

XII Congresso
Fluminense
de Iniciação Científica
e Tecnológica



V Congresso
Fluminense
de Pós-Graduação

Ciência para o Desenvolvimento Sustentável

Purificação bioquímica de peptídeos presentes em sementes de *Adenantha pavonina*, atividade antifúngica e antimicobacteriana com ênfase no mecanismo de ação em leveduras de importância médica

Rodrigo da Silva Gebara, Sanderson Dias Calixto, Thatiana Lopes Biá Ventura Simão, Marilucia de Carvalho Ribeiro, Elena Lassounskaia, Valdirene Moreira Gomes, André de Oliveira Carvalho

Peptídeos antimicrobianos são moléculas que constituem a primeira linha de defesa de procaríotos e eucariotos contra patógenos e possuem uma ampla atividade inibitória sobre vírus, bactérias, protozoários e fungos, à medida que geralmente apresentam baixa toxicidade em células de mamíferos. O objetivo deste estudo foi obter e avaliar a atividade inibitória sobre fungos e micobacteriana, bem como a citotoxicidade sobre macrófagos murinos, de extratos, frações e peptídeos isolados de sementes de *Adenantha pavonina*. A extração proteica foi feita em tampão fosfato (pH = 5,4) em 1:10 (farinha:tampão), seguida de centrifugação a 16.000 g e aquecimento à 90 °C. As amostras foram cromatografadas em colunas de troca iônica (DEAE- Sepharose, com tampão TRIS-HCl 0,1 M e pH = 9,0) e C18 (fase reversa, HPLC, gradiente linear de propanol) para purificação total de proteínas. As amostras foram analisadas por eletroforese em gel de tricina (SDS-PAGE) tratados com β -mercaptoetanol. Ensaios de inibição de crescimento para *Candida albicans*, *C. buinensis*, *C. parapsilosis*, *S. cerevisiae* e *Mycobacterium tuberculosis H37Rv* e *M299*, viabilidade celular e citotoxicidade sobre RAW 264.7 foram feitas para as amostras nas concentrações de 400–6,25 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente. A fração D1 demonstrou ser a mais promissora, por conter peptídeo de 6 kDa, atividade inibitória significativa ($p < 0,001$) sobre micobactérias e leveduras, efeito fungicida nas concentrações testadas e melhor perfil de citotoxicidade, sendo $\text{IC}_{50} > 50 \mu\text{g/mL}$. D1 foi então submetida a etapa de purificação em coluna C18 e o P4 resultante apresentou uma banda de 6 kDa, responsável pela atividade antimicrobiana, sendo capaz de permeabilizar membranas e aumentar o estresse oxidativo nas leveduras testadas. Perspectivas futuras visam a caracterização desse peptídeo de baixa massa molecular (6 kDa) por espectrometria de massas e a determinação do seu mecanismo de ação, envolvendo alterações de ultraestrutura, alteração no metabolismo mitocondrial e ativação de caspases, responsáveis pela atividade antifúngica.