

Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea
Facultad de Ciencias Químicas/Kimika Zientzien Fakultatea

Grado en Química

TRABAJO FIN DE GRADO
Estudio Teórico de la Interacción del Aluminio con Moléculas de Interés Biológico

Autora: Mireia Rollán Caballero

Dirigido por: Xabier López y Gabriele Dalla Torre

San Sebastián, Julio de 2016

INDICE

1	RESUMEN	3
2	INTRODUCCION	7
2.1	La toxicidad del aluminio en sistemas biológicos	7
2.2	Quelantes potenciales para la terapia de la intoxicación por aluminio	10
2.2.1	Terapia de quelación.....	10
2.2.2	Terapia de quelacion del aluminio	11
2.3	Ácidos hidroxipirdincarboxilicos como agentes quelantes del aluminio.....	12
2.3.1	Investigación del grupo de Padova	12
2.3.2	Propiedades ácido-base.....	14
2.4	Enfoque computacional del Al(III)	17
2.4.1	¿Por qué se necesitan métodos computacionales?	17
2.4.2	La experiencia del grupo en este campo.....	17
3	OBJETIVOS	18
4	METODOS	18
4.1	Química Cuántica	18
4.1.1	<i>Density Functional Theory</i> (DFT).....	20
4.1.2	Conjunto de bases.....	22
4.2	Optimización de la geometría	24
4.2.1	Superficies de energía potencial.....	24
4.2.2	La caracterización de puntos estacionarios	26
4.3	<i>The Quantum Theory of Atoms In Molecules</i> (QTAIM)	27
4.3.1	El análisis topológico de la densidad electrónica	28
4.3.2	El laplaciano de la densidad electrónica.....	29
4.3.3	Índices de deslocalización	29
5	RESULTADOS Y DISCUSION.....	30
6	CONCLUSIONES.....	46
7	BIBLIOGRAFIA	50

1 RESUMEN

En el pasado siglo, la intervención humana ha hecho que el aluminio sea altamente biodisponible. Sin embargo, hay una evidencia creciente de que el aluminio podría estar detrás de una variedad de efectos tóxicos en los sistemas biológicos, con riesgos significativos para la salud humana. En este contexto, el objetivo de la terapia de quelación es la eliminación de los iones metálicos tóxicos del cuerpo humano o la atenuación de su toxicidad, transformándolos en compuestos menos tóxicos.

En este sentido, hay un gran interés en la identificación de agentes quelantes de aluminio específico, con una necesidad de racionalizar el efecto de diferentes sustituyentes hacia la afinidad de unión con Al(III). Una de la clase más prometedora de agentes quelantes de aluminio está representada por HPCs (Ácidos hidroxipiridincarboxílicos), que fueron sintetizados por el grupo de la Universidad de Padova ^[6]. Estos compuestos presentan una serie de propiedades favorables, tales como: complejos fuertes y estables con Al(III) como con Fe(III), que tienen muy baja afinidad para otros cationes biológicamente importantes como Zn(II), y a la vez, tienen bajo peso molecular, que es un prerrequisito para la actividad oral y, sobre todo, que se ha demostrado que tienen efectos tóxicos insignificantes en los procedimientos experimentales.

Un gran número de HPC se han sintetizado hasta ahora, y sus propiedades han sido bien revisadas ^[1, 6]. Sin embargo, a pesar de estas características interesantes, algunos aspectos aún no han sido comprendidos ni racionalizados por completo, como, por ejemplo, los diferentes sustituyentes colocados en diferentes posiciones a lo largo del anillo piridínico, que modifican la afinidad de unión hacia Al(III) y saber cuál es el efecto de los grupos de metilo en la estabilidad de los compuestos.

En este contexto, los enfoques teóricos se aplican a nivel de la Mecánica Cuántica, con el fin de caracterizar y comprender completamente el comportamiento de esta clase de

quelantes; La experiencia del grupo en este campo está bien documentada por varias obras [34].

El objetivo del presente trabajo es aplicar técnicas computacionales modernas a los HPC seleccionados (DQ0, DQ2, DT0, DT2, DQ58 y DQ71508) que caracterizarían la naturaleza de la interacción entre el Al (III) y el ligando, así como racionalizar el efecto de los sustituyentes con la afinidad de unión.

La optimización de la geometría para complejos con estequiometría 1:1, 1:2 y 1:3 se llevó a cabo mediante el nivel de teoría de B3LYP-D3 / 6-31++G(d, p), seguido por el análisis de frecuencias y los cálculos de energía *Single-Point*. Las afinidades de unión se calcularon usando dos funcionales de DFT diferentes, para validar el protocolo teórico.

En cuanto a los HPC seleccionados, se ve que, para todas las estequiometrías, los complejos más estables son DQ71508 y DQ58, que son los que implican una mayor carga negativa (-2). Entre los complejos que tienen una carga total de -1, se ha visto que, en general, los ácidos 3-hidroxi-4-piridincarboxílicos (DTs), son más estables que los ácidos 4-hidroxi-3-piridincarboxílicos (DQs). Por otro lado, el efecto de la sustitución metálica ha dado resultados diferentes para los complejos DQs y DTs.

Con el fin de caracterizar mejor la naturaleza de la interacción Al-ligando, se aplicó la teoría QTAIM de Bader a las geometrías previamente optimizadas. Se ha encontrado que la interacción es principalmente iónica. El último hallazgo fue confirmado por el análisis de los índices de deslocalización (D.I.), que mostró claramente que no hay una correlación entre ΔG_{phys} y D.I.

En general, estos resultados proporcionan una cuidadosa racionalización de algunos prometedores agentes quelantes de aluminio; se proporcionan ideas interesantes sobre la naturaleza de la interacción Al-ligando y el efecto de los sustituyentes, y los conocimientos adquiridos serían una ayuda importante en el diseño y desarrollo de nuevos potentes quelantes de aluminio.

ABSTRACT

In the last century, human intervention has made aluminum highly bioavailable. However, there is increasing evidence that aluminum could be behind of a variety of toxic effects in biological systems, with significant risks for human health. In this context, the goal of chelation therapy is the removal of toxic metal ions from human body or attenuation of their toxicity by transforming them into less toxic compounds.

In this sense, there is an increasing interest in identifying aluminum-specific chelating agents, with a need to rationalize the effect of different substituents toward Al(III) binding affinity. One of the most promising class of aluminum chelating agents is represented by HPCs (Hydroxy Pyridine Carboxylic acid) that were synthesized by the group from University of Padova ^[6]. These compounds display a number of favourable properties, such as strong and stable complexes with both Al(III) and Fe(III), they have very low affinity to other biologically important cations like Zn(II), they have low molecular weight which is a prerequisite for oral activity and, above all, they have been demonstrated to have negligible toxic effects in experimental procedures.

A large number of HPCs have been synthesized up to now, and their properties are well reviewed^[1, 6]. Nevertheless, despite these interesting features, some aspects are still not completely understood and rationalized, i.e. how different substituent placed at different positions along the pyridinic ring modify the binding affinity toward Al(III) and what is the effect of the methyl on the stability of the compounds.

In this context, theoretical approaches at the Quantum Mechanical level are used in order to fully characterize and understand the behavior of this class of chelators; The experience of the group in this field is well documented by several works ^[34].

The aim of the present thesis work is to apply state-of-the-art computational techniques on selected HPCs (DQ0, DQ2, DT0, DT2, DQ58, DQ71508) that would characterize the nature of the interaction between Al(III) and the ligand, as well as to rationalize the substituents effect toward the binding affinity.

Geometry optimization on 1:1, 1:2 and 1:3 complexes were carried out at the B3LYP-D3/6-31++G(d,p) level of theory, followed by frequencies analysis and single point energy calculations. Binding affinities were calculated using two different DFT functionals, so that to validate the theoretical protocol.

Results showed that, for all stoichiometry, the most stable complexes are DQ71508 and DQ58, which have the most negative charge (-2). Considering the complexes that have a less negative charge (-1), we found that 3-Hydroxy-4-pyridincarboxylic acids (DTs) are more stable than 4-Hydroxy-3-pyridincarboxylic acids (DQs). On the other hand, the methyl effect has shown to exert a different effect in the two families of compounds.

In order to further characterize the nature of the Al-ligand interaction, Bader's QTAIM theory was applied to the previously optimized geometries. According to that theory, we found, that the interaction seems to be mainly ionic. The latter finding was further confirmed by the delocalization indices (D.I.) analysis, that clearly showed that there is not a trend between ΔG_{phys} and D.I.

Overall these results provide a careful rationalization of some promising Al(III) chelating agents; interesting insights on the nature of the Al-ligand interaction and the substituents effect are provided, and the knowledge acquired would be of important help in the design and development of new potent aluminum chelators.

2 INTRODUCCION

2.1 La toxicidad del aluminio en sistemas biológicos

A pesar de que el aluminio(III) es uno de los elementos más abundantes en la corteza terrestre, no es utilizado en ningún sistema biológico. Sin embargo, su gran utilidad industrial ha aumentado drásticamente la biodisponibilidad de este metal, estando hoy en día inmersos en lo que algunos autores han denominado como “era del aluminio”. La cuestión es saber si esta sobreexposición es segura o no para el ser humano^[1,2].

En las últimas décadas se han acumulado evidencias de que la exposición al aluminio es perjudicial para los sistemas biológicos. Por ejemplo, está demostrado que compite eficazmente con Mg(II) y que inhibe las actividades enzimáticas dependientes de Mg(II), que interfieren con el metabolismo del ATP (por ejemplo, en los procesos de producción de energía). El Al(III) interfiere con las actividades enzimáticas y la secreción de neurotransmisores, promueve la hiperfosforilación de neurofilamentos normales, y, por lo tanto, la degeneración neurofibrilar. Interactúa con β -amiloides contribuyendo a la formación de oligómeros de amiloide y después a agregados de proteínas insolubles. El Al(III) interfiere en la producción normal de los glóbulos rojos de la sangre, conduciendo a anemia microcítica. Compite con Ca(II) en los tejidos calcificantes para dar $AlPO_4$ que conduce a la osteomalacia. El cerebro humano contiene Al en una concentración muy baja, pero se acumula durante un normal envejecimiento, por lo que el Al es considerado como un metal neurotóxico^[3,4].

A fin de comprender las funciones de un elemento en un sistema vivo, necesitamos saber en las formas químicas en las que está presente. Los sitios de unión más probables del Al son biomoléculas donantes de oxígeno, especialmente las de carga negativa: carboxilatos, fenolatos, catecolatos y fosfatos, que son los ligandos más fuertes del Al. Las aminas y los tiolatos no se unen al Al(III). Sin embargo, si estos grupos funcionales no están

solos, o sea, si están en una posición quelante, por ejemplo, con un donante de oxígeno cargado negativamente, su capacidad de unión puede cambiar considerablemente. Del mismo modo, las bases nitrogenadas de los ácidos nucleicos o nucleótidos, no se unen fuertemente al Al.

Los iones de Al(III) tienen una alta tendencia a la hidrólisis que conduce a la formación de varios complejos hidroxilo mono- y polinucleares. En una solución neutra se precipita principalmente como $\text{Al}(\text{OH})_3$, el cual se redissuelve debido a la formación de aluminatos, siendo la especie primaria soluble de Al a $\text{pH} > 7$. En concentraciones suficientemente altas y con ayuda del tiempo, también se pueden formar complejos oligonucleares solubles, que son los precursores del polímero sólido macromolecular $\text{Al}(\text{OH})_3$. Este, sin embargo, es un proceso muy lento. Para llegar al equilibrio termodinámico se pueden tardar horas, o hasta un día. Por lo tanto, los complejos hidroxilo solubles, pueden mantenerse casi indefinidamente en condiciones tales que el sólido $\text{Al}(\text{OH})_3$ es la especie termodinámicamente estable.

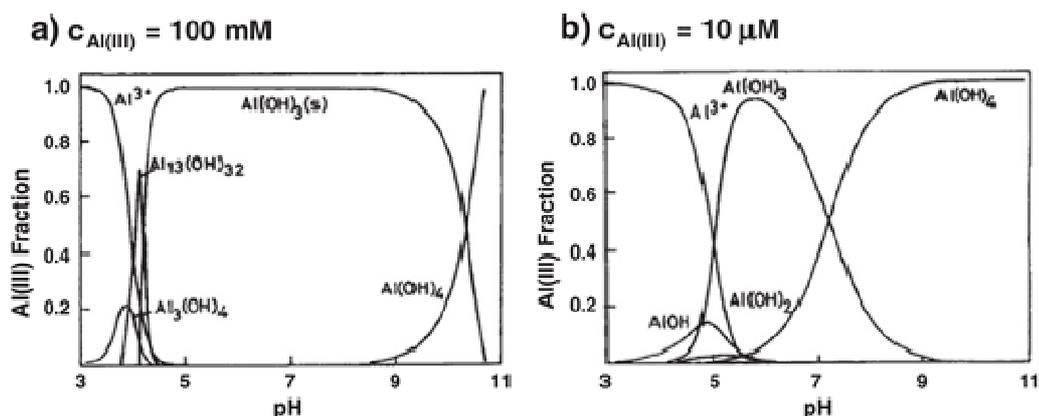


Figura 1. Distribución de las especies de Al (III) en función del pH, $C_{\text{Al(III)}}$ (a) 1,000 mM, (b) 10 μM . Calculado con las constantes de estabilidad ($\log\beta$) 8.47 para $\text{Al}(\text{OH})_2^+$, 16.65 para $\text{Al}(\text{OH})_3$, 26.9 para $\text{Al}(\text{OH})_4^-$, 41.99 para $\text{Al}_3(\text{OH})_4^{5+}$, 335.8 para $\text{Al}_{13}(\text{OH})_{32}^{7+}$ y con $\log K_{50}(\text{Al}(\text{OH})_3) = -31.3$ Figura tomada por el artículo^[1].

