



UNIVERSIDAD
DE
CONCEPCIÓN

FACULTAD DE
**CIENCIAS
BIOLÓGICAS**
UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN

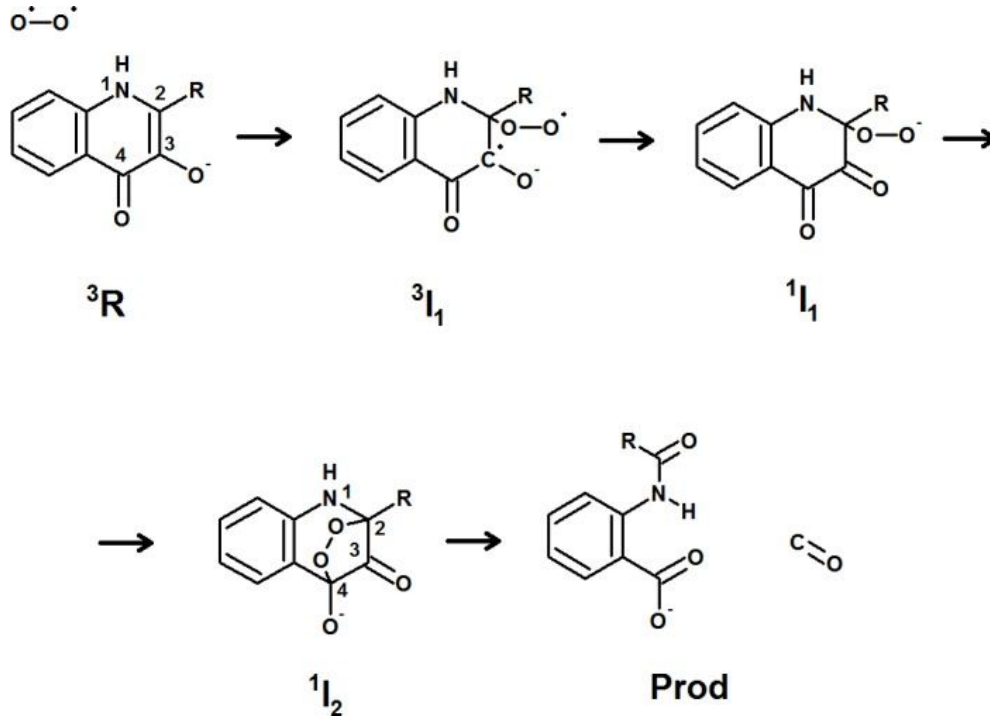


Refining the reaction mechanism of O₂ towards its co-substrate in cofactor-free dioxygenases

Pedro J. Silva
doi: 10.7717 / peerj.2805
Published December 20, 2016

PeerJ
Computer Science

Introducción



Las reacciones en las que el número de electrones desapareados cambia cuando los reactivos se transforman en productos no están generalmente permitidos por la mecánica cuántica debido a la regla de conservación de espín de Wigner.

Fig. n°1: Mecanismo propuesto para la reacción catalizada por 1- *H* -3-hidroxi-4-oxoquinaldina-2,4-dioxigenasa.

Resultados

Sustituyente de quinolina	Modelo utilizado	$^3 I_1$	$^1 I_1$
-F	Modelo grande	5.5	-10.1
-F	Su sustrato 251 / Asp 126+	5.3	-10.1
-CH ₃	Modelo grande	12.6	0.6
-CH ₃	Su sustrato 251 / Asp 126+	13.5	1.2
-(CH ₂) ₄ CH ₃	Modelo grande	19.2	4.8
-(CH ₂) ₄ CH ₃	Su sustrato 251 / Asp 126+	18.7	1.5
-NO ₂	Modelo grande	19.0	7.2
-NO ₂	Su sustrato 251 / Asp 126+	24.0	10.6

Tabla n°1: Comparación de la calidad de las energías obtenidas con el modelo truncado (que incluye solo el sustrato y la díada Asp / His) versus las energías obtenidas. Las reacciones en las que el número de electrones desapareados cambia cuando los reactivos se transforman en productos no están generalmente permitidos por la mecánica cuántica debido a la regla de conservación de espín de Wigner.

