



CENTRO UNIVERSITÁRIO DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DE EDUCAÇÃO E DA SAÚDE - FACES
GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA

NATAN DE CARVALHO NEVES

**CICLOTÍDEOS: ORIGEM, ESTRUTURA E FUNÇÕES SECUNDÁRIAS,
UMA REVISÃO NARRATIVA**

Trabalho de conclusão de curso apresentado em
forma de artigo científico sob a orientação do
professor Dr. Paulo Roberto Martins Queiroz

BRASÍLIA

2018

Ciclotídeos: origem, estrutura e funções secundárias, uma revisão narrativa

Natan de Carvalho Neves ¹
Paulo Roberto Queiroz Martins ²

RESUMO

Peptídeos são cadeias formadas por 2 a 100 aminoácidos ligados, que possuem funções específicas como, por exemplo a de antimicrobianos. Os peptídeos são classificados de diversas maneiras sendo uma delas referente ao formato da molécula com características peculiares como ciclotídeo, que apresenta uma cadeia fechada. Os ciclotídeos são peptídeos circulares e possuem uma vasta gama de funções como uterotônica, antimicrobianas, antitumorais, anti-helmíntica, moluscicida, entre outros. O objetivo desta revisão narrativa, foi descrever a estrutura dos ciclotídeos e suas aplicações. Os ciclotídeos mais estudados na literatura são Kalata B1, B2 e cicloviolacina O2. Kalata B1 e B2 possuem atividade antimicrobiana, porém os estudos se baseiam em suas funções anti-helmíntica e inseticida. Cicloviolacina O2 é o ciclotídeo com características antitumorais *in vitro*. Esses peptídeos possuem alto potencial de serem modelos de novos quimioterápicos, pela sua capacidade de resistência a oscilações de temperatura e ações enzimáticas externas.

Palavras-chave: Ciclotídeos. Peptídeos. PAM'S. Antitumoral. Antimicrobianos. Uterotônicos. Anti-Helmíntico.

Cyclotides: origin, structure and secondary functions, a narrative review

ABSTRACT

Peptides are chains formed of 2 to 100 linked aminoacids, which have specific functions as, for example, antimicrobials. Peptides are classified in a number of ways, one of which refers to the shape of the molecule with peculiar characteristics for instance a cyclotron, that has a closed chain. Cytoids are circular peptides and have a wide range of functions such as uterotonic, antimicrobial, antitumor, anthelmintic, molluscicide, among others. The objective of this review was to describe the structure of the cycloids and their applications. The most studied cytotoxes in the literature are Kalata B1, B2 and cycloviolacin O2. Kalata B1 and B2 have antimicrobial activity, but the studies were based on their anthelmintic and insecticide functions. Cycloviolacin O2 is the cytotoxic with *in vitro* antitumor characteristics. These peptides have high potential to be models of new chemotherapeutics, due to their capacity to resist temperature fluctuations and external enzymatic actions.

Keywords: Cyclotides. Peptides. AMP's. Antitumoral. Antimicrobial. Uterotonics. Anti-Helminthic

¹Graduando do curso de Biomedicina do Centro Universitário de Brasília - UniCEUB

²Biólogo. Doutor em Biologia Animal pela Universidade de Brasília

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, gostaria de agradecer minha família por acreditar em mim em todos os momentos, obrigado de verdade. Agradeço em especial a meus pais, que lutaram com unhas e dentes para me manter estudando.

Agradeço também ao meu orientador, Dr. Paulo Queiroz pela confiança em meu potencial.

Aos amigos sem os quais não seria ninguém. Amigos da vida.

Agradeço especialmente aos meus tutores Osmar Silva e Isabel Fensterseifer, que me ajudaram e me apoiaram durante toda a graduação e estão acrescentando no meu aprendizado, no meu crescimento como profissional e como pessoa. Muito obrigado!

Agradeço a todos!

1-INTRODUÇÃO

Peptídeos são a união de 2 até 100 aminoácidos (aa) por meio de ligações peptídicas, considerando que os aminoácidos possuem uma extremidade C-terminal, correspondente a parte do ácido carboxílico e a extremidade N-terminal, referente ao grupo amina. Assim como os aminoácidos, os peptídeos também possuem as extremidades C e N terminais, pois na junção peptídica entre dois aminoácidos, ocorre a ligação do grupo carboxila do primeiro aminoácido com o grupo amina do segundo, resultando na liberação de uma molécula de água (BERG; TYMOCZKO; STRYER, 2008; SCHULTZ, 1998).

O peptídeo pode ser classificado de diversas formas, uma delas é a partir do número de radicais de aminoácidos, que podem ser dipeptídeos, formados por 2 aminoácidos, tripeptídeos com 3 aminoácidos, oligopeptídeos constituídos por 4 a 40 aminoácidos e polipeptídeos que possuem de 40 a 100 aminoácidos em sua estrutura. Assim como as proteínas, os peptídeos apresentam uma variedade de funções no organismo humano como, por exemplo: função estrutural, de reserva energética, transporte, enzimática, hormonal, defesa do organismo, entre outras (GALANTE, 2014; MIGLILOLO et al., 2016).

