

Péptidos cíclicos y su utilización en materiales poliméricos supramoleculares

Haxel Lionel Ozores y Juan R. Granja

Resumen: Las estructuras tubulares juegan un papel crucial en procesos biológicos fundamentales para la vida. Inspirados en ellas, los nanotubos ciclopeptídicos han sido objeto de un profundo estudio en las últimas décadas. La sencillez sintética, unida al control preciso del diámetro y sus propiedades, han hecho de esta estrategia una ruta atractiva para la obtención de nuevos materiales funcionales. En este artículo se recogen los aspectos más destacados y los últimos avances en este campo, focalizándose principalmente en los nanotubos α,γ -ciclopeptídicos debido a sus altas constantes de asociación y la posibilidad de controlar las propiedades internas del poro.

Palabras clave: aminoácidos, péptidos, péptidos cíclicos, nanotubos, auto-ensamblaje.

Abstract: Tubular structures play an important role in important biologic processes for life. Cyclic peptide nanotubes were widely studied over the last years. The synthetic simplicity and the ease to control its diameter and properties make this strategy an attractive tool to achieve new functional materials. In this communication we summarize the main features and recent research on this field, focusing on α,γ -cyclic peptide nanotubes, due to their high association constants and ability to modulate properties of the internal cavity.

Keywords: amino acids, peptides, cyclic peptides, nanotubes, self-assembly.

INTRODUCCIÓN

Con la aparición de la especie humana surgió el interés por entender la materia que nos rodea y sus propiedades. Muy probablemente en un principio nos preocupamos por entender el mundo macroscópico circundante para mejorar nuestra supervivencia. No obstante, existen pruebas escritas que muestran que ya en la antigüedad también se intentaron descifrar los fenómenos microscópicos. Durante siglos de lento aprendizaje se fue dilucidando la composición y propiedades de muchos compuestos, fundamentalmente inorgánicos. Los componentes orgánicos/biológicos necesitaron más tiempo, ya que fue necesario superar teorías como la vitalista para empezar a comprender sus propiedades. Aún son muchos los aspectos que no tienen una clara explicación química, por lo que todavía es necesario seguir investigando. De todas formas, desde el punto de vista químico sabemos que la vida está basada en moléculas que son capaces de almacenar y transmitir información sobre los procesos básicos, los ácidos nucleicos, y otras encargadas de desempeñar las funciones metabólicas. Por supuesto tam-

bién es necesario disponer de un aporte energético que haga el sistema auto-sostenible.^[1] Dentro de las moléculas funcionales se encuentran las proteínas y sus parientes mas pequeños, los péptidos. Este tipo de polímeros está constituido por un número reducido de unidades fundamentales: los aminoácidos. Gracias a ello pueden formar un gran número de estructuras que presentan topologías y propiedades diversas y que a su vez se auto-ensamblan para formar los componentes celulares funcionales.^[2] En consecuencia, estas biomoléculas son las que exhiben una mayor diversidad funcional: catálisis, transporte, agentes vasoactivos, hormonas, neurotransmisores, antibióticos, antioxidantes, etc.^[3] A pesar de que en los últimos años se ha profundizado en el conocimiento de la estructura y funciones desempeñadas por estos biopolímeros son aún muchos los aspectos desconocidos. Sin lugar a dudas, uno de los mayores misterios está relacionado con su participación en el origen de la vida. Los experimentos realizados por Miller y otros, demostraron que en condiciones prebióticas era posible generar pequeñas moléculas orgánicas básicas, como los aminoácidos, que fueron el caldo de cultivo para el desarrollo de la vida.^[4] Sin embargo, todavía resulta difícil de explicar como estos materiales evolucionaron a sistemas mas complejos que desembarcaron en los primeros organismos “vivos” o protocélulas. Las moléculas primigenias deberían de ser capaces de replicarse, transmitir la información de padres a hijos, y facilitar su metabolismo, es decir, actuar como catalizadores. Entre los diferentes modelos que se han propuesto para el desarrollo prebiótico destacan los basados en moléculas de ARNs (RNA world) y el mundo peptídico. El primero de ellos es el comúnmente aceptado dada la conocida capacidad de estas moléculas para producir copias idénticas y las propiedades catalíticas de algunos ARN (ribozimas).^[5] Por el contrario, a favor del mundo peptídico está la mayor sencillez sintética tanto de sus componentes básicos como de sus oligómeros. Estos aparecían con relativa facilidad en los experimentos pioneros de Miller. Además, estos biopolímeros tienen mejores propiedades



H. L. Ozores



J. R. Granja

Dpto. de Química Orgánica y Centro Singular de Investigación en Química Biológica e Materiais Moleculares (CIQUS). C/ Jenaro de la Fuente s/n. 15782. Campus Vida
Universidade de Santiago de Compostela
C-e: juanr.granja@usc.es

Recibido: 27/08/2014. Aceptado: 22/09/2014.

catalíticas y una mayor capacidad para transmitir su quiralidad.^[6] Durante muchos años una de las grandes limitaciones de este modelo fue su incapacidad para catalizar la síntesis de copias idénticas a si mismo. Sin embargo, a finales del pasado siglo se demostró que pequeños péptidos no solo podían auto-replicarse sino también corregir errores, crear sistemas parasitarios o simbióticos e incluso evolucionar ante condiciones de presión medioambientales.^[7] De todas formas, es posible imaginarse la existencia de diversos mundos prebióticos que inicialmente competirían por los escasos recursos ambientales, convergiendo en un momento dado para formar las primeras protocélulas.^[8] En estas organizaciones cada uno de sus componentes iría adaptándose para desempeñar aquellas funciones que mejor se ajustasen a sus características. Un vestigio de ello sería el control de cada uno de estos mundos prebióticos, heredado por los sistemas vivos actuales, en los que los ácidos nucleicos catalizan la síntesis de las poliamidas mientras que estas regulan y catalizan la síntesis de ARN y ADN. Un tercer componente fundamental de estos procesos sería la existencia de algún tipo de membrana que permitiese a los “protoorganismos” actuar como unidades estructurales separadas de su entorno.

En los sistemas biológicos actuales los péptidos se producen en los ribosomas mediante el proceso de traducción, aunque en hongos y bacterias existen síntesis

alternativas realizadas por una o más sintetetas no ribosomales.^[4] De manera sintética, los péptidos se preparan en el laboratorio mediante acoplamiento de aminoácidos a través de dos vías: la síntesis en disolución y en fase sólida. Ambos métodos implican la activación previa del extremo carboxi-terminal, mediante la formación de un intermedio reactivo (haluro, anhídrido o éster activo), que facilita el ataque nucleofílico del extremo amino del siguiente aminoácido. A pesar de los avances realizados, estos procesos aún requieren del uso de grupos protectores para evitar reacciones no deseadas.^[9] Esta sencillez sintética, la gran diversidad estructural derivada de los cambios de algún aminoácido en su secuencia y la gran diversidad de aminoácidos no naturales sintetizados ha dado lugar a un enorme progreso en el desarrollo de materiales funcionales basados en péptidos.^[10]

La mayor parte de los péptidos naturales están constituidos por α -aminoácidos. Salvo la glicina, todos los α -aminoácidos poseen dos formas enantioméricas, la *S* y la *R* o *L* y *D* (Figura 1). Durante la evolución química se seleccionó un único enantiómero. De esta forma, salvo algunas excepciones, como los peptidoglicanos que forman las paredes bacterianas, el isómero mayoritario es el *L*. A pesar de la estabilidad química de los enlaces peptídicos, en los sistemas biológicos los péptidos y las proteínas tienen un tiempo de vida limitado. El organismo renueva continuamente estas

