

Estudio Conformacional, utilizando un Potencial Atomo-Atomo Empírico, de Análogos de Taurina

ANA M. RODRIGUEZ, GLADYS M. CIUFFO,
MARIO R. ESTRADA y ESTEBAN A. JAUREGUI

*Universidad Nacional de San Luis, Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia,
Cátedra de Química General, Chacabuco y Pedernera, 5700 San Luis, Argentina*

RESUMEN. Taurina es un β -aminoácido reconocido como neuromodulador. Se realizó un estudio conformacional sobre una serie de análogos estructuralmente relacionados a taurina: L-cisteinsulfínico, homotaurina, β -alanina, L-alanina y L-cisteína. Todos ellos se estudiaron en la forma zwitter-iónica, por ser la especie preponderante a pH fisiológico. Para realizar el análisis conformacional se empleó un potencial átomo-átomo empírico. En todos los casos estudiados se obtiene un equilibrio conformacional entre las diferentes conformaciones accesibles, sin encontrar un rotámero predominante. Se hace una discusión comparativa de las semejanzas y diferencias conformacionales y estructurales entre los compuestos estudiados, en función de su diferente actividad biológica. Se considera fundamental para la actividad la presencia de un grupo aniónico en posición β . Los compuestos activos presentan una importante población en conformaciones con una distancia del orden de los 3 Å entre el grupo amino y el grupo aniónico en posición β . Por otra parte, estos compuestos presentan una gran flexibilidad, que les permitiría adaptarse a los requerimientos del receptor.

SUMMARY. "Conformational Study of Taurine Analogues Using an Empirical Atom-Atom Potential". At the present time taurine (a β -aminoacid) is accepted as a neuromodulator. In this paper a conformational analysis of a series of taurine analogues have been performed: L-cysteinesulfinic acid, homotaurine, β -alanine, L-alanine and L-cysteine. Compounds were studied in the zwitter-ionic form, that prevails at physiological conditions. For conformational analysis an atom-atom potential calculation was used. A conformational equilibrium among different conformations was found for the different molecules studied. A comparative discussion on conformational and structural similarities and differences among the compounds studied, according to their different biological activities, has been made. The anionic group in β -position was considered of great importance for activity. An important conformational population with a common distance of about 3 Å between amino and β -anionic groups was found for all the active compounds. On the other hand these compounds show a great flexibility that allow them to fit structural requeriments of the receptor site.

PALABRAS CLAVE: Análogos de taurina; Análisis conformacional; Requerimientos estructurales.
KEY WORDS: *Taurine analogues. Conformational analysis. Structural requeriments.*

INTRODUCCION

Generalmente se acepta que algunos aminoácidos juegan un rol clave como inhibidores o activadores en la función del sistema nervioso central ¹. Es aceptado el rol antiepiléptico de taurina. Constituyente normal de nuestra dieta, se encuentra en el cerebro en concentraciones altas, siendo unas cuatro veces más alta en un cerebro en desarrollo que en el cerebro del adulto, a la inversa de otros neurotransmisores y es por ello el aminoácido libre más abundante en el cerebro del recién nacido.

Según Huxtable ², durante el período crucial del desarrollo neuronal el alto nivel de taurina puede actuar inhibiendo la actividad eléctrica en el cerebro en un momento en que otros sistemas regulatorios no están totalmente desarrollados.

El conocimiento actual permite adjudicar a taurina un rol de "neuromodulador", regulando la acción de otros transmisores u hormonas ³.

El contenido de taurina en los tejidos parece ser primariamente regulado por su acumulación vía el sistema de transporte de β -aminoácidos, que comparte con β -alanina. Este proceso de transporte es altamente específico. Las características bioquímicas de este sistema de transporte han sido estudiadas por Kulakowski *et al.* ⁴, quienes encuentran dos tipos de sitios con distinta afinidad: el sitio de alta afinidad estaría relacionado a un sistema de transporte ("carrier") de β -aminoácidos, de naturaleza glicoproteica, en tanto que la proteína de baja afinidad media algunas de las acciones de taurina en el miocardio y presentaría cooperatividad positiva.

