Universitat de les Illes Balears

TRABAJO DE FIN DE GRADO

ESTUDIO TEÓRICO DE INTERACCIONES TIPO "SPODIUM BOND" EN LA ANHIDRASA CARBÓNICA HUMANA

Iván Vidal Santoyo

Grado de Química

Facultad de Ciencias

Año Académico 2020-21

ESTUDIO TEÓRICO DE INTERACCIONES TIPO “SPODIUM BOND” EN LA ANHIDRASA CARBÓNICA HUMANA

Iván Vidal Santoyo

Trabajo de Fin de Grado

Facultad de Ciencias

Universidad de las Illes Balears

Año Académico 2020-21

Palabras clave del trabajo:

SpB (Spodium Bond); σ-hole; HB (enlace de hidrógeno); Ácido de Lewis; Base de Lewis; QTAIM (Quantum theory of atoms in molecules); NCIplot (Non Covalent Interactions plot); MEP (superficies de Potencial Electrostático Molecular); DFT (density funcional theory); PDB (Protein Data Bank); imi (imidazol); taz (triazol); vdW (van der Waals)

Nombre Tutor/Tutora del Trabajo: Antonio Frontera

	Autor		Tutor	
	Sí	No	Sí	No
Se autoriza la Universidad a incluir este trabajo en el Repositorio Institucional para su consulta en acceso abierto y difusión en línea, con fines exclusivamente académicos y de investigación	☒	☐	☒	☐

Índice

Resumen 5
Introducción 6
La Química Supramolecular: 6
Interacciones no covalentes: 7
Interacciones σ-hole 9
Interacción Spodium Bond 10
Importancia del Zn en el cuerpo humano 11
Objetivos 13
Metodología 14
Resultados y discusión 16
Estudio de la proteína 3MHC 16
Estudio teórico de los receptores para la interacción Spodium Bond 17
Estudio del mapa de potencial electrostático molecular (MEP) 19
Análisis energético y geométrico 20
Estudio QTAIM/NCIplot 24
Conclusiones 27
Publicación 28

Resumen

En esta memoria se demuestra la existencia y relevancia de la interacción Spodium Bond (SpB) en sistemas biológicos, en concreto en la enzima anhidrasa carbónica dependiente del Zn(II). El SpB se define como una interacción atractiva no covalente entre cualquier elemento del grupo 12 de la tabla periódica, que actúa como ácido de Lewis, y cualquier átomo o grupo de átomos que actúan como donante de electrones. La distancia entre el átomo rico en electrones y el átomo aceptor de electrones es mayor que la suma de los radios covalentes pero menor que la suma de los radios de Van der Waals. Además, del estudio de este tipo de interacción en la proteína antes mencionada, se utilizan modelos teóricos donde el átomo de Zn (II) se encuentra enlazado a tres ligandos de imidazol o triazol para investigar la fuerza del SpB y su competencia con el enlace de hidrógeno.

Resum

En aquesta memòria es demostra l'existència i rellevància de la interacció Spodium Bond (SPB) en sistemes biològics, concretament l'enzim anhidrasa carbònica depenent del Zn(II). El SpB es defineix com una interacció atractiva no covalent entre qualsevol element del grup 12 de la taula periòdica que actua com a àcid de Lewis i qualsevol àtom o grup d'àtoms que actuen com a donador d'electrons. La distància entre l'àtom ric en electrons i l'àtom receptor és més gran que la suma dels radis covalents però menor que la suma dels radis de Van der Waals. A més, de l'estudi d'aquest tipus d'interacció en la proteïna estudiada, s'utilitzen models teòrics on l'àtom de Zn (II) es troba enllaçat a tres lligands d'imidazol o triazol per investigar la força de l'SpB i la seva competència amb l'enllaç d'Hidrogen.

Abstract

In this report the existence and relevance of the Spodium Bond (SpB) interaction in biological systems is demonstrated, in particular the Zn(II)-dependent carbonic anhydrase. The SpB is defined as an attractive non-covalent interaction between any element belonging of group 12 of the periodic table that acts as Lewis acid and any atom or group of atoms that act as an electron donor. The distance between the electron-rich atom and the receiving atom is greater than the sum of the covalent radii but less than the sum of the Van der Waals radii. In addition, from the study of this type of interaction in the aforementioned protein, theoretical models are used where the Zn (II) atom is linked to three imidazole and triazole ligands to investigate the strength of SpB and its competition with the H bond.

Introducción

La Química Supramolecular:

La química supramolecular es una rama de la química, también conocida como "la química más allá de las moléculas", que se centra en el estudio de las interacciones intermoleculares/interacciones no covalentes y también en diversos factores termodinámicos y cinéticos los cuales intervienen en la formación de compuestos supramoleculares[1]. La capacidad de interacción entre moléculas depende también de la complementariedad geométrica de estas, así como de la orientación de los grupos dadores y aceptores de electrones.
Un complejo supramolecular puede estar formado a partir de dos o más moléculas las cuales mediante su interacción, adquieren o modifican propiedades tanto físicas como químicas de las cuales carecían de manera individual.[2]

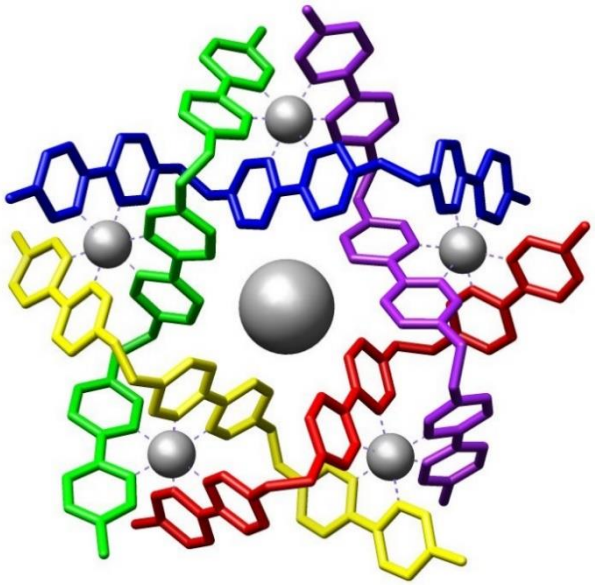


Imagen 1. Visión general de una supramolecula

En un principio, la química supramolecular centraba sus estudios en el desarrollo de sistemas anfitrión-huésped con la intención de realizar procesos de catálisis, transporte y reconocimiento molecular. Con el paso del tiempo, esta rama de la química ha ido evolucionando, llegando al punto de utilizarse para la obtención

[1] J. -M. Lehn, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **1990**, *29*, 1304-1319.
[2] T. T. Cebada, *Nanoquímica y nanotecnología. Nuevos materiales, polímeros y máquinas moleculares*. Ed. Universidad Autónoma de Madrid. Fundación General, España, **2002**.

de materiales supramoleculares funcionales que son de gran importancia en los campos de la y biomedicina.[3]

En los últimos años el interés por esta rama de la química y en especial los tipos de interacción que tienen lugar, han crecido exponencialmente debido al reconocimiento de su importancia en sistemas biológicos y en el diseño de nuevos materiales.

La química supramolecular se basa en el estudio y comprensión de interacciones no covalentes y su uso de forma inteligente y predictiva. A continuación, se describen algunas de las interacciones más importantes en este campo

Interacciones no covalentes:

Un enlace o interacción no covalente es aquel tipo de interacción entre dos átomos que no se unen mediante una compartición de electrones, sino que a través de determinadas fuerzas originadas entre moléculas y átomos. Este tipo de interacciones son las responsables de las estructuras finales de macromoléculas, de uniones específicas entre moléculas, etc. De tal manera que son interacciones fundamentales tanto para ámbitos estructurales como para ámbitos funcionales en los seres vivos. Son interacciones más débiles que las interacciones covalentes, y por tanto su creación y destrucción es mucho más sencilla. Sin embargo, aunque de manera individual sean más débiles, de manera colectiva pueden llegar a ser igual o más fuertes que una interacción covalente.
A su vez, dichas interacciones son de gran importancia debido a que pueden originar interacciones a un largo alcance, es decir, pueden actuar a una distancia mayor a 3Å.[4]

Algunas de las interacciones más importantes se detallan a continuación:

- Interacciones electrostáticas:
  De gran importancia en los sistemas biológicos y en sistemas supramoleculares, debido a que son bastante fuertes. De este tipo de interacciones podemos destacar las interacciones entre un par de partículas cargadas, las cuales no son direccionales, e interacciones entre dipolos (dipolo permanente; carga-dipolo y dipolo-dipolo).[4] Éstas últimas son direccionales, ya que la fuerza de la interacción depende de la orientación relativa de los dipolos.[4]

[3] Supramolecular Chemistry – Fundamentals and applications. Eds. K. Ariga, T. Kunitake. Springer-Verlag, Berlin, (2006)
[4] P. Hozba, K.Müller-Detflefs. *Non-covalent Interactions: Theory and Experiment*. Royal Society of Chemistry. 2010

