

Actividad CAT/SOD de complejos de Mn^{III} con bases de Schiff polidentadas. Estudios cinéticos y espectroscópicos

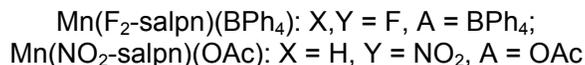
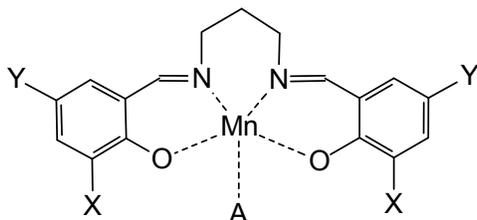
Facundo Farabollini, Alter Caimi, Verónica Solís, Claudia Palopoli, Sandra, Signorella*

Instituto de Química Rosario CONICET/ Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas. UNR. Suipacha 531. S2002LRK. e-mail: palopoli@iquir-conicet.gov.ar

Introducción: El peróxido y superóxido generados en la cadena respiratoria están generalmente bien regulados por los organismos aeróbicos que emplean la superóxido dismutasa (SOD) y la catalasa (CAT) para evitar los efectos nocivos de estos oxidantes. En muchas enfermedades inflamatorias crónicas y degenerativas, la producción de O_2^{2-} y $O_2^{\cdot-}$ supera la capacidad de inactivación de las CAT y SOD, lo que conduce al daño celular. En este contexto, la investigación farmacológica ha enfatizado en el desarrollo de compuestos miméticos de SOD y CAT de bajo peso molecular, como agentes terapéuticos para la prevención de lesiones producidas por estrés oxidativo.¹ En particular, los complejos formados con derivados de pentazaciclopentadecano y 1,2-bis(salicilidenamino)etano (salen) han sido seleccionados como drogas potenciales y se encuentran en etapa de ensayos clínicos.² Los complejos de la serie Mn-salen mostraron actividad CAT y SOD combinadas.³ Sin embargo, aunque presentan bastante eficiencia SOD, la actividad CAT es muy pobre. La actividad CAT de estos complejos mejora empleando separadores de mayor longitud entre los sitios nitrogenados del ligando.⁴ No obstante, las características estructurales/electrónicas de complejos de Mn aún necesitan optimizarse para acceder a catalizadores que sean eficientes como “scavengers” de especies reactivas de oxígeno en condiciones fisiológicas.

En este trabajo se describe la actividad CAT/SOD de dos nuevos complejos de Mn con potenciales redox controlados por el ligando a valores próximos a los de la enzima, que catalizan eficientemente la supresión de superóxido y peróxido.

Resultados: Los ligandos 1,3-bis(2,5-difluorosalicilidenamino)propano (F_2 -salpn) y 1,3-bis(5-nitrosalicilidenamino)propano (NO_2 -salpn) se sintetizaron por condensación de 1,3-diaminopropano con 3,5-difluorosalicilaldehído y 5-nitrosalicilaldehído, respectivamente, en etanol, y fueron caracterizados por RMN, IR y análisis elemental.



El complejo $Mn(F_2\text{-salpn})(BPh_4)$ se obtuvo por reacción de $F_2\text{-salpn}$ y $Mn(OAc)_2 \cdot 4H_2O$ en metanol, seguido por precipitación con $NaBPh_4$. El compuesto $Mn(NO_2\text{-salpn})(OAc)$ se obtuvo por precipitación a partir de la mezcla de $Mn(OAc)_2 \cdot 4H_2O$ con $NO_2\text{-salpn}$ en NaOH al 20% en metanol. Los dos complejos fueron caracterizados estructuralmente por espectroscopías convencionales (IR, RPE, RMN, ESI-MS, UV-vis) y análisis elementales.

Las propiedades electroquímicas de los complejos $\text{Mn}(\text{F}_2\text{-salpn})(\text{BPh}_4)$ y $\text{Mn}(\text{NO}_2\text{-salpn})(\text{OAc})$ se evaluaron por voltamperometría cíclica y de onda cuadrada, encontrándose que los ligandos empleados modulan el $E_{1/2}$ de la cupla $\text{Mn}^{\text{II}}/\text{Mn}^{\text{III}}$ a valores de -18 y 162 mV (vs Ag/AgCl) en DMSO, respectivamente. Estos valores se encuentran dentro del rango de -0.4 V ($\text{O}_2/\text{O}_2^{\cdot-}$) a 0.65 V ($\text{O}_2^{\cdot-}/\text{H}_2\text{O}_2$) requerido para la actividad SOD.

