

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
CURSO DE BIOTECNOLOGIA

Avaliação *in silico* e do Potencial Antiparasitário e Antimicrobiano de Peptídeos Derivados
do Transcriptoma da Formiga *Odontomachus chelifer*

Maria de Fátima Barbosa Lessa

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

Uberlândia – MG
Setembro – 2025

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
CURSO DE BIOTECNOLOGIA

Avaliação *in silico* e do Potencial Antiparasitário e Antimicrobiano de Peptídeos Derivados
do Transcriptoma da Formiga *Odontomachus chelifer*

Maria de Fátima Barbosa Lessa

Profª Drª Renata Santos Rodrigues
Profª Drª Ralciane de Paula Menezes

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

Uberlândia – MG
Setembro– 2025

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
CURSO DE BIOTECNOLOGIA

Avaliação *in silico* e do Potencial Antiparasitário e Antimicrobiano de Peptídeos Derivados
do Transcriptoma da Formiga *Odontomachus chelifer*

Maria de Fátima Barbosa Lessa

Prof^ª Dr^ª Renata Santos Rodrigues
Prof^ª Dr^ª Ralciane de Paula Menezes

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

Nilson Nicolau Junior
Coordenador (a) do Curso

Uberlândia – MG
Setembro – 2025

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
CURSO DE BIOTECNOLOGIA

Avaliação *in silico* e do Potencial Antiparasitário e Antimicrobiano de Peptídeos Derivados
do Transcriptoma da Formiga *Odontomachus chelifer*

Maria de Fátima Barbosa Lessa

Aprovado pela Banca Examinadora em: __/__/____ Nota: _____

Profª Drª Renata Santos Rodrigues
Nome e assinatura do Presidente da Banca Examinadora

Uberlândia, 19 de setembro de 2025

DEDICATÓRIA

Aos meus avós José Meira Lessa e Adelia Auxiliadora Barbosa, que mesmo longe ainda são as minhas inspirações e a minha força.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus por ter me dado força e sabedoria para trilhar mais essa etapa da minha vida.

Aos meus pais e minha irmã que sempre me apoiaram e me deram a oportunidade de realizar meus sonhos.

Ao meu namorado e meus amigos por me ouvirem nos meus momentos de dificuldade e por me fazerem sorrir.

Aos meus professores que dividiram seus conhecimentos comigo e me despertaram a minha curiosidade. Em especial, agradeço à professora Dr^a Renata Santos Rodrigues por me orientar durante todo o período da minha graduação e por tornar este trabalho possível.

Por último, agradeço a Universidade Federal de Uberlândia por me proporcionar recursos para meu desenvolvimento pessoal e profissional.

RESUMO

A peçonha da formiga *Odontomachus chelifer* contém um rico repertório de moléculas com potencial atividade biológica, sendo uma delas os peptídeos antimicrobianos (AMPs). Este trabalho avaliou a atividade antiparasitária e antimicrobiana de três peptídeos (P1, P2 e P3) derivados do transcriptoma dessa espécie. Inicialmente, os peptídeos foram sintetizados por síntese em fase sólida (SPPS) e caracterizados *in silico* quanto às suas propriedades físico-químicas, modelagem 3D e validação estrutural pelas ferramentas QMEANDisCo, Errat e Ramachandran. Experimentalmente, nenhum dos peptídeos mostrou citotoxicidade frente à *Leishmania (Leishmania) amazonensis*, nas concentrações testadas. Entretanto, determinou-se a Concentração Mínima Inibitória (MIC) contra *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans*. Dois peptídeos (P2 e P3) apresentaram atividade antibacteriana contra *S. aureus*, e todos demonstraram efeito contra *E. coli* e ação antifúngico, sendo o peptídeo 1 o mais eficaz contra *Candida albicans* (MIC = 62,5 µg/mL). Os resultados indicam que os peptídeos testados de *O. chelifer* possuem potencial para aplicações antimicrobianas, no entanto, estudos adicionais são necessários para elucidar seu mecanismo de ação.

Palavras-chave: Peptídeos de formiga; estudos *in silico*; ação antimicrobiana.

ABSTRACT

The venom of the ant *Odontomachus chelifer* contains a rich repertoire of molecules with potential biological activity, including antimicrobial peptides (AMPs). This study evaluated the antiparasitic and antimicrobial activity of three peptides (P1, P2, and P3) derived from the transcriptome of this species. Initially, the peptides were synthesized by solid-phase peptide synthesis (SPPS) and characterized *in silico* regarding their physicochemical properties, 3D modeling, and structural validation using tools such as QMEANDisCo, Errat, and Ramachandran. Experimentally, none of the peptides showed cytotoxicity against *Leishmania (Leishmania) amazonensis* at the tested concentrations. However, their Minimum Inhibitory Concentration (MIC) was determined against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, and *Candida albicans*. Two peptides (P2 and P3) exhibited antibacterial activity against *S. aureus*, and all showed effects against *E. coli* and antifungal activity, with peptide P1 being the most effective against *C. albicans* (MIC = 62.5 µg/mL). These findings indicate that *O. chelifer*-derived peptides hold potential for antimicrobial applications; however, further studies are required to elucidate their mechanism of action.

Keywords: Ant peptides; *in silico* studies; antimicrobial activity.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Formigas e sua peçonha.	1
1.2. Gênero <i>Odontomachus</i> e <i>Odontomachus chelifer</i>	2
1.3. Peptídeos Antimicrobianos.	4
1.4. Uso da bioinformática e da modelagem 3D.	6
2. OBJETIVO	7
2.1. Objetivo geral.	7
2.2. Objetivos específicos	7
3. METODOLOGIA	8
3.1. Estudos <i>in silico</i>	8
3.1.1. Estudos dos parâmetros físico-químicos	8
3.1.2. Modelagem 3D dos peptídeos.	9
3.2. Síntese e Purificação dos peptídeos	10
3.3. Eletroforese em gel de poliacrilamida para proteínas de baixo massa molecular	10
3.4. Atividade Antiparasitária	11
3.4.1. Citotoxicidade <i>Leishmania (Leishmania) amazonensis</i>	11
3.5. Atividade Antimicrobiana	12
3.5.1. Concentração Mínima Inibitória (MIC)	12
4. RESULTADOS	13
4.1. Estudos <i>in silico</i>	13
4.1.1. Estudos dos parâmetros físico-químicos	13
4.1.2. Modelagem 3D dos peptídeos.	15
4.2. Eletroforese em gel de poliacrilamida para proteínas de baixo massa molecular	19
4.3 Atividade Antiparasitária	20
4.3.1. Citotoxicidade	20
4.4. Atividade Antimicrobiana	21
4.4.1. Concentração Mínima Inibitória (MIC)	21
5. DISCUSSÃO E CONCLUSÃO	23
6. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA	26

1. INTRODUÇÃO

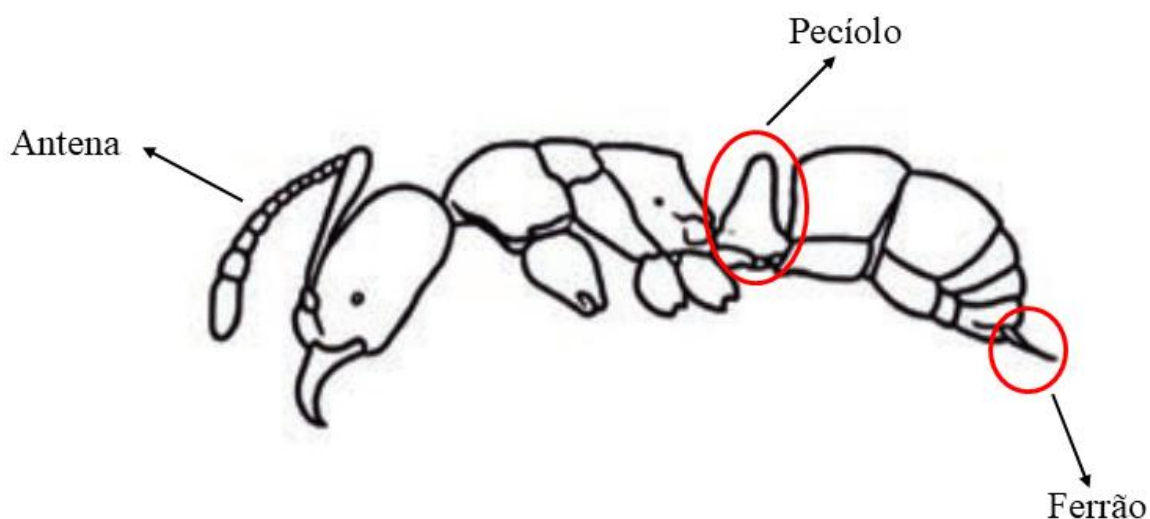
1.1. Formigas e sua peçonha.

