

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

Lucas Said de Sousa (IC)\*, José E. do N. Fontes (PG), Matheus R. Bofinger (PG), Anita J. Marsaioli (PQ)

### Resumo

As 2,5-dicetopiperazinas são moléculas utilizadas para comunicação bacteriana, ou quorum-sensing (QS). *Enterobacter sakazakii* e *Bacillus cereus* foram cultivadas isoladamente e em conjunto para avaliação da comunicação que ambas exercem e observou-se que ambas produziam a molécula Ciclo(Pro-Leu) para comunicação. A molécula foi então identificada e caracterizada utilizando-se de técnicas espectrométricas (CG-MS) e espectroscópicas (RMN de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e 2D).

### Palavras-chave:

Quorum-sensing, auto-indutor, 2,5-dicetopiperazina.

### Introdução

2,5-dicetopiperazinas (2,5-DCP) têm atraído atenção devido as suas propriedades biológicas. Este heterociclo 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* (QS). Através desse mecanismo algumas bactérias regulam a densidade celular, a expressão de genes e a produção de biofilmes bacterianos<sup>2</sup>.

### 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 da indústria de laticínios<sup>3</sup>.

*E. sakazakii* quando em cultivo puro, utiliza como QS moléculas de Acil-homoserina lactonas (AHLs). Em co-cultivo com *B. cereus* observou-se a degradação dessas AHLs, porém sem inibição do biofilme (Figura 2) produzido pela mesma, evidenciando uma comunicação cruzada 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 1).

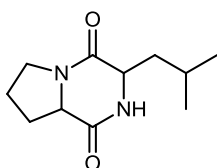


Figura 1. Estrutura da Ciclo(Pro-Leu)

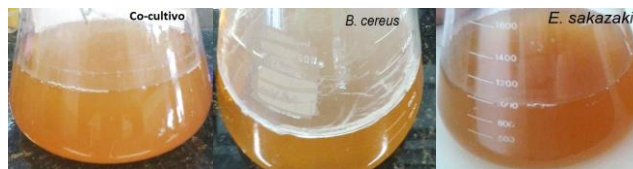


Figura 2. Cultivos isolados e conjunto de *B. cereus*, *E. sakazakii*

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

### Conclusões

A formação do biofilme bacteriano no co-cultivo pode ser explicada pelo auto-indutor Ciclo(Pro-Leu). Dessa forma, trata-se de um mecanismo compartilhado de comunicação via QS. Esta comunicação cruzada interespecies é inédita. Dados espectroscópicos e espectrométricos confirmam que a 2,5-dicetopiperazina encontrada foi a Ciclo(Pro-Leu).

### Agradecimentos

CAPES, CNPq, Petrobrás (Proj. 4955), FAPESP (Proj. 2010/51278-0).

<sup>1</sup>Martins, M.B.; Carvalho, I. *Tetrahedron*, 812, 9923-9932

<sup>2</sup>Rumjanek, N. G.; Fonseca, M. C. C. Xavier, G. R. *Revista. Biotec. Ciên. Desenv.* Edição nº 33 - jul/dez.2004.

<sup>3</sup>Iversen, C.; Lane, M.; Forsythe, S. *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. *J. Agric. Food Chem.* 60, 585-92 (2012).

<sup>5</sup>Wang, J.H.; Quan, C.S.; Qi, X.H.; Li, X.; Fan, S.D. *Anal Bioanal Chem*, 396, 1773-1779, 2010.