

Sharon Signorella,^{1,2} Claudia Palopoli^{1,2} y Sandra Signorella^{1,2}¹Instituto de Química Rosario (CONICET). Blvd. 27 de Febrero 210 bis, S2000EZF, Rosario, Santa Fe, Argentina.²Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, Universidad Nacional de Rosario. Suipacha 531, S2002LRK, Rosario, ArgentinaE-mail: ssignorella@iquir-conicet.gov.ar

INTRODUCCIÓN

Las superóxido dismutasas (SODs) catalizan la dismutación de $O_2^{\cdot-}$ y constituyen la principal defensa biológica contra este metabolito. En numerosas patologías, la producción de especies reactivas de oxígeno supera la capacidad de las enzimas endógenas para eliminarlas, produciendo daño celular. Debido a las limitaciones en el uso de la enzima SOD como agente terapéutico, las investigaciones se han centrado en compuestos miméticos que actúen como antioxidantes catalíticos; entre ellos, complejos de Cu(II) con bases de Schiff [1]. Con el fin de evitar procesos de degradación/oligomerización que suelen ocurrir en fase acuosa, la química de coordinación biospirada ha evolucionado hacia la inmovilización de los complejos metálicos en soportes sólidos donde puede lograrse un confinamiento similar al creado por las metaloproteínas. [2] Por ello, en este trabajo se presentan dos complejos de Cu(II) miméticos de SOD con ligandos "clickables", aislados y estabilizados por anclaje covalente a sílica mesoporosa funcionalizada con azida a través de la cicloadición [2+3] azida-alquino, conocida como "click chemistry". El objetivo perseguido consiste en evaluar el efecto de la unión covalente sobre la actividad SOD y el reuso de estos catalizadores híbridos respecto a los análogos obtenidos con bases de Schiff y encapsulados por intercambio iónico en sílica mesoporosa de igual tamaño de poro.