As formigas são insetos que juntamente com as abelhas e vespas fazem parte da ordem Hymenoptera e, apesar desses animais pertencerem a uma mesma ordem, a família Formicidae representa a maior variedade de animais peçonhentos terrestres (Bararssé *et al.*, 2022; Aili *et al.*, 2014). Essa família reúne cerca de 13.000 espécies conhecidas, sendo que elas estão distribuídas em 16 subfamílias e 330 gêneros, sendo o Brasil o país com a maior diversidade desses animais na região Neotropical (Baccaro *et al.*, 2015).

A subfamília Ponerinae, composta por grande diversidade de formigas, inclui aproximadamente 1.290 espécies organizadas em 50 gêneros, sendo que no Brasil estão registrados ao menos 15 gêneros e mais de 130 espécies. As formigas pertencentes a esse grupo são encontradas, principalmente, nas florestas tropicais. Em sua maioria, esses insetos são predadores, mas podem ser considerados generalistas, uma vez que algumas espécies se alimentam de polpa de frutos, sementes e carcaças de animais (Baccaro *et al.*, 2015).

Morfologicamente (Figura 1), essas formigas são caracterizadas por um par de antenas com 12 segmentos, um pecíolo unido ao gáster, por meio de uma constrição delgada, formando uma estrutura contínua. Além disso, elas apresentam um ferrão, estrutura utilizada para inocular a peçonha em suas presas, bem desenvolvido e funcional (Baccaro *et al.*, 2015).

Figura 1 – Esquema morfológico de uma formiga da subfamília Ponerinae



Fonte: Baccaro *et al.*, 2015, modificado.

1.2. Gênero *Odontomachus* e *Odontomachus chelifer*.

Dentro da subfamília Ponerinae encontra-se o gênero *Odontomachus*, o qual contempla 79 espécies, sendo que 14 dessas estão registradas no Brasil (Bolton, 2025; França, Fernandes, Bravo, 2024). Este gênero é caracterizado por um corpo delgado, um pecíolo cônico e mandíbulas fortes e alongadas, as quais apresentam cerdas sensíveis e que são utilizadas durante o forrageio para a captura de presas (Baccaro *et al.*, 2015; Latreille, 1802).

Dentre as 14 espécies presentes no gênero *Odontomachus* e registradas no Brasil, encontra-se a *Odontomachus chelifer* (Figura 2). Essa formiga é nativa da América Latina e é encontrada principalmente no Cerrado Brasileiro. Ela apresenta hábitos de uma predadora solitária e uma dieta carnívora, composta principalmente por artrópodes mortos e cupins (Silveira, 2024). Morfologicamente, essa espécie é caracterizada por um corpo alongado (entre 12–15 mm de comprimento), possuindo uma mandíbula forte, utilizada para atacar seus agressores, com uma picada que causa dor aguda e intensa, além de sensação de formigamento local (Latreille, 1802).

Figura 2 – Imagem ilustrativa da formiga *Odontomachus chelifer*



Fonte: Lemos, 2020.

Esta espécie, assim como muitas outras apresenta uma modificação do aparelho ovopositor, o qual é denominada popularmente de ferrão (Aili *et al.*, 2014). Esse aparelho está conectado às glândulas de veneno, as quais são responsáveis por produzir e armazenar a peçonha, produzida pelas formigas (Guimarães *et al.*, 2023). O ferrão tem a função principal de inocular a peçonha em sua presa. As peçonhas, em sua maioria são substâncias compostas por uma mistura complexa de moléculas, sendo algumas delas: proteínas, polipeptídeos, enzimas, alcaloides aminas biogênicas, ácido fórmico e hidrocarbonetos (Menk *et al.*, 2023).

Algumas espécies do gênero *Odontomachus* possuem como características de sua peçonha a existência de proteínas com importantes atividades biológicas, como as hialuronidasas e algumas isoformas das fosfolipases A₁ e A₂ (Guimarães *et al.*, 2023; Silva *et al.*, 2015). Segundo Guimarães *et al.* (2023), a peçonha da formiga *Odontomachus chelifer* apresenta diferentes

tipos de fosfolipases como as: PLA₁, PLA₂, PLB₁ e PLD. Essas enzimas não apresentam um caráter letal para as presas dessas formigas, entretanto, elas podem ter um papel sinérgico na peçonha, ajudando na letalidade.

1.3. Peptídeos Antimicrobianos.

Além das proteínas presentes, as peçonhas de formigas apresentam uma grande quantidade de peptídeos, que apresentam uma massa molecular entre 200 Da (daltons) e 10kDa (quilo Dalton). (Foreman *et al.*, 2021; Guimarães *et al.*, 2023).

Assim como as proteínas, a peçonha de formiga é composta por diferentes tipos de peptídeos. Um exemplo é o peptídeo ICK-like (Inhibitor cystine knot) encontrado na peçonha da formiga *Odontomachus monticola*, que apresenta atividade antimicrobiana contra bactérias Gram negativas, Gram positivas e fungos (Zhang e Zhu, 2012). Além dessa ação, esse peptídeo é conhecido por bloquear os canais iônicos (Kazuma, 2017), sendo o mais comum o bloqueio de canais de sódio feitos por indivíduos da subfamília Ponerinae (Aili, 2014). Estes canais iônicos são responsáveis por contribuírem para a estabilidade do potencial de membrana, manterem o equilíbrio de íons no ambiente intracelular, além de terem um papel crucial na transmissão de sinais intracelulares (Zhou *et al.*, 2025).

Segundo estudos de Menk (2023), a peçonha de *Odontomachus chelifer* apresenta 1022 peptídeos em sua glândula, sendo que 75.5% destes são desconhecidos. Dentro deste arsenal, foi descoberto a existência de 112 candidatos não redundantes a peptídeos antimicrobianos (AMP's). De acordo com a predição realizada, esses candidatos se mostraram mais globulares e hemolíticos que o restante dos peptídeos do secretoma. Desse modo, os AMP's foram divididos em 5 classes principais, sendo elas: crustin-like, defensin-like, hymenoptaecin-like, ICK-type e abaecin-like (Menk *et al.*, 2023).

Além do peptídeo ICK-like, muitos outros, como as Myrmexins, Ectatomins, Dinoponeratoxins, Ponericins, Defensins apresentam atividade antimicrobiana e esses recebem a denominação de AMP's. Eles são de extrema importância tanto para auxiliar a função de defesa do ninho das formigas, quanto para uma função menos conhecida, o armazenamento de alimento mais eficiente. Essa função se torna extremamente necessária, uma vez que as formigas são seres sociais e podem levar microrganismos patogênicos para a colônia. Sendo assim, a fim de evitar o desenvolvimento desses microrganismos elas produzem em sua peçonha peptídeos antimicrobianos (Aili *et al.*, 2014).

Os AMP's, normalmente apresentam um tamanho que varia entre 12 e 50 resíduos de aminoácidos, além de terem diferentes classificações, as quais são definidas com base nos aminoácidos que as compõem e em sua estrutura (Dhanjal *et al.*, 2023). A principal classificação dessas moléculas é baseada em sua estrutura secundária, sendo eles divididos em: α -hélice, folha β e estrutura linear ou espiral aleatória (Dhanjal *et al.*, 2023).

Apesar dessas moléculas apresentarem o nome de peptídeos antimicrobianos, elas também são muito estudadas devido às suas outras atividades como: ação antitumoral (Pan *et al.*, 2022), antiviral, além de suas funções antifúngica e antiparasitária (Zahedifard *et al.*, 2020; Dhanjal *et al.*, 2023).

De acordo com Pan *et al.*, 2022, alguns peptídeos antimicrobianos catiônicos sintéticos, derivados de AMPs α -hélice de formiga possuem ação antitumoral frente aos cânceres de pulmão e fígado. Essa atividade se dá pelo fato das células cancerígenas apresentam uma membrana mais eletronegativa, quando comparado com células normais, fazendo com que essas moléculas catiônicas sejam atraídas pela diferença de potencial.

Em outro trabalho, realizado por Zahedifard *et al.*, 2020 foi visto que um peptídeo antimicrobiano e catiônico derivado da geleia real de abelha conseguiu limitar o crescimento

da forma promastigota do parasito *Leishmania major*, por meio da ruptura da membrana e alterações no potencial.

