



SardiniaChem 2006

GIORNATA DI STUDIO DEDICATA ALLA CHIMICA ORGANICA
DELLE MOLECOLE BIOLOGICAMENTE ATTIVE

5 Giugno 2006, Complesso Universitario di Monserrato, Cagliari



COMITATO ORGANIZZATORE:

Salvatore Cabiddu - Università di Cagliari, Giovanna Delogu - CNR Sassari,
Pier Paolo Piras - Università di Cagliari, Giampaolo Giacomelli - Università di Sassari

HANNO CONTRIBUITO ALLA REALIZZAZIONE DEL CONVEGNO:

UNIVERSITÀ DI CAGLIARI; UNIVERSITÀ DI SASSARI-Dipartimento di Chimica; CNR-Istituto di
Chimica Biomolecolare, Sezione di Sassari; SIGMA-ALDRICH Srl; EXACTA+OPTTECH Sardegna S.r.l.,
CARLO ERBA REAGENTI; VWR INTERNATIONAL s.r.l.

DETERMINAZIONE DEL PEPTIDE SINTETICO GLUTEN EXORPHIN C IN LIQUIDO CEREBROSPINALE MEDIANTE LC/MS

Emanuela Azara^{*}, Giuseppe Fanciulli[#], Giuseppe Delitala[#], Mauro Marchetti^{*}

^{*}Istituto di Chimica Biomolecolare, CNR Sezione di Sassari, Regione Balduina Li Punti, 07100 Sassari

[#]Dipartimento-Struttura Clinica Medica-Patologia Speciale Medica, Istituto di Clinica Medica, Università di Sassari, Viale San Pietro 8, 07100 Sassari

e-mail: e.azara@icb.cnr.it

L' identificazione di peptidi ad attività oppioide in sostanze di origine alimentare (latte, cereali, riso e spinaci), data ormai oltre vent'anni. Tali sostanze, per la loro origine esogena, l'analogia strutturale con alcune endorfine e la capacità di esercitare una azione sui recettori oppioidi sia *in vivo* che *in vitro*, vengono chiamate "esorfine"[1].

La famiglia delle Esorfine del Glutine (GE) è costituita da un gruppo di tetra e pentapeptidi identificati in digesti enzimatici di glutine; fra questi , l'esorfina C (GE-C), Tyr-Pro-Ile-Ser-Leu, (Fig.1) costituisce quella di più recente individuazione [2].

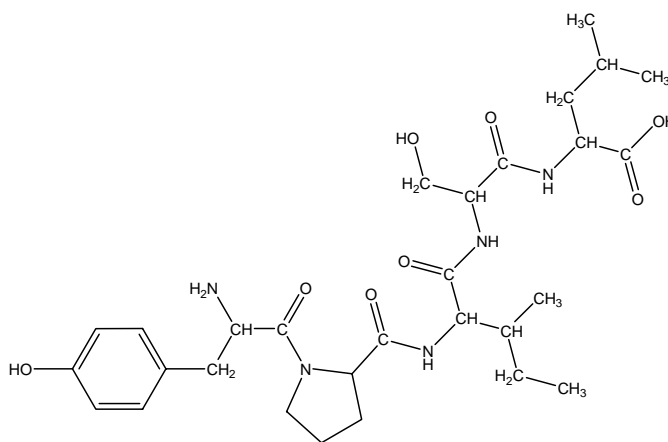


Fig. 1 Gluten Exorphin C

Tale peptide, dotato *in vitro* di attività oppioide sia sui recettori μ che δ , possiede una struttura differente da quella degli altri peptidi esogeni ed endogeni finora identificati, avendo un aminoacido aromatico, la tirosina (Tyr), in posizione *N*-terminale [2].

I dati finora disponibili circa i suoi effetti *in vivo* sono molto limitati: la GE-C somministrata per via intraperitoneale nell'animale da esperimento determina effetto

iperalgiesico e incremento dell'ansietà [3]; essa sembra pertanto caratterizzata *in vivo*, a dispetto della sua azione oppioide *in vitro*, da una attività di antagonista funzionale degli oppioidi.

I dati sulla cinetica della GE-C sono scarsi: *in vitro* sembra essere stabile per 5 ore a temperatura ambiente; *in vivo*, studi scintigrafici su GE-C marcata con ^{99}Tc mostrano una sua elevata concentrazione a livello cerebrale [4]. In sintesi, gli studi sulle azioni farmacologiche della GE-C e gli studi scintigrafici condotti sembrano suggerire che la GE-C sia in grado di attraversare la barriera emato-encefalica. Tuttavia, l'identificazione e la quantificazione di questo oppioide alimentare nel liquido cerebrospinale (CSF) non è mai stata riportata in letteratura.

Abbiamo pertanto messo a punto un metodo in grado di identificare e quantificare la GE-C nel CSF, analogamente a quanto da noi recentemente riportato per la GE-A5 [5]. La determinazione analitica della GE-C sintetica è stata effettuata con un sistema di cromatografia liquida interfacciata ad uno spettrometro di massa (LC/MS). La separazione cromatografica è basata su un'eluizione isocratica (70% di soluzione acquosa di acido acetico allo 0,1% – 30% acetonitrile) utilizzando una colonna Jupiter Proteo da 15 cm con diametro interno di 2.0 mm, con particelle da 4 μ , alla temperatura di 28°C e con flusso di 0,2 mL/min. Il sistema LC/MS è stato programmato per operare in modalità Positiva con monitoraggio del singolo ione 592.3 m/z. Il limite di rivelazione (LOD) e quello di quantificazione (LOQ) sono stati stabiliti, così come la precisione e l'accuratezza intra-day e inter-day.

I dati preliminari costituiscono a nostro giudizio una importante tappa nel processo di identificazione e quantificazione della GE-C nel CSF.

BIBLIOGRAFIA

- [1] Teschemacher H.; *Curr. Pharm. Des.* **2003**; 9(16),1331.
- [2] Fukudome S.; Yoshikawa M. *FEBS Lett.* **1993**;316(1),17
- [3] Dubynin VA.; Asmakova LS.; Sokhanenkova Niu.; Bepalova ZhD.; Nezavibat'ko VN.; Kamenskii AA. *Biull. Eksp. Biol. Med.* **1998**;125(2),153.
- [4] Ertay T.;Unak P.; Tasci C.; Zihnioglu F.; Durak H. *Appl. Radiat. Isot.* **2005**;62(6),883.
- [5] Fanciulli G.; Azara E.; Wood TD.; Dettori A.; Delitala G.; Marchetti M. *J Chromatogr B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* **2006**;833(2), 204.