



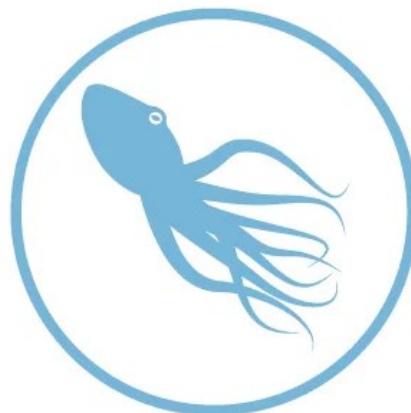
Bioinorgânica do Cobre

Dr. Tiago P. Camargo

A química Bioinorgânica do Cobre: uma alternativa ao ferro

Para muitas proteínas contendo ferro, existem análogos dependentes de cobre "paralelos" com funções comparáveis.

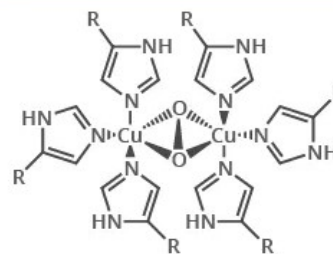
Correspondência entre proteínas de ligação reversível ao O_2 , hemeritina (Fe) e hemocianina (Cu), ambos os metais também são apresentados em proteínas de transferência de elétrons de fotossíntese e respiração, no metabolismo de oxigênio e na desativação de intermediários tóxicos de redução de O_2 .



Blue

SPIDERS, CRUSTACEANS, SOME MOLLUSCS, OCTOPUSES & SQUID

HAEMOCYANIN



HAEMOCYANIN

(oxygenated form; R = histidine residues)

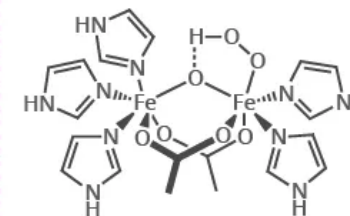
Unlike haemoglobin, which is bound to red blood cells, haemocyanin floats free in the blood. Haemocyanin contains copper instead of iron. When deoxygenated, the blood is colourless, but when oxygenated, it gives a blue colouration.



Violet

MARINE WORMS INCLUDING PEANUT WORMS, PENIS WORMS & BRACHIOPODS

HAEMERYTHRIN



HAEMERYTHRIN

(oxygenated form)

Haemerythrin is only 1/4 as efficient at oxygen transport when compared to haemoglobin. In the deoxygenated state, haemerythrin is colourless, but it imparts a violet-pink colour when oxygenated.

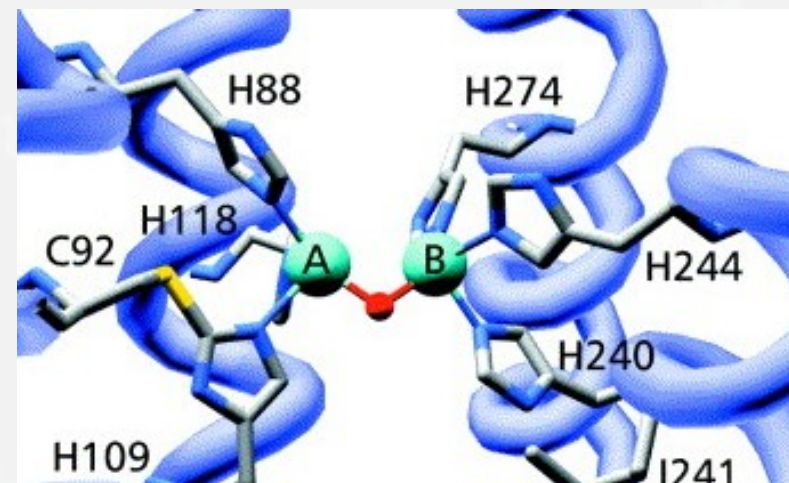
A química Bioinorgânica do Cobre: uma alternativa ao ferro

Apesar das semelhanças funcionais óbvias, no entanto, ferro e cobre também mostram algumas diferenças gerais em sua aparência fisiológica e função:

Ao contrário do ferro heme, o cobre biológico não ocorre na forma de compostos de coordenação de tetrapirrol. (His)

Como regra geral, os potenciais redox para transições $\text{Cu}^{\text{I/II}}$ são maiores do que para os pares redox $\text{Fe}^{\text{II/III}}$, com ligantes fisiológicos e não fisiológicos. Proteínas de cobre como a ceruloplasmina são, portanto, capazes de catalisar a oxidação de Fe^{II} a Fe^{III} .

Em solução aquosa neutra e salina, a forma oxidada Cu^{2+} é mais solúvel que Cu^{1+} , que forma compostos insolúveis com haleto e sulfeto; em contraste, a forma oxidada é menos solúvel no sistema $\text{Fe}^{\text{II/III}}$. Em vista da produção biogênica de O_2 durante a evolução inicial, essa diferença também teve implicações geoquímicas em termos de aumento da precipitação de ferro e mobilização de cobre: o cobre é um bioelemento “moderno” .



A química Bioinorgânica do Cobre: uma alternativa ao ferro

Apesar das semelhanças funcionais óbvias, no entanto, ferro e cobre também mostram algumas diferenças gerais em sua aparência fisiológica e função:

Devido ao seu aparecimento tardio e biodisponibilidade na evolução, o cobre é frequentemente encontrado no espaço extracelular, enquanto o ferro ocorre principalmente dentro das células.

Table 10.1 Correspondence of iron and copper proteins.

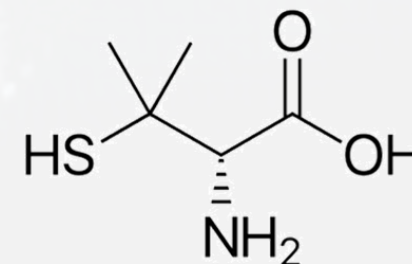
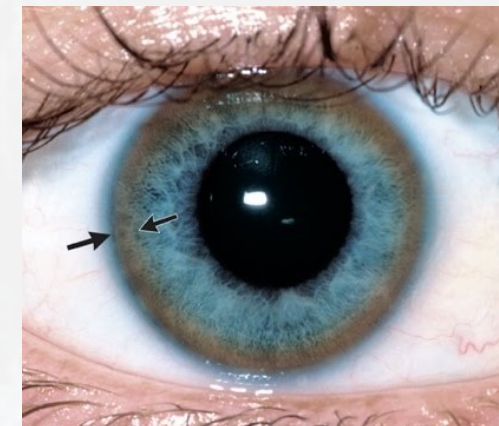
Function	Fe protein	Cu protein
O ₂ transport	hemoglobin (<i>h</i>) hemerythrin (<i>nh</i>)	hemocyanin
oxygenation	cytochrome P-450 (<i>h</i>) methane monooxygenase (<i>nh</i>) catechol dioxygenase (<i>nh</i>)	tyrosinase quercetinase (dioxygenase)
oxidase activity	peroxidases (<i>h</i>) peroxidases (<i>nh</i>)	amine oxidases laccase
electron transfer	cytochromes (<i>h</i>)	blue Cu proteins
antioxidative function	peroxidases (<i>h</i>) bacterial superoxide dismutases (<i>nh</i>)	superoxide dismutase (Cu, Zn) from erythrocytes
NO ₂ ⁻ reduction	heme-containing nitrite reductase (<i>h</i>)	Cu-containing nitrite reductase

A química Bioinorgânica do Cobre: uma alternativa ao ferro

Como os seres humanos não precisam de proteínas de cobre para o transporte estequiométrico de oxigênio, a quantidade total de cerca de 150 mg de cobre no corpo de um adulto é relativamente pequena. No entanto, há pouca tolerância para desvios, principalmente por causa do papel essencial desse oligoelemento na desativação do superóxido e na cadeia respiratória.

Neste contexto, alguns distúrbios patológicos relacionados ao cobre devem ser mencionados:

A doença de Wilson envolve uma disfunção hereditária da capacidade de armazenamento primário de cobre do corpo, na proteína ceruloplasmina. O íon é acumulado no fígado e no cérebro, levando à demência, insuficiência hepática e, por fim, à morte. O tratamento desta doença e do envenenamento agudo por cobre requer a administração de ligantes quelatos específicos de Cu, como a D-penicilamina. Este ligante contém sítios de coordenação S e N, de modo a garantir especificidade para cobre (I/II), e uma função carboxílica hidrofílica, que torna o complexo resultante excretável.



A química Bioinorgânica do Cobre: uma alternativa ao ferro

Neste contexto, alguns distúrbios patológicos relacionados ao cobre devem ser mencionados:

Deficiência aguda de cobre pode ocorrer principalmente em recém-nascidos, já que os mecanismos de transporte e armazenamento do metal envolvendo albumina sérica, ceruloplasmina e metalotioneína estabilizam apenas alguns meses após o nascimento. Devido ao papel essencial do cobre na respiração, essa deficiência pode causar uma utilização insuficiente de oxigênio no cérebro e, portanto, danos permanentes. Os bebês também são muito sensíveis ao suprimento excessivo de cobre; eles geralmente têm uma alta concentração de saturação no fígado logo após o nascimento. Assim, a cirrose infantil correspondente foi descrita para partes do mundo particularmente expostas ao cobre.