Por el interés biológico que presenta, dado lo anteriormente expuesto, en el presente trabajo se hace un estudio conformacional de diferentes análogos de taurina, empleando un método de cálculo de conformaciones en solución, el cual ya fue probado

con éxito en trabajos similares ⁵⁻⁸. Se estudiaron dos sustancias con actividad en el sitio de alta afinidad: homotaurina y L-cisteinsulfínico. Además se estudiaron L-alanina y L-cisteína, dos aminoácidos que no presentan actividad en ese sitio ⁴.

El estudio conformacional de taurina y β -alanina, activos en el sitio de alta afinidad, cuyos resultados se consignan en este trabajo, fueron realizados en un estudio anterior ⁸.

METODO DE CALCULO

Para el cálculo de la energía conformacional de las moléculas en estudio (Figura 1), el sistema molecular es tratado como un sistema clásico, en el esquema de cuerpos rígidos (invariancia de longitudes y ángulos de enlace). Para las moléculas en solución se utiliza este modelo, suponiendo que una constante dieléctrica infinita (o al menos

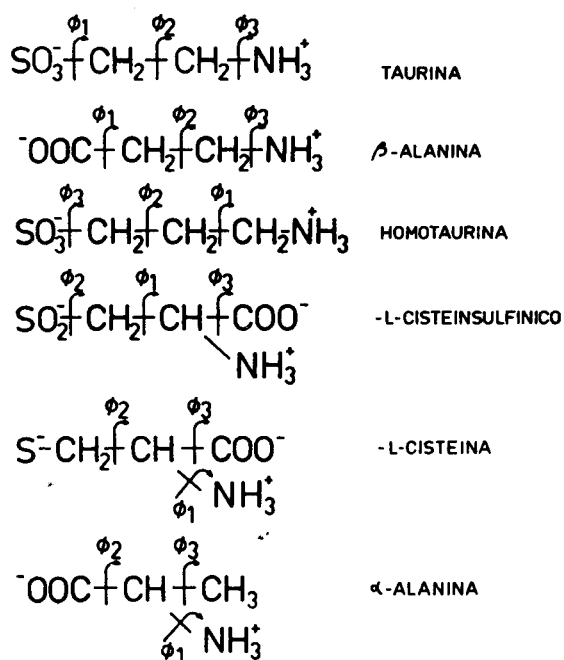


Figura 1. Moléculas estudiadas y sentido positivo de las rotaciones.

muy grande) eliminaría la interacción electrostática, simulando el efecto de la hidratación. En consecuencia, la energía conformacional de la molécula se calcula de acuerdo a:

$$E = E_r + E_{nb}$$

en donde E_r es la suma de la energía potencial debida a las rotaciones internas alrededor de enlaces simples, y E_{nb} es la suma de la energía potencial debida a las interacciones entre pares de átomos no enlazados. La energía de cada conformación se obtiene minimizando E . El procedimiento usado es igual al descrito en un trabajo previo ⁵. E_r y E_{nb} están expresados en kcal.mol⁻¹.

La convención usada para medir los ángulos de torsión es la misma utilizada en los trabajos anteriores ⁵⁻⁸. Si se tienen 4 átomos unidos 1-2-3-4, ϕ es el ángulo entre los enlaces 3-4 y 1-2, cuando se mira en la dirección del eje 3-2. Estos ángulos serán positivos cuando 3-4 se desplaza en sentido horario con respecto a 1-2. Si una conformación es *gauche* (G) o *trans* (T), depende exclusivamente de la magnitud de ϕ .

ϕ es el orden de 180° para las conformaciones T y del orden de $\pm 60^\circ$ para las conformaciones G.

Parámetros geométricos

Las longitudes y ángulos de enlace necesarios para el cálculo conformacional fueron tomados de la bibliografía existente sobre datos bibliográficos de Rx de taurina ⁹, β -alanina ¹⁰ y L-alanina ¹¹. Para aquellas que no se disponía de datos experimentales, se tomaron de moléculas similares ¹¹.

Funciones de potencial.

