

## Análise conformacional e síntese da cadeia 2 da distinctina, peptídeo isolado das glândulas da pele de anuros (*Phyllomedusa distincta*).

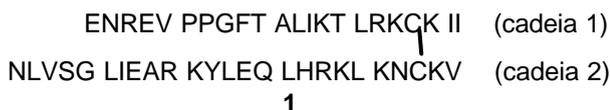
Victor H. de Oliveira Munhoz<sup>1\*</sup> (PG), Rodrigo M. Verly<sup>1</sup> (PG), Cléria M. de Moraes<sup>1</sup> (PQ) Antônio F. de Carvalho Alcântara<sup>1\*</sup> (PQ), Marcelo P. Bemquerer<sup>2</sup> (PQ) e Dorila Piló-Veloso<sup>1</sup> (PQ)

<sup>1</sup>Depto de Química, ICEX; <sup>2</sup>Depto de Bioquímica e Imunologia, ICB, UFMG. (\*victormunhoz@lcc.ufmg.br).

Palavras Chave: *Phyllomedusa distincta*, *distinctina*, análise conformacional de peptídeos.

### Introdução

Peptídeos biologicamente ativos são encontrados em diferentes espécies de anuros<sup>1</sup>, atuando como agentes alternativos contra bactérias patogênicas e fungos. A distinctina (1) é um peptídeo heterodimérico isolado das glândulas da pele de *Phyllomedusa distincta*, constituído por cadeias com ligação dissulfídica entre cisteínas e que apresenta atividade contra bactérias Gram-positivas e negativas. O mecanismo de ação principal de peptídeos antimicrobianos envolve a interação com membranas<sup>2</sup> e, para tanto devem adquirir uma estrutura  $\alpha$ -helicoidal.



Neste trabalho descrevemos a análise conformacional da cadeia 2 da distinctina em nível de mecânica molecular (MMFF94) usando o pacote computacional Spartan04, visando a estudos do mecanismo de ação. Além disso, é apresentada a síntese linear em fase sólida da cadeia 2 da distinctina, empregando a estratégia Fmoc (9-fluorenil-metoxicarbonila)<sup>3</sup>, como esquematizado na Figura 1.

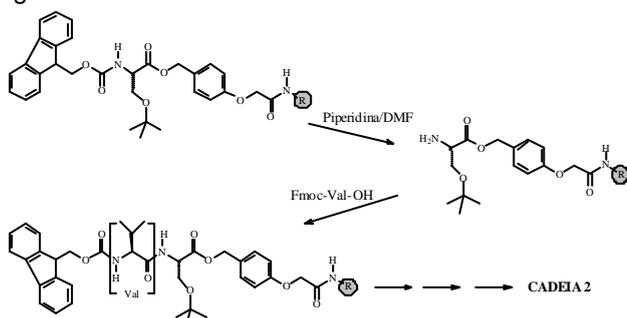


Figura 1. Esquema de síntese de peptídeos em fase sólida – Estratégia Fmoc.

### Resultados e Discussão

Inicialmente, a análise conformacional foi realizada a partir da cadeia 2 em estrutura  $\beta$ -folha sem distorções, com a extremidade carboxi-terminal amidada, que resultou em uma geometria otimizada de  $E=-164,94$  kcal/mol. A mesma metodologia teórica foi aplicada à estrutura de partida  $\alpha$ -hélice. A Figura 2

mostra a geometria  $\alpha$ -hélice otimizada dessa cadeia, com  $E=-259,40$  kcal/mol, sendo similar à geometria de partida. Estes dados sugerem que a cadeia 2 da distinctina encontra-se preferencialmente na forma  $\alpha$ -hélice. Visando à comparação desses resultados, procedeu-se a síntese dessa cadeia para futuros estudos estruturais por DC e RMN.

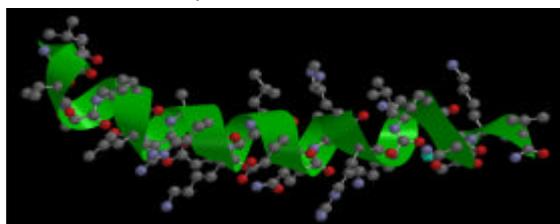


Figura 2. Geometria  $\alpha$ -hélice otimizada da cadeia 2.

A síntese da cadeia 2 ocorreu sobre um suporte polimérico (resina), etapa por etapa, pela adição de aminoácidos, obedecendo-se a estrutura primária a partir da extremidade carboxi-terminal. Após a síntese, o peptídeo foi liberado da resina em uma única etapa de clivagem com rendimento de 90%. A purificação foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e a caracterização por espectrometria de Massas (EM). O perfil cromatográfico do peptídeo bruto (não purificado) apresentou um único pico proeminente com tempo de retenção de 27,5 min. O espectro de Massas da dessa fração registra um pico em  $m/z$  2952,7 Daltons, correspondendo à estrutura da cadeia 2.

### Conclusões

A estrutura secundária obtida pela análise conformacional apresenta-se na forma  $\alpha$ -hélice após a otimização de geometria, indicando tratar-se da conformação mais favorecida sem considerar interações com a cadeia 1 da distinctina. A síntese linear em fase sólida da cadeia 2 da distinctina, seguindo a estratégia Fmoc, mostrou-se eficiente. A técnica CLAE indicou um alto grau de pureza do produto, caracterizado por EM.

### Agradecimentos

UFMG, FAPEMIG, CAPES e CNPq.

<sup>1</sup> Zasloff, M. *Nature* **2002**, 415, 389.

<sup>2</sup> Bechinger, B. *Biochim. Biophys. Acta*, **1999**, 1462, 157.

<sup>3</sup> Toniolo, C., Bonora, G. M., Mutter, M., and Pilai, V. N. R., *Makromol. Chem.* **1981**, 182, 2004.