



República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) BR 102019001520-9 A2



(22) Data do Depósito: 24/01/2019

(43) Data da Publicação Nacional: 16/11/2021

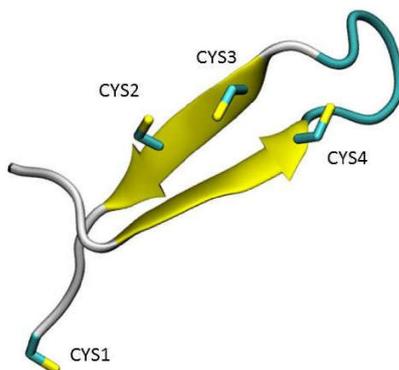
(54) **Título:** PEPTÍDEO SINTÉTICO, PROCESSO DE OBTENÇÃO E USO DO PEPTÍDEO SINTÉTICO NA PREPARAÇÃO DE UM AGENTE ANTIMICROBIANO

(51) **Int. Cl.:** C07K 14/415; A61P 31/04; A61P 31/10.

(71) **Depositante(es):** UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO.

(72) **Inventor(es):** ANA MARIA BENKO ISEPPON; LÍVIA MARIA BATISTA VILELA; CARLOS ANDRÉ DOS SANTOS SILVA; SÉRGIO CROVELLA; MARX OLIVEIRA DE LIMA.

(57) **Resumo:** PEPTÍDEO SINTÉTICO, PROCESSO DE OBTENÇÃO E USO DO PEPTÍDEO SINTÉTICO NA PREPARAÇÃO DE UM AGENTE ANTIMICROBIANO. A presente invenção descreve um novo peptídeo antimicrobiano do tipo defensina (PDef-Caj I), composto por 20 aminoácidos e peso molecular de 2,429 kDa, que foi sintetizado e modificado a partir da espécie vegetal *Cajanus cajan* e possui atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii* de cepas suscetíveis e resistentes e contra fungos das espécies *Candida albicans*, *Candida parapsilosis* e *Cryptococcus neoformans* e atividade bacteriostática contra *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* suscetíveis. A presente invenção se situa nos campos da microbiologia, engenharia de peptídeos, descoberta de fármacos e bioinformática.



Relatório Descritivo de Patente de Invenção

PEPTÍDEO SINTÉTICO, PROCESSO DE OBTENÇÃO E USO DO PEPTÍDEO SINTÉTICO NA PREPARAÇÃO DE UM AGENTE ANTIMICROBIANO

Campo da Invenção

[0001] A presente invenção descreve um novo peptídeo antimicrobiano do tipo defensina (PDef-Caj I), composto por 20 aminoácidos e peso molecular de 2,429 kDa, que foi sintetizado e modificado a partir da espécie vegetal *Cajanus cajan* e possui atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii* de cepas suscetíveis e resistentes e contra fungos das espécies *Candida albicans*, *Candida parapsilosis* e *Cryptococcus neoformans* e atividade bacteriostática contra *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* suscetíveis. A presente invenção se situa nos campos da microbiologia, engenharia de peptídeos, planejamento de fármacos e bioinformática.

Antecedentes da Invenção

[0002] Desde que o primeiro antibiótico foi descoberto por Alexander Fleming em 1949, o uso inadequado de antibióticos se tornou um fator fundamental para desencadear uma enorme resistência bacteriana e isto tem se tornado um problema de saúde pública mundial reconhecido por organizações internacionais, como as Nações Unidas (ONU) e Organização Mundial da Saúde (OMS), bem como pelos centros de controle de doenças dos EUA e da Europa. Uma ferramenta inovadora surge como uma aliada na luta contra infecções graves causadas por bactérias resistentes a inúmeros fármacos já consolidados no mercado, como é o caso dos peptídeos antimicrobianos (AMPs). Tais compostos são considerados menos suscetíveis ao processo de resistência bacteriana do que os antibióticos tradicionais, apresentando potencial para o desenvolvimento de uma nova classe de agentes terapêuticos (Cândido et al, 2014). Atualmente, tem sido utilizada a

colistina, considerada como a última linha de terapia antimicrobiana derivada de AMPs usada contra microrganismos resistentes a múltiplos fármacos (Sierra et al, 2017).

[0003] Vários testes são realizados com inúmeros tipos de peptídeos que adquiriram valor no mercado farmacêutico por apresentar relevância no tratamento de diversas doenças, como é o caso do acetato de glatirâmero (um peptídeo sintético com quatro aminoácidos, *Copaxone*) que é utilizado para esclerose múltipla e o Exenatide (um análogo sintético do peptídeo-1 do tipo glucagon, *Byetta*), utilizado para o diabetes tipo 2. Estes são apenas alguns exemplos de fármacos manipulados que foram obtidos a partir de peptídeos sintéticos previamente isolados e modificados.

