



Universitat
de les Illes Balears

TREBALL FI DE GRAU

ESTUDI TEÒRIC DE INTERACCIONS TIPUS “SPODIUM BOND” EN MODELS METAL·LO- β - LACTAMASA NDM-1

Rosa Llull Puigròs

Grau de Química

Facultat de Ciències

Any Acadèmic 2020-21

ESTUDI TEÒRIC DE INTERACCIONS TIPUS “SPODIUM BOND” EN MODELS METAL·LO- β - LACTAMASA NDM-1

Rosa Llull Puigròs

Treball de Fi de Grau

Facultat de Ciències

Universitat de les Illes Balears

Any Acadèmic 2020-21

Paraules clau del treball:

Supramolècules, Interaccions no covalents, Spodium bond, Càlculs DFT, Càlculs MEP

Nom Tutor/Tutora del Treball: Antonio Frontera Beccaria

S'autoritza la Universitat a incloure aquest treball en el Repositori Institucional per a la seva consulta en accés obert i difusió en línia, amb finalitats exclusivament acadèmiques i d'investigació

Autor		Tutor	
Sí	No	Sí	No
<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Índex

RESUM	5
1. INTRODUCCIÓ	6
1.1. QUÍMICA SUPRAMOLECULAR	6
1.2. INTERACCIONS NO COVALENTS	7
1.3. Σ -HOLE	10
1.4. SPODIUM BONDING (SPB).....	11
1.5. IMPORTÀNCIA DEL ZINC AL COS HUMÀ	12
1.6. IMPORTÀNCIA DE LA METAL·LO-B-LACTAMASA 1	13
2. OBJECTIUS	14
3. DESCRIPCIÓ DEL MÈTODE D'OBTENCIÓ DE RESULTATS	15
4. RESULTATS I DISCUSSIÓ.....	17
4.1. ESTUDI DE LA PROTEÏNA NEW DELHI METAL·LO-B-LACTAMASA (PDB ID 6OGO)	17
4.2. ESTUDI TEÒRIC DELS RECEPTORS	18
4.3. ESTUDI I OBTENCIÓ DE MAPES DE POTENCIAL ELECTROSTÀTICS	19
4.4. ANÀLISI ENERGÈTIC I GEOMÈTRIC DE LES INTERACCIONS.....	20
4.5. ESTUDI DE QTAIM/NCIPLLOT.....	24
5. CONCLUSIONS	26
6. PUBLICACIÓ.....	27

"Lorem ipsum dolor sit amet, consectetur adipiscing elit, sed do eiusmod tempor incididunt ut labore et dolore magna aliqua. Ut enim ad minim veniam, quis nostrud exercitation ullamco laboris nisi ut aliquip ex ea commodo consequat.

Duis aute irure dolor in reprehenderit in voluptate velit esse cillum dolore eu fugiat nulla pariatur. Excepteur sint occaecat cupidatat non proident, sunt in culpa qui officia deserunt mollit anim id est laborum."

Resum

En aquesta memòria es demostra l'existència de les interaccions tipus Spodium Bond a l'enzim metal·lo- β -lactamasa NDM-1 mitjançant l'ús de tècniques computacionals. Aquest tipus de interacció es defineix com a una atracció no covalent entre qualsevol element del grup 12 (encara que és més comú el Zn) i un grup donador d'electrons (bases de Lewis). Per que es produeixi aquesta interacció, la distància d'enllaç ha de ser menor que la suma dels radis de Van der Waals, però major que la suma dels radis covalents. S'han construït distints models teòrics amb distints receptors (imidazol i triazol) per estudiar també la competència d'aquesta interacció amb un enllaç d'hidrogen.

Resumen

En esta memoria se demuestra la existencia de las interacciones tipo Spodium Bond en la enzima metalo- β -lactamasa NDM-1 mediante el uso de distintas técnicas computacionales. Este tipo de interacción se define como una atracción no covalente entre cualquier elemento del grupo 12 (aunque el más común es el Zn) y un grupo dador de electrones (base de Lewis). Para que se produzca esta interacción, la distancia de enlace debe ser menor que la suma de los radios de Van der Waals, pero mayor que la suma de los radios covalentes. Se han construido distintos modelos teóricos con distintos receptores (imidazol y triazol) para estudiar también la competencia de esta interacción con un enlace de hidrogeno.

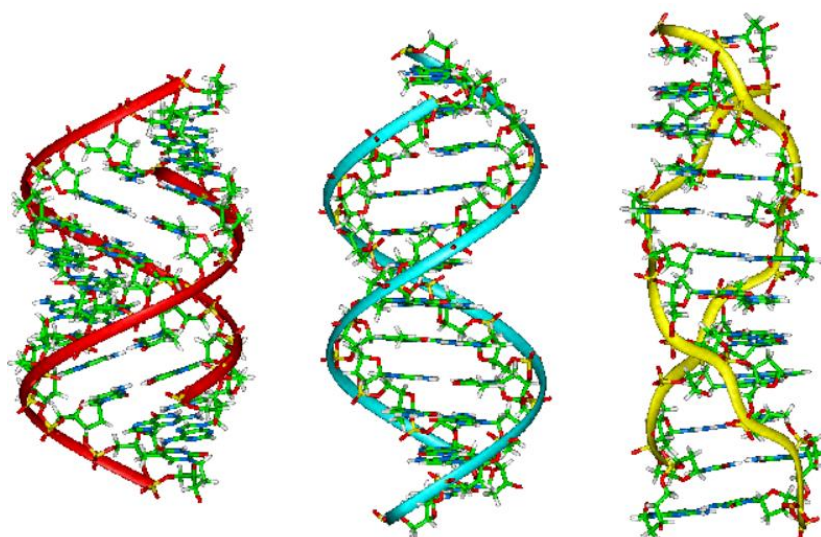
Abstract

In this work the existence of Spodium bonding interactions in the active site of metalo- β -lactamase NDM-1 enzyme is demonstrated by using several computational tools. The spodium bonding is defined as the attractive noncovalent interaction between any element of group 12 of the periodic table (most commonly the Zn atom) and any electron donor (Lewis Base). To be considered a noncovalent interaction, the bonding distance should be longer than the sum of covalent radii and shorter than the sum of van der Waals radii. Two theoretical models (receptors) have been designed and constructed based on both imidazole and triazole rings to study their ability to interact with electron rich species through Spodium bonds and hydrogen bonds.

1. Introducció

1.1. Química supramolecular

Abans d'explicar l'enllaç no covalent, s'ha d'explicar que és la química supramolecular¹. Es tracta de l'estudi de les interaccions o forces intermoleculars que hi ha a un complex i la direcció d'aquesta interacció. És considerada una extensió de la química molecular, ja que s'estudien supramolècules (dues o més molècules que es combinen per donar un sistema més gran i complex) amb interaccions intermoleculars entre elles (normalment enllaç d'hidrogen) que posseeixen una estructura ben definida i, normalment, tenen una funció determinada. Aquestes interaccions són bastant més dèbils que els enllaços covalents, però així i tot permeten que l'associació sigui estable, estigui afavorida i present en processos biològics. Un molt bon exemple d'una supramolècula que es troba a la naturalesa és la doble hèlix d'ADN.



Il·lustració 1. Doble hèlix ADN com a exemple de supramolècula.

Actualment s'estan estudiant estructures sintètiques amb capacitat d'acoblament que pugin establir interaccions dèbils com els enllaç d'hidrogen amb altres molècules o amb ella mateixa per obtenir una funció específica. Aquests tipus de fenòmens encara estan en estudi poc avançat, així que és complicat obtenir sistemes supramoleculars amb característiques de selectivitat, velocitat de transformació i especificitat comparable als sistemes biològics naturals².

Observant el gran potencial dels complexos supramoleculars, s'està estudiant com obtenir receptors sintètics amb distints grups funcionals que permetin una combinació variada d'interaccions per la formació de complexos estables.

¹ K. Mondragón, J.G. Domínguez, F.A. Cen, *¿Qué es la química supramolecular?*, Academia Mexicana de ciencias, Vol. 69, Num.4, octubre - diciembre **2018**

² Supramolecular Chemistry – Fundamentals and applications. Eds. K. Ariga, T. Kunitake. Springer-Verlag, Berlin, **2006**

1.2. Interaccions no covalents

Els principis bàsics de les interaccions no covalents es varen formular als anys trenta. No obstant això, malgrat els enormes progressos realitzats tant en teoria com en tècniques experimentals en les darreres dècades, encara estam lluny d'obtenir informació inequívoca i quantitativament satisfactòria sobre complexos no covalents.

