

Síntese de peptídeos antimicrobianos de alta complexidade estrutural: análogos com ciclização cabeça-cauda de gomesina

Alessandra Machado (PQ)^{1*}, Marcos A. Fázio (PQ)², M. Teresa Machini (PQ)¹

¹Departamento de Bioquímica, Instituto de Química-USP, São Paulo, SP

²Universidade Presbiteriana Mackenzie; São Paulo, SP

* Universidade Federal de Tecnologia do Paraná, Francisco Beltrão, PR

Palavras Chave: peptídeos antimicrobianos, ligação esqueleto peptídico, temperaturas elevadas.

Introdução

A gomesina (*Gm*) foi o primeiro peptídeo antimicrobiano (AMP) a ser isolado de hemócitos da aranha caranguejeira brasileira *Acanthoscurria gomesiana*. Este AMP contém o ácido piroglutâmico como resíduo N-terminal (Pyr¹), 18 resíduos de aminoácidos e 2 pontes dissulfeto (Cys²⁻¹⁵ e Cys⁶⁻¹¹); é amidado na carboxila terminal (**Figura 1**) e ativo contra bactérias, fungos e parasitas¹.

Pyr¹-Cys-Arg-Arg-Leu-Cys-Tyr-Lys-Gln-Arg-Cys-Val-Thr-Tyr-Cys-Arg-Gly-Arg¹⁸-NH₂

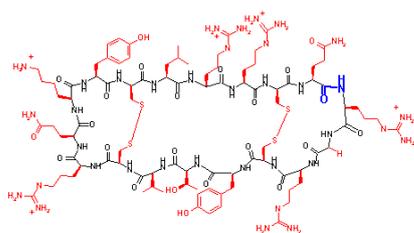


Figura 1. Estruturas da *Gm* e do seu análogo I com ciclização cabeça-cauda.

Estudos prévios colaborativos da relação estrutural-atividade e das propriedades da *Gm* demonstraram que: i) as ações antimicrobiana e hemolítica são eventos correlacionados; ii) pelo menos uma ponte dissulfeto é necessária para atividades antimicrobianas satisfatórias; iii) as duas pontes dissulfeto são fundamentais para a expressão total da atividade antimicrobiana e para maior estabilidade sérica; iv) análogos lineares da *Gm* são 2-4 vezes menos ativos, porém menos hemolíticos^{2,3}, o que afeta os seus índices terapêuticos. Com vistas a obter novas informações sobre tal relação, no presente trabalho sintetizamos análogos cíclicos cabeça-cauda, peptídeos de alta complexidade estrutural, da *Gm* (I) e análogos (II, **Tab.1**) nunca antes obtidos.

Resultados e Discussão

Os peptídeos foram sintetizados manualmente em fase sólida usando condições e protocolos estabelecidos por nós⁴. A otimização das ciclizações cabeça-cauda das peptidil-MBHA resinas foi conseguida variando-se a temperatura e o solvente (**Tab. 1**). A necessidade de tal etapa,

$[Glu(MBHA)^1]-Gm \rightarrow c(1-18) [Glu(MBHA)^1]-Gm$ (I)

| Ativador de COOH | Aditivo | Solvente | T | T (min) |
|------------------|---------|-------------|-------|---------|
| EDC | HOBt | DMF | room | 31 |
| | HOBt | 20%DMSO/NMP | room | 3 |
| | HOBt | 20%DMSO/NMP | 60 °C | 1 |
| | HOAt | 20%DMSO/NMP | 60 °C | 2 |

$[Glu(MBHA)^1, Thr^{2,6,11,15}, D-Pro^9]-Gm \rightarrow$

$c(1-18) [Glu(MBHA)^1, Thr^{2,6,11,15}, D-Pro^9]-Gm$ (II)

| | | | | |
|-----|------|-------------|-------|---|
| EDC | HOBt | 20%DMSO/NMP | room | 2 |
| | HOBt | 20%DMSO/NMP | 60 °C | 1 |

desligamento do peptídeo cíclico da resina, desproteção total e, no caso de I, formação de pontes dissulfeto, levou a baixos rendimentos de síntese e a produtos brutos altamente heterogêneos. Purificação por HPLC e análise dos purificados por espectrometria de massas e hidrólise total/determinação de aminoácidos confirmaram as suas identidades e levaram a graus de pureza elevados. Ensaio de estabilidade em soro humano, bem como ensaios de atividade em *E.coli*, *S. aureus*, *C. albicans* e eritrócitos humanos, revelaram que a redução da flexibilidade conformacional imposta pela ciclização não levou a alterações significativas nas propriedades.

Conclusões

Este trabalho⁵ propõe condições inéditas de ciclização cabeça-cauda de peptídeos de alta complexidade estrutural. Em tais condições foi possível obter novos análogos ativos de *Gm*.

Agradecimentos

FAPESP, CNPq, Profs. Drs. A. Miranda (doação dos peptídeos-referência) e S. Daffre (apoio na determinação das atividades biológicas).

¹ Silva Jr. PI, et al. *J. Biol. Chem.* **2000**, 275, 33464. ² Fázio MA, et al. *Biopolymers* **2006**, 84, 205. ³ Fázio MA, et al. *Biopolymers* **2007**, 88, 386. ⁴ Varanda LM, Miranda MTM. *J. Pept. Res.* **1997**, 50, 102. ⁵ Machado A, et al. *J. Pept. Sci.*, submetido.