

ESTRUCTURAS SECUNDARIAS Y TERCIARIAS DE CICLOLINOPÉPTIDOS NATURALES

Stella M Battista, Alicia B. Pomilio

Instituto de Bioquímica y Medicina Molecular (IBIMOL, CONICET y UBA), Facultad de Farmacia y Bioquímica/Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires, Argentina. battistasm@yahoo.com.ar; pomilio@ffyb.uba.ar

Introducción

Los ciclopéptidos son compuestos de interés debido a su bioactividad y al desafío que plantean su aislamiento, purificación, y en especial, su elucidación estructural. Se han descrito en animales, plantas, hongos, bacterias, insectos y seres humanos, con una variedad de actividades, como: citotóxica, citostática, antifúngica, antiviral, antibacteriana, estimulante de las plantas, insecticida, anti-malárica, estrogénica, sedante, nematocida, inmunosupresora e inhibidora enzimática.

Anteriormente, hemos destacado la presencia, las estructuras y la bioactividad de ciclopéptidos en plantas superiores¹ y en hongos superiores,¹⁻³ así como la actividad inmunosupresora y la actividad antimicrobiana,^{4,5} incluidos los estudios QSAR, de interés en química medicinal y diseño de nuevos fármacos.

Los ciclolipopéptidos resultaron de nuestro interés dado que se encuentran en las semillas de lino (*Linum usitatissimum*, familia: Linaceae), que se utilizan medicinalmente.

El objetivo de la presente investigación ha sido ahondar en las estructuras de estos ciclolipopéptidos, y analizar sus espectros y la posible presencia de estructuras secundarias y terciarias.

Materiales y Métodos

Obtención e identificación de los ciclolipopéptidos: Las semillas se extrajeron con MeOH y el extracto obtenido fue sometido a cromatografía en columna de resina poliaromática polimérica (tipo poliestireno) adecuada para compuestos hidrofóbicos: Diaion HP-20 o equivalente, con un sistema de gradientes de agua-MeOH. Las fracciones eluidas con MeOH fueron purificadas una vez más mediante cromatografía en columna de silicagel utilizando un sistema de gradientes de CHCl₃-MeOH, y posteriormente HPLC en fase reversa, dando los ciclopéptidos: **A a G**, de 0,0002% a 0,0070%.

Cada ciclopéptido fue identificado por técnicas espectroscópicas: ¹H- y ¹³C-RMN mono y bidimensional y distintas técnicas de espectrometría de masa (EM).

Se utilizó el método de Marfey para determinar si la configuración de cada aminoácido era *D* o *L*.

Estudio de las estructuras electrónicas y análisis conformacional: Se usaron parámetros moleculares en base a métodos AM1 y *ab initio*. Las geometrías de las moléculas fueron optimizadas a nivel AM1 con el programa Hyperchem. El gradiente de convergencia empleado fue de 0,01 kcal/Å.

Los conformeros de menor energía fueron, además, estudiados con DFT, implementado en el programa Gaussian. Las optimizaciones de geometría se realizaron de acuerdo al método B3LYP. Se usó el conjunto base 6-31G** para todos los átomos. El análisis vibracional se realizó en el mismo nivel de teoría para todas las geometrías optimizadas a fin de verificar si eran mínimos locales o puntos saddle sobre la superficie de energía potencial de la molécula. Los mapas de energía potencial (MEPs) se calcularon con el programa Gaussian.

Se obtuvieron las estructuras secundarias y terciarias correspondientes.

Resultados y Discusión

Las estructuras de los ciclopeptidos hidrofóbicos de las semillas de lino, o ciclolinopéptidos, se obtuvieron mediante RMN, EM y degradación química, siendo los nonapéptidos cíclicos: **A**: *ciclo*(Pro-Pro-Phe-Phe-Leu-Ile-Ile-Leu-Val), **B**: *ciclo*(Pro-Pro-Phe-Phe-Val-Ile-Met-Ile-Leu) y **C**: *ciclo*(Pro-Pro-Phe-Phe-Val-Ile-Met(O)-Leu-Ile), y los octapéptidos cíclicos: **D**: [*ciclo*(Pro-Phe-Phe-Trp-Ile-Met(O)-Leu-Leu)], **E**: *ciclo*(Pro-Leu-Phe-Ile-Met(O)-Leu-Val-Phe), **F**: *ciclo*(Pro-Phe-Phe-Trp-Val-Met-Leu-Met) y **G**: *ciclo*(Pro-Phe-Phe-Trp-Ile-Met-Leu-Met). Se demostró por el método de Marfey, que todos los aminoácidos presentaban configuración *L*, menos para la configuración del sulfóxido de metionina.

Se obtuvo la conformación de menor energía para las distintas moléculas mediante los métodos AM1 y *ab initio*. Se calcularon los cambios estereoquímicos, la energía total, los potenciales electrostáticos asignados, los cálculos de orbitales moleculares y los momentos dipolares. Se buscaron motivos estructurales, como β - y γ -turns o β -sheets.

Las principales características de la conformación de los ciclolinopéptidos fueron un β -turn tipo VI centrado en Pro₁-Pro₂, con un enlace peptídico *cis* entre estos residuos⁶ y un γ -turn (estructura C₇) centrado en Ile₆. Se observaron dos puentes de hidrógeno intramoleculares en las conformaciones de baja energía.

El ciclolinopéptido **A** y sus análogos sintéticos mostraron actividad inmunosupresora.^{5,7}

Conclusiones

Las estructuras se elucidaron mediante métodos químicos y técnicas espectroscópicas. Se discuten las estructuras secundarias y terciarias de algunos de estos ciclolinopéptidos bioactivos, y aquellos aspectos de interés en el diseño de nuevas moléculas bioactivas.

Referencias

1. Pomilio A.B., Battista M., Vitale A.A. *Curr. Org. Chem.* 2006; 10: 2075-2121.
2. Battista M., Vitale A., Pomilio A.B. *Molecules* 2000; 5: 489-490.
3. Pomilio A.B., Battista M., Vitale A. *J. Mol. Str. Theochem* 2001; 536: 243-262.
4. Pomilio A.B., Battista SM., Vitale A.A. Quantitative structure-activity relationship (QSAR) studies on bioactive cyclopeptides. Cap. 1. En: *QSPR-QSAR Studies on Desired Properties for Drug Design*. Research Signpost, Kerala; 2010.
5. Pomilio A.B., Battista S.M., Vitale A.A. Immunosuppressive and antimicrobial activities of cyclopeptides as targets for medicinal chemistry. En: *Handbook of Research on Chemometrics: QSAR in Medicinal Chemistry*. Vol. I. Apple Academic Press, exclusive worldwide distribution by CRC Press; 2014.
6. Matsumoto T., Shishido A., Morita H., Itokawa H., Takeya K. *Tetrahedron* 2002; 58: 5135-5140.
7. Wieczorek Z., Bengtsson B., Trojnar J., Siemion I.Z. *Peptide Res.* 1991; 4: 275-283.