$\text{Mn}(\text{F}_2\text{-salpn})\text{X}$ y $\text{Mn}(\text{NO}_2\text{-salpn})(\text{OAc})$ dismutan superóxido, con valores de IC_{50} de 2.58 y 3.50 μM , respectivamente, determinados a partir del porcentaje de inhibición de la fotorreducción de NBT (nitro blue tetrazolium) en presencia del catalizador, a pH = 7.8 (Figura 1). La menor actividad del complejo NO_2 -sustituido puede ser el resultado de la mayor proporción de dímero, el cual es más apto que el monómero para catalizar reacciones redox por dos electrones pero es inactivo para dismutar superóxido en procesos redox monoeléctricos.

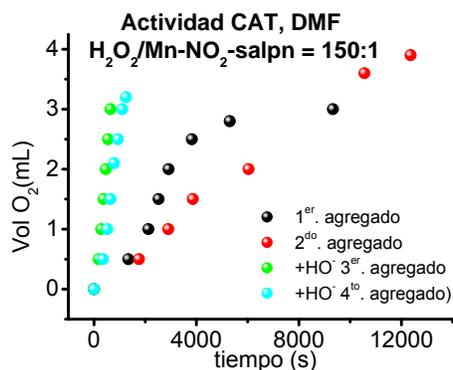


Figura 1. Medición volumétrica del O_2 liberado por dismutación de H_2O_2

La actividad CAT de ambos complejos se evaluó en diferentes solventes: metanol, acetonitrilo, DMF y DMSO, midiendo la cantidad de O_2 liberado por mezclas catalizador + H_2O_2 , empleando métodos volumétricos. Estudios espectroscópicos realizados sobre soluciones de los complejos en estos solventes pusieron en evidencia que los solventes no próticos favorecen la formación de dímeros y, consecuentemente, aumentan la eficiencia catalítica para dismutar peróxido de hidrógeno. En los solventes no próticos, estos complejos soportan varios agregados de H_2O_2 pero pierden actividad. Sin embargo, la adición de 3.5 equivalentes de base, restituye, e incluso aumenta, la actividad catalítica original, tal como se muestra en la Figura 2. El complejo NO_2 -sustituido, aunque presenta un tiempo de inducción para formar la especie catalíticamente activa, reacciona más rápidamente que el derivado fluorado.

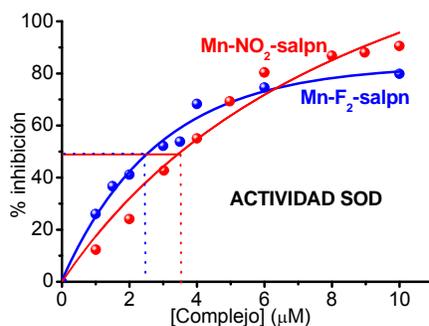


Figura 2. Determinación del % de inhibición de fotorreducción de NBT por $\text{O}_2^{\cdot-}$

Conclusiones: Ambos complejos reproducen estructuralmente el sitio activo de las MnSOD con un entorno N_2O_2 y presentan actividad combinada CAT/SOD, quedando realzada una u otra según las condiciones experimentales empleadas. El uso de solventes no próticos y el agregado de base externa (en cualquiera de los solventes) favorecen y mejoran la actividad catalasa.

Referencias

1. S. Signorella, C. Hureau, *Coord. Chem. Rev.*, 256, 2012, 1229.
2. R.A. Rosenthal, K.D. Huffman, L.W. Fiset, C.A. Damphousse, W.B. Callaway, B. Malfroy, S.R. Doctrow. *J. Biol. Inorg. Chem.* 14, 2009, 979 .
3. W. Park, D. Lim, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 19, 2009, 614.
4. V. A. Daier, C. M. Palopoli, C. Hureau, A. De Candia, S. R. Signorella *Arkivoc* 2011 (VII), 327.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la UNR, CONICET y SECTel (Sta. Fe) por el apoyo financiero.