

Lipopeptídeos lineares derivados da surfactina: síntese, atividades surfactante e antifúngica

Thaina A. Lima (PQ)¹, Augusto Etchegaray Jr. (PQ)², M. Terêsa Machini (PQ)^{1*}

¹Departamento de Bioquímica, Instituto de Química, Universidade de São Paulo, Cidade Universitária, Butantã, São Paulo, Brasil. ²Pontifícia Universidade Católica de Campinas, Faculdade de Química, Ceatec. Rodovia D. Pedro I, km 136, Campinas, Brasil. **mtmachini@iq.usp*

Palavras Chave: *biossurfactante, antifúngico, surfactina, lipopeptídeo, síntese*

Abstract

Synthesis, surface activity and antifungal activity of lipopeptides derived from surfactin

Linear analogues of surfactin were synthesized and their surface and anticandidal properties were observed.

Introdução

Os biossurfactantes pertencem a um grupo estruturalmente diversificado de moléculas anfífilas produzidas por microrganismos. Entre os diversos biossurfactantes descritos na literatura, podemos citar o lipopeptídeo surfactina, produzido por *Bacillus subtilis*, que apresenta altíssima atividade superficial, além de propriedades emulsificantes, atividade antimicrobiana, antiadesão e antiviral.¹ Apesar das inúmeras aplicações agrícolas, industriais e em saúde, a sua aplicação médica tem sido obstruída pela sua alta atividade hemolítica. Além disso, sua produção comercial a partir do cultivo *in vitro* é muito cara e, portanto, praticamente inviável.

Nesse contexto, o desenvolvimento de análogos lineares se mostra interessante e a síntese química aparece como uma alternativa justificável. Portanto, o presente trabalho objetivou o desenvolvimento de análogos lineares sintéticos que exibissem altas atividades surfactante e antimicrobiana, porém baixa ação hemolítica, através de método reprodutível, ágil e de bom custo-benefício.

Resultados e Discussão

A partir da estrutura química da surfactina (Figura 1) foram desenhados análogos lineares amidados ou com carboxila terminal livre, acilados com ácido láurico no N-terminal, contendo apenas L-aminoácidos e/ou substituídos nos resíduos de aminoácidos 1 e/ou 5. Foi adotada uma abordagem que contemplasse a verificação da influência da carga líquida (+, - e nula) em pH neutro nas atividades de interesse. Os análogos foram obtidos pelo método da síntese de peptídeos em fase sólida (SPFS). Os ganhos de massa foram satisfatórios (12-60%), uma vez que a construção de sequências peptídicas anfífilas tende a ser bastante difícil devido à suscetibilidade à agregação².

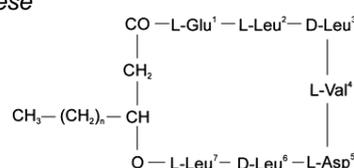


Figura 1. Estrutura química da surfactina.

Desligados dos suportes e totalmente desprotegidos, os análogos brutos foram caracterizados por RP-HPLC. A alta hidrofobicidade e tendência à formação de agregados de alguns deles dificultaram a purificação por RP-HPLC e, portanto, eles foram precipitados em solução aquosa e dessalinizados. A identificação dos produtos purificados foi feita por LC-MS e os conteúdos peptídicos determinados por hidrólise total/análise de aminoácidos dos hidrolisados.

Os análogos foram testados quanto à atividade surfactante em pH 3, 7 e 10, em concentrações variáveis (8, 14, 20 $\mu\text{g.L}^{-1}$), usando surfactina como referência. Ensaios de inibição do crescimento de *Candida krusei*, levedura de grande interesse clínico, também foram feitos em concentrações variáveis (0-100 $\mu\text{mol.L}^{-1}$). A Tabela 1 mostra parte dos resultados obtidos.

Tabela 1. Cargas líquidas dos análogos sintetizados, atividade surfactante e antimicrobiana.

Composto	Carga líquida pH 7	Colapso de gota (mm) em pH 7 a 8 $\mu\text{g.L}^{-1}$ a, b	Inibição
surfactina	-2	5	-
Análogo 1	-3	4,3	-
Análogo 2	-2	4,0	-
Análogo 3	-1	4,0	-
Análogo 4	0	4,9	-
Análogo 5	+1	3,5	+ ^c
Análogo 6	+2	3,3	+ ^c
H ₂ O	-	3,3	-

^a diâmetro da gota (maior tensoatividade). ^b 5 e 6 também foram ativos em pH 3. ^c 6,25-12,5 $\mu\text{mol.L}^{-1}$.

Conclusões

Os resultados abrem perspectiva para o desenho e síntese de novos lipopeptídeos com atividade surfactante ou ação antimicrobiana.

Agradecimentos

Os autores agradecem à FAPESP e CNPq.

¹Etchegaray, A. & Machini, M. T. *Microb. Pathog. Strateg. Combat. them Sci. Technol. Educ.* 951–959 (2013). ²Paradis-Bas, M., Tulla-Puche, J. & Albericio, F. *Chem. Soc. Rev.* 45, 631–654 (2016).