Las distribuciones de estas especies hidrolíticas en soluciones de Al bastante concentradas (100 mM) y diluidas (10 mM) se representan en la Figura 1. Estos hallazgos básicos indican claramente, que parte de Al(III) se precipita como $\text{Al}(\text{OH})_3$ (o forma una

solución metaestable sobresaturada de $\text{Al}(\text{OH})_3$ a pH fisiológico, y para el organismo es difícil de absorber en esta forma ^[5]. De hecho, el cuerpo humano solo absorbe efectivamente una fracción (del orden $\mu\text{g}/\text{día}$) del Al incorporado en la dieta ($\text{mg}/\text{día}$).

Los compuestos de Al han sido (por mucho tiempo) los únicos ligandos de fosfato utilizados clínicamente para tratar la hiperfosfatemia en pacientes con hemodiálisis ^[6-8]. La consiguiente acumulación de Al, llevó a una grave toxicidad a los pacientes que sufren de enfermedad renal crónica ^[9] y a los de la nutrición parenteral total ^[10]. La toxicidad del Al en los pacientes de diálisis era un serio problema para las unidades de hemodiálisis en los años setenta y ochenta del siglo pasado ^[11]. Esta toxicidad, en pacientes afectados por enfermedades crónicas del riñón, fue reportada por primera vez en 1976 ^[12], y, posteriormente, la sobrecarga de Al fue identificada como el principal factor de riesgo en encefalopatía de diálisis ^[13-19].

Aunque el hidróxido de aluminio ya no es el ligando de fosfato preferido en las unidades de diálisis, todavía se está utilizando, con algunas limitaciones ^[20]. La población general está expuesta a la toxicidad del Al cuando el sulfato de aluminio se utiliza como floculante para el tratamiento de agua de la ciudad ^[20,21].

Los alimentos representan la mayor parte del aluminio absorbida por los seres humanos, con la exposición de Al, todos los días, en los alimentos entre 3 y 10 mg ^[22].

En los centros de diálisis, los nuevos sistemas de tratamiento de agua se han reducido en gran medida en los últimos 20 años. Se ha reducido la concentración de Al en el agua de diálisis, con una disminución correspondiente en las enfermedades de sobrecarga de Al ^[20]. El tratamiento de la toxicidad del Al requiere, como primer tratamiento, la interrupción de la exposición al Al, la eliminación de toda la exposición parenteral y oral. Aquellos pacientes que no mejoran clínicamente después de esta interrupción deben ser sometidos a la terapia de quelación ^[23].

2.2 Quelantes potenciales para la terapia de la intoxicación por aluminio

2.2.1 Terapia de quelación

El objetivo de la terapia de quelación es la eliminación de iones metálicos tóxicos del cuerpo humano o la atenuación de su toxicidad, transformándolos en compuestos menos tóxicos ^[24]. Hay tres tipos de toxicidad de metales que se pueden diferenciar por la base de sus fuentes:

1. Ingestión aguda de metales tóxicos, que puede ser accidental o deliberado por el homicida o por intento de suicidio.
2. Intoxicación crónica, dependiendo del medio ambiente, el trabajo o causas iatrogénicas.
3. Sobrecarga de metal a causa de enfermedades genéticas.

Esta clasificación aproximada determina las curas necesarias que van desde el tratamiento clínico de urgencia, con una dosis masiva de quelantes por períodos limitados, hasta el tratamiento de por vida para el control de las enfermedades genéticas. Los requisitos de un agente quelante han sido cada vez mejor definidos en los últimos años:

- Falta de toxicidad tanto del agente quelante, como de los complejos formados;
- La estabilidad de los complejos formados tiene que ser más alta que con ligandos endógenos;
- Selectividad hacia el ion metálico diana;
- El agente quelante, una vez en el cuerpo, no debe transformarse en metabolitos inactivos;
- Buena absorción intestinal y buena biodisponibilidad a las células diana;

- Rápido intercambio cinético del ion metálico tóxico entre quelante y ligandos endógenos;
- Factores que favorecen la excreción de los complejos formados.

La formación de complejos puede incluso tener algunos efectos deletéreos, porque el aumento de la absorción intestinal, el desplazamiento a los sitios más peligrosos, o el tránsito del ión metálico a través de la barrera hematoencefálica puede tener consecuencias neurológicas inesperadas.

El requisito básico de un quelante es la estabilidad de sus complejos, que deben estar completamente formados antes de su excreción. La denticidad del ligando determina el número y la estequiometría de los complejos formados. Los quelantes hexadentados prefieren generalmente el Al(III), porque sólo se forman complejos 1:1. Los ligandos con una menor denticidad forman múltiples complejos, cuya concentración depende del ligando total y de la relación metal-ligando.

Por otra parte, los ligandos bidentados y tridentados pueden ser más preferidos que los hexadentados, ya que por vía oral pueden ser más activos, debido a su peso molecular más bajo. La actividad oral es un requisito recomendado para un medicamento, ya que aumenta la comodidad de los pacientes y reduce los costes de terapia ^[25].

2.2.2 Terapia de quelación del aluminio

La deferoxamina se introdujo para el tratamiento clínico de la osteomalacia dependiente del Al ^[26-29]. No obstante, el tratamiento con deferoxamina es un riesgo para los pacientes marcados con sobrecarga de Al ^[23]. Por ello, hay un gran interés por desarrollar nuevos quelantes del Al(III) que aumenten su especificidad. Ya que estos quelantes muestran una alta afinidad por biometales tales como el Fe(III), con lo cual su aplicación puede conllevar problemas tales como anemias, etc.

2.3 Ácidos hidroxipiridincarboxílicos como agentes quelantes del aluminio

2.3.1 Investigación del grupo de Padova

El grupo de investigación de Padova está investigando un grupo de ligandos, ácidos 3,4 - hidroxipiridincarboxílicos (HPC, Hydroxy Pyridin Carboxylic acid), que pueden ser utilizados para la terapia de quelación del Al(III). Los dos derivados más simples son el ácido 3-hidroxi-4-piridincarboxílico (DT0), y ácido 4-hidroxi-3-piridincarboxílico (DQ0). Los otros HPC conocidos hasta el momento se han obtenido por sustitución del metilo en DT0 y DQ0. Estos HPC se muestran en la Tabla 1.

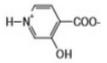
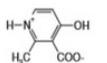
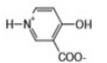
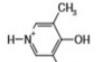
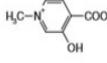
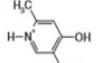
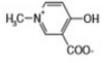
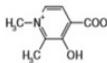
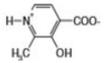
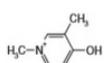
No.	Formula	Full name	Abbreviation	CAS no.	Refs.	No.	Formula	Full name	Abbreviation	CAS no.	Refs.
1		3-Hydroxy-4-pyridinecarboxylic acid	DT0	10128-71-9	[71, 72, 73]	6		4-Hydroxy-2-methyl-3-pyridinecarboxylic acid	DQ2	1060806-08-7	[74]
2		4-Hydroxy-3-pyridinecarboxylic acid	DQ0	609-70-1	[71, 72, 74]	7		4-Hydroxy-5-methyl-3-pyridinecarboxylic acid	DQ5	57658-55-6	[76]
3		3-Hydroxy-1-methyl-4-pyridinecarboxylic acid	DT1	732927-52-5	[75]	8		4-Hydroxy-6-methyl-3-pyridinecarboxylic acid	DQ6	67367-33-3	[77]
4		4-Hydroxy-1-methyl-3-pyridinecarboxylic acid	DQ1	897936-74-2	[75]	9		1,2-Dimethyl-3-hydroxy-4-pyridinecarboxylic acid	DT712	1146956-88-8	[78]
5		3-Hydroxy-2-methyl-4-pyridinecarboxylic acid	DT2	4328-92-1	[73]	10		1,5-Dimethyl-4-hydroxy-3-pyridinecarboxylic acid	DQ715	a	[76]

Tabla 1. Ácidos hidroxipiridincarboxílicos (HPCs), mostrados en su forma aromática neutra. Figura tomada por el artículo ^[6].

Estructuralmente, HPC cumple con los requisitos necesarios para formar complejos fuertes con los iones de metales duros, como es el Al(III). Los dos grupos funcionales oxigenados orto (carboxilo, -COOH, y fenólico, -OH), en sus formas desprotonadas, son capaces de formar un anillo de quelación de metal fuerte de seis

miembros. El nitrógeno de la piridina tiene un efecto significativo en la mejora de la afinidad de estos compuestos. Esto ha sido demostrado por los derivados de deferiprona (comúnmente conocidos como hidroxipiridinona, HP_S), que se unen iones de metal duro con mucha más fuerza que los catecoles. La diferencia de la fuerza de complejación se ha atribuido a la acidez inferior del -OH fenólico en HP_S (pK_a≈9) en comparación con los catecoles (pK_a≈13), y por lo tanto se reduce la competencia de protones en la formación de complejos.

Se esperaba el mismo comportamiento para HPC no sustituidos (DT₀, DQ₀) en comparación con el ácido salicílico, y esto se demostró experimentalmente (por ejemplo, para -OH, pK_a > 13 en el ácido salicílico, pK_a ≈ 11 en HPC).

También se espera que la estabilidad de los complejos metal-HPC sea afectada por sustituyentes insertados en las posiciones libres del anillo de piridina, es decir, en posición (/es) 1, 2, 5, y/o 6, incluso si los sustituyentes no participan en la unión del metal.

Un grupo funcional donante de electrones leve, por ejemplo, el metilo (-CH₃), debe ser capaz de aumentar la basicidad de los oxígenos quelantes y, por lo tanto, capaz de aumentar la afinidad de los iones de metal duro.

Otra de las propiedades prometedoras, es que su toxicidad es muy baja ^[30,31]. Sin embargo, no se ha realizado ningún trabajo sistemático para evaluar esta propiedad.

Por último, pero no menos importante, los HPC parecen ser candidatos prometedores para la terapia de quelación oral, debido a su bajo peso molecular (140 para los isómeros sustituidos). Esta es una propiedad favorable que asegura la absorción gastrointestinal de HPC libres, y por lo tanto su actividad oral.

Dos grupos de isómeros de HPC parecen prometedores para la terapia de quelación de Al (III), derivados de DT₀ (ácidos 3-hidroxi-4-piridincarboxílicos, DT_S) y los de DQ₀ (ácidos 4-hidroxi-3-piridincarboxílicos, DQ_S). El trabajo experimental realizado hasta el

momento ha revelado algunas diferencias entre las propiedades de los dos grupos de isómeros (como se discute a continuación). Ambos DT_s y DQ_s están aún en investigación como agentes quelantes.

2.3.2 Propiedades ácido-base

DT₀ y DQ₀ (y por lo tanto sus derivados, DT_s y DQ_s) son generalmente ácidos tripróticos, porque llevan tres grupos funcionales ácidos diferentes: -COOH, -OH, y piridinio, -NH⁺. La acidez de cada grupo es conocida. El orden de acidez es -COOH (más ácido) > -NH⁺ > OH (menos ácido). La secuencia de desprotonación, por lo tanto, se puede predecir con facilidad, y se muestra en la Figura 2. a, b.