Dentre as funções dos peptídeos a de defesa do organismo é bastante relevante, mediada pelas globulinas e interferons, que destroem bactérias e protegem as células dos vírus, respectivamente. Outra categoria de peptídeos que podem participar da defesa do organismo, são os peptídeos antimicrobianos (PAM'S), que possuem atividade inibitória geral, ou seja, contra fungos, bactérias, parasitas ou vírus (LÖFGREN, 2007).

O uso indiscriminado de antibióticos, associado ao curto prazo de replicação bacteriana (exponencial) ocasionou a seleção de bactérias resistentes a esses medicamentos, tornando-os ineficientes contra certas estirpes, causando mortes consequentes de infecções por patógenos que antes respondiam bem a tais drogas sejam por efeitos bacteriostáticos ou bactericidas (SILVA et al., 2015).

Por esta e outras razões, a busca por alternativas que evitam a evolução da resistência se faz necessária para impedir que simples quadros patológicos de amigdalite e de outras doenças possam induzir pacientes ao óbito, devido a persistência microbiológica e a não resposta à antibioticoterapia. Uma alternativa atualmente pesquisada é justamente o uso dos peptídeos antimicrobianos que, como dito anteriormente, são pequenos fragmentos de

aminoácidos com a ação semelhante aos antibióticos convencionais (FENSTERSEIFER, 2014).

Os peptídeos antimicrobianos são anfipáticos, ou seja, possuem a capacidade de interagir tanto com substâncias lipossolúveis (fosfolípídeos) quanto com substâncias hidrossolúveis, como sais; por conterem essa característica, os PAM'S apresentam a capacidade de permear as membranas plasmáticas, que são lipídicas e, concomitante, serem solúveis no plasma do hospedeiro (SILVA et al., 2012; SILVA et al., 2014).

O principal mecanismo de ação dos PAM's afeta a membrana celular bacteriana e de acordo com Lohner (2011), podem interagir com o microrganismo alvo através dos receptores de membrana ou, no próprio envoltório, com a inserção do mesmo no citoplasma, resultando em prejuízos na função da membrana ou na sua destruição, promovendo, portanto, morte celular por lise. Outra forma efetiva contra bactérias e microrganismos em geral, após a entrada do peptídeo, o mesmo liga-se ao DNA da célula alvo e, dessa forma, modula a síntese de enzimas essenciais para a vida do mesmo. Existem estudos científicos que sugerem o modo de ação dos peptídeos em outras espécies de microrganismos, porém em bactérias esses mecanismos estão mais elucidados (LOHNER, 2011; VERLY, 2010).

Dentre os tipos de interação com a membrana que forma poros, existe o modelo chamado de “barril”, por formar um canal iônico permitindo a entrada descontrolada de íons na célula, determinando um desequilíbrio da polaridade da membrana levando a lise celular. Existe também o modelo no qual os peptídeos formam um “tapete”. Essa conformação ocorre na camada de fosfolípídios da membrana plasmática, produzindo dobramento do tipo poro “toroidal”, permitindo a passagem de íons e moléculas grandes. E também existe um modelo chamado “detergente”, o qual ocasiona a lise bacteriana por desequilíbrio eletrolítico (LÖFGREN, 2007).

PAM's do tipo bacteriocinas são encontrados em bactérias, tanto Gram negativas quanto positivas e possuem função de impedir que espécies competidoras possam crescer e disputar nutrientes, como é o caso dos *Bacillus amyloliquefaciens*. Outros tipos são encontrados em vegetais, como as vicilinas, ou sintetizados como o caso da Clavanina MO a partir de fragmentos de um gene específico. Por fim, ainda existe uma classe de peptídeos peculiares, os ciclotídeos que possuem uma cadeia fechada, diferentemente dos demais (MALAGÓN et al., 2013; SILVA et al., 2015; SUTYAK et al., 2008).

Ciclotídeos são peptídeos encontrados em diversas espécies de plantas como, por exemplo, a família *Rubiaceae*, e que apresentam estruturas peculiares, pois possuem conformação circular, uma vez que no geral, todos são lineares. Possuem de 28 a 37 resíduos de aminoácidos, porém há divergências no que diz respeito a esses números. Segundo Colgrave et al. (2008) podem ter até 30 resíduos de aa, contudo não há consenso. Neste estudo, serão considerados peptídeos de até 37 aa (FENSTERSEIFER, 2014).

O objetivo deste trabalho foi descrever a origem dos ciclotídeos kalata B1, kalata B2 e ciclovioiacina O2 e demonstrar as estruturas e funções associadas a esses peptídeos.