Una interacció no covalent es diferencia d'un enllaç covalent en que no es comparteixen electrons, sinó que involucren variacions més disperses de interaccions electromagnètiques entre molècules o dins una mateixa molècula. L'energia alliberada en la formació d'una interacció no covalent és normalment de l'ordre de 1-20 kcal/mol.

Un enllaç covalent es forma quan es produeix el solapament de dos sistemes amb sistemes electrònics no plens. En aquest moment, la densitat d'electrons entre ells augmenta i es crea un vincle. La superposició més eficient sorgeix a distàncies interatòmiques inferiors a 2Å i, a distàncies superiors a 4Å la superposició és insignificant³. Tanmateix, es sap que hi ha interaccions no covalents a distàncies molt més grans, de vegades a més de 10Å i, en el cas de biomacromolècules, fins i tot a més de 100Å³, que apunta a l'existència d'alguna altra font d'atracció.

Les interaccions no covalents són el tipus dominant de interaccions entre supramolècules i el seu paper és crític per mantenir l'estructura tridimensional de molècules de gran dimensions, com proteïnes o àcids nucleics. Aquest tipus de interacció pot influir en el disseny de fàrmacs, grau de cristal·lització i disseny de materials, i en general per la síntesi de distints composts orgànics.

Poden classificar-se en quatre grans categories: interaccions electrostàtiques, interaccions pi, forces de Van der Waals i interaccions hidrofòbiques.

³ P. Hobza, K. Müller-Dethlefs, *Non-Covalent Interactions: Theory and Experiment*, Royal Society of Chemistry, Cap. 1. *Introduction*, 1-20, **2009**.

1.2.1. Interaccions electroestàtiques

Es tracta de interaccions bastant fortes que es troben presents en sistemes biològics i, sobretot en supramolècules, degut a que tenen un major abast i la força de interacció depèn de les orientacions relatives que es poden adoptar⁴. En aquest cas podem diferenciar entre 3 tipus de interaccions electroestàtiques:

- **Dipols permanents:**

Dos àtoms units per un enllaç covalent que comparteixen electrons però no per igual degut a la diferència d'electronegativitat dels dos àtoms. D'aquesta manera, el centre de la càrrega negativa no coincideix amb el de la càrrega positiva i es forma el dipol permanent, és a dir, tenim un pol positiu i un negatiu.

- **Càrrega – dipol:**

Sobre les bases de l'energia potencial de Coulomb es pot adoptar l'expressió per una càrrega i un dipol. El dipol puntual és un dipol en el qual la separació entre les càrregues és molt menor que la distància en que s'observa el dipol.

- **Dipol – dipol:**

La interacció dipol - dipol consisteix en l'atracció entre l'extrem positiu d'una molècula i el negatiu d'una altra, en molècules polars. En aquest cas no hi ha un pol positiu i un pol negatiu, però es disposen de zones més electropositives i zones electronegatives, que poden actuar com a càrregues en moments puntuals i interaccionar amb altres molècules.

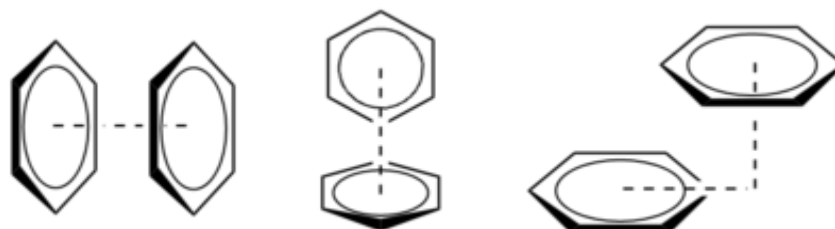
1.2.2. Enllaç d'hidrogen

L'enllaç d'hidrogen és una interacció atractiva i pot ser representada de la forma D-H·····A, on D és una espècie donadora d'hidrogen i A és una espècie acceptora. D i A són elements electronegatius (O, N, S i halògens) amb un o més parells d'electrons disponibles. Quan es forma la interacció D-H·····A, l'enllaç D-H es debilita, acompanyat d'una elongació de l'enllaç⁴. La força d'aquesta interacció pot variar depenent de les característiques de les espècies donadores i acceptores d'hidrogen.

⁴ P. Hobza, K. Muller-Dethlefs, *Non-Covalent Interactions: Theory and Experiment*, Royal Society of Chemistry, 2009.

1.2.3. Interaccions $\pi - \pi$

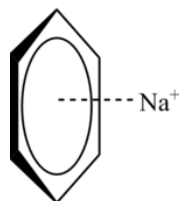
Les interaccions $\pi-\pi$ es donen entre anells aromàtics i estan dominades per efectes de dispersió. Hi ha de tres tipus: (i) apilament paral·lel “cara a cara”, (ii) apilament en forma de T i apilament paral·lel desplaçat (veure Il·lustració 2). Són molt importants en molts camps de la química i la biologia. L'exemple més comú és l'apilament dels parells de bases consecutius de l'ADN. Aquest apilament també es troba en proteïnes (implicant aminoàcids aromàtics) i en complexos enzim-substrat. També juga un paper important en la formació d'estructures de cristalls basats en molècules orgàniques amb anells aromàtics i complexos metàl·lics de lligands aromàtics.⁴



Il·lustració 2. Representació dels tres tipus d'apilaments en interaccions π : Apilament cara a cara (esquerra), apilament en forma de T (enmig) i apilament paral·lel desplaçat.

1.2.4. Interaccions catió - π

Aquest tipus de interacció és una unió no covalent entre la cara d'un sistema pi ric amb electrons, com per exemple un anell aromàtic com el benzè, amb un catió, com per exemple sodi (Na^+)⁵. És una interacció que es pot entendre del tipus monopòl (catió)···quadrupol (sistema π) des de un punt de vista electrostàtic. La energia de interacció és d'una magnitud similar a l'enllaç d'hidrogen.



Il·lustració 3. Representació de la interacció catió- π (sodi – benzè).

⁵ J.W.Caldwell, P.A.Kollman. *Cation- π interactions: nonadditive effects are critical in their accurate representation.* J. Am. Chem. Soc. **1995**, 117, 4177-4178.

1.2.5. Interaccions anió - π

La interacció anió- π és dona quan l'anell aromàtic està substituït amb grups fortament electro-atraients que fan canviar el signe del quadrupol a la direcció perpendicular del pla molecular. És oposada a la interacció catió- π , ja que la distribució de càrrega del sistema π està invertida i per tant pot interaccionar favorablement amb ions amb càrrega negativa⁶.

1.3. σ -hole

Recentment s'ha descobert un nou tipus de interacció no covalent per els elements del bloc p de la taula periòdica, donant-li el nom de interaccions tipus σ -hole. Aquest concepte inicialment s'utilitzava per explicar les interaccions d'un àtom electronegatiu (halogen) amb un centre negatiu⁷.

Classification of interactions				IUPAC recommended		Noble gas bond	
Coinage (regium) bond	Spodium bond (this work)	Triel bond	Tetrel bond	Pnictogen bond	Chalcogen bond		Halogen bond
CiB	SpB	TrB	TtB	PnB	ChB	HaB	NgB
Group 11	Group 12	Group 13	Group 14	Group 15	Group 16	Group 17	Group 18
Cu	Zn	B	C	N	O	F	He
Copper	Zinc	Boron	Carbon	Nitrogen	Oxygen	Fluorine	Helium
Ag	Cd	Al	Si	P	S	Cl	Ne
Silver	Cadmium	Aluminum	Silicon	Phosphorus	Sulfur	Chlorine	Neon
Au	Hg	Ga	Ge	As	Se	Br	Ar
Gold	Mercury	Gallium	Germanium	Arsenic	Selenium	Bromine	Argon
Rg	Cn	In	Sn	Sb	Te	I	Kr
Röntgenium	Oganesson	Indium	Tin	Antimony	Tellurium	Iodine	Krypton
		Tl	Pb	Bi	Po	At	Xe
		Thallium	Lead	Bismuth	Polonium	Astatine	Xenon
		Nh	Fl	Mc	Lv	Ts	Rn
		Nihonium	Flerovium	Moscovium	Livermorium	Tennesse	Radon
							Og
							Oganesson

Aquesta interacció s'ha anomenat de maneres diferents, depenent del grup de la taula periòdica amb el que es produeix: Coinage bond (grup 11), Spodium bond (grup 12), Triel bond (grup 13), Tetrel bond (grup 14), Pnictogen bond (grup 15), Chalcogen bond (grup 16) i Halogen bond (grup 17)⁸. A la Taula 1 es recull tota la informació.