A química Bioinorgânica do Cobre: uma alternativa ao ferro

Neste contexto, alguns distúrbios patológicos relacionados ao cobre devem ser mencionados:

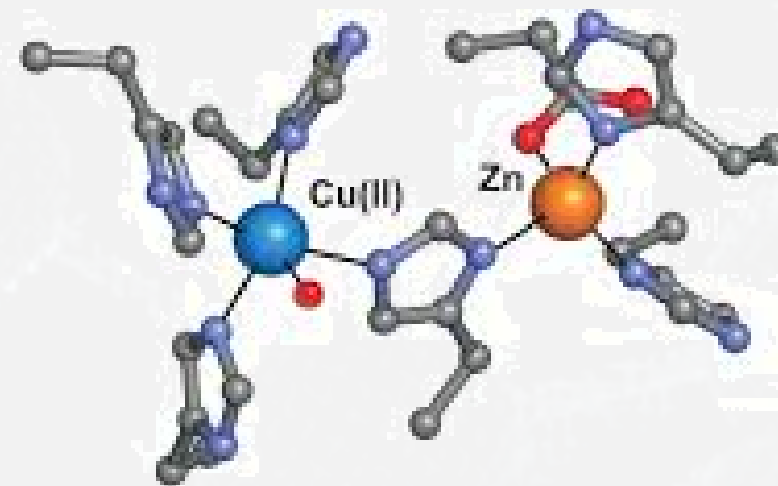
A síndrome do "cabelo crespo" de Menke é baseada em uma disfunção hereditária do transporte intracelular de cobre. Os sintomas de deficiência de cobre resultantes em bebês incluem distúrbios graves no desenvolvimento mental e físico, acompanhados pela ocorrência de cabelos crespos; uma terapia eficaz deve basear-se em compostos de cobre administrados por via intravenosa. A ocorrência de cabelos esparsos e crespos devido a distúrbios no metabolismo do cobre ilustra que esse elemento participa da formação do tecido conjuntivo. O gene defeituoso responsável pela síndrome de Menke foi localizado no cromossomo X e clonado. A proteína de transporte ATPase correspondente apresenta seis motivos Cys-X₂-Cys como locais de ligação de cobre presumíveis.



A química Bioinorgânica do Cobre: uma alternativa ao ferro

Neste contexto, alguns distúrbios patológicos relacionados ao cobre devem ser mencionados:

Defeitos (mutações) na superóxido dismutase dependente de cobre (SOD) são responsáveis pelo distúrbio neurodegenerativo (paralítico) conhecido como doença de Lou Gehrig ou esclerose lateral amiotrófica familiar (ELA). O cobre também tem recebido muita atenção por seu envolvimento em outras doenças neurodegenerativas, como as doenças de Parkinson e Alzheimer e distúrbios baseados em príons. O estresse oxidativo observado e o enovelamento incorreto da proteína foram relacionados a distúrbios da homeostase do metal.

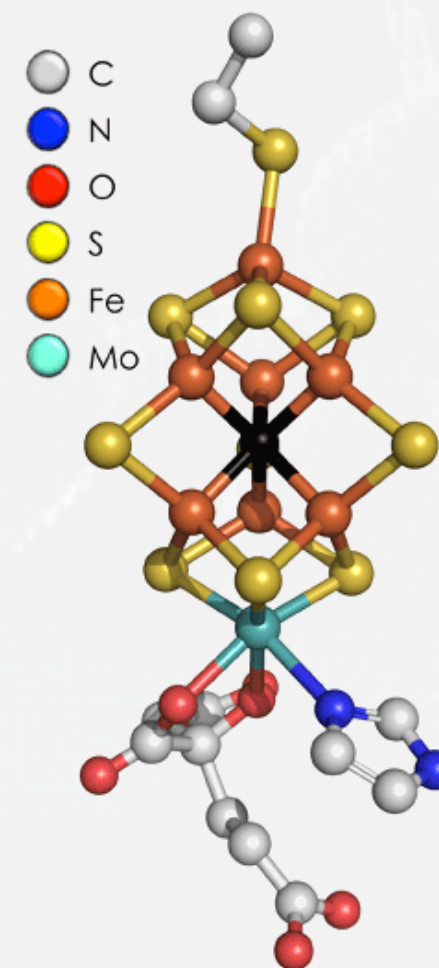


A química Bioinorgânica do Cobre: uma alternativa ao ferro

Cobre e molibdênio são ambos metais com afinidade para átomos doadores de N e S (antagonistas). Animais criados em solo rico em Mo e pobre em Cu podem desenvolver deficiências graves de cobre. Os distúrbios resultantes podem ser neutralizados com a suplementação de compostos de cobre na alimentação dos animais.

Presumivelmente, o cobre não está disponível para o metabolismo por causa de sua forte ligação aos tiomolibdatos, $\text{MoO}_n\text{S}_{4-n}^{2-}$, que são formados a partir do molibdênio e de substâncias contendo enxofre no trato digestivo de ruminantes. Deficiências "secundárias" semelhantes de cobre podem ocorrer na presença de excesso de Fe, Zn ou Cd.

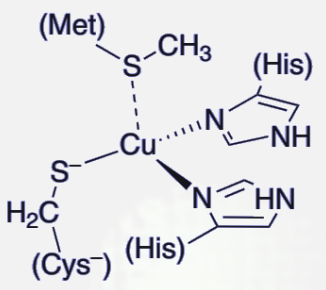
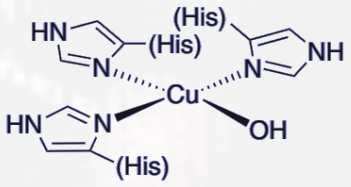
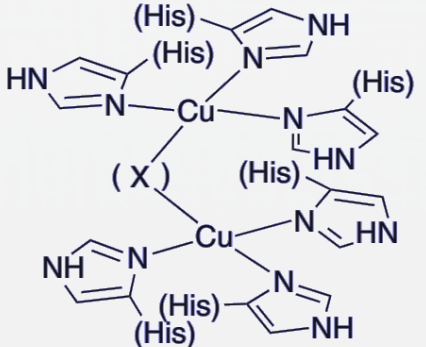
Do ponto de vista estrutural e espectroscópico, vários "tipos" de centro biológico de cobre podem ser distinguidos em proteínas, de acordo com uma convenção geralmente aceita



A química Bioinorgânica do Cobre: uma alternativa ao ferro

Do ponto de vista estrutural e espectroscópico, vários "tipos" de centro biológico de cobre podem ser distinguidos em proteínas, de acordo com uma convenção geralmente aceita

Table 10.3 Characteristics of "classical" copper centers in proteins.

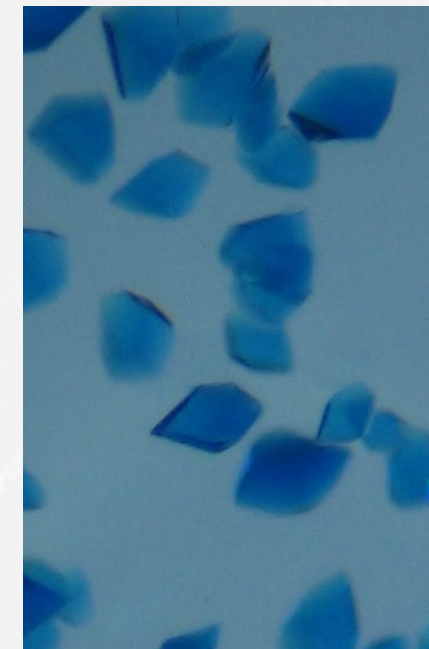
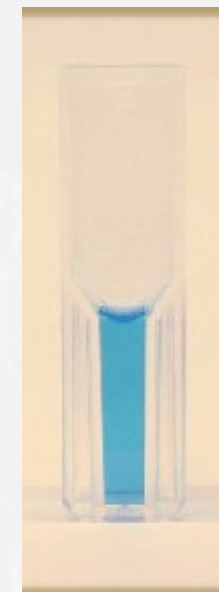
Generalized coordination geometry	Function, structure, characteristics
<p>type 1</p> 	<p>type 1: "blue" copper centers function: reversible electron transfer $\text{Cu}^{\text{II}} + e^- \rightleftharpoons \text{Cu}^{\text{I}}$ structure: strongly distorted, (3 + 1) coordination absorption of the copper(II) form at about 600 nm, molar extinction coefficient $\epsilon > 2000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, LMCT transition $\text{S}(\text{Cys}) \rightarrow \text{Cu}^{\text{II}}$ EPR/ENDOR of the oxidized form: small $^{63,65}\text{Cu}$ hyperfine coupling and g anisotropy, interaction of the electron spin with $-\text{S}-\text{CH}_2-$; $\text{Cu}^{\text{II}} \rightarrow \text{S}(\text{Cys})$ spin delocalization</p>
<p>type 2</p> 	<p>type 2: normal, "non-blue" copper function: O_2 activation from the Cu^{I} state in cooperation with organic coenzymes structure: essentially planar with weak additional coordination (Jahn–Teller effect for Cu^{II}), typically weak absorptions of Cu^{II}, $\epsilon < 1000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, ligand–field transitions ($d \rightarrow d$) normal Cu^{II} EPR</p>
<p>type 3</p> 	<p>type 3: copper dimers function: O_2 uptake from the $\text{Cu}^{\text{I}}-\text{Cu}^{\text{I}}$ state structure: (bridged) dimer, $\text{Cu}-\text{Cu}$ distance about 360 pm after O_2 uptake, intense absorptions around 350 and 600 nm, $\epsilon = 20\,000$ and $1000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, LMCT transitions $\text{O}_2^{2-} \rightarrow \text{Cu}^{\text{II}}$ EPR-inactive Cu^{II} form (antiferromagnetically coupled d^9 centers)</p>

Tipo 1: Proteínas “Azuis” de Cobre

Os centros de cobre tipo 1 receberam essa nomenclatura pela cor intensa azul das proteínas Cu^{II} correspondentes, que receberam nomes apropriados como "azurina" e "plastocianina".