- Enlace de hidrógeno:
  Interacción atractiva y que se puede representar en la forma D-H···A, donde D–H es una especie donadora de hidrógeno y A es una especie aceptora. Por regla general, A y D son elementos electronegativos con pares de electrones disponibles. La fuerza de este tipo de enlace es variable dependiendo de las características de A y D, es una pieza clave en las estructuras biomoleculares, así como para explicar efectos de solvatación en disolventes próticos. [4]

- Interacciones π- π:
  Son aquellas que involucran anillos aromáticos en dicha interacción. Este tipo de interacción se basa en la competencia entre contribuciones electrostáticas y de Van der Waals, permitiendo explicar la geometría adoptada entre los anillos aromáticos (apilamiento cara a cara, en forma de T y paralela desplazada, ver Figura 1).[4]

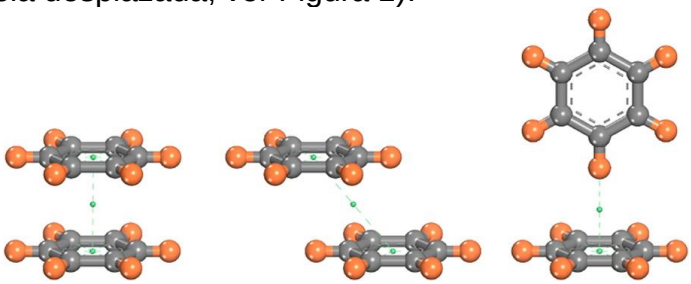


Figura 1. Representación de apilamiento cara a cara (izquierda), en forma de T (derecha) y paralela desplazada (en medio) donde los átomos de carbono están representados en gris y de hidrógeno estás representados en naranja.

- Interacciones catión-π:
  Se trata de una interacción del tipo ion···cuadrupolo en donde el catión interacciona con la parte negativa del momento cuadrupolar del anillo aromático (por regla general, benceno) o sus derivados, en especial substituidos con grupos dadores de electrones.[4]

- Interacciones anión-π:
  Este tipo de interacción es muy semejante a la explicada anteriormente, pero en sentido opuesto. En este tipo de interacción se produce una atracción de la carga negativa a través de la distribución de carga invertida del sistema π. Este proceso se consigue mediante la sustitución del sistema π con grupos fuertemente atractores de electrones.

No obstante, debemos destacar en especial otros tipos de interacciones que se han definido más recientemente y que son base fundamental de esta memoria.

Interacciones σ-hole

Durante la última década, ha aparecido un nuevo grupo de interacciones no covalentes que engloban en gran medida a los elementos pertenecientes al bloque p de la tabla periódica, las cuales reciben el nombre de interacciones tipo σ-hole. Esta familia de interacciones no covalentes está compuesta por las interacciones tetrel bond, pictogen bond, chalcogen bond, halogen bond y recientemente fueron descritas las interacciones spodium bond y coinage bond. Como se describe en la figura 2, el nombre de la interacción viene determinado por el nombre del grupo de la tabla periódica a la cual pertenecen los elementos que originan la interacción σ-hole.[5]

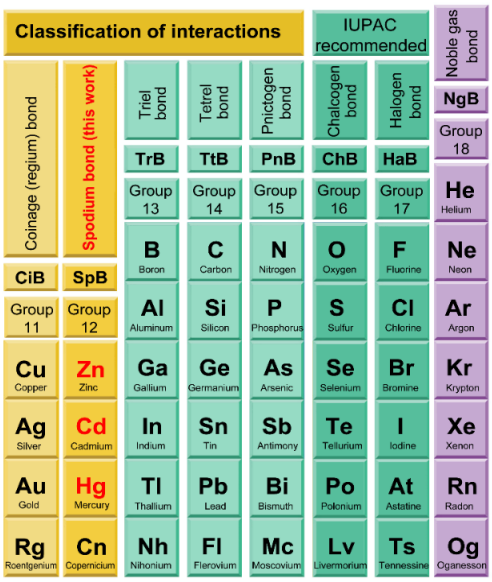


Figura 2. Clasificación de las interacciones dador-aceptor utilizando el nombre del grupo de la tabla periódica del elemento que actúa como ácido de Lewis

Los primeros estudios de este tipo de interacción se basaron en moléculas que contenían elementos del bloque p. Dichas interacciones se describen como una fuerza no covalente con un carácter atractivo entre una zona electrófila (asociada con uno de estos átomos del bloque p) en una molécula y una zona nucleófila ubicada en otra molécula. Teniendo en cuenta la contribución orbitálica, se observa una donación de electrones a partir de un orbital enlazante o de un par de electrones no enlazantes, a un orbital antienlazante. Es decir, esta interacción puede ser descrita como X–D⋯A, donde X puede ser cualquier átomo, D corresponde al átomo donador y A corresponde al átomo aceptor.[6]

Aunque este tipo de interacción esté influenciada por efectos electrostáticos, las contribuciones originadas por fuerzas de polarización y dispersión también tienen un papel crucial en la estructura y estabilidad energética de los complejos. Cualquier aumento de la polarizabilidad atómica (átomos más pesados) implica incrementar la magnitud de la interacción σ-hole y, por tanto, fortalecer el complejo resultante.[6]

---

[5] Antonio Bauzá Riera. On the importance of σ-/π-hole interactions in chemistry and biochemistry. Universidad de las Islas Baleares. Tesis doctoral. Universitat de les Illes Balears 2017

[6] Antonio Bauzá, Tiddo J. Mooibroek, Antonio Frontera. *The bright future of Unconventional σ/π-hole interactions.* ChemPhysChem. 2015. Volumen 16. Pag. 2498-2499

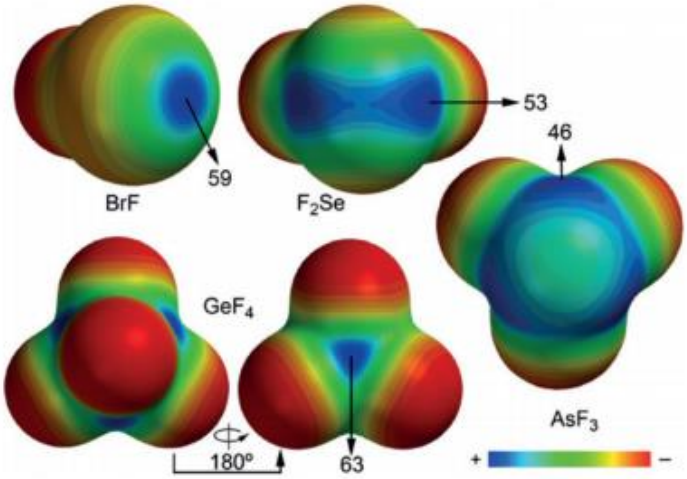


Figura 3. Superficies de potencial electrostático molecular del BrF, SeF2, AsF3 y GeF4. La energía de los σ-hole están expresados en kcal/mol

Interacción Spodium Bond

Si bien la inmensa mayoría de los estudios de interacciones σ-hole se centran en los elementos del bloque p, recientemente se ha extendido el mismo concepto a los elementos del grupo 12. Se han detectado interacciones no covalentes del tipo Sp⋯Cl entre aniones del tipo $SpCl_3^-$, donde Sp corresponde a cualquier elemento del grupo 12, básicamente Zn, Cd y Hg.[7]

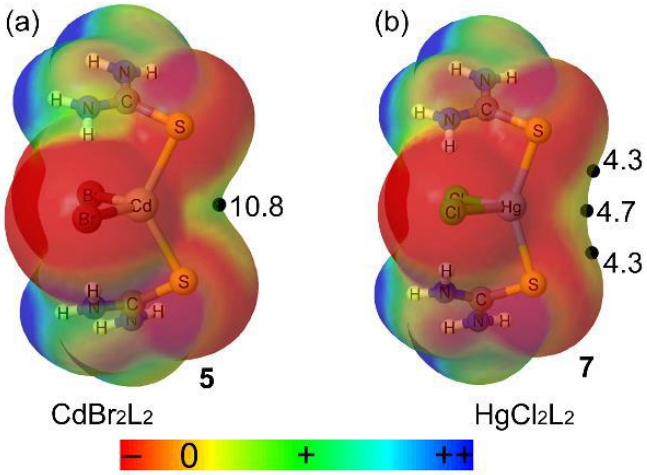


Figura 4. Superficies de potencial electrostático molecular del CdBrL2 y HgCl2L2. La energía de los σ-hole están expresados en kcal/mol

El nombre de este tipo de interacción surgió del término Spodium que fue utilizado en el siglo XIII para referirse al óxido de zinc mezclado con otros metales. De tal manera que se empezó a utilizar el nombre de Spodium Bond para referirse a la interacción no covalente en donde cualquier elemento del grupo 12 actúe como ácido de Lewis. [7]