Taula 1. Classificació de les interaccions donador-acceptor, utilitzant el nom del grup de la taula periòdica de l'element que actua com un àcid de Lewis.

Els primers estudis que es varen fer d'aquest tipus de interaccions es basaven en molècules que contenien algun element del bloc p. Es tractaven de interaccions amb un caràcter no covalent atractiu entre una zona electròfila de la molècula i una zona nucleòfila d'una altra molècula diferent.

⁶ Chakravarty, S., Sheng, Z., Iverson, B., Moore, B., "η⁶-Type anion- π in biomolecular recognition, **2021**.

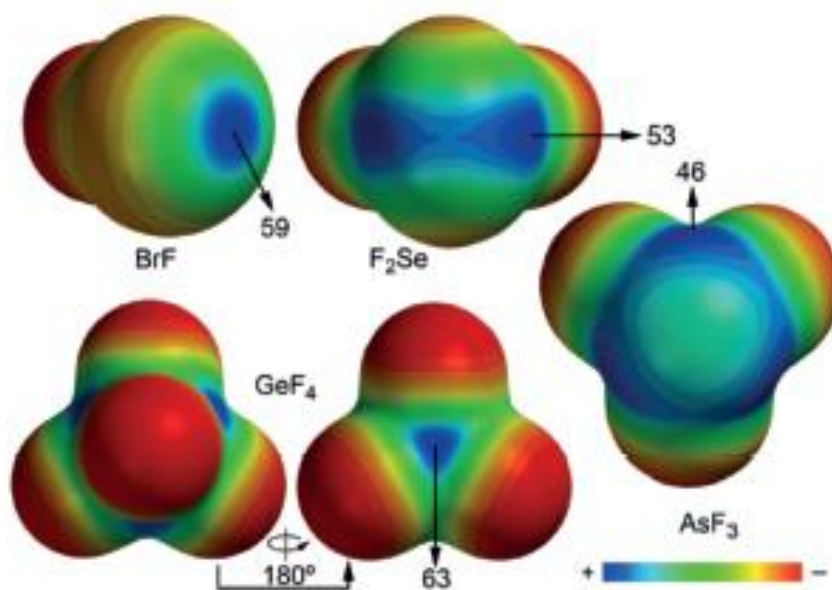
⁷ A. Bauzá, T.J. Mooibroek, A. Frontera, *The bright future of unconventional σ/π -hole interactions*, ChemPhysChem, **2015**, 16, 2496 – 2517

⁸ Bauzá, A., Alkorta, I., Elguero, J., Mooibroek, T., Frontera, A., **2021**. *Spodium Bonds: Noncovalent Intervolving Group 12 Elements*.

En comparació amb l'enllaç d'hidrogen, l'àtom sobre el qual es troba el potencial electropositiu es coneix com l'àtom donador. Per tant, les interaccions σ -hole es poden escriure com $X - D \cdots A$, on X pot ser qualsevol àtom, D és l'àtom donador i A el grup acceptor. El potencial d'un σ -hole depèn de dues coses:

- És més positiu quan més polaritzable sigui D (àtoms més pesats)
- És més positiu quan X atreu més electrons

La capacitat d'un σ -hole d'actuar com a hoste deficient en electrons per a una molècula rica en electrons depèn no només de la magnitud del potencial electropositiu, sinó també del seu entorn estèric⁵. De fet, si bé el valor de MEP al σ -hole és similar en composts de la mateixa fila (il·lustració 4), els σ -hole són estèricament més accessibles amb una valència inferior, és a dir: $\text{BrF} > \text{SeF}_2 > \text{AsF}_3 > \text{GeF}_4$.



Il·lustració 4. Mapa de potencial electrostàtic (MEP) representatiu d'halogen (BrF), chalcogen (SeF₂), pnictogen (AsF₃) i tetrel (GeF₄) bonds. Les energies es donen en kal/mol..

1.4. Spodium Bonding (SpB)

Fins al moment, les interaccions no covalents entre elements del grup de post-transició 12 no s'han estudiat abundantment. Recentment, s'han informat de les interaccions anió...anió als sistemes SpCl_3^- (Sp = Zn, Cd i Hg).

El terme Spodium es va utilitzar al segle XII per referir-se a l'òxid de zinc mesclat amb altres metalls. D'aquesta manera es va englobar qualsevol element del grup 12 que actua com un àcid de Lewis⁶. Quan el Zn, Cd i Hg es troben en un estat d'oxidació +2 i en un entorn de coordinació (pseudo)tetraèdric $Sp(\text{Ligand})_4$, tenen una regió de potencial positiu adequada per interactuar amb un parell solitari.

És important remarcar que els radis de Van der Waals de Zn, Cd i Hg són 1,39, 1,58 i 1,55 Å, respectivament⁹. Per afirmar que existeix aquesta interacció és necessari que la distància entre les dues molècules sigui menor a la suma dels radis de Van der Waals, i major a la distància dels radis covalents.

1.5. Importància del Zinc al cos humà

El zinc és un dels oligoelements més abundants al cos humà, després del ferro, encara que l'abundància del Zinc a la Terra sigui moderada. L'ésser humà posseeix aproximadament una quantitat de 2 a 3 grams de Zinc al cos i es troba present en òrgans i teixits, amb major importància al fetge i als ronyons. Es tracta d'un nutrient essencial per a la vida. Forma part de nombrosos enzims en el cos humà, i pot tenir un paper catalític, estructural o regulador. L'intestí juga un paper important en el control de l'homeòstasi del zinc, controlant la seva absorció i excreció. Bones fonts de zinc són aliments d'origen animal.

Al 1930 es va demostrar la importància d'aquest en el creixement i supervivència dels animals, i al 1961 al cos humà. Avui en dia, es coneixen més de 100 enzims que depenen del zinc per la seva funció catalítica. Pel rol estructural, el zinc estabilitza l'estructura terciària dels enzims, donant una forma coneguda com a "dits de zinc", que s'uneixen a l'ADN per la transcripció i expressió gènica. S'ha demostrat que els ions de zinc intracel·lulars compleixen una funció reguladora activant o inhibint certs factors que són responsables de regular l'expressió gènica¹⁰.

⁹ Radio de Van der Waals (Bondi) | Educaplus(2021). [online] Disponible en <http://www.educaplus.org/elementos-quimicos/propiedades/radio-van-der-waals.html> [Visitado el 7-8-2021].

¹⁰ López de Romaña, D., Castillo D, C., Diazgranados, D., 2021. *EL ZINC EN LA SALUD HUMANA* -1

1.6. Importància de la metal·lo-β-lactamasa 1

L'enzim New Delhi metal·lo-β-lactamasa 1 (NDM-1) va ser descoberta al 2008 i pertany al sub-grup B1 de metal·lo-β-lactamasas¹¹. Avui en dia es coneixen unes 12 variants d'aquest enzim^{12,13}. És important conèixer en profunditat el mecanisme i funció d'aquest enzim ja que converteix a les bactèries que la posseeixen en resistents front a un gran nombre d'antibiòtics betalactàmics. És important destacar que és fins i tot resistent a la família dels antibiòtics carbapenèmics^{14,15}, una de les principals armes per combatre ceps bacterians resistents als antibiòtics. Aquesta proteïna està codificada per el gen NDM-1 i per tant, les bactèries que presentin aquest gen, com la *Klebsiella pneumoniae*, són molt perilloses degut a aquesta resistència comentada.

¹¹ D. Yong, M.A. Toleman, C.G. Giske, H.S. Cho, K. Sundman, K. Lee, T.R. Walsh, *Antimicrob. Agents Chemother.* 53 (2009), 5046–5054.

¹² W. Wu, Y. Feng, G. Tang, F. Qiao, A. McNally, Z. Zong, *Clin. Microbiol. Rev.* 32 (2019), e00115–e00118.

