

**“ESTUDIO ELECTROQUÍMICO Y ESPECTRO-
ELECTROQUÍMICO DE LA INTERACCIÓN DEL
COMPUESTO FLAVIN MONONUCLEOTIDO CON LA
ENZIMA CITOCROMO-C.**

PRESENTA:

I. BT. DIANA MAYRA SÁNCHEZ LÓPEZ

PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRA EN ELECTROQUÍMICA

FEBRERO, 2022.

**Centro de Investigación y Desarrollo Tecnológico en
Electroquímica**

REALIZADO POR:

I. BT. DIANA MAYRA SÁNCHEZ LÓPEZ

DIRIGIDA POR:

DRA. MARÍA YOLANDA REYES VIDAL

CODIRIGIDA POR:

DR. LUIS ANTONIO ORTIZ FRADE

SINODALES

Dr. Walter Noé Velázquez Arjona

Presidente

Firma

Dr. Fabricio Espejel Ayala

Secretario

Firma

Dra. Beatriz Liliana España

Vocal

Firma

Dr. Federico Castañeda Zaldívar

Suplente

Firma

Resumen

En este trabajo se estudia el comportamiento electroquímico y espectro-electroquímico del compuesto flavin mononucleótido (FMN) y de la enzima Citocromo-c en buffer de fosfatos pH 7.2, así como de su mezcla para elucidar la interacción entre estas biomoléculas. Se realizaron experimentos espectroscópicos UV y de dicroísmo circular para corroborar el tipo de interacción. Además, se realizaron estudios de acoplamiento molecular de la interacción del FMN con la enzima citocromo-c, que soportan los resultados experimentales.

Abstract

In this work the electrochemical and spectro-electrochemical analysis of the compound flavin mononucleotide (FMN) and Cytochrome-c in phosphate buffer pH 7.2 , was evaluated, as well as their mixture to elucidate the interaction between these biomolecules. UV spectroscopic and circular dichroism experiments were performed to corroborate the type of interaction. Besides molecular docking studies of the interaction of FMN with the cytochrome-c enzyme were carried out, which support the experimental results.



**Este trabajo fue realizado en el Centro de
Investigación y Desarrollo Tecnológico en
Electroquímica (CIDETEQ), bajo la dirección de:**

Dra. María Yolanda Reyes Vidal

Dr. Luis Antonio Ortiz Frade

FINANCIADO POR:

CONACYT-SEP Ciencia básica 288069

CONACYT-Apoyo a la infraestructura 2016 269102

Índice

1.0 ANTECEDENTES	7
1.1 IMPORTANCIA DEL COMPUESTO FMN EN PROCESOS BIOLÓGICOS	7
1.2 PROPIEDADES REDOX DEL COMPUESTO FMN	8
1.3 IMPORTANCIA DE LA ENZIMA CITOCROMO-C.....	9
1.4 PROPIEDADES REDOX DE LA ENZIMA CITOCROMO-C.....	12
1.5 ESTUDIOS ELECTROQUÍMICOS DE LA ENZIMA CITOCROMO-C.	13
1.6 PROCESOS DE TRANSFERENCIA ELECTRÓNICA ENZIMA-MEDIADOR	17
1.6.1 <i>Relación cruzada de Marcus</i>	17
1.6.2 <i>Mecanismos de transferencia electrónica de larga distancia</i>	18
1.7 INTERACCIÓN MOLECULAR ENZIMA- MEDIADOR.....	20
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	22
JUSTIFICACIÓN	22
HIPÓTESIS.....	23
OBJETIVO GENERAL.....	24
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	24
2.0. PARTE EXPERIMENTAL.....	25
2.1. REACTIVOS Y SUSTANCIAS	25
2.2. ESTUDIOS ELECTROQUÍMICOS	25
2.3 CARACTERIZACIÓN ELECTROQUÍMICA DEL COMPUESTO FMN Y DE LA ENZIMA CITOCROMO-C.....	25
2.3.1 <i>Voltamperometría cíclica</i>	25
2.3.2 <i>Espectro-electroquímica</i>	26