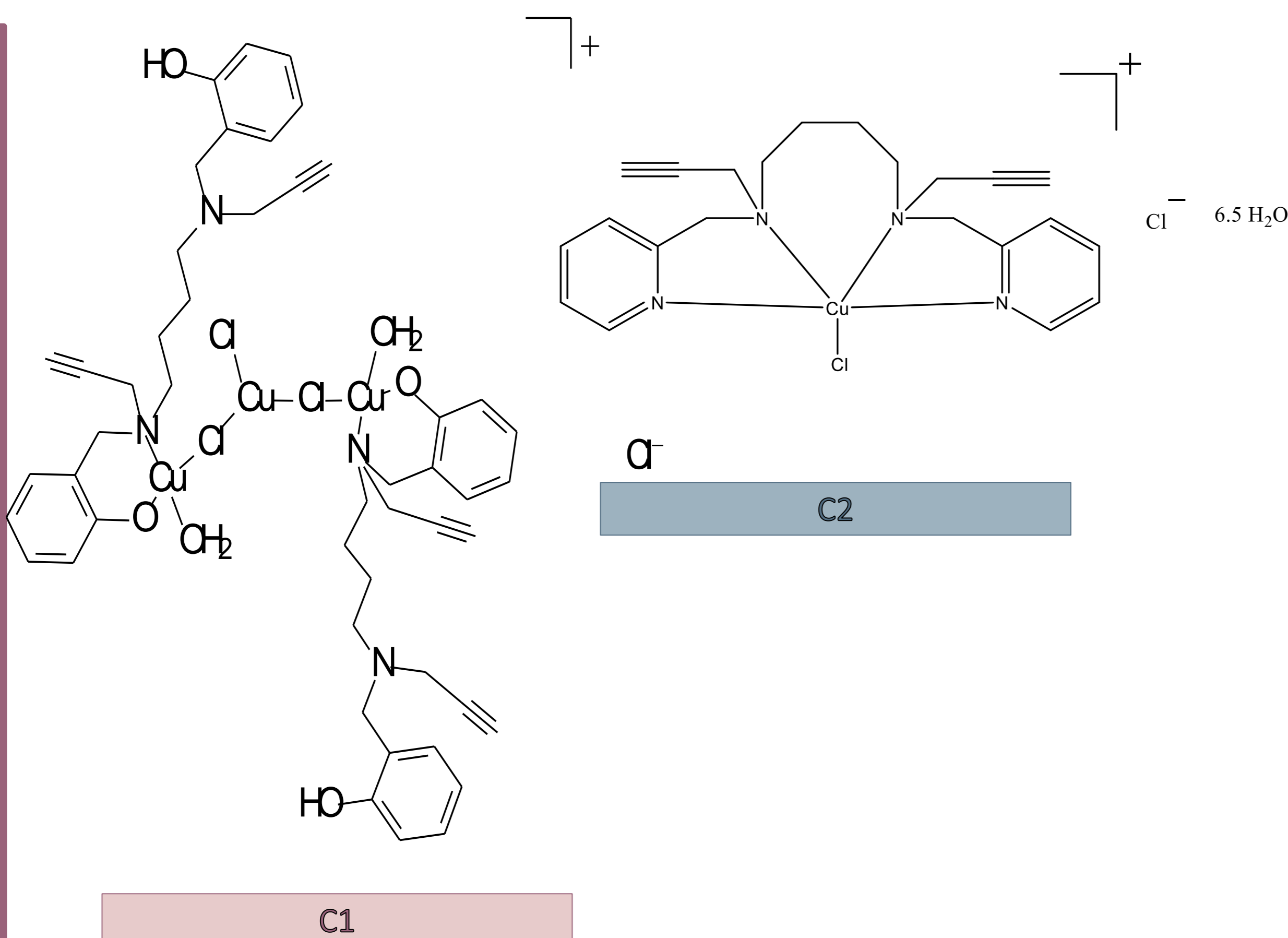
Obtención de ligandos y complejos

Las bases de Schiff H_2salbn y H_2pyrnb fueron sintetizadas a partir de la reacción entre 1,4-diaminobutano y el aldehído correspondiente, en una relación 1:2. Luego, las iminas se redujeron con $NaBH_4$ y por último se agregó bromuro de propargilo para obtener ligandos "clickables": hbpabn y pyrpbabn.

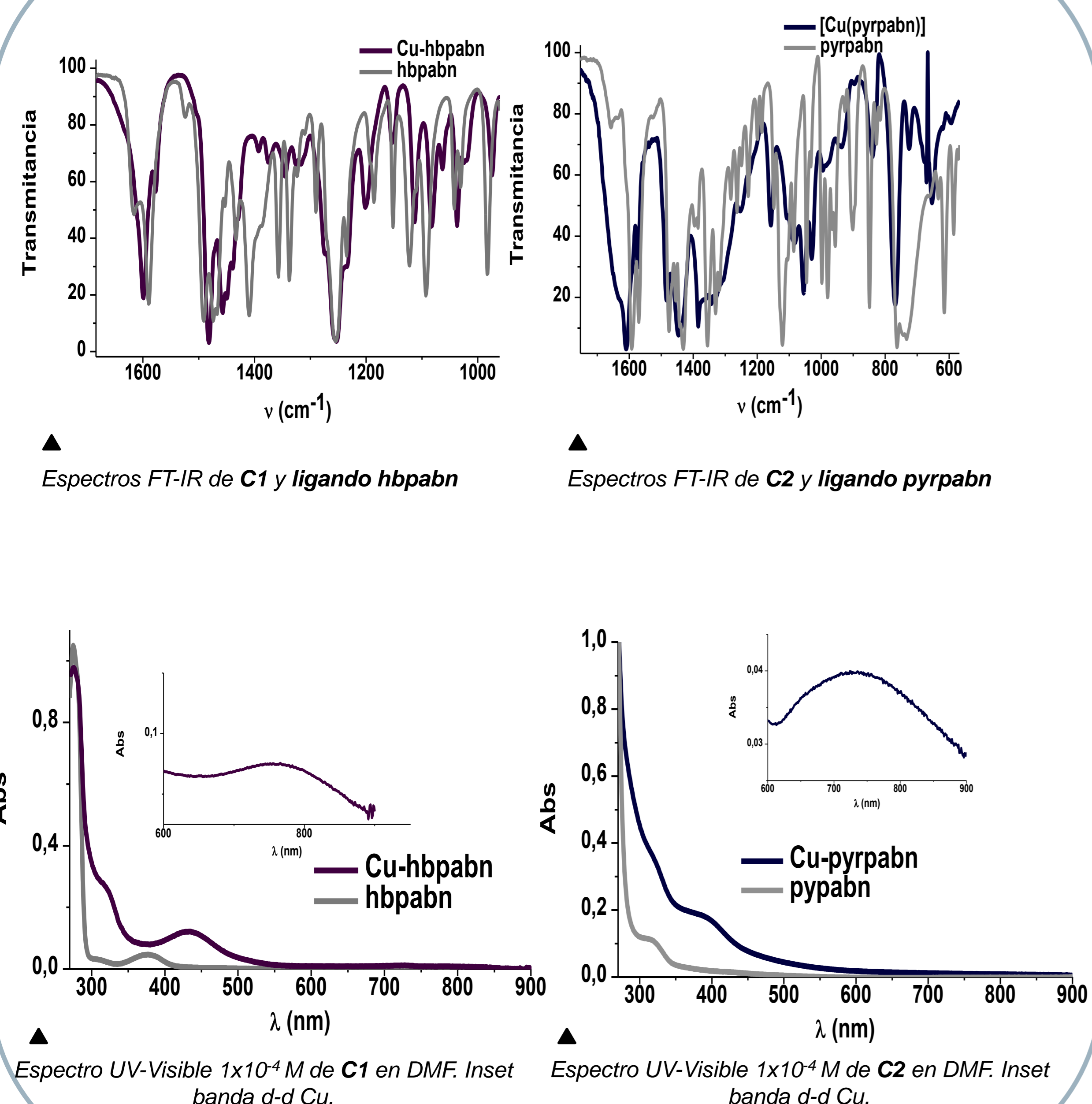
El complejo **C1** se obtuvo disolviendo el ligando hbpabn en MeOH, agregando gota a gota $CuCl_2 \cdot H_2O$, en una relación 1:1.