¹³ Z. Liu, A. Piccirilli, D. Liu, W. Li, Y. Wang, J. Shen, *Catalysts* 9 (2019) 744.

¹⁴ J. Joseph, K.A. Rodvold. *Expert Opinion in Pharmacotherapy.*, 9 (2008), pp. 561-575

¹⁵ G.G. Zhanel, R. Wiebe, L. Dilay, K. Thomson, E. Rubinstein, D.J. Hoban, et al. *Drugs.*, 67 (2007), pp. 1027-1052

2. Objectius

Els objectius d'aquest treball són:

- Estudiar i demostrar l'existència de la interacció "*spodium bond*" a l'enzim metal·lo- β -lactamasa NDM-1 emprant un model del centre actiu.
- Obtenció de mapes de potencial electrostàtic (MEP) dels receptors supramoleculars inspirats en el centre actiu de la proteïna.
- Analitzar la direccionalitat i les característiques d'aquest enllaç "*spodium bond*" amb un anàlisi computacional emprant els receptors de Zn(II) com a models minimalistes del centre actiu.

A més dels objectius mencionats, també es important el familiaritzar-se amb l'anàlisi computacional i els programes utilitzats (Gaussian09W i Gaussview).

3. Descripció del mètode d'obtenció de resultats

Primer de tot es varen optimitzar els distints lligands que es volien estudiar amb la finalitat de saber com és la disposició d'aquests i l'energia que té el compost. A més, també es va optimitzar la part que reacciona de la proteïna, per aconseguir la mateixa informació que dels lligands.

Els càlculs teòrics es varen obtenir amb el programa "Gaussian 09W¹⁶", ja que aquest ens permet observar i analitzar l'estructura de les molècules a estudiar, incloent energies, distàncies, angles, etc. Per generar aquest document d'entrada al programa, s'utilitza el "Gaussview", on es dibuixa la molècula per optimitzar-la amb el "Gaussian 09W". Aquest document creat (d'entrada) s'anomena input, mentre que el document que genera el "Gaussview" s'anomena output.

El mètode DFT (*density functional theory*) és el que hem emprat en aquesta memòria com a compromís entre la precisió dels resultats i la mida de les molècules. Aquest mètode descriu l'energia mitjançant la densitat electrònica total, en lloc d'utilitzar la funció d'ona. S'utilitza pel càlcul de gran quantitats de variables en un mateix sistema, per el que hi ha un gran nombre d'àtoms i electrons. Es tracta d'una solució alternativa a l'equació de Schrödinger, on la funció d'energia electrònica es minimitza respecte a la funció de densitat electrònica. El funcional B3LYP (Becke, 3-parameter, Lee-Yang-Parr) és un híbrid de varies funcions, on s'utilitza el funcional d'intercanvi de tres paràmetres Becke (B3) i les funcions de correlació de Lee, Yang y Parr (LYP).

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**).

A l'hora de fer un càlcul amb el "Gaussian 09W" hi ha alguns paràmetres que són necessaris ajustar:

- **"Job type"** – Amb aquest programa es poden calcular distints paràmetres com l'energia, es pot realitzar l'optimització de la molècula, entre d'altres. Si volem fer l'optimització hem de marcar **"Optimization"** i després **"Optimize to a minimum"**.
- **"Method"** – El mètode utilitzat és el **"B3LYP"**¹⁷ amb base **"6-31G"**¹⁸. Amb aquest mètode obtenim l'energia total del complex i l'energia del lligand, fent possible el càlcul de l'energia d'interacció.
- **"Additional Keywords"** – Hem d'afegir **"empiricaldispersion"**, per afegir una correcció empírica als càlculs DFT que no descriuen correctament les forces de dispersió.

Per l'optimització geomètrica dels àtoms d'hidrogen, s'utilitza el mètode B3LYP amb base 6-31G* per tots els complexos de zinc i també als lligands. Les geometries i energies dels complexos i composts SpB es varen calcular imposant el grup de simetria C₃. Les superfícies de potencial electrostàtic molecular (MEP) s'han calculat al nivell de teoria PBE0-D3/def2-TZVP. Els càlculs de l'anàlisi QTAIM (*Quantum theory of "atoms-in-molecules"*) i l'índex NCIPLOT (*Noncovalent Interactions plot*) s'han calculat al mateix nivell de teoria mitjançant el programa AIMAll. Per als models de les estructures PDB, només es varen realitzar càlculs d'energia puntual mitjançant les geometries de raigs X i el nivell PBE0-D3/def2-TZVP per al càlcul d'energies d'enllaç, càlculs QTAIM i NCIPLOT.

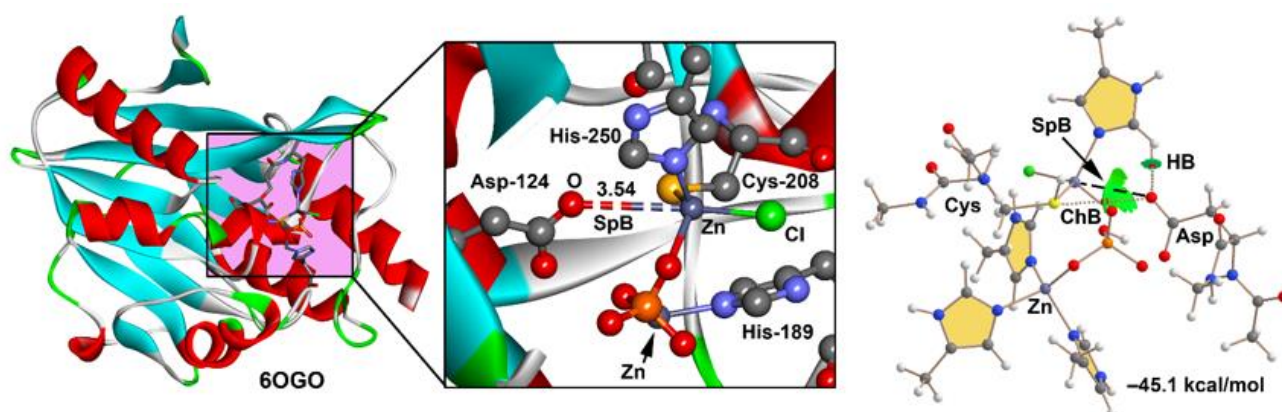
¹⁷ K. Kim, K. D. Jordan, *J. Phys. Chem. A*, **1994**, 98, 10089-10094.

¹⁸ V. A. Rassolov, M. A. Ratner, J. A. People, P. C. Redfern, L. A. Curtis, *J. Comp. Chem.*, **2001**, 22, 976-984.

4. Resultats i discussió

4.1. Estudi de la proteïna New Delhi metal·lo- β -lactamasa (PDB ID 6OGO)

Primer de tot hem de caracteritzar la proteïna **6OGO**¹⁹ estudiada, extreta del **PDB** (Protein Data Bank) i el centre actiu:



Il·lustració 5. Estructura 3D de la proteïna 6OGO (Esquerra). Detall del centre actiu i de les interaccions SpB (enllaç discontinu). Les distàncies es donen en Å (enmig). Distribució QTAIM de l'enllaç i zones d'enllaç (dreta).

S'observa la presència d'un anió fosfat situat al lloc actiu, que uneix dos ions Zn. Un dels dos ions Zn(II) es coordina tetraèdicament amb una histidina, una cisteïna, un clorur i el fosfat pont. És important remarcar que un àtom d'oxigen pertanyent a l'aspartat-124 es troba oposat a l'enllaç Zn – Cl (3,54 Å; angle Zn – Cl...O 172,4°), establint així una interacció Zn...O no covalent. La distància Zn...O (Asp-124) és més curta que la suma dels seus radis de Waals ($\Sigma R_{vdw} = 3,91\text{Å}$) i molt més gran que la suma dels radis covalents ($\Sigma R_{cov} = 1,88\text{Å}$). Es recorda que en aquest treball s'ha utilitzat l'estimació més recent del radi de van der Waals de Zinc (2,39Å) proposada per Álvarez²⁰. El SpB a la proteïna 6OGO és bastant direccional (172,4°), com s'esperava en les interaccions σ -hole.

