

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA

CURSO DE BIOTECNOLOGIA

Avaliação *in silico* de potenciais inibidores peptídicos derivados do transcriptoma da peçonha de *Odontomachus chelifer* contra alvos relacionados à doença de Alzheimer

Augusto Silva Moreira

Monografia apresentada à Coordenação do Curso de Biotecnologia, da Universidade Federal de Uberlândia, para obtenção do grau de Bacharel em Biotecnologia.

Uberlândia - MG

Julho – 2026

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA

CURSO DE BIOTECNOLOGIA

Avaliação *in silico* de potenciais inibidores peptídicos derivados do transcriptoma da peçonha de *Odontomachus chelifer* contra alvos relacionados à doença de Alzheimer

Augusto Silva Moreira

Prof.^a Dra. Renata Santos Rodrigues

Dr. Lucas Matos Martins Bernardes

Monografia apresentada à Coordenação do Curso de Biotecnologia, da Universidade Federal de Uberlândia, para obtenção do grau de Bacharel em Biotecnologia.

Uberlândia - MG

Julho – 2026

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA

CURSO DE BIOTECNOLOGIA

Avaliação *in silico* de potenciais inibidores peptídicos derivados do transcriptoma da peçonha de *Odontomachus chelifer* contra alvos relacionados à doença de Alzheimer

Augusto Silva Moreira

Prof.^a Dra. Renata Santos Rodrigues

Instituto de Biotecnologia – IBTEC

Dr. Lucas Matos Martins Bernardes

Instituto de Biotecnologia – IBTEC

Homologado pela coordenação do Curso
de Biotecnologia em __/__/__

Prof.^a Dra. Rute Magalhães Brito

Coordenadora do Curso de Biotecnologia

Uberlândia - MG

Julho – 2026

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA

CURSO DE BIOTECNOLOGIA

Avaliação *in silico* de potenciais inibidores peptídicos derivados do transcriptoma da peçonha de *Odontomachus chelifer* contra alvos relacionados à doença de Alzheimer

Augusto Silva Moreira

Aprovado pela Banca Examinadora em: / /

Nota: ____

Prof.^a Dra. Renata Santos Rodrigues

Uberlândia, 10 de julho de 2026

*“Being a part of something special does
not make you special.*

*Something is special because You are a
part of it.”*

Dedico esse trabalho aos meus pais, Dirceu Gonçalves Moreira e Jandra Palmira da Silva Neto Moreira, à minha tia, Jacqueline Aparecida da Silva Neto, e à minha avó, Raimunda Helena Vieira da Silva Neto, que, sem medir esforços, sempre apoiaram a minha Educação e nunca questionaram os meus sonhos.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço a Deus pelo dom da vida.

Agradeço à minha família por todo o apoio, carinho e conselhos durante essa jornada. Em especial, à minha irmã, Ana Júlia Silva Moreira, por ser um exemplo como cientista.

Agradeço aos meus amigos. A todos que me acompanham desde Sete Lagoas até aqueles que se tornaram família em Uberlândia. A vida adulta e acadêmica seria muito mais complicada sem todas as risadas e conversas.

Agradeço, também, à Prof.^a Dra. Renata Santos Rodrigues, que me acolheu sob sua orientação com tanta generosidade, paciência e compreensão, por sempre me compreender em nossa maneira de trabalhar, o que tornou leve e enriquecedor o desenvolvimento deste trabalho.

Agradeço à equipe do Laboratório de Bioquímica e Toxinas Animais por me acolher e à equipe do Laboratório de Genética, que também foi importante durante a minha formação. Agradeço especialmente ao Prof. Dr. Carlos Ueira Vieira, ao Dr. Lucas Matos Martins Bernardes e à Dr. Fernanda Naves Araujo do Prado Mascarenhas que ajudaram na realização deste trabalho.

Agradeço imensamente à Flames Cheerleaders e a todos os meus atletas que sempre estiveram ao meu lado, na vitória ou na derrota, e por nunca me deixarem desistir. A universidade, sem vocês e todos os treinos, certamente seria muito mais difícil e menos especial.

Por fim, agradeço à Universidade Federal de Uberlândia por todo o conhecimento e pela estrutura para a elaboração desta pesquisa.

RESUMO

A peçonha da formiga *Odontomachus chelifer* é um coquetel rico de moléculas bioativas de interesse biotecnológico. Esse estudo avaliou, *in silico* e *in vitro*, o potencial terapêutico de três peptídeos sintéticos (P1, P2 e P3) derivados do transcriptoma da peçonha de *O. chelifer* contra alvos da doença de Alzheimer. As análises computacionais revelaram que as moléculas possuem pequena massa molecular, perfil catiônico e ausência de toxicidade predita. No *docking* molecular contra alvos da DA (monômero e fibrila de β -amiloide, BACE1 e AChE), o P3 apresentou a maior afinidade para todos os alvos, atuando como um potencial antiagregante no monômero. O P2, por sua vez, obteve destaque ao interagir de forma promissora com o sítio catalítico da BACE1. Nos ensaios *in vitro* de viabilidade celular, confirmou-se um perfil de segurança predita visto que não houve citotoxicidade para as linhagens de astrócitos saudáveis (NHA) e de neuroblastoma (SH-SY5Y), havendo inclusive aumento de viabilidade na concentração de 100 μ M de P1 e P3. Conclui-se que os peptídeos, principalmente o P3, são candidatos promissores para planejamento de fármacos multialvo contra a doença de Alzheimer.

Palavras-chave: *Odontomachus chelifer*; doença de Alzheimer; bioprospecção *in silico*.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	6
1.1 Formigas e suas peçonhas.....	6
1.2 Peptídeos bioativos.....	8
1.3 Doença de Alzheimer.....	10
1.4 Bioprospecção <i>in silico</i>	11
2. OBJETIVOS.....	14
2.1 Objetivo Geral.....	14
2.2 Objetivos Específicos	14
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	15
3.1 Síntese e purificação dos peptídeos	15
3.2 Análise das propriedades físico-químicas	15
3.3 Modelagem e validação das estruturas tridimensionais.....	16
3.4 <i>Docking</i> molecular.....	16
3.5 Cultura de células	17
3.5.1 Cultura celular	18
3.5.2 Neurotoxicidade e Viabilidade Celular	18
4. RESULTADOS	19
4.1 Análise das propriedades físico-químicas	19
4.2 Modelagem e validação das estruturas tridimensionais.....	20
4.3 <i>Docking</i> molecular	22
4.4 Viabilidade celular	27
5. DISCUSSÃO.....	29
6. CONCLUSÃO	34
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	35

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. IMAGEM ILUSTRATIVA DA FORMIGA ODONTOMACHUS CHELIFER.....	7
FIGURA 2. ESQUEMAS REPRESENTANDO A VIA DE PROCESSAMENTO DO APP E A VIA COLINÉRGICA DA DOENÇA DE ALZHEIMER.....	11
FIGURA 3. MODELO TRIDIMENSIONAL DOS TRÊS PEPTÍDEOS SINTETIZADOS.	20
FIGURA 4. AVALIAÇÃO ESTEREOQUÍMICA DOS MODELOS TRIDIMENSIONAIS PELO GRÁFICO DE RAMACHANDRAN GERADOS POR MEIO DO SERVIDOR STRUCTURE ASSESSMENT DO SWISS-MODEL.	21
FIGURA 5. ANCORAGEM MOLECULAR DO PEPTÍDEO 3 COM O MONÔMERO DE B-AMILOIDE..	23
FIGURA 6. ANCORAGEM MOLECULAR DO PEPTÍDEO 2 COM A ENZIMA B-SECRETASE 1 (3TPJ).....	24
FIGURA 7. ANCORAGEM MOLECULAR DOS PEPTÍDEOS 1 E 2 COM O MONÔMERO DE B-AMILOIDE.....	25
FIGURA 8. ANCORAGEM MOLECULAR DOS PEPTÍDEOS COM A FIBRILA DE B-AMILOIDE..	26
FIGURA 9. ANCORAGEM MOLECULAR DOS PEPTÍDEOS COM A B-SECRETASE 1.....	26
FIGURA 10. ANCORAGEM MOLECULAR DOS PEPTÍDEOS COM A ENZIMA ACETILCOLINESTERASE.	27
FIGURA 11. CITOTOXICIDADE DE TRÊS CONCENTRAÇÕES (100 µM, 10 µM E 1 µM) DOS PEPTÍDEOS P1, P2 E P3 EM CÉLULAS DE ASTRÓCITOS SAUDÁVEIS (NHA) E CÉLULAS DE NEUROBLASTOMA (SH-SY5Y).	28

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - CONCENTRAÇÕES DOS PEPTÍDEOS SINTÉTICOS P1, P2 E P3.	18
TABELA 2 - PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DOS TRÊS PEPTÍDEOS OBTIDOS PELO PROTPARAM.	19
TABELA 3 - PARÂMETROS DE VALIDAÇÃO ESTEREOQUÍMICA DOS MODELOS TRIDIMENSIONAIS DOS PEPTÍDEOS AVALIADOS.	21
TABELA 4 - VALORES DE ENERGIA LIVRE DE GIBBS, FORNECIDOS PELO SOFTWARE PRODIGY, EM KCAL/MOL, PARA OS QUATRO ALVOS MOLECULARES.	22

LISTA DE ABREVIATURAS

AChE – Acetilcolinesterase

AMP – Peptídeo Antimicrobiano

APP – Proteína Precursora de Amiloide

BACE1 – β -secretase 1

BHE – Barreira Hematoencefálica

DA – Doença de Alzheimer

DMEM - Meio Eagle Modificado por Dulbecco

FBS – Soro Fetal Bovino

NHA - Astrócito Humano Normal

PAS - Sítio Aniônico Periférico

PBS - *Phosphate-Buffered Saline*

PDB - *Protein Data Bank*

pI – Ponto Isoelétrico

SH-SY5Y – Neuroblastoma

SPPS - Síntese em Fase Sólida

1. INTRODUÇÃO

1.1 Formigas e suas peçonhas

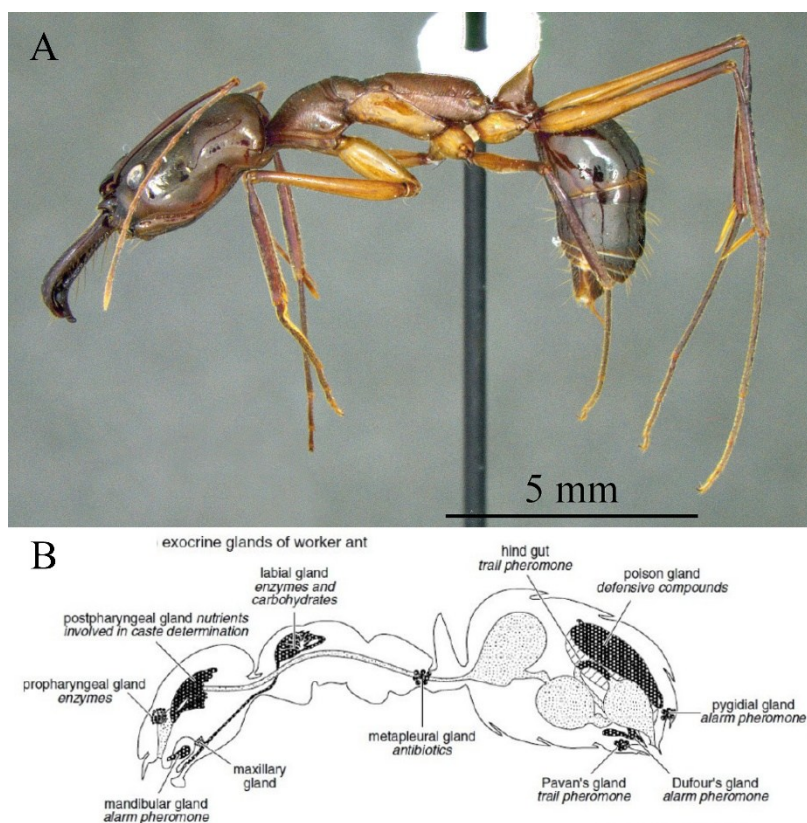
Dentre todas as espécies animais já descritas, a classe Insecta compreende cerca de 70% dessas espécies, devido à sua grande capacidade adaptativa e evolutiva, como seus mecanismos de defesa especializados e hábitos sociais. Entre os insetos, destacam-se os himenópteros (abelhas, formigas e vespas), que são uma das quatro grandes ordens dessa classe (Batista Filho, 2014). Essa ordem compreende diversos animais peçonhentos, bastante conhecidos por seus hábitos sociais que lhes conferiram vantagens evolutivas graças à formação de colônias, aos diferentes níveis de organização de trabalho e à comunicação intraespecífica. Esses animais produzem substâncias químicas únicas, como feromônios, essenciais para a comunicação e coesão social da colônia, assim como peçonhas, utilizadas primordialmente para predação e mecanismo de defesa (Adams et al., 2020; Leonhardt et al., 2016; Sorger; Zettel, 2011).

