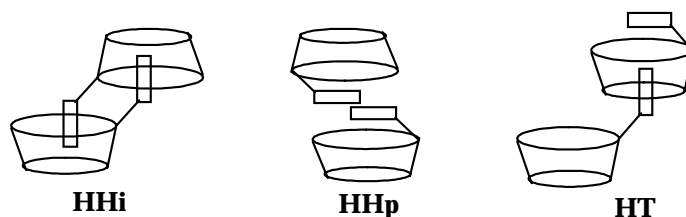


En el nostre grup d'investigació s'han realitzat molts estudis per mètodes computacionals de les ciclodextrines o cicloamiloses, que són oligosacàrids cíclics d' α -D-glucopiranososa i que a la natura provenen de la degradació bacteriana del midó. Les més habituals són les de 6, 7, i 8 unitats de glucosa o també α -, β -, i γ -ciclodextrina respectivament. Els nombrosos estudis realitzats dins del nostre grup d'aquests sistemes són els responsables de que en els darrers anys hagin sorgit noves vies d'investigació.

En la present tesis doctoral s'ha estudiat en primer lloc ciclodextrines de més de 8 unitats de glucosa, o també denominades ciclodextrines gegants. Aquestes també s'obtenen a la natura en quantitats minoritàries ja que les glicosiltransferases responsables de la hidròlisi del midó són enzims poc específics. Més concretament s'han estudiat les cicloamiloses de 14, 21, 26 i 28 unitats de glucosa i donat que hi ha pocs estudis conformacionals teòrics d'aquests sistemes s'han emprat quatre camps de forces diferents (parm94, parm99, glycam2000a i MM3*) per realitzar les simulacions de dinàmica molecular en fase gas i solució aquosa. A més, per millorar la caracterització d'aquests sistemes s'ha desenvolupat una nova nomenclatura que permet descriure la posició relativa de monosacàrids dins d'una cadena de polisacàrids. En resum, s'ha trobat que el camp de forces glycam 2000a en fase gas és el que millor permet modelitzar aquests sistemes, i que la nomenclatura desenvolupada permet identificar motius estructurals concrets, com per exemple l'estirament de les cicloamiloses i la formació d'hèlixs simples circulars.

D'altra banda s'han estudiat ciclodextrines modificades amb grups ancorats, més concretament, els dímers de la 3-O-(2-metilnaftil)- β -ciclodextrina. La síntesi d'aquesta molècula es va descriure al 1996¹ i dos anys més tard² es van publicar més anàlisis espectroscòpiques per determinar la posició del grup ancorat. Els autors van arribar a la conclusió que aquesta molècula existia en forma de dímer i van proposar tres tipus de dímers diferents:



En la present tesis doctoral s'han estudiat per mètodes de dinàmica i mecànica molecular els tres dímers, i s'ha arribat a la conclusió que el dímer HHi és el més estable entàlpica i entròpicament.

¹ Mc.Alpine, S.R; Garcia-Garibay, M.A., *J. Am. Chem. Soc.*, **1996**, *118(11)*, 2750-2751.

² Mc.Alpine, S.R; Garcia-Garibay, M.A., *J. Am. Chem. Soc.*, **1998**, *120(18)*, 4269-4275.

A més, l'anàlisi dels enllaços d'hidrogen entre les dues unitats de ciclodextrina ha demostrat que es formen cicles de 8 membres d'enllaços d'hidrogen correlacionats entre les dues ciclodextrines i que aquests són del tipus homodròmic.

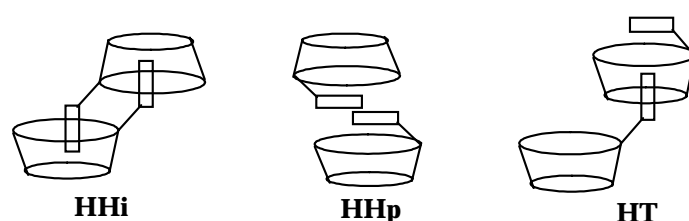
L'últim tema estudiat en aquesta tesis doctoral és el de sistemes on les ciclodextrines actuen com a hostes. S'ha avaluat la influència d'una β -ciclodextrina modificada (BCDm) en la degradació d'una proteïna de xoc tèrmic (Hsp) per part de la tripsina. Hi ha dades experimentals sobre aquest estudi³ que demostra que la BCDm no influeix en la degradació quan l'Hsp està sola però inhibeix la degradació quan l'Hsp està complexada amb l'ATP. Per explicar les dades hem postulat que o bé es pot formar un complex d'associació, de manera que la BCDm estaria bloquejant una part de l'Hsp, o bé que la BCDm inhibeix l'activitat de l'ATP. Els estudis de *docking* realitzats demostren que la primera teoria postulada podria ser certa ja que el complex de mínima energia es situa al voltant d'un aminoàcid que proporciona hidròlisi en presència de l'ATP però s'inhibeix quan s'afegeix la BCDm. No obstant, el fet de que la BCDm es situa molt propera a punt d'unió de l'ATP dins la proteïna suggereix que la segona teoria postulada també podria ser certa. Així doncs, aquest estudi ha quedat en un estadi inicial i s'hauria de continuar realitzant un rànquing dels complexos, així com estudis més centrats en avaluar la viabilitat de la segona teoria postulada.