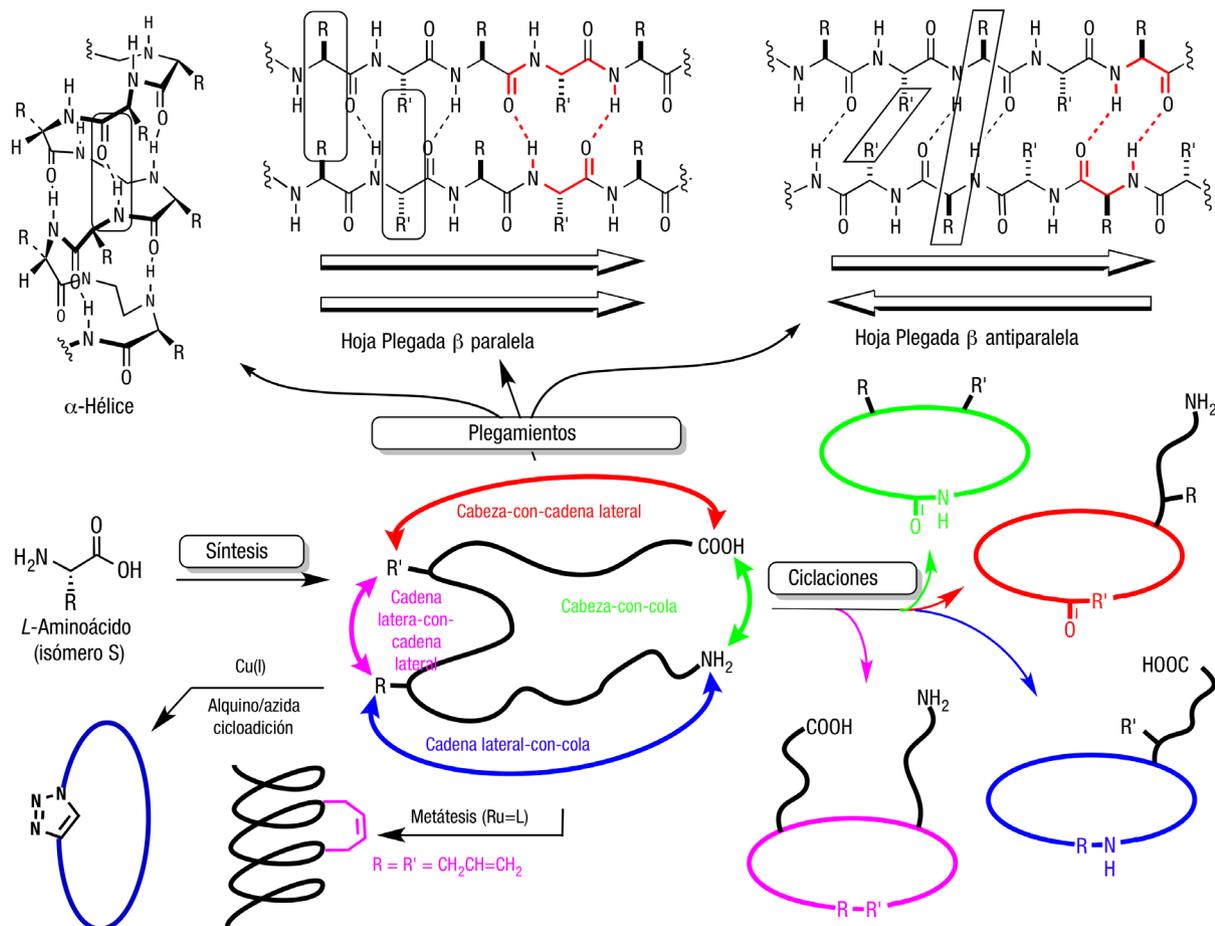


Figura 1. Superior, estructura secundarias características de péptidos y proteínas. Modelos de preparación de ciclopeptidos según los grupos reactivos que intervienen. En la parte inferior izquierda se muestran dos métodos de cierre de macrociclos no naturales catalizados por metales

biomoléculas mediante enzimas específicos llamados peptidasas, que se encargan de hidrolizarlos. La incorporación de aminoácidos artificiales en las secuencias polipeptídicas representa una herramienta muy práctica para aumentar la resistencia frente a la proteólisis. De hecho, en los últimos años ha surgido una nueva clase de polímeros abióticos, denominados foldámeros, formados por monómeros no naturales, como los β - o los γ -aminoácidos.^{[11],[12]} Los foldámeros se pliegan en estructuras definidas similares en unos casos y en otros incluso diferentes a las desplegadas por los biopolímeros naturales.^[13]

ESTRUCTURA SECUNDARIA DE PÉPTIDOS

Las cadenas peptídicas se pueden plegar generando las estructuras secundarias, cuya formación está gobernada por un conjunto de fuerzas de enlace no covalentes (enlaces de hidrógeno, puentes salinos, interacciones tipo apilamientos π - π y de Van der Waals, entre otras).^[14] Posteriormente, estas interacciones también son responsables de que las cadenas plegadas interaccionen consigo mismas o con otras cadenas complementarias para formar las estructuras terciarias y cuaternarias de las proteínas. Las estructuras secundarias más comunes son las hélices α , las láminas β y los giros que son los que permiten invertir el sentido de la cadena peptídica.

Hélices α

La hélice α ha sido objeto de un profundo estudio, desde que Linus Pauling la caracterizase por primera vez en 1951,^[15] debido a su prevalencia como motivo estructural en las proteínas. En una hélice α estándar cada giro está formado por 3.6 residuos, con una distancia de 1.5 Å por residuo y 5.4 Å por cada giro (Figura 1).^[16] Todos los grupos amida están orientados en el mismo sentido por lo que se produce un macrodipolo a lo largo de la estructura en dirección del eje de la hélice.^[16] La mayor parte de las hélices α son dextrógiras ya que el giro alternativo hacia la izquierda está desestabilizado por el impedimento estérico de las cadenas laterales con los grupos carbonilo. Forman parte de dominios de numerosas proteínas siendo una de las piezas clave en las interacciones proteína-proteína, proteína-DNA y proteína-RNA.^[17] Cabe destacar que es uno de los ejemplos de auto ensamblaje, observado en la Naturaleza que conduce a la formación de un poro central, aunque el diámetro del mismo no es lo suficientemente grande para que sea funcional.

Láminas β

Las láminas β se forman cuando el esqueleto peptídico se extiende en “zig-zag”, de tal forma que dos o más cadenas se disponen una al lado de la otra unidas por enlaces de hidrógeno entre sus grupos amida (NH y C=O). Aunque ésta es la fuerza principal, otros tipos de interacciones electrostáticas e hidrofóbicas están implicadas en este tipo

de estructuras. En general, las cadenas laterales de los aminoácidos se van disponiendo alternativamente a un lado y a otro del plano definido por la hoja plegada. Las cadenas adyacentes de una hoja plegada β se pueden orientar en la misma dirección (láminas β paralelas), o en direcciones opuestas (láminas β antiparalelas), definida la dirección de la cadena peptídica por el vector que va desde el extremo N-terminal hacia el C-terminal (Figura 1).^[18] En las hojas β antiparalelas los enlaces de hidrógeno que estabilizan la estructura se forman entre los grupos carbonilo y amino de un mismo residuo, dando lugar a anillos de 10 miembros, mientras que en las paralelas los enlaces de hidrógeno se forman entre dos residuos diferentes, resultando anillos de 12 miembros. A pesar de los diversos estudios realizados no se ha podido determinar con exactitud cual de las dos formas es más estable, aunque por lo general se suele considerar que es la antiparalela.^[19] Aparentemente son las interacciones hidrofóbicas entre las cadenas laterales de los residuos alejados las que juegan un papel fundamental en el plegamiento y estabilidad de dichas láminas.^[20] Por este motivo las secuencias peptídicas que forman este tipo de estructuras suelen alternar residuos hidrofílicos e hidrofóbicos. Esta estructura se ha asociado en los últimos años a trastornos degenerativos neuronales, como el Alzheimer o el Parkinson, que se relacionan con la formación de largos agregados ricos en este tipo de estructura (fibras amiloidales).^[21] Los estudios estructurales realizados en estos últimos años han permitido no solo empezar a entender las bases moleculares de estas enfermedades sino también el desarrollo de nuevas aplicaciones basadas en fibras, cintas o nanotubos peptídicos que incluso desembocan en conceptos de materiales auto-replicantes.^[22]

