

## Atividade biológica e análise estrutural do peptídeo Lepto-1, isolado da secreção cutânea de *Leptodactylus labyrinthicus*.

Karla A. G. Gusmão<sup>1\*</sup> (PG), Virgílio M. dos Santos<sup>1</sup> (IC), Daniel M. Santos<sup>2</sup> (PG), Maria Esperanza C. Segura<sup>3</sup> (PQ), Maria Elena de L. P. Garcia<sup>2</sup> (PQ), Dorila Piló-Veloso<sup>1</sup> (PQ), Jarbas M. Resende<sup>1</sup> (PQ).  
\*karlaagg@hotmail.com

<sup>1</sup>Departamento de Química, UFMG. <sup>2</sup>Departamento de Bioquímica e Imunologia, UFMG. <sup>3</sup>Departamento de Odontologia Restauradora, UFMG

Palavras Chave: Peptídeos Antimicrobianos, Hemólise, CMI, Dicroísmo Circular.

### Introdução

Os peptídeos com atividade antimicrobiana (PAMs) desempenham um papel importante na imunidade inata de um grande número de espécies animais, protegendo o hospedeiro contra patógenos potencialmente nocivos<sup>1</sup>. Os PAMs que estão presentes nas secreções da pele de alguns Anuros (sapos e rãs) são, cada vez mais, considerados como potenciais agentes terapêuticos, devido ao amplo espectro de atividade antimicrobiana.

O principal modo de ação dos PAMs é a ruptura das membranas bacterianas. Estudos da interação de PAMs com modelos de membrana biológica têm sido realizados para entender os mecanismos de ação e avaliar a sua especificidade, uma vez que a composição de lipídeos das membranas dos patógenos e dos hospedeiros é diferente<sup>2</sup>.

Pouco se sabe sobre os compostos bioativos presentes na secreção da pele do anuro da espécie *Leptodactylus labyrinthicus*<sup>3</sup>. Neste trabalho, a Lepto-1, um peptídeo isolado a partir da secreção da pele desse anuro e sequenciado por degradação automática de Edman, foi obtido pela metodologia de síntese em fase sólida, empregando a estratégia Fmoc (9-fluorenil-metoxicarbonila). O peptídeo foi avaliado quanto a sua atividade antimicrobiana (contra *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*), efeito citotóxico e a sua estrutura secundária (por espectroscopia de Dicroísmo Circular - CD).

### Resultados e Discussão

O sequenciamento revelou uma estrutura primária de 22 resíduos de aminoácidos, conforme apresentado na Tabela 1. A Lepto-1 foi sintetizada, purificada por CLAE, sendo sua identidade confirmada por espectrometria de massas ( $m/z = 2193,031$  Da).

Os valores de Concentração Mínima Inibitória (CMI) foram determinados pelo método de microdiluição em caldo e a atividade hemolítica foi determinada utilizando eritrócitos de coelho (Tabela 1).

A Figura 1 apresenta os resultados dos estudos estruturais, onde se observa que a estruturação em

$\alpha$ -hélice do peptídeo cresce com o aumento da concentração do lipossoma.

Tabela 1. Sequência e atividade biológicas da Lepto-1

Lepto-1		
Sequência	GVVDI LKGAA <b>K</b> DIAG HLASK VM-NH <sub>2</sub>	
CMI	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
	N.A.	114,04 $\mu$ M
% Hemólise	6 % (0,46 $\mu$ M)	

Resíduos em negrito – carregados positivamente, resíduos sublinhados – carregados negativamente, em pH neutro. N.A. – Não ativo até 506  $\mu$ M.

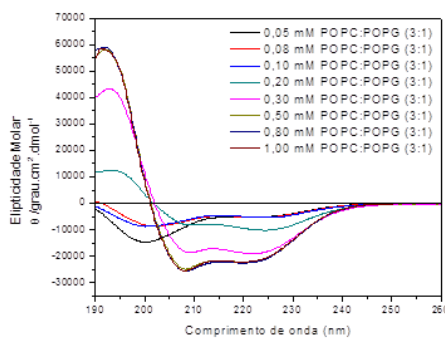


Figura 1. Espectros de CD da Lepto-1 na presença de diferentes concentrações de POPC:POPG (3:1) mol:mol.

### Conclusões

A Lepto-1 mostrou-se ativa contra a *E. coli*, (bactéria Gram-positiva) e apresentou baixo efeito citotóxico contra eritrócitos de coelho. Esse resultado é muito importante, uma vez que o espectro seletivo de atividade biológica pode favorecer a utilização do peptídeo como provável fármaco contra infecções bacterianas, sem que as células do hospedeiro sejam danificadas. Os estudos de CD indicam que o peptídeo atinge elevado grau de estruturação  $\alpha$ -helicoidal na presença de vesículas de POPC:POPG (3:1), que mimetizam as membranas bacterianas.

### Agradecimentos

CNPq, FAPEMIG, CAPES

<sup>1</sup> Hancock, R. E. W.; Lehrer, R. *Trends Biotechnol.* **1998**, 16, 82.

<sup>2</sup> Davies, S. P.; Reddy, H.; Caivano, M.; Cohen, P. *Biochem. J.* **2000**, 351, 95.

<sup>3</sup> Libério, M. S.; Joanitti, G. A.; Azevedo, R. B.; Cilli, E. M.; Zanotta, L. C.; Nascimento, A. C.; Sousa, M. V.; Pires Júnior, O. R.; Fontes, W.; Castro, M. S. *Amino Acids.* **2011**, 40, 51.