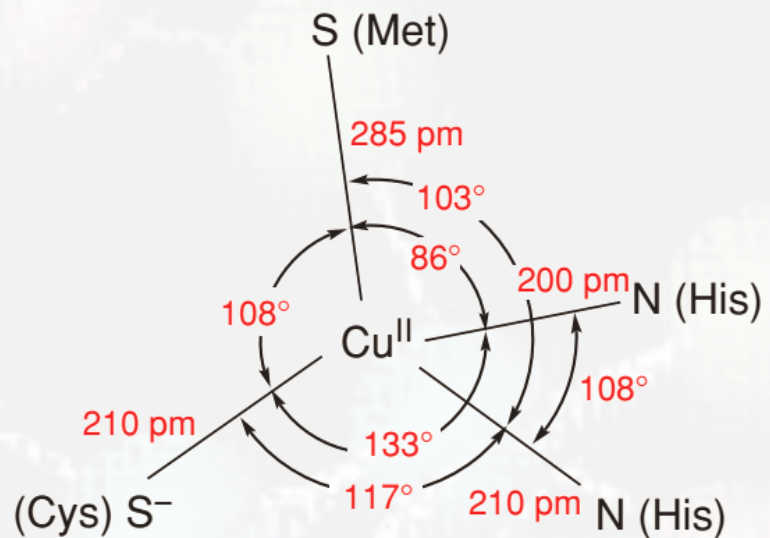
Essa cor é distinta porque os centros metálicos são opticamente tão “diluídos” em metaloproteínas que apenas absorções intensas na região visível resultantes de transições eletrônicas permitidas por simetria dão origem a cores nítidas.

Em contraste, a cor comparativamente azul clara do Cu^{2+} normal, como no sulfato de Cu^{II} cristalino pentahidratado, é o resultado de transições eletrônicas “proibidas” d-d. Nesses casos, os coeficientes de extinção molar ϵ são menores que $100 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$. Os centros Cu^{II} das proteínas “azuis” mostram valores ϵ muito mais altos, de cerca de $3000 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$.

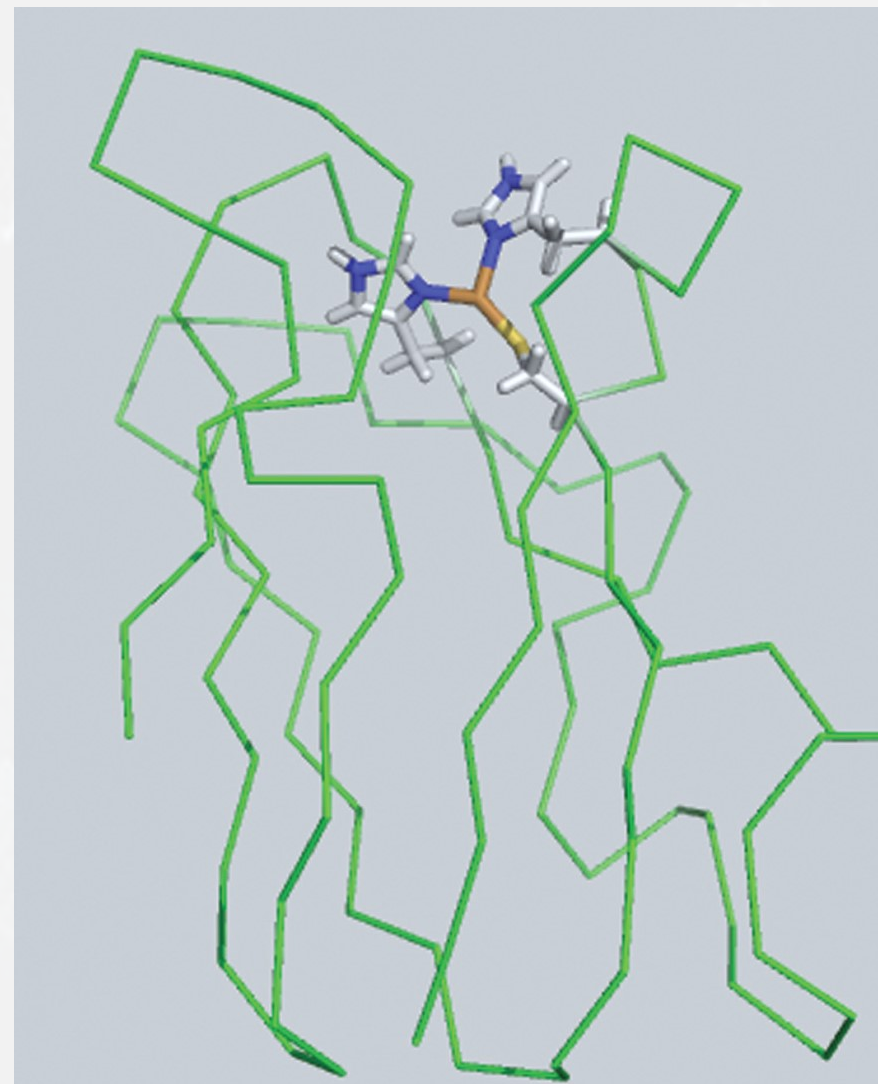


Tipo 1: Proteínas “Azuis” de Cobre

Análises da estrutura cristalina de várias proteínas de cobre “azuis” mostraram que os centros de metal apresentam coordenação “distorcida” muito irregular.



Dois resíduos de His e um ligante de Cys (H-bond) estão fortemente ligados em um arranjo planar aproximadamente trigonal, enquanto a metionina ligada fracamente e, em alguns casos, um átomo de oxigênio de coordenação muito fraca de uma ligação de peptídeo completam o ambiente de coordenação no eixo axial (3+1 ou 3+1+1).

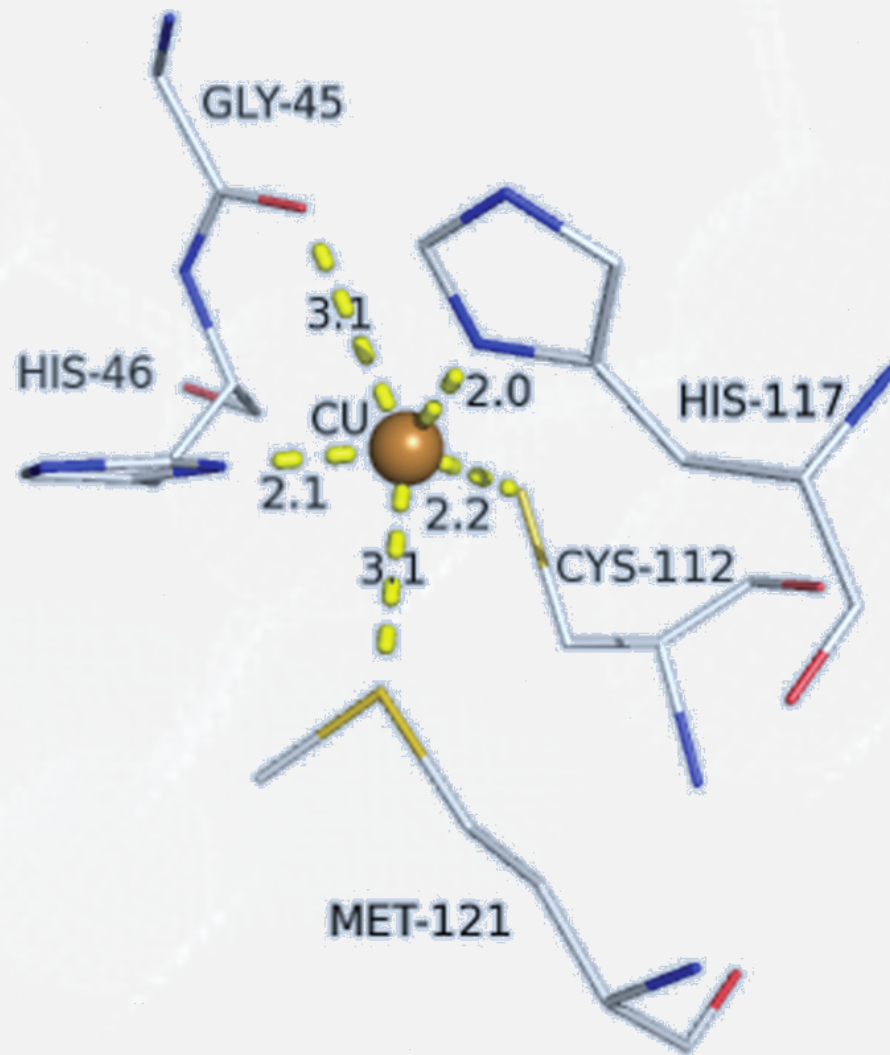
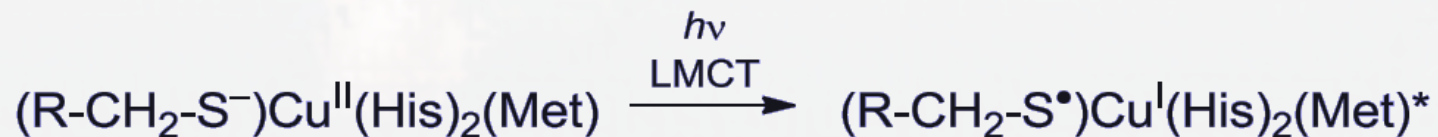


Tipo 1: Proteínas “Azuis” de Cobre

Análises da estrutura cristalina de várias proteínas de cobre “azuis” mostraram que os centros de metal apresentam coordenação “distorcida” muito irregular.

A descrição dessas estruturas como trigonais piramidais ou bipiramidais é, portanto, baseada na avaliação do que ainda passa por uma ligação coordenativa. No entanto, é o ligante de cisteína em particular que é responsável pelo comportamento incomum dos centros de cobre tipo 1

a absorção intensa da forma oxidada é atribuída a uma transição de transferência de carga ligante-metal (LMCT) do tipo Tiolato \rightarrow Cu^{II}.