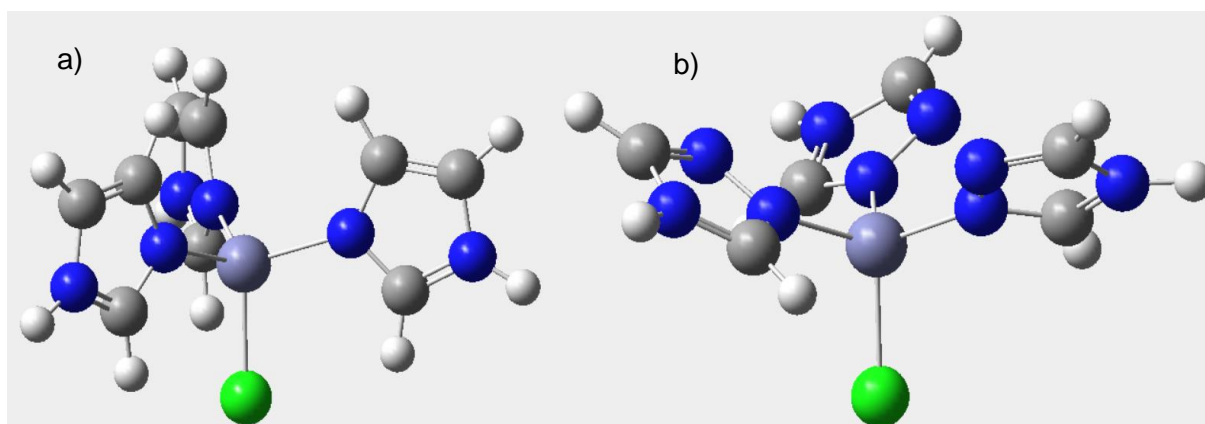
Aquesta és l'estructura real de la proteïna, però per poder fer aquest estudi més fàcilment, s'ha creat un model teòric molt més simple, per poder centrar-se amb la interacció tipus "sodium bond". L'estructura creada consta d'un Zn(II) central coordinat a un clorur i a tres anells d'imidazol. També s'ha estudiat amb l'estructura del Zn(II) central amb un clorur i tres anells de triazol, per eliminar el risc de que es produís enllaç d'hidrogen de l'imidazol. Amb aquest disseny de receptors es pot imposar la simetria C3 a les dues estructures i els seus complexos, per economitza recursos computacionals.

¹⁹ J. E. Raczynska, B. Imiolczyk, M. Komorowska, J. Sliwiak, J. Czyrko-Horczak, K. Brzezinski and M. Jaskolski, *Int. J. Biol. Macromol.*, 2020, **158**, 104-115.

²⁰ S. Alvarez, *Dalton Trans.*, 2013, **42**, 8617-8636.

4.2. Estudi teòric dels receptors

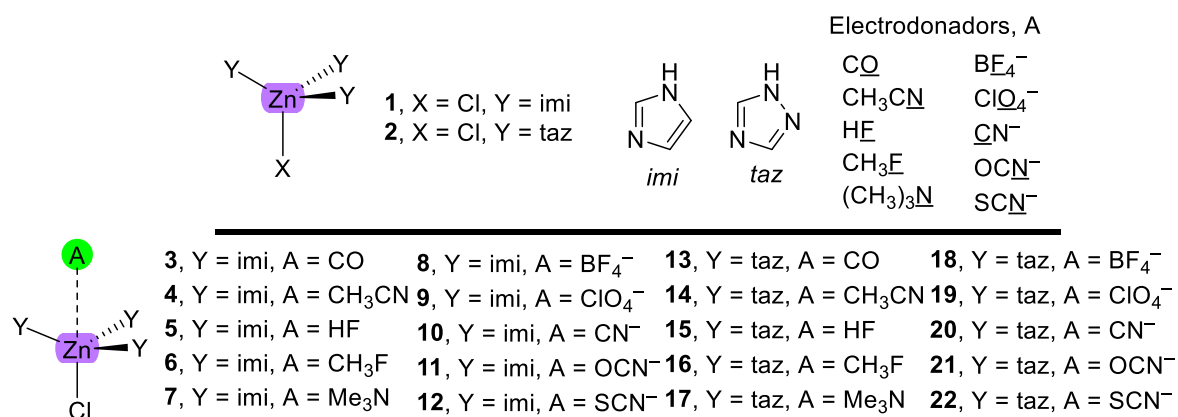
Com s'ha comentat anteriorment, s'han creat dos models teòrics molt més simples del centre actiu basat en la proteïna per poder fer els càlculs. Als dos es disposa d'un àtom de Zn al centre unit a un àtom de Cl (grup eletro-atraent) i, el receptor 1 unit a tres anells imidazol i el receptor 2 unit a tres anells de triazol, que substitueixen la histidina, cisteïna i el fosfat pont, com es pot observar a la il·lustració 6. Es fan dos models distints ja que amb l'imidazol es produeixen enllaços d'hidrogen i amb el triazol s'afavoreixen les interaccions SpB.



Il·lustració 6. Representació dels receptors teòrics. a) Complex amb imidazol. b) Complex amb triazol.

A la il·lustració anterior s'observa que la distribució dels anells imidazol i triazol no estan orientats de la mateixa manera, però tots dos receptors tenen una simetria C₃. Al imidazol (Il·lustració 6a) els anells es troben orientats paral·lelament a l'eix, però al triazol (Il·lustració 6b) els anells estan de manera perpendicular a l'eix.

S'estudien les interaccions d'aquests dos receptors amb distintes bases de Lewis (donadors d'electrons) amb capacitat donadora d'electrons diferent, utilitzant cinc donadors neutres i cinc aniònics (Esquema 1).

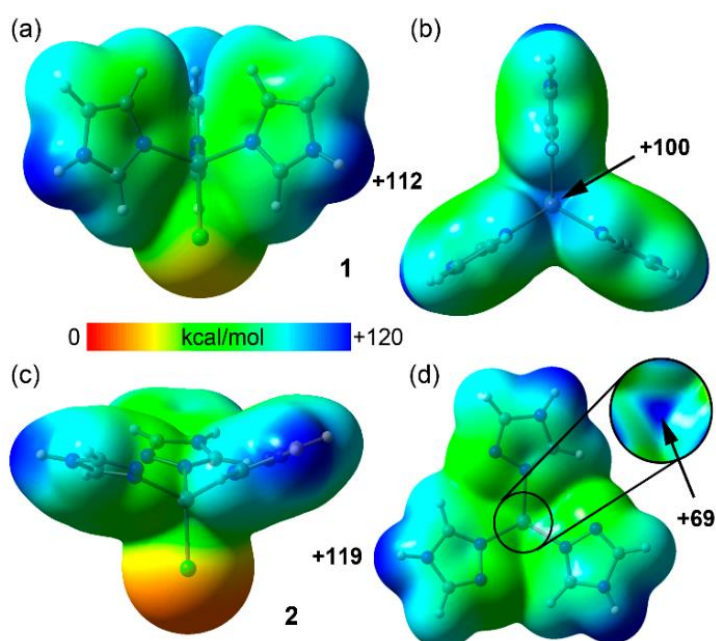


Esquema 1. Esquema dels dos receptors (1 - 2) i complexos estudiats (3 - 22).

4.3. Estudi i obtenció de mapes de potencial electrostàtics

S'han fet els càlculs de les superfícies de potencial electrostàtic molecular (MEP) pels dos receptors per poder definir clarament les regions més electròfiles i on es troba situat el σ -hole en l'extensió de l'enllaç Zn-Cl de cada receptor (II-lustració 7).

En els dos receptors s'observa que els valors màxims es troben situats sobre els enllaços N-H de l'imidazol i del triazol (+112 i +119 kcal/mol, respectivament).



II-lustració 7. Mapes de potencial electrostàtics moleculars dels dos receptors. 1) $[Zn(imidazole)_3Cl]^+$, 2) $[Zn(triazole)_3Cl]^+$.

Els valors obtinguts del MEP pels dos receptors es resumeixen a la taula 2.

Taula 2. Valors de potencial màxim de MEP i valors MEP del σ -hole, en kcal/mol.

