

Assistência por metal e biocatálise na síntese de um tetrapeptídeo

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, Ca^{+2} , formação da ligação peptídica, lipase pancreática suína hexano/tampão Trizma 0,5M pH 8 a 37°C³. O monitoramento da reação demonstrou que o Ac-Ile-

Introdução

A síntese enzimática da ligação peptídica, que usualmente ocorre sob condições suaves, com proteção mínima das cadeias laterais dos aminoácidos e sem enantiomerização, tem sido explorada como alternativa ou complemento à síntese química. Neste contexto, diversas enzimas têm sido utilizadas com sucesso como catalisadores na obtenção de peptídeos curtos a partir de doadores de acila esterificados (proteases e lipases) ou com carboxila α livre (proteases)¹.

Os doadores de acila esterificados (*N*-acil-peptídeo-OR) podem ser preparados quimica ou enzimaticamente. Como este tipo de síntese nem sempre é trivial, o nosso grupo de pesquisa tem investigado um procedimento alternativo para a preparação de tais compostos: a mediação por metais à alcoólise da ligação peptídeo-resina, que fornece o peptídeo esterificado totalmente protegido [*N*-acil-peptídeo(X)-OR], e posterior desproteção das cadeias laterais dos aminoácidos, para fornecer o *N*-acil-peptídeo-OR desejado².

O presente trabalho descreve resultados obtidos no desenvolvimento de um projeto originado da união de duas frentes da nossa pesquisa: a obtenção química de um *N*-acil-peptídeo-OR via metanólise da correspondente peptidil-resina oxima de Kaiser (KOR) mediada por Ca^{+2} e o seu uso como doador de acila na formação da ligação peptídica catalisada por lipase pancreática suína bruta (cPPL) em meio aquo-orgânico bifásico.

Resultados e Discussão

O monitoramento de todas as reações químicas estudadas foi feito por RP-HPLC e LC/ESI-MS.

A peptidil-resina Ac-Ile-Ser(Bzl)-Asp(OCHx)-KOR foi sintetizada manualmente, caracterizada quanto ao conteúdo de aminoácidos e grau de substituição inicial ($\text{GS}_{\text{inicial}}$). A metanólise do éster de oxima da peptidil-KOR foi realizada em 50% MeOH/DMF contendo $\text{Ca}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ a 50°C por 2h². A determinação do GS_{final} da peptidil-resina possibilitou calcular a porcentagem de desligamento de Ac-Ile-Ser(Bzl)-Asp(OCHx)-OMe (88%). O Ac-Ile-Ser(Bzl)-Asp(OCHx)-OMe recuperado do meio reacional (87%) foi exposto a HF para desproteção das cadeias laterais dos aminoácidos com manutenção do éster e do grupo acetil. O Ac-Ile-Ser-Asp-OMe obtido foi, então, incubado com Gly-NH₂ e cPPL em 80% n 30ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química

Ser-Asp-Gly-NH₂ já tinha sido formado em 10 min e que o equilíbrio foi atingido em 1h. O rendimento de formação de Ac-Ile-Ser-Asp-Gly-NH₂ para cada tempo de reação (Figura 1) foi determinado via uma curva-padrão obtida com o tetrapeptídeo sintetizado quimicamente. O principal subproduto gerado foi o Ac-Ile-Ser-Asp-OH, resultante da hidrólise do éster metílico.

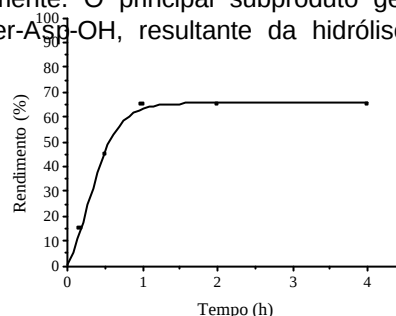


Figura 1. Curso do acoplamento entre Ac-Ile-Ser-Asp-OMe e Gly-NH₂ mediado por cPPL

Conclusões

- Como já demonstrado anteriormente², o novo procedimento alternativo baseado na assistência por metal para geração de *N*-acil-peptídeo-OMe mostrou-se bastante eficiente e seletivo.
- Até o momento, o acoplamento realizado com sucesso nesse trabalho é o primeiro a utilizar um fragmento peptídico como doador de acila em síntese de peptídeos catalisada por lipase.
- A produtividade deste acoplamento (65%/h) é superior à descrita para o acoplamento entre o Bz-Arg-OEt e Gly-Asp-Ser-NH₂ catalisado por cPPL (50%/h)⁴, o único já descrito na literatura que, como o nosso, leva a um tetrapeptídeo.

Agradecimentos

Ao CNPq e à FAPESP pelos suportes financeiros e bolsa de Doutorado. A C.W. Liria pelas análises de aminoácidos.

¹ Tai, D.-F. *Curr. Org. Chem.* **2003**, 7, 515.

² Proti, P.B.; Oliveira, P.V.; Miranda, M.T.M. Em *Understanding Biology Using Peptides*, (Blondelle S.E., ed.), Springer: New York, **2006**, 82.

³ Liria, C.W.; Miranda, M.T.M. Em *Peptides 2000 – Proceedings of the 26th European Peptide Symposium*, (Martinez, J.; Fehrentz,

J.-A., eds.), EDK: Paris, **2001**, 331.

⁴ Huang, Y.-B.; Cai, Y.; Yang, S.; Wang, H.; Hou, R.-Z.; Xu, L.; Xiao-Xia, W.; Zhang, X.-Z. *J. Biotechnol.*, **2006**, 125, 311.