A família Formicidae compreende aproximadamente 15 mil espécies descritas amplamente distribuídas em uma extensa gama de biomas terrestres. Elas estão agrupadas em 16 subfamílias e 346 gêneros. No Brasil, podem ser encontrados mais de 100 gêneros diferentes, incluindo espécies endêmicas das regiões neotropicais (Liu et al., 2024). As formigas são o maior e mais diversificado grupo de animais peçonhentos terrestres, embora estime-se que a quantidade de espécies descritas não represente nem metade das efetivamente existentes (Baccaro et al., 2015). No Brasil, as formigas estão distribuídas no território de acordo com suas adaptações evolutivas aos diferentes ecossistemas, destacando-se a subfamília Ponerinae, conhecida por seus hábitos predatórios e peçonhas complexas.

No Cerrado brasileiro, a espécie *Odontomachus chelifer* apresenta um tamanho aproximado de 2 cm, e comportamento predatório proeminente, sendo uma espécie de relevância ecológica (França, 2021). Essa espécie distingue-se por sua cabeça alongada, rápidas mandíbulas com ação cinética e carena nugal convergindo em forma de “V” na parte posterior

da cabeça. Devido à ação cinética das mandíbulas, um dos mais rápidos movimentos mensurados do reino animal, elas são conhecidas popularmente como “formigas de estalo” (França, 2021). Seu aparato mandibular e seu estilo de vida fazem com que sejam importantes predadoras e, desse modo, ajudam a controlar populações de outros insetos, assim como auxiliam na manutenção e restauração da paisagem em fragmentos de floresta, nos quais pequenos e grandes mamíferos não ocorrem (Baccaro et al., 2015; Christianini, 2015; Delabie, 2015).

Figura 1. Imagem ilustrativa da formiga *Odontomachus chelifer*. (A) Imagem da formiga *Odontomachus chelifer* em escala. (B) Esquema morfológico de uma formiga identificando as glândulas presentes.



Fonte: (A) AntWeb. Version 8.114. California Academy of Science, online at <https://www.antweb.org>. Accessed 6 July 2026. (B) R. F. CHAPMAN, 2013.

De modo a garantir o sucesso na captura e subjugação de presas, que podem ser ágeis e maiores que elas, as formigas do gênero *Odontomachus*, incluindo a *Odontomachus chelifer*, não dependem apenas da força mecânica de suas mandíbulas (França, 2021). Elas utilizam também uma peçonha potente, inoculada através de um ferrão originário da modificação de seu

aparelho ovopositor, composta de um coquetel complexo de moléculas bioativas ainda pouco exploradas no cenário atual (Guimarães et al., 2023; Menk et al., 2023). Apesar da riqueza biológica e da diversidade de compostos bioativos presentes nos venenos de himenópteros, as formigas permanecem pouco estudadas em comparação a outros animais peçonhentos. Uma busca realizada na base de dados do PubMed, em 21/07/2026, evidenciou uma disparidade entre os artigos publicados em relação ao estudo de peçonhas: enquanto os termos “*snake venom*”, “*scorpion venom*” e “*bee venom*” retornaram “24.201”, “5.883” e “7,694” resultados, respectivamente, o termo “*ant venom*” retornou apenas 644 resultados, um número substancialmente menor de publicações. Esse número se deve, especialmente, devido às dificuldades de extração e ao baixo rendimento de peçonha por indivíduo. Assim, o estudo da composição da peçonha de formigas representa uma fronteira promissora para o desenvolvimento de fármacos e produtos biotecnológicos.

A peçonha é predominantemente proteica, rica em enzimas, como as fosfolipases (Menk et al., 2023), alérgenos e, principalmente, peptídeos antimicrobianos (AMPs, *Antimicrobial peptides*), antiparasitários, inseticidas, neurotóxicos e citotóxicos (Menk et al., 2023). Essa riqueza estrutural e funcional dos componentes da peçonha confere um efeito pleiotrópico, notável dos produtos naturais, permitindo que um mesmo peptídeo interaja com múltiplos alvos no organismo, uma característica importante no desenvolvimento direcionado de fármacos (Habtemariam, 2019; Studzińska-Sroka et al., 2023).

1.2 Peptídeos bioativos.

Peptídeos bioativos são uma classe de biomoléculas que exercem alguma atividade biológica específica por meio da interação com alvos moleculares, como receptores, enzimas ou membranas celulares e possuem, normalmente, de dois a cinquenta aminoácidos e uma massa molecular menor que 10 kDa (Bizzotto et al., 2023). Esses peptídeos são encontrados em múltiplas fontes, como animais marinhos, plantas, produtos alimentícios fermentados e,

sobretudo, peçonhas animais, uma fonte rica desses peptídeos naturais com especialização por alvos biológicos específicos (Akbarian et al., 2022; Fonseca et al., 2026; Menk et al., 2023; Rodríguez-Cabello et al., 2026). A bioprospecção de peptídeos bioativos é importante devido ao seu alto potencial farmacológico e biotecnológico (Menk et al., 2023). Essas moléculas possuem características importantes como a sua alta especificidade e seletividade por alvos moleculares, de modo a reduzir os efeitos colaterais em aplicações farmacológicas (Rodríguez-Cabello et al., 2026).

A validação terapêutica de peptídeos derivados de peçonhas animais é evidenciada na literatura, atestando o potencial farmacológico dessas moléculas. Peptídeos como a Fraternina-10 e a Octovespina, provenientes da peçonha de vespas, demonstraram capacidade de desagregação e inibição da formação de fibrilas de β -amiloide, por exemplo (Só et al., 2025). Outros exemplos estudados e que são derivados e inspirados de peçonhas animais são o captopril, proveniente da peçonha de *Bothrops jararaca*, e o TanP, um peptídeo isolado do escorpião *Tityus stigmurus* que demonstra diversas funções biológicas como atividade quelante de metais, antioxidante, imunomoduladora e anticoagulante (Cushman; Ondetti, 1991; De Melo et al., 2021). Isso demonstra o potencial que os peptídeos, especialmente os derivados de peçonhas, apresentam como fonte de potenciais biofármacos.

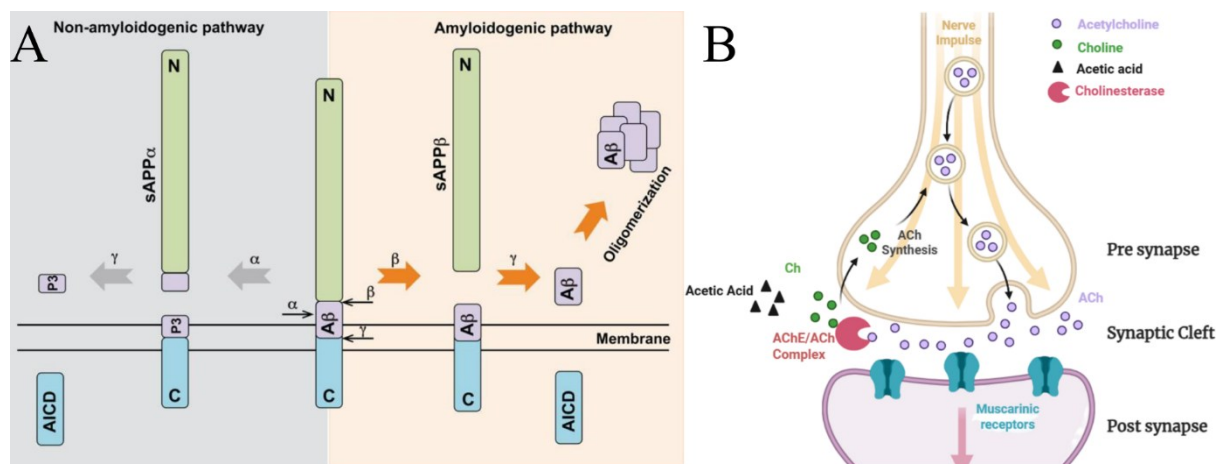
Estudos evidenciam a importância e versatilidade do uso de peptídeos como potenciais tratamentos para múltiplas doenças e condições. Alguns dos efeitos avaliados são o potencial antimicrobiano, antinociceptivo, antioxidante, anti-inflamatório e neuroprotetor dos peptídeos (Akbarian et al., 2022; Du; Li, 2022; Malta et al., 2024; Menk et al., 2023). Além disso, muitas dessas moléculas, são estudadas para tratar doenças neurodegenerativas como as doenças de Parkinson e de Alzheimer por atuarem como neuromoduladores de canais iônicos de cálcio e potássio, como agentes inibidores enzimáticos e de agregação proteica (Robinson et al., 2023; Só et al., 2025).

1.3 Doença de Alzheimer.

O Alzheimer é uma doença neurodegenerativa caracterizada pela degeneração progressiva de células do sistema nervoso e pela atrofia tecidual nas regiões do córtex e do hipocampo (Knopman et al., 2021; Scheltens et al., 2021). Atualmente, é o tipo de demência que mais acomete indivíduos no mundo, aproximadamente 60% a 80% dos casos (Bai et al., 2022; Spinelli; Sanchís; Siano, 2025). Em 2050, estima-se que 152 milhões de pessoas venham a desenvolver alguma demência, inclusive o Alzheimer (Chen et al., 2024). Além da questão de saúde pública, a incidência da doença também afeta aspectos econômicos relevantes, tendo um custo estimado de USD 14,513 bilhões para a economia mundial para o período até 2050 (Chen et al., 2024; Zhang et al., 2021).

A progressão da doença provoca declínio cognitivo, o que compromete atividades do cotidiano e a independência dos indivíduos acometidos. Isso ocorre porque a neurotoxicidade compromete a plasticidade sináptica, resultando em apoptose e degeneração tecidual (Bai et al., 2022; Banagouro, 2022). A doença de Alzheimer (DA) possui caráter multifatorial, havendo diversas vias interconectadas de desenvolvimento e evolução dos casos de Alzheimer, entre elas: a hipótese da via colinérgica, a hipótese do peptídeo β -amiloide, a hipótese da hiperfosforilação da proteína tau, aspectos inflamatórios, desregulação metabólica, estresse oxidativo e a desregulação da homeostase metálica (Spinelli; Sanchís; Siano, 2025; Zhang et al., 2024). Embora cada um desses fatores possa atuar de forma independente, a convergência dessas vias age em sinergia para gerar um estresse oxidativo na região cerebral, que por sua vez agrava a progressão da doença (Bai et al., 2022). Devido a esse aspecto multifatorial, é pertinente a busca por moléculas que sejam ligantes direcionados a múltiplos alvos (MTDL), ou seja, que atuem em diferentes locais de uma patologia como, por exemplo, substâncias que atuam tanto na hipótese da cascata amiloidogênica quanto na hipótese da via colinérgica (Cavalli et al., 2008; Fonseca et al., 2026).