Rotaciones internas

Para el cálculo de la energía potencial debida a rotaciones internas alrededor de enlaces simples se utilizaron las funciones y barreras de potencial que se consignan en la Tabla 1 ¹².

Rotaciones Internas	Función de Potencial $V = V_0 (1 \pm \cos n \phi)/z$		
	V_0	n	signo
C-COO ⁻	0	3	-
C-C	2.88	3	+
C-NH ₃ ⁺	1.98	3	+
C-SO ₃ ⁻	2.1	3	+
C-SO ₂ ⁻	2.1	3	+

Tabla 1. Barreras de potencial (Kcal.mol⁻¹) y funciones para las rotaciones internas.

ϵ^a	H	C	N	O	S	r^{*b}
H	0,042	0,067	0,063	0,069	0,115	1,20
C		0,107	0,100	0,111	0,183	1,70
N			0,095	0,105	0,172	1,50
O				0,116	0,190	1,40
S					0,314	1,85

a) ϵ en kcal.mol⁻¹; b) r^* en Å.

Tabla 2. Parámetros ϵ y r^* de la función de Hill.

La energía potencial total debida a las diferentes rotaciones internas se calcula de la siguiente forma:

$$E_r = \sum_{k=1}^n E_r(k)$$

Minimizando los ángulos ϕ_1 a ϕ_n , se obtuvieron las diferentes conformaciones.

Interacciones entre pares de átomos no enlazados

Para el cálculo de la energía potencial debida a interacciones entre pares de átomos no enlazados, $E_{ij(nb)}$, se usó la función propuesta por Hill ^{5,13}. Este método despreja las interacciones entre átomos no enlazados unidos a un átomo común. La ecuación de Hill introduce solamente dos parámetros: α , el cual depende solamente de la distancia, y ϵ , el cual es un parámetro de energía:

$$E_{ij(nb)} = [-2.23 \alpha_{ij}^{-6} + 8.28 \times 10^5 \exp(-13.587 \alpha_{ij})] \epsilon_{ij}$$

donde: $\alpha_{ij} = r_{ij} / (r_i^* + r_j^*)$
 r_{ij} = distancia interatómica entre los átomos i y j (en Å).
 r_i^* y r_j^* = radios de Van der Waals de los átomos i y j (en Å).

La energía potencial debida a interacciones entre todos los pares de átomos no enlazados está dada por:

$$E_{nb} = \sum_{i < j} E_{ij(nb)}$$

los parámetros usados para los cálculos (ϵ , r^*) fueron aquéllos recomendados por Eliel *et al.*¹⁴ (Tabla 2).

Cálculo de la función de partición y de los porcentajes de población

En las moléculas de L-cisteinsulfínico, L-cisteína y L-alanina, debido a que hay un solo ángulo que es responsable de la conformación, la población de cada una de ellas fue calculada a partir de la diferencia entre

los mínimos de energía, a 37 °C. Para el equilibrio conformacional se tuvieron en cuenta solamente aquellas conformaciones cuyo mínimo local difería en menos de 2RT (1,232 kcal.mol⁻¹ a 310 °K). En cambio en homotaurina, donde la conformación está determinada por dos ángulos (ϕ_1 , ϕ_2), la función de partición y los porcentajes de población de cada conformación fueron calculados a partir de los mapas de energía conformacional, siguiendo el procedimiento desarrollado en diversos trabajos^{5-7, 15, 16}.

Para la construcción de los mapas de energía conformacional ϕ_1 se mantiene constante y ϕ_2 se barre desde 0 a 360°, en intervalos de 5°. De un barrido a otro ϕ_1 es incrementado en pasos de 5° hasta llegar a 360°. De esta forma se construye una red rectilínea, con las líneas separadas en 5° en cada dirección. Los puntos con energía mayores que 2RT (1,232 kcal.mol⁻¹ a 310 °K)

