

Polioxometalatos con metales nobles y su uso como fármacos antitumorales y contra la resistencia bacteriana a los antibióticos

Mireya García Gracia

Grado en Biotecnología

Curso 2021-2022

Director: Adrià Gil Mestres

Ponente: M^a Concepción Gimeno Floría



Universidad
Zaragoza

Indice

Resumen	3
Objetivos	4
1. Introducción	5
1.1. ¿Qué son los polioxometalatos?	5
1.2. Aplicación de polioxometalatos clásicos en medicina	5
1.3. Polioxometalatos con metales nobles	7
1.4. Polioxoauratos	7
1.5. Hidrólisis del enlace fosfoéster	8
2. Metodología	9
2.1. Superficies de potencial	9
2.2. Teoría del Funcional de la Densidad	10
2.2.1. Teorema de Hohenberg y Kohn	11
2.2.2. Intercambio y correlación	11
2.2.3. Bases de cálculo	12
2.2.4. Modelos de disolvente	12
2.3. Software utilizado	13
3. Resultados	13
3.1. Polioxoaurato de arsénico	13
3.2. Generación del polioxoaurato de fósforo	13
3.3. Polioxoauratos de arsénico y fósforo	14
3.4. Mecanismo de hidrólisis del enlace fosfoéster sin catalizar	15
3.5. Mecanismo de hidrólisis del enlace fosfoéster incluyendo polioxoauratos	17
3.5.1. Reacción mediante polioxoaurato de arsénico	17
3.5.2. Reacción mediante polioxoaurato de fósforo	19
Conclusiones	20
Perspectiva de futuro	21
Bibliografía	22

Resumen

Los polioxometalatos son moléculas aniónicas complejas que contienen metales de transición y gran cantidad de oxígeno. Se han usado compuestos que contienen vanadio en ensayos *in vitro* para el estudio de su efectividad como tratamientos antibacterianos y antitumorales. Por otro lado, se han observado potenciales aplicaciones industriales para una nueva forma de polioxometalatos con metales nobles, particularmente la plata; no obstante, no se han estudiado todavía su uso en el campo de la biomedicina. En este trabajo se ha estudiado *in silico* la actividad fosfoesterasa de moléculas de polioxoaurato mediante Teoría del Funcional de la Densidad. Para ello se han utilizado sistemas que contienen polioxoauratos de arsénico y fósforo junto con la molécula modelo p-nitrofenilfosfato (pNPP) para el estudio de la hidrólisis del enlace fosfoéster y se han comparado sus respectivos perfiles de energía libre de Gibbs con los perfiles energéticos obtenidos para el proceso de hidrólisis del pNPP sin catalizar.

Abstract

Polyoxometalates are complex anionic molecules that contain transition metals and a great amount of oxygen atoms. Compounds with vanadium have been used in *in vitro* assays to study their effectiveness in anti-tumoral and anti-bacterial treatments. On the other hand, several industrial applications of polyoxometalates with noble metals, particularly silver, have been observed and studied; however, no assessment of their use in the biomedical field has been carried out yet. In this work, the potential phosphoesterase activity of polyoxoaurates has been studied *in silico* using Density Functional Theory. To achieve this purpose, systems containing arsenic and phosphorus polyoxoaurates together with the model molecule p-nitrophenylphosphate (pNPP) have been used to study the hydrolysis of the phosphoester bond and their respective Gibbs free energy profiles have been compared with the energy profiles obtained for the uncatalyzed pNPP hydrolysis process.

Objetivos

El objetivo que se plantea en este trabajo, desde el punto de vista químico, es intentar encontrar aplicaciones biomédicas, en concreto actividades antitumorales y antibacterianas, a un nivel fundamental.

Asimismo, se pretende estudiar la posible catálisis del enlace fosfoéster mediada por polioxoauratos para estudiar su actividad como fosfoesterasa artificial puesto que si bien se han conseguido sintetizar polioxometalatos nobles, sus aplicaciones, sobretudo en el campo de la biomedicina, todavía no han sido muy exploradas.

Los POMs coordinados por metales de transición presentan una serie de actividades biomédicas interesantes. Los polioxometalatos de vanadio (POV) han presentado evidencias de actividad antitumoral de forma que atacan a las células cancerígenas sin afectar a las células humanas sanas con $IC_{50} = 0,72$ y $1,8 \mu M$ contra el adenocarcinoma pulmonar y el adenocarcinoma de mama, respectivamente. En un estudio con imatinib *in vitro* se encontró con que la menor IC_{50} que obtenían en el ensayo equivalía a $0,77 \mu M$ y la mayor $1,65 \mu M$ [4] Otros estudios con fármacos utilizados para tratamiento de cáncer aportan valores de IC_{50} de $2,6 \mu M$ para el cisplatino y $20,3 \mu M$ para el carboplatino. [5]

Otros análisis que también han descrito el potencial de los POMs como posible terapia anti-cancerígena son, por ejemplo, los de Bijelic et al. que describen el uso de las nanoesferas con el POM $\{Gd(W_5O_{18})_2\}^{9-}$ conjugado con quitosán y siRNA dirigido contra el gen HIF-1, que funciona como un radioestabilizante de forma que reduce la radioresistencia de células tumorales sin causar toxicidad sistémica. [6]

También han presentado evidencias de actividad antimicrobiana contra bacterias tanto Gram positivas (*Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*) como Gram negativas (*Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Mycobacterium tuberculosis*) y como antiviral contra el virus de Clorella. Es interesante destacar que el mismo compuesto (POM cuyo heteroátomo es el V_{10}) se utilizó tanto contra Gram positivas como Gram negativas para ensayar las diferentes aplicaciones biomédicas y que en todos los casos dio resultados positivos. [7, 1].

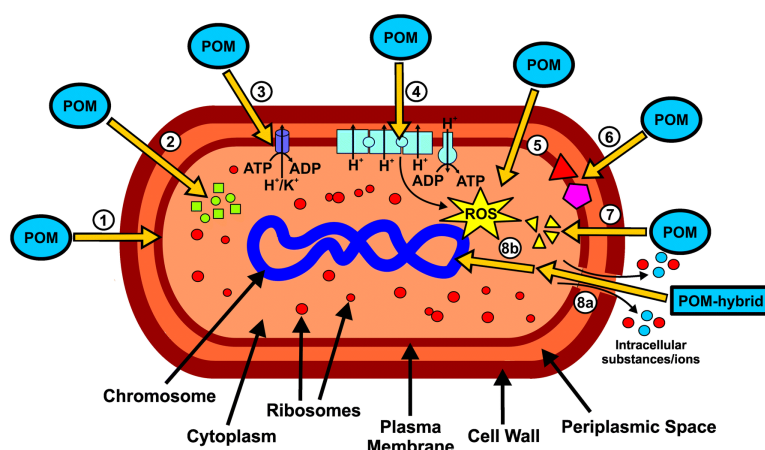


Figura 2. Ilustración de los mecanismos propuestos para la actividad anti-bacteriana de los POMs. [1]

1.3. Polioxometalatos con metales nobles

Los polioxometalatos coordinados por metales nobles, en concreto la plata ($\{Ag^I PW_{11}O_{39}\}$), han sido usados a nivel industrial para la mejora de la reversibilidad de procesos redox del átomo de azufre y sulfuro en pilas. Otro uso de los POMs con metales nobles se ha reportado por Cao et al. [8] En su estudio generaron nanoesferas con el POM de platino modificado. Se observó que presentaban una elevada eficacia fotocatalítica en comparación con otros compuestos similares, así como una elevada estabilidad.

