

# Metales, disolventes, proteínas: la importancia del entorno químico

- El entorno químico de los metales, disolventes y las proteínas a menudo tiene una gran influencia en las propiedades y reactividad de las (bio)moléculas. Las técnicas de química computacional juegan un papel clave para entender la importancia de las interacciones de las (bio)moléculas con el entorno y proporcionar una mejor comprensión de los factores que intervienen en el proceso. Esta información puede ser explotada para optimizar los catalizadores, mejorar la percepción del gusto, u ofrecer vías para el diseño de agentes moleculares de contraste que permitan seguir la concentración en el organismo de determinadas proteínas o agentes químicos.

**Marcel Swart<sup>a,b,c</sup>, Miquel Solà<sup>a,c</sup>,  
Silvia Osuna<sup>a,c</sup>, Jordi Poater<sup>a,c</sup>.**

<sup>a)</sup> Institut de Química

Computacional y Departament de Química, Universitat de Girona, Campus Montilivi, 17071 Girona, Spain

<sup>b)</sup> Institució Catalana de Recerca i Estudis Avançats (ICREA), Pg. Lluís Companys 23, 08010, Barcelona, Spain

<sup>c)</sup> Red de Referencia en Química Teórica y Computacional (XRQTC)

Uno de los mejores ejemplos de la importancia del entorno químico lo encontramos en las enzimas. Se trata de moléculas de proteínas que tienen la capacidad de facilitar y acelerar (catalizar) las reacciones químicas que tienen lugar en los organismos vivos. En general las enzimas consiguen que una determinada reacción sea mucho más rápida y eficiente, que genere menos productos secundarios y todo ello trabajando en condiciones de temperatura y presión muy suaves.

Mediante una determinada disposición en el espacio, las enzimas consiguen proteger su centro activo de la interferencia de otras actividades, es decir, el entorno del centro activo está optimizado para alcanzar una máxima eficiencia catalítica, lo que se consigue, en parte, forzando el centro activo a realizar una única tarea que no es más ni menos que la reacción para la cual ha sido diseñado. Aparte de este papel pasivo de la enzima, por lo general también desempeña un papel activo en el que uno o más grupos del centro activo facilitan (o participan en) la reacción. Este doble papel pasivo y activo no se limita al entorno enzimático (proteico), sino que se observa en un sentido más amplio. Otras dos entidades químicas que también muestran esta doble función son los iones metálicos (de transición) y los disolventes. Las moléculas de disolvente a menudo tienen un papel decisivo en la viabilidad de una reacción, es decir, reac-

ciones que se producen espontáneamente en fase gaseosa pueden verse obstaculizadas si se hacen en solución, y viceversa. La función pasiva del disolvente se puede entender con bastante facilidad en términos de interacciones electrostáticas en las que los disolventes polares favorecen la localización de carga y desfavorecen la deslocalización. Por ejemplo, en el caso de una reacción de sustitución nucleofílica bimolecular ( $S_N2$ ) los reactivos y productos tienen cargas localizadas, mientras que en el estado de transición la carga está mucho más deslocalizada con respecto a los complejos de reactivos y productos (ver más adelante). En consecuencia, la barrera de reacción aumenta considerablemente, por ejemplo, de aprox. 5 a 15 kcal mol<sup>-1</sup> en fase gaseosa a 30-50 kcal mol<sup>-1</sup> en solución acuosa. Una situación diferente ocurre en un caso paradigmático como es el de la reacción de Menshutkin, donde se parte de

reactivos neutros y se termina en productos cargados. Hay un incremento de la carga y de la localización de la misma a lo largo del proceso por lo que la reacción se ve muy favorecida en disolventes polares. También hay muchos ejemplos (como los catalizadores de Fischer, Schrock o Grubbs) donde los metales son fundamentales para que estos sistemas puedan llevar a cabo su actividad catalítica. Además, la actividad de una gran cantidad de enzimas depende de la presencia de iones metálicos (de transición) en su centro activo o en una posición cercana a éste. Esto es especialmente cierto para muchos de los procesos biológicos que tienen lugar en las especies vivas, ya sean plantas, animales o seres humanos. La regulación de estos procesos dentro y fuera de las células involucra una red muy compleja de sistemas interconectados. Entender cómo funcionan estos procesos y cuáles son las influencias de los diferentes componentes que participan en ellos no es una tarea fácil. Por otra parte, dejar fuera alguno de los componentes importantes puede traer como consecuencia la aparición de anomalías en dicha red de sistemas interconectados que pueden o no tener un efecto claro sobre la reacción. Esto hace que, mediante estudios exclusivamente experimentales, sea difícil identificar con claridad las consecuencias de eliminar sólo un componente. Ésta es una de las muchas razones que explican la popularidad y la importancia de los estudios computacionales en

estos casos. Además, dichos estudios siguen siendo muy útiles y esenciales para comprender el mecanismo de acción de catalizadores organometálicos, como el catalizador de Schrock.

