

Prof. Giorgio Sartor

Biotrasformazione dei composti organoclorurati (e organofosfati)

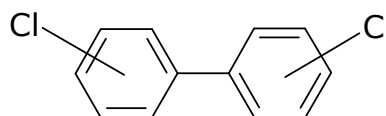
Copyright © 2001-2015 by Giorgio Sartor.
All rights reserved.

Versione 5.1.1 – jun 2015

Cosa consultare:

- KEGG – Metabolism of xenobiotics
– <http://www.genome.jp/kegg/pathway.html#xenobiotics>
- BRENDA – The Comprehensive Enzyme Information System
– <http://www.brenda-enzymes.info>
- The University of Minnesota - Biocatalysis/Biodegradation Database
– <http://umbbd.msi.umn.edu/>

Composti organoclorurati e organofosfati



- PCB
- DDT
- 2,4-diclorobenzoato
- 1,4-diclorobenzene
- 1,2-dicloroetano
- Acido 3-cloroacrilico
- Tetracloroetene
- γ -esaclorocicloesano e parathion

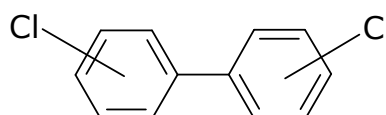
<http://www.kegg.jp/kegg/pathway.html#xenobiotics>

gs © 2001-2015 ver 5.1.1

F07 - II - Biotrasformazione dei composti organoclorurati

- 3 -

Proprietà



- PCB

Sono stati prodotti e commercializzati come miscela di congeneri caratterizzati dal contenuto in cloro. Quelli a più basso contenuto in Cloro sono liquidi viscosi inodori, insapori di colore giallo chiaro. Quelli a maggior contenuto in Cloro sono più viscosi e più gialli.

Sono ottenuti da clorurazione elettrofila di bifenili con Cl_2 gassoso.

Sono poco idrosolubili (0.0027-0.42 ng/L) e a bassa tensione di vapore, sono molto solubili in solventi organici, oli e grassi.

Hanno una costante dielettrica di 2.5~2.7 e alta conducibilità termica e alto punto di flash (da 170 a 380 °C) sono chimicamente inerti e resistono alla ossidazione, riduzione, addizione, eliminazione e sostituzione elettrofila.

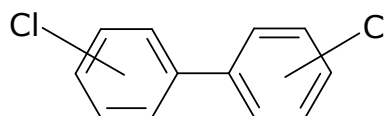
La densità varia da 1.182 a 1.566 kg/L. Aumentando la clorurazione aumenta il punto di fusione e la lipofilia mentre la tensione di vapore e la solubilità in acqua diminuiscono.

gs © 2001-2015 ver 5.1.1

F07 - II - Biotrasformazione dei composti organoclorurati

- 4 -

Proprietà



- PCB

Sono stati usati come refrigeranti e isolanti nei trasformatori e nei condensatori, come plastificanti nelle vernici e come stabilizzanti nei rivestimenti in PVC di cavi elettrici e componenti elettronici.

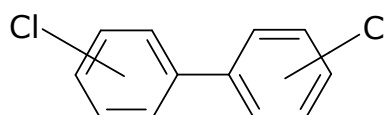
Sono anche usati come ritardanti di fiamma, fluidi idraulici, sigillanti, adesivi.

Sono stati largamente usati (coal tars) per ricoprire serbatoi, ponti e altre infrastrutture.

Sono molto stabili e possiedono un tempo di emivita molto lungo (da 8 a 15 anni).

La loro distruzione attraverso processi termici, chimici o biologici è estremamente difficile e presenta il rischio della formazione di dibenzodiossine e dibenzofurani.

Proprietà



- PCB

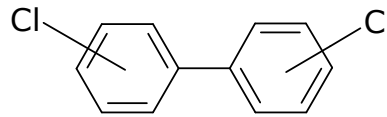
Penetrano rapidamente la pelle, il PVC e il lattice. Materiali resistenti alla penetrazione dei PCB sono: Viton, polietilene, PVA, PTFE, gomma butilica e nitrilica e Neoprene.

In termini di rapporto struttura attività è legato alla complanarità (sostituzione non orto) degli anelli.

I composti complanari hanno una struttura rigida simile a quella delle dibenzodiossine e dei dibenzofurani. Il meccanismo di azione si esplica attraverso l'interazione con i recettori degli idrocarburi (AhR).

I composti non complanari (orto sostituiti) non sembrano attivare gli AhR. Ci sono indicazioni che questo tipo di composti possiedano effetti neurotossici e immunotossici.

Rischi



- PCB

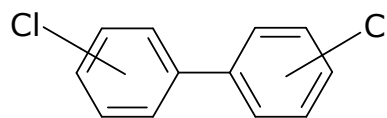
In Italia la produzione iniziò nel 1932 quando la Caffaro (BS) acquisì il brevetto dalla Monsanto, la produzione di PCB è stata interrotta nel 1983 quando la ditta fallì.

La produzione di PCB ha provocato a Brescia una contaminazione del suolo e delle acque in un'area densamente popolata in città. Analoga contaminazione è avvenuta ad Anniston (USA) a causa della Monsanto.

A Brescia i valori riportati arrivavano ad essere, nel 1999, fino a circa 5000 volte maggiori rispetto a quanto fissato dalla normativa (DM 471/1999, 0.001 mg/kg). Per questa ragione una denuncia per disastro ambientale è stata presentata dal PM di Brescia nel giugno 2001.

Altre campagne di campionamento sulla popolazione adulta a Brescia hanno riportato valori fino a 10-20 volte maggiori rispetto ai valori di riferimento.

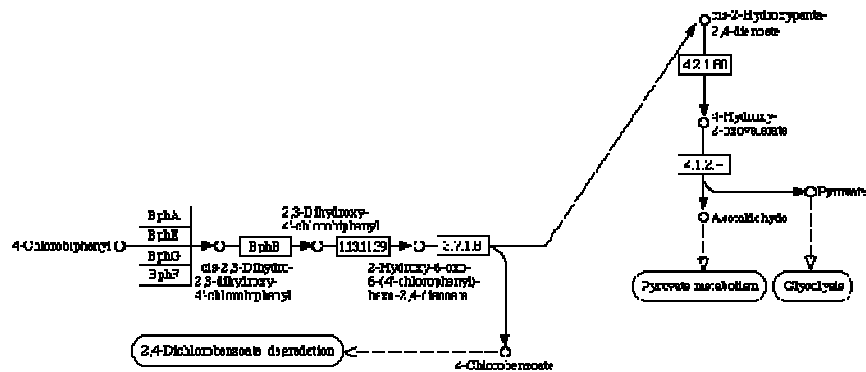
Rischi



- PCB

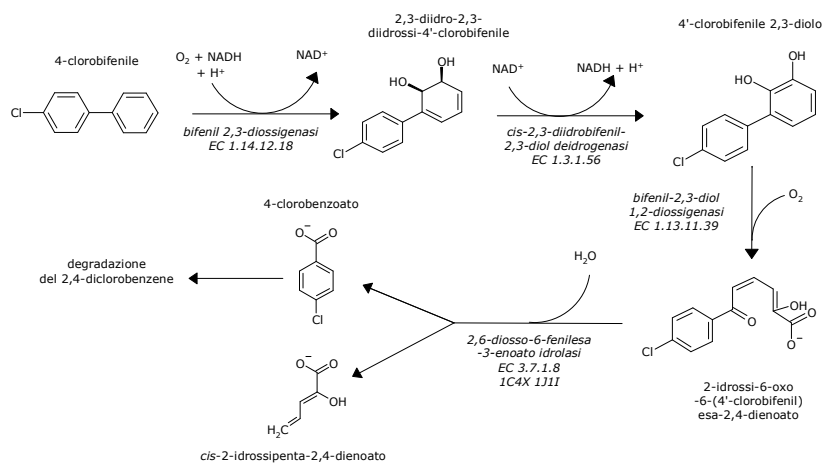


Schema generale – bifenile e PCB

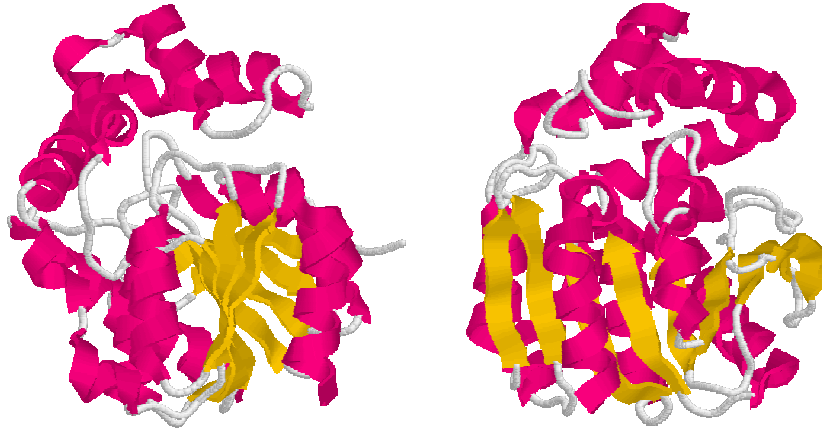


<http://www.kegg.jp/kegg/pathway.html#xenobiotics>

Scissione del 4-clorobifenile



2,6-diosso-6-fenilesa-3-enoato idrolasi
EC 3.7.1.8 (1C4X)

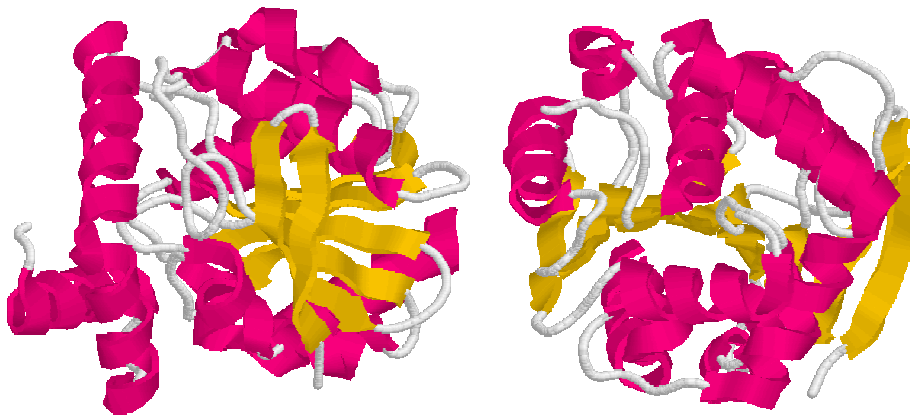


gs © 2001-2015 ver 5.1.1

F07 - II - Biotrasformazione dei composti organoclorurati

- 11 -

2,6-diosso-6-fenilesa-3-enoato
idrolasi *EC 3.7.1.8 (1J1I)*

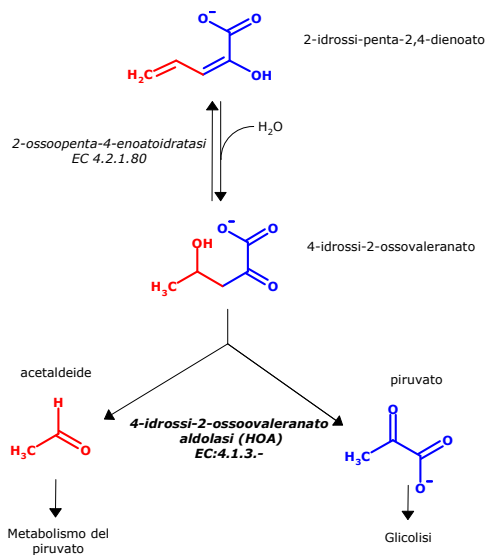


gs © 2001-2015 ver 5.1.1

F07 - II - Biotrasformazione dei composti organoclorurati

- 12 -

Scissione del 2-idrossi-2,4-pentadienoato



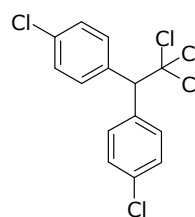
gs © 2001-2015 ver 5.1.1

F07 - II - Biotrasformazione dei composti organoclorurati

- 13 -

Composti organoclorurati e organofosfati

- PCB
- DDT
- 2,4-diclorobenzoato
- 1,4-diclorobenzene
- 1,2-dicloroetano
- Acido 3-cloroacrilico
- Tetracloroetene
- γ -esaclorocicloesano e parathion



1,1,1-tricloro-2,2-bis-(4'-clorofenil)etano

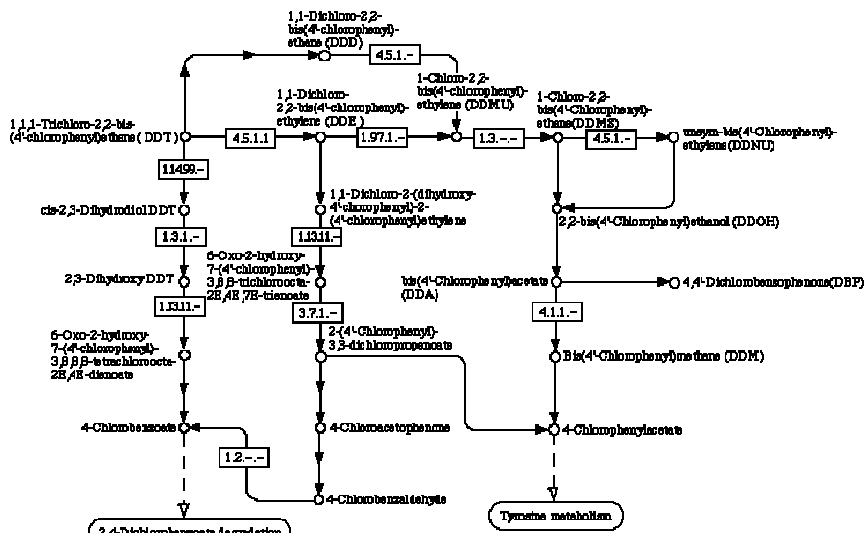
<http://www.kegg.jp/kegg/pathway.html#xenobiotics>

gs © 2001-2015 ver 5.1.1

F07 - II - Biotrasformazione dei composti organoclorurati

- 14 -

Schema generale



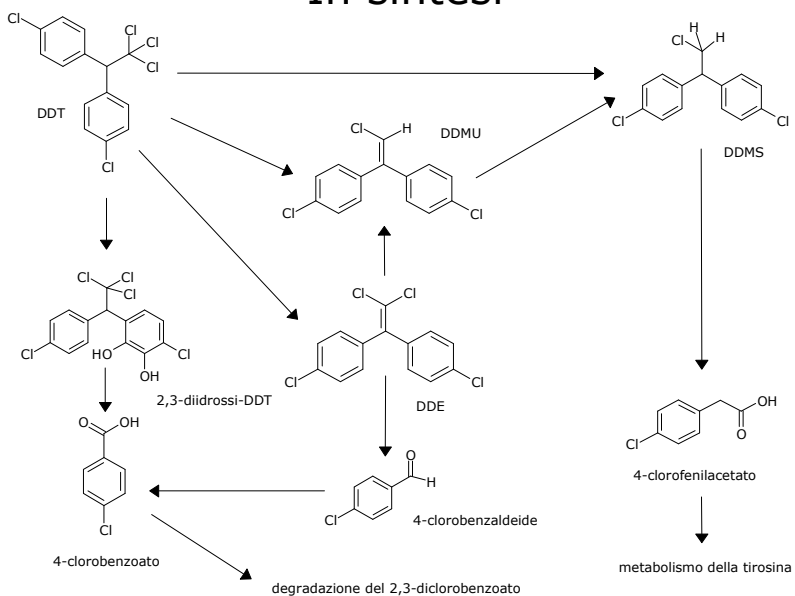
<http://www.kegg.jp/kegg/pathway.html#xenobiotics>