Liu et al. consiguieron sintetizar un POM sustituido con rodio que presentaba conductividad de protones sensible a la humedad y a la temperatura. Demostraron que este POM en presencia de humedades relativas de entre 25-80%, aumentaba considerablemente el transporte de protones; se infirió que el aumento de las moléculas de agua aumentaba la conducción de protones. [9] En todo caso, no se han encontrado todavía aplicaciones médicas de POMs con metales nobles, por ello este estudio se centra en explorar una posible aplicación en este campo.

1.4. Polioxoauratos

Hay evidencias de que moléculas que incluyen oro conjugadas con POMs generan nuevos materiales con características especiales. Debido a la carga neta negativa que se adquiere en la formación de los POM, el átomo de oro se ve estabilizado dentro de la estructura.[10,11,12] No obstante, hay escasa información sobre el uso de oro como átomo sustituyente en la estructura de un complejo polioxometalato aplicado a medicina.

El polioxoaurato $[Au^{III}_4As^V_4O_{20}]^{8-}$ es el primer heteropoliaurato completamente inorgánico que se ha conseguido sintetizar. Presenta elevada estabilidad térmica y oxidativa y habilidad para activar fácilmente agentes oxidantes como el O_2 y H_2O_2 , haciéndolos propicios para catálisis, nanotecnología y medicina. [13]

Pese a su potencial en clínica, no se han realizado estudios sobre la aplicación de polioxometalatos con metales nobles en el desarrollo de tratamientos farmacológicos en

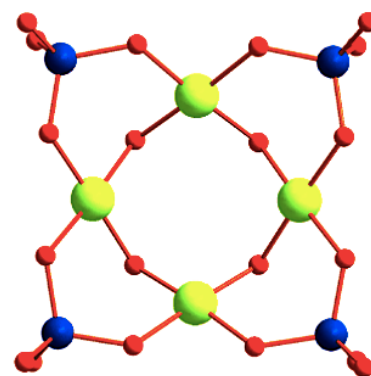


Figura 3. Representación tipo “ball and stick” de $[Au^{III}_4As^V_4O_{20}]^{8-}$ (Irazova et al., 2010). [13]

terapias antitumorales ni antibacterianas ni antivirales. En este trabajo se hará un estudio *in silico* de un posible mecanismo de acción de un polioxoaurato, cuya diana será el enlace fosfoéster de los ácidos nucleicos, para lo cuál se utilizará la molécula p-nitrofenilfosfato, que ha sido usada como modelo tanto a nivel computacional como a nivel experimental (véase *Figura 4*).

1.5. Hidrólisis del enlace fosfoéster

La hidrólisis del enlace fosfoéster se concibe mediante dos rutas diferentes: la asistida por sustrato y la asistida por disolvente. [14] En la primera ruta, la molécula de agua atacante es desprotonada por el sustrato mediante una transferencia del protón; en la segunda no hay transferencia de protones por parte del grupo nucleófilo.

La elección de uno u otro mecanismo depende de la naturaleza del grupo saliente, los buenos grupos salientes prefieren una ruta asistida por disolvente con un estado de transición disociativo; los peores grupos salientes reducen la diferencia de energía entre las dos rutas, lo que desemboca en una ruta asistida por sustrato. [15]

En cuanto a la transferencia del grupo fosfato catalizada enzimáticamente, en principio la reacción procedería mediante un mecanismo asistido por sustrato donde el grupo fosfato es el aceptor de protones final. Duarte et al. demuestran que tanto la presencia de una enzima como el de microsolventes puede afectar a las geometrías y barreras de activación estimadas; no obstante, la presencia de moléculas explícitas de agua permite realizar los cálculos obteniendo valores dentro de las fluctuaciones esperadas en las posiciones de las aguas. [14]

A nivel experimental, la caracterización cinética de este tipo de reacciones con relación a los estados de transición, barreras de energía y, por tanto, los mecanismos de reacción, no es accesible. Por ello las aproximaciones computacionales son importantes para comprender estas reacciones.

Lo que no puede hacerse son estudios experimentales cinéticos de caracterización de estados de transición, barreras de energía y por tanto los mecanismos de reacción.

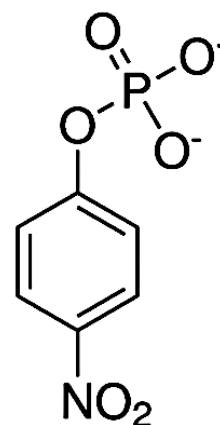


Figura 4. Estructura semi-esquemática de una molécula de pNPP en ausencia de sodio.

En este estudio *in silico* sobre la eventual capacidad catalítica del polioxoaurato $[\text{Au}^{\text{III}}_4\text{P}^{\text{V}}_4\text{O}_{20}]^{8-}$, se hará uso del pNPP como modelo del enlace fosfoéster para la evaluación de su hidrólisis mediante la localización y caracterización de los diferentes puntos estacionarios que se encuentran en la superficie de potencial asociada a este tipo de procesos. En concreto, se optimizarán y calcularán las frecuencias para reactivos, productos, posibles intermediarios y estados de transición. Esta molécula se ha usado no solo en trabajos computacionales [14,16] sino también en gran variedad de estudios experimentales. [17, 18]

2. Metodología

En este estudio computacional se busca evaluar la hidrólisis del para-nitrofenilfosfato, una molécula modelo para el estudio de la hidrólisis del enlace fosfoéster, catalizada por POMs basados en metales nobles como el oro. Esta evaluación se llevará a cabo mediante el método de la Teoría del Funcional de la Densidad (DFT) y el análisis de las superficies de potencial para obtener los puntos estacionarios asociados (reactivos, estados de transición, intermedios y/o productos) y de este modo el perfil de energías de reacción.

