



Identificação de novos inibidores de PBPs, agentes microbianos em potencial

Caique Camargo Malospírito*, Paulo Vinícius da Mata Madeira, Andréa Dessen.

Resumo

A parede celular bacteriana é formada principalmente por uma estrutura chamada de peptidoglicano que garante rigidez e proteção contra o estresse osmótico. A produção de peptidoglicanos é iniciada intracelularmente e sua polimerização acontece no espaço periplasmático com ajuda das Penicillin-Binding Proteins (PBPs) que catalisam reações de transglicosilação e transpeptidação dos peptidoglicanos. Por se localizarem no espaço periplasmático e serem essenciais para a sobrevivência bacteriana, as PBPs são os primeiros alvos dos antibióticos da classe dos beta-lactâmicos. Com o aumento das linhagens resistentes a esse antibiótico, a procura de novos inibidores se tornou de extrema importância. Nesse estudo mostramos possíveis inibidores para a PBP2X do patógeno humano *Streptococcus pneumoniae*. Durante o screening foram utilizadas bibliotecas formatadas no Laboratório Nacional de Biociências – LNBio contendo frações de extratos de produtos naturais das quais 1920 frações testadas 21 mostraram dose-dependente resposta.

Palavras-chave:

Parede Bacteriana, Penicillin-Binding Protein, Antibiótico

Introdução

A parede celular bacteriana é formada principalmente por uma estrutura conhecida como peptidoglicano, responsável pela manutenção da forma bacteriana e proteção contra estresse osmótico. O peptidoglicano constitui uma rede tridimensional composta por heterodímeros de ácido N-Acetilglicosamina (NAG) e N-AcetilMurâmico (NAM) conectados através de ligações cruzadas entre cadeias peptídicas associados ao NAM (Macheboeuf et al., 2006).

Os passos finais da associação do peptidoglicano é catalisada no espaço periplasmático pelas Penicillin-Binding Proteins (PBP) que reconhecem as sequências finais da cadeia peptídica e catalisam uma reação de transpeptidação com as cadeias adjacentes conferindo, desse modo, rigidez à estrutura (Mattei et al., 2010).

Os antibióticos beta-lactâmicos são a principal classe de moléculas inibidoras das PBPs, pois se ligam covalentemente ao sítio ativo da molécula causando a perda da sua função e por consequência a desestabilização do peptidoglicano levando a morte bacteriana (Nikolaidis et al., 2013). Com o aumento das linhagens resistentes a esse antibiótico, a procura de novos inibidores se tornou de extrema importância. Nesse estudo utilizamos a PBP2x do patógeno humano *Streptococcus pneumoniae* no screening das moléculas com potencial inibitório de PBP.

Resultados e Discussão

Durante o screening foi utilizada a biblioteca formatada de produtos naturais disponível no Laboratório Nacional de Biociências – LNBio. Para isso, utilizamos o método de polarização de fluorescência com o fluoróforo beta-lactâmico Bocilina-FL para a identificação das frações dose-dependente, com a ajuda do doutorando Paulo V. M. Madeira. Das 1920 frações testadas 21 mostraram dose-dependente resposta (Figura 1).

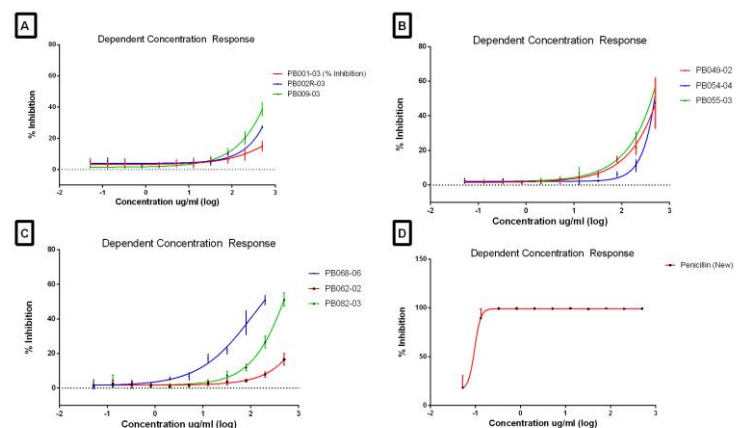


Imagem 1. Ensaio de concentração dependente utilizando o método de polarização por fluorescência com 9 das 26 frações (A – C) e o controle penicilina G (D).

Conclusões

A partir das 26 frações hits previamente identificados pelo doutorando Paulo Madeira, somente 21 obtiveram dose-resposta dependente. Através da análise dos perfis das curvas, pode-se dizer que nenhuma apresentou melhor perfil que o controle Penicilina G, porém todos têm potencial de ser estudados e serão priorizados nos estudos estruturais.

Agradecimentos

Gostaria de agradecer ao Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq) pelo suporte financeiro, ao doutorando Paulo V. M. Madeira por todo conhecimento adquirido para o desenvolvimento desse projeto e a Dra. Andréa Dessen por me dar oportunidade de estagiar no seu laboratório.

1. Nikolaidis, I., Favini-Stabile, S. & Dessen, A. *Protein Sci.* **2014**, 23, 243–259.
2. Mattei, P. J., Neves, D. & Dessen A. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **2010**, 20, 749–755.
3. Macheboeuf, P., Contreras-Martel, C., Job, V., Dideberg, O. & Dessen, A. *FEMS Microbiol. Rev.* (2006) 30, 673–691.