

Caracterización del 5-metil-1,4-dinitroimidazol (DNI) como nuevo agente nitrante mediado por luz

Dra. Natalia Rios

Departamento de Bioquímica, y Centro de Investigaciones
Biomédicas (CEINBIO), Facultad de Medicina UdelaR.

Introducción

- La nitración de residuos de tirosina en proteínas es una de las modificaciones postraduccionales más relevantes inducidas por oxidantes en sistemas celulares.
- Agentes nitrantes químicos comunemente utilizados: tetranitrometano (TNM)
nitrito a pH ácido
peroxinitrito
- Poca selectividad hacia los residuos de tirosina, dando también nitración del triptófano, oxidación de cisteína, metionina e histidina.
- Poder contar con un **nuevo agente nitrante con mayor selectividad hacia la nitración de residuos de tirosina y menor formación de otras modificaciones oxidativas de aminoácidos, resulta extremadamente útil para el campo de la bioquímica oxidativa de proteínas.**

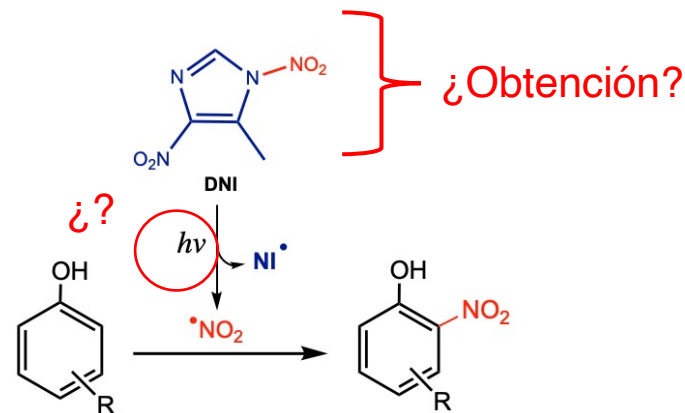


Protein Nitration Hot Paper

Light-Controlled Tyrosine Nitration of Proteins

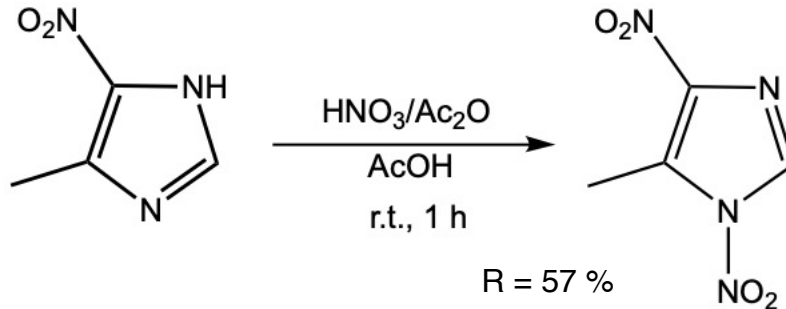
Tengfang Long[†], Lei Liu[†], Youqi Tao, Wanli Zhang, Jiale Quan, Jie Zheng, Julian D. Hegemann, Motonari Uesugi, Wenbing Yao, Hong Tian,^{*} and Huan Wang^{*}

How to cite: *Angew. Chem. Int. Ed.* 2021, 60, 13414–13422
International Edition: doi.org/10.1002/anie.202102287
German Edition: doi.org/10.1002/ange.202102287



Síntesis y Caracterización

- Obtención del DNI mediante *N*-nitrición



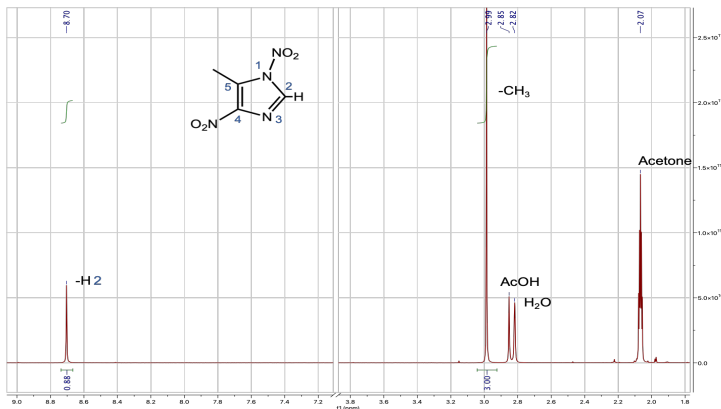
4-metil-5-nitroimidazol

5-metil-1,4-dinitroimidazol
(DNI)