2.1. Superficies de potencial

Las superficies de potencial describen la energía de un sistema, en general agrupaciones de átomos, en términos de parámetros geométricos como sus posiciones. Se pueden usar para explorar de forma teórica las propiedades estructurales de átomos, p.e. hallar el mínimo de energía que puede presentar una molécula o la tasa de reacción.

Se trata de una herramienta para el análisis de la geometría molecular y dinámicas de reacción. Una vez que los puntos son evaluados en la superficie de potencial, se pueden clasificar dependiendo de las primeras y segundas derivadas de la función de energía respecto a la posición.

En este caso, se busca que los valores de las derivadas se correspondan con un punto de silla, que nos dará el valor de energía del estado de transición; así como mínimos de energía, a partir de los cuáles se obtendrán los valores de energía de los reactivos, intermedios y productos. [19]

Para ello, se realizarán cálculos para la optimización de las geometrías de las moléculas participantes en las reacciones mediante química computacional. Con este proceso se trata de encontrar una posición de los átomos donde, de acuerdo con un método computacional (en este caso DFT), encontremos una fuerza inter-atómica cercana a cero o en el punto estacionario de la superficie de potencial.

El proceso de optimización se realiza para hallar las estructuras de mínima energía y puntos de silla. Buscamos encontrar mínimos locales y potenciales estados de transición, ambas situaciones corresponderían a puntos estacionarios de la superficie de potencial.

2.2. Teoría del Funcional de la Densidad (DFT)

Density functional theory o DFT es un método computacional basado en la mecánica cuántica utilizado para el estudio de las estructuras electrónicas de sistemas con muchos elementos, como átomos, moléculas o fases condensadas. Mediante esta teoría se pueden determinar las propiedades de sistemas con un amplio número de electrones mediante funcionales (funciones de otra función). [20]

El DFT se utiliza para resolver el problema de la estructura electrónica a la hora de encontrar el estado fundamental energético para electrones no-relativistas asociado a las posiciones de los núcleos una vez se ha aplicado la aproximación Born-Oppenheimer. De esta forma se pueden predecir energías de enlace, así como distancias y estructuras, entre otras propiedades físico-químicas. [21]

La aproximación de Born-Oppenheimer se basa en la separación del movimiento del núcleo y el de los electrones que conforman un átomo a la hora de describir las trayectorias del mismo. El fundamento físico de esta aproximación consiste en que la masa del núcleo es 1000 veces superior a la de los electrones, considerando que la aceleración es inversamente proporcional a la masa; los electrones se mueven y responden a las fuerzas mucho más rápido. [22]

La ventaja principal de usar DFT respecto a otros métodos QM basados en la resolución de la ecuación de Schrödinger y la obtención de la función de onda es que los cálculos suelen ser muy precisos representando un coste computacional mucho más reducido; se considera la única forma de abordar sistemas más allá de cierta complejidad. [23]

2.2.1. Teorema de Hohenberg y Kohn

Demuestra que si tenemos dos estados no degenerados de dos sistemas de N electrones cuyos potenciales externos difieren en más de una constante, sus funciones deben ser distintas.

Esta definido por dos premisas principales:

1. “Dos sistemas de N electrones descritos por operadores Hamiltonianos cuyos respectivos potenciales externos difieren en más de una constante no pueden tener estados fundamentales con la misma densidad electrónica”. El potencial externo queda determinado por la densidad electrónica del estado fundamental. No puede haber dos sistemas diferentes con la misma densidad electrónica en su estado fundamental.

- Definimos el funcional de la densidad $F[\rho]$ como la suma de la energía cinética y de repulsión bielectrónica del estado fundamental de un sistema con densidad ρ . La energía total del sistema es un funcional de la densidad.

2. “El mínimo del funcional $F[\rho] + \int v(r)\rho(r) dr$ se obtiene cuando ρ es la densidad del estado fundamental asociada al potencial externo $v(r)$ ”. [24]

$$F[\rho] = E[\rho] - \int v(\mathbf{r})\rho(\mathbf{r}) d\mathbf{r} \quad \text{Ec. 1}$$

$$E_0 = E_v(\rho_0) = \int \rho_0(r)v(r)dr + F[\rho_0] \quad \text{Ec. 2}$$

2.2.2. Intercambio y correlación

Aún con las aproximaciones de Hohenberg y Kohn, no se conoce la forma para las energías de intercambio y correlación electrónicas. Estas corresponden a la interacción cuántica entre electrones, la primera debido al principio de exclusión de Pauli entre electrones del mismo espín y la segunda debido a la parte cuántica de la repulsión coulumbiana.

Para su determinación, se puede utilizar la Aproximación de la Densidad Local (LDA). Esto supone que en cada punto la energía de intercambio y correlación depende sólo de la densidad en ese punto. Además, se pueden utilizar Aproximaciones de Gradiente

Generalizado, que tienen en cuenta el valor de la densidad y sus gradientes y suelen dar mejores resultados que las LDA en geometrías moleculares y energías del estado fundamental. [25]

2.2.3. Bases de cálculo

Una base de cálculo (o *basis set*, en inglés) es un conjunto de funciones que se combinan de forma lineal para modelar orbitales moleculares. Las funciones de base representan los orbitales atómicos y son introducidas en los cálculos de química cuántica debido a que las ecuaciones que definen los orbitales serían difíciles de resolver de otra manera. [26]

En este estudio se hizo uso de la base de cálculo 6-31+G(d,p). Se ha elegido esta base de cálculo debido a que es la que representa de la forma más certera posible el sistema molecular de interés en relación con el coste computacional generado.

Un pseudopotencial es una aproximación matemática que se utiliza para describir de forma simplificada sistemas complejos, se trata de un intento de reemplazar los efectos del movimiento de los electrones centrales sin valencia de uno o más átomos y sus núcleos con un potencial efectivo, también llamado pseudopotencial. Debido a la presencia de átomos de oro, un metal de la segunda serie de metales de transición es necesario utilizar pseudopotenciales, en este caso LANL2DZ, que se utiliza junto con la base 6-31+G** para modernizar sistemas que contienen metales. [27, 28]

2.2.4. Modelos de disolvente

Un modelo de disolvente es una aproximación computacional que tiene en cuenta las fases condensadas solvatadas de las moléculas en estudio. Este tipo de técnicas permiten realizar simulaciones y cálculos termodinámicos de reacciones y procesos biológicos, químicos y medioambientales que tienen lugar en disolución. [29]

Para los análisis computacionales de este trabajo se ha usado el modelo continuo o implícito de disolvente Solvent Model based on Density (SMD). Se trata de un modelo de disolvente universal aplicable tanto a solutos con carga como sin ella en cualquier solvente o medio líquido, en este caso, el agua. Además, en el sistema en estudio se han incluido moléculas de agua explícitas. [30]