[0004] Na busca pelo estado da técnica em literaturas científica e patentária, foram encontrados os seguintes documentos que tratam sobre o tema:

[0005] O documento CN107022549 (A) intitulado "*Pelteobagrus fulvidraco beta defensin gene, and beta defensin antibacterial peptide and application thereof*" revela a aplicação de uma proteína da classe das defensinas modificadas derivadas de peixes da espécie *Pelteobagrus fulvidraco* como um fármaco antibacteriano de amplo espectro em culturas aquáticas.

[0006] O documento JP2017132755 (A) intitulado "*Defensin production promoter, and antibacterial agent*" revela a produção de promotores de defensinas e a obtenção de um agente antibacteriano a partir de extratos de plantas.

[0007] O documento KR20170023352 (A) intitulado "*An antibacterial peptide isolated from Hermetia illucens*" revela uma composição antimicrobiana para bactérias gram-positivas.

[0008] O documento US2017049102 (A1) intitulado "*Agents and methods for treatment of pathogens*" revela a exposição de patógenos a quantidades efetivas de uma composição contendo defensina vegetal ou

derivado funcional natural ou sintético ou variante destes e um peptídeo não-defensina, como peptídeo de catelicidina, peptídeo de hairpina, peptídeo de hairpina com ligações dissulfeto removidas, indolicidina, peptídeo sintético CP-29 ou um peptídeo derivado de cistatina. A combinação da defensina e do peptídeo tem efeito sinérgico comparado ao uso de cada um isoladamente na mesma dose em que são usados em combinação.

[0009] O documento US2017029842 (A1) intitulado “*Modified plant defensins useful as anti-pathogenic agents*” revela uma molécula de defensina geneticamente modificada com atividade contra patógenos e o uso de plantas geneticamente modificadas, sua progênie ou partes que expressam ou possuem defensinas modificadas ou composições contra patógenos em horticultura, agricultura e como medicamentos para animais e seres humanos.

[0010] Na busca pelo estado da técnica em literaturas científica e patentária, não foram encontrados registros em patentes nacionais.

[0011] Assim, do que se depreende da literatura pesquisada, não foram encontrados documentos antecipando ou sugerindo os ensinamentos da presente invenção, de forma que a solução aqui proposta possui novidade e atividade inventiva frente ao estado da técnica.

Sumário da Invenção

[0012] Dessa forma, a presente invenção tem por objetivo resolver os problemas constantes no estado da técnica a partir de um novo peptídeo sintético (PDef-Caj I) identificado por análise molecular e de bioinformática que apresentou ação contra algumas das principais bactérias que estão na lista da Organização Mundial da Saúde (OMS) por apresentarem multirresistência aos fármacos convencionais do mercado farmacêutico, possuindo também ação contra alguns fungos que provocam doenças oportunistas principalmente em países tropicais, como Brasil. O PDef-Caj I surge como uma proposta bastante promissora, podendo futuramente tornar-se um novo produto terapêutico, visto que possui características relevantes que possivelmente facilitam a penetração na superfície das células e de microrganismos, podendo exercer, assim, uma

rápida ação nos tecidos dos organismos

[0013] O peptídeo denominado PDef-Caj I passou por um processo de modificação no que diz respeito à redução da quantidade de aminoácidos, pois a sequência inteira identificada possuía 55 aminoácidos e foi reduzida a 20 aminoácidos com o auxílio de ferramentas computacionais, a fim de otimizar a ação contra patógenos. A literatura afirma que quanto menor a sequência de aminoácidos, maior a possível eficácia do peptídeo antimicrobiano, se mantida a sua região de maior atividade biológica.

[0014] O PDef-Caj I foi obtido a partir de uma sequência de defensina de *Cajanus cajan*. Para a obtenção do novo peptídeo, dois métodos foram aplicados: (1) redução da sequência de defensina de origem para 20 aminoácidos a partir da região do peptídeo maduro; e (2) obtenção de valores próximos à média estabelecida pelo *software* para os quatro algoritmos (*Support Vector Machine* (SVM), *Random Forest Classifier* (RFC), *Artificial Neural Network* (ANN), *Discriminant Analysis Classifier* (DAC)), que foram analisados *in silico* na predição da atividade antimicrobiana com a ferramenta *Predict Antimicrobial Peptides* (disponível em <http://www.camp.bicnirrh.res.in/predict/>). Após a avaliação dos parâmetros, o PDef-Caj I apresentou os melhores resultados como candidato entre as outras possíveis sequências e estruturas conformacionais avaliadas.

[0015] Em um primeiro objeto, a presente invenção define um peptídeo sintético, o dito peptídeo compreendendo uma sequência com pelo menos 90% de identidade da SEQ ID N° 1.

[0016] Em um segundo objeto, a presente invenção define um processo de obtenção do peptídeo modificado sintético, o processo compreendendo as seguintes etapas:

- (a) Obtenção de uma sequência de defensina de *Cajanus cajan*;
- (b) Redução do peptídeo de origem para 20 aminoácidos a partir da região do peptídeo maduro; e
- (c) Adição de cinco resíduos de Arginina (R) e quatro resíduos de

Cisteína (C).