2.4 ESTUDIO DE LA INTERACCIÓN FMN-CITOCROMO-C.....	26
2.4.1 Estudio electroquímico	26
2.4.2 Estudio espectroscopio UV-vis	27
2.4.3 Estudio de dicroísmo circular	27
2.4.4 Estudio espectro-electroquímico.....	28
.2.5 ESTUDIOS DE ACOPLAMIENTO MOLECULAR	28
3.0 RESULTADOS	29
3.1 ESTUDIO ELECTROQUÍMICO DE FMN.....	29
3.1.1 Voltamperometría cíclica del FMN	29
3.1.2 Espectro-electroquímica del FMN.....	33
3.2 ESTUDIO ELECTROQUÍMICO DE LA ENZIMA CITOCROMO-C.....	35
3.2.1 Voltamperometría cíclica de la enzima Citocromo-c.....	35
3.2.2 Espectro-electroquímica de la enzima Citocromo-c	37
3.3 ESTUDIO ESPECTROSCOPIO UV-VIS DE LA INTERACCIÓN FMN CITOCROMO-C.....	38
3.4 ESTUDIO DE DICROÍSMO CIRCULAR DE LA INTERACCIÓN DEL COMPUESTO FMN CON LA ENZIMA CITOCROMO-C.....	41
3.5 ESTUDIO ELECTROQUÍMICO DE LA INTERACCIÓN FMN CITOCROMO-C.....	45
3.6 ESTUDIO ESPECTRO-ELECTROQUÍMICO DE LA INTERACCIÓN DEL COMPUESTO FMN CON LA ENZIMA CITOCROMO-C.	49
3.7 ESTUDIO DE ACOPLAMIENTO MOLECULAR	51
4 CONCLUSIÓN	55
5 PERSPECTIVAS.....	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
6 BIBLIOGRAFÍA	57

1.0 Antecedentes

1.1 Importancia del compuesto FMN en procesos biológicos

Las moléculas como flavin mononucleótido (FMN) y flavin adenin dinucleótido (FAD) son generadas a partir de la riboflavina (vitamina B2) y pueden ser sintetizadas por hongos plantas y bacterias, los organismos que no pueden producirla deben indefectiblemente obtenerla desde la dieta [1]. La vitamina B2 existe en la sangre así como sus cofactores biológicos: FMN y FAD [2], que son compuestos esenciales y ubicuos en la naturaleza. Estos cofactores contenidos en flavoproteínas participan en una amplia variedad de transformaciones bioquímicas importantes para la vida como la transferencia de electrones, la deshidrogenación de algunos metabolitos, activación de oxígeno por oxidación, reacciones de hidroxilación [3], reacciones de óxido-reducción, procesos celulares como la catálisis química, la regulación, la señalización y la detección de señales intra y extracelulares [4]. Dichas reacciones impactan sobre los procesos biológicos como la reparación del ADN y la bioluminiscencia, el mantenimiento del ritmo circadiano y más [5].

La acción biológica de la riboflavina y sus derivados FMN y FAD se caracteriza por participar en procesos de transferencia de electrones. Así, estos compuestos pueden existir en tres estados redox diferentes: oxidado (F), semiquinona (FH^{\bullet}) y reducido (RFH_2) [6]. El compuesto FMN es considerado un mediador de transferencia electrónica en sistemas biológicos [7]. Esta molécula es considerada de suma importancia en las reacciones vitales de organismos, si nos enfocamos solo en los microorganismos las bacterias del genero *Shewanella sp.*, que son reductoras de metales y han sido utilizadas en

biorremediación y generación de electricidad valiéndose de su capacidad para secretar flavinas (FMN) y utilizarlas como transportadores de electrones en la transferencia electrónica extracelular [8].

1.2 Propiedades redox del compuesto FMN

FMN pertenece a las flavoenzimas que es un término genérico para definir enzimas que contienen el cromóforo heterocíclico de tres anillos isoaloxazina, [4]. Cada estado redox de la flavina tiene diferentes propiedades químicas que pueden ser moduladas por el entorno proteico en el que ésta se encuentre, lo que permite que la flavina unida a la proteína realice una gran variedad de reacciones enzimáticas [1].