Figura 2. Esquemas representando a via de processamento do APP e a via colinérgica da doença de Alzheimer. (A) Representa, à esquerda, a via não-amiloidogênica. À direita, representação da via amiloidogênica, com a ação da enzima β -secretase 1 e formação do peptídeo β -amiloide. (B) Representa a ação da enzima acetilcolinesterase na fenda sináptica.



Fonte: (A) Nicolas & Hassan (2014). (B) Spinelli; Sanchis; Siano (2025).

Atualmente, os tratamentos para Alzheimer percorrem metodologias medicamentosas, comportamentais e dietéticas, bem como o uso de dispositivos e procedimentos invasivos e terapêuticos (Arrué et al., 2022). A maioria dos estudos recentes focam na hipótese de agregação de β -amiloide, que se tornou uma hipótese clássica da DA por ter sido a primeira identificação clínica e bioquímica da patologia (Glenner; Wong, 1984). Essa hipótese postula que o peptídeo precursor de amiloide é clivado pelas enzimas β -secretase 1 e γ -secretase, liberando o monômero de β -amiloide, um peptídeo hidrofóbico que é capaz de se oligomerizar e formar placas senis no tecido nervoso. Por esta razão, a hipótese da cascata amiloidogênica e seus intermediários, como o monômero e a fibrila de β -amiloide, são fortes candidatos como alvos terapêuticos, especialmente a partir de estratégias *in silico*, que direcionam o planejamento de fármacos de forma mais eficiente e rápida para um vasto número de biomoléculas e seus mecanismos de ação (Arrué et al., 2022; Fonseca et al., 2026; Guerguer et al., 2025).

1.4 Bioprospecção *in silico*

A bioprospecção de produtos naturais exige grandes quantidades de amostra para a avaliação de seu potencial. Ao trabalhar com peçonhas animais, a obtenção das amostras depende da coleta do animal, seguida da extração, do particionamento e da purificação das

biomoléculas presentes (Santos, 2019). No caso das formigas, a peçonha é encontrada em escala de microgramas, o que limita a sucessão de experimentos de triagem dos compostos (Correia et al., 2022). Diante dessas limitações, o avanço dos softwares de bioinformática, das ômicas, incluindo a venômica, viabiliza o conhecimento do coquetel presente nas peçonhas (Barassé et al., 2022; Hurka et al., 2022). A transcriptômica permite a identificação dos transcritos das moléculas produzidas nas glândulas de peçonha (Guimarães et al., 2023).

A partir desses dados ômicos, os peptídeos bioativos podem ser triados, *in silico*, com base em suas propriedades físico-químicas. Em seguida, métodos de bioinformática predizem as estruturas tridimensionais dessas moléculas a partir de suas sequências primárias de aminoácidos. A obtenção desses modelos tridimensionais é essencial para a realização do *docking* molecular, uma técnica que prediz a interação e avalia a afinidade energética entre os ligantes peptídicos e os alvos biológicos de interesse (Martins; Santos; Sousa, 2026), como as enzimas e os agregados proteicos envolvidos na clássica via amiloidogênica da DA. Essa abordagem *in silico* acelera o planejamento racional de fármacos, selecionando os candidatos mais promissores para os testes *in vitro* e *in vivo* (Baeza et al., 2025).

Diante do impacto causado pela DA e das limitações dos tratamentos atuais, a busca por novas moléculas bioativas e multialvo torna-se necessária. Dessa forma, os peptídeos provenientes da peçonha da formiga *Odontomachus chelifer* representam uma biblioteca de potenciais compostos inexplorados. As ferramentas de bioprospecção *in silico* auxiliam na triagem racional e específica das moléculas, que são de difícil extração e purificação, contra seus alvos, otimizando os estudos para as subseqüentes avaliações *in vitro*.

Diante das limitações metodológicas impostas pelos processos de extração e purificação das peçonhas animais, especialmente àquelas obtidas em escala de microgramas, como é o caso das formigas, a bioprospecção *in silico* torna-se uma etapa estratégica essencial no

planejamento racional de novos biofármacos. Essa abordagem computacional permite a triagem rápida e de baixo custo de um vasto número de candidatos peptídicos, priorizando aqueles com maior potencial de bioatividade e afinidade por alvos de interesse, antes da síntese e de ensaios experimentais. Dessa maneira, a integração de dados ômicos, ferramentas de predição estrutural e de *docking* molecular reduz significativamente o tempo e recursos necessários para a validação de novos compostos, otimizando o fluxo de trabalho. Assim, a bioprospecção *in silico* viabiliza a exploração de fontes ainda pouco investigadas para o desenvolvimento de estratégias e de terapias novas para o tratamento de doenças.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar, por meio de abordagens *in silico*, o potencial de três peptídeos candidatos como moduladores de alvos relacionados à doença de Alzheimer e avaliar o perfil de segurança, *in vitro*.

2.2 Objetivos Específicos

- Caracterizar, *in silico*, os três peptídeos candidatos com base em bioatividade, toxicidade e propriedades físico-químicas.
- Realizar a modelagem tridimensional e a avaliação estereoquímica dos peptídeos candidatos.
- Realizar docking molecular dos três peptídeos sintetizados contra alvos da doença de Alzheimer, sendo eles o peptídeo β -amiloide, a fibrila de β -amiloide e as enzimas β -secretase 1 e acetilcolinesterase.
- Identificar os principais resíduos e regiões envolvidas nas interações entre os três peptídeos candidatos e os alvos moleculares da doença de Alzheimer.
- Realizar testes *in vitro* de toxicidade em células neuronais e astrocíticas.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Síntese e purificação dos peptídeos

A síntese e a purificação dos três peptídeos sintéticos da toxina da formiga *Odontomachus chelifer*, chamados aqui de peptídeo 1 (P1), peptídeo 2 (P2) e peptídeo 3 (P3), foram realizadas em colaboração com o Professor Dr. Norival Alves Santos Filho do Instituto de Química da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), Campus Araraquara.

A síntese dos peptídeos foi efetuada de forma manual, de acordo com a metodologia de síntese em fase sólida (SPPS) (Carpino; Han, 1972), empregando uma resina Rink Amida-MBHA como suporte. A etapa de purificação foi realizada em modo semipreparativo, utilizando um cromatógrafo Shimadzu e uma coluna de dimensões 250×10 mm. Posteriormente, as análises das frações puras foram feitas por cromatografia líquida de alta eficiência analítica em um cromatógrafo Shimadzu com coluna C18.

A caracterização dos materiais obtidos foi feita em um espectrômetro de massas no modo *electrospray ionization* (ESI) positivo. Por fim, as análises de dicroísmo circular foram realizadas em um espectropolarímetro Jasco J-715, em celas de 1,0 mm de caminho óptico com 6 varreduras por espectro e tempo de integração de 3 s por ponto. Em todos os testes, as leituras foram feitas a cada 0,5 nm.

3.2 Análise das propriedades físico-químicas

Os três peptídeos sintetizados foram analisados em relação às suas propriedades físico-químicas, com o objetivo de avaliar parâmetros para o desenvolvimento de potenciais fármacos para o tratamento da doença de Alzheimer.

As análises físico-químicas foram realizadas por meio da ferramenta *ProtParam Tool*, do *ExPASy* (Gasteiger et al., 2005), na qual foram calculados fórmula e massa molecular, valores de pI, estabilidade, índice alifático e hidrofobicidade.

A predição do nível de toxicidade foi analisada pelo *software ToxinPred* (Gupta et al., 2013). Em relação à solubilidade dos peptídeos, foi utilizado o calculador de propriedades de peptídeos disponível na plataforma da INNOVAGEN. Por fim, a estimativa de bioatividade foi avaliada no *PeptideRanker* (Mooney et al., 2012).

3.3 Modelagem e validação das estruturas tridimensionais.

As estruturas tridimensionais dos três peptídeos sintetizados foram geradas a partir das sequências de aminoácidos por meio do *software* PEP-FOLD 3 (Binette; Mousseau; Tuffery, 2022; Lamiable et al., 2016; Rey et al., 2023; Tufféry; Derreumaux, 2023). A visualização das estruturas foi feita utilizando o PyMOL *Molecular Graphics System*, versão 3.0 Schrödinger, LLC. As melhores estruturas foram selecionadas com base no menor coeficiente sOPEP do PEP-FOLD 3, aliado à análise do gráfico de Ramachandran e ao menor escore do MolProbity (Williams et al., 2018), gerados pela página *Structure Assessment* do *Swiss-Model* (Waterhouse et al., 2024).

3.4 Docking molecular.

O *docking* molecular das estruturas tridimensionais dos três peptídeos foi realizado no servidor do HADDOCK 2.4 (Honorato et al., 2021, 2024) contra alvos moleculares da doença de Alzheimer. Os alvos escolhidos foram obtidos do *Protein Data Bank* (PDB), sendo eles: o peptídeo β -amiloide (1-42) (6SZF), a fibrila de β -amiloide (2MXU), a enzima β -secretase 1 (3TPJ) e a enzima acetilcolinesterase humana (3LII). Esses alvos adquiridos do PDB foram preparados, retirando-se as moléculas de água das estruturas, juntamente a ligantes nativos e os heteroátomos presentes, de modo a garantir um refinamento e uma adequação estrutural da molécula.

No *software* HADDOCK 2.4, a etapa de ancoragem foi realizada com parâmetros de resíduos ativos diferentes para cada uma das estruturas. Para o monômero e fibrila β -amiloide, utilizou-se o núcleo hidrofóbico responsável pela agregação (resíduos 16-20 e 39-42), para a

enzima BACE1, foi utilizado o sítio ativo (resíduos 32, 73 e 228) e para a AChE os resíduos delimitados foram a tríade catalítica (resíduos 203, 447 e 334) e o sítio aniônico periférico (resíduos 72, 74, 86, 124, 133, 286, 337, 338 e 341) (Hung et al., 2025; Lodha et al., 2024; Só et al., 2025).

Os resultados foram escolhidos de acordo com o menor valor energético do HADDOCK *score* e do Z-score, do maior *cluster*. Uma vez selecionados os complexos mais promissores, avaliou-se a estabilidade termodinâmica e a predição de afinidade de interação. Os arquivos tridimensionais dos complexos foram submetidos ao PRODIGY (*PROtein binDing energy prediction*) (Kurkcuglu et al., 2018; Vangone; Bonvin, 2015; Xue et al., 2016). A partir da quantificação dos contatos intermoleculares e das propriedades de superfície de interação, calculou-se a energia Livre de Gibbs (kcal/mol) dos complexos a 25°C. Esses parâmetros foram utilizados para validar e ranquear os candidatos com maior afinidade teórica contra os alvos moleculares da DA.

A fim de validar as predições energéticas, três inibidores conhecidos foram submetidos aos mesmos parâmetros para o protocolo de *docking* e para a predição energia livre, utilizando o PRODIGY-LIG para pequenos ligantes. Utilizou-se a curcumina (PUBChem ID: 969516) (Küçükoğlu; Özdemir, 2025) como controle positivo para o monômero de β -amiloide, o Verubecestat (PUBChem ID: 51352361) (S R; Vg, 2025) para a BACE1 e a Donepezila (PUBChem ID: 3152) (Hung et al., 2025; S R; Vg, 2025) contra a AChE.

3.5 Cultura de células

Os três peptídeos sintetizados foram diluídos, em água de injeção, em três concentrações diferentes para os ensaios, como mostrado na Tabela 1, e filtrados (0,22 μ m) para esterilização, e mantidos a 4 °C até o momento do tratamento.