Dentro de la química computacional existen básicamente dos grandes líneas de investigación: basadas en la mecánica cuántica (MC) o en la mecánica molecular (MM). En este segundo caso, se trabaja normalmente con campos de fuerza simplificados con los que se puede estudiar el papel pasivo del disolvente o de los entornos proteicos. El método basado en la MC es más preciso y detallado y se utiliza en el caso que se produzca una participación directa de las moléculas del entorno en el proceso químico. Esto ocurre, por ejemplo, cuando se rompen o se forman enlaces químicos en los que están involucradas moléculas del entorno, o cuando intervienen metales de transición como el hierro o el manganeso en diferentes estados de oxidación. La interacción de estos iones metálicos es difícil de generalizar en términos de una descripción simplificada MM, debido a la participación activa de los orbitales d

en los procesos. Sin embargo, si la única función de los iones metálicos es pasiva (es decir, actúan sólo a través de interacciones electrostáticas) pueden incluirse sin problemas en estudios MM si se utilizan campos de fuerza adecuados como Gromos, Charmm o AMBER para las proteínas, o OPLS para los disolventes orgánicos.

Recientemente, hemos estudiado el entorno químico de varias maneras, ya sea por medio de la MC y/o mediante técnicas de MM. Un ejemplo muy claro de cómo la reacción está determinada por la presencia de metales se mostró en un caso de fullerenos que incorporan metales en su interior, los llamados metalofullerenos endoédricos, y en particular en el caso de los sistemas  $M_3N@C_{78}$  (ver Figura 1). Estas estructuras están formadas por un fullereno  $C_{78}$  de simetría  $D_{3h}$  o  $C_2$  que durante su formación ha incorporado en su interior una molécula de nitruro trimetálico. Hemos estudiado como varía la reactividad exterior del  $C_{78}$  al encapsular en su interior una molécula de  $M_3N@C_{78}$  mediante la investigación de la cinética y la termodinámica de la cicloadición Diels-Alder [4 + 2] de una

molécula de 1,3-butadieno sobre todos los enlaces no equivalentes que se encuentran en la superficie externa del fullereno. La reacción en el fullereno aislado es cinéticamente viable con barreras energéticas que son unos 5.5 kcal mol<sup>-1</sup> inferiores a las que se calculan para la reacción Diels-Alder más simple posible, esto es, la cicloadición entre el 1,3-butadieno y el etileno que se lleva a cabo en condiciones relativamente suaves. La encapsulación de un grupo  $Sc_3N$  dentro de la jaula reduce drásticamente esta reactividad y la barrera de reacción se incrementa en más de 6 kcal mol<sup>-1</sup>. No sólo se produce una reducción de la reactividad, sino que también cambia la regioselectividad del fullereno, de tal manera que el enlace más reactivo no es el mismo en los sistemas  $C_{78}$  y  $Sc_3N@C_{78}$ .

Curiosamente, la regioselectividad vuelve a cambiar drásticamente cuando sustituimos el grupo  $Sc_3N$  por un grupo  $Y_3N$  en el metalofullereno. Mientras que para los sistemas  $Sc_3N@C_{78}$  y  $C_{78}$  los enlaces [6,6] (caso de un enlace situado en el punto de unión de dos anillos hexagonales) eran los más reactivos, para el compuesto  $Y_3N@C_{78}$  el más reactivo es un enlace [5,6] (situado entre un anillo pentagonal y otro hexagonal). Además, la barrera de