PÉPTIDOS CÍCLICOS

A finales de la segunda guerra mundial se descubrió un péptido cíclico, la gramicidina S, que rápidamente se utilizó en la desinfección de heridas de bala, lo que despertó un gran interés por este tipo de compuestos. Una de las grandes ventajas de los ciclopeptidos frente a sus homólogos lineales es su mayor estabilidad frente a las endo- y exo-proteasas.^[23] Adicionalmente, la formación de ciclos reduce la libertad conformacional de la cadena peptídica por lo que es una estrategia que se emplea habitualmente en el diseño diversos agentes terapéuticos, como el octreótido, la calcitonina, la cyclosporina A o la colistina.^[24] En este sentido son destacables los estudios realizados con los receptores naturales del fragmento tripeptídico RGD (según las iniciales de sus tres aminoácidos: arginina, glicina y ácido aspártico), que se conoce también como la “secuencia de reconocimiento celular universal”, variando drásticamente su selectividad con el tamaño del macrociclo.^[25] Esta sensibilidad estructural (tamaño del anillo/actividad) permitió modular su actividad y desarrollar ligandos más selectivos, empleados en la vectorización de fármacos gracias a la interacción preferente por una determinada integrina.

Los tipos de ciclopeptidos que se pueden obtener atendiendo a los grupos funcionales son muy diversos.^[23] En

este sentido se pueden distinguir cuatro grandes formas: cabeza-con-cola (péptidos homodépticos), cabeza-con-cadena lateral, cadena lateral-con-cola y cadena lateral-con-cadena lateral. Entre los muchos métodos de síntesis de ciclopéptidos que se han desarrollado a lo largo de estos años, la mayor parte de ellos implican en su última etapa una reacción de ciclación basada en una lactonización (formación de un enlace éster), una lactamización (formación de un enlace amida) o un puente disulfuro. En casi todas ellas, esta reacción de macrociclación implica la utilización de condiciones de alta dilución para prevenir los procesos intermoleculares. Para que estas reacciones transcurran de forma eficiente se requiere en muchas ocasiones de montajes más o menos complejos que limitan su utilización. Una de las estrategias más atractivas para reducir estas complicaciones experimentales se basa en llevar a cabo la ciclación con el péptido unido a un soporte polimérico. Esta alternativa crea unas condiciones de pseudodilución que disminuye los procesos de oligomerización.^[26] En este método, el primer residuo del ciclopéptido se une al soporte sólido a través de su cadena lateral y a partir de este residuo se construye de forma secuencial un péptido lineal siguiendo las secuencias habituales de la síntesis en fase sólida. Posteriormente se desprotegen los extremos N- y C-terminales, lo que permite llevar a cabo la ciclación péptido cuando aún está unido a la resina. Existen otras alternativas en las que se han diseñado espaciadores que unen el péptido al polímero a través de su esqueleto peptídico. Esta estrategia es especialmente interesante para péptidos hidrofóbicos ya que no requiere un grupo funcional polar en la cadena lateral de uno de los residuos del péptido cíclico. El espaciador reúne la característica de que desaparece, sin dejar rastro, en la etapa de separación del péptido del polímero.^[27]

No obstante, en los últimos años se han desarrollado novedosas estrategias y uniones que no se encuentran en la naturaleza. En este sentido destacan aquellos procesos que utilizan reacciones catalizadas por metales. Cabe mencionar las reacciones de ciclación en las que dos aminoácidos, que poseen una cadena lateral con una olefina, recombinan sus metilenos mediante una reacción de metátesis para formar un macrociclo (Figura 1). Esta estrategia se mostró especialmente apropiada en el diseño y síntesis de un péptido helicoidal conformacionalmente estabilizado, en el que la formación del macrociclo se realizó mediante la reacción de metátesis.^[28] Este procedimiento permitió desarrollar un potente inhibidor con una gran selectividad, de la proteína MCL-1. Cabe mencionar que dicha proteína se consideró durante muchos años como no susceptible de ser una diana terapéutica. Una segunda estrategia desarrollada en los últimos años para la formación de diversos tipos de ciclopéptidos utiliza reacciones de cicloadición [3+2] catalizadas por cobre entre un alquino y un grupo azida.^[29]

Este enorme arsenal sintético ha permitido estudiar las propiedades de los ciclopéptidos no solo en medicina sino también en el desarrollo de materiales moleculares biocompatibles.^[30] De esta forma son muchas las aplicaciones que se han publicado sobre la preparación de fibras, cintas o nanotubos. Tal vez sean estos últimos los que más

atención han despertado ya que la presencia de su orificio interno les aporta unas propiedades únicas.

ESTRUCTURAS TUBULARES

El descubrimiento de los nanotubos de carbono por Iijima no solo suscitó el interés por los materiales derivados del carbono, que acabó desembocando en el descubrimiento del grafeno, sino que también, junto con los puntos cuánticos (*Quantum dots*), impulsó la aparición de la nanotecnología.^[31] Durante muchos años el diseño y síntesis de los nanotubos ha sido uno de los grandes retos. Aunque su preparación se basó inicialmente en la química covalente, empleando materiales inorgánicos, pronto se buscaron otras alternativas inspiradas en procesos biológicos. De hecho, este tipo de estructuras están muy presentes en los sistemas naturales funcionales, tanto en las cápsidas virales, como en los sistemas catalíticos o de transporte proteicos. Por ejemplo, la comunicación entre las células y el medio que las rodea, se lleva a cabo mediante proteínas que se expanden de un lado al otro de la membrana y que poseen un orificio interno por el que se transportan selectivamente moléculas diferentes. Para generar estos poros las proteínas se insertan en las membranas dejando las partes hidrofóbicas en contacto con los grupos lipídicos de la membrana mientras que las regiones hidrofílicas se sitúan hacia el orificio interior, creando un medio por el que pueden transitar las distintas especies químicas.^[32] Como otros sistemas naturales estos canales se forman mediante un proceso de auto-ensamblaje molecular de componentes más sencillos. Por tanto, con el desarrollo de la química supramolecular, la construcción de las nanoestructuras tubulares se inspiró también en los procesos de auto-ensamblaje.^[33] Entre las diversas estrategias desarrolladas basadas en estos métodos destaca el empleo de unidades moleculares cíclicas que tienen capacidad de apilarse para formar nanotubos (Figura 2). Esta estrategia permite controlar de forma precisa el diámetro interno del nanotubo y las propiedades del mismo.^[34] Por ello, los nanotubos peptídicos han sido objeto de un amplio estudio en las últimas décadas.