2.3. Software utilizado

El software principal utilizado para realizar este trabajo ha sido GAUSSIAN09 (G09), un programa utilizado para realizar estudios de química computacional. Para poder llevar a cabo este proceso mediante G09 se debe optimizar previamente la geometría de la molécula cuyas coordenadas se introducirán en el input file y caracterizar la estructura obtenida y/o el punto estacionario obtenido con el cálculo de las frecuencias (la no existencia de frecuencias negativas supone un mínimo local mientras que la existencia de una frecuencia negativa supone un punto de silla asociado a un estado de transición). Se ha hecho uso de las aplicaciones Avogadro y Molden para la construcción y visualización de las moléculas. [31, 32]

3. Resultados

3.1. Polioxoaurato de arsénico

Tras el diseño y optimización computacional, se obtuvo la estructura de polioxoaurato de arsénico que será usada como base para el resto del estudio (*figura 5*). A partir de esta molécula, se diseñarán el resto de compuestos utilizados para el análisis de la hidrólisis del enlace fosfoéster de la molécula de p-nitrofenilfosfato incluyendo polioxoauratos.

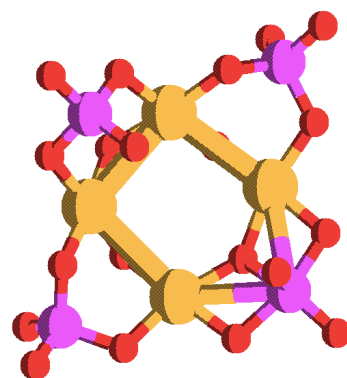
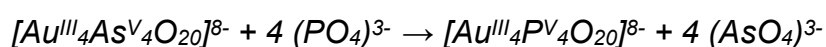


Figura 5. Estructura tipo “ball and sticks” del polioxoaurato de arsénico. Figura obtenida por Molden.

3.2. Generación del polioxoaurato de fósforo

Debido al carácter tóxico que presentan los compuestos que contienen arsénico, se plantea como alternativa la sustitución de los átomos de arsénico por átomos de fósforo, ya que presentaría, en principio, una toxicidad mucho más reducida.

A fin de indagar sobre la posibilidad de obtener el POM cuyos átomos de As se han sustituido por átomos de fósforo, se ha propuesto la siguiente reacción (*figura 6*):



Las energías libres absolutas no aportan información significativa en relación al estudio, por lo que se han comparado las energías finales de los reactivos ($[Au^{III}_4As^V_4O_{20}]^{8-}$; $(PO_4)^{3-}$) y de los productos ($[Au^{III}_4P^V_4O_{20}]^{8-}$; $(AsO_4)^{3-}$).



Figura 6. Perfil comparativo de energías libres de Gibbs relativas entre energía total de reactivos y energía total de productos.

Se ha calculado la diferencia entre las energías de los reactivos y la de los productos, se ha observado una diferencia de 988,3 kcal mol⁻¹. Se puede observar en la *figura 6* que la energía de los productos es muy inferior a la de los reactivos, por lo que se puede afirmar que la transformación del polioxoaurato de arsénico a polioxoaurato de fósforo es termodinámicamente muy favorable en un proceso en el que simplemente se intercambiaran los arseniatos por fosfatos.

3.3 Polioxoauratos de arsénico y fósforo

Una de las características de los polioxoauratos es la marcada simetría presente en su geometría; no obstante, debido al carácter computacional del estudio y a parámetros propios del software utilizado, en ocasiones pueden darse geometrías no simétricas, como se puede observar en la *figura 7.B*.

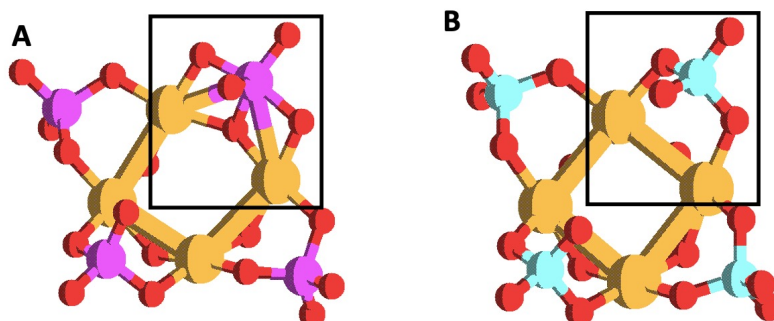


Figura 7. Representación tipo “sticks” de $[Au^{III}_4As^V_4O_{20}]^{8-}$ (A) y de $[Au^{III}_4P^V_4O_{20}]^{8-}$ (B). Figura obtenida por Molden.

Para tener una idea más cuantitativa de los parámetros geométricos, se procede al análisis de las distancias entre átomos representativos en su geometría.

En la *tabla 1* se aprecia que las distancias Au–O y P–O son similares por pares, lo que podría señalar simetría. Las distancias entre diferentes oxígenos y fósforo son ligeramente inferiores; esto se debe al menor radio atómico del átomo de fósforo en comparación con el radio de arsénico. Debido a la simetría se ha hecho una media entre

las distancias X—Au. Se debe tener en cuenta que las distancias no son equivalentes por simetría.

Tabla 1. Comparación de distancias entre átomos representativos del polioxoaurato de arsénico y polioxoaurato de fósforo. “X” corresponde a As o a P. Las distancias se han medido en el área marcada en la figura 7.

	<i>Distancia X–O (Å)</i>	<i>Distancia Au–O (Å)</i>	<i>Distancia X–Au (Å) (media)</i>
[Au^{III}₄As^V₄O₂₀]⁸⁻	1,726	2,057	3,084
	1,726	2,062	
	1,890	2,063	3,084
	1,890	2,040	
[Au^{III}₄P^V₄O₂₀]⁸⁻	1,556	2,108	3,236
	1,554	2,038	
	1,633	2,102	3,174
	1,634	2,021	

En cuanto a las distancias a los átomos de oro, las distancias del polioxoaurato de fósforo son mayores con diferencias de 0,152 Å y 0,09 Å respectivamente para cada media. En vista de los valores de energía obtenidos en el punto 3.2 de este apartado, se estima que la generación del polioxoaurato de fósforo es favorable y su geometría, estable. Por tanto, se considera que las diferencias entre distancias se deben a los distintos valores de radio atómico mencionadas anteriormente y no suponen a priori un impedimento para que se lleve a cabo la hidrólisis.

3.4. Mecanismo de hidrólisis del enlace fosfoéster sin catalizar

Previamente al estudio de la reacción incluyendo los polioxoauratos, se llevó a cabo el cálculo de las energías libres de Gibbs de la reacción sin catalizar haciendo uso del sistema modelo del enlace fosfoéster pNPP (véase 1.5. *Hidrólisis del enlace fosfoéster*) junto con cinco moléculas de agua. Una de las aguas actúa como nucleófilo y es, por tanto, la molécula reactiva; mientras que las otras cuatro moléculas de agua simulan el disolvente de forma explícita.

