CoK2_S-H_γ | Ni, N _t , C, H | ¹ A | 26.5 (14.5) | 0.37 | 8.03 | 0.59 | -0.05 | 0.00 |
| CoK3_S-H_γ | Ni, O _c , C, H | ¹ A | 28.9 (16.9) | 0.35 | 7.94 | 0.70 | -0.02 | -0.07 |
| CoK4_S-H_γ | Ni, N _t , C, H | ¹ A | 29.0 (17.0) | 0.37 | 8.03 | 0.59 | -0.05 | 0.00 |

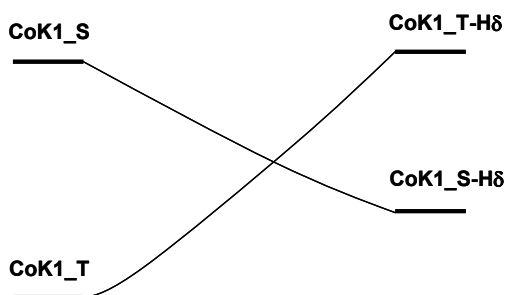
Tal i com es desprèn d'una anàlisi NBO de l'enllaç efectuada en aquests compostos els dos nous enllaços formats, Co-C i Co-H, són covalents: el primer es forma entre un orbital de tipus p del C i un orbital monoocupat d del Co, tots

dos polaritzats amb un orbital s per maximitzar el solapament (10–11% de contribució s en el cas de l'orbital p del C). En el cas dels triplets, a més, l'H té un cert caràcter d'hidrur. També és el cas del C, amb una certa càrrega negativa. En els singlets però, és un àtom d'H neutre el que s'uneix al catió. Aquests enllaços Co–C i Co–H són més llargs en els estats triplets que en els estats singlets, tendència també seguida per les distàncies M–L i en total acord amb els resultats presentats en els apartats anteriors.

Lògicament, la inclusió d'un H en l'entorn de coordinació del Co(I) genera canvis estructurals importants en els complexos, més importants en el tipus d'entorn de coordinació del Co(II): la formació d'aquests dos nous enllaços indueix una obertura generalitzada dels angles d'enllaç (a excepció de l'estructura **CoK3_T-H γ**), conduint a entorns de coordinació de tipus bipiràmide trigonal distorsionada (**CoK1_T-H**), plano quadrat (**CoK2_T-H δ** i **CoK4_T-H δ**), forma de T amb una quarta posició de coordinació més i perpendicular al pla format per les altres tres posicions (**CoK3_T-H δ** i gairebé totes les estructures en estat singlet) i octaèdric, amb les sis posicions ocupades (**CoK1_S-H δ**) o amb una vacant de coordinació (**CoK1_S-H γ**). Per als triplets, l'estructura **CoK1_T-H δ** es troba pràcticament degenerada amb la forma tetracoordinada **CoK3_T-H δ** (NiO_c,C,H): tot i presentar una posició de coordinació menys, el tancament de l'angle d'enllaç Ni–Co–O_c afavoreix el solapament entre els orbitals del Co i de la lisina–H, portant a una major estabilització d'aquesta estructura.

Cal dir que en general les estructures obtingudes són sempre menys estables que l'estructura fonamental del sistema Co(I)–lisina (**CoK1_T**). Tot i això, mentre les estructures transferides triplet es troben més altes en energia que les respectives estructures no transferides (entre 27.8 i 36.0 kcal mol⁻¹), s'estabilitzen considerablement en l'estat singlet (entre 2.0 i 16.3 kcal mol⁻¹). Com a resultat, té lloc una inversió de l'estabilitat relativa d'ambdós estats en les estructures transferides, sent els singlets més estables que els triplets. No és il·lògic tenint

en compte que la transferència d'un àtom d'H augmenta en dos el nombre de coordinació al voltant del centre metàl·lic, augment que resulta en una desestabilització més acusada de l'estat triplet front al singlet, amb un orbital d completament buit. Aquesta inversió d'estabilitats es representa en l'Esquema 4.2.1.



Esquema 4.2.1. Diagrama representant la inversió relativa d'estabilitat dels singlets i triplets en les estructures transferides (dreta), respecte a les no transferides (esquerra).

En l'estabilització d'aquestes estructures, a més, entren en joc factors com la transferència de càrrega dels lligands al catió, en les coordinacions **CoK3_T-Hδ** i **CoK1_T-Hδ** i en els singlets, així com la transferència d'espín, en els triplets. És significadament important la lleugera oxidació del Co en les dos estructures més estables en estat triplet, fet que permet maximitzar la interacció electrostàtica amb els dos lligands.

Tot i això, la migració d'un H de l'enllaç C-H al Co(I) dóna lloc generalment però, en totes dues multiplicitats d'espín, a estructures relativament poc estables respecte la conformació fonamental **CoK1_T** (entre 12.0 i 42.6 kcal mol⁻¹), indicant que la coordinació del C i l'H no compensa el cost de deformació de la lisina i de trencament de l'enllaç σ C-H. Menys encara quan la migració que té lloc és d'un H de tipus γ , amb la consegüent formació d'un anell de quatre baules, que introdueix més tensió, determinant que les estructures de tipus γ estiguen més desfavorides energèticament.

Co(II): estats quartets

Per als estats quartets del Co(II) s'han calculat les mateixes estructures amb l'H i la lisina-H coordinats al catió considerades per als estats triplets. Les estructures resultants, juntament amb les energies relatives, es presenten en la Figura 4.2.7. La Taula 4.2.6 mostra, a més d'aquests paràmetres energètics anteriors, els valors de càrrega i espín pel Co i els àtoms C i H implicats en la coordinació.

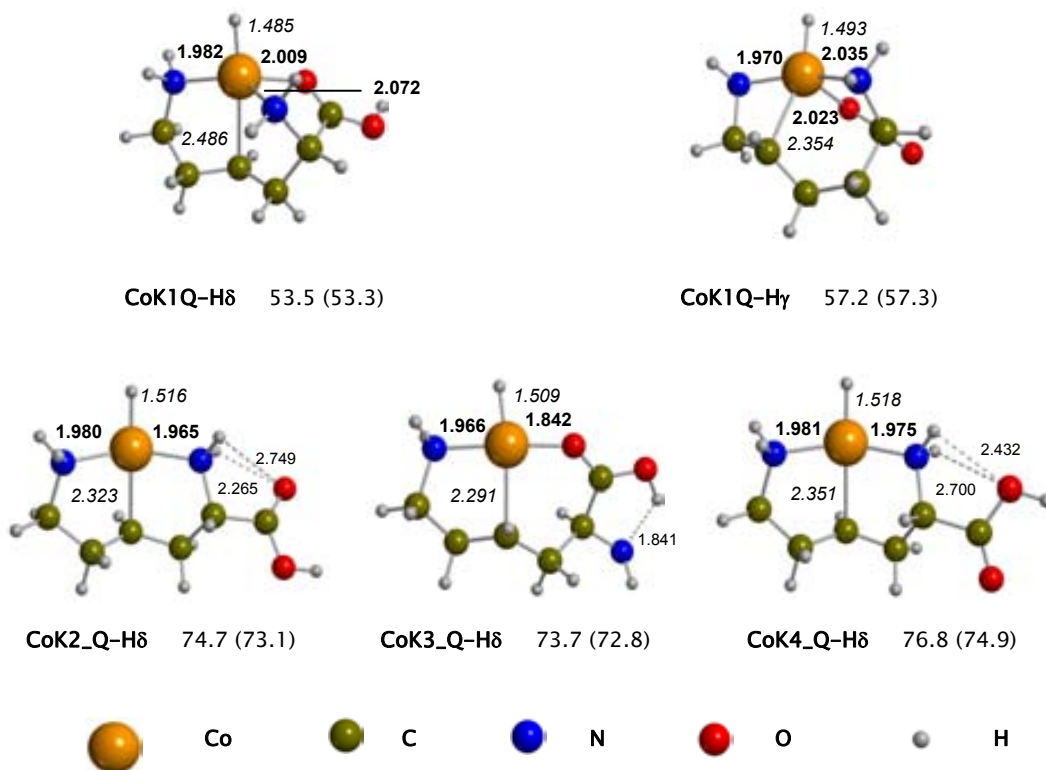


Figura 4.2.7. Estructures B3LYP/b1 dels complexos [H-Co-(lisina-H)]²⁺. Les distàncies es donen en Å. Energia relativa B3LYP/b1 amb correcció de punt zero (ΔG^0_{298} entre parèntesi) en kcal mol⁻¹, respecte a la conformació més estable **CoK1_Q**.

Anàlogament als singlets, l'H unit al Co presenta un caràcter neutre, evidenciat pel valor de la càrrega (*cf.* Taula 4.2.6). La distància Co-H pren valors intermedis entre les trobades en triplets i singlets, seguint la tendència general trobada anteriorment per a les distàncies M-L. Generalment però, la distància Co-C pren

valors més grans en els quartets de Co(II) que les presentades pels complexos de Co(I). A diferència d'aquests, en aquests complexos de Co(II) l'enllaç C–H del qual s'ha transferit l'H presenta un valor d'espín superior, entre 0.56 i 0.66, així com una lleugera càrrega positiva. En quant a la resta de distàncies M–L, en general són similars o lleugerament més curtes que les dels estats triplets.

En general, les dues estructures pentacoordinades presenten un entorn de bipiràmide trigonal, mentre que la resta, tetracoordinades, mostren un entorn pla quadrat (un poc distorsionat, però), d'acord amb la tendència a donar entorns octaèdrics.^{19,33,50–52}

Taula 4.2.6. Energies relatives B3LYP/b1 referides a la conformació **CoK1_Q** amb correccions de punt zero en kcal mol⁻¹ (entre parèntesi, referides a la forma **CoK1_Q-Hδ**) dels complexos [H–Co–(lisina–H)]²⁺, en estat quartet. Població NPA dels orbitals 4s i 3d del metall, càrrega i espín (NPA) del Co, així com del C i H units al catió.

| estructura | coord. | estat | energia relativa | població Co | | q (espín) | | |
|------------------|------------------|-------|---------------------|-------------|------|----------------|-----------------|----------------|
| | | | | 4s | 3d | Co | H | C–H |
| CoK1_Q-Hδ | Ni, Nt, Oc, C, H | 4A | 53.5 (0.0) | 0.40 | 7.44 | 1.13 (2.05) | 0.00 (0.04) | 0.15 (0.66) |
| CoK1_Q-Hγ | Ni, Nt, Oc, C, H | 4A | 57.2 (3.7) | 0.41 | 7.42 | 1.14 (2.02) | -0.01 (0.11) | 0.10 (0.64) |
| CoK3_Q-Hδ | Ni, Oc, C, H | 4A | 73.7 (20.2) | 0.39 | 7.39 | 1.19 (2.02) | 0.01 (0.19) | 0.08 (0.62) |
| CoK2_Q-Hδ | Ni, Nt, C, H | 4A | 74.7 (21.2) | 0.43 | 7.39 | 1.15 (2.09) | -0.05 (0.21) | 0.15 (0.57) |
| CoK4_Q-Hδ | Ni, Nt, C, H | 4A | 76.8 (23.3) | 0.43 | 7.39 | 1.15 (2.11) | -0.06 (0.20) | 0.15 (0.56) |

Per al catió Co(II), l'estructura més estabilitzada correspon a l'estructura pentacoordinada **CoK1_Q-Hδ**, seguida de la forma homòloga amb l'Hγ transferit. El fet que la resta d'estructures es troben a més de 20 kcal mol⁻¹ per sobre

d'aquesta indica la tendència d'aquest catió a augmentar al màxim el nombre de coordinació al seu voltant. La interacció del Co(II) amb un H i el lligand lisina-H però, és molt desfavorable comparat amb el Co(I), donant estructures molt desestabilitzades respecte l'estructura fonamental **CoK1_Q** (entre 53.5 i 76.8 kcal mol⁻¹). De fet, en aquests complexos el Co(II) es redueix a Co(I) (la càrrega sobre aquest pren valors propers a 1), oxidant-se el lligand lisina-H. Aquesta reducció del catió metàl·lic comporta una disminució en la magnitud de la interacció M-L. El fet que es troben a energies relatives tan elevades porta a desestimar-los com a peces importants en les fragmentacions del complex Co(II)-lisina en experiments de masses.

4.3. CONCLUSIONS

- El Co(I), en estat triplet i singlet, afavoreix preferentment una estructura on el Co presenta el major nombre possible de coordinació: dos per a la glicina (**CoG1**, N,O), tres (**CoK1**, N,N,O) per a la lisina. En ambdós casos l'estat fonamental correspon a l'estat triplet. Tot i l'augment del nombre de coordinació del Co(I) no s'observa una disminució significativa de la diferència singlet-triplet.
- En el cas del Co(II), la major interacció electrostàtica existent en les complexacions derivades de la forma zwitteriònica, juntament amb una certa transferència de càrrega, determina que la coordinació del catió amb aquesta forma de la glicina (**CoG4b_Q**, (O,O⁻)) siga la més estable, concretament en l'estat ⁴A". En el cas de la lisina però, la coordinació de la cadena lateral al Co(II) origina que en l'estructura fonamental del Co(II)-lisina (N_i,N_i,O) la lisina es trobe en la seua forma neutra. La major interacció electrostàtica i menor deformació existent en aquesta estructura no compensa la interacció del Co(II) amb el zwitterió, sent aquestes estructures menys estables.
- La coordinació de la cadena lateral de la lisina al Co(I) i Co(II) comporta un augment de l'afinitat catiònica d'aquest aminoàcid pel cobalt respecte la glicina de 31.9 kcal mol⁻¹ per al Co(I) i 73.8 kcal mol⁻¹ per al Co(II).
- Per als complexos de Co(I) i Co(II) amb lisina s'observa l'establiment, no gaire habitual en aquest tipus de sistemes, d'interaccions agòstiques (generalment de tipus δ) entre un enllaç σ C-H de la lisina i el catió.
- La migració de l'H pertanyent a l'enllaç que estableix la interacció agòstica al catió Co(I) condueix a estructures menys estables que la conformació fonamental del sistema Co(I)-lisina. Aquestes estructures [H-Co-(lisina-H)]⁺

però, esdevenen força estables per l'estat singlet, produint-se una inversió de multiplicitats, sent el complex més estable una forma pentacoordinada amb l'H γ interaccionant amb el catió Co(I) 1G (**CoK1_S-H γ**).

- Per al Co(II), per al qual s'obtenen estructures [H-Co-(lisina-H)]²⁺ molt inestables, l'estructura més estabilitzada correspon al complex pentacoordinat de tipus bipiràmide trigonal **CoK1_Q-H δ** . Donada la gran desestabilització dels complexos de tipus [H-Co-(lisina-H)]²⁺ no és d'esperar llur intervenció en la fragmentació del sistema Co(II)-lisina en experiments d'espectrometria de masses.
- L'ús del mètode B3LYP permet l'obtenció de bons resultats en aquests sistemes de capa oberta comparats amb els resultats CCSD(T). Tot i això, cal tindre en compte que la complexació del cations divalents de capa oberta condueix a sistemes amb deslocalització de càrrega i espín, els quals es troben lleugerament sobreestabilitzats pel DFT. Tot i que el valor de l'energia d'interacció del Co(II)-glicina a nivell B3LYP només es desvia un 7% del valor CCSD(T), l'error es pot disminuir augmentant el bescanvi exacte en el funcional.

BIBLIOGRAFIA

- (1) Barone, V.; Adamo, C.; Lelj, F. *J. Chem. Phys.* **1995**, *102*, 364.
- (2) Bonaccorsi, R. P., P.; Tomasi, J. *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 1945-1950.
- (3) Császár, A. G. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 9568-9575.
- (4) Stepanian, S. G. R., I. D.; Radchenko, E. D.; Rosado, M. T. S.; Duarte, M. L. T. S.; Fausto, R.; Adamowicz, L. *J. Phys. Chem. A* **1998**, *102*, 1041.
- (5) Hoyau, S.; Ohanessian, G. *Chem. Eur. J.* **1998**, *4*, 1561.
- (6) Bertrán, J.; Rodríguez-Santiago, L.; Sodupe, M. *J. Phys. Chem. B* **1999**, *103*, 2310.
- (7) Marino, T.; Russo, N.; Toscano, M. *J. Inorg. Biochem.* **2000**, *79*, 179.
- (8) Pulkkinen, S.; Noguera, M.; Rodríguez-Santiago, L.; Sodupe, M.; Bertrán, J. *Chem. Eur. J.* **2000**, *6*, 4393.
- (9) Rogalewicz, F.; Ohanessian, G.; Gresh, N. *J. Comput. Chem.* **2000**, *21*, 963.
- (10) Strittmatter, E. F.; Lemoff, A. S.; Williams, E. R. *J. Phys. Chem. A* **2000**, *104*, 9793.
- (11) Hoyau, S.; Pélicier, J.-P.; Rogalewicz, F.; Hoppilliard, Y.; Ohanessian, G. *Eur. J. Mass Spectrom.* **2001**, *7*, 303.
- (12) Rogalewicz, F.; Hoppilliard, Y.; Ohanessian, G. *Int. J. Mass Spectrom.* **2001**, *206*, 45.
- (13) Marino, T.; Russo, N.; Toscano, M. *J. Mass Spectrom.* **2002**, *37*, 786.
- (14) Shoeib, T.; Siu, K. W. M.; Hopkinson, A. C. *J. Phys. Chem. A* **2002**, *106*, 6121.
- (15) Wong, C. H. S.; Siu, F. M.; Ma, N. L.; Tsang, C. W. *Journal of Molecular Structure (Theochem)* **2002**, *588*, 9.
- (16) Ai, H.; Bu, Y.; Han, K. *J. Chem. Phys.* **2003**, *118*, 10973.
- (17) Ai, H.; Bu, Y.; Li, P. *Int. J. of Quantum Chem.* **2003**, *94*, 205.
- (18) Selvarengan, P.; Kolandaivel, P. *Int. J. of Quantum Chem.* **2005**, *102*, 427.
- (19) Marino, T.; Toscano, M.; Russo, N.; Grand, A. *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 24666.
- (20) Remko, M.; Rode, B. M. *J. Phys. Chem. A* **2006**, *110*, 1960.
- (21) Spezia, R.; Tournois, G.; Cartailier, T.; Tortajada, J.; Jeanvoine, Y. *J. Phys. Chem. A* **2006**, *110*, 9727.
- (22) Jensen, J. H.; Gordon, M. S. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 8159.
- (23) Hoyau, S.; Ohanessian, G. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 2016.
- (24) Rodríguez-Santiago, L.; Sodupe, M.; Tortajada, J. *J. Phys. Chem. A* **2001**, *105*, 5340.
- (25) Hoyau, S.; Ohanessian, G. *Chem. Phys. Lett.* **1997**, *280*, 266.
- (26) Shoeib, T.; Rodríguez, C. F.; Siu, K. W. M.; Hopkinson, A. C. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2001**, *3*, 853.
- (27) Rodríguez-Santiago, L.; Sodupe, M.; Oliva, A.; Bertran, J. *J. Phys. Chem. A* **2000**, *104*, 1256.

- (28) Jensen, J. H.; Gordon, M. S. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 7917.
- (29) Lejl, F.; Adamo, C.; Barone, V. *Chem. Phys. Lett.* **1994**, *230*, 189.
- (30) Kaschner, R.; Hohl, D. *J. Phys. Chem. A* **1998**, *102*, 5111.
- (31) Pacios, L. F.; Gómez, P. C. *J. Comput. Chem.* **2001**, *22*, 702.
- (32) Pacios, L. F.; Gálvez, O.; Gómez, P. C. *J. Phys. Chem. A* **2001**, *105*, 5232.
- (33) Sigel, A.; Sigel, H. *Probing of proteins by metal ions and their low-molecular-weight complexes*; Marcel Dekker, Inc.: New York, 2001; Vol. 38.
- (34) Bliznyuk, A. A.; Schaefer III, H. F.; Amster, I. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 5149.
- (35) Maksic, Z. B.; Kovacevic, B. *Chem. Phys. Lett.* **1999**, *307*, 497.
- (36) Brookhart, M.; Green, M. L. H. *J. Organomet. Chem.* **1983**, *250*, 395.
- (37) Trofimenko, S. *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, *89*, 6288.
- (38) Trofimenko, S. *J. Am. Chem. Soc.* **1968**, *90*, 4754.
- (39) Cotton, F. A.; LaCour, T.; Stanislawski, A. G. *J. Am. Chem. Soc.* **1974**, *96*, 754.
- (40) Butts, M. D.; Bryan, J. C.; Luo, X.-L.; Kubas, G. *Inorg. Chem.* **1997**, *36*, 3341.
- (41) Nikonov, G. I.; Mountford, P.; Ignatov, S. K.; Gree, J. C.; Leech, M. A.; Kuzmina, G. L.; Razuvaev, A. G.; Rees, N. H.; Blake, A. J.; Howard, J. A. K.; Lemenovskii, D. A. *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **2001**, 2903.
- (42) Corral, I.; Mó, O.; Yáñez, M. *New J. Chem.* **2003**, *27*, 1657.
- (43) Corral, I.; Mó, O.; Yáñez, M. *J. Phys. Chem. A* **2003**, *107*, 1370.
- (44) Corral, I.; Mó, O.; Yáñez, M. *Int. J. Mass Spectrom.* **2003**, *227*, 401.
- (45) Corral, I.; Mó, O.; Yáñez, M. *Theor. Chem. Acc.* **2004**, *112*, 298.
- (46) Corral, I.; Mó, O.; Yáñez, M. *J. Phys. Org. Chem.* **2006**, *19*, 495.
- (47) Corral, I.; Mó, O.; Yáñez, M. *Int. J. Quantum Chem.* **2004**, *106*, 659.
- (48) Besora, M. In *Departament de Química*; Universitat Autònoma de Barcelona: Bellaterra, 2005, p 203.
- (49) Sodupe, M.; Bauschlicher, C. W. J.; Langhoff, S. R.; Partridge, H. *J. Phys. Chem.* **1992**, *96*, 2118.
- (50) Wilkins, P. C.; Wilkins, R. G. *Inorganic chemistry in biology*; Oxford University Press, 1997.
- (51) Huheey, J. E.; Keiter, E. A.; Keiter, R. L. *Inorganic Chemistry: Principles of Structure and Reactivity, Fourth Edition*; HarperCollins College Publishers: New York, 1993.
- (52) Reiter, A.; Adams, J.; Zhao, H. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 7827.

5. ELS CATIONS DE COBALT I LES OLIGOGLICINES

L'estudi dels complexos Co-glicina permet conèixer factors bàsics de la interacció entre els cations de cobalt i els grups funcionals d'un aminoàcid, $-NH_2$ i $-COOH$. La incorporació d'una cadena lateral bàsica en el C_{ω} , com la de la lisina, aporta una informació suplementària sobre l'efecte de la cadena en la coordinació amb el catió. A partir d'aquest punt, una via que es podria seguir seria l'estudi de la influència del tipus de cadena en la interacció M-aminoàcid; o, també, l'estudi de la interacció entre aquests cations i oligopèptids, ja que permet determinar la variació de l'entorn de coordinació del cobalt, els factors que regeixen la interacció M-L o l'efecte de l'estat d'oxidació del cobalt a mesura que augmenta la llargada del pèptid. Quan l'aminoàcid és la glicina però, la consideració d'aquests sistemes anteriors possibilita l'estudi de la interacció de cations metàl·lics amb el propi esquelet peptídic. És aquesta via l'escollida en aquest capítol. Així, en aquests paràgrafs es pretén donar una

visió de les diferències observades en la coordinació de tres oligoglicines neutres, diglicina (GG), triglicina (GGG) i tetraglicina (GGGG), als cations Co(I) i Co(II) i avaluar l'efecte de la cationització sobre l'enllaç peptídic (C_p-N_p).

La selecció dels complexos inicials a tindre en compte s'ha realitzat en base a dos criteris: d'una banda, una cerca conformacional dels sistemes $Li(I)-NH_2-CH_2-(CO-NH)_n-CH_2-COOH$, on $n=1-3$; d'una altra, s'han considerat altres estructures químicament importants i no obtingudes en la cerca anterior. Per a cada cas s'ha estudiat la coordinació dels cations Co(I) i Co(II) a la conformació fonamental, neutra, de cada oligoglicina (*cf.* Figura 5.1), conformacions obtingudes amb una anàlisi conformacional i optimitzades posteriorment al nivell de càlcul B3LYP/b1. Per homogeneïtat, i pels bons resultats obtinguts en els capítols anteriors, el mètode de càlcul emprat és el B3LYP amb la base b1.

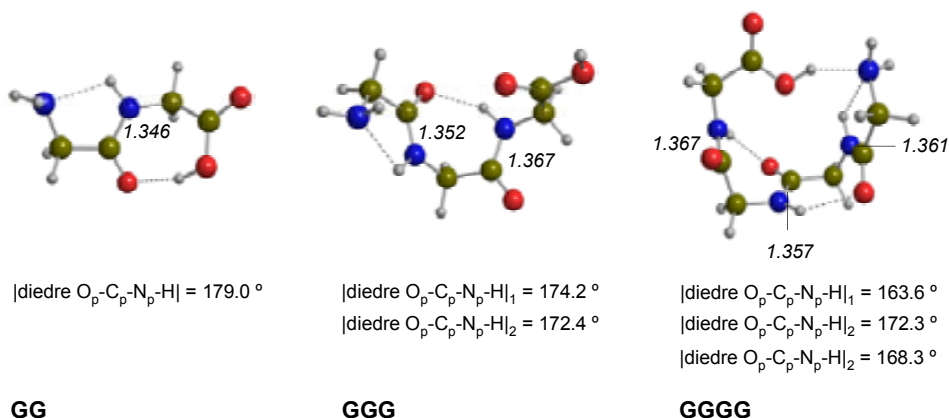


Figura 5.1. Conformacions més estables a nivell B3LYP/b1 de les oligoglicines estudiades. S'indiquen també els valors de les distàncies (Å) i angles diedres dels enllaços peptídics.

5.1. EL Co(I) I LES OLIGOGLICINES

L'apartat de calibratge del mètode i el capítol anterior mostren una estabilització creixent dels estats singlets del Co(I) a l'augmentar el nombre de centres coordinats al catió. Contràriament, els estats quintuplets, derivats de la configuració $3d^7 4s^1$, presenten la tendència oposada: apareixen a energies cada

vegada superiors respecte els triplets. Per aquest motiu, en l'estudi de la interacció de les oligoglicines amb el Co(I) només s'han considerat els estats singlets i triplets, derivats de la configuració d⁸.

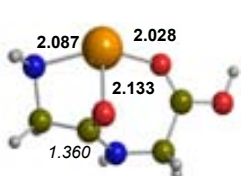
La presència creixent de centres bàsics en les oligoglicines més grans estableix una competició cada vegada superior entre complexos amb un major nombre de coordinació i les formes amb els lligands zwitterònics, menys saturades coordinativament. Aquest fet comporta una creixent estabilització de les formes més coordinades, trobant-se les zwitteròniques, cada vegada més elevades en energia. Donat que aquest efecte ja s'observa en la GG, aquestes estructures derivades de la interacció amb els zwitterions no s'han tingut en compte en la coordinació del catió Co(I) a la triglicina i tetraglicina. L'estudi amb la GG també ha permès, a més, descartar les conformacions *cis* de l'enllaç peptídic en l'estudi amb les altres dues oligoglicines, ja que resulten menys afavorides que els complexos anàlegs en *trans*. Tot i això, nombroses són les coordinacions calculades, diferents els nombres de coordinació (des de dos fins a quatre) i diferents els centres bàsics coordinats al Co. Com a criteris de selecció dels complexos inclosos en la discussió d'aquest capítol s'han considerat l'energia relativa de cada conformació, així com el tipus d'entorn de coordinació.

En quant a la nomenclatura emprada, **CoPm_A, P** fa referència a l'oligopèptid considerat en cada cas (GG (diglicina), GGG (triglicina) o GGGG (tetraglicina), **m** a la posició d'estabilitat energètica que ocupa una coordinació donada en l'estat triplet i **A** a la multiplicitat d'espín (**T** (triplet) o **S** (singlet)). Seguint la nomenclatura convencional emprada en els pèptids, els enllaços peptídics es numeren a partir de l'extrem N terminal. Per al N i l'O d'aquest enllaç s'empra la nomenclatura N_p i O_p respectivament. Per simplificació, els resultats obtinguts per als estats triplets i singlets es presentaran separatament, iniciant la discussió pels estats triplets.

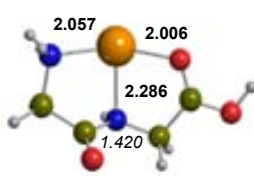
5.1.1. ESTATS TRIPLETS

Les coordinacions escollides per als sistemes Co(I)-GG/GGG/GGGG, amb llurs paràmetres geomètrics més importants, es presenten en la Figura 5.1.1.

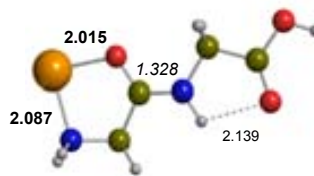
a) CoGG_T



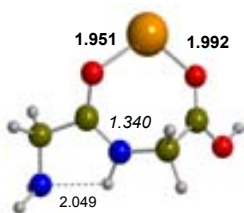
CoGG1_T 0.0 (0.0)



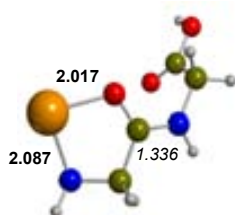
CoGG2_T 2.0 (1.6)



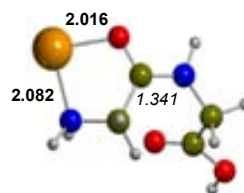
CoGG3_T 3.3 (1.4)



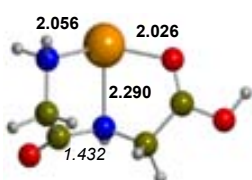
CoGG4_T 5.0 (4.0)



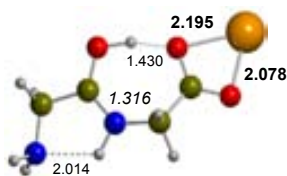
CoGG5_T 5.1 (3.7)



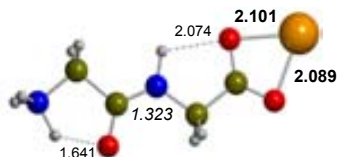
CoGG6_T 7.2 (5.8)



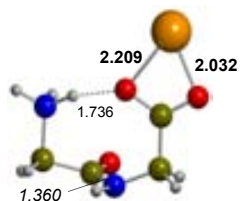
CoGG7_T 8.3 (7.9)



CoGG8_T 16.2 (14.9)

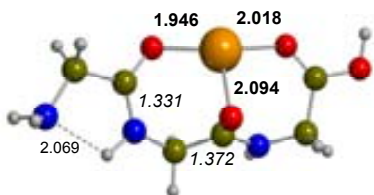


CoGG9_T 20.4 (18.8)

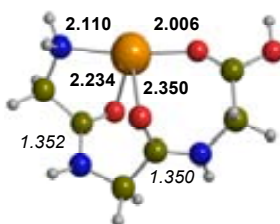


CoGG10_T 25.3 (24.4)

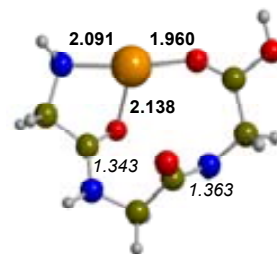
b) CoGGG_T



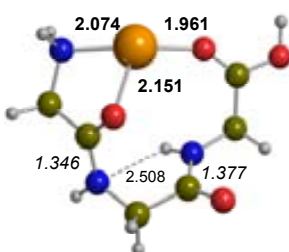
CoGGG1_T 0.0 (0.0)



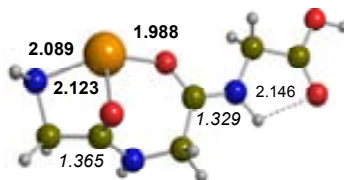
CoGGG2_T 1.2 (2.0)



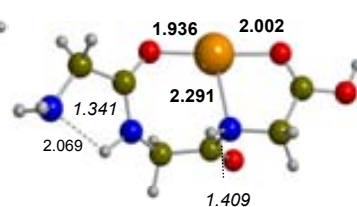
CoGGG3_T 1.8 (1.6)



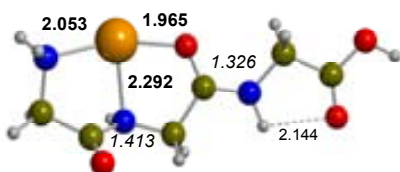
CoGGG4_T 4.1 (4.0)



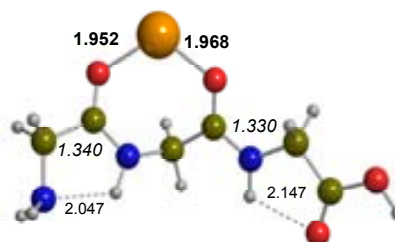
CoGGG5_T 4.5 (4.4)



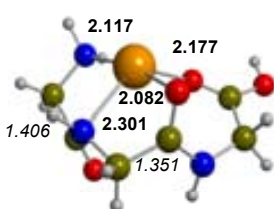
CoGGG6_T 4.9 (4.6)



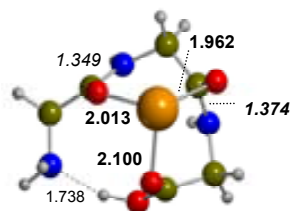
CoGGG7_T 5.5 (4.7)



CoGGG8_T 8.7 (7.6)



CoGGG9_T 9.3 (9.8)



CoGGG10_T 14.9 (15.3)

c) CoGGGG_T

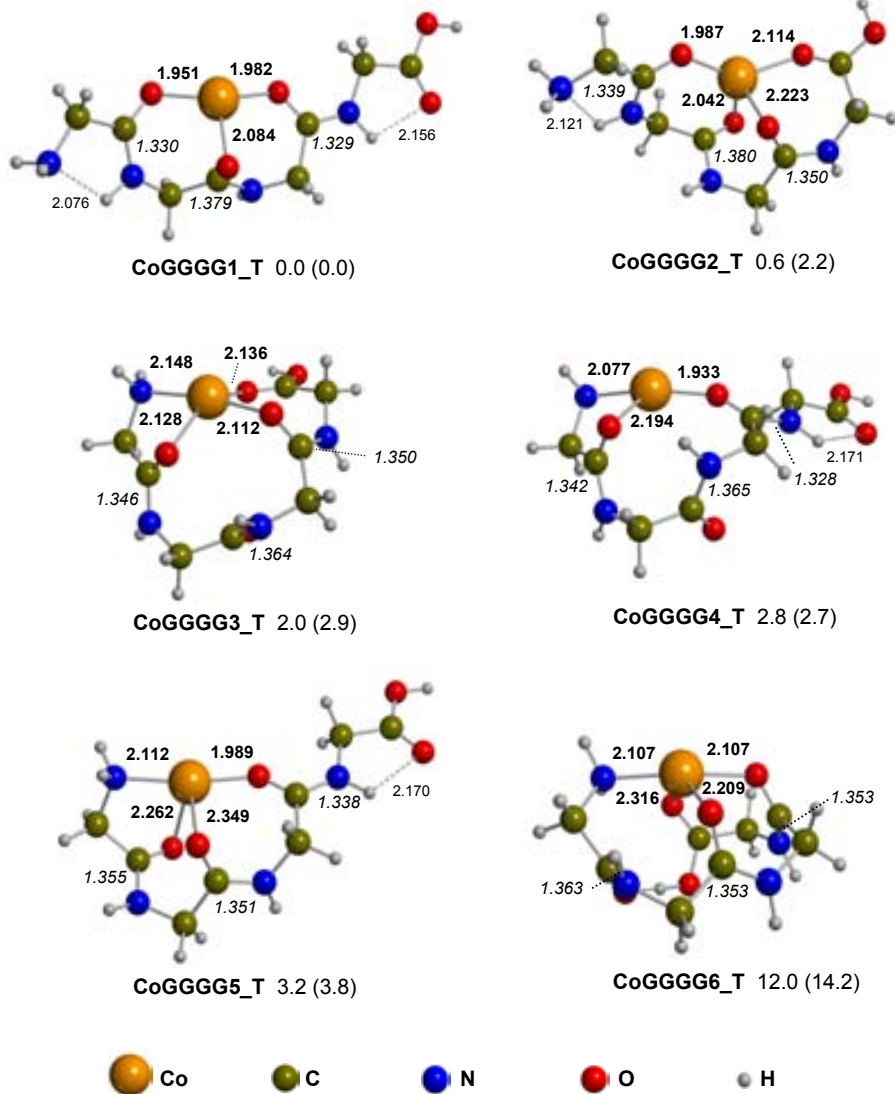


Figura 5.1.1. Estructures B3LYP/b1 considerades en la interacció del $\text{Co(I)}^{3\text{F}}$ amb la diglicina (a), triglicina (b) i tetraglicina (c). En negreta, distàncies M-L (Å); en cursiva, distàncies de l'enllaç peptídica (Å). A més, s'inclou l'energia relativa amb correcció de punt zero (ΔG_{298}^0 entre parèntesi), en kcal mol⁻¹, al mateix nivell de càlcul.