2-METODOLOGIA

Este trabalho trata-se de uma revisão bibliográfica do tipo narrativa. Esta se caracteriza por selecionar estudos de forma subjetiva, ou seja, aos critérios do autor (EIME et al., 2015). Foram realizadas buscas nas bases de dados *Google Scholar*, PubMed e repositórios institucionais da Universidade Católica de Brasília e UnB (Universidade de Brasília). Os artigos usados foram limitados aos idiomas inglês e português, excepcionalmente artigos em espanhol foram utilizados por sua relevância ao tema. Não houve limitação referente ao ano do artigo e nem ao período de busca, sendo este superior a 10 anos. As palavras-chave utilizadas foram “peptídeo antimicrobiano” (*antimicrobial peptides*), “PAM’s” (*AMP’s*), Ciclotídeos (*Cyclotides*), “anti-HIV ciclotídeos” (*anti-HIV cyclotides*), isolados e combinações.

3-DESENVOLVIMENTO

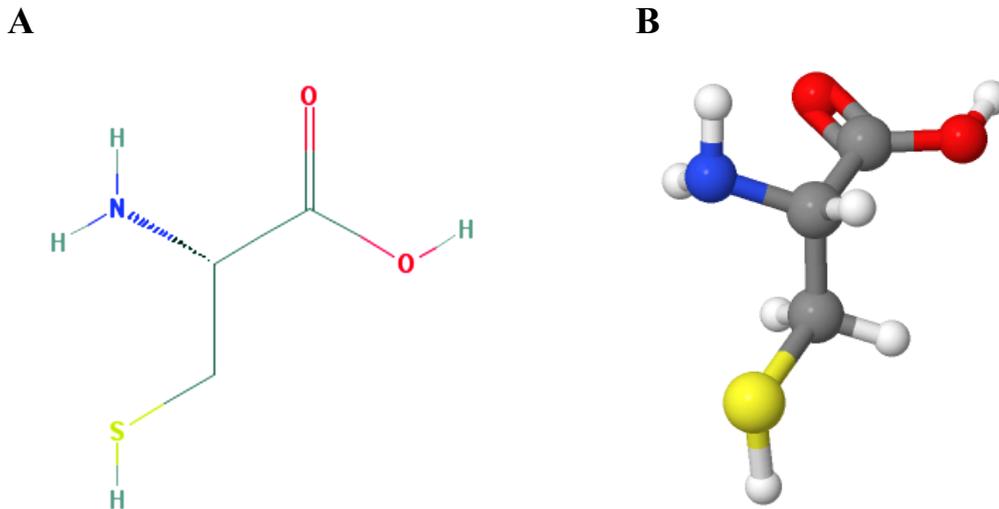
3.1-Ciclotídeos

Ciclotídeos são peptídeos com conformação cíclica, os quais apresentam 28 a 37 aminoácidos. Foram descritos pela primeira vez em 1960 por um médico norueguês em missão da cruz vermelha, ao observar em uma tribo chamada “Lulula” um hábito que consistia na parturiente em tomar um chá que facilitava o parto. O chá, conhecido por possuir características uterotônicas, foi analisado com mais cautela e percebeu-se que possuíam outras moléculas cíclicas, e determinou-se chamá-las de Kalata B1, em função do nome da planta cujo princípio foi isolado, pertencer à espécie *Kalata kalata* na língua nativa. Ciclotídeos derivados de plantas são geralmente encontrados em quatro famílias: Curcubitaceae, Poaceae, Rubiaceae e Violaceae (COLGRAVE et al., 2008).

Essa classe de peptídeos, além de serem diferenciados pela estrutura não convencional, podem ser chamados de “mini proteínas cíclicas” com seis cisteínas, um aminoácido capaz de compor a ponte de cistina, ou seja, que fazem ligações dissulfeto entre si. As pontes dissulfeto são responsáveis pela conformação terciária destes ciclotídeos. O aminoácido cisteína está ilustrado na figura 1 (FENSTERSEIFER, 2014). A ligação de duas cisteínas formam os chamados “nós” de cistina, esse nome é dado basicamente porque quando duas cisteínas são ligadas, caracterizam o dipeptídeo. A configuração dessas ligações já foi bem elucidada e, deste modo, foi descrito na literatura que a primeira cisteína liga-se à quarta, a segunda liga-se à quinta e a terceira à sexta, formando um conjunto de ligações dissulfeto entre si, o que garante maior estabilidade à molécula (CRAIK, 2010).

Os peptídeos circulares possuem domínios conservados, ou seja, aminoácidos em posições semelhantes entre diferentes ciclotídeos, como pode ser observado na figura 2. Esses domínios conservados são do aminoácido cisteína e estas, fazem ligações entre si, gerando três ligações dissulfeto que estabilizam a molécula, tornando-as resistentes à degradação térmica e enzimática (BROUSSALIS, 2006).

FIGURA 1: **A)** Estrutura da cisteína com o enxofre em amarelo, responsável pelas ligações dissulfeto que geram a estabilização da molécula do ciclotídeo, deixando-a resistente a maiores temperaturas e às enzimas. São mostrados o grupo amina em azul e o grupo carboxila em vermelho à direita. **B)** Estrutura tridimensional da mesma molécula.