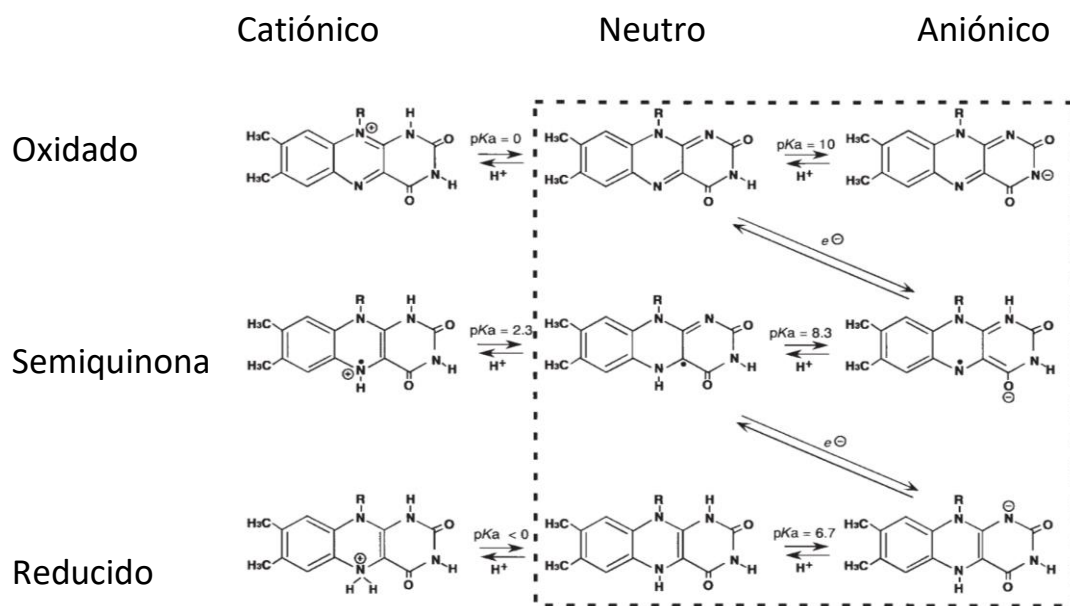


Figura 1. Estados iónicos y redox de la flavina [9].

Las flavoenzimas catalizan los procesos de transferencia de electrones asociados con la flavina, y la transferencia de electrones ocurre a través de la

transferencia de electrones desde HOMO de un donante de electrones a LUMO de un aceptor de electrones. Cuando se lleva a cabo una transferencia electronica o de carga entre un donante y un aceptor depende de la relación entre HOMO y LUMO del donante y el aceptor, respectivamente [9].

Tanto FMN como FAD y riboflavina, cumplen la función de mediadores redox (RM) extracelulares y son reducidos por las proteínas de la membrana externa en bacterias y la capacidad que han logrado para producir moléculas derivadas de las flavinas [10].

Un aspecto conocido y estudiado de las flavinas es que son capaces de quelar Fe y otros metales a través del anillo isoaloxacina [11]. Reiterando su versatilidad y especificidad. También funcionan como emisores de luz en bacterias, emitiendo fotones durante la oxigenación de aldehídos. Este mecanismo que las bacterias marinas adoptan es para emitir su fascinante luz por la noche [9].

1.3 Importancia de la enzima Citocromo-c

La enzima Citoromo-c es una hemoproteína mitocondrial que participa en al menos dos procesos celulares críticos: la transferencia de electrones en la cadena respiratoria mitocondrial y la iniciación de la apoptosis, cuando es liberado al citisol [12].

La función del Citocromo-c es esencialmente la transferencia de electrones, esta implicado en la respiración aeróbica y anaeróbica [13]. En los organismos aeróbicos, la oxidación de la glucosa se desarrolla principalmente en 2 etapas.

La primera llamada glucólisis. La segunda es la respiración, la cual también se subdivide en dos: el ciclo de Krebs y el transporte de electrones.

En la etapa final de la respiración, el $\text{NADH}^+ + \text{H}^+$ y el FADH_2 donan electrones, y son conducidos hasta la cadena transportadora de electrones, separándose de los protones, hasta que se vuelven a reunir con éstos y el O_2 para formar agua. Los escenarios principales de esta cadena de pasos se describen enseguida [14]:

- ❖ La *FADH deshidrogenasa* (complejo I) con una flavoproteína Fe-S.
- ❖ La *NADH deshidrogenasa* (complejo II) con el grupo prostético FMN y una flavoproteína Fe-S.
- ❖ La *ubiquinona* o *coenzima Q*, a la cual los dos complejos anteriores ceden los electrones.
- ❖ Los *citocromos b o c1* (complejo III) de unos 500 kDa, en forma de dímero; cada monómero contiene dos grupos hemo (con Fe) y una proteína Fe-S, recibiendo los electrones de la ubiquinona.
- ❖ El *Citocromo-c*, que recibe los electrones del complejo III.
- ❖ La *citocromo-oxidasa* (complejo IV), de unos 300 kDa, con dos grupos hemo y un grupo con Cu. En este complejo se unen los electrones recibidos del citocromo c con los protones y con el O_2 para formar H_2O , consumiéndose alrededor del 90 % del O_2 utilizado por la célula.

Como ya se mencionó anteriormente el Citocromo-c funciona en la cadena transportadora de electrones durante la respiración anaerobia en bacterias y aerobia en células eucariotas. La importancia de este complejo radica en la

responsabilidad de transferir los electrones del complejo III al Citocromo-c o complejo IV quien acepta el electrón en el centro redox [15].

El Citocromo-c también está muy extendido en diversos microorganismos, donde participan en procesos bioquímicos como la respiración y otras vías. Específicamente el citocromo c funciona con enzimas redox y constituyen un punto de entrada y salida de electrones en el ciclo catalítico de la enzima [13].