[7] Antonio Bauzá, Ibon Alkorta, José Elguero, Tiddo J. Mooibroek, Antonio Frontera. *Spodium bonds: noncovalent interactions involving group 12 of elements*. Angewandte Chemie. 2020. Volumen 59. Pag. 1-2

En este tipo de interacción, tanto el Zn como el Cd y el Hg se encuentran con un estado de oxidación +2 y adoptan una estructura tetraédrica, originando así una región de potencial positivo adecuada para interactuar con un donador de electrones (base de Lewis).[7]
Para poder asegurar que existe una interacción entre la molécula dadora y el compuesto aceptor, la distancia entre las dos moléculas/elementos que proporcionan este tipo de interacción debe ser menor o igual a la suma de los radios de Van der Waals y mayor a la distancia de los radios covalentes. A su vez, es necesario enfatizar que los radios de Van der Waals del Zn, Cd y Hg Propuestos por Bondi[8] son 1.39, 1.58 y 1.55 Å respectivamente. Sin embargo, varios estudios han demostrado que dichos valores están en gran medida subestimados, lo cual puede justificar el hecho de que el estudio de este tipo de interacciones haya sido tan escaso hasta el momento.[7]

Importancia del Zn en el cuerpo humano

El zinc es uno de los oligoelementos más abundantes en el cuerpo humano, después del hierro, aunque la abundancia de Zinc en la Tierra sea moderada.[9] El ser humano posee aproximadamente una cantidad de 2 a 3 gramos de Zn en el cuerpo y está presente en órganos y tejidos, con mayor importancia en el hígado y el riñón.[10] Este oligoelemento juega un papel crucial en la preservación de los procesos fisiológicos normales como son el metabolismo, la transducción de señales, el crecimiento y la diferenciación celulares.[11] La intervención del zinc en este tipo de funciones se origina a través de su coordinación con las proteínas del zinc, regulando las funciones proteicas.[12] Además, actúa como cofactor catalítico en más de trescientas metaloenzimas diferentes. Por lo tanto, el déficit de zinc acarrea la inactivación de enzimas y afecta notoriamente a la interacción de las proteínas con otras moléculas, como son el ADN, el ARN, las proteínas y los lípidos.[13,14]

---

[8] A. Bondi, J. Phys. Chem. 1964, 68, 3, 441–451
[9] R. R. Crichton, Zinc – Lewis Acid and Gene Regulator (Chapter 12). *In*: Biological Inorganic Chemistry (Second Edition), Elsevier, 2012.
[10] D. Bhowmik, K. P. Chiranjib and K. P. S. Kumar, *Int. J. Pharm. Biomed. Sci*., 2010, **1**, 05–11; (b) H. Tapiero and K. D. Tew, *Biomed. Pharmacother*. 2003, **57**, 399–411
[11] E. Mocchegiani, M. Muzzioli and R. Giacconi, *Trends Pharmacol. Sci*., 2000, **21**, 205–208
[12] L. Rink and P. Gabriel, *Proc. Nutr. Soc*., 2000, **4**, 541–552
[13] D. S. Auld, *BioMetals*, 2001, **14**, 271–313
[14] D. Voet and J. G. Voet, Biochemistry (3rd ed.). New York, Chichester: John Wiley and Sons, 2004, p. 1360

Importancia de la anhidrasa carbónica en el cuerpo humano

La anhidrasa carbónica (también llamada carbonato deshidratasa) humana estudiada en el presente trabajo de fin de grado es una metaloenzima dependiente del ion Zn(II). Esta enzima tiene un rol muy importante en la catálisis reversible $CO_2 + H_2O \rightarrow HCO_3^- + H^+$. Está presente en el tracto intestinal, los riñones y los huesos. Recientemente, se ha demostrado que esta enzima puede jugar un papel muy relevante en enfermedades pulmonares, como asma, EPOC e incluso la aterosclerosis y cáncer.[15]

[15] Lorena Espinosa Monroy, Martha Patricia Sierra Vargas. *Anhidrasa carbónica, nuevas perspectivas*. Departamento Investigación en Bioquímica y Medicina Ambiental, Laboratorio de Bioquímica Inorgánica. Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias Ismael Cosío Villega. 2011

Objetivos

Los objetivos de esta memoria son:

- Estudiar y demostrar la existencia de la interacción Spodium Bond en la anhidrasa carbónica humana

- Entender el funcionamiento y de los programas que se utilizan en el trabajo (Gaussview y Gaussian09W) y racionalizar los resultados obtenidos.

- Obtención de mapas de potencial electrostático (MEP) del modelo simplificado del centro activo de la enzima

- Realizar un análisis de la direccionalidad y de las características de la interacción SpB mediante un análisis computacional, utilizando complejos simples de Zn (II) como receptores de aniones y bases de Lewis, inspirados en el centro activo de la enzima.

Metodología

Para poder realizar el estudio teórico de la interacción SpB, se utilizan una serie de programas mediante los cuales se obtendrán valores de energía, distancias de enlace y geometría tanto de los compuestos que se irán proponiendo, como de los reactivos que se proponen para que se dé lugar la interacción.
Los principales programas que se utilizan son el "Gaussian 09W"[16] y "Gaussview" mediante los cuales permite construir, optimizar y analizar las estructuras, energías, geometrías, distancias y ángulos de enlace de las moléculas que se van a estudiar.

La herramienta básica que se utiliza es el "GaussView" mediante el cual se construyen todas las moléculas propuestas y seguidamente con el "Gaussian 09W" se realizan los cálculos teóricos y se obtienen las moléculas optimizadas.

El propio programa crea un documento de entrada que recibe el nombre de input, y el documento de la molécula optimizada recibe el nombre de output.

El método utilizado en la memoria es el DFT (density funcional theory) combinado con una base doble-zeta, que representa un compromiso entre la precisión de los resultados y la dimensión de las moléculas (tiempo de cálculo). Dicho método describe la energía por medio de la densidad electrónica total. Se trata de una alternativa a la resolución de la ecuación de Schrödinger, donde la función de energía electrónica se reduce respecto a la función de densidad electrónica. El objeto de esta memoria es el uso del programa a nivel de usuario, por lo que no se profundizará en la descripción de las ecuaciones y aproximaciones que usan los métodos DFT.

A la hora de realizar los cálculos necesarios para la realización de este trabajo ha sido preciso ajustar una serie de parámetros:

- La geometría de los complejos y de los compuestos SpB utilizada para los cálculos energéticos es una simetría C_3 con el fin de reducir el tiempo de cálculo

[16] M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, B. Mennucci, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Caricato, X. Li, H. P. Hratchian, A. F. Izmaylov, J. Bloino, G. Zheng, J. L. Sonnenberg, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, T. Vreven, J. A. Montgomery, Jr., J. E. Peralta, F. Ogliaro, M. Bearpark, J. J. Heyd, E. Brothers, K. N. Kudin, V. N. Staroverov, R. Kobayashi, J. Normand, K. Raghavachari, A. Rendell, J. C. Burant, S. S. Iyengar, J. Tomasi, M. Cossi, N. Rega, J. M. Millam, M. Klene, J. E. Knox, J. B. Cross, V. Bakken, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R. E. Stratmann, O. Yazyev, A. J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J. W. Ochterski, R. L. Martin, K. Morokuma, V. G. Zakrzewski, G. A. Voth, P. Salvador, J. J. Dannenberg, S. Dapprich, A. D. Daniels, Ö. Farkas, J. B. Foresman, J. V. Ortiz, J. Cioslowski, and D. J. Fox, *Gaussian 09* (Gaussian, Inc., Wallingford CT, **2009**).

- “Job type”. Se elige el tipo de trabajo a realizar. En concreto, para realizar la optimización de las moléculas es necesario ir al apartado de “*Results*”, posteriormente ir al subapartado de “*Optimization*” y finalmente “*Optimize to a minimum*”

- “Method”. El método que será utilizado es el “*B3LYP”*[17] con base “6-31G”[18]. A partir de este método se obtiene la energía total del complejo, ya sea el complejo de manera solitaria, como la energía de los ligandos, y del complejo interactuando con los ligandos, posibilitando de tal manera obtener la energía de interacción.

- “Additional Keywords”. En este apartado se debe añadir “empirical dispersion” para añadir una corrección empírica a los cálculos DFT debido a que no son descritos de manera correcta debido a las fuerzas de dispersión

Finalmente, las superficies de potencial electrostático (MEP) se calculan al nivel de teoría PBE0-D3/def2-TZVP. Los cálculos del análisis QTAIM (Quantum theory of atoms in molecules) y el índice NCIplot (Non Covalent Interactions plot) se han calculado mediante el programa AIMAII

En cuanto a los modelos estructurales de la proteína obtenidos en PDB (Protein Data Bank) solo se han realizado cálculos de energía puntual mediante rayos X y el nivel PBE0-D3/def2-TZVP para el cálculo de energías de enlace, de QTAIM y NCIplot

Cabe destacar que los caculos NCIplot y QTAIM tanto de la proteína como de los modelos no han sido realizados directamente por mí. Sin embargo, se describen en esta memoria para una mejor comprensión del trabajo. Los detalles se pueden encontrar en la publicación derivada de este trabajo y que se ha incluido al final de esta memoria.