Tabela 1 - Concentrações dos peptídeos sintéticos P1, P2 e P3.

	P1, P2 e P3
Concentração 1	100 μ M
Concentração 2	10 μ M
Concentração 3	1 μ M

3.5.1 Cultura celular

A pesquisa empregou duas linhagens celulares, uma linhagem de astrócito humano saudável, *NHA*, doada pela Prof. Dra. Rosy Iara Maciel de Azambuja Ribeiro (UFESJ), e uma linhagem de neuroblastoma humano, *SH-SY5Y*, doada pela Universidade de Siena, Itália, como modelo para o teste de neurotoxicidade. As células foram mantidas a 37 °C em uma atmosfera úmida, com 5% de CO₂. As linhagens foram cultivadas em meio Eagle modificado por Dulbecco (DMEM, Cultilab®) suplementado com 10% de soro fetal bovino (FBS) (Cultilab®) e 1% de antibiótico (Vitrocell®).

3.5.2 Neurotoxicidade e Viabilidade Celular

As células foram plaqueadas em uma placa de 96 poços, com 10.000 células (*NHA* ou *SH-SY5Y*) por poço em 100 μ L de DMEM e incubadas por 24 h para aderência. Após esse tempo, os tratamentos foram adicionados aos poços nas suas respectivas concentrações (Tabela 1). Para comparação, foram incluídas como controle positivo células não tratadas e como controle negativo células mortas em DMEM com 0,2% Triton X-100.

Após o período de tratamento, as células foram avaliadas quanto à viabilidade celular por meio do ensaio de AlamarBlue (Invitrogen®), sendo incubadas a 37 °C com 10% (10 μ L) de resazurina por 3 horas. Logo após, foi realizada uma leitura colorimétrica, no comprimento de onda de 570 nm, utilizando 600 nm como comprimento de onda de referência, para monitorar a atividade metabólica celular.

4. RESULTADOS

4.1 Análise das propriedades físico-químicas

As sequências de aminoácidos dos três peptídeos foram processadas para a compreensão das propriedades físico-químicas dos peptídeos, indicadas na Tabela 2.

Tabela 2 - Propriedades físico-químicas dos três peptídeos obtidos pelo *ProtParam*. As propriedades previstas foram: massa molecular, pI, carga em pH 7, estabilidade, índice alifático, GRAVY, solubilidade em água, toxicidade e bioatividade.

	P1	P2	P3
Massa molecular (Da)	1523,89	1767,11	2290,60
pI	11,01	12,01	11,85
Carga em pH 7	2,1	3,1	7
Estabilidade	8,86 (Estável)	29,73 (Estável)	68,78 (Instável)
Índice alifático	167,14	85,62	48,89
GRAVY	1,464	0,025	-2,006
Solubilidade em água	Baixa solubilidade	Baixa solubilidade	Alta solubilidade
Toxicidade	Não Tóxico	Não Tóxico	Não Tóxico
Bioatividade	0,465095	0,932479	0,246775

Os peptídeos apresentaram massas moleculares baixas entre 1523,89 e 2290,60 Da. Junto a isso, os três candidatos possuem um ponto isoelétrico alto, entre 11 e 12, devido ao pKa das cadeias laterais, nas quais ocorre a protonação dos resíduos básicos das moléculas. Por isso, também, em pH fisiológico (aproximadamente 7,4) os peptídeos também apresentam uma carga líquida positiva, mostrando um forte perfil catiônico das estruturas.

Em relação à estabilidade da estrutura, apenas o peptídeo 3 é predito como instável por ter sido avaliado com um valor de índice de estabilidade maior que 40, enquanto os outros dois peptídeos são considerados estáveis pelo *software* do *ProtParam*. Os valores de índice alifático das sequências demonstram, a partir dos resíduos laterais alifáticos, que o peptídeo 1 possui alta

estabilidade térmica, enquanto o 2 e, especialmente, o 3 constituem moléculas menos estáveis à estresse térmico.

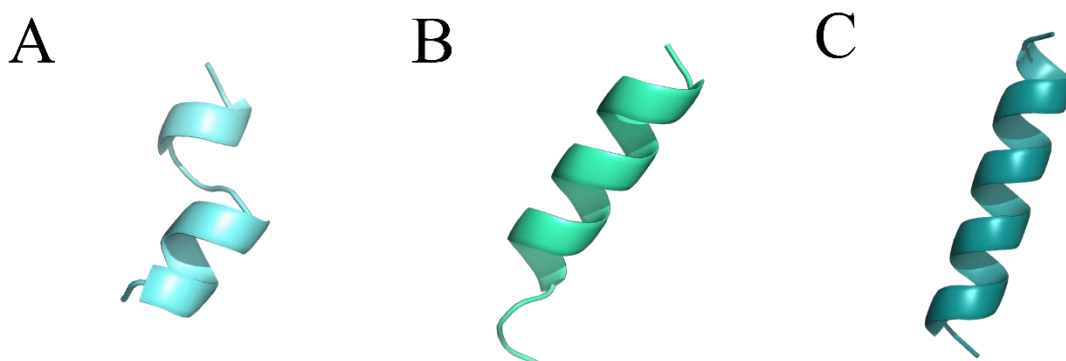
Os valores de GRAVY (*Grand Average of Hydropathicity*) indicam o grau de hidrofobicidade dos peptídeos. O P1 e o P2, por possuírem um GRAVY positivo, são moléculas que apresentam tendência a um caráter mais hidrofóbico. Por outro lado, o P3 apresentou tendência a um caráter mais hidrofílico devido ao seu GRAVY negativo.

Por fim, em relação à predição de toxicidade, os candidatos apresentaram segurança toxicológica, sendo classificados como não tóxicos. Já em termos de bioatividade das moléculas, que é a probabilidade da sequência peptídica em exercer alguma função biológica ativa, o P1 e o P3 resultaram em uma bioatividade inferior ao P2, que apresentou o melhor resultado entre os três.

4.2 Modelagem e validação das estruturas tridimensionais

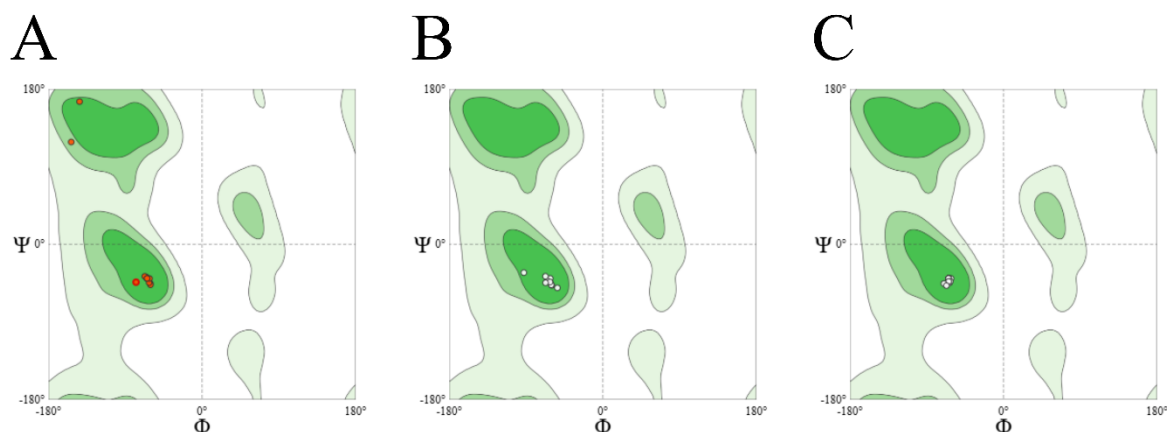
Os três peptídeos foram modelados pelo PEP-FOLD 3 para obtenção da sua estrutura tridimensional a partir de sua sequência de aminoácidos. Na Figura 3, observa-se a estrutura de menor energia para cada peptídeo baseado na função de avaliação de energia sOPEP (*Optimized Potential for Efficient structure Prediction*) do PEP-FOLD 3. Os três peptídeos apresentaram alfa-hélices em suas estruturas, sendo que o peptídeo 1 apresenta uma quebra na hélice e os peptídeos 2 e 3 possuem hélices contínuas.

Figura 3. Modelo tridimensional dos três peptídeos sintetizados. A figura “A” representa a estrutura do peptídeo 1. A figura “B” representa a estrutura do peptídeo 2. A figura “C” representa a estrutura do peptídeo 3.



A partir dos modelos apresentados na Figura 3, foi realizada a validação dessas estruturas pela geração dos gráficos de Ramachandran e dos valores do MolProbity, que estão representados na Figura 4 e na Tabela 3, respectivamente.

Figura 4. Avaliação estereoquímica dos modelos tridimensionais pelo gráfico de Ramachandran gerados por meio do servidor *Structure Assessment do Swiss-Model*. (A) Peptídeo 1. (B) Peptídeo 2. (C) Peptídeo 3.



Os gráficos apresentados na Figura 4 revelam que os aminoácidos presentes nas três estruturas estão dentro das regiões favoráveis estereoquimicamente. A distribuição dos ângulos ao longo do esqueleto do peptídeo está correta, indicando que 100% dos aminoácidos estão em ângulos permitidos para a estabilidade estrutural (Tabela 3). As regiões energeticamente favoráveis no quadrante inferior esquerdo nas figuras indicam as alfa-hélices contínuas dos peptídeos e, os pontos presentes na região do quadrante superior esquerdo os aminoácidos que não compõem a alfa-hélice no peptídeo 1 (Figura 4A).

Tabela 3 - Parâmetros de validação estereoquímica dos modelos tridimensionais dos peptídeos avaliados.

	P1	P2	P3
MolProbity Score (Å)	1,91	1,93	1,09
Ramachandran Favoured	100,00%	100,00%	100,00%
Ramachandran Outliers	0,00%	0,00%	0,00%
Bad Bonds	0/107	1/128	0/162
Bad Angles	1/144	1/171	0/213

A Tabela 3 demonstra, quantitativamente, que todos os aminoácidos estão em posições favoráveis sem a presença de *outliers* e com mínimas ligações e ângulos ruins no esqueleto das moléculas. O escore do MolProbity é um parâmetro que simula a resolução cristalográfica da modelagem, sendo valores próximos de zero indicativos de estruturas análogas a dados cristalográficos de alta resolução, demonstrando a qualidade global dessas estruturas como ligantes confiáveis.

4.3 Docking molecular

A fim de avaliar o potencial multialvo dos peptídeos, o *docking* molecular realizado pelo HADDOCK 2.4 evidenciou a interação dos três peptídeos com os alvos da doença de Alzheimer. Os valores das energias Livre de Gibbs estão na Tabela 4, representadas em kcal/mol.

Tabela 4 - Valores de energia Livre de Gibbs, fornecidos pelo software PRODIGY, em kcal/mol, para os quatro alvos moleculares.