Considerando sua ampla atividade biológica, os peptídeos antimicrobianos têm se mostrado promissoras ferramentas biotecnológicas, com potencial para oferecer soluções eficazes frente a desafios relevantes, como a crescente resistência de bactérias a antibióticos disponíveis no mercado (Lima *et al.*, 2020); tratamento alternativo para doenças negligenciadas como a leishmaniose, visto que os medicamentos presentes no mercado apresentam alta toxicidade e efeitos adversos (Zahedifard *et al.*, 2020). No entanto, a baixa produção destes compostos (peptídeos) na peçonha e o pequeno tamanho destes insetos, faz com que este estudo seja desafiador (Ascoët *et al.*, 2023). Dessa forma, estudos de transcriptomas e posteriormente o desenvolvimento de peptídeos sintéticos são uma alternativa para contornar essa adversidade.

1.4. Uso da bioinformática e da modelagem 3D.

Além dos estudos de transcriptoma, uma ferramenta amplamente utilizada é a modelagem 3D a qual, prediz possíveis estruturas desses peptídeos, auxiliando no entendimento do mecanismo de ação dessas moléculas. A partir dessas estruturas preditas, é possível visualizar quais seriam as prováveis interações entre os peptídeos e seus alvos (Nikolaev *et al.*, 2018; Kanitkar *et al.*, 2021)

A modelagem é feita por diferentes métodos computacionais que se dividem, principalmente, em dois grandes grupos. O primeiro dele, conhecido como homologia, refere-se a estruturas que são feitas a partir de informações de uma estrutura modelo relacionada ou homóloga. Já o segundo grupo, chamado de *ab initio*, contempla métodos que tentam modelar as estruturas 3D a partir das características físico-químicas das moléculas estudadas. (Kanitkar *et al.*, 2021)

Apesar da modelagem ser uma alternativa mais rápida e barata para determinar a estrutura tridimensional de uma molécula, é preciso saber qual programa utilizar, para que a estrutura final tenha uma acurácia de média a alta, sendo muito vezes necessário utilizar as duas abordagens (*ab initio* e homologia) (Nikolaev *et al.*, 2018; Kanitkar *et al.*, 2021).

As análises *in silico* são essenciais pois permitem a triagem racional de sequências peptídicas com maior potencial bioativo, a predição de propriedades estruturais e funcionais, bem como a avaliação preliminar da toxicidade e estabilidade dessas moléculas. Ademais, essa abordagem computacional otimiza tempo e recursos, direcionando as atividades experimentais para candidatos mais promissores, aumentando a eficiência no desenvolvimento de novos agentes terapêuticos.

2. OBJETIVO

O presente trabalho apresenta os seguintes objetivos geral e específicos a serem verificados pela pesquisa desenvolvida.

2.1. Objetivo geral

Este trabalho tem como objetivo geral realizar análises *in silico* e avaliar o potencial antiparasitário dos peptídeos P1 (AAHVVKVRILASFL), P2 (SPGRIPHAAFRFGLLK) e P3 (IRPKKNRQRRYQSLAGYR) identificados no transcriptoma de *O. chelifer* frente ao protozoário *Leishmania (Leishmania) amazonensis*, bem como investigar sua ação antimicrobiana contra as bactérias *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e ao fungo *Candida albicans* (ATCC 90028).

2.2. Objetivos específicos

Para se alcançar o objetivo geral, os seguintes objetivos específicos foram propostos:

- Avaliar parâmetros físico-químicos dos três peptídeos antimicrobianos identificados no transcriptoma de *O. chelifer*;
- Modelar tridimensionalmente os peptídeos e avaliar a qualidade das predições realizadas;
- Sintetizar três peptídeos antimicrobianos identificados no transcriptoma de *O. chelifer*;
- Determinar a concentração capaz de inibir 50% (IC₅₀) da capacidade proliferativa dos parasitos estudados;
- Determinar a concentração mínima inibitória (MIC) para cada cepa bacteriana e fúngica.

3. METODOLOGIA

Para que os objetivos determinados fossem alcançados, propôs-se algumas metodologias que foram executadas com os três peptídeos. A seleção desses peptídeos no transcriptoma foi feita com base no tamanho dessas moléculas.

3.1. Estudos *in silico*

Com o objetivo de estudar os parâmetros moleculares e estruturais dos três peptídeos antimicrobianos presentes na peçonha de *Odontomachus chelifer*, foram empregadas duas abordagens *in silico* por meio de ferramentas de bioinformática: uma voltada para a análise das características físico-químicas dos peptídeos e outra para a predição de suas estruturas tridimensionais.

3.1.1. Estudos dos parâmetros físico-químicos

Para determinar os parâmetros físico-químicos dos três peptídeos, utilizou-se o programa gratuito Expasy-ProtParam disponível no endereço eletrônico:

<https://web.expasy.org/protparam/>. Essa ferramenta permite o cálculo de diferentes parâmetros físicos e químicos de proteínas presentes no banco de dados UniProtKB (UniProt Knowledgebase) ou de sequências de aminoácidos conhecidas, as quais são inseridas manualmente no programa. Algumas das características calculadas pelo Expasy-ProtParam são: a massa molecular, o ponto isoelétrico (pI) teórico, a composição de aminoácidos, a composição atômica, o índice de instabilidade, o índice alifático e a média geral de hidrofobicidade (GRAVY).

As três sequências dos peptídeos antimicrobianos foram inseridas de forma manual e individual ao programa, e os dados gerados estão apresentados na Tabela 1.

3.1.2. Modelagem 3D dos peptídeos.

As predições 3D dos peptídeos foram geradas a partir do programa online AlphaFold Server disponível no endereço eletrônico: <https://alphafoldserver.com/>, ele é um serviço online da plataforma Google, que realiza previsões de estruturas biomoleculares. Alguns dos tipos de moléculas que podem ser preditas são: DNA, RNA, proteína, íons, ligantes e estruturas com modificações químicas. Para cada sequência modelada, o programa gerou 5 modelos 3D diferentes e apresentou na interface principal aquele com o maior score.

Assim como no item 3.1.1., cada sequência foi submetida aos programas individualmente. Após a modelagem, cada predição foi verificada pelos métodos Errat e Ramachandran, por meio de uma plataforma online, desenvolvido pela Universidade da Califórnia em Los Angeles (UCLA) disponível no endereço eletrônico: <https://saves.mbi.ucla.edu/results?job=271404&p=procheck>. O Errat analisa estatisticamente as interações não ligadas entre diferentes tipos de átomos. Já o Ramachandran verifica a qualidade estereoquímica da estrutura de proteína, analisando a geometria por resíduo e a geometria geral da estrutura.

Além disso, verificou-se o score global obtido pelo QMEANDisco acessado por meio do endereço eletrônico <https://swissmodel.expasy.org/qmean/>, o qual avalia as distâncias Ca-Ca pareadas de um modelo com restrições extraídas de estruturas homólogas. Todas as pontuações são combinadas usando uma rede neural treinada para prever pontuações de IDDT (local Distance Difference Test) por resíduo.

3.2. Síntese e Purificação dos peptídeos

A síntese e purificação dos peptídeos antimicrobianos da formiga *O. chelifer* foi realizada 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 de peptídeos foi feita de forma manual, seguindo a metodologia de síntese em fase sólida (SPPS), proposta por Carpino; Han (1972) e utilizando uma resina Rink Amida-MBHA como suporte. Já a purificação dos peptídeos foi realizada em modo semi preparativo, utilizando um cromatógrafo Shimadzu, com uma coluna de tamanho 250 x 10 mm e as análises das frações puras foram feitas por CLAE analítico em um cromatógrafo Shimadzu, com coluna C18. Durante a caracterização dos materiais obtidos foi usado um espectrômetro de massa no modo electrospray ionization (ESI) positivo. Por último, 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 com tempo de integração de 3 s por ponto. Em todos os testes realizados, as leituras foram feitas a cada 0,5 nm.

3.3. Eletroforese em gel de poliacrilamida para proteínas de baixo massa molecular

O gel foi realizado para averiguar a pureza e integridade dos peptídeos que foram utilizados nos demais testes. Para a realização desse gel, foi usado a metodologia proposta por Schagger (1987). O gel de poliacrilamida foi feito a 16,5%. Ele é composto por 0,11% de glicerol, 49,5%

de acrilamida, 0,065% de solução de persulfato de amônio, sendo que esse foi preparado a 20%, 0,0325% de TEMED e 0,15% de tampão do gel a 2M. O tampão de gel é feito com Tris 2M e 0,3% de SDS e seu pH deve ser de 8,45. As amostras testadas foram solubilizadas diretamente no tampão de amostra do kit Ultra Low Range Molecular Weight Marker - Sigma.

A corrida foi feita utilizando dois tampões de corrida, uma para o eletrodo cátodo e outro para o ânodo. Para o tampão do eletrodo cátodo utilizou-se: Tris 0,1M, Tricina 0,1M e SDS 0,1% e seu pH final é de 8,25. Já o tampão do ânodo foi feito apenas com Tris 0,2M e seu pH final foi de 8,9. As corridas seguiram os seguintes parâmetros: uma corrente que variou de 10mA a 20mA, uma voltagem de 85V, durante aproximadamente 8 horas.

