

ESTUDIO DE INTERACCIONES DURANTE LA ADSORCIÓN DE D- Y L-TIROSINA EN QUITOSANO

E.A Takara^a, M.G. Diaz^b, E.G. Vega Hissi^b, J.C Garro Martinez^b y N.A Ochoa^a

^aLaboratorio de Membranas y Biomateriales, (INFAP) UNSL, CONICET

^bÁrea de Química Física, FQByF, UNSL, IMIBIO, CONICET

andrestakara@yahoo.com.ar; egvega@gmail.com

Introducción

La actividad biológica de un fármaco generalmente se inicia a través de su interacción con los receptores. El efecto inducido por el fármaco depende de la afinidad por su receptor específico. Para receptores estéreselectivos como las proteínas, la quiralidad de la molécula juega un papel importante en la definición de su actividad biológica. La actividad biológica de un racemato en la mayoría de los casos es la contribución de un isómero activo que genera una respuesta terapéutica mediante la interacción con el receptor mientras que el otro isómero puede ser un producto no deseado o inactivo [1]. Las exigencias legales de diferentes países sobre la fabricación de fármacos quirales se han orientado hacia la comercialización de fármacos enantiopuros [2]. Por esta razón la búsqueda de metodologías que permitan la obtención de enantiómeros de alta pureza a bajo costo, es un tema de gran relevancia en la actualidad. El proceso de resolución quiral con membranas es una técnica relativamente nueva, con rápido tiempo de separación y alta eficiencia [3]. Sin embargo los mecanismos involucrados en la separación y las diversas interacciones entre los sustratos y la matriz, no se conocen con exactitud en la mayoría de los casos, por lo cual es fundamental su estudio.

Quitosano (CH) es un polisacárido lineal obtenido por N-desacetilación de la quitina [4]. La estructura de CH le confiere a este polímero propiedades muy interesantes como es su carácter antimicrobiano, biocompatibilidad y biodegradabilidad. CH es un polímero quiral, con una alta capacidad filmogénica y una gran abundancia de sitios quirales activos en la matriz polimérica, haciéndolo un material de interés en el campo de la separación quiral mediante membranas [5,6].

El presente trabajo estudia la adsorción de D- y L-Tirosina (D-Tyr y L-Tyr) en membranas de quitosano neutralizadas con diferentes concentraciones de NaOH (CH-NaOH) y las interacciones soluto adsorbato.

Resultados

La membrana de CH-NaOH presenta una gran afinidad por el aminoácido en estudio, con una marcada selectividad a L-Tyr. Mediante la representación de Scatchard se identificó que el receptor contiene dos tipos de sitios de unión, unos de alta afinidad (sitios selectivos) y otros de baja afinidad (sitios no selectivos), con la existencia de interacciones cooperativas sitio-sitio que influyen en la unión y la disociación de la D- y L- Tyr correspondiente a adsorciones del tipo Langmuir. Diferentes modelos fueron aplicados, siendo el modelo de Bi-Langmuir el que presenta una excelente relación con los datos experimentales, como se observa en la figura 1. Esta figura muestra que la concentración de NaOH afecta el número sitios selectivos disponibles, mientras que los sitios no selectivos no se ven influenciados.

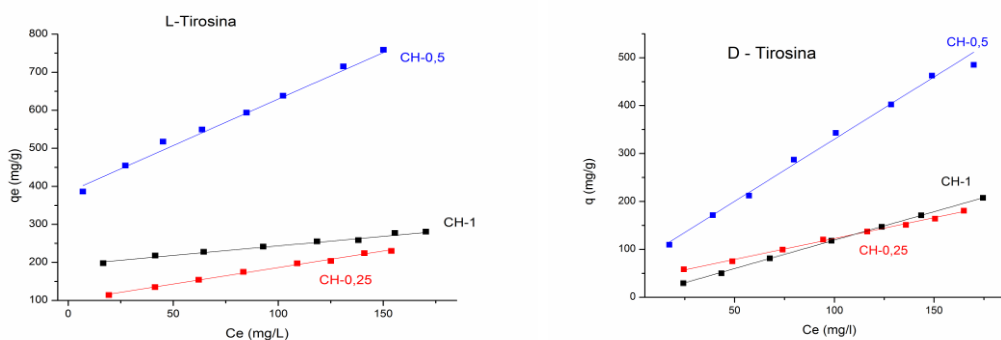


Figura 1: Isotermas de adsorción, de D- y L- Tirosina en NaOH 1M, 0,5M y 0,25M a 25 °C, con su correspondiente ajuste al modelo Bi-Langmuir.