[17] K. Kim, K. D. Jordan, *J. Phys. Chem. A*, **1994**, 98, 10089-10094.
[18] V. A. Rassolov, M. A. Ratner, J. A. People, P. C. Redfern, L. A. Curtis, *J. Comp. Chem.*, **2001**, 22, 976-984.

Resultados y discusión

Estudio de la proteína 3MHC

Para demostrar la existencia e importancia de la interacción SpB en sistemas biológicos se ha elegido la proteína 3MHC[19] (anhidrasa carbónica humana) formando complejo con un potente inhibidor, en particular la 5-(1-adamantilcarboxamida)-1,3,4-tiadiazol-2-silfonamida.

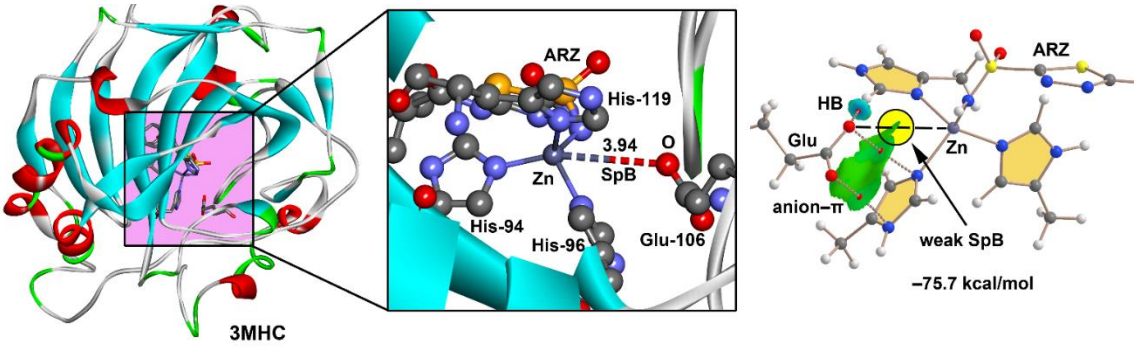


Imagen 2. Estructura 3D de la proteína 3MHC (Izquierda). Detalle del centro activo y de las interacciones SpB (centro). Distribución QTAIM del enlace y zonas de enlace (derecha)

La inhibición de esta proteína es importante para el tratamiento de diversos trastornos como son el glaucoma[20,21], los edemas[22] y el mal de montaña, entre otros. En el centro activo, el inhibidor se enlaza al Zn(II) que presenta coordinación tetraédrica. Es interesante destacar que el ion Zn (II) establece una interacción SpB con un átomo de O de un glutamato cercano, tal como se ve detallado en la imagen central.

En esta proteína, la distancia de la interacción SpB ronda los 3,94 Å, un valor muy similar a la suma de los radios de Van der Waals (3,91 Å) y mucho mayor a la suma de los radios covalentes (1,88 Å). La direccionalidad del enlace N – Zn ⋯ O es de 162,4 º estableciendo una interacción Zn ⋯ O no covalente. El Zn(II) se encuentra coordinado con tres restos de imidazol pertenecientes a los aminoácidos His-94, His-96 e His-119. La cuarta posición de coordinación está ocupada por el inhibidor de ARZ (coordinado a través del átomo de N del grupo sulfonamida).

---

[19] B. S. Avvaru, J. M. Wagner, A. Maresca, A. Scozzafava, A. H. Robbins, C. T. Supuranand R. McKenna, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2010, 20, 4376-4381

[20] T.H. Maren, *Physiol*. Rev., 1967, 47, 595

[21] S. Pastorekova, S. Parkkila, J. Pastorek and C. T. Supuran, J. *Enzyme Inhib. Med. Chem.*, 2004, 19, 199.

[22] C. T. Supuran, *Curr. Pharm. Des*., 2008, 14, 641.

Es importante remarcar que en esta memoria se ha utilizado la estimación más reciente para el radio de Van der Waals del Zn (II) propuesta por Álvarez (2,39 Å)[23]

A su vez, también se ha realizado un estudio computacional del centro activo de la proteína simplificado (imagen derecha) mediante los programas QTAIM y NCIplot tal como se ha indicado con anterioridad. De dicha imagen se observa que existen diversas zonas con superficies NCIplot (coloreadas de verde) dando evidencia a la existencia de interacciones atractivas. El análisis NCIplot utiliza un código de colores (azul-verde-amarillo-rojo) mediante el cual proporciona información sobre si la interacción es atractiva (azul-verde) o repulsiva (amarillo-rojo). Cabe destacar la interacción que se da entre el átomo de Zn y el átomo de O del glutamato, la cual corresponde a una interacción SpB débil. También se observa una gran interacción entre los dos átomos de O del glutamato y los átomos de N de uno de los imidazoles, dando lugar a una interacción anión - π que ayuda a la estabilización del complejo supramolecular. Y finalmente se observa una interacción (coloreada de color azul) entre un átomo de O del glutamato y un átomo de H de un imidazol, dando lugar a una interacción HB.

<u>Estudio teórico de los receptores para la interacción Spodium Bond</u>

Como se ha ido comentando a lo largo de la memoria, se han planteado dos modelos simples distintos de receptores de Zn, los cuales están inspirados por el entorno de coordinación y la geometría del átomo de Zn del centro activo de la proteína descrita con anterioridad. De tal modo, el primer modelo planteado consta del átomo de Zn enlazado a tres anillos de imidazol (sustituyendo a los tres residuos de histidina del centro activo) y el grupo electroatrayente planteado es un grupo azida ($-N_3$). El segundo modelo planteado es idéntico al anterior pero los grupos que sustituyen a los residuos de histidina ahora son tres anillos de triazol, los cuales favorecen a la formación de interacciones SpB y así evitar la competencia con la formación de interacciones HB

[23] S. Alvarez, *Dalton Trans*., 2013, **42**, 8617-8636.

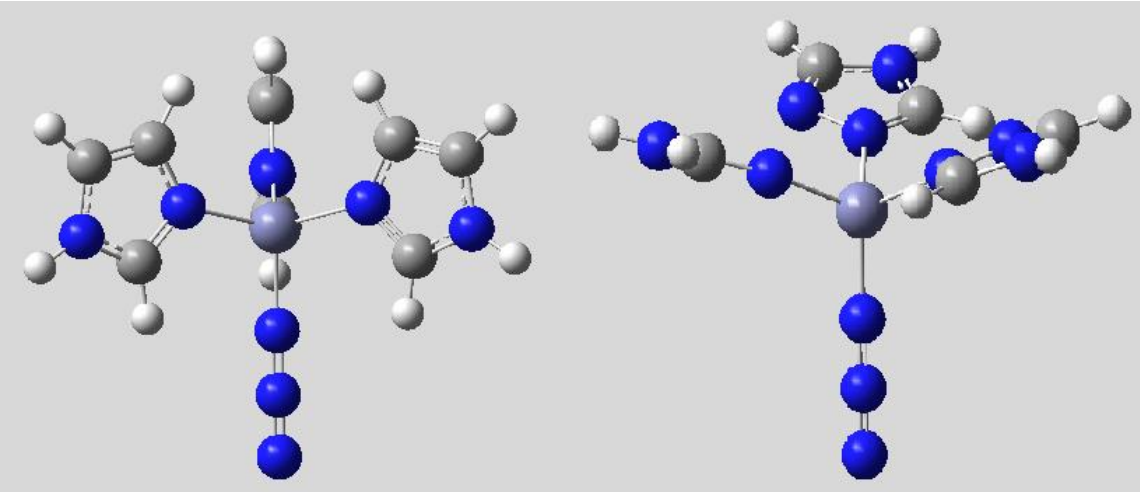
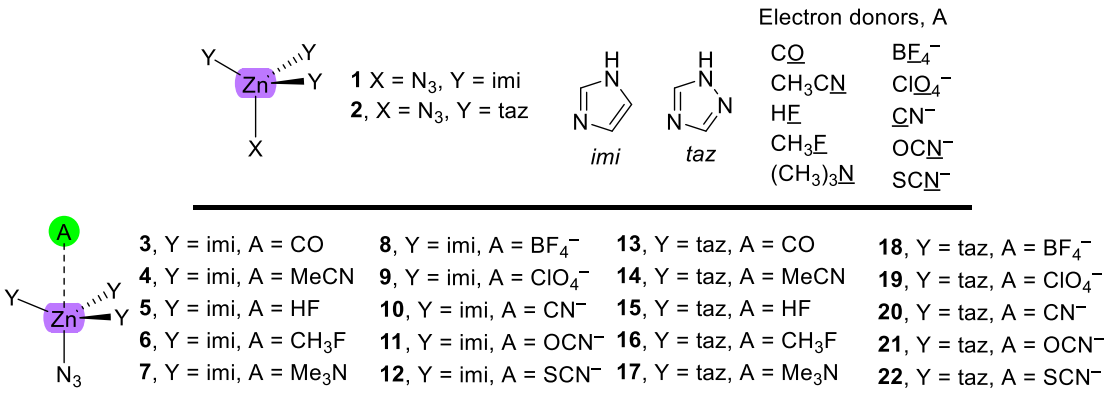


Imagen 3. Compuestos $[Zn(imi)_3(N_3)]^+$ (izquierda) y $[Zn(taz)_3(N_3)]^+$ (derecha)

Como se observa en la imagen anterior, se puede observar como la disposición de los heterociclos en los receptores optimizados es diferente. En el caso de los anillos de imidazol, éstos se encuentran de manera paralela al eje C_3 del complejo y en el caso del compuesto con los anillos de triazol, estos se encuentran de forma perpendicular al mismo eje C_3. Este es un aspecto bastante importante, ya que repercute a la hora de la interacción con la base de Lewis.