3.4. Atividade Antiparasitária

Para determinar a atividade antiparasitária dos três peptídeos estudados, avaliou-se a citotoxicidade desses compostos sobre o parasita *Leishmania (Leishmania) amazonensis*.

3.4.1. Citotoxicidade *Leishmania (Leishmania) amazonensis*

A determinação da citotoxicidade (capacidade de uma substância ou agente danificar ou destruir células) foi realizada para determinar a concentração dos peptídeos antimicrobianos capaz de inibir 50% (IC₅₀) do parasita *Leishmania (Leishmania) amazonensis*. Essa metodologia foi feita utilizando a forma promastigota do protozoário *Leishmania (Leishmania) amazonensis* (IFLA/BR/67/PH8 strain), a qual é responsável por causar a leishmaniose mucocutânea (LMC). Esses parasitos foram cultivados no meio Schneider, suplementado com 10% de Soro Fetal Bovino (SFB). Após o seu cultivo, as leishmanias foram plaqueadas em uma placa de 96 poços e tratadas com diferentes concentrações dos peptídeos, as quais variaram de 300 µM a 3,12 µM. As diferentes concentrações utilizadas no experimento foram obtidas, por meio de diluição seriada. As placas ficaram incubadas à 23 °C, de 24 a 72 horas. Depois

deste período foi avaliado colorimetricamente, a viabilidade dos parasitos utilizando Brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il) -2,5-difeniltetrazólio (MTT), de acordo com a metodologia proposta por Mosmann (1983). Todas as placas foram lidas a 570 nm em um espectrofotômetro de placas. O experimento foi realizado em triplicata, sendo que os três testes foram conduzidos de forma independente.

As análises estatísticas para determinar 50% da concentração inibitória (IC50) foram realizadas no programa GraphPad Prism Software versão 10.0, utilizando a metodologia de Bonferroni (1936). Os dados foram expressos como média $\pm$ desvio padrão e as variáveis foram testadas para normalidade e analisadas de acordo com a distribuição dos dados. Sendo que esses foram considerados estatisticamente diferentes quando $p < 0,05$.

3.5. Atividade Antimicrobiana

A atividade antimicrobiana dos três peptídeos foi avaliada por meio da determinação da concentração mínima inibitória (MIC) frente a três microrganismos: duas cepas bacterianas, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, e uma cepa fúngica, *Candida albicans*.

3.5.1. Concentração Mínima Inibitória (MIC)

Para determinar a menor concentração dos peptídeos antimicrobianos capaz de inibir o crescimento dos microrganismos (MIC): bactérias *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e do fungo *Candida albicans* (ATCC 90028), utilizou-se as metodologias disponibilizadas no Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) para as cepas bacterianas e a metodologia disponível na EUCAST para a cepa fúngica.

O teste foi realizado em placas de 96 poços, sendo utilizado uma placa diferente para cada tipo de microrganismo. Para as cepas bacterianas utilizou-se o meio BHI, enquanto para a cepa fúngica usou-se o meio RPMI. Os peptídeos antimicrobianos e o antifúngico (anfotericina B)

foram solubilizados primeiramente em DMSO e posteriormente adicionou-se meio RPMI até a concentração de 4000 µg/mL, enquanto para preparar o antibiótico (tetraciclina), usou-se o meio BHI, a solução preparada previamente com DMSO até se atingir a concentração de 4000 µg/mL.

As concentrações dos peptídeos testadas variaram de 4000 µg/mL a 7,8125 µg/mL e elas foram feitas, a partir de diluição seriada. O antibiótico e antifúngico utilizados para controle de morte do experimento foram: a tetraciclina para as cepas bacterianas e a anfotericina B para a cepa fúngica. As placas foram incubadas a 35°C por 24 horas para as bactérias e a 35°C por 48 horas para o fungo. Ao final do experimento, todas as placas foram lidas a 490 nm no espectrofotômetro.

O valor da concentração mínima inibitória foi determinado a partir dos valores de absorbâncias, sendo que o valor da absorbância do MIC deverá ser a metade do valor do controle positivo (meio contendo o cultivo das bactérias ou fungo) do experimento. O ensaio foi realizado em duplicatas independentes.

4. RESULTADOS

Os resultados obtidos, a partir das metodologias utilizadas, estão descritos nos próximos subtópicos.

4.1. Estudos *in silico*

4.1.1. Estudos dos parâmetros físico-químicos

A partir dos dados obtidos pelo programa ProtParam, foi possível inferir algumas análises sobre os três peptídeos testados. Esses dados foram organizados e apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 – Parâmetros físico-químico dos peptídeos

	Peptídeo 1 (P1)	Peptídeo 2 (P2)	Peptídeo 3 (P3)
Número de aminoácidos:	14	16	18
Peso molecular (Da)	1523.89	1767.11	2290.66
Ponto isoeletrico (pI)	11.00	12.01	11.84
Total de resíduos positivo (Arg + Lys)	2	3	7
Índice de instabilidade	8.86	29.73	68.78
Índice Alifático	167.14	85.62	48.89
Média geral da hidrofobicidade (GRAVY)	1.464 (hidrofóbico)	0.025 (hidrofóbico)	-2.006 (hidrofílico)

Fonte: A autora, 2025.

Todos os três peptídeos apresentam um peso molecular baixo, o qual varia de 1.523,89 Da até 2.290,66 Da. Além disso, essas moléculas apresentam um ponto isoeletrico (pI) elevado, o qual é explicado pela quantidade de resíduos positivos presente nas estruturas dessas moléculas.

Tanto o P1, quanto o P2 são consideradas moléculas estáveis uma vez que o valor do índice de instabilidade foi menor que 40. Já o peptídeo 3 é considerado instável, uma vez que seu valor é maior que 40. Para determinar esses valores o programa utilizou-se da Equação 1, onde o valor de L significa o tamanho da sequência e DIWV ($x[i]x[i+1]$) é o valor de instabilidade do peso para o peptídeo começando na posição i (primeiro aminoácido do peptídeo). Este cálculo foi realizado pelo próprio programa.

Equação 1 – Instabilidade Index (II)

$$II = \left(\frac{10}{L}\right) * \sum_{i=1}^{i=L-1} DIWV(x[i]x[i+1])$$

O índice Alifático representa o volume ocupado pelas cadeias laterais alifáticas, dessa forma, quando o valor desse parâmetro é maior que 92.6, a molécula será considerada estável termicamente. Entretanto, quando esse índice é próximo ou abaixo de 78, os peptídeos são classificados como pouco estáveis. Portanto, como os valores para as três moléculas foram altas, elas são consideradas estáveis termicamente, havendo uma relação de estabilidade, a qual segue a seguinte ordem: P1 > P2 > P3.

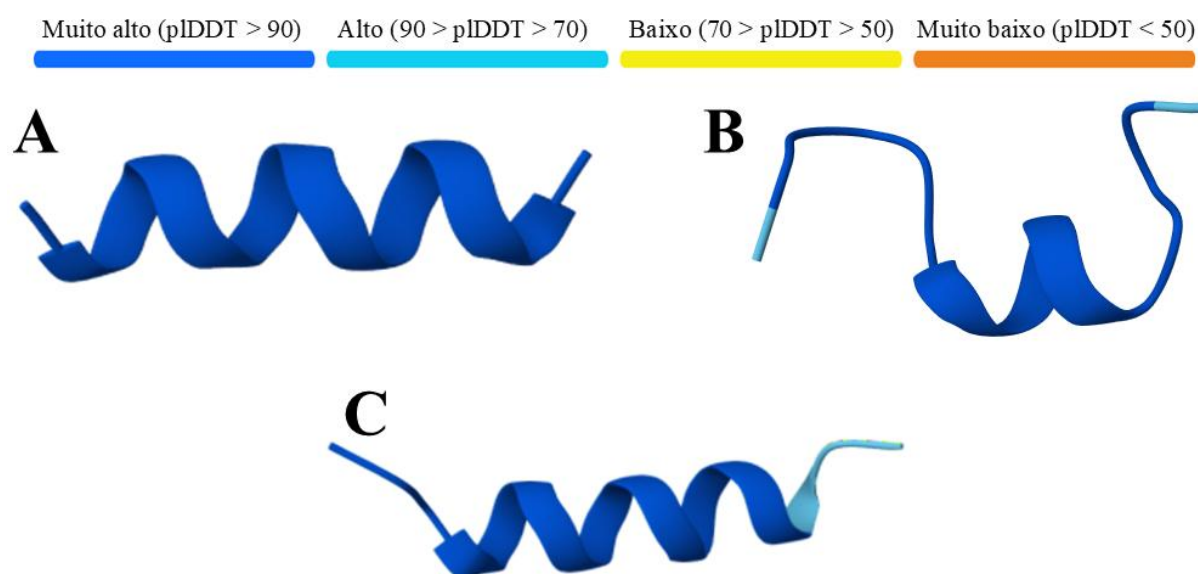
Por último, a média geral da hidrofobicidade (Grand Average of Hydropathy, GRAVY) mostrou que os peptídeos 1 e 2 são hidrofóbicos, apesar do segundo ter uma distribuição mais equilibrada, visto que o seu valor de GRAVY é próximo de 0 e o peptídeo 3 é hidrofílico, já que seu índice é menor que 0. Importante ressaltar que essa medida avalia somente os aminoácidos presentes em sua sequência, não levando a estrutura da molécula em consideração.

