



Atividade fungicida de peptídeo vicilina-símile de sementes de *Clitoria fairchildiana* sobre leveduras do gênero *Candida*

Barbara Masieiro Cunha¹, Maria Aparecida Aride Bertonceli¹, Kátia Valevski Sales Fernandes¹

Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro

¹Laboratório de Química e Função de Proteínas e Peptídeos (LQFPP)

Campos dos Goytacazes – RJ

Ao longo da evolução, plantas selecionaram mecanismos e estratégias de proteção e defesa contra o estresse do ambiente. Dentre estas defesas, estão algumas famílias de proteínas já conhecidas, envolvidas nos mecanismos de resposta e resistência de plantas a patógenos. Tais proteínas são alvo de diversos estudos que visam a aplicabilidade dessas potencialidades em áreas como agricultura e farmacêutica. O presente trabalho tem suas bases propositais nascidas a partir do isolamento anterior de um peptídeo antifúngico de 6,5 kDa, vicilina-símile (Cfafp), de cotilédones de sementes de *C. fairchildiana*, com ação demonstrada contra leveduras do gênero *Candida* (*C. albicans*; *C. buinenses*). Em virtude da caracterização estrutural preliminar da proteína, mostrando uma massa molecular compatível a um peptídeo e uma sequência primária com regiões típicas de proteínas de reserva do tipo vicilinas, pretendemos identificar se a molécula se configuraria como um AMP (peptídeo antimicrobiano) ou como um VBP (peptídeo enterrado em vicilina), duas famílias de proteínas que podem apresentar características idênticas do ponto de vista estrutural e funcional, mas que são classificadas em famílias distintas. A fração proteica contendo o Cfafp será obtida a partir de cotilédones de *C. fairchildiana*, extraída com 2-propanol a 60% e sub-fracionada a partir de cromatografia de exclusão molecular, em uma coluna de Sephadex G-50, seguida por posterior fracionamento por cromatografia de alta performance em coluna de HPLC. Os picos obtidos serão analisados eletroforéticamente por tricina-SDS-PAGE e testados em sua ação antifúngica contra as células de *C. albicans* e *C. buinensis*. Uma vez detectado o pico de maior atividade e isolada a banda proteica relacionada a tal ação no correspondente pico da cromatografia em HPLC, tal banda será excisada do gel e enviada para análise por espectrometria de massas. A análise será confrontada com sequências de AMPs e VBPs. Ações de Cfafp serão investigadas quanto à: atividade antimicrobiana em combinação com fluconazol (FLC) e anfotericina B (AFTB); capacidade de permeabilização de membranas; capacidade de indução da produção endógena de espécies reativas de oxigênio (ROS); capacidade de interferência na funcionalidade mitocondrial, usando-se o corante fluorescente Rodamina 123 (Sigma); e indução de atividades caspásicas. Como fruto principal deste projeto, espera-se obter a caracterização estrutural e química do peptídeo bioativo, bem como o entendimento do mecanismo de ação destas moléculas sobre as espécies do gênero *Candida*, o que possibilitaria aplicações mais bem-sucedidas e duradouras em produções farmacológicas.

Instituição: Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro

Fomento: UENF, FAPERJ, CNPq.