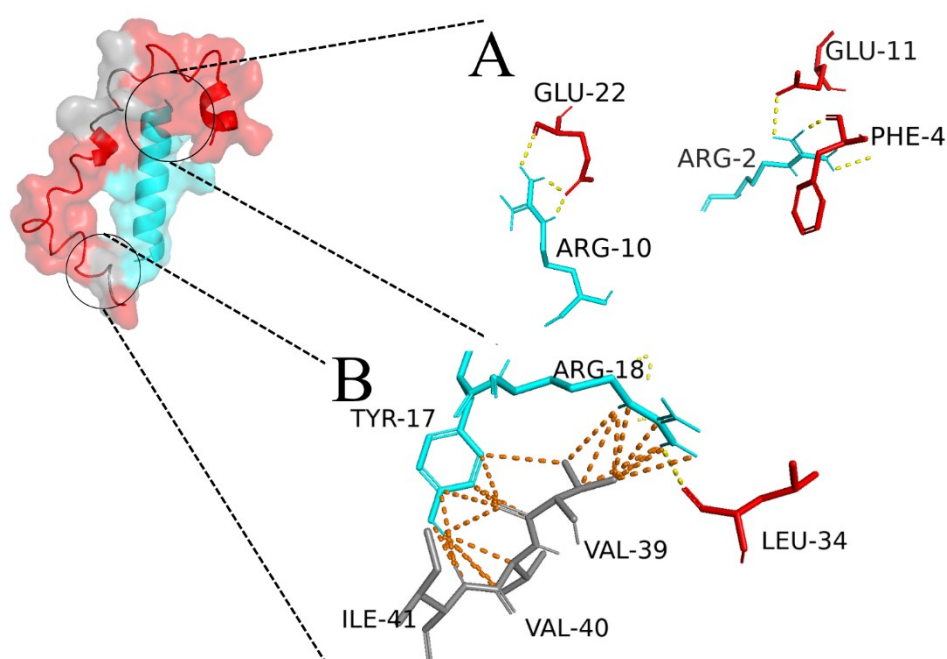
	P1	P2	P3	Controle Positivo
Monômero β -amiloide	-6,0	-5,7	-6,9	-6,56 (Curcumina)
Fibrila β -amiloide	-4,4	-4,5	-5,9	-6,92 (Curcumina)
β -secretase 1	-6,7	-6,1	-6,7	-7,52 (Verubecestat)
Acetilcolinesterase	-6,4	-6,4	-6,7	-10,24 (Donepezila)

A partir da análise termodinâmica, Tabela 4, pode-se observar que o P3 apresentou o resultado mais promissor entre os três peptídeos como um candidato multialvo. Em relação aos quatro alvos, o P3 obteve maior energia de afinidade teórica em relação aos outros dois peptídeos, salvo em relação à BACE1 que obteve o mesmo valor que o P1. A fibrila de β -amiloide resultou nos menores valores energéticos, indicando uma seletividade pelo monômero de β -amiloide.

Esses resultados foram comparados a inibidores clínicos conhecidos como a curcumina, a Donepezila e o Verubecestat para o monômero de β -amiloide, para a AChE e para a BACE1, respectivamente. Em relação à acetilcolinesterase, o fármaco de referência obteve energia superior (-10,24 kcal/mol) aos peptídeos. Frente à BACE1, os peptídeos 1 e 3 apresentaram energias comparativas à Donepezila (-6,7 kcal/mol). Já em relação ao monômero de β -amiloide, o peptídeo 3 superou a afinidade teórica da curcumina, indicando uma maior afinidade de ligação.

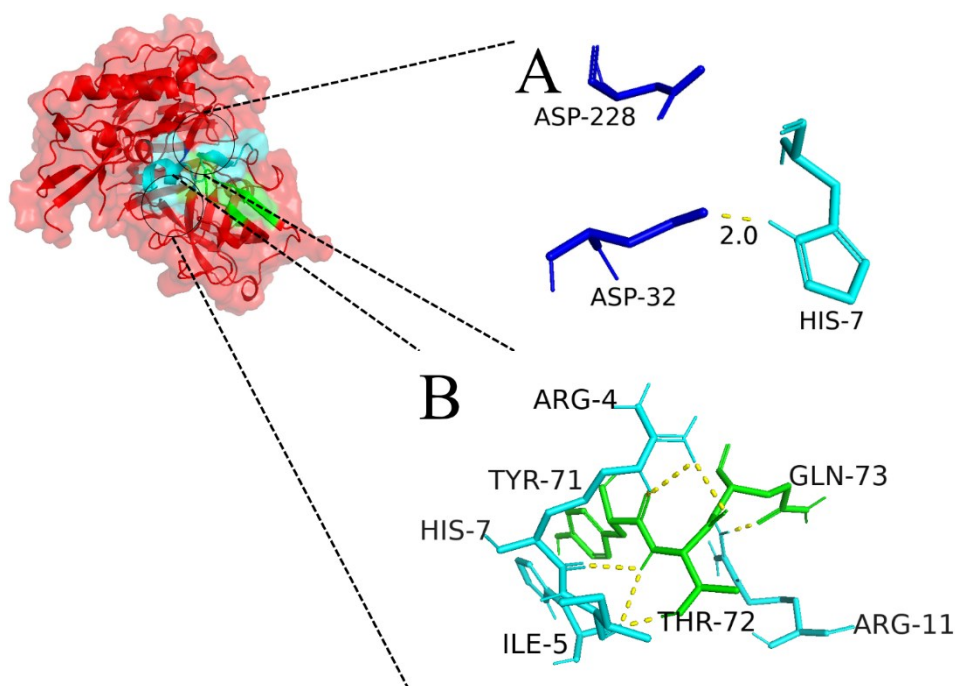
A avaliação estrutural da ancoragem pelo PyMOL evidenciou os potenciais mecanismos de interação. O peptídeo 3 demonstrou uma ancoragem relevante no núcleo hidrofóbico de elongação de agregação do monômero de β -amiloide (-6,9 kcal/mol) na região N-terminal (Figura 5). O peptídeo 1 também demonstrou forte interação com as enzimas, obtendo energias de afinidade, tanto com a BACE 1 (-6,7 kcal/mol) quanto com a AChE (-6,4 kcal/mol), Figuras 9 e 10, respectivamente.

Figura 5. Ancoragem molecular do peptídeo 3 com o monômero de β -amiloide. O monômero β -amiloide está representado em vermelho e os resíduos do núcleo hidrofóbico de elongação estão em cinza. O peptídeo 3 está em ciano. À direita estão as imagens aumentadas das interações entre os aminoácidos, em amarelo estão as interações polares e, em laranja, as interações hidrofóbicas. (A) Interações na região N-terminal. (B) Interações na região C-terminal.



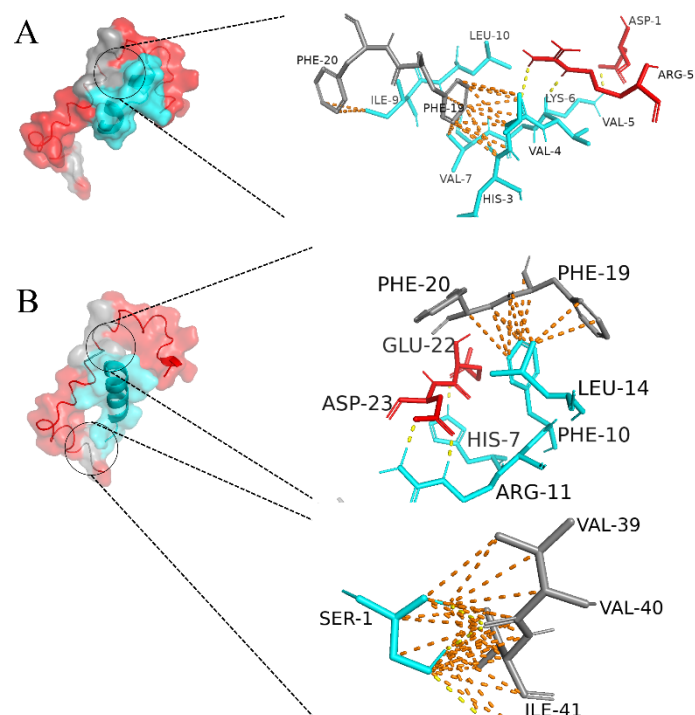
Em relação à enzima BACE1, o peptídeo 2 obteve o resultado mais promissor por interagir com o aminoácido Asp32 do sítio ativo da enzima, assim como os aminoácidos Tyr71, Thr72 e Gln73 encontrados na região “*flap*” da enzima (Figura 6) (Lodha et al., 2024), que é uma região de extrema importância para a entrada do substrato no sítio ativo.

Figura 6. Ancoragem molecular do peptídeo 2 com a enzima β -secretase 1 (3TPJ). A enzima β -secretase 1 está representada em vermelho, o P2 está em ciano. O sítio catalítico da enzima está em azul e a região do *flap* está verde. (A) Interação do P2 com o sítio catalítico. (B) Interações do P2 com aminoácidos da região do *flap*.



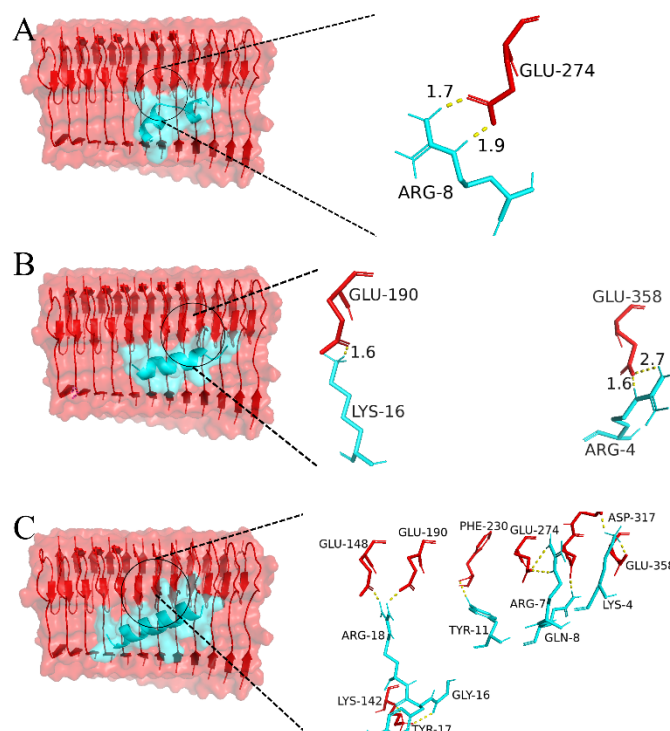
Na Figura 7, observa-se as predições de interação do peptídeo 1 e 2. A Figura 7A indica as interações hidrofóbicas entre os aminoácidos do peptídeo 1 com os resíduos Phe-19 e Phe-20 do monômero. Já na Figura 7B, está a representação da ancoragem do P2 com a estrutura, evidenciando as predições de interação tanto com a região do núcleo hidrofóbico e da região C-terminal.

Figura 7. Ancoragem molecular dos peptídeos 1 e 2 com o monômero de β -amiloide. O monômero está representado em vermelho e as regiões em cinza são os aminoácidos (16-20 e 39-42), os peptídeos estão em ciano. As interações polares estão em amarelo e as interações hidrofóbicas estão em laranja. (A) Peptídeo 1 ancorado com o monômero de β -amiloide e zoom na região N-terminal. (B) Peptídeo 2 ancorado com o monômero de β -amiloide.



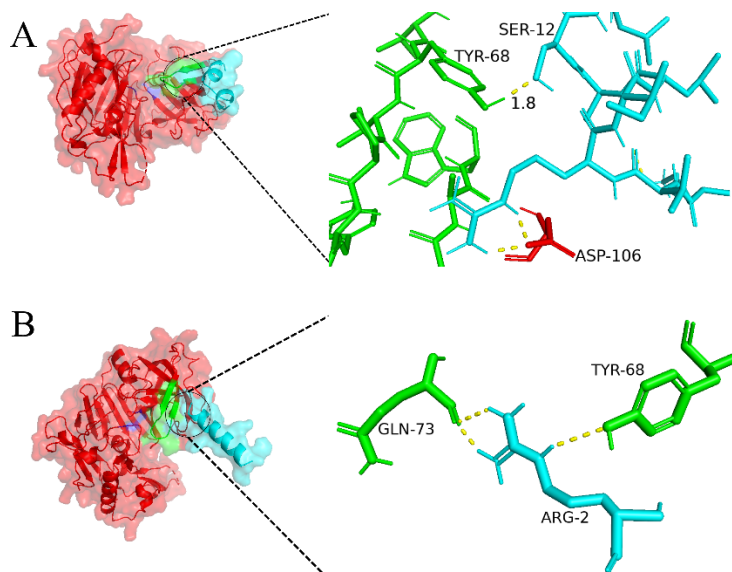
Quanto à fibrila de β -amiloide, pode-se perceber na Figura 8, os peptídeos P1 e P2 apresentaram interações com poucos resíduos presentes na fibrila. Já o peptídeo 3 apresentou maior quantidade de interações preditas com a fibrila nas cadeias laterais mais negativamente carregadas.