4.1.2. Modelagem 3D dos peptídeos.

Todos os peptídeos foram modelados individualmente pelo programa AlphaFold Server, os melhores resultados estão representados na Figura 3. As cores dos peptídeos demonstram a confiabilidade da predição de acordo com a métrica pLDDT.

O pLDDT é uma estimativa de confiança por átomo, a qual varia em uma escala de 0 a 100, sendo que valores mais altos indicam maiores confiança. O pLDDT visa prever uma pontuação lDDT (local Distance Difference Test) modificada que considera apenas as distâncias entre os polímeros. Já a métrica lDDT busca avaliar a similaridade entre uma estrutura de proteína prevista por modelagem computacional e uma estrutura de referência experimental.

Figura 3 – Modelo 3D dos peptídeos 1, 2 e 3



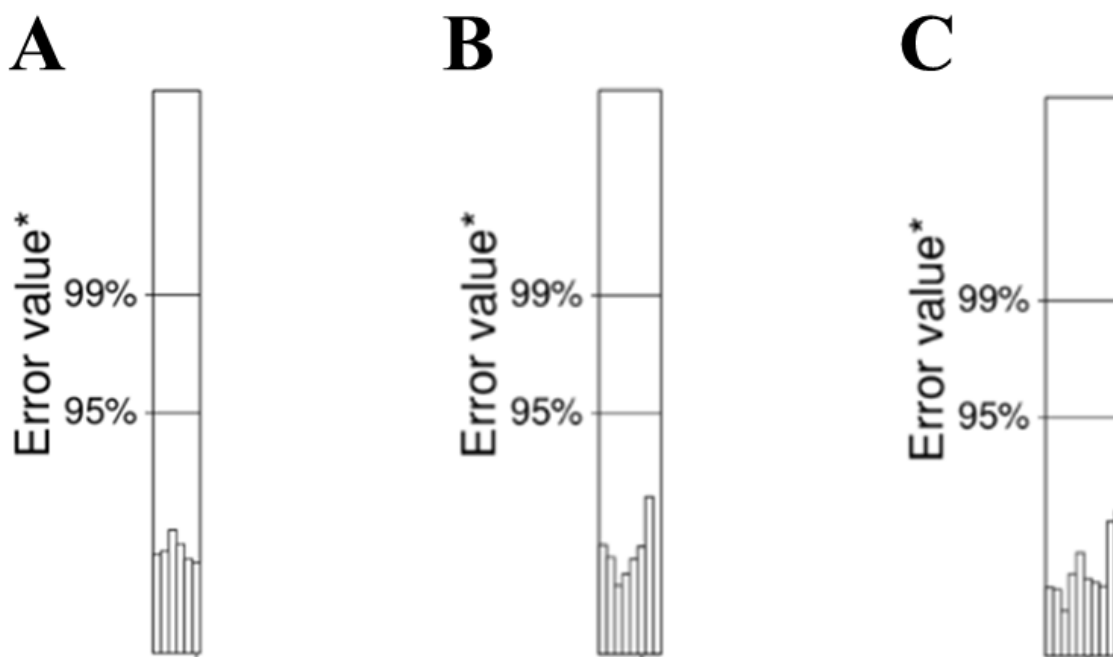
Fonte: A autora, 2025.

A letra “A” da Figura 3 apresenta o peptídeo 1 (AAHVVKVRILASFL), já a “B” mostra o peptídeo 2 (SPGRIPHAAFRFGLLK) e a “C” o peptídeo 3 (IRPKKNRQRRYQSLAGYR). Todos as predições obtiveram um pLDDT alto, sendo que a coloração azul escura de algumas partes do modelo representa um pLDDT maior que 90, enquanto as colorações azul-clara mostram um pLDDT menor que 90, mas maior que 70.

Após a modelagem 3D dos peptídeos antimicrobianos foi realizada a validação delas. Primeiramente, utilizou-se o QMEANDisco para averiguar o score global, onde obteve-se os seguintes valores: 0,28 para o peptídeo 1; 0,81 para o peptídeo 2 e 0,68 para o peptídeo 3. Para que a qualidade da modelagem seja considerada boa, é necessário que esse score seja maior que 0,6. Apesar de uma das modelagens ter um score abaixo do ideal, utilizou-se de outros programas para autenticar as predições, no qual obteve-se resultados satisfatórios.

Outro método de validação usado foi o Errat, o qual é responsável por avaliar o erro das predições. Nesse teste todas as moléculas passaram com 100%, como mostrado nos gráficos da Figura 4.

Figura 4 – Gráficos da validação pelo Errat

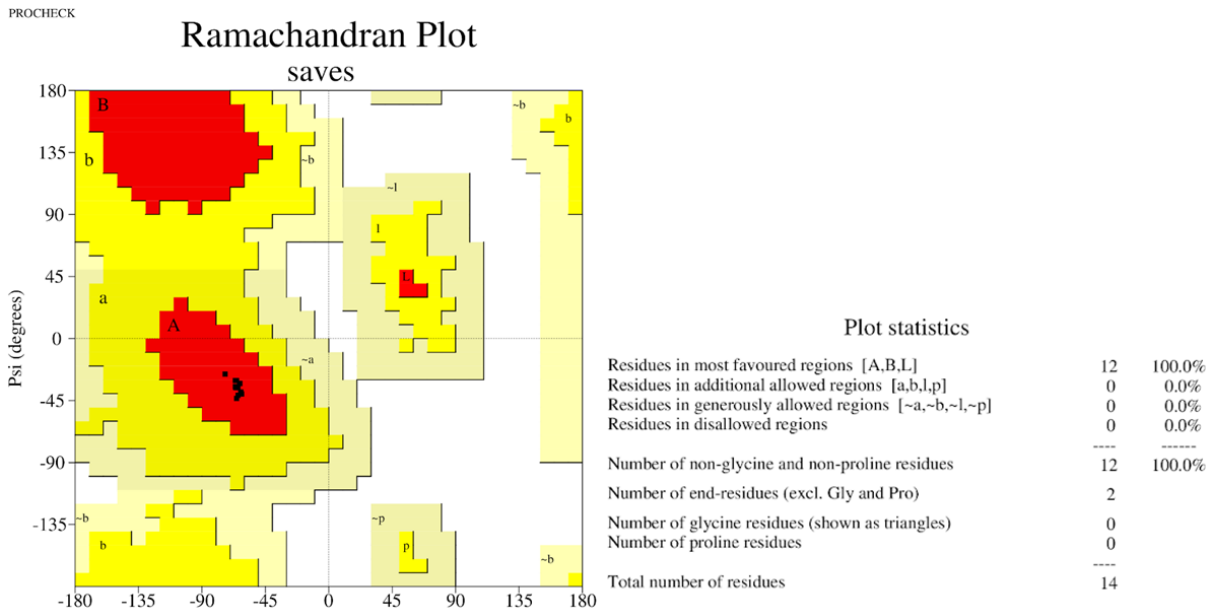


Fonte: A autora, 2025.

O gráfico A, da Figura 4 é referente a validação do peptídeo 1, enquanto o gráfico B está relacionado ao peptídeo 2, por último o C é respectivo ao peptídeo 3. No eixo de erro, duas linhas são traçadas para indicar a confiança com a qual é possível rejeitar regiões que excedam esse valor de erro.

