

Um Modelo Biomimético da Quelatase: Metalação e Protonação de Porphirinas na Presença de β -Ciclodextrina Sulfato

Bruno A. Sousa (IC), Kátia C. Nunes (IC) e Gianluca C. Azzellini* (PQ). gcazzell@iq.usp.br

Instituto de Química – USP. Av. Prof. Lineu Prestes 748. São Paulo, SP. CEP: 05508-900.

Palavras Chave: porfirinas, quelatases, ciclodextrinas

Introdução

Metaloporfirinas são essenciais em uma série de processos celulares. Nos sistemas biológicos a inserção de um íon metálico específico no macrociclo porfirínico é catalisada por um grupo de enzimas denominadas quelatases. Entretanto, os fatores que determinam a seletividade da incorporação dos íons metálicos e o mecanismo catalítico das quelatases ainda não é conhecido. Levando em consideração o mecanismo geral de coordenação de metais no macrociclo porfirínico e alguns dados experimentais da conformação assumida pelo macrociclo porfirínico ligado à ferro-quelatase, tem sido especulado sobre a importância da distorção apresentada pelo anel porfirínico tanto na seletividade como no processo catalítico¹. Neste estudo investigamos a incorporação de prótons (protonação) e dos íons Cu^{2+} e Zn^{2+} (metalção) na tetra-(4-metilpiridínio)porfirina (TMPyP) na presença de β -ciclodextrina-sulfato ($\text{SO}_3\text{-}\beta\text{-CD}$).

Resultados e Discussão

As reações de protonação foram investigadas nos pHs 3 e 4, obtidos de soluções de ácido clorídrico. O espectro de absorção UV-Vis da TMPyP nestes pHs mostra que não ocorre protonação nestas condições, sendo observada a banda Soret em 423 nm e as quatro bandas Qs, características de uma simetria D_{2h} referente à espécie base livre. Todos os máximos de absorção são idênticos aos obtidos em água pH= 7. Em pH= 3 a adição de $\text{SO}_3\text{-}\beta\text{-CD}$ em quantidades próximas da quantidade estequiométrica da porfirina em solução (2 μM), resulta em uma mudança drástica do perfil espectral, sendo observado o deslocamento batocrômico da banda Soret para 442 nm e a existência de apenas duas bandas Qs. Este perfil espectral obtido na presença de $\text{SO}_3\text{-}\beta\text{-CD}$, é característico da protonação do macrociclo porfirínico, correspondente a uma simetria D_{4h} . O aumento da concentração de $\text{SO}_3\text{-}\beta\text{-CD}$ até um excesso molar de aproximadamente duas vezes, resulta em um ligeiro aumento da intensidade de absorção da banda Soret em 442 nm. O comportamento em pH= 4 é muito similar, entretanto a concentração de $\text{SO}_3\text{-}\beta\text{-CD}$ necessária para que ocorra a protonação é cerca de dez vezes maior do que em pH= 3. Similarmente ao observado para a protonação, ocorre a metalção da TMPyP utilizando íons Cu^{2+} em concentrações de 1

mM. A inserção de cobre ocorre para excessos molares de ciclodextrina da ordem de dez vezes, sendo observadas a banda Soret em 425 nm e apenas duas bandas Qs. A metalção da TMPyP com íons Zn^{2+} é observada apenas na presença de excessos extremamente elevados da $\text{SO}_3\text{-}\beta\text{-CD}$ ($[\text{SO}_3\text{-}\beta\text{-CD}]/[\text{TMPyP}] = 400$), podendo ser observada a banda Soret característica da ZnTMPyP em 436 nm. Os resultados apresentados podem ser explicados em função das interações que se estabelecem entre a TMPyP um cromóforo catiônico e a $\text{SO}_3\text{-}\beta\text{-CD}$ aniônica. Estudos preliminares obtidos por nosso grupo indicam que ocorre uma ligação da porfirina à superfície da ciclodextrina na faixa de concentrações em que foram observadas tanto a protonação como a inserção de Cu^{2+} , ocorrendo uma distorção da porfirina de forma que as ligações eletrostáticas sejam maximizadas. Esta distorção modulada pela ciclodextrina facilitaria os processos de protonação e metalção. Adicionalmente, a ciclodextrina atuaria em um processo de catálise por ânion estabilizando o estado de transição altamente carregado no caso deste sistema (carga positiva +6). A não inclusão do íon Zn^{2+} deve estar relacionada à dimensão deste íon metálico e a sua maior energia de desolvatação para a formação da ligação com os nitrogênios pirrólicos.

Conclusões

A utilização de $\text{SO}_3\text{-}\beta\text{-CD}$ mimetiza a quelatase, sendo observada a catálise na protonação/metalção e seletividade da incorporação de $\text{Cu}^{2+}/\text{Zn}^{2+}$ na TMPyP. Estes resultados são indicativos de que o tipo de distorção gerada pela quelatase assim como a natureza hidrofílica-hidrofóbica do sítio de ligação das porfirinas nestas enzimas são determinantes no processo catalítico.

Agradecimentos

Fapesp, CNPq-PIBIC

¹ Sigfridsson, E. e Ryde, U. *J. Biol. Inorg. Chem.* **2003**, 8, 273.