Se puede observar en la *figura 8* que la ruta asistida por sustrato presenta una barrera de energía libre superior a la ruta asistida por disolvente: 28,1 kcal mol⁻¹ frente a 21,7 kcal mol⁻¹, respectivamente. Esto es lo esperable, pues se debe considerar que en la ruta asistida por sustrato, la desprotonación de la molécula de agua causada por la transferencia de protones supone un aumento de la energía libre; mientras que en la ruta asistida por disolvente, esta desprotonación no tiene lugar.

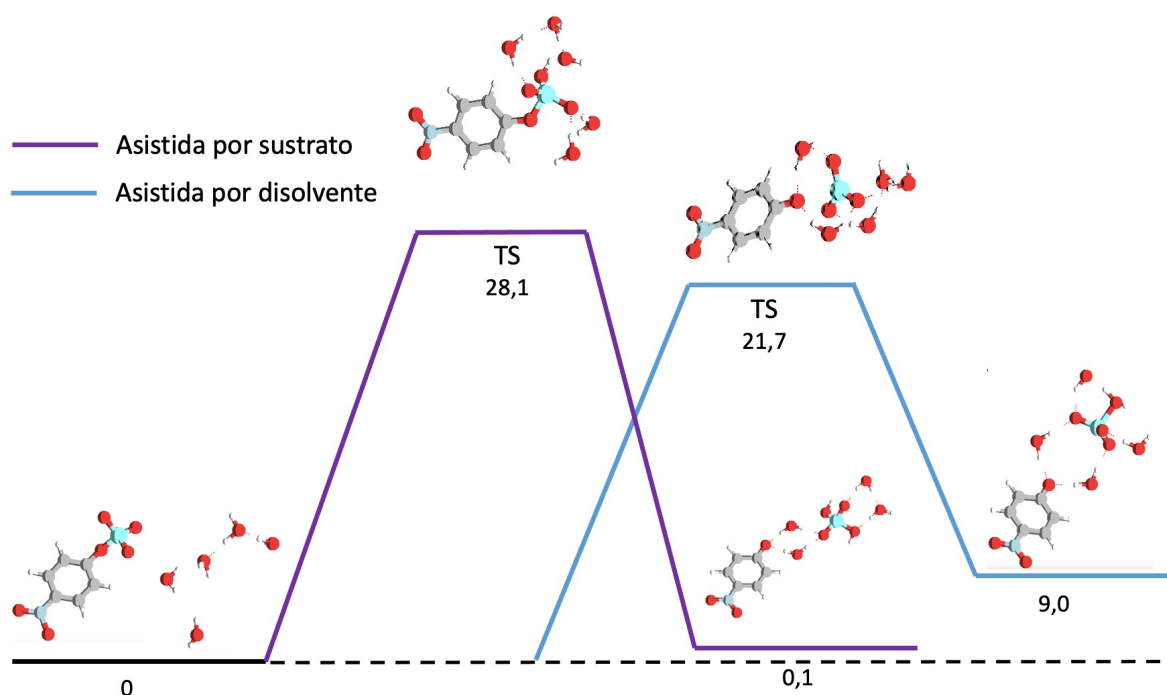


Figura 8. Perfiles de energías libres para la hidrólisis no catalizada de pNPP realizados mediante la metodología BP86/6-31+G(d,p) y aproximación continua SMD para el disolvente. Las energías aparecen en kcal mol⁻¹. Estructuras obtenidas mediante Molden.

De acuerdo a la *tabla 2*, los datos obtenidos a este nivel de cálculo son comparables con los recogidos en los estudios de Lanuza et al. [16] y Duarte et al. [14]. En el caso de la hidrólisis no catalizada, la ruta preferida cinéticamente en el caso de este trabajo es la asistida por disolvente, mientras que la ruta preferida termodinámicamente es la asistida por el sustrato. Esto se encuentra en concordancia con los otros dos estudios previamente mencionados.

Con los datos recogidos en la *tabla 2* se puede concluir que la utilización de la Aproximación de Gradiente Generalizado (véase 2.2.3. *Intercambio y correlación*) BP86 proporciona valores similares a los obtenidos por B3LYP [16] y, a su vez, se han obtenido valores semejantes a los obtenidos en el estudio de Duarte et al., haciendo uso de la misma base de cálculo (BP86/6-31+G**) y proporciona, por tanto, aproximaciones moleculares comparables.

Tabla 2. Comparación de energías libres de Gibbs relativas y distancias entre átomos representativos para la reacción.

		Energía libre de Gibbs (kcal mol⁻¹)	Distancia P–O del agua (Å)	Distancia P–O del pNPP (Å)
TFG	<i>Asistida por sustrato</i>	28,1	2,2	1,8
	<i>Asistida por disolvente</i>	21,7	2,7	2,7
Lanuza et al.	<i>Asistida por sustrato</i>	34,9	2,3	1,8
	<i>Asistida por disolvente</i>	26,5	2,3	2,5
Duarte et al.	<i>Asistida por sustrato</i>	33,2	2,2	1,9
	<i>Asistida por disolvente</i>	22,3	2,7	2,9

Teniendo en cuenta estos aspectos se puede confirmar que los resultados obtenidos en este trabajo a nuestro nivel de cálculo BP86/6-31+G(d,p) son buenas aproximaciones al estado de transición de la reacción de hidrólisis para el mecanismo no catalizado.

3.5. Mecanismos de hidrólisis del enlace fosfoéster incluyendo polioxoauratos

En este apartado se estudiará únicamente la ruta asistida por sustrato, esto se debe a que en este caso, debido a la mayor carga negativa que presentan las moléculas en esta ruta, la probabilidad de la transferencia del protón es mucho mayor. En el caso de la ruta asistida por disolvente, se genera una geometría tipo bipirámide trigonal (fosforano), que es muy difícil que se forme en la geometría generada por el polioxometalato.

3.5.1. Reacción mediante polioxoaurato de arsénico

Para la reacción en presencia de polioxoaurato de arsénico se ha observado una energía del estado de transición de 33,0 kcal mol⁻¹, superior a las obtenidas en el mecanismo de hidrólisis sin catalizar, tanto para la ruta asistida por sustrato como la asistida por solvente.

