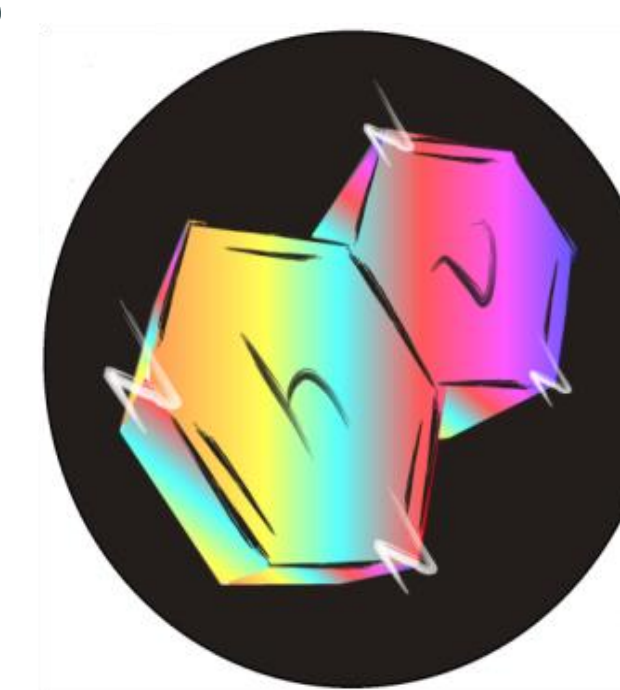


Evaluación del efecto de la presencia de polifenoles naturales en la degradación fotosensibilizada de nucleótidos púricos

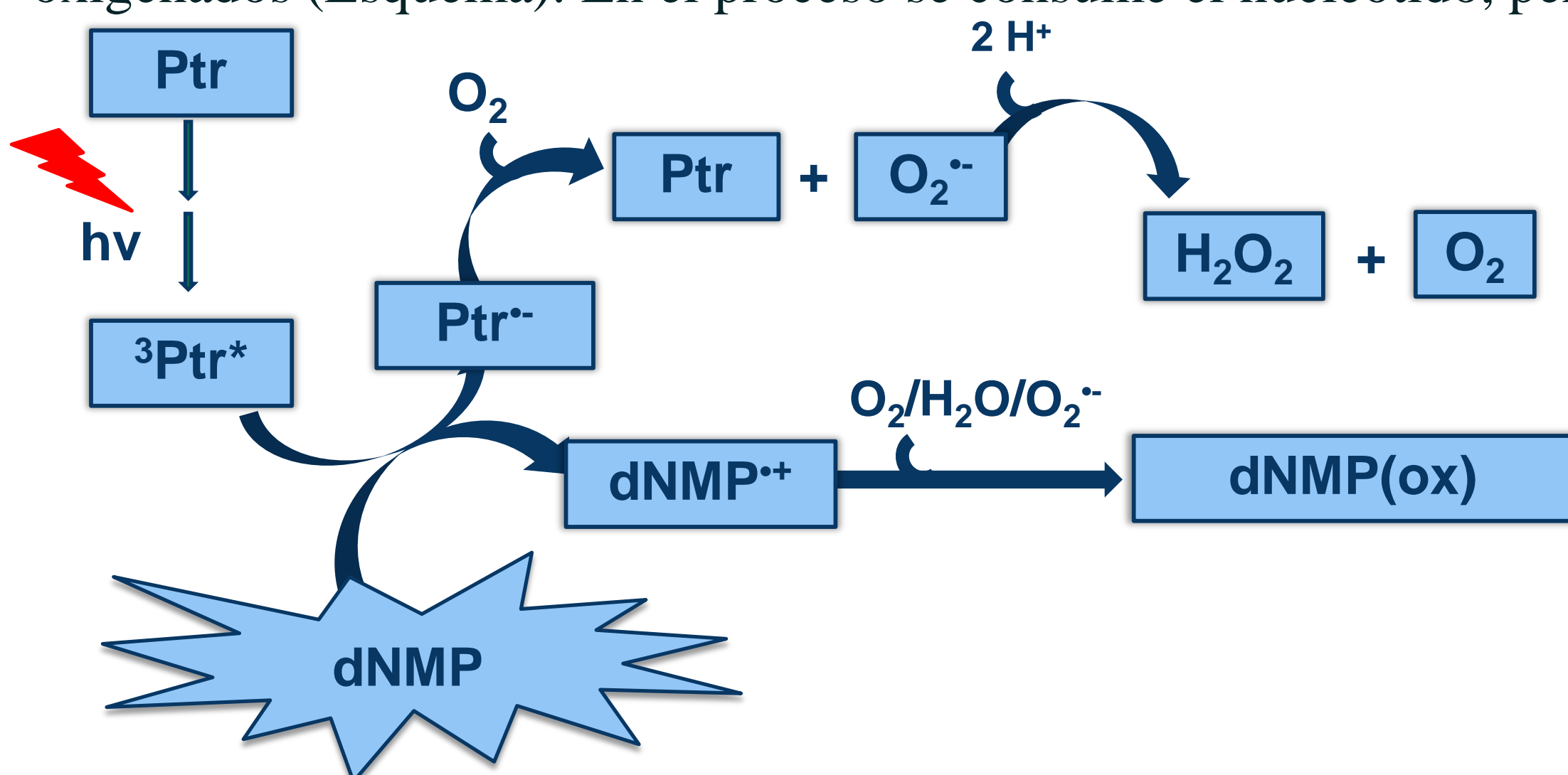
Neyra Recky, Jael R., Serrano Mariana P., Dántola M. Laura, Lorente Carolina.