Fonte: Adaptado de Frey, 2015.

3.1.1 Subfamílias

Os ciclotídeos podem ser divididos em duas subfamílias a *Möbius* e *Braceletes*. A primeira, possui uma ligação *cis*-prolina no *loop 5* que faz uma torção de 180 graus na estrutura terciária. Nesta subfamília estão incluídas a Kalata B1 e Kalata B2, abordadas neste estudo, e também a violapeptídeo 1. As prolínas foram destacadas em amarelo na figura 2. A segunda subfamília não possui ligação *cis*, e nem prolínas no *loop 5*, sendo que neste estudo será abordada a Cicloviolacina O2, porém, neste grupo também pode-se incluir as Circulinas A e B pois, possuem apenas ligações *trans*.

FIGURA 2: Sequência de aminoácidos dos ciclotídeos e destaque para as cisteínas, responsáveis pelas ligações dissulfeto. O alinhamento foi feito de acordo com a sua subfamília, *Möbius* ou *Bracelete*. Em verde, destaque para as cisteínas responsáveis pelas pontes dissulfeto formando os nós de cistina e formação dos *loops* (I a VI). Em amarelo, as prolinas, responsáveis pela torção de 180 graus pela ligação *cis* no *loop* V no grupo *Möbius*.

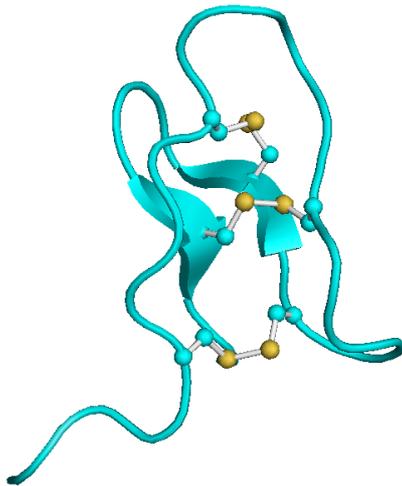
| | I | II | III | IV | V | VI |
|-------------------|-----------|--------|---------|-------|---------|-------|
| MÖBIUS | | | | | | |
| KALATA B1 | GLPVCGETC | CVGGTC | CNTP-- | GCTC | SWPV- | CTR |
| KALATA B2 | GLPVCGETC | CFGGTC | CNTP-- | GCSCT | WP | I-CTR |
| Violapeptídeo 1 | GLPVCGETC | CVGGTC | CNTP-- | GCS | SRPV- | CTXN |
| BRACELETE | | | | | | |
| CICLOVIOLACINA O2 | GIP-CGESC | VWIP | PCISS- | AICS | CKSKV- | CYRN |
| Circulina A | GIP-CGESC | VWIP | PCISA | ALGC | SCKNKV- | CYRN |
| Circulina B | GVIPCGESC | VFIP | PCISTLL | GC | SCKNKV- | CYRN |

3.2-Kalata B1

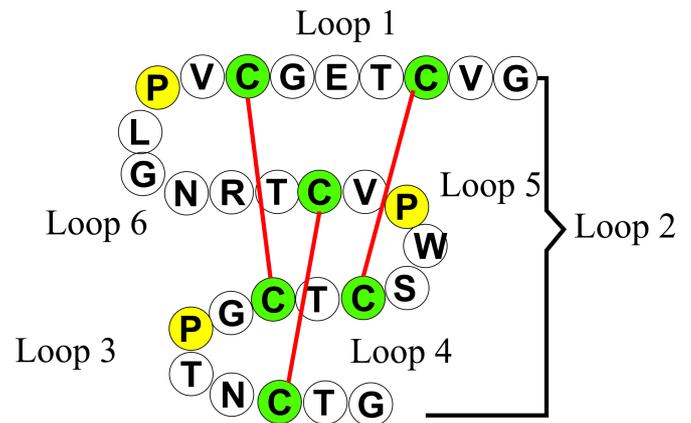
Kalata B1 foi o primeiro ciclotídeo a ser descrito, em 1960, advindo do chá da planta popularmente chamada de Kalata kalata (*Oldenlandia affinis*), pertencente à família Rubiaceae. Contudo, apenas dez anos depois é que se descobriu a estrutura desta molécula; até então não se tinha ideia que este peptídeo possuía cadeia fechada. Como a maioria dos ciclotídeos, Kalata B1 possui domínios conservados contendo o aminoácido cisteína; isso permite que a estrutura forme uma estrutura em anel como pode ser observado na figura 3 (BROUSSALIS, 2006; FENSTERSEIFER, 2014; MALAGÓN et al., 2013; PICCHI et al., 2009).

FIGURA 3 - Estrutura tridimensional do ciclotídeo Kalata B1 e ilustração das ligações das cisteínas em A) Ilustração da estrutura da Kalata B1 e das ligações dissulfeto (em amarelo). Em B) Diagrama linear evidenciando os seis aminoácidos cisteína fazendo ligações dissulfeto (em amarelo) e em verde os aminoácidos que fazem os *loops*, ou seja, as curvas na estrutura.