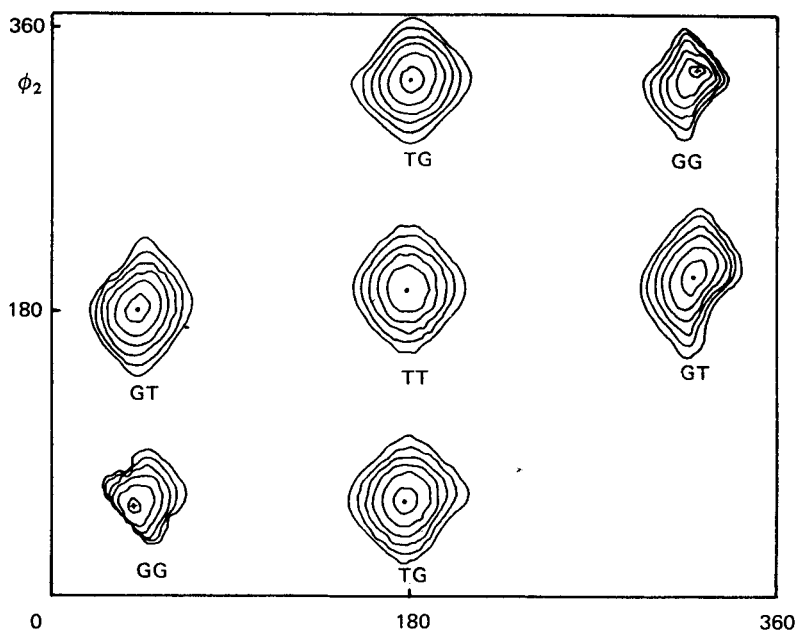


Figura 2. Mapa de energía conformacional de homotaurina zwitterión a 37 °C. (+) mínimo global, (o) mínimo local. La energía es indicada por curvas espaciadas en 0,5 kcal.mol⁻¹ relativas al mínimo global.

sobre el mínimo local de la conformación no fueron incluidos en el cálculo de la función de partición. De este modo se obtiene un número suficiente de puntos (más de 100) para calcular una función de partición de la distribución clásica de Boltzman (Z) para los valles correspondientes a cada conformación:

$$Z = \sum_{\phi_1, \phi_2} \exp [-E(\phi_1, \phi_2) / RT]$$

En la Figura 2 se muestran los distintos pozos de la superficie de potencial que corresponden a los barridos de la molécula de homotaurina.

RESULTADOS

En todos los casos se analizó el zwitterion, por ser la forma en que se encuentran predominantemente estos compuestos en solución a pH 7,4 y 37 °C.

Las conformaciones de mínima energía y las poblaciones correspondientes a cada una de las moléculas estudiadas se encuentran en la Tabla 3, donde G significa *gauche*, T *trans*, y en el caso en que es necesario tener en cuenta dos rotaciones se las ha denominado con combinaciones de las dos letras.

Taurina y β -alanina

Los resultados consignados en la Tabla 3 corresponden a los obtenidos en un trabajo previo⁸. En la Figura 3 se encuentra una vista espacial de las conformaciones encontradas para estas moléculas.

L-cisteinsulfínico

Para este compuesto se han obtenido 24 conformaciones, dentro del rango de 2 RT con respecto al mínimo global. Pero debido a que la rotación determinante de la conformación es ϕ_1 y las otras conformaciones se deben a rotaciones del grupo SO_2 (ϕ_2) y del grupo COO^- (ϕ_3), las cuales no

alteran la distancia S ... N, hemos agrupado todas aquellas conformaciones que presentan el mismo valor de ϕ_1 . La población que se consigna en la Tabla 3 es la suma de las poblaciones de las conformaciones de cada grupo y la energía es la que corresponde a la conformación de mínima energía de cada grupo. De acuerdo al valor que toma el ángulo ϕ_1 se obtienen tres grupos de conformaciones, de las cuales dos grupos son conformaciones plegadas (ϕ_1 del orden de 60° o 300°) y un grupo con conformaciones extendidas (ϕ_1 del orden de 180°). En las conformaciones plegadas la distancia entre N ... S es del orden de los 3 Å. Esta distancia sería importante para la interacción con el sitio receptor.