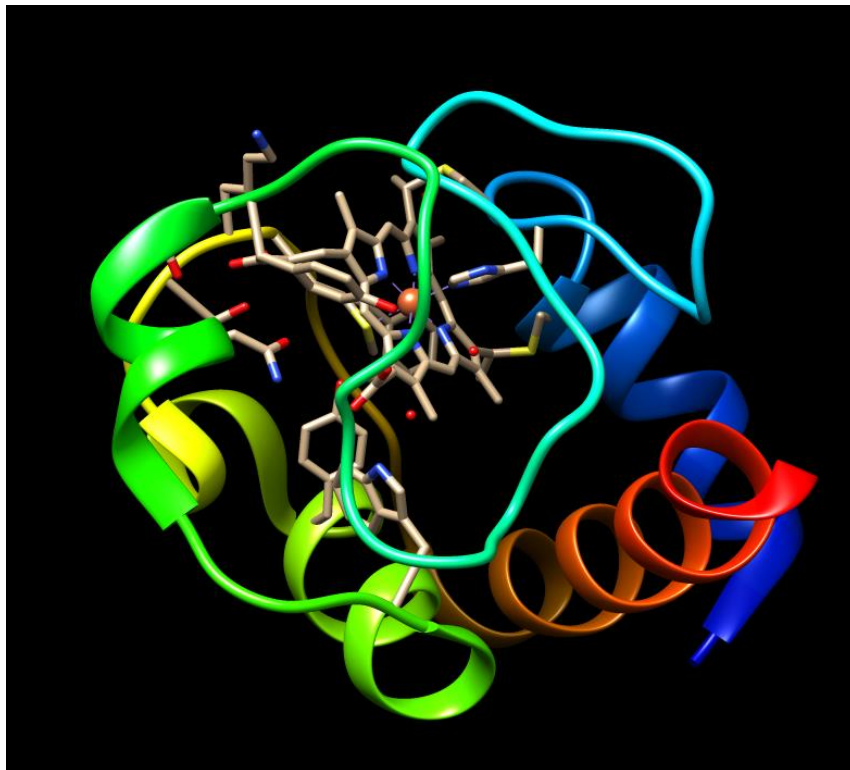


Figura 1.1 Representación del Citocromo-c de corazón equino, generado partir de datos cristalográficos [27].

1.4 Propiedades redox de la enzima Citocromo-c

La enzima Citocromo-c se caracteriza por tener en su estructura un grupo hemo, unido por un enlace covalente o no covalente al resto de la cadena polipeptídica. El grupo hemo contiene en su estructura un ión hierro (Fe) que esta coordinado y su estado de oxidación puede variar entre Fe^{2+} (reducido) y Fe^{3+} (oxidado) permitiendo una transferencia electrónica [16].

La presencia de un elemento biológico (proteína o enzima) en contacto con un electrodo de trabajo hace posible la transferencia de carga directa entre el centro activo de la proteína y la superficie del electrodo.

Entre sus propiedades el citocromo c presenta un color rojizo en disolución, es considerado una proteína redox, soluble en agua y de pequeño tamaño ($M_w = 12\ 384\ \text{Da}$). Debido a su estructura sencilla se considera una molécula modelo eucariota casi universal y se encuentra entre las más estudiadas. La descripción estructural tridimensional del citocromo c fue resuelta por primera vez en 1970 mediante la técnica de difracción de rayos X y utilizando una resolución de $2.8\ \text{\AA}$.106 [9].

El punto isoeléctrico informa si la proteína se encuentra cargada positiva o negativamente en función del pH del medio en que se trabaje. Esto significa que a un valor cercano del punto isoeléctrico las interacciones hidrofóbicas entre el adsorbato y el adsorbente son máximas. El Citocromo-c presenta un valor de punto isoeléctrico en torno a 10.1 por tanto, la proteína disuelta en un medio tamponado a pH 7 se encuentra cargada positivamente.

La transferencia de carga en cuanto a los electrones dependerá de la distancia de separación entre el elemento dador de electrones, y el elemento aceptor

de electrones, la proteína/enzima redox. Una distancia relativamente grande desde la superficie del electrodo y el centro activo de la proteína supone que no exista comunicación directa y, por tanto, este factor dificulte la transferencia de carga.

1.5 Estudios electroquímicos de la enzima Citocromo-c.

El hecho de que el sitio activo del Citocromo esté incrustado en el dominio de la proteína complica la cinética de los electrodos impidiendo así el registro de respuesta electroquímica. Para superar esta complicación se pueden utilizar estrategias como agregar a la solución o inmovilizar al electrodo moléculas de carga, también llamados promotores, para inducir interacciones electrostáticas que acerquen la enzima y el sitio activo al electrodo con la intención de aumentar la cantidad de electrones. Se puede observar la transferencia y, por lo tanto, la respuesta electroquímica. A modo de ejemplo, no se observa respuesta electroquímica en el voltamperograma cíclico del Citocromo-c, en presencia de derivados de piridina-n-carboxaldehído tiosemicarbazona unidos a electrodo de oro, que dependiendo de la posición del nitrógeno en el anillo aromático potencian la transferencia de electrones debido a su interacción con residuos de carga Lisina-NH₃⁺, en la periferia de la proteína, mostrado en el esquema de la Figura 1.2 [17].