Respecto a las bases de Lewis (fuentes de pares de electrones) utilizadas en el estudio teórico, se han usado 5 bases de Lewis neutras y 5 bases de Lewis aniónicas:



*Esquema 1. Propuesta de los receptores (**1-2**) y de los complejos estudiados en la memoria (**3-22**)*

Estudio del mapa de potencial electrostático molecular (MEP)

Con el fin de ubicar las regiones más electrófilas y la existencia del σ-hole en el Zn(II), que dan lugar a las interacciones explicadas, se ha realizado un estudio de las superficies de potencial electrostático molecular (MEP) de los dos receptores diseñados.

Como se observa en la imagen, los valores positivos máximos se encuentran sobre los enlaces N-H de los anillos de imidazol y triazol para ambos compuestos (+115 kcal/mol para el $[Zn(imi)_3(N_3)]^+$ y + 125 kcal/mol para el $[Zn(taz)_3(N_3)]^+$).

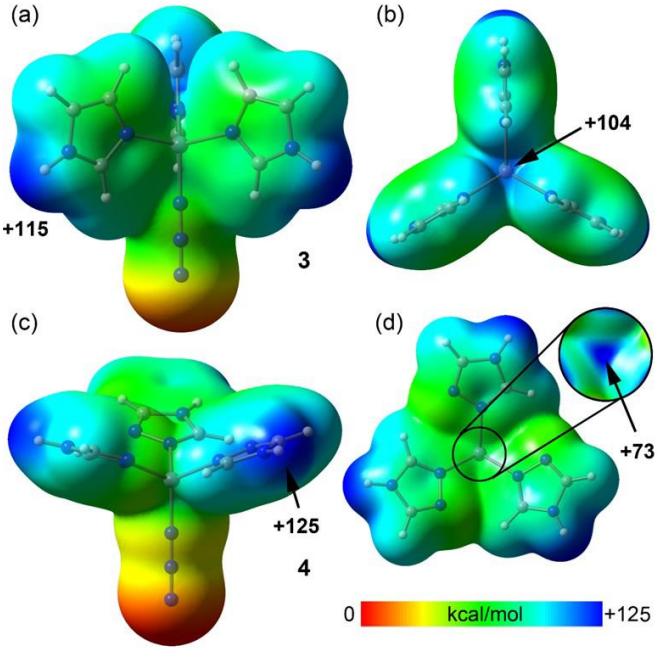


Imagen 4. Superficie de potencial electroestático molecular (MEP) de $[Zn(imi)_3(N_3)]^+$ (a;b) y $[Zn(taz)_3(N_3)]^+$ (c;d)

Para las representaciones b) y d) se observa una zona electropositiva la cual corresponde al σ-hole de los compuestos.

Para la representación b), se contempla un valor de +104 kcal/mol en el Zn(II), el cual es debido a la influencia de los enlaces C-H de los anillos de imidazol que se encuentran próximos a dicha posición. Debido a ello, y por causa de la orientación de los enlaces C-H, lo más probable es que la interacción de este receptor con las de bases de Lewis sea a través de enlaces de hidrógeno.
Para la representación d), el valor del MEP en el átomo de Zn(II) es de +73 kcal/mol, el cual es mucho menor que el valor anterior. Esto sucede debido a que los enlaces C-H de los anillos de triazol no se encuentran próximos a dicha posición. Mediante esta comparación es posible dictaminar que la molécula de $[Zn(imi)_3(N_3)]^+$ tendrá una mayor capacidad para formar enlaces de hidrógeno, sin embargo, la molécula de $[Zn(taz)_3(N_3)]^+$ tendrá mayor capacidad para formar enlaces SpB, en caso de que la base de Lewis/ molécula donadora de electrones se aproxime por la parte inversa al enlace Zn-N_3.

Análisis energético y geométrico

Una vez se han realizado el estudio del MEP de las moléculas receptoras, se procede a realizar el estudio teórico tanto de la energía como de la geometría de todos los complejos planteados.
A través de los programas explicados, la energía de interacción obtenida se ha calculado a través de la siguiente ecuación:

$$E\ interna = (E\ complejo - E\ base\ de\ Lewis - E\ centro\ activo) \cdot 627{,}509^{*}$$

* Se realiza una multiplicación por 627,509 debido a que la energía proporcionada por el programa está en Hartrees y la expresamos en kcal/mol

De tal manera, obtenemos la siguiente serie de valores para los complejos con imidazol recogidos en la Tabla 1:

	E complejo (H)	E base de Lewis (H)	ΔE (kcal/mol)	d Zn-X (Å)	Tipo de enlace
	-2621,32				
CO	-2734,55	-113,23	-2,75	4,920	HB
$NCCH_3$	-2753,98	-132,64	-12,15	4,345	HB
FH	-2721,72	-100,39	-7,24	4,153	HB
FCH_3	-2760,98	-139,65	-8,22	4,115	HB
$N(CH_3)_3$	-2795,65	-174,32	-9,65	4,853	HB
BF_4^-	-3045,77	-424,31	-86,53	2,294	SpB* & HB
ClO_4^-	-3382,06	-760,61	-85,45	2,342	SpB* & HB
^-CN	-2714,26	-92,77	-106,85	2,088	Covalente
^-OCN	-2789,46	-168,01	-88,94	2,117	Covalente
^-SCN	-3112,34	-490,91	-73,92	3,614	SpB & HB

Tabla 1. Representación de los valores energéticos calculados, junto a las distancias de enlace obtenidas y el tipo de enlace de todos los complejos formados a partir del donante con imidazoles.

Para la obtención de dichos resultados, se ha realizado la optimización de los complejos obteniéndose los correspondientes mínimos. Las geometrías se representan en las Imágenes 7 y 8.

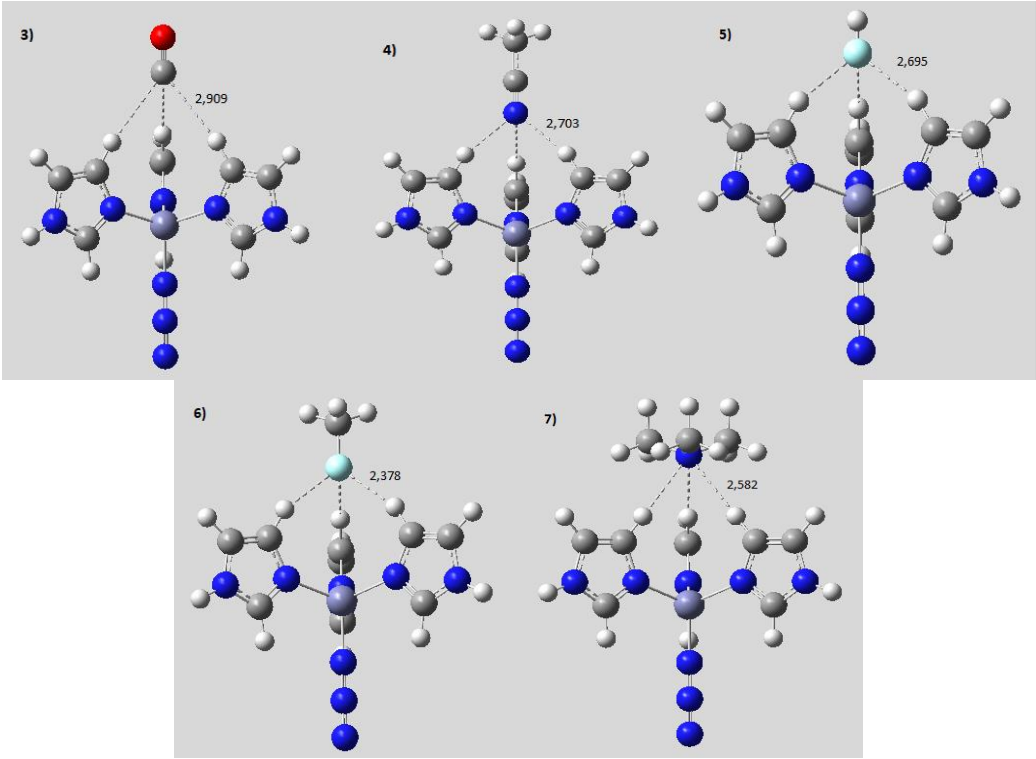


Imagen 5. Representaciones geométricas de los complejos de imidazol con bases de Lewis neutras. Distancias en Å