Instituto de Investigaciones Físicoquímicas Teóricas y Aplicadas (INIFTA), Universidad Nacional de La Plata (UNLP), La Plata, Buenos Aires, Argentina. (e-mail: jneyrarecky@inifta.unlp.edu.ar)



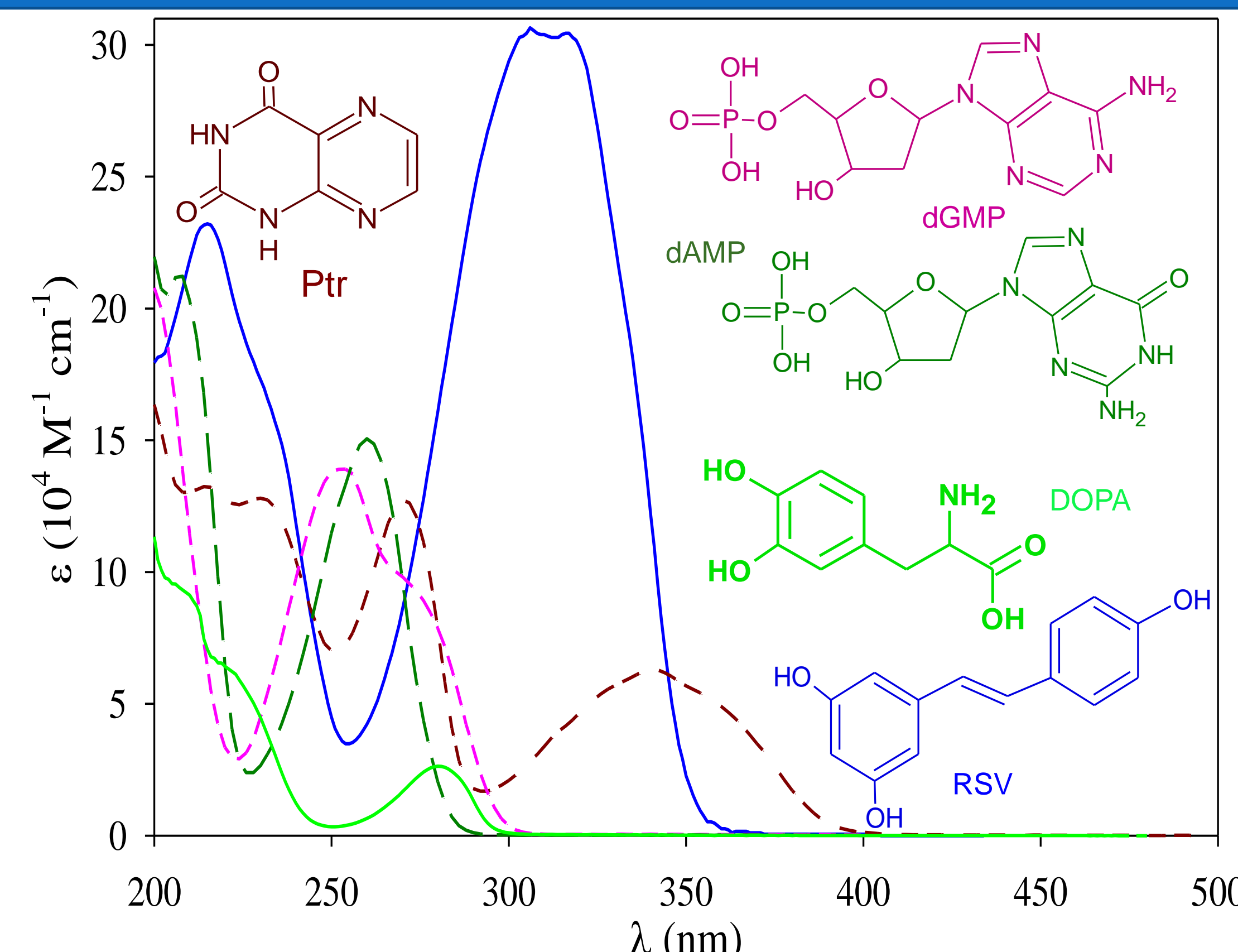
Introducción

Bajo radiación UV-A, pterina (Ptr) es capaz de fotoinducir modificaciones químicas a los nucleótidos púricos a través de mecanismos tipo I y/o tipo II.^{1,2} En condiciones ácidas, el mecanismo general para la fotodegradación de nucleótidos comienza con la absorción de radiación por Ptr generando su estado excitado triplete (³Ptr*). A continuación, tiene lugar la transferencia electrónica desde la base nitrogenada hacia ³Ptr*, generando el radical catión del nucleótido (dNMP^{•+}, que rápidamente se deprotona a dNMP(-H)[•]) y el radical anión de Ptr (Ptr^{•-}). Ptr^{•-} reacciona con el O₂ disuelto generando O₂^{•-}, que a su vez, puede dismutar para generar H₂O₂. Por otro lado, dNMP^{•+} puede reaccionar con O₂, H₂O y O₂^{•-}, dando lugar a los diferentes productos oxigenados (Esquema). En el proceso se consume el nucleótido, pero la concentración de Ptr permanece constante.



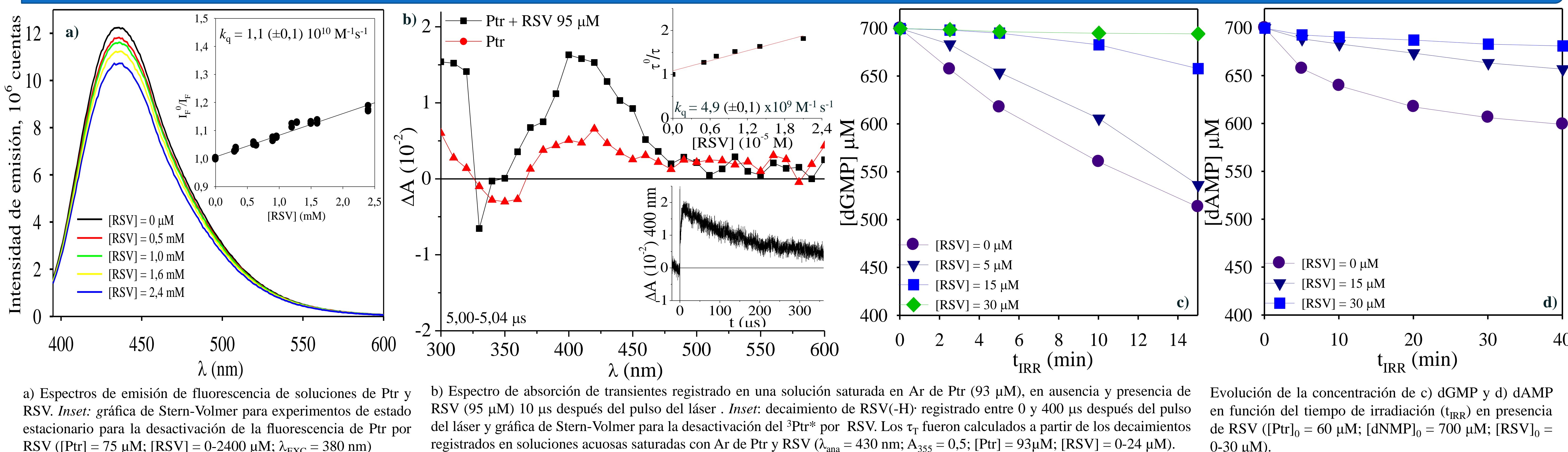
Si bien la capacidad antioxidante de los polifenoles naturales resveratrol (RSV) y 3,4-dihidroxifenilalanina (DOPA) ha sido ampliamente estudiada,^{3,4} poco se conoce de su capacidad antioxidante en procesos mediados por la radiación. El principal objetivo de este trabajo es evaluar el efecto de la presencia de RSV y DOPA en el daño fotoinducido a 2'-desoxiadenosina 5'-monofosfato (dAMP) y 2'-desoxiguanosina 5'-monofosfato (dGMP) por Ptr.

