

Homologías entre moléculas aminoacídicas Fosfolipasa A₂, ciclolinopéptido F y *alfa*- amanitina

Stella M. Battista^a, Angel Alonso^b, Alicia B. Pomilio^a

^a Área de Hematología, Departamento de Bioquímica Clínica, Hospital de Clínicas “José de San Martín”, Universidad de Buenos Aires, Av. Córdoba 2351, C1120AAF Buenos Aires, Argentina. Tel: (+54) (11) 4814 3952. e-mail: battistasm@yahoo.com.ar; abpomilio@sinectis.com.ar; pomilio@ffyb.uba.ar

^b División Alergia e Inmunología, Hospital de Clínicas “José de San Martín”, Universidad de Buenos Aires.

Introducción:

Las fosfolipasas A₂ son proteínas muy estudiadas desde el punto de vista físico, químico y biológico, cuyo sitio catalítico posee una secuencia aminoacídica conservada.

El presente trabajo tiene como objetivo comparar el sitio catalítico de esta enzima con el ciclolinopéptido F y la *alfa*-amanitina.

Las fosfolipasas A₂ se presentan en dos clases, una de peso molecular entre 40-85 kDa que son intracelulares citosólicas y la otra de 14-18 kDa que son de secreción. Son producidas por numerosas células bajo la acción de diferentes estímulos como la interleucina-1, el factor de necrosis tumoral *alfa* y los lipopolisacáridos, los cuales provocan su acumulación en los líquidos inflamatorios y en el plasma de pacientes con diversas enfermedades inflamatorias. Las de secreción están presentes en diversos venenos [1].

Los ciclopéptidos analizados, tanto el ciclolinopéptido como la *alfa*-amanitina, presentan las siguientes actividades: citotóxica, citostática, antifúngica, antiviral, antibacteriana, estimulante vegetal, inmunosupresora e inhibidora enzimática [2, 3].

Materiales y métodos

Las geometrías de las moléculas fueron optimizadas a nivel AM1 con el programa Hyperchem [5]. El gradiente de convergencia empleado fue de 0,01 kcal/Å.

Los confórmeros de menor energía fueron, además, estudiados con DFT, implementado en el programa Gaussian [6]. 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 como se indicara 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.

Resultados y conclusiones:

En Fosfolipasa A₂ (FLPA₂) las dos *alfa* hélices tienen sus ejes que distan a 10 Å; el centro catalítico es fundamental que posea Asp para su actividad.

El octapéptido cíclico F o ciclolinopéptido F (CLP F) tiene la secuencia [*ciclo*(Pro-Phe-Phe-Trp-Val-Met-Leu-Met)] y el octapéptido cíclico de origen fúngico α -L-Ileu-Gly-L-Cys] (4→8)-sulfuro-(*R*)-S-óxido cíclico.

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 residuos [4] y un γ -turn (estructura C₇) centrado en Ile₆. Se observaron dos puentes de hidrógeno

intramoleculares en las conformaciones de baja energía.

CLPF presenta dentro de la cavidad al Trp y en la cara interna no hay restos alifáticos.

La α -amanitina presenta a la unidad plana del indol, con el resto del ciclopéptido en forma lenticular, permitiendo explicar la facilidad de formación de complejos π por interacción de compuestos de naturaleza aromática tanto con la parte superior como con la inferior del heterociclo expuesto.

Estudios realizados muestran que el sitio catalítico de FLPA₂ las 2 cadenas *alfa*-hélice antiparalelas unidas por puentes disulfuros, forman una estructura tridimensional conservada por el Asp 49 de bipirámide pentagonal de alta densidad electrónica que con la molécula de agua nucleofílica asistida por el calcio permite su actividad [7].

Se observa que las tres moléculas en estudio tienen esa alta densidad electrónica en forma de canal en zonas particulares de cada molécula.

- [1] Valdés Rodríguez Y.C., Bilbao Díaz M., León Álvarez J.L., Merchán González F. Origen e importancia de la fosfolipasa A₂ de secreción. *Rev. Cubana Farm.* 2002; 36: 121-128
- [2] Pomilio A.B., Battista S.M., Vitale A.A. 2010. Quantitative structure-activity relationship (QSAR) studies on bioactive cyclopeptides. Cap. 1. En: *QSPR-QSAR Studies on Desired Properties for Drug Design*. Research Signpost, Kerala. ISBN: 978-81-308-0404-0
- [3] Pomilio A.B., Battista S.M., Vitale A.A. Antimicrobial and immunosuppressive activities of cyclopeptides as targets for medicinal chemistry. En: *Chemometrics : QSAR in Medicinal Chemistry*. Chapter 8, pp. 253-297. Apple Academic Press, exclusive worldwide distribution by CRC Press, a Taylor & Francis Group. (2016).
- [4] Matsumoto T., Shishido A., Morita H., Itokawa H., Takeya K. *Tetrahedron* 2002; 58: 5135-5140.
- [5] HyperChem Release 7.5, Hypercube Inc., USA. <http://www.hyper.com>
- [6] Gaussian 98, Revision A.7, Frisch MJ, Trucks GW, Schlegel HB, Scuseria GE, RobbMA, Cheeseman JR, Zakrzewski VG, Montgomery JA Jr,Pople J.A. 1998; Gaussian, Inc., Pittsburgh PA.
- [7] Arni R.K., Ward R.J. Phospholipase A₂ - A structural review. *Toxicon* 1996; 34: 827-841.