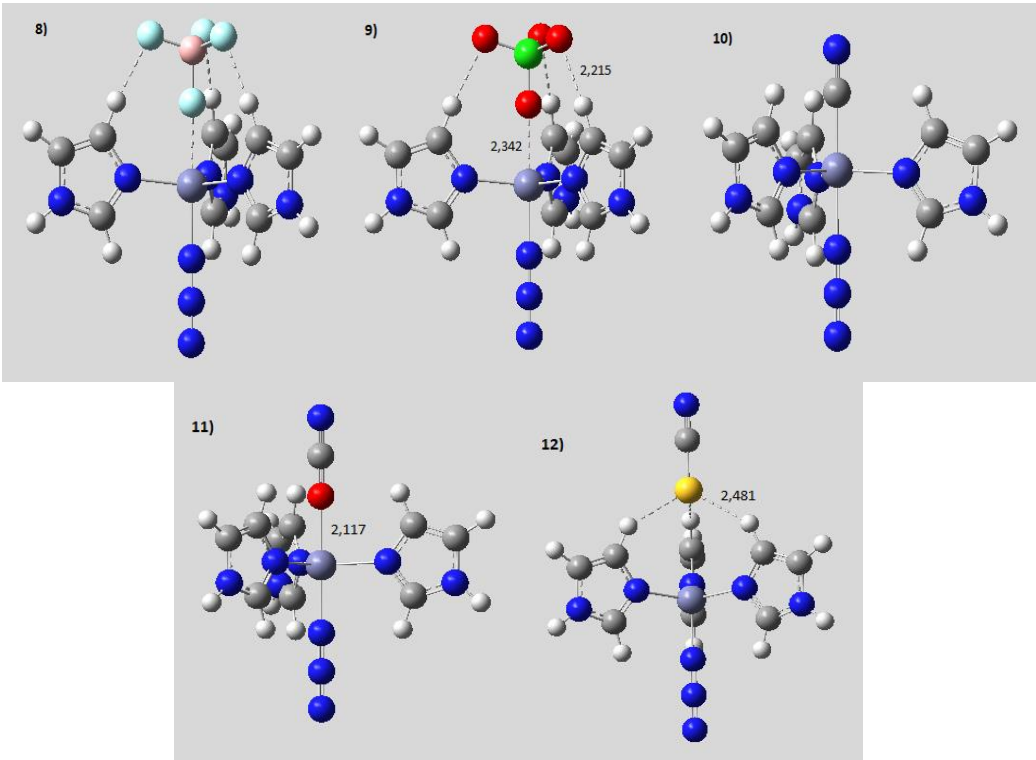


Imagen 6. Representaciones geométricas de los complejos de imidazol con bases de Lewis aniónicas. Distancias en Å

A partir de los datos energéticos y geométricos de la Tabla 1 y las geometrías de los complejos es posible extraer ciertas conclusiones.

En primer lugar, se observa que los complejos donde La base de Lewis es neutra, las energías de interacción oscilan entre -2 y -12 kcal/mol. Respecto a los complejos formados por el receptor con anillos de imidazol, se observa que la interacción más predominante es la de enlaces de hidrógeno, ya que las distancias de enlace entre las bases de Lewis y el átomo de Zn es mayor que la suma de los radios de Van der Waals y la interacción SpB es tan débil que se encuentra eclipsada. En cambio, para los complejos formados a partir de bases de Lewis aniónicas, se observa que para los aniones de BF_4^-, ClO_4^- y SNC^- si que existe una interacción SpB junto a una interacción de enlace de hidrógeno. Pero en el caso de interacción con los aniones CN^- y OCN^- (con estructura lineal y de pequeño tamaño) da lugar a la formación de enlaces de coordinación covalentes con el átomo de Zn, formándose de tal manera complejos con una geometría de bipirámide trigonal. Cabe destacar que para el complejo con el SCN^-, este interactúa con el receptor a través de tres enlaces HB (C-H⋯S) y un enlace SpB, debido al mayor radio de vdW del átomo de azufre en comparación con los átomos de O y C (exhibiendo la energía de interacción más pequeña)

Los datos energéticos y geométricos para el receptor formado por anillos de triazol se muestran en la Tabla 2:

	E complejo (H)	E base de Lewis (H)	ΔE (kcal/mol)	d Zn-X (Å)	Tipo de enlace
	-2669,36				
CO	-2782,60	-113,23	-2,00	3,866	SpB
$NCCH_3$	-2802,02	-132,64	-7,27	3,723	SpB
FH	-2769,76	-100,39	-3,83	3,569	SpB
FCH_3	-2809,02	-139,65	-4,59	3,472	SpB
$N(CH_3)_3$	-2843,70	-174,32	-8,66	3,442	SpB
BF_4^-	-3093,82	-424,31	-88,21	3,506	SpB & A-π
ClO_4^-	-3430,11	-760,61	-88,75	3,468	SpB & A-π
^-CN	-2762,28	-92,77	-89,55	4,145	A-π
^-OCN	-2837,50	-168,01	-84,31	3,524	SpB & A-π
^-SCN	-3160,40	-490,91	-80,35	3,908	SpB & A-π

Tabla 2. Representación de los valores energéticos calculados, junto a las distancias de enlace obtenidas y el tipo de enlace de todos los complejos formados a partir del donante con imidazoles.

Y las representaciones geométricas de los complejos optimizados son:

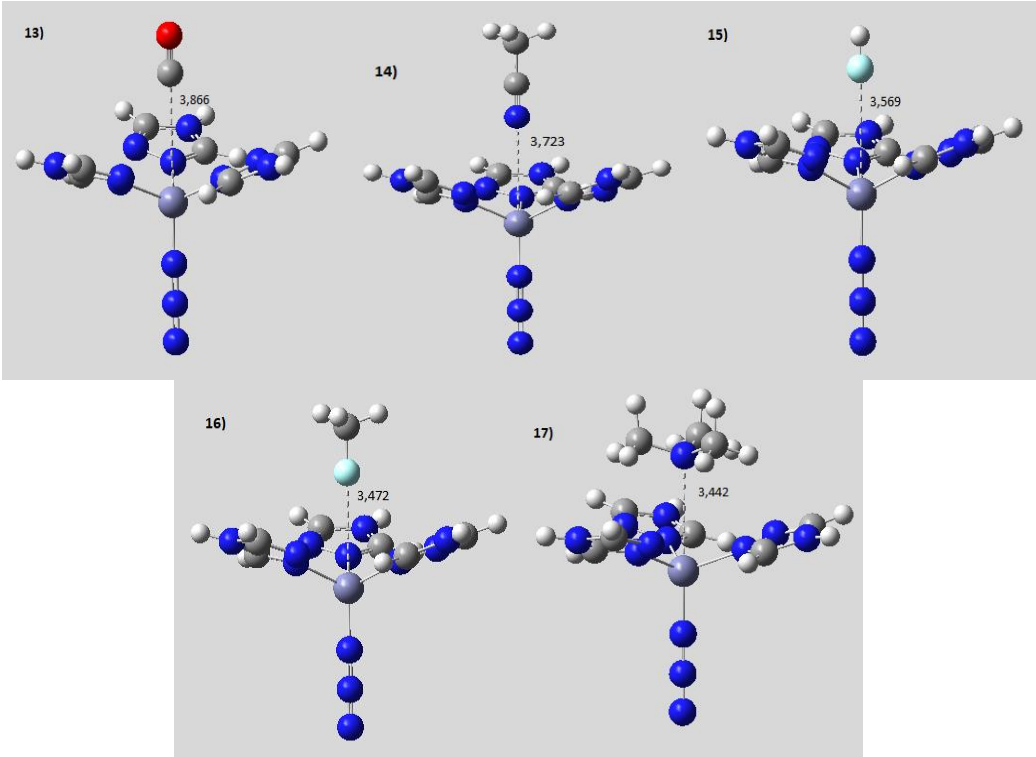


Imagen 7. Representaciones geométricas de los complejos de triazol con bases de Lewis neutras