En els lligands estudiats (i quan la llargada de l'oligoglicina ho permet), el $\text{Co(I)}^{3\text{F}}$ tendeix a envoltar-se de 3 o 4 centres bàsics, donant estructures molt estables.

Fent una ullada als valors de les distàncies M-L s'observa que aquests depenen força del tipus d'entorn de coordinació: dels centres bàsics participants i llur disposició al voltant del catió. En general però, amb alguna excepció per al sistema Co(I)-GGGG, dins d'un mateix complex les distàncies M-L dels centres que ocupen posicions axials solen ser més curtes (*cf.* estructura **CoGGG2_T** de la figura anterior). Una altra tendència és l'allargament generalitzat de les distàncies M-L en augmentar el nombre de coordinació al voltant del Co(I), ja que costa més acomodar els centres al seu voltant. Aquest fet s'observa sobretot en el paràmetre $d_{\text{Co-OC}}$ (O carbonílic del grup COOH), allargant-se gairebé sempre les distàncies metall-ligand (per exemple, aquesta distància és de 2.028 Å per a la **CoGG1_T**, 2.117 Å per a la **CoGGG9_T** i 2.114 Å per a la **CoGGGG4_T**).

La participació de l'enllaç peptídic en la coordinació metal·lica en gairebé totes les estructures estudiades indueix canvis geomètrics, apreciables sobretot en la distància C_p-N_p , així com en el diedre $O_p-C_p-N_p-H$. Aquests valors es presenten en la Taula 5.1.1, juntament amb l'energia relativa (amb correcció de punt zero), la càrrega i l'espín sobre el Co. L'efecte és més important quan la metal·lació té lloc sobre el N_p : l'enllaç peptídic s'allarga (entre 0.042 i 0.086 Å) i el diedre s'allunya més del valor observat en el lligand lliure (*cf.* Figura 5.1), podent arribar a variacions d'uns 34°. Per tal de maximitzar la interacció M- N_p el catió interacciona amb la forma ressonant neutra (A) de l'enllaç peptídic, allargant-se (*cf.* Esquema 1.2.2 de la Introducció). De fet, la càrrega sobre el N_p interaccionant (entre -0.74 i -0.77) es troba entre els valors observats per al grup amino (~-0.90) i els observats per al NH de l'enllaç no interaccionant (~-0.60).

Taula 5.1.1. Energies relatives B3LYP/b1 amb correcció de punt zero (ΔG_{298}^0 entre parèntesi), en kcal mol⁻¹, dels complexos Co(l)-oligoglicina en estat triplet (T) estudiats. S'inclou la càrrega i l'espín (NPA) sobre el Co i la variació de l'enllaç peptídica ($\Delta r_n = \Delta r(C_p-N_p) = r_{C_p-N_p}(Co-L) - r_{C_p-N_p}(L)$) en els complexos Co(l)-(glicil)_nglicina, n=1-3, en Å. En gris i destacat, allargament de l'enllaç peptídica quan l'O_p interacciona amb el catió.

| conf. | coord. | energia relativa | q(Co) (1.00) | s (Co) (2.00) | Δr_1 | Δr_2 | Δr_3 |
|----------------|---|------------------|-----------------|------------------|--------------|--------------|--------------|
| CoGG1_T | N _t ,O _p ,O _c | 0.0 (0.0) | 0.90 | 1.96 | 0.014 | | |
| CoGG2_T | N _t ,N _p ,O _c | 2.0 (1.6) | 0.77 | 1.94 | 0.074 | | |
| CoGG3_T | N _t ,O _p | 3.3 (1.4) | 0.86 | 1.94 | -0.018 | | |
| CoGG4_T | O _p ,O _c | 5.0 (4.0) | 0.90 | 1.95 | -0.006 | | |
| CoGG5_T | N _t ,O _p | 5.1 (3.7) | 0.87 | 1.94 | -0.010 | | |
| CoGG6_T | N _t ,O _p | 7.2 (5.8) | 0.86 | 1.94 | -0.005 | | |
| CoGG7_T | N _t ,N _p ,O _c | 8.3 (7.9) | 0.79 | 1.93 | 0.086 | | |
| CoGG8_T | O, O ⁻ | 16.2 (14.9) | 0.87 | 1.96 | -0.030 | | |
| CoGG9_T | O, O ⁻ | 20.4 (18.8) | 0.84 | 1.94 | -0.023 | | |
| CoGG10_T | O, O ⁻ | 25.3 (24.4) | 0.85 | 1.95 | 0.014 | | |
| CoGGG1_T | O _{p1} ,O _{p2} ,O _c | 0.0 (0.0) | 0.95 | 1.98 | -0.021 | 0.005 | |
| CoGGG2_T | N _t ,O _{p1} ,O _{p2} ,O _c | 1.2 (2.0) | 0.85 | 1.94 | 0.000 | -0.017 | |
| CoGGG3_T | N _t ,O _{p1} ,O _c | 1.8 (1.6) | 0.84 | 1.96 | -0.009 | -0.004 | |
| CoGGG4_T | N _t ,O _{p1} ,O _c | 4.1 (4.0) | 0.80 | 1.93 | -0.012 | -0.001 | |
| CoGGG5_T | N _t ,O _{p1} ,O _{p2} | 4.5 (4.4) | 0.92 | 1.97 | 0.013 | -0.038 | |
| CoGGG6_T | O _{p1} ,N _{p2} ,O _c | 4.9 (4.6) | 0.82 | 1.94 | -0.011 | 0.042 | |
| CoGGG7_T | N _t ,N _{p1} ,O _{p2} | 5.5 (4.7) | 0.75 | 1.94 | 0.061 | -0.041 | |
| CoGGG8_T | O _{p1} ,O _{p2} | 8.7 (7.6) | 0.87 | 1.94 | -0.012 | -0.037 | |
| CoGGG9_T | N _t ,N _{p1} ,O _{p2} ,O _c | 9.3 (9.8) | 0.88 | 1.95 | 0.054 | -0.016 | |
| CoGGG10_T | O _{p1} ,O _{p2} ,O _c | 14.9 (15.3) | 1.03 | 1.99 | -0.003 | 0.007 | |
| CoGGGG1_T | O _{p1} ,O _{p2} ,O _{p3} | 0.0 (0.0) | 0.97 | 1.99 | -0.031 | 0.022 | -0.038 |
| CoGGGG2_T | O _{p1} ,O _{p2} ,O _{p3} ,O _c | 0.6 (2.2) | 1.07 | 2.03 | -0.022 | 0.023 | -0.017 |
| CoGGGG3_T | N _t ,O _{p1} ,O _{p3} ,O _c | 2.0 (2.9) | 0.85 | 1.92 | -0.015 | 0.007 | -0.017 |
| CoGGGG4_T | N _t ,O _{p1} O _{p3} | 2.8 (2.7) | 0.80 | 1.94 | -0.019 | 0.008 | -0.039 |
| CoGGGG5_T | N _t ,O _{p1} ,O _{p2} ,O _{p3} | 3.2 (3.8) | 0.80 | 1.94 | -0.006 | -0.006 | -0.029 |
| CoGGGG6_T | N _t ,O _{p2} ,O _{p3} ,O _c | 12.0 (14.2) | 0.85 | 1.91 | 0.002 | -0.004 | -0.014 |

Quan la metal·lació té lloc sobre l'O peptídica s'observen dos tipus d'activació de l'enllaç C_p-N_p diferenciats: d'una banda, s'escurça lleugerament (fins un màxim de 0.039 Å) si la interacció té lloc entre els parells no enllaçants de l'O i els orbitals d del cobalt, ja que s'està afavorint la forma ressonant B (zwitteriònica); de l'altra, s'allarga molt lleugerament fins un màxim de 0.023 Å (marcat en gris en la Taula 5.1.1) quan la interacció té lloc entre els electrons π de l'enllaç $C_p=O_p$ i els orbitals d del cobalt. Aquesta situació és la que es troba en estructures tricoordinades amb un entorn de tipus T o Y (**CoGG1_T** i **CoGGG5_T** (primer enllaç peptídica), **CoGGG1_T** i **CoGGGG1_T** (segon enllaç peptídica)). Però també en alguna estructura tetracoordinada com la **CoGGGG2_T** (segon enllaç peptídica).

Tot i que l'enllaç peptídica pot adoptar dues conformacions, *trans* o *cis*, els complexos que presenten la primera resulten més estables. No és il·lògic tenir en compte que es tracta de la conformació trobada habitualment en pèptids sense cationitzar. Dels dos centres bàsics d'aquest enllaç, el Co(I) en estat triplet prefereix interaccionar amb l' O_p , donant lloc a conformacions més estabilitzades que les anàlogues amb la interacció a través del N_p . És el que té lloc en parells d'estructures com **CoGG1_T** (N_t, O_p, O_c) / **CoGG2_T** (N_t, N_p, O_c), on la segona es troba 2.0 kcal mol⁻¹ per sobre de la primera, o **CoGGG1_T** (O_{p1}, O_{p2}, O_c) / **CoGGG6_T** (O_{p1}, N_{p2}, O_c) (4.9 kcal mol⁻¹ menys estable que l'homòloga). La interacció del Co(I) amb els O_p provoca la formació d'anells de cinc (amb el N terminal) i set baules (amb algun altre O). La formació dels primers és molt favorable (recordem que es tracta de la coordinació més estabilitzada del sistema Co(I)-G i que apareix en l'estructura més estable del Co(I)-K) i freqüent en pèptids metal·lats.¹ La combinació d'aquests anells (juntament amb d'altres de cinc amb el N_p), condueix a entorns de coordinació de tipus T o Y en estructures tridentades i de tipus papallona en les tetracoordinades; entorns sovint distorsionats.

L'allargament del pèptid permet trobar més conformacions en un rang d'energia determinat, per exemple, 3 kcal mol⁻¹, dificultant en ocasions l'assignació d'una única estructura com a coordinació fonamental. Així, la interacció del Co(I) ³F amb la GG i la GGG genera una conformació fonamental per a cada oligoglicina, tricoordinada en els dos casos: **CoGG1_T** (N_t,O_p,O_c) i **CoGGG1_T** (O_{p1},O_{p2},O_c). Només quan interacciona amb la GGGG però, es troba una estructura amb coordinació 4 (**CoGGGG2_T** (O_{p1},O_{p2},O_{p3},O_c), 0.6 kcal mol⁻¹) gairebé degenerada amb una de tricoordinada, **CoGGGG1_T** (O_{p1},O_{p2},O_c) (0.0 kcal mol⁻¹): l'augment de la llargada de l'oligopèptid no sempre condueix al nombre de coordinació màxim possible per a cada lligand, el qual sol ser sempre 3. Aquestes conformacions mostren una certa tendència del Co(I) ³F a coordinar els àtoms d'O, tendència més visible a mesura que la cadena peptídica creix. La competició entre les estructures més estables també és observada en els sistemes Ag(I)/Cu(I)-oligoglicina, tot i que tots dos generen entorns de coordinació diferents. Per al primer, la competència s'estableix entre dues conformacions amb diferent nombre de coordinació: 2 i 3 per a la GG (de tipus N_t,O_p i N_t,O_p,O_c) i 3 i 4 per a la GGG (O_{p1},O_{p2},O_c i N_t,O_{p1},O_{p2},O_c).² Per al segon, el Cu(I), amb tendència a donar entorns de coordinació lineals, la competència es dona amb el tipus d'àtoms coordinats al catió: N_t,O_c-O_p,O_c per a la GG, O_{p1},O_c-N_t,O_c (per a la GGG) i O_{p1},O_{p3}-N_t,O_{p3} per a la GGGG.²⁻⁴

Tot i que un model d'interacció Co(I)-oligoglicina basat únicament en els termes energia de deformació (E_{def}) i energia electrostàtica i de polarització (E_{el+pol}) no descriu correctament les energies relatives de les diferents estructures, permet l'obtenció d'informació valuosa. En la Figura 5.1.2 es representen gràficament aquests termes en funció del nombre de coordinació i de la llargada de l'oligopèptid.

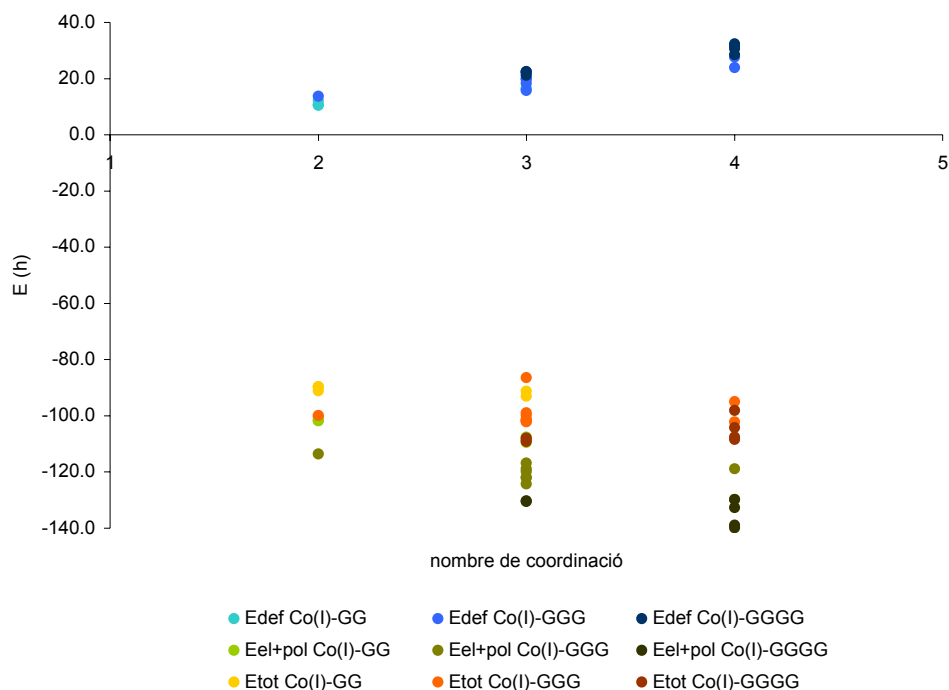


Figura 5.1.2. Energia de deformació (E_{def}), energia electrostàtica i de polarització (E_{el+pol}) i energia total (E_{tot}) en funció del nombre de coordinació.

Malgrat la deformació superior del lligand en les formes més coordinades, la interacció electrostàtica entre aquest i el catió també augmenta, podent compensar el cost energètic de deformació. En general, per a un mateix nombre de coordinació, aquests dos factors esdevenen més importants a mesura que augmenta la llargada de l'oligoglicina considerada, essent però l'augment de l'energia electrostàtica i de polarització superior a l'augment de l'energia de deformació. Aquest fet determina que, per a un mateix nombre de coordinació, l'energia total augmente amb el nombre de residus. Les deficiències mostrades per aquest model senzill podrien ser millorades avaluant factors com la repulsió de Pauli, la repulsió entre els centres coordinats al catió o l'efecte de la transferència de càrrega del lligand cap al catió. En aquest darrer cas la càrrega sobre el Co(I) no es manté constant, sinó que varia entre 0.13 i 0.28 unitats per

a un mateix oligopèptid: en general la càrrega sobre el Co es troba entre 0.75 i 1.07. Els valors més baixos, 0.75 i 0.77, s'observen en coordinacions tricoordinades on el Co interacciona amb un N_p i el grup NH₂ terminal, formant-se un anell de cinc més tensat (estructures **CoGGG7_T** i **CoGG2_T**); aquests valors indiquen una certa transferència de càrrega, que no va acompanyada d'una oxidació del lligand. Contràriament, els valors més elevats (propers a 1.00) solen trobar-se en estructures on el Co s'envolta del major nombre possible d'oxígens carbonílics. En aquests casos tampoc s'observa una oxidació de l'oligoglicina, localitzant-se l'espín majoritàriament sobre el centre metàl·lic.

De la mateixa manera que per al Co(I)-lisina (on els complexos derivats de la interacció amb el lligand zwitteriònic es troben més alts en energia, donada l'estabilització que té lloc de l'estructura tricoordinada **CoK1_T** (N_i,N_i,O_c)), l'augment de la interacció electrostàtica en les estructures més coordinades dels sistemes Co(I)-oligoglicines, juntament amb l'elevat cost de deformació que suposa passar de l'oligopèptid neutre a la seua forma zwitteriònica, origina que els complexos derivats d'estructures zwitteriòniques (**CoGG8_T**, **CoGG9_T** i **CoGG10_T**) es troben entre 16.2 i 25.3 kcal mol⁻¹ respecte la conformació fonamental.^a D'aquestes estructures, la més estable correspon a la **CoGG8_T**, singular per tenir lloc la protonació sobre l'O_p, i no sobre el NH₂. De fet, aquesta estructura resulta de la desprotonació espontània del COOH quan s'intenta calcular un complex amb aquest grup coordinat al Co(I).

En la Taula 5.1.2 es presenten les energies d'interacció de les conformacions més estables dels sistemes estudiats, juntament amb els valors publicats per a altres sistemes M-oligoglicina. Si considerem les conformacions més estables (amb igual nombre de coordinació, 3), l'afinitat catiònica (ΔH^0_{298}) pel Co(I) creix

^a Aquesta diferència energètica disminueix, per al Co(I)-glicina en estat triplet, al voltant de 5 kcal mol⁻¹.

amb el nombre de glicines que constitueixen l'oligopèptid: 86.5, 98.3 i 106.2 kcal mol⁻¹ per a la GG, GGG i GGGG respectivament. Tot i això, i com té lloc en els sistemes Cu(I)-GG/GGG/GGGG,⁴ l'increment d'energia d'interacció que suposa afegir una glicina a l'oligopèptid és cada vegada menor.

Taula 5.1.2. Energies d'interacció B3LYP/b1 (kcal mol⁻¹) de les dues conformacions més estables de cada sistema Co(I)-oligoglicina en estat triplet. **nc** fa referència al nombre de coordinació de cadascuna. A més, s'inclouen les energies d'interacció trobades a la literatura per a altres sistemes M(I)-GG/GGG/GGGG.

| | Co(I)-GG | | Co(I)-GGG | | Co(I)-GGGG | |
|-------------------------------------|----------|---------|-----------|----------|------------|-----------|
| | CoGG1_T | CoGG2_T | CoGGG1_T | CoGGG2_T | CoGGGG1_T | CoGGGG2_T |
| nc | 3 | 3 | 3 | 4 | 3 | 4 |
| D_e | 87.2 | 85.3 | 98.5 | 98.4 | 106.0 | 105.6 |
| D₀ | 85.7 | 83.8 | 97.7 | 96.5 | 106.0 | 105.4 |
| ΔH₂₉₈⁰ | 86.5 | 84.5 | 98.3 | 97.4 | 106.2 | 105.8 |
| ΔG₂₉₈⁰ | 76.8 | 75.2 | 87.9 | 86.0 | 98.6 | 96.4 |

| | M(I)-GG | | | M(I)-GGG | | M(I)-GGGG |
|-------------------------------------|--|-----------------------|-----------------------|---|------------------------|-------------------------|
| | Cu(I)-GG | Ni(I)-GG ³ | Ag(I)-GG ² | Cu(I)-GGG | Ag(I)-GGG ² | Cu(I)-GGGG ⁴ |
| nc | 2 | 3 | 2 | 2 | 4 | 2 |
| D_e | 87.5 ^{3,4} | 95.3 | | 97.1 ⁴ | | 104.7 |
| D₀ | 85.6 ^{3,4} | 93.4 | | 95.9 | | 104.4 |
| ΔH₂₉₈⁰ | 86.4 ^{3,4} 80.4 ² ^b 80.3 ² | 94.3 | 57.9 | 95.2 ² 94.8 ² 96.5 ⁴ | 64.6 | 104.4 |
| ΔG₂₉₈⁰ | 76.8 ^{3,4} | 84.2 | | 86.3 ⁴ | | 97.4 |

^b Els valors depenen del nivell de càlcul i de l'estructura considerada com a fonamental.

Representant l'afinitat catiònica de la conformació fonamental de cada sistema en funció del nombre de residus, n , i realitzant un ajust polinomial de tercer grau ($\Delta H_{298}^0 = -0.561n^3 + 3.0177n^2 + 7.4446n + 63.999$) s'observa que, per a $n=5$, l'afinitat catiònica ja no augmenta. És a dir, la pentaglicina presentaria una afinitat catiònica pel Co(I)^{3F} similar a la mostrada per la tetraglicina. Aquesta variació s'observa en la Figura 5.1.3.

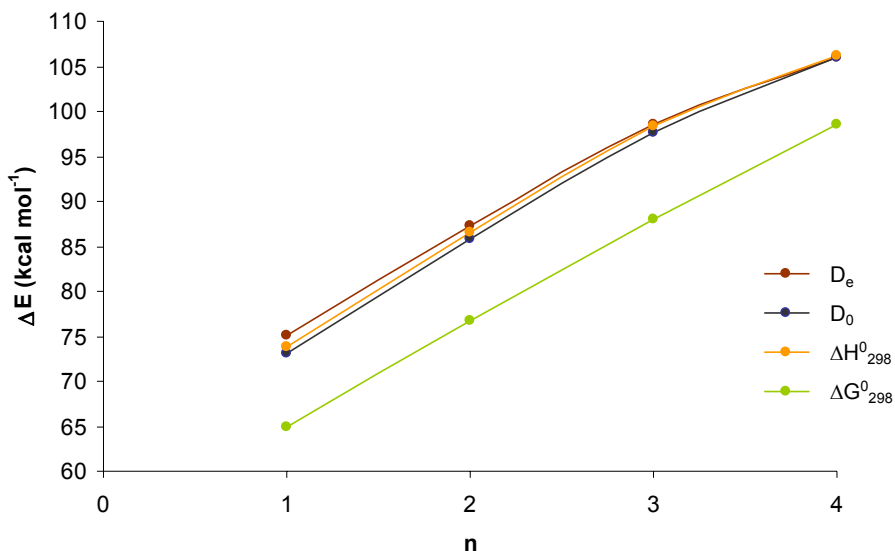


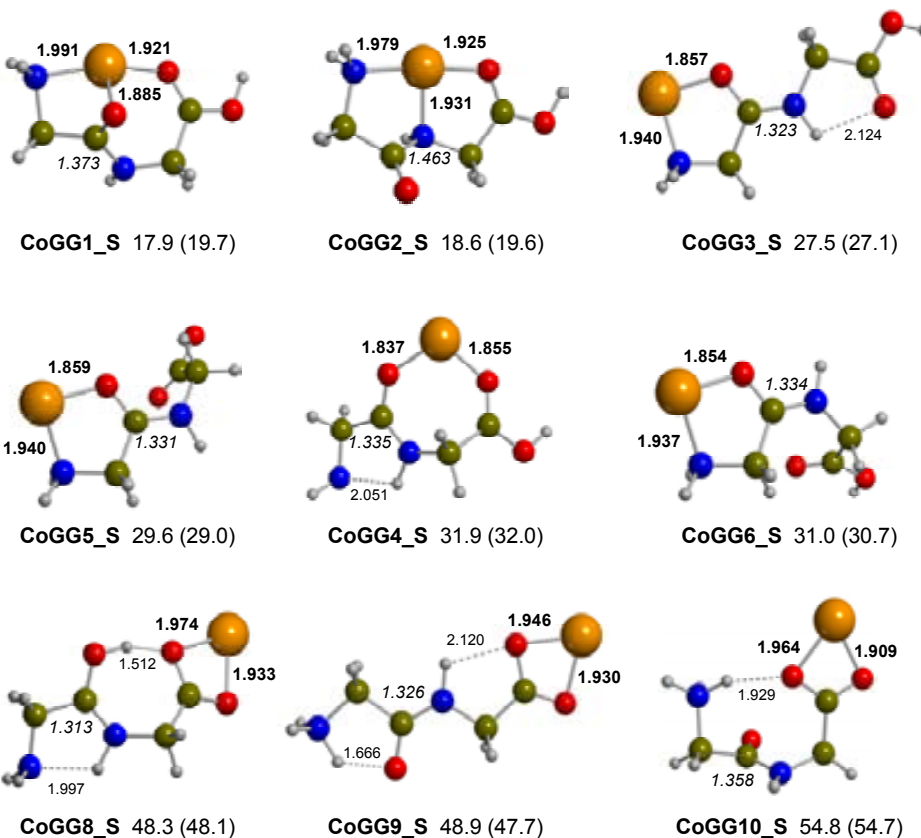
Figura 5.1.3. Variació de l'energia d'interacció en funció del nombre de residus de glicina que constitueixen l'oligopèptid.

La comparació d'energies d'interacció en sistemes $M(\text{I})$ -oligoglicina ($M=\text{Cu}$, Ni , Co , Ag) porta a retrobar la tendència establerta per a la glicina i per a altres lligands com l'aigua,⁵⁻¹⁰ l'amoníac^{10,11} o l'adenina:¹² $\Delta H_{298}^0 \text{Ag(I)} < \Delta H_{298}^0 \text{Cu(I)} \sim \Delta H_{298}^0 \text{Co(I)} < \Delta H_{298}^0 \text{Ni(I)}$ (cf. Taula 5.1.2). Tendència exposada en l'apartat 4.1.1 i explicable considerant la variació del radi iònic de cada catió ($r_{\text{Cu(I)}} < r_{\text{Ni(I)}} < r_{\text{Co(I)}} < r_{\text{Ag(I)}}$) i les repulsions $M-L$, les quals augmenten en el Cu(I) i Ag(I) (tots dos d^{10}), per l'efecte de tancar la subcapa d.

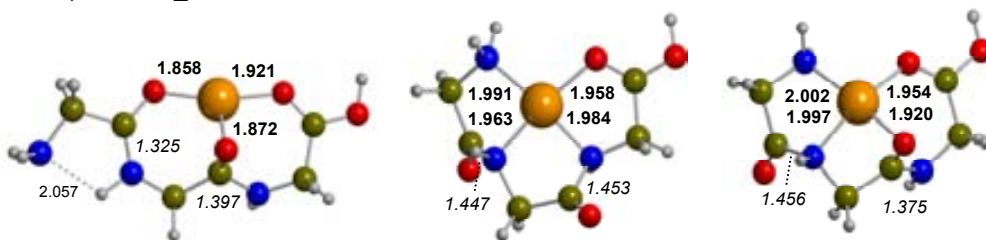
5.1.2. ESTATS SINGLETES

L'augment del nombre de coordinació al voltant del catió $\text{Co(II)}^{\text{I}}\text{G}$ comporta, tal i com s'ha vist en els apartats anteriors, una estabilització creixent d'aquests estats d'espín respecte els triplets al coordinar-hi un lligand monodentat com l'aigua o bidentat com la glicina. Així doncs, l'estudi de la interacció entre aquest catió i les $(\text{glicil})_n\text{glicines}$ ($n=1-3$) permet, no sols estudiar les peculiaritats coordinatives d'aquests estats i comparar-les amb les dels estats triplets o amb les dels estats singlets del $\text{Co(II)}-\text{glicina}$, sinó també avaluar llur estabilització a l'augmentar el nombre de coordinació. Poden arribar a ser més estables que els respectius triplets, produint-se una inversió d'estats?

a) CoGG_S



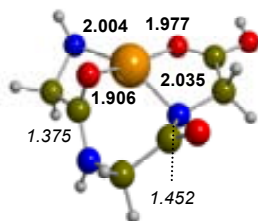
b) CoGGG_S



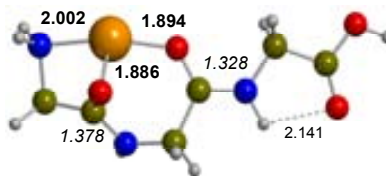
CoGGG1_S 14.4 (16.5)

CoGGG11_S 18.0 (20.1)

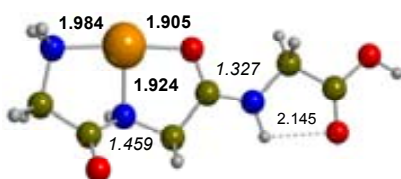
CoGGG9_S 19.0 (21.9)



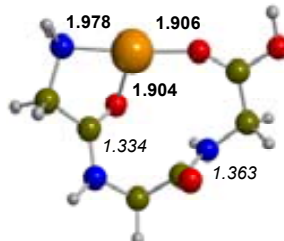
CoGGG4_S 20.2 (23.2)



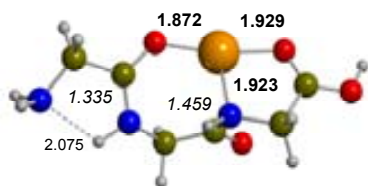
CoGGG5_S 21.8 (23.3)



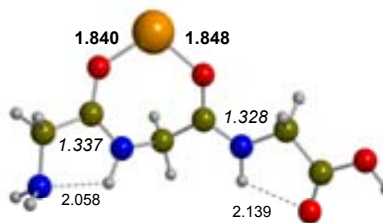
CoGGG7_S 22.4 (23.1)



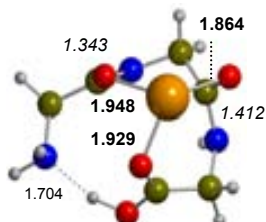
CoGGG3_S 23.0 (24.2)



CoGGG6_S 23.0 (24.8)



CoGGG8_S 34.7 (34.5)



CoGGG10_S 45.6 (48.9)

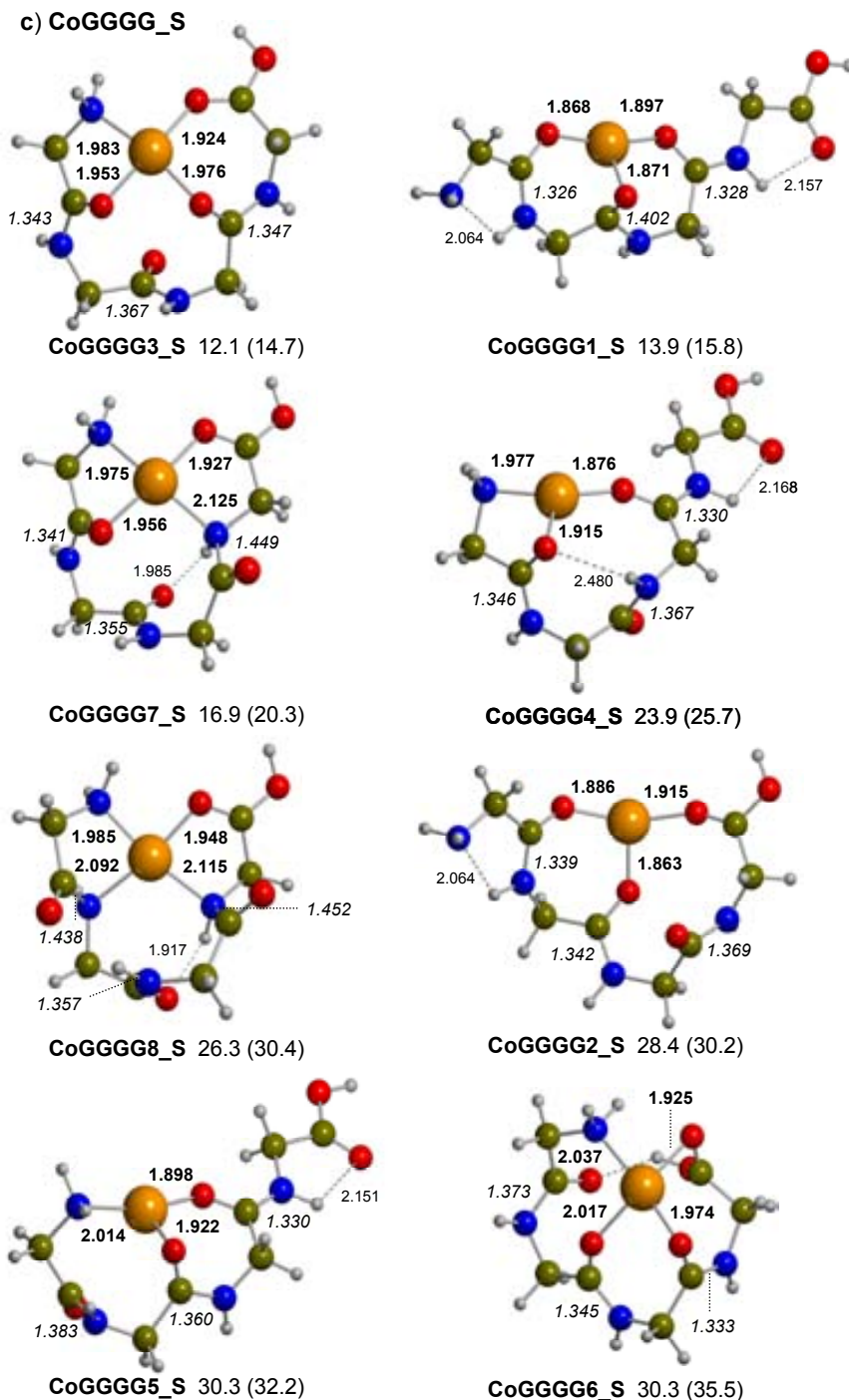


Figura 5.1.4. Estructures B3LYP/b1 considerades en la interacció del Co(I) ¹G amb la diglicina (a), triglicina (b) i tetraglicina (c). En negreta, distàncies M-L (Å); en cursiva, distàncies de l'enllaç peptídic (Å). A més, s'indica l'energia relativa amb correcció de punt zero (ΔG^0_{298} entre parèntesi), en kcal mol⁻¹, al mateix nivell de càlcul respecte la conformació fonamental en estat triplet.

