

# SÍNTESIS, CARACTERIZACIÓN ESTRUCTURAL Y ACTIVIDAD CATALÍTICA DE COMPLEJOS HOMO y HETERONUCLEARES Cu-Cu y Cu-Zn COMO MODELOS DEL SITIO ACTIVO DE SUPERÓXIDO DISMUTASA.

Mariana Micheloud, Rodrigo Naranjo, Sandra Signorella y Verónica Daier

Area Inorgánica- Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas- UNR. IQUIR- CONICET. Suipacha 531- 2000- Rosario- Argentina. daier@iquir-conicet.gov.ar

## Introducción:

La actividad biológica de metaloproteínas se asocia con un entorno de coordinación particular del sitio metálico. Como ejemplo, en su sitio activo, la Cu-Zn superóxido dismutasa (Cu/Zn-SOD) contiene un centro metálico heterodinuclear con puente imidazol. Esta enzima cataliza la rápida dismutación de superóxido en peróxido de hidrógeno y oxígeno por medio de un mecanismo de reducción / oxidación alternada del ion Cu.



Estas especies oxigenadas tóxicas liberadas durante la respiración celular (radicales libres, anión superóxido) se relacionan con enfermedades tales como inflamación, artritis, cáncer, Alzheimer y Parkinson.

Existen 4 clases de SOD con diferentes iones metálicos en su sitio activo: Cu/Zn-SOD, Fe-SOD, Mn-SOD y Ni-SOD.<sup>2</sup> El citosol de prácticamente todas las células eucariotas se encuentra la Cu/Zn-SOD. En humanos existen tres formas de superóxido dismutasa SOD1 y SOD3 contienen cobre y zinc, mientras que SOD2 tiene manganeso en su centro reactivo.

En la enzima Cu/Zn-SOD, el ion cobre se coordina a 4 nitrógenos del imidazol de residuos de histidina en una geometría distorsionada de pirámide cuadrada, mientras que el ion Zn se coordina al oxígeno del carboxilato de un residuo de ácido aspártico y 3 nitrógenos de imidazol de histidina, en un entorno tetrahédrico distorsionado.<sup>3</sup>

El ion cobre es esencial para la actividad SOD, mientras que el rol del imidazol puente, así como el del Zn, permanecen sin definición.

La eficiencia catalítica de la Cu/Zn-SOD en la dismutación de especies radicalarias del oxígeno sugiere el uso de pequeñas moléculas que mimeticen la enzima natural y sean utilizados como agentes terapéuticos en diferentes patologías.

Por ello, se han estudiado diferentes complejos miméticos de estas enzimas con el fin de poder ser usados farmacológicamente, pero sólo unos pocos presentan buenas actividades.<sup>4</sup>

Se presenta en este trabajo la síntesis, caracterización y el estudio de actividad SOD de complejos homo y hetero nucleares de Cu/Cu y Cu/Zn con puente imidazol. Se usaron ligandos que permiten modular la distancia intermetálica, y se sintetizaron los complejos análogos Cu/Cu y Cu/Zn, con el fin de verificar la importancia del ion Zn en la catálisis.

## Metodología

Se sintetizaron los siguientes complejos de Cu/Zn y Cu<sub>2</sub>:

(1) CuZnSalpnCl<sub>2</sub>

(2) CuZnSalbutOIm y su analogo de Cu: (3) Cu<sub>2</sub>SalbutOIm

(4) Cu<sub>2</sub>Zn(Salpn)<sub>2</sub>(AcO)<sub>2</sub>

(5) CuZn(Dien)<sub>2</sub>Im y su analogo de Cu: (6) Cu<sub>2</sub>(Dien)<sub>2</sub>Im

donde: SalpnOH = 1,3-bis(salicilidenamino)propano  
SalbutOH = 1,4-bis(salicilidenamino)butano  
Dien= Dietilentriamina

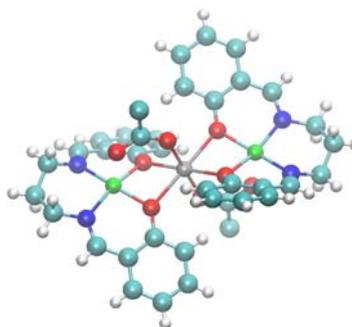
#### Caracterización estructural de los complejos:

Se realizaron estudios en estado sólido: absorción atómica, análisis elemental, IR, EPR y en solución: espectrofotometría UV-Vis, RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ , espectrometría de masa por electrospray (MS-ESI), electroquímica, EPR (estado sólido y soluciones a distintos pH)

Se realizaron estudios de difracción de rayos X en aquellos complejos cuyos cristales fueron aptos para esta técnica. En la figura se muestra la cristalografía de Rayos X del complejo (4)

$\text{Cu}_2\text{Zn}(\text{Salpn})_2(\text{AcO})_2$  (**4**):

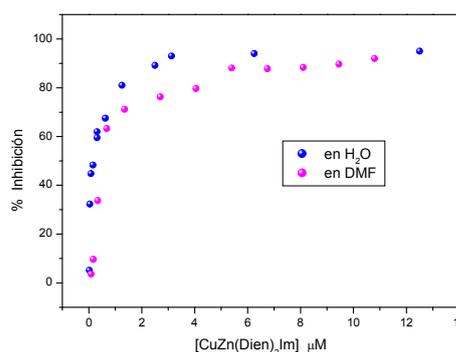
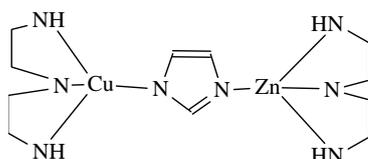
En verde se observan los átomos de Cu y en gris el de Zn



#### Análisis de la actividad catalítica:

La actividad SOD se determinó, en presencia del catalizador, midiendo la inhibición en la formación formazán por reducción de nitro blue tetrazolium (NBT) con superóxido, generado por reacción de  $\text{O}_2$  con riboflavina fotoquímicamente excitada con metionina. En este estudio se trabaja en buffer fosfato a pH 7,8 a  $20^\circ\text{C}$ ; donde se ilumina la reacción y se mide la absorbancia de la solución a 560 nm luego del agregado del complejo. La presencia de complejo, con actividad SOD, disminuye la formación del producto.

Como ejemplo de esta actividad se muestra la curva de actividad SOD del complejo (5), disuelto previamente en DMF y agua, empleando el método de riboflavina/Metionina/NBT a pH 7,8.<sup>(3)</sup>



#### **CuZn(Dien)<sub>2</sub>Im**

Todos los complejos presentan actividad SOD, comparables con las reportadas en literatura para complejos similares.

Al comparar las actividades de los análogos Cu/Cu y Cu/Zn, se concluye que las mismas se relacionan con la cantidad de Cu presente en el complejo, confirmando el rol estructural del Zn.

### **Referencias:**

- (1)** C. Palopoli, B. Chansou, J.P Tuchagues, S. Signorella. *Inorganic Chemistry* 39 (2000) 1458–1462.
- (2)** V. Daier, H. Biava, C. Palopoli, S. Shova, J.P Tuchagues, S. Signorella. *Journal of Inorganic Biochemistry* 98 (2004) 1806–1817.
- (3)** V Daier, D Moreno, C Duhayon, J-P Tuchagues, S Signorella. *European Journal of Inorganic Chemistry* (2010), 6, 965-974
- (4)** A Puglisi, GTabbi, G Vecchio; *J. Inorg. Biochem*; 2004,1806- 1817. A J. Wu, J E. Penner-Hahn, V L. Pecoraro; *Chem. Rev.* 2004, 104, 903- 938.