Compost	Valors màxims MEP	Valors MEP σ -hole
$[Zn(imidazole)_3Cl]^+$	+112	+100
$[Zn(triazole)_3Cl]^+$	+119	+69

Pel receptor 1 (imidazol), s'observa que el valor del MEP del σ -hole és bastant més elevat que el receptor de triazol. Aquesta diferencia pot ser deguda a la gran influencia dels tres enllaços C-H dels lligands imidazol que convergeixen en la mateixa regió espacial. El problema d'aquesta distribució espacial és que el σ -hole del Zn no és accessible degut a l'impediment estèric que es produeix. D'altre banda, al receptor 2 (triazol) el σ -hole és bastant més accessible degut a la orientació dels lligands. Així i tot, el valor MEP d'aquest és significativament menor que al receptor 1. És a dir, s'espera un comportament diferent a l'hora de interaccionar amb distintes bases de Lewis, on el receptor 1 hauria de tenir una major tendència a formar HB mentre que el receptor 2 hauria de formar SpB si la distància entre Zn-X i la zona de interacció és l'adequada.

4.4. Anàlisi energètic i geomètric de les interaccions

Després de realitzar l'estudi del MEP, es sap quina és la zona de interacció esperada per tots els complexos que s'estudien, però aquesta interacció serà lleugerament diferent depenent del lligand. Es fa l'estudi energètic i geomètric per tots els complexos amb el receptor 1 (imidazol). Els valors obtinguts es resumeixen a la taula 3.

Taula 3. Energies i distàncies d'enllaç obtingudes entre el Zn-substituent per la 6OGO amb imidazol.

Substituent	Energia (H)	E lligand (H)	E interna (Kcal/mol)	dZn-x	Tipus d'enllaç
Receptor	-2917,34	-	-	-	-
CO	-3030,58	-113,23	-2,72	4,933	HB
NCCH ₃	-3050,00	-132,64	-11,90	4,360	HB
FH	-3017,75	-100,39	-7,12	4,164	HB
FCH ₃	-3057,01	-139,65	-8,08	4,128	HB
N(CH ₃) ₃	-3091,68	-174,32	-9,46	4,835	HB
BF ₄ ⁻	-3341,79	-424,31	-83,60	2,353	SpB ^a i HB
ClO ₄ ⁻	-3678,08	-760,61	-82,39	2,405	SpB ^a i HB
⁻ CN	-3010,28	-92,77	-102,73	2,101	COVALENT
⁻ OCN	-3085,49	-168,01	-85,81	2,143	COVALENT
⁻ SCN	-3408,37	-490,91	-71,80	3,843	SpB i HB

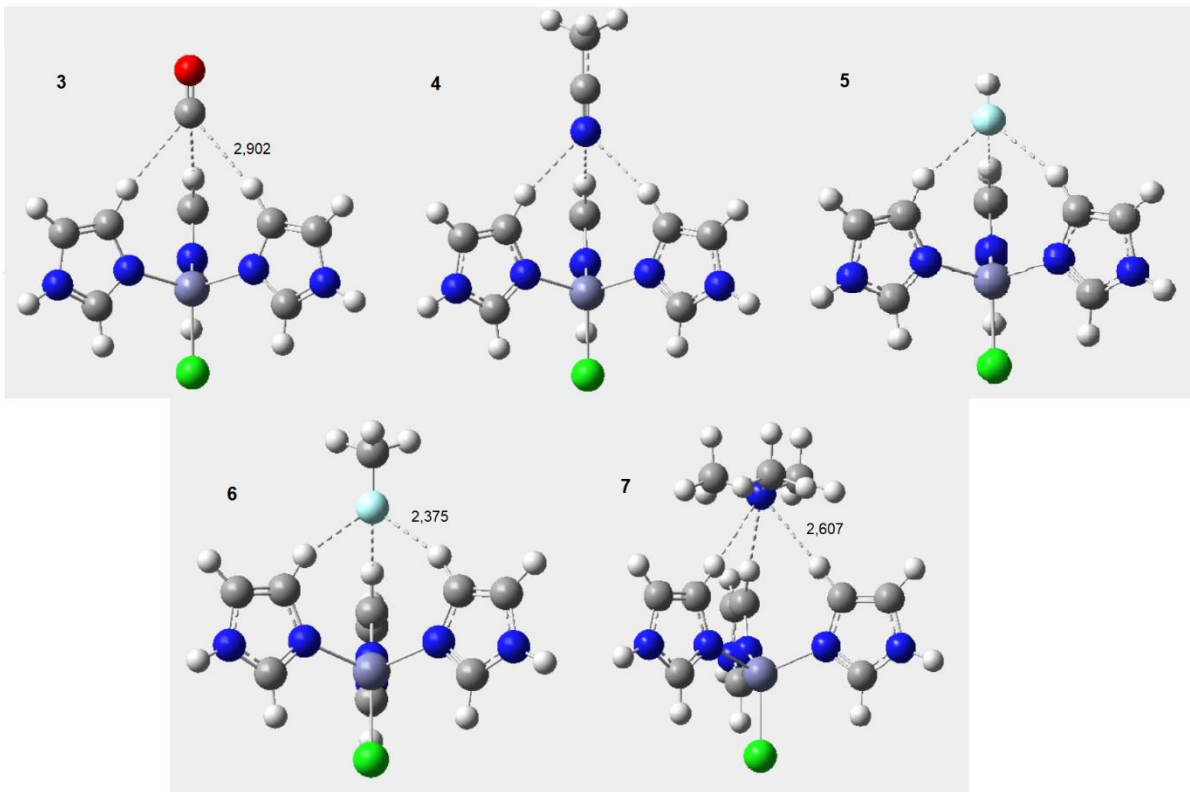
^a Caràcter covalent elevat

Els valor de l'energia del compost, l'energia sense enllaçar i la distància Zn-x són els valors obtinguts amb el Gaussian, però el valor de l'energia interna s'ha de calcular amb l'equació:

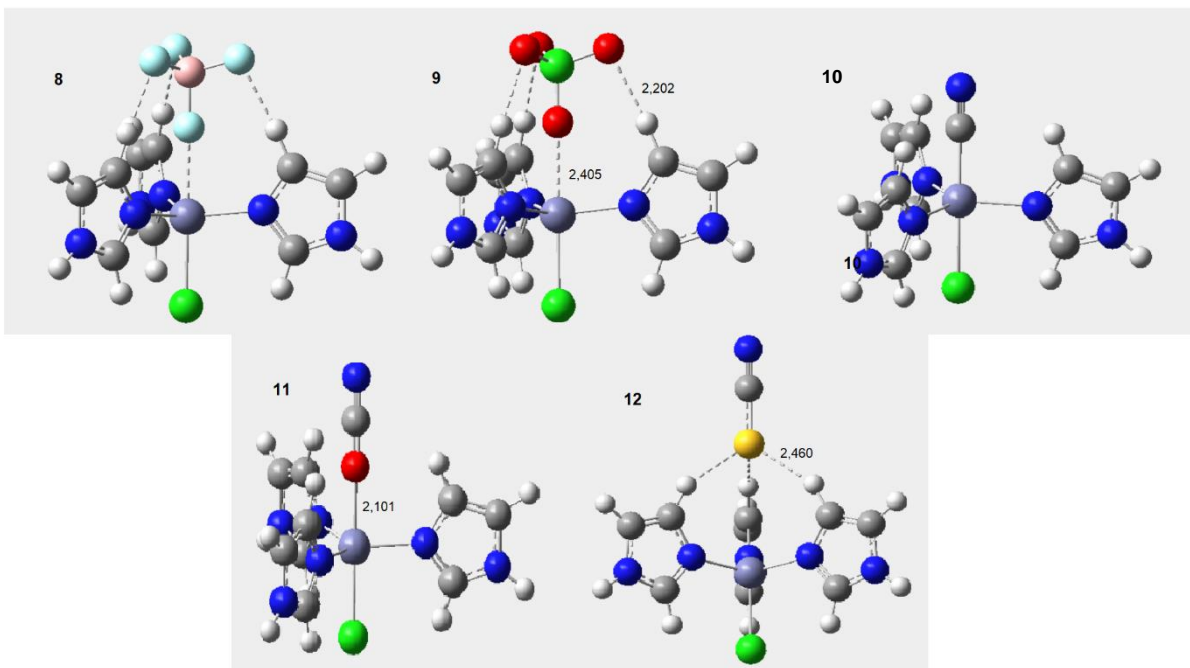
$$E \text{ interna} = (E \text{ complex} - E \text{ lligand} - E \text{ centre actiu}) \cdot 627,509$$

Hem de multiplicar per 627,509 per passar l'energia de Hartrees a Kcal/mol.

