

Modelando fosfohistidinas: elucidação mecanística e detecção de intermediários chaves em reações de desfosforilação com imidazol

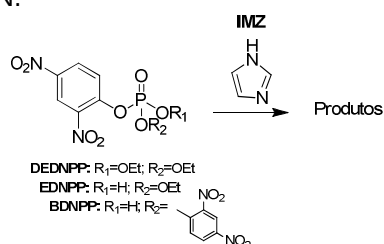
Elisa S. Orth (PG)*,¹ Eduardo H. Wanderlind (IC),¹ Michelle Medeiros(PG),¹ Boniek G. Vaz (PG),² Marcos N. Eberlin (PQ)² e Faruk Nome (PQ)¹ elisaorth@gmail.com

¹Laboratório de Catálise e Fenômenos Interfaciais, INCT-Catálise, Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, 88040-90, Florianópolis/SC. ²Laboratório ThoMSon de Espectrometria de Massa, Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas/SP.

Palavras Chave: imidazol, ésteres de fosfato, fosfohistidina

Introdução

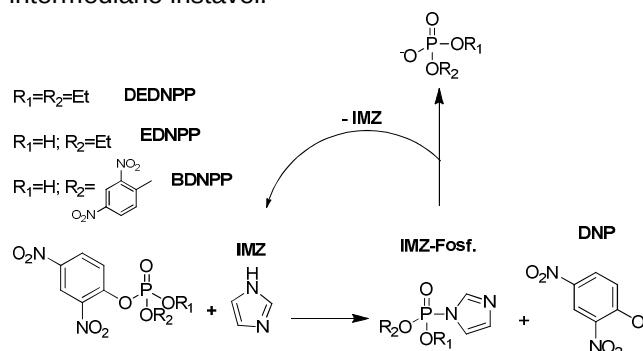
Modelar reações enzimáticas de desfosforilação tem sido um contínuo desafio, principalmente envolvendo agentes nucleofílicos, pois potencializam não só o desenvolvimento de enzimas artificiais e de intermediários enzimáticos, mas também oferecem aplicações como agente detoxificantes de armas químicas.¹ No estudo de intermediários enzimáticos, destacam-se as fosfohistidinas, as quais devido a sua instabilidade, só recentemente tem tido sua importância reconhecida em inúmeros processos biológicos, como em processos de resistência de antibióticos por bactérias.² Além das fosfohistidinas, a importância da química do imidazol está representada nas ribonucleases A, enzimas responsáveis pela quebra do RNA.³ O foco deste trabalho é avaliar mecanisticamente as reações do imidazol (IMZ) com os ésteres de fosfato dietil 2,4-dinitrofenil fosfato (DEDNPP), bis(2,4-dinitrofenil) fosfato (BDNPP) e etil 2,4-dinitrofenil fosfato (EDNPP), com intuito de detectar intermediários análogos às fosfohistidinas, usando técnicas de ESI-MS e RMN.



Resultados e Discussão

Resultados anteriores mostram que o IMZ causa incrementos de até 10⁵ vezes nas reações com DEDNPP, BDNPP e EDNPP, comparado com as reações em água.⁴ Essas reações foram avaliadas por ESI-MS (/MS), e os espectros obtidos sugerem o caminho reacional descrito no Esquema 1. Para todos os ésteres estudados, foram detectados os intermediários nos quais o grupo imidazol está fosforilado. A decomposição do intermediário fosforilado ocorre lentamente regenerando o IMZ de partida e formando outro éster fosfórico de menor reatividade. Nessas reações o IMZ ataca

exclusivamente o átomo de fósforo, pois o ataque nucleofílico no carbono aromático é extremamente desfavorável em meio aquoso formando um intermediário instável.



Esquema 1

O Esquema 1 foi confirmado por estudos quantitativos usando ¹H RMN que evidenciam a formação dos intermediários de imidazol fosforilado. Ainda, os intermediários apresentam diferentes reatividades, pois nas reações com BDNPP e DEDNPP, os intermediários se decompõem, enquanto com o EDNPP, o mesmo permanece em solução, mostrando uma estabilidade significativamente superior.

Conclusões

Esses resultados representam algumas das primeiras tentativas bem sucedidas de detectar intermediários fosforilados de imidazol, em reações de desfosforilação e, permitem modelar aspectos enzimáticos que envolvem as fosfohistidinas. O desafio é isolar esses intermediários e estudar detalhadamente suas reatividades.

Agradecimentos

INCT-Cat, CNPQ, CAPES, UFSC, FAPESC, FAPESP.

¹ Williams, N.H.; Takasaki, B.; Wall, M. e Chin, J. *Acc. Chem. Res.* **1999**, 32, 485.

² Attwood, P.V; Piggott, M.J.; Zu, X.L.; Besant, P.G. *Amino Acids.* **2007**, 32, 145.

³ Herschlag, D. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, 116, 11631.

⁴ Wanderlind, E.H.; Orth, E.S.; Medeiros, M.; Nome, F. 32^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Fortaleza, CE, **2009**.