La Figura 5.1.4 mostra la geometria i l'energia relativa de les estructures estudiades. Per analogia, s'han considerat els complexos escollits en l'apartat anterior. En aquests sistemes, algunes conformacions, com la **CoGG7_S** (N_t, N_p, O_c) amb l'enllaç peptídic en *cis*, no existeixen. En altres casos, s'obtenen estructures molt similars a les respectives formes triplet amb una coordinació addicional entre el catió i el N_{p2} (**CoGGG4_S**, N_t, O_{p1}, N_{p2}, O_c), o amb una vacant addicional de coordinació: **CoGGGG2_S** (O_{p1}, O_{p2}, O_c) i **CoGGGG5_S** (N_t, O_{p2}, O_{p3}), en les quals es perd una interacció amb l' O_{p3} (primera estructura) i amb l' O_{p1} (darrera) respecte l'anàleg triplet. A més, apareix una estructura nova, **CoGGG11_S**, tetracoordinada amb els tres nitrògens i l'O carboxílic. Aquesta forma, amb un entorn similar al pla quadrat i inexistent en els triplets, recorda una mica a la coordinació d'un catió en els entorns porfirínics i de corrina. Per aquest motiu, s'han considerat dos estructures més per a la tetraglicina, **CoGGGG7_S** i **CoGGGG8_S**, d'entorns similars. Tenint en compte els tipus de coordinacions de les estructures triplet, cal esperar que aquest tipus de conformacions no existisquen en l'estat triplet. En els singlets, però, quan la coordinació ho permet, es tendeix a l'adopció d'entorns pla quadrats o de tipus T. En aquests, l'orbital d buit del catió es troba en el mateix pla de coordinació, permetent un bon solapament amb els parells lliures dels àtoms units al catió i afavorint la donació de densitat electrònica del lligand cap a aquest orbital. Aquest fet afavoreix la disminució de la repulsió M-L i explicaria la pèrdua de coordinació en les estructures **CoGGGG2_S** i **CoGGGG5_S**.

En la Taula 5.1.3 es presenta l'energia relativa (amb correcció de punt zero) de les conformacions estudiades, així com la càrrega, l'espín i la variació de l'enllaç peptídic.

Taula 5.1.3. Energies B3LYP/b1 amb correcció de punt zero (ΔG^0_{298} entre parèntesi) dels complexos Co(I)-oligoglicina en estat singlet (S), relatives a la conformació fonamental de cada sistema triplet, en kcal mol⁻¹. Contenen la correcció S-T observada experimentalment. S'inclou la càrrega (NPA) sobre el Co i la variació de l'enllaç peptídic (C_p-N_p), $\Delta r(C_p-N_p) = r_{C_p-N_p}(Co-L) - r_{C_p-N_p}(L)$, en Å. En gris i destacat, allargament de l'enllaç peptídic amb l'O_p interaccionant amb el catió.

| conf. | coord. | energia relativa | q(Co) | $\Delta r(C_{p1}-N_{p1})$ | $\Delta r(C_{p2}-N_{p2})$ | $\Delta r(C_{p3}-N_{p3})$ |
|-----------|--|------------------|-------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| CoGG1_S | N _t ,O _p ,O _c | 17.9 (19.7) | 0.86 | 0.027 | | |
| CoGG2_S | N _t ,N _p ,O _c | 18.6 (19.6) | 0.61 | 0.117 | | |
| CoGG3_S | N _t ,O _p | 27.5 (27.1) | 0.66 | -0.023 | | |
| CoGG5_S | N _t ,O _p | 29.6 (29.0) | 0.66 | -0.015 | | |
| CoGG4_S | O _p ,O _c | 31.9 (32.0) | 0.76 | -0.011 | | |
| CoGG6_S | N _t ,O _p | 31.0 (30.7) | 0.66 | -0.012 | | |
| CoGG8_S | O,O ⁻ | 48.3 (48.1) | 0.72 | -0.033 | | |
| CoGG9_S | O,O ⁻ | 48.9 (47.7) | 0.66 | -0.020 | | |
| CoGG10_S | O,O ⁻ | 54.8 (54.7) | 0.67 | 0.012 | | |
| CoGGG1_S | O _{p1} ,O _{p2} ,O _c | 14.4 (16.5) | 0.94 | -0.017 | 0.030 | |
| CoGGG11_S | N _t ,N _{p1} ,N _{p2} ,O _c | 18.0 (20.1) | 0.50 | 0.095 | 0.086 | |
| CoGGG9_S | N _t ,N _{p1} ,O _{p2} ,O _c | 19.0 (21.9) | 0.71 | 0.104 | 0.029 | |
| CoGGG4_S | N _t ,O _{p1} ,N _{p2} ,O _c | 20.2 (23.2) | 0.72 | 0.023 | 0.106 | |
| CoGGG5_S | N _t ,O _{p1} ,O _{p2} | 21.8 (23.3) | 0.86 | 0.026 | -0.018 | |
| CoGGG7_S | N _t ,N _{p1} ,O _{p2} | 22.4 (23.1) | 0.61 | 0.107 | -0.019 | |
| CoGGG3_S | N _t ,O _{p1} ,O _c | 23.0 (24.2) | 0.69 | -0.018 | 0.029 | |
| CoGGG6_S | O _{p1} ,N _{p2} ,O _c | 23.0 (24.8) | 0.80 | -0.017 | 0.113 | |
| CoGGG8_S | O _{p1} ,O _{p2} | 34.7 (34.5) | 0.72 | -0.015 | -0.018 | |
| CoGGG10_S | O _{p1} ,O _{p2} ,O _c | 45.6 (48.9) | 1.02 | -0.009 | 0.066 | |
| CoGGGG3_S | N _t ,O _{p1} ,O _{p3} ,O _c | 12.1 (14.7) | 0.64 | -0.018 | 0.010 | -0.020 |
| CoGGGG1_S | O _{p1} ,O _{p2} ,O _{p3} | 13.9 (15.8) | 0.95 | -0.035 | 0.045 | -0.039 |
| CoGGGG7_S | N _t ,O _{p1} ,N _{p3} ,O _c | 16.9 (20.3) | 0.58 | -0.020 | -0.002 | 0.082 |
| CoGGGG4_S | N _t ,O _{p1} ,O _{p3} | 23.9 (25.7) | 0.76 | -0.015 | 0.010 | -0.037 |
| CoGGGG8_S | N _t ,N _{p1} ,N _{p3} ,O _c | 26.3 (30.4) | 0.52 | 0.077 | 0.000 | 0.085 |
| CoGGGG2_S | O _{p1} ,O _{p2} ,O _c | 28.4 (30.2) | 0.75 | -0.022 | -0.015 | 0.002 |
| CoGGGG5_S | N _t ,O _{p2} ,O _{p3} | 30.3 (32.2) | 0.78 | 0.022 | 0.003 | -0.037 |
| CoGGGG6_S | N _t ,O _{p2} ,O _{p3} ,O _c | 30.3 (35.5) | 0.86 | 0.012 | -0.012 | -0.034 |

Fruit de la menor repulsió entre el Co(I) ¹G i l'oligoglicina, afavorida per la mida més petita del catió Co(I) en espín baix, les distàncies M-L disminueixen respecte les obtingudes per als estats triplets, repercutint normalment, en una major activació de l'enllaç peptídic (*cf.* Taula 5.1.3). En general, aquesta activació segueix el mateix sentit observat en els estats triplets i és més pronunciada quan l'àtom interaccionant amb el catió és el N peptídic, amb allargaments de l'enllaç peptídic que poden arribar als 0.117 Å i desviaments de l'angle diedre O_p-C_p-N_p-H de fins 51.5° respecte el trobat en el lligand lliure.

Les energies relatives de les diferents conformacions reflecteixen un balanç entre l'intent de coordinar més centres metàl·lics, l'adopció d'un entorn el més similar possible al pla quadrat o al de tipus T, el cost energètic de deformació que això implica i la transferència de càrrega del lligand a l'orbital buit del Co(I) ¹G (*cf.* Taula 5.1.3 i Figura 5.1.4). El resultat d'aquest balanç comporta, per a una oligoglicina determinada, que l'estructura fonamental no sempre presente el nombre de coordinació màxim possible: en una descomposició de l'energia d'interacció basada únicament en els factors E_{deformació} i E_{electrostàtica+polarització} s'observa que, tot i que els dos augmenten amb el nombre de coordinació, l'increment del segon terme és menor. Així, per a la GG i la GGG les estructures fonamentals són tricoordinades: **CoGG1_S** (N_t,O_p,O_c) i **CoGG2_S** (N_t,N_p,O_c) com en els anàlegs triplets per a la GG (amb una diferència energètica menor, inferior a 1 kcal mol⁻¹); **CoGGG1_S** (O_{p1},O_{p2},O_c), anàloga a la forma **CoGGG1_T** (molt propera en energia a la tetracoordinada **CoGGG2_T**), per a la GGG. Contràriament, per a la GGGG sí augmenta el nombre de coordinació, sent l'estructura fonamental tetracoordinada, **CoGGGG3_S** (N_t,O_{p1},O_{p3},O_c). La tetracoordinació i l'entorn pla quadrat l'estabilitzen 1.8 kcal mol⁻¹ més que la segona conformació, **CoGGGG1_S** (O_{p1},O_{p2},O_{p3}), una de les formes fonamentals del sistema Co(I)-GGGG en estat triplet. En els estats singlets, per a una oligoglicina determinada (a excepció de la

glicilglicina), l'assignació de l'estat fonamental sense ambigüitat és possible ja que la segona i tercera conformació es localitzen a energies més elevades.

Els factors esmentats anteriorment originen una ordenació de les conformacions estudiades en estat singlet diferent a la trobada en els estats triplets. Tot i que una descomposició energètica basada únicament en els factors E_{def} i E_{el+pol} permet analitzar l'efecte de la deformació i l'energia electrostàtica i de polarització, no permet explicar plausiblement l'ordenació final de les diferents conformacions. Aquest fet es deu a la transferència de càrrega que té lloc des del lligand a l'orbital buit del Co(I) 1G , la qual no té la mateixa magnitud en totes les conformacions: la càrrega sobre el catió oscil·la entre 0.50 i 1.02.

En general, per a un entorn similar, el Co(I) en estat singlet mostra una certa preferència per coordinar l' O_p (major o menor en funció del parell de conformacions considerat). Així, per exemple, la diferència entre els parells **CoGG2_S**(N_t, N_p, O_c)/**CoGG1_S**(N_t, O_p, O_c) o **CoGG7_S**(N_t, N_{p1}, O_{p2})/**CoGG5_S**(N_t, O_{p1}, O_{p2}) és, de 0.7 i 0.6 kcal mol⁻¹ respectivament. Aquesta preferència es fa més palesa en l'estructura **CoGGGG8_S** (N_t, N_{p1}, N_{p3}, O_c , 14.2 kcal mol⁻¹ respecte la **CoGGGG3_S**). La conformació anterior, on la coordinació té lloc a través de tres N, recorda a la **CoGGG11_S** i a un entorn porfirínic i, donada l'estabilitat d'aquesta (3.6 kcal mol⁻¹), a priori s'esperava que fos de les conformacions més estables del sistema Co(I)-GGGG singlet. El fet que l'estructura **CoGGG11_S** sí ho siga es deu, no a la preferència del Co(I) 1G pels N_p en entorns pla-quadrats, sinó a què la mida de la triglicina no permet un solapament tan òptim amb els O carbonílics. D'altra banda, l'augment del nombre de coordinació en aquesta darrera conformació (així com en la **CoGGG9_S**) permet llur estabilització, localitzant-se a 3.6 i 4.6 kcal mol⁻¹, respectivament. El fet que cap d'elles siga la fonamental és un reflex del compromís entre el guany energètic que suposa envoltar-se de més centres i adquirir un entorn pla-quadrat i la deformació del lligand que això comporta.

Estabilització dels estats singlets

Tot i la major estabilitat dels estats triplets, s'observa una estabilització creixent dels estats singlets al passar del catió despulrat a complexos metàl·lics amb lligands amb centres bàsics com l'O o el N (*cf.* Figura 5.1.5). L'estabilització més acusada d'aquests estats té lloc al coordinar un lligand com la glicina al catió, no sols deguda al fet de coordinar-hi dos centres, sinó també a la transferència de càrrega del lligand al Co(I) ($q_{Co} (CoG1_S) = 0.69$), propiciada per l'orbital d buit del Co(I) 1G , així com l'augment de la repulsió M-L en els triplets en complexos més saturats coordinativament. Aquesta repulsió augmenta encara més en els estats triplets al coordinar oligoglicines de cadena cada vegada més llarga, fet que comporta una disminució gradual de la diferència S-T, menys acusada però.

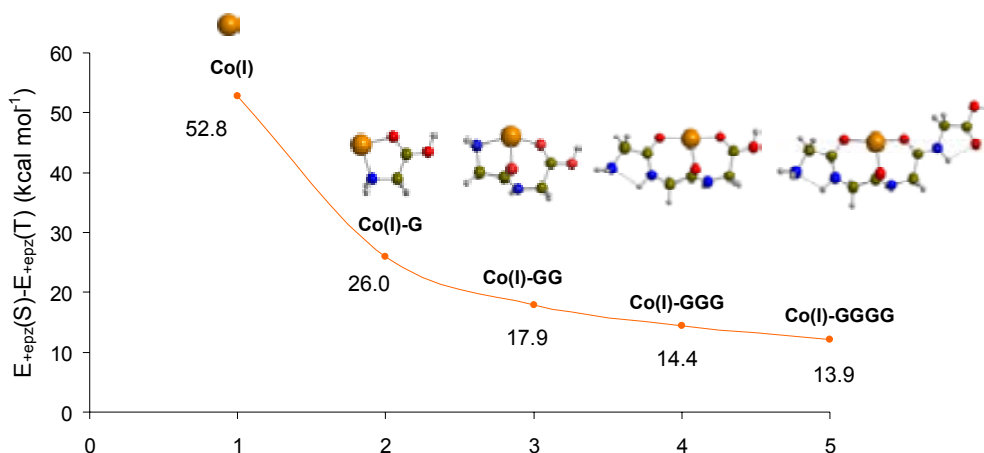
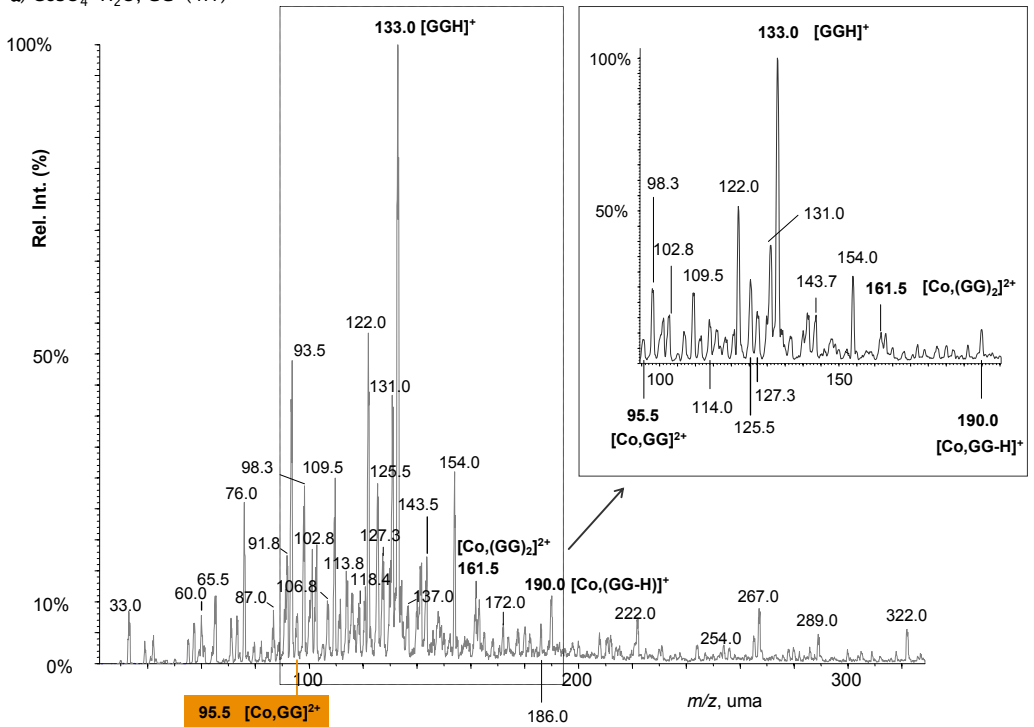


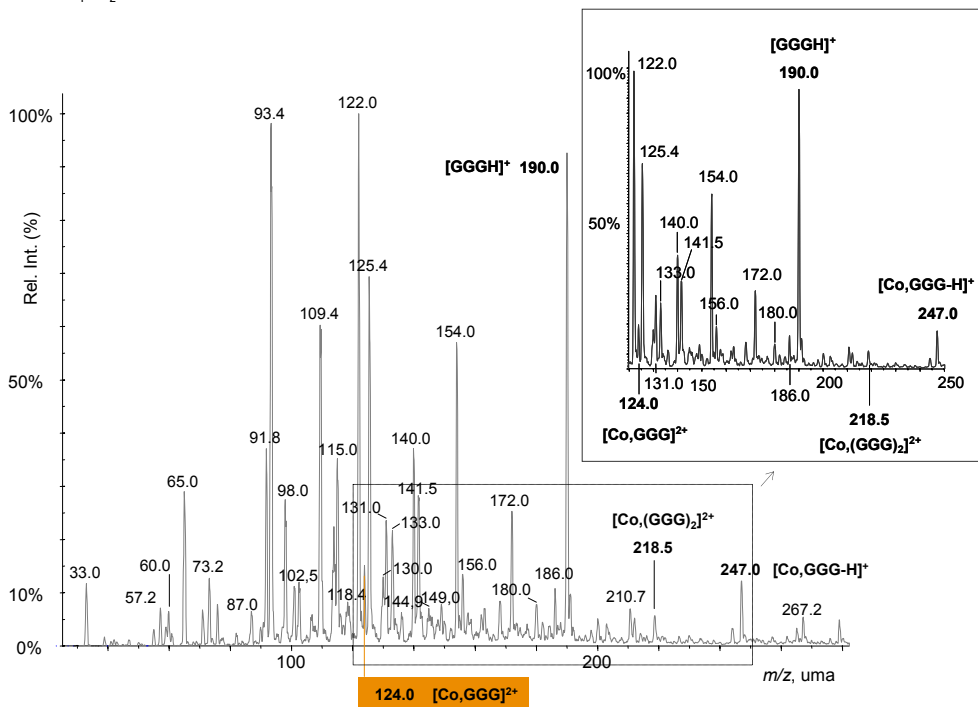
Figura 5.1.5. Variació de la diferència energètica (amb correcció de punt zero) existent entre el singlet i el triplet (marcada en la gràfica) al passar del catió despulrat als sistemes Co(I)-glicina i Co(I)-GG/GGG/GGGG. Tot i que l'estructura **CoGGGG1_S** és la segona més estable per al singlet, s'ha calculat respecte aquesta conformació per poder comparar directament la diferència S-T.

5.2. EL Co(II) I LES OLIGOGLICINES

a) $\text{CoSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, GG (4:1)



b) $\text{CoSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, GGG (4:1)



c) $\text{CoSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, GGGG (4:1)

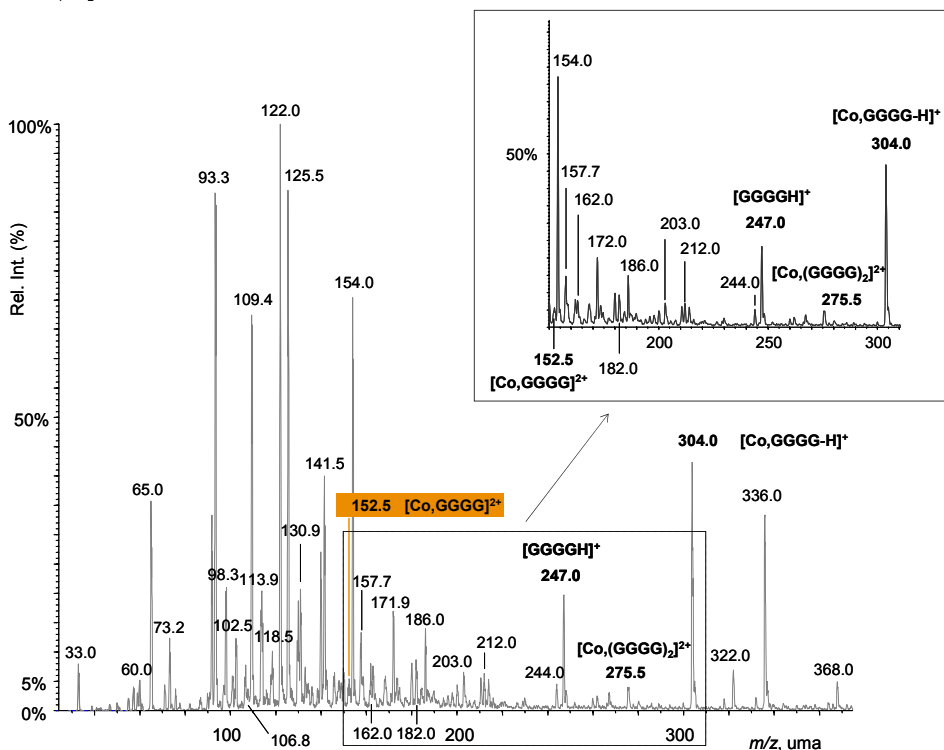


Figura 5.2.1. Espectres de la font de barreges de CoSO_4 :oligoglicina amb relació molar Co:L 4:1 (a, GG, b, GGG, c, GGGG) en metanol-aigua (50/50 V/V) obtinguts en experiments d'espectrometria de masses emprant l'ESI com a font d'ionització. El potencial de con aplicat és de 30 V.

La Figura 5.2.1 presenta els espectres de la font obtinguts en experiments d'espectrometria de masses (amb una font d'ionització electrospray (ESI)) de barreges de CoSO_4 i les oligoglicines estudiades, en una proporció Co:oligoglicina 4:1.

Aquests espectres evidencien l'existència, en fase gas, dels complexos $[\text{Co,GG}]^{2+}$ ($m/z=95.5$ uma), $[\text{Co,GGG}]^{2+}$ ($m/z=124.0$ uma) i $[\text{Co,GGGG}]^{2+}$ ($m/z=152.5$ uma) amb intensitats relatives petites però: 7.5% (GG), 15% (GGG) i 5% (GGGG) respectivament. A més, es detecta la formació de complexos de tipus $[\text{Co,(oligoglicina)}_2]^{2+}$ (marcats en els espectres en negreta) amb intensitats relatives similars a les dels complexos $[\text{Co,oligoglicina}]^{2+}$, així com adductes on

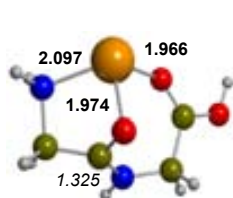
una oligoglicina desprotonada interacciona amb el Co(II) ($m/z(\text{GG})=190.0$ uma, $m/z(\text{GGG})=247.0$ uma, $m/z(\text{GGGG})=304.0$ uma). L'abundància de pics observats en l'espectre de la font prové de la fragmentació en la mateixa font dels complexos formats, de la solvatació, així com de la formació de complexos metàl·lics amb l'oligoglicina, amb o sense molècules de dissolvent.

A nivell computacional, la caracterització dels complexos $[\text{Co,oligoglicina}]^{2+}$ s'ha efectuat seguint les pautes establertes en l'apartat 5.1, considerant-se les mateixes coordinacions, l'estructura i energia relativa (amb correcció de punt zero) de les quals es presenta en la Figura 5.2.2. Anàlogament a la situació mostrada pels estats singlets de l'apartat anterior, algunes estructures de partida no existeixen en fase gas (com la forma tridentada amb l'enllaç peptídic en *cis* **CoGG7**, la bidentada **CoGG5**, que evoluciona a la tridentada **CoGG1_Q**, o les zwitteriòniques **CoGG9** i **CoGG10**, les quals col·lapsen en la també zwitteriònica **CoGG11_Q**). La major interacció electrostàtica del Co(II) amb les oligoglicines i la flexibilitat presentada per aquests complexos per adquirir diversos entorns de coordinació permeten la interacció addicional d'un centre, augmentant el nombre de coordinació respecte les conformacions homòlogues triplet. Aquest fet es fa més visible a mesura que la llargada de l'oligoglicina creix. Així, s'observa en l'estructura **CoGGG4_Q** (N_t, O_{p1}, N_{p2}, O_c), on es dona la interacció addicional amb el segon N_p , o en les estructures **CoGGGG3_Q** ($N_t, O_{p1}, O_{p2}, O_{p3}, O_c$), **CoGGGG4_Q** ($N_t, O_{p1}, O_{p2}, O_{p3}$), **CoGGGG6_Q** ($N_t, O_{p1}, O_{p2}, O_{p3}, O_c$), amb una nova interacció amb un O_p respecte els corresponents complexos en estat triplet. D'altra banda, de manera similar al singlet, és factible l'optimització de l'estructura tetradentada **CoGGG11_Q** (N_t, N_{p1}, N_{p2}, O_c), així com coordinacions del tipus **CoGGGG7_Q** (N_t, O_{p1}, O_{p2}, O_c amb una interacció més feble amb el N_{p3}) i **CoGGGG8_Q** ($N_t, N_{p1}, N_{p2}, N_{p3}, O_c$). Aquesta darrera però, no s'inclou per trobar-se massa elevada en energia. Un altre fet particular és la transferència protònica del COOH al NH₂, la qual té lloc espontàniament en l'estructura **CoGGG10_Q** (O_{p1}, O_{p2}, O_c), arribant a

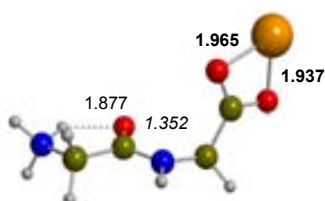
una estructura zwitteriònica que permet maximitzar la interacció entre el Co(II) i la càrrega negativa del grup carboxilat.

Tal i com s'ha esmentat, l'entorn de coordinació en aquests complexos és divers: de tipus Y (**CoGG1_Q**) i T (**CoGG2_Q**, **CoGG7_Q**) per a estructures amb nombre de coordinació 3; tipus papallona (**CoGG2_Q**), pla quadrat (**CoGG11_Q**) o similar a una bipiràmide trigonal on una posició es trobaria vacant (**CoGG4_Q**, **CoGG9_Q**) per a estructures amb nombre de coordinació 4; tipus piràmide quadrada (o octaèdric amb una posició apical vacant) (**CoGGG3_Q**) en una estructura pentacoordinada. Entorns tots ells distorsionats en major o menor grau. Aquests fan pensar en el possible assoliment d'un entorn de tipus octaèdric al voltant del catíon Co(II) si s'arribaren a saturar les posicions de coordinació, entorn trobat amb molta freqüència en complexos de Co(II).¹⁴⁻¹⁷

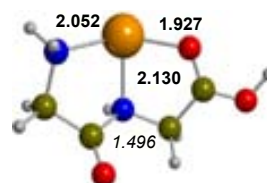
a) **CoGG_Q**



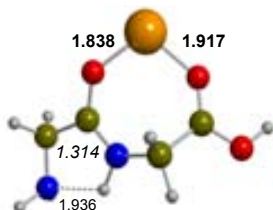
CoGG1_Q 0.0 (0.0)



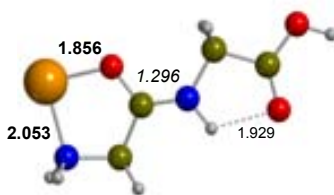
CoGG11_Q 4.3 (1.6)



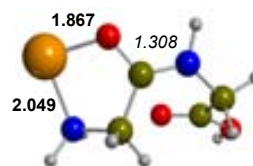
CoGG2_Q 7.7 (7.1)



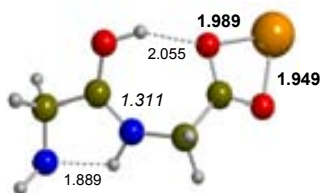
CoGG4_Q 11.9 (11.0)



CoGG3_Q 15.4 (13.9)

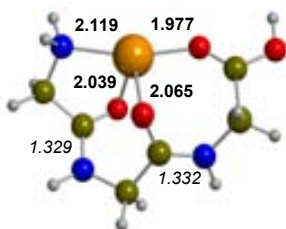


CoGG6_Q 16.6 (15.8)

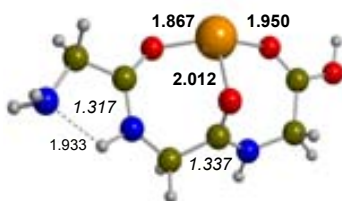


CoGG8_Q 26.0 (24.1)

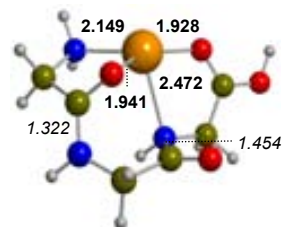
b) CoGGG_Q



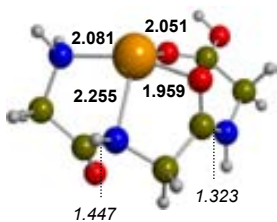
CoGGG2_Q 0.0 (0.0)



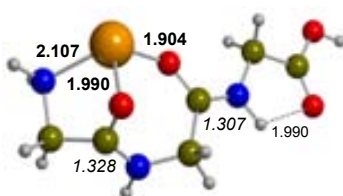
CoGGG1_Q 10.6 (10.0)



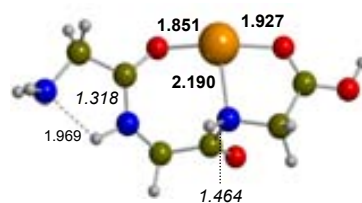
CoGGG4_Q 16.0 (15.6)



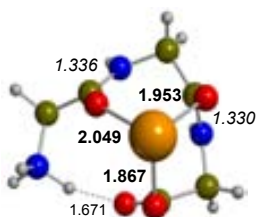
CoGGG9_Q 22.1 (22.4)



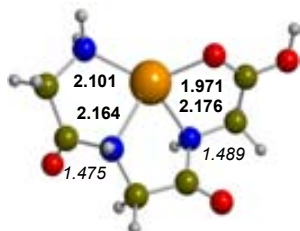
CoGGG5_Q 22.3 (21.4)



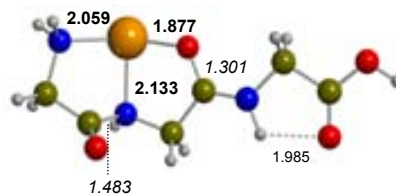
CoGGG6_Q 24.2 (23.2)



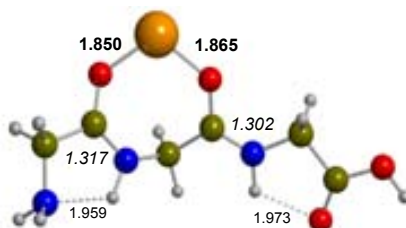
CoGGG10_Q 24.5 (25.5)



CoGGG11_Q 27.3 (26.1)

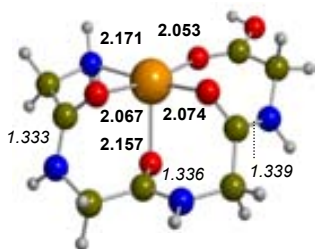


CoGGG7_Q 28.1 (26.5)

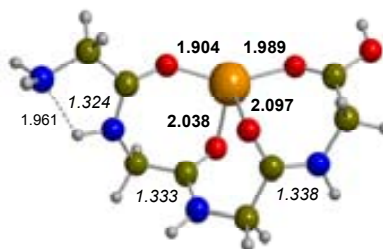


CoGGG8_Q 30.9 (29.3)

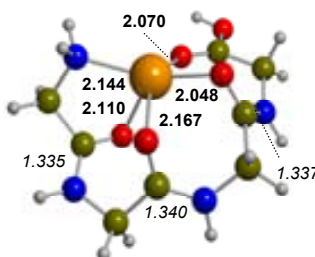
c) CoGGGG_Q



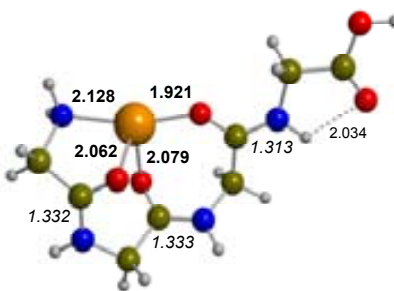
CoGGGG3_Q 0.0 (0.0)



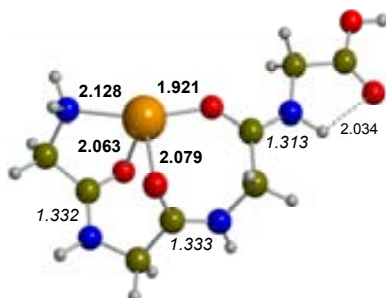
CoGGGG2_Q 5.9 (5.1)



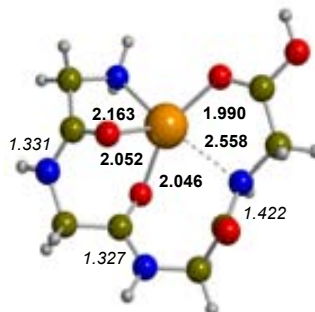
CoGGGG6_Q 9.1 (9.3)



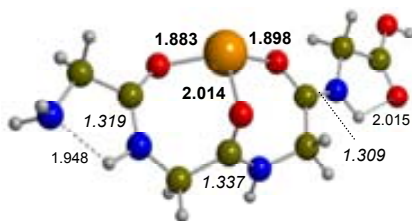
CoGGGG4_Q 11.9 (10.9)



CoGGGG5_Q 11.9 (10.9)



CoGGGG7_Q 13.2 (12.3)



CoGGGG1_Q 20.3 (18.2)



Figura 5.2.2. Geometries corresponents als complexos Co(II)-(glicil)_nglicina en estat quartet (Q) estudiats. **a)**, n=1; **b)**, n=2; **c)**, n=3. En negra, distàncies M-L (Å); en cursiva, distàncies de l'enllaç peptídic (C_p-N_p), en Å. S'inclou l'energia relativa amb correcció de punt zero (ΔG^0_{298} entre parèntesi), en kcal mol⁻¹.