la reacción disminuye ligeramente, aproximadamente unas 1.5 kcal mol<sup>-1</sup> en comparación con las del sistema  $Sc_3N@C_{78}$ . Una de las conclusiones más interesantes de estos estudios fue, sin duda, demostrar que para el sistema  $Y_3N@C_{78}$  los enlaces más reactivos son los que presentan las mayores longitudes de enlace C-C. Esto contrasta con el caso de los sistemas  $Sc_3N@C_{78}$  y  $C_{78}$ , donde los enlaces con distancias C-C menores fueron los más reactivos, tal como indicaban también estudios previos sobre la reactividad de fullerenos como el  $C_{60}$  o el  $C_{70}$ . Esta tendencia inesperada del  $Y_3N@C_{78}$  a reaccionar sobre los enlaces más largos pudo explicarse por dos factores: en primer lugar, por la gran deformación que sufre la caja del fullereno, sobre todo en las zonas situadas cerca de los átomos de itrio (donde se encuentran los enlaces más largos y más reactivos), con lo que el ataque reduce la tensión del sistema; y en segundo lugar, por la configuración más plana que puede adquirir el grupo  $Y_3N$  en este caso. Los métodos de química computacional utilizados fueron en este caso fundamentales para obtener una imagen cuantitativa de conceptos que por otro lado son intuitivos y fáciles de comprender.

Esta coherencia entre los

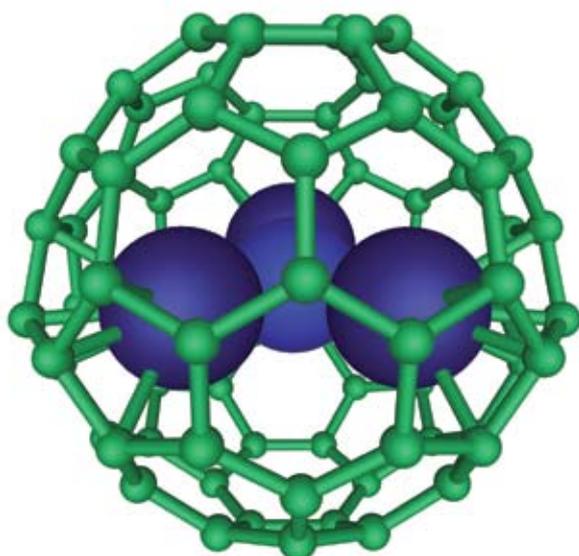


Figura 1. Metalofullerenos endoédricos  $M_3N@C_{78}$  ( $M=Sc,Y$ )

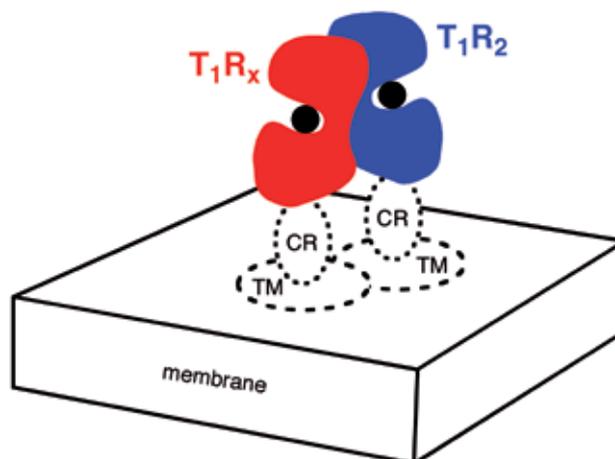
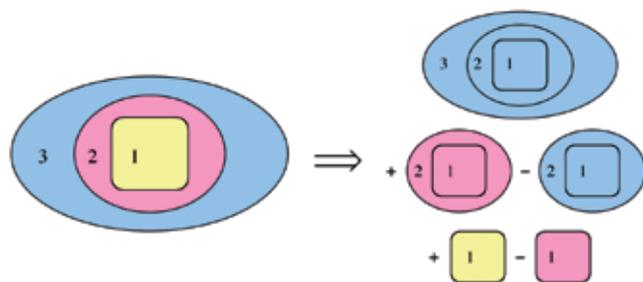


Figura 2. Receptor del gusto dulce.