[0017] Em um terceiro objeto, a presente invenção define o uso do dito peptídeo sintético na preparação de um agente antimicrobiano.

[0018] Em um quarto objeto, a presente invenção define o uso do dito peptídeo sintético para preparação de uma formulação de uso tópico para combater infecções fúngicas ou em medicamentos para combater bactérias gram-positivas e gram-negativas.

[0019] Ainda, o conceito inventivo comum a todos os contextos de proteção reivindicados se referem a um novo peptídeo antimicrobiano sintético do tipo defensina (PDef-Caj I), composto por 20 aminoácidos e peso molecular de 2,429 kDa, que foi sintetizado e modificado a partir da espécie vegetal *Cajanus cajan* e possui atividade antimicrobiana contra bactérias gram-negativas e gram-positivas de cepas suscetíveis e resistentes e contra fungos causadores de doenças oportunistas em países tropicais e atividade bacteriostática contra *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* suscetíveis.

[0020] Estes e outros objetos da invenção serão imediatamente valorizados pelos versados na arte e pelas empresas com interesses no segmento, e serão descritos em detalhes suficientes para sua reprodução na descrição a seguir.

Breve Descrição das Figuras

[0021] Com o intuito de melhor definir e esclarecer o conteúdo do presente pedido de patente são apresentadas as presente figuras:

[0022] A figura 1 mostra o alinhamento múltiplo do domínio conservado (*Gama-thionin*) de defensinas identificadas em *Cajanus cajan*. As linhas em preto acima do alinhamento predizem as possíveis pontes dissulfeto indicadas pelo Disulfind e DIANNA. Em azul, estão representadas as regiões conservadas dentro do peptídeo maduro. Abaixo do alinhamento encontra-se a predição da estrutura secundária onde é possível observar três folhas-beta (setas em lilás) e uma alfa hélice (espiral em verde). Abaixo da estrutura secundária encontram-se o gráfico de conservação e a sequência-consenso do

alinhamento.

[0023] A figura 2 mostra o modelo tridimensional do PDef-Caj I composto de duas folhas β antiparalelas (em amarelo), estabilizadas por duas ligações dissulfeto. As ligações dissulfeto ajudam a dar estabilidade à estrutura do peptídeo, favorecendo sua atividade antimicrobiana.

[0024] A figura 3 apresenta o gráfico do RMSD (desvio da raiz quadrada média) do PDef-Caj I ao longo de 100 ns de dinâmica molecular. Em vermelho a conformação adotada pela sequência do PDef-Caj I.

[0025] A figura 4 mostra o teste de viabilidade celular do PDef-Caj I contra células de macrófagos de ratos.

[0026] A figura 5 mostra o resultado do teste de hemólise do PDef-Caj I contra eritrócitos humanos, em que pode-se perceber que não ocorre lise em eritrócitos humanos.

[0027] A figura 6 mostra o teste de cinética bacteriana do PDef-Caj I, em que pode-se notar uma inibição de 100% da bactéria Gram-negativa *E. coli* ATCC pelo peptídeo PDef-Caj I. O peptídeo também foi testado contra *S. aureus* ATCC onde houve inibição de 50% no tempo de 4 h. Com este ensaio, verificou-se que o peptídeo sintetizado teve uma ação bacteriostática no tempo analisado na concentração de 10 $\mu\text{g/mL}$. *PEP – Pdef-Caj I; *S.a. – *Staphylococcus aureus*; *E.c. – *Escherichia coli*; *Cont = controle.

[0028] A figura 7 mostra o resultado da espectrometria de massas referente ao PDef-Caj I sintetizado, seu peso molecular de 2,429 kDa e a pureza obtida >95 %.

Descrição Detalhada da Invenção

[0029] Em um primeiro objeto, a presente invenção define um peptídeo sintético, o dito peptídeo compreendendo uma sequência com pelo menos 90% de identidade da SEQ ID N° 1.

[0030] Em uma concretização, o peptídeo sintético consiste de uma sequência com pelo menos 90% de identidade da sequência SEQ ID N° 1.

[0031] Em uma concretização, o peptídeo sintético compreende uma

sequência da SEQ ID Nº 1.

[0032] Em uma concretização, o peptídeo sintético consiste de uma sequência da SEQ ID Nº 1.

[0033] Em um segundo objeto, a presente invenção define um processo de obtenção do peptídeo modificado sintético, o processo compreendendo as seguintes etapas:

- (a) Obtenção de uma sequência de defensina de *Cajanus cajan*;
- (b) Redução do peptídeo de origem para 20 aminoácidos a partir da região do peptídeo maduro; e
- (c) Adição de cinco resíduos de Arginina (R) e quatro resíduos de Cisteína (C).

[0034] Em um terceiro objeto, a presente invenção define o uso do dito peptídeo sintético na preparação de um agente antimicrobiano.