Esto implicaría una mayor dificultad a la hora de llevar a cabo la reacción; no obstante, en este análisis sólo se incorporó una molécula de agua explícita (el agua nucleófila que realiza la reacción) en el sistema. El análisis realizado por Martins et al. de la hidrólisis del enlace fosfoéster por el polioxomolibdato [Mo₂O₈H₄] demostró que

añadiendo 4 moléculas de agua en adición a la nucleófila genera un descenso de la barrera energética de hasta 11 kcal mol⁻¹. [33]

Para comprobar si este fenómeno era observable en este caso, se repitió el estudio añadiendo un número progresivamente mayor de aguas al sistema y se observó el aumento o descenso de energía en el estado de transición. En el caso de [Au^{III}₄As^V₄O₂₀]⁸⁻ la adición de dos moléculas de agua explícitas supuso un aumento de la energía de 2 kcal mol⁻¹ (véase *figura 9*). En principio, no nos permite afirmar o desmentir que la reacción de catálisis ocurra en presencia de esta molécula.

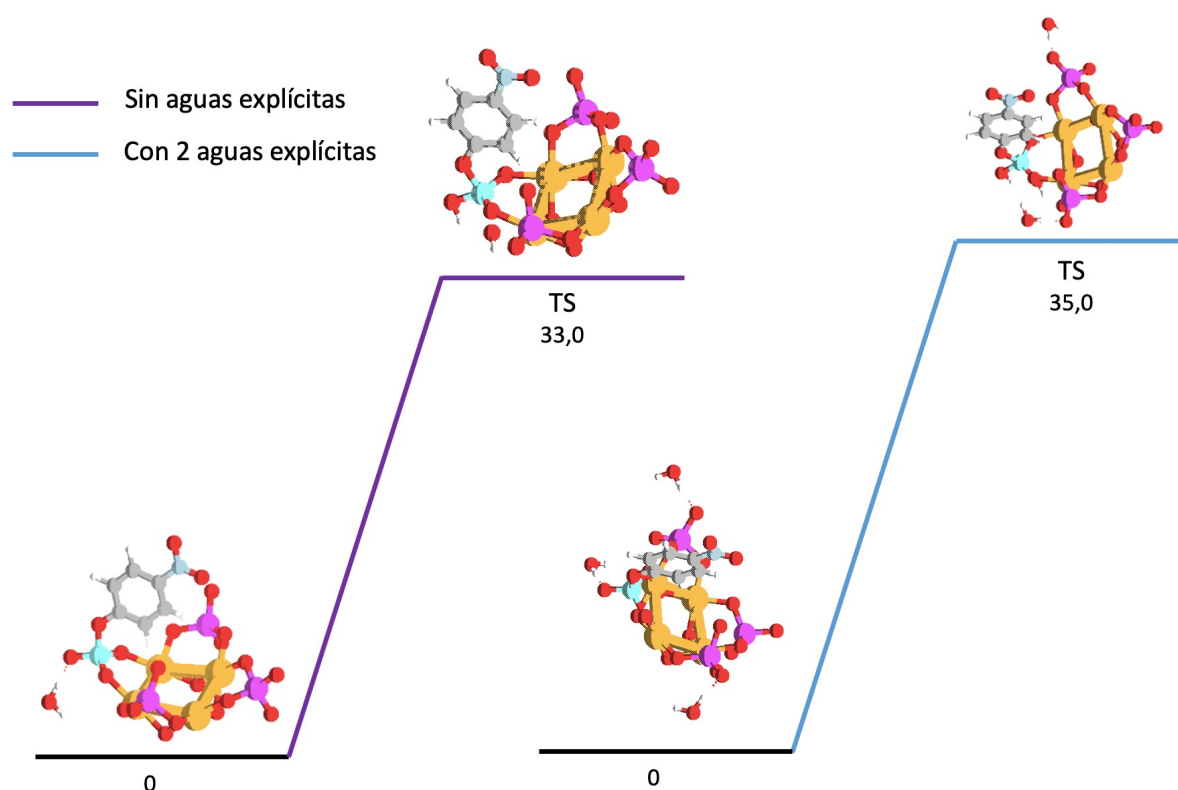


Figura 9. Comparación de los perfiles de energías libres para la hidrólisis de pNPP mediante polioxoaurato de arsénico. Realizados mediante la metodología BP86/6-31+G(d,p) y aproximación continua SMD para el disolvente. Las energías aparecen en kcal mol⁻¹. Estructuras obtenidas mediante Molden.

Debido a problemas causados por el intercambio de posiciones de átomos de hidrógenos equivalentes de simetría. Al perturbar el estado de transición se observó que efectivamente tendía hacia los productos que debían dar, pero no se ha podido optimizar por falta de tiempo y el fenómeno de intercambio mencionado. Es por ello que no aparecen los productos en los perfiles de energía.

3.5.2. Reacción mediante polioxoaurato de fósforo

Ídem con el apartado 3.5.1, se obtuvo una barrera energética de 38 kcal mol⁻¹, muy superior en comparación con la obtenida para la reacción sin catalizar.

Bajo la misma premisa del punto anterior, se llevó a cabo el análisis del sistema añadiendo moléculas de aguas explícitas. Como se observa en la figura 10, en el caso del [Au^{III}₄P^V₄O₂₀]⁸⁻ se pudieron obtener datos al añadir hasta 4 aguas. Es notable que desciende la barrera de energía libre en comparación con la barrera sin aguas explícitas y con el polioxoaurato de arsénico, pero su valor sigue siendo superior al valor que aparece en la figura 8.

Estos valores presentan un pronóstico desfavorable para la catálisis de la hidrólisis del enlace fosfoéster desde el sitio de anclaje que ha sido seleccionado, pero no nos permite afirmar ni desmentir que la catálisis pueda tener lugar por otra vía.