A



B



Fonte: autoria própria

Kalata B1 foi associado inicialmente às características uterotônicas, porém em estudos posteriores foi comprovado que este ciclotídeo possui atividade antimicrobiana e, após isso ser descrito, observou-se que todos os ciclotídeos possuem, de forma geral alguma atividade antimicrobiana como pode ser visto na tabela 1 (FENSTERSEIFER, 2014; TAM et al., 1999). Além disso, Colgrave et al. (2008) e Craik (2010) testaram este peptídeo contra helmintos, tanto de humanos quanto de bovinos, e obtiveram resultados satisfatórios, sendo então comprovada a atividade anti-helmíntica contra parasitas intestinais como o *Haemonchus contortus* e *Trichostrongylus colubriformis*.

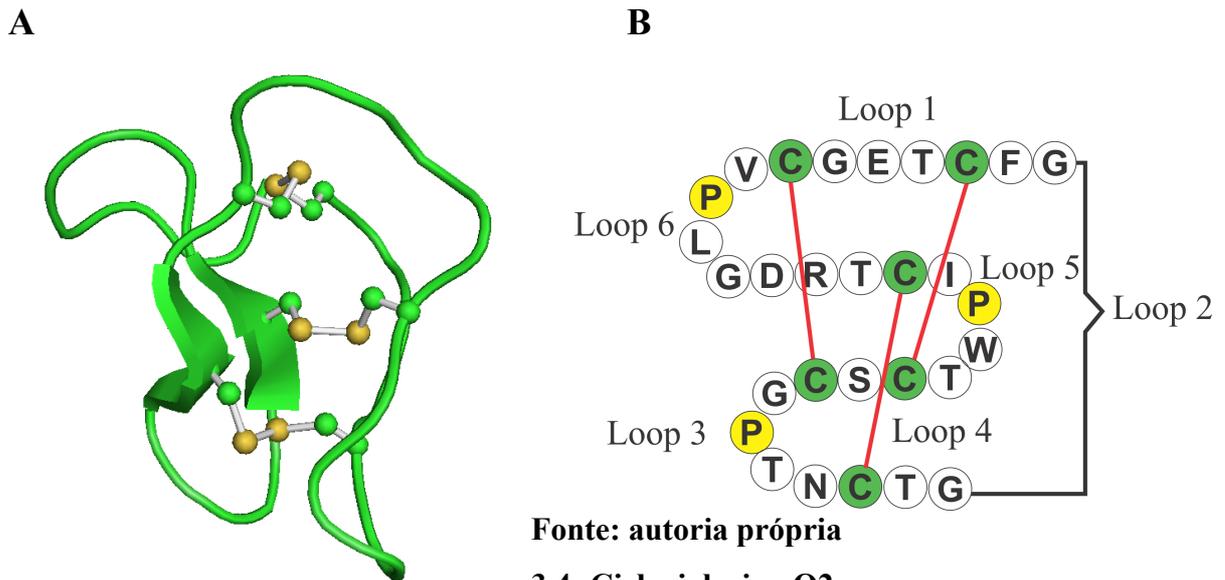
3.3-Kalata B2

O ciclotídeo mostrado na figura 4 é da mesma família do Kalata B1 e apresenta-se bastante semelhante no que diz respeito à estrutura e sequência de aminoácidos. Ele possui apenas 5 aas diferentes e são originados do mesmo extrato de planta, da *Oldenlandia affinis*. Nas subfamílias está inserido na *Möbius* onde possui uma prolina no *loop* 5, gerando um dobramento (PICCHI et al., 2009).

Possui massa molar de 2969,367 g/mol e está associado com várias atividades biológicas como, por exemplo, anti-helmíntica; em comparação ao kalata B1 que obteve CIM de 2,26 μ M, o kalata B2 precisou de 1,59 μ M para exterminar o helminto *H. contortus*, sendo uma dose menor e dessa forma mais eficaz. Neste mesmo estudo foi testado também a cicloviolacina O2, que obteve tanto para *H. contortus* quanto para *T. colubriformis* doses menores 0,12 μ M e 0,24 μ M respectivamente, para matar no mínimo 50% dos helmintos. São relatados na literatura, ensaios contra o parasita do arroz e de plantas aquáticas nativas do Sudeste asiático, o “caramujo de maçã dourada”, *Pomacea canaliculata*, muito encontrado em água doce.

Dessa forma, Plan et al. (2008) acharam importante usar alguma alternativa para controlar a população deste molusco, pois tratava-se de diminuir prejuízos junto a agricultura, principalmente no Sudeste asiático. O ciclotídeo Kalata B2 foi testado juntamente com outros ciclotídeos da espécie de planta *Viola biflora* (cicloviolacina O2) de forma isolada. Os peptídeos da planta *Viola biflora* tiveram mais êxito em matar os moluscos. O experimento consistia em usar a mesma concentração para todos os ciclotídeos, de 65 μ M, nos quais foram utilizados, cicloviolacina O2, Kalata B2, B1 entre outros, e depois se observava a mortalidade dos moluscos, sendo que a cicloviolacina O2, obteve 100% de mortalidade, seguido de 70% da Kalata B1 e 79% da Kalata B2. A Cicloviolacina O2 obteve a maior mortalidade com uma mesma dose em relação aos ciclotídeos da *Oldenlandia affinis* (Colgrave et al., 2008).