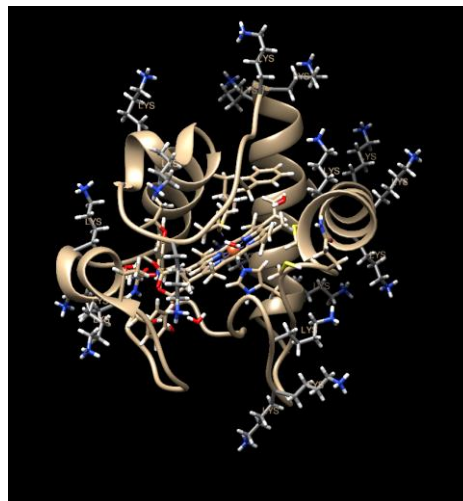
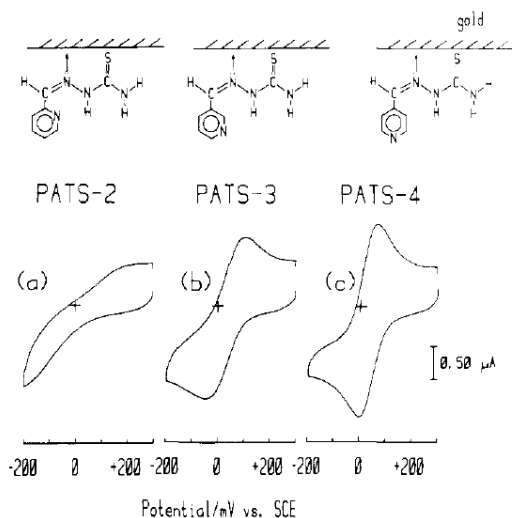


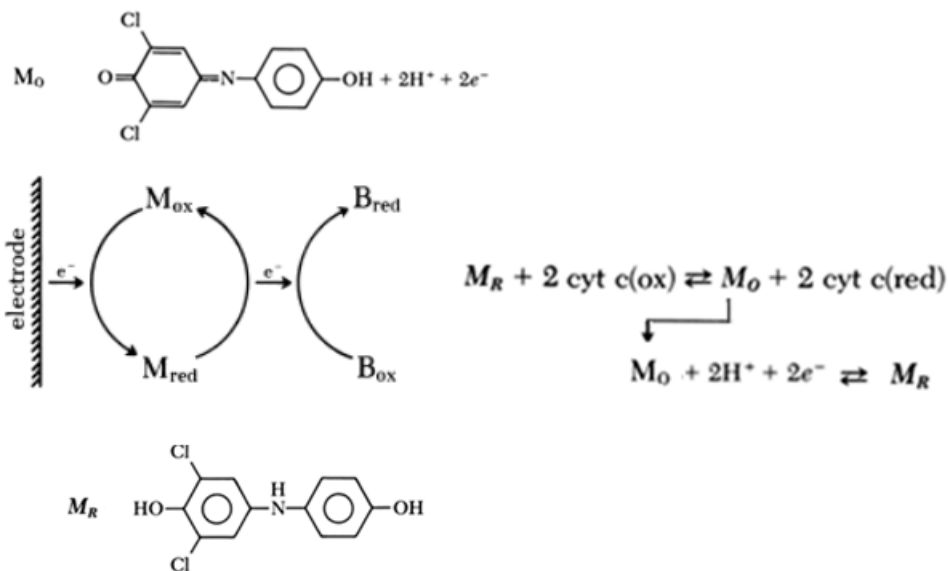
Figura 1.2. Mejora sistemática en la electroquímica del citocromo c observada a medida que el isómero del promotor de superficie piridina-n carboxaldehído tiosemicarbazona cambia de (a) $n = 2$ a (b) $n = 3$ a (c) $n = 4$ [27].

Una forma alternativa para estudiar los procesos redox de las enzimas con cinéticas electródicas lentas son las técnicas espectroscópicas y electroquímicas acopladas, también llamadas técnicas espectro-potenciostáticas. La base de estas técnicas es el control de la relación $[O]/[R]$ del par redox en una capa delgada de solución por el potencial aplicado a la celda. El par redox se convierte gradualmente de un estado de oxidación a otro mediante una serie de potenciales aplicados para los cuales cada valor correspondiente de $[O]/[R]$ se determina a partir de los espectros. Cada potencial se mantiene hasta los casos de electrólisis, de modo que el valor de equilibrio de $[O]/[R]$ se establece según lo definido por la ecuación de Nernst. Para los sistemas biológicos que se someten a una transferencia lenta de electrones con el electrodo, se puede agregar un titulante mediador para transportar electrones entre el electrodo y una biomolécula acoplando el potencial de la solución al potencial del electrodo. Los requisitos para un titulante-mediador óptimo son que presenten cinética electródica rápida y una

transferencia de electrones homogénea con el bio-componente rápida, estabilidad en ambos estados de oxidación y una ausencia de propiedades espectrales que interfieran con el monitoreo óptico del biocomponente y un grado de interacción que permita asociar el potencial aplicado con el E_o' de la biomolécula, de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$E_{app} = E_m^{o'} + \frac{RT}{n_m F} \log \frac{[O_m]}{[R_m]} = E_b^{o'} + \frac{RT}{n_b F} \log \frac{[O_b]}{[R_b]}$$