NANOTUBOS CICLOPEPTÍDICOS

Los nanotubos peptídicos se forman mediante el apilamiento de ciclopéptidos (Figura 2). Para ello los péptidos deben adoptar una conformación plana que disponga los grupos amida ortogonalmente con respecto al plano del anillo. De esta forma se establecen los enlaces de hidrógeno entre los anillos que simulan las hojas plegadas β propias de las proteínas naturales.^[24] Otros requisitos fundamentales de los péptidos cíclicos, además de que deben adoptar una conformación plana, son la complementariedad entre los grupos donadores y aceptores de hidrógeno en ambas caras, que no existan grupos que impidan la aproximación entre los ciclopéptidos y la formación de los enlaces de hidrógeno. Por lo general, esto solo se puede conseguir cuando el macrociclo tiene un número par de átomos.

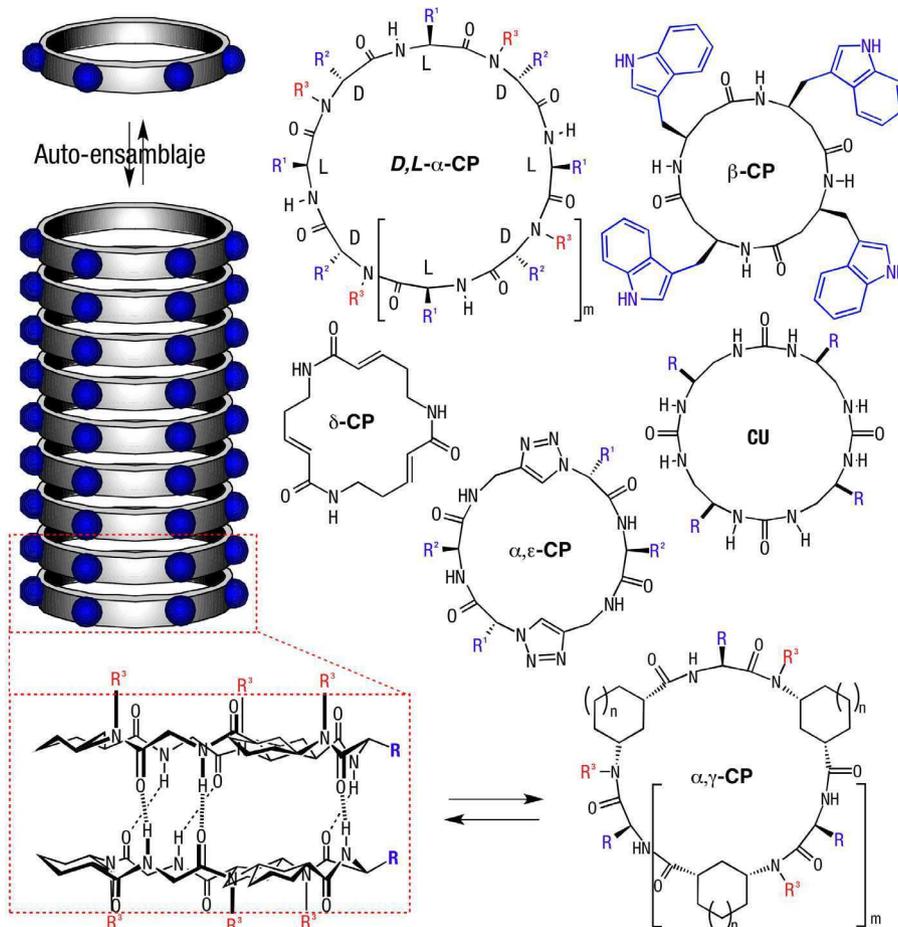


Figura 2. Izquierda, modelo de formación de nanotubos mediante el apilamiento de componentes cíclicos planos. Derecha, estructura de algunos ciclopeptidos y ureas empleados en la formación de nanotubos peptidicos. En la parte inferior se muestra un modelo de la hoja plegada característica de los α,γ -ciclopeptidos. Cuando el grupo R^3 es un grupo metilo, la formación de nanotubos se bloquea, formándose únicamente los modelos diméricos

© 2014 Real Sociedad Española de Química

D,L- α -ciclopeptidos

Los primeros nanotubos peptidicos se prepararon en el año 1993,^[35] sintetizando un octapéptido {*ciclo*[(*D*-Ala-*L*-Glu-*D*-Ala-*L*-Gln-)₂]} en el que se alternaban aminoácidos de quiralidad opuesta (*D,L*). En esta estructura todas las cadenas laterales quedan dispuestas paralelas al plano del anillo y dirigidas hacia el exterior de la estructura. El secreto de su preparación se basaba en utilizar un cambio de las condiciones químicas para inducir el proceso de auto-ensamblaje. El péptido era soluble en medio acuoso básico, al desprotonarse los ácidos carboxílicos de los glutámicos, pero se auto-ensamblaba cuando se acidificaba lentamente el medio, ya que en estas condiciones se protonaban esos grupos y se facilitaba la formación de nuevos enlaces de hidrógeno. Este cambio de las condiciones del medio para inducir un cambio estructural es otra de las características destacables de los péptidos, lo que los hace especialmente atractivos en el desarrollo de materiales inteligentes. Pronto se pudo demostrar una de las grandes ventajas de este método, el control del diámetro mediante la utilización de dodecapéptidos que como el *ciclo*[(*D*-Ala-*L*-Glu-*D*-Ala-*L*-Gln-)₃] también se auto-ensamblaba dando lugar a nanotubos con un diámetro de 13 Å.^[36]

Posteriormente a estos estudios surgieron otros ciclopeptidos formados por residuos no naturales que daban lugar asimismo a nanotubos siguiendo los principios estructurales descritos anteriormente. De esta forma las plataformas peptidicas formadas por β -aminoácidos, los δ -aminoácidos o híbridos de α,ϵ - o α,γ -aminoácidos (β -CP, δ -CP, α,ϵ -CP y α,γ -CP en Figura 2) formaban nanotubos con propiedades diferentes. Incluso las ureas (CU) y los híbridos de las ureas y aminoácidos se comportaban también de forma similar.

La exposición de todas las cadenas laterales hacia el exterior permite modificar sus propiedades de forma sencilla, obteniéndose nanotubos con características muy diferentes. En este sentido, la incorporación de aminoácidos hidrofóbicos, como el *ciclo*[(*D*-Leu-*L*-Gln-(*D*-Leu-*L*-Trp-)₃], permitió la obtención de nanotubos en las bicapas lipídicas (Figura 3).^[37] La formación de estos nanotubos permitía el paso de iones con eficiencias comparables a los sistemas naturales y superiores a muchos de los sintéticos diseñados hasta ese momento. El canal era selectivo para los iones alcalinos, siendo capaz de diferenciarlos frente a aniones o cationes divalentes. De nuevo, jugando con el tamaño del macrociclo, fue posible modular el diámetro del nanotubo y con ello su implicación en el transporte molecular. De esta forma, los nanotubos formados por un decapeptido no

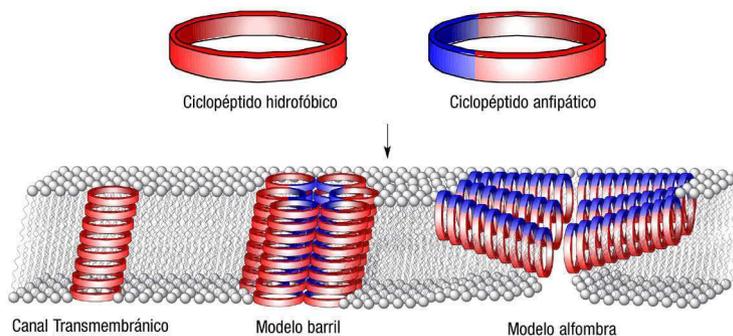


Figura 3. Nanotubos de membrana y modelos de interacción con las bicapas lipídicas dependiendo del tipo de ciclopeptido empleado

solo eran capaces de transportar iones sino también otras moléculas polares, como azúcares (glucosa) o aminoácidos (ácido glutámico).^[38]