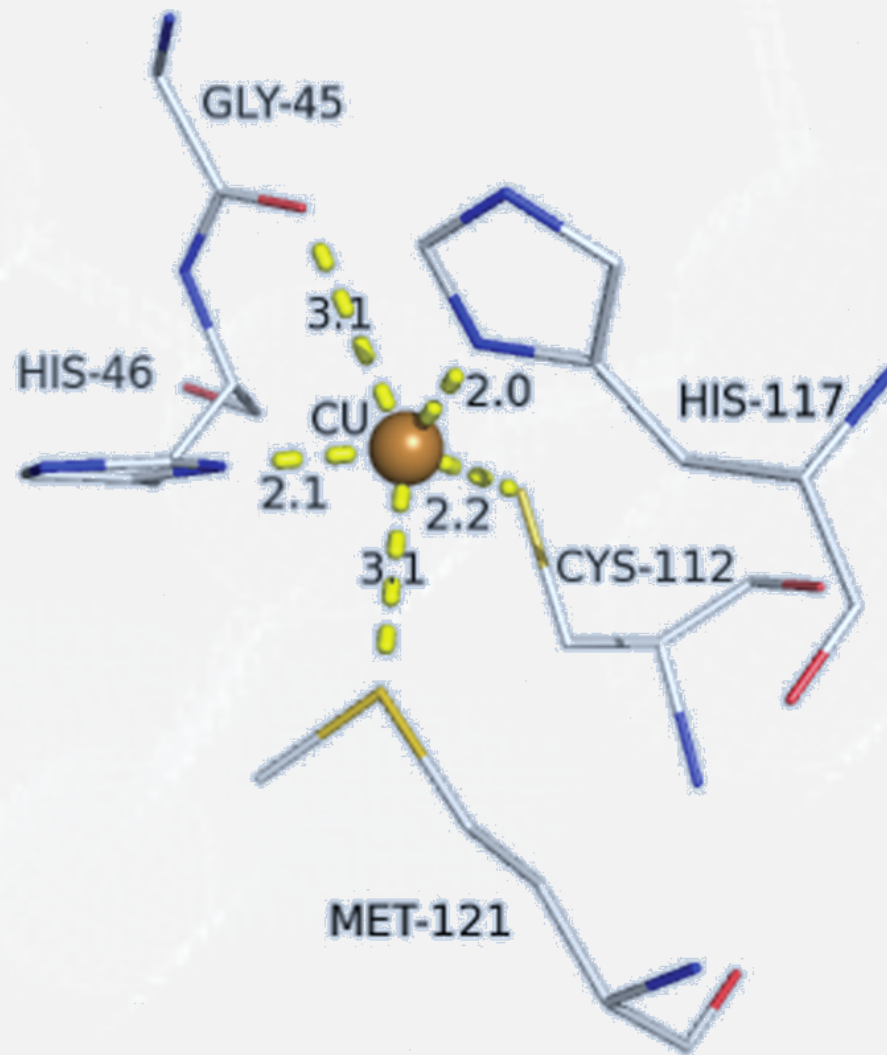


Tipo 1: Proteínas “Azuis” de Cobre

Análises da estrutura cristalina de várias proteínas de cobre “azuis” mostraram que os centros de metal apresentam coordenação “distorcida” muito irregular.

A estrutura distorcida é uma consequência da sequência de aminoácidos bem conservadas His- X_k -Cys- X_n -His- X_m -Met ($n, m = 2-4; k$ grande). A presença de doadores N e S, neste arranjo distorcido representa um compromisso entre $Cu^I = d^{10}$, com sua coordenação tetraédrica ou trigonal piramidal através de ligantes “macios”, e $Cu^{II} = d^9$, com geometria preferencialmente quadrada plana ou piramidal quadrada e coordenação com ligantes nitrogenados.

A geometria distorcida no metal se assemelha muito à geometria do estado de transição entre o tetraédrico e as configurações de equilíbrio plano quadrado dos dois estados de oxidação envolvidos, resultando em um aumento na velocidade de transferência de elétrons.

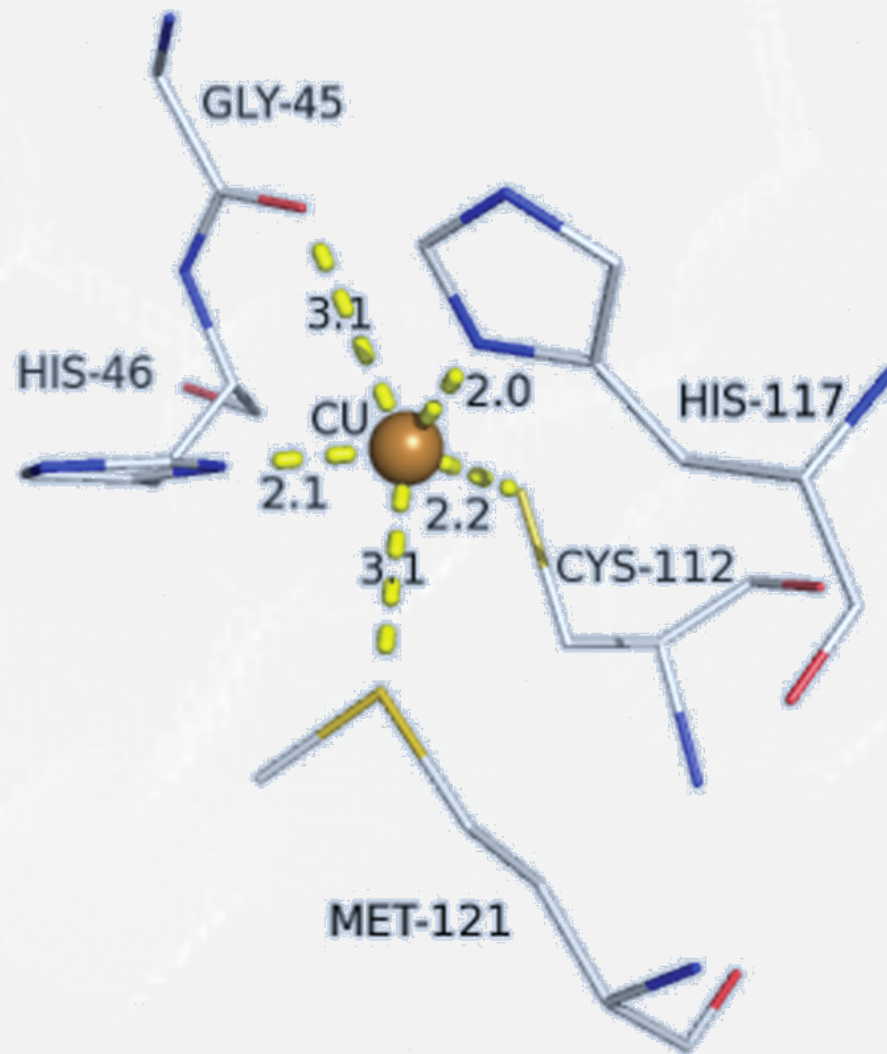


Tipo 1: Proteínas “Azuis” de Cobre

Análises da estrutura cristalina de várias proteínas de cobre “azuis” mostraram que os centros de metal apresentam coordenação “distorcida” muito irregular.

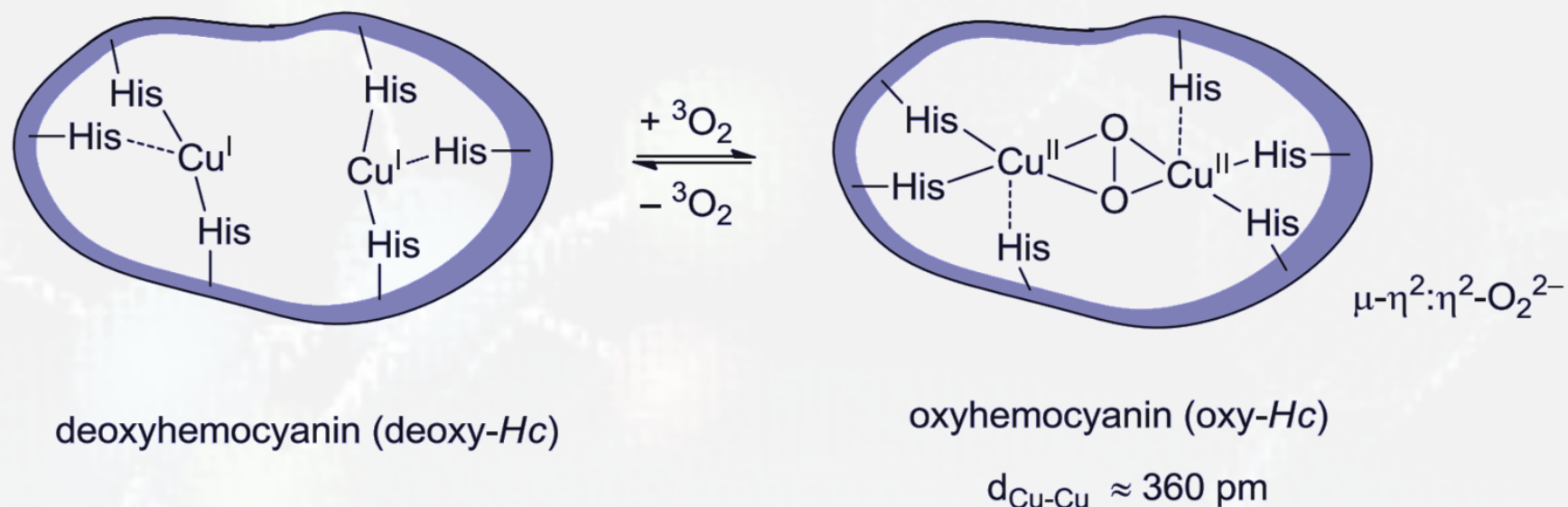
A estrutura distorcida é uma consequência da sequência de aminoácidos bem conservadas His- X_k -Cys- X_n -His- X_m -Met ($n, m = 2-4; k$ grande). A presença de doadores N e S, neste arranjo distorcido representa um compromisso entre $Cu^I = d^{10}$, com sua coordenação tetraédrica ou trigonal piramidal através de ligantes “macios”, e $Cu^{II} = d^9$, com geometria preferencialmente quadrada plana ou piramidal quadrada e coordenação com ligantes nitrogenados.