**Figura 3.** Método multinivel generalizado (parte 1 en amarillo: MC de alto nivel, parte 2 en rosa: MC de bajo nivel, parte 3 en azul: MM simplificado).

conceptos químico-biológicos y los resultados computacionales también se hizo evidente en un estudio conjunto con la empresa Lucta, en el que investigamos a nivel atómico y mediante cálculos de MM la relación entre la percepción del gusto dulce y las interacciones que se producen entre los edulcorantes y el receptor del gusto dulce en los seres humanos (el sistema proteico  $T_1R_2-T_1R_3$ , Figura 2). En nuestro estudio se analizaron las interacciones de las moléculas de los compuestos dulces con el sitio de unión de la proteína del receptor, observándose una clara correlación entre el resultado macroscópico de la potencia edulcorante relativa de un determinado compuesto y el microscópico correspondiente a la interacción de energía entre receptor y sustrato. Como se esperaba, los edulcorantes que presentan una mayor potencia en comparación con la sacarosa (azúcar) mostraron una energía de interacción manifiestamente mayor con el receptor del sabor dulce. Asimismo, comprobamos como los compuestos que no tienen sabor dulce interactúan sólo ligeramente con el receptor. En la actualidad estamos ampliando estos estudios para incluir otros receptores de sabor en humanos y cerdos con el objetivo de determinar moléculas que tengan una gran respuesta gustativa. En otro proyecto en colaboración con el Hospital Dr. Josep Trueta

de Girona se está utilizando la misma metodología para estudiar si se pueden diseñar marcadores que permitan mejorar la producción de imágenes a nivel molecular para entender mejor la evolución de determinadas enfermedades.

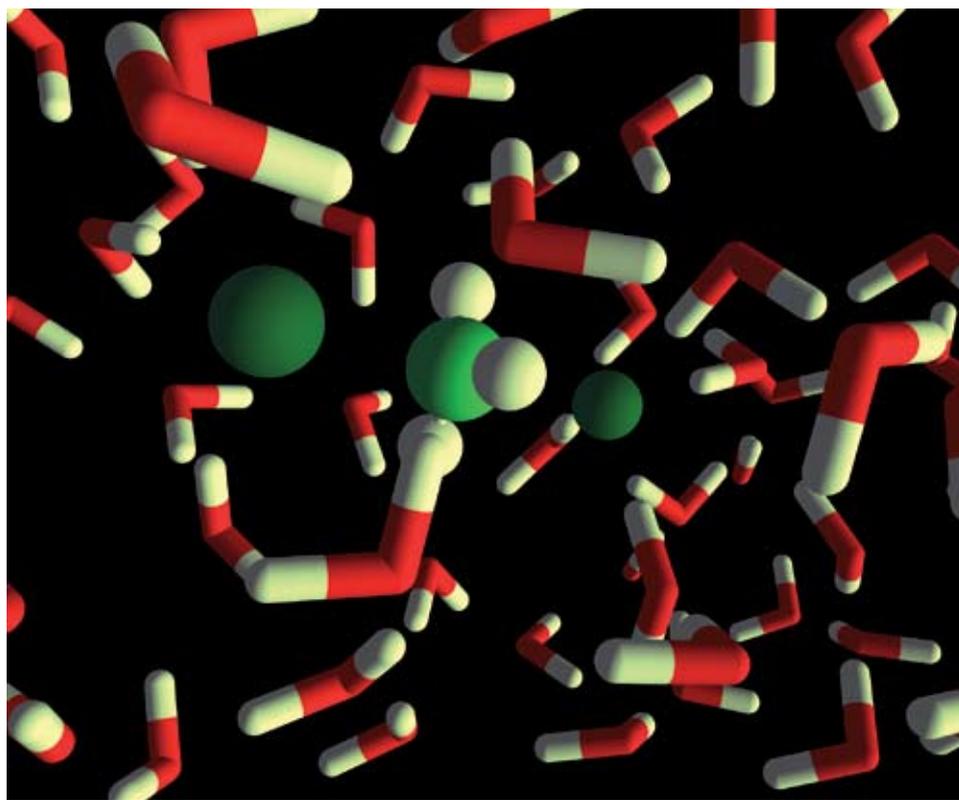
Hasta ahora, hemos hablado de ejemplos en los que todo el sistema ha sido tratado de forma conjunta a un mismo nivel, ya sea de forma muy detallada (MC) o de forma simplificada (MM). Muy a menudo, sin embargo, es ventajoso combinar

los dos niveles. En este caso el sitio de interés se estudia en detalle, mientras que las interacciones con el entorno son tratadas a un nivel inferior. Este proceso también se puede llevar a cabo combinando varios niveles, por ejemplo, una pequeña región se estudia con un nivel de MC alto, seguido de otra región mayor que rodea la primera y que se trata a un nivel de MC bajo, para finalmente tratar el resto del entorno con un método MM simplificado (véase la Figura 3). Recientemente hemos diseñado un método multinivel generalizado (QUILD: QUantum-regions Interconnected by Local Descriptions) en el que el software construido permite tratar los distintos niveles de forma automática con una serie de paquetes de MC y MM.

