

Procedimento alternativo de preparação de ésteres de peptídeos protegidos mediante assistência por íons metálicos

Patrícia B. Proti¹ (PG) *, Maria Terêsa M. Miranda¹ (PQ) pproti@iq.usp.br, mtmirand@iq.usp.br

¹ Departamento de Bioquímica, IQ-USP, C.P. 26077, 05513-970, São Paulo, Brasil

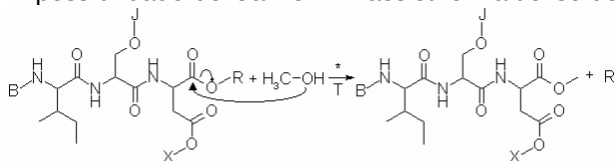
Palavras Chave: peptídeos esterificados, síntese, assistência por metais

Introdução

Ésteres de peptídeos protegidos são precursores sintéticos de substratos e inibidores enzimáticos, de doadores de acila empregados em condensações química e enzimática de fragmentos peptídicos¹, de agonistas ou antagonistas de hormônios peptídicos² e de citotoxinas³. Como a síntese destes compostos não é trivial, a busca por procedimentos mais eficientes do que os convencionais é científica e comercialmente relevantes. Assim, vimos investigando a preparação de ésteres de peptídeos protegidos via alcoólise da ligação éster de peptídeo-resinas mediante a assistência por Ca^{+2} ao invés de catálise por ácidos ou bases⁵.

Os objetivos do presente trabalho foram: 1) verificar se outros metais também mediam tal alcoólise; 2) comparar este novo procedimento alternativo com os usuais; 3) determinar a resina mais apropriada; 4) encontrar as condições reacionais ideais; 5) avaliar o conteúdo de metal nos ésteres de peptídeos produzidos. Para tanto, utilizamos como modelo o peptídeo Ile-Ser-Asp, fragmento do hormônio e neurotransmissor colecistocinina, ligado a quatro resinas poliméricas diferentes:

A possibilidade de Ca^{+2} e Zn^{+2} assistirem a tiólise do



B: Ac, Boc ou Fmoc; J: Bzl ou Bu^t; X: Bzl, c-Hx ou Bu^t
R: KOR ou PAM (estratégia Boc); HMBA ou Wang (estratégia Fmoc)

*: Bases orgânicas, cátions metálicos ou nenhum aditivo

T: temp. amb., 37, 50 ou 60°C

peptídeo-resina de Kaiser (KOR) também foi verificada.

Resultados e Discussão

As peptidil-resinas foram sintetizadas via estratégias Boc ou Fmoc⁶ e caracterizadas pelos conteúdos de aminoácidos, obtendo-se os seus graus de substituição ($\text{GS}_{\text{inicial}}$). As solvólises das ligações peptídeo-resinas foram monitoradas por RP-HPLC e LC/ESI-MS. A determinação dos valores de GS_{final} das peptidil-resinas após as solvólises possibilitou o cálculo das porcentagens de desligamento dos peptídeos.

A partir dos resultados inéditos obtidos, verificamos que todos os cátions foram capazes de mediar as

metanólises das quatro peptidil-resinas estudadas, porém com eficiências diferentes. O Ca^{+2} foi o melhor mediador para o peptídeo-KOR e o Zn^{+2} para os outros três. O desempenho das bases TEA e DIPEA foi similar ao do Ca^{+2} para o peptídeo-KOR e inferior ao do Zn^{+2} para os outros. A base DBU se mostrou um catalisador eficaz, porém não seletivo.

Independentemente da base ou do metal, a KOR se mostrou a mais adequada para a preparação dos ésteres metálicos de peptídeos protegidos, sendo necessárias poucas horas (1-10h) para o desligamento quantitativo do produto esterificado. A geração dos ésteres com rendimentos satisfatórios a partir dos peptídeo-resinas HMBA, PAM e Wang demandou tempos muito longos de reação (> 24 h).

Análises por espectrometria de absorção atômica mostraram que as quantidades de metal presentes nos ésteres isolados foram desprezíveis.

Utilizando benzilmercaptana, n-butanotiol, etil-3-mercaptopropionato como nucleófilos e Ca^{+2} como mediador, conseguimos também obter os respectivos tioésteres a partir da peptídeo-KOR.

Conclusões

1) A assistência por metais se mostrou tão ou mais eficiente do que a catálise básica para a geração de peptídeos esterificados ou tioesterificados a partir das peptidil-resinas correspondentes; 2) Embora a mediação pelos íons deva ocorrer por coordenação, as quantidades de metal remanescente nos peptídeos purificados foram desprezíveis; 3) Os resultados obtidos indicaram que nosso procedimento alternativo é eficiente e competitivo com os convencionais.

Agradecimentos

À FAPESP e ao CNPq pelos suportes financeiros e bolsa de doutorado.

¹ Songster, M.F.; Barany, G. *Methods. Enzymol.* **1997**, 289, 126.

² Heimbrook, D.C.; Saari, W.S.; Balishin, N.L.; Friedman, A.; Moore, K.S.; Riemen, M.W.; Kiefer, D.M.; Rotberg, N.S.; Wallen, J.W.; Oliff, A. *J. Biol. Chem.* **1989**, 264, 11258.

³ Horgen, F.D.; Kazmierski, E.B.; Westenburg, H.E.; Yoshida, W.Y.; Scheuer, P.J. *J. Nat. Prod.* **2002**, 65, 487.

⁴ Moraes, C.M.; Bemquerer, M.P.; Miranda, M.T.M. *J. Pept. Res.* **2000**, 55, 279.

⁵ DeGrado, W.F.; Kaiser, E.T. *J. Org. Chem.* **1980**, 45, 295. Pichette, A.; Voyer, N.; Larouche, R.; Meillon, J.-C. *Tetrahedron*

Sociedade Brasileira de Química (SBQ)

Lett. **1997**, 38, 1279.

⁶ Varanda, L.; Miranda, M.T.M. *J. Pept. Res.* **1997**, 50, 102.