

**XII** Congresso  
Fluminense  
de Iniciação Científica  
e Tecnológica



**V** Congresso  
Fluminense  
de Pós-Graduação

Ciência para o Desenvolvimento Sustentável

## Atividade antifúngica de um peptídeo sintético projetado derivado da defensina de *Vigna unguiculata* L. Walp. com melhor atividade que fluconazol e baixa toxicidade para células de mamíferos

Douglas Ribeiro Lucas, Estéfany Bras Toledo, Thatiana Lopes, Biá Ventura Simão, Sanderson Dias Calixto, Elena Lassounskaia, Valdirene Moreira Gomes, André de Oliveira Carvalho

Microrganismos multirresistentes às drogas são uma ameaça à saúde pública global impondo a necessidade do desenvolvimento de novas drogas. Peptídeos antimicrobianos (AMPs, do inglês *antimicrobial peptides*) são apontados como possíveis novas drogas. Entre eles estão as defensinas de plantas que é uma família de AMPs bastante caracterizada. A atividade biológica das defensinas está numa pequena região chamada  $\gamma$ -core. Análise desta região e a síntese química permite o design de peptídeos com aprimoramento do potencial antimicrobiano, maior resistência a proteases e menor citotoxicidade. Nós exploramos a  $VuDef_1$ , defensina de *Vigna unguiculata* (feijão-de-corda), sintetizando quatro peptídeos contendo seu  $\gamma$ -core, e neste trabalho utilizamos o peptídeo, D-A<sub>36,42,44</sub>R<sub>37,38</sub> $\gamma$ <sub>32-46</sub>  $VuDef$ , que será abreviado D-RR. O objetivo deste trabalho foi testar a atividade de D-RR sobre leveduras e confrontar com fluconazol (droga de referência) visando a possibilidade de uso terapêutico. Os ensaios antimicrobianos foram feitos com seis espécies de leveduras, a uma concentração predeterminada de 18.5 $\mu$ M e confrontado com a atividade de DD (peptídeo original do qual D-RR foi derivado). Após a escolha da levedura mais sensível a mínima concentração inibitória (MIC, do inglês *minimal inhibitory concentration*) foi determinada como descrito para o ensaio antimicrobiano usando diferentes concentrações de D-RR. Para analisar sua dose letal (DL), as células do ensaio da MIC foram plaqueadas em placas de Petri contendo ágar *Sabouraud* e incubadas a 30°C por 24h. Para determinar o tempo de morte, foi repetido o ensaio antimicrobiano com diferentes tempos na concentração predeterminada da DL. A DL de D-RR foi confrontada com fluconazol. A toxicidade de D-RR para células de mamíferos foi feita com macrófagos murinos RAW 264.7 e monócitos humanos THP-1 por MTT. As modificações realizadas para melhorar a atividade antimicrobiana mostraram-se eficientes. D-RR teve dois Asp trocados por duas Arg para aumentar sua carga líquida positiva, e sua composição de aminoácidos foi feita de D-enantiômeros para o aumento de sua resistência frente a possíveis proteases. Com estas alterações houve uma melhora da atividade antifúngica quando comparada com DD e o tempo de morte foi de 3h de incubação. D-RR apresentou melhor atividade que fluconazol. D-RR não apresentou toxicidade significativa para macrófagos murinos e nem monócitos humanos. Nossos resultados indicam que mudanças racionais na estrutura primária de peptídeos sintéticos à base de defensinas de plantas podem ser uma boa alternativa para a síntese de novas moléculas que são necessárias como novas drogas aos antifúngicos convencionais.