En general, les distàncies M-L presentades per aquests compostos són menors que en els anàlegs triplets, però més llargues que les observades en els anàlegs singlets ($S < Q < T$): tot i la major repulsió M-L existent en els quartets respecte els singlets, per l'existència de tres orbitals monoocupats (Co(II) $4F$, $3d^7$), la interacció de la doble càrrega positiva i l'oligoglicina és també més gran. Aquesta major interacció es materialitza en una activació de l'enllaç peptídic superior a l'observada en els triplets (*cf.* Taula 5.2.1), sent d'esperar l'obtenció fàcil de fragmentacions d'oligopèptids coordinats al Co(II) en experiments d'espectrometria de masses. Per tant, podria ser una eina útil en la seqüenciació de pèptids. La variació de la distància de l'enllaç peptídic presenta sentits oposats i magnituds diferents, ja que s'enforteix quan la interacció té lloc a través de l'O_p i s'afebleix (d'una manera més pronunciada, recordant el comportament dels singlets) quan és el N_p l'àtom interaccionant. Aquest darrer allargament podria ser propiciat per la major transferència de càrrega del lligand al catió que té lloc en els estats quartets ($q_{Co} = 1.43-1.50$). En el primer cas, l'enfortiment indica un major caràcter de doble enllaç, ja que la forma ressonant de l'enllaç peptídic zwitteriònica té més pes (*cf.* forma B de l'esquema 1.2.2 de la Introducció), modificant-se menys l'angle diedre O_p-C_p-N_p-H (la màxima distorsió respecte l'oligoglicina neutra és de 14.9°). En el segon cas, l'afavoriment de la forma ressonant A i doncs la pèrdua del caràcter doble de l'enllaç peptídic permet una certa rotació al voltant d'ell, conduint a distorsions de l'angle diedre entre 23.6 i 58°, de magnitud molt similar a l'observada en els singlets.

Taula 5.2.1. Energies relatives B3LYP/b1 amb correcció de punt zero (ΔG^{0}_{298} entre parèntesi), en kcal mol⁻¹, dels complexos Co(II)-(glicil)_nglicina (n=1-3) en estat quartet (Q) estudiats. S'indica la càrrega i l'espín (NPA) sobre el Co i la variació de l'enllaç peptídic (C_p-N_p): $\Delta r(C_p-N_p) = r_{C_p-N_p}(Co-L) - r_{C_p-N_p}(L)$, en Å.

| conf. | coord. | energia relativa | q(Co) (2.00) | s (Co) (3.00) | $\Delta r(C_p-N_p)_1$ | $\Delta r(C_p-N_p)_2$ | $\Delta r(C_p-N_p)_3$ |
|-----------|---|---------------------|-----------------|------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| CoGG1_Q | N _t ,O _p ,O _c | 0.0 (0.0) | 1.55 | 2.73 | -0.021 | | |
| CoGG11_Q | O, O ⁻ | 4.3 (1.6) | 1.55 | 2.71 | 0.006 | | |
| CoGG2_Q | N _t ,N _p ,O _c | 7.7 (7.1) | 1.49 | 2.73 | 0.150 | | |
| CoGG4_Q | O _p ,O _c | 11.9 (11.0) | 1.56 | 2.66 | -0.032 | | |
| CoGG3_Q | N _t ,O _p | 15.4 (13.9) | 1.53 | 2.69 | -0.050 | | |
| CoGG6_Q | N _t ,O _p | 16.6 (15.8) | 1.54 | 2.70 | -0.038 | | |
| CoGG8_Q | O, O ⁻ | 26.0 (24.1) | 1.55 | 2.71 | -0.035 | | |
| CoGGG2_Q | N _t ,O _{p1} ,O _{p2} ,O _c | 0.0 (0.0) | 1.54 | 2.74 | -0.023 | -0.035 | |
| CoGGG1_Q | O _{p1} ,O _{p2} ,O _c | 10.6 (10.0) | 1.56 | 2.70 | -0.035 | -0.030 | |
| CoGGG4_Q | N _t ,O _{p1} ,N _{p2} ,O _c | 16.0 (15.6) | 1.48 | 2.70 | -0.030 | 0.087 | |
| CoGGG9_Q | N _t ,N _{p1} ,O _{p2} ,O _c | 22.1 (22.4) | 1.47 | 2.69 | 0.095 | -0.044 | |
| CoGGG5_Q | N _t ,O _{p1} ,O _{p2} | 22.3 (21.4) | 1.52 | 2.70 | -0.024 | -0.060 | |
| CoGGG6_Q | O _{p1} ,N _{p2} ,O _c | 24.2 (23.2) | 1.50 | 2.71 | -0.034 | 0.097 | |
| CoGGG10_Q | O _{p1} ,O _{p2} ,O _c | 24.5 (25.5) | 1.54 | 2.65 | -0.016 | -0.037 | |
| CoGGG11_Q | N _t ,N _{p1} ,N _{p2} ,O _c | 27.3 (26.1) | 1.43 | 2.70 | 0.123 | 0.122 | |
| CoGGG7_Q | N _t ,N _{p1} ,O _{p2} | 28.1 (26.5) | 1.46 | 2.70 | 0.131 | -0.066 | |
| CoGGG8_Q | O _{p1} ,O _{p2} | 30.9 (29.3) | 1.54 | 2.65 | -0.035 | -0.065 | |
| CoGGGG3_Q | N _t ,O _{p1} ,O _{p2} ,O _{p3} ,O _c | 0.0 (0.0) | 1.54 | 2.73 | -0.028 | -0.021 | -0.028 |
| CoGGGG2_Q | O _{p1} ,O _{p2} ,O _{p3} ,O _c | 5.9 (5.1) | 1.57 | 2.72 | -0.037 | -0.024 | -0.029 |
| CoGGGG6_Q | N _t ,O _{p1} ,O _{p2} ,O _{p3} ,O _c | 9.1 (9.3) | 1.53 | 2.72 | -0.026 | -0.017 | -0.030 |
| CoGGGG4_Q | N _t ,O _{p1} ,O _{p2} ,O _{p3} | 11.9 (10.9) | 1.52 | 2.73 | -0.029 | -0.024 | -0.054 |
| CoGGGG5_Q | N _t ,O _{p1} ,O _{p2} ,O _{p3} | 11.9 (10.9) | 1.52 | 2.73 | -0.029 | -0.024 | -0.054 |
| CoGGGG7_Q | N _t ,O _{p1} ,O _{p2} ,O _c | 13.2 (12.3) | 1.49 | 2.69 | -0.030 | -0.030 | 0.055 |
| CoGGGG1_Q | O _{p1} ,O _{p2} ,O _{p3} | 20.3 (18.2) | 1.54 | 2.69 | -0.042 | -0.020 | -0.058 |

La interacció del Co(II) amb les tres oligoglicines porta a l'estabilització preferent de tres complexos on el catió interacciona amb el grup amino i tots els oxígens disponibles: **CoGG1_Q** (GG), **CoGGG2_Q** (GGG) i **CoGGGG3_Q** (GGGG) (*cf.* Taula 5.2.1), fet que comporta un augment del nombre de coordinació al voltant del catió a mesura que creix la llargada de la cadena peptídica, de 3 fins a 5. S'evidencia així la major avidesa del Co(II) per centres bàsics, especialment pels O carbonílics i el grup amino terminal, i l'esmentada tendència a assolir entorns molt saturats coordinativament. Així, en una oligoglicina més gran com la pentaglicina caldria esperar un entorn de tipus octaèdric, on el NH₂ i els cinc O carbonílics interaccionarien amb el catió. El Cu(II), en presència dels oligopèptids GG i GGG, estableix preferentment les mateixes coordinacions que el Co(II).⁴ La interacció amb la GGGG però, porta a un complex tetracoordinat similar al **CoGGGG3_Q**, on l'O_{p2} no intervé en la coordinació.

Taula 5.2.2. Energies d'interacció B3LYP/b1 i BHandHLYP/b1 de la conformació més estable de cada sistema Co(II)-oligoglicina en estat quartet. Energies en kcal mol⁻¹. **nc** fa referència al nombre de coordinació de cada complex. Entre parèntesi, % de sobreestimació del B3LYP front al BHandHLYP. A més, s'inclouen les energies d'interacció trobades a la literatura per als sistemes Cu(II)-GG/GGG/GGGG.

| nc | | Co(II) | | | Cu(II) ⁴ | | |
|--------------------------------|------------------|---------|----------|-----------|---------------------|--------|---------|
| | | CoGG1_Q | CoGGG2_Q | CoGGGG3_Q | CuGG1 | CuGGG2 | CuGGGG3 |
| | | 3 | 4 | 5 | 3 | 4 | 4 |
| D _e | B3LYP | 243.5 | 287.2 | 316.8 | | | |
| | | (5.2%) | (3.6%) | (2.3%) | | | |
| | BHandHLYP | 231.6 | 277.1 | 309.7 | 256.4 | 301.7 | 338.1 |
| D ₀ | | 241.1 | 284.5 | 314.4 | | | |
| ΔH ⁰ ₂₉₈ | | 242.3 | 285.9 | 315.6 | | | |
| ΔG ⁰ ₂₉₈ | | 231.6 | 273.2 | 304.0 | | | |

La Taula 5.2.2 mostra l'energia d'interacció de les conformacions fonamentals dels sistemes Co(II)-oligoglicina. L'augment de coordinació a l'augmentar el nombre de residus de glicina es veu reflectida en l'afinitat catiònica, ja que aquest paràmetre creix de la glicina a la GG, i d'aquesta fins a la tetraglicina: 202.8, 242.3, 285.9 i 315.6 kcal mol⁻¹ respectivament. Tot i això, l'increment de l'energia d'interacció disminueix a mesura que la cadena de l'oligopèptid creix. Analitzant aquesta tendència és d'esperar doncs, una variació molt petita (o gairebé nul·la) de l'afinitat catiònica a partir de la pentaglicina.

Quan es comparen els valors d'energia d'interacció B3LYP i BHandHLYP la diferència d'energia del primer respecte el segon disminueix, tot i que es manté una certa deslocalització d'espín de 0.3 unitats. Aquesta disminució arriba al 2.3% en el cas del Co(II)-tetraglicina. Així, per a sistemes de Co(II) molt coordinats, el B3LYP sembla ser òptim per a una correcta descripció de l'energia d'interacció.

La interacció del catió Cu(II) amb les oligoglicines estudiades és superior a l'obtinguda per al catió Co(II), seguint la tendència mostrada pels sistemes Cu(II)/Co(II)-glicina (*cf.* apartat 4.1.2. del capítol anterior). Aquest fet ja ha estat comentat en el capítol anterior i es pot relacionar amb unes distàncies M-L menors en els complexos de Cu(II).

5.3. CONCLUSIONS

- La interacció del Co(I) 3F amb les oligoglicines GG, GGG i GGGG origina fonamentalment complexos amb nombre de coordinació 3 i/o 4, preferentment amb els O carbonílics i, de manera secundària, el grup amino. Per al Co singlet (1G), el nombre màxim de coordinació trobat en els complexos més estables és de 3, amb els O carbonílics, preferentment de caràcter peptídic. Contràriament, el catió Co(II) 4F permet la formació d'estructures molt estables saturades coordinativament: 3 per a la GG, 4 per a la GGG i 5 per a l'oligoglicina més gran, interaccionant amb el grup amino i tots els O carbonílics existents.
- Per als complexos de Co(I) i les tres oligoglicines l'estat d'espín més estable correspon sempre al triplet. Tot i que en els estats singlets té lloc una estabilització gradual (front als triplets) a l'augmentar la llargada de l'oligoglicina, no arriba però mai, a donar-se una inversió d'estats d'espín.
- Per interacció directa del N peptídic amb el Co l'enllaç peptídic s'allarga; contràriament, s'escurça gairebé sempre amb l'O_p. Aquesta activació de l'enllaç peptídic porta a pensar en l'obtenció fàcil de fragments procedents dels complexos Co(II)-GG/GGG/GGG en experiments d'espectrometria de masses.
- En els estats triplets l'afinitat catiònica augmenta amb la llargada de l'oligopèptid, tot i que amb una variació cada vegada menor: 86.5 kcal mol⁻¹ (GG), 98.3 kcal mol⁻¹ (GGG), 106.2 kcal mol⁻¹ (GGGG). Seguint aquesta tendència no s'esperaria un augment important d'aquesta magnitud al coordinar una oligoglicina amb un nombre de residus

superior a 5. L'afinitat catiònica de les oligoglicines pel Co(II) mostra una tendència similar a la presentada pels estats triplets, augmentant amb la llargada de l'esquelet peptídic: 242.3 kcal mol⁻¹ (GG), 285.9 kcal mol⁻¹ (GGG), 315.6 kcal mol⁻¹ (GGGG).

- Tot i la sempre present deslocalització d'espín en els complexos de Co(II), el % de diferència de l'energia d'interacció B3LYP respecte la calculada amb el funcional BHandHLYP disminueix a l'augmentar la cadena i doncs, la coordinació al voltant del catió. Així, per a sistemes de Co(II) molt coordinats el B3LYP sembla ser òptim per a una correcta descripció de l'energia d'interacció.

BIBLIOGRAFIA

- (1) Sigel, A.; Sigel, H. *Probing of proteins by metal ions and their low-molecular-weight complexes*; Marcel Dekker, Inc.: New York, 2001; Vol. 38.
- (2) Shoeib, T.; Rodríguez, C. F.; Siu, K. W. M.; Hopkinson, A. C. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2001**, *3*, 853.
- (3) Constantino, E.; Rimola, A.; Rodríguez-Santiago, L.; Sodupe, M. *New J. Chem.* **2005**, *12*, 1585.
- (4) Rimola, A. In *Activation of amino acids and peptides by interaction of Cu⁺ and Cu²⁺ cations and aluminosilicate surfaces*, Departament de Química; Universitat Autònoma de Barcelona: Bellaterra, 2007, p 217.
- (5) Rosi, M.; Bauschlicher, J., C. W. *J. Chem. Phys.* **1989**, *90*, 7264.
- (6) Trachtman, M.; Markham, G. D.; Glusker, J. P.; George, P.; Bock, C. W. *Inorg. Chem.* **1998**, *37*, 4421.
- (7) Irigoras, A.; Elizalde, O.; Silanes, I.; Fowler, J. E.; Ugalde, J. M. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 114.
- (8) Magnera, T. F.; David, D. E.; Stulik, D.; Orth, R. G.; Jonkman, H. T.; Michl, J. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 5036.
- (9) Dalleska, N. F.; Honma, K.; Sunderlin, L. S.; Armentrout, P. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 3519.
- (10) Magnusson, E.; Moriarty, N. W. *Inorg. Chem.* **1996**, *35*, 5711.
- (11) Walter, D.; Armentrout, P. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 3176.
- (12) Rodgers, M. T.; Armentrout, P. B. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 2678.
- (13) Voet, D.; Voet, J. G. *Bioquímica*; John Wiley & Sons, Inc.: New York, 1990.
- (14) Marino, T.; Toscano, M.; Russo, N.; Grand, A. *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 24666.
- (15) Huheey, J. E.; Keiter, E. A.; Keiter, R. L. *Inorganic Chemistry: Principles of Structure and Reactivity, Fourth Edition*; HarperCollins College Publishers: New York, 1993.
- (16) Wilkins, P. C.; Wilkins, R. G. *Inorganic chemistry in biology*, Oxford University Press, 1997.
- (17) Reiter, A.; Adams, J.; Zhao, H. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 7827.

*Activació dels aminoàcids glicina i lisina i dels seus homopèptids per cations de Cobalt.
Estudis teòrics i d'espectrometria de masses*

6. ÚS DE L'ESPECTROMETRIA DE MASSES EN L'ESTUDI DE POLIGLICINES I POLILISINES

En l'estudi realitzat en el capítol anterior sobre la cationització dels oligopèptids de glicina amb eines computacionals, l'enllaç peptídic apareix com un centre d'interacció amb els cations Co(I) i Co(II) important, escurçant-se o allargant-se. Aquesta activació repercuteix en els enllaços adjacents, els quals també es veuen modificats, en major o menor grau. Però, l'allargament de l'enllaç peptídic o dels enllaços adjacents podria comportar un trencament dels mateixos? L'anàlisi dels complexos en fase gas generats en fonts d'ionització (concretament electrospray, ESI) i dels fragments obtinguts a partir d'ells, juntament amb la informació estructural obtinguda amb les tècniques computacionals, permeten respondre aquesta pregunta. O, si més no, proporcionar hipòtesis més consistentes que simples elucubracions. És aquesta possibilitat d'estudiar un mateix sistema sota punts de vista diferents, emprant diferents eines i oferint una imatge de complementarietat, la que ha mogut l'interès per incloure aquest apartat

experimental. En concret, es pretén analitzar els complexos més importants generats en la font (així com llurs fragmentacions) de dissolucions que contenen un oligopèptid concret (una (glicil)_nglicina o una (lisil)_nlisina (n=1-3)) o l'aminoàcid lisina i la sal de Co(II) CoSO₄·H₂O. L'estudi d'aquest aminoàcid s'ha realitzat per poder comparar els espectres MS d'aquesta dissolució amb els homopèptids derivats d'ell. La consideració dels sistemes amb oligolisines (tot i no haver-se realitzat un estudi conformacional exhaustiu a nivell computacional) obeeix a la voluntat d'avaluar la influència de la presència d'un grup R en els aminoàcids d'un oligopèptid en els estudis de masses, concretament incloent una cadena bàsica com la de la lisina, capaç d'interaccionar amb el catió metàl·lic. Els resultats d'aquest estudi conformen les dues parts d'aquest capítol.

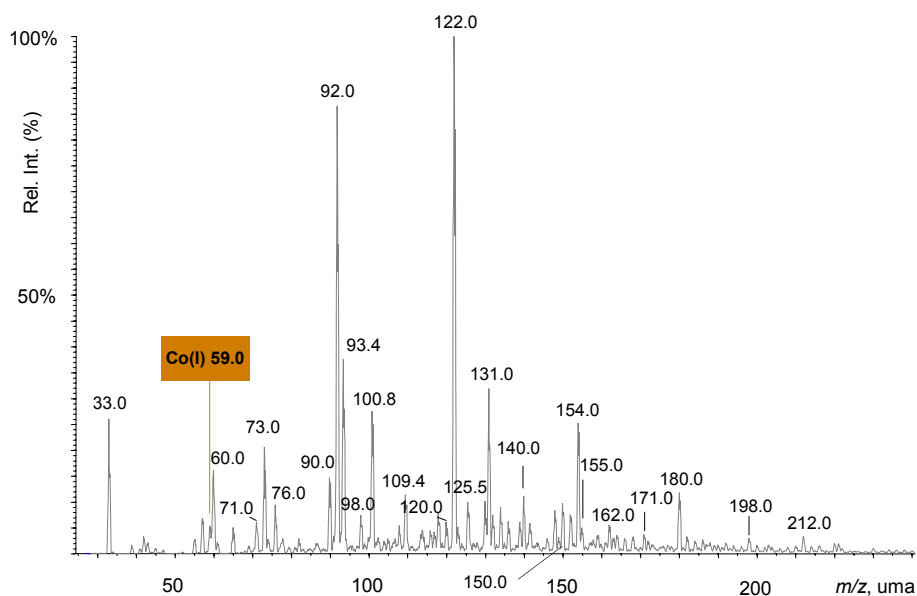
6.1. ANÀLISI DELS ESPECTRES DE LA FONT: EXPERIMENTS MS

La solució emprada en els experiments d'espectrometria de masses, de concentració propera a 10⁻⁴ M, s'ha obtingut barrejant dues solucions en H₂O:CH₃OH al 50% en volum que contenen l'oligopèptid (o l'aminoàcid lisina), és a dir, el lligand, i la sal de Co(II) CoSO₄·H₂O. Per a cada barreja Co(II)-lligand s'ha emprat la relació molar entre el catió i el lligand, Co:L, i s'ha aplicat el potencial de con, o *declustering potential* (DP), que donen lloc a una major intensitat relativa del complex [Co,L]²⁺ (adequada per a la correcta selecció d'aquest ió i de la seua posterior fragmentació en experiments MS/MS) i amb la que s'obté, alhora, una menor intensitat dels ions que contenen molècules de dissolvent. El valor del potencial de con és de 30 V, a excepció de la solució amb lisina, per a la qual s'ha emprat un DP de 5 V, ja que el complex [Co,K]²⁺ no s'observa per al potencial de 30 V. En quant a la relació Co:L, és de 4:1 per oligoglicines i per (lisil)₃lisina, 1:1 per lisina i dilisina i 2:1 per (lisil)₂lisina. Per tal d'afavorir

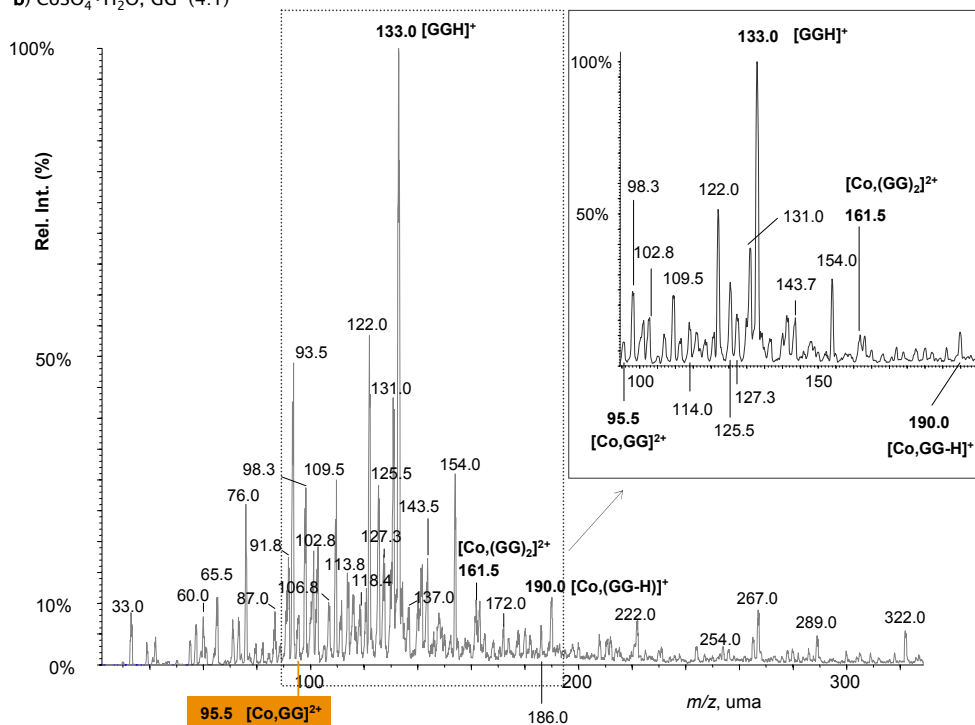
l'eliminació del solvent s'ha fet passar sobre el spray un gas d'assecat a una temperatura de 343K.

En la Figura 6.1.1 es presenten els espectres de la font obtinguts per a solucions de $\text{CoSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (a), $\text{CoSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ -oligoglicina (b-d), $\text{CoSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ -lisina (e) i $\text{CoSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ -oligolisina (f-h). L'electrospray procedent de la solució inicial i la posterior eliminació del solvent origina una gran quantitat d'ions en fase gas: ions que contenen el catió Co(II) i l'oligopèptid d'interès, sense o amb molècules de solvent coordinades al catió metàl·lic, ions amb el catió i l'oligopèptid desprotonat, ions semblants a aquests complexos anteriors amb diverses molècules de lligand o molècules de solvent coordinades al catió metàl·lic, ions amb Co(II) i fragments derivats dels lligands, ions que únicament contenen Co(II) i solvent i ions procedents de fragmentacions que ja tenen lloc en la mateixa font. És a dir, són moltes les combinacions possibles per donar una gran quantitat de pics.

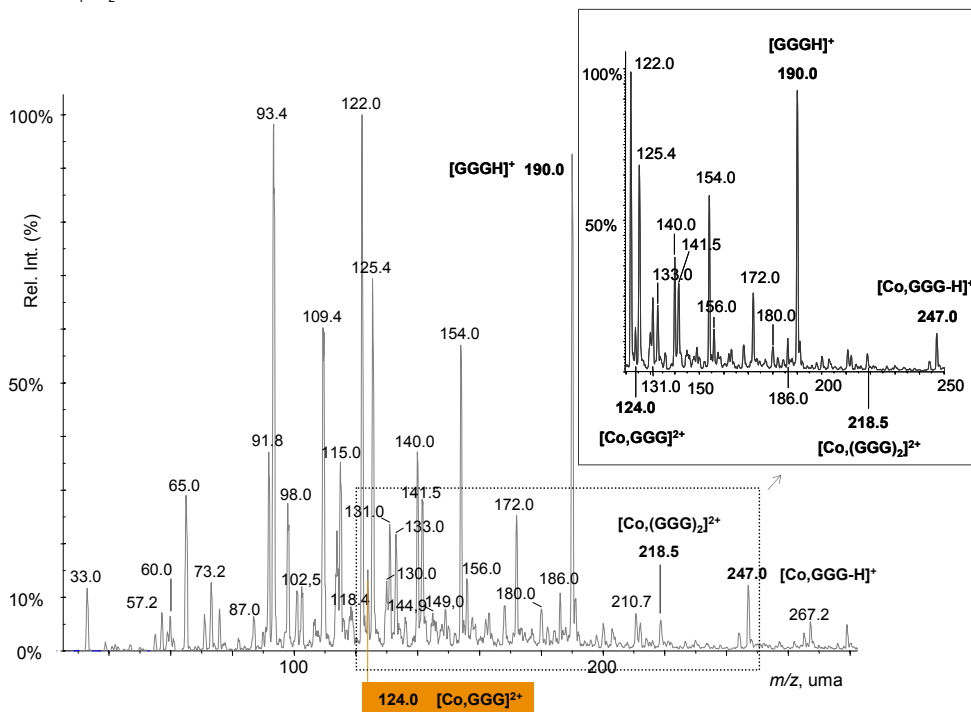
a) $\text{CoSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$



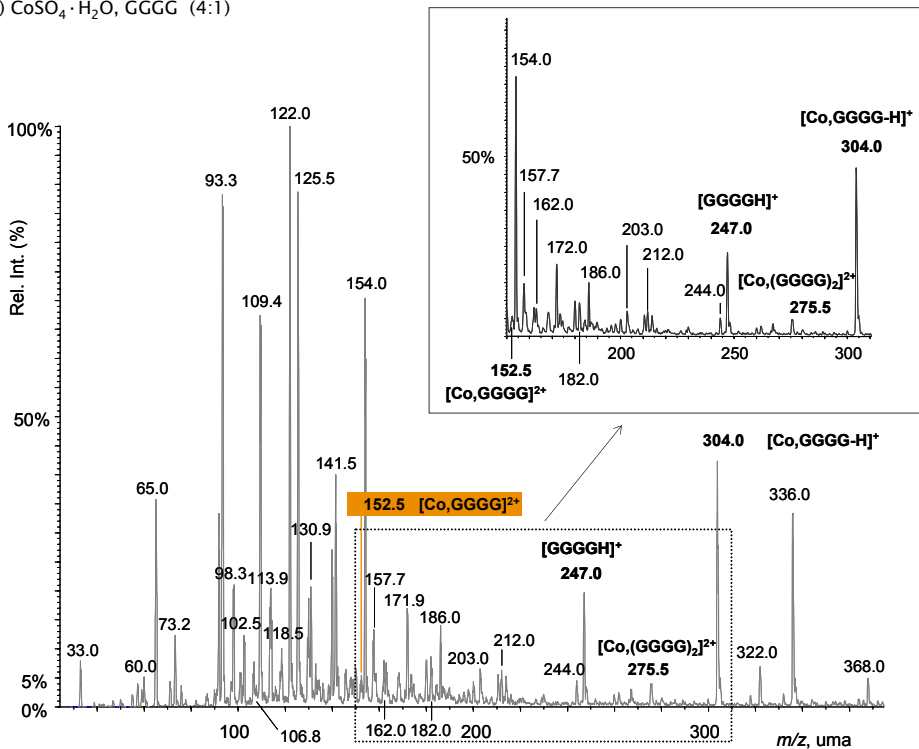
b) $\text{CoSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, GG (4:1)



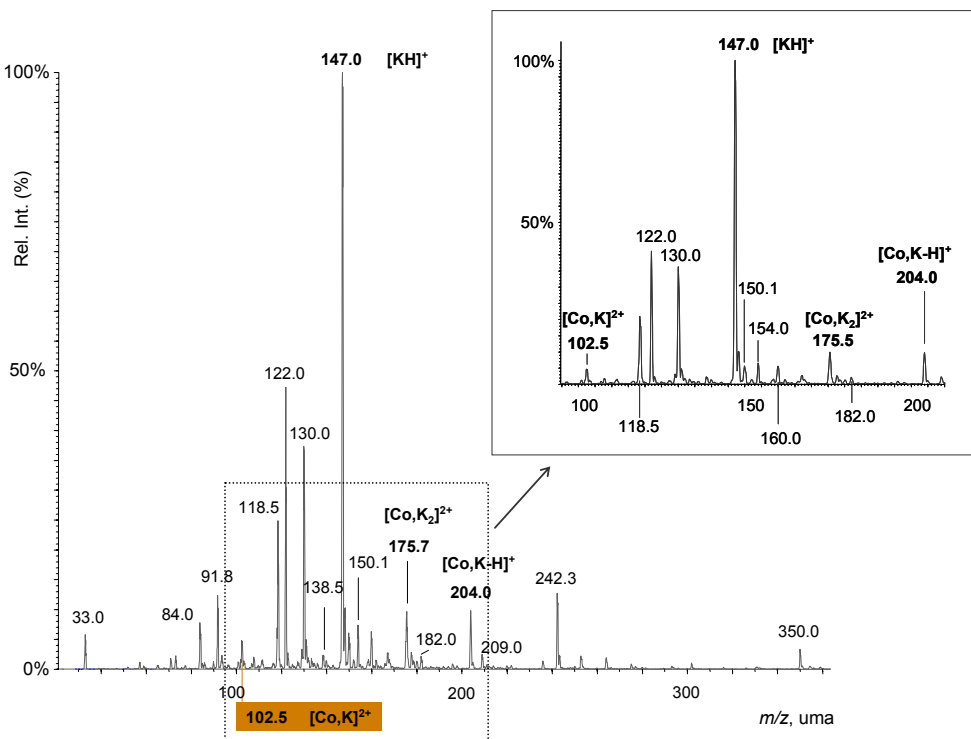
c) $\text{CoSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, GGG (4:1)



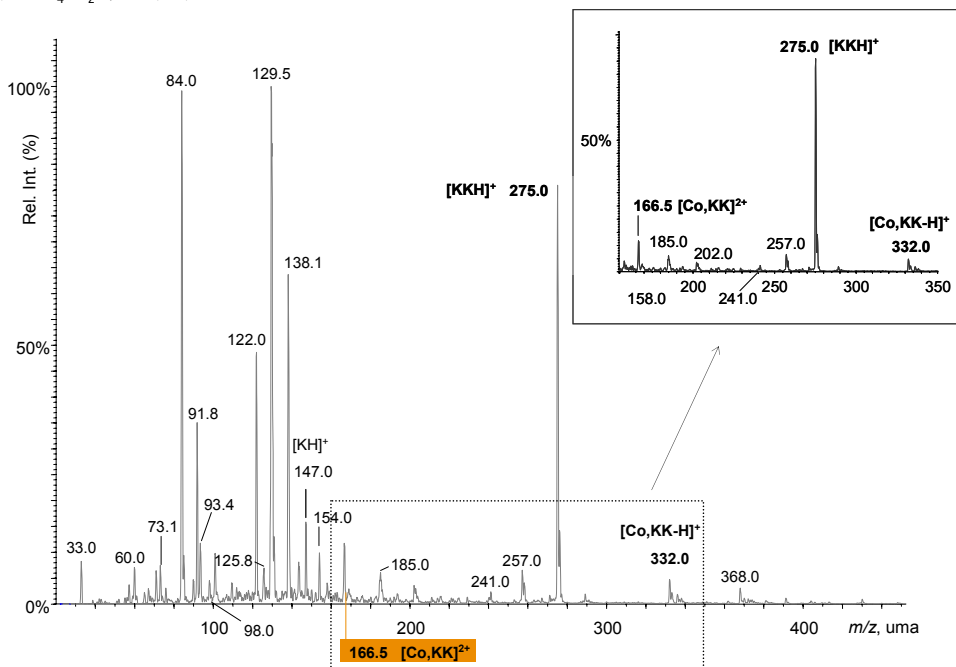
d) $\text{CoSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, GGGG (4:1)