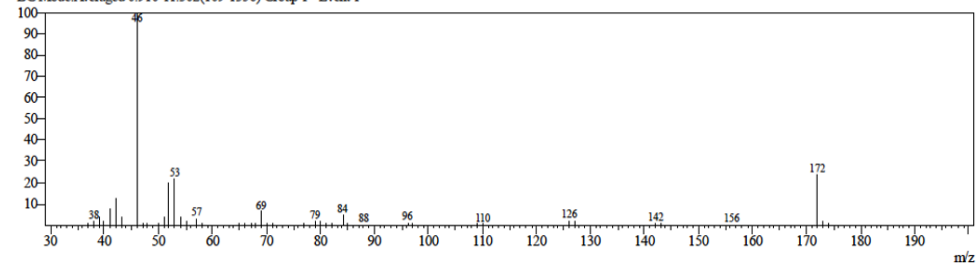


- Caracterización completa por RMN (^1H , ^{13}C) y MS (IE)

alta pureza (>99 %)

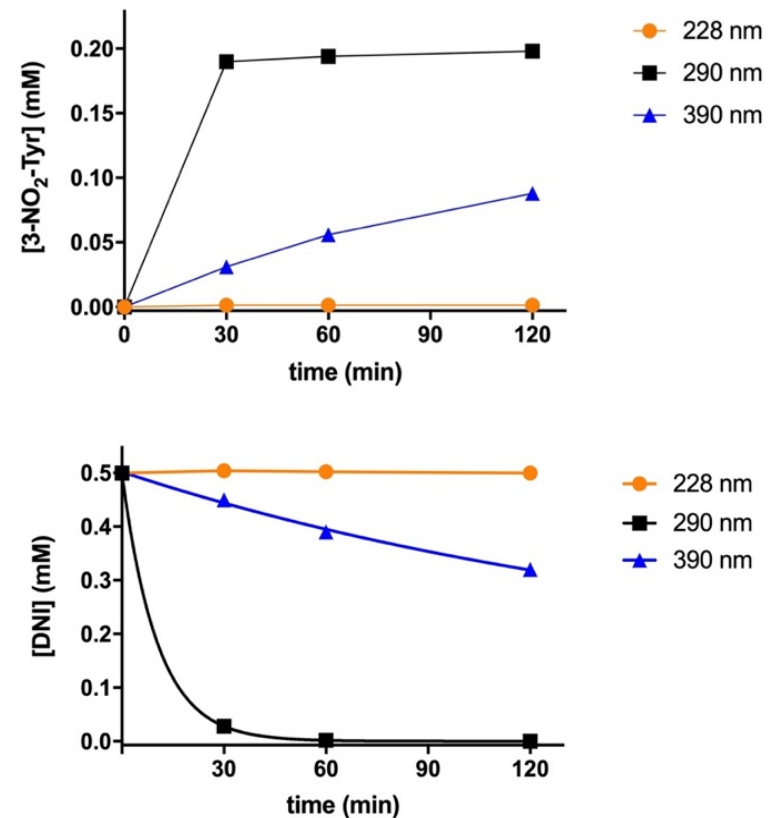
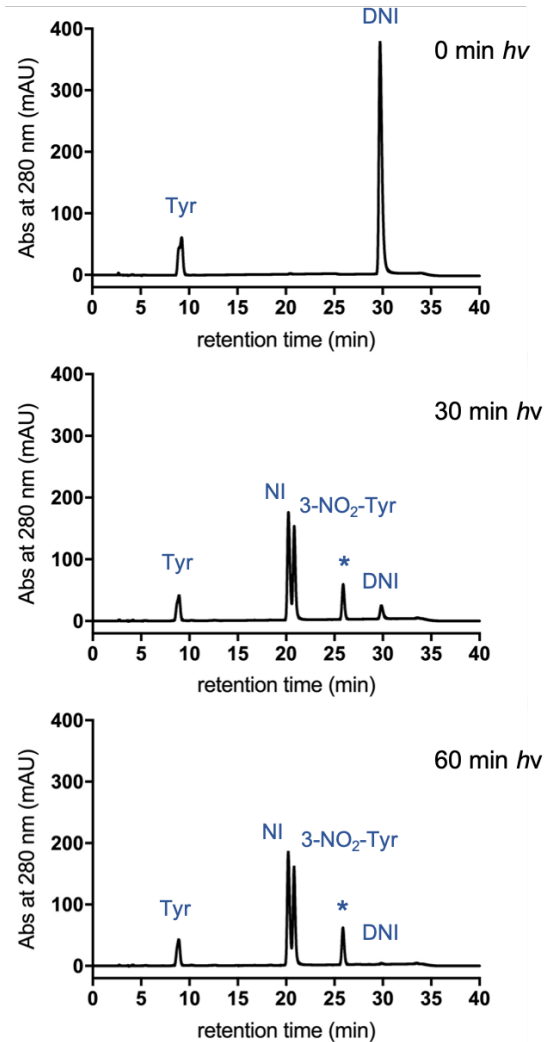
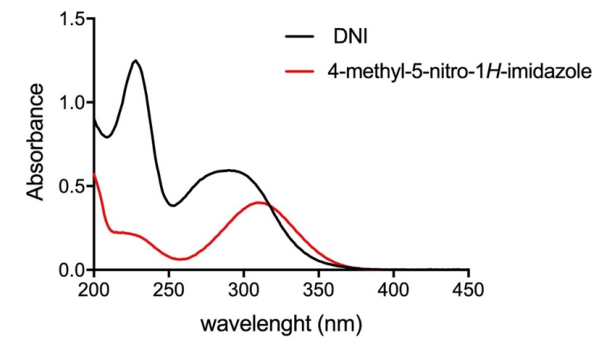