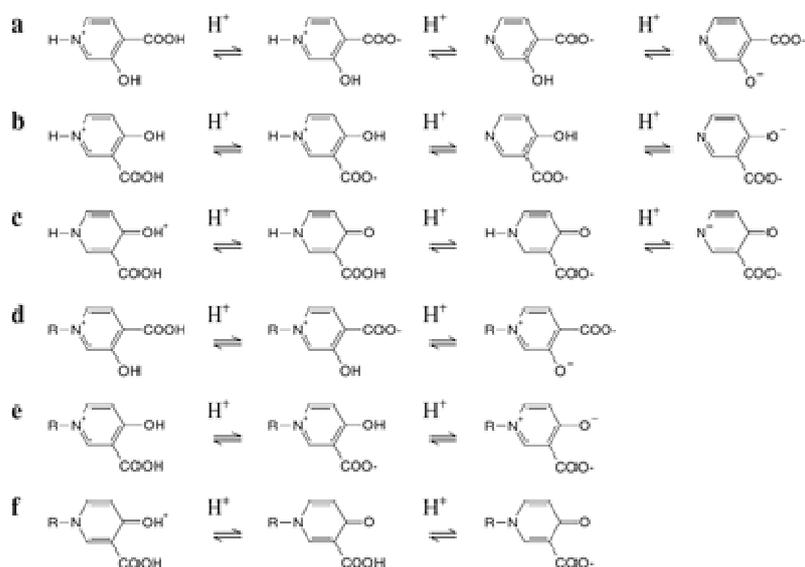


Figura 2. Secuencia de desprotonación para los HPCs. (a) DT_s, (b) DQ_s en forma aromática, (c) DQ_s en forma cetónica (no probable, véase el texto), (d) DT_s, (e) DQ_s N-sustituido en forma aromática, (f) DQ_s N-sustituido en forma cetónica (no probable, véase el texto) ^[6].

En principio, esta secuencia puede ser diferente para los DQ_s, debido a que estos compuestos pueden someterse a la tautomería cetona-enol en la que se pierde la aromaticidad del anillo y se forma el derivado de piridinona. Esta tautomería es típica y bien conocida en las 2 y 4-hidroxipiridinas [32], y, por supuesto, no puede ocurrir en los DT_s. Si los DQ_s se someten a la tautomería cetona-enol, sus grupos funcionales ácidos se describen mejor como una cetona protonada, -C=OH⁺, un grupo carboxilo, -COOH, y -NH, una similar amida. El orden de acidez de estos grupos es C=OH⁺ > COOH > NH. La consecuente secuencia de desprotonación de los DQ_s en su forma cetónica se muestra en la Figura 2. c.

Si el nitrógeno piridínico de HPC se metila, es decir, si hay N-sustitución (1-sustitución), se pierde una posible desprotonación, y los compuestos se convierten en ácidos dipróticos. Las secuencias de desprotonación de DT_s y DQ_s, N-sustituidos, se muestran en la Figura 2. d, e, f. Los valores de pK_a de los HPC investigados hasta el momento se reportan en la Tabla 2. Todos los valores se obtuvieron en las mismas condiciones experimentales (T=25 °C, (Na)Cl acuoso 0,6 molkg⁻¹).

No.	HPC	pK _{a1}	pK _{a2}	pK _{a3}
1	DT0	0.64 (3)	4.713 (1)	10.300 (4)
2	DQ0	-0.06 (4)	5.955 (2)	10.85 (1)
3	DT1	0.28 (5)	6.6326 (8)	-
4	DQ1	0.12 (2)	5.9578 (6)	-
5	DT2	0.47 (2)	5.640 (1)	11.178 (5)
6	DQ2	0.22 (2)	4.906 (3)	11.29 (3)
7	DQ5	0.23 (6)	6.66 (1)	>12
8	DQ6	0.40 (1)	6.32 (1)	11.20 (4)
9	DT712	0.40 (12)	7.702 (5)	-
10	DQ715	0.40 (1)	6.60 (5)	-
11	DQ716	0.37 (1)	6.295 (1)	-
12	DT726	0.66 (18)	6.25 (5)	11.44 (3)
13	DQ726	0.59 (2)	5.32 (2)	11.83 (1)

Tabla 2. Valores de pK_a de los HPCs. (T = 25,0 ° C, (Na)Cl acuoso 0,6 mol/kg). Los valores entre paréntesis representan la incertidumbre del último dígito [6].

La acidez de los ácidos 3-hidroxi-4 metílicos (DTS)

La primera desprotonación de DT se asigna al -COOH. El muy alto carácter ácido de este grupo (pK_{a1} siempre menor que 1) se debe a la presencia de un anillo aromático, un nitrógeno cargado, y un -OH fenólico orto ^[33]. La segunda desprotonación ($pK_{a2} \approx 6$) se asigna a la -NH+ piridínica. El correspondiente aumento del pK_{a2} en la sustitución de -CH₃ se debe a un efecto de electrones donantes. La tercera desprotonación se asigna al -OH, y es generalmente bastante alta ($pK_{a3} \approx 11$), debido al fuerte enlace formado por el hidrógeno intramolecular con el carboxilato orto. En los DT N-sustituidos, sin embargo, los valores de pK_a de -OH se convierten en valores muy bajos, debido al fuerte efecto atractor de los electrones de la piridínica cargada -NR⁺.

La acidez de los ácidos 4-hidroxi-3-piridincarboxílicos (DQS)

Los valores de los pK_a determinados experimentalmente para los DQ_S indican si estos compuestos son principalmente aromáticos o si son de carácter cetónico. En este sentido, el resultado más significativo es que los valores de pK_a de los DQ_S son muy similares a los de DT_S. Esta similitud sugiere que los DQ_S son similares a DT, es decir, que son principalmente de naturaleza aromática.

Otro dato que sugiere la alta aromaticidad de DQ_S es el valor de pK_{a2} (~5 o más), lo que parece demasiado alto para ser asignado a -COOH. Asimismo, el valor de pK_{a3} (~11) para DQ_S parece demasiado bajo para ser asignado a un protón de amida.

Podemos concluir que, a diferencia de 4-hidroxipiridinas, los DQ_S probablemente tienen mucho carácter aromático, probablemente debido a que tienen un enlace de hidrógeno intramolecular. Suponiendo esto, la secuencia de desprotonación de DQ_S es la representada en la Figura 2. b (N-no sustituido DQ_S) y en la Figura 2. e (DQS N-sustituido).

Sin embargo, el carácter cetónico menor de DQ_S no se puede excluir. Por ejemplo, los valores de pK_{a2} de DQ1, DQ2, y DQ726 son más bajos que los de DT1, DT2 y DT726, respectivamente, y los valores pK_{a3} son más altos, es decir, los valores de DQ_S desplazan hacia los de carboxílico y protones de amida.

2.4 Enfoque computacional del Al(III)

2.4.1 ¿Por qué se necesitan métodos computacionales?

Se utilizan varias técnicas experimentales ^[1] para caracterizar el tipo de compuestos de Al que es probable que se encuentren en medios biológicos: ^{31}Al , ^{13}C , ^1H RMN, Rayos X, etc. Sin embargo, los resultados experimentales necesitan de una interpretación, y muestran dificultades para estudiar los compuestos de Al: baja solubilidad, variedad y complejidad de las especies hidrolíticas de aluminio, la aparición de especies lejos del equilibrio termodinámico, la complejidad de los fluidos biológicos y la facilidad de contaminación. En este sentido, los métodos computacionales son una herramienta fundamental para entender la especiación de Al en sistemas biológicos, la determinación del tipo de compuestos que se forman, sus estructuras y la termodinámica de formación.

2.4.2 La experiencia del grupo en este campo

El grupo de Química Teórica de la Facultad de Química tiene una amplia experiencia en el modelado computacional de compuestos de Al ^[34]. Se ha trabajado en cuatro áreas relacionadas: i) Caracterización de las interacciones de aluminio con bloques de construcción, ^[34, 37] ii) Interacción de aluminio con ligandos HMM tales como suero - transferrina ^[38, 39], iii) Interacción de aluminio con especies LMM tales como citrato, 2,3 -

DPG, superóxidos, acetoglutarato [40, 41] y iv) la promoción de estrés oxidativo por el aluminio [42, 43]. En el presente proyecto, tenemos la intención de seguir esta línea de investigación, el desarrollo de las áreas ya iniciadas, y cubriendo otros nuevos, basados en nuestra experiencia anterior.

3 OBJETIVOS

En el presente trabajo, se propone utilizar herramientas de la Química Cuántica para determinar la termodinámica de formación de complejos HPC con el Al. Se caracterizan así, las estructuras, entalpías y energías libres de formación para una serie de compuestos Al-HPC. Los presentes resultados complementan la información experimental disponible y ayudan a su racionalización.

4 METODOS

4.1 Química Cuántica

La Química Cuántica es el núcleo de la Química Teórica, es un conjunto de métodos destinados a calcular las propiedades de los átomos y moléculas a través de la resolución de la ecuación de Schrödinger:

$$\hat{H}\psi = E\psi \quad (1)$$

En la ecuación (1), el símbolo \hat{H} denota el operador hamiltoniano, y ψ y E son las autofunciones y autovalores correspondientes.

Para un conjunto de electrones (e) y de núcleos (N), el hamiltoniano tendría la forma de la ecuación (2), en ausencia de los efectos relativistas y del acoplamiento spin-orbita.

$$\hat{H} = \hat{T}_e + \hat{T}_N + \hat{V}_{e-e} + \hat{V}_{e-N} + \hat{V}_{N-N} \quad (2)$$

La ecuación (2) se puede simplificar suponiendo que al ser los núcleos mucho más pesados que los electrones, su movimiento será mucho más lento, y por lo tanto el \hat{T}_N , término cinético nuclear, se puede despreciar, y el \hat{V}_{N-N} , término de energía potencial núcleo-núcleo puede considerarse como constante (ya que solo depende de las distancias internucleares, que son correcciones en la aproximación). Esto se conoce como la aproximación de Born-Oppenheimer, y da el hamiltoniano aproximado en la ecuación (3).

$$\hat{H}_e = \hat{T}_e + \hat{V}_{e-e} + \hat{V}_{e-N} \quad (3)$$

Por medio de \hat{H}_e encontraríamos ψ_e y E_e de la ecuación de Schrödinger (1), E_e sería entonces la energía *electrónica*. La función de onda ψ_e , por lo tanto, depende de forma explícita en las coordenadas electrónicas, y paramétricamente en las posiciones de los núcleos.

Si queremos resolver la otra mitad del problema, tenemos que resolver la ecuación de Schrödinger nuclear, y para ello necesitamos el hamiltoniano nuclear. Este hamiltoniano debe incluir la energía nuclear cinética (\hat{T}_N), más el potencial de interacción núcleo-núcleo (\hat{V}_{N-N}), pero también la energía potencial que los núcleos ven, causada por estar inmersos en una nube electrónica.

Este potencial es la energía electrónica obtenida anteriormente, que depende paramétricamente sobre la posición de los núcleos. El hamiltoniano nuclear está escrito en la ecuación (4).

$$\hat{H}_N = \hat{T}_N + \hat{V}_{e-N} + E(\{R_A\}) \quad (4)$$

La solución de la función de onda ψ_N a la ecuación de Schrödinger nuclear, describe el movimiento de núcleos, y, por lo tanto, la translación, rotación y la vibración de la molécula.

Vale la pena mencionar que, para cualquier disposición de núcleos R_A (es decir, cada geometría molecular), se obtiene una energía electrónica $E(\{R_A\})$, y también una interacción núcleo-núcleo dada por V_{N-N} . Esto acumula un potencial de energía efectiva de 3^{N_N} -dimensiones (por N_N núcleos), la topología de los cuales nos proporcionara las energías de diferentes conformaciones, y los caminos por los que se conectan dos estructuras de mínimos locales. Este potencial efectivo es a menudo llamado Superficie de Energía potencial (sus siglas en inglés PES).

4.1.1 *Density Functional Theory (DFT)*

La teoría del funcional de la densidad es un formalismo que pretende ser una alternativa a la función de onda. Como se mencionó anteriormente, la Teoría Cuántica propone que todas las propiedades de un sistema de N-electrones se pueden calcular a partir de una entidad matemática llamada función de onda, que se obtiene resolviendo la ecuación de Schrödinger.

El formalismo función de onda, por lo tanto, trata de encontrar soluciones (aproximadas) a esa ecuación. El problema aquí es que la función de onda ψ que se busca

es $3N_e$ -dimensional, siendo N_e el número de electrones en el sistema, y la complejidad matemática aumenta exponencialmente con el número de dimensiones.

La base de la DFT es el teorema de Hohenberg-Kohn ^[44] (Kohn fue galardonado con el Premio Nobel de Química en 1998), que postula que la energía electrónica del estado fundamental está completamente determinada por la densidad electrónica. En otras palabras, existe una correspondencia de uno a uno entre la densidad de electrones de un sistema y la energía: la energía es sólo una función de la geometría de la molécula (R) y su densidad electrónica (ρ).

Los métodos DFT empleados en el trabajo ejecutan las ecuaciones de Kohn-Sham (KS) ^[41]: En primer lugar, la densidad electrónica se calcula por las ecuaciones KS; es decir, la densidad electrónica se construye a través de unos orbitales moleculares (orbitales KS), y la correlación de electrones es considerada intrínsecamente. El teorema Hohenberg-Kohn también establece el principio de variación: el mejor cálculo posible es el que da la energía más baja.

La gran limitación en los métodos DFT, es que, aunque debe de existir un funcional exacto, este funcional no ha sido encontrado todavía, y hay diferentes aproximaciones que dan resultados de diferente precisión.