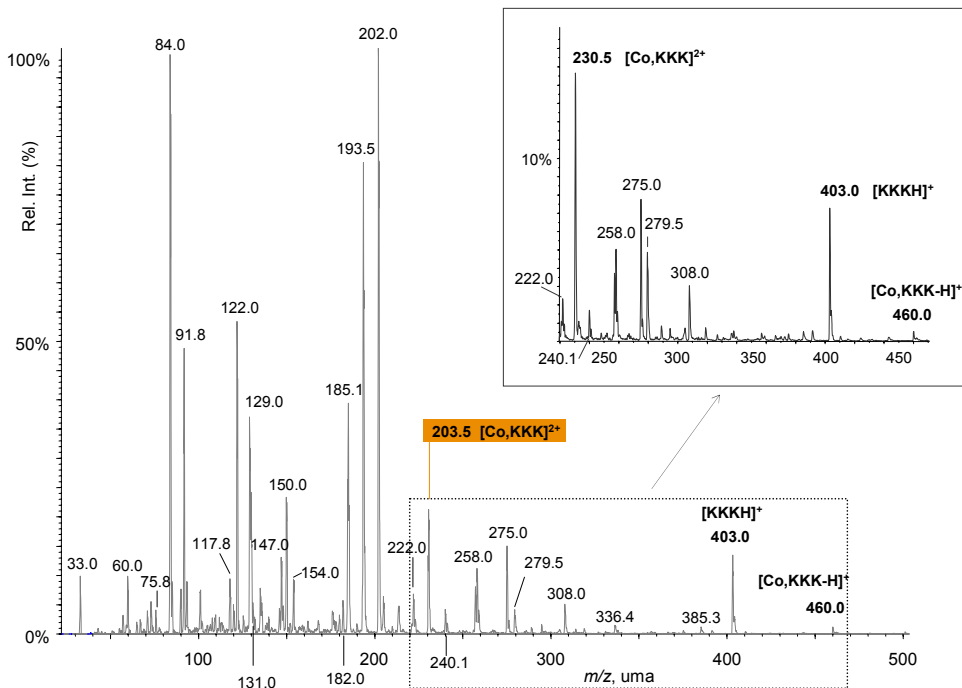
e) $\text{CoSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, K (1:1)



f) $\text{CoSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, KK (1:1)



g) $\text{CoSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, KKK (2:1)



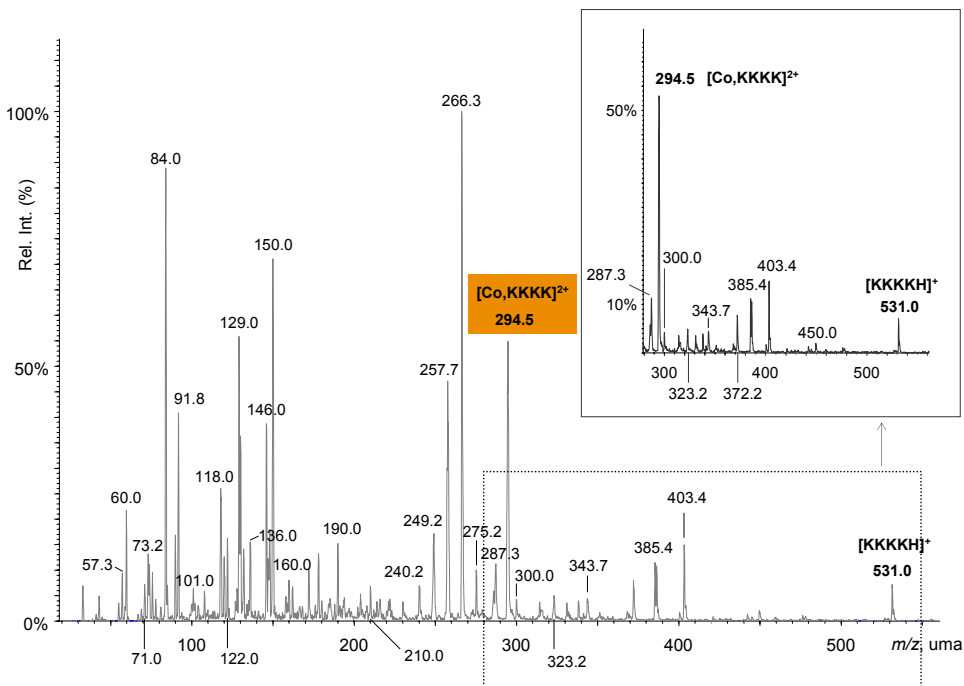
h) $\text{CoSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, KKKK (4:1)

Figura 6.1.1. Espectres de la font de les solucions estudiades: **a)**, $\text{CoSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, **b)**, $\text{CoSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O} - \text{GG} 4:1$, **c)**, $\text{CoSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O} - \text{GGG} 4:1$, **d)**, $\text{CoSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O} - \text{GGGG} 4:1$, **e)**, $\text{CoSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O} - \text{K} 1:1$, **f)**, $\text{CoSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O} - \text{KK} 1:1$, **g)**, $\text{CoSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O} - \text{KKK} 2:1$, **h)**, $\text{CoSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O} - \text{KKKK} 4:1$.

Malgrat la quantitat de pics observats, en aquest apartat només ens centrarem en els complexos metàl·lics $[\text{Co},\text{L}]^{2+}$ i $[\text{Co},\text{L}_2]^{2+}$ (amb una i dues molècules de lligand, respectivament), $[\text{Co},\text{L}-\text{H}]^+$ (on el lligand, L, es troba desprotonat) i també en l'adducte $[\text{LH}]^+$, el qual no conté cap catió metàl·lic i es troba protonat. S'han escollit aquests adductes anteriors ja que resulta freqüent trobar-los en els espectres d'altres sistemes metall-aminoàcid/pèptid.¹⁻⁵ Per homogeneïtzar la nomenclatura, tot i que sovint el lligand és denotat com a M en els estudis d'espectrometria de masses, en aquest apartat serà denotat amb la lletra emprada en els capítols anteriors, L, amb la finalitat d'evitar confusions amb els apartats anteriors (on M fa referència al catió metàl·lic). Les intensitats relatives d'aquests es mostren en la Taula 6.1.1.

Taula 6.1.1. Intensitats relatives dels complexos $[\text{Co,L}]^{2+}$, $[\text{Co,L}_2]^{2+}$, $[\text{Co,L-H}]^+$ i $[\text{LH}]^+$, on L=(glicil)_nglicina (n=1-3) i (lisil)_nlisina (n=0-3), observats en els espectres de la font. S'indica la relació molar Co:l·ligand.

| n | (glicil) _n glicina | | | 0 | (lisil) _n lisina | | |
|------------------------|-------------------------------|-----|-----|-----|-----------------------------|-----|-----|
| | 1 | 2 | 3 | | 1 | 2 | 3 |
| Co:M ratio | 4:1 | 4:1 | 4:1 | 1:1 | 1:1 | 2:1 | 4:1 |
| $[\text{Co,L}]^{2+}$ | 7.5 | 15 | 5 | 5 | 12 | 20 | 55 |
| $[\text{Co,L}_2]^{2+}$ | 10 | 5 | 5 | 10 | - | - | - |
| $[\text{Co,L-H}]^+$ | 10 | 12 | 45 | 11 | 5 | 2 | - |
| $[\text{LH}]^+$ | 100 | 91 | 25 | 100 | 80 | 15 | 10 |

En els espectres de les solucions anteriors s'observen una sèrie de diferències en funció de si el l·ligand conté glicina o lisina. En primer lloc, en els espectres de les solucions de lisina i els seus homopèptids apareixen menys pics derivats de la interacció del Co(II) amb el dissolvent, fet atribuïble a una major interacció dels l·ligands anteriors amb el Co(II). De fet, per a aquests l·ligands cal esperar una major afinitat catiónica pel Co(II) respecte la presentada per les oligoglicines: la cadena lateral de la lisina aporta un centre bàsic addicional susceptible d'interaccionar amb el catió metàl·lic, augmentant la interacció amb el Co(II). Aquesta situació és la que té lloc en l'aminoàcid, on l'afinitat teòrica (B3LYP) de la lisina pel Co(II) és 73.8 kcal mol⁻¹ superior a la de la glicina (*cf.* Capítol 4).

En segon lloc, les intensitats relatives dels diferents complexos en un espectre són un reflex de l'afinitat catiónica (i protònica) del l·ligand respecte d'una altra molècula. D'altra banda, en augmentar el nombre de residus, la intensitat relativa dels complexos $[\text{Co,G}_n\text{G}]^{2+}$ disminueix, incrementant-se la intensitat dels ions $[\text{Co,G}_n\text{G-H}]^+$. Aquest fet indica que, en allargar-se l'oligopèptid, l'afinitat catiónica de l'oligopèptid desprotonat augmenta més que la del l·ligand sense desprotonar. Per a les oligolisines però, s'obté el comportament contrari: els complexos $[\text{Co,K}_n\text{K}]^{2+}$ esdevenen més intensos a mesura que la llargada de l'esquelet peptídic creix, disminuint progressivament la intensitat relativa dels ions $[\text{Co,K}_n\text{K-H}]^+$, fins al punt de no detectar-se per a la KKKK al DP aplicat

(l'observació del complex $[\text{Co,KKKK-H}]^+$ en la font ($m/z=588$ uma) només és factible a partir d'un potencial de con de 110 V).

En els complexos Co(II)-oligoglicina el lligand es coordina al catió a través del grup COOH, tal i com es mostra en la Figura 5.2.2. del capítol 5, interacció que fa augmentar l'acidesa d'aquest grup, sent més factible la seua desprotonació. A més, la interacció amb la càrrega negativa del grup COO^- repercutiria en un augment de la interacció M-L. Contràriament, la basicitat de la cadena lateral de la lisina porta a pensar en una coordinació de les oligolisines a través dels grups NH_2 laterals i dels O_p , on el grup carboxílic no participaria en la coordinació. Aquests fets explicarien una desprotonació més fàcil de les oligoglicines, observant-se més els ions $[\text{Co,G}_n\text{G-H}]^{2+}$ respecte als $[\text{Co,K}_n\text{K-H}]^{2+}$. En tot cas, el Co(II) prefereix interaccionar amb els lligands d'oligolisina neutres, la qual cosa posa de manifest l'efecte de la cadena lateral en l'estabilització dels complexos $[\text{Co,L}]^{2+}$. Aquest fet està d'acord amb les estructures més estables dels sistemes Co(II)-K (presentat en l'apartat 4.2.3) i Co(II)-KK (les quals es mostren més endavant, en aquest mateix capítol), en els que tots els NH_2 laterals existents es coordinen al Co, així com també estaria d'acord amb el fet que el nombre de coordinació augmente en créixer l'oligopèptid.

En tercer lloc, la intensitat dels pics corresponents als ions $[\text{LH}]^+$ disminueix a l'augmentar la llargada de la cadena. En general, aquests són molt intensos en les poliglicines, fet que no concorda amb les dades teòriques de $\Delta H_{298}^0(\text{Co(II)})$ i $\Delta H_{298}^0(\text{H}^+)$ que es disposa per a aquests darrers lligands,⁶ ja que l'afinitat pel Co(II) és superior: 242.3 kcal mol⁻¹ vs 220.0 kcal mol⁻¹ ($\Delta H_{298}^0(\text{H}^+)$), el valor experimental d'aquesta magnitud és de 220.2 kcal mol⁻¹, 285.9 kcal mol⁻¹ vs 225.9 kcal mol⁻¹ (experimental: 224.6 kcal mol⁻¹) i 315.6 kcal mol⁻¹ vs 228.3 kcal mol⁻¹ (experimental: 229.7 kcal mol⁻¹) per a la GG, GGG i GGGG respectivament.⁶ El motiu de la major intensitat relativa dels ions $[\text{LH}]^+$ podria ser la gran accessibilitat de protons en el medi, provinents de la desprotonació de molècules

d'aigua, metanol o del propi lligand en la formació del spray. Tot i això, el fet que l'afinitat protònica es mantinga gairebé invariable amb l'augment de residus aminoacídics i l'afinitat catiònica augmente genera una disminució del pic $[G_nGH]^+$.

Per a les oligolisines, amb més afinitat pel Co(II), cal esperar una major diferència entre les dues magnituds anteriors, fet que provocaria una disminució més gran de la intensitat relativa de l'ió $[LH]^+$ en pro d'un complex més estable amb el Co(II) i l'oligolisina. Aquest fet, juntament amb la possibilitat de saturar-lo coordinativament a l'augmentar el nombre de residus, determina que, en l'espectre de la KKKK, el pic $[Co,L]^{2+}$ siga el més intens dels estudiats ($I_{rel}=55\%$).

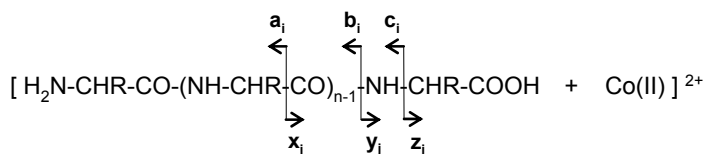
Una quarta diferència és la no obtenció d'ions $[Co,L_2]^{2+}$ per als derivats de la lisina. En aquests, la llargada de la cadena de la lisina genera més impediments estèrics, impossibilitant la coordinació de dues molècules de lligand. Contràriament, en les oligoglicines, la manca d'un altre punt d'interacció diferent als grups amino i carboxílic o el mateix esquelet peptídic es podria compensar amb la coordinació de dues molècules d'oligopèptid. Aquesta interacció resultaria menys desfavorida estèricament per la no presència de la cadena lateral, i permetria la detecció dels complexos resultants, com s'observa en els espectres corresponents, tot i que amb intensitats reduïdes.

La presència de Co(II) sol ($m/z=29.5$ uma) no és observable. Sí es detecta de vegades però, amb intensitats febles, la reducció de Co(II) a Co(I) ($m/z=59$ uma), especialment a valors de DP elevats.

6.2. ANÀLISI DE LES FRAGMENTACIONS DELS COMPLEXOS $[Co,L]^{2+}$ I $[Co,L-H]^+$: EXPERIMENTS MS/MS

La identificació dels diferents complexos en l'espectre de la font és interessant i, com a mínim, ens assegura la seua existència en fase gas. Però resulta més

interessant poder seleccionar un ió concret (ió pare) i fragmentar-lo, per analitzar els ions formats (ions fills) i doncs, intentar dilucidar possibles mecanismes de fragmentació. Les fragmentacions d'oligopèptids constituïts per diferents aminoàcids solen tindre lloc en les proximitats d'aminoàcids amb cadenes laterals com la histidina,⁷⁻¹⁰ la lisina¹⁰ o l'arginina¹¹ (aminoàcids bàsics). Això es deu al fet que les cadenes d'aquests aminoàcids interaccionen més fortament amb el catió metàl·lic, produint-se trencaments d'enllaços propers a aquest, o inicien atacs nucleòfils sobre centres electròfils. Tot i això, les fragmentacions depenen molt de la seqüència d'aminoàcids de l'oligopèptid i del tipus i la mida del catió metàl·lic. Si el trencament té lloc en l'enllaç peptídic o en els enllaços adjacents, es poden obtenir diferents ions, designats amb una lletra o una altra en funció de l'enllaç trencat ($C_\alpha-C_p$, C_p-N_p , N_p-C_o) i l'ió observat (*cf.* Esquema 6.2.1):¹²⁻¹⁴ si la càrrega positiva es localitza en l'extrem N-terminal els ions detectats seran de tipus a_n , b_n o c_n ; contràriament, si roman en l'extrem C terminal, seran de tipus x_n , y_n o z_n . Aquests sis ions, per simplificar, seran anomenats "ions peptídics".



Esquema 6.2.1. Nomenclatura emprada per a les fragmentacions peptídiques d'un complex $[Co,L]^{2+}$, on n correspon al nombre d'enllaços peptídics existents: $n=1-3$, $i=1,2,\dots,n$ i $j=n+1-i$.

Tot i l'estabilitat de les espècies protonades $[LH]^+$, dels quatre ions escollits en el punt anterior ens centrarem únicament en les espècies $[Co,L]^{2+}$ i $[Co,L-H]^+$, per continuar amb $Co(II)$. Alguns ions fragmenten ja en la font, o només seleccionar-los, sense necessitat d'aplicar una energia de col·lisió (*ce*). Tot i això, altres són més estables i necessiten d'aquesta energia de col·lisió, la qual, en funció de la seua magnitud, permet el trencament d'uns o altres enllaços, modificant-se les

intensitats relatives observades dels ions formats. Així, en aquest estudi s'han enregistrat, a diferents energies de col·lisió, els espectres MS/MS dels ions pares escollits. Aquelles solen oscil·lar entre 8 i 40 eV, segons el cas.

6.2.1. [Co,L]²⁺

Les figures 6.2.1, 6.2.3, 6.2.7 i 6.2.9 mostren els espectres derivats de la fragmentació dels complexos [Co,GGG]²⁺ i [Co,GGGG]²⁺ (Figura 6.2.1), [Co,K]²⁺ (Figura 6.2.3), [Co,KK]²⁺ (Figura 6.2.7) i [Co,KKK]²⁺ i [Co,KKKK]²⁺ (Figura 6.2.9). L'estudi del complex [Co,GG]²⁺ no s'ha pogut realitzar per no observar-se adequadament en la font en les condicions de treball.

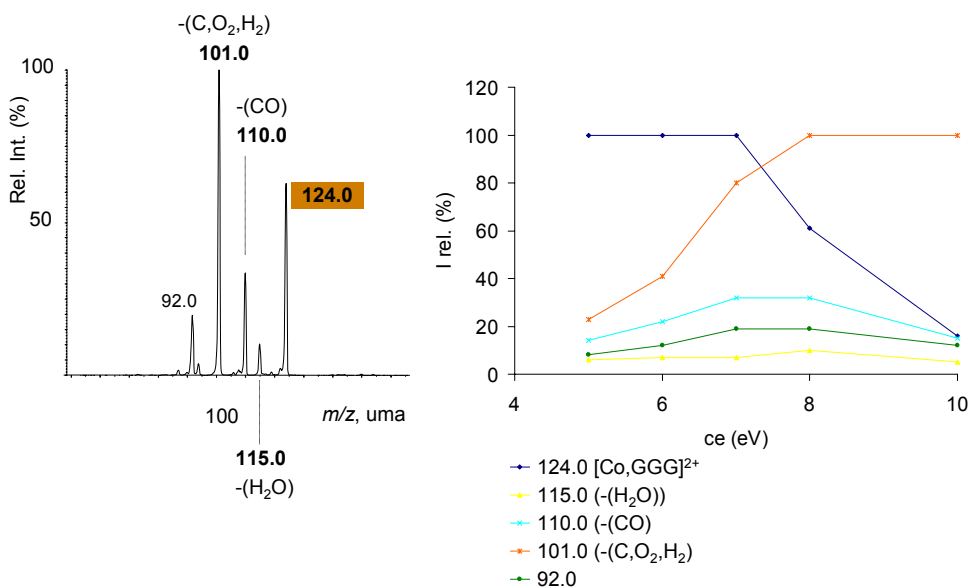
En la fragmentació dels ions de tipus [Co,L]²⁺ ambdós sistemes es comporten diferentment, esdevenint més complexos els espectres de la lisina i els homopèptids derivats d'ella. A més, en general apareixen més pics a energies de col·lisió superiors, ja que les fragmentacions no sols provenen de l'ió pare, sinó que també poden donar-se pel trencament d'enllaços en els ions fills. Tot i això, a l'augmentar la llargada de l'oligopèptid es necessita una energia de col·lisió superior per iniciar-les, indicant una major estabilitat d'aquests complexos de Co(II) amb lligands de cadenes més llargues.

En general s'observen eliminacions de molècules petites neutres, així com explosions coulòmbiques: processos de separació de càrrega en els que es generen dos ions monocarregats, anomenats ions complementaris. Aquests darrers processos poden provenir de l'ió pare (en blau en els espectres) o d'un ió fill generat després d'haver-se eliminat alguna molècula neutra (en marró), i originen fragments complementaris de diferent intensitat: en uns casos els ions de relació m/z més petita presenten intensitats superiors; en uns altres casos són més intensos els fragments de m/z superiors. Comportaments similars en processos de separació de càrrega han estat descrits en la literatura per a

sistemes xicotets com Ca(II)-urea¹⁵ i Ca(II)-glicina,⁵ on són predominants. En el primer sistema els ions complementaris de major relació m/z solen observar-se amb més intensitat relativa, ja que els ions més petits (amb més energia cinètica) donarien trajectòries inestables dins l'analitzador, no observant-se. Per al segon sistema, en els ions complementaris més grans podrien tindre lloc fragmentacions secundàries que originarien ions amb la mateixa relació m/z que els ions complementaris més petits, augmentant així llur intensitat relativa respecte als de m/z més gran. Hu i col·laboradors,⁸ en sistemes [Ni-pèptid]²⁺ i [Zn-pèptid]²⁺, fan referència a l'aparició d'ions complementaris (amb intensitat relativa similar però, indicant llur procedència d'un mateix ió precursor) per trencament d'un enllaç peptídic entre la histidina i la prolina. Segons els autors però, tot i els resultats, mancarien dades per poder confirmar aquesta hipòtesi. D'altra banda, aquests ions complementaris no s'observen quan els autors del treball anterior cationitzen els pèptids amb Co(II).

Co(II)-(glicil)_nglicines (n=2,3)

a) [Co,GGG]²⁺ dp = 30V ce = 8eV



b) $[\text{Co,GGGG}]^{2+}$ $dp = 30V$ $ce = 12eV$

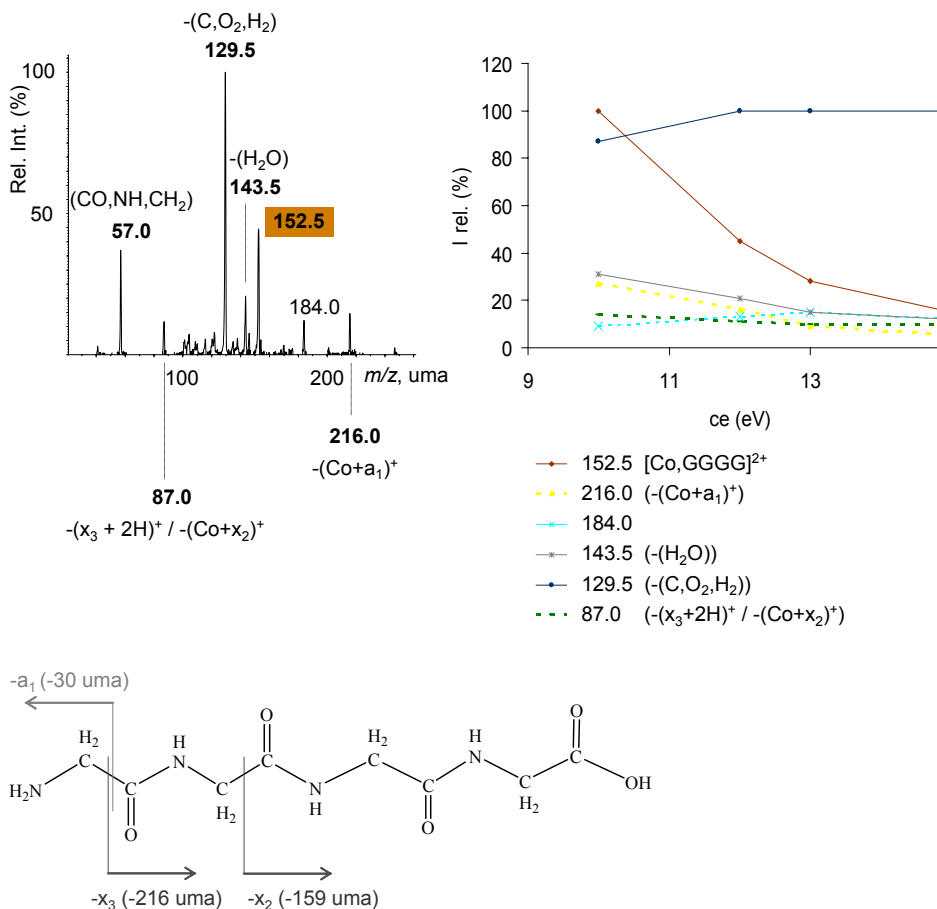


Figura 6.2.1. Espectres MS/MS i variació de la intensitat relativa (%) vs l'energia de col·lisió (eV) dels fragments obtinguts a partir dels complexos $[\text{Co,GGG}]^{2+}$ (a) i $[\text{Co,GGGG}]^{2+}$ (b), indicats en taronja. Per a cadascun d'ells s'especifica el potencial de con i l'energia de col·lisió als quals estan enregistrats. En línia puntejada, ions monocarregats. En els casos on són factibles diferents assignacions per a un mateix pic, s'indiquen les dues alternatives.

La Figura 6.2.1 mostra els espectres MS/MS obtinguts per als complexos $[\text{Co,GGG}]^{2+}$ i $[\text{Co,GGGG}]^{2+}$. Aquests sistemes donen quasi exclusivament pèrdues de molècules xicotetes, que originen pics molt intensos, fins i tot a energies de col·lisió més grans. La fragmentació principal correspon a l'eliminació de 46 unitats de massa ($\text{C}, \text{O}_2, \text{H}_2$), que pot correspondre a una molècula de formaldehid o a la pèrdua successiva de H_2O (18 uma) i CO (28 uma). De fet, en aquests

espectres també s'observen, tot i que amb menor intensitat, els pics corresponents a la pèrdua d'una molècula de CO i de H₂O. L'eliminació de (C,O₂,H₂), CO i H₂O es coneix bé i sol tindre lloc, fonamentalment, mitjançant mecanismes d'inserció del catió en els enllaços C_α-C(OOH) i C(OOH)-OH,^{3,4,16-19} quan el grup carboxílic es troba coordinat al centre metàl·lic. Aquestes eliminacions es troben en contraposició als resultats obtinguts per Grese i col·laboradors en un estudi realitzat amb FAB (*Fast Atom Bombardment*) sobre les fragmentacions dels complexos de Li(I) [Li,GGG]⁺ i [Li,GGGGG]⁺, els quals originen majoritàriament ions de tipus [b_{n-1}+Li+OH]⁺, procedents del trencament de l'enllaç C_p-N_p, i on el Li(I) es troba interaccionant amb l'extrem N terminal.²⁰ Aquests resultats contraposats posen de manifest les peculiaritats dels metalls de transició, com el cobalt.

Per a la tetraglicina s'observa un pic, tot i que minoritari, corresponent a la relació *m/z* 87.0. Aquest ió, de composició (C₃,O,N₂,H₇) es pot assignar als complexos [Co(II),NH=CH]⁺ o [Co(II),-N=CH₂]⁺ (de tipus (a₁-2H+Co)⁺), si el Co(II) interacciona amb l'extrem N terminal, o als cations NH₂CH₂CONHCH₂⁺ o NH₂=CHCONHCH₃⁺ (de tipus (a₂)⁺), si interacciona amb l'extrem C. L'obtenció de les espècies anteriors es pot racionalitzar tenint en compte les coordinacions més estables trobades per al sistema Co(II)-GGGG (*cf.* Figura 6.2.2). Observant l'estructura fonamental, **CoGGGG3_Q**, on el grup NH₂ es troba coordinat al Co(II), l'obtenció dels ions de tipus [Co(II),N,C,H₂]⁺ és factible mitjançant una inserció metàl·lica de tipus C-C en l'enllaç adjacent al C_p del primer enllaç peptídic (inserció marcada en taronja). Tot i que, per obtenir l'ió *m/z* 87 caldria la transferència de dos H, poc probable. D'altra banda, l'obtenció del complex anterior des de l'estructura **CoGGGG2_Q** resulta encara menys fàcil, per trobar-se l'enllaç C-C més allunyat del Co. Tot i això, cal dir que els ions [Co(II),N,C,H₂]⁺ han estat observats en pèptids cationitzats,²⁰⁻²³ sent l'ió [Co(II),-N=CH₂]⁺, segons Teesch,²¹ de fàcil obtenció en tripèptids que contenen una glicina terminal (tot i

que es detecten amb intensitats relatives febles). En canvi, l'obtenció de l'ió $\text{NH}_2\text{CH}_2\text{CONHCH}_2^+$ es pot racionalitzar a partir d'ambdues estructures, mitjançant una inserció de tipus C-C en l'enllaç adjacent al C_β del segon enllaç peptídic (marcada en gris). Donat que no va acompanyada de cap transferència de cap àtom, a priori sembla més probable.

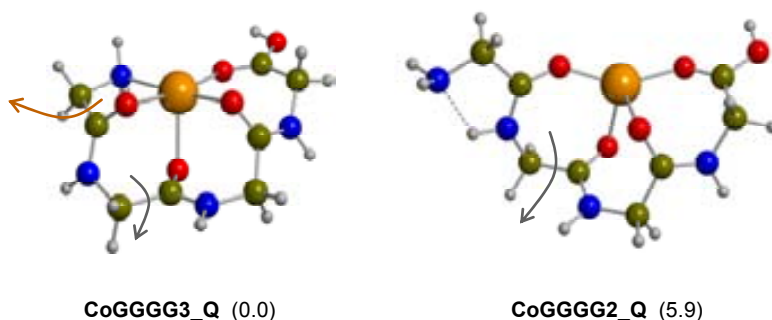


Figura 6.2.2. Estructures més estables calculades per al sistema Co(II)-GGGG. Entre parèntesi, energia relativa B3LYP/b1 amb correcció de punt zero (kcal mol^{-1}).

Co(II)-(lisil)_nlisines (n=0-3)

Els espectres MS/MS de la lisina i oligolisines són resultants de les dues fragmentacions esmentades anteriorment: d'una banda, pèrdues de diverses molècules neutres xicotetes, principalment ($\text{C}, \text{O}_2, \text{H}_2$) i NH_3 . El NH_3 podria ser eliminat per protonació del grup amino ϵ ($\text{N}_{\text{lateral}}$), tal i com té lloc en la lisina protonada,²⁴ donat que aquest grup és molt bàsic (pK_a (H_ϵ lisina) = 10.5), que no s'observa aquest tipus de pèrdua en les poliglicines (mancades de cadena lateral) i que es detecten pèrdues de fins n molècules de NH_3 en cada complex de (lisil)_nlisina. D'altra banda, les explosions coulòmbiques originades de l'ió pare (o d'un ió fill generat per l'eliminació d'alguna molècula neutra) són més visibles. El fet que aquests processos tinguen lloc indica que els fragments complementaris generats i observats en els espectres de Co(II)-K i Co(II)-KK, són estables.

En la Figura 6.2.3 es presenta l'espectre MS/MS del complex $[\text{Co},\text{K}]^{2+}$. En la fragmentació d'aquest complex són molts els pics que s'obtenen, donant lloc a un espectre MS/MS complicat. Tot i això, els pics més intensos corresponen als de m/z 84, 79.5 i 76 uma.

$[\text{Co},\text{K}]^{2+}$ dp = 5V ce = 15eV

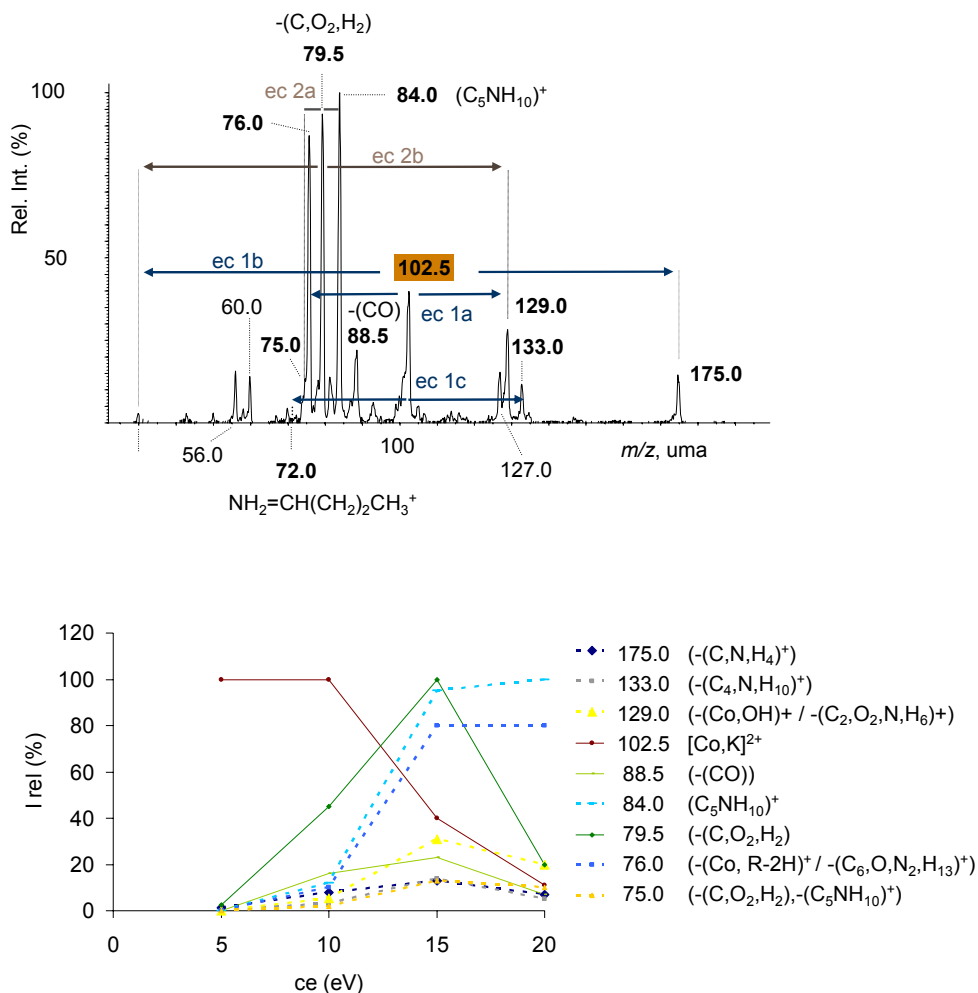


Figura 6.2.3. Espectre MS/MS i variació de la intensitat relativa (%) vs l'energia de col·lisió (eV) dels fragments obtinguts a partir del complex $[\text{Co},\text{K}]^{2+}$ (en taronja), enregistrat a DP=5 V i una energia de col·lisió de 15 eV. En línia puntejada, ions procedents de processos de separació de càrrega. R \equiv $-(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$.