gs © 2001-2015 ver 5.1.1

F07 - II - Biotrasformazione dei composti organoclorurati

- 15 -

In sintesi

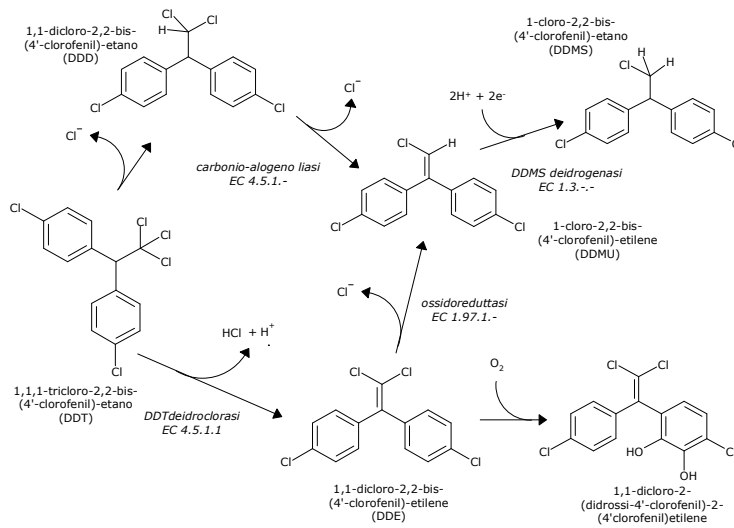


gs © 2001-2015 ver 5.1.1

F07 - II - Biotrasformazione dei composti organoclorurati

- 16 -

Declorurazione del DDT

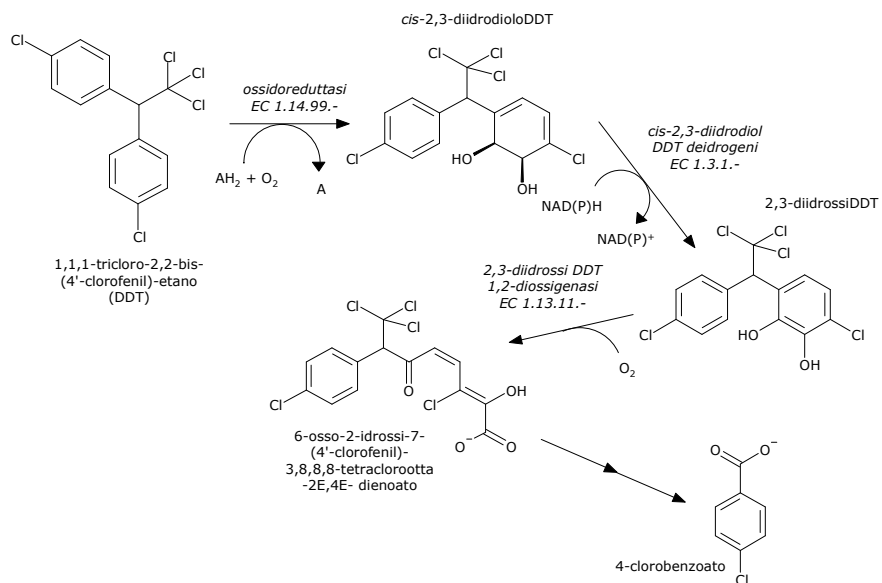


gs © 2001-2015 ver 5.1.1

F07 - II - Biotrasformazione dei composti organoclorurati

- 17 -

Ossidazione del DDT

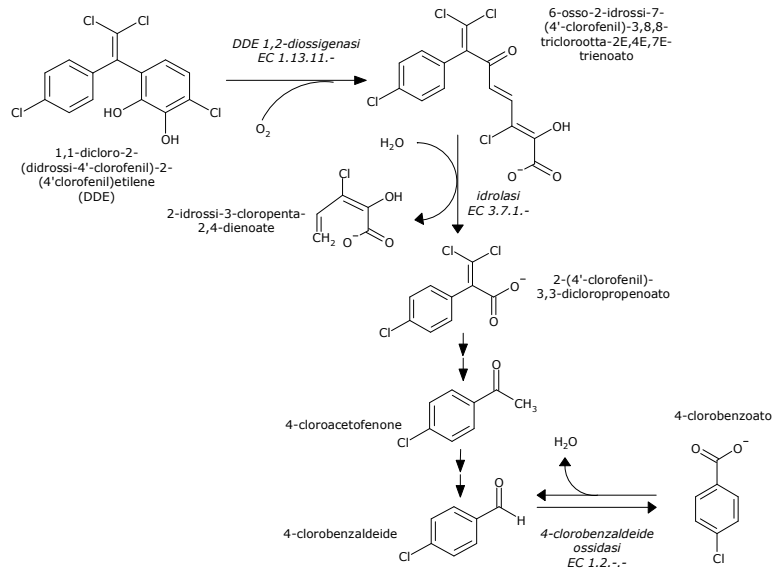


gs © 2001-2015 ver 5.1.1

F07 - II - Biotrasformazione dei composti organoclorurati

- 18 -

Ossidazione del DDE

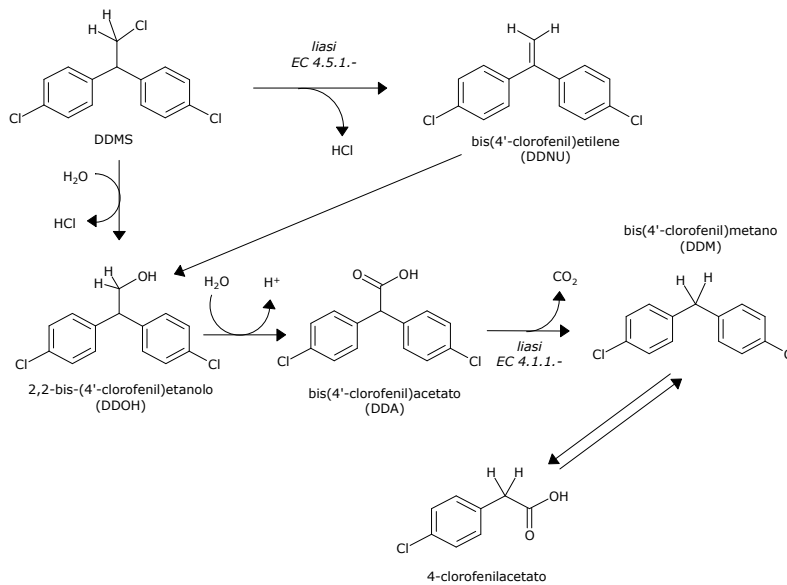


gs © 2001-2015 ver 5.1.1

F07 - II - Biotrasformazione dei composti organoclorurati

- 19 -

Ossidazione del DDMS

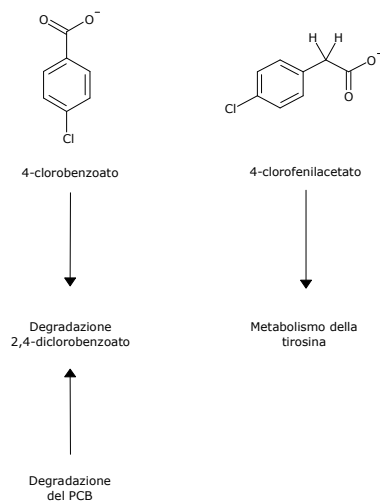


gs © 2001-2015 ver 5.1.1

F07 - II - Biotrasformazione dei composti organoclorurati

- 20 -

Prodotti finali



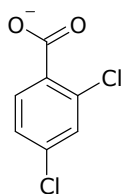
gs © 2001-2015 ver 5.1.1

F07 - II - Biotrasformazione dei composti organoclorurati

- 21 -

Composti organoclorurati e organofosfati

- PCB
- DDT
- **2,4-diclorobenzoato**
- 1,4-diclorobenzene
- 1,2-dicloroetano
- Acido 3-cloroacrilico
- Tetracloroetene
- γ -esaclorocicloesano e parathion



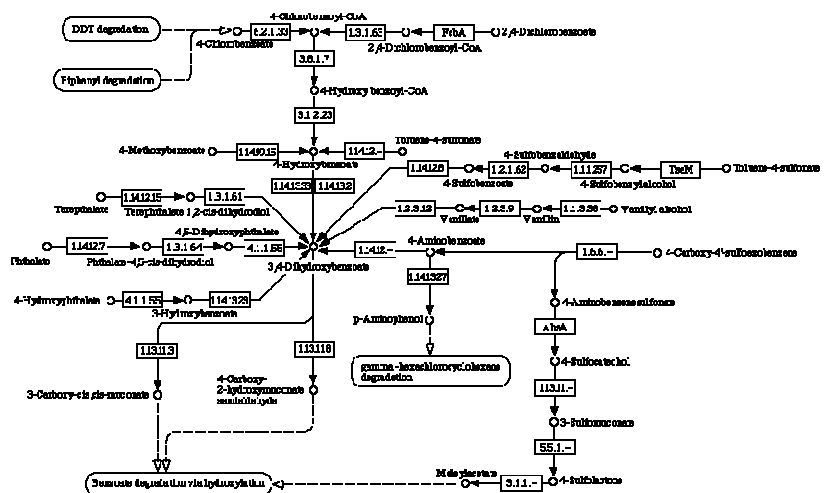
<http://www.kegg.jp/kegg/pathway.html#xenobiotics>

gs © 2001-2015 ver 5.1.1

F07 - II - Biotrasformazione dei composti organoclorurati

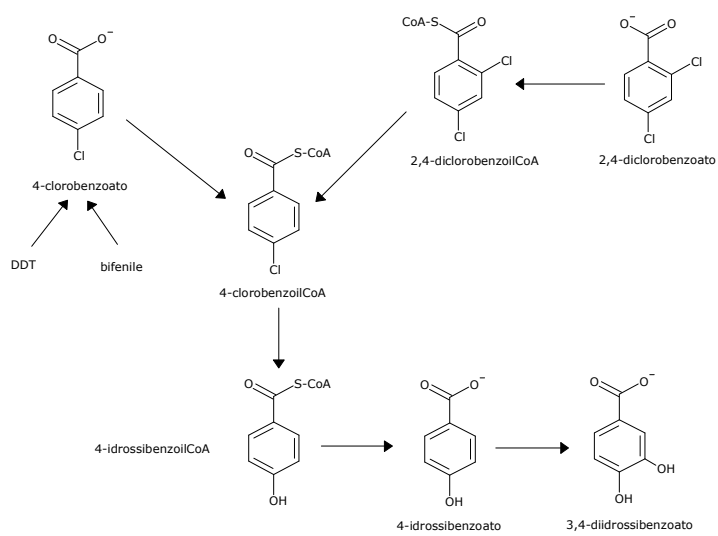
- 22 -

Schema generale

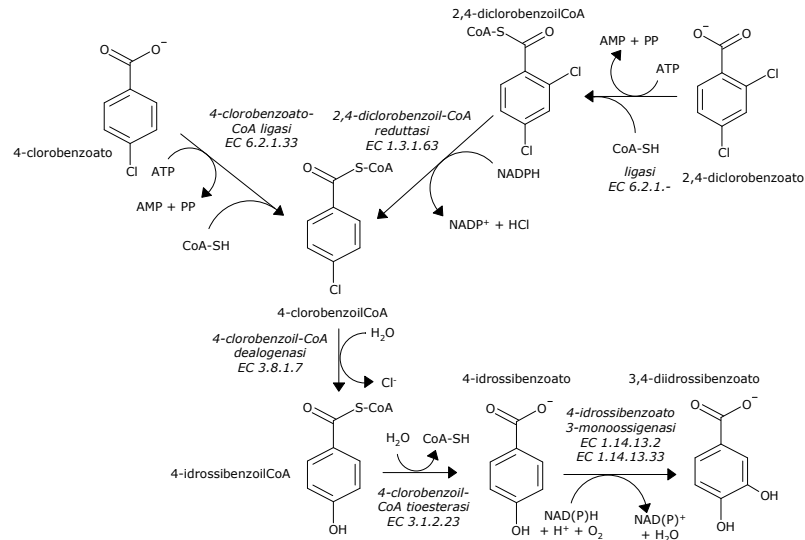


<http://www.kegg.jp/kegg/pathway.html#xenobiotics>

In sintesi



Da 4-clorobenzoato e 2,4-diclorobenzoato a 3,4-diidrossibenzoato

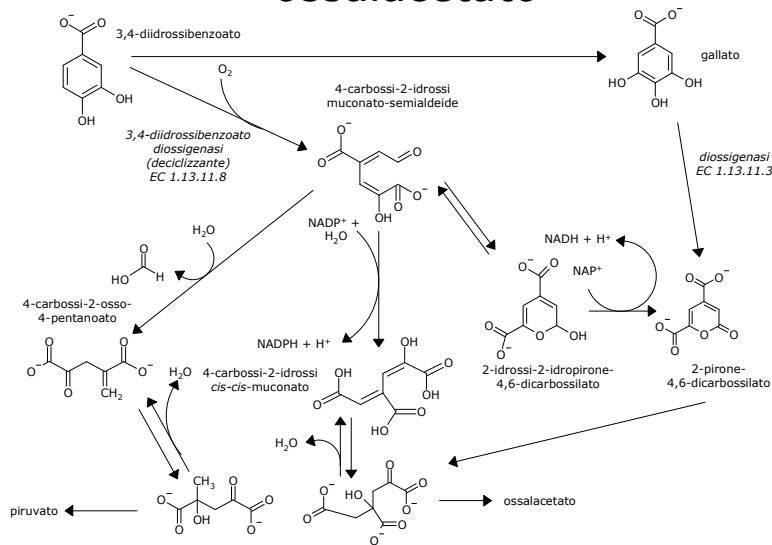


gs © 2001-2015 ver 5.1.1

F07 - II - Biotrasformazione dei composti organoclorurati

- 25 -

Da 3,4-diidrossibenzoato a piruvato e ossalacetato

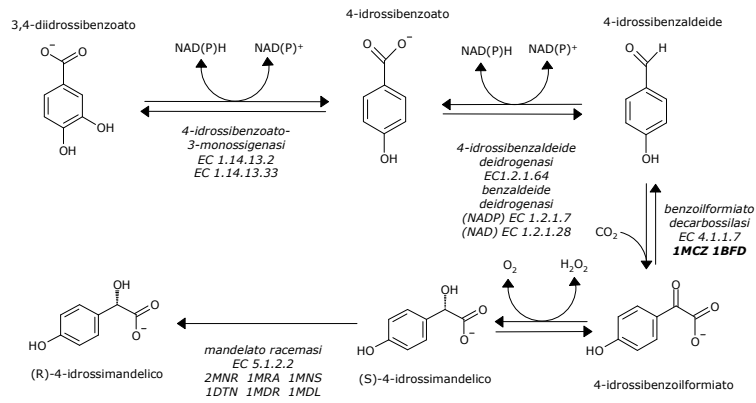


gs © 2001-2015 ver 5.1.1

F07 - II - Biotrasformazione dei composti organoclorurati

- 26 -

Da 3,4-diidrossibenzoato a (R)-4-idrossimandelato

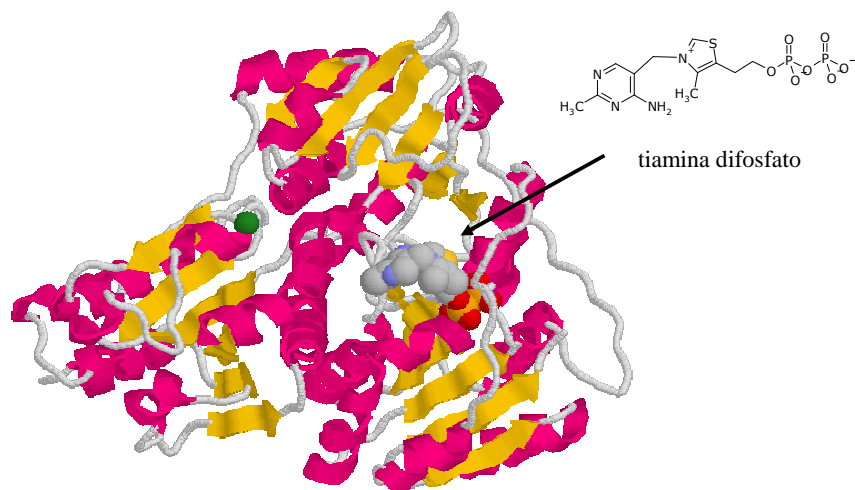


gs © 2001-2015 ver 5.1.1

F07 - II - Biotrasformazione dei composti organoclorurati

- 27 -

Benzoilformiato decarbossilasi EC 4.1.1.7 (1BFD)