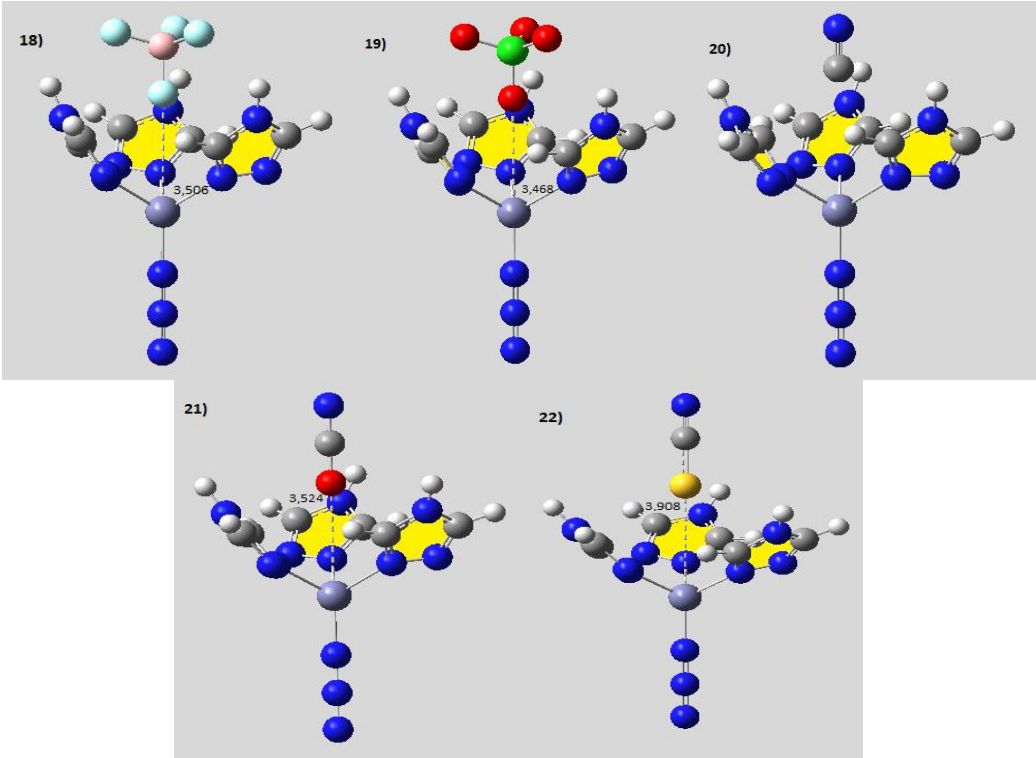


Imagen 8. Representaciones geométricas de los complejos de triazol con bases de Lewis aniónicas

A partir de los datos obtenidos, se observa en primera instancia que la conformación de los anillos de triazol es muy diferente en comparación a la de los anillos de imidazol, permitiendo de tal manera la aproximación de la base de Lewis al ion de Zn (II) y, por tanto, facilitando la formación del SpB. Otro aspecto importante que destacar respecto a los datos obtenidos es que para todos los dadores de electrones neutros se da lugar a la interacción SpB, sin embargo, para los donadores de electrones aniónicos, se produce un equilibrio entre la interacción SpB y una interacción anión-π a partir de las nubes π ácidas de los anillos de triazol junto al anión, estableciendo en todos los complejos tres interacciones anión- π. Por el contrario, cuando el donador de electrones es el CN^- no hay existencia de una interacción SpB, tal como lo demuestra la distancia entre el átomo de C y el átomo de Zn (II) que es mayor a la suma de radios de vdW.

Estudio QTAIM/NCIplot

Con el fin de corroborar el tipo de interacciones discutidas en la sección anterior y evidenciar la formación de interacciones SpB, se han realizado los análisis QTAIM y NCIplot en varios ejemplos de los complejos descritos con anterioridad.

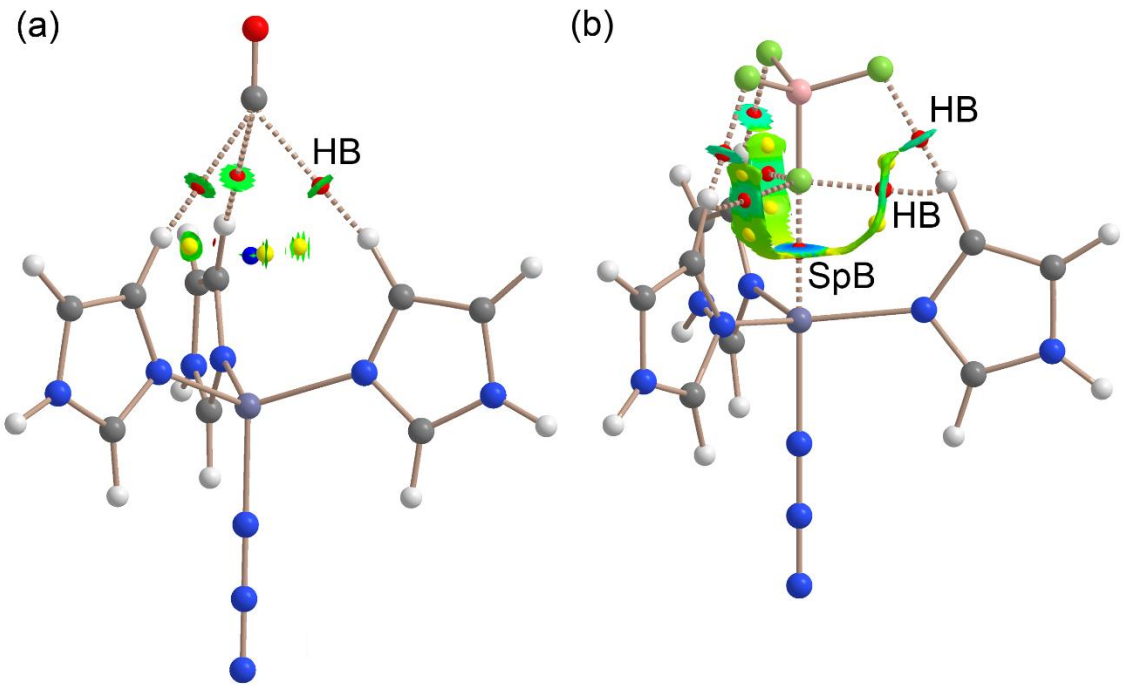


Imagen 9. Representación QTAIM y NCIplot de los complejos $[Zn(imi)_3(N_3)]^+\cdots CO$ (imagen (a)) y $[Zn(imi)_3(N_3)]^+\cdots BF_4^-$ (imagen (b))

Como ejemplo prototípico de los enlaces de hidrógeno trifurcados, se ve representado el complejo $[Zn(imi)_3(N_3)]^+\cdots CO$, en el cual se confirma la existencia de dichos enlaces de hidrógeno trifurcados (las superficies NCIplot están representadas por una superficie verde y los puntos críticos de enlace están coloreados de color rojo). En el caso del complejo $[Zn(imi)_3(N_3)]^+\cdots BF_4^-$, se observa que además de los enlaces de hidrógeno de tres de los átomos de F, que existe una interacción del átomo de F más próximo al centro activo con el átomo de Zn (II), a su vez que también interactúa por medio de interacciones HB con los átomos de H más cercanos de los anillos de imidazol. Visualmente, se ve representada la interacción SpB de color azul, indicando así una interacción con un carácter más atractivo y las interacciones de enlace de hidrógeno están representadas de color verde como en el ejemplo anterior.