El complejo **C2** fue obtenido mezclando $CuCl_2 \cdot H_2O$ y el ligando pyrpbabn en una relación 1:1, en EtOH.

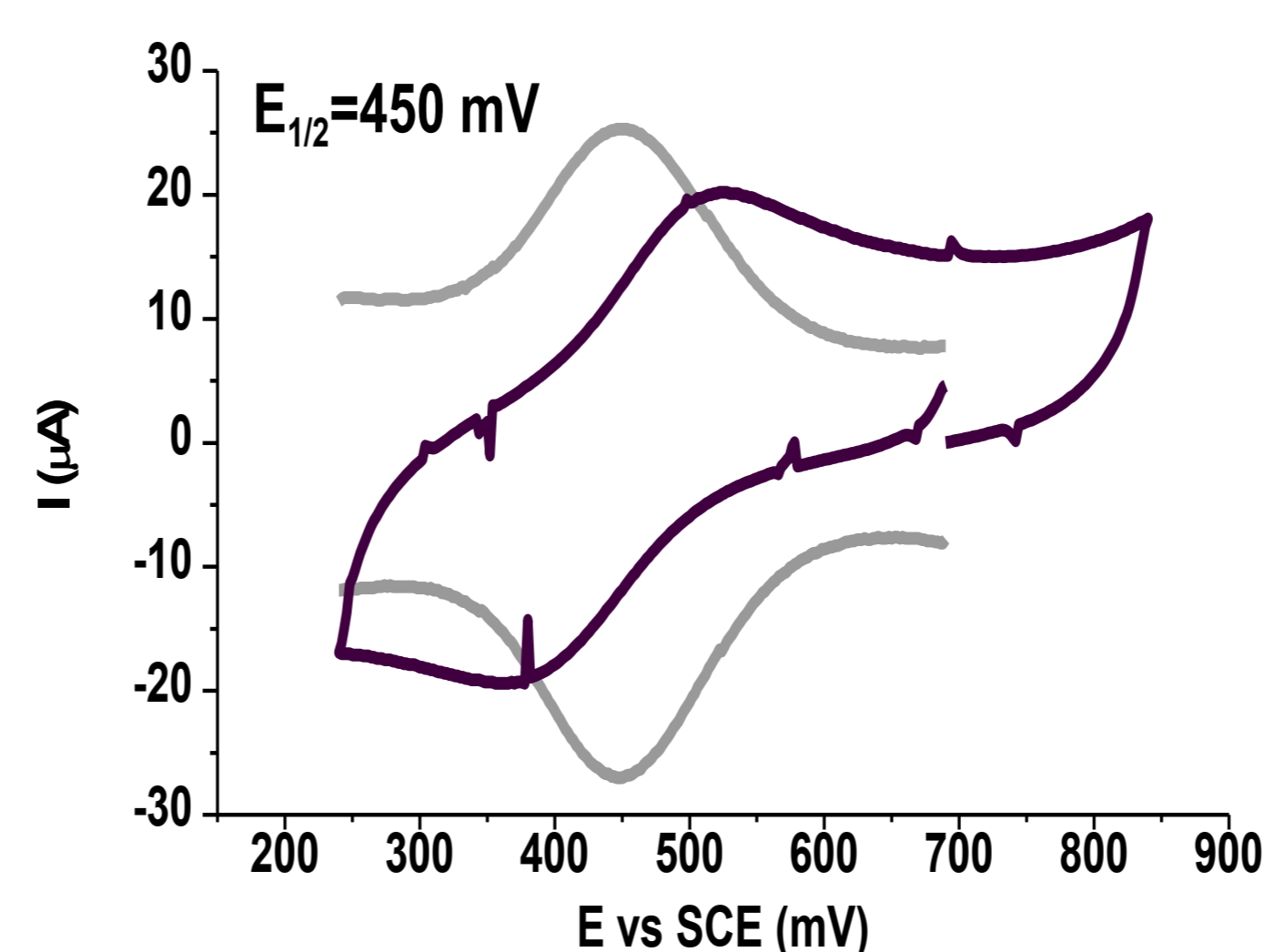
Estructura de los complejos



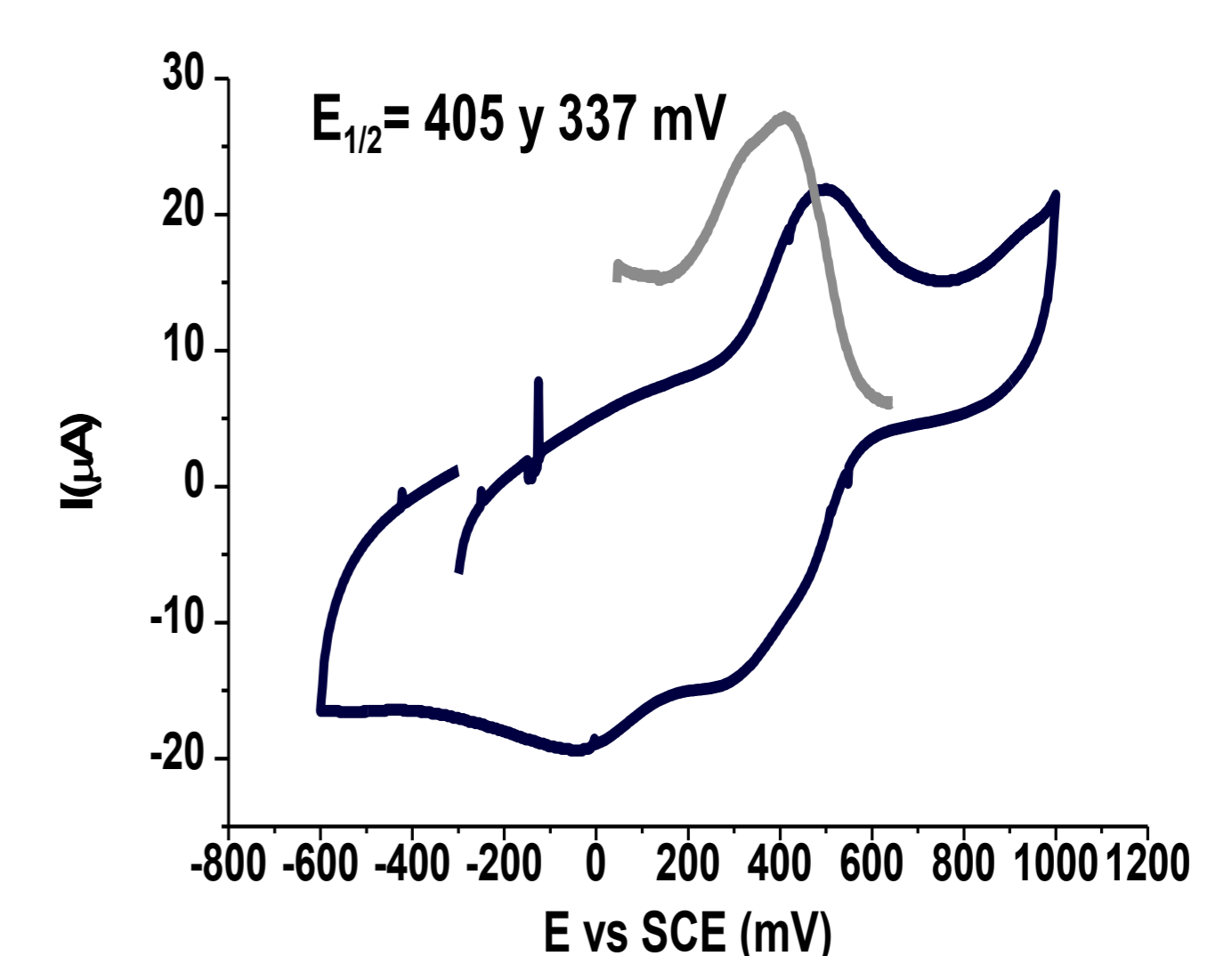
Caracterización de ligandos y complejos



Electroquímica



▲ Voltamogramas de **C1** en DMF.
Condiciones: $[C_1] = 1 \text{ mM}$; velocidad de barrido = 80 mV/s; electrodo de trabajo: C.