El primer, i més intens, 84 uma, pot assignar-se a l'ió $(C_5NH_{10})^+$, l'estructura del qual es mostra en la Figura 6.2.4.a. Aquest ió es troba amb freqüència en espectres de pèptids que contenen lisina i,^{10,25} de fet, en els nostres experiments s'observa fins i tot en els espectres de la font. A més a més, esdevé predominant a energies de col·lisió elevades. El pic a 79.5 uma s'originaria després de la pèrdua de 46 unitats de massa ($C_2O_2H_2$) del complex $Co(II)$ -lisina (ió pare). Tenint en compte l'estructura més estable del sistema $Co(II)$ -lisina, mostrada en la Figura 4.2.4, aquesta eliminació es pot donar fàcilment mitjançant un mecanisme d'inserció de tipus $C-C(OOH)$ (esmentat amb anterioritat) i una transferència d'H. Una possible estructura d'aquest ió es mostra en la Figura 6.2.4.b. El tercer, l'ió m/z 76, pot tindre una naturalesa doble, ja que pot correspondre a la glicina protonada ($(C_2O_2NH_6)^+$), però també al complex $[Co-OH]^+$. Per tal de dilucidar la naturalesa d'aquest ió s'han realitzat càlculs amb el B3LYP i la base 1 descrita en l'apartat metodològic. Aquest estudi es presenta però, més endavant.

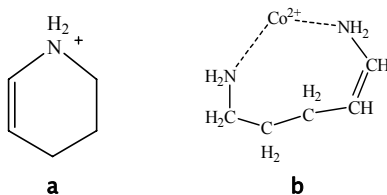
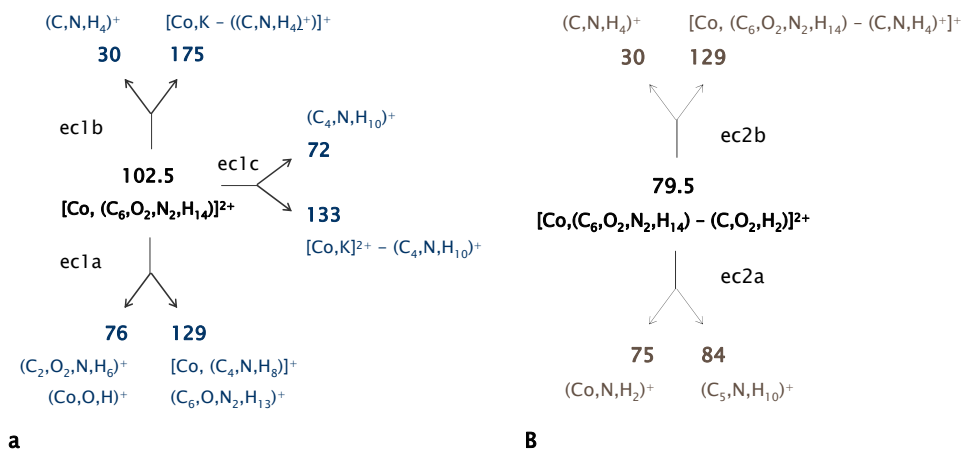


Figura 6.2.4. a) Estructura de l'ió m/z 84, trobat amb freqüència en espectres de fragmentació de pèptids que contenen lisina. b) Estructura proposada per a l'ió m/z 79.5, resultant de l'eliminació de 46 unitats de massa des de l'ió pare, $[Co-K]^{2+}$.

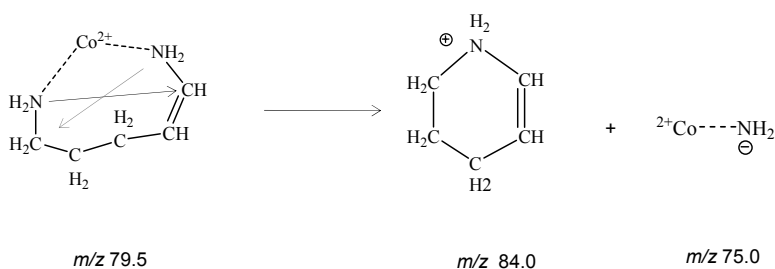
Mentre que l'ió m/z 79.5 té dues càrregues positives, els ions m/z 84 i 76 són monocarregats: s'originen per un procés de separació de càrrega a partir d'un ió doblement carregat. En el sistema $Co(II)$ -lisina aquests processos de separació de càrrega són molt importants. Aquests, es mostren en l'Esquema 6.2.2 i poden presentar dos orígens diferents: d'una banda, poden originar-se a partir de l'ió pare, m/z 102.5 uma (processos de tipus **ec1** (a, b i c)); de l'altra, poden formar-

se des de l'ió fill 79.5 (processos de tipus **ec2** (a i b)). De manera general en aquest estudi, per a una explosió coulòmbica donada, l'ió complementari de relació m/z més gran sol presentar una major intensitat relativa, com té lloc en el complex Ca(II)-urea.¹⁵



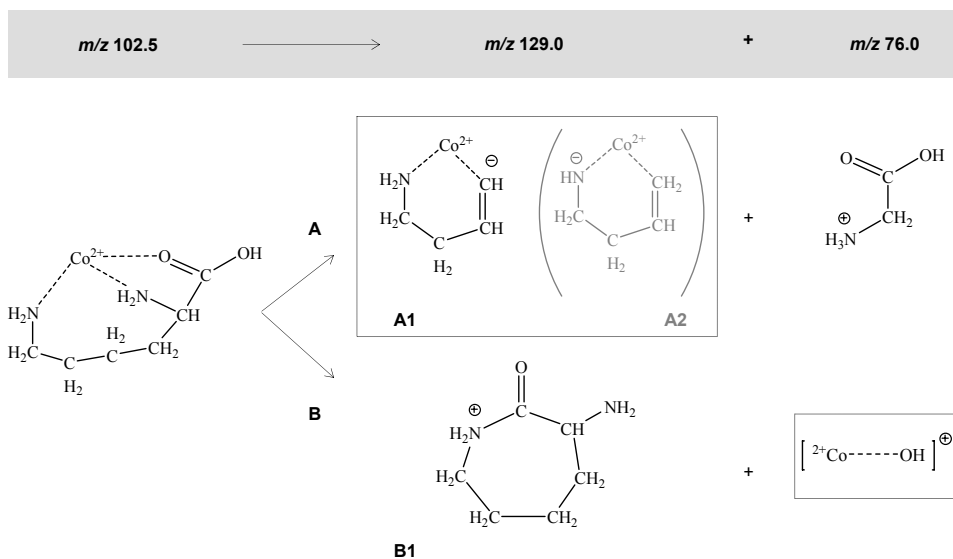
Esquema 6.2.2. Processos de separació de càrrega que tenen lloc des de l'ió pare [Co,K]²⁺ (m/z 102.5 uma), (a), i des de l'ió fill m/z 79.5 uma (b).

Segons la figura anterior, l'ió 84 s'originaria a partir de l'ió 79.5, en el procés **ec2a**, obtenint-se com a complementari l'ió 75, un complex de Co(II) i NH₂⁻. Aquest procés té lloc a mesura que es va eliminant (C,O₂,H₂) de l'ió pare, tal i com mostra el gràfic I rel. vs ce de la Figura 6.2.3. El procés de formació d'aquests ions es mostra en l'Esquema 6.2.3 i pot tindre lloc mitjançant un atac nucleofílic d'un dels dos grups NH₂ del complex amb m/z 79.5 sobre un C.



Esquema 6.2.3. Procés de separació de càrrega **ec2a** proposat.

L'ió 76 però, prové de l'ió pare, segons el procés **ec1a**, juntament amb el seu ió complementari, el 129. Aquests ions poden assignar-se a diferents estructures en funció del fragment que conté el Co(II), estructures que es presenten en l'Esquema 6.2.4.



Esquema 6.2.4. Procés de separació de càrrega **ec1a**: $102.5 \rightarrow 129.0 + 76.0$ (uma). Enquadrats, fragments de la lisina on es localitza el catió Co(II). **A1** i **A2** corresponen a dos estructures possibles del complex metàl·lic (en funció dels H transferits).

Segons el procés **A**, el complex Co(II)-lisina es trencaria originant-se glicina protonada i un complex on el Co(II) interaccionaria amb un fragment procedent de l'esquelet de la cadena lateral de l'aminoàcid. Per a l'ió 129 es podrien pensar diverses estructures, de tipus **A1** i **A2**, marcades en l'Esquema 6.2.4. Mitjançant el procés **B** s'obtidria el complex $[\text{Co},\text{OH}]^+$ (76 uma) i un ió corresponent a una lactama, l' α -amino- ϵ -caprolactama protonada. Aquesta lactama és estable, s'origina per atac nucleofílic del grup amino de la cadena (NH_2 ϵ) sobre el C carbonílic i es troba freqüentment en experiments realitzats amb pèptids protonats que contenen una lisina en l'extrem N-terminal o en una posició interna. A més, aquest ió pot patir una fragmentació secundària, mitjançant un

atac nucleofílic d'algun dels dos grups amino sobre un C, originant el ja conegut ió m/z 84.^{10,25}

Segons els resultats dels càlculs realitzats sobre aquests sistemes, el procés **A** seria el més favorable termodinàmicament, ja que els productes obtinguts seguint aquesta fragmentació es troben entre -13.4 i 4.8 kcal mol⁻¹ respecte el complex Co(II)-lisina. El procés **B**, tot i que seria possible en les condicions de treball experimental, origina uns productes que es troben a 24.6 kcal mol⁻¹ del reactiu, massa elevats energèticament. La Figura 6.2.5 mostra l'estructura i l'energia relativa dels complexos obtinguts mitjançant el procés **A**.

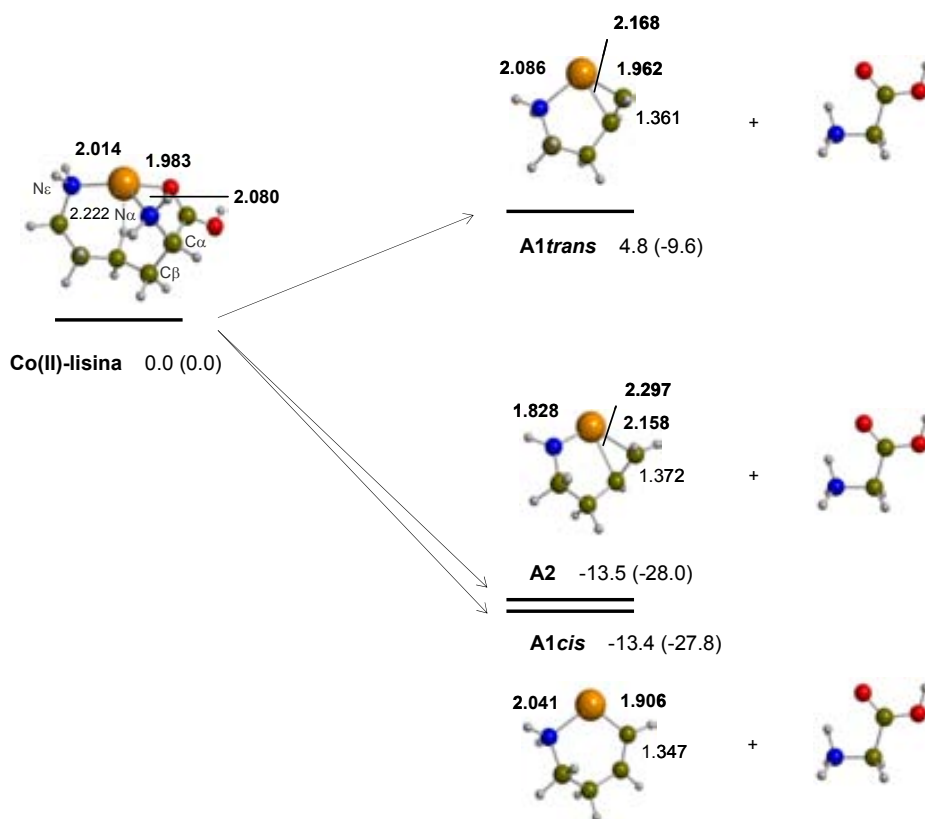


Figura 6.2.5. Estructures B3LYP/b1 de les possibles estructures dels fragments m/z 129 i m/z 76 originats pel procés **A**. S'inclou l'energia relativa (kcal mol⁻¹) amb correcció de punt zero respecte el complex inicial Co(II)-lisina (ΔG_{298}^0 entre parèntesi).

Fonamentalment, per a l'ió 129 poden obtenir-se dos tipus de complexos diferents: **A1** (amb un doble enllaç C=C que pot ser *cis* (**A1 cis**) o *trans* (**A1 trans**)) i **A2**. En els dos primers, la càrrega negativa es localitza sobre l'enllaç C=C i el C_β forma un enllaç covalent amb el catió. A més, per a l'**A1 trans**, el doble enllaç també interacciona amb el cobalt. D'altra banda, en el complex **A2**, el cobalt interacciona amb el grup NH⁻ i amb el doble enllaç C=C. En tots tres complexos es dona una transferència de càrrega i d'espín del lligand al cobalt: els valors de la càrrega i espín sobre ell oscil·len entre 0.99 (**A1 trans**) – 1.17 (**A1 cis**) i 2.16 (**A1 trans**) – 2.63 (**A1 cis**), respectivament. Termodinàmicament, els processos de formació dels complexos **A1 cis** i **A2** i glicina protonada són exotèrmics i gairebé indistingibles energèticament: -13.4 i -13.5 kcal mol⁻¹, respectivament. En canvi, l'obtenció d'**A1 trans** i glicina protonada es trobaria una mica més desfavorida (4.8 kcal mol⁻¹).

L'eliminació d'una molècula de glyH⁺ requereix el trencament de l'enllaç C_α-C_β de la lisina i la transferència de dos H de la cadena: una al NH₂ terminal (N_α) i una altra al C_α de la lisina. El trencament de l'enllaç C_α-C_β sense cap transferència addicional originaria un intermedi a 35.4 kcal mol⁻¹, massa energètic com per ser considerat l'iniciador de la reacció. La transferència d'un H al NH₂ terminal en el primer pas suposaria la descoordinació d'aquest grup NH₃⁺ del Co(II) i l'aparició d'una càrrega positiva addicional propera al centre metàl·lic, amb un consegüent augment de la repulsió metall-ligand. D'altra banda, des d'aquests intermedis la transferència de l'altre H (procedent del NH₂ ε) resultaria complicada. Per la qual cosa, no semblarien tampoc uns intermedis iniciadors de la fragmentació. Així, cal considerar la possibilitat de què en el primer pas tinga lloc el trencament de l'enllaç i la transferència d'un H simultàniament. Si aquesta té lloc des del C_γ es podrien formar tres complexos tetracoordinats molt estabilitzats, **I1a**, **I1b** i **I1c**, els quals es mostren en la Figura 6.2.6. Els dos primers (**I1a**, **I1b**), gairebé degenerats (-15.6 i -15.4 kcal mol⁻¹ respectivament) i amb un entorn gairebé

tetraèdric, es diferencien per l'orientació del lligand de glicina; el tercer, **IIc**, presenta una disposició dels lligands semblant a l'**IIa** però amb un entorn proper a un pla quadrat ($-9.3 \text{ kcal mol}^{-1}$).^a

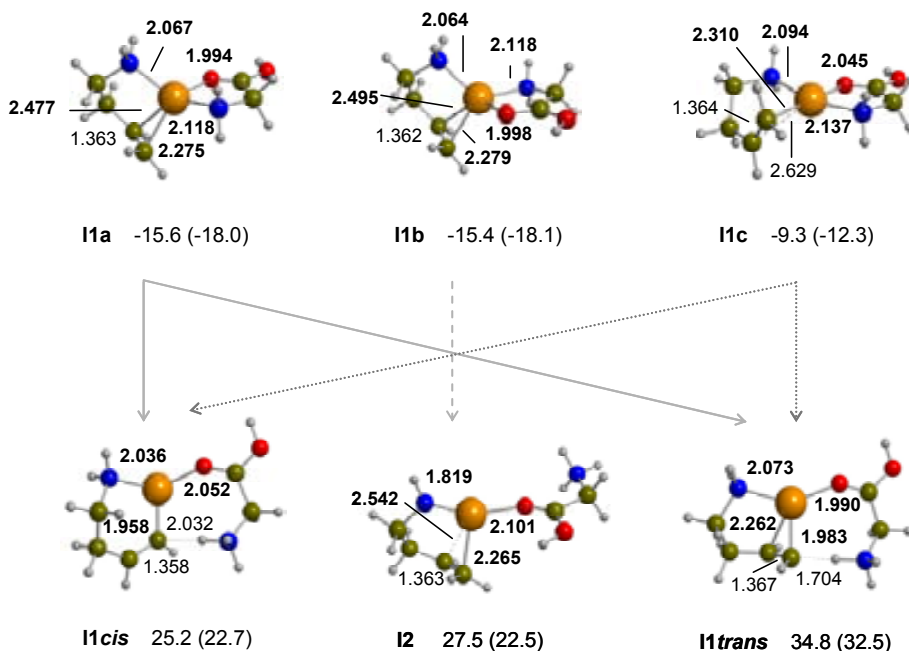


Figura 6.2.6. Estructures B3LYP/b1 dels intermedis **IIa**, **IIb** i **IIc**, originats pel trencament de l'enllaç $C_{\alpha}-C_{\beta}$ i la transferència simultània d'un H del C_{γ} en el complex Co(II)-lisina. S'inclou l'energia relativa respecte el complex inicial Co(II)-lisina (kcal mol^{-1}) amb correcció de punt zero (ΔG_{298}^0 entre parèntesi).

Tal i com mostra la figura anterior, els tres intermedis possibiliten la transferència del segon H per formar glicina protonada. Des dels complexos **IIa** i **IIc** pot tindre lloc del C_{β} cap al NH_2 terminal, protonant-lo. Aquest pas originaria dos intermedis, **I1cis** ($25.2 \text{ kcal mol}^{-1}$) i **I1trans** ($34.8 \text{ kcal mol}^{-1}$), segons l'H transferit i la disposició adoptada pel doble enllaç $C_{\beta}=C_{\gamma}$ final, *cis* o *trans*. Tot i la facilitat aparent d'aquesta transferència, no s'han pogut obtenir els estats de transició associats, ja que en algun cas les temptatives evolucionen cap a un complex on l'H s'uneix al Co(II), localitzat a $72.9 \text{ kcal mol}^{-1}$, massa energètic com

^a No s'ha pogut trobar un complex similar a l'**IIb** amb entorn pla quadrat.

per ser una peça clau en la protonació del NH_2 .^b En els intermedis **I1 cis**, **I2**, **I1 trans** existeix més repulsió, donada la proximitat de les càrregues positives localitzades sobre el Co(II) i sobre el NH_3 del lligand que formarà la glicina protonada. Donada la diferència energètica entre els complexos **I1 cis**, **I2**, **I1 trans** i els intermedis **I1a**, **I1b** i **I1c**, l'estat de transició es localitzarà molt a prop dels primers, pel que cal esperar un estat de transició bastant pla. També es podria pensar en la possibilitat de què el complex explote a l'iniciar-se l'acostament dels dos lligands formats per transferir el H^+ : la generació d'aquesta nova càrrega positiva sobre el lligand de glicina originaria una gran repulsió amb les dues càrregues del Co(II) . Aquests factors podrien explicar la impossibilitat de trobar els estats de transició associats. Finalment, el trencament de l'enllaç Co-O en els complexos **I1 cis** i **I1 trans** permetria l'obtenció de la glicina protonada i els complexos **A1 cis** ($-13.4 \text{ kcal mol}^{-1}$) i **A1 trans** ($4.8 \text{ kcal mol}^{-1}$), mostrats en la Figura 6.2.5.

La protonació del grup NH_2 terminal seria també factible per desprotonació del NH_2 de la cadena lateral, a partir de l'intermedi **I1b**, arribant al complex **I2** ($27.5 \text{ kcal mol}^{-1}$). Com abans, el trencament de l'enllaç Co-O donaria lloc a la glicina protonada i al producte **A2** ($-13.5 \text{ kcal mol}^{-1}$, degenerat amb l'**A1 cis**). Així, sense les dades sobre les barreres energètiques (no s'han pogut obtenir), es pot pensar en la competència de dos mecanismes en la fragmentació del complex Co(II)-lisina , segons els quals s'obtindria preferentment glicinaH^+ i els complexos **A2** o **A1 cis**.

El procés de separació de càrrega estudiat podria tindre lloc en tres etapes: i) trencament de l'enllaç $\text{C}_\alpha\text{-C}_\beta$ i transferència d'un H_γ , ii) transferència d'un H_β o d'un H del NH_2 ϵ , i iii) trencament de l'enllaç Co-O alliberant-se la glicina protonada i els productes **A1 cis** i **A2**, respectivament. Fins i tot es podria pensar

^b De fet, l'estudi sobre la transferència d'un H de la lisina al Co(II) , presentat en el capítol anterior, mostra la gran desestabilització d'aquest tipus d'estructures

en l'acoblament de les dues últimes etapes. Així, a mesura que es transferira càrrega positiva a la glicina, aquesta s'allunyaria del Co(II), obtenint-se els productes.

En els processos ec1b i ec1c (Esquema 6.2.2.a), els ions de menor m/z generats podrien assignar-se als ions de tipus imoni $\text{NH}_2=\text{CH}_2^+$ (30 uma, observat també per al sistema Ca(II)-gly^5) i $\text{NH}_2=\text{CH}(\text{CH}_2)_2\text{CH}_3^+$ (72 uma) respectivament. Aquest tipus d'ions, concretament els $\text{NH}_2=\text{CH-R}^+$, són observables després de múltiples trencaments secundaris de la cadena peptídica.^{5,13,24-28}

La Figura 6.2.7 mostra l'espectre MS/MS obtingut per al complex $[\text{Co,KK}]^{2+}$.

$[\text{Co,KK}]^{2+}$ dp = 30V ce = 15eV

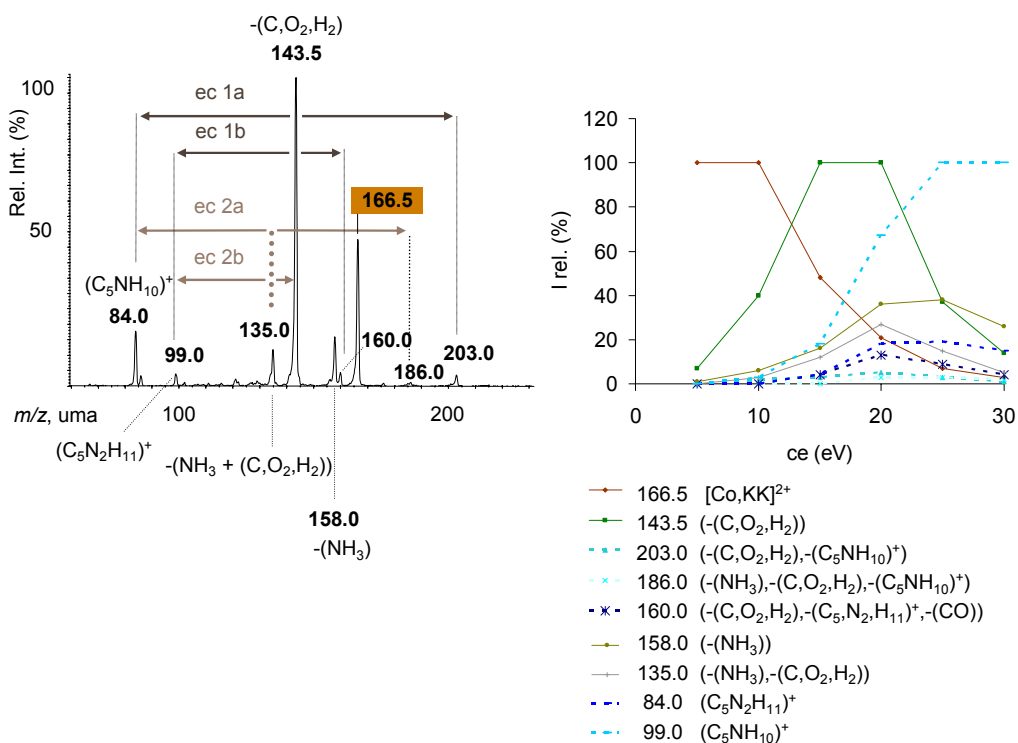


Figura 6.2.7. Espectre MS/MS i variació de la intensitat relativa (%) vs l'energia de col·lisió (eV) dels fragments obtinguts a partir del complex $[\text{Co,KK}]^{2+}$ (en taronja), enregistrat a DP=5 V i una energia de col·lisió de 15 eV. En línia puntejada, pèrdues d'ions monocarregats.

A diferència del Co(II)–lisina, amb el Co(II)–dilisina (166.5 uma) s'obté un espectre MS/MS més clar, amb menys pics. En aquest, la fragmentació més important correspon a la pèrdua de 46 unitats de massa (C, O_2, H_2), donant lloc a l'ió 143.5 uma. El fet de no apreciar-se eliminacions de H_2O o CO podria indicar, bé que la pèrdua successiva de H_2O i CO té lloc molt ràpidament, no detectant-se l'intermedi, bé que l'eliminació correspon a una molècula d'àcid fòrmic. En la Figura 6.2.8 es presenta l'estructura B3LYP/b1 de la conformació més estable trobada per al complex Co(II)–KK (a), la conformació més estable amb el grup COOH coordinat al catió metàl·lic (b) i dos fragments procedents del complex Co(II)–KK (c i d).

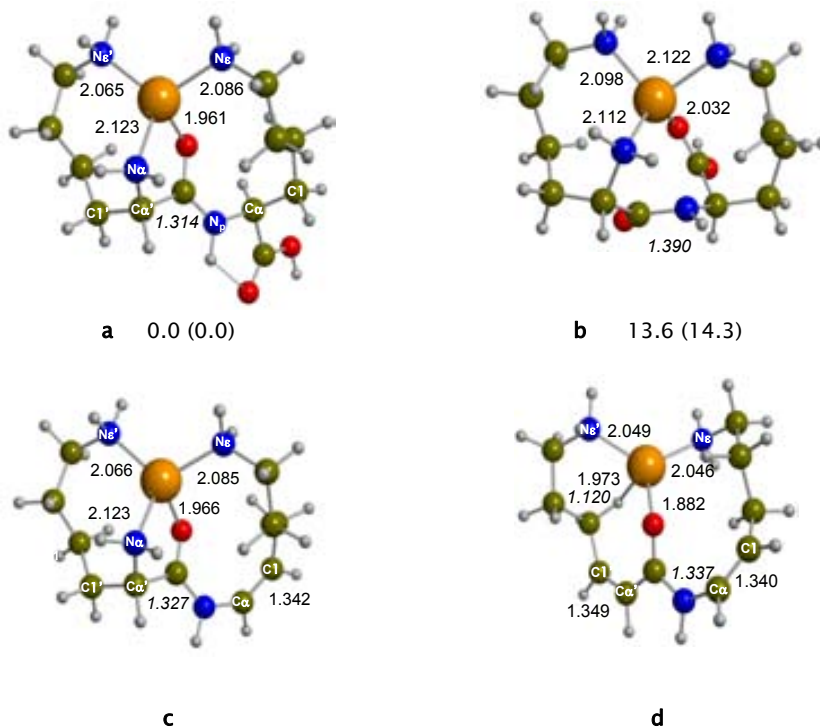
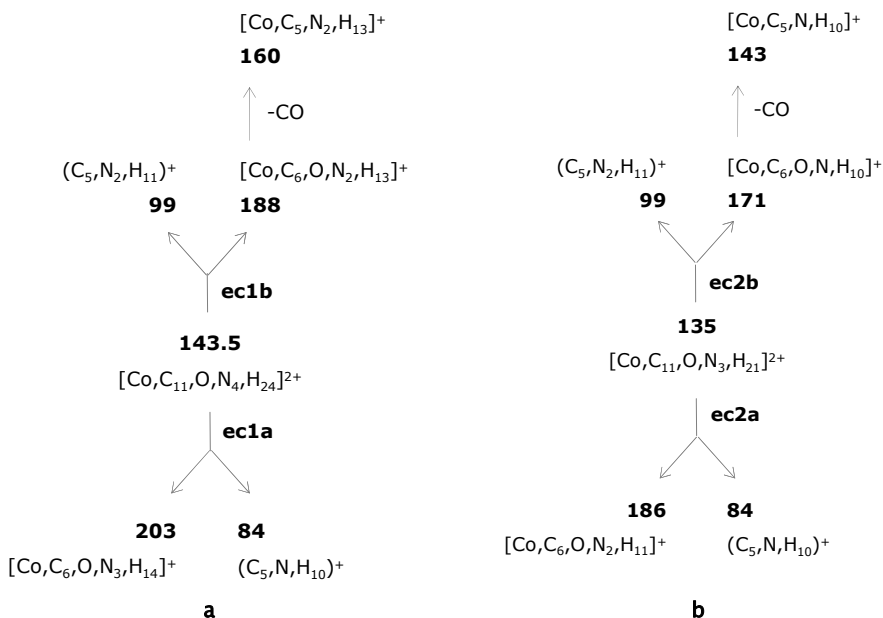


Figura 6.2.8. a), b), estructures B3LYP/b1 proposades per al complex $[Co, KK]^{2+}$: a), conformació fonamental, b), conformació més estable amb el COOH coordinat. c), complex resultant de l'eliminació de (C, O_2, H_2) i d), resultant de l'eliminació de (C, O_2, H_2) i NH_3 . Per a les dues primeres s'inclou l'energia relativa amb correcció de punt zero (ΔG_{298}^0 entre parèntesi), en kcal mol⁻¹. Distàncies en Å.

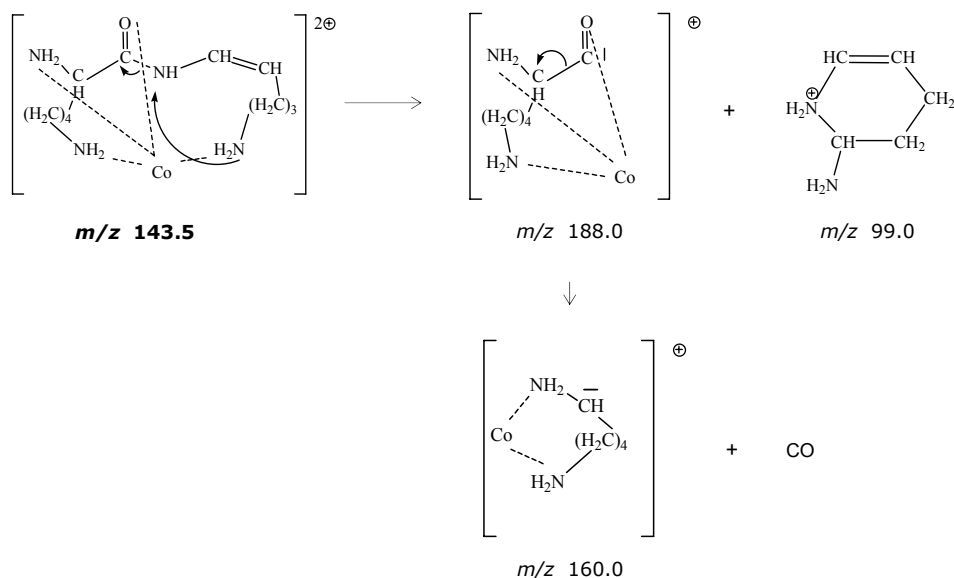
L'eliminació de 46 uma podria tindre lloc des de l'estructura **a**, mitjançant una transferència d'H de tipus 1,3 del C₁ al C carboxílic, però també de l'estructura **b**, mitjançant una inserció metàl·lica en l'enllaç C_{carboxílic}-C_α, observada en altres sistemes on s'elimina aquest grup. Si bé l'estructura **b** es troba a 13.6 kcal mol⁻¹ de la conformació **a**, podria ser accessible tenint en compte la temperatura de la font en els experiments, 343 K. En qualsevol cas, l'eliminació de (C,O₂,H₂) originaria un complex tetracoordinat amb l'O_p o el N_p interaccionant amb el Co(II), l'ió 143.5. L'anàlisi conformacional realitzat per a les oligoglicines en l'apartat 5.2 però, mostra la preferència per la interacció amb l'O_p, recolzant la formació de l'estructura **c** de la Figura 6.2.8. Des d'aquest intermedi, i mitjançant una transferència d'H de tipus 1,3 del C₁' al N_α, seria factible l'eliminació d'una molècula de NH₃ (17 uma), originant el pic a 135.0 uma. La presència d'aquest ió s'observa en l'espectre MS/MS amb una intensitat petita i tindria una estructura tetracoordinada (*cf.* Figura 6.2.8.d) estabilitzada per la formació d'una interacció agòstica de tipus δ.



Esquema 6.2.5. Processos de separació de càrrega que tenen lloc des dels ions fills m/z 143.5 uma, (a) i m/z 133 uma (b), procedents de l'ió $[Co, KK]^{2+}$.

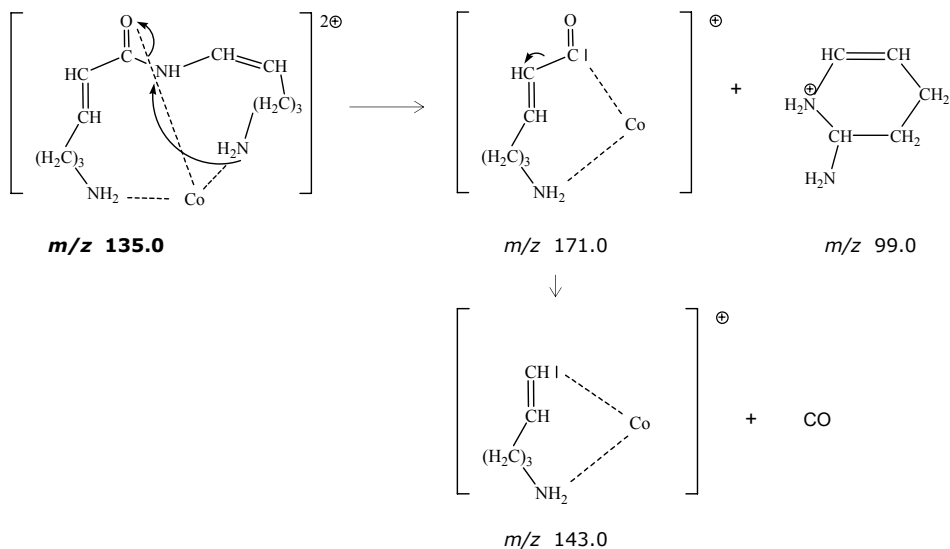
En la fragmentació del complex Co(II)-KK també s'observen processos de separació de càrrega, però són menys importants que en el complex Co(II)-K. Aquests processos es resumeixen en l'Esquema 6.2.5.