Figura 8. Ancoragem molecular dos peptídeos com a fibrila de β -amiloide. O monômero está representado em vermelho e as regiões em cinza são os aminoácidos (16-20 e 39-42), os peptídeos estão em ciano. As interações polares estão em amarelo, à direita está o zoom das interações. (A) Peptídeo 1 ancorado com a fibrila de β -amiloide. (B) Peptídeo 2 ancorado com a fibrila de β -amiloide. (C) Peptídeo 3 ancorado com a fibrila de β -amiloide.



Na Figura 9, os peptídeos 1 e 3 demonstraram a possibilidade de interação com poucos aminoácidos da enzima β -secretase 1. Nenhum dos dois candidatos apresentou capacidade de interagir com o sítio ativo, apenas com alguns resíduos da região do *flap*.

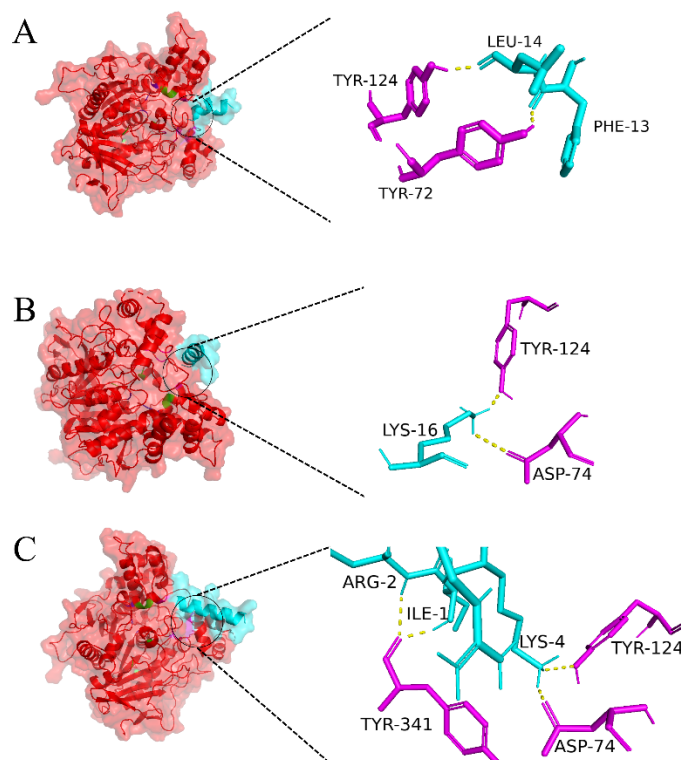
Figura 9. Ancoragem molecular dos peptídeos com a β -secretase 1. A enzima BACE1 está representada em vermelho, em azul estão os resíduos do sítio ativo, em verde os resíduos da região do “flap” e, em ciano, os peptídeos. (A) Peptídeo 1 ancorado com BACE1. (B) Peptídeo 3 ancorado com a BACE1.



A Figura 10 representa a ancoragem dos três peptídeos com a enzima acetilcolinesterase.

As interações previstas para os três peptídeos foram com resíduos do sítio aniônico periférico da enzima.

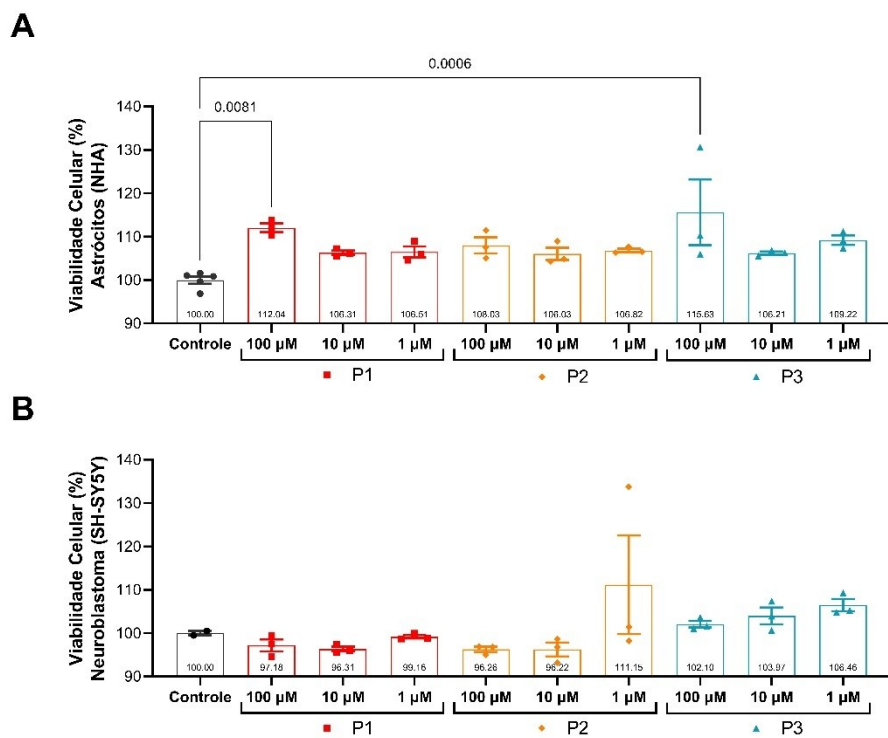
Figura 10. Ancoragem molecular dos peptídeos com a enzima acetilcolinesterase. A enzima acetilcolinesterase está representada em vermelho, os resíduos do sítio ativo estão em azul, os resíduos do sítio aniônico catalítico estão em verde e os resíduos do sítio aniônico periférico estão em magenta. Os peptídeos estão em ciano. (A) Peptídeo 1 ancorado com a AChE. (B) Peptídeo 2 ancorado com a AChE. (C) Peptídeo 3 ancorado com a AChE.



4.4 Viabilidade celular

As células de astrócitos saudáveis (*NHA*) e de neuroblastoma (*SH-SY5Y*) foram submetidas ao ensaio de AlamarBlue. Os resultados estão descritos na Figura 11. Nos astrócitos saudáveis, nenhuma das concentrações dos três peptídeos apresentou efeito citotóxico. Por outro lado, o P1 e o P3, na concentração de 100 μ M, apresentaram um aumento na viabilidade celular ($p=0,0081$ e $0,0006$, respectivamente). Já na linhagem de neuroblastoma, não houve diferença significativa entre o controle e os grupos tratados com os peptídeos.

Figura 11. Citotoxicidade de três concentrações (100 μ M, 10 μ M e 1 μ M) dos peptídeos P1, P2 e P3 em células de astrócitos saudáveis (NHA) e células de neuroblastoma (SH-SY5Y). (A) Nos astrócitos, o P1 e o P3, na concentração de 100 μ M, aumentaram a viabilidade celular comparada ao controle não tratado ($p = 0,0081$ e $0,0006$, respectivamente). Os outros tratamentos não apresentaram efeito citotóxico. (B) Na linhagem SH-SY5Y, não houve diferença significativa nas concentrações testadas para nenhum dos tratamentos em relação ao controle.



5. DISCUSSÃO

O estudo avaliou, primeiramente, *in silico*, as propriedades físico-químicas dos três peptídeos da peçonha de *Odontomachus chelifer*, assim como as suas predições de bioatividade e de toxicidade. Posteriormente, foi analisado a interação dos peptídeos modelados tridimensionalmente frente à quatro alvos moleculares da doença de Alzheimer, por meio do *docking* molecular, juntamente ao efeito neurocitotóxico dos peptídeos, *in vitro*. Inicialmente, os peptídeos foram modelados, preparados e validados estruturalmente a partir da sua sequência primária de aminoácidos para o *docking* molecular. A predição *in silico* demonstrou atrações termodinâmicas dos peptídeos com os alvos moleculares em regiões de interação estratégicas para a fisiopatologia da doença. Aliado a esses indícios, foi evidenciado a ausência de citotoxicidade dos peptídeos com linhagens celulares de astrócitos e de neurônios. Os resultados sugerem a possibilidade desses candidatos de intervir na via amiloidogênica da DA por meio de efeitos antiagregantes e de inibição enzimática.

Apesar de serem classificados como AMPs (Lessa, 2025; Menk et al., 2023), as propriedades físico-químicas dos três peptídeos indicam a convergência entre ação antimicrobiana e a modulação de alvos da DA (Iqbal; Zeng; Pasinetti, 2020). A partir da triagem físico-química, os três peptídeos apresentam uma natureza catiônica, devido à presença de resíduos de arginina e lisina, refletindo no alto ponto isoelétrico, entre 11,01 e 12,01. Termodinamicamente, a carga líquida resultante, em pH fisiológico, torna-se um agente da atração eletrostática por alvos patológicos aniônicos como o sítio aniônico periférico (PAS) da AChE e as regiões ricas em resíduos carregados negativamente, como o sítio catalítico aspártico da BACE1 (Ahlschwede et al., 2019; Küçükoğlu; Özdemir, 2025).

Um ponto crucial de avaliação para o planejamento de futuros fármacos é a toxicidade das moléculas. Os três peptídeos foram preditos como não tóxicos pelo *ToxinPred*, uma característica muito importante devido a sua origem de uma toxina animal, diante disso, a

predição computacional converge com os resultados *in vitro*, confirmando o perfil seguro de não toxicidade para as linhagens celulares de astrócitos e de neurônios, podendo ressaltar o aumento de viabilidade nas concentrações de 100 μ M do P1 e do P3 nos astrócitos. Os peptídeos apresentam um forte caráter catiônico, uma característica clássica de AMPs para desestabilizar as membranas bacterianas (Zasloff, 2002). Entretanto, os ensaios *in vitro*, demonstraram ausência de citotoxicidade nas células neuronais, nas concentrações testadas, devido à diferença da composição de membranas, pois as células de mamíferos apresentam moléculas, como o colesterol, que conferem uma rigidez à membrana maior que a de células bacterianas (Matsuzaki, 2009; Zasloff, 2002).

Contudo, a análise físico-química, baseada na sequência de aminoácidos, revelou conflitos estruturais entre os candidatos que podem interferir na viabilidade farmacocinética. Os peptídeos 1 e 2 apresentaram alta estabilidade predita e seus altos índices alifáticos sugerem forte resistência térmica e integridade. Por outro lado, o peptídeo 3 foi predito como instável e de baixo índice alifático nos *softwares*. Contudo, esses algoritmos baseiam-se estritamente na ocorrência estatística de dipeptídeos lineares (Gasteiger et al., 2005). Quando avaliado tridimensionalmente, esse peptídeo apresentou uma alfa-hélice anfipática contínua, conferindo uma barreira de estabilidade que os *softwares* de modelos primários não preveem (Guruprasad; Reddy; Pandit, 1990; Pucci; Schwersensky; Rooman, 2022).