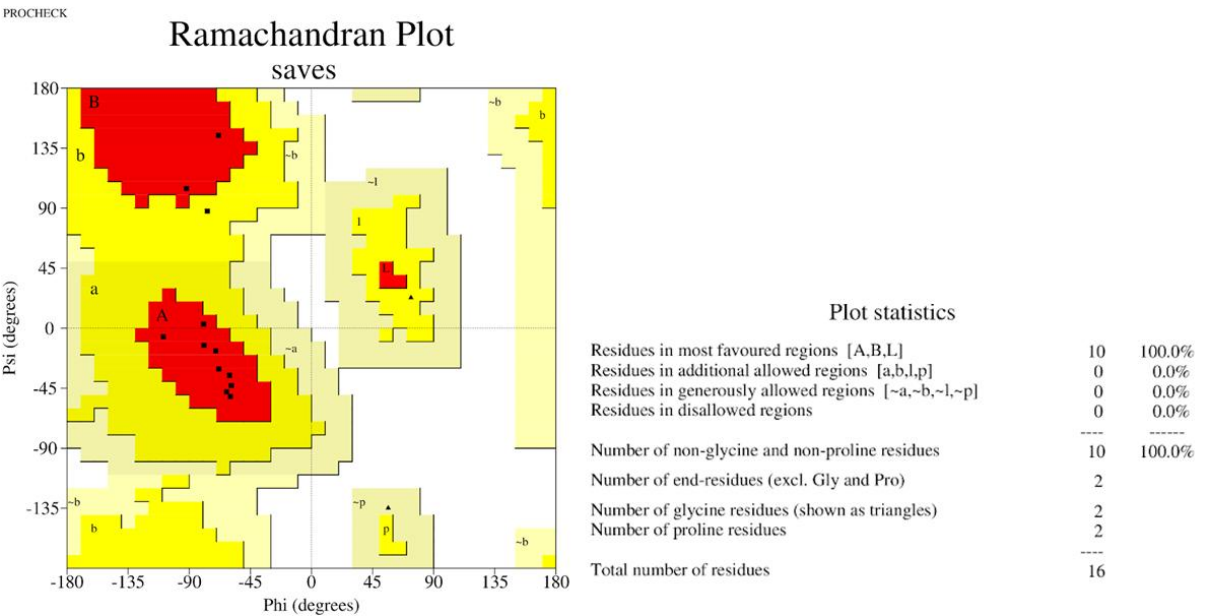
Por fim, usou-se o gráfico de Ramachandran para avaliar os ângulos de torção phi-psi (sendo phi o ângulo de rotação da ligação entre o nitrogênio e $C\alpha$, já o psi é o ângulo torção entre o carbono α e o carbono carbonílico) para todos os resíduos da estrutura, exceto os resíduos de glicina, que são identificados separadamente por triângulos, e os resíduos de prolina, pois eles não estão restritos às regiões do gráfico. As colorações representam as diferentes regiões, sendo que as áreas em vermelho correspondem àquelas com as combinações mais favoráveis dos valores phi-psi. Todas as 3 modelagens passaram no teste de Ramachandran e estão representadas na Figura 5, 6 e 7.

Figura 5 - Gráfico de Ramachandran do P1.



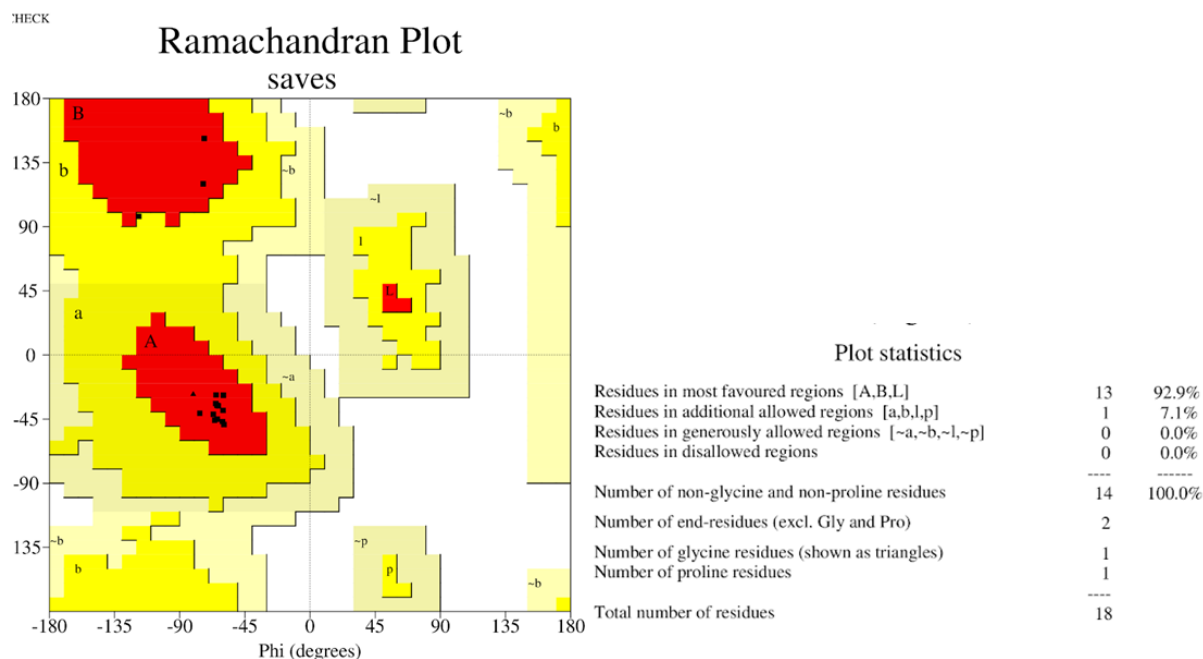
Fonte: A autora, 2025.

Figura 6 - Gráfico de Ramachandran do P2.



Fonte: A autora, 2025.

Figura 7 - Gráfico de Ramachandran do P3.



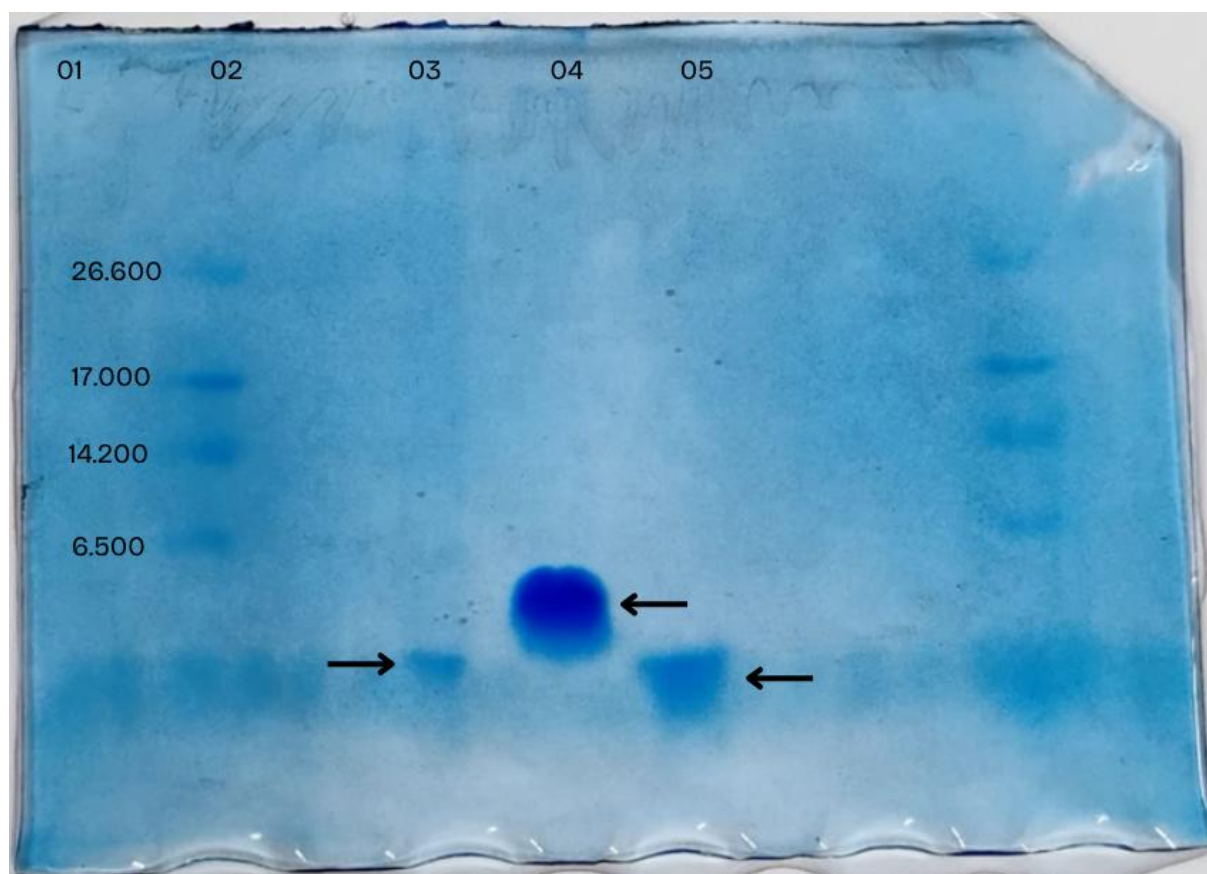
Fonte: A autora, 2025.