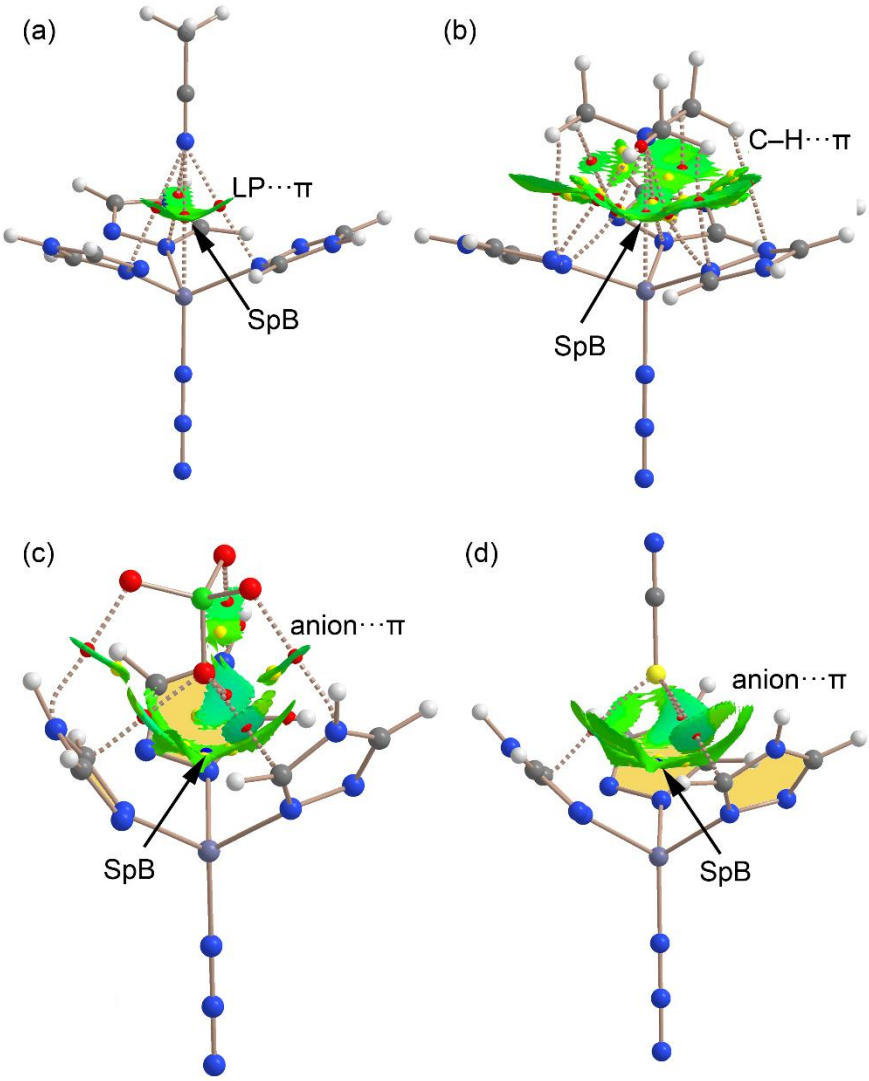


Imagen 10. Representación QTAIM y NCIplot de los complejos $[Zn(taz)_3(N_3)]^+\cdots MeCN$ (imagen (a)); $[Zn(taz)_3(N_3)]^+\cdots Me_3N$ (imagen (b)); $[Zn(taz)_3(N_3)]^+\cdots ClO_4^-$ (imagen (c)) y $[Zn(taz)_3(N_3)]^+\cdots SCN^-$ (imagen (d))

En la imagen 11, se detallan los análisis QTAIM y NCIplot de cuatro complejos donde el receptor contiene anillos de triazol. En el caso del complejo $[Zn(taz)_3(N_3)]^+\cdots MeCN$ se confirma la existencia de una interacción SpB representada por una superficie NCIplot de color verde. Para el complejo de $[Zn(taz)_3(N_3)]^+\cdots$ Me_3N se observa que existe una interacción SpB a la vez que también da lugar a una interacción C-H···π entre los átomos de H de los metilos con los sistemas π de los anillos de triazol. Finalmente, para los últimos dos complejos representados, los cuales están formados a partir de bases de Lewis aniónicas que interaccionan con el receptor, se observa, que además de producirse una interacción SpB, también se da lugar a la aparición de una interacción anión-π entre los pares de electrones libres y el sistema π de los anillos de triazol, que tienen un carácter electropositivo, tal como se muestra en la imagen 6.

Conclusiones

De la presente memoria se pueden extraer las siguientes conclusiones:

- Se ha demostrado la existencia de una interacción Spodium Bond en la anhidrasa carbónica humana, mediante un modelo simplificado del centro activo de la proteína.
- Se han utilizado los programas computacionales “GaussView” y “Gaussian-09”, para la obtención de los complejos supramoleculares y evaluar su energía de interacción y la existencia de interacciones de SpB y/o enlace de hidrógeno.
- También, mediante dichos programas, se han obtenido los mapas de potencial electrostático (MEP) de los dos receptores planteados demostrando la existencia de un σ-hole en el átomo de Zn(II) opuesto al enlace Zn–N.
- Finalmente, a través de los datos obtenidos, se puede afirmar que para los complejos (con anillos de imidazol en el receptor) formados a partir de bases de Lewis neutras predomina una interacción HB y para los complejos formados a partir de bases de Lewis aniónicas predomina la interacción SpB. En cambio, para los complejos (con anillos de triazol en el receptor) formados a partir de bases de Lewis neutras predomina la interacción SpB y para los complejos formados a partir de bases de Lewis aniónicas, además de las interacciones SpB se producen interacciones anión-π.

Publicación

ROYAL SOCIETY OF CHEMISTRY

View Article Online
DOI: 10.1039/D1CP02150H

ARTICLE

Theoretical study of spodium bonding in the active site of three Zn-proteins and several model systems

Received 00th January 20xx,
Accepted 00th January 20xx

DOI: 10.1039/x0xx00000x

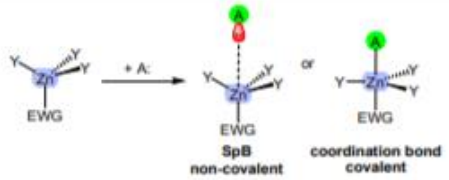
Rosa Llull,[a] Gaizca Montalbán,[a] Ivan Vidal,[a] Rosa M. Gomila,[b] Antonio Bauzá[a] and Antonio Frontera*,[a]

In this manuscript, three examples retrieved from the PDB are selected to demonstrate the existence and relevance of Spodium bonding (SpB) in biological systems. SpB is defined as an attractive noncovalent interaction between elements of group 12 of the periodic table acting as Lewis acid and any atom or group of atoms acting as electron donor. The utilization of this term (SpB) is convenient to differentiate classical coordination bonds from noncovalent interactions. In the latter, the distance between the electron rich and the spodium atoms is longer than the sum of covalent radii but shorter than the sum of van der Waals radii. In most Zn-dependent metalloenzymes, the spodium atom is bonded to three imidazole moieties belonging to the side chains of histidine amino-acids. Herein, in addition to the investigation of the SpB in the active site of three exemplifying enzymes, theoretical models where the Zn(II) atom is bonded either to three imidazole or triazole ligands are used in order to investigate the strength of the SpB and its competition with hydrogen bonding. A series of Lewis bases and anions have been used as SpB acceptors combined with six SpB donors (receptors) of general formula $[ZnY_3X]^+$ (Y = imidazole, triazole and X = Cl, N_3 and SCH_3). In addition to the investigation of the energetic and geometric features of the complexes, the SpB interactions have been further characterized using the natural bond orbital (NBO) method, quantum theory of "atoms-in-molecules" and the noncovalent interaction plot (NCI plot).

Introduction

After iron, zinc is the second most abundant trace element in the human body, despite it is moderately present on Earth.[1] The total amount of zinc in the body is about 2–3 g and it is found in all organs and tissues, especially in the liver and kidney.[2] Zinc plays a crucial role in preserving normal physiological processes (metabolism, signalling transduction, cell growth, differentiation, etc.).[3,4] The participation of zinc in these functions is through its coordination to zinc proteins, thus regulating protein functions. In fact, zinc serves as a catalytic cofactor for more than three hundred of metalloenzymes.[5] It is also a very relevant structural component in zinc finger motifs, acting as transcription factors and hormones.[6-8] Therefore, the deficiency of zinc leads to inactivation of enzymes and prevents interaction of the proteins with their targets, including DNA, RNA, protein and lipids.[1] For instance, removing zinc ions from alcohol dehydrogenase (ADH) leads to a complete loss of its catalytic activity.[9] The removal of zinc from the zinc finger motif affects the gene regulation function of the transcription factors causing the loss of DNA binding ability.[10-13]

The term 'spodium bond' (SpB) was recently coined to refer to the noncovalent interaction between any element or group 12 of the periodic table and any electron rich atom (Lewis base, anion) or group of atoms (π-system), where the spodium element acts as electron acceptor (Lewis acid).[14] This term is recommended to differentiate noncovalent interactions from classical coordination bonds (see Scheme 1).[15] Several theoretical studies in combination with statistical analyses of the Cambridge Structural Database (CSD) have evidenced that SpBs involving tetrahedral[15] SpX_4 and square pyramidal[16] SpX_5 compounds (X = any atom) are directional and belong to the σ-hole family of interactions that are characteristic of elements of the groups 14-17.[17] Recently, SpBs have been described in Zn(II)[18] and Hg(II)[19] complexes where the spodium atom is coordinated to Schiff-bases, diphenyldithiophosphates and dithiocarbamate.[20] SpBs have been also used as structural directing forces guiding the generation of supramolecular polymers.[21] It has been recently demonstrated that the quantum theory of "atoms-in-molecules" (QTAIM)[22] method is convenient to differentiate SpBs from coordination bonds.[23] Moreover, SpBs in trigonal Hg(II) and their importance in the solid state of Hg(II) complexes has been recently reviewed.[24]



Scheme 1. SpB vs coordination bond leading to four or five coordination number

[a] Departament de Química, Universitat de les Illes Balears, Crta. de Valldemossa km 7.5, 07122 Palma de Mallorca (Baleares), Spain. Email: toni.frontera@uib.es
[b] Serveis Científico-Tècnics, Universitat de les Illes Balears, Crta. de Valldemossa km 7.5, 07122 Palma de Mallorca (Baleares), Spain.

Electronic Supplementary Information (ESI) available: Tables S1 and S2, Figs. S1-S5 and Cartesian coordinates of the optimized complexes. See DOI: 10.1039/x0xx00000x

Physical Chemistry Chemical Physics Accepted Manuscript