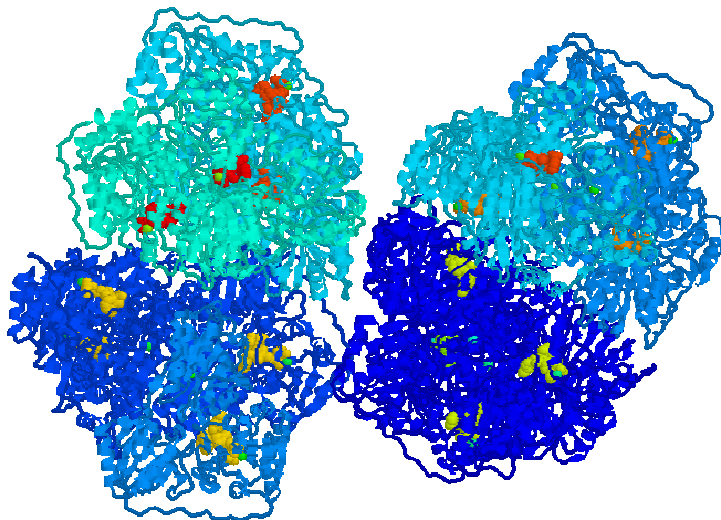


gs © 2001-2015 ver 5.1.1

F07 - II - Biotrasformazione dei composti organoclorurati

- 28 -

Benzoilformiato decarbossilasi *EC 4.1.1.7 (1MCZ)*

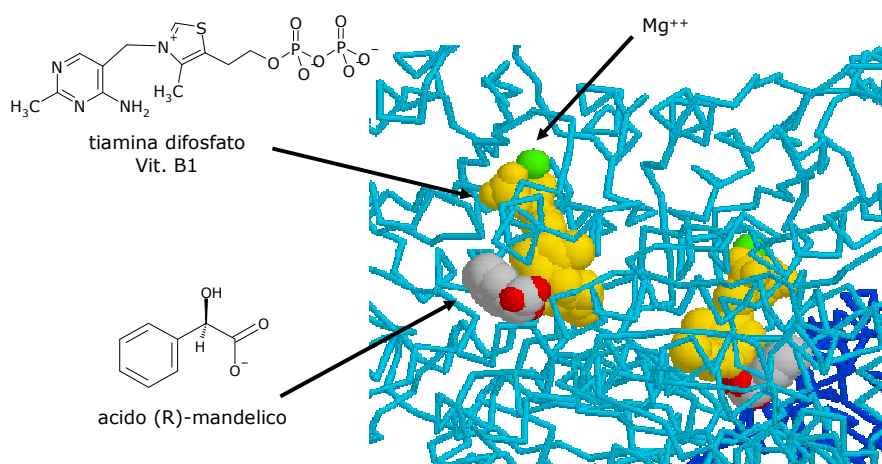


gs © 2001-2015 ver 5.1.1

F07 - II - Biotrasformazione dei composti organoclorurati

- 29 -

Benzoilformiato decarbossilasi *EC 4.1.1.7 (1MCZ)*

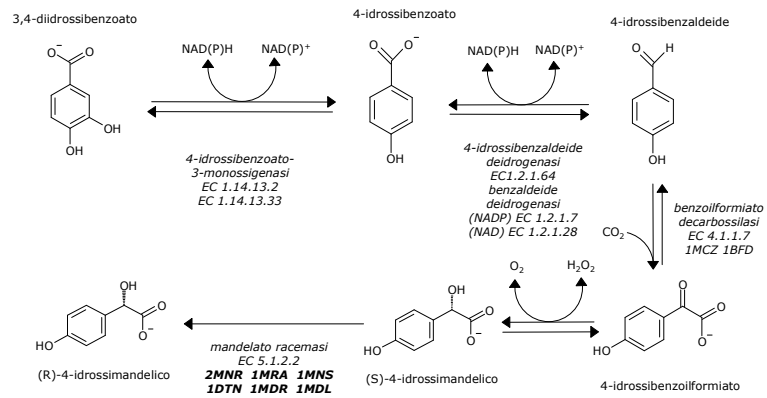


gs © 2001-2015 ver 5.1.1

F07 - II - Biotrasformazione dei composti organoclorurati

- 30 -

Da 3,4-diidrossibenzoato a 4-idrossimandelato

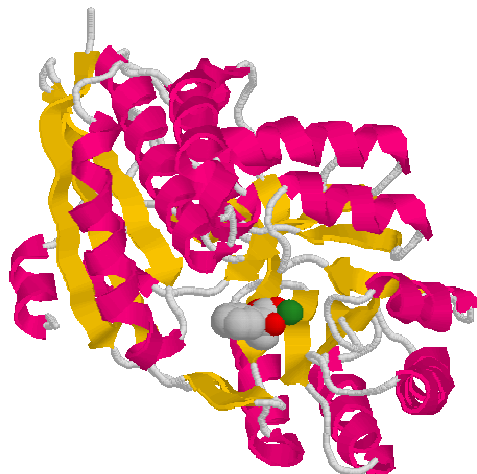


gs © 2001-2015 ver 5.1.1

F07 - II - Biotrasformazione dei composti organoclorurati

- 31 -

Mandelato racemasi EC 5.1.2.2 (1MNS)

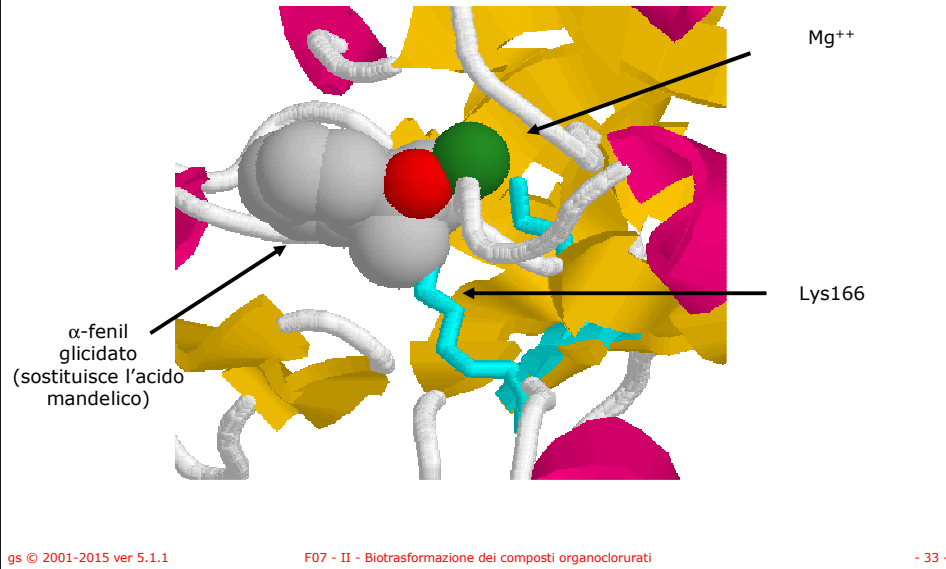


gs © 2001-2015 ver 5.1.1

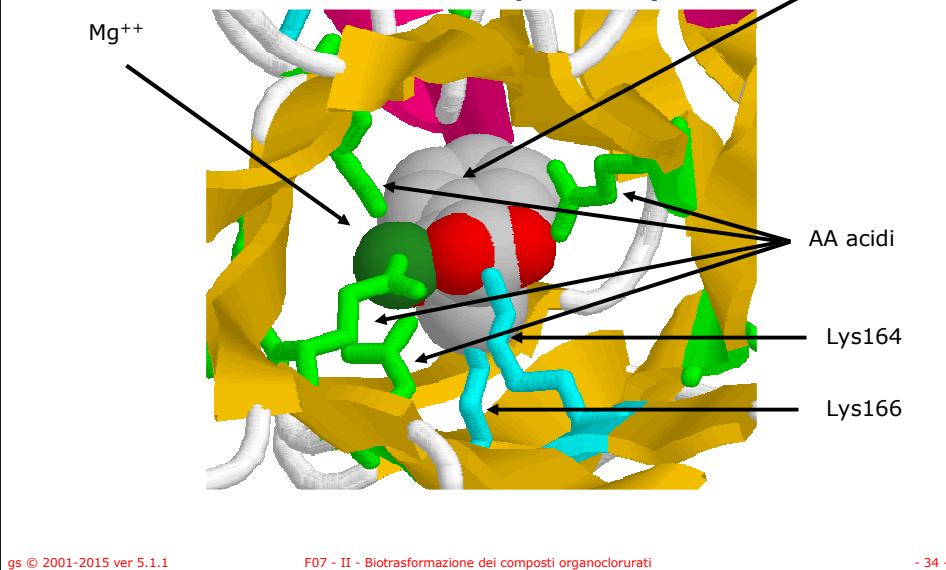
F07 - II - Biotrasformazione dei composti organoclorurati

- 32 -

Mandelato racemasi EC 5.1.2.2 (1MNS)

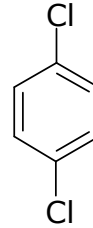


Mandelato racemasi EC 5.1.2.2 (1MNS)



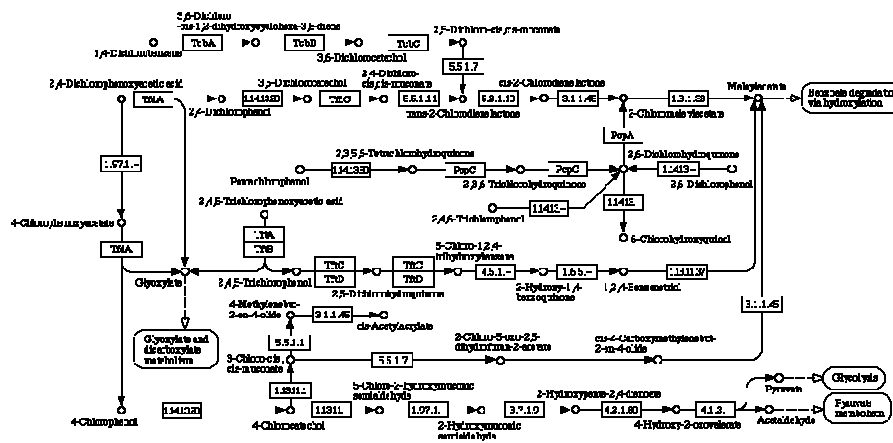
Composti organoclorurati e organofosfati

- Bifenile e PCB
- DDT
- 2,4-diclorobenzoato
- 1,4-diclorobenzene
- 1,2-dicloroetano
- Acido 3-cloroacrilico
- Tetracloroetene
- γ -esaclorocicloesano e parathion



<http://www.kegg.jp/kegg/pathway.html#xenobiotics>

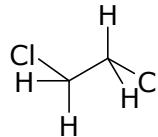
Schema generale



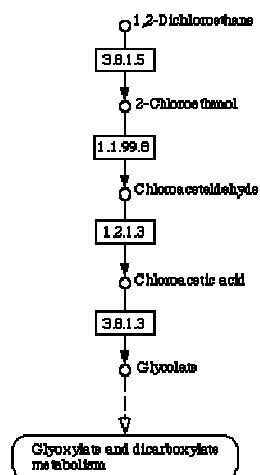
<http://www.kegg.jp/kegg/pathway.html#xenobiotics>

Composti organoclorurati e organofosfati

- PCB
- DDT
- 2,4-diclorobenzoato
- 1,4-diclorobenzene
- 1,2-dicloroetano
- Acido 3-cloroacrilico
- Tetracloroetene
- γ -esaclorocicloesano e parathion

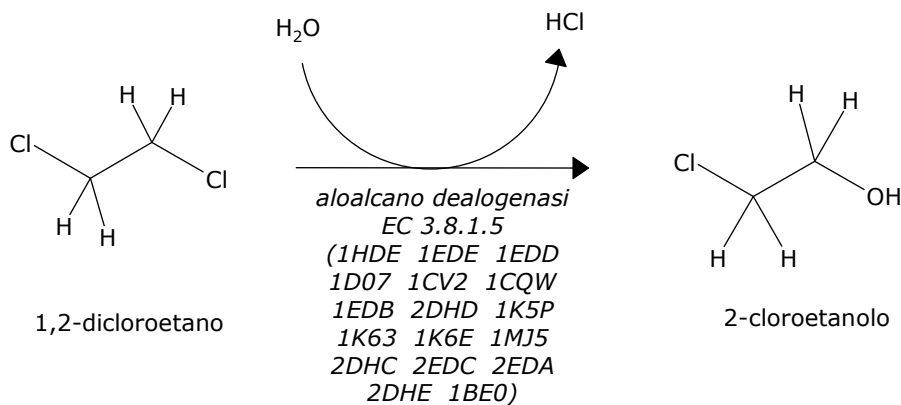


Schema generale



<http://www.kegg.jp/kegg/pathway.html#xenobiotics>

Dealogenazione del 1,2-dicloroetano



gs © 2001-2015 ver 5.1.1

F07 - II - Biotrasformazione dei composti organoclorurati

- 39 -

Aloalcano dealogenasi EC 3.8.1.5

TABLE 3. Partial substrate range of the purified 1-chlorohexane halohydrolyase from *Arthrobacter* sp. strain HA1

Substrate ^a	Rate ^b
2-Chlorobutane	16
2-Bromobutane	33
3-Chloroheptane	9
Chlorocyclohexane	29
1-Bromo-2-methylpropane	106
Bromobenzene	11
Phenylmethyl bromide	32
Phenylethyl bromide	88
Phenylpropyl bromide	36
Phenylmethyl chloride	33
4-Bromobenzyl alcohol	6
3-Bromo-1-propene	135
4-Chlorobutanol	+
5-Chloropentanol	+
6-Chlorohexanol	53
2-Bromoethanol	<5
1,2-Dibromopropane	260
1,3-Dibromobutane	72
Dibromomethane	6
1,2-Dibromoethane ^{c,d,e}	280
1,3-Dibromopropane ^c	+
1,5-Dibromopentane ^c	+
1,10-Dibromodecane	8
1,3-Dichloropropane ^d	+
1,4-Dichlorobutane ^{d,e}	+
1,5-Dichloropentane ^d	+
1,6-Dichlorohexane ^{c,d,e}	+

^a No activity (<<5%) was observed with the following halogenated compounds: 1-bromotetradecane, 1-fluoropentane, chlorobenzene, 2-chloroethanol, 2-iodoethanol, 3-chloropropanol, 2-chloroacetate, 2-bromoacetate, 2-iodoacetate, 1-chloroacetone, 1,12-dibromododecane, dichloromethane, 1,1-dichloroethane, 1,2-dichloroethane, 1,2-dichloropropane, and diiodomethane.

^b Reaction rates are expressed as a percentage of the activity (halide release) of the enzyme (about 30 µg) with 1-chlorobutane as the substrate in control experiments done at the same time. All compounds were stable under the assay conditions. +, Reaction rate was not quantified; endpoint determinations were made. No data are presented for 4-chlorobutyrate or 3-chloro-2-butanone, which hydrolyzed spontaneously.

^c The substrate was hydrolyzed quantitatively.

^d The corresponding haloalcohol was observed.

^e The corresponding diol was observed.

Journal of
Bacteriology

Characterization of 1-chlorohexane halohydrolyase, a dehalogenase of wide substrate range from an *Arthrobacter* sp.

R Scholtz, T Leisinger, F Suter and A M Cook
J. Bacteriol. 1987, 169(11):5016.

gs © 2001-2015 ver 5.1.1

F07 - II - Biotrasformazione dei composti organoclorurati

- 40 -

Aloalcano dealogenasi *EC 3.8.1.5*

5020 SCHOLTZ ET AL.

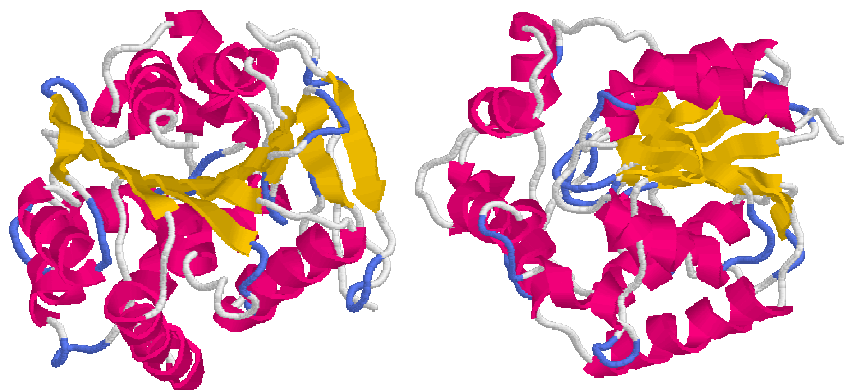
TABLE 4. Selected K_m values for the interaction of 1-chlorohexane halidohidrolase with its substrates^a

Substrate	K_m (mM)
1-Iodomethane	6.4, 4.0 ^b
1-Iodoethane	0.20
1-Iodopropane	0.08
1-Bromopropane	0.02
1-Chloropropane	1.2 ^b
1-Chlorobutane.....	0.06
1-Chloropentane	0.05
1-Chlorohexane	0.04
1-Bromo-2-methylpropane	0.15

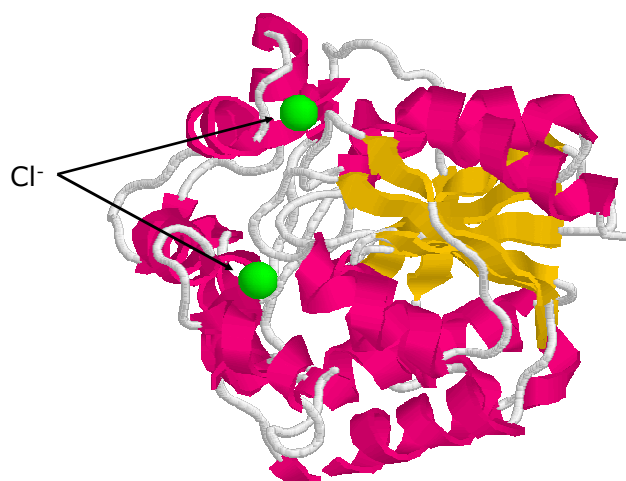
^a Halide release was measured. Unless otherwise indicated, data were calculated by the method of Halwachs (8).