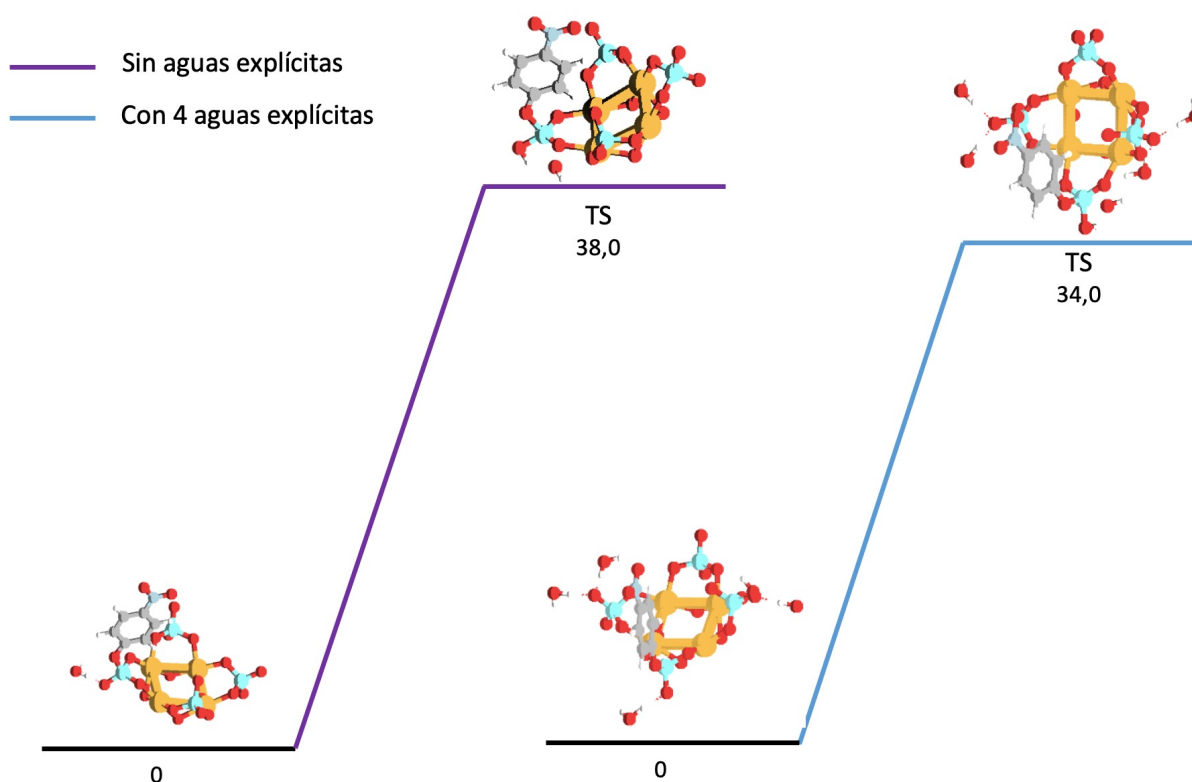


Figura 10. Comparación de los perfiles de energías libres para la hidrólisis de pNPP mediante polioxoaurato de fósforo. Realizados mediante la metodología BP86/6-31+G(d,p) y aproximación continua SMD para el disolvente. Las energías aparecen en kcal mol⁻¹. Estructuras obtenidas mediante Molden.

Los valores de energía de los productos no aparecen en los perfiles de energía por la misma razón que se ha comentado en el apartado anterior (véase 3.5.1 *reacción mediante polioxoaurato de arsénico*).

Conclusiones

Los polioxometalatos de metales nobles son un candidato prometedor para nuevas terapias contra el cáncer y contra las resistencias emergentes a los antibióticos observadas en los tratamientos de enfermedades infecciosas. Son necesarios estudios más completos sobre su mecanismo de acción, así como su toxicidad y vehiculización en el organismo.

Para alcanzar resoluciones más concretas y completas, los análisis *in silico* deben complementarse con estudios *in vitro* e *in vivo*.

Es necesario un examen más exhaustivo de los diferentes puntos de anclaje posibles para llevar a cabo la reacción en presencia de los POMs, teniendo en cuenta, además, las conclusiones obtenidas en el trabajo de Martins et al. [33]

Conclusions

Polyoxometalates with noble metals are promising candidates in new anti-tumor therapies, alongside being a tool to fight the emergent resistances observed in infectious diseases treatments. More complete studies on their mechanisms of action as well as their toxicity and targeting within the organism are needed.

In order to reach more concrete and complete conclusions, the *in silico* analysis must be complemented with *in vitro* and *in vivo* studies.

A more thorough exam of the different possibilities of attachment sites which may occur in the reaction in the presence of POMs needs to be carried out, factoring in the conclusions reached in the work of Martins et al. [33]

Perspectiva de futuro

Debido a las restricciones técnicas y temporales experimentadas en la realización de este trabajo, ciertos aspectos no han podido finalizarse en su totalidad. El planteamiento de los siguientes matices es importante para el seguimiento y realización de estudios posteriores.

Respecto a la reacción de hidrólisis utilizando POMs como catalizadores, es posible examinar la reacción considerando otros puntos de anclaje del pNPP, teniendo en cuenta la existencia de átomos de oxígeno no equivalentes al que se ha seleccionado en este análisis.

Asimismo, un examen de la reacción que contenga más moléculas de agua explícitas ayudaría a realizar un estudio más exhaustivo de la reacción, como se ha mencionado en el apartado 3.5 de este trabajo, tener cuatro aguas explícitas puede bajar la barrera energética de forma que la reacción sea cinéticamente más favorable.

Para obtener valores de energía más concluyentes en el estudio del polioxoaurato de arsénico es necesario llevar a cabo el análisis computacional con las cuatro aguas correspondientes, al igual que se realizó con el polioxoaurato de fósforo.

Es relevante mencionar la necesidad de experimentos con pNPP aportaría mayor información para dilucidar si se produce la catálisis con el POM o se trata de una descomposición *in situ* del POM, como se vio en el trabajo de Martins et al. [33]

Bibliografía

1. Bijelic A, Aureliano M, Rompel A. The antibacterial activity of polyoxometalates: structures, antibiotic effects and future perspectives. *Chem Commun* [Internet]. 2018;54(10):1153–69. Available from: <http://dx.doi.org/10.1039/C7CC07549A>
2. Izarova N V., Vankova N, Heine T, Biboum RN, Keita B, Nadjio L, et al. Polyoxometalates made of gold: The polyoxoaurate [AuIII₄Asv₄O₂₀]⁸⁻. *Angew Chemie - Int Ed*. 2010;49(10):1886–9
3. Cartuyvels E. Chemical studies of anti-tumor active polyoxomolybdate complexes [Internet]. Department of Chemistry. 2008. 213 p. Available from: <internal-pdf://247.158.254.4/Anti-Tumor POMs.pdf>
4. Czyzewski K, Styczynski J. Imatinib is a substrate for various multidrug resistance proteins. *Neoplasma*. 2009;56(3):202–7.
5. Holford J. novel sterically hindered platinum complex AMD473 ~~~ Pt. *Br J Cancer*. 1998;77:366–73.
6. Bijelic A, Aureliano M, Rompel A. Polyoxometalates as Potential Next-Generation Metallodrugs in the Combat Against Cancer. *Angew Chemie - Int Ed*. 2019;58(10):2980–99.
7. Aureliano M, Gumerova NI, Sciortino G, Garribba E, Rompel A, Crans DC. Polyoxovanadates with emerging biomedical activities. *Coord Chem Rev* [Internet]. 2021;447:214143. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2021.214143>
8. Tahmasebi M, Mirzaei M, Frontera A. Noble metals in polyoxometalates. *Inorganica Chim Acta* [Internet]. 2021;523(April):120410. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ica.2021.120410>
9. Liu Z, Zhang X, Wan R, Li H, Hong Y, Ma P, et al. A Rh-substituted polyoxometalate with an acetate-modified building block {As₂W₂₂O₇₆(CH₃COO)₂}. *Chem Commun*. 2021;57(79):10250–3.
10. Yoshida T, Yasuda Y, Nagashima E, Arai H, Matsunaga S, Nomiya K. Various oxygen-centered phosphane-gold(I) cluster cations formed by polyoxometalate (POM)-mediated clusterization: Effects of POMs and phosphanes. *Inorganics*. 2014;2(4):660–73
11. Blanc A, de Frémont P. When Gold Cations Meet Polyoxometalates. *Chem - A Eur J*. 2019;25(41):9553–67.
12. Martin C, Kastner K, Cameron JM, Hampson E, Alves Fernandes J, Gibson EK, et al. Redox-Active Hybrid Polyoxometalate-Stabilised Gold Nanoparticles. *Angew Chemie - Int Ed*. 2020;59(34):14331–5.