A geometria distorcida no metal se assemelha muito à geometria do estado de transição entre o tetraédrico e as configurações de equilíbrio plano quadrado dos dois estados de oxidação envolvidos, resultando em um aumento na velocidade de transferência de elétrons.



Centros de cobre tipo 2 e tipo 3 em proteínas ativadoras de O₂:

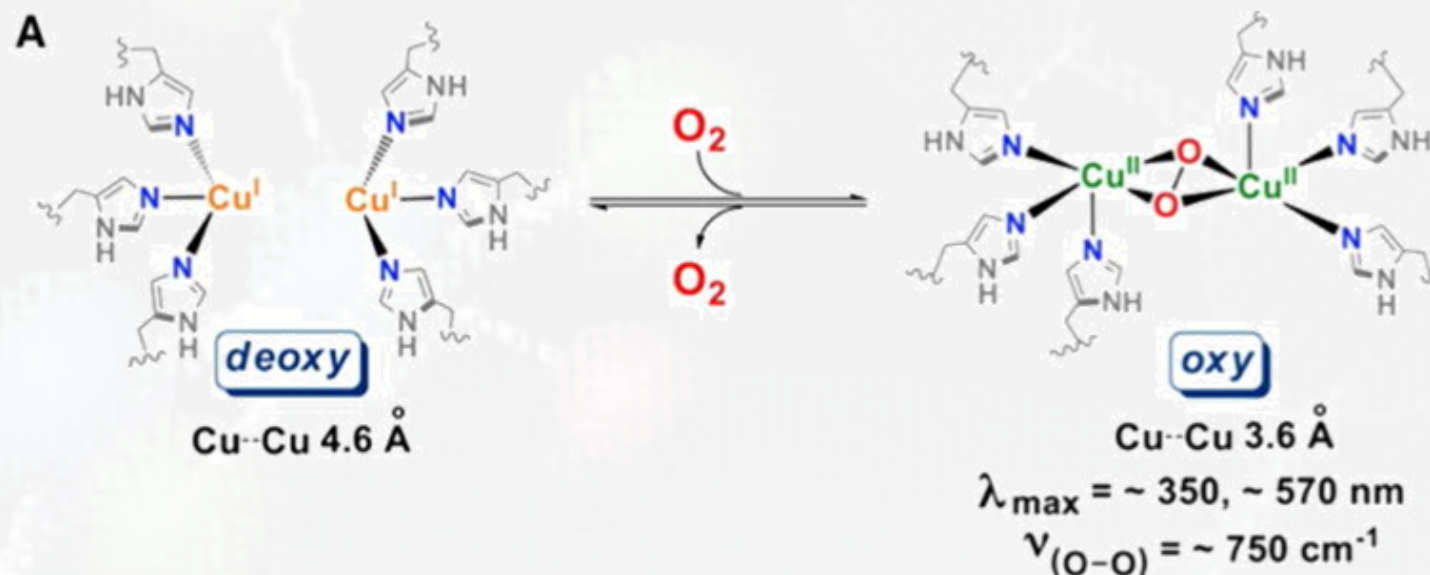
Os centros de cobre dinuclear do tipo 3 apresentam um estado oxidado EPR-silencioso devido ao acoplamento antiferromagnético dos íons Cu²⁺. Esses centros são sempre encontrados em conexão com a ativação de ³O₂; a hemocianina transportadora de O₂ (Hc) e várias oxidases e monooxigenases dependentes de O₂ são apresentadas neste grupo.



O ³O₂ liga-se rapidamente aos centros Cu^I das formas deoxi. Um estado fundamental diamagnético devido ao acoplamento spin-spin antiparalelo dos centros Cu^{II} também é observado para as formas oxi. Configurações eletronicamente excitadas (triplete) dos centros de Cu^I, como 3d⁹4p¹ e 3d⁹4s¹, podem ser importantes para a ligação de O₂ pela forma deoxi; tais configurações foram verificadas em modelos 3d¹⁰...3d¹⁰ sintéticos com níveis 4s e 4p disponíveis.

Centros de cobre tipo 2 e tipo 3 em proteínas ativadoras de O₂:

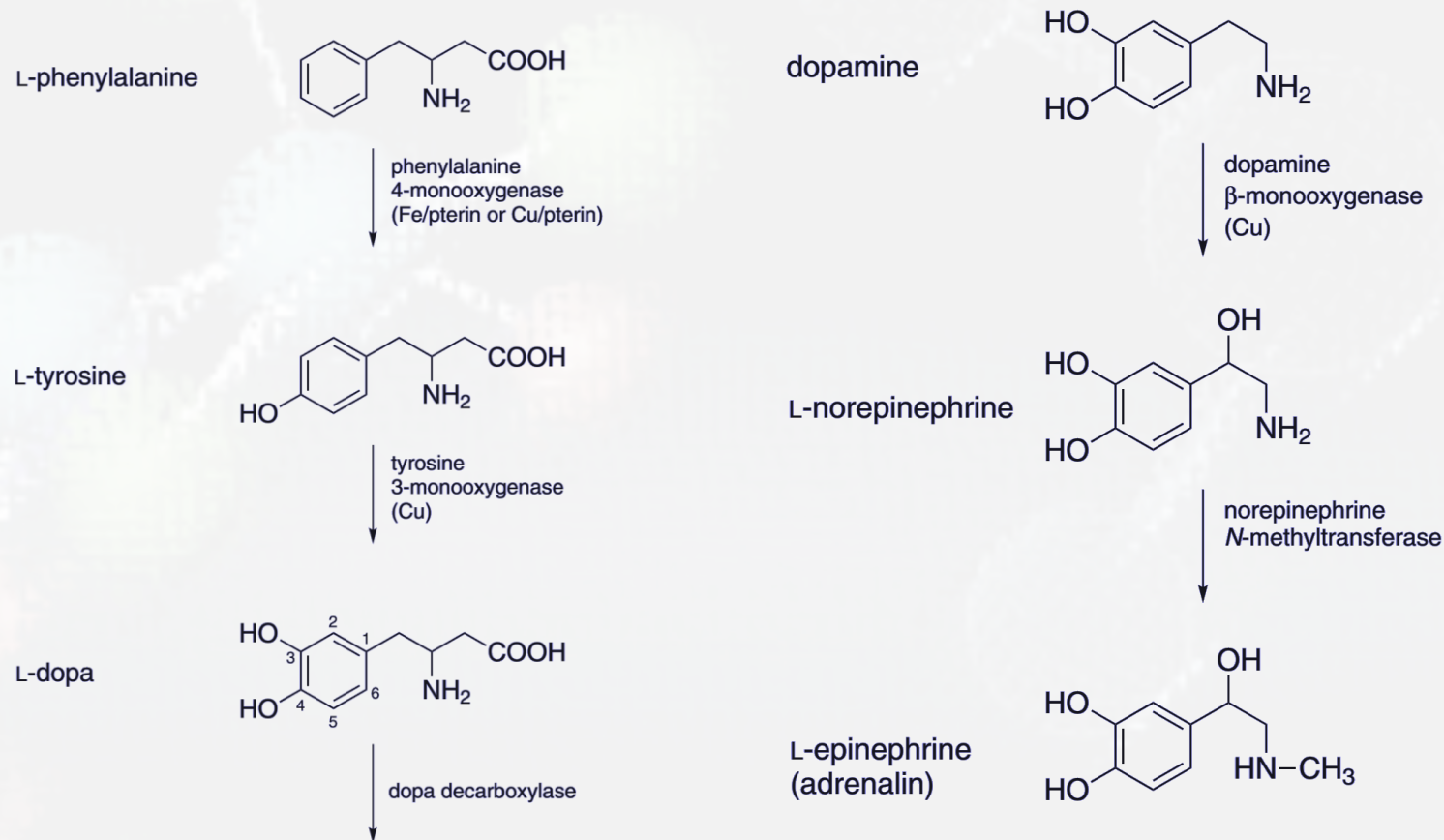
Com base em compostos modelo e estudos espectroscópicos da forma oxi, verificou-se que ele contém centros cis- μ - η^1 - η^1 ou $-\eta^2$ - η^2 com oxigênio coordenado na forma de peróxido. A última alternativa só foi seriamente considerada após os compostos modelo correspondentes terem sido preparados; esta alternativa não requer um ligante adicional e está em melhor acordo com a ligação O-O fortemente enfraquecida e a distância Cu-Cu pouco alterada após a ligação O₂.



