

## Estabilidad mejorada a Proteasas del péptido antimicrobiano Pin2 substituido cond-Amino Acids

G. Carmona, A. Rodriguez, D. Juarez, G. Corzo, E. Villegas

Los péptidos antimicrobianos (AMP) catiónicos han atraído un gran interés como nueva clase de antibióticos que podrían ayudar en el tratamiento de enfermedades infecciosas causadas por bacterias patógenas. Sin embargo, algunos AMP con alta actividad antimicrobiana también son altamente hemolíticos y están sujetos a la degradación proteolítica de las proteasas humanas y bacterianas que limitan sus usos farmacéuticos. En este trabajo se construyó un d-diestereoisomero de Pandinine 2, dPin2, para observar si mantenía la actividad antimicrobiana en el mismo rango que el parental, pero con el propósito de reducir su actividad hemolítica hacia eritrocitos humanos y mejorar su capacidad para resistir la degradación proteolítica. Aunque las características de estructura de alfa hélice con una prolina que divide la estructura en dos hélices y su carácter hidrófobico l- y d-Pin2 fueron en cierta medida muy similares. Se logró una reducción importante en la actividad hemolítica de d-Pin2 (30-40%) en comparación con la de l-Pin2 sobre los eritrocitos humanos. Además, d-Pin2 tiene una actividad antimicrobiana con un valor de CIM de 12.5  $\mu$ M hacia *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Streptococcus agalactiae* y dos cepas de *Pseudomonas aeruginosa* en ensayos de difusión en agar, pero fue menos potente que la de l-Pin2. Sin embargo, la actividad antimicrobiana de d-Pin2 fue igual de efectiva que la de l-Pin2 en los ensayos de microdilución. Sin embargo, cuando se incubaron d- y l-Pin2 con tripsina, elastasa y suero humano completo, solo d-Pin2 mantuvo su actividad antimicrobiana hacia todas las bacterias, en suero humano diluido ambos d- y l-Pin2 mantuvieron una estabilidad peptídica similar. Finalmente, cuando se incubaron l- y l-Pin2 con proteasas del cultivo de un aislado de pie diabético (DFU3 por sus siglas en inglés) de *P. aeruginosa*, una cepa aislada clínica, d-Pin2 mantuvo su actividad antibiótica mientras que L-Pin2 no fue eficaz.