A diferència del sistema Co(II)-lisina, en el Co(II)-lisina les explosions coulòmbiques es donen exclusivament en ions fills, ions que han sofert una eliminació prèvia: de (C,O₂,H₂) (m/z 143.5, processos ec1a i ec1b) o de (C,O₂,H₂) + NH₃ (m/z 135, processos ec2a i ec2b). Per a tots dos ions fills, en els processos de tipus eca s'obté sempre l'ió 84, característic dels sistemes que contenen com a mínim una lisina, mentre en els de tipus ecb s'obté sempre l'ió 99. En aquest procés, els ions complementaris no s'observen, ja que eliminen ràpidament una molècula de CO, detectant-se els ions resultants, 160.0 (ec1b) i 143.0 (ec2b). Tots aquests processos de separació de càrrega poden racionalitzar-se a partir de les estructures **c** i **d** proposades en la Figura 6.2.8, ja que tindrien lloc per atacs nucleofílics iniciats pels grups amino de les cadenes laterals de les lisines. Així, si l'atac té lloc sobre un C de tipus α i/o α' s'obté l'ió 84, mentre que s'obté el 99 si l'atac té lloc sobre el N_p.



Esquema 6.2.6.a. Proposta d'obtenció de l'ió 99 de l'ió fill 143.5 pel procés **ec1b**.

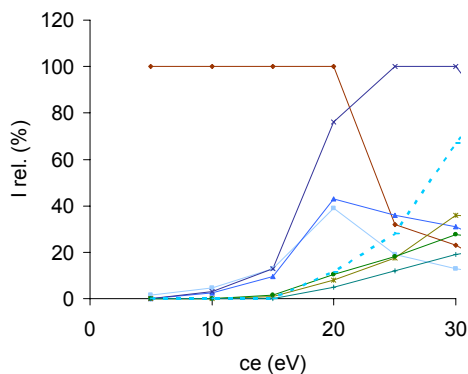
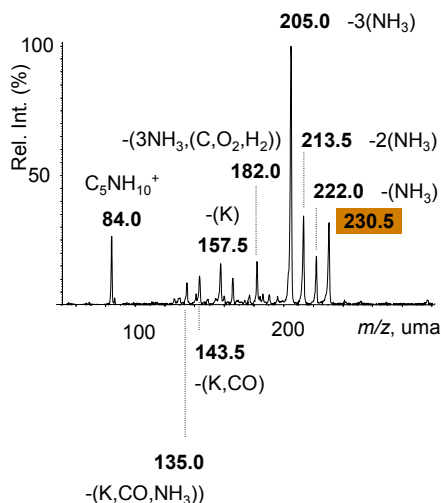
L'Esquema 6.2.6.a i l'Esquema 6.2.6.b presenten dues propostes de processos d'obtenció de l'ió, 99, des dels ions 143.5 i 135.0, respectivament.



Esquema 6.2.6.b. Proposta d'obtenció de l'ió 99 de l'ió fill 135.0 pel procés **ec2b**.

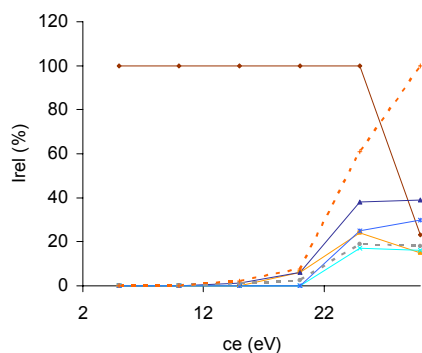
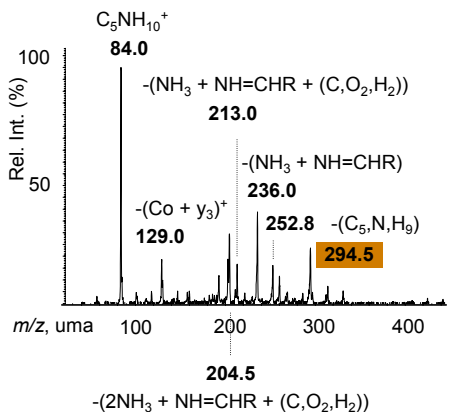
La Figura 6.2.9 mostra els espectres MS/MS obtinguts per als complexos $[\text{Co},\text{KKK}]^{2+}$ (a) i $[\text{Co},\text{KKKK}]^{2+}$ (b). Per al $[\text{Co},\text{KKK}]^{2+}$, les fragmentacions principals corresponen, d'una banda, a l'eliminació successiva d'1, 2 i 3 molècules neutres de NH_3 (ions 222.0, 213.5 i 205.0, respectivament) i de l'altra, a l'obtenció de l'ió m/z 84 (C_5NH_{10})⁺. Tot i això, la fragmentació més intensa és la pèrdua de tres molècules de NH_3 . Donat que la trilisina conté tres grups NH_2 de tipus ϵ i que l'eliminació d'amoniac no s'observa en les oligoglicines, les pèrdues de NH_3 tindrien lloc des de les cadenes laterals. D'altra banda, tenint en compte que generalment les fragmentacions d'un complex solen donar-se en les proximitats del catió metàl·lic, les fragmentacions anteriors podrien donar-se en una estructura amb els tres grups amino laterals coordinats al $\text{Co}(\text{II})$, de manera similar als sistemes $\text{Co}(\text{II})$ -lisina i $\text{Co}(\text{II})$ -dilisina.

a) $[\text{Co,KKK}]^{2+}$ dp = 30V ce = 25eV



- 230.5 $[\text{Co,KKK}]^{2+}$
- 222.0 $(-\text{NH}_3)$
- △— 213.5 $(-2(\text{NH}_3))$
- ×— 205.0 $(-3(\text{NH}_3))$
- ★— 182.0 $(-3(\text{NH}_3),-(\text{C},\text{O}_2,\text{H}_2))$
- ◇— 157.5 $(-\text{K})$
- +— 143.5 $(-\text{K}),-(\text{CO})$
- *— 84.0 $(\text{C}_5\text{NH}_{10}^+)$

b) $[\text{Co,KKKK}]^{2+}$ dp = 30V ce = 15eV

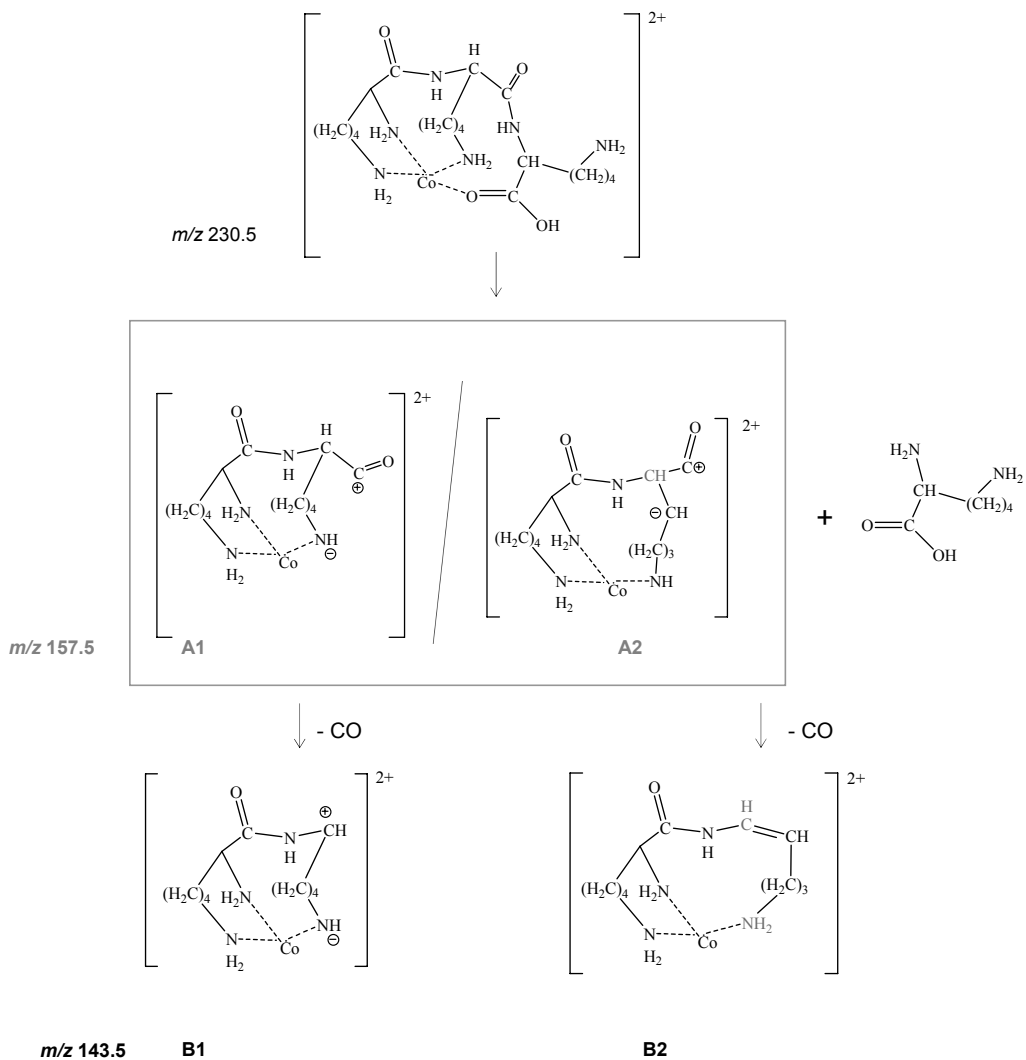


- 294.5 $[\text{Co,KKKK}]^{2+}$
- 204.5 $(-2(\text{NH}_3),-(\text{NHCHR}),-(\text{C},\text{O}_2,\text{H}_2)) / -((\text{C}_5,\text{N},\text{H}_9),-3(\text{NH}_3),-(\text{C},\text{O}_2,\text{H}_2))$
- ◇— 252.8 $(-\text{C}_5,\text{N},\text{H}_9)$
- ×— 236.0 $(-\text{NH}_3),-(\text{NHCHR})$
- ★— 213.0 $(-\text{NH}_3),-(\text{NHCHR}),-(\text{C},\text{O}_2,\text{H}_2) / -((\text{C}_5,\text{N},\text{H}_9),-2(\text{NH}_3),-(\text{C},\text{O}_2,\text{H}_2))$
- *— 129.0 $(-\text{Co} + y_3)^+$
- *— 84.0 $(\text{C}_5\text{NH}_{10}^+)$

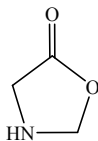
Figura 6.2.9. Espectres MS/MS i variació de la intensitat relativa (%) vs l'energia de col·lisió (eV) dels fragments obtinguts a partir dels complexos $[\text{Co,KKK}]^{2+}$ (a) i $[\text{Co,KKKK}]^{2+}$ (b), en taronja. Per a cadascun d'ells s'especifica el potencial de con i l'energia de col·lisió a la qual estan enregistrats. En línia puntejada, pèrdues d'ions monocarregats. En els casos on són factibles diferents assignacions per a un mateix pic, s'indiquen les dues alternatives. $\text{R} \equiv -(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$.

D'altra banda, s'observen eliminacions menys intenses de grups que contenen almenys un àtom d'oxigen, com els ions 182.0 uma (pèrdua de $(C, O_2, H_2) + 3NH_3$), 157.5 uma (pèrdua d'una molècula de lisina, K) o 143.5 uma (pèrdua de lisina + CO). El primer, 182.0, s'origina per una fragmentació secundària de l'ió 205.0. En el segon i tercer, l'eliminació d'una molècula de lisina podria donar-se des d'una estructura estable energèticament on la cadena lateral de l'aminoàcid de l'extrem C terminal no es trobara interaccionant amb el Co(II). No seria il·lògic tenint en compte que l'augment del nombre de lisines en l'oligopèptid genera en el lligand uns impediments estèrics cada vegada superiors. L'Esquema 6.2.7 mostra una estructura d'aquest tipus i una proposta per la qual podria eliminar-se lisina i lisina + CO a partir d'ella. L'eliminació d'una unitat de lisina (m/z 157.5, ió de tipus $(b_2-H+Co)^{2+}$) implica una transferència d'un H d'un NH_2 o d'un C propers al N_p i el trencament d'aquest enllaç peptídic. Si la transferència tingués lloc des del grup amino s'obtindria una estructura de tipus **A1** amb un grup NH^- unit al Co(II). També es podria pensar en una transferència 1,4 d'un H des d'un C de la cadena lateral d'una lisina, que deixaria la càrrega negativa sobre un C (estructura **A2**). Des d'aquests dos complexos es podria eliminar llavors CO, obtenint-se les estructures **B1** i **B2**, corresponents a l'ió m/z 143.5. A més, des del complex **B2**, mitjançant un atac nucleofílic del NH_2 al $C(=C)$ (marcats tots dos en gris), seria possible l'obtenció de l'ió 84 (C_5NH_{10})⁺.

La formació d'ions de tipus b_n (similars a l'ió 157.5) està documentada en la fragmentació de complexos metàl·lics de Li(I), Na(I) i K(I) amb oligopèptids que contenen una lisina en una posició interna,¹⁰ i seria iniciada mitjançant l'atac nucleofílic d'un O amida al C peptídic, amb la consegüent formació d'una oxazolona, d'estructura similar a la mostrada en l'Esquema 6.2.8.^{10,29}



Esquema 6.2.7. Proposta d'obtenció dels ions 157.5 i 143.5 a partir de l'ió pare 230.5 ($[\text{CoKKK}]^{2+}$), per eliminació de lisina i de CO. Per al 157.4 i el 143.5 es proposen 2 estructures: **A1/A2** i **B1/B2**, respectivament.



Esquema 6.2.8. Estructura d'una oxazolona.

Per al complex $[\text{Co},\text{K}\text{K}\text{K}\text{K}]^{2+}$, el major grau d'impediment estèric que generen les quatre lisines de l'oligopèptid es veu reflectit en el tipus de fragmentacions observades. Així, l'eliminació de molècules de NH_3 és menor, predominant trencaments de les cadenes laterals i de l'enllaç peptídic. Per a aquest complex, la fragmentació majoritària correspon a l'obtenció de l'ió monocarregat m/z 84, $(\text{C}_5\text{NH}_{10})^+$, i a la pèrdua de $\text{NH}_3 + (\text{C}_5, \text{N}_2, \text{H}_{12})$, mitjançant la qual s'obtingria l'ió 236.0. El fragment $(\text{C}_5, \text{N}_2, \text{H}_{12})$ podria assignar-se, bé a una imina formada amb l'extrem N terminal i la cadena lateral d'una lisina, $\text{NH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$ (parent dels ions imoni), bé a la suma d'una molècula de NH_3 i el cicle neutre C_5NH_9 (83 uma) (parent de l'ió 84, sense protonar). Per a què l'eliminació de $(\text{C}_5, \text{N}_2, \text{H}_{12})$ tinga lloc és necessari una descoordinació de, com a mínim, una de les cadenes laterals.

Des de l'ió 236.0 s'observen fragmentacions secundàries i menys intenses, en les que s'elimina $(\text{C}, \text{O}_2, \text{H}_2)$ (ió 213.0) i $(\text{C}, \text{O}_2, \text{H}_2) + \text{NH}_3$ (ió 204.5). Una vegada més, la pèrdua de $(\text{C}, \text{O}_2, \text{H}_2)$ pot donar-se per una transferència d'H des d'un C proper o per un mecanisme d'inserció metàl·lica, cas en el qual el COOH s'hauria de trobar coordinat al Co(II) .

En el complex $[\text{Co},\text{K}\text{K}\text{K}\text{K}]^{2+}$, l'ió a m/z 129.0 podria correspondre a un ió de tipus $(b_1)^+$ ($\text{NH}_2\text{-CHR-CO}^+$), el qual, mitjançant un atac nucleofílic del C carbonílic sobre el NH_2 ϵ formaria l' α -amino- ϵ -caprolactama protonada (*cf.* molècula B1 de l'Esquema 6.2.4), indicadora de la presència de lisina en la seqüència d'un pèptid.^{10,25,29}

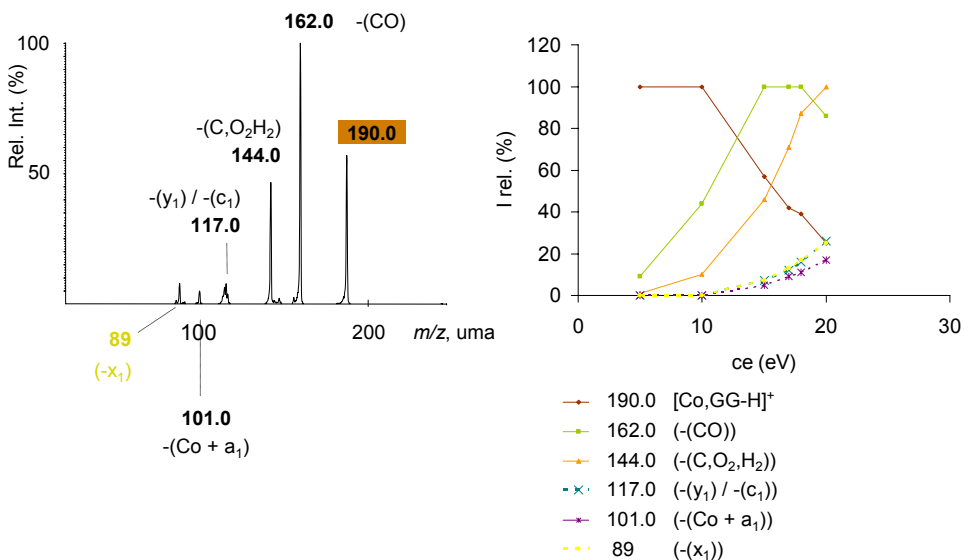
Així, el diferent patró de fragmentació del complex $[\text{Co},\text{K}\text{K}\text{K}\text{K}]^{2+}$ posa de manifest les diferències estructurals d'aquest respecte als complexos de Co(II) de les oligolisines més petites, diferències determinades en gran mesura pels impediments estèrics que generen les quatre cadenes laterals de la tetralisina.

6.2.2. [Co,L-H]⁺

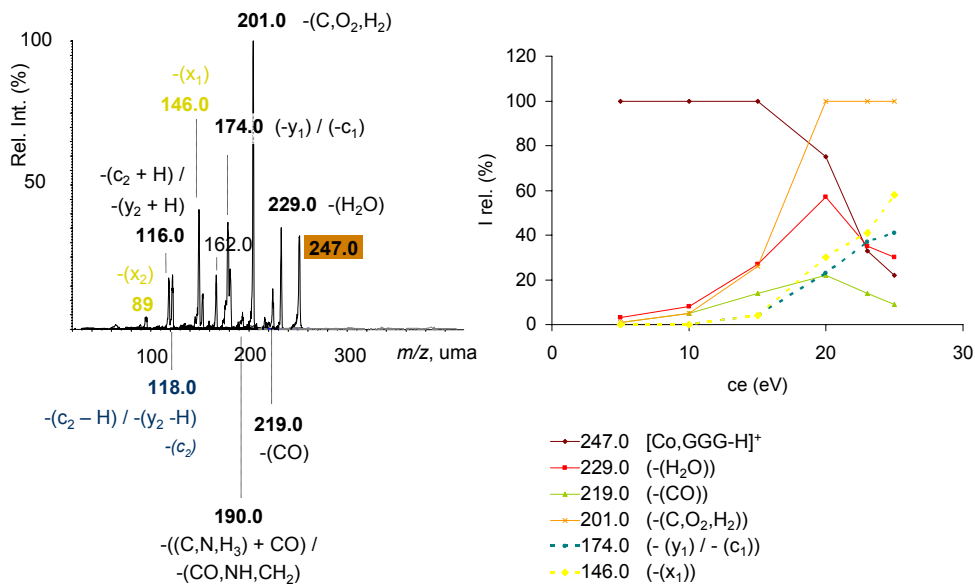
La intensitat relativa d'aquests compostos en els espectres de la font és molt variable (*cf.* Taula 6.1.1), fins al punt de no observar-se a DP properes a 30 eV (*i.e.* KKKK); o la intensitat relativa és massa petita per aconseguir un bon espectre MS/MS (*i.e.* KKK). Per tal de poder estudiar-los, en aquests darrers casos el potencial de con aplicat ha estat de 130 i 140 eV respectivament. La desprotonació del lligand, que podria tindre lloc en el grup COOH, en algun NH amida o fins i tot en un C_α, origina espectres de fragmentació MS/MS bastant diferents dels obtinguts per als complexos [Co,L]²⁺. Així, tot i observar-se pèrdues de molècules xicotetes similars a les obtingudes en el punt anterior, la principal característica d'aquests complexos és la fragmentació de l'esquelet peptídic, originant ions peptídics de diferents tipus.

La Figura 6.2.10 presenta els espectres MS/MS dels complexos [Co,G_nG-H]⁺, on n=1-3. La manca d'una cadena lateral en la glicina determina els espectres MS/MS dels seus oligopèptids. Per als complexos [Co,G_nG-H]⁺ l'eliminació de molècules neutres (fonamentalment (C,O₂,H₂), CO, CO₂ i H₂O) o la formació d'ions peptídics és molt sensible a la llargada de la cadena. Així, el primer mecanisme de fragmentació esdevé més important en les oligoglicines més xicotetes (n=1,2), eliminant-se principalment CO ([Co,GG-H]⁺) i (C,O₂,H₂) ([Co,GGG-H]⁺). Mentre que el segon pren més importància a mesura que la llargada de la cadena augmenta, sent predominant en la tetraglicina desprotonada, on la fragmentació més important correspon a l'eliminació d'un fragment de tipus (y₂-H), (c₂-H) o (c₂) (detectant-se un complex de tipus (b₂+H+Co)⁺ en el primer cas, o de tipus (z₂+H+Co)⁺ i (z₂+Co)⁺ en els darrers). Per als ions (c₂-H) i (c₂), que es tracte d'un o d'un altre depèn del punt de desprotonació del lligand: el COOH, el qual originaria l'ió (c₂-H), o el segon NH peptídic, cas en el qual es tractaria d'un fragment de tipus (c₂).

a) $[\text{Co,GG-H}]^+$ dp = 30V ce = 15eV



b) $[\text{Co,GGG-H}]^+$ dp = 30V ce = 23eV



c) $[\text{Co},\text{GGGG}-\text{H}]^+$ $\text{dp} = 30\text{V}$ $\text{ce} = 25\text{eV}$

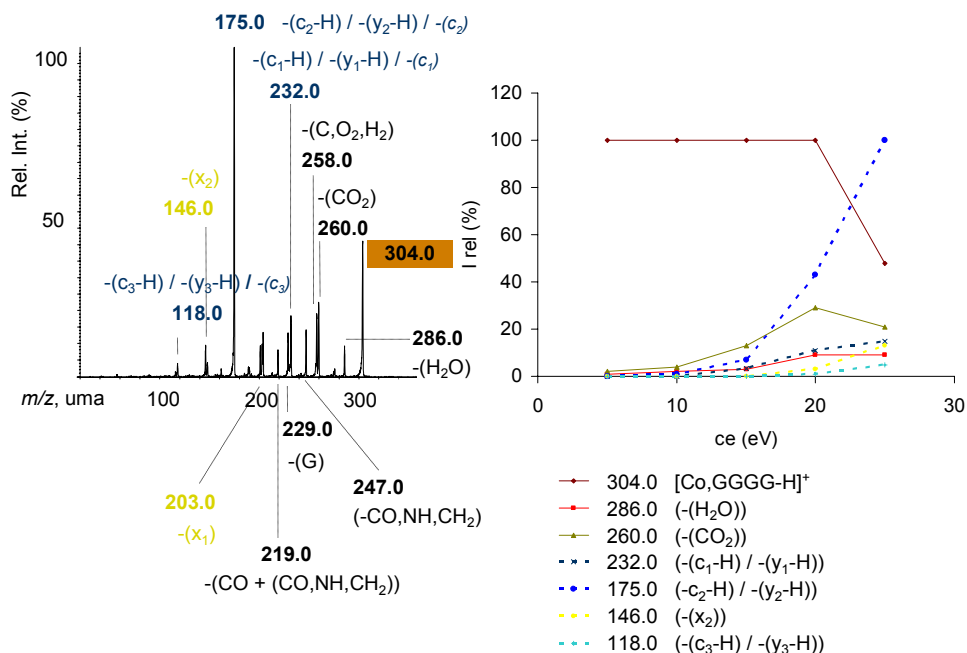


Figura 6.2.10. Espectres MS/MS i variació de la intensitat relativa (%) vs l'energia de col·lisió (eV) dels fragments obtinguts a partir dels complexos $[\text{Co},\text{G}_n\text{G}-\text{H}]^+$ (en taronja) de les oligoglicines desprotonades. Per a cadascun d'ells s'especifica el potencial de con i l'energia de col·lisió als quals estan enregistrats. En línia puntejada, ions peptídics. En els casos on són factibles diferents assignacions per a un mateix pic, s'indiquen les diferents opcions.

Per tal de racionalitzar una mica aquests espectres seria important determinar el punt de desprotonació més favorable. Amb aquesta finalitat s'han realitzat càlculs sobre el sistema més senzill, $[\text{Co},\text{GG}-\text{H}]^+$, al nivell B3LYP/b1, desprotonant el N_p o el COOH de les estructures més estables del sistema $\text{Co(II)}-\text{GG}$, **CoGG1_Q** i **CoGG2_Q** (cf. Figura 5.2.2). No s'ha tingut en compte la desprotonació del C_α perquè cal esperar que aquesta porte a la formació d'un anell de 4 amb el cobalt i el C i, per tant, més desfavorable energèticament. Les dues estructures més estables (a i b), juntament amb les conformacions de partida, es mostren en la Figura 6.2.11.

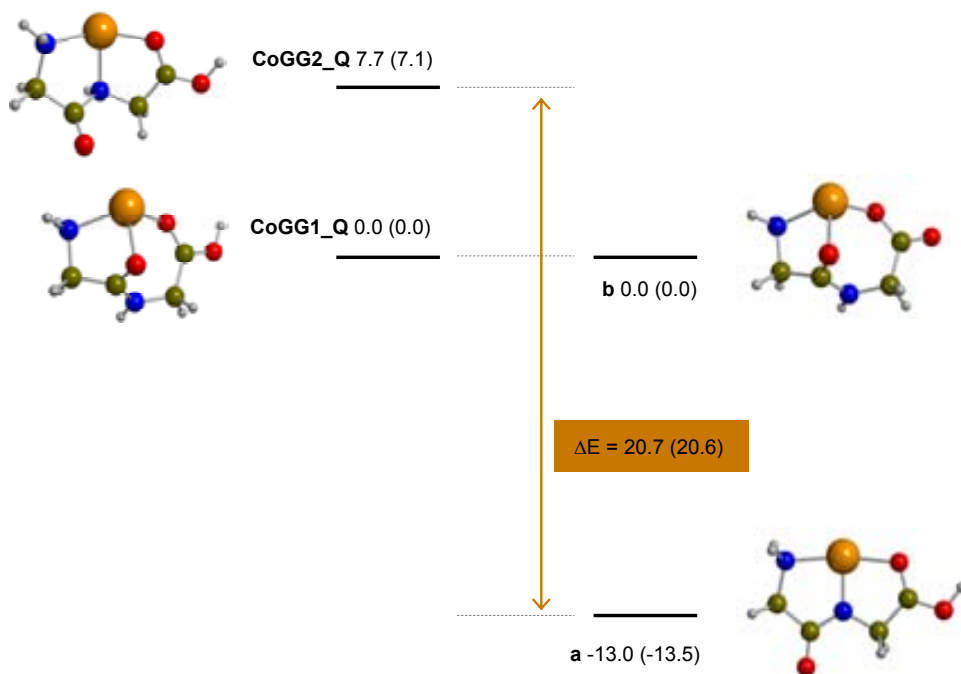


Figura 6.2.11. Estructures més estables trobades al nivell B3LYP/b1 per al sistema $[\text{Co,GG-H}]^+$ (a i b), procedents de la desprotonació dels complexos **CoGG1_Q** i **CoGG2_Q**. S'indica l'energia relativa amb correcció de punt zero (ΔG_{298}^0) en kcal mol⁻¹.

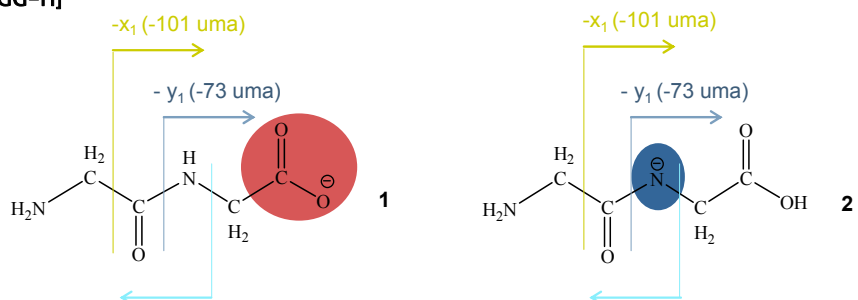
Els resultats presentats en la Figura 6.2.11 posen de manifest la major estabilitat de la conformació **a** (−13 kcal mol⁻¹), derivada de la desprotonació del N_p en el complex **CoGG2_Q**, respecte la conformació **b**, procedent de la desprotonació del grup COOH en el complex **CoGG1_Q**. Una estructura del tipus **a** explicaria plausiblement l'eliminació de molècules com (C,O₂,H₂), CO i H₂O, mitjançant mecanismes d'inserció metàl·lica esmentats en capítols anteriors. Tot i això, la detecció de CO₂ en l'espectre del $[\text{Co,tetraglicina-H}]^+$ es podria raonar més fàcilment partint d'una estructura de tipus **b**, on el COO⁻ interaccionaria amb el centre metàl·lic. Si l'estabilització d'una estructura de tipus **a** fos d'igual magnitud en la diglicina i en la tetraglicina, (de l'ordre de les 20.7 kcal mol⁻¹, *cf.* Figura 6.2.11), partint de la conformació **CoGGGG7_Q** (13.2 kcal mol⁻¹ per sobre la més estable, **CoGGGG3_Q**, *cf.* Figura 5.2.2), una estructura de tipus **a** es trobaria −7.5 kcal mol⁻¹ més estabilitzada que una de tipus **b**. Així, tenint en

compte les condicions experimentals, totes dues conformacions **a** i **b** podrien existir en l'analitzador. De tota manera, caldria realitzar un estudi conformacional a nivell computacional per decidir quina estructura presentaria la conformació fonamental del sistema $[\text{Co},\text{GGG}-\text{H}]^+$. Tot i això, considerant estructures amb el COOH o un dels diferents NH de l'enllaç peptídic desprotonats, en general els fragments detectats es poden designar amb noms similars. Les pèrdues observades, tenint en compte els punts de desprotonació anteriors, s'indiquen en l'Esquema 6.2.9.