Hemos utilizado el software de QUILD para estudiar

el efecto del agua como disolvente en una reacción de sustitución nucleofílica  $S_N2$ :  $F^- + CH_3Cl \rightarrow CH_3F + Cl^-$ . El sustrato y el nucleófilo fueron colocados en una caja rectangular y rodeados de moléculas de agua (véase la Figura 4a). En este estudio se utilizó el método MC/MM, es decir, las interacciones entre el nucleófilo ( $F^-$ ) y el sustrato ( $CH_3Cl$ ) se obtuvieron por MC, mientras que las interacciones con y entre las moléculas de agua se describieron mediante MM.

La presencia de las moléculas de disolvente tiene un efecto drástico en el perfil energético (véase Figura 4b). En fase gaseosa, la reacción es exotérmica y tiene una barrera de activación baja, mientras que en solución acuosa el proceso se convierte en endotérmico y presenta una barrera importante. La clave para comprender este efecto del solvente son las interacciones electrostáticas, cuyo efecto es mayor para



**Figura 4a.** Representación del entorno de la reacción:  $F^- + CH_3Cl \rightarrow CH_3F + Cl^-$  en agua.

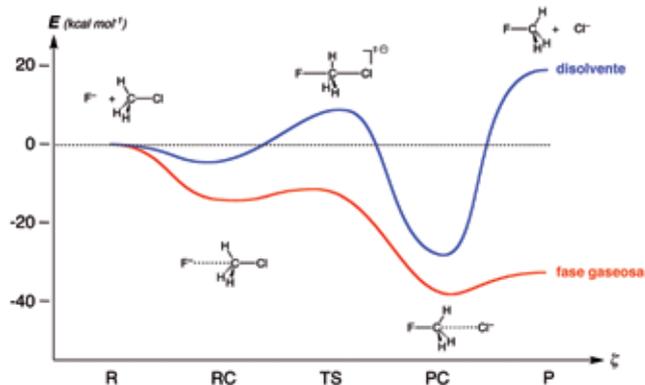


Figura 4b. Reacción de sustitución nucleofílica  $S_N2$  en fase gaseosa y en disolvente:  $F^- + CH_3Cl \rightarrow CH_3F + Cl^-$ .

los sistemas que presentan cargas localizadas y menor para los que las presentan dispersas (deslocalizadas). Por lo tanto, la solvatación es más favorable en el caso de los aniones fluoruros que son más pequeños en comparación con el anión cloruro que es más grande (de ahí que la reacción sea endotérmica en solución), y más favorable para los reactivos y el complejo de reactivos que para el estado de transición (por eso se produce el aumento de la barrera de reacción).

El papel pasivo del disolvente también puede ser capturado con el uso de una burda aproximación para el efecto del disolvente, mediante la inclusión de un modelo de dieléctrico continuo como el desarrollado en el método COSMO o en el método PCM. En estos modelos, sólo se tiene en cuenta la respuesta macroscópica del disolvente y cualquier interacción directa es ignorada completamente. Por lo tanto, estos modelos no son capaces de dar una buena descripción de las situaciones en que el solvente participa activamente en los procesos. A pesar de su simplicidad, estos métodos son capaces de dar energías de solvatación bastante razonables. Por otra parte, debido a que el disolvente se basa en un dieléctrico continuo y no hay que incluir moléculas de disolvente de forma explícita, el coste adicional del cálculo

es limitado. Esto contrasta con la situación que tenemos en los métodos MC/MM en los que el número de grados de libertad, y por lo tanto el coste computacional, aumenta rápidamente. Sin embargo, los enfoques MC/MM o MC/MC más detallados permiten un estudio más preciso de la participación de disolvente en los procesos químicos y biológicos. Asimismo, los modelos de dieléctrico continuo no son adecuados para la descripción de la enzima y el entorno proteico, ya que sólo describen el efecto electrostático (favorable). La función espacial restrictiva que produce la proteína y que permite mejorar la eficiencia de los catalizadores está totalmente ausente en estos modelos. Por lo tanto, al estudiar la función de las proteínas el entorno proteico debería incluirse completamente al menos con una descripción MM.