FIGURA 4 - Estrutura tridimensional circular da Kalata B2 e ilustração das ligações das cisteínas no centro. **A)** Em amarelo átomos de enxofre fazendo ligações dissulfeto. **B)** Diagrama da disposição dos aminoácidos e das ligações dissulfeto, em vermelho.



3.4- Cicloviolacina O2

Este ciclótideo é o mais estudado quando se leva em consideração atividades antitumorais, sua estrutura pode ser observada na figura 5. É extraído de plantas da espécie *Viola biflora*, *Viola odorata* e *Viola philippica*.

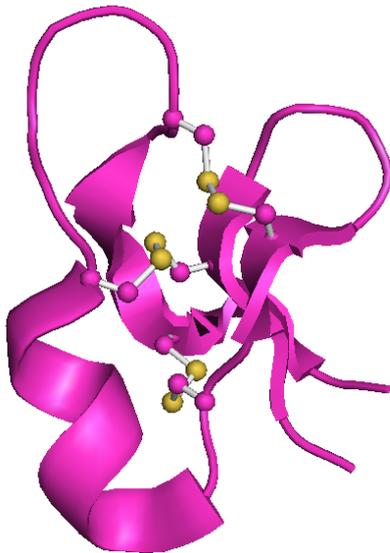
Como citado anteriormente, a cicloviolacina O2 foi testada contra parasitas nematóides e, também, em moluscos, apresentando boa atividade contra ambos, ou seja, em pequena concentração foi capaz de matar esses parasitas (Colgrave et al, 2008; Plan et al, 2008). Em outros estudos, como o de Gerlach et al. (2010) foram testados em células tumorais, com concentração máxima usada de 10 μM , CF-7 e HeLA e, em outro, de Wang et al (2012) com concentração média de 25 μM em micelas. Esses são modelos *in vitro* de células cancerígenas e de interação de membranas, respectivamente.

Os ciclótideos, como a cicloviolacina O2, possuem afinidade com membranas lipídicas e possuem ainda mais afinidade por membranas ricas em fosfoetanolamina. Essa característica foi descrita tanto em trabalhos de Wang et al. (2012) e Henriques (2017) pois, essa afinidade pode facilitar suas atividades antitumorais. No entanto, não se tem a real comprovação dessa interação, no mesmo estudo é descrito que a afinidade se dá pelo fato da estrutura do ciclótideo ter porções hidrofóbicas e, também, devido às cargas positivas do mesmo, proporcionadas pelos resíduos de lisina. Essa positividade também pode explicar a efetividade contra modelos de células cancerígenas, pois essas são levemente mais negativas

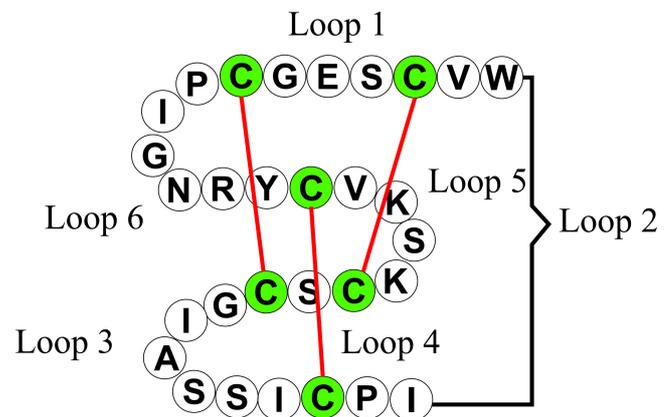
do que as células normais. Em ensaios antitumorais descritos por GERLACH et al. (2010) este ciclótideo apresentou atividade citotóxica nos modelos de células HeLa e MCF-7, dito anteriormente, devido à sua positividade (2+). Nos dois experimentos, em micelas e células tumorais, a interação membranosa é importante no mecanismo de ação do ciclótideo. Pinto (2017) descreve ainda que o mecanismo que ocorre na membrana é a formação de poros, os quais são responsáveis por desestabilizar o equilíbrio eletrolítico da célula.

FIGURA 5 - Estrutura tridimensional circular da Cicloviolacina O2 e ilustração das ligações das cisteínas no centro da estrutura em vermelho. **A)** Em amarelo átomos de enxofre fazendo ligações dissulfeto. **B)** Diagrama da disposição dos aminoácidos e das ligações dissulfeto, em vermelho.