[0035] Em um quarto objeto, a presente invenção define o uso do dito peptídeo sintético para preparação de uma formulação de uso tópico para combater infecções fúngicas ou em medicamentos para combater bactérias gram-positivas e gram-negativas.

[0036] O peptídeo denominado PDef-Caj I apresenta potencial para uso terapêutico, visto que mostrou atividade contra microrganismos de relevante interesse para a saúde pública, partindo do princípio que o mundo enfrenta um cenário da era pós antibiótico ocasionado pelo processo de resistência aos fármacos comercializados e de doenças oportunistas causadas por fungos, necessitando de novos fármacos para substituição. O peptídeo denominado PDef-Caj I é inovador por ter sido identificado a partir de uma planta e modificado por ferramentas computacionais a fim de melhorar sua ação, penetração e efeito, mostrando ser possível identificar através das plantas outras moléculas com atividade antimicrobiana e diversas atividades a serem exploradas. A sua confiabilidade foi comprovada através dos testes de viabilidade celular (MTT) e hemólise, onde foi verificado o possível uso frente às células humanas. A partir de ensaios de concentração mínima inibitória

(MIC) e concentração bactericida mínima (MBC), verifica-se que o PDef-Caj I tem uma ação contra alguns dos microrganismos testados por até 24 h e 48 h (para os fungos).

Exemplos

[0037] Os exemplos aqui mostrados têm o intuito somente de exemplificar uma das inúmeras maneiras de se realizar a invenção, contudo sem limitar, o escopo da mesma.

Exemplo I – Ensaio bacterianos e antifúngicos

[0038] A fim de verificar a concentração mínima inibitória (CIM) e a concentração bactericida mínima (CBM), o peptídeo reduzido e sintetizado a partir de uma defensina de *Cajanus cajan* (PDef-Caj I) foi submetido a ensaios bacterianos e antifúngicos. Os resultados estão apresentados na tabela 1.

[0039] A Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) contra PDef-Caj I foram determinadas pelo método de microdiluição em caldo seguindo as recomendações do Instituto de Padrões Clínicos e Laboratoriais (CLSI, 2015) com modificações. Para isso, o PDef-Caj I em *Cation-adjusted Mueller-Hinton broth* (CA-MHB) (Sigma) foi adicionado à placa sob diluição em série (50 µL). Resumidamente, as células bacterianas foram cultivadas em *Müller Hinton* (Himedia) com 1 mL de CA-MHB durante a noite a 37 °C e foram determinadas pela densidade de oxigênio dissolvido (OD_{625nm} de 0,08-0,13 AU) correspondente a 0,5 da escala McFarland (1-5 × 10⁸ CFU.mL⁻¹). A solução foi diluída (1:1000) em CA-MHB e inoculada nos poços da placa de microdiluição (50 µL) para que a concentração final de densidade bacteriana fosse de aproximadamente 1-5 × 10⁵ UFC.mL⁻¹. Determinaram-se as MIC como a menor concentração de peptídeo que inibiu o crescimento bacteriano após incubação a 37 °C durante 18 a 20 h, sendo utilizado o meio CA-MHB não inoculado como controle negativo e as culturas sem adição de peptídeo serviram como controle positivo.

[0040] Para o MBC, foi realizado o plaqueamento de 10 µL de cada poço, que não apresentou crescimento visível na placa do MH e incubado por

24 horas a 37 °C, e o MBC foi considerado a concentração que não apresentou crescimento bacteriano. As cepas bacterianas utilizadas no experimento foram fornecidas pelo laboratório de microbiologia do Instituto Aggeu Magalhães (Fiocruz/PE). O PDef-Caj I foi testado contra as cepas Gram-positivas *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e resistente *S. aureus* MRSA04673 e Gram-negativo *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *P. aeruginosa* resistente Pa_39 e *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883 e *K. pneumoniae* resistentes a Carbapenemase, *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606 e *A. baumannii* resistente a Acb 45, respectivamente. Os experimentos foram realizados em duplicatas em diferentes intervalos de tempo.

[0041] A CIM antifúngica foi realizada seguindo as diretrizes do CLSI M27-A3 (2008). O PDef-Caj I foi diluído em água destilada. O antifúngico comercial Fluconazol® foi utilizado como referência e a linhagem *Candida parapsilosis* ATCC 22019 como levedura padrão. As leveduras foram cultivadas em Dextrose Agar Sabouraud (SDA; Difco) e incubadas durante 48 h a 37 °C. Para as leveduras, foram realizadas duas diluições seriadas de 1:100 e 1:20 para obtenção do inóculo final contendo 1,0 a 5,0 x 10⁶ UFC.mL⁻¹. Esta solução foi inoculada em toda a placa de 96 poços contendo meio de cultura padrão RPMI 1640, tamponado a pH 7,0 com 0,1 M de ácido morfolinopropanosulfônico (MOPS), para obter a concentração final de 512 µg.mL⁻¹ para cada levedura testada. As leveduras foram incubadas a 37 °C e visualizadas 24 e 48h depois.