Donde m y b se refieren al mediador-titulante y al bicomponente respectivamente; y $E^{o'}$ y n se determinan a partir del gráfico de Nernst de los valores E_{app} y los valores correspondientes de $[O]/[R]$, determinados a partir de los espectros registrados para cada potencial [18]. En el caso del Citocromo-c, el mediador redox que se ha reportado es el 2,6-diclorofenolindofenol (DCIP). En el esquema 1.1. se presenta el proceso de mediación redox del Citocromo-c, con (DCIP) y su mecanismo electroquímico, donde M_o y M_R representan la forma oxidada y reducida del mediador respectivamente. En la Figura 1.3a se presentan los espectros de Citocromo c 0.5 mM con DCIP 0.1 mM en buffer de fosfato 0.5 M (pH 7.0), aplicando distintos potenciales. En la Figura 1.3b se presentan los gráficos de Nernst obtenidos a 500 nm a partir de espectros registrados en OTTLE del tipo de la Figura 1.3a.



Esquema 1.1. Proceso de mediación redox del Citocromo-c, empleando como la molécula 2,6-diclorofenolindofenol (DCIP) y su mecanismo electroquímico. M_O y M_R representan la forma oxidada y reducida del mediador respectivamente en este caso el (DCIP).

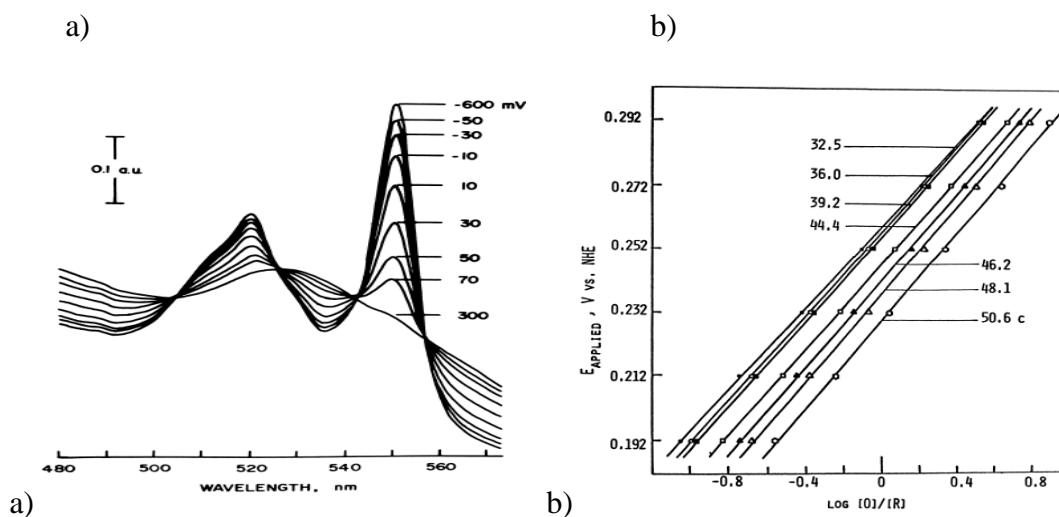


Figura 1.3. a) Espectros de Citocromo-c 0.5 mM con DCIP (mediador-titulante) 0.1 mM en tampón fosfato 0.5 M, pH 7.0, de una serie de potenciales aplicados; b) Gráficos de Nernst obtenidos a 500 nm a partir de espectros registrados en OTTLE del tipo de la Figura 3a.

De acuerdo con lo expuesto no se han estudiado cuales son los factores desde el punto de vista molecular para mediadores en solución que controlan la transferencia electrónica enzima-mediador, sin necesidad de modificar electrodos, hecho que podría comprometer la actividad de la enzima. En este sentido el FMN teniendo una carga negativa en solución a pH 7.2 se apunta como un excelente candidato.