Como ha sido puntualizado por Kulakowski *et al.*⁴, ningún α -aminoácido compite con taurina por el sitio de unión. El L-cisteinsulfínico presentaría actividad en este sitio debido a que posee un grupo sulfínico cargado en posición beta.

En la Figura 4 se puede apreciar una vista espacial de una de las conformaciones plegadas obtenida para esta molécula (conformación 1).

Homotaurina

Se obtuvieron siete rotámeros: el GG totalmente plegado, los GT y TG parcialmente plegados, el TT totalmente extendido y los correspondientes enantiómeros de GG, GT y TG. En todas las conformaciones el valor de ϕ_3 , que corresponde a la posición del grupo SO_3 , toma valores del orden de los 60° (Tabla 3).

Según lo encontrado por Kulakowski *et al.*⁴, esta molécula presenta menor actividad en el sitio receptor. Nosotros entendemos que esta menor actividad se debería a que al elongar la cadena en un $-\text{CH}_2-$ difícilmente la molécula pueda alcanzar, en las distintas conformaciones, distancias entre N ... S del orden de los 3 Å.

Molécula	Actividad ^a	Conformación	ϕ_1	ϕ_2	ϕ_3	Energía kcal.mol ⁻¹	Población (%)	Distancia (Å)
Taurina	++	G ₁	60	65	57	-2,45	37	N...SO ₃ 3,2
		T	60	180	60	-2,22	26	4,1
		G ₂	60	295	63	-2,45	37	3,2
β -alanina	++	G ₁	91	60	58	-2,02	36	N...COO ⁻ 3,0
		G ₂	89	300	62	-2,02	36	3,0
		T	90	180	60	-1,80	28	3,9
-L-cisteinsulfínico	++	1 ^b	60	61	-5	-3,12	28	N...SO ₂ 3,14
		2 ^c	183	300	120	-3,34	38	4,08
		3 ^d	297	179	120	-3,02	37	3,17
Homotaurina	+	GG	56	61	53	-3,61	36	N...SO ₃ 3,75
		GT	61	180	60	-3,27	26	4,68
		TG	177	65	54	-3,21	27	3,85
-L-cisteína	-	TT	180	180	60	-3,09	11	5,25
		G ₁	57	61	0	-2,29	14	N...S ⁻ N...COO ⁻ 3,17 2,47
		G ₂	56	54	135	-2,08	10	
-L-cisteína	-	G ₃	56	59	214	-1,76	6	
		T ₁	59	190	-18	-2,02	9	
		T ₂	60	180	120	-2,36	16	4,01 2,47
		T ₃	60	180	261	-1,75	6	
		G ₄	62	297	-7	-2,28	14	
		G ₅	63	297	119	-2,35	16	3,19 2,47
L-alanina	-	G ₆	62	297	247	-1,94	8	
		1	54	119	61	-1,42	28	N...COO ⁻ 2,45
		2	53	241	61	-1,70	44	2,45
L-alanina	-	3	47	-6	60	-1,43	28	2,45

Tabla 3. Conformaciones, mínimos de energía, ángulos de torsión, poblaciones y distancias entre potenciales sitios activos a 37 °C obtenidos para las moléculas estudiadas. a) ver referencia 4. b) Grupo 1: integrado por ocho rotámeros con ϕ_1 del orden de 60°. c) Grupo 2: integrado por ocho rotámeros con ϕ_1 del orden de 180°. d) Grupo 3: integrado por ocho rotámeros con ϕ_1 del orden de 300°.