[0042] Os fungos utilizados no experimento foram provenientes da micoteca-URM localizada no Departamento de Micologia Médica da Universidade Federal de Pernambuco, sendo *Candida albicans* 4986, *Candida parapsilosis* 4970 e *Cryptococcus neoformans* 5980 resistentes a múltiplas drogas, incluindo cepas de origem clínica. As CIMs corresponderam às menores concentrações de fármaco que apresentaram inibição do crescimento em comparação com fungos não tratados.

Tabela 1. Atividade antimicrobiana do PDef-Caj I para CIM e MBC.

Cepas	Microrganismo	Resultado ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	
		MIC	CBM
ATCC 25923	<i>Staphylococcus aureus</i>	16	128
Resistente MRSA04673	<i>Staphylococcus aureus</i>	256	>1024
ATCC 27853	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	512	512
Resistente Pa_39	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	256	>1024
ATCC 13883	<i>Klebisella pneumoniae</i>	>1024	>1024
Carbapenemase L016	<i>Klebisella pneumoniae</i>	>1024	>1024
ATCC 19606	<i>Acinetobacter baumannii</i>	256	1024
Resistente Acb 45	<i>Acinetobacter baumannii</i>	256	512
4986	<i>Candida albicans</i>	64	*
4970	<i>Candida parapsilosis</i>	128	*
5980	<i>Cryptococcus neoformans</i>	64	*

*Teste não realizado

Exemplo II – Teste de viabilidade celular e hemólise

[0043] A atividade citotóxica de PDef-Caj I foi avaliada a partir das células do exsudato peritoneal de camundongos, fornecidas pelo laboratório de microbiologia do Instituto Aggeu Magalhães (Fiocruz-PE). Para isso, as células foram semeadas em placas de 96 poços contendo meio RPMI (Roswell Park Memorial Institute), sem vermelho de fenol, suplementado com 10 % de Soro Fetal Bovino (FBS) e incubadas por 24 h a 37 °C em atmosfera de 5 % de CO₂. Cinco diluições seriadas de PDef-Caj I foram realizadas a partir de 1024 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. As células cultivadas foram também utilizadas na ausência dos compostos, mas mantidas sob as mesmas condições, como 100 % de controle de viabilidade celular. Após 24 h o meio foi removido e as células foram tratadas na presença das diferentes concentrações de PDef-Caj I e incubadas a 37 °C com 5 % de CO₂ durante 24 h. Após o período de incubação, o efeito de PDef-Caj I foi determinado pela medida da atividade desidrogenase mitocondrial, adicionando-se 10 μl por poço de MTT (3-(5,4-dimetil-tizol-2-l)-2-5-tretracil) e incubando a 37 °C durante 3 horas. Em seguida, os cristais de formazan foram

solubilizados em DMSO e a absorbância foi determinada em espectrofotômetro a 540 nm. A concentração capaz de matar 50 % das células (CC₅₀) foi calculada por regressão linear. Poços contendo meio e MTT foram utilizados como controle de reação. Cada concentração de PDef-Caj I, bem como o controle sem o composto, foi avaliada em quadruplicata em dois experimentos independentes.

[0044] O teste de viabilidade celular (Tabela 2 – MTT) apresentou capacidade de proliferação celular na presença de PDef-Caj I na concentração de até 244,33 µg/mL, sendo que a partir desta concentração o peptídeo inibiu a atividade celular em relação ao controle testado. O teste de hemólise mostrou que não houve lise nos eritrócitos humanos na presença do PDef-Caj I em relação ao controle testado.

[0045] A atividade hemolítica de PDef-Caj I foi medida pela quantidade de hemoglobina liberada pela lise de eritrócitos humanos. Células humanas foram suspensas em solução salina a 2 % (NaCl a 0,85 % + CaCl₂) e incubadas em placas de 96 poços com diferentes concentrações de PDef-Caj I (512 a 32 µg.mL⁻¹). As placas foram incubadas durante um período de 3 horas a 37 °C sob agitação constante e centrifugadas a 3500 rpm durante 4 min a 4 °C e a absorbância do sobrenadante medida a 540 nm para estabelecer a percentagem de hemólise. Como controle positivo da lise celular, 1 % de Triton X-100 (Sigma-Aldrich, EUA) e solução salina (0,85 % NaCl + 10 mM CaCl₂) foram utilizados como controle negativo. Os experimentos foram realizados em quadruplicata, com repetição em diferentes intervalos de tempo. Os resultados foram expressos como porcentagem da hemólise determinada pela equação:

$$\text{Atividade hemolítica (\%)} = \frac{(\text{OD}_{\text{teste}} - \text{OD}_{\text{controle negativo}}) \times 100}{(\text{OD}_{\text{controle positivo}} - \text{OD}_{\text{controle negativo}})}$$

Tabela 2. Teste de viabilidade celular (MTT) e hemolítica PDef-Caj I.

