

## Estudos Calorimétricos da Interação entre o Peptídeo HSP-2 com Membranas Miméticas de Bactérias

Amanda A. Soares\* (IC), Regina C. Adão (PQ), Natália G.S. Pinheiro (IC), Victor Hugo O. Munhoz (PG), Jarbas M. Resende (PQ), Dorila Piló-Veloso (PQ). \*[amanda.soares89@yahoo.com.br](mailto:amanda.soares89@yahoo.com.br)

Departamento de Química, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), 31270-901 Belo Horizonte, MG, Brasil

Palavras Chave: Peptídeos antimicrobianos, ITC, membranas miméticas

### Introdução

Segundo dados da Organização Mundial de Saúde<sup>1</sup>, um dos grandes problemas atuais tem sido a resistência dos agentes infecciosos aos antibióticos clássicos. Nos últimos 30 anos, estudos têm sido realizados com peptídeos, extraídos de diversas fontes naturais, por possuírem atividade biológica contra bactérias, fungos e vírus<sup>2</sup>. Estas substâncias macromoleculares, naturais ou sintéticas, apresentam um elevado potencial na produção de novos medicamentos, em substituição aos antibióticos clássicos. Apesar de comprovada a ampla atividade biológica dos peptídeos, o seu mecanismo de ação ainda não está totalmente esclarecido, embora se saiba que a interação peptídeo-membrana citoplasmática da bactéria é um fator essencial para a atividade antimicrobiana. Este fato conduz a uma série de hipóteses para explicar os possíveis mecanismos de destruição e morte das bactérias pelo peptídeo<sup>3</sup>.

Nesse trabalho foi estudado o peptídeo Hilaseptina (HSP-2), originalmente isolado do anuro *Hypsiboas punctatus*, espécie nativa do Brasil, com atividade contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. Foram efetuados experimentos de calorimetria de titulação isotérmica (ITC) em duas temperaturas distintas (25° e 35°C) na tentativa de analisar a interação peptídeo-membrana a partir dos parâmetros termodinâmicos  $\Delta G$ ,  $\Delta H$ ,  $\Delta S$  e  $K_p$ .

### Resultados e Discussão

O peptídeo HSP-2 foi sintetizado em fase sólida pela estratégia Fmoc, purificado por CLAE e posteriormente liofilizado. A membrana mimética bacteriana foi preparada por uma mistura dos lipídeos POPC: POG 35 mM (3:1), em tampão Tris-HCl 13 mM, pelo método de filme lipídico e extrusão, obtendo-se vesículas largas unilamelares (LUV's) de 100 nm. Para a realização dos experimentos de ITC o peptídeo foi solubilizado em tampão Tris-HCl 13 mM de pH 7,5.

A Figura 1 apresenta as curvas de Titulação Calorimétrica de HSP-2, que mostram haver melhor interação peptídeo-membrana na titulação efetuada a 35°C, tanto pelo formato da curva de titulação, quanto pela maior quantidade de calor liberada. Esta observação pode ser explicada pela maior

35ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química

flexibilidade das cabeças e mobilidade das cadeias carbonadas na temperatura de 35 °C, facilitando a interação e inserção do peptídeo na membrana. Entretanto, os dois processos são favoráveis, indicado pelo  $\Delta G$  que é negativo.

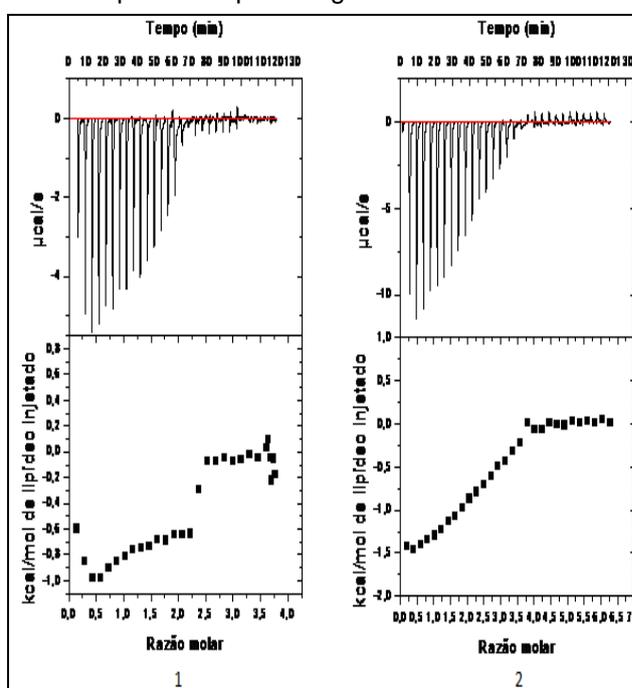


Figura 1: Curvas da titulação de HSP-2 (850  $\mu\text{M}$ ) com POPC:POPG (35 mM):1 - 25° e 2 - 35°C.

### Conclusões

A temperatura é um importante fator que pode alterar a efetividade da interação peptídeo-membrana e, conseqüentemente, a atividade biológica dos peptídeos.

### Agradecimentos

PRPq-UFMG, FAPEMIG, Marcelo Santoro e CNPq.

1. [www.who.int/tb/](http://www.who.int/tb/) (2009). "Multidrug-resistant tuberculosis elimination study underlines the need for strengthened control measures." Retrieved October 2009.
2. Hancock, R. E. W. and H.-G. Sahl (2006). "Antimicrobial and host-defense peptides as new anti-infective therapeutic strategies." *Nature Biotechnology* 24(12): 1551-1557.
3. Hancock, R. E. W. (2001). "Cationic peptides: effectors in innate immunity and novel antimicrobials." *The Lancet Infectious Diseases* 1(3): 156-164.