1.6 Procesos de transferencia electrónica enzima-mediador

1.6.1 Relación cruzada de Marcus

Para un mediador redox con enzimas redox, su mecanismo de mediación y su constante de transferencia electrónica homogénea (k_{12}), se ha descrito según la relación cruzada de Marcus [19,20]:

$$\log(k_{12}) = 2\log f_{12} + 2\log k_{11}k_{22} + 2\log K_{12} \quad \text{Ecuación (1.1)}$$

$$f = \frac{(\log k_{12})^2}{4\log\left(k_{11} \frac{k_{12}}{Z^2}\right)} \quad \text{Ecuación (1.2)}$$

$$\log K_{12} = \frac{(E_2^0 - E_1^0)n_2n_1}{0.059} \quad \text{Ecuación (1.3)}$$

En la ecuación 1.1 y 1.2 podemos ver que los términos de k_{11} y k_{22} son los valores correspondientes a la constante de velocidad de transferencia

homogénea de auto intercambio de las especies que están involucradas en la reacción. El valor de K_{12} es la constante de equilibrio de la reacción, calculado de la diferencia de potenciales redox de las especies involucradas, ecuación 1.3. El termino Z es la frecuencia de colisión de dos partículas sin carga y se toma como $10^{11} \text{ m}^{-1} \text{ s}^{-1}$. El factor f es un parámetro relativo a k_{11} y k_{22} que ejemplifica la velocidad de colisión de los reactivos; es un valor cercano a la unidad. Sin embargo, esto no es empleado para otros sistemas enzima-mediador.

1.6.2 Mecanismos de transferencia electrónica de larga distancia

La transferencia electrónica de larga distancia se efectúa entre un donador (D) y un aceptor (A); donde uno de los factores determinantes para que esto suceda es la distancia. Este tipo de mecanismo es de gran importancia para explicar reacciones redox biológicas entre enzimas con centros redox distantes y de enzimas modificadas [21].

El tema de transferencia electrónica (TE) de larga distancia ha llamado la atención de varios autores. Por ello ha sido objeto de estudio; se ha propuesto que la transferencia electrónica intramolecular de un anión de 4-difenil ligado por puentes rígidos de diferentes longitudes y conformaciones de 2-naftil. El valor obtenido de la constante de decaimiento de distancia, $\beta_{\text{exp}} = 1.22 \text{ \AA}^{-1}$, posteriormente otros autores reportan valores de 0.8 a 1.4 \AA^{-1} . Se ha demostrado que el coeficiente típico de decaimiento de túnel de TE en proteínas es $\beta_{\text{exp}} = 1.4 \text{ \AA}^{-1}$, lo que da indicios de la importancia y complejidad de la transferencia electrónica (TE) biológica [21]. Para estos estudios la proximidad energética entre el electrón en el orbital molecular ocupado más

alto (HOMO) del donador y el orbital molecular no ocupado más bajo (LUMO) del puente y la simetría de los orbitales involucrados que favorecen el par electrónico entre el donador y el aceptor [21].

La transferencia electrónica de larga distancia con frecuencia se ha estudiado (desde inicios de los 50's) para sistemas donde hay interacciones electrónicas entre donadores (D) y aceptores (A), por ejemplo, en proteínas que dependen de la estructura donde interviene un polipéptido. Lo anterior se lleva a cabo en reacciones químicas y biológicas [22].

El acoplamiento electrónico en proteínas se realiza por vía de tunelización, donde este tipo de modelo se centra en tres tipos de interacciones interatómicas (para un polipéptido plegado): enlaces covalentes, enlaces de nitrógeno y contactos a través del espacio (ϵ_c , ϵ_H y ϵ_δ). De esta manera se descartan el universo de interacciones que se pueden llevar a cabo entre polipéptidos. Como todo modelo, el de tunelización (o vía túnel) presenta la ventaja de que, en un análisis estructural de la proteína, permite identificar de manera sencilla los residuos que son mediadores en los acoplamientos de largo alcance. Se han propuesto varios modelos y medios de exploración de tunelización para una combinación amplia de proteínas con TE natural [22].

Derivado de la teoría de la mecánica cuántica, la constante de velocidad de transferencia electrónica (k_{ET}) en enzimas redox modificadas con complejos metálicos, puede describirse en términos de la distancia entre el donador (D) y el aceptor (A), la fuerza impulsora de la reacción (ΔG°) y el parámetro de reorganización (λ), ver ecuaciones 1.5-1.7 [23]. El término TDA es el elemento

de la matriz de tunelización, relacionado con el acoplamiento electrónico entre el donante (D) y el aceptor (A).

$$k_{ET} = \left(\frac{4\pi^2}{h}\right) T_{AD}^2 FC \quad \text{Ecuación (1.5)}$$

$$T_{AD}^2 = T_{AD}^0{}^2 \exp -\beta(R - R_0) \quad \text{Ecuación (1.6)}$$

$$FC = (4\pi\lambda kT)^{-1/2} \exp[-(-\Delta G^0 - \lambda)^2/4\lambda kT] \quad \text{Ecuación (1.7)}$$

El factor Franck-Condon (FC) es indicativo del movimiento nuclear en el proceso de transferencia de electrones. $T_{AD}^0{}^2$ es el elemento de matriz de tunelización a la distancia de contacto de van der Waals (R_0) entre el donante (D) y el aceptor (A), el termino R corresponde a la distancia entre los átomos más cercanos del donador (D) y el aceptor (A). El término β llamado constante de decaimiento de distancia es característico de un medio particular. En este modelo la interacción molecular entre los complejos metálicos y las enzimas redox, paso previo a la reacción de transferencia no ha sido considerado a pesar de su importancia. Tanto para el modelo Marcus como en el efecto túnel la transferencia electrónica son mecanismos importantes para la mediación redox útil en aplicaciones bioelectrónicas.