As estatísticas de bioatividade, pelo *PeptideRanker*, evidenciaram apenas o P2 como um candidato terapêutico promissor, com seu score de 0,93, consolidando-se como um forte peptídeo bioativo. O P1 e, especialmente, o P3 foram subestimados pelo algoritmo, obtendo resultados inferiores a 0,5. Isso se deve ao tipo de análise unidimensional do *PeptideRanker*, que não considera a estrutura tridimensional para prever a bioatividade (Mooney et al., 2012). Com o intuito de contornar as limitações dos algoritmos unidimensionais, foi realizado o *docking* molecular dessas biomoléculas para atestar seu real potencial baseado em sua

conformação espacial. Em primeiro lugar, a modelagem dos peptídeos pelo PEP-FOLD 3 revelou a forte propensão de formação de alfa-hélices nos três peptídeos, uma estrutura comum em peptídeos de peçonha de formiga devido à sua sequência curta e à presença de muitos resíduos catiônicos (Aili et al., 2014).

Por fim, para contestar a validade das estruturas modeladas, foram gerados os gráficos de Ramachandran e os escores do *MolProbity* para validar a existência estereoquímica dos três peptídeos, que obtiveram 100% dos resíduos em posições favoráveis, juntamente a valores promissores no *MolProbity* comparável a estruturas cristalográficas de alta resolução, de até 2 Å (Williams et al., 2018). Essa ausência de choques estéricos e anomalias graves de ligação, revelados na Figura 4 e na Tabela 3, validam os modelos como confiáveis para a ancoragem molecular com as proteínas alvos da DA.

Uma vez atestada a robustez das estruturas e dos alvos moleculares da DA, a avaliação da interação termodinâmica tornou-se viável e confiável. Os resultados da ancoragem molecular e da predição de energia livre de Gibbs (ΔG) (Tabela 4) revelaram um potencial multialvo entre os candidatos analisados. O peptídeo 3 destacou-se entre os três candidatos por apresentar os melhores valores de predição de interação, atestados pelo PRODIGY, contra os quatro alvos da DA. Inclusive, em relação ao monômero β -amiloide, o P3 obteve uma energia livre mais negativa que o controle positivo da curcumina, um conhecido antiagregante (Küçükoglu; Özdemir, 2025). Para a β -secretase 1, apenas o P3 aproximou-se do valor predito para o controle positivo do Verubecestat e para a AChE, nenhum dos peptídeos teve uma ancoragem tão forte e estável quanto a Donepezila.

A predição de interações *in silico* do peptídeo 3 a múltiplos alvos da doença corrobora a utilização de peçonhas animais para o tratamento de doenças neurodegenerativas (Fonseca et al., 2026; Só et al., 2025). Além da busca por moléculas antiagregantes do monômero de β -

amiloide, a procura por moléculas que também são inibidoras da β -secretase 1, torna-se um notável objeto de estudo para tratamentos da doença de Alzheimer. A análise de *docking* evidencia o acoplamento do P2 no sítio catalítico da BACE1, destacando a interação polar entre o resíduo His-7 com um dos aspartatos da díade catalítica, o Asp-32 (Küçükoğlu; Özdemir, 2025). Além da interação no sítio alvo, há, também, múltiplos contatos com resíduos pertencentes à alça flexível da enzima, a região do *flap*. Essa região é de extrema importância para a ação enzimática pois ela permite a entrada do APP no sítio catalítico, logo, o P2 parece atuar como um obstáculo físico na enzima, podendo suprimir o começo da cascata amiloidogênica (Küçükoğlu; Özdemir, 2025).

Ao analisar as ancoragens dos peptídeos com o monômero de β -amiloide, o P1 e o P2 apresentaram interações hidrofóbicas com o núcleo hidrofóbico de elongação do monômero, localizado nos aminoácidos Phe-19, Phe-20, e da região C-terminal, Val-39 e Val-40, podendo atuar como um agente perturbador da agregação desses monômeros, embora nenhum dos dois tenha obtido um valor de energia tão forte quanto a curcumina. Já o P3 apresentou uma afinidade estável e forte com o monômero, ancorado dentro do núcleo hidrofóbico, interagindo com os aminoácidos Glu-22, Glu-11, Phe-4, Val-39, Val-40 e Ile-41, que atuam também na agregação, provavelmente mediado pela sua α -hélice anfipática. Os resíduos catiônicos do P3 interagem diretamente com resíduos de glutamato, negativamente carregados, do monômero. Essa atração eletrostática, juntamente aos contatos hidrofóbicos da região C-terminal, atua como um bloqueio do recrutamento de novos monômeros (Só et al., 2025).

Quanto à fibrila de β -amiloide, apesar das interações com certos aminoácidos da fibrila, os peptídeos apresentaram ancoragens menos estáveis para o alvo. Os candidatos não apresentaram predição de interação com a fibrila madura. Isso indica que os peptídeos apresentam uma seletividade maior para os monômeros, onde o núcleo hidrofóbico está mais exposto para atração das cargas positivas presentes.

Por fim, o *docking* com a AChE, representando a via colinérgica da DA, demonstrou poucas interações dos peptídeos com a enzima. A análise do PRODIGY demonstrou uma atratividade fraca em relação a Donepezila (-10,24 kcal/mol), um inibidor farmacológico de referência. A acetilcolinesterase possui uma fenda catalítica, de aproximadamente 20 Å, que, no fundo, leva ao sítio catalítico (Silman; Sussman, 2005). Os peptídeos, apesar de serem curtos, ainda apresentam um volume maior que o da Donepezila, o que impede a sua entrada nessa fenda. Entretanto, também devido a carga positiva dos candidatos, eles acoplaram na região do sítio aniônico periférico (PAS), rico em cargas negativas (Hung et al., 2025). Esse acoplamento é relevante, pois a interação com o PAS é uma estratégia reconhecida de inibição da acetilcolinesterase de maneira alostérica, dificultando o trânsito do substrato colinérgico ao sítio ativo (Inestrosa et al., 1996).

Diante do exposto, a partir da análise e discussão dos resultados, observa-se que os peptídeos sintéticos apresentam características físico-químicas e estruturas tridimensionais significativas para, possivelmente, interagir e atuar em clássicas vias da DA, dado os resultados preditos pelo *docking* molecular, concomitante à segurança celular, nas dosagens avaliadas, revelada pelos resultados *in vitro*. Portanto, os peptídeos provenientes da peçonha de *Odontomachus chelifer* apresentam-se como bons candidatos para novos fármacos para a doença de Alzheimer, em especial o P3.

Como perspectivas futuras para a continuidade deste estudo e confirmação dos achados *in silico*, faz-se necessário mais estudos *in vitro* e a transição para organismos modelo de triagem, como a *Drosophila melanogaster* e organismos mais complexos como os camundongos para a doença de Alzheimer de modo a confirmar os resultados. Além disso, as etapas posteriores devem abordar ensaios de predição de passagem pela barreira hematoencefálica e o desenvolvimento de sistemas de *drug delivery* para assegurar a proteção e a otimização da entrega tecido-específica dos peptídeos.

6. CONCLUSÃO

O presente estudo avaliou e demonstrou o potencial biotecnológico promissor de três peptídeos sintetizados derivados da peçonha da formiga *Odontomachus chelifer*, como possíveis agentes moduladores da doença de Alzheimer. A caracterização *in silico* confirmou que os peptídeos apresentam baixa massa molecular, perfil catiônico e preditas como não tóxicas. A partir das sequências, a modelagem estrutural previu as conformações espaciais altamente estáveis das moléculas com a formação de alfa-hélices, devidamente validadas por métricas estereoquímicas de alta resolução. Nos ensaios de *docking* molecular frente aos alvos da doença, evidenciou-se um possível agente na via amiloidogênica, destacando o P3, um potente e seletivo inibidor de agregação do monômero β -amiloide, e destaque, também, para o P2, que demonstrou a possível capacidade de mitigar a ação enzimática da β -secretase 1. Na transição para modelos *in vitro*, os candidatos atestaram a segurança toxicológica computacionalmente prevista, demonstrando ausência de toxicidade para as linhagens de astrócitos saudáveis e de neuroblastoma nas concentrações testadas, evidenciando também um aumento na viabilidade celular. Em síntese, os resultados confirmam o posicionamento desses peptídeos como candidatos robustos para o planejamento racional de biofármacos para doenças neurodegenerativas.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, Rachelle M. M. *et al.* Interspecific Eavesdropping on Ant Chemical Communication. **Frontiers in Ecology and Evolution**, v. 8, 13 mar. 2020.
- AHLSCHWEDE, Kristen M. *et al.* Cationic carrier peptide enhances cerebrovascular targeting of nanoparticles in Alzheimer's disease brain. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, v. 16, p. 258–266, 1 fev. 2019.
- AILI, Samira R. *et al.* Diversity of peptide toxins from stinging ant venoms. **Toxicon**, v. 92, p. 166–178, 15 dez. 2014.
- AKBARIAN, Mohsen *et al.* Bioactive Peptides: Synthesis, Sources, Applications, and Proposed Mechanisms of Action. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 3, p. 1445, 27 jan. 2022.
- ARRUÉ, Lily *et al.* New Drug Design Avenues Targeting Alzheimer's Disease by Pharmacoinformatics-Aided Tools. **Pharmaceutics**, v. 14, n. 9, p. 1914, 9 set. 2022.
- BACCARO, Fabricio B. *et al.* **Guia Para Os Gêneros De Formigas Do Brasil**. [S.l.]: Zenodo, 2015.
- BAEZA, Javiera *et al.* Main methods and tools for peptide development based on protein-protein interactions (PPIs). **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 758, p. 151623, 12 abr. 2025.
- BAI, Renren *et al.* Oxidative stress: The core pathogenesis and mechanism of Alzheimer's disease. **Ageing Research Reviews**, v. 77, p. 101619, maio 2022.
- BANAGOURO, Karine Cristie Quaglio. PEPTÍDEOS OBTIDOS A PARTIR DE MACRORHYNCHIA PHILIPPINA, INIBIDORES DE BETA-SECRETASE 1, PARA O TRATAMENTO DA DOENÇA DE ALZHEIMER. 2022.
- BARASSÉ, Valentine *et al.* Venomics survey of six myrmicine ants provides insights into the molecular and structural diversity of their peptide toxins. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 151, p. 103876, dez. 2022.
- BATISTA FILHO, Antonio. **Planeta inseto**. [S.l.]: Ib - Instituto Biológico, 2014.
- BINETTE, Vincent; MOUSSEAU, Normand; TUFFERY, Pierre. A Generalized Attraction–Repulsion Potential and Revisited Fragment Library Improves PEP-FOLD Peptide Structure Prediction. **Journal of Chemical Theory and Computation**, v. 18, n. 4, p. 2720–2736, 12 abr. 2022.
- BIZZOTTO, Edoardo *et al.* Classification of bioactive peptides: a comparative analysis of models and encodings. 6 out. 2023.
- CARPINO, Louis A.; HAN, Grace Y. The 9-Fluorenylmethoxycarbonyl amino-protecting group. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 37, n. 22, p. 3404–3409, nov. 1972.
- CAVALLI, Andrea *et al.* Multi-target-Directed Ligands To Combat Neurodegenerative Diseases. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 51, n. 3, p. 347–372, 1 fev. 2008.

