Desenho de peptídeos antifúngicos sintéticos melhorados baseados na estrutura primária do *γ-core* da defensina de *Vigna unguiculata* com variações em carga e hidrofobicidade

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

A resistência fúngica aos fármacos tradicionais é uma crescente ameaça à saúde pública, logo o desenvolvimento de novas drogas é necessário. Peptídeos sintéticos baseados em peptídeos antimicrobianos (AMPs, do inglês *antimicrobial peptides*) têm se mostrado promissores, uma vez que a síntese química possibilita alterações nos resíduos de aminoácidos, visando a melhora da sua atividade. As defensinas de plantas é uma das famílias de AMPs mais bem caracterizadas e o nosso grupo de pesquisa vem trabalhando com a *Vu*Def$_1$, defensina de *Vigna unguiculata* (feijão-de-corda). O peptídeo sintético derivado do *γ-core* da *Vu*Def$_1$, chamado A$_{36,42,44}$γ$_{32-46}$*Vu*Def (abreviado DD), possui boa atividade contra *Leishmania amazonensis*, indicando que a atividade biológica desta defensina está localizada nessa região. Este resultado nos incentivou a testar a sua atividade antifúngica. No entanto, o peptídeo DD não possuiu atividade antifúngica significativa, o que nos levou a melhorá-lo a partir de alterações direcionadas nos resíduos de aminoácidos. Para isso, foi feito um levantamento bibliográfico de artigos que correlacionavam a estrutura primária com a atividade biológica das defensinas de plantas e dois novos peptídeos foram desenhados, visando o aumento da carga líquida positiva (chamado RR) e hidrofobicidade (chamado WR). A atividade antifúngica destes foi avaliada sobre as mesmas seis espécies de leveduras usadas anteriormente e determinada por análise de absorbância (620 nm). Em seguida, a concentração mínima inibitória e a dose letal (DL) dos peptídeos sobre as espécies mais sensíveis ao ensaio antifúngico foram determinadas por ensaio de microdiluição em caldo e o resultado foi confrontado com o fluconazol, um antifúngico comercial. Além disso, foi feito o ensaio de redução de tetrazólio (MTT), utilizando células de mamíferos (RAW 264.7 e THP1), para determinar a citotoxicidade dos peptídeos. Nossos resultados mostraram que o aumento da carga positiva e da hidrofobicidade melhorou a atividade antifúngica dos peptídeos, que foi fungicida sobre três (RR) e quatro espécies de leveduras (WR), quando comparado ao DD. Já o fluconazol, na mesma DL dos peptídeos, foi fungistático. Estudos demonstram que o aumento da carga positiva e da hidrofobicidade são fatores importantes na interação com membranas microbianas. Adicionalmente, os peptídeos apresentaram baixa toxicidade para células de mamíferos, evidenciando seu possível potencial terapêutico. A síntese química de peptídeos, com modificações racionais nos resíduos de aminoácidos, pode ser, portanto, uma boa estratégia no desenvolvimento de novas substâncias para atuarem como drogas antifúngicas.

INSTITUTO FEDERAL Fluminense
UENF Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro
uff Universidade Federal Fluminense