^b The direct linear plot was used.

Aloalcano dealogenasi *EC 3.8.1.5 (1EDE)*



Aloalcano dealogenasi
EC 3.8.1.5 (1B6G)

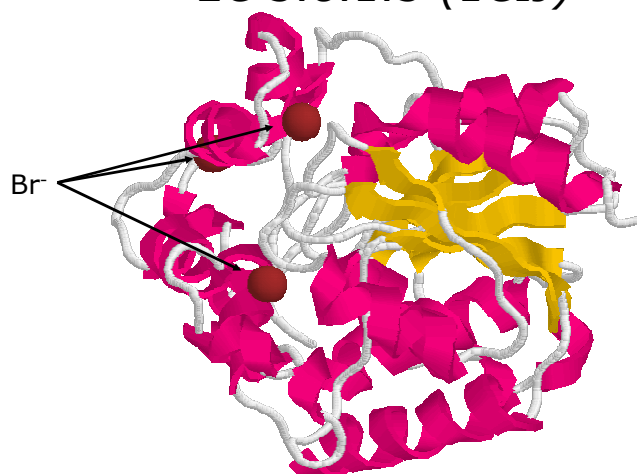


gs © 2001-2015 ver 5.1.1

F07 - II - Biotrasformazione dei composti organoclorurati

- 43 -

Aloalcano dealogenasi
EC 3.8.1.5 (1CIJ)

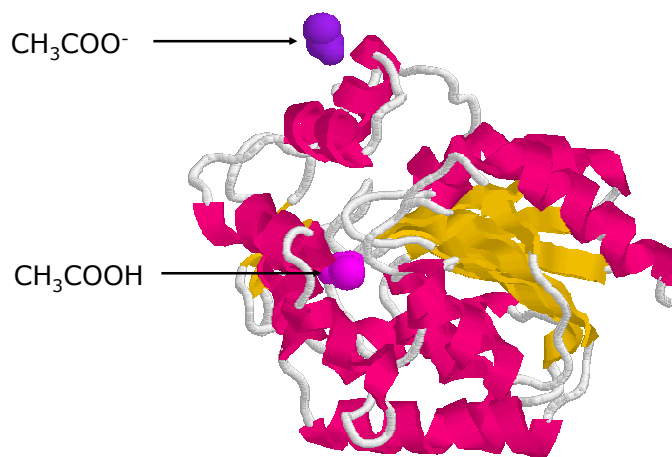


gs © 2001-2015 ver 5.1.1

F07 - II - Biotrasformazione dei composti organoclorurati

- 44 -

Aloalcano dealogenasi *EC 3.8.1.5 (1BE0)*

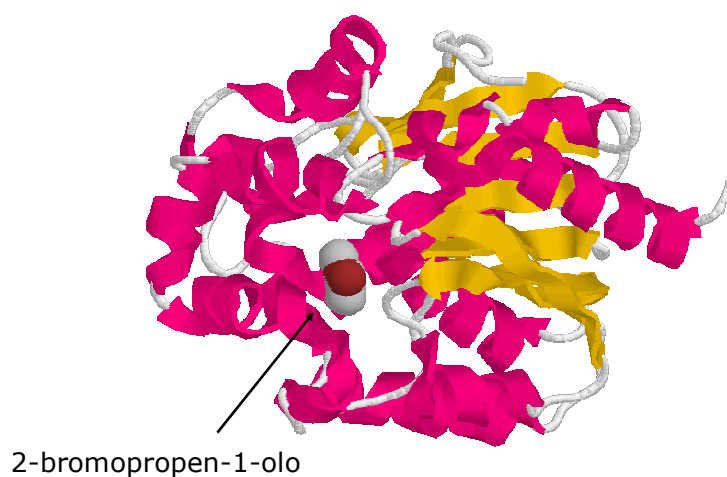


gs © 2001-2015 ver 5.1.1

F07 - II - Biotrasformazione dei composti organoclorurati

- 45 -

Aloalcano dealogenasi *EC 3.8.1.5 (1K63)*

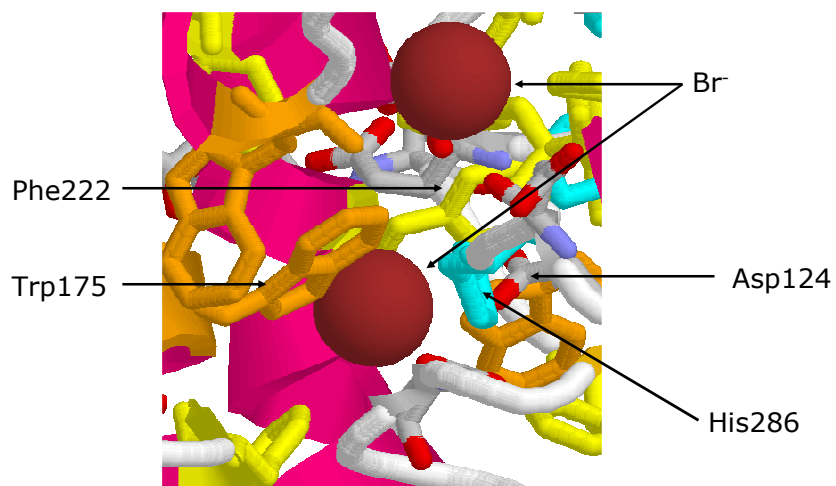


gs © 2001-2015 ver 5.1.1

F07 - II - Biotrasformazione dei composti organoclorurati

- 46 -

Aloalcano dealogenasi *EC 3.8.1.5 (1CIJ)*



gs © 2001-2015 ver 5.1.1

F07 - II - Biotrasformazione dei composti organoclorurati

- 47 -

Aloalcano dealogenasi *EC 3.8.1.5 (1BE0)*

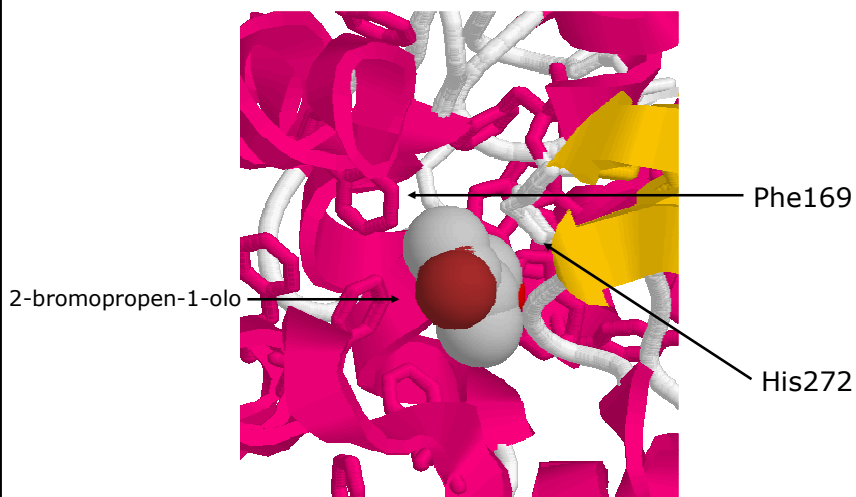


gs © 2001-2015 ver 5.1.1

F07 - II - Biotrasformazione dei composti organoclorurati

- 48 -

Aloalcano dealogenasi EC 3.8.1.5 (1K63)

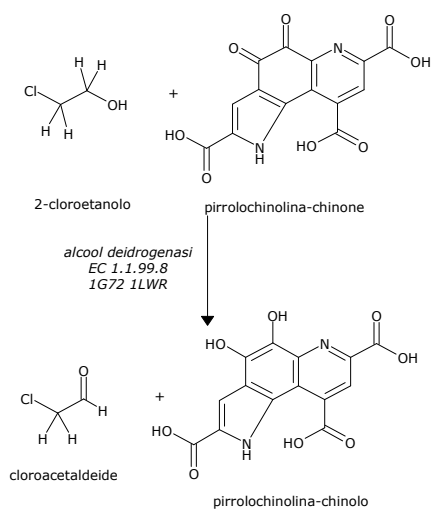


gs © 2001-2015 ver 5.1.1

F07 - II - Biotrasformazione dei composti organoclorurati

- 49 -

Deidrogenazione del 2-cloroetano

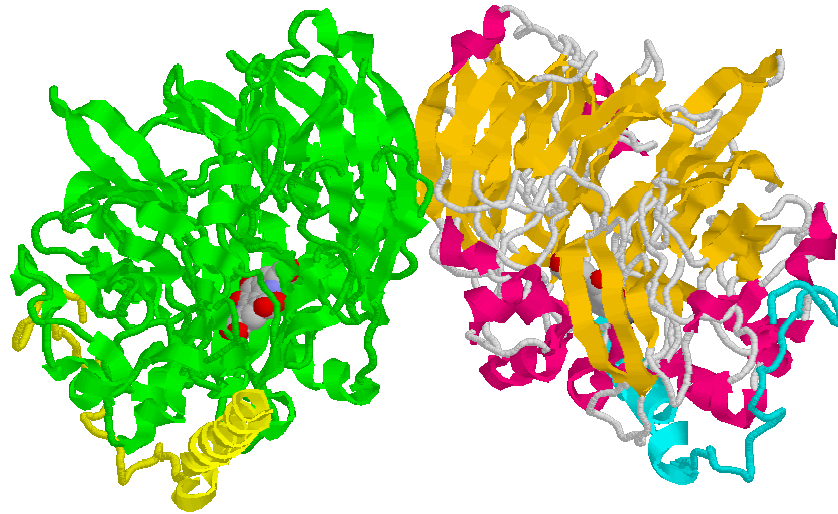


gs © 2001-2015 ver 5.1.1

F07 - II - Biotrasformazione dei composti organoclorurati

- 50 -

Alcool deidrogenasi
EC 1.1.99.8 (1G72)

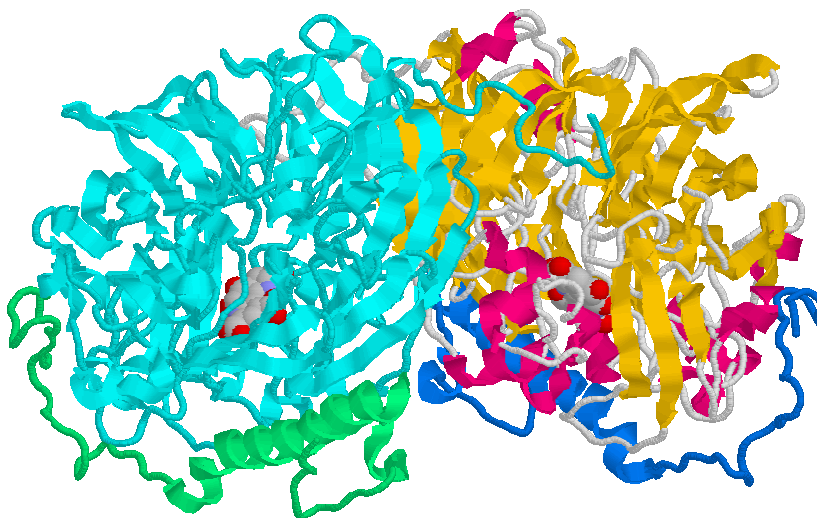


gs © 2001-2015 ver 5.1.1

F07 - II - Biotrasformazione dei composti organoclorurati

- 51 -

Alcool deidrogenasi
EC 1.1.99.8 (1LW2)

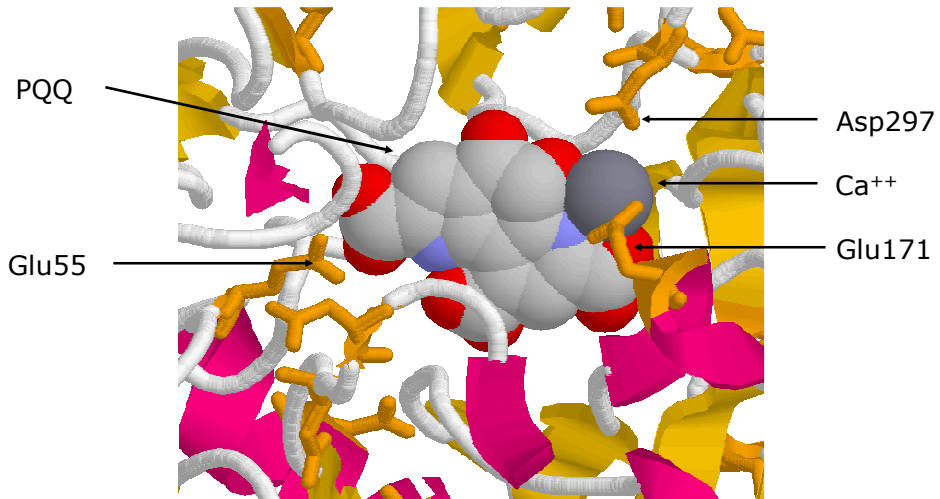


gs © 2001-2015 ver 5.1.1

F07 - II - Biotrasformazione dei composti organoclorurati

- 52 -

Alcool deidrogenasi EC 1.1.99.8 (1G72)

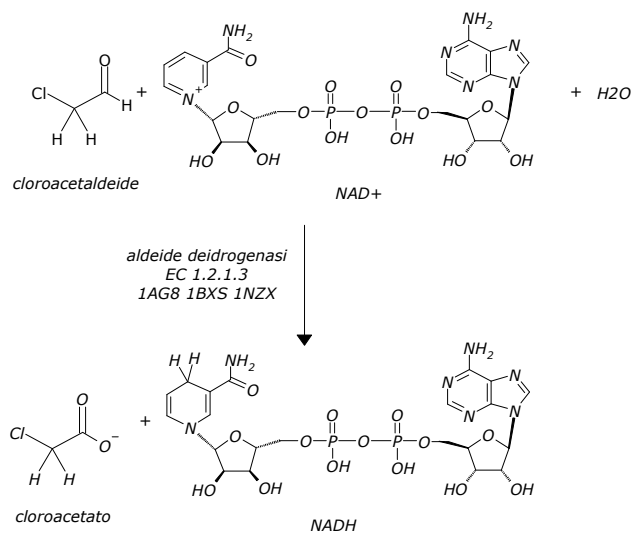


gs © 2001-2015 ver 5.1.1

F07 - II - Biotrasformazione dei composti organoclorurati

- 53 -

Deidrogenazione della cloroacetaldeide

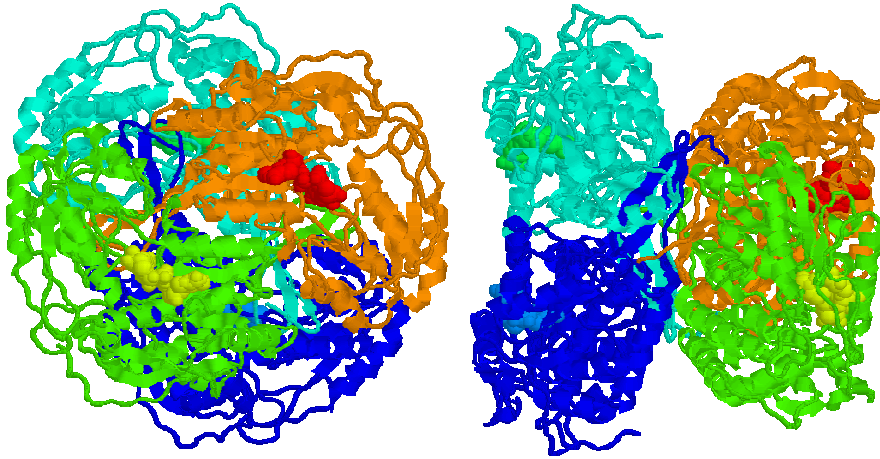


gs © 2001-2015 ver 5.1.1

F07 - II - Biotrasformazione dei composti organoclorurati

- 54 -

Aldeide deidrogenasi
EC 1.2.1.3 (1BXS)

