

# Ciclo(Pro-Leu) a 2,5-dicetopiperazina da comunicação compartilhada entre *Bacillus cereus* e *Enterobacter sakazakii*

Lucas Said de Sousa (IC)<sup>1</sup>, José Eraldo do N. Fontes (PG)<sup>1</sup>, Matheus R. Bofinger (PG)<sup>1</sup>, Anita J. Marsaioli (PQ)<sup>1\*</sup>. [anita@iqm.unicamp.br](mailto:anita@iqm.unicamp.br)

<sup>1</sup>Universidade estadual de Campinas, Instituto de Química, C. P. 6754, CEP: 13083-970, Campinas – SP

Palavras Chave: quorum-sensing, 2,5-dicetopiperazinas, auto-indutor

## Abstract

Identification of cyclo(Pro-Leu) in *Bacillus cereus* and *Enterobacter sakazakii* quorum-sensing (QS). 2,5-diketopiperazines are biologically active molecules present in microorganisms communication (QS). The cultivation of *E. sakazakii* and *B. cereus* together showed the depletion of the primary QS of *E. sakazakii*, but the biofilm production was still observed, leading to the discovery of a new QS system. The cyclo(Pro-Leu) was found on both cultivations and in co-cultive, being identified by MS and <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C NMR and 2DNMR.

## Introdução

2,5-dicetopiperazinas (2,5-DCP) têm atraído atenção devido as suas propriedades biológicas. Seu anel heterocíclico (Figura 1) é encontrado em uma gama de produtos naturais com atividade biológica. Este tipo de estrutura é produzido por uma grande variedade de organismos, evidenciando sua relevância na ecologia inter e intra espécies<sup>1</sup>.

Um aspecto ecológico relacionado às 2,5 dicetopiperazinas é a comunicação bacteriana via quorum-sensing. Através desse mecanismo algumas bactérias regulam a densidade celular, a expressão de genes e a produção de biofilmes bacterianos<sup>2</sup>.

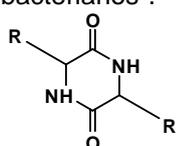


Figura 1. Estrutura genérica de 2,5-DCP

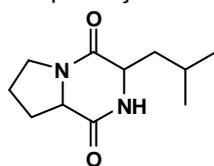


Figura 2. Ciclo(Pro-Leu)

## Resultados e Discussão

As bactérias estudadas ao longo do trabalho foram *Enterobacter sakazakii* (*Cronobacter spp.*), espécie Gram-negativa, e *Bacillus cereus*, espécie Gram-positiva, devido à produção de biofilmes por ambas e o fato de estarem presentes no mesmo nicho ecológico na indústria alimentícia<sup>3</sup>.

*E. sakazakii* quando em cultivo puro, utiliza como QS moléculas de Acil-homoserina lactona (AHL). Em co-cultivo com *B. cereus* observou-se a degradação dessas AHLs, porém sem inibição do biofilme (Figura 3) produzido pela mesma, evidenciando uma comunicação compartilhada de

QS<sup>4</sup>. Experimentos de cultivos puros e co-cultivo das espécies foram realizados e após extração e purificação dos compostos, observou-se a presença da 2,5-dicetopiperazina ciclo(Pro-Leu).

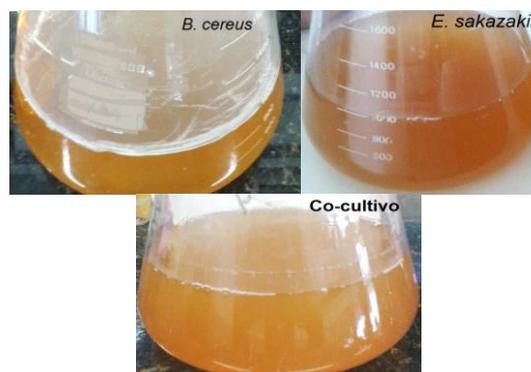


Figura 3. Biofilmes produzidos pelos cultivos.

A identificação foi feita por espectrometria de massas e <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C RMN, incluindo RMN 2D. Os dados foram comparados com relatos da literatura<sup>5</sup>.

## Conclusões

A formação de biofilmes no co-cultivo pode ser explicada pela ciclo(Pro-Leu) como comunicação compartilhada de QS. Dados espectroscópicos e espectrométricos comprovaram que a 2,5-dicetopiperazina encontrada foi a ciclo(Pro-Leu).

## Agradecimentos



<sup>1</sup>Martins, M.B.; Carvalho, I. Diketopiperazines: biological activity and synthesis. *Tetrahedron*, 812, 9923-9932

<sup>2</sup>Rumjanek, N. G.; Fonseca, M. C. C. Xavier, G. R. Quorum sensing em sistemas agrícolas. *Revista. Biotec. Ciên. Desenv.*, Belo Horizonte, Edição n° 33 - jul/dez.2004.

<sup>3</sup>Iversen, C.; Lane, M.; Forsythe, S. The growth profile, thermotolerance and biofilm formation of *Enterobacter sakazakii* grown in infant formula milk. *Lett. Appl. Microbiol.*, 38, 378-382, 2004.

<sup>4</sup>Araújo, F. D. D. S., Esper, L. M. R., Kuaye, A. Y., Sircili, M. P. & Marsaioli, A. J. N-acyl-homoserine lactones from *Enterobacter sakazakii* (*Cronobacter spp.*) and their degradation by *Bacillus cereus* enzymes. *J. Agric. Food Chem.* 60, 585-592 (2012).

<sup>5</sup>Wang, J.H.; Quan, C.S.; Qi, X.H.; Li, X.; Fan, S.D. Determination of diketopiperazines of *Burkholderia cepacia* CF-66 gas chromatography-mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem.*, 396, 1773-1779, 2010.