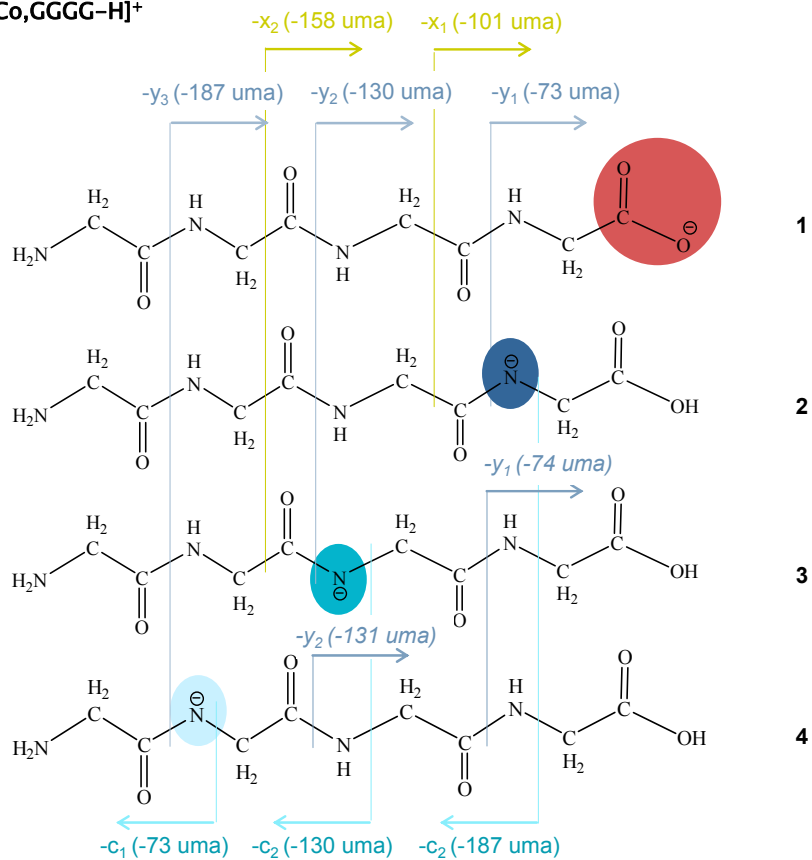
Donant una ullada a les diferents estructures mostrades en l'Esquema 6.2.9, per a $n=1,2$ en els pics a 117.0 uma i 174.0 uma respectivament, s'eliminarien els fragments c_1 o y_1 (73 uma) podent correspondre els ions observats, a un ió de tipus $(z_n+\text{Co})^+$ (pèrdua de c_1 , per trencament de l'enllaç $\text{N}_p-\text{C}_\alpha$) o a un ió $(b_n+\text{Co})^+$ (pèrdua de y_1 , per trencament de l'enllaç C_p-N_p). Tal i com s'observa en l'esquema anterior, en un ió de tipus $(z_n+\text{Co})^+$ el Co(II) interaccionaria amb l'extrem C terminal, mentre que en un de tipus $(b_n+\text{Co})^+$ ho faria amb l'extrem N terminal. Existeixen una sèrie de raonaments que recolzarien la formació d'aquest darrer complex. En primer lloc, la possibilitat de formar un anell de cinc membres amb un catió metàl·lic, el grup amino i un O_p en pèptids (esmentat en capítols anteriors i factible a partir de l'estructura **b** de la Figura 6.2.11) i la intervenció del NH_2 terminal en l'entorn de coordinació del Co(II) en les estructures fonamentals dels complexos Co(II)-oligoglicina (*cf.* Figura 5.2.2). En segon lloc, per a la tetraglicina desprotonada, la pèrdua de $(c_2-\text{H})^+$ (o c_2^+) amb la consegüent formació de l'ió $(b_2+\text{H}+\text{Co})^+$ (o $(b_2+\text{Co})^+$) en la fragmentació més intensa (175.0 uma) donaria lloc a una estructura tricoordinada amb els dos O_p i el NH_2 , entorn similar a l'estructura fonamental del complex Co(II)-GG, **CoGG1_Q**. En tercer lloc, l'eliminació principal de $(\text{C},\text{O}_2,\text{H}_2)$ en el complex $[\text{Co},\text{GGG}-\text{H}]^+$. Aquesta eliminació podria tindre lloc en l'extrem C terminal d'una estructura amb un N_p desprotonat, per inserció metàl·lica en l'enllaç C-C i transferència d'un H, i

originària una estructura tricoordinada on el Co(II) interaccionaria amb 2 N i un O_p.

a) [Co,GG-H]⁺



b) [Co,GGGG-H]⁺



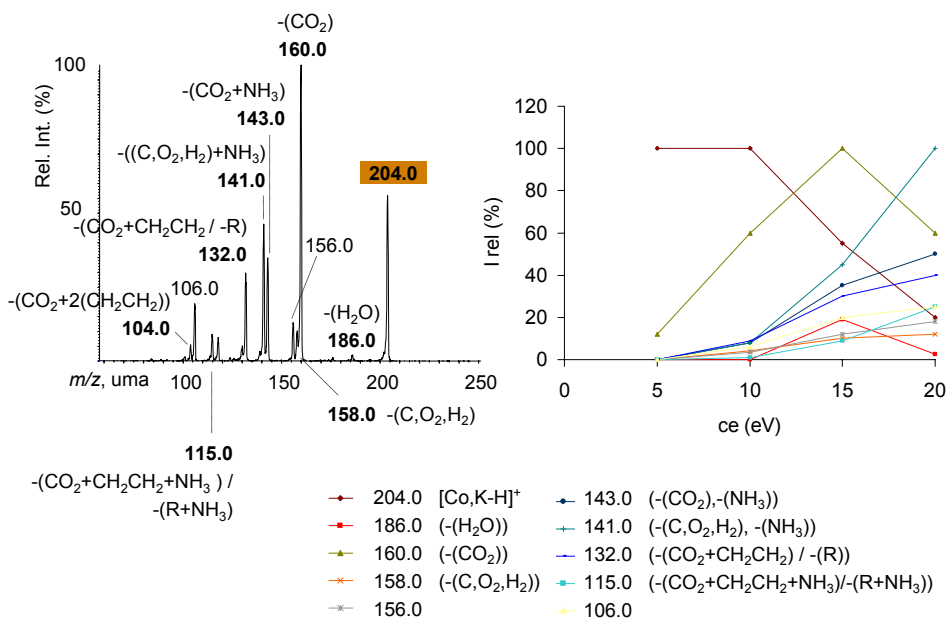
Esquema 6.2.9. Esquema de les fragmentacions observades per als complexos [Co,GG-H]⁺ i [Co,GGGG-H]⁺. En roig i en blau s'indiquen els centres desprotonats.

En quart i darrer lloc, l'existència dels ions $(b_n+Co)^+$ permetria l'obtenció d'ions de tipus $(a_n+Co)^+$, observats principalment en els espectres per $n=1$ i $n=2$ (indicats en groc). Aquests s'originarien, bé per eliminació de $CO^{8,26}$ (ió m/z 89.0 per al complex $[Co,GG-H]^+$, ió m/z 146.0 per al complex $[Co,GGG-H]^+$), bé per eliminació de $CONHCH_2CO$ (ió m/z 89.0 per al complex $[Co,GGG-H]^+$). Cal esmentar que per al lligand $GGGG-H$, $n=3$, s'observaria la formació dels tres ions de la sèrie $(b_n+H+Co)^+$ (118.0, 175.0 i 232.0 uma), indicats en blau en la Figura 6.2.10 i en l'Esquema 6.2.9. L'obtenció d'aquests ions, a més, implicaria una transferència d'un H des de l'esquelet peptídic.

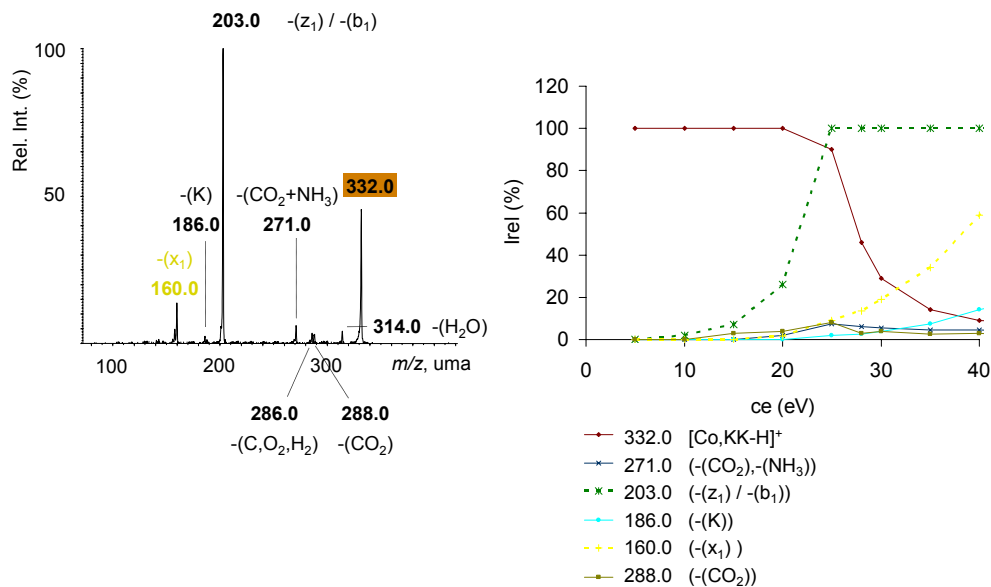
Per als lligands $GGG-H$ i $GGGG-H$ s'observen, addicionalment, eliminacions poc importants de 57 unitats de massa, que podrien correspondre al fragment (CO,NH,CH_2) : pics 190.0 ($GGG-H$) i 247.0 i 219.0 ($GGGG-H$). L'eliminació d'aquest fragment suposaria el trencament de dos enllaços del lligand, deixant un complex metàl·lic amb els fragments resultants units al $Co(II)$.

La Figura 6.2.12 mostra els espectres obtinguts per a la lisina desprotonada i els seus homopèptids derivats. En la fragmentació del complex $[Co,K-H]^+$ es detecten nombrosos ions, els quals corresponen a pèrdues de molècules neutres petites. La fragmentació més important condueix a l'eliminació de CO_2 (m/z 160.0), eliminació que podria tindre lloc mitjançant una inserció metàl·lica C-C en una estructura amb el $COOH$ desprotonat similar a la conformació **a** de la Figura 6.2.11. Una vegada eliminat CO_2 es podria produir una fragmentació secundària, perdent-se NH_3 (ió 143.0) i CH_2CH_2 (ió 132.0) des de la cadena lateral de la lisina. Tot i això, l'ió 132.0 també podria correspondre a l'eliminació de la cadena lateral R, quedant un complex dicoordinat similar a la segona conformació més estable del sistema $Co(II)-G$ (**CoG1_Q**, cf. Figura 4.1.3). Tal i com mostra la gràfica I_{rel} vs ce , aquestes pèrdues secundàries tenen lloc a mesura que fragmenta l'ió 160.

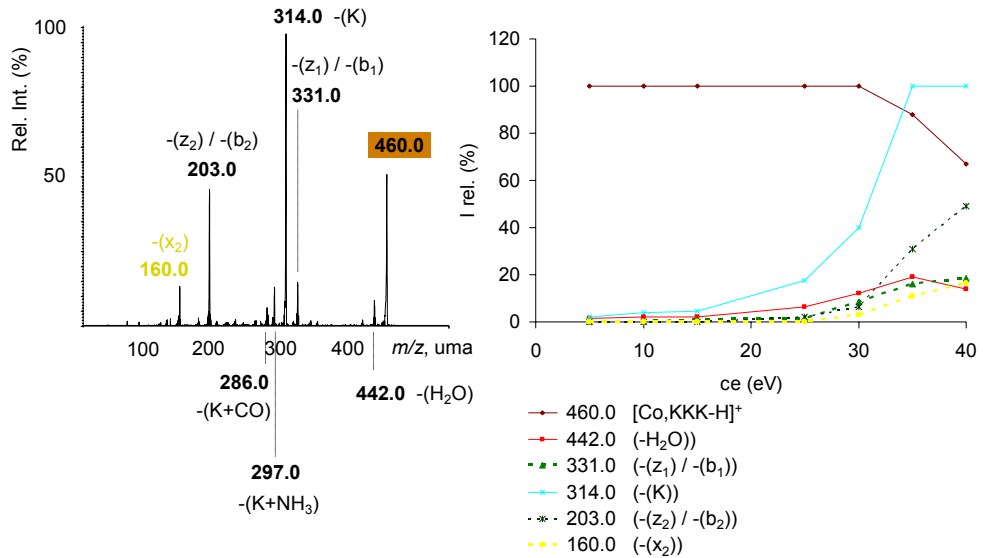
a) [Co,K-H]⁺ dp = 5V ce = 15eV



b) [Co,KK-H]⁺ dp = 30V ce = 20eV



c) [Co,KKK-H]⁺ dp = 140V ce = 40eV



d) [Co,KKKK-H]⁺ dp = 130V ce = 40eV

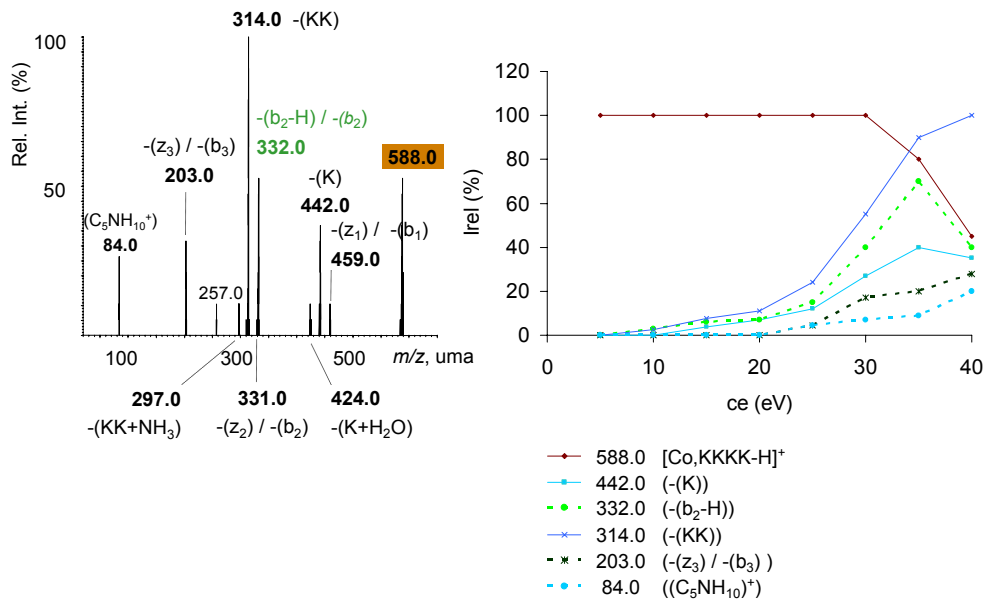
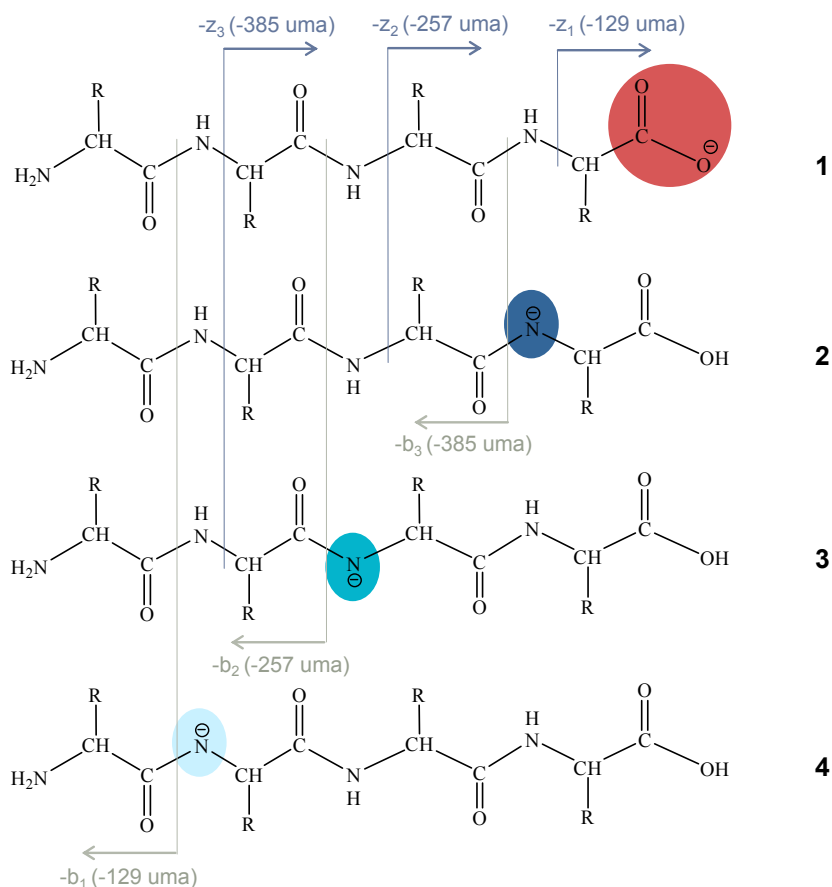


Figura 6.2.12. Espectres MS/MS i variació de la intensitat relativa (%) vs l'energia de col·lisió (eV) dels fragments obtinguts a partir dels complexos [Co,L-H]²⁺ (en taronja) de la lisina (a) i els seus homopèptids (b-d). Per a cadascun d'ells s'especifica el potencial de con i l'energia de col·lisió als quals estan enregistrats. En línia puntejada, ions peptídics. En els casos on són factibles diferents assignacions per a un mateix pic, s'indiquen les dues opcions. R≡-(CH₂)₄NH₂.

En els complexos derivats de les oligolisines desprotonades, tot i observar-se eliminacions de molècules senzilles (H_2O , CO_2), són massa poc intenses com per ser considerades importants. En canvi, les fragmentacions més rellevants corresponen a la pèrdua de molècules de lisina i dilisina, així com a trencaments de l'esquelet peptídic, més abundants (però no intensos) en les oligolisines de cadena més llarga. D'aquesta manera, l'eliminació més important observada per als complexos $[\text{Co},\text{KKK}-\text{H}]^+$ i $[\text{Co},\text{KKKK}-\text{H}]^+$ és la pèrdua d'una molècula de lisina (K) i d'una molècula de dilisina (KK), respectivament. Aquestes s'obtindrien per fragmentació de l'enllaç peptídic, eliminant-se un fragment de tipus b_n , que hauria de ser protonat per donar les molècules neutres anteriors. Segons l'esquema 6.2.10, on s'indiquen les eliminacions observades en el sistema $[\text{Co},\text{KKKK}-\text{H}]^+$ en funció del centre desprotonat, les pèrdues de lisina i dilisina es donarien més fàcilment en una estructura de tipus 4, on la desprotonació hauria tingut lloc en el primer N_p , el més proper a l'extrem N terminal: en aquest tipus d'estructura, l'obtenció de lisina (en la $\text{KKK}-\text{H}$) i dilisina ($\text{KKKK}-\text{H}$) requeriria únicament una transferència d'H cap al NH de l'enllaç trencat. En canvi, des d'estructures de tipus 1, 2 o 3, es necessitarien dues transferències d'H. D'altra banda, aquestes pèrdues s'aconseguirien des d'estructures amb una o dues cadenes laterals descoordinades, mitjançant mecanismes similars al proposat en l'Esquema 6.2.7 (eliminació de lisina en el complex Co(II) -trilisina) i en les que es detectaria un complex metàl·lic molt estable amb dos cadenes coordinades al Co(II) . Aquest, podria presentar una estructura tetracoordinada similar a la presentada pel Co(II) -KK després de l'eliminació de $(\text{C},\text{O}_2,\text{H}_2)$ (*cf.* Figura 6.2.8.c). Justament, l'eliminació de lisina ja es trobava en els complexos de Co(II) d'oligolisines neutres grans i responia a l'augment dels impediments estèrics provocats per la presència d'un nombre creixent de cadenes laterals en augmentar l'oligopèptid. D'altra banda, aquests raonaments també explicarien la menor pèrdua de molècules neutres petites respecte els sistemes $[\text{Co},\text{G}_n\text{G}-\text{H}]^+$ i la detecció d'abundants ions peptídics.



Esquema 6.2.10. Eliminacions observades en els espectres MS/MS dels complexos [Co,K_nK]⁺ corresponents a ions de tipus (z_n) i (b_n). Per simplificar l'esquema s'indiquen sobre el lligand més gran, el KKKK-H. R=-(CH₂)₄NH₂.

Contràriament, per a l'oligolisina més xicoteta no s'observa cap eliminació de lisina, sinó que la fragmentació més intensa correspon al trencament de l'enllaç peptídic, eliminant-se un ió de tipus z₁ (detectant-se el complex (c₁+Co)⁺) o b₁ (detectant-se el complex (y₁+Co)⁺), de 129.0 uma. Mentre el segon, b₁, es podria racionalitzar a partir d'estructures similars a la 1 (desprotonació del COOH) i a la 2 (desprotonació de l'únic enllaç peptídic) (cf. Esquema 6.2.9 i Esquema 6.2.10), el z₁ només provindria únicament d'una estructura amb el COOH desprotonat. D'altra banda, per a les tres oligolisines desprotonades estudiades s'observa tota la sèrie dels ions (c_n+Co)⁺ i dels ions (y_n+Co)⁺.

La detecció, en els espectres obtinguts per als lligands KK-H i KKK-H, d'ions de tipus $(a_1+Co)^+$ (m/z 160.0), on el Co(II) interacciona amb l'extrem N terminal, podria corroborar la presència dels ions $(c_n+Co)^+$: a partir d'aquest es podria obtenir l'ió $(a_1+Co)^+$ $((Co,NH_2CHR)^+)$, mitjançant l'eliminació de NHCO. Tot i això, en la fragmentació de la tetralisina desprotonada es detecta un ió on el catió metàl·lic es localitzaria en l'extrem C terminal: $(y_2 +Co)^+$ (m/z 332.0) (en verd en l'espectre de la Figura 6.2.12.d).

Compilant totes les dades d'aquest subapartat, la presència de la cadena lateral en la lisina influeix en les fragmentacions dels sistemes Co(II)-homopèptid observades. Així, quan el lligand és un oligopèptid de glicina, s'observen fragmentacions de l'esquelet peptídic (més importants per a la GGGG-H) i eliminació de molècules neutres com (C,O_2,H_2) , CO, CO₂ i H₂O. Contràriament, la presència de la cadena lateral determina que, en homopèptids derivats de la lisina, tot i detectar-se fragmentacions de l'esquelet peptídic, s'observen eliminacions d'un aminoàcid de lisina i del dipèptid, les quals corresponen als pics més intensos per als lligands KKK-H i KKKK-H. L'eliminació de les molècules neutres abans esmentades indica la presència en la font de complexos on la desprotonació ha tingut lloc en el COOH del lligand, però també en algun altre centre, com un N_p. Càlculs teòrics sobre el sistema $[Co,GG-H]^+$ corroboren l'existència de dues estructures estables en fase gas, una amb el N_p desprotonat, i l'altra amb el COOH desprotonat. Donades les condicions dels experiments, ambdues podrien existir en l'analitzador.

Tot i que, en general, l'origen dels pics més intensos es pot explicar de manera raonada, seria desitjable la realització de més estudis, de marcatge isotòpic o de caire teòric, per tal d'assegurar-ne l'origen. Aquest darrer hauria d'incloure un estudi conformacional dels sistemes $[Co,G_nG-H]^+$ i $[Co,K_nK-H]^+$, amb la finalitat de determinar les estructures fonamentals de cada sistema.

6.3. CONCLUSIONS

- La fragmentació dels complexos $[\text{Co},\text{GGG}]^{2+}$ i $[\text{Co},\text{GGGG}]^{2+}$ origina eliminacions de molècules neutres petites com H_2O , CO i $(\text{C},\text{O}_2,\text{H}_2)$, sent aquesta última, la pèrdua majoritària. Per a la lisina i els seus homopèptids s'observen, a més, eliminacions de NH_3 i de l'extrem N terminal ($\text{NH}=\text{CHR}$), juntament amb processos de separació de càrrega. Aquests darrers són més importants en lligands petits com la lisina i la dilisina. Quan el lligand és la lisina o la dilisina, s'elimina majoritàriament $(\text{C},\text{O}_2,\text{H}_2)$. Per a la trilisina, s'eliminen principalment 3 molècules de NH_3 , mentre que en la tetralisina s'obté l'ió $\text{C}_5\text{NH}_{10}^+$.
- En els espectres dels complexos $[\text{Co},\text{L}]^{2+}$ amb una o més lisines és característica la formació de dos anells, un amb fórmula $\text{C}_5\text{NH}_{10}^+$ (m/z 84 uma) i l'altre, l' α -amino- ϵ -caprolactama protonada ($\text{C}_6\text{N}_2\text{OH}_{13}^+$, m/z 129 uma), la formació dels quals podria ser útil per detectar la presència d'aquest aminoàcid en una seqüència peptídica desconeguda.
- La fragmentació dels complexos $[\text{Co},\text{G}_n\text{G}-\text{H}]^+$ ($n=1-3$) origina pèrdues de molècules neutres com H_2O , CO i $(\text{C},\text{O}_2,\text{H}_2)$ així com d'ions peptídics de tipus $(y_1)/(c_1)$ ($n=1,2$) i $(y_{n-1})/(c_{n-1})$. Per a $n=1$ i $n=2$ la pèrdua més important és l'eliminació de CO i $(\text{C},\text{O}_2,\text{H}_2)$ respectivament. Per a $n=3$, en canvi, correspon a la pèrdua d'un ió de tipus $(y_2-\text{H})$, $(c_2-\text{H})$ o c_2 .
- En els complexos $[\text{Co},\text{K}_n\text{K}-\text{H}]^+$ ($n=1-3$), les fragmentacions principals corresponen a l'eliminació d'una molècula de lisina (per a $n=2$) i dilisina (per a $n=3$) així com d'ions de tipus (b_n) o (z_n) ($n=1$). Les primeres serien conseqüència de l'augment dels impediments estèrics originats per les cadenes laterals i deixarien en l'esquelet peptídic dues cadenes, les quals garantirien una forta interacció amb el Co(II) .

BIBLIOGRAFIA

- (1) Rogalewicz, F.; Hoppilliard, Y.; Ohanessian, G. *Int. J. Mass Spectrom.* **2000**, *201*, 307.
- (2) Hoppilliard, Y.; Rogalewicz, F.; Ohanessian, G. *Int. J. Mass Spectrom.* **2000**, *204*, 267.
- (3) Rodríguez-Santiago, L.; Sodupe, M.; Tortajada, J. *J. Phys. Chem. A* **2001**, *105*, 5340.
- (4) Rimola, A. In *Departament de Química*; Universitat Autònoma de Barcelona: Bellaterra, 2007, p 217.
- (5) Corral, I.; Mó, O.; Yáñez, M.; Salpin, J.-Y.; Tortajada, J.; Moran, D.; Radom, L. *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 6787.
- (6) Chung-Phillips, A. *J. Phys. Chem. A* **2005**, *109*, 5917.
- (7) Russell, D. H.; McGlohon, E. S.; Mallis, L. M. *Anal. Chem.* **1988**, *60*, 1818.
- (8) Hu, P.; Loo, J. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 11314.
- (9) Teesch, L. M.; Adams, J. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 812.
- (10) Kish, M. M.; Wesdemiotis, C. *Int. J. Mass Spectr.* **2003**, *227*, 191.
- (11) Shields, S. J.; Bluhm, B. K.; Russell, D. H. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2000**, *11*, 626.
- (12) Roepstorff, P.; Fohlman, J. *Biomed. Mass Spectrom.* **1984**, *11*, 601.
- (13) De Hoffmann, E.; Charette, J.; Stroobant, V. *Mass Spectrometry. Principles and applications*; Masson: Paris, 2000.
- (14) Biemann, K.; Martin, S. A. *Mass Spectrom. Rev.* **1987**, *6*, 1.
- (15) Corral, I.; Mó, O.; Yáñez, M.; Salpin, J.-Y.; Tortajada, J.; Radom, L. *J. Phys. Chem. A* **2004**, *108*, 10080.
- (16) Bouchonnet, S.; Hoppilliard, Y.; Ohanessian, G. *J. Mass Spectrom.* **1995**, *30*, 172.
- (17) Wen, D.; Yalcin, T.; Harrison, A. G. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **1995**, *9*, 1155.
- (18) Lavanant, H.; Hoppilliard, Y. *J. Mass Spectrom.* **1997**, *32*, 1037.
- (19) Yalcin, T.; Wang, J.; Wen, D.; Harrison, A. G. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **1997**, *8*, 749.
- (20) Grese, R. P.; Cerny, R. L.; Gross, M. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 2835.
- (21) Teesch, L. M.; Adams, J. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 4110.
- (22) Teesch, L. M.; Orlando, R. C.; Adams, J. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 3668.
- (23) Tang, X.; Ens, W.; Standing, K. G.; Westmore, J. B. *Anal. Chem.* **1988**, *60*, 1791.
- (24) Dookeran, N. N.; Yalcin, T.; Harrison, A. G. *J. Mass Spectrom.* **1996**, *31*, 500.
- (25) Yalcin, T.; Harrison, A. G. *J. Mass Spectrom.* **1996**, *31*, 1237.
- (26) Yalcin, T.; Khouw, C.; Csizmadia, I. G.; Peterson, M. R.; Harrison, A. G. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **1995**, *6*, 1165.

- (27) Harrison, A. G.; Csizmadia, I. G.; Tang, T.-H.; Tu, Y.-P. *J. Mass Spectrom.* **2000**, *35*, 683.
- (28) Farrugia, J. M.; Taverner, T.; O'Hair, R. A. J. *Int. J. Mass Spectrom.* **2001**, *209*, 99.
- (29) Hiserodt, R. D.; Brown, S. M.; Swijter, D. F. H.; Hawkins, N.; Mussinan, C. J. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2007**, *18*, 1414.



CONCLUSIONS

GENERALS

Més que unes conclusions, les quals han estat presentades al final de cada capítol de resultats, aquest apartat pretén compilar els aspectes més importants d'aquest treball, alhora que apuntar possibles perspectives de futur, ja que sempre hi ha coses per descobrir i conèixer.

Aquesta tesi s'ha iniciat amb càlculs de sistemes tan petits com els cations, fins a arribar a l'estudi de sistemes, amb una mida raonable, de Co(I) i Co(II) amb poliglicines i polilisines. Aquesta trajectòria ha permès mostrar l'obtenció de bons resultats a l'aplicar el mètode B3LYP, juntament amb la base escollida, a l'estudi dels sistemes Co(I)/Co(II)-L (L=glicina, lisina, poliglicines i polilisines). Fins i tot en els complexos amb certa deslocalització d'espín.

Al mateix temps, la línia d'estudi aplicada ha permès observar que, tot i la mida del lligand i el nombre de coordinació, per a tots els sistemes Co(I)-ligand l'estat d'espín fonamental correspon sempre a l'estat triplet: tot i l'estabilització gradual

dels estats singlets (front als triplets) a l'augmentar la coordinació al voltant del Co(I) i la llargada de l'oligopèptid, no arriba a donar-se una inversió d'estats d'espín. De fet, no s'espera que tinga lloc. Per als sistemes de Co(II), l'estat més estabilitzat correspon al quartet.

La presència d'una cadena lateral com la de la lisina i doncs, d'un tercer centre bàsic susceptible d'interaccionar amb el cobalt comporta un augment del nombre de coordinació al voltant d'aquest, passant de dos, en la glicina, a tres.

De manera similar, la interacció dels cations Co(I) i Co(II) amb les oligoglicines GG, GGG i GGGG origina complexos amb nombres de coordinació superiors al del Co-G, on el lligand es troba en la seua forma neutra. Tant en aquells sistemes més grans com en el de Co-lisina, la major interacció i menor deformació existent en aquestes estructures més coordinades no compensa la interacció dels cations amb les formes zwitteriòniques de la GG, GGG i GGGG, trobant-se aquestes conformacions menys estabilitzades a mesura que augmenta la llargada de l'esquelet peptídic.

En general, els cations de cobalt estudiats, en llur interacció amb les oligoglicines i la dilisina, tendeixen a interaccionar amb l'enllaç peptídic, preferentment amb l'O_p. Com a conseqüència, sovint aquest enllaç s'escurça i els adjacents s'allarguen, fet que podria facilitar l'obtenció de fragments derivats del trencament dels enllaços adjacents en experiments d'espectrometria de masses.

Així, si l'estudi computacional efectuat sobre les poliglicines ha permès l'avaluació de la interacció dels cations de cobalt amb el propi esquelet peptídic, mitjançant l'aplicació de l'espectrometria de masses en els complexos Co(II)-poliglicina s'ha pogut observar l'efecte d'aquesta metal·lació. Aquests dos estudis han mostrat, com es pretenia, la complementarietat d'aquestes dues eines. A més, l'anàlisi dels pics observats per als sistemes Co(II)-G_nG evidencien

la influència de la llargada de l'esquelet peptídic a l'hora de fragmentar, ja que en les oligoglicines més grans es detecten eliminacions diferents.

D'altra banda, l'anàlisi dels sistemes Co(II)-oligolisina amb aquesta darrera eina ha aportat un altre tipus d'informació: els espectres derivats d'aquests sistemes presenten diferències respecte els de les oligoglicines, mostrant la influència de la cadena lateral en l'estructura dels diferents complexos. En aquest sentit, és característica la formació de dos anells, $C_5NH_{10}^+$ (m/z 84) i $C_6N_2OH_{13}^+$ (m/z 129, α -amino- ϵ -caprolactama protonada), indicadors de la presència d'almenys una lisina en un polipèptid. Tot i això, al tractar-se d'homopèptids, no es pot concloure res sobre si aquesta lisina ha d'ocupar una posició concreta en el pèptid (interna o terminal). Seguint aquesta línia, també l'eliminació de NH_3 , la qual té lloc en pèptids amb 2 o més lisines, indicaria l'existència de lisines. A més, aquestes podrien indicar el nombre d'aquest residu, ja que s'ha observat l'eliminació de tantes molècules de NH_3 com lisines té l'oligolisina.

Per un altre costat, l'estudi dels sistemes desprotonats, $[Co,L-H]^+$ amb l'espectrometria de masses permet l'obtenció d'informació estructural sobre un pèptid. Així, per als homopèptids de lisina, s'ha observat que tres lisines contigües en l'oligopèptid condueixen a l'eliminació d'una molècula de lisina. En canvi, quatre lisines juntes en la seqüència determinen la detecció, en l'espectre, d'una molècula de dilisina. A més, una reflexió sobre l'obtenció d'aquestes molècules porta a pensar que aquestes lisines es trobarien en la posició N-terminal.

Cal dir també que, tota aquesta informació estructural sobre la interacció d'uns cations amb l'esquelet peptídic o la informació que es podria extreure sobre un possible oligopèptid de cadena desconeguda respon a les característiques electròniques dels cations de Cobalt, a la seua natura química. Així, en aquest cas, enregistrar l'espectre de l'oligopèptid interaccionant amb el Co(II), si se

sospita la presència de lisines, podria aportar una llum al respecte. Tot i això, tal i com s'esmenta en la Introducció, la situació ideal seria la de poder comparar espectres amb Co(II), amb espectres d'altres cations, tant d'alcalins i d'alcalinoterris, com, preferentment, de cations de metalls de transició, per tal d'observar els patrons de fragmentació de cadascun d'ells. Tota aquesta informació complementària permetria obtenir més informació sobre la seqüència peptídica.

També, enllaçant amb el punt anterior, seria desitjable poder realitzar experiments de marcatge isotòpic, els quals aportarien més informació estructural dels pics observats, i doncs, dels possibles mecanismes d'obtenció d'aquests fragments. Aquesta via seria més aconsellable que l'estudi dels mecanismes de fragmentació a nivell computacional, donada la complexitat i el cost computacional que això implicaria. Al mateix temps, seria desitjable poder realitzar un estudi computacional més exhaustiu sobre els sistemes Co(II)-oligolisines i sobre els sistemes desprotonats, ja que s'ha vist que aporten dades estructurals valuoses. Aquest darrer punt, però, no és evident, ja que una clau important seria determinar el centre on té lloc de manera més favorable la desprotonació. Es tractaria però, d'una tasca complicada i costosa computacionalment en sistemes grans que contenen cations de cobalt, ja que cal convergir la funció d'ona (feina que requereix temps i esforç computacional tractant-se de sistemes de capa oberta), en alguns casos de manera quadràtica; també és recomanable desplaçar els orbitals virtuals a una determinada energia, per a facilitar la convergència de Ψ , fet que fa augmentar el cost computacional.

Per tant, i ja per acabar definitivament, tot i el volum d'aquest treball, només es tracta de l'inici de l'estudi sobre les característiques estructurals dels sistemes derivats de la interacció de la glicina i lisina i dels seus homopèptids amb cations de cobalt, ja que molta és la feina que encara podria realitzar-se al respecte.