Los campos de fuerza MM simplificados como Amber o Gromos han sido diseñados para dar una descripción razonable de las interacciones en los sistemas biológicos. Sin embargo presentan una gran desventaja: el efecto de la polarización no está incluido en las interacciones. Dentro de los métodos MC, la polarización se tiene en cuenta automáticamente, es decir, cuando dos moléculas se acercan sus distribuciones electrónicas

cambian con el fin de optimizar las interacciones electrostáticas mutuas. Como resultado, el momento dipolar del agua cambia de forma significativa, desde un valor de 1.8 Debye en fase gaseosa a una media de 2.6 Debye en la fase líquida, debido al efecto de polarización de las moléculas de agua que se encuentran en el solvente. Hay que tener en cuenta que éste es un proceso dinámico, y que el dipolo instantáneo en un momento dado se observa entre 2.2 y 3.0 Debye. Esta reordenación de la distribución de cargas (polarización) no está incluida explícitamente en los campos de fuerza simplificados MM, aunque sí de forma efectiva. En muchos casos, se parametriza el modelo para que éste reproduzca el comportamiento de las moléculas de agua en el líquido, lo que significa que los métodos simplificados MM incurren en un error de aproximadamente un 20-30%.

Este error puede evitarse fácilmente mediante el uso de métodos MM más sofisticados, como pueden ser los campos de fuerza polarizables (tercera generación) entre los que se incluye el Campo de Reacción Discreto (DRF). Estos métodos sofisticados incluyen la polarización, con interacciones que son físicamente válidas. Estos se han utilizado, por ejemplo, para estudiar los efectos del disolvente en reacciones de química orgánica y sobre las propiedades moleculares (óptica no lineal, espectros de UV-Vis, polarización repentina en estados excitados de etilenos simétricos), y actualmente se utilizan para estudiar el magnetismo y la radiación UV-Vis en la física del estado sólido. Dado que el enfoque DRF está basado en una física correcta, y la parametrización se produce directamente a partir de datos

de las moléculas aisladas, no hay necesidad de modificar los parámetros a posteriori y puede ser aplicado directamente a cualquier sistema. Como tal, la influencia del entorno químico puede ser estudiada directamente, tanto en su papel pasivo como en su participación activa en la química o los procesos biológicos.

Por el momento, estamos en la fase inicial de ampliar nuestra investigación en el campo de la biomedicina, en la que planeamos estudiar la influencia de los iones metálicos y otras entidades químicas en procesos biológicos esenciales en los seres humanos. Estos procesos incluyen el estudio de especies reactivas de oxígeno, que a menudo están asociadas con el proceso de envejecimiento o relacionadas con enfermedades humanas neurodegenerativas. Para estos sistemas, parece que existe un delicado equilibrio entre los iones metálicos, proteínas, y solvente. En estos casos es necesaria una comprensión global de cómo estos distintos factores se influyen entre sí. Nuestra investigación tiene por objeto proporcionar las herramientas para una comprensión más profunda de estos sistemas fascinantes. •

#### Referencias:

1. S. Osuna, M. Swart, J.M. Campanera, J.M. Poblet and M. Solà. Chemical Reactivity of  $D_{3h}$   $C_{78}$  (Metallo)Fullerene: Regioselectivity Changes Induced by Sc<sub>3</sub>N Encapsulation. *Journal of the American Chemical Society* 130, 6206-6214 (2008).
2. S. Osuna, M. Swart and M. Solà. The Diels-Alder reaction on endohedral  $Y_3N@C_{78}$ : The importance of the fullerene strain energy. *Journal of the American Chemical Society* 131, 129-139 (2009).
3. M. Swart and F.M. Bickelhaupt. QUILD: QUantum-regions Interconnected by Local Descriptions. *Journal of Computational Chemistry* 29, 724-734 (2008).
4. P.Th. van Duijnen, M. Swart and L. Jensen. The Discrete Reaction Field approach for calculating solvent effects. Book chapter in *Solvation Effects on Molecules and Biomolecules: Computational Methods and Applications*, Springer Series "Challenges and Advances in Computational Chemistry and Physics", Vol. 6; S. Canuto (Ed.); Springer, NY, p. 39-102 (2008).