Testes	Pdef-Caj1 ($\mu\text{g/mL}$)
MTT	<244,33
Hemólise	>1024

[0046] Os versados na arte valorizarão os conhecimentos aqui apresentados e poderão reproduzir a invenção nas modalidades apresentadas e em outras variantes, abrangidas no escopo das reivindicações anexas.

Reivindicações

1. Peptídeo sintético **caracterizado por** compreender uma sequência com pelo menos 90% de identidade da SEQ ID N° 1.
2. Peptídeo sintético, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado por** uma sequência com pelo menos 90% de identidade da sequência SEQ ID N° 1.
3. Peptídeo sintético, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado por** compreender uma sequência da SEQ ID N° 1.
4. Peptídeo sintético, de acordo com a reivindicação 2, **caracterizado por** uma sequência da SEQ ID N° 1.
5. Processo de obtenção do peptídeo sintético, conforme definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 4, **caracterizado por** compreender as seguintes etapas:
 - (a) Obtenção de uma sequência de defensina de *Cajanus cajan*;
 - (b) Redução do peptídeo de origem para 20 aminoácidos a partir da região do peptídeo maduro; e
 - (c) Adição de cinco resíduos de Arginina (R) e quatro resíduos de Cisteína (C).
6. Uso do peptídeo sintético, conforme definido por qualquer uma das reivindicações 1 a 4, **caracterizado por** ser na preparação de um agente antimicrobiano.
7. Uso do peptídeo sintético, conforme definido por qualquer uma das reivindicações 1 a 4, **caracterizado por** ser para preparação de uma formulação de uso tópico para combater infecções fúngicas ou em medicamentos para combater bactérias gram-positivas e gram-negativas.