1.7 Interacción molecular enzima- mediador

Tanto para el modelo Marcus como en del efecto túnel para transferencia electrónica son mecanismos importantes para la mediación redox útil en aplicaciones bioelectrónicas, la interacción entre el mediador y la enzima redox son de gran importancia. Esto hecho se ha reportado en la literatura

donde para una series derivados de ferroceno y de complejos tris quelato de Co(II) $[\text{Co}^{\text{II}}\text{L}_3]^{2+}$ a través estudios electroquímicos y de acoplamiento molecular se evidencia que la primera familia obedece la relación cruzada de Marcus, mientras que los complejos de obedecen al modelo de efecto túnel. Es importante remarcar que las energías de interacción E_{int} enzima-mediador tienen una mayor contribución en la constante de velocidad de transferencia de electrones homogéneos (k_s) en comparación con el modelo de relación cruzada de Marcus, ver tabla 1.1 [24]. Los resultados nos permiten proponer que la interacción enzima -mediador debe ser considerada para una mejor descripción del proceso de transferencia de electrones.

Tabla 1.1

Valores de redox (E^0), constante homogénea de velocidad de transferencia de electrones (k_s), equilibrio constante para la transferencia de electrones (K_{ET}), energías de interacción de la enzima GOx con $[\text{Co}^{\text{II}}\text{L}_3]^{2+}$ y derivados de ferroceno

Compuesto	E^0/ENH	log k_s	Energía de interacción (E_{int}) kJ/mol	log K_{ET}	ΔG^0 kJ/mol	Distancia M(II)...N5 (FAD) (Å)
$[\text{Co}(5\text{-NO}_2\text{-phen})_3]^{2+}$	0.642	4.3	-76.24	14.3	-812.1	15.0
$[\text{Co}(5\text{-Br-phen})_3]^{2+}$	0.491	4.1	-75.28	11.7	-666.4	16.3
$[\text{Co}(5\text{-Cl-phen})_3]^{2+}$	0.504	4.2	-71.98	11.9	-679.0	20.4
$[\text{Co}(\text{phen})_3]^{2+}$	0.376	3.2	-69.07	9.7	-555.5	32.9
$[\text{Co}(5\text{-CH}_3\text{-phen})_3]^{2+}$	0.323	n.o.	-69.83	8.8	-504.4	21.8
Fc- $\text{CH}_2\text{NH}(\text{CH}_3)_2$	0.636	5.72	-50.74	14.25	-806	5.5
Fc-COOH	0.533	5.30	-63.6	12.15	-706.9	5.0
Fc- $\text{CH}=\text{CH}_2$	0.486	4.48	-64.45	11.71	-661.6	4.4
Fc-H	0.401	4.41	-57.29	10.27	-579.6	4.3
Fc-1,1- CH_3	0.336	4.89	-55.79	9.17	-516.9	4.4

Planteamiento del problema

En la literatura se ha estudiado la mediación redox del citocromo-c con solamente algunas moléculas redox activas y empleando exclusivamente técnicas espectro-electroquímicas sin esclarecer el papel de la estructura química de distintos mediadores y de la interacción molecular enzima-mediador en su mecanismo de transferencia electrónica. Por lo cual, en este trabajo, se estudiará la interacción del compuesto FMN con la enzima Citocromo-c, de manera integral mediante técnicas electroquímicas, espectroscópicas, espectro-electroquímicas y de cálculos de acoplamiento molecular.

Justificación

Debido a las propiedades redox del compuesto FMN y de la enzima Citocromo-c producidos por microorganismos como es el caso *Shewanella sp.*, surge la inquietud de explorar sus potenciales usos en celdas bio-electroquímicas para generación de energía o para tratamiento de aguas. Para lo cual es de gran importancia estudiar la interacción molecular del FMN con el Citocromo-c. Esto podría dar información que contribuya al entendiendo de aspectos moleculares que controlen la transferencia mediada con enzimas redox y mediadores producidos de manera natural por distintos microorganismos y no solo eso si no también en el desarrollo de fármacos

Estas páginas fueron eliminadas debido a que su contenido es información clasificada como confidencial de acuerdo con el Artículo 113 fracción II de la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública 2021, y con el Artículo 116 de la Ley General de Transparencia y Acceso a la Información Pública 2021.