A atribuição do estado de oxidação do O₂ é baseada em medidas de Raman ressonante na frequência vibracional O-O e nas absorções TCLM (O₂²⁻)→(Cu^{II}), ambos em comparação com compostos modelo. Embora a reação do O₂ com o Cu^I não seja totalmente inesperada, a reversibilidade da ligação do O₂ pela proteína continua surpreendente, dadas as grandes mudanças nos estados de oxidação e modo de coordenação

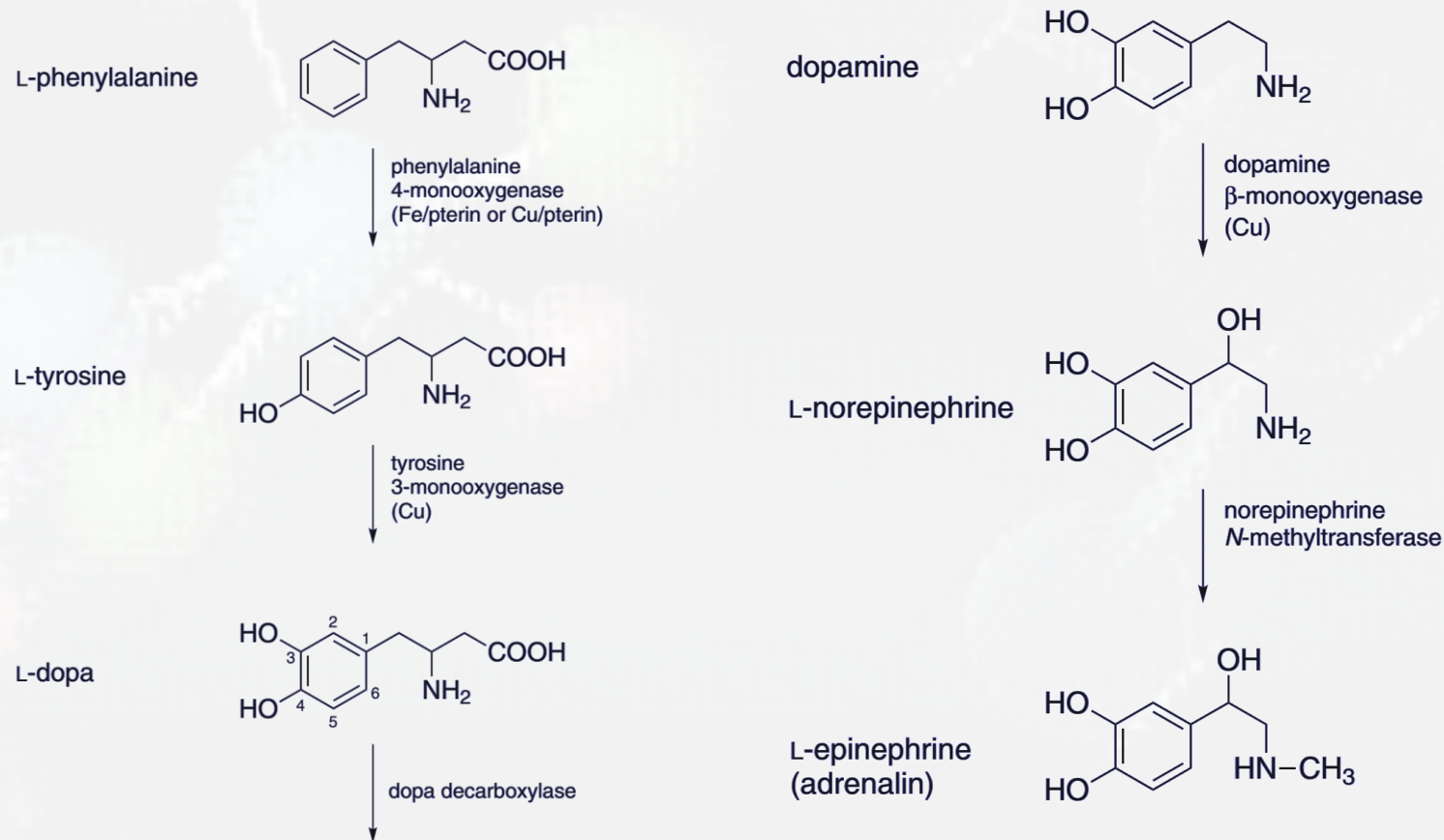
Centros de cobre tipo 2 e tipo 3 em proteínas ativadoras de O₂:

O grupo de enzimas monooxigenase inclui não apenas enzimas heme contendo ferro, como os sistemas do citocromo P-450, mas também, com uma seletividade mais especial, enzimas contendo cobre, como tirosinase e dopamina-monooxigenase. Este último desempenha um papel na oxidação biológica da fenilalanina via droga anti-Parkinson DOPA em (nor)epinefrina e na biossíntese de hormônios e neurotransmissores.



Centros de cobre tipo 2 e tipo 3 em proteínas ativadoras de O₂:

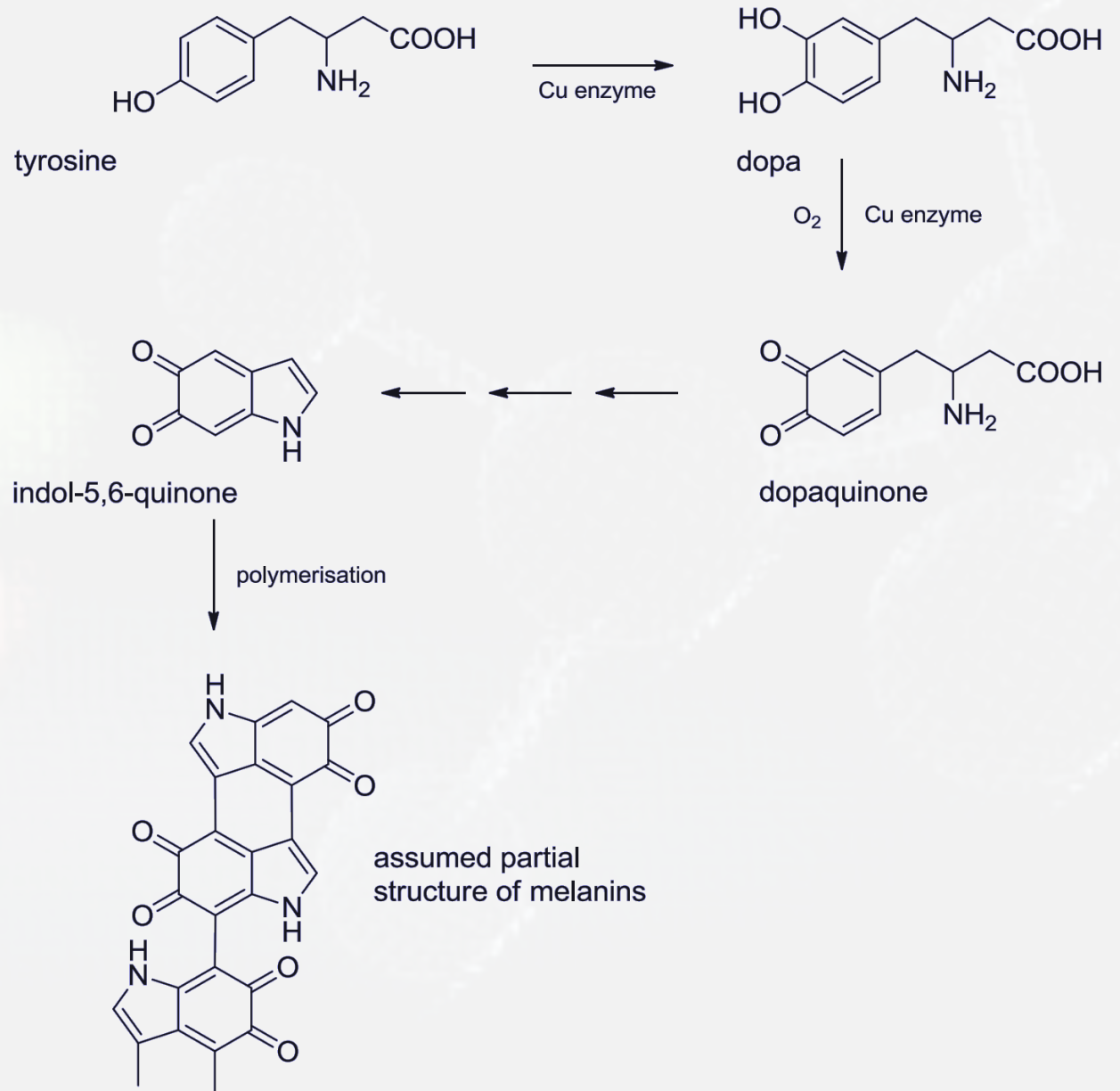
O grupo de enzimas monooxigenase inclui não apenas enzimas heme contendo ferro, como os sistemas do citocromo P-450, mas também, com uma seletividade mais especial, enzimas contendo cobre, como tirosinase e dopamina-monooxigenase. Este último desempenha um papel na oxidação biológica da fenilalanina via droga anti-Parkinson DOPA em (nor)epinefrina e na biossíntese de hormônios e neurotransmissores.



Centros de cobre tipo 2 e tipo 3 em proteínas ativadoras de O₂:

A transformação oxidativa catalisada por enzimas de cobre de derivados de catecol em o-quinonas é claramente visível após sua polimerização em melaninas, cuja cor varia do vermelho ao marrom escuro. Os pigmentos de melanina da pele, cabelo e penas e os pigmentos da fruta podre são todos derivados poliméricos da o-quinona.