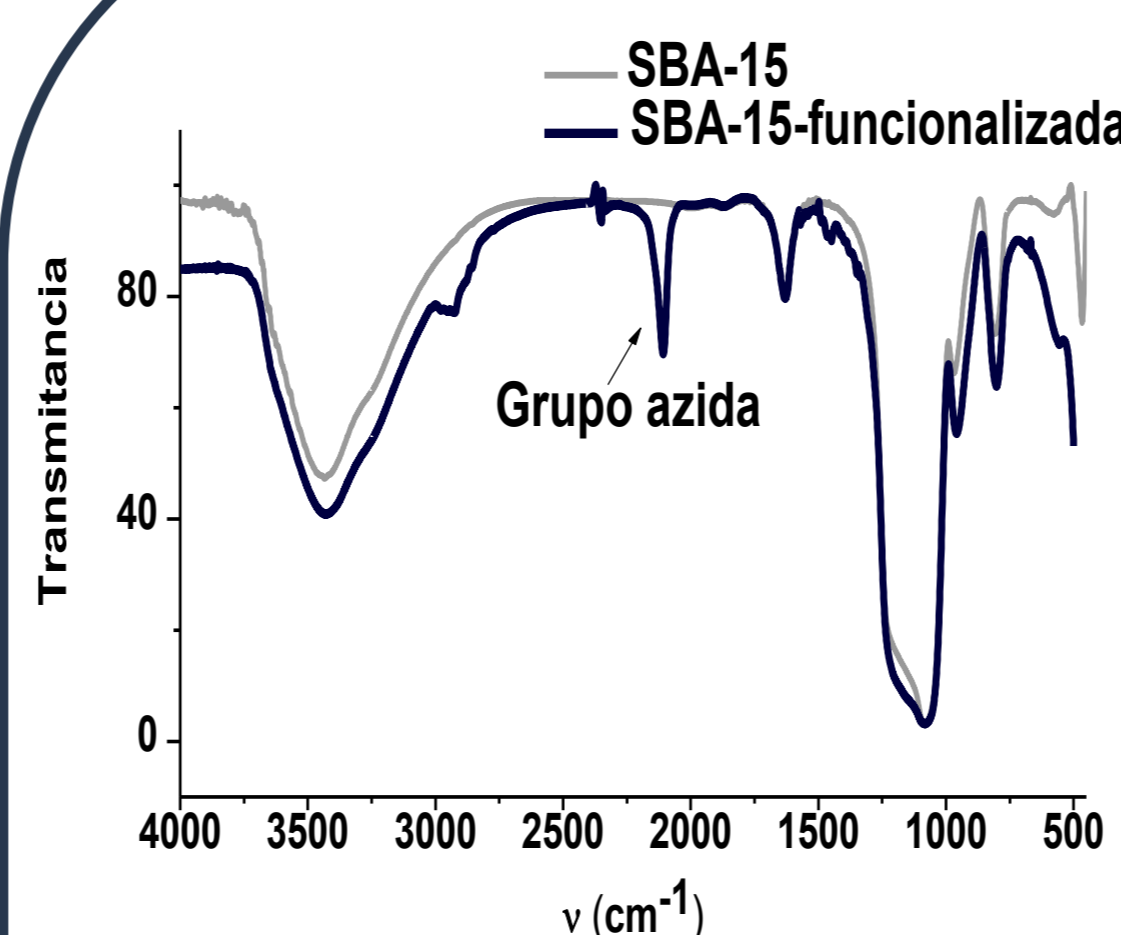
▲ Voltamogramas de **C2** en DMF.
Condiciones: $[C_2] = 1 \text{ mM}$; velocidad de barrido = 50 mV/s; electrodo de trabajo: C.