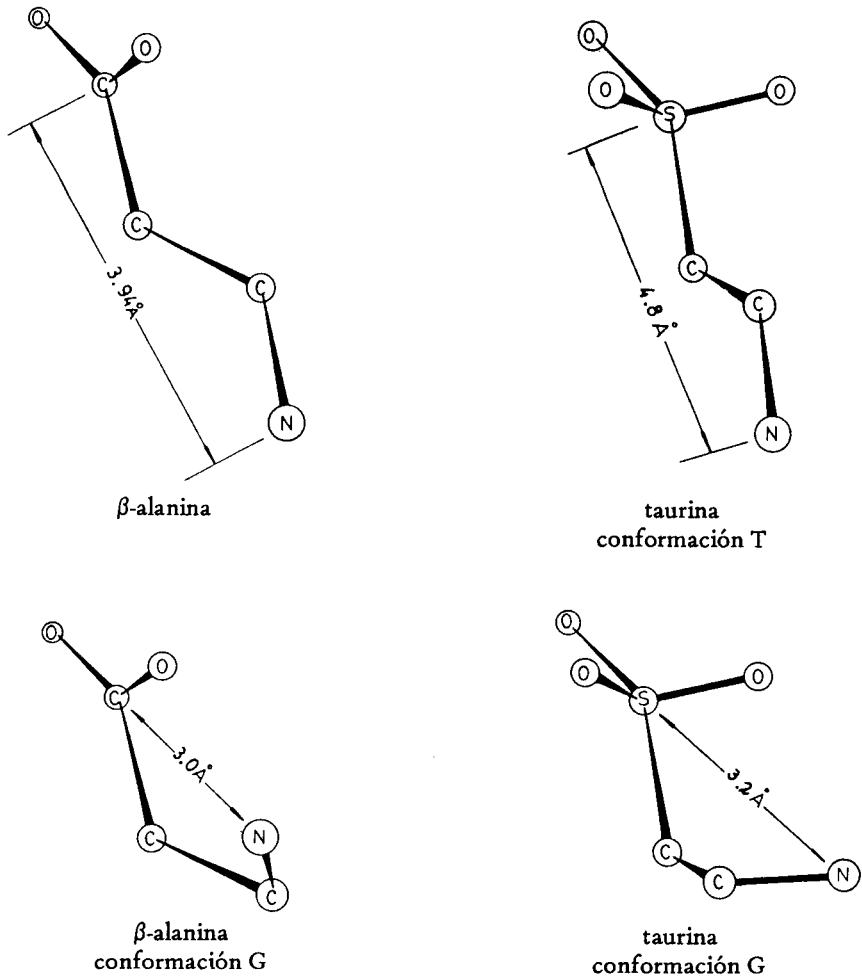


Figura 3. Vista espacial de algunas conformaciones de mínima energía de taurina y β -alanina, mostrando las distancias características (en Å). Para simplicidad se han eliminado del dibujo los átomos de hidrógeno.

En la Figura 4 se encuentra una vista espacial de la conformación de mínima energía obtenida para esta molécula.

L-cisteína

Para esta molécula se encontraron nueve conformaciones. Se observa que ϕ_1 toma en todos los casos valores del orden de los 60° . La rotación determinante de la conformación es ϕ_2 , que toma los valores alterna-

tivos de 60° , 180° y 300° . El grupo COO^- terminal adopta las tres posiciones permitidas (0° , 120° , 240°).

Para esta molécula se encontró un equilibrio conformacional, no existiendo una conformación preferida. En la Tabla 3 se encuentran las conformaciones y poblaciones obtenidas, las cuales muestran una amplia distribución, indicando que el compuesto puede pasar con facilidad de una confor-

