

## Titulação espectrofotométrica e avaliação da atividade de hidrólise do modelo biomimético de metalohidrolases $\text{Cu}_2(\text{tacn}^1\text{Pr}_2\text{mff})\text{Cl}_3$

\*Vicente R. de Almeida<sup>1</sup>(PG), Eduardo L. Schilling<sup>1</sup>(PG), Luiza M. Bessa<sup>1</sup>(IC), Ademir Neves<sup>1</sup>(PQ).  
[vicentebra@hotmail.com](mailto:vicentebra@hotmail.com)

<sup>1</sup>Laboratório de Bioinorgânica e Cristalografia, Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis-SC, Brasil.

Palavras Chave: modelos biomiméticos, equilíbrio, metalohidrolases

### Introdução

Desde a descoberta da atividade antitumoral da cisplatina a utilização de metalofármacos contra doenças como o câncer intensifica-se e o estudo do comportamento de tais drogas se faz indispensável. Visto que a inibição da replicação e expressão dos genes de células cancerígenas apresenta-se como alternativa para o controle do câncer, a síntese de modelos biomiméticos de metalohidrolases, tal como as Fosfatases Ácidas Purpuras (PAPs), é um importante campo que auxilia no progresso tanto da farmacologia e medicina como no desenvolvimento da química de coordenação e dos aspectos moleculares dos catalisadores e novos materiais.<sup>1,2</sup> Neste contexto apresenta-se nesse trabalho o comportamento em solução aquosa de um complexo binuclear de Cobre(II) já descrito<sup>3</sup> com o ligante  $\text{tacn}^1\text{Pr}_2\text{mff}$  (L),  $\text{Cu}_2(\text{L})\text{Cl}_3$  (**1**), e também a reatividade do mesmo frente a hidrólise do substrato modelo 2,4-bis(dinitrofenil)fosfato (2,4-BDNPP).

### Resultados e Discussão

Buscando determinar o equilíbrio de espécies do complexo **1** foi realizado a titulação espectrofotométrica onde variou-se o pH de 2,8 a 9,4 (MES, HEPES, TRIS e CHES) monitorando-se o espectro eletrônico de 200 a 800 nm. Observando a variação de absorvância da banda TCLM em 376 nm foi possível obter dois valores de pKa espectrofotométricos atribuídos aos equilíbrios  $\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})(\text{L})\text{Cu}(\text{H}_2\text{O}) \rightarrow \text{Cu}(\mu\text{-OH})(\text{L})\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})$  e  $\text{Cu}(\mu\text{-OH})(\text{L})\text{Cu}(\text{H}_2\text{O}) \rightarrow \text{Cu}(\mu\text{-OH})(\text{L})\text{Cu}(\text{OH})$  com valores de 5,9 e 7,4 respectivamente.

A avaliação da reatividade do complexo **1** frente a hidrólise do substrato modelo 2,4-BDNPP foi estudada obtendo-se o perfil da curva de pH *versus* velocidade inicial de formação do produto 2,4-dinitrofenolato ( $V_0$ ), monitorando o aumento da absorvância em 400 nm em função do tempo.

Assim percebeu-se que o valor de pH 6 foi ótimo para a reação de hidrólise promovida pelo complexo. Ainda, tratando a curva de pH *versus*  $V_0$  pode-se obter pKas cinéticos com valores de 5,6 e 6,5 atribuídos aos equilíbrios citados anteriormente. Descoberto o pH ótimo para catálise da reação de hidrólise, utilizou-se o sistema tamponado em pH 6

para obtenção do perfil da curva [2,4-BDNPP] *versus*  $V_0$ , onde foi possível observar a saturação do catalisador de acordo com o modelo cinético enzimático de Michaelis-Menten. A partir da curva de saturação foram extraídos os parâmetros cinéticos explicitados na tabela 1.

**Tabela 1.** Parâmetros cinéticos de hidrólise do 2,4-BDNPP catalisada pelo complexo **1**.

$V_{\text{max}}/\text{molL}^{-1}\text{s}^{-1}$	$k_{\text{cat}}/\text{s}^{-1}$	$K_M/\text{molL}^{-1}$	$k_{\text{cat}}/k_{\text{esp}}^*$
$4,7 \times 10^{-9}$	$5,1 \times 10^{-4}$	$7,1 \times 10^{-3}$	2642

\* $k_{\text{esp}}$ = constante de hidrólise espontânea  $1,93 \times 10^{-7} \text{ s}^{-1}$ .<sup>4</sup>

### Conclusões

De acordo com os resultados obtidos pode-se concluir que a espécie ativa na hidrólise do 2,4-BDNPP é encontrada de forma majoritária em pH 6 com a unidade de sítio  $\text{Cu}(\mu\text{-OH})(\text{L})\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})$ , capaz de trocar uma molécula de água pelo substrato, o qual torna-se susceptível à um ataque nucleofílico de um íon  $\text{HO}^-$ . O estudo do efeito isotópico H/D na catálise poderá ser útil para descoberta da presença de um nucleófilo  $\text{HO}^-$  terminal originário da ponte  $\mu\text{-OH}$ . Embora o segundo pKa proposto apresente valores comparativos diferentes, nota-se que a formação da espécie ativa ocorre em um primeiro pKa definido e com valores muito próximos entre os métodos espectroscópico e cinético.

É válido ressaltar que o complexo **1**, apesar de apresentar atividade de hidrólise do 2,4-BDNPP, ao ser testado em células de levedura *S. cerevisiae* em metabolismo fermentativo não exibiu atividade citotóxica mantendo a viabilidade celular ótima normal.<sup>5</sup> Ainda assim o complexo **1** desempenha um importante papel para o entendimento da estrutura e atividade de novos compostos com perspectiva em bioinorgânica, catálise e medicina.

### Agradecimentos

CNPq, CAPES, INCT-Catálise e UFSC.

<sup>1</sup> Mitic *et al*, *Chemical Reviews*, **2006**, v. 106(8), p. 3338.

<sup>2</sup> Kaim, W.; Schwederski, B., *Wiley*, **1991**.

<sup>3</sup> Almeida *et al*, *XVII SBQ Sul*, **2009**.

<sup>4</sup> Bunton *et al*, *The Journal of Organic Chemistry*, **1969**, 34(4): p. 767.

<sup>5</sup> Almeida *et al*, *XXXIV SBQ*, **2011**.