MATERIALES FUNCIONALIZADOS

SÍNTESIS ONE-POT

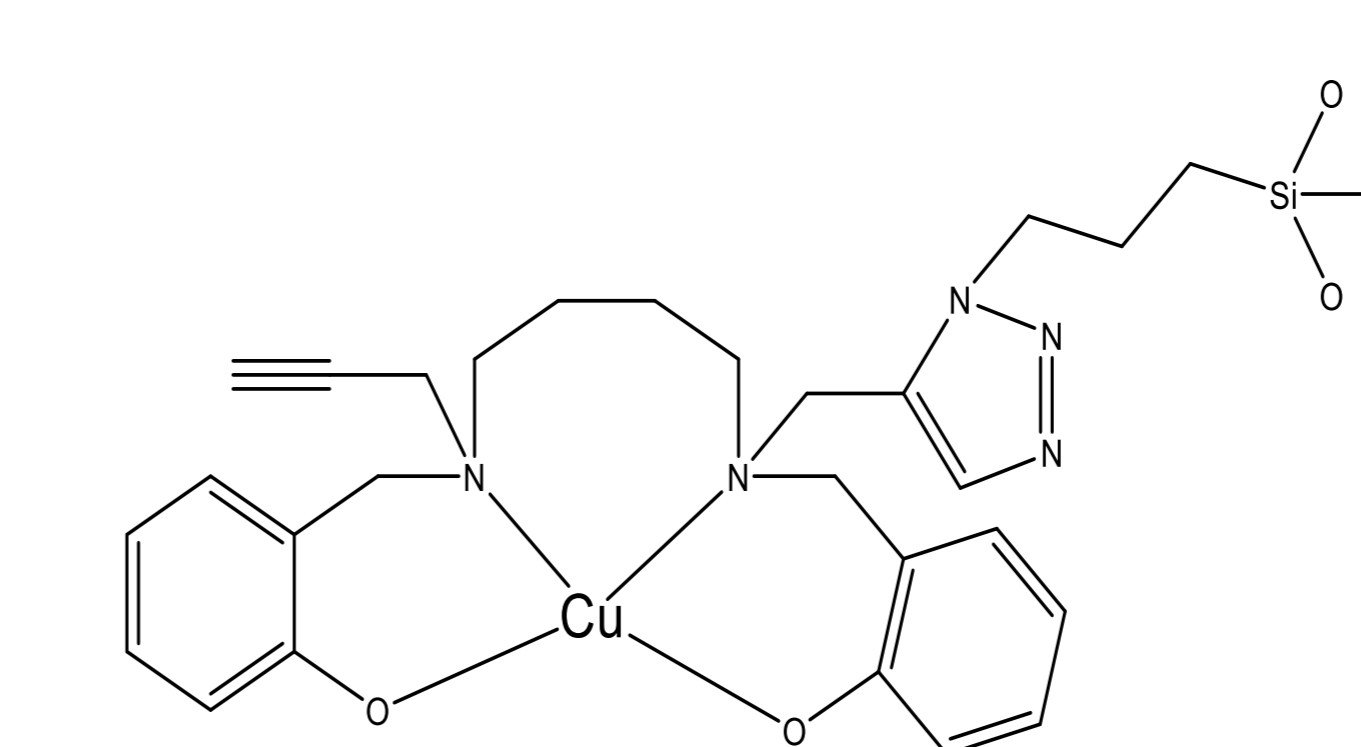
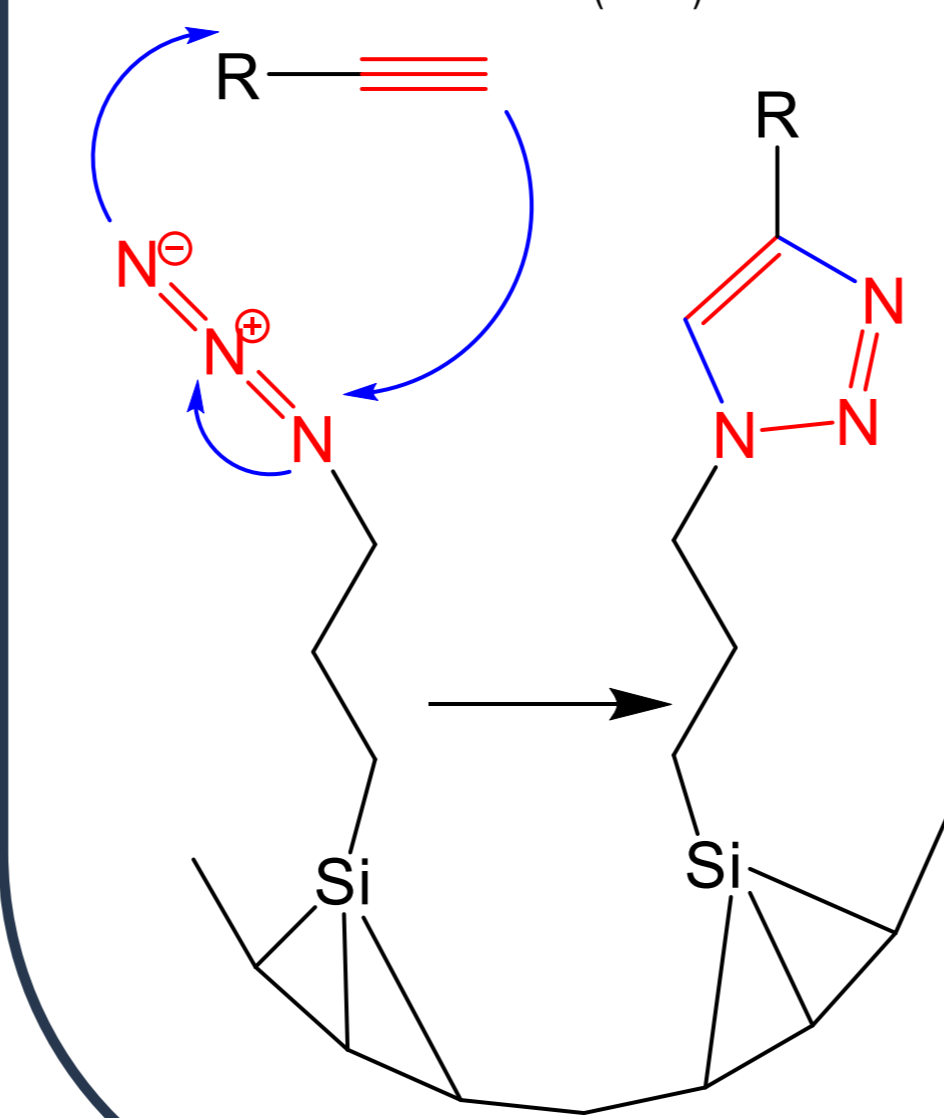
Consiste en obtener la sílica mesoporosa SBA-15 con el grupo azida incorporado, en una sola etapa (sin aislar intermediarios), a partir de una mezcla de AzPTES (3-azidopropiltrietoxisilano), TEOS y copolímero Pluronic P-123 en medio ácido.