Varios funcionales fueron desarrollados y refinados durante la década de los 90, pero en la actualidad todavía contienen algunas aproximaciones e imprecisiones. Una de las más importantes carencias en varios funcionales son las limitaciones para describir correctamente ciertas características importantes, tales como interacciones de Van der Waals. A pesar de estas limitaciones, los métodos DFT se han vuelto muy populares y ampliamente utilizados debido a la menor demanda computacional de los cálculos en comparación con otros métodos, y por lo tanto se puede extender a sistemas moleculares más grandes.

Uno de los funcionales DFT más populares, empleado en varios estudios, es B3LYP ^[42,43] (Becke, 3parameter, Lee-Yang- Parr). Este funcional se utilizará en el presente trabajo, mejorado con correcciones para tener en cuenta la interacción de Van der Waals.

4.1.2 Conjunto de bases

Los Orbitales Moleculares (OM) empleados en el método DFT se construyen como una combinación lineal de Orbitales Atómicos (OA) dentro de la aproximación LCAO (Linear Combination of Atomic Orbital, Combinación Lineal del Orbital Atómico). Los Orbitales Moleculares se expanden como una suma de orbitales atómicos:

$$\text{OM: } c_1\text{OA}_1 + c_2\text{OA}_2 + c_3\text{OA}_3 + \dots$$

Dentro de la aproximación LCAO, la función de onda electrónica del OA puede ser descrita por dos tipos de funciones:

- Slater Type Orbitals (STO)
- Gaussian Type Orbitals (GTO)

Las funciones de Orbitales de tipo Slater (sus siglas en inglés, STO) son la mejor opción para representar los OA's, sin embargo, las integrales mono y bioelectronicas a partir de funcionales de Slater, presentan dificultades para su integración. Por eso, en general, se utilizan funciones de Orbitales tipo Gaussiano (GTO). Una limitación de las funciones Gaussianas es que no reproducen la dependiente exponencial de r , que debe de estar presente en ψ^2 . Sin embargo, una combinación de ellas puede acercarse a la función STO ideal. STO-nG es la forma en la que se denominan los OA's, donde STO es Orbital de Tipo Slater, n es el número de gaussianas (G) que se utiliza para aproximar el orbital. Cuantas

más Gaussianas se utilizan, más preciso es el OA, pero de esta manera, el coste computacional será mayor.

STO-3G (el conjunto de base mínima) indica que el orbital Slater se aproxima por 3 gaussianas. Sin embargo, el conjunto de bases STO-3G es demasiado rígido, debido a que los coeficientes del OA son fijos. En una molécula, los Orbitales Atómicos pueden contraerse o ampliarse un poco, y el conjunto de bases STO-3G no reproduce bien este tipo de comportamiento.

Para superar este problema, se desarrollaron los conjuntos de base de *Split-Valence* (o doble ζ), donde los orbitales de valencia se dividen y se consideran como una suma de dos funciones: una función interna contraída y una función externa, ambas aproximadas por Gaussianas. Estas dos funciones también se pueden considerar de forma independiente.

Así, el conjunto de bases 3-21G (uno de los más sencillos) implica que los orbitales de core se aproximan con una función de base, desarrolladas con 3 Gaussianas; los Orbitales de Valencia están divididos en una órbita interior aproximada por 2 Gaussianas, y una exterior aproximada por 1 Gaussiana. Otro conjunto de bases ampliamente utilizado es 6-31G. También existen los conjuntos de bases "Triple- o Cuadruple- ζ ", que son aún más precisos.

Split-Valence no es muy preciso para describir la polarización del sistema, por esta razón, se puede agregar un grupo de funciones adicionales que describen orbitales d para todos los átomos pesados, y orbitales p para átomos de hidrógeno. Esto se muestra por un (*) o dos (**) asteriscos o entre paréntesis (d, p). También se pueden incluir funciones difusas, es decir, funciones de base con exponentes de valor bajo, que dan como resultados funciones de tipo difuso.

En la actualidad, 6-31G(d), se considera como el conjunto de bases mínima disponible para obtener resultados fiables y satisfactorios.

Está claro que la calidad general del cálculo está estrictamente relacionada con la calidad con que son aproximados los OA's. La elección de un conjunto de bases fiable es un paso crítico en los cálculos de la Mecánica Cuántica, y a menudo hay que hacer un compromiso entre la precisión y el coste computacional. Las mismas consideraciones se pueden extender a los métodos DFT, ya que la densidad electrónica calculada está equipada por OA's aproximados, utilizando los mismos conjuntos de base.

4.2 Optimización de la geometría

La realización de una optimización de la geometría es a menudo el primer paso que se da cuando se comienza el estudio de una molécula usando métodos computacionales. En las optimizaciones geométricas, típicamente, se intenta localizar un mínimo en la superficie de energía potencial con el fin de predecir las estructuras de equilibrio de sistemas moleculares (aunque también se pueden usar para localizar estructuras de transición). Por esta razón, las optimizaciones de geometría a un mínimo son también llamadas minimizaciones.

4.2.1 Superficies de energía potencial

Una superficie de energía potencial es a menudo representada por la Figura 3. Estas superficies especifican el modo en que la energía de un sistema molecular varía con pequeños cambios en su estructura. De esta manera, una superficie de energía potencial es una relación matemática que une la estructura molecular y la energía resultante.

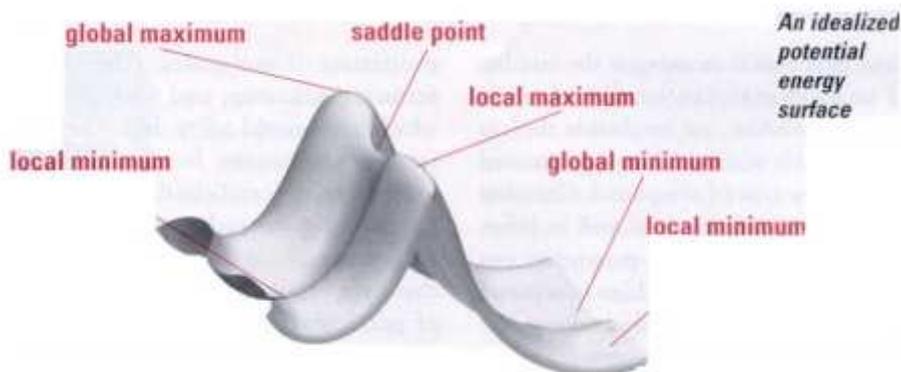


Figura 3. Superficie de energía potencial idealizada. Figura tomada del artículo ^[45]

Por ejemplo, para una molécula diatómica, la superficie de energía potencial puede ser representada por un diagrama de dos dimensiones con la separación internuclear en el eje X, y la energía a esa distancia de enlace en el eje Y. En este caso la superficie de energía potencial es una curva.

Para sistemas más grandes la superficie tiene muchas dimensiones, ya que hay muchos grados de libertad dentro de la molécula.

La superficie de energía potencial de la imagen, considera sólo dos de los grados de libertad dentro de la molécula, y traza la energía por encima del plano definido, creando una superficie. Cada punto representa una estructura molecular particular, con la altura de la superficie en ese punto correspondiente a la energía de esa estructura.

La imagen contiene tres mínimos: un mínimo es un punto en la parte inferior de un valle, donde el movimiento en cualquier dirección da lugar a una energía superior. Dos de ellos son los mínimos locales, lo que corresponde al punto más bajo en alguna región limitada de la superficie potencial, y uno de ellos es el mínimo global, el punto más bajo de energía en cualquier parte de la superficie potencial.

Los diferentes mínimos corresponden a diferentes conformaciones o isómeros estructurales de la molécula que se investiga. La imagen también muestra dos *máximos* y un *punto de silla* (este último corresponde a una estructura de estado de transición).

En ambos mínimos y puntos de silla, la primera derivada de la energía, se conoce como el gradiente, y es cero. Dado que el gradiente es el negativo de las fuerzas, las fuerzas son también cero en dichos puntos. Un punto en la superficie de la energía potencial donde las fuerzas son cero, es denominado punto estacionario. En todas las optimizaciones de éxito se localiza un punto estacionario, aunque no siempre es el correcto. En las optimizaciones de geometría generalmente se localiza el punto fijo más cercano a la geometría del principio.

Al realizar una optimización, hay varias posibilidades: puede que se haya encontrado el mínimo global, o puede que se haya encontrado un mínimo local, o tal vez se haya localizado un punto de silla.

4.2.2 La caracterización de puntos estacionarios

Una optimización de la geometría, por sí sola, no es capaz de determinar la naturaleza del punto estacionario. Con el fin de caracterizar un punto estacionario, es necesario realizar un cálculo de frecuencias en la geometría optimizada.

Con el fin de distinguir un mínimo local de un mínimo global, es necesario realizar una búsqueda conformacional. Se puede comenzar mediante la alteración de la geometría inicial y después realizar otra optimización. La modificación de los ángulos diedros es, a menudo, un buen punto de partida. También hay una variedad de herramientas de búsqueda conformacionales que pueden ayudar con esta tarea.

Para distinguir entre mínimos y estados de transición, se realizan cálculos de frecuencia. Una vez terminado el cálculo de frecuencias, incluirá una variedad de resultados: frecuencias, intensidades, los modos normales asociados, la energía vibracional del punto en cero, y diversas propiedades termoquímicas.

El número de frecuencias imaginarias indica el tipo de punto estacionario a la que corresponde la estructura molecular dada. Por definición, una estructura que tiene n frecuencias imaginarias, es un punto de silla de orden n -ésimo. Por lo tanto, los mínimos tendrán cero frecuencias imaginarias, y, en cambio, una estructura de transición ordinaria, tendrá una frecuencia imaginaria ya que es un punto de silla de primer orden ^[45].

4.3 *The Quantum Theory of Atoms In Molecules (QTAIM)*

La teoría cuántica de los átomos en moléculas (sus siglas en inglés, QTAIM) es una teoría muy popular, que, entre otras cosas, proporciona una partición atómica del espacio real. La teoría se debe a Richard F. W. Bader y define el átomo a través de una compartimentación del espacio real según lo determinado por las propiedades topológicas de la densidad electrónica.

Dado que los átomos están compuestos de electrones y la química y la reactividad se pueden explicar por el comportamiento y la distribución de los electrones en la molécula, es natural tomar la densidad de electrones como la función central para definir una partición atómica.

4.3.1 El análisis topológico de la densidad electrónica

La densidad es una función continua no negativa definida en cada punto del espacio real (en tres dimensiones). El cálculo de la primera derivada de una función proporciona el conjunto de los puntos críticos de la función:

$$\nabla \rho(\mathbf{r}_c) = 0 \quad (5)$$

La caracterización de estos puntos críticos se realiza mediante el análisis de las segundas derivadas de la densidad en el punto crítico.

Suponiendo que los valores propios no son nulos, podemos clasificar la CP por el signo de sus curvaturas. Cada curvatura positiva contribuye +1 a la firma y cada curvatura negativa añade -1, dando cuatro diferentes CPs:

- **(3, -3). Attractor or Nuclear Critical Point (ACP).** Todas las curvaturas son negativas en un Punto Crítico Nuclear o Atractor (sus siglas en inglés, ACP), y por lo tanto este CP es un máximo de la densidad de electrones.

- **(3, -1). Bond Critical Point (BCP).** Un Punto Crítico de Enlace (sus siglas en inglés, BCP), presenta dos curvaturas negativas y una positiva. Este se encuentra entre dos ACP.

- **(3, +1) Ring Critical Point (RCP).** Un Punto Crítico de Anillo (sus siglas en inglés, RCP), tiene dos curvaturas positivas y una negativa (λ_1). Su presencia indica una estructura de anillo.

- **(3, +3) Cage Critical Point (PCC)**. Puntos Crítico de Jaula (sus siglas en inglés, PCC) tienen tres valores propios negativos y es por lo tanto un mínimo de la densidad de electrones. Su presencia indica una estructura de jaula y el PCC se localiza cerca de su centro.

4.3.2 El laplaciano de la densidad electrónica

La segunda derivada de una función da la curvatura de esta función, por lo tanto, proporciona información sobre la concentración o dispersión de la cantidad representada. Las segundas derivadas positivas indican la presencia de un mínimo y las negativas muestran un máximo de la función.

- $\nabla^2\rho(r) < 0 \rightarrow$ acumulación de electrones \rightarrow localización.
- $\nabla^2\rho(r) > 0 \rightarrow$ dispersión de electrones \rightarrow deslocalización.

4.3.3 Índices de deslocalización

Los índices de deslocalización indican la cantidad de electrones compartidos entre dos átomos en la molécula. Se calcula a partir de la integración de la densidad de intercambio y correlación en los correspondientes volúmenes atómicos definidos por el criterio de Bader ^[46].

5 RESULTADOS Y DISCUSION

Como se ha explicado anteriormente, el grupo de investigación de Padova ^[6], está investigando un grupo de ligandos (DQs, DTs), que pueden ser utilizados para la terapia de quelación del Al(III). En este trabajo, han sido seleccionados seis derivados de los ácidos hidroxipiridincarboxílicos (HPC): DQ0, DQ2, DT0, DT2, DQ58 y DQ71508, como se puede ver en la Figura 4.

