

Estrutura e Termodinâmica da Interação do Peptídeo antimicrobiano CH1 em Membranas Modelo

Autores: Natália G. S. Pinheiro* (IC), Regina Adão (PG), Amanda Soares (IC), Victor H. O. Munhoz (PG), Dorila Piló Veloso (PQ), Jarbas Magalhães Resende (PQ). nataliagsp@ufmg.br

Departamento de Química, Universidade Federal de Minas Gerais. Av. Antônio Carlos, 6627, Pampulha, BH

Palavras Chave: Calorimetria, Dicroísmo Circular, Membranas, Peptídeos Antimicrobianos.

Introdução

Anuros sintetizam nas células da pele uma enorme variedade de substâncias biologicamente ativas, sendo que, dentre esses compostos, os peptídeos antimicrobianos têm despertado bastante interesse da comunidade científica. Esses peptídeos são fonte de intensa pesquisa para novos medicamentos desde a descoberta de sua letalidade para bactérias, efeito inibidor do crescimento de microorganismos invasores e sua relação com os mecanismos de defesa natural¹.

Grande parte dos estudos realizados centra-se na atividade biológica dos peptídeos, sem, no entanto, esclarecer o seu mecanismo de ação, o que é fundamental para maximizar o efeito antibiótico, diminuir a toxicidade e o efeito hemolítico².

Neste trabalho estudou-se a estrutura secundária e a interação com membranas miméticas de bactérias da cadeia 1 (CH1) da distinctina, que é um peptídeo heterodimérico, portanto constituído por duas cadeias distintas, sendo a cadeia 1 composta por 22 resíduos (Tabela 1) e a cadeia 2 por 25 resíduos de aminoácidos. A distinctina foi originalmente isolada da espécie *Phyllomedusa* distincta, um anuro encontrado na mata atlântica brasileira.

Resultados e Discussão

CH1 foi obtida via estratégia Fmoc de síntese em fase sólida, purificada por CLAE, sendo sua identidade confirmada por espectrometria de massas. Para efetuar os experimentos, o peptídeo foi solubilizado em tampão tris-HCl 13 mM de pH = 7,5.

Os modelos miméticos de membranas foram obtidos a partir da mistura dos lípidos POPC:POPG 20 mM (3:1), pelo método do filme lipídico e extrusão, sendo obtidos lipossomas constituídos de vesículas largas unilamelares de 100 nm.

Tabela 1: Sequência de resíduos de aminoácidos.

Monômero	Sequência	Carga
CH1	ENREV PPGFT ALIKT LRKCK II-NH ₂	+3

Os padrões de estrutura secundária da CH1 foram estudados por dicroísmo circular, tendo-se observado que a estrutura em α -hélice do peptídeo

é favorecida pelo aumento da concentração do lipossoma.

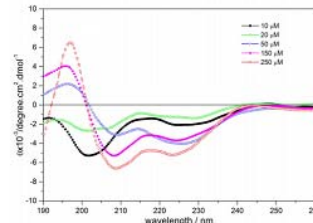


Figura 1: Espectros de dicroísmo circular de CH1 na presença de quantidades crescentes de POPC:POPG (3:1) mol:mol.

A interação de CH1 com as membranas foram estudadas por ITC, obtendo-se o ΔH , ΔS , ΔG e K_p da interação.

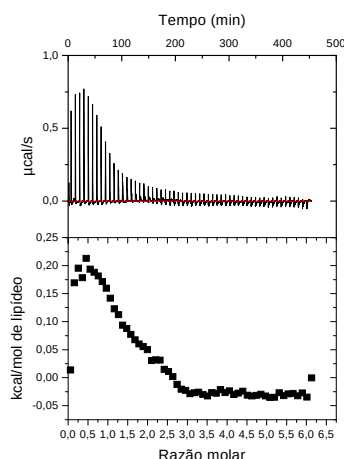


Figura 2: Curva de Titulação Calorimétrica da CH1 712,5 µM pelo lipossoma POPC:POPG 20 mM

Observa-se que a entalpia de interação da cadeia CH1 com as membranas miméticas de POPC:POPG é positiva, entretanto ΔG é negativo, sendo, portanto, o processo é entropicamente dirigido com o valor de ΔS maior que o valor de ΔH .

Conclusões

A estrutura do peptídeo é influenciada pela presença da membrana bacteriana, que induz a sua conformação em α -hélice, interfere na interação peptídeo membrana e, consequentemente, altera a sua atividade e seu mecanismo de ação sobre as bactérias.

Agradecimentos

PRPq-UFMG, FAPEMIG e CNPq.

¹ M.V. Prates, C.B. Júnior, Peptídeos Antimicrobianos, in, *Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento*, **2000**, pp. 30-36.

² Adão, R. C. Estudos Biofísicos da interação de péptidos antimicrobianos com membrans modelo. Tese de doutorado- Universidade do Porto. Portugal. **2010**, pp 284.