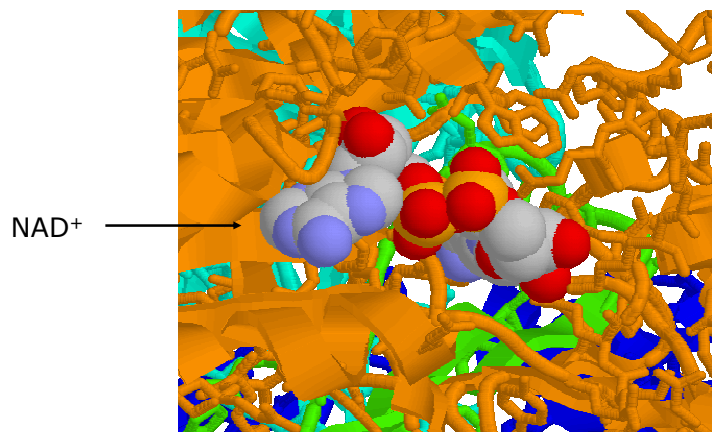


gs © 2001-2015 ver 5.1.1

F07 - II - Biotrasformazione dei composti organoclorurati

- 55 -

Aldeide deidrogenasi
EC 1.2.1.3 (1BXS)

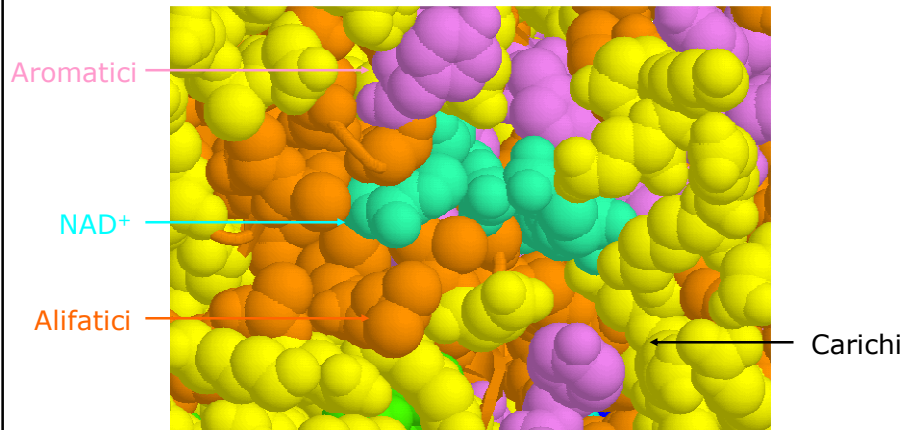


gs © 2001-2015 ver 5.1.1

F07 - II - Biotrasformazione dei composti organoclorurati

- 56 -

Aldeide deidrogenasi *EC 1.2.1.3 (1BXS)*

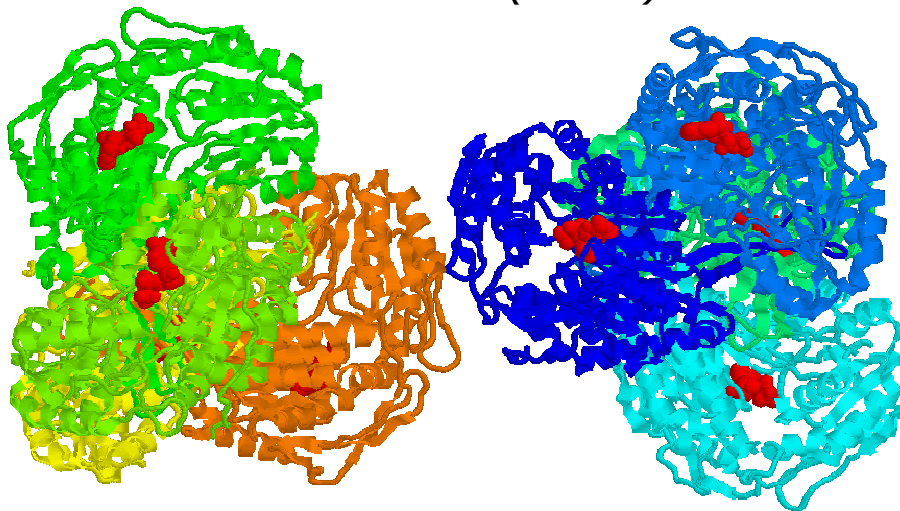


gs © 2001-2015 ver 5.1.1

F07 - II - Biotrasformazione dei composti organoclorurati

- 57 -

Aldeide deidrogenasi *EC 1.2.1.3 (1NZX)*

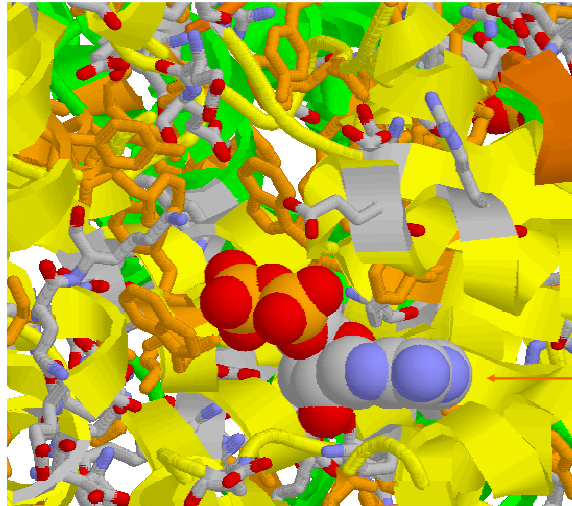


gs © 2001-2015 ver 5.1.1

F07 - II - Biotrasformazione dei composti organoclorurati

- 58 -

Aldeide deidrogenasi EC 1.2.1.3 (1NZX)



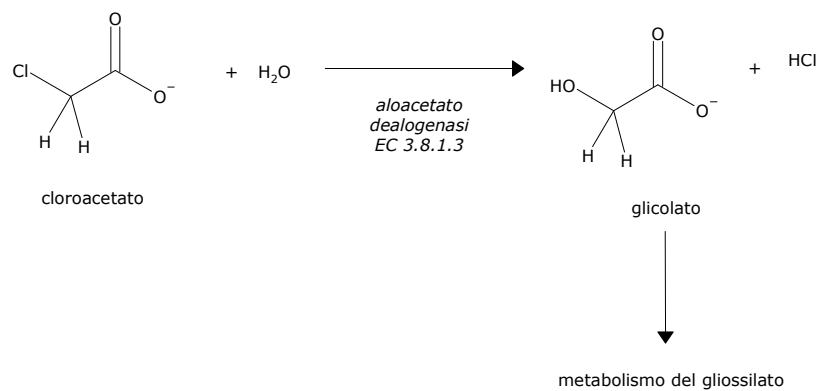
NAD⁺

gs © 2001-2015 ver 5.1.1

F07 - II - Biotrasformazione dei composti organoclorurati

- 59 -

Dealogenazione del cloroacetato



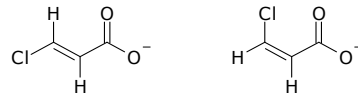
gs © 2001-2015 ver 5.1.1

F07 - II - Biotrasformazione dei composti organoclorurati

- 60 -

Composti organoclorurati e organofosfati

- PCB
- DDT
- 2,4-diclorobenzoato
- 1,4-diclorobenzene
- 1,2-dicloroetano
- Acido 3-cloroacrilico
- Tetracloroetene
- γ -esaclorocicloesano e parathion



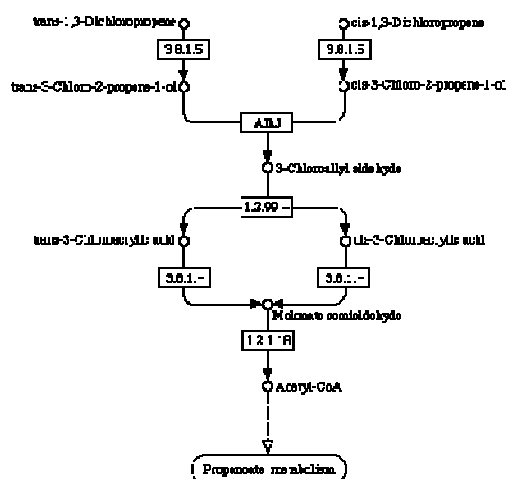
<http://www.kegg.jp/kegg/pathway.html#xenobiotics>

gs © 2001-2015 ver 5.1.1

F07 - II - Biotrasformazione dei composti organoclorurati

- 61 -

Schema generale



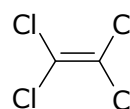
gs © 2001-2015 ver 5.1.1

F07 - II - Biotrasformazione dei composti organoclorurati

- 62 -

Composti organoclorurati e organofosfati

- Bifenile e PCB
- DDT
- 2,4-diclorobenzoato
- 1,4-diclorobenzene
- 1,2-dicloroetano
- Acido 3-cloroacrilico
- Tetracloroetene
- γ -esaclorocicloesano e parathion



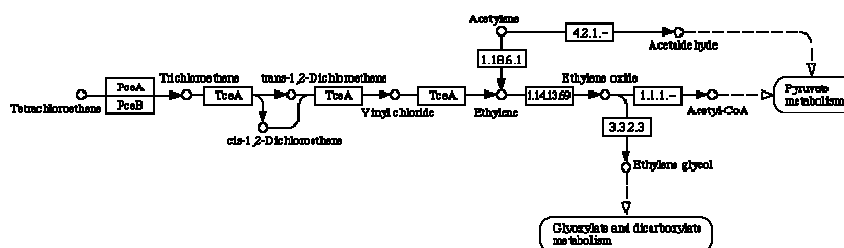
<http://www.kegg.jp/kegg/pathway.html#xenobiotics>

gs © 2001-2015 ver 5.1.1

F07 - II - Biotrasformazione dei composti organoclorurati

- 63 -

Schema generale



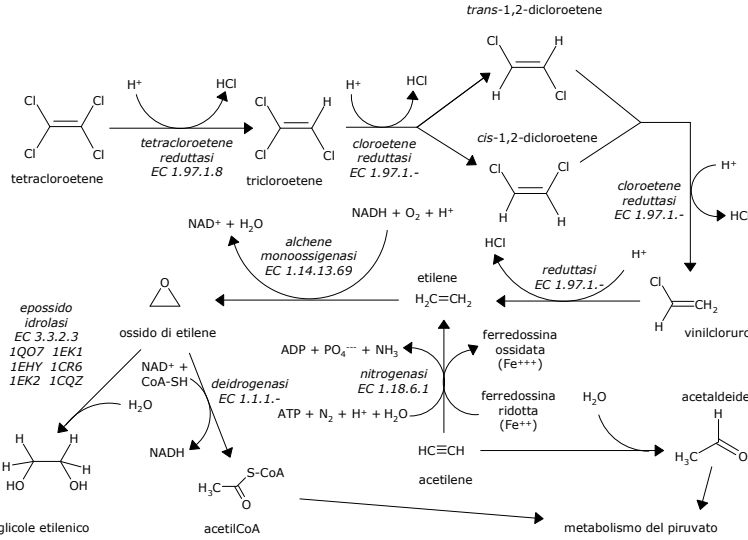
<http://www.kegg.jp/kegg/pathway.html#xenobiotics>

gs © 2001-2015 ver 5.1.1

F07 - II - Biotrasformazione dei composti organoclorurati

- 64 -

Degradazione del tetracloroetene

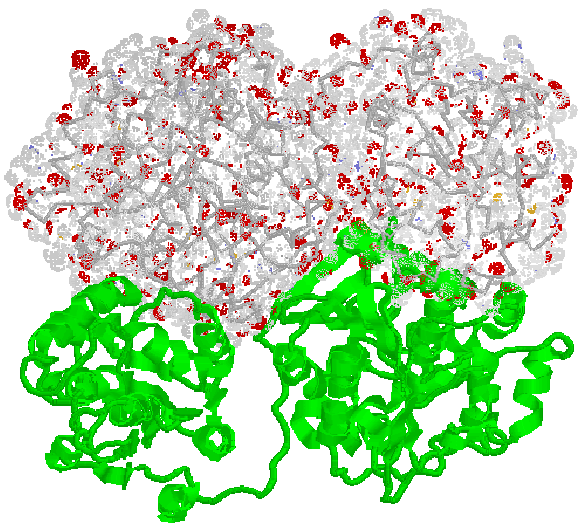


gs © 2001-2015 ver 5.1.1

F07 - II - Biotrasformazione dei composti organoclorurati

- 65 -

Epossido idrolasi EC 3.3.2.3 (1CQZ)

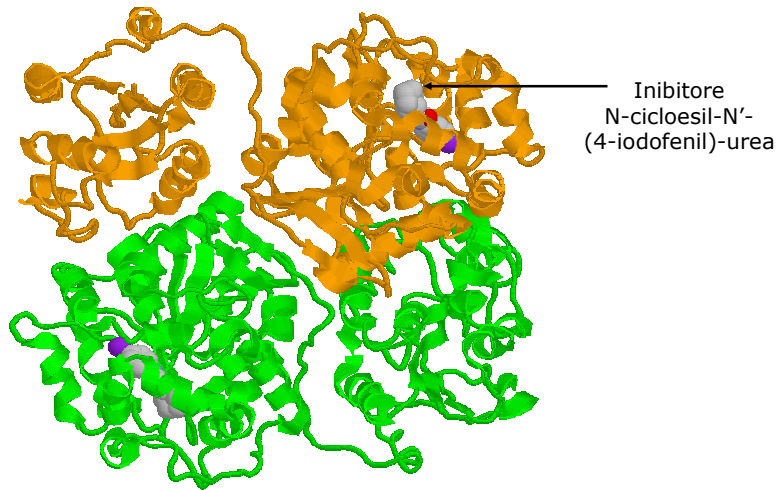


gs © 2001-2015 ver 5.1.1

F07 - II - Biotrasformazione dei composti organoclorurati

- 66 -

Epossido idrolasi EC 3.3.2.3 (1EK1)

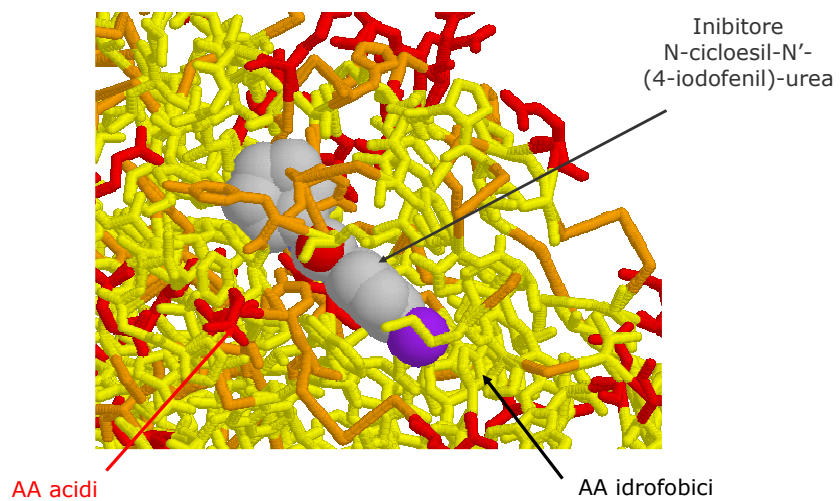


gs © 2001-2015 ver 5.1.1

F07 - II - Biotrasformazione dei composti organoclorurati

- 67 -

Epossido idrolasi EC 3.3.2.3 (1EK1)



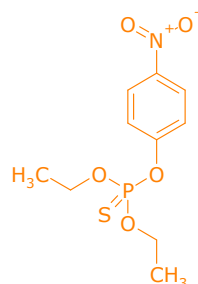
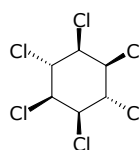
gs © 2001-2015 ver 5.1.1

F07 - II - Biotrasformazione dei composti organoclorurati

- 68 -

Composti organoclorurati e organofosfati

- PCB
- DDT
- 2,4-diclorobenzoato
- 1,4-diclorobenzene
- 1,2-dicloroetano
- Acido 3-cloroacrilico
- Tetracloroetene
- γ -esaclorocicloesano e parathion