Un hecho interesante es que la orientación del nanotubo en la membrana depende del tipo de aminoácidos empleados en la secuencia del ciclopeptido. Los nanotubos como los indicados anteriormente formados por aminoácidos hidrofóbicos, se orientan perpendicularmente a la membrana generando canales transmembránicos. Por el contrario, los péptidos anfipáticos dan lugar a nanotubos que se disponen de forma paralela con respecto al plano de la bicapa lipídica. Estas últimas estructuras supramoleculares poseen potentes propiedades antimicrobianas al destruir el balance iónico necesario para la subsistencia celular.^[39] Dichas propiedades antimicrobianas son modulables, dependiendo de la secuencia utilizada en el ciclopeptido para dar lugar a nanotubos con propiedades antivíricas, antifúngicas o alguicidas.^[40] Incluso, dado que la estructura básica del nanotubo es una hoja β , estos péptidos se han estudiado por sus propiedades antiamiloidogénicas al prevenir la agregación de la proteína A β en sus formas tóxicas, tal vez mediante la estabilización de la forma no tóxica.^[41]

Especialmente relevante es la post-modificación de las cadenas laterales de los aminoácidos con polímeros. Estos híbridos péptidos/polímeros presentan propiedades que los hacen muy interesantes para el desarrollo de nanomateriales porosos (Figura 4). En este aspecto, estos híbridos se mezclaron con películas de polímeros de

bloque formando una membrana porosa que permite el paso selectivo de gases. La difusión era mas rápida para gases formados por moléculas pequeñas, como el dióxido de carbono, que para moléculas mas grandes, como el neopentano.^[42]

El número y propiedades de los polímeros incorporados sobre el ciclopeptido determina las propiedades del nanotubo. Por ejemplo, se han descrito nanotubos de dos caras, nanotubos *Janus*, formados mediante la utilización de dos polímeros con propiedades diferentes, que se incorporan a las membranas generando agregados moleculares tipo barril.^[43] Por otro lado, la utilización de polímeros hidrofóbicos da lugar a canales transmembránicos monotubulares (Figura 3).^[44] Las propiedades termosensibles mostradas por alguno de estos conjugados de ciclopeptidos y polímeros debe permitir un control bajo demanda del transporte transmembránico.

α,γ -ciclopeptidos

La mayor parte de los nanotubos peptídicos preparados muestran una gran facilidad para modificar sus propiedades externas, sin embargo, no permiten la modificación de su orificio interno. Este poro interno tiene una única dimensión por lo que las moléculas incorporadas en su interior tendrán propiedades diferentes a las exhibidas por el mundo tridimensional en el que vivimos. Sin embargo, es

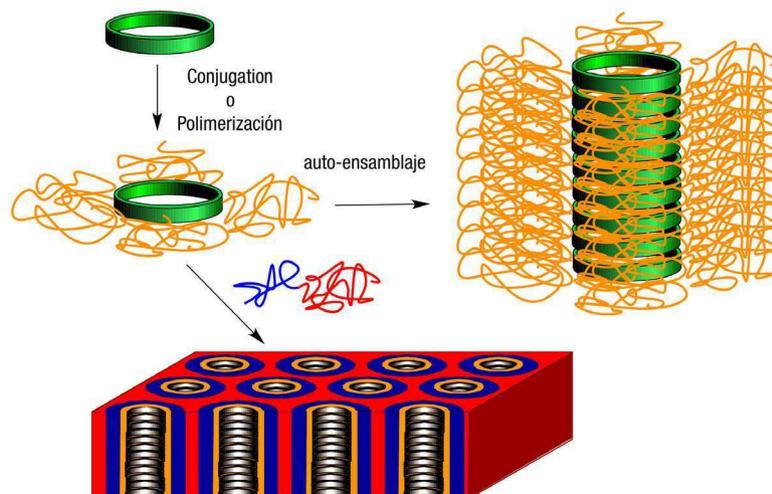


Figura 4. Preparación de polímeros supramoleculares tubulares basados en el auto-ensamblaje molecular de los híbridos ciclopeptidos/polímeros

fundamental poder modular sus propiedades. Para ello es necesario incorporar grupos funcionales que se orienten hacia el interior del nanotubo, algo que no es posible con los anteriores diseños. Por ello, nuestro grupo de investigación incorporó γ -aminoácidos cíclicos en los ciclopéptidos, ya que en la conformación plana dispone uno de los carbonos (C-2) de su anillo hacia el interior de la cavidad.^[45] La presencia de este metileno hacia el interior de la cavidad aporta un carácter parcialmente hidrofóbico, que los diferencia de los ciclopéptidos formados por α -aminoácidos. Los primeros estudios se realizaron con ciclopéptidos en los que se alternaban α - y γ -aminoácidos, aunque posteriormente se prepararon también otros con un mayor o menor número de residuos no naturales. Estos trabajos se realizaron con modelos diméricos (Figura 2) gracias a los cuales se obtuvieron los distintos parámetros estructurales y termodinámicos que gobiernan el proceso de formación de los nanotubos.^[46]

Los estudios *“in silico”* realizados con estos nanotubos en tres disolventes diferentes (H_2O , MeOH y $CHCl_3$) mostraron que la estructura permanecía estable a lo largo del tiempo de simulación.^[47] Estos estudios indicaban que el metanol era el peor huésped ya que en ningún caso se internalizaba en el nanotubo. Por el contrario, a pesar del carácter hidrofóbico de la cavidad, internalizaba moléculas de agua ordenadas formando un hilo. Estos resultados computacionales, nos animaron a ensayar estos nanotubos en las membranas y estudiar sus propiedades transportadoras.^[48] Como en el caso de los nanotubos de membrana anteriores, estos mostraban propiedades similares en el transporte de iones alcalinos, aunque en este caso se observaba, a elevados potenciales de membrana, una preferencia por el transporte de cationes sodio frente a los cationes cesio o

potasio. Esto lo hemos atribuido al carácter parcialmente hidrofóbico de su conducto y a las diferencias en la deshidratación de estos iones.

Una aproximación para la preparación de membranas porosas la llevamos a cabo mediante la incorporación de dendrones mesogénicos en las cadenas laterales de los ciclopéptidos formadores de dímeros (Figura 5).^[49] Estos materiales se auto-ensamblaban para dar lugar a mesofases columnares en las que los dímeros de los ciclopeptídicos se apilan unos sobre otros formando materiales porosos. La fuerza directora del proceso son las propiedades mesogénicas del dendrón utilizado. De hecho, dependiendo del número de cadenas alquílicas, los poros del cristal líquido son individuales (dendrón de nueve cadenas) o apareados para los dendrones con un menor número de grupos alquílicos.