Line#1 R Time:0.393(Scan#:47)
MassPeaks:71
RawMode:Averaged 0.385-0.760(46-91) BasePeak:46(623451)
BG Mode:Averaged 0.910-11.302(109-1356) Group 1 - Event 1



Nitración de tirosina

- Nitración de Tyr mediante exposición a diferentes λ

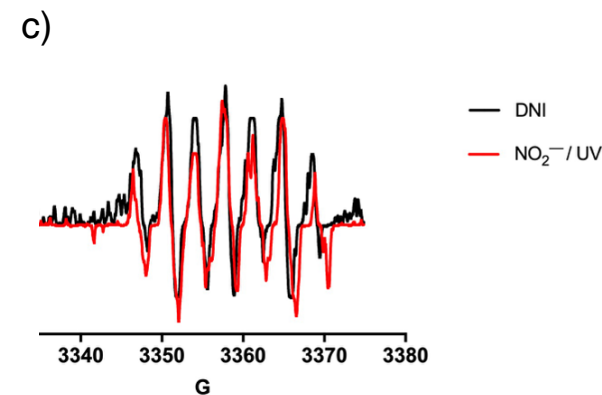
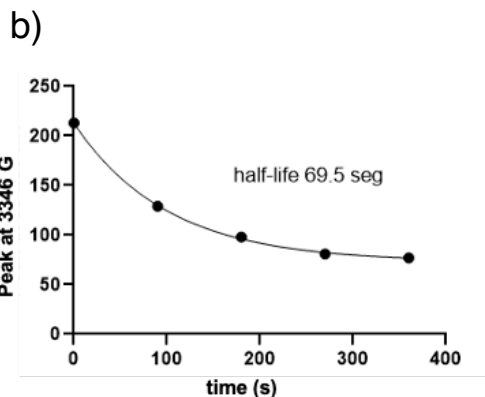
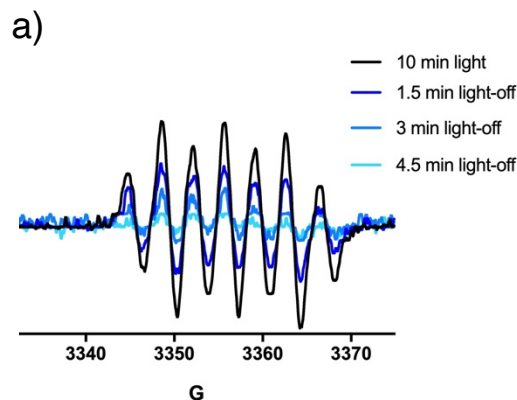
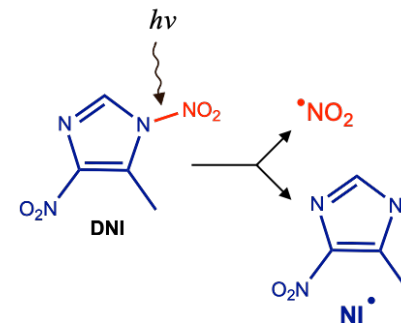


Se hacen reaccionar Tyr (0.5 mM) y DNI (0.5 mM) en PBS 100 mM pH 6 (Irradiación a 228 nm, 290 nm o 390 nm por 120 min).