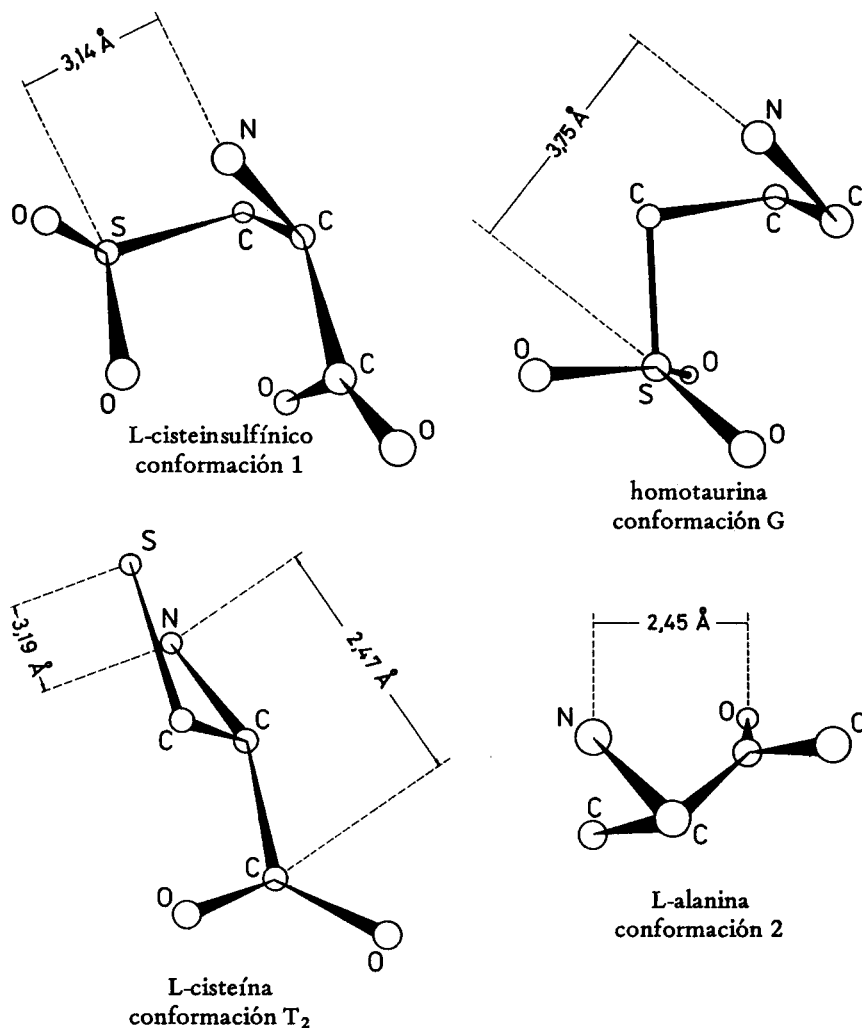


Figura 4. Vista espacial de algunas conformaciones de mínima energía de L-cisteinsulfónico, homotaurina, L-cisteína y L-alanina, mostrando las distancias características (en Å). Para simplicidad, se han eliminado en el dibujo los átomos de hidrógeno.

mación a otra. También se consignan las distancias entre los grupos potencialmente activos.

Si bien L-cisteína alcanza la distancia del orden de los 3 Å propuesta para el reconocimiento, no presenta actividad en este sitio. Probablemente el grupo cargado negativamente deba permanecer al estado oxidado para adaptarse a los requerimientos del receptor⁴.

En la Figura 4 se puede apreciar una vista espacial de la conformación de mínima energía obtenida para esta molécula.

L-alanina

Para esta molécula se encontraron tres conformaciones, observándose que ϕ_1 y ϕ_3 toman en todos los casos valores del orden de 60° . Si bien se encuentran tres conformaciones diferentes, esto se debe sola-

mente a la rotación del grupo COO^- (ϕ_2); las distintas posiciones que puede alcanzar éste debido al pequeño tamaño molecular no afectaría la distancia entre los grupos potencialmente activos, que para las tres conformaciones es del orden de 2,45 Å. La conformación preferida es la 2, con una población del 44% (Tabla 3).

Como ha sido puntualizado por Kulakowski *et al.*⁴ para la actividad en el sitio de alta afinidad es fundamental la presencia de un grupo aniónico en posición beta. Esto justificaría la falta de actividad de este compuesto, por tratarse de un α -aminoácido.

En la Figura 4 se muestra una vista espacial de la conformación de mínima energía obtenida para esta molécula.

CONCLUSIONES

De las moléculas estudiadas, L-cisteína y L-alanina son inactivas, mientras las demás presentan actividad en el sitio de alta afinidad propuesto por Kulakowski *et al.*⁴ De acuerdo a los datos experimentales obtenidos por estos autores, sólo los β -aminoácidos serían activos en este sitio de alta afinidad (β -carrier). Esto explica la falta de actividad de L-alanina. Por otra parte, cuando se comparan los resultados obtenidos en el presente trabajo se observa que cuando los grupos COO^- y NH_3^+ están en posición α sólo pueden alcanzar una distancia de 2,5 Å, inferior a las distancias alcanzadas por los otros compuestos.