13. Izarova N V., Vankova N, Heine T, Biboum RN, Keita B, Nadjo L, et al. Polyoxometalates made of gold: The polyoxoaurate $[\text{AuIII}_4\text{Asv}_4\text{O}_{20}]^{8-}$. *Angew Chemie - Int Ed.* 2010;49(10):1886–9.
14. Duarte F, Åqvist J, Williams NH, Kamerlin SCL. Resolving apparent conflicts between theoretical and experimental models of phosphate monoester hydrolysis. *J Am Chem Soc.* 2015;137(3):1081–93.
15. Duarte F, Barrozo A, Åqvist J, Williams NH, Kamerlin SCL. The Competing Mechanisms of Phosphate Monoester Dianion Hydrolysis. *J Am Chem Soc.* 2016;138(33):10664–73.
16. Lanuza J, Sánchez-González Á, Bandeira NAG, Lopez X, Gil A. Mechanistic Insights into Promoted Hydrolysis of Phosphoester Bonds by $\text{MoO}_2\text{Cl}_2(\text{DMF})_2$. *Inorg Chem.* 2021;60(15):11177–91.
17. Tomé CM, Oliveira MC, Pillinger M, Gonçalves IS, Abrantes M. Use of $\text{MoO}_2\text{Cl}_2(\text{DMF})_2$ as a precursor for molybdate promoted hydrolysis of phosphoester bonds. *Dalton Trans [Internet].* 2013;42(11):3901–7. Disponible en: https://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2012/dt/c2dt32734a?casa_token=K2JtUCQtmb0AAAAA:2LgxIPxTYB5dfi3hJhZC3VGjIkAwr86kULnPq-EgNEfr4tc_npiotg0F31_5WK0iTq2vMFM8556hpNc
18. Gomes AC, Gamelas CA, Fernandes JA, Almeida Paz FA, Nunes P, Pillinger M, et al. Use of organomolybdenum compounds for promoted hydrolysis of phosphoester bonds in aqueous media: Organomolybdenum-promoted hydrolysis of phosphoester bonds. *Eur J Inorg Chem [Internet].* 2014;2014(23):3681–9. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1002/ejic.201402071>
19. IUPAC. Compendium of Chemical Terminology, 2nd ed. (the "Gold Book"). Compiled by A. D. McNaught and A. Wilkinson. Blackwell Scientific Publications, Oxford (1997). Online version (2019-) created by S. J. Chalk. ISBN 0-9678550-9-8. <https://doi.org/10.1351/goldbook>.
20. Wikipedia contributors. Density functional theory [Internet]. Wikipedia, The Free Encyclopedia. 2021. Available from: https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Density_functional_theory&oldid=1059867679)
21. Burke K, Wagner LO. DFT in a nutshell. *Int J Quantum Chem [Internet].* 2013;113(2):96–101. Available from: <http://dx.doi.org/10.1002/qua.24259>
22. Química_computacional [Internet]. Quimica.es. Disponible en: https://www.quimica.es/enciclopedia/Qu%C3%ADmica_computacional.html
23. 8.1 Introduction to Basis Sets [Internet]. Q-chem.com. Disponible en: <https://manual.q-chem.com/5.3/Ch8.S1.html>

24. San Fabián E. Cálculos Computacionales de Estructuras Moleculares [Internet]. Web.ua.es. Disponible en: <https://web.ua.es/cuantica/docencia/pdf/CCEM.pdf>
25. Teoría_del_funcional_de_la_densidad [Internet]. Quimica.es. Disponible en: https://www.quimica.es/enciclopedia/Teor%C3%ADa_del_funcional_de_la_densidad.html
26. Civalleri B, Zicovich-Wilson CM, Valenzano L, Ugliengo P. B3LYP augmented with an empirical dispersion term (B3LYP-D*) as applied to molecular crystals. CrystEngComm [Internet]. 2008;10(4):405–10. Disponible en: http://www.rsc.org/suppdata/ce/b7/b715018k/b715018k_rev_paper.pdf
27. Schwerdtfeger P. The pseudopotential approximation in electronic structure theory. Chemphyschem [Internet]. 2011;12(17):3143–55. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1002/cphc.201100387>
28. Yang Y, Weaver MN, Merz KM Jr. Assessment of the “6-31+G** + LANL2DZ” mixed basis set coupled with density functional theory methods and the effective core potential: prediction of heats of formation and ionization potentials for first-row-transition-metal complexes. J Phys Chem A [Internet]. 2009;113(36):9843–51. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1021/jp807643p>
29. Skyner RE, McDonagh JL, Groom CR, van Mourik T, Mitchell JBO. A review of methods for the calculation of solution free energies and the modelling of systems in solution. Phys Chem Chem Phys [Internet]. 2015;17(9):6174–91. Disponible en: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2015/CP/C5CP00288E>
30. Marenich AV, Cramer CJ, Truhlar DG. Universal solvation model based on solute electron density and on a continuum model of the solvent defined by the bulk dielectric constant and atomic surface tensions. J Phys Chem B [Internet]. 2009;113(18):6378–96. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1021/jp810292n>
31. Tomberg A. Gaussian 09w tutorial an introduction to computational chemistry using g09w and Avogadro software [Internet]. McGill.ca. Available from: <https://barrett-group.mcgill.ca/tutorials/Gaussian%20tutorial.pdf>
32. 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). Marenich AV, Cramer CJ, Truhlar DG. Universal solvation model based on solute electron density and on a continuum model of the solvent defined by the bulk dielectric constant and atomic surface tensions. *J Phys Chem B* [Internet]. 2009;113(18):6378–96. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1021/jp810292n>

33. Martins FF, Sánchez-González Á, Lanuza J, Miras HN, Lopez X, Bandeira NA, et al. Probing the catalytically active species in POM-catalysed DNA-model hydrolysis. *Chemistry* [Internet]. 2021;27(35):8977–84. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1002/chem.202004989>