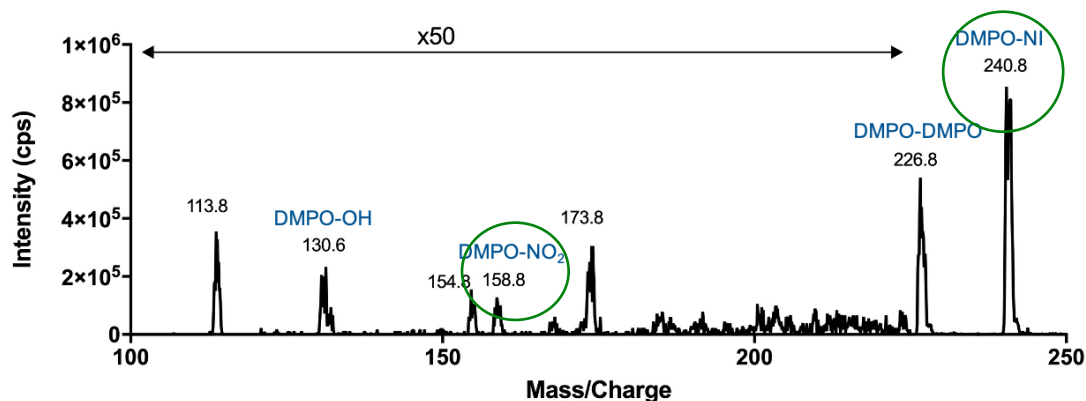
Mecanismo de reacción

- Detección de $\bullet\text{NO}_2$ por EPR utilizando DMPO

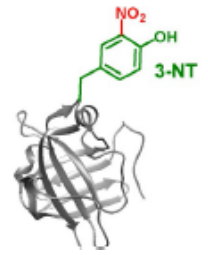
Irradiación de DNI (45 mM) en presencia de DMPO (45 mM)



- Detección de aductos DMPO por Tandem (MS/MS)