Amb ajuda del Gaussian, s'ha obtingut la geometria teòrica dels complexos estudiats. Es representen a les il·lustracions 8 i 9, per l'imidazol.



II-lustració 8. Geometries optimitzades dels complexes amb lligands neutres amb imidazol.



II-lustració 9. Geometries optimitzades dels complexes amb lligands aniònic amb imidazol.

Comparant els valors obtinguts i les representacions geomètriques es poden treure algunes conclusions.

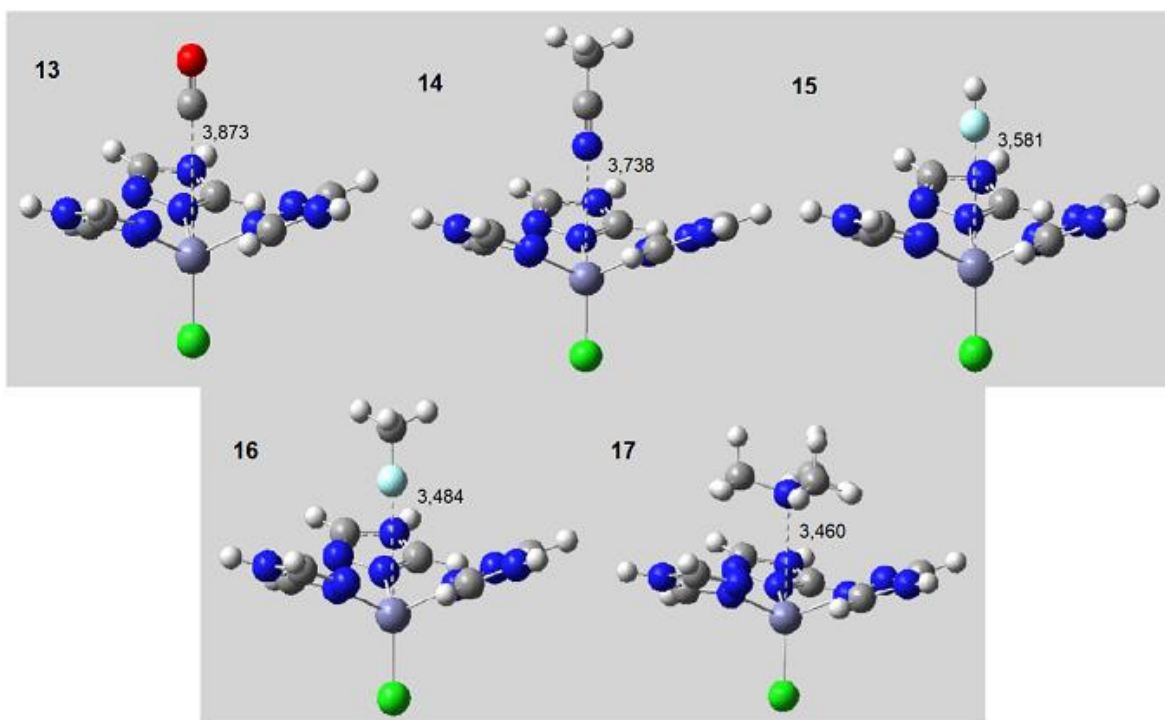
Primer de tot, s'observa que els complexos on el lligand és neutre tenen energies de interacció moderadament fortes, entre -2 i -12 kcal/mol. També s'observa que, amb els lligands neutres, els receptors de Zn interactuen amb l'àtom ric en electrons a través d'enllaços d'hidrogen.

D'altre banda, als lligands aniònics, l'aproximació dels anions petits i lineals CN^- i OCN^- causa la formació d'un enllaç covalent (coordinació) amb el Zn(II), formant un complex amb geometria tipus bipiràmide trigonal (il·lustració 9, complexos 10 i 11). Caldria esperar una interacció similar amb el lligand SCN^- degut a les característiques d'aquests, però s'observa que interacciona amb el receptor a través de tres enllaços $\text{C} - \text{H} \cdots \text{S}$, és a dir, tres enllaços d'hidrogen, però també a través d'un SpB, probablement degut al radi de Van der Waals de sofre, que és més gran que els d'oxigen o carboni. Aquest mateix comportament és el que s'observa amb els lligands aniònics ClO_4^- i BF_4^- , amb la diferència de que aquests són menys coordinants, donant una combinació de SpB i HB que estableixen el complex. De fet, les energies de interacció dels complexos amb lligands aniònics són molt més petites que pels lligands neutres, obtenint valors entre -71 i -103 kcal/mol.

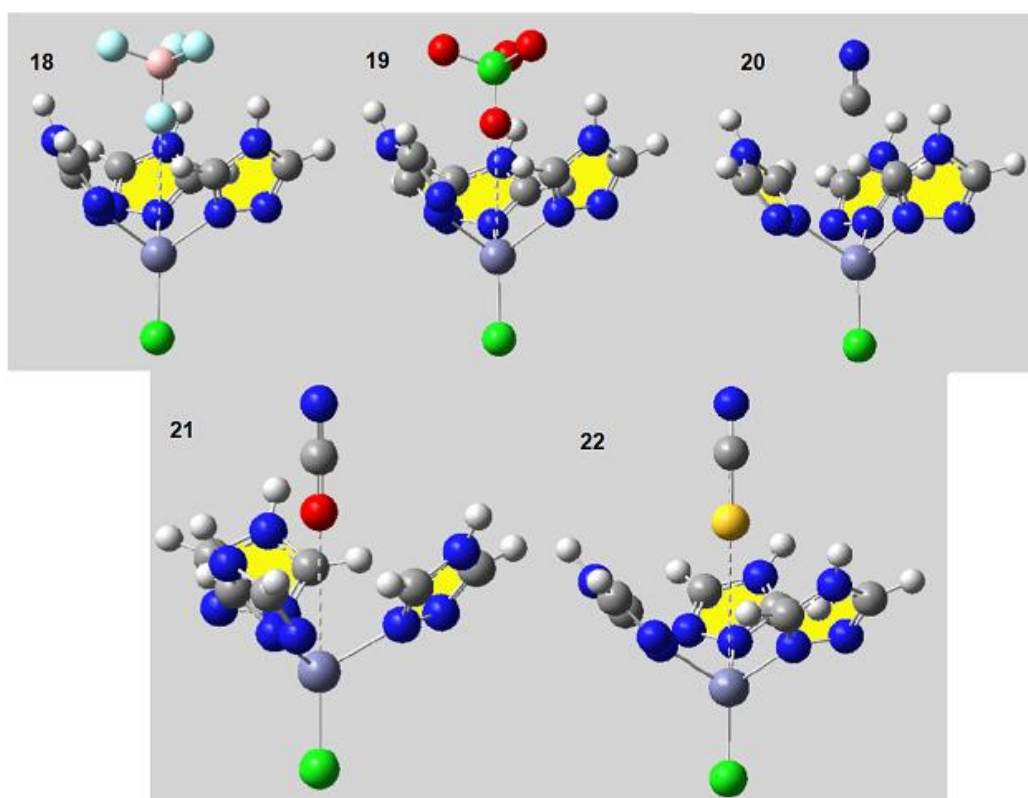
De la mateixa manera que per l'imidazol, també s'han fet els càlculs per el receptor amb triazol (receptor 2). Els valors es recullen a la taula 4.

Taula 4. Energies i distàncies d'enllaç obtingudes entre el Zn-substituent per la 6OGO amb triazol.

Substituent	Energia (H)	E lligand (H)	E interna (Kcal/mol)	dZn-x	Tipus d'enllaç
Receptor	-2965,39	-	-	-	-
CO	-3078,62	-113,23	-2,00	3,873	SpB
NCCH₃	-3098,04	-132,64	-6,94	3,738	SpB
FH	-3065,79	-100,39	-3,67	3,581	SpB
FCH₃	-3105,05	-139,65	-4,43	3,484	SpB
N(CH₃)₃	-3139,73	-174,32	-8,58	3,460	SpB
BF₄⁻	-3389,84	-424,31	-86,04	3,536	SpB i A-π
ClO₄⁻	-3726,13	-760,61	-86,58	3,496	SpB i A-π
·CN	-3058,30	-92,77	-87,22	4,217	A-π
·OCN	-3133,53	-168,01	-82,06	3,553	SpB i A-π
·SCN	-3456,42	-490,91	-78,28	3,940	SpB i A-π



II-lustració 10. Geometries optimitzades dels complexes amb lligands aniònics.