◀ Espectro FT-IR síntesis one-pot (seguimiento grupo azida)

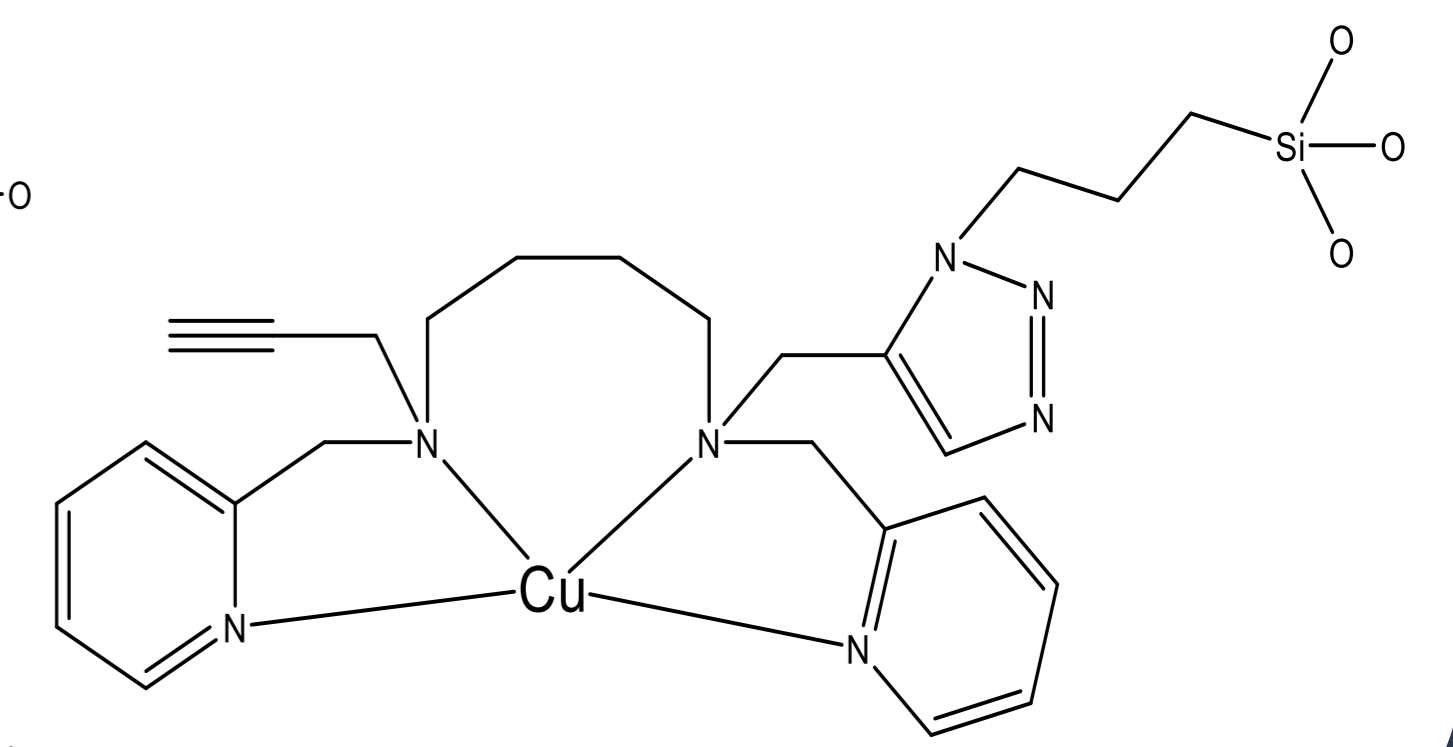


REACCIÓN CLICK

Una vez obtenidas la sílica funcionalizada con azida, se hace reaccionar con el grupo alquino del ligando por reacción click seguido por reacción con la sal metálica para formar el complejo.