En cualquier caso, la selectividad observada en estos canales de membrana no tiene comparación con los sistemas naturales en los que las diferencias de transporte entre los iones potasio o sodio es de varios órdenes de magnitud. Para mejorar esta selectividad, en los últimos años hemos realizado diversos trabajos sintéticos encaminados a la preparación de aminoácidos en los que se incorporaba un grupo hidroxilo en el C2 o se sustituía dicho carbono por un átomo de oxígeno (Figura 6).^[50]

Un aspecto adicional de los nanotubos peptídicos es su capacidad para organizar otros materiales sobre diferentes superficies (Figura 7). Por ejemplo, la alineación de elementos fotoactivos, como naftalenos o fullerenos, se llevó a cabo mediante la unión covalente de dichos grupos a un ciclopéptido precursor de nanotubos. Mientras que en el primer caso la reducción del sistema aromático daba lugar

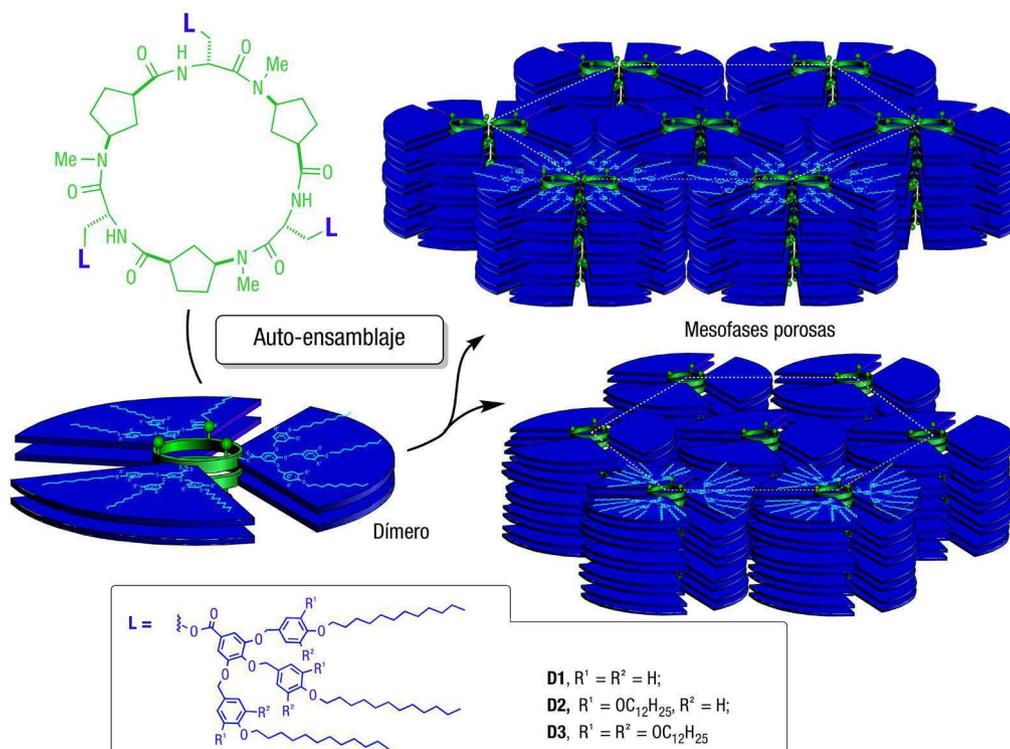


Figura 5. Preparación de cristales líquidos porosos mediante la conjugación de ciclopéptidos con dendrones mesogénicos (L), en la que dependiendo del número de cadenas alquílicas del dendrón forman películas columnares con poros apareados (3 y 6 cadenas, figura superior-derecha) o individuales (9 cadenas alquílicas, figura centro-derecha)

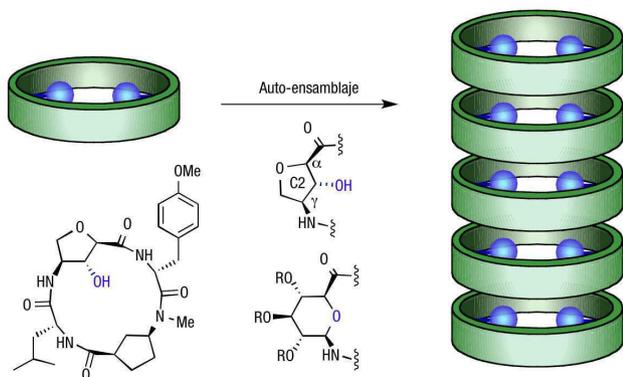


Figura 6. Funcionalización de la cavidad interna del nanotubo mediante la utilización de α,γ -ciclopeptidos

a la formación de un estado excitado aniónico radicalico del naftaleno que inducía su apilamiento y con ello la formación de los nanotubos,^[51] en el segundo ejemplo se utilizaba la interacción de los grupos guanidinio (Arg) del ciclopeptido con la superficie aniónica de la mica.^[52] En este caso se encontró que a un pH adecuado estas interacciones inducían la formación del nanotubo sobre la superficie. La importancia de esta interacción determinaba que los fu-

llerens quedasen dispuestos a ambos lados del nanotubo peptídico. La estructura que resultaba eran dos hilos paralelos de moléculas C60 separados por un material aislante como el nanotubo.

Un paso adicional ha sido la reciente construcción supramolecular jerárquica de nanotubos mellizos, formados por dos nanotubos diferentes (carbono y peptídico) que se alinean paralelamente (Figura 7).^[53] En este caso los nanotubos de carbono con un α,γ -ciclopeptido dotado con un pireno. Dicho grupo establece interacciones $\pi-\pi$ con las paredes aromáticas del nanotubo de carbono, de tal forma que dicha interacción facilita el apilamiento de los péptidos cíclicos y la formación del nanotubo peptídico. El material híbrido resultante, soluble en agua, disfruta de las propiedades de ambos nanotubos, la dureza y propiedades electrónicas de los nanotubos de carbono y la biocompatibilidad y facilidad para modificar sus propiedades de los peptídicos.

CONCLUSIONES

Los péptidos y las proteínas juegan un papel fundamental en el desarrollo de la vida, siendo las biomoléculas que desempeñan una mayor variedad funcional. El rol que desem-