II-lustració 11. Geometries optimitzades dels complexes amb lligands aniònics.

Després de fer l'estudi geomètric i energètic dels complexos amb el receptor de triazol es poden treure distintes conclusions, sobre tot si es comparen amb els complexos amb l'imidazol.

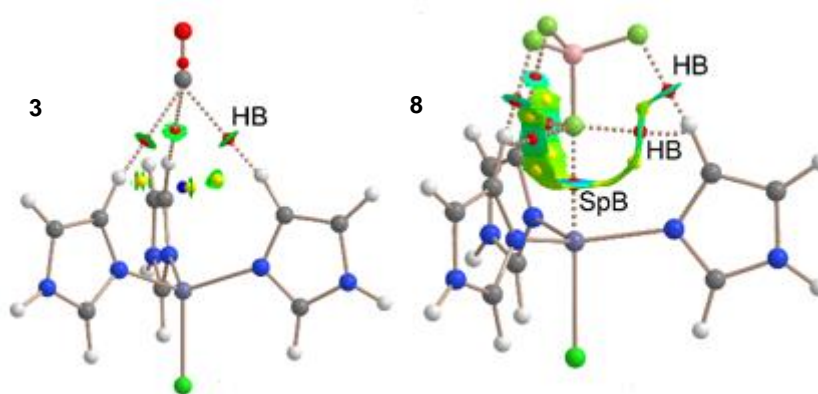
S'observa que tots els complexos amb lligands neutres (13 – 17) s'estabilitzen mitjançant una interacció tipus SpB. També es pot observar que la conformació dels anells triazol és molt distinta en comparació als anells d'imidazol mostrats a les il·lustracions 8 i 9. D'aquesta manera es permet l'aproximació de l'àtom ric en electrons a l'ió central Zn(II), facilitant la formació SpB. A més del ja comentat, el complex 17 no només té una interacció SpB, sinó que també hi ha una contribució C – H \cdots π , afavorint una interacció que involucri el sistema π dels anells triazol, com s'estudia a l'apartat següent amb l'anàlisi QTAIM/NCIplot.

La conformació dels anells triazol també és distinta pels complexos amb lligands aniònics, com s'observa a les il·lustracions 10 i 11. Els núvols π -àcids dels anells de triazol s'aproximen a l'anió, establint així les interaccions anió- π .

Les distàncies Zn - X recollides a les taules 3 i 4 oscil·len entre 3,460 i 3,396 Å, que són distàncies similars a la suma de radis de Van der Waals (3,910 Å)

4.5. Estudi de QTAIM/NCIplot

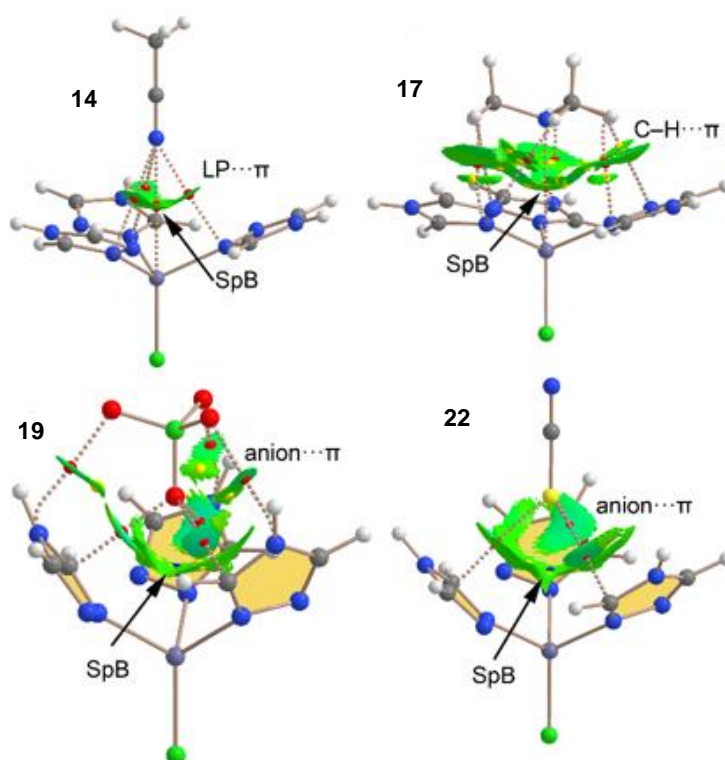
Com a informació complementària a l'estudi geomètric i energètic dels distints complexos estudiats, i per poder afirmar que es donen les interaccions comentades anteriorment, s'han realitzat els anàlisis QTAIM/NCIplot (*quantum theory of "atoms in molecules"/noncovalent interaction plot*) en tots els composts (il·lustració 12 i 13)



Il·lustració 12. Distribució QTAIM dels complexos 3 i 8.

Com a exemple prototípic de l'enllaç H trifurcat, a la il·lustració 12 es mostra l'anàlisi QTAIM del complex 3 (A = CO) on es pot observar una zona d'enllaç (zona de color verd) entre l'àtom de C del CO i l'àtom de H de l'anell imidazol.

L'anàlisi de l'índex NCIPlot confirma l'existència dels HB (zona verda). La mida petita i el color verd signifiquen que aquests enllaços són dèbils, corroborat també per la baixa energia d'aquest enllaç obtinguda a l'apartat anterior (-2,72 kcal/mol). L'anàlisi combinat QTAIM/NCIPlot del complex 8 s'observa a la il·lustració 12 i confirma l'existència d'un enllaç tipus SpB bastant fort.



Il·lustració 13. Distribució QTAIM dels complexos 14, 17, 19 i 22.

A la il·lustració 13 es mostren els anàlisis QTAIM i NCIPlot de quatre complexos prototípics del receptor basat en triazol. Per els complexos de lligands donadors neutres (14 i 17), l'anàlisi QTAIM mostra el corresponent enllaç mencionat anteriorment i la ruta d'enllaç que connecta el Zn amb els àtoms de N de les bases de Lewis, confirmant l'existència de les interaccions SpB. La distribució també mostra altres interaccions addicionals als dos complexos.

A la mateixa il·lustració també es representen els anàlisis de dos complexos aniònics, on es confirma la formació de interaccions anió...π i SpB, interaccions no covalents. Aquestes interaccions anió...π es donen entre els parells d'electrons lliures i el sistema π dels anells de triazol, que tenen caràcter electropositiu.

5. Conclusions

En conclusió, segons els resultats comentats en aquest treball es demostra l'existència de SpBs a la proteïna **6OGO**. Basant-se en l'entorn del Zn de la proteïna, els receptors imidazol i triazol han estat dissenyats i provats amb distintes bases de Lewis i anions. Per els **donadors neutres** l'enllaç d'hidrogen predomina en els receptors basats en l'imidazol i el SpB predomina en els receptors basats en triazol. Per als **donadors** d'electrons **aniònics**, el SpB en combinació amb l'HB (imidazol) o les interaccions anió $\cdots\pi$ (triazol) són responsables del reconeixement molecular. Les energies d'interacció són dèbils per al donadors neutres i grans per als anions. Els anions petits i nucleòfils afavoreixen la formació d'enllaços de coordinació i els no coordinats com BF_4^- i ClO_4^- interactuen mitjançant una combinació de SpB i anió $\cdots\pi$.

ARTICLE

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

 Rosa Llull,^a Gaizca Montalbán,^a Ivan Vidal,^a Rosa M. Gomila,^b Antonio Bauzá^a and Antonio Frontera^{a,*}

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

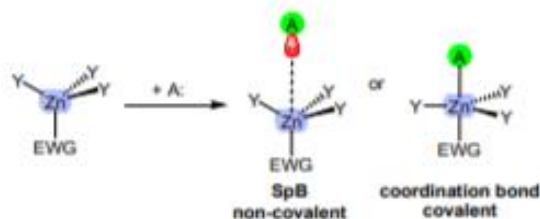
DOI: 10.1039/x0xx00000x

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 tetrahedral¹⁵ SpX_4 and square pyramidal¹⁶ 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 (Balears), Spain. Email: toni.frontera@uib.es
^b Servei Científic-Tècnic, Universitat de les Illes Balears, Crta. de Valldemossa km 7.5, 07122 Palma de Mallorca (Balears), 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