A



B



Fonte: autoria própria

TABELA 1 - Resumo das origens dos ciclótideos abordados neste estudo com as suas respectivas atividades associadas, assim como, suas atividades antimicrobianas a alguns ciclótideos mais abordados na literatura e neste trabalho

| Ciclótideo | Origem | Atividade | Bactéria | CIM* | Atividades | Referência |
|------------|--------|-----------|----------|------|------------|------------|
|------------|--------|-----------|----------|------|------------|------------|

| | | | | (μM) | secundárias | |
|--------------------------|-----------------------------|-------------------------|---------------------------------------|-------------------|------------------------------|--------------------------|
| Kalata B1 | <i>Oldenlandia affinis</i> | Antimicrobiano | <i>Proteus</i> | 0,26 | Uterotônico, | Tam et al (1999) |
| | | | <i>vulgaris</i> e <i>S. aureus</i> | 100 | Anti-HIV, anti-helmíntico | Fensterseifer, (2014) |
| Kalata B2 | <i>Oldenlandia affinis</i> | Antimicrobiano | <i>S. aureus</i> | 50 | Anti-helmíntico | Fensterseifer, (2014) |
| Circulina A | <i>Chassalia parvifolia</i> | Antimicrobiano | <i>Proteus vulgaris</i> | 54,6 | Anti-HIV | Tam et al, (1999) |
| Circulina B | <i>Chassalia parvifolia</i> | Antimicrobiano | <i>Proteus vulgaris</i> | 6,8 | Anti-HIV | Tam et al, (1999) |
| Cicloviolacina O2 | <i>Viola biflora</i> | Antitumoral in vitro | <i>S. aureus</i> | 25 | Antimicrobiano | Fensterseifer, (2014) |

*Concentração Inibitória Mínima

4-CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os ciclotídeos possuem várias atividades como, uterotônico, antimicrobiano, anti-helmíntico, moluscicida, antitumoral, entre outros, mostrando seu grande espectro de ação. Assim, eles podem, em alguns anos, ser usados de forma mais ativa, ou seja, como primeiras

linhas de escolha para qualquer uma de suas funções associadas. As mais importantes, até aqui, são as atividades antimicrobianas e antitumorais.

Em estudos posteriores serão necessárias novas formas de testes contra bactérias resistentes à fármacos, o que não ocorreu nos estudos consultados, pois todas as bactérias testadas eram modelos já entendidos e não resistentes. Os estudos com modelos antitumorais, deveriam avançar com testes em espécies animais de grande porte, viabilizando a análise de interações com as membranas lipídicas. Futuramente, com maiores investimentos, os ciclótídeos poderão ser testados em humanos e muito provavelmente novos fármacos entrarão no mercado consumidor e em redes de saúde.

Outra aplicação, é utilizar as inúmeras funções dos ciclótídeos como uma opção de tratamentos combinados em pacientes com tumores sólidos e com algum tipo de infecção, assim, a cicloviolacina O2 poderia ser administrada para as duas disfunções desde que administrada em dose reduzida, minimizando a chance de toxicidade ao paciente que já está enfermo. Efeitos sinérgicos serão esperados, uma vez que os medicamentos provavelmente irão atuar de maneiras diferentes, somando os seus potenciais.

No ponto de vista de síntese e modelos de novos quimioterápicos, a vantagem das estruturas desses peptídeos é a contenção de resistência enzimática e térmica, algo não satisfatório em outros medicamentos que não possuem o potencial de ação desejado, justamente por serem degradados rapidamente. Junto ao arcabouço de ligações dissulfeto cruzadas e estabilizadas, os ciclótídeos seriam modelos de inspiração de biofármacos potentes contra essas interferências.

Mais estudos a respeito dessa família de peptídeos, são de suma importância para expandir além dos conhecimentos acerca da ação antimicrobiana, novas pesquisas de imunomodulação, recrutamento, sinalização, entre outras. Nos trabalhos realizados sobre os antimicrobianos, mensurar seu (s) mecanismo (s) de ação para melhor aplicá-los. E em modelos tumorais, elucidar os mecanismos envolvidos na inibição do câncer, verificando se ele é ou não específico de alguma linhagem celular. Por fim, ciclótídeos são uma estratégia interessante para a formação de novos quimioterápicos com multifunções.

5- REFERÊNCIAS

BERG, J. M.; TYMOCZKO, J. L.; STRYER, L. **Bioquímica**. 6 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