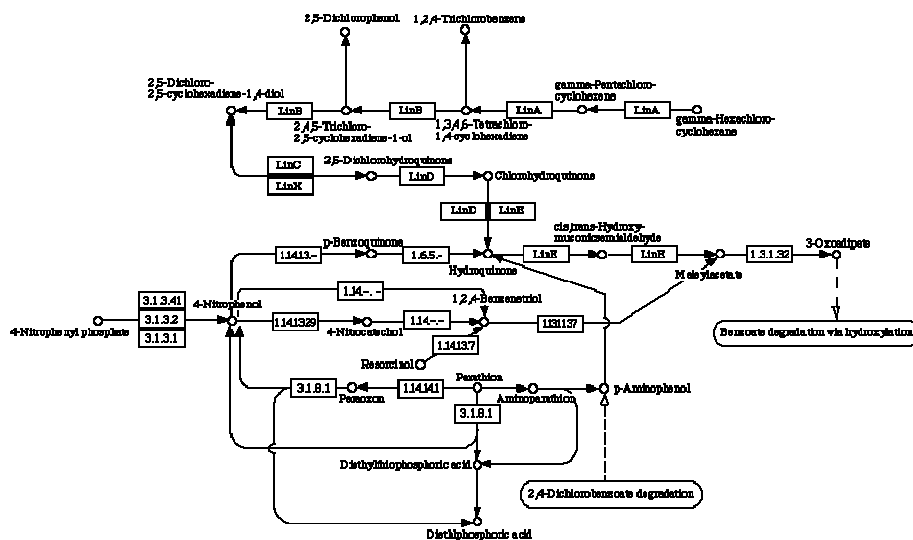
<http://www.kegg.jp/kegg/pathway.html#xenobiotics>

gs © 2001-2015 ver 5.1.1

F07 - II - Biotrasformazione dei composti organoclorurati

- 69 -

Schema generale



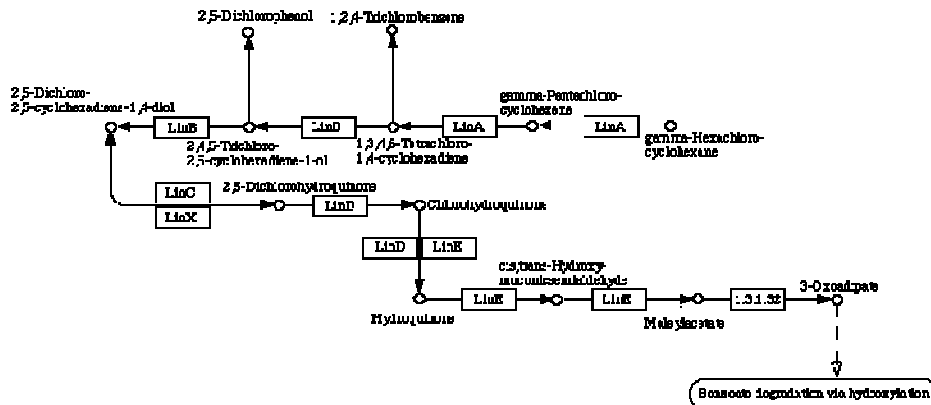
<http://www.kegg.jp/kegg/pathway.html#xenobiotics>

gs © 2001-2015 ver 5.1.1

F07 - II - Biotrasformazione dei composti organoclorurati

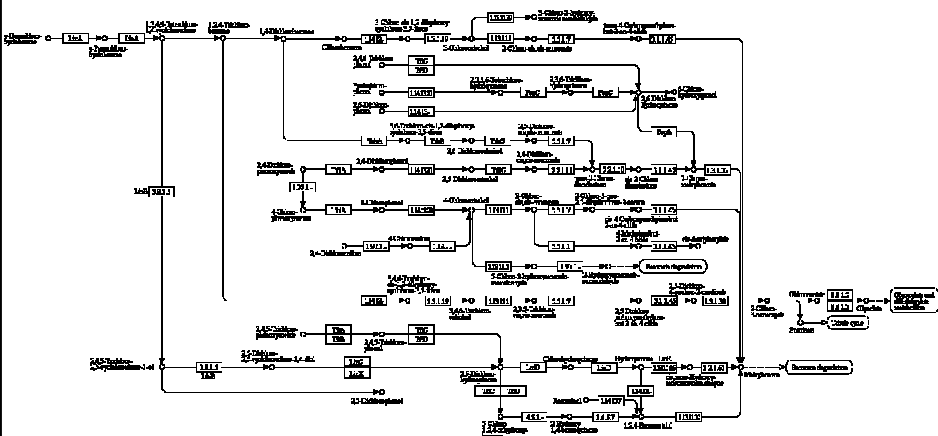
- 70 -

Degradazione del γ -esaclorocicloesano (Lindano[®] - Lindane[®])



Spingomonas paucimobilis

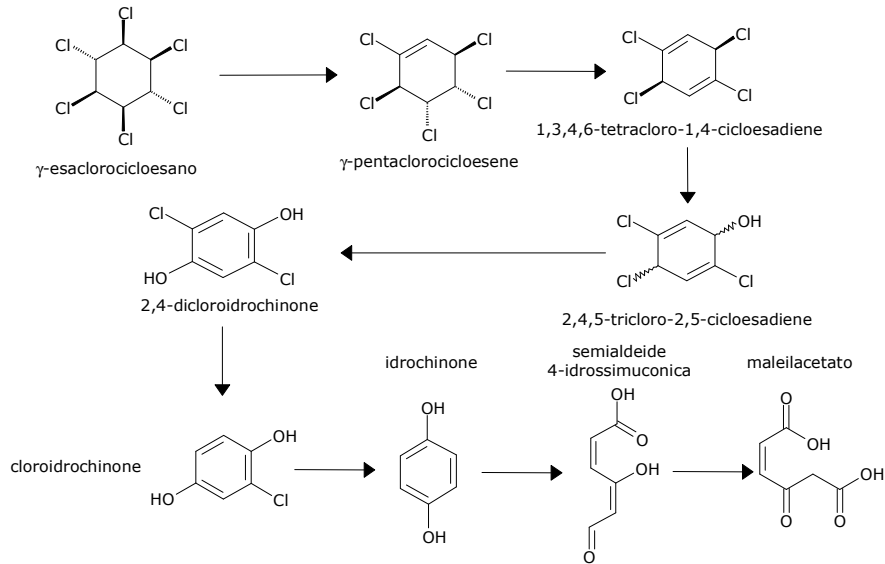
Degradazione del γ -esaclorocicloesano (Lindano[®] - Lindane[®])



Spingomonas paucimobilis

<http://www.kegg.jp/kegg/pathway.html#xenobiotics>

In sintesi

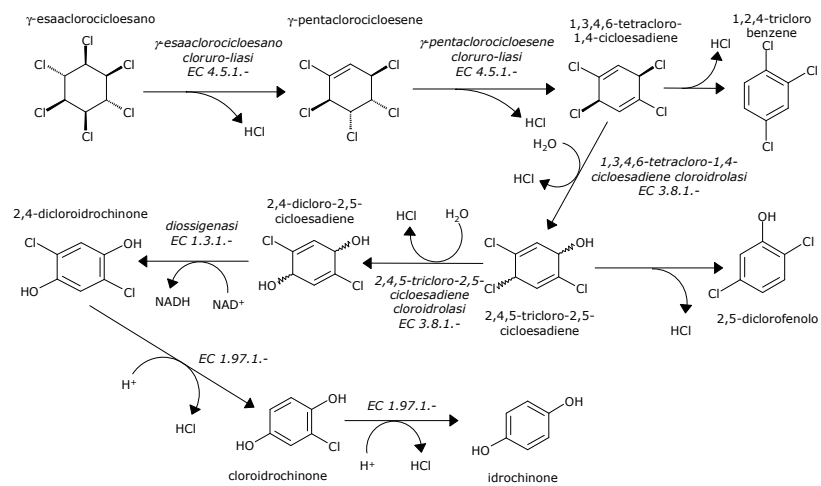


gs © 2001-2015 ver 5.1.1

F07 - II - Biotrasformazione dei composti organoclorurati

- 73 -

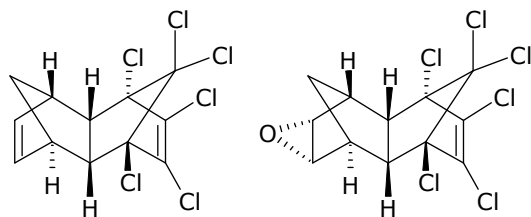
Degradazione del γ -esaclorocicloesano



gs © 2001-2015 ver 5.1.1

F07 - II - Biotrasformazione dei composti organoclorurati

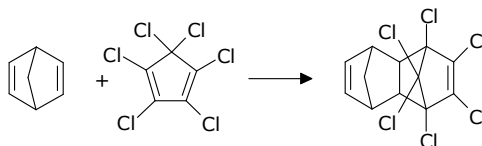
- 74 -



Aldrin®

Dieldrin®

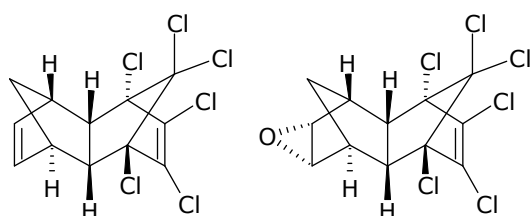
- Aldrin® e Dieldrin®, derivati dal esaclorociclopentadiene, sono stati largamente usati in agricoltura fino alla loro messa al bando negli anni '70.
- Il nome "Aldrin" deriva dal nome del chimico tedesco Kurt Alder, coinventore della reazione Diels-Alder utilizzata per la sua sintesi da esaclorociclopentadiene e norbornadiene.



gs © 2001-2015 ver 5.1.1

F07 - II - Biotrasformazione dei composti organoclorurati

- 75 -



Aldrin®

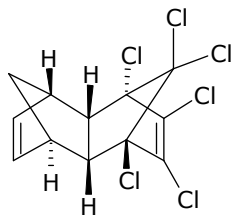
Dieldrin®

- Si stima che tra il 1946 e il 1976 ne siano state prodotte circa 270.000 tonnellate.
- Nel suolo, nella superficie delle foglie e nel tratto digestivo di insetti Aldrin® viene epossidato a Dieldrin® il quale è ancora più tossico per gli insetti e resistente alla degradazione chimica e biologica nel suolo.
- Aldrin® (e Dieldrin®) sono estremamente lipofili (Aldrin® è solubile in acqua solo per 0.027 mg/L) il che li rende estremamente persistenti

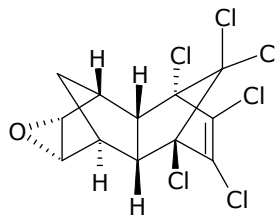
gs © 2001-2015 ver 5.1.1

F07 - II - Biotrasformazione dei composti organoclorurati

- 76 -



Aldrin®



Dieldrin®

- Sono stati banditi dalla "Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants" e, negli USA, sono stati cancellati nel 1974
- Aldrin® è stato usato per controllare la popolazione delle termiti nelle colture di mais e patate e il Dieldrin® è stato usato come insetticida nel suolo, nella frutta e nei semi.
- Sono estremamente persistenti nel suolo ($t_{1/2} = 5$ anni) e possono essere volatilizzati dai sedimenti con ridistribuzione su aree vaste anche lontane dal luogo di somministrazione (Artico).
- Sono stati banditi dalle nazioni più sviluppate ma Aldrin® è ancora usato come termicida in Malaysia, Thailandia, Venezuela e in Africa.
- In Canada, la sua vendita è stata proibita dal 1974 e l'ultimo uso registrato risale al 1984.

Organofosfati

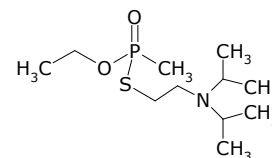
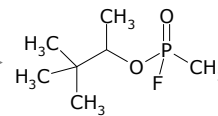
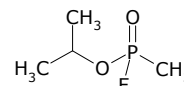
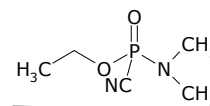
• Inibitori dell'acetilcolinesterasi

- Guerra chimica

- Etanolo + H_3PO_4
- Tabun (GA)
- Sarin (GB)
- Soman (GD)
- VX

- Pesticidi

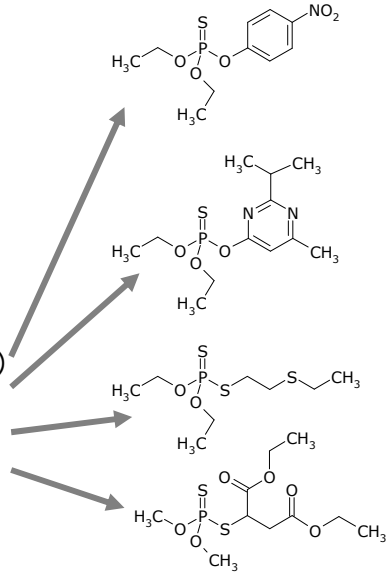
- Parathion® (**Paraoxon**®)
- Diazinon®
- Disulfoton®
- Malathion®



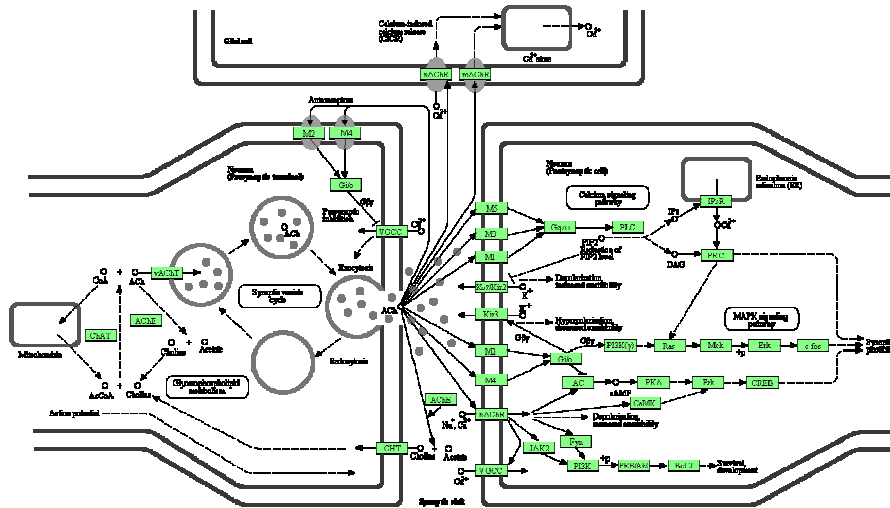
Organofosfati

• Inibitori dell'acetilcolinesterasi

- Guerra chimica
 - Etanolo + H₃PO₄
 - Tabun (GA)
 - Sarin (GB)
 - Soman (GD)
 - VX
- Pesticidi
 - Parathion® (**Paraoxon**®)
 - Diazinon®
 - Disulfoton®
 - Malathion®

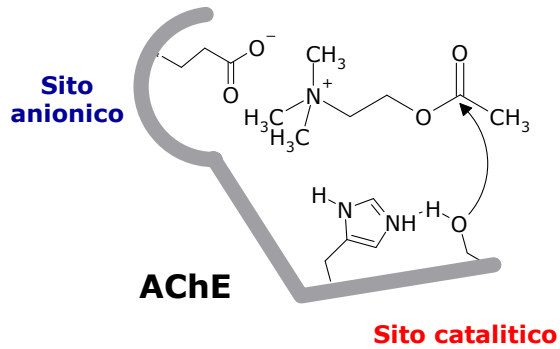
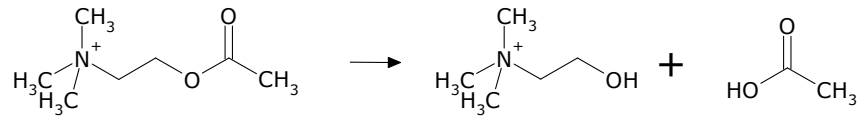


Sinapsi colinergica



http://www.kegg.jp/kegg-bin/show_pathway?map=hsa04725

Meccanismo acetilcolinesterasi

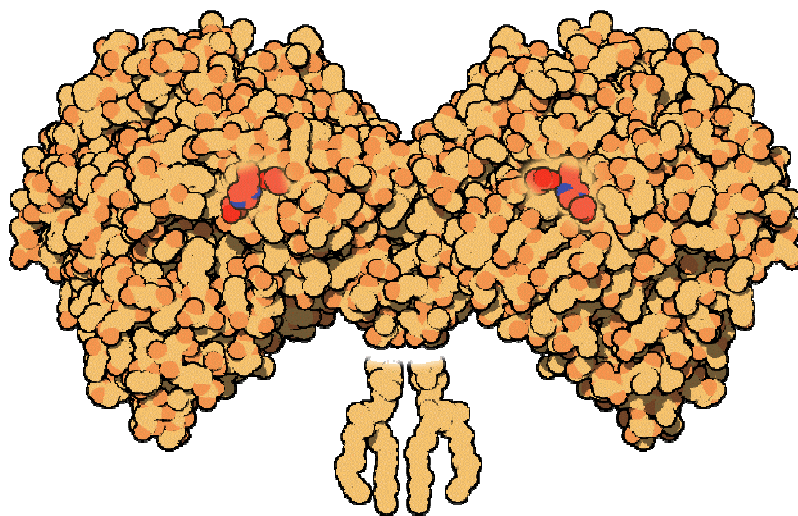


gs © 2001-2015 ver 5.1.1

F07 - II - Biotrasformazione dei composti organoclorurati

- 81 -

Acetilcolinesterasi (EC 3.1.1.7)