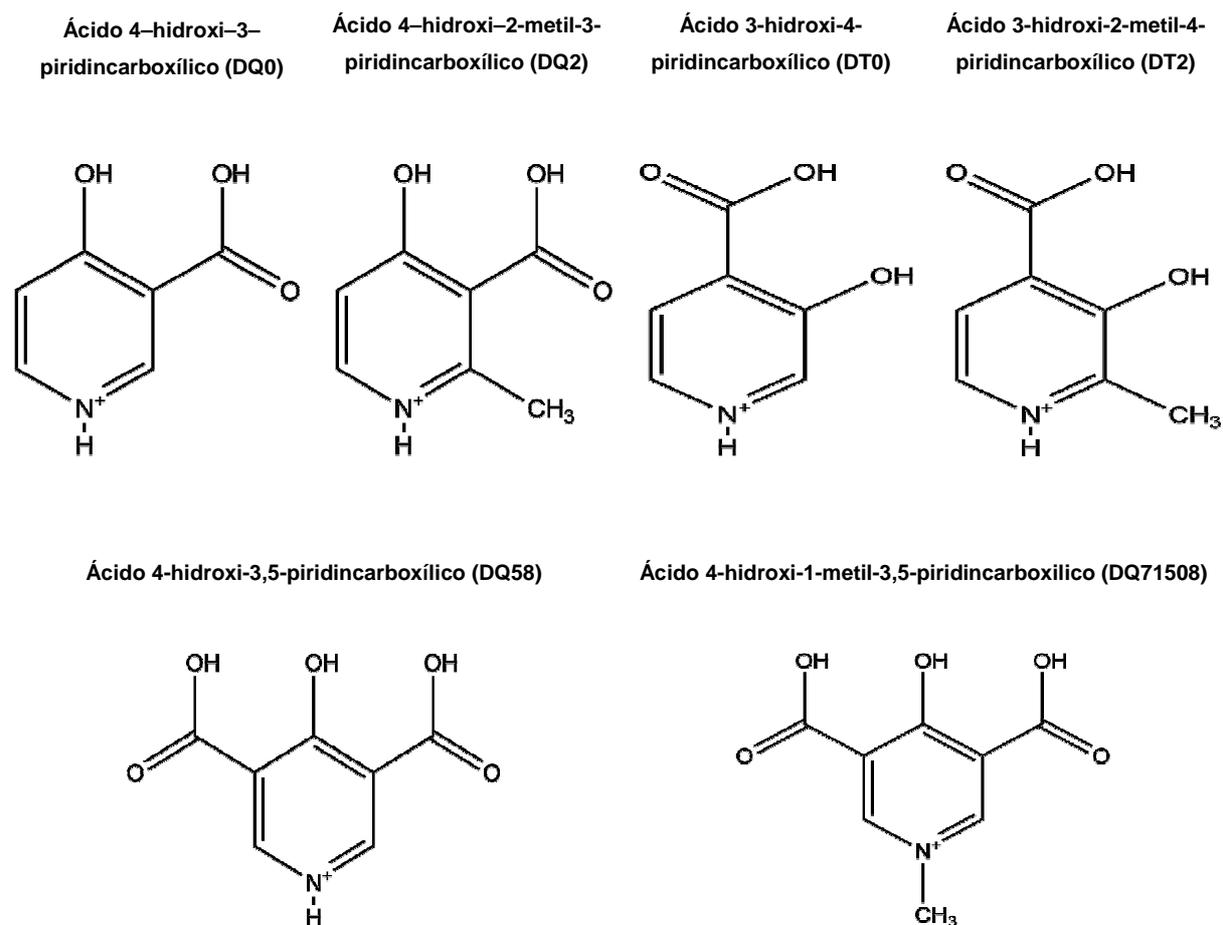


Figura 4. Los derivados de HPC: DQ0, DQ2, DT0, DT2, DQ58 y DQ71508

¿Por qué se han elegido estas moléculas? Como se puede ver en la Figura 4, DQ0 y DT0 se diferencian porque tienen los sustituyentes COOH y OH en posiciones opuestas. DQ2 y DT2 son los derivados de las moléculas DQ0 y DT0 con una sustitución metílica en posición *orto* del grupo -NH⁺ piridínico. A la vez, esto es interesante, ya que el efecto de la sustitución metílica no es suficientemente comprendido a través de los trabajos experimentales ^[47]. En cuanto a DQ58 y DQ71508, se puede observar que DQ71508 tiene una N-sustitución. También se ha querido ver la diferencia que puede tener el usar ligandos de diferente carga, por eso podemos diferenciarlos en dos grupos, DQ0, DQ2, DT0 y DT2, por un lado, ya que tienen una carga total de -1; y, por otro lado, tenemos a DQ58 y DQ71508 con carga total de -2.

Experimentalmente, la afinidad de quelación se describe generalmente mediante el uso de dos criterios diferentes: p[M] y log β (conocida como constante de estabilidad o constante de la formación de complejos) ^[48]. p[M] se define como el logaritmo negativo de la concentración del metal libre en solución, calculado para el total de [ligando] = 10⁻⁵ M y el total de [Metal] = 10⁻⁶ M a pH 7,4; que por lo general se calcula a partir de datos a 25 °C y una fuerza iónica de 0,1 M. Este criterio es útil cuando se comparan diferentes quelantes. p[M] tiene en cuenta los efectos de la protonación del ligando y la denticidad, de modo que puede proporcionar un primer y general conocimiento acerca de las propiedades de quelación de la molécula ^[48, 49].

Por otro lado, las constantes de estabilidad (β) se pueden expresar como las energías asociadas a la siguiente reacción: pM + qL + rH = M_p + L_q + H_r donde M es el metal, en este caso Al, L es el ligando, que son los HPC y H el estado de protonación. Claramente, las constantes β están directamente conectadas a la estequiometría del complejo, ya que tendremos un valor β registrado para cada estado estequiométrico. Las constantes β son una medida de la fuerza de la interacción entre los dos reactivos que forman el complejo.

Como se describe en el artículo “From coordination chemistry to biological chemistry of aluminum” de T.Kiss ^[1] y como se puede ver en la Figura 5, cada HPC tiene un p[Al] diferente para un mismo pH. En un pH fisiológico, o sea, 7.4, el orden de afinidad según el criterio pAl es el siguiente: DQ58 > DQ71508 > DQ0 > DT0 > DT2 > DQ2. Sin embargo, pAl es un criterio ambiguo de afinidad. Como antes se ha descrito, un criterio más adecuado sería $\log\beta$. Por desgracia, no existen datos experimentales de $\log\beta$ bajo las mismas condiciones para todos los complejos, por lo que su comparación no es evidente. Por ello, los cálculos computacionales correspondientes son fundamentales para determinar rigurosamente el orden de afinidad.

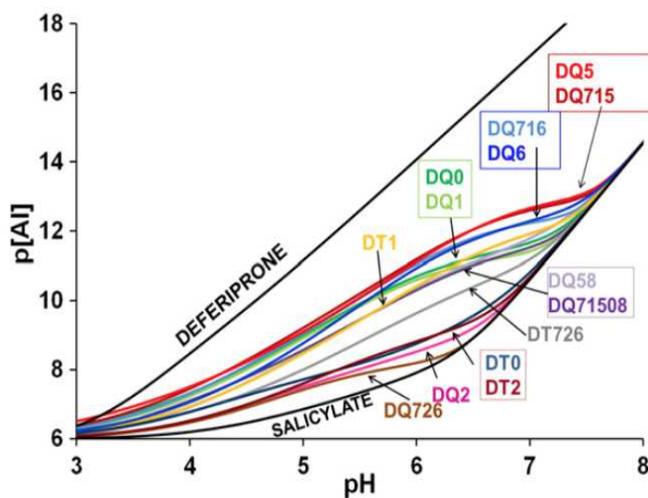


Figura 5. Eficiencia de unión de Al(III) (pM frente pH) de los ligandos indicados en la Figura 4. Figura tomada por el artículo ^[1].

Para ello y siguiendo la metodología descrita en la sección de métodos, se han caracterizado las estructuras de los ligandos libres, y de los complejos Al-ligando, en diferentes estequiometrias, 1:1, 1:2 y 1:3. Es decir, se reportan la caracterización completa de 24 moléculas, siendo este el estudio computacional más exhaustivo sobre este tipo de interacción Al-ligando realizado hasta la fecha. En la figura 6 a, b, c se pueden ver las moléculas con estequiometría 1:1, 1:2 y 1:3.

MOLÉCULAS CON ESTEQUIOMETRÍA 1:1

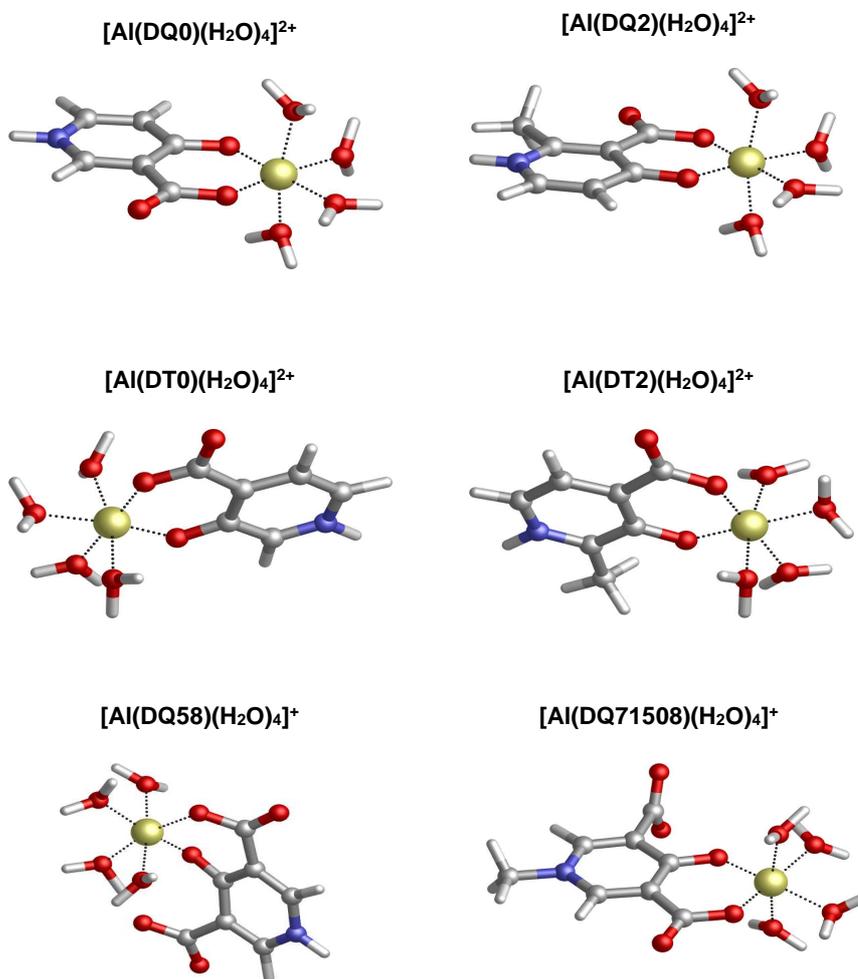


Figura 6 a. Compuestos HPC-Al con estequiometría 1:1. Geometría optimizada a nivel de teoría B3LYP-D3 / 6-31++(d,p).

MOLÉCULAS CON ESTEQUIOMETRÍA 1:2

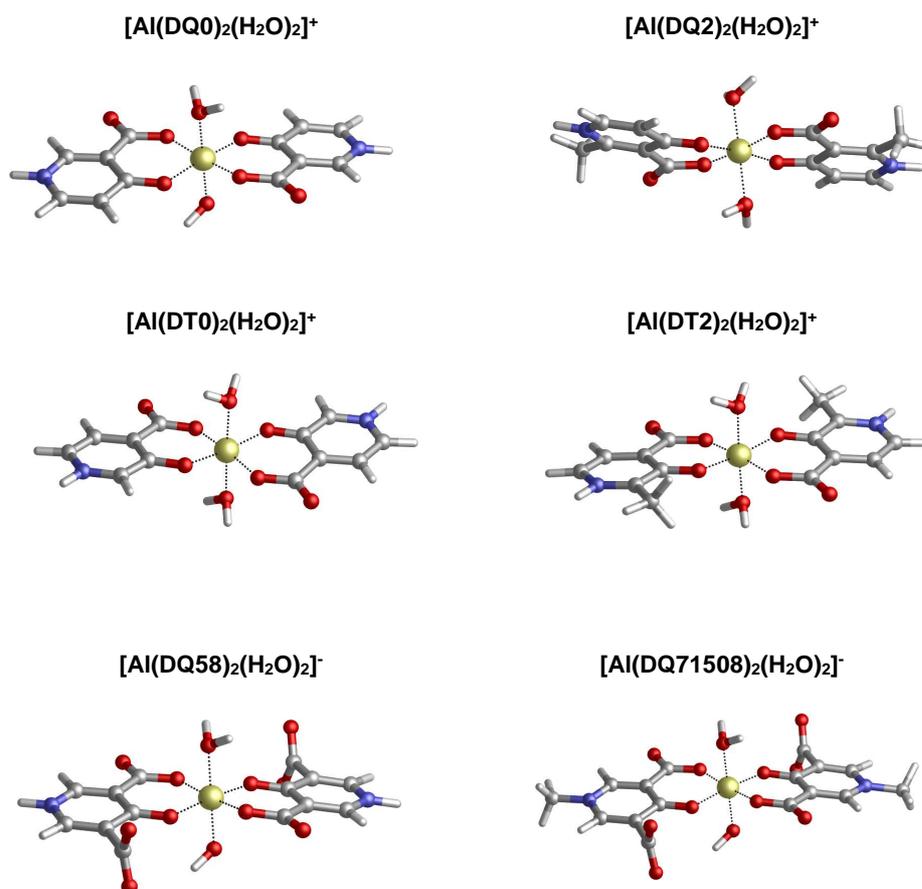


Figura 6 b. Compuestos HPC-Al con estequiometría 1:2. Geometría optimizada a nivel de teoría B3LYP-D3 / 6-31++(d,p).