En la Tabla 3 se observa que la rotación alrededor del enlace $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ en taurina, β -alanina, L-cisteinsulfínico y L-cisteína puede alcanzar en todos los casos las po-

siciones 60, 180 y 300, mostrando un comportamiento conformacional similar.

L-cisteína y L-cisteinsulfínico, los cuales sólo difieren en el grupo aniónico en posición beta, presentan una gran similitud conformacional, ya que la rotación alrededor del enlace $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ puede adoptar todos los valores permitidos, como también la rotación alrededor del enlace $-\text{CH}_2-\text{COO}^-$. Sin embargo, mientras L-cisteinsulfínico es activo, L-cisteína pierde dicha actividad. Esto nos lleva a pensar que el receptor requeriría un grupo aniónico oxidado en posición beta con respecto al grupo NH_3^+ .

Homotaurina muestra también una gran flexibilidad conformacional. Sin embargo, debido a la mayor longitud de la cadena no puede acceder a las distancias que alcanza taurina, β -alanina y L-cisteinsulfínico, argumento que podría esgrimirse como justificación de su menor actividad. A su vez, en la Tabla 3 se observa que taurina, β -alanina y L-cisteinsulfínico tienen una importante población en conformaciones que presentan una distancia del orden de los 3 Å entre el grupo aniónico en posición beta y el grupo NH_3^+ , distancia que sólo sería accesible a homotaurina en su conformación más plegada.

Por otra parte, la gran flexibilidad molecular de estos compuestos, les permitiría adaptarse a los requerimientos del receptor.

AGRADECIMIENTOS. Los cálculos del presente trabajo fueron realizados en el Centro de Cómputos de la Universidad Nacional de San Luis. Este trabajo ha sido subsidiado por CONICET y la Universidad Nacional de San Luis.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. De Feudis, F.V. (1981) *Trends in Neuro Sciences* 4: 13-5
2. Huxtable, R.J. (1982) *Trends in Pharmacol. Sciences* 3 (1): 21-5
3. Kontro, P. y S.S. Oja (1981) *Neurochemical Research* 6: 1179-91
4. Kulakowski, E.C., J. Maturo y S.W. Schaffer (1981) *Arch. Biochem. Biophys.* 210: 204-9
5. Jáuregui, E.A., M.R. Estrada, L.S. Mayorga y G.M. Ciuffo (1979) *J. Mol. Struct.* 54: 257-68
6. Jáuregui, E.A., M.R. Estrada, L.S. Mayorga, G.M. Ciuffo, R.R. Ibáñez y M.B. Santillán (1981) *J. Mol. Struct.* 72: 183-95
7. Ciuffo, G.M., L.S. Mayorga, M.R. Estrada, R.R. Ibáñez, M.B. Santillán y E.A. Jáuregui (1983) *J. Mol. Struct.* 92: 63-72
8. Jáuregui, E.A., G.M. Ciuffo, M.R. Estrada y M.B. Santillán (1984) *Acta Científica Venezolana* 35: 337-41
9. Okaya, Y. (1966) *Acta Cryst.* 21: 726-32
10. Parimala, J., L.M. Pant y A.B. Biswas (1974) *Acta Cryst.* 17: 24-8
11. Sutton, L.E. (Ed.) (1958) "*Tables of Interatomic Distances*". The Chemical Society. London
12. Stull, D.R., E.F. Westrum Jr. y G.C. Sinke (1969) "*The Chemical Thermodynamics of organic compounds*". John Wiley. New York, págs. 38-42
13. Hill, T.L. (1948) *J. Chem. Phys.* 16: 399-404
14. Eliel, E.L., N.L. Allinger, S.J. Angyal y S.A. Morrison (1965) en "*Conformational Analysis*", *Interscience*. New York, pág. 452
15. Farnell, L., W.G. Richards y G.R. Ganellin (1974) *J. Theoretical Biology* 43: 389-92
16. Richards, W.G. (1977) "*Quantum Pharmacology*" Butterwords. London, págs. 119-24