

## Estudio de estabilidad de un inhibidor de proteasa (PMSF) en distintos solventes

López, E. E.; Feltrinelli M.; Nardini, L.; Santos, L.; Hardmeier, I.; Rouge, P.; Lagomarsino, A.

Centro de Investigación y Desarrollo en Química y Petroquímica (CEQUIPE)

El fluoruro de fenilmetil sulfonilo ( $\alpha$ -toluen sulphonyl fluoride, PMSF) es un inhibidor de proteasas debido a la unión que forma con los grupos -SH de las mismas.

Se utiliza en biotecnología y sería útil contar con una metodología para evaluar su concentración remanente luego de ser utilizado.

### OBJETIVOS

En bibliografía no se ha hallado un método para su medición en solución acuosa, probablemente debido a su inestabilidad. Por lo tanto en este trabajo se estudiará su cinética de degradación y se obtendrán conclusiones en cuanto a cómo hallar la concentración del PMSF en soluciones acuosas.

### MATERIALES Y METODOS

Se utilizaron los siguientes equipos: Cromatógrafo Gaseoso marca Perkin Elmer modelo AutoSystem XL Cromatógrafo Gaseoso marca Hewlett Packard modelo HP 6890, ambos con inyectores automáticos y detectores FID. Columna cromatográfica: HP-FFAP (crosslinked), largo 30 m, diámetro interno 0,25 mm, film thickness 0,25  $\mu$ m, Phase ratio: 250. Espectrofotómetro UV-Visible Shimadzu modelo 1601PC, espectrómetro infrarrojo Nicolet 400D espectrómetro de resonancia magnética nuclear marcas Bruker Avance DPX400 de 400 Mhz para protón. Se utilizaron solventes calidad para análisis, agua destilada. Para los registros RMN se usaron solventes deuterados, mientras que los registros IR se realizaron en forma de pastillas dispersando las muestras en bromuro de potasio para espectroscopía.

### RESULTADOS

Se observa que en isopropanol y cloroforno el PMSF es estable mientras que en otros solventes (agua, metanol) se degrada, variando su concentración en el tiempo. El inconveniente de cuantificar la concentración remanente en soluciones acuosas se solucionarí, ya que luego de cierto tiempo dicha concentración es despreciable frente a la concentración inicial (Fig.1)

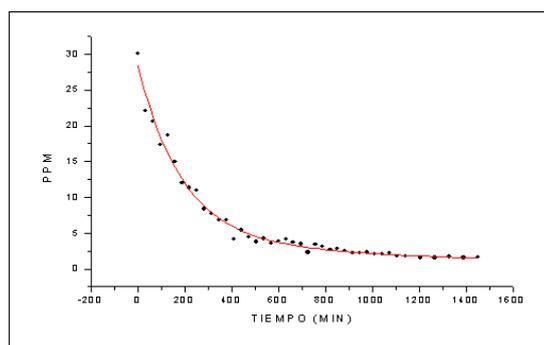


Gráfico de degradación del PMSF - Fig. 1

### CONCLUSIONES

La concentración del PMSF en agua o soluciones biológicas, corresponden al instante de medición y no refleja la concentración inicial del mismo.

Su uso en soluciones que contengan agua para inhibir proteínas resulta por demás útil ya que luego de cierto tiempo su concentración es despreciable y no interferiría en procesos posteriores donde se incorporen otras proteínas al medio (por ejemplo en preparación de caldos de cultivo, vacunas, etc.).

## REFERENCIAS

[1] Inactivation of PMSF in buffer. James, G.T. , Anal Biochem. 86, 574-9, 1978.

[2] Experimental method for the kinetic study of unstable and side-directed irreversible inhibitors and its application to the inactivation of chymotrypsin by phenylmethylsulfonyl fluoride. . Espin, Juan Carlos; Tudela José. J. Enzyme Inhib. 7(3), 175-90, 1993

*Para mayor información contactarse con:*

*Eduardo E. López – eelopez@inti.gov.ar*

[Volver a página principal](#) ◀