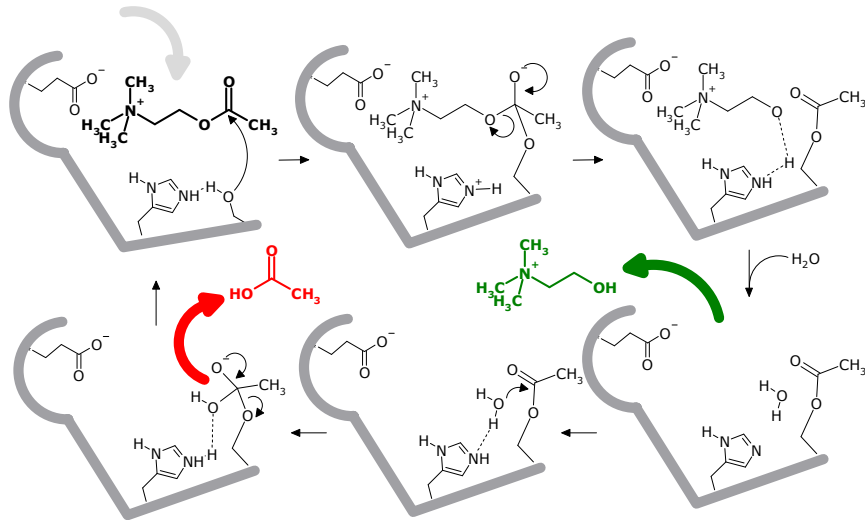


gs © 2001-2015 ver 5.1.1

F07 - II - Biotrasformazione dei composti organoclorurati

- 82 -

Meccanismo

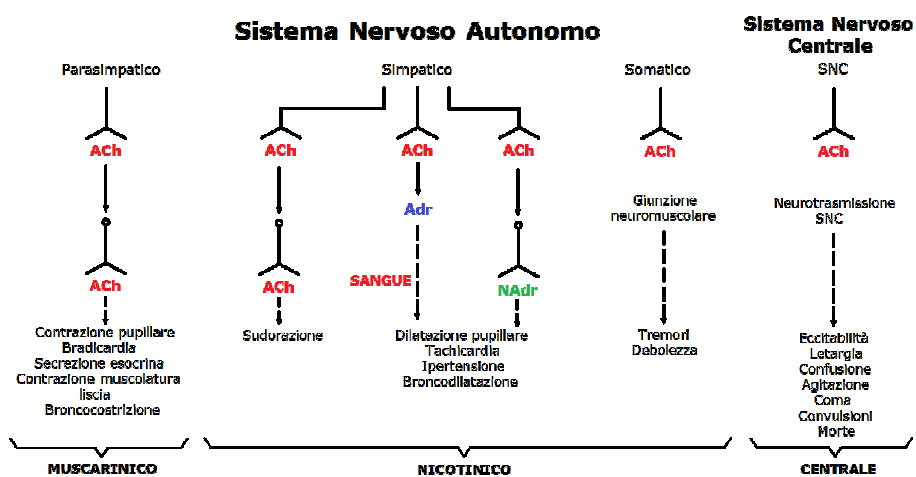


gs © 2001-2015 ver 5.1.1

F07 - II - Biotrasformazione dei composti organoclorurati

- 83 -

Effetti Organofosfati



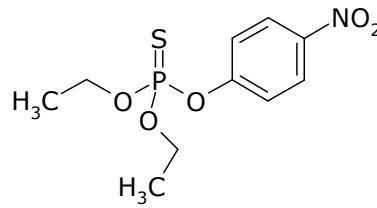
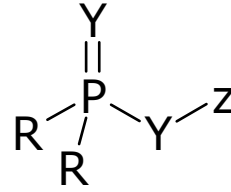
gs © 2001-2015 ver 5.1.1

F07 - II - Biotrasformazione dei composti organoclorurati

- 84 -

Pesticidi organofosfati

- Poco costosi e relativamente poco tossici verso le specie non bersaglio
- Più idrosolubili del DDT, meno persistenti e maggiormente degradabili
- Struttura generale:
 - R = alifatico;
 - Z = aromatico o alifatico;
 - Y = S o O
- Parathion®



gs © 2001-2015 ver 5.1.1

F07 - II - Biotrasformazione dei composti organoclorurati

- 85 -

Tossicità

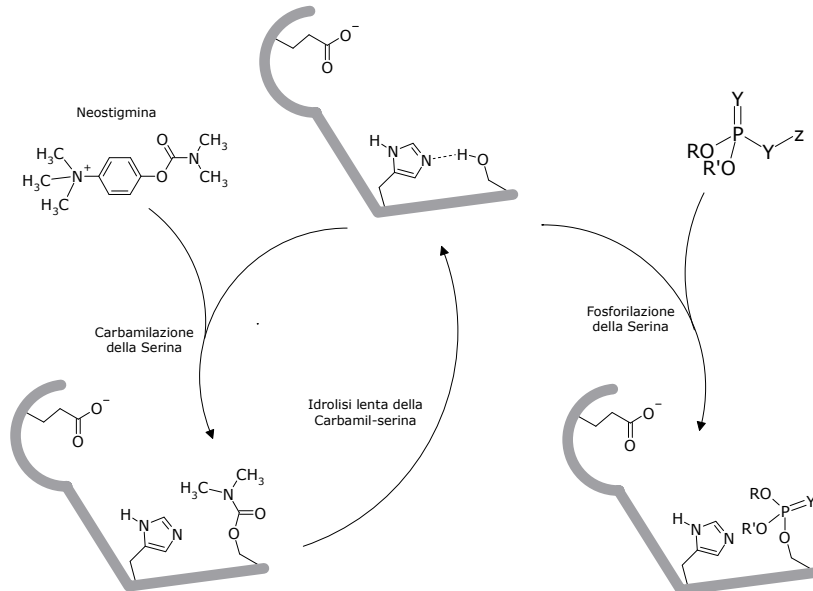
Pesticida	LD ₅₀
Parathion® 	3-13 mg/kg
Diazinon® 	280-285 mg/kg
Disulfoton® 	2-7 mg/kg
Malathion® 	1000-1350 mg/kg

gs © 2001-2015 ver 5.1.1

F07 - II - Biotrasformazione dei composti organoclorurati

- 86 -

Reversibile/Irreversibile

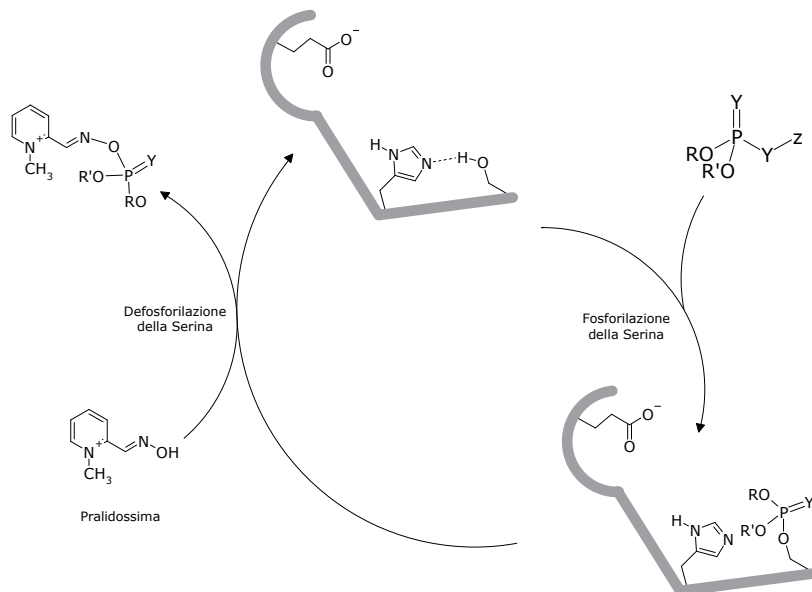


gs © 2001-2015 ver 5.1.1

F07 - II - Biotrasformazione dei composti organoclorurati

- 87 -

Antidoti

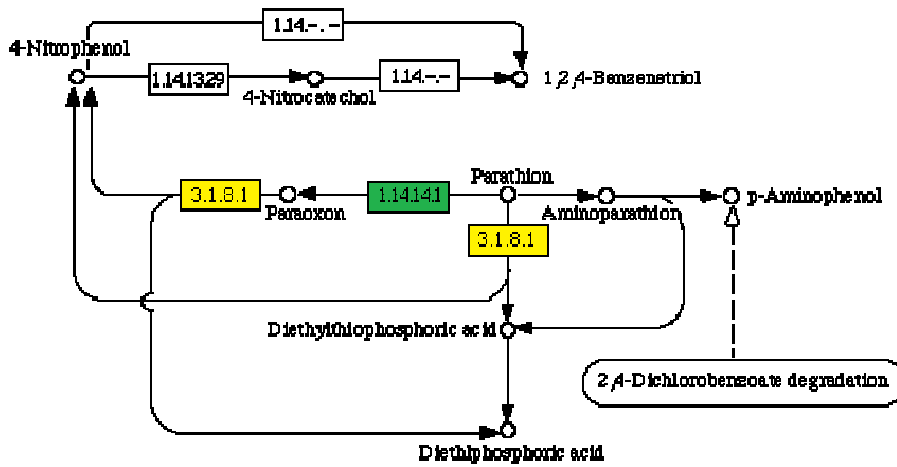


gs © 2001-2015 ver 5.1.1

F07 - II - Biotrasformazione dei composti organoclorurati

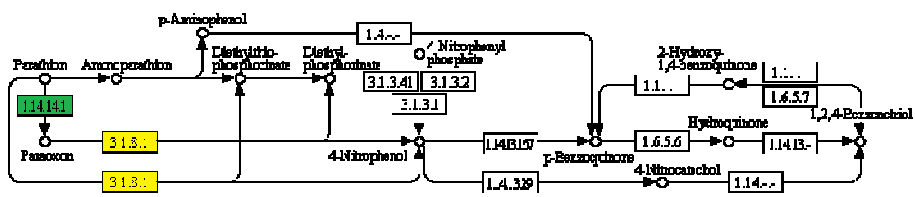
- 88 -

Degradazione del Parathion®

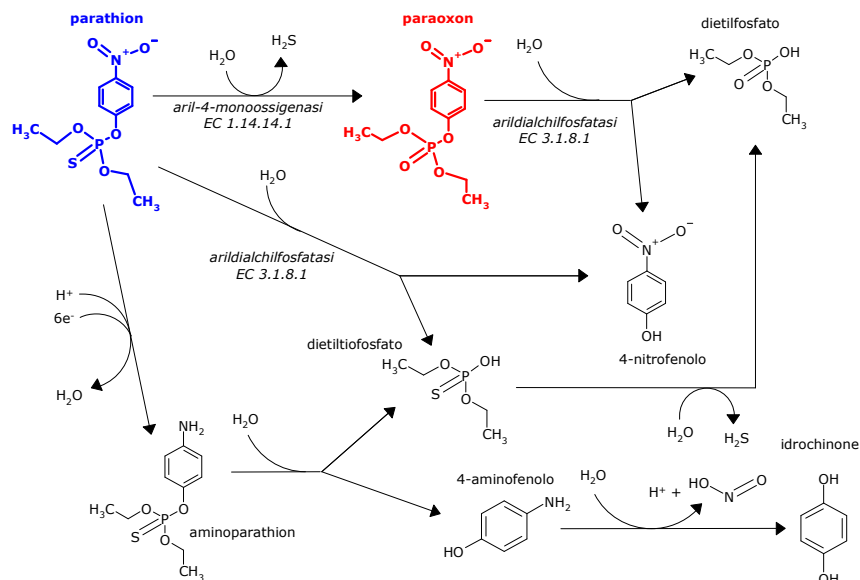


<http://www.kegg.jp/kegg/pathway.html#xenobiotics>

Degradazione del Parathion®

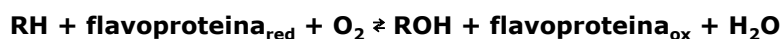


Degradazione del Parathion®



Monoossigenasi - EC 1.14.14.1 - CYP

- È una monoossigenasi specifica catalizza la reazione:



- Si tratta di un gruppo di Cyt P450 che agiscono su un ampio spettro di substrati, tra cui molti xenobiotici, steroidi, acidi grassi, vitamine e prostaglandine.
- Le reazioni catalizzate sono quelle di idrossilazione, epossidazione, N-ossidazione, sulfoossidazione, deamminazione, N-, S- e O-dealchilazioni.
- Insieme alla NADPH-emoproteina riduttasi (EC 1.6.2.4), forma un sistema in cui due equivalenti di riduzione sono forniti da NADPH.

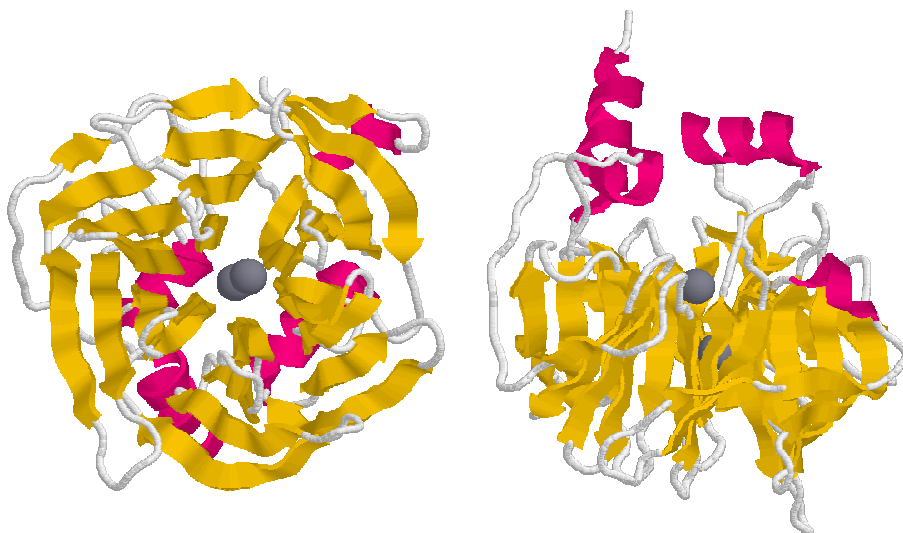
Arildialchilfosfatasi - EC 3.1.8.1 Paroxonasi (PON)

- Le paraoxonasi (PON) sono state identificate come enzimi che hanno gli organofosfati come substrati.
- Ci sono tre diversi geni che codificano per PON (PON1; PON2; PON3) che, nell'uomo, sono localizzati nel braccio lungo del cromosoma 7.
- La loro differenza consiste nella loro localizzazione tissutale e nella loro attività.
 - **PON1** è sintetizzato nel fegato e trasportato nel plasma da HDL. Funziona come antiossidante prevenendo l'ossidazione delle LDL e la sua concentrazione nel siero è influenzata dallo stato infiammatorio e dal livello serico delle LDL ossidate.
 - **PON2** è espresso ubiquitariamente come proteina intracellulare che protegge dai danni ossidativi.
 - **PON3** è simile a PON1 in termini di attività ma ne differisce per la specificità di substrato. La sua attività è circa 100 volte minore di PON1 e la sua espressione non è regolata dallo stato infiammatorio né dallo stato di ossidazione dei lipidi.

PON1 - EC 3.1.8.1

- Glicoproteina di 354 aminoacidi con peso molecolare di 43000 Daltons che si associa alle HDL circolanti
- È secreta dal fegato anche se è stata trovata in quasi tutti i tessuti.
- Ha una struttura a "6 bladed propeller" con un "coperchio" che copre il passaggio verso il sito catalitico e che permette l'associazione con HDL, la struttura contiene due ioni Ca^{++} che sono essenziali per l'attività.
- Oltre che essere responsabile dell'idrolisi degli organofosfati è stato dimostrato che è anche il maggior componente anti-aterosclerotico delle HDL.
- I substrati naturali di PON1 sembrano essere i lattoni. Comunque PON1 si è evoluta come enzima con alta variabilità di substrati che può idrolizzare:
 - Farmaci (statine), glucuronidi, tiolattoni, esteri arilici, carbonati ciclici, pesticidi organofosfati, gas nervini (Sarin, Soman, VX), esteri degli ormoni estrogenici e perossidi lipidici.