- CHEN, Simiao *et al.* The global macroeconomic burden of Alzheimer's disease and other dementias: estimates and projections for 152 countries or territories. **The Lancet Global Health**, v. 12, n. 9, p. e1534–e1543, 1 set. 2024.
- CHRISTIANINI, Alexander V. Dispersão de sementes por poneromorfos. *In: As formigas poneromorfos do Brasil*. Ilhéus, Bahia: EDITUS, Editora da UESC, 2015. p. 345–360.
- CORREIA, Lucas Ian Veloso *et al.* Shedding Lights on Crude Venom from Solitary Foraging Predatory Ant *Ectatomma opaciventre*: Initial Toxinological Investigation. **Toxins**, v. 14, n. 1, 3 jan. 2022.
- CUSHMAN, D. W.; ONDETTI, M. A. History of the design of captopril and related inhibitors of angiotensin converting enzyme. **Hypertension**, v. 17, n. 4, p. 589–592, abr. 1991.
- DE MELO, Menilla Maria Alves *et al.* TanP: A Multifunctional Anionic Peptide From *Tityus stigmurus* Scorpion Venom. **Frontiers in Molecular Biosciences**, v. 8, p. 785316, 2021.
- DELABIE, Jacques H. C. (ORG.). **As formigas poneromorfos do Brasil**. Ilhéus, Bahia: EDITUS, Editora da UESC, 2015.
- DU, Zhenjiao; LI, Yonghui. Review and perspective on bioactive peptides: A roadmap for research, development, and future opportunities. **Journal of Agriculture and Food Research**, v. 9, p. 100353, set. 2022.
- FONSECA, Samuel Henrique Pereira *et al.* Computational prospection of functional peptides from kefir microbiota with multitarget potential in Alzheimer's disease. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 61, n. 1, p. vvag033, 2 jan. 2026.
- FRANÇA, Eder Cleyton Barbosa. Revisão taxonômica do gênero *Odontomachus* Latreille, 1804 (Hymenoptera: Formicidae) no Brasil. 2021.
- GASTEIGER, Elisabeth *et al.* Protein Identification and Analysis Tools on the ExPASy Server. *In: The Proteomics Protocols Handbook*. [S.l.: S.n.].
- GLENNER, George G.; WONG, Caine W. Alzheimer's disease: Initial report of the purification and characterization of a novel cerebrovascular amyloid protein. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 120, n. 3, p. 885–890, 16 maio 1984.
- GUERGUER, Fatima Zahra *et al.* Computational Approaches for Multitarget Drug Design in Alzheimer's Disease: A Comprehensive Review. **Current Medicinal Chemistry**, v. 32, n. 32, p. 7017–7044, 2025.
- GUIMARÃES, Denise Oliveira *et al.* Transcriptomic and biochemical analysis from the venom gland of the neotropical ant *Odontomachus chelifer*. **Toxicon**, v. 223, p. 107006, fev. 2023.
- GUPTA, Sudheer *et al.* In Silico Approach for Predicting Toxicity of Peptides and Proteins. **PLoS ONE**, v. 8, n. 9, p. e73957, 13 set. 2013.
- GURUPRASAD, K.; REDDY, B. V.; PANDIT, M. W. Correlation between stability of a protein and its dipeptide composition: a novel approach for predicting in vivo stability of a protein from its primary sequence. **Protein Engineering**, v. 4, n. 2, p. 155–161, dez. 1990.

- HABTEMARIAM, Solomon. Natural Products in Alzheimer's Disease Therapy: Would Old Therapeutic Approaches Fix the Broken Promise of Modern Medicines? **Molecules**, v. 24, n. 8, p. 1519, 17 abr. 2019.
- HONORATO, Rodrigo V. *et al.* Structural Biology in the Clouds: The WeNMR-EOSC Ecosystem. **Frontiers in Molecular Biosciences**, v. 8, 28 jul. 2021.
- HONORATO, Rodrigo V. *et al.* The HADDOCK2.4 web server for integrative modeling of biomolecular complexes. **Nature Protocols**, v. 19, n. 11, p. 3219–3241, nov. 2024.
- HUNG, Li-Wei *et al.* Acetylcholinesterase: Structure, dynamics, and interactions with organophosphorus compounds. **Protein Science**, v. 34, n. 10, p. e70297, out. 2025.
- HURKA, Sabine *et al.* Venomics of the Central European Myrmicine Ants *Myrmica rubra* and *Myrmica ruginodis*. **Toxins**, v. 14, n. 5, p. 358, 21 maio 2022.
- INESTROSA, Nibaldo C. *et al.* Acetylcholinesterase Accelerates Assembly of Amyloid- β -Peptides into Alzheimer's Fibrils: Possible Role of the Peripheral Site of the Enzyme. **Neuron**, v. 16, n. 4, p. 881–891, 1 abr. 1996.
- IQBAL, Umar H.; ZENG, Emma; PASINETTI, Giulio M. The Use of Antimicrobial and Antiviral Drugs in Alzheimer's Disease. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 14, p. 4920, 12 jul. 2020.
- KNOPMAN, David S. *et al.* Alzheimer disease. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 7, n. 1, p. 33, 13 maio 2021.
- KÜÇÜKOĞLU, Kaan; ÖZDEMİR, Ayşegül. BACE-1 Enzyme: A Promising Target for Alzheimer's Disease. **International Journal of Innovative Research and Reviews**, v. 9, n. 1, p. 1–21, 15 jul. 2025.
- KURKCUOĞLU, Zeynep *et al.* Performance of HADDOCK and a simple contact-based protein–ligand binding affinity predictor in the D3R Grand Challenge 2. **Journal of Computer-Aided Molecular Design**, v. 32, n. 1, p. 175–185, 1 jan. 2018.
- LAMIABLE, Alexis *et al.* PEP-FOLD3: faster *de novo* structure prediction for linear peptides in solution and in complex. **Nucleic Acids Research**, v. 44, n. W1, p. W449–W454, 8 jul. 2016.
- LEONHARDT, Sara Diana *et al.* Ecology and Evolution of Communication in Social Insects. **Cell**, v. 164, n. 6, p. 1277–1287, mar. 2016.
- LESSA, Maria de Fátima Barbosa. **Avaliação in silico e do Potencial Antiparasitário e Antimicrobiano de Peptídeos Derivados do Transcriptoma da Formiga *Odontomachus chelifer***. Trabalho de Conclusão de Curso—Uberlândia: Universidade Federal de Uberlândia, 2025.
- LIU, Min *et al.* Comparative mitogenomic analysis provides evolutionary insights into *Formica* (Hymenoptera: Formicidae). **PLOS ONE**, v. 19, n. 6, p. e0302371, 10 jun. 2024.

- LODHA, Tanishq *et al.* An in-silico approach for the identification of natural compounds as potential BACE1 inhibitors for the treatment of Alzheimer disease. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, p. 292–304, 2024.
- MALTA, Serena Mares *et al.* Brazilian kefir fraction mitigates the Alzheimer-like phenotype in *Drosophila melanogaster* with β -amyloid overexpression model. **Scientific Reports**, v. 14, n. 1, p. 25474, 26 out. 2024.
- MARTINS, Fábio G.; SANTOS, Hélder A.; SOUSA, Sérgio F. A Review of Current Computational Tools for Peptide–Protein Docking. **Journal of Computational Chemistry**, v. 47, n. 5, p. e70328, 2026.
- MATSUZAKI, Katsumi. Control of cell selectivity of antimicrobial peptides. **Biochimica Et Biophysica Acta**, v. 1788, n. 8, p. 1687–1692, ago. 2009.
- MENK, Josilene J. *et al.* Antimicrobial Peptide Arsenal Predicted from the Venom Gland Transcriptome of the Tropical Trap-Jaw Ant *Odontomachus chelifer*. **Toxins**, v. 15, n. 5, p. 345, 18 maio 2023.
- MOONEY, Catherine *et al.* Towards the Improved Discovery and Design of Functional Peptides: Common Features of Diverse Classes Permit Generalized Prediction of Bioactivity. **PLoS ONE**, v. 7, n. 10, p. e45012, 8 out. 2012.
- PUCCI, Fabrizio; SCHWERSENSKY, Martin; ROOMAN, Marianne. Artificial intelligence challenges for predicting the impact of mutations on protein stability. **Current Opinion in Structural Biology**, v. 72, p. 161–168, 1 fev. 2022.
- REY, Julien *et al.* PEP-FOLD4: a pH-dependent force field for peptide structure prediction in aqueous solution. **Nucleic Acids Research**, v. 51, n. W1, p. W432–W437, 5 jul. 2023.
- ROBINSON, Samuel D. *et al.* Ant venoms contain vertebrate-selective pain-causing sodium channel toxins. **Nature Communications**, v. 14, n. 1, p. 2977, 23 maio 2023.
- RODRÍGUEZ-CABELLO, Francisca *et al.* Bioactive Peptides from Natural Sources: Biological Functions, Therapeutic Potential and Applications. **Chemosensors**, v. 14, n. 2, 26 jan. 2026.
- S R, Abhishek; VG, Shanmugha Priya. **Integrated In Silico Drug Design and QSAR Modelling of BACE1 Inhibitors for Alzheimer’s Disease Therapeutics.** , 15 out. 2025. Disponível em: <<https://chemrxiv.org/doi/full/10.26434/chemrxiv-2025-mhfwq>>. Acesso em: 5 jun. 2026
- SANTOS, Thamires Silva. Bioprospecção da peçonha bruta de *Odontomachus chelifer* (FOWLER, 1980): um estudo parcial sobre suas ações funcionais. 11 jul. 2019.
- SCHELTENS, Philip *et al.* Alzheimer’s disease. **The Lancet**, v. 397, n. 10284, p. 1577–1590, 24 abr. 2021.
- SILMAN, Israel; SUSSMAN, Joel L. Acetylcholinesterase: “classical” and “non-classical” functions and pharmacology. **Current Opinion in Pharmacology**, v. 5, n. 3, p. 293–302, jun. 2005.

SÓ, Yuri Alves de Oliveira *et al.* Evaluation of the Ability of Wasp Venom Bioinspired Peptides (Fraternine-10 and Octovespin) in the Disaggregation and Anti-Aggregation of Amyloid- β Fibrils. **Proteins**, v. 93, n. 7, p. 1257–1268, jul. 2025.

SORGER, Daniela Magdalena; ZETTEL, Herbert. On the ants (Hymenoptera: Formicidae) of the Philippine Islands: V. The genus *Odontomachus* LATREILLE, 1804. **Myrmecological News**, v. 14, p. 141–163, jan. 2011.

SPINELLI, Roque; SANCHÍS, Ivan; SIANO, Alvaro. Fighting Alzheimer's naturally: Peptides as multitarget drug leads. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 127, p. 130305, nov. 2025.

STUDZIŃSKA-SROKA, Elżbieta *et al.* Pleiotropic Potential of *Evernia prunastri* Extracts and Their Main Compounds Evernic Acid and Atranorin: In Vitro and In Silico Studies. **Molecules**, v. 29, n. 1, 30 dez. 2023.

TUFFÉRY, Pierre; DERREUMAUX, Philippe. A refined pH-dependent coarse-grained model for peptide structure prediction in aqueous solution. **Frontiers in Bioinformatics**, v. 3, p. 1113928, 16 jan. 2023.

VANGONE, Anna; BONVIN, Alexandre MJJ. Contacts-based prediction of binding affinity in protein–protein complexes. **eLife**, v. 4, p. e07454, 20 jul. 2015.

WATERHOUSE, Andrew M. *et al.* The structure assessment web server: for proteins, complexes and more. **Nucleic Acids Research**, v. 52, n. W1, p. W318–W323, 5 jul. 2024.

WILLIAMS, Christopher J. *et al.* MolProbity: More and better reference data for improved all-atom structure validation. **Protein Science**, v. 27, n. 1, p. 293–315, jan. 2018.

XUE, Li C. *et al.* PRODIGY: a web server for predicting the binding affinity of protein–protein complexes. **Bioinformatics**, v. 32, n. 23, p. 3676–3678, 1 dez. 2016.

ZASLOFF, Michael. Antimicrobial peptides of multicellular organisms. **Nature**, v. 415, n. 6870, p. 389–395, jan. 2002.

ZHANG, Jifa *et al.* Recent advances in Alzheimer's disease: mechanisms, clinical trials and new drug development strategies. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, v. 9, p. 211, 23 ago. 2024.

ZHANG, X. X. *et al.* The Epidemiology of Alzheimer's Disease Modifiable Risk Factors and Prevention. **The Journal of Prevention of Alzheimer's Disease**, v. 8, n. 3, p. 313–321, jul. 2021.