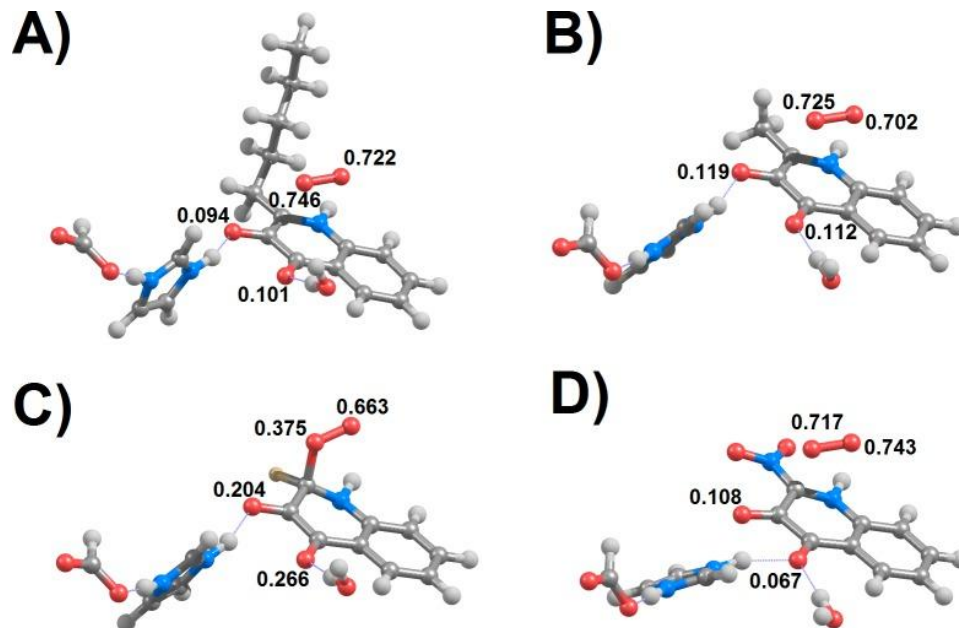


Fig. nº2: Geometrías B3LYP / BS1 optimizadas de los puntos de cruce de energía mínima de (1H) -3-hidroxi-4-oxoquinolinas que llevan sustituyentes pentil (A), metilo (B), fluoro (C) y nitro (D). Los giros en los átomos de oxígeno se muestran para el estado de triplete en cada una de estas geometrías.

Sustituyente de quinolina	$-(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$	$-\text{CH}_3$	$-\text{F}$	$-\text{NO}_2$
Distancia C-O (Å) en el MECP	2.308	2.23	1.568	1.968
Distancia O-O (Å) en el MECP	1.303	1.307	1.326	1.304
Energía MECP (kcal mol^{-1}) vs. reactivos	16.8	15.2	9.2	24.2
$^1\text{I}_1$ de energía (kcal mol^{-1}) frente a los reactivos	11.1	9.0	-3.4	23.6
$^3\text{I}_1$ de energía (kcal mol^{-1}) frente a los reactivos	n / A	n / A	6.9	25.4

Tabla nº2: Caracterización de los puntos de cruce de energía mínima entre las superficies singlete y triplete del oxígeno: sistemas (1H) -3-hidroxi-4-oxoquinolina en presencia de la díada catalítica His 251/Asp 126 , en el nivel B3LYP / BS1 en un continuo de agua. Los átomos C β de His251 y Asp126 se mantuvieron congelados para limitar la flexibilidad del sistema a la posible en el sitio activo de la enzima: no aplicable, ya que las especies 3I1 para estos sustituyentes no son mínimos locales en la superficie de energía potencial y colapsan en sustrato separado y triplete O2 . Para el -NO 2 quinolina sustituido, la distancia sustrato-oxígeno en 1I1 es bastante largo (2,07 Å), y este intermedio se describe más adecuadamente como una superóxido: par radical sustrato.

Sustituyente de quinolina	Energía de activación (kcal mol ⁻¹)	Energía de reacción (kcal mol ⁻¹)	Energía de activación (kcal mol ⁻¹)	Energía de reacción (kcal mol ⁻¹)
-NH ₂	3.4	-1.5	2.0	-4.8
-COO ⁻	1.5	-5.1	5.9	4.4
-(CH ₂) ₄	7.1	6.0	5.2	3.0
CH ₃				
-CH ₃	6.8	5.5	4.9	2.5
-CH ₃	86.2	58.1	46.9	38.7
(quinolina protonada)				
-F	11.1	10.9	8.6	7.8
-COCH ₃	22.5	21.5	16.6	16.5
-CN	24.6	22.9	18.3	18.0
-NO	23.9	23.7	20.0	20.0
-NO ₂	41.2	33.1	31.1	27.5

Tabla nº3: Las energías de reacción y las energías de activación de la transferencia de electrones de (1 H) -3-hidroxi-4-oxoquinolinas sustituidas a dióxígeno, a nivel de B3LYP / BS2 // B3LYP / BS1, se calcularon usando la teoría de Marcus para la transferencia de electrones. A menos que se indique lo contrario, el grupo 3-hidroxilo permaneció en el estado desprotonado. Los sustituyentes se muestran ordenados por valores incrementados de sus parámetros Hammet σ m.