MOLÉCULAS CON ESTEQUIOMETRÍA 1:3

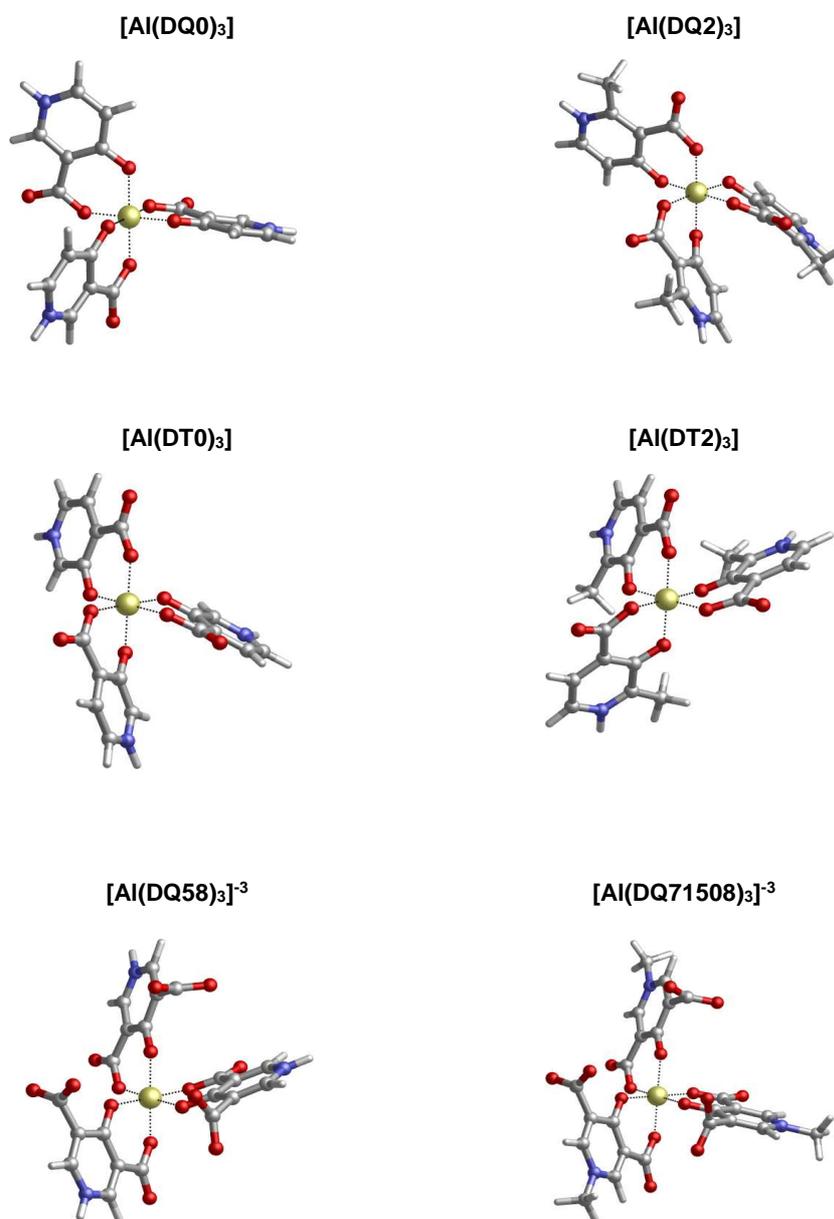


Figura 6 c. Compuestos HPC-Al con estequiometría 1:3. Geometría optimizada a nivel de teoría B3LYP-D3 / 6-31++(d,p).

Una vez que la energía de cada especie es determinada, se usan las ecuaciones (6) y (7) para determinar el valor de la energía de Gibbs, y la de la entalpía de formación de los complejos.

$$\Delta G_{\text{aq}}^{\text{compl}} = G_{\text{aq}}(\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_{6-m}\text{L}) + mG_{\text{aq}}(\text{H}_2\text{O}) - G_{\text{aq}}(\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6) - G_{\text{aq}}(\text{L}) + \Delta nRT \ln(24.46) + mRT \ln(55.34) \quad (6)$$

$$\Delta H_{\text{aq}}^{\text{compl}} = H_{\text{aq}}(\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_{6-m}\text{L}) + mH_{\text{aq}}(\text{H}_2\text{O}) - H_{\text{aq}}(\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6) - H_{\text{aq}}(\text{L}) + \Delta nRT \ln(24.46) \quad (7)$$

Puesto que las energías de solvatación se determinan usando un gas ideal a 1 atm, siendo este el estado estándar, el penúltimo término de la ecuación 1 se corresponde con el cambio de volumen debido a la transformación de 1 atm a 1 M, donde Δn es el cambio del número de especies en la reacción. Por otro lado, el último término representa la concentración de 55.34 M para el agua en agua líquida [52].

Por último, hay que tener en cuenta la corrección energética asociada a la desprotonación a pH fisiológico (pH=7.4) de aquellos grupos funcionales que interaccionan directamente con el Al. Se puede obtener esta corrección a partir de los pKa experimentales de los ligandos libres mediante la Tabla 2, y se puede llevar a cabo el cálculo de la energía fisiológica, usando la ecuación (8), y sustituyendo los valores de cada energía en la ecuación (9).

$$\Delta G^{\text{deprot}} = 2.303RT(\text{p}K_a - \text{pH}) \quad (8)$$

$$\Delta G_{aq}^{Phys} = \Delta G_{aq}^{compl} + \Delta G_{aq}^{deprot} \quad (9)$$

Mediante la Tabla 3 se pueden ver las entalpías, las energías de Gibbs y las fisiológicas de cada complejo, mientras que con la Figura 7 se pueden observar cómo se agrupan las diferentes estequiometrias en diferentes zonas de acuerdo al valor de $\Delta H_{compl}/\Delta G_{compl}$. Se puede observar claramente que, a medida que aumenta el número de ligandos en torno al Al, los complejos son más estables.

ESTEQUIOMETRIA 1:1			
MOL.	ΔH_{compl} (kcal/mol)	ΔG_{compl} (kcal/mol)	ΔG_{phys} (kcal/mol)
DQ0	-53.19	-55.01	-48.34
DT0	-55.57	-59.90	-51.47
DQ2	-52.24	-52.35	-43.65
DT2	-56.32	-58.78	-51.23
DQ71508	-58.68	-61.20	-61.20
DQ58	-64.01	-64.00	-57.66
ESTEQUIOMETRIA 1:2			
DQ0	-93.13	-91.64	-84.30
DT0	-96.68	-100.25	-85.02
DQ2	-89.49	-91.49	-74.08
DT2	-99.71	-105.01	-89.91
DQ71508	-102.49	-107.66	-107.66
DQ58	-100.52	-106.45	-93.78
ESTEQUIOMETRIA 1:3			
DQ0	-125.48	-127.17	-109.16
DT0	-127.96	-129.64	-106.80
DQ2	-119.16	-117.96	-91.86
DT2	-133.41	-136.37	-113.73
DQ71508	-135.31	-134.09	-134.09
DQ58	-131.97	-134.98	-115.97

Tabla 3. Resultados de las entalpías y energías de Gibbs y fisiológicas para los compuestos 1:1, 1:2 y 1:3. Calculados a nivel de teoría B3LYP-D3 (PCM) / 6-311++G(3df,2p) // B3LYP-D3 (PCM) / 6-31++G(d,p).

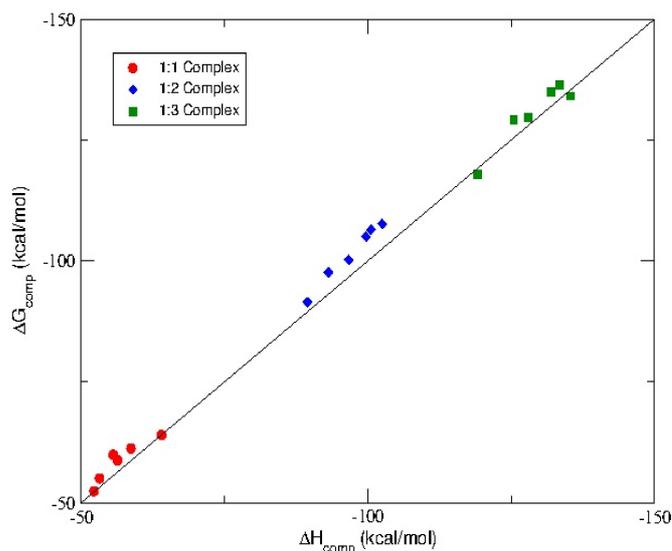


Figura 7. Las energías de los complejos VS la entalpía de formación de los complejos.

En general y como se puede ver en la tabla 3, si se tienen en cuenta los complejos con carga total de -1, los ácidos 3-hidroxi-4-piridincarboxílicos (DTs) son más estables que los ácidos 4-hidroxi-3-piridincarboxílicos (DQs). Es decir, cuando el COOH está en posición *para* de NH⁺, y cuando OH está en posición *meta* de NH⁺ el complejo es más estable. Sin embargo, en el caso de complejos con estequiometría 1:3, se observa que las energías son parecidas para DQ0 y DT0.

En cuanto al efecto de la sustitución metílica, se han obtenido resultados diferentes para complejos DT y DQ. Para los complejos tipo DQ, y en todas las estequiometrías, la sustitución metílica desestabiliza el complejo, esto significa que DQ0 es más estable que DQ2. Por otro lado, con una estequiometría 1:1, la diferencia de los DTs es mínima, así que el efecto del metilo no influye. Sin embargo, para estequiometrías 1:2 y 1:3, la inclusión del metilo estabiliza el complejo, así el complejo DT2, es más estable que el DT0.

Como se ha visto, se debe destacar que el efecto del metilo es fundamentalmente diferente para complejos tipo DQ y DT. El efecto del metilo para DQ es desestabilizador, incluso en complejos 1:1. La razón más probable es un efecto orto: el impedimento estérico del grupo metilo en la posición 2, no permite que el voluminoso grupo carboxilo, en posición 3, sea coplanar con el anillo de piridina. Esto provoca una distorsión del anillo formado por la interacción del Al con DQ2 y por lo tanto una disminución del complejo ^[47]. Este efecto hace que la afinidad con el Al sea menor, ya que no puede ligarse bien. Esto sugiere que el ligando sustituido tiene una menor afinidad por el Al. Así los $\Delta\Delta G$ obtenidos aumentan con la estequiometría: +5 kcal/mol para 1:1, +10 kcal/mol para 1:2, +18 kcal/mol para 1:3 aproximadamente. En cambio, en el caso DT, la sustitución metílica estabiliza el complejo solamente cuando hay dos ligandos o más, sugiriendo que el efecto proviene de una interacción entre-ligandos. Así, si se observa la estructura obtenida para el caso 1:3, se observan varias posibles interacciones no-covalentes entre $-CH_3$ y el anillo fenílico. Este tipo de interacción es muy conocida en la literatura ^[50] y los cálculos que se han llevado a cabo indican que juega también un papel en la estabilización de algunos complejos.

Los complejos DQ71508 y DQ58 son los complejos más estables de los calculados en este trabajo, para todas las estequiometrías. Esto era esperado, ya que estos ligandos son los que mayor carga negativa implican, -2. De entre DQ71508 y DQ58, hay una preferencia por el primero. Es decir, la sustitución metílica en el N de la piridina tiene un efecto estabilizador claro en estos complejos, especialmente relevante a estequiometrías altas.