A figura 5 é referente ao peptídeo 1, todos os resíduos encontram-se na região mais favorável do gráfico (A, B ou L). Já a figura 6 apresenta o peptídeo 2, onde assim como o 1, todos os resíduos estão na região mais favorável e há dois resíduos de glicina e 2 de prolina. Por último, a figura 7 representa o peptídeo 3, sendo que 13 resíduos se encontram na região mais favorável e 1 resíduo está na região permitida, além disso, há 1 resíduo de glicina e 1 de prolina.

4.2. Eletroforese em gel de poliacrilamida para proteínas de baixo massa molecular

O perfil dos peptídeos está mostrado no gel de poliacrilamida para proteínas de baixa massa molecular (Figura 8), o qual confirmou que essas moléculas apresentam uma massa menor que 6.500 Da, sendo que elas apresentam massas de: 1523.89 Da (peptídeo 1), 1767.11 (peptídeo 2) e 2290.60 (peptídeo 3).

Figura 8 - Gel de poliacrilamida 16,5% para proteínas de baixo massa molecular.



Fonte: A autora, 2025.

No poço 2 foi aplicado 7 uL do padrão de massa molecular (Ultra Low Range Molecular Weight Marker - Sigma). Nos poços 3, 4 e 5, foram aplicados respectivamente 30 ug dos peptídeos 1 (AAHVVKVRILASFL), peptídeo 3 (IRPKKNRQRRYQSLAGYR) e peptídeo 2 (SPGRIPHAAFRFGLLK).

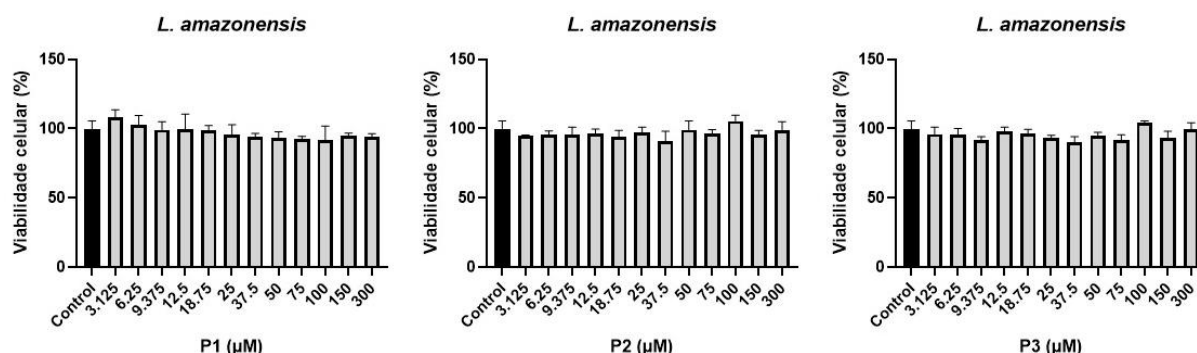
4.3 Atividade Antiparasitária

4.3.1. Citotoxicidade

Foram realizados três ensaios independentes a fim de determinar o IC₅₀ (menor concentração necessária para inibir a proliferação de 50% dos parasitos) dos três peptídeos

sobre o protozoário *Leishmania (Leishmania) amazonensis* (IFLA/BR/67/PH8 strain) e as análises estatísticas estão representadas na figura 9.

Figura 9 – Viabilidade Celular do parasito *Leishmania (Leishmania) amazonensis*.



Fonte: A autora, 2025.

Os ensaios foram conduzidos utilizando 300 µM (maior concentração dos peptídeos antimicrobianos) por um tempo de 72 horas. Em nenhuma dos testes realizados foi possível determinar o IC₅₀ para qualquer um dos três peptídeos antimicrobianos, visto que nenhuma concentração apresentou diferença estatística em comparação com o controle. Cada ensaio foi realizado em dias diferentes, com as mesmas condições de temperatura. Assim, podemos inferir que nas concentrações testadas, os três peptídeos antimicrobianos não apresentaram ação antiparasitária sobre *Leishmania (Leishmania) amazonensis*.

4.4. Atividade Antimicrobiana

4.4.1. Concentração Mínima Inibitória (MIC)

A partir das absorbâncias obtidas nos ensaios foi calculado a menor concentração em µg/mL e posteriormente em µM/L dos peptídeos que é capaz de impedir o crescimento microbiano, tanto das bactérias (*Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*), quanto do fungo (*Candida albicans*). Esses cálculos foram feitos de forma independente para os dois ensaios. Com esses

resultados foi determinado o MIC de cada peptídeo, para cada cepa, por meio de uma média entre os valores encontrados e construiu-se a Tabela 2.

Tabela 2 – Concentração Mínima Inibitória (MIC) em µg/mL

	Peptídeo 1	Peptídeo 2	Peptídeo 3	Antifúngico	Antibiótico
<i>S. aureus</i> (ATCC 25923)	–	4000	4000	–	31.25
<i>E. coli</i> (ATCC 25922)	4000	1000	2000	–	250
<i>C. albicans</i> (ATCC 90028)	62.5	1000	2000	250	–

Fonte: A autora, 2025

As concentrações mínimas inibitórias (MIC) obtidas para *S. aureus* foram de 4000 µg/mL (tanto para o peptídeo 2 quanto para o peptídeo 3, enquanto o peptídeo 1 não apresentou atividade inibitória em nenhuma das concentrações testadas. Para *E. coli*, as MICs observadas foram de 4000 µg/mL para o peptídeo 1, 1000 µg/mL para o peptídeo 2 e 2000 µg/mL para o peptídeo 3. Nos ensaios com *C. albicans*, as concentrações efetivas foram de 62,5 µg/mL para o peptídeo 1, 1000 µg/mL para o peptídeo 2 e 2000 µg/mL para o peptídeo 3. Para validar o teste utilizou-se os antibióticos tetraciclina (para as cepas bacterianas) e o antifúngico anfotericina B (para a cepa fúngica), os valores encontrados para esses compostos foram 31.25 µg/mL de tetraciclina para *S. aureus*, 250 µg/mL de tetraciclina para *E. coli* e 250 µg/mL de anfotericina B para *C. albicans*.

A partir das concentrações encontradas, essas foram convertidas para µM/L utilizando a fórmula: $Concentração\ em\ \mu mol/L = \frac{Concentração\ em\ \mu g/mL}{Massa\ molar\ (g/mol)} \times 1000$. Com esses valores foi construído a Tabela 3.

Tabela 3 – Concentração Mínima Inibitória (MIC) em $\mu\text{M/L}$

	Peptídeo 1	Peptídeo 2	Peptídeo 3	Antifúngico	Antibiótico
<i>S. aureus</i> (ATCC 25923)	–	2265	1747	–	70,3
<i>E. coli</i> (ATCC 25922)	2626	566	874	–	563
<i>C. albicans</i> (ATCC 90028)	41	566	874	271	–

Fonte: A autora, 2025

5. DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

A peçonha de formiga é composta por diversas moléculas, sendo que nela há uma grande quantidade de peptídeos antimicrobianos, principalmente quando se fala da espécie *Odontomachus chelifer* (Menk *et al.*, 2023). Neste presente estudo foi mostrado algumas características de três peptídeos antimicrobianos e catiônicos da formiga *Odontomachus chelifer*; como seria sua possível estrutura tridimensional encontrada na natureza e sua atividade antimicrobiana.

Os peptídeos antimicrobianos foram sintetizados até a sua conformação secundária, sendo esse processo realizado pelo dicroísmo circular. Entretanto, muitas vezes essa técnica pode levar a formação de estruturas terciárias como as α -hélice (Muller *et al.*, 2020). Isso condiz com a estrutura predita de forma *in silico*, já que foi possível observar estruturas α -hélice nas estruturas tridimensionais. Além disso, esses peptídeos podem ser classificados como catiônicos devido aos seus resíduos de arginina e lisina, os quais conferem carga positiva à estrutura (Ramalho *et al.*, 2022).

Apesar do score global do peptídeo 1 (0,28) ter dado abaixo do esperado, todas as modelagens foram consideradas, uma vez que o programa QMEANDisco foi desenvolvido

especificamente para avaliar modelos proteicos (Studer *et al.*, 2020). Além disso, tanto as avaliações feitas pelo método ERRAT, quanto os gráficos de Ramachandran, apresentaram bons resultados, uma vez que nos peptídeos 1 e 2 todos os aminoácidos ocuparam as posições mais favoráveis do gráfico e no caso do peptídeo 3, que foi a maioria, mostrando assim a boa qualidade conformacional das estruturas modeladas pelo AlphaFold Server.