Esquema: degradación fotosensibilizada de nucleótidos púricos por Ptr en condiciones ácidas.



Espectros de absorción de soluciones acuosas ácidas aireadas de Ptr, dGMP, dAMP, DOPA y RSV.

Resultados: RSV

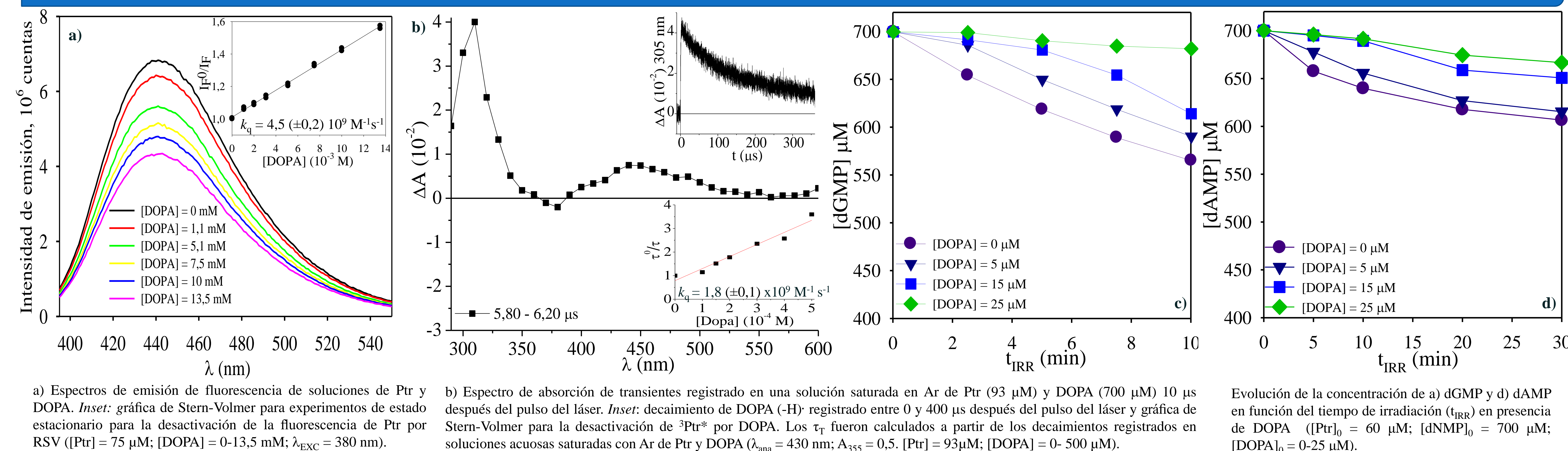


a) Espectros de emisión de fluorescencia de soluciones de Ptr y RSV. Inset: gráfica de Stern-Volmer para experimentos de estado estacionario para la desactivación de la fluorescencia de Ptr por RSV ([Ptr] = 75 μM; [RSV] = 0-2400 μM; λ_{exc} = 380 nm)

b) Espectro de absorción de transientes registrado en una solución saturada en Ar de Ptr (93 μM), en ausencia y presencia de RSV (95 μM) 10 μs después del pulso del láser. Inset: decaimiento de RSV(-H) registrado entre 0 y 400 μs después del pulso del láser y gráfica de Stern-Volmer para la desactivación del ³Ptr* por RSV. Los τ_r fueron calculados a partir de los decaimientos registrados en soluciones acuosas saturadas con Ar de Ptr y RSV (λ_{ana} = 430 nm; A₃₅₅ = 0,5; [Ptr] = 93 μM; [RSV] = 0-24 μM).