El funcional que se ha utilizado para los cálculos ha sido B3LYP-D3, el motivo es muy simple, en la bibliografía utilizada, el funcional B3LYP es el utilizado más a menudo. En este caso, como los ligandos tienen un carácter aromático, hay que tener en cuenta la dispersión, y por ello se han añadido las correcciones pertinentes. A falta de datos experimentales, para validar los resultados obtenidos, se han calculado las energías mediante otro funcional, llamado M062X, que está considerado como un funcional más estable. En la tabla 5 se pueden ver los resultados obtenidos mediante los dos funcionales.

MOL.	1:1		1:2		1:3	
	B3LYP-D3	M062X	B3LYP-D3	M062X	B3LYP-D3	M062X
DQ0	-48.34	-46.77	-84.30	-81.46	-109.16	-105.75
DT0	-51.47	-50.85	-85.02	-83.76	-106.80	-105.82
DQ2	-43.65	-41.94	-74.08	-71.20	-91.86	-88.38
DT2	-51.23	-50.10	-89.91	-87.80	-113.73	-111.26
DQ71508	-61.20	-58.90	-107.66	-103.77	-134.09	-129.43
DQ58	-57.66	-57.55	-93.78	-89.76	-115.97	-111.25

Tabla 4. Resultados de las energías fisiológicas para los compuestos 1:1, 1:2 y 1:3, utilizando los funcionales B3LYP-D3 y M062X.

Para poder ver si hay una correlación entre los dos, se ha llevado a cabo el siguiente gráfico.

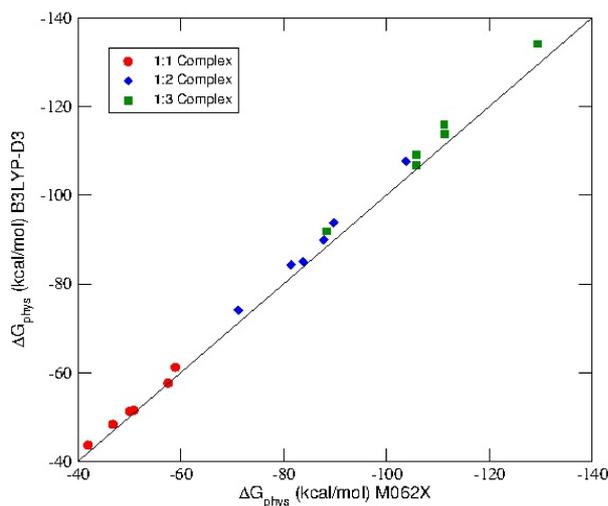


Figura 8. Las energías de los complejos calculados con el funcional B3LYP-D3 VS el funcional M062X.

Como se puede observar, los dos funcionales dan resultados análogos, por lo que se puede decir que los resultados no muestran una dependencia con el tipo de funcional.

Con el fin de profundizar en el análisis del tipo de enlace presente entre el Al y el O en estos ligandos, hemos procedido a realizar el análisis de Bader en estos complejos.

Nos fijamos primero en los valores de ρ_{BCP} , ∇^2_{BCP} y H_{BCP} para caracterizar el tipo de interacción entre Al y O. En la teoría de Bader, los enlaces covalentes presentan valores negativos tanto de la ∇^2_{BCP} , como de la H_{BCP} . En los enlaces iónicos, tanto la ∇^2_{BCP} , como la H_{BCP} , son, en cambio, positivas. Los valores de ∇^2_{BCP} y H_{BCP} para todos los enlaces Al-O en los 18 complejos estudiados se encuentran en las tablas 6 a, b y c. En ellas se muestra un patrón consistente, y se obtiene para estos enlaces valores positivos de la ∇^2_{BCP} en todos los casos, correspondiendo a una interacción de tipo iónico. Sin embargo, los valores de H_{BCP} para complejos 1:1 y 1:2 son negativos, y para 1:3 sus valores son negativos, pero con valores tan pequeños que están dentro del error numérico. Esto indica que, aunque tengamos un enlace principalmente iónico, también hay presencia de interacciones covalentes de tipo dativo entre los pares no enlazantes de O y los orbitales 3s, 3p vacíos del Al.

ESTEQUIOMETRIA 1:1						
MOL.	ρ_{BCP}		∇^2_{BCP}		H_{BCP}	
	Al-O ₁	Al-O ₂	Al-O ₁	Al-O ₂	Al-O ₁	Al-O ₂
DQ0	0.0798	0.0810	0.5135	0.5283	-0.0033	-0.0032
DT0	0.0813	0.0816	0.5272	0.5342	-0.0036	-0.0033
DQ2	0.0801	0.0844	0.5216	0.5612	-0.0029	-0.0038
DT2	0.0827	0.0812	0.5388	0.5299	-0.0038	-0.0032
DQ71508	0.0815	0.0819	0.5280	0.5344	-0.0036	-0.0035
DQ58	0.0769	0.0744	0.4928	0.4593	-0.0029	-0.0032

Tabla 5 a. Valores de la densidad, el el Laplaciano y la energía en el BCP, para complejos de estequiometria 1:1. Calculados a nivel de teoría B3LYP-D3 (PCM) / 6-311++G(3df,2p) // B3LYP-D3 (PCM) / 6-31++G(d,p).

ESTEQUIOMETRIA 1:2				
ρ_{BCP}				
MOL.	Al-O ₁	Al-O ₂	Al-O ₃	Al-O ₄
DQ0	0.0698	0.0722	0.0694	0.0730
DT0	0.0718	0.0704	0.0728	0.0712
DQ2	0.0712	0.0739	0.0715	0.0750
DT2	0.0727	0.0704	0.0733	0.0713
DQ71508	0.0716	0.0717	0.0712	0.0724
DQ58	0.0711	0.0720	0.0709	0.0726
∇^2_{BCP}				
DQ0	0.4357	0.4590	0.4316	0.4660
DT0	0.4524	0.4470	0.4594	0.4528
DQ2	0.4506	0.4760	0.4535	0.4867
DT2	0.4594	0.4463	0.4636	0.4534
DQ71508	0.4500	0.4543	0.4455	0.4596
DQ58	0.4470	0.4576	0.4440	0.4618
H_{BCP}				
DQ0	-0.0012	-0.0014	-0.0014	-0.0015
DT0	-0.0016	-0.0009	-0.0019	-0.0011
DQ2	-0.0012	-0.0015	-0.0013	-0.0015
DT2	-0.0018	-0.0010	-0.0019	-0.0011
DQ71508	-0.0015	-0.0014	-0.0017	-0.0015
DQ58	-0.0014	-0.0014	-0.0016	-0.0015

Tabla 5 b. Valores de la densidad, el el Laplaciano y la energía en el BCP, para complejos de estequiometria 1:2. Calculados a nivel de teoría B3LYP-D3 (PCM) / 6-311++G(3df,2p) // B3LYP-D3 (PCM) / 6-31++G(d,p).

ESTEQUIOMETRIA 1:3						
ρ_{BCP}						
MOL.	Al-O₁	Al-O₂	Al-O₃	Al-O₄	Al-O₅	Al-O₆
DQ0	0.0605	0.0648	0.0619	0.0645	0.0622	0.0666
DT0	0.0623	0.0636	0.0629	0.0613	0.0653	0.0642
DQ2	0.0596	0.06501	0.0617	0.0652	0.0632	0.0684
DT2	0.0627	0.0643	0.0630	0.0614	0.0652	0.0641
DQ71508	0.0619	0.0635	0.0634	0.0639	0.0628	0.0658
DQ58	0.0618	0.0637	0.0634	0.0658	0.0612	0.0662
∇^2_{BCP}						
DQ0	0.3660	0.4031	0.3766	0.3991	0.3809	0.4178
DT0	0.3767	0.3914	0.3829	0.3728	0.4037	0.4000
DQ2	0.3570	0.4038	0.3725	0.4031	0.3883	0.4323
DT2	0.3810	0.3969	0.3838	0.3732	0.4008	0.3954
DQ71508	0.3789	0.3937	0.3868	0.3924	0.3840	0.4096
DQ58	0.3761	0.3912	0.3885	0.4088	0.3709	0.4126
H_{BCP}						
DQ0	6.330*10 ⁻⁵	-5.389*10 ⁻⁵	-3.781*10 ⁻⁵	-0.0002	7.289*10 ⁻⁵	-0.0002
DT0	-0.0005	-5.430*10 ⁻⁵	-0.0003	5.201*10 ⁻⁵	-0.0004	0.0001
DQ2	-0.0002	-0.0002	-0.0003	-0.0004	-0.0001	-0.0004
DT2	-0.0004	-0.0002	-0.0004	2.880*10 ⁻⁵	-0.0006	-0.0002
DQ71508	9.287*10 ⁻⁵	0.0001	-0.0004	-0.0003	-0.0001	-0.0003
DQ58	-3.842*10 ⁻⁵	-0.0002	-0.0002	-0.0004	-5.766*10 ⁻⁵	-0.0004

Tabla 5 c. Valores de la densidad, el el Laplaciano y la energía en el BCP, para complejos de estequiometría 1:3. Calculados a nivel de teoría B3LYP-D3 (PCM) / 6-311++G(3df,2p) // B3LYP-D3 (PCM) / 6-31++G(d,p).

Además, se caracterizaron los índices de deslocalización entre los pares Al-O que forman el enlace Al-ligando. Esta es una medida del grado de compartición de electrones entre dos átomos. Así se observa en las Tablas 6 a, b y c, que, los mayores DI por enlace Al-O, corresponden a los complejos 1:1, luego 1:2 y 1:3. Esto indica que la mayor interacción corresponde a los complejos 1:1, y luego, a pesar de que incrementando el número de ligandos, se estabiliza el complejo, la interacción en cada ligando es menor.

ESTEQUIOMETRIA 1:1		
MOL.	Al-O₁	Al-O₂
DQ0	0.1947	0.1988
DT0	0.1995	0.2001
DQ2	0.1929	0.2044
DT2	0.2007	0.1982
DQ71508	0.1969	0.1995
DQ58	0.1799	0.1842

Tabla 6 a. Índices de deslocalización para complejos de estequiometría 1:1. Calculados a nivel de teoría B3LYP-D3 (PCM) / 6-311++G(3df,2p) // B3LYP-D3 (PCM) / 6-31++G(d,p).

ESTEQUIOMETRIA 1:2				
MOL.	Al-O₁	Al-O₂	Al-O₃	Al-O₄
DQ0	0.1693	0.1753	0.1680	0.1780
DT0	0.1750	0.1716	0.1766	0.1724
DQ2	0.1705	0.1768	0.1701	0.1799
DT2	0.1766	0.1716	0.1773	0.1730
DQ71508	0.1735	0.1744	0.1724	0.1768
DQ58	0.1724	0.1750	0.1707	0.1767

Tabla 6 b. Índices de deslocalización para complejos de estequiometría 1:2. Calculados a nivel de teoría B3LYP-D3 (PCM) / 6-311++G(3df,2p) // B3LYP-D3 (PCM) / 6-31++G(d,p)

ESTEQUIOMETRIA 1:3						
MOL.	Al-O₁	Al-O₂	Al-O₃	Al-O₄	Al-O₅	Al-O₆
DQ0	0.1455	0.1577	0.1485	0.1561	0.1492	0.1607
DT0	0.1503	0.1539	0.1523	0.1482	0.1572	0.1552
DQ2	0.1424	0.1570	0.1482	0.1566	0.1508	0.1642
DT2	0.1505	0.1558	0.1509	0.1484	0.1568	0.1549
DQ71508	0.1482	0.1542	0.1518	0.1547	0.1503	0.1593
DQ58	0.1473	0.1538	0.1516	0.1589	0.1461	0.1601

Tabla 6 c. Índices de deslocalización para complejos de estequiometría 1:3. Calculados a nivel de teoría B3LYP-D3 (PCM) / 6-311++G(3df,2p) // B3LYP-D3 (PCM) / 6-31++G(d,p).

Como se puede ver en la Figura 9, no existe ninguna correlación lineal entre ΔG_{phys} y D.I. Esto, claramente, confirma los resultados previamente obtenidos: la interacción Al-O es iónica, porque no hay una compartición de electrones, y tampoco una correlación con ΔG_{phys} . Además, si no existe ninguna correlación entre D.I. y ΔG_{phys} , el metilo no puede influir en el enlace Al-O, por lo que en una estequiometría 1:1, no se ve diferencia alguna entre DT0 y DT2. Por lo que, son necesarios análisis teóricos adicionales para profundizar en la relación entre enlace Al-O y afinidad por ligando. Este tipo de análisis queda fuera del objetivo de este trabajo.