Experimentalmente, esses peptídeos exibiram ação antifúngica para a cepa de *Candida albicans* e ação antibacteriana para as cepas de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* (com exceção para o peptídeo 1). Isso se deve ao fato de que os AMPs, principalmente os catiônicos, costumam romper de forma não específica as membranas bacterianas e fúngicas e, ao perturbar a integridade delas, essas moléculas inibem o crescimento microbiano (Li *et al.*, 2024; Roversi *et al.*, 2014). Ademais, os peptídeos antimicrobianos afetam diversos processos intracelulares das células bacterianas, tais como: processos metabólicos e de transporte de macromoléculas (Kozłowska *et al.*, 2014).

Apesar desses peptídeos terem ação antimicrobiana, principalmente P1 para *C. albicans* (62,5 µg/mL ou 41µM/L), suas concentrações mínimas inibitória são altas, quando comparada com outros AMPs catiônicos. Em Téné *et al.*, 2016 a bicarinalin, um AMP sintético derivado da formiga *Tetramorium bicarinatum*, mostrou ação antimicrobiana a uma concentração de 17.3µM/L para *C. albicans*, sendo essa duas vezes menor daquela encontrada neste trabalho. Além disso, encontrou-se um IC₅₀ de 1.5 µmol de bicarinalin para o parasito *Leishmania infantum*, contrastando com o que foi encontrado de P1, P2 e P3 para *L. amazonensis*.

Ao contrário do observado para fungos e bactérias, os peptídeos antimicrobianos estudados não apresentaram atividade antiparasitária, especificamente contra o protozoário *Leishmania (Leishmania) amazonensis*. Embora esses parasitas possuam uma membrana plasmática predominantemente composta por lipofosfoglicano, estrutura com carga negativa que atrai peptídeos catiônicos, a presença de enzimas como a metaloproteinase Gp63 pode reduzir essa

carga negativa. Essa modificação diminui a interação eletrostática entre os AMPs e o parasito, além de a Gp63 ser capaz de clivar os próprios peptídeos antimicrobianos, comprometendo sua eficácia. (Junior *et al.*, 2019).

Outro aspecto a ser considerado é que os peptídeos antimicrobianos (AMPs) podem atuar por diferentes mecanismos, sendo os principais: a ação direta, mais amplamente conhecida, e a imunomodulação. A ação direta está associada à desorganização da membrana e a atuação sobre alvos intracelulares, uma vez que esses peptídeos são capazes de formar poros na membrana de diversos microrganismos, além de interagirem com estruturas internas, como DNA e RNA. Por outro lado, a imunomodulação representa uma função menos explorada dos AMPs, estando relacionada à ativação e liberação de quimiocinas, diferenciação de leucócitos, ativação de macrófagos, desgranulação de mastócitos, alterações nas células dendríticas e respostas imunes adaptativas. (Junior *et al.*, 2019).

Portanto, foi visto que os peptídeos antimicrobianos estão presentes na peçonha de vários animais, sendo um deles as formigas, em especial a *Odontomachus chelifer*, onde essas moléculas atuam, principalmente, como defesa contra patógenos externos como bactérias e fungos (Aili *et al.*, 2014). Neste trabalho observou-se a ação antimicrobiana, perante duas cepas bacterianas e uma fúngica, de três peptídeos encontrados no transcriptoma da formiga *O. chelifer*, além de suas características físicas e químicas. Desse modo, a partir de sua ação antimicrobiana, esses peptídeos podem apresentar um grande potencial biotecnológico e terapêutico, sendo necessário mais estudos para averiguar esses possíveis potenciais, além de identificar outras características como o mecanismo de ação desses peptídeos frente os microrganismos.

6. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

AILI, S. R. et al. **Diversity of peptide toxins from stinging ant venoms.** *Toxicon* Elsevier Ltd., 15 dez. 2014.

ANTWEB. *Odontomachus* - Genus description. Disponível em: <https://www.antweb.org/description.do?subfamily=ponerinae&genus=odontomachus&rank=genus>. Acesso em: 2 maio 2025.

ARENDRUP, M. et al. EUCAST-Documento Definitivo E.DEF. 7.3.2-Abril 2020 Método para determinação de concentração inibitória mínima em caldo dos agentes antifúngicos para leveduras Autores. [s.l: s.n.]. Disponível em: <<http://www.EUCAST.org>>.

ASCOËT, S. et al. The mechanism underlying toxicity of a venom peptide against insects reveals how ants are master at disrupting membranes. **iScience**, v. 26, n. 3, 17 mar. 2023.

BACCARO, F. B. et al. Guia para o gênero de formigas do Brasil. 2016.

BARASSÉ, V. 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, 1 dez. 2022.

BONFERRONI, C. Teoria statistica delle classi e calcolo delle probabilità. **Pubblicazioni del R Istituto Superiore di Scienze Economiche e Commerciali di Firenze**, v. 8, p. 3–62, 1936.

CARPINO, Louis A.; HAN, Grace Y. The 9-fluorenylmethoxycarbonyl amino-protecting group. **The Journal of Organic Chemistry**, Easton, v. 37, n. 22, p. 3404–3409, 1972. DOI: <https://doi.org/10.1021/jo00794a005>.

CLSI. **M07-A9: Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard—Ninth Edition.** [s.l: s.n.]. Disponível em: <www.clsi.org>.

COLOVOS, C.; YEATES, T. O. Verification of protein structures: patterns of nonbonded atomic interactions. **Protein Science**, [S.l.], v. 2, n. 9, p. 1511–1519, 1993.

DEEPMIND. AlphaFold Server. Disponível em: <https://deepmind.google/science/alphafold/alphafold-server/>. Acesso em: 16 jul. 2025.

DHANJAL, D. S. et al. Insect peptides with antimicrobial effects. In: **Antimicrobial Peptides: Challenges and Future Perspectives**. [s.l.] Elsevier, 2022. p. 117–138.

DODOU LIMA, H. V.; SIDRIM DE PAULA CAVALCANTE, C.; RÁDIS-BAPTISTA, G. Antimicrobial activity of synthetic Dq-3162, a 28-residue ponerisin G-like dinoponeratoxin from the giant ant *Dinoponera quadricaps* venom, against carbapenem-resistant bacteria. **Toxicon**, v. 187, p. 19–28, 1 nov. 2020.

FELIPE, L.; SILVEIRA, B. **Estudo in silico de peptídeos antimicrobianos (AMP) preditos a partir da peçonha da formiga *Odontomachus chelifer*: avaliação do perfil ADMET e Docking Molecular**. [s.l.: s.n.].

FOREMAN, R. E. et al. Peptidomics: A Review of Clinical Applications and Methodologies. **Journal of Proteome Research**, v. 20, n. 8, p. 3782–3797, 6 ago. 2021.

FRANÇA, E. C. B., FERNANDES, I. O. and BRAVO, J. E. L. (2024) “Looking at upside-down ants: Taxonomic revision of the Neotropical species of *Odontomachus* Latreille, 1804 (Hymenoptera: Formicidae: Ponerinae)”, *Zootaxa*. Auckland, New Zealand, 5502(1), pp. 1–166. doi: 10.11646/zootaxa.5502.1.1.

GASTEIGER, E. et al. Protein Identification and Analysis Tools on the ExPASy Server. In: WALKER, J. M. (Ed.). **The Proteomics Protocols Handbook**. Totowa: Humana Press, 2005. p. 571–607.

GUIMARÃES, D. O. et al. Transcriptomic and biochemical analysis from the venom gland of the neotropical ant *Odontomachus chelifer*. **Toxicon**, v. 223, 1 fev. 2023.

KANITKAR, T. R. et al. Methods for molecular modelling of protein complexes. **Methods in Molecular Biology**, [S.l.], v. 2199, p. 53–80, 2021. DOI: 10.1007/978-1-0716-0881-8_5.

KAZUMA, K. et al. Combined venom gland transcriptomic and venom peptidomic analysis of the predatory ant *Odontomachus monticola*. **Toxins**, v. 9, n. 10, 13 out. 2017.

KOZLOWSKA, Justyna et al. Combined systems approaches reveal highly plastic responses to antimicrobial peptide challenge in *Escherichia coli*. **PLoS Pathogens**, v. 10, n. 5, p. e1004104, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1004104>.

LASKOWSKI, R. A.; MACARTHUR, M. W.; MOSS, D. S.; THORNTON, J. M. PROCHECK: a program to check the stereochemical quality of protein structures. **Journal of Applied Crystallography**, v. 26, p. 283-291, 1993.

LASKOWSKI, R. A.; RULLMANN, J. A.; MACARTHUR, M. W.; KAPTEIN, R.; THORNTON, J. M. AQUA and PROCHECK-NMR: programs for checking the quality of protein structures solved by NMR. **Journal of Biomolecular NMR**, v. