

**AVALIAÇÃO DO EFEITO DE DERIVADOS DO ÁCIDO HIDROXÂMICO NA
VIABILIDADE CELULAR DE MICRO-ORGANISMOS CAUSADORES DE DOENÇAS
BUCAIS**

***Evaluation of the Effect of Hydroxamic Acid Derivatives on the Cellular Viability of
Microorganisms causing Oral Diseases***

Nathália Lima Caldas¹
Leandro Araujo Lobo²
Regina M. C. P. Domingues³
Alane Beatriz Vermelho⁴
Giseli Capaci Rodrigues⁵

Recebido em: 07 fev. 2016
Aceito em: 26 abr. 2016

RESUMO: As doenças bucais (DB) são prevalentes em todo mundo e apresentam-se como grave problema de saúde pública. Inúmeros fatores são responsáveis por essas doenças, desde a má higienização bucal até determinados tipos de alimentos e medicamentos que promovem a diminuição do pH bucal e conseqüentemente a desmineralização dentária e/ou a formação do biofilme bacteriano. Micro-organismos predominantemente anaeróbios Gram-positivos e Gram-negativos, como *Streptococcus mutans* e *Porphyromonas gingivalis*, respectivamente, apresentam grande incidência em DB, causando a cárie e a periodontite. A *P. gingivalis* expressa fatores de virulência como o lipopolissacarídeo (LPS). O LPS é um componente tóxico que confere impermeabilidade a célula bacteriana dificultando a ação de medicamentos, além de promover a ativação de metaloproteases da matriz (MMPs) que podem gerar a degradação de proteínas da matriz dentárias. As metaloenzimas vem sendo estudadas como um importante alvo quimioterápico, assim como a enzima LpxC de bactérias Gram-negativas, responsável pela biosíntese do Lipídio A que faz o ancoramento na parede celular do lipopolissacarídeo (LPS). Nesse sentido, os derivados do ácido hidroxâmico (DAH) vem se destacando como inibidores de metaloenzimas. Assim, este estudo realizou a avaliação do efeito de cinco DAH (D1-5) na viabilidade celular do *S. mutans* e *P. gingivalis*. A ação mais promissora foi obtida frente ao micro-organismo Gram-negativo avaliado, *P. gingivalis*, no qual foi obtido cerca de 80% de inibição do crescimento para quatro DAH (D1-4) a uma concentração de 256 µM. Esses resultados foram ao encontro da literatura científica que apontam os DAH como promissores inibidores de micro-organismos Gram-negativos.

Palavras-chave: Doenças bucais. Ácidos hidroxâmicos. Tratamento de doenças bucais.

||| ABSTRACT: The oral disease (OD) are prevalent worldwide and present themselves

¹ Graduada em Odontologia, Universidade do Grande Rio – UNIGRANRIO. E-mail: caldas.nath@hotmail.com.

² Professor Adjunto Doutor, Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ. E-mail: lobol@micro.ufrj.br.

³ Professor Adjunto Doutor, Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ. E-mail: rdomingues@micro.ufrj.br.

⁴ Professor Associado Doutor, Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ. E-mail: abvermelho@micro.ufrj.br.

⁵ Professor Adjunto Doutor, Universidade do Grande Rio – UNIGRANRIO. E-mail: giseli.rodrigues@unigranrio.edu.br.

as serious public health problem. Several factors are responsible for these diseases, since poor oral hygiene to certain types of foods and medicines that promote the reduction in oral pH, thus tooth demineralization and/or the formation of bacterial biofilms. Predominantly anaerobic microorganisms Gram-positive and Gram-negative, such as *Streptococcus mutans* and *Porphyromonas gingivalis*, respectively, are of great incidence in OD, such as caries and periodontitis. *P. gingivalis* expresses virulence factors such as lipopolysaccharide (LPS). The LPS is a toxic component that gives impermeability bacterial cell hindered the action of drugs, and promote the activation of matrix metalloproteinases (MMPs) that can cause the degradation of the dental matrix proteins. The metalloenzymes has been studied as promising chemotherapeutic target, as well as the LpxC enzyme in Gram-negative bacteria responsible for the biosynthesis of Lipid A which makes the anchorage to the cell wall lipopolysaccharide (LPS). In this sense, derivatives of hydroxamic acid (DHA) has emerged as metalloenzymes inhibitors. Thus, this study was conducted to evaluate the effect of five DHA (D1-5) on the cell viability of *S. mutans* and *P. gingivalis*. The most promising activity was obtained against the Gram-negative microorganism evaluated, *P. gingivalis*, which was obtained about 80% of growth inhibition for four DHA (D1-4) at a concentration of 256 μ M. These results were to meet the scientific literature that point out the promising DHA as inhibitors of gram-negative microorganisms.

Keywords: Oral Diseases. Hydroxamic acids. Treatment of oral diseases.

INTRODUÇÃO

A saúde bucal é essencial para a uma vida saudável e as doenças que afetam a cavidade bucal são consideradas um grave problema de saúde pública, especialmente em países de economia em desenvolvimento (PUPE et al. 2011). Em todo o mundo, a cárie é a doença bucal que mais acomete os indivíduos de todas as faixas etárias, sendo de 60 a 90% das crianças em idade escolar e quase 100% dos adultos possuem ao menos uma cárie dentária. Adicionalmente, cerca de 30% das pessoas com idades entre 65-74 anos não possuem mais dentes naturais devido às doenças bucais. Nesse sentido, projeções futuras registram um aumento expressivo da população idosa no Brasil e no mundo. Segundo a Organização das Nações Unidas (ONU), em 2025, haverá cerca de 1.200 milhões de pessoas com 65 anos, assim, entende-se que as falhas para atender as necessidades de saúde bucal hoje podem se transformar em um problema de saúde grave e de alto custo futuro (OMS, 2015).

Inúmeros fatores são responsáveis pelas doenças que acometem a cavidade oral, desde a má higienização bucal até determinados tipos de alimentos e medicamentos que promovem a diminuição do pH oral, conseqüentemente a desmineralização dentária e/ou a formação do biofilme bacteriano (MAI et al. 2011; SHARMA; DESHPANDE, 2011).

O acúmulo de micro-organismos Gram-positivos e Gram-negativos, tais como o *Streptococcus mutans* e a *Porphyromonas gingivalis* pode levar a formação de biofilmes, placas bacterianas (MAI et al., 2011).

O *Streptococcus mutans* existe quase exclusivamente em biofilmes orais e é

considerado o principal agente etiológico da cárie dentária em humanos, dentre outras doenças como, por exemplo, a endocardite subaguda. Apesar de centenas de espécies de micro-organismos já terem sido isolados a partir de biofilmes dentários, décadas de estudos tem indicado o *S. mutans* como o agente etiológico primário da cárie dentária em todo o mundo e está associado com as rápidas mudanças fisiológicas que ocorrem na cavidade oral como a disponibilidade de nutrientes e oscilação de pH (LIU et al., 2011; LIU et al., 2012).

A bactéria anaeróbia Gram-negativa *Porphyromonas gingivalis* é considerada um importante agente etiológico da periodontite. A *P. gingivalis* expressa um número de fatores de virulência potenciais, incluindo fímbrias, cisteínasptidases e lipopolissacarídeo (LPS). Enquanto as fímbrias são consideradas fatores críticos na adesão e invasão de células hospedeiras, as cisteínasptidases, também conhecidas como *gingipains*, têm sido implicadas a papéis-chave relacionados com a colonização de tecidos, aquisição de nutrientes, evasão de acolhimento defesa imunológica e destruição dos tecidos. O LPS é um componente tóxico que confere impermeabilidade a célula bacteriana dificultando a ação de medicamentos e é responsável por induzir a secreção de mediadores pró-inflamatórios, inibir a atividade de fosfatase alcalina do colagênio tipo 1 e a produção de osteocalcina, bem como a diferenciação em células osteoblásticas humanas estaminais ligamento periodontal. Além disso, o LPS da *P. gingivalis* pode promover também a ativação de metaloproteases da matriz (MMPs) por células do sistema imunológico da mucosa (GRENIER et al., 2015).

O envolvimento de metalopeptidases de matriz (MMPs) e seus homólogos na patogênese da doença microbiana tem sido extensivamente investigado nos últimos anos. Vários estudos demonstraram as múltiplas funções dessas enzimas em infecções bacterianas e recentes relatos vem indicando que inibidores das metalopeptidases (IMMPs), presentes principalmente na dentina, impedem a degradação de proteínas da matriz dentárias (KIM et al., 2010).

Dessa forma, as MMPs vem sendo apontadas como sendo um alvo quimioterápico em potencial para o tratamento de inúmeras doenças. Nesse contexto, muitas pesquisas vêm sendo realizadas na busca de novos agentes terapêuticos inibidores das MMPs (HOEKSTRA; ESKENS; VERWEIJ, 2001; HOU; ZHANG, 2002; PEPELJNJAK; ZORC; BUTULA, 2005). Com base em tais trabalhos, os ácidos hidroxâmicos e seus derivados vêm se destacando com potencial ação bioativa devido a sua capacidade para coordenar íons metálicos de metaloenzimas, que contém metais como cálcio e zinco em seu sítio ativo, tais como as ureases, anidrases carbônicas e metalopeptidases (CODD, 2008; MURI et al., 2002; VERMA, 2012).

Por outro lado, estudos vem demonstrando que bactérias Gram-negativas, tal como a *P. gingivalis*, possui uma metaloenzima denominada LpxC – UDP-(3-O-acil)-*N*-acetilglucosamina deacetilase – responsável pela biosíntese do Lipídio A que faz o ancoramento na parede celular do LPS (RAETZ et al., 1996; TARABOULSI et al., 2007). Dessa forma, a LPXc vem se tornando um alvo quimioterápico atrativo, ao qual a sua

inibição pode tornar a bactéria suscetível a agentes externos, como a própria defesa imunológica ou a antibióticos que antes apresentavam resistência (GARCÍA et al., 2007).

Atualmente, não existe um agente anticariogênico capaz de atuar contra os micro-organismos causadores das doenças bucais após a instalação do biofilme, e sim, apenas substâncias com ação profilática. Na literatura científica são encontradas poucas pesquisas com foco no desenvolvimento de novas entidades químicas sintéticas eficazes frente a esses micro-organismos (AL-SOHAIBANI; MURUGAN, 2012; DONG et al., 2012). Neste contexto, este trabalho teve como objetivo investigar a ação derivadas do ácido hidroxâmico (DAH), sintetizados recentemente e com promissora ação antimicrobiana (CAPACI RODRIGUES et al., 2014), na viabilidade de células do *S. mutans* e da *P. gingivalis*, uma vez que são importantes micro-organismos causadores de doenças bucais.

MATERIAIS E MÉTODOS

Os DAH utilizados neste trabalho são de origem sintética e foram obtidos por meio de uma reação regioseletiva de ciclo-adição 1,3-dipolar entre cinco diferentes óxidos de nitrila e o dipolarófilo, acrilato de etila. Os óxidos de nitrila foram sintetizados a partir de cinco diferentes aldeídos (benzaldeído, 2-cloro-benzaldeído, 3-cloro-benzaldeído, 4-cloro-benzaldeído e 4-fenilmetóxi-benzaldeído) tratados com hidroxilamina, no qual produziram as respectivas aldoximas, que, em sequência, foram reagidas com ácido tricloro-isocianúrico. Os produtos obtidos da ciclo-adição foram tratados com hidroxilamina por 24h, alcançando assim os DAH finais (D1-5, **Figura 1**). Os DAH foram isolados por cromatografia *flash* em coluna e obtiveram rendimento total entre 30 - 65 % (CAPACI RODRIGUES et al., 2014).

As avaliações sobre o efeito dos DAH (D1-5, **Figura 1**) na viabilidade celular de micro-organismos causadores de doenças bucais foram realizadas utilizando a determinação da concentração mínima inibitória (CIM) pelo método de microdiluição em caldo Mueller-Hinton (Difco, Sparks, EUA) de acordo com o *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS, 2003), em concentrações que variaram de 2 a 256 µM.

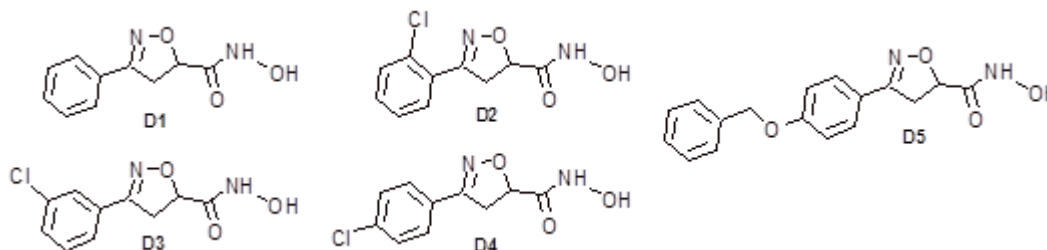
As cepas bacterianas utilizadas a partir da *American Type Culture Collection* (ATCC) foram: *S. mutans* ATCC 25175 e *P. gingivalis* ATCC 33277. As bactérias foram mantidas a -20 ° C em *Tryptic Soy Broth* (TSB - Oxoid, Hampshire, Inglaterra), com 20% de glicerol e ativada através de transferência em meio ágar sangue, e incubado à temperatura de 36,5 ± 1,0 ° C, em uma câmara de anaerobiose. As células bacterianas foram suspensas, de acordo com o protocolo de McFarland (1907), em solução salina para produzir uma suspensão de cerca de 1,5 x 10⁸ UFC/mL. Trezentos microlitros dessa suspensão foram misturados com 9,7 mL de caldo Mueller-Hinton (Difco, Sparks, EUA), o que resultou em um inóculo com 4-5 x 10⁶ UFC/mL. O inóculo foi adicionado a cada poço da placa de ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) e o valor da CIM foi determinada por leitura em espectrofotômetro a 595 nm após 48 h de incubação à temperatura de 36,5 ± 1,0 ° C em

condição anaeróbica. Os experimentos foram realizados em triplicata e repetidos três vezes para a obtenção do resultado final, utilizando sempre os controles: positivo (micro-organismo viável sem tratamento), negativo (meio de cultura sem micro-organismo) e com o solvente (veículo), dimetilsulfóxido (DMSO), na mesma concentração utilizada para a dissolução dos derivados avaliados e o micro-organismo estudado.

RESULTADO E DISCUSSÃO

Estudos que associem os derivados do ácido hidroxâmico (DAH) ao tratamento de doenças infecciosas da cavidade bucal ainda são inéditos na literatura científica. Porém, são de extrema relevância pesquisas recentes que indicam esses derivados como um promissor grupo bioativo contra a micro-organismos Gram-negativos (SZERMERSKI et al., 2014; TANGHERLINI et al., 2016; ZHANG, 2012), além de estudos que apontam as metaloenzimas como alvo quimioterápico desse grupamento (DUVIC; DIMOPOULOS, 2016; CAPACI RODRIGUES et al., 2014; HU et al., 2016). Assim, considerando o ácido 3-aryl-4,5-di-hidro-isoxazol-5-carboxi-hidroxâmico (D1, **Figura 1**) como um sistema scaffold (arcabouço com potencial bioatividade) que vem demonstrando potente atividade contra metaloenzimas (CAPACI RODRIGUES et al., 2014), cinco derivados desse sistema (D1-5, **Figura 1**) tiveram suas ações avaliadas frente a bactéria causadoras de doenças bucais, sendo elas Gram-positiva e Gram-negativa, *S. mutans* e *P. gingivalis*, respectivamente.

Figura 1 – Derivados do ácido hidroxâmico avaliados frente a *P. gingivalis* e *S. mutans*.

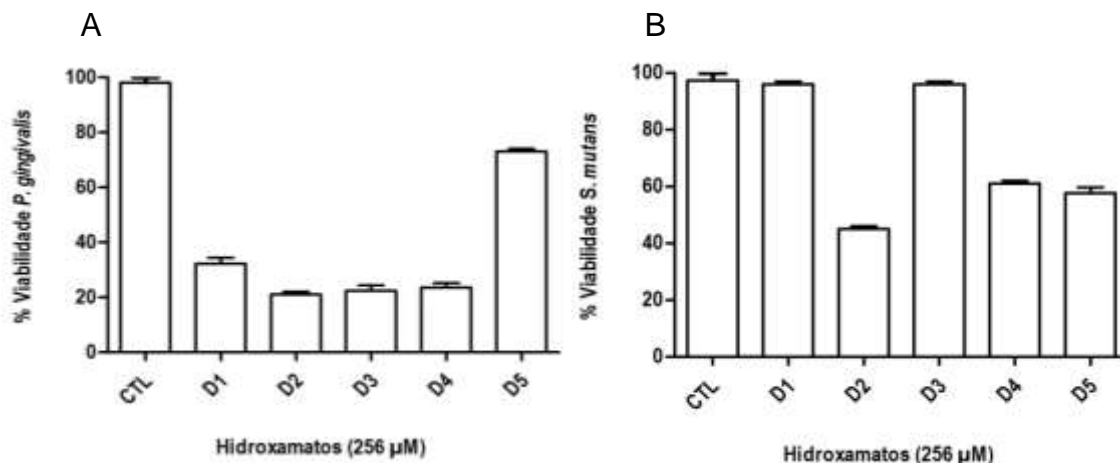


Os DAH afetaram mais significativamente a viabilidade celular da bactéria Gram-negativa (*P. gingivalis*) do que da Gram-positiva (*S. mutans*) a uma concentração de 256 μ M (**Figura 2A e B**). Esses resultados foram ao encontro da literatura científica que apontam uma ação promissora dos DAH frente a micro-organismos Gram-negativos (SZERMERSKI et al., 2014; TANGHERLINI et al., 2016; ZHANG, 2012).

Nesses ensaios, foi observada, a uma concentração de 256 μ M, cerca de 80% de inibição da viabilidade da bactéria Gram-negativa para os DAH substituídos por átomos de cloro no anel aromático em diferentes posições (D2-4, **Figura 2A**) e o sem substituinte nesse anel (D1, **Figura 2A**), ou seja, independentemente da posição do átomo de cloro no anel aromático ou esse anel sem substituinte a atividade do composto foi praticamente equivalente. O mesmo resultado não foi observado quando o anel aromático possuía um substituinte volumoso como o 4-fenilmetóxi (D5, **Figura 2A**), desfavorecendo então a bioatividade do composto D5 que obteve somente cerca de 20% de inibição.

Em contrapartida, a maior inibição da viabilidade da bactéria Gram-positiva, alcançada com 256 μM , foi de apenas cerca de 50% com o composto contendo o átomo de cloro na posição 4 do anel aromático do anel aromático (D2, **Figura 2B**) e 40% para os DAH contendo o átomo de cloro na posição 4 (D4, **Figura 2B**) ou um substituinte volumoso (fenilmetóxi) também na posição 4.

Figura 2 – Efeito dos derivados do ácido hidroxâmico (D1-5) na viabilidade celular da *P. gingivalis* (A) e do *S. mutans* (B).



CTL = controle contendo o solvente DMSO e o micro-organismo. Os valores representados se referem à média \pm SD de três experimentos diferentes. A diferença estatística entre os grupos foi determinada utilizando análise de variância (ANOVA) usando o GraphPad PRISM 5.0.

CONCLUSÃO

Esses ensaios preliminares indicaram uma menor susceptibilidade da bactéria Gram-positiva (*S. mutans*) aos DAH avaliados em relação a bactéria Gram-negativa (*P. gingivalis*). Esses resultados vão ao encontro da literatura científica que apontam os ácidos hidroxâmicos como potentes inibidores de micro-organismos Gram-negativos. Vale destacar que esses estudos iniciais servem como norteadores para novas pesquisas de substâncias com ação frente a micro-organismos causadores de doenças bucais, uma vez que estudos relacionados ainda não foram publicados. Novos ensaios estão sendo realizados, no qual englobam diferentes concentrações dos DAH, bem como a avaliação desses derivados na formação do biofilme.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi apoiado com subsídios do Programa de Iniciação Científica da UNIGRANRIO (PIIC UNIGRANRIO), Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (MCTI-CNPq), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) e Coordenação de

Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES).

REFERÊNCIAS

- AL-SOHAIBANI, S., MURUGAN, K. Anti-biofilm activity of *Salvadora persica* on cariogenic isolates of *Streptococcus mutans*: in vitro and molecular docking studies. **Biofouling**. 28, 1, 29-38, 2012.
- CAPACI RODRIGUES, G.; SOUZA, F. A. G.; LIN, W. O.; VERMELHO, A. B. **Therapeutic Potential of Hydroxamic Acids for Microbial Diseases**. Hydroxamic Acids. 1. ed. Berlim: Springer-Verlag Berlin and Heidelberg GmbH & Co. KG. 255-279, 2013.
- CAPACI RODRIGUES, G., FEIJÓ, D. F.; BOZZA, M. T.; PAN, P.; VULLO, D.; PARKKILA, S.; SUPURAN, C. T.; CAPASSO, C.; AGUIAR, A. P.; VERMELHO, A. B. Design, Synthesis, and Evaluation of Hydroxamic Acid Derivatives as Promising Agents for the Management of Chagas Disease. **Journal of Medicinal Chemistry**. 57, 298-308, 2014.
- CODD, R. Traversing the coordination chemistry and chemical biology of hydroxamic acids. **Coordination Chemistry Reviews**. 252, 1387–1408, 2008.
- DONG, L., TONG, Z., LINGHU, D., LIN, Y., TAO, R., LIU, J., TIAN, Y., NI, L. Effects of sub-minimum inhibitory concentrations of antimicrobial agents on *Streptococcus mutans* biofilm formation. **International Journal of Antimicrobial Agents**. 39, 5, 390-395, 2012.
- DUVIC, M.; DIMOPOULOS, M. **The safety profile of vorinostat (suberoylanilide hydroxamic acid) in hematologic malignancies**: A review of clinical studies. *Cancer Treatment Review*. In press, 2016.
- GARCÍA, B., SECCO F., IBEAS S., MUÑOZ A., HOYUELOS, F. J., LEAL, J. M., SENENT, M. L., VENTURINI, M. Structural NMR and ab Initio Study of Salicylhydroxamic and p-Hydroxybenzohydroxamic Acids: Evidence for an Extended Aggregation. **Journal of the Organic Chemical**. 72, 7832-7840, 2007.
- GRENIER, D., CHEN, H., BEN, LAGHA, A., FOURNIER-LARENTE, J., MORIN, M. P. Dual Action of Myricetin on *Porphyromonas gingivalis* and the Inflammatory Response of Host Cells: A Promising Therapeutic Molecule for Periodontal Diseases. **PLoS One**. 10, 6, e0131758, 2015.
- HOEKSTRA, R., ESKENS, F. A., VERWEIJ, J. Matrix metalloproteinase inhibitors: current developments and future perspectives. **Oncologist**. 6, 415-427, 2001.
- HOU, T., ZHANG, W., XU, X. Molecular docking studies of a group of hydroxamate inhibitors with gelatinase-A by molecular dynamics. **Journal of Computer-Aided Molecular Design**. 16, 27-41, 2012.
- HU, T.; YOU, Q.; CHEN, D.; TONG, J.; SHANG, L.; LUO, J.; QIU, Y.; YU, H.; ZENG, L.; HUANG, J. **Inhibiting Matrix Metalloproteinase 3 Ameliorates Neuronal Loss in the Ganglion Cell Layer of Rats in Retinal Ischemia/Reperfusion**. *Neurochemical Research*. In Press, 2016.

KIM, J., UCHIYAMA, T., CARRILHO, M., AGEE, K. A., MAZZONI, A., BRESCHI, L., CARVALHO, R. M., TJÄDERHANE, L., LOONEY, S., WIMMER, C., TEZVERGIL-MUTLUAY, A., TAY, F. R., PASHLEY, D. H. Chlorhexidine binding to mineralized versus demineralized dentin powder. **Dental Materials**. 26, 8, 77, 1-8, 2010.