- BROUSSALIS, A. M. Ciclotídeos : péptidos macrocíclicos presentes en plantas (Revisión) Cyclotides : macrocyclic peptides found in plants (Review). **Dominguezia**, v. 22, n. 1, p. 7–14, 2006.
- COLGRAVE, M. L. et al. Cyclotides: Natural, circular plant peptides that possess significant activity against gastrointestinal nematode parasites of sheep. **Biochemistry**, v. 47, n. 20, p. 5581–5589, 2008.
- CRAIK, D. J. Discovery and applications of the plant cyclotides. **Toxicon**, v. 56, n. 7, p. 1092–1102, 2010.
- EIME, et al., U. DE S. P.-U. O que é revisão da literatura? **Faculdade de Ciências Agrônômicas UNESP Campus de Botucatu**, p. 9, 2015.
- FENSTERSEIFER, I.C.M. **Avaliação da atividade antibacteriana e imunomodulatória de ciclotídeos**. 2014. 80f. Dissertação de Mestrado do Programa de pós-graduação em Patologia Molecular – UnB, Brasília, 2014.
- FREY, S. M. et al. Confirming the Causative Role of Acetaminophen in Indeterminate Acute Liver Failure Using Acetaminophen-Cysteine Adducts. p. 218–222, 2015.
- GALANTE, F. **Fundamentos de bioquímica: para universitários, técnicos e demais profissionais da área da saúde**. 2 ed. São Paulo: Rideel, 2014.
- GERLACH, S. L. et al. Anticancer and chemosensitizing abilities of cycloviolacin O2 from *Viola odorata* and psyle cyclotides from *Psychotria leptothyrsa*. **Biopolymers**, v. 94, n. 5, p. 617–625, 2010.
- HENRIQUES, S. T.; CRAIK, D. J. Cyclotide Structure and Function: The Role of Membrane Binding and Permeation. **Biochemistry**, v. 56, n. 5, p. 669–682, 2017.
- LOHNER, K. The role of membrane lipid composition in cell targeting of antimicrobial peptides.. In: LOHNER, k. **Development of Novel Antimicrobial Agents: Emerging Strategies**, London: Horizon Scientific Press, p 149 – 165, 2001.
- LÖFGREN, S. E. **Atividades antimicrobiana, antiparasitária e hemolítica de peptídeos antimicrobianos isolados de animais aquáticos**. 2007. 75f. Dissertação de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia – UFSC, Florianópolis, 2007.
- MALAGÓN, D. et al. **Anthelmintic activity of the cyclotides (kalata B1 and B2) against schistosome parasites**. Queensland, Biopolymers: Peptide Science p. 1–30, 2013.
- MIGLIOLO, L., et al. Structural and functional evaluation of the palindromic alanine-rich antimicrobial peptide *Pa*-MAP2. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes**, Amsterdã, v. 1858, p. 1488-1498, jul. 2016.
- PLAN, M. R. R. et al. Backbone cyclised peptides from plants show molluscicidal activity against the rice pest *Pomacea canaliculate* (golden apple snail). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 13, p. 5237–5241, 2008.
- PICCHI, D. G. et al. Peptídeos cíclicos de biomassa vegetal: Características, diversidade, biossíntese e atividades biológicas. **Química Nova**, v. 32, n. 5, p. 1262–1277, 2009.

PINTO, M. F. S. **Avaliação de novos ciclotídeos com potencial anticâncer e nanoestruturas associadas**. 2007. 61f. Dissertação de doutorado do programa de pós-graduação em Ciências genômicas e Biotecnologia-UCB, Brasília, 2007.

SCHULTZ, R. M. Proteínas I: composição e estrutura. In: DELVLIN, T. M. **Manual de Bioquímica: com correlações clínicas**. 4 ed. São Paulo: Editora Edgard Blücher Ltda, 1998. p.19-70.

SILVA, O.N, et al. Cn-AMP1: a new promiscuous peptide with potential for microbial infections treatment. **Peptide Science**, Washington, v. 98, p. 322–331, abr. 2012.

SILVA, O.N, et al. Clavanin A improves outcome of complications from different bacterial infections. *Antimicrob Agents Chemother*. **Antimicrobial Agents Chemotherapy**, Washington, v. 59, p. 1620–1626, dez, 2014.

SILVA, O. N. et al. Clavanin a improves outcome of complications from different bacterial infections. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 59, n. 3, p. 1620–1626, 2015.

STOTHARD, P. **The Sequence Manipulation Suite**: JavaScript programs for analyzing and formatting protein and DNA sequences. *Biotechniques* 28:1102-1104, 2000.

SUTYAK, K. E. et al. Isolation of the *Bacillus subtilis* antimicrobial peptide subtilosin from the dairy product-derived *Bacillus amyloliquefaciens*. **Journal of Applied Microbiology**, v. 104, n. 4, p. 1067–1074, 2008.

TAM, J. P.; LU, Y. A.; YANG, J. L.; CHIU, K. W. An unusual structural motif of antimicrobial peptides containing end-to-end macrocycle and cystine-knot disulfides. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 96, n. 16, p. 8913-8, 1999.

VERLY, R. M. **Peptídeos Antimicrobianos: síntese, ensaios biológicos, estudos termodinâmicos e análise estrutural por RMN em meios biomiméticos**. 2010. 182f. Tese de doutorado em Química Orgânica- UFMG, Belo Horizonte, 2010.

WANG, C. K.; WACKLIN, H. P.; CRAIK, D. J. Cyclotides Insert into Lipid Bilayers to Form Membrane Pores and Destabilize the Membrane through Hydrophobic and Phosphoethanolamine-specific Interactions. **The Journal Of Biological Chemistry**. v. 287, n. 52, p. 43884–43898, 2012.