PON1 - EC 3.1.8.1



1V04

gs © 2001-2015 ver 5.1.1

F07 - II - Biotrasformazione dei composti organoclorurati

- 95 -

PON1

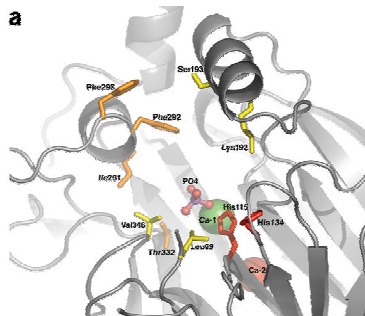
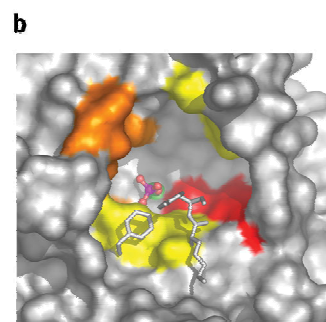


Figure 2. PON1's active site viewed from above the propeller.

(a) Central tunnel of the propeller with the two calcium atoms, and the side chains of the residues found to be mutated in the newly evolved PON1 variants for esterase and lactonase activity (orange) or for phosphotriesterase activity (yellow), including the R192Q human polymorphism (in the rePON1-G2E6 variant, this position is a lysine). The putative catalytic His-His dyad is red (see text and Fig. 4). (b) A surface view of the active site. Lys70, Tyr71 and Phe347 are shown as sticks to permit a better view of the active site. At the deepest point of the cavity lies the upper calcium atom (Ca1, green) to which a phosphate ion is bound.

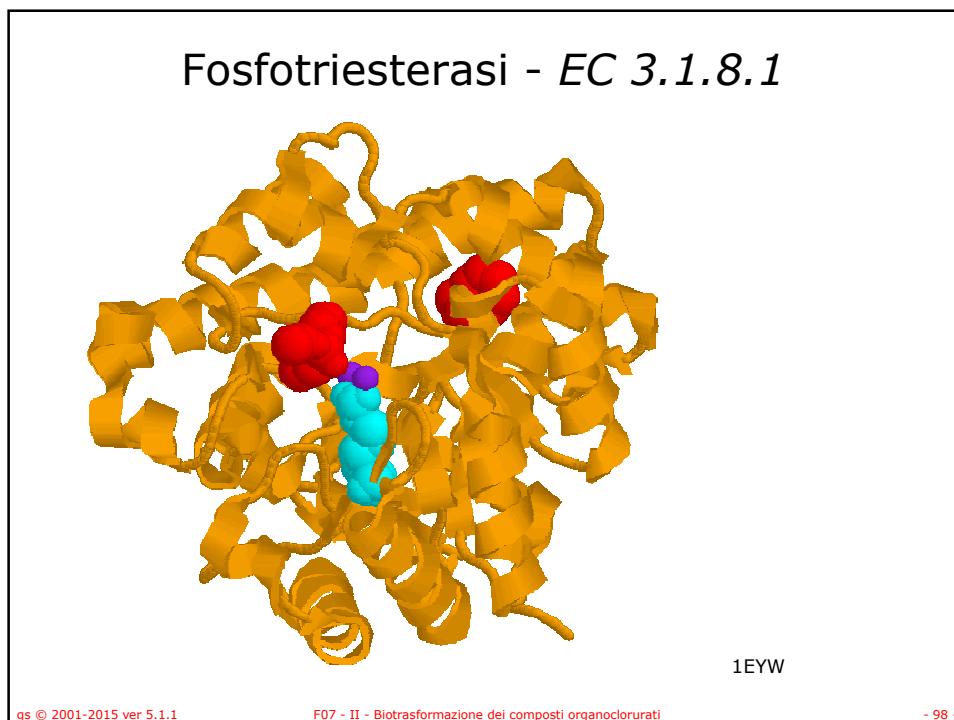
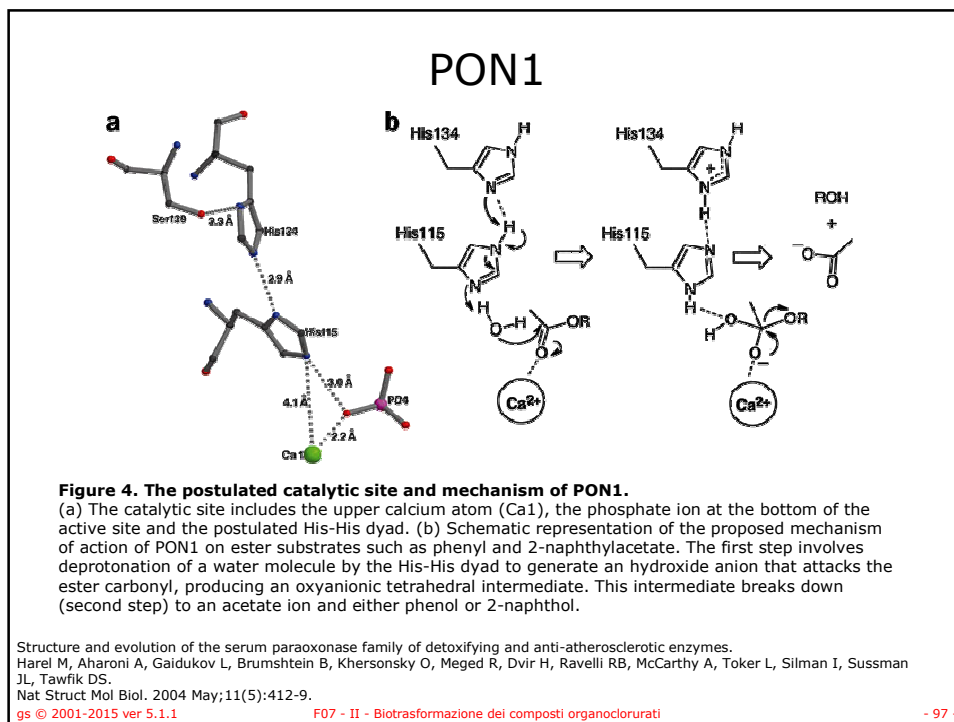


Structure and evolution of the serum paraoxonase family of detoxifying and anti-atherosclerotic enzymes.
Harel M, Aharoni A, Gaidukov L, Brumshtein B, Khersonsky O, Meged R, Dvir H, Ravelli RB, McCarthy A, Toker L, Silman I, Sussman JL, Tawfik DS.
Nat Struct Mol Biol. 2004 May;11(5):412-9.

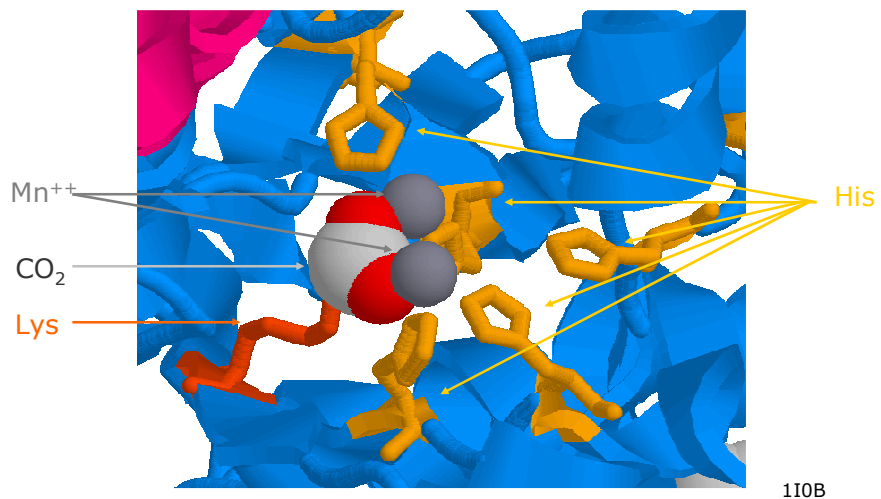
gs © 2001-2015 ver 5.1.1

F07 - II - Biotrasformazione dei composti organoclorurati

- 96 -



Fosfotriesterasi - EC 3.1.8.1

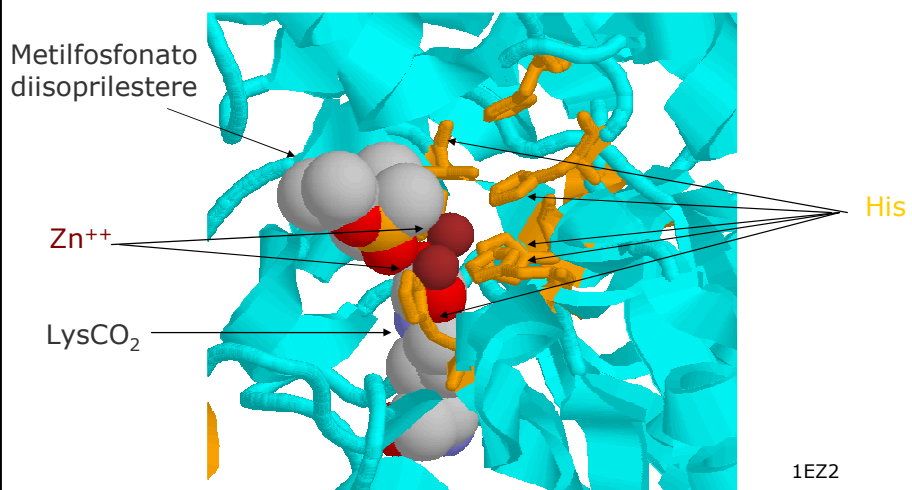


gs © 2001-2015 ver 5.1.1

F07 - II - Biotrasformazione dei composti organoclorurati

- 99 -

Fosfotriesterasi - EC 3.1.8.1

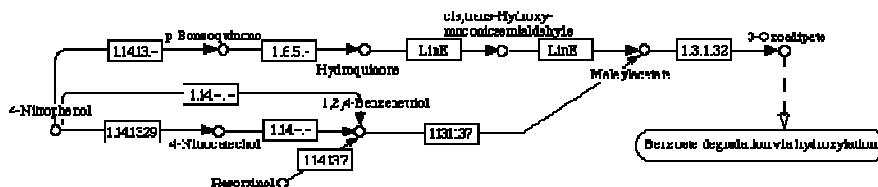


gs © 2001-2015 ver 5.1.1

F07 - II - Biotrasformazione dei composti organoclorurati

- 100 -

Destino del nitrofenolo e dell'idrochinone



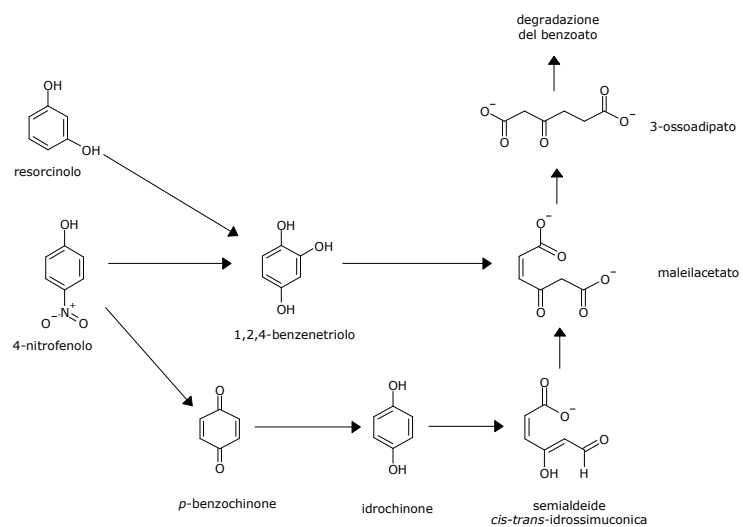
<http://www.kegg.jp/kegg/pathway.html#xenobiotics>

gs © 2001-2015 ver 5.1.1

F07 - II - Biotrasformazione dei composti organoclorurati

- 101 -

In sintesi

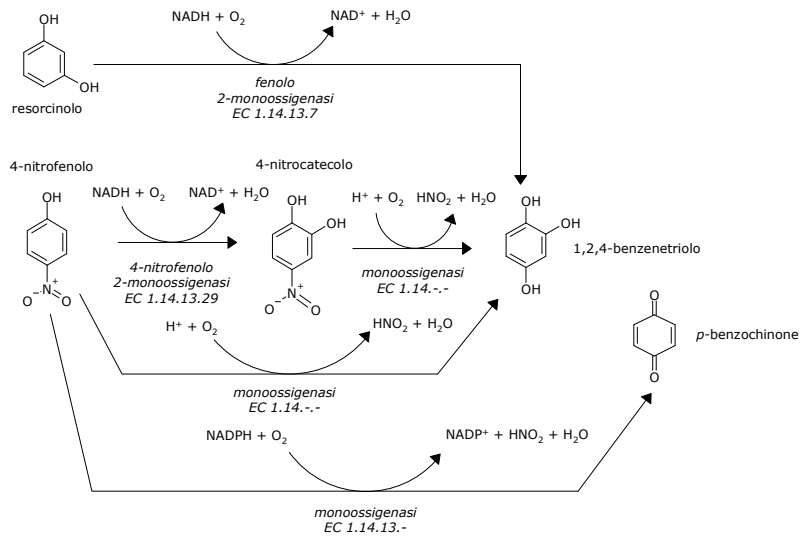


gs © 2001-2015 ver 5.1.1

F07 - II - Biotrasformazione dei composti organoclorurati

- 102 -

Destino del nitrofenolo

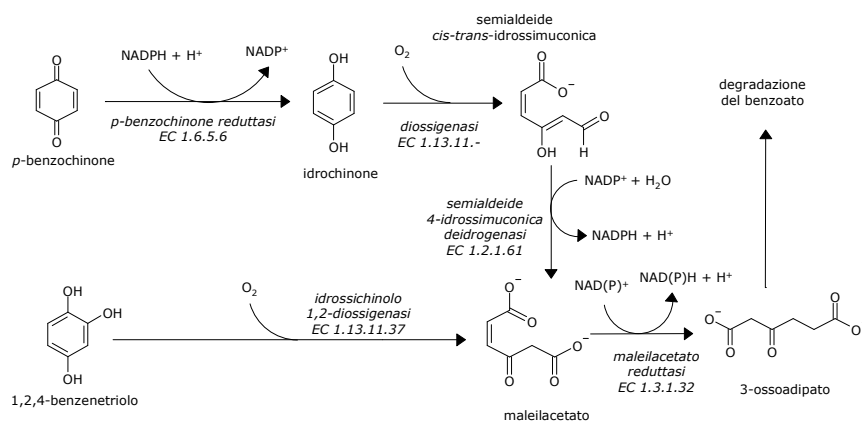


gs © 2001-2015 ver 5.1.1

F07 - II - Biotrasformazione dei composti organoclorurati

- 103 -

Destino del 1,2,4-benzenetriolo e del p-benzochinone



gs © 2001-2015 ver 5.1.1

F07 - II - Biotrasformazione dei composti organoclorurati

- 104 -

Referenze sul WEB

- Vie metaboliche
 - KEGG: <http://www.genome.ad.jp/kegg/>
 - Degradazione degli xenobiotici:
<http://www.genome.ad.jp/kegg/pathway/map/map01196.html>
- Struttura delle proteine:
 - Protein data bank (Brookhaven): <http://www.rcsb.org/pdb/>
 - Hexpasy
 - Expert Protein Analysis System: <http://us.expasy.org/sprot/>
 - Prosite (protein families and domains): <http://www.expasy.org/prosite/>
 - Enzyme (Enzyme nomenclature database):
<http://www.expasy.org/enzyme/>
 - Scop (famiglie strutturali): <http://scop.berkeley.edu/>
- Enzimi:
 - Nomenclatura - IUBMB: <http://www.chem.qmw.ac.uk/iubmb/>
 - Proprietà - Brenda: <http://www.brenda.uni-koeln.de/>
 - Expasy (Enzyme nomenclature database): <http://www.expasy.org/enzyme/>
- Database di biocatalisi e biodegradazione: <http://umbbd.ahc.umn.edu/>
- Citocromo P450: <http://www.icgeb.org/~p450srv/>
- Metallotioneine: <http://www.unizh.ch/~mtpage/MT.html>
- Tossicità degli xenobiotici: Agency for Toxic Substances and Disease Registry
<http://www.atsdr.cdc.gov>

Crediti e autorizzazioni all'utilizzo

- Questo ed altro materiale può essere reperito a partire da:
<http://www.ambra.unibo.it/giorgio.sartor/>
- Il materiale di questa presentazione è di libero uso per didattica e ricerca e può essere usato senza limitazione, purché venga riconosciuto l'autore usando questa frase:

Materiale ottenuto dal Prof. Giorgio Sartor

Università di Bologna – Alma Mater

Giorgio Sartor - giorgio.sartor@unibo.it