**Aislamiento y caracterización de un nuevo inhibidor de tripsina de pimiento amarillo, con actividad inhibitoria del crecimiento de *Cándida albicans***

Ozón B (1), Geier F (1), Vera González SM (1), Claver S (1), Rossotti M (1), Obregón WD (1), Cotabarren J (1)

(1) Centro de Investigación de Proteínas Vegetales (CIProVe), Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata, 47 y 115 s/N, La Plata, Buenos Aires, Argentina.

brendaozon@biol.unlp.edu.ar

En los últimos años, la búsqueda de compuestos naturales con aplicación medicinal está aumentando debido a que se ha puesto en discusión la práctica del uso de drogas sintéticas, debido a los altos costos del tratamiento, toxicidad por efectos secundarios y menor eficacia; produciéndose así la necesidad de complementar el tratamiento con medicamentos naturales. En este trabajo se informa el aislamiento, purificación y caracterización de un nuevo inhibidor de tripsina aislado a partir de semillas de morrón amarillo (*Capsicum annuum L.*) sobre el cual se evalúa actividad antifúngica frente a diversas cepas de Cándidas. Dicho inhibidor (al que denominamos YBPTI) presentó una estabilidad fisicoquímica muy alta, manteniendo un 60% de la actividad inhibitoria de tripsina residual luego de ser incubado durante 60 min a pHs extremos (pH 2 y pH 12) y 74,65% de la actividad inhibitoria de tripsina residual luego de 1 hora a 100 °C. Ensayos cinéticos permitieron determinar una constante cinética de inhibición (*Ki*) de 1,7 x10-6 M y una IC50 (concentración de inhibidor que produce 50% de inhibición de tripsina) de 3,9 µg/mL Otro descubrimiento interesante para su potencial uso biomédico fue la evidencia de una fuerte capacidad inhibitoria de la enzima α-1,4-glucosidasa con una IC50 de 75,33 ng/ml, resultado que es muy prometedor para la potencial aplicación de este inhibidor como agente hipoglucemiante natural. Finalmente se evaluó la actividad antifúngica de YBPTI frente a diversas levaduras. Fue posible observar que 5 µg de inhibidor provocaron inhibición del crecimiento de *Cándida albicans* y *Saccharomyces cerevisiae*, mientras que no hubo efecto sobre el crecimiento de *Cándida tropicalis, Cándida krusei, Cándida glabrata* y *Rhodotorula spp.* Mediante el ensayo de dilución en placa fue posible determinar una Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) de 5,7 µg/ml y una Concentración Fungicida Mínima (CFM) de 17,03 µg/ml, valores que se corresponden con un efecto fungicida del YBPTI sobre *C. albicans* (CFM/CIM<4). Por microscopía óptica fue posible evidenciar los cambios morfológicos producidos por el YBPTI sobre las células de *C. albicans* así como también se pudo evaluar el efecto sobre la membrana plasmática mediante la adición de SYTOX Green. Este hallazgo es de especial importancia ya que promueve al inhibidor de tripsina de *Capsicum annuum* L., como una molécula con el potencial de convertirse en un fármaco natural contra la infección causada por *C. albicans,* muy eficiente y potente a muy bajas concentraciones. Estos resultados son prometedores para profundizar el estudio del efecto antifúngico de YBPTI y su caracterización molecular, permitiendo el descubrimiento de nuevas moléculas de origen natural con potencial para su empleo en la industria farmacéutica. Se propone continuar estudiando la potencial actividad inhibitoria de las otras cepas bacterianas empleando mayor concentración de muestra y, además, profundizar el estudio sobre el mecanismo de inhibición de crecimiento sobre Cándidas.

Palabras Clave: inhibidor de proteasa, antifúngico, productos naturales, *Capsicum annuum*.