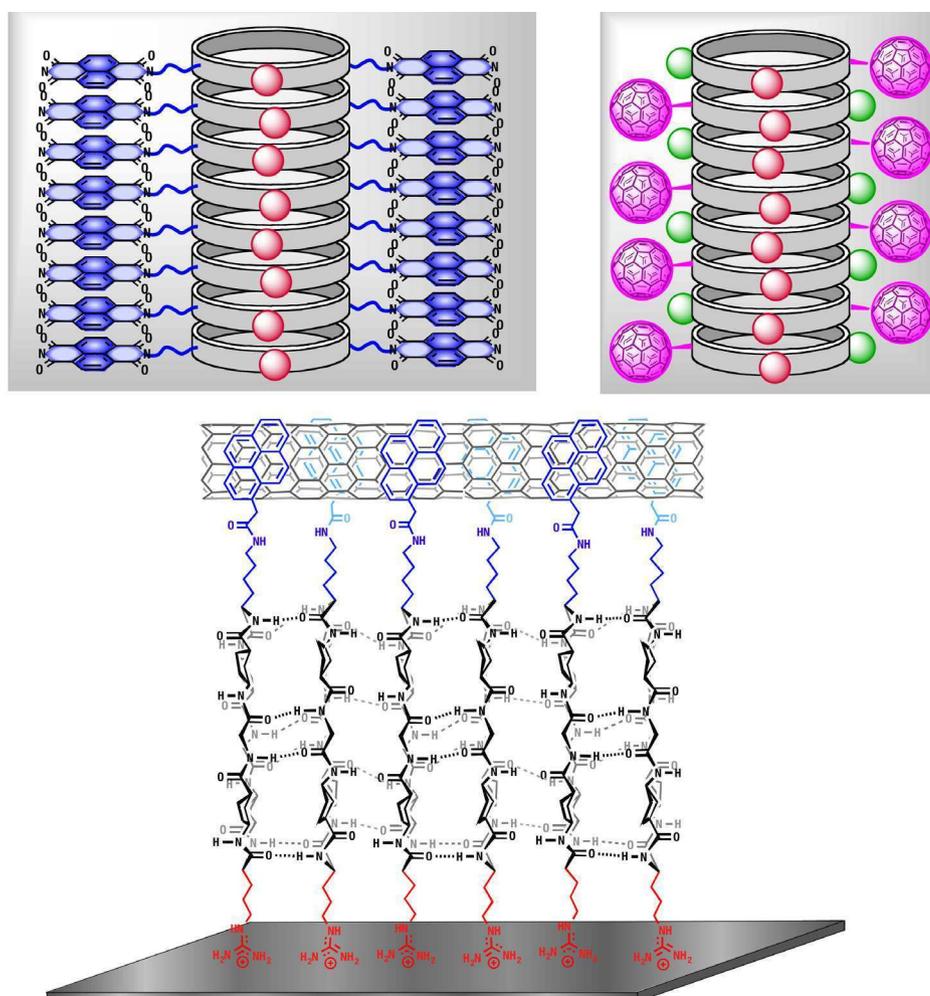


Figura 7. Formación de nanotubos sobre la superficie de mica en la que se alinean naftalenos, fullerenos o nanotubos de carbono

peñan estos biopolímeros en los organismos vivos depende en gran medida de la estructura tridimensional que adoptan. Dichas estructuras han servido de inspiración a los químicos que a lo largo de estos últimos años han diseñado nuevas formas y funciones basadas en pequeños péptidos. En muchas ocasiones se incorporan formas cíclicas o aminoácidos no naturales lo que además aumenta su resistencia a la degradación por las proteasas. En este sentido cabe destacar los ciclopéptidos que bajo determinadas condiciones se apilan formando nanotubos. Para que esto ocurra, es crucial que los ciclopéptidos adopten una conformación plana con los grupos amida situados perpendicularmente al plano del anillo.

Las estructuras tubulares también están presentes en la Naturaleza y desempeñan un papel fundamental en ciertos procesos biológicos. Un ejemplo de este tipo de arquitectura son los canales iónicos, proteínas que atraviesan la membrana y regulan el paso de iones de un lado a otro de la misma. Con este fin se han diseñado diversos péptidos cíclicos, entre los que cabe destacar aquellos constituidos por α - y γ -aminoácidos debido a que reúnen las características comunes a todos ellos (posibilidad de controlar el diámetro interno y las propiedades externas), pero posibilitan adicionalmente la funcionalización de la cavidad interior. La formación de nanotubos α,γ -ciclopeptídicos ha sido ampliamente estudiada debido a sus potenciales aplicaciones en biología, medicina y ciencia de materiales.