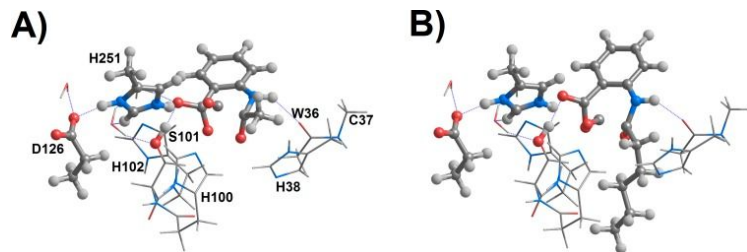
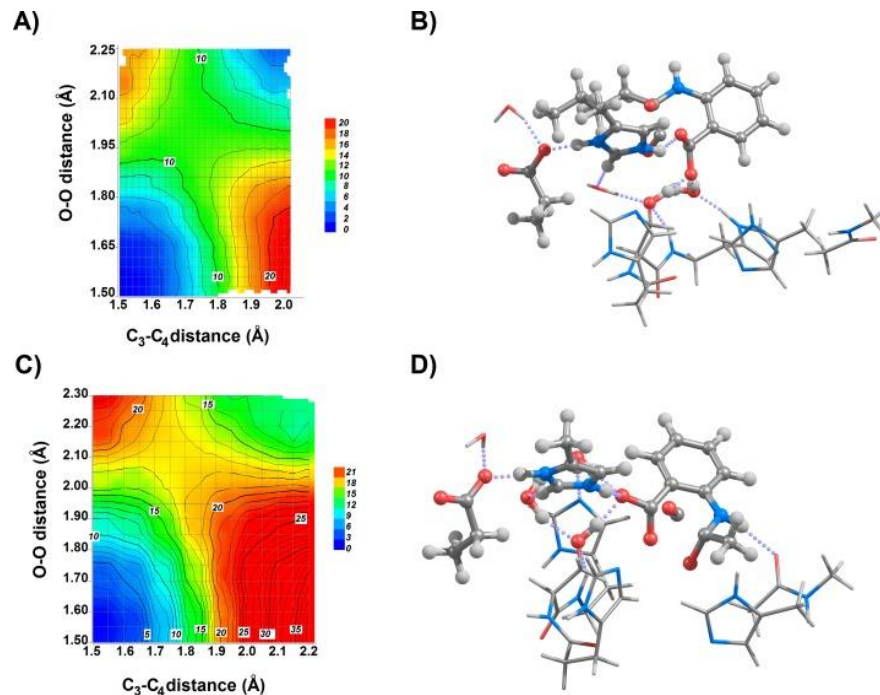


Fig. n°3: Las geometrías propuestas de los estados de transición para la etapa de reacción del producto 1 I 2 \rightarrow para las (4) metilo y (B) pitoquinolinas sustituidas con pentilo.

Fig. n°4: Figura 4
Superficies de energía potencial recientemente derivadas del paso de reacción del producto 1 I 2 \rightarrow para las (4) oxoquinolinas (A) butilicadas, y (C) metil-sustituidas. Se muestran las geometrías de los estados de transición para el paso de reacción del producto 1I2 \rightarrow para las (4) oxoquinolinas (B) sustituidas con butilo y (D) metilo, con el sustrato y las cadenas laterales de Ser101, Asp126 e His251 resaltadas.



Conclusiones

El intermedio de endoperoxido de triplete desempeña un papel en el mecanismo de reacción de la 2,4-dioxigenasa que escinda el anillo bacteriano, como el punto mínimo de cruce de energía entre el singlete y las superficies triplete conectan directamente los reactivos con el intermedio endoperoxido singlete (111).

El cálculo de pequeñas energías de activación usando modelos pequeños que no tienen en cuenta la complejidad total del entorno activo del sitio/proteína ni interactúan directamente con la molécula de dioxígeno atacante sugiere fuertemente la complejidad adicional del entorno proteico no es necesario para "mejorar la reactividad" de O₂ per se.

La reactividad de 1- H -3-hidroxi-4-oxoquinaldina-2,4-dioxigenasa hacia los sustratos que llevan largas cadenas de alquilo en la posición 2 no es posible en el modo de unión originalmente postulado: la enzima en cambio se basa en un modo de unión diferente que permite la catálisis de la etapa de liberación de CO colocando las cargas negativas nacientes en un entorno adecuadamente estabilizador y proporciona velocidades.