LIU, C., WORTHINGTON, R. J., MELANDER, C., WU, H. A new small molecule specifically inhibits the cariogenic bacterium *Streptococcus mutans* in multispecies biofilms. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**. 55, 6, 2679-2687, 2011.

LIU, J., LING, J. Q., ZHANG, K., HUO, L. J., NING, Y. Effect of Sodium Fluoride, Ampicillin and Chlorhexidine on *Streptococcus mutans* Biofilm Detachment. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**. 56, 8, 4532-4535, 2012.

MAI, J., TIAN, X. L., GALLANT J. W., MERKLEY, N., BISWAS, Z., SYVITSKI, R., DOUGLAS, S. E., LING, J., LI, Y. H. A novel target-specific, salt-resistant antimicrobial peptide against the cariogenic pathogen *Streptococcus mutans*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**. 55, 11, 5205-5213, 2011.

MURI, E. M., NIETO, M. J., SINDELAR, R. D., WILLIAMSON, J. S. Hydroxamic acids as pharmacological agents. **Current Medicinal Chemistry**. 9, 1631-1653, 2002.

NCCLS. **National Committee for Clinical Laboratory Standards**. M7-A6, 2003.

OMS. Organização Mundial de Saúde. **More oral health care needed for ageing populations**. Disponível em <http://www.who.int/bulletin/volumes/83/9/infocus0905/en/index.html>. Acesso em: 26 mar. 2015.

PEPELJNJAK, S., ZORC, B., BUTULA, I. Antimicrobial activity of some hydroxamic acids. **Acta Pharmaceutica**. 55, 401-408, 2005.

PUPE, C. G., VILLARDI, M., RODRIGUES, C. R., ROCHA, H. V., MAIA, L. C., DE SOUSA, V. P., CABRAL, L. M. Preparation and evaluation of antimicrobial activity of nanosystems for the control of oral pathogens *Streptococcus mutans* and *Candida albicans*. **International Journal of Nanomedicine**. 6, 2581-2590, 2011.

RAETZ, C. R. H.; ONISHI, H. R.; PELAK, B. A., GERCKENS, P. L.; SILVER, L. L.; KAHAN, M. C.; PATCHETT, A. A.; GALLOWAY, S. M.; HYLAND, S. A.; ANDERSON, M. S. Antibacterial agents that inhibit lipid A biosynthesis. **Science**. 274, 980-982, 1996.

SHARMA, A., DESHPANDE, S. Effect of sucrose in different commonly used pediatric medicines upon plaque pH in human subjects. **Journal of Indian Society of Pedodontics and Preventive Dentistry**. 29, 2, 144-148, 2011.

SZERMERSKI, M.; MELESINA, J.; WICHAPONG, K.; LÖPPENBERG, M.; JOSE, J.; SIPPL, W.; HOLL, R. Synthesis, biological evaluation and molecular docking studies of benzyloxyacetohydroxamic acids as LpxC inhibitors. **Bioorganic Medicinal Chemistry**. 22, 1016 - 1028, 2014.

TANGHERLINI, G.; TORREGROSSA, T.; AGOGLITTA, O.; KÖHLER, J.; MELESINA, J.; SIPPL, W.; HOLL, R. **Synthesis and biological evaluation of enantiomerically pure glyceric acid derivatives as LpxC inhibitors**. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. In press, 2016.

TARABOULSI, F. A.; ZUKAS, A. D.; MADEIRA, J. V.; SILVA, A. R.; NETO, P. O. Seleção de Microorganismos com Atividade Antibiótica contra Escherichia coli. **Revista Analytica**. 29, 60-69, 2007.

VERMA, R. P. Hydroxamic acids as matrix metalloproteinase inhibitors. **Experientia**. 103, 137-176, 2012.

ZHANG, J.; ZHANG, L.; LI, X.; XU, W. UDP-3-O-(R-3-hydroxymyristoyl)-N-acetylglucosamine deacetylase (LpxC) inhibitors: a new class of antibacterial agents. **Current Medicinal Chemistry**. 19, 2038 - 2050, 2012.