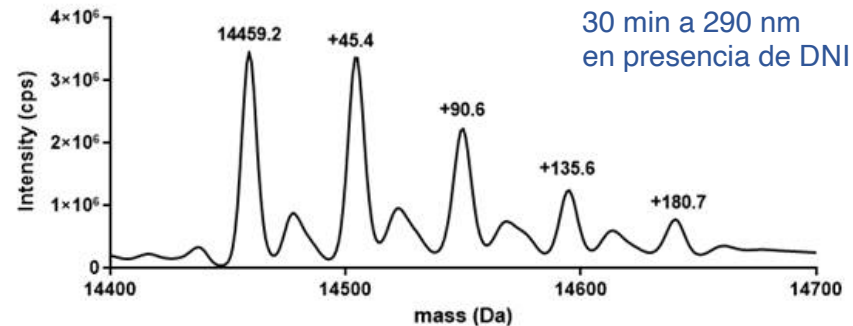
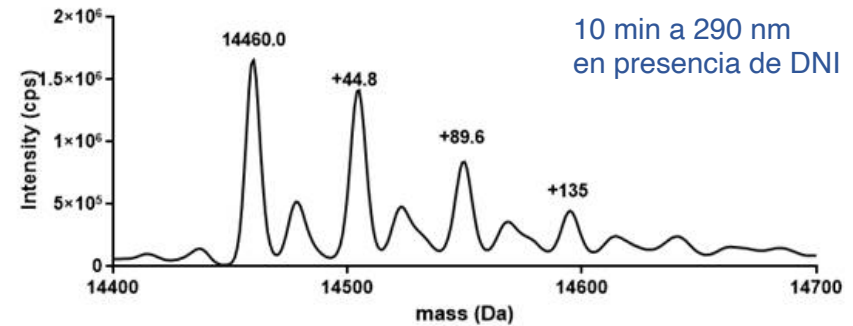
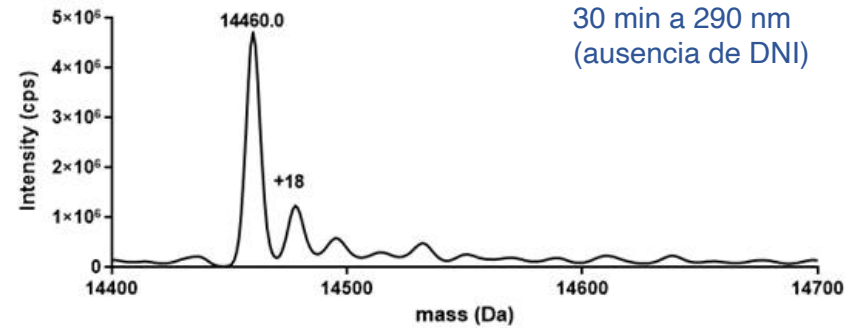
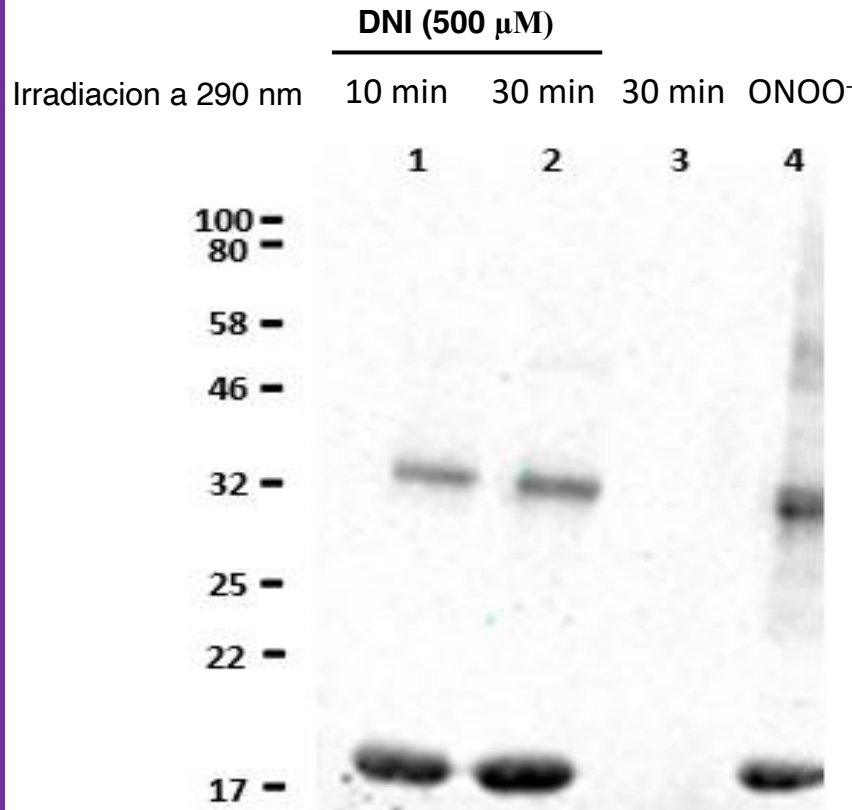
Nitración de proteínas



- Irradiación de α -syn (50 μ M) en presencia de DNI (500 μ M)

Western blot anti-nitrotirosina

MS (ESI)



Conclusiones y Agradecimientos

- ✓ DNI se obtuvo en un paso de reacción con buen rendimiento (57 %) y alta pureza (>99 %).
- ✓ Confirmamos su mecanismo de reacción mediante ruptura homolítica del enlace N—N, rindiendo $\bullet\text{NO}_2$ y $\text{NI}\bullet$
- ✓ DNI fue utilizado con éxito en la nitración Tyr y residuos de Tyr de α -syn.
- ✓ Estamos trabajando en detección de proteínas nitradas en cultivos celulares expuestos a DNI.

Agradecimientos

Dr. José M. Souza

Dr. Adrián Aicardo

Dr. Rafael Radi

Dra. Madia Trujillo

Dra. Cecilia Chavarría

Dr. Mauricio Mastrogiovanni

Lic. Rodrigo Ivagnes

Dr. Aníbal M. Reyes

Dr. Nelson Bracesco (Depto. de Biofísica, FMed)