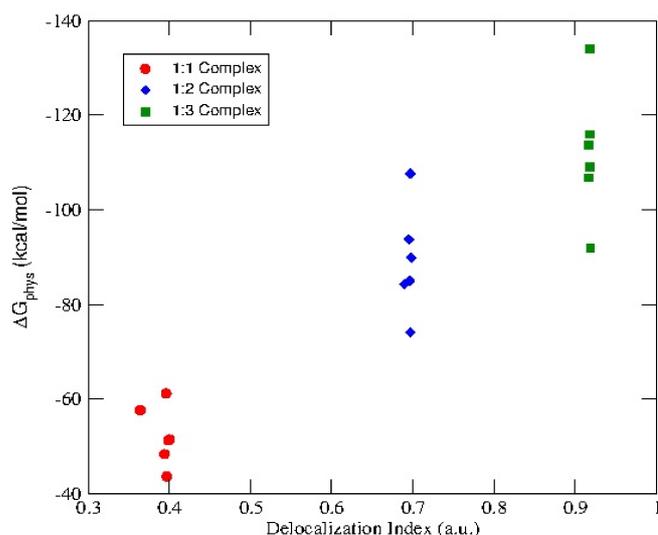


Figura 9. Energías fisiológicas VS índices de deslocalización.

6 CONCLUSIONES

En el presente trabajo, se han aplicado técnicas teóricas avanzadas para la caracterización de una nueva y prometedora clase de agentes quelantes de Al(III), llamados DT0, DT2, DQ0, DQ2, DQ58 y DQ71508.

Primeramente, se realizaron las optimizaciones geométricas para todos los compuestos de estequiometrias 1:1, 1:2 y 1:3, con el fin de localizar los mínimos más estables en sus Superficies de Energía Potencial. Después, se llevaron a cabo el análisis de frecuencias y cálculos de *Single-point*, utilizando la Teoría del Funcional de la Densidad.

Después, se calculó la ΔG fisiológica (ΔG_{phys}) utilizando dos funcionales diferentes que incluyen dispersión (ec. 9); Teniendo en cuenta el error de los métodos, no hay diferencias significativas en las afinidades de unión con los dos funcionales.

Los resultados que se han obtenido basándose en el orden de afinidad según la ΔG_{phys} han sido los siguientes:

Para estequiometrias 1:1, el orden de afinidad de mayor a menor: DQ71508 > DQ58 > DT0 > DT2 > DQ0 > DQ2. Para estequiometrias 1:2, DQ71508 > DQ58 > DT2 > DT0 > DQ0 > DQ2. Y, por último, para estequiometrias 1:3, DQ71507 > DQ58 > DT2 > DQ0 > DT0 > DQ2.

En general, teniendo en cuenta los complejos de carga total -1, los ácidos 3-hidroxi-4-piridincarboxílicos (DTs) son más estables que los ácidos 4-hidroxi-3-piridincarboxílicos (DQs). En cuanto a los complejos DQ71508 y DQ58, que son los de carga total -2, se ha visto que son los más estables en todas las estequiometrias.

Las optimizaciones de geometría revelaron algunas características estructurales interesantes: el efecto del metilo para complejos DQs y DTs es diferente. Se vio que,

cuando el grupo metilo se coloca cerca del grupo carboxilo (DQ2), hay un efecto de impedimento estérico que rompe la planaridad en la interacción con Al, y, por lo tanto, desestabiliza el complejo, disminuyendo así, su afinidad de unión en comparación con el no sustituido (DQ0). Viendo este resultado, se puede señalar que la sustitución del metilo en esta posición del anillo piridínico no es una buena estrategia para mejorar la fuerza de unión del compuesto hacia Al.

Además, DT2, con estequiometría 1:3, revela que hay algunas interacciones entre ligandos, que se pueden considerar como un efecto de π -stacking. Estas interacciones no covalentes parecen aumentar la estabilidad de los complejos, aunque son necesarias más investigaciones.

Con el fin de obtener una conclusión más detallada de la interacción entre Al y estos agentes quelantes, se analizaron rigurosamente los enlaces Al-O por medio de la teoría de QTAIM de Bader. Los valores positivos del Laplaciano en el BCP, revelaron que, como era de esperar, esta interacción tiene un importante carácter iónico/electrostático; que después, fue confirmado por el análisis de los índices de deslocalización (D.I.) para Al-O: la ausencia de una correlación entre D.I. y la energía de unión, confirma que los electrones no están compartidos entre los dos átomos.

En general, estos resultados dan una explicación previa y rigurosa del comportamiento de esta clase de agentes quelantes; una información valiosa sobre las características geométricas. Se proporcionan también, un análisis de la estructura electrónica y la naturaleza del enlace, así como un aspecto del efecto del metilo no suficientemente entendida experimentalmente.

Por otro lado, estos resultados no explican el porqué de la diferencia en la afinidad de unión cuando el grupo COOH se coloca en una posición *para* (DQs), o en una posición *meta* (DTs) respecto al nitrógeno piridínico.

En este sentido, se necesitan más investigaciones con el fin de entender

completamente y totalmente el comportamiento de esta clase de compuestos, y para proporcionar información valiosa que ayudará en el diseño de nuevos quelantes potentes de Al.

CONCLUSIONS

In the present work, we have applied state-of-the-art theoretical techniques in the characterization of a new and promising class of Al(III) chelating agents, namely DT0, DT2, DQ0, DQ2, DQ58 and DQ71508.

First, geometrical optimizations were carried on all the compounds at 1:1, 1:2 and 1:3 stoichiometry in order to locate the most stable minima in their potential energy surfaces, followed by frequencies analysis and single point calculations, using the Density Functional Theory.

Then, physiological ΔG were calculated according to our theoretical approach (eq. 9) and validated with two different functionals that include dispersion; we have found that, considering the error of the methods, there are no significant differences in binding affinities with the two functionals.

According to our ΔG_{phys} , results show the following trend: For 1:1 stoichiometry, the trend in affinity (from the most stable to the less stable): DQ71508 > DQ58 > DT0 > DT2 > DQ0 > DQ2. For 1:2 stoichiometry: DQ71508 > DQ58 > DT2 > DT0 > DQ0 > DQ2. Finally, for 1:3 stoichiometry the trend is: DQ71508 > DQ58 > DT2 > DQ0 > DT0 > DQ2.

For the complexes that retain the same charge (-1), we found that, as a general trend, 3-Hydroxy-4-pyridincarboxylic acids (DTs) are more stable than 4-Hydroxy-3-pyridincarboxylic acids (DQs). Considering the two complexes that have the less negative charge (DQ71508 and DQ58, charge -2), results show that they are the most stable in all the stoichiometry.

Some interesting structural features were revealed by geometry optimizations: the methyl effect is different within DQs and DTs. When the methyl group is placed close to the carboxyl group (DQ2), there is a steric hindrance effect that breaks the planarity of the interaction with Al(III) and thus destabilizes the complex, decreasing its binding affinity compared to the unsubstituted counterpart (DQ0). According to this result, we can point out that the methyl substitution in this position of the pyridinic ring is not a good strategy to improve the binding strength of the compound toward Al(III).

In addition, 1:3 stoichiometry for DT2 reveal that some inter-ligand interactions may take place, that could be regarded as π -stacking effects. These non-covalent interactions seem to decrease the stability of the complexes, although more investigation we needed.

In order to obtain a more detailed picture of the interaction between aluminum and these chelating agents, Al-O bonds were rigorously analyzed by means of Bader's QTAIM theory. Positive values of the Laplacian at the BCP (Bond Critical Point) revealed that, as expected, such interaction has a major ionic/electrostatic character; that result was further confirmed by the analysis of the Al-O delocalization indices (D.I.): the absence of a correlation between D.I. and the binding energy confirms that there is not an evident electron sharing between the two atoms.

Overall these results give a preliminary and rigorous rationalization of the behavior of this class of chelating agents; valuable insights on the geometrical features, the electronic structure and the nature of the bond are provided, as well as a first understanding of the experimentally not well understood role of the methyl substitution.

On the other hand, these results don't explain why there is a difference in binding affinity when the the carboxylate group is placed in *para* (DQs) or *meta* (DTs) with respect to the pyridinic nitrogen. In this sense, further investigations are needed in order to fully understand and fully rationalize the behavior of this class of compounds, which will provide valuable newinsights that will help in the design of new potent Al(III) chelators.

7 BIBLIOGRAFIA

- [1] T. Kiss, *Journal of Inorganic Biochemistry*, **2013**, 128, 156-163.
- [2] R.A. Yokel, *Curr. Inorg. Chem.*, **2012**, 2, 54-63.
- [3] R.B. Martin, *Acc. Chem. Res.*, **1994**, 27, 204-210.
- [4] T. Kiss, *Arch. Gerontol. Geriatr.*, **1995**, 21, 99-112.
- [5] A.A. Sheikh-Osman et al., *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, **1993**, 3229-3235.
- [6] G. Crisponi et al., *Anal., Bioanal. Chem.*, **2013**, 405, 585-601.
- [7] M.D. Arenas et al., *Nefrologia*, **2008**, 2, 168-173.
- [8] G.A. Block et al., *J. Am. Soc. Nephrol.*, **2004**, 15, 2208-2218.
- [9] M. Tonelli et al., *BMC Med.*, **2009**, 256, 13-27.
- [10] M. Muller et al., *Z Lebensm Unters Forsch*, **1997**, 205, 170-173.
- [11] Report from the Registration Committee of the European Dialysis and Transplant Association, *Lancet*, **1980**, 316, 190-192.
- [12] A.C. Alfrey et al., *N. Engl. J. Med.*, **1976**, 294, 184-188.
- [13] P. Altmann et al., *Lancet*, **1989**, 334, 7-12.
- [14] R. Swartz et al., *Am. J. Kidney. Dis.*, **1987**, 9, 217-223.
- [15] M.K. Ward et al., *Lancet*, **1978**, 311, 841-845.
- [16] I.S. Parkison et al., *Lancet*, **1979**, 313, 406-409.
- [17] V. V. Rozas et al., *Arch. Intern. Med.*, **1978**, 138, 1375-1377.
- [18] A. C. Alfrey, *Kidney Inter.*, **1986**, 29, S53-S57.
- [19] R. Swartz et al., *Am. J. Kidney. Dis.*, **1987**, 9, 217-223.
- [20] M. D. Arenas et al., *Nefrologia*, **2008**, 2, 168-173.
- [21] G. Crisponi et al., *Monatsh Chem.*, **2011**, 142, 331-340.
- [22] R. Yokel, *Elements and their compounds in the environment. Wiley-VCH, Weinheim*, **2004**.
- [23] A. C. Alfrey, *Aluminium intoxication recognition and treat-ment. Aluminium in chemistry, biology, and medicine. Cortina International, Verona & Raven Press, New York*, **1991**.
- [24] G. Crisponi et al., *Curr. Med. Chem.*, **2012**, 29, 2794-2815.

- [25] C. Bazzicalupi et al., *Coord. Chem. Rev.*, **2012**, 256, 13-27.
- [26] D. J. Brown et al., *Lancet.*, **1982**, 320, 343-345.
- [27] H. G. Nebeker et al., *Kidney Int.*, **1984**, 25, 173-180.
- [28] B. A. Molitoris et al., *Kidney Int.*, **1987**, 31, 986-991.
- [29] C. Ciancioni et al., *Proc. EDTA-ERA.*, **1984**, 21, 469-473.
- [30] R. P. Quintana et al., *J. Coll. Inter. Sci.*, **1981**, 83, 146-152.
- [31] W. O. Foye et al., *J. Pharm. Sci.*, **1967**, 56, 332-336.
- [32] A. R. Katritzky, J. M. Lagowsky, *The principles of heterocyclic chemistry. Academic Press, New York*, **1968**.
- [33] V. B. Di Marco et al., *Eur. J. Inorg. Chem.*, **2002**, 10, 2648-2655.
- [34] J. I. Mujika et al., *Comp. Struct. Biotech. J.*, **2014**, 15, 9, 3002.
- [35] N. B. Luque et al., *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2014**, 16, 20107
- [36] N. B. Luque et al., *RSC Adv.*, **2015**, 5, 63874-63881.
- [37] E. Formoso et al., *J. Inorg. Biochem.*, **2015**, 152, 139-146.
- [38] J. I. Mujika et al., *Biochemistry*, **2012**, 51, 2017.
- [39] J. I. Mujika et al., *J. Inorg. Biochem.*, **2011**, 105, 1446.
- [40] J. I. Mujika et al., *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2012**, 12, 12465.
- [41] J. I. Mujika, *J. Phys. Chem. B*, **2014**, 118, 6680.
- [42] J. I. Mujika et al., *J. Phys. Chem. A*, **2011**, 115, 6717.
- [43] F. Ruiperez et al., *J. Inorg. Biochem.*, **2012**, 117, 118.
- [44] P. Hohenberg, W. Kohn, *Phys. Rev.*, **1964**, 136, B864.
- [45] Adapted from an article by Eleen Frisch in ChemNews.Com 12.4 p. 10-11.
- [46] E. Matito et al., *Coord. Chem. Rev.*, **2009**, 253, 647.
- [47] A. Dean et al., *Inorganica Chimica Acta*, **2011**, 373, 179.
- [48] R. Hider, *Thalassemia Reports*, **2014**, 4, 2261.
- [49] G. Crisponi et al., *Coordination Chemistry Reviews*, **2008**, 252, 1225.
- [50] R. K. Raju et al., *Chem. Phys. Chem.*, **2011**, 12, 3116-3130.