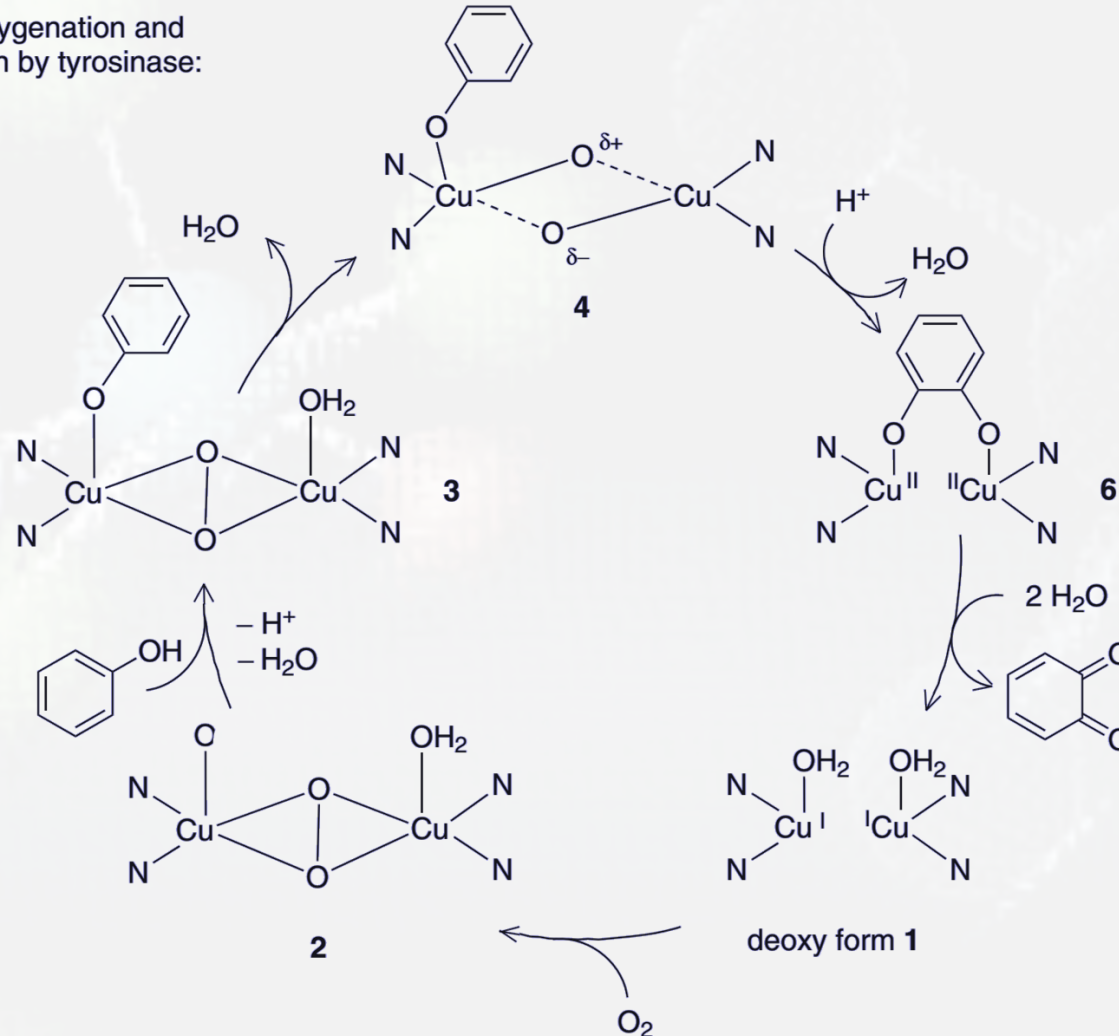
Em contraste, centros únicos de CuI atuam como locais de ligação para o hormônio vegetal comum, etileno, H₂C=CH₂, que se acredita coordenar de forma lateral.



Centros de cobre tipo 2 e tipo 3 em proteínas ativadoras de O₂:

Verificou-se que o átomo de oxigênio incorporado nos substratos após a monooxigenação catalisada por enzima de cobre provém do O₂, conforme mostrado por marcação isotópica; um possível mecanismo de oxigenação de monofenol e oxidação a o-quinona é descrito abaixo

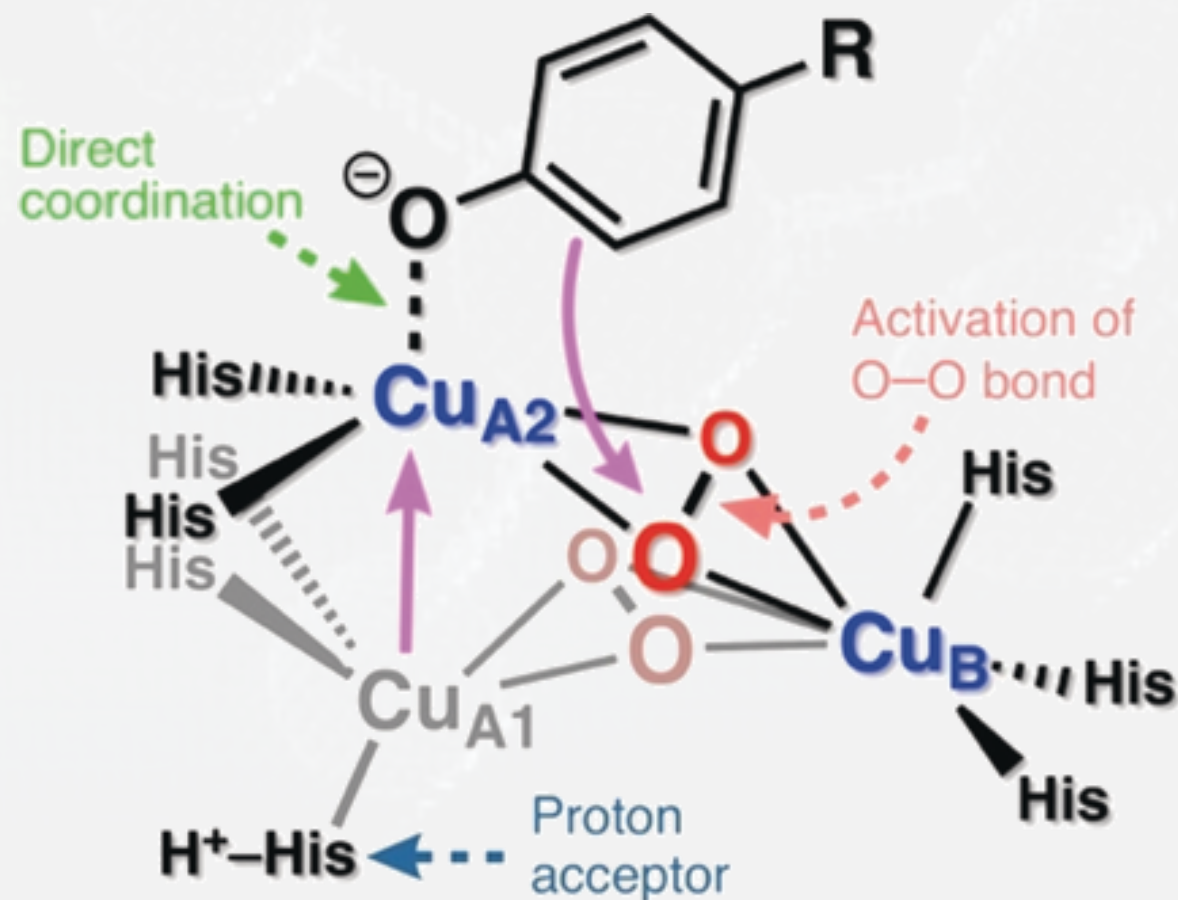
monooxygenation and
oxidation by tyrosinase:



Centros de cobre tipo 2 e tipo 3 em proteínas ativadoras de O₂:

Como a catecol oxidase, a tirosinase pode oxidar sistemas aromáticos substituídos por 1,2-dihidroxi em o-quinonas. Reatividade semelhante foi observada para catecóis diamino substituídos. Restrições estéricas especiais no estado de transição e uma carga parcial positiva no átomo de oxigênio peróxido ligado ao centro de cobre coordenado inferior causam a seletividade da tirosinase para o-hidroxilação de fenóis.

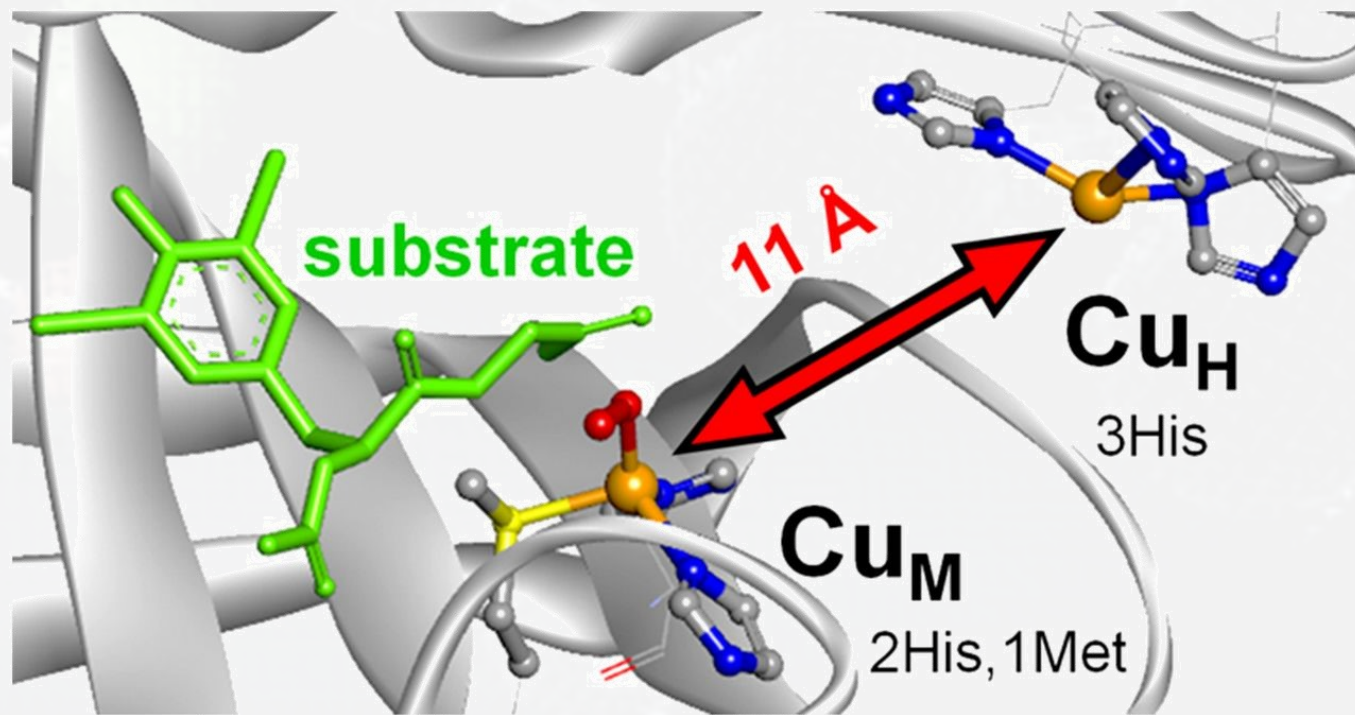
Essa reação não é apenas essencial para a síntese de substâncias ativas e para a formação de melanina, mas os o-polifenóis podem ser transformados via a abertura do anel com a ajuda de dioxigenases não-heme contendo ferro, uma reação importante para o sistema microbiano de degradação de compostos aromáticos no meio ambiente.