Evolución de la concentración de c) dGMP y d) dAMP en función del tiempo de irradiación (t_{IRR}) en presencia de RSV ([Ptr]₀ = 60 μM; [dNMP]₀ = 700 μM; [RSV]₀ = 0-30 μM).

Resultados: DOPA



a) Espectros de emisión de fluorescencia de soluciones de Ptr y DOPA. Inset: gráfica de Stern-Volmer para experimentos de estado estacionario para la desactivación de la fluorescencia de Ptr por RSV ([Ptr] = 75 μM; [DOPA] = 0-13,5 mM; λ_{exc} = 380 nm).

b) Espectro de absorción de transientes registrado en una solución saturada en Ar de Ptr (93 μM) y DOPA (700 μM) 10 μs después del pulso del láser. Inset: decaimiento de DOPA(-H) registrado entre 0 y 400 μs después del pulso del láser y gráfica de Stern-Volmer para la desactivación del ³Ptr* por DOPA. Los τ_r fueron calculados a partir de los decaimientos registrados en soluciones acuosas saturadas con Ar de Ptr y DOPA (λ_{ana} = 430 nm; A₃₅₅ = 0,5; [Ptr] = 93 μM; [DOPA] = 0-500 μM).

Evolución de la concentración de a) dGMP y d) dAMP en función del tiempo de irradiación (t_{IRR}) en presencia de DOPA ([Ptr]₀ = 60 μM; [dNMP]₀ = 700 μM; [DOPA]₀ = 0-25 μM).

Conclusiones

➤ La degradación fotosensibilizada de nucleótidos púricos por Ptr disminuye en presencia de RSV o DOPA

➤ El estudio del mecanismo indica que, si bien DOPA y RSV son capaces de desactivar a ¹Ptr* y ³Ptr*, en nuestras condiciones experimentales^{5,6}, la inhibición del proceso fotosensibilizado se debe a que estos polifenoles recuperan al nucleótido mediante la reducción de dNMP(-H)[•]:



Experimental

Irradiación en estado estacionario: *Lámpara Rayonet RPR (365±20nm) Solvente: H₂O (pH=6) T = 25°C
Análisis de las soluciones irradiadas: Solvente: H₂O (pH=6) T = 25°C
*Espectrofotometría UV-Vis: Shimadzu UV-1800
*HPLC: Prominence Shimadzu LC-20, Synergi RP (Phenomenex)
*Fotólisis de destello láser: Continuum Nd:YAG Surelite II-10 láser LP980 (Edinburgh)
*Fluorescencia en estado estacionario: Single-Photon-Counting apparatus (FL3 TCSPC-SP, Horiba Jobin Yvon)

Agradecimientos

J.R.N.R. les agradece a ANPCyT y CONICET por las Becas doctorales. M.P.S., M.L.D., y C.L. son investigadoras miembros del CONICET. Subsidios: ANPCyT-PICT 2017-0925, PICTE-2018-0038, PUE- 22920170100100CO, UNLP-Subsidio 11/X840.

Referencias

- Petrosselli, G., et al., *Organic & biomolecular chemistry*, **2007**, *5*, 2792-2799.
- Petrosselli, G., et al., *J. Am. Chem. Soc.*, **2008**, *130*, 3001-3011.
- Quideau S., et al., *Angew. Chem. Int.* **2011**, *50*, 586-621.
- Luga, C. et al., *J. Phys. Chem. B*, **2011**, *115*, 12234-12246.
- Neyra Recky, J. R., et al., *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2019**, *21*, 16190-16197.
- Neyra Recky, J. R., et al., *Free Radic. Biol. Med.*, **2021**, *165*, 360-367