FIGURAS

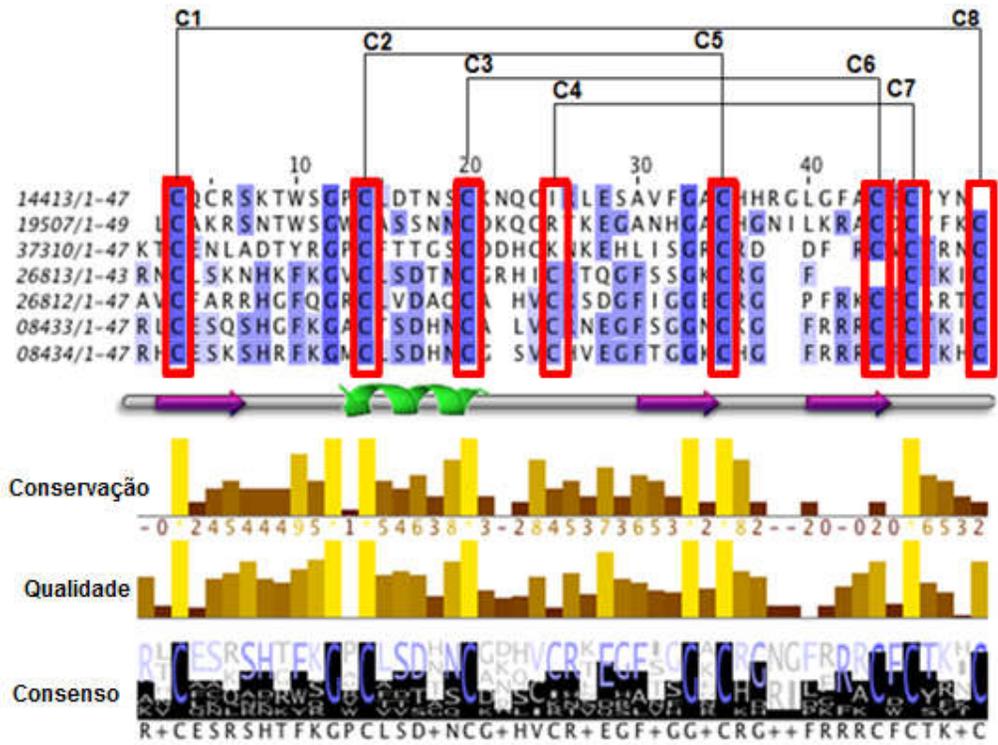


Figura 1

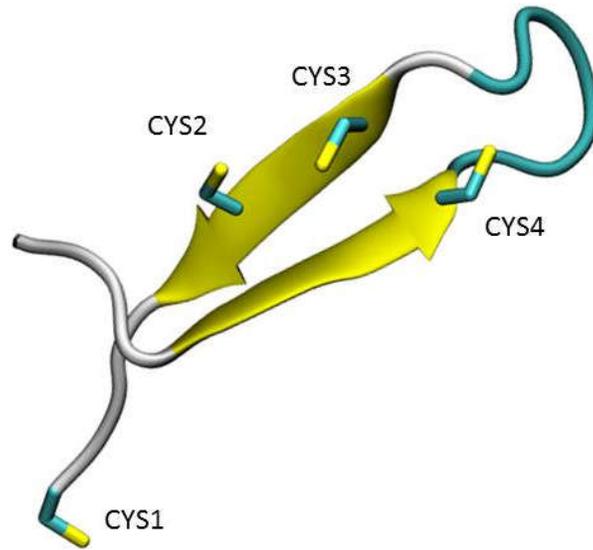


Figura 2

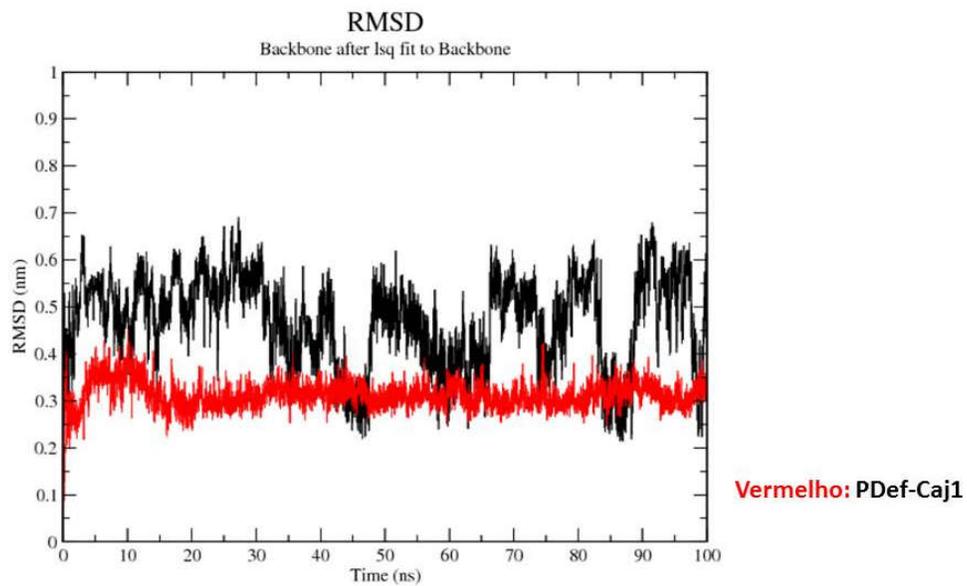


Figura 3

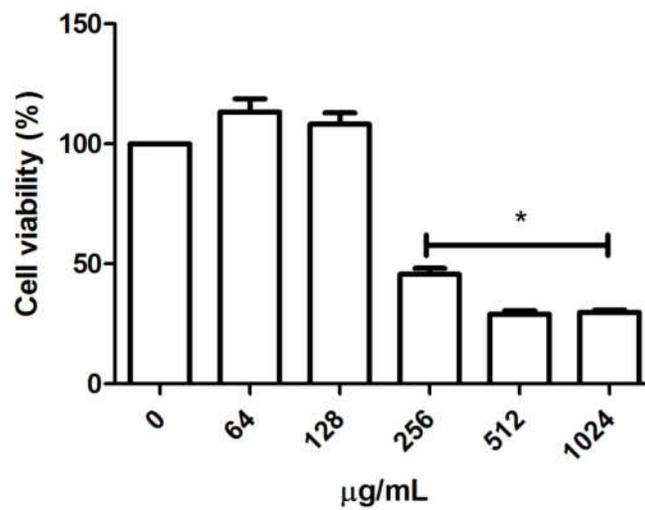


Figura 4

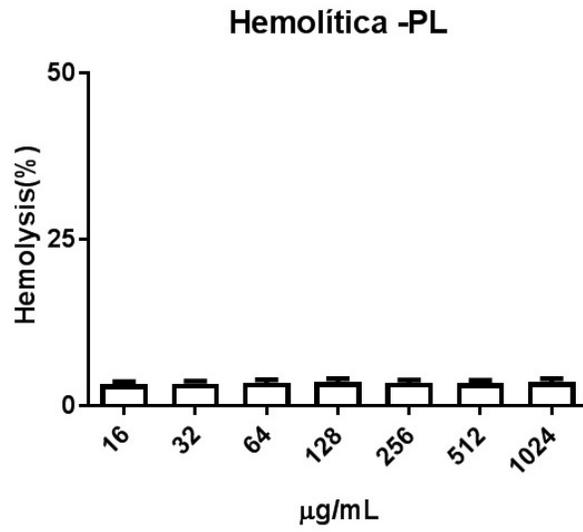


Figura 5

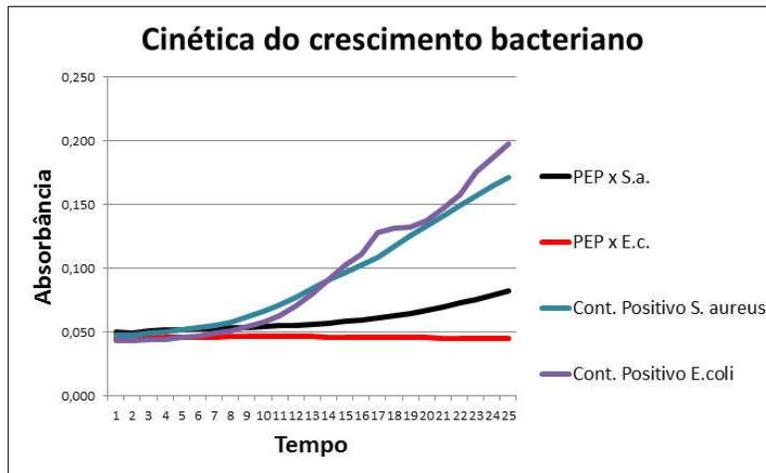


Figura 6

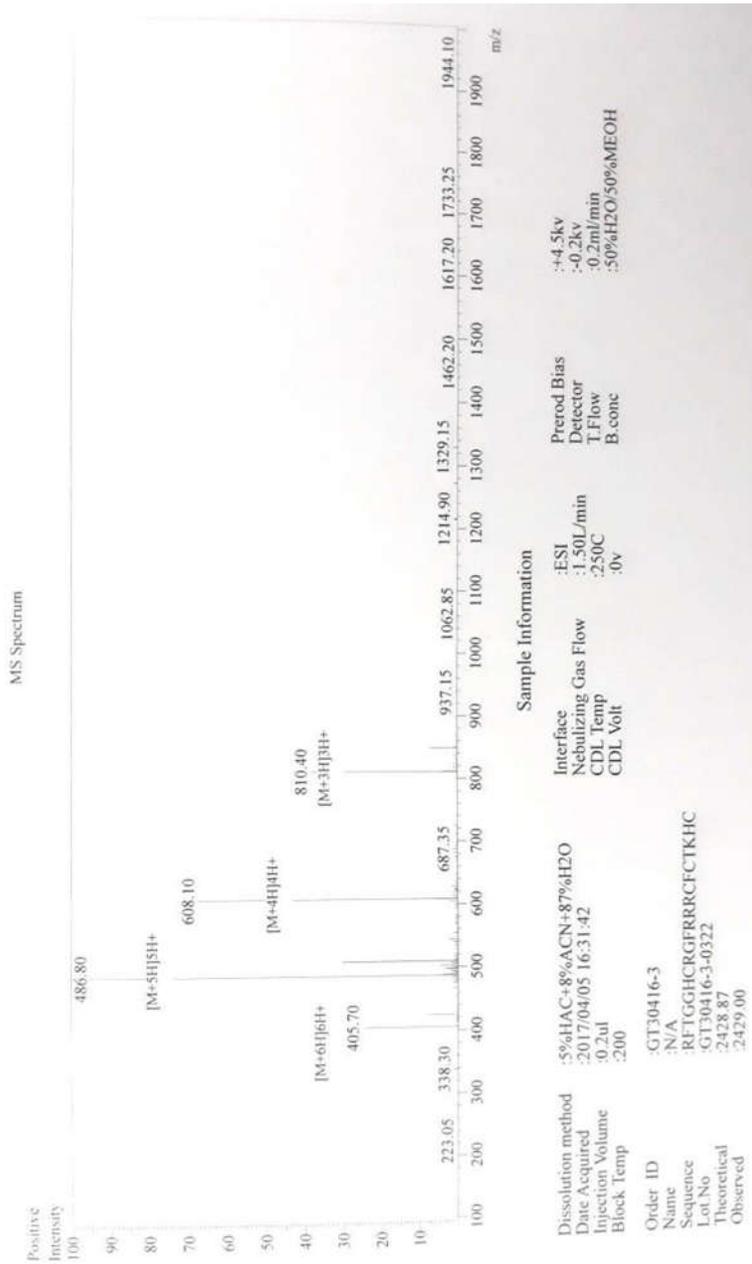


Figura 7

Resumo**PEPTÍDEO SINTÉTICO, PROCESSO DE OBTENÇÃO E USO DO PEPTÍDEO SINTÉTICO NA PREPARAÇÃO DE UM AGENTE ANTIMICROBIANO**

A presente invenção descreve um novo peptídeo antimicrobiano do tipo defensina (PDef-Caj I), composto por 20 aminoácidos e peso molecular de 2,429 kDa, que foi sintetizado e modificado a partir da espécie vegetal *Cajanus cajan* e possui atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii* de cepas suscetíveis e resistentes e contra fungos das espécies *Candida albicans*, *Candida parapsilosis* e *Cryptococcus neoformans* e atividade bacteriostática contra *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* suscetíveis. A presente invenção se situa nos campos da microbiologia, engenharia de peptídeos, descoberta de fármacos e bioinformática.

Este anexo apresenta o código de controle da listagem de sequências biológicas.

Código de Controle

Campo 1



Campo 2



Outras Informações:

- Nome do Arquivo: Listagem de sequências - COA 208.txt
- Data de Geração do Código: 24/01/2019
- Hora de Geração do Código: 20:07:36
- Código de Controle:
 - Campo 1: D29FCDBEE3B7F257
 - Campo 2: 3666AFCA4CAE7891