Centros de cobre tipo 2 e tipo 3 em proteínas ativadoras de O₂:

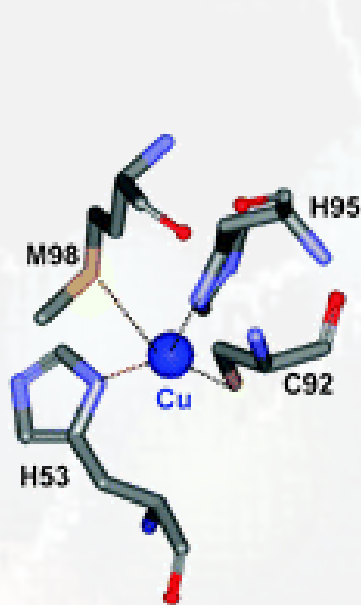
A dopamina β-monooxigenase (DM) catalisa a monooxigenação específica em uma cadeia lateral alifática. Apresenta dois centros de cobre desacoplados, separados por uma distância de mais de 10 Å. O centro Cu_M de ligação ao O₂ é coordenado por dois resíduos de histidina, uma metionina de coordenação fraca e moléculas de H₂O.

Acredita-se que a espécie ativa seja uma espécie Cu^{II}-superoxo com O₂^{•-} coordenada terminalmente. A transferência de elétrons do centro distal de Cu_H, seguida pela transferência de prótons, resulta na formação de um intermediário Cu^{II}-hidroperoxo, que se quebra sob a perda de H₂O após a transferência de elétron/próton para formar as espécies reativas [Cu=O]¹⁺, que pode ser responsabilizado pela ativação de C–H.

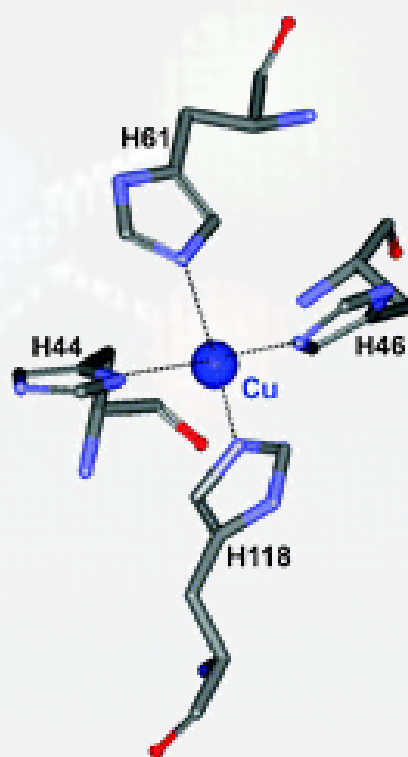


Centros de cobre tipo 2 e tipo 3 em proteínas ativadoras de O_2 :

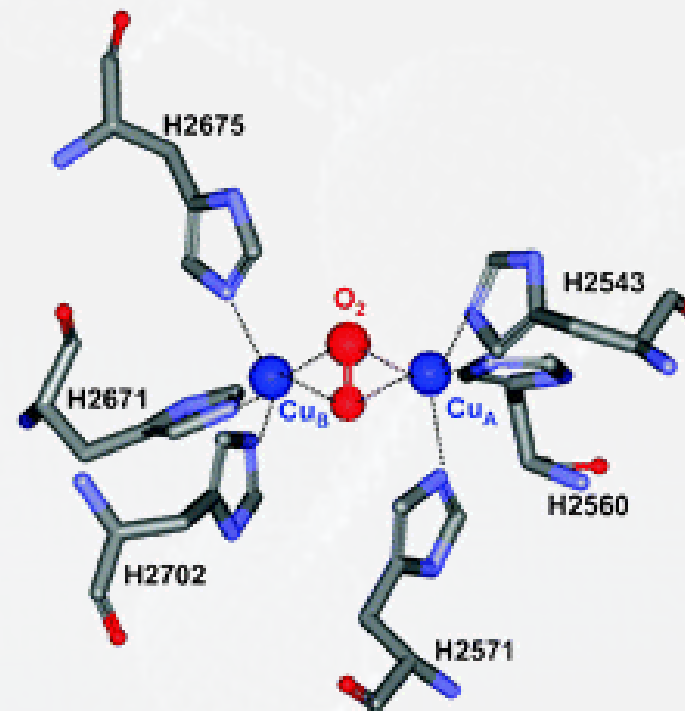
Os centros de cobre do tipo II exibem coordenação quadrada plana por ligantes N ou N / O. Eles exibem um espectro EPR axial com divisão hiperfina de cobre na região paralela semelhante ao observado em compostos de coordenação de cobre regulares. Uma vez que nenhuma ligação de enxofre está presente, os espectros ópticos desses centros carecem de características distintas. Os centros de cobre do tipo II ocorrem em enzimas, onde auxiliam nas oxidações ou oxigenações



Type 1 copper site
(amicyanin)



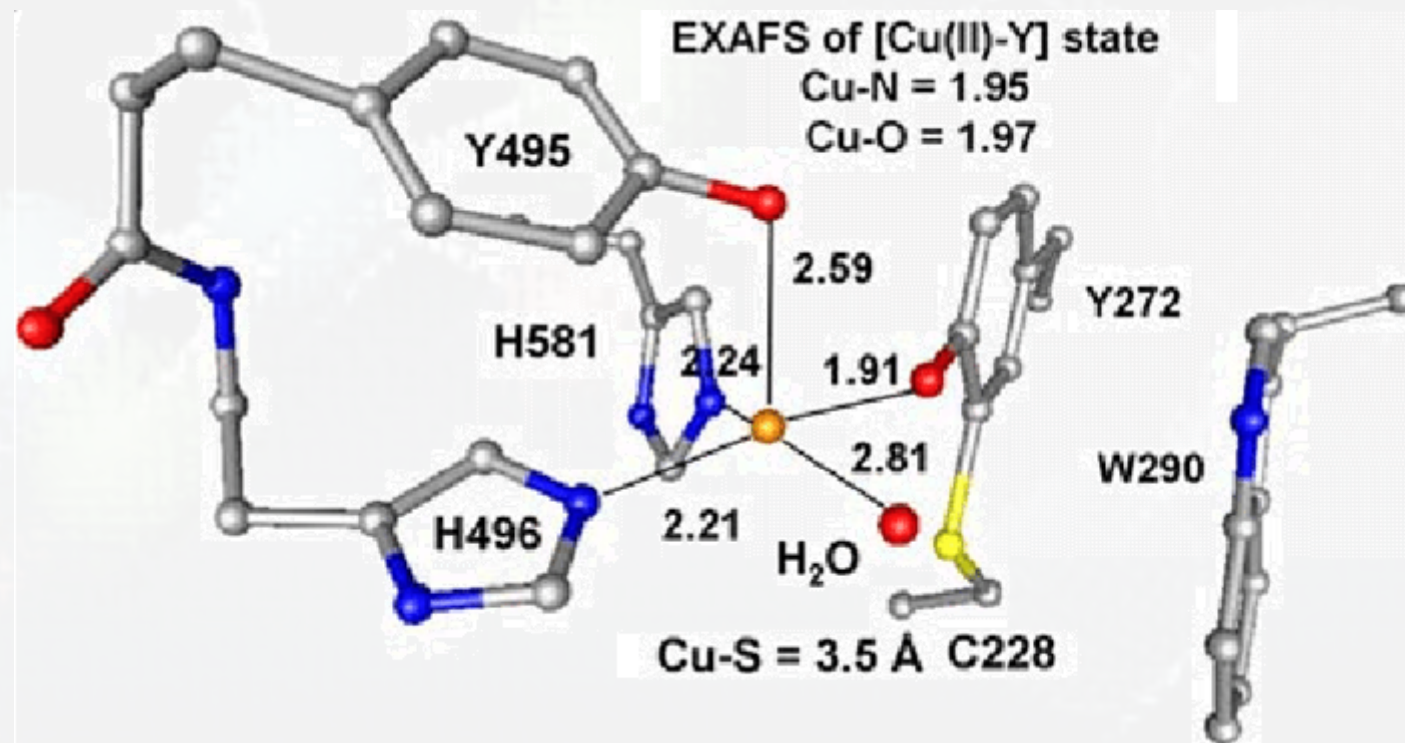
Type 2 copper site
(superoxide dismutase)



Type 3 copper site
(hemocyanin)

Centros de cobre tipo 2 e tipo 3 em proteínas ativadoras de O₂:

Galactose oxidase (abreviado GAO, GOase) é uma enzima que catalisa a oxidação de D-galactose em fungos. A galactose oxidase pertence à família das oxidorreduções. O íon cobre é necessário como cofator para a galactose oxidase. Uma característica notável da galactose oxidase é que ela é uma enzima de radical livre. Seu sítio catalítico contém um ligante de radical livre coordenado ao centro de cobre. Este ligante de radical livre é uma cisteína reticulada covalentemente e cadeias laterais de tirosina que são formadas durante a modificação pós-tradução.



Centros de cobre tipo 2 e tipo 3 em proteínas ativadoras de O₂:

Galactose oxidase (abreviado GAO, GOase) é uma enzima que catalisa a oxidação de D-galactose em fungos. A galactose oxidase pertence à família das oxidorreduções. O íon cobre é necessário como cofator para a galactose oxidase. Uma característica notável da galactose oxidase é que ela é uma enzima de radical livre. Seu sítio catalítico contém um ligante de radical livre coordenado ao centro de cobre. Este ligante de radical livre é uma cisteína reticulada covalentemente e cadeias laterais de tirosina que são formadas durante a modificação pós-tradução.

