

## 7 Conclusiones

1. Se han diseñado, sintetizado y evaluado moléculas peptídicas, basadas en la secuencia Lys-Lys-Leu-Val-Phe-Phe-Ala, capaces de inhibir la citotoxicidad de A $\beta$ .
2. Los compuestos más activos son aquellos derivados en los que se emplean aminoácidos D y no se introduce ningún metilo en la secuencia nativa (**21**) o bien aquellos en los que se introduce un grupo N-metilo en la segunda fenilalanina (**17**). Los compuestos con dos o tres N-metilaminoácidos en posiciones alternas resultan menos activos, o sin actividad, en el ensayo biológico utilizado.
3. Los resultados obtenidos al utilizar aminoácidos D y al aplicar la aproximación *retro-enantio* sugieren que la interacción de los inhibidores con la proteína A $\beta$  es estereoespecífica. El cambio de los aminoácidos L del compuesto **2** por aminoácidos D (**16**) da lugar a la pérdida de actividad (indicando un reconocimiento estereoespecífico), mientras que al invertir el orden de los aminoácidos y utilizar residuos D se obtiene una molécula (**17**, secuencia retroenantiomérica de **2**) mucho más activa que la original (**2**).
4. Se ha observado que el análogo retroenantiomérico de la secuencia sin grupos N-metilo, **21**, presenta una actividad comparable a la observada en el caso de **17**, de forma similar a lo observado en el caso de **2** y **10**. Estos resultados muestran por tanto que la introducción de uno o más grupos metilo en cualquier posición, excepto la segunda fenilalanina, conducen a una pérdida de la actividad. Se ha observado que esta pérdida de actividad va acompañada de un aumento del contenido en estructura  $\beta$  en disolución (como demuestran los resultados de dicroísmo circular) y una pérdida de flexibilidad en la molécula (como apuntan los resultados de modelaje molecular).
5. Se ha comprobado, mediante el uso de dicroísmo circular, que la introducción de N-metilaminoácidos en la secuencia peptídica aumenta la tendencia de ésta a adoptar una conformación de lámina  $\beta$ .
6. Se ha podido verificar, mediante ensayos de estabilidad a la proteólisis en medio de cultivo, que los péptidos sintetizados con N-metilaminoácidos presentan una mayor

## 7 Conclusiones

---

resistencia a la degradación por proteasas, lo que aumenta su biodisponibilidad. Además, en las condiciones de trabajo habituales, se ha determinado que la degradación de los péptidos se produce, muy mayoritariamente, por el extremo N-terminal, haciendo que los péptidos con N-metilaminoácidos cerca de dicho extremo presenten una estabilidad comparable a la mostrada por los derivados sintetizados con D-aminoácidos.

7. Los diferentes tipos de ensayos realizados con la proteína  $\beta(1-42)$  han permitido comprobar la dificultad que entrañan tanto la manipulación como la obtención de esta proteína<sup>♦,208</sup>. El proceso de fibrillogénesis es muy complejo y el elevado número de factores que influyen en él hace que, frecuentemente, la comparación de resultados obtenidos en diferentes laboratorios sea difícil. Esta complejidad ha dificultado también una caracterización detallada del mecanismo por el cual actúan los inhibidores sintetizados en el presente trabajo. De manera preliminar, los estudios de TEM de las mezclas  $A\beta$ +inhibidor permiten afirmar que se puede asociar la capacidad inhibidora de la citotoxicidad de las moléculas **17** y **21** con una disminución de la tendencia de  $A\beta$  a formar fibras amiloides en su presencia. No obstante, y como ya se ha comentado anteriormente, los resultados obtenidos mediante TEM pueden indicar simplemente una disminución en el contenido de estructuras amiloides, difícil de cuantificar de forma precisa mediante esta técnica.

---

♦ Zagorski y colaboradores la han calificado como “péptido del infierno”<sup>208</sup>.

<sup>208</sup> Zagorski, M. G.; Yang, J.; Shao, H.; Ma, K.; Zeng, H.; Hong, A. *Methods Enzymol.* **1999**, 309, 189-235.