Mediante la implementación de simulaciones computacionales (cálculos de docking y dinámica molecular, DM) fue modelada la matriz polimérica de CH-NaOH 0,5M, acetilada a un 20 % para estudiar las interacciones que ocurren durante la unión de los dos enantiómeros de tirosina (L-Tyr y D-Tyr). Todos los complejos tirosina-CH-NaOH generados muestran que el aminoácido posee diferentes sitios de unión localizados entre las cadenas de la membrana modelada. Se distinguen dos regiones de unión: la región1, localizada más profundamente dentro del núcleo de la membrana de quitosano; y la región 2, situada en las proximidades de la superficie. Este estudio indicó que la L-Tyr presenta mayor afinidad de unión a la región 1 de CH con un valor de ΔG de unión de -6,1 kcal/mol, mientras que D-Tyr posee un ΔG de unión de -5,8 kcal/mol. Aunque la diferencia de energía no es grande, Autodock Vina es capaz de discriminar la afinidad de la unión de los enantiómeros. Ambos enantiómeros presentan, entre otras, una interacción del tipo unión hidrógeno con un átomo de HO3 (O3 actuando como donante) el cual participa además de enlaces hidrógeno intramoleculares entre las cadenas del CH.

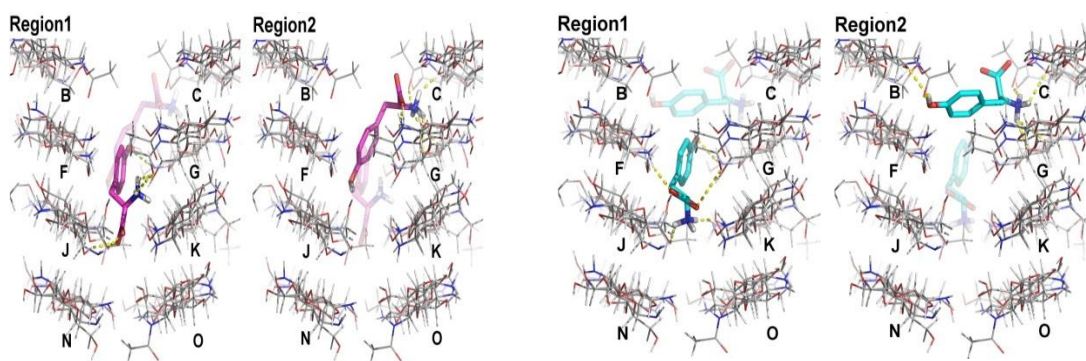


Figura 2: simulación computacional de la adsorción de D-Tyr (panel izquierdo) y L-Tyr (panel derecho) en la membrana de tirosina.

Conclusiones

Considerando los resultados obtenidos concluimos que las membranas de CH-NaOH muestran una gran capacidad de adsorción, con una alta selectividad a L-Tyr. La concentración de NaOH afecta la adsorción del enantiómero, lo cual puede estar relacionado a la disminución del *d-spacing* y el aumento de los grupos amino libre [7], proporcionando un entorno quiral adecuado y selectivo al enantiómero L-Tyr. Este cambio en el espaciado intercatenario, dependiente de la

concentración de NaOH, afecta tanto la afinidad como la selectividad enantiomérica de los sitios selectivos de la membrana. Por lo que consideramos que el adecuado control de las distancias intercatenarias en la matriz polimérica permitiría la separación de diferentes solutos quirales con una composición similar al analito estudiado.

Los parámetros de adsorción experimentales poseen una excelente concordancia con los resultados obtenidos en las simulaciones computacionales.

Referencias

- [1] K. De Klerck, D. Mangelings, Y.V. Heyden. J. Pharmaceut. Biomed. Vol 69 (2012) 77-92.
- [2] H. Ates, A.A. Younes, D. Mangelings, Y.V. Heyden. J. Pharmaceut. Biomed. Vol. 74 (2013) 1-13.3.
- [3] Y. Sueyoshi, A. Utsunomiyaa, M. Yoshikawaa, G. P. Robertson, M. D. Guiver. J. Memb Science 401–402 (2012) 89–96
- [4] Rinaudo, M. Progress in Polymer Science, 31(2006), 603-632.
- [5] Y. Sueyoshi, T. Hashimoto, M. Yoshikawa, S. Ifuku, Sustainable Agriculture Research , (2012) 42-47.
- [6] Hovorka, A. Randová, T. Borbášová, P. Sysel, H. Vychodilová, L. Cervenková-Sastná, L. Brozová, J. Zitka, J. Storch, M. Kacirková, P. Drasar, P. Izák Separation and Purification Technology , 158 (2016), 322-332.
- [7] E.A. Takara, J. Marchese and N.A. Ochoa. Carbohydrate Polymers 132 (2015), 25–30.