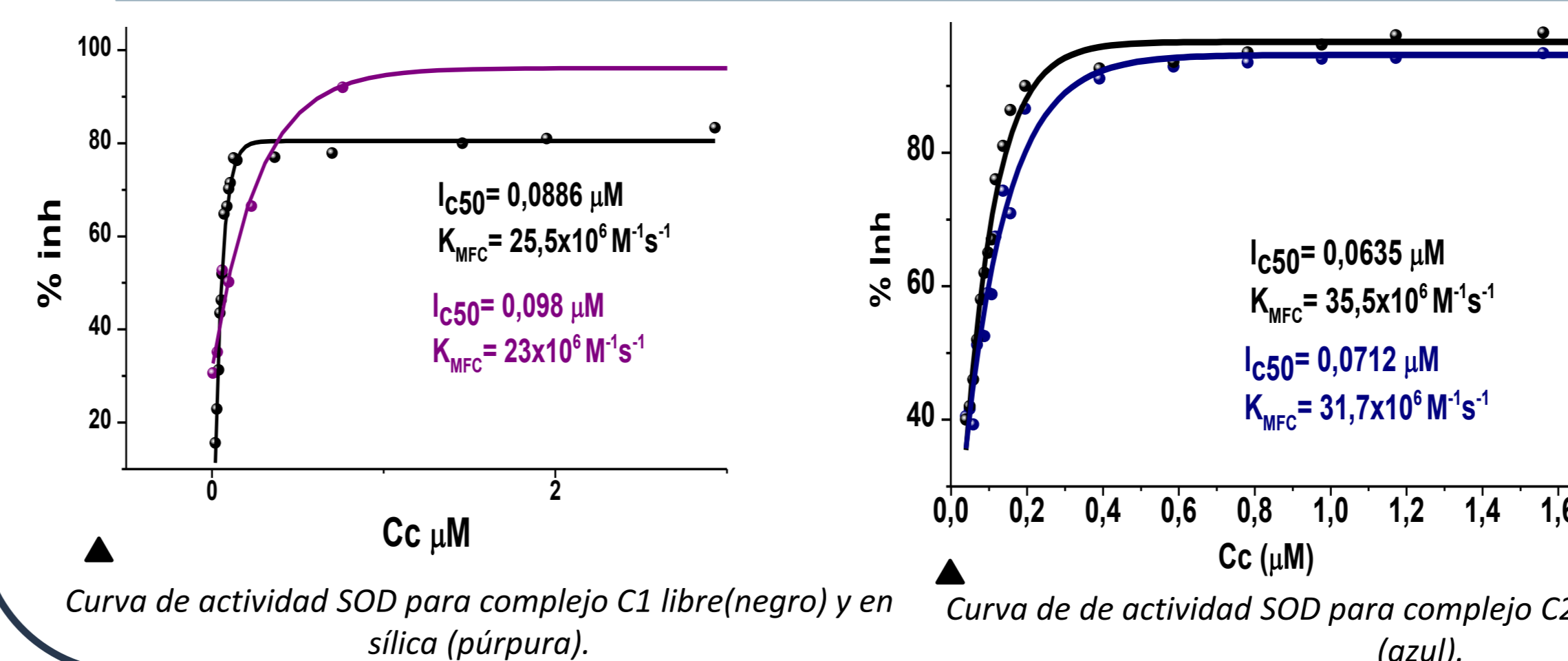
▲ **C1** unido covalentemente a sílica mesoporosa mediante reacción click.



▲ **C2** unido covalentemente a sílica mesoporosa mediante reacción click.

Estudios de actividad superóxido dismutasa (SOD)

Para esta medición se empleó un ensayo indirecto de inhibición de la fotorreducción de nitro blue tetrazolium, en buffer fosfato de pH 7.8



▲ Curva de actividad SOD para complejo **C1** libre (negro) y en sílica (púrpura).

▲ Curva de actividad SOD para complejo **C2** libre (negro) y en sílica (azul).

Complejo	Sitios donores del ligando	Actividad SOD k_{cat} ($10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$)	$E_{1/2}$ (mV) vs ECS
CuZn-SOD humana	N_4	~2000	+156
$[Cu(pyrpbabn)]^{2+}$	N_4	35,5	405
$[Cu(salbn)]$	N_2O_2	26	-906
$[Cu(Hbpabn)]^{2+}$	N_2O_2	25,5	455
$[Cu(pyrbn)]$	N_4	19,6	+89
$[Cu(pyrpbabn)]^{2+}$	N_4	12,6	-220 ($E_{1/2}$)
$[Cu(salpb)]^{2+}$	N_4	4,05	-39
$[Cu(salbn)]$	N_2O_2	1,24	-1003

CONCLUSIONES

En fase homogénea, estos complejos presentan actividad SOD similar a los formados con bases de Schiff con igual longitud de cadena central, y más de un orden de magnitud superior que los formados con derivados de 1,3-diaminopropano. Ambos complejos unidos covalentemente a sílica mesoporosa SBA-15 modificada con azida mantuvieron la actividad SOD y mostraron mayor estabilidad que los encapsulados por interacciones electrostáticas.