³ Hamada, F.; Narita, M.; Makabe, A.; Itoh, H., *Journal of Incl. Phen. and Macro. Chem.*, **2001**, *40*, 83-88.

Several studies on cyclodextrins have been carried out in our research group using computational methods. Cyclodextrins are cyclic oligomers of α -D-glucose and in nature they come from hydrolysis of starch. The most common cyclodextrins contain 6, 7 and 8 glucose units (called α -, β -, and γ -cyclodextrin, respectively). The number and types of the studies performed in our group have called for new research lines in the recent past.

In this Ph.D. thesis, the conformational behaviour of cyclodextrins with more than 8 glucose units (or large ring cyclodextrins) has been studied. In nature, they represent a minor fraction because glycosyltransferases, the enzymes responsible of the starch hydrolysis, are non-specific. The cyclodextrins with 14, 21, 26 and 28 glucose units have been studied. Few theoretical conformational studies of these molecules exist in literature, and four different force fields (parm94, parm99, glycam2000a, and MM3*) were used to run the molecular dynamics simulations in gas phase and in water solution. Furthermore, with the aim of having a better description of these systems, a new nomenclature to describe the relative position of monosaccharides in a polysaccharides chain was developed. In summary, the glycam2000a force field in gas phase is the one that better model these systems, and the new nomenclature allow to identify structural motives, as the stretching of the whole cycloamylose ring or the formation of simple circular helices.

Modified cyclodextrins with appended groups were also studied: the dimers of 3-O-(2-methylnaphthyl)- β -cyclodextrin. Their synthesis was published in 1996⁴ and two years later⁵ the same authors published more spectroscopic analysis to determine the location of the appended group. They conclude that the molecule exists as a dimer and proposed three possible dimers:



In this thesis, these three dimers have been studied by molecular dynamics and molecular mechanics methods. It has been concluded that the HHi dimer is the most stable by both entropy and enthalpy. Furthermore, an analysis of the hydrogen bond showed that there are cycles of 8 members of correlated homodromic hydrogen bonds between the two cyclodextrins.

⁴ Mc.Alpine, S.R; Garcia-Garibay, M.A., *J. Am. Chem. Soc.*, **1996**, *118(11)*, 2750-2751.

⁵ Mc.Alpine, S.R; Garcia-Garibay, M.A., *J. Am. Chem. Soc.*, **1998**, *120(18)*, 4269-4275.

The last part of this thesis is devoted to the study of systems where a cyclodextrin acts as a guest. The influence of a modified β -cyclodextrin (BCDm) on the trypsin digestion of a heat shock protein (Hsp) was studied. Experimental data⁶ show that BCDm do not affect the digestion when the Hsp is free, but it partially inhibits the hydrolysis when the ATP is complexed with the Hsp. To explain this behaviour, two theories were postulated: i) BCDm and Hsp can form an association complex, thus BCDm blocks a point of hydrolysis, or ii) BCDm inhibits ATP's function. The docking studies agree with our first postulated theory. The complex of minimum energy has the BCDm around a Lys257. The hydrolysis on this aminoacid gives a protein fraction observed in the presence of ATP but not when the BCDm is added. However, in this complex, the BCDm is very close to the ATP binding site, suggesting that the second theory postulated above could also work. These studies are preliminar, and more studies should be performed for ranking the complexes and better evaluate the second postulated theory.

⁶ Hamada, F.; Narita, M.; Makabe, A.; Itoh, H., *Journal of Incl. Phen. and Macro. Chem.*, **2001**, *40*, 83-88.