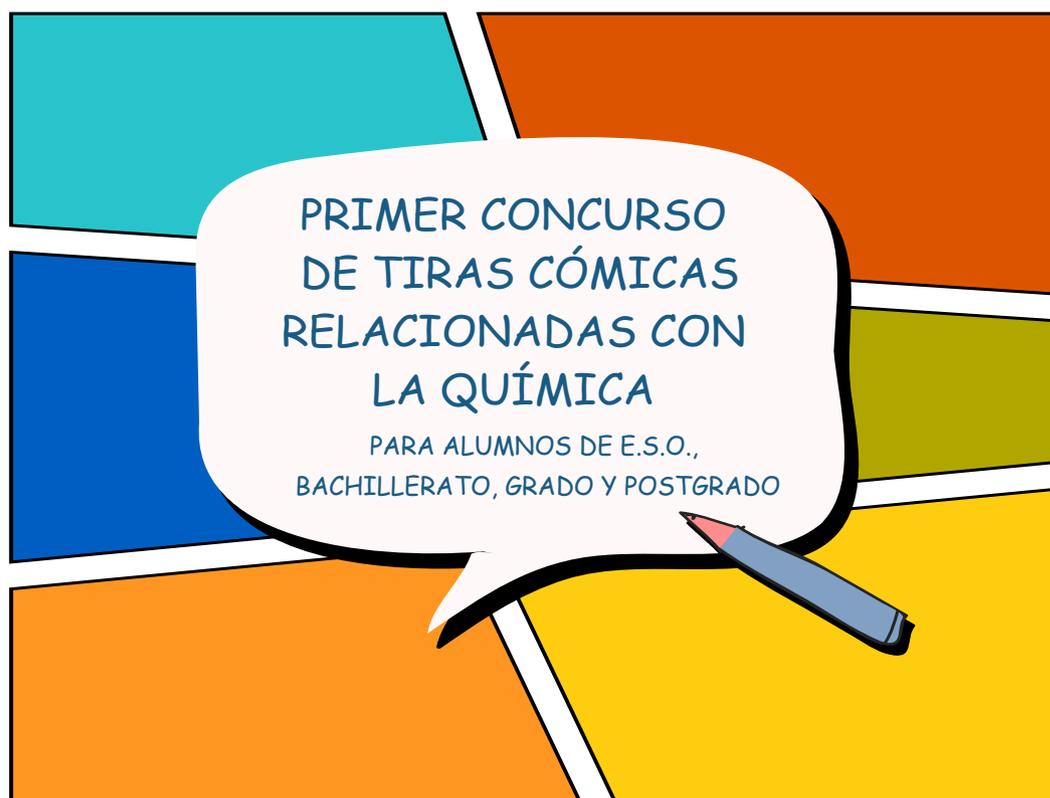
AGRADECIMIENTOS

H.L.O. agradece al Ministerio de economía y competitividad por el contrato de Formación del Profesorado Universitario (FPU). Los autores también agradecen al MEC por el apoyo económico prestado a través del proyecto CTQ2013-43264-R.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] R. Rosen, *Life itself: A comprehensive inquiry into the nature, origin, and fabrication of life*, Columbia University Press. New York. **2005**; A. K. Lal, *Astrophys Space Sci.* **2008**, *317*, 267-278.
- [2] P. Lloyd-Williams, F. Albericio, E. Giralt, *Chemical approaches to the synthesis of peptides and proteins*, CRC Press LLC, **1997**.
- [3] R. Chakravarty, R. Pandey, S. Joshi, *The Pharma Research*, **2011**, *5*, 11-32.
- [4] S. L. Miller, *Science* **1953**, *117*, 528; J. L. Bada, A. Lazcano, *Science*, **2003**, *300*, 745-746.
- [5] M. P. Robertson, G. F. Joyce, *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* **2012**, *4*, a003608.
- [6] A. Saghatelian, Y. Yokobayashi, K. Soltani, M. R. Ghadiri, *Nature* **2001**, *409*, 797-801.
- [7] D. H. Lee, J. R. Granja, J. A. Martinez, K. Severin, M. R. Ghadiri, *Nature* **1996**, *382*, 525-528; A. Moscatelli, *Nat. Nanotech.* **2012**, *7*, 549.
- [8] D. Deamer, S. Singaram, S. Rajamani, V. Kompanichenko, S. Guggenheim, *Phil. Trans. R. Soc. B* **2006**, *361*, 1809-1818.
- [9] S. Chandrudu, P. Simerska, I. Toth, *Molecules* **2013**, *18*, 4373-4388.
- [10] R. V. Ulijn, D. N. Woolfson, *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39*, 3349-3350.
- [11] R. P. Cheng, S. H. Gellman, W. F. DeGrado, *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 3219-3232.
- [12] D. Seebach, D. F. Hook, A. Glättli, *Biopolymers (Peptide Science)* **2006**, *84*, 23-37.
- [13] G. Guichard, I. Huc, *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 5933-5941.
- [14] D. Whitford, *Proteins: Structure and Function*, John Wiley & Sons, West Sussex, England, **2013**.
- [15] L. Pauling, R. B. Corey, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1951**, *37*, 205-211.
- [16] E. Galoppini, M. A. Fox, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 2299-2300.
- [17] D. P. Fairlie, M. L. West, A. K. Wong, *Curr. Med. Chem.* **1998**, *5*, 29-62.
- [18] L. Pauling, R. B. Corey, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1951**, *37*, 729.
- [19] K. Kobayashi, J. R. Granja, M. R. Ghadiri, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1995**, *34*, 95-98.
- [20] K. C. Chou, G. Némethy, H. A. Scheraga, *Biochemistry* **1983**, *22*, 6213.
- [21] J. Greenwald, R. Riek, *Structure* **2010**, *18*, 1244-1260.
- [22] B. Rubinov, N. Wagner, M. Matmor, O. Regev, N. Ashkenasy, G. Ashkenasy, *ACS Nano* **2012**, *6*, 7893-7901.
- [23] C. J. White, A. K. Yudin, *Nat. Chem.* **2011**, *3*, 509-524.
- [24] N. Sewald, H.-D. Jakube, *Peptides: Chemistry and Biology*, Wiley-VCH, **2009**; V. J. Hruby, *Nat. Rev. Drug Discov.* **2002**, *1*, 847-858.
- [25] R. Haubner, W. Schmitt G. Hölzemann S. L. Goodman, A. Jonczyk, H. Kessler *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 7881-7891.
- [26] S. A. Kates, N. A. Sole, C. R. Johnson, D. Hudson, G. Barany, F. Albericio, *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 1549-1552.
- [27] K. J. Jensen, J. Alsina, M. F. Songster, J. Vågner, F. Albericio, G. Barany, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 5441-5452.
- [28] L. D. Walensky, A. L. Kung, I. Escher, T. J. Malia, S. Barbuto, R. D. Wright, G. Wagner, G. L. Verdine, S. J. Korsmeyer, *Science* **2004**, *305*, 1466-1470.
- [29] R. A. Turner, A. G. Oliver, R. S. Lokey, *Org. Lett.* **2007**, *9*, 5011-5014.
- [30] L. Liu, K. Busuttill, S. Zhang, Y. Yang, C. Wang, F. Besenbacher, M. Dong, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2011**, *13*, 17435-17444; V. Jayawarna, R. V. Ulijn, *Supramolecular Chemistry: From Molecules to Nanomaterials*; P. A. Gale, J. W. Steed, Eds.; John Wiley & Sons, Ltd.: Chichester, UK, **2012**, Vol. 7, pp. 3525-3539.
- [31] S. Iijima, *Nature* **1991**, *354*, 56-58; M. A. Reed, J. N. Randall, R. J. Aggarwal, R. J. Matyi, T. M. Moore, A. E. Wetsel, *Phys. Rev. Lett.* **1988**, *60*, 535-537.
- [32] B. Eisenberg, *Acc. Chem. Res.* **1998**, *31*, 117-124.
- [33] A. L. Sisson, M. R. Shah, S. Bhosale, S. Matile, *Chem. Soc. Rev.* **2006**, *35*, 1269-1286; J. K. W. Chui, T. M. Fyles, *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *41*, 148-175.
- [34] R. Chapman, M. Danial, M. L. Koh, K. A. Jolliffe, S. Perrier, *Chem. Soc. Rev.*, **2012**, *41*, 6023-6041; D. Bong, T. Clark, J. Granja, M. Ghadiri, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 988-1011.

- [35] M. R. Ghadiri, J. R. Granja, R. A. Milligan, D. E. McRee, N. Khazanovich, *Nature* **1993**, *366*, 324-327.
- [36] N. Khazanovich, J. R. Granja, D. E. McRee, R. A. Milligan, M. R. Ghadiri, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 6011-6012.
- [37] M. R. Ghadiri, J. R. Granja, L. K. Buehler, *Nature* **1994**, *369*, 301-304.
- [38] J. R. Granja, M. R. Ghadiri, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 10785-10786; J. Sanchez-Quesada, H.-S. Kim, M. R. Ghadiri, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2503-2506.
- [39] S. Fernández-López, H. S. Kim, E. C. Choi, M. Delgado, J. R. Granja, A. Khasanov, K. Kraehenbuehl, G. Long, D. A. Weinberger, K. M. Wilcoxon, M. R. Ghadiri, *Nature* **2001**, *412*, 452-455.
- [40] N. Rodríguez-Vázquez, J. Outeiral, E. González-Freire, A. Fuentes, H. L. Ozores, A. Guerra, M. Panciera, J. M. Priegue, J. Montenegro, R. García-Fandiño, M. Amorín, J. R. Granja *Curr. Top. Med Chem.* En prensa.
- [41] M. Richman, S. Wilk, M. Chemerovski, S. K. T. S. Wärmländer, A. Wahlström, A. Gräslund, S. Rahimpour *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 3474-3484.
- [42] T. Xu, N. N. Zhao, F. Ren, R. Hourani, M. T. Lee, J. Y. Shu, S. Mao, B. A. Helms, *ACS Nano* **2011**, *5*, 1376.
- [43] M. Danial, C. M.-N. Tran, P. G. Young, S. Perrier, K. A. Jolliffe, *Nat. Commun.* **2013**, *4*, 2780-2793.
- [44] M. Danial, C. M.-N. Tran, K. A. Jolliffe, S. Perrier, *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 8018-8026.
- [45] M. Amorín, L. Castedo, J. R. Granja, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 2844-2845.
- [46] R. J. Brea, M. Amorín, L. Castedo, J. R. Granja, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 5710-5713; R. J. Brea, L. Castedo, J. R. Granja, *Chem. Commun.* **2007**, 3267-3269.
- [47] R. Garcia-Fandino, J. R. Granja, M. D'Abramo, M. Orozco, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 15678-15686.
- [48] R. Garcia-Fandiño, M. Amorín, L. Castedo, J. R. Granja, *Chem. Sci.* **2012**, *3*, 3280-3285.
- [49] M. Amorín, A. Pérez, J. Barberá, H. L. Ozores, J. L. Serrano, J. R. Granja, T. Sierra, *Chem. Commun.* **2014**, *50*, 688-690.
- [50] C. Reiriz, M. Amorín, R. García-Fandiño, L. Castedo, J. R. Granja, *Org. Biomol. Chem.* **2009**, *7*, 4358-4361; A. Guerra, R. J. Brea, M. Amorín, L. Castedo, J. R. Granja *Org. Biomol. Chem.* **2012**, *10*, 8762-8766.
- [51] N. Ashkenasy, W. S. Horne, M. R. Ghadiri, *Small* **2006**, *2*, 99-102.
- [52] C. Reiriz, R. J. Brea, R. Arranz, J. L. Carrascosa, A. Garibotti, B. Manning, J. M. Valpuesta, R. Eritja, L. Castedo, J. R. Granja, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 11335-11337.
- [53] J. Montenegro, C. Vázquez-Vázquez, A. Kalinin, K. E. Geckeler, J. R. Granja, *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 2484-2491.

**Bases:**

Se enviarán tres viñetas en cualquier estilo, de tamaño no superior a $\frac{1}{2}$ DIN A4 cuyo tema ha de ser la Química.

Se enviarán a la dirección pyanezs@ucm.es desde el 1 de enero al 30 de junio de 2015.

El jurado lo compone el Comité Editorial de Anales de Química. El fallo será inapelable y el premio consiste en 300 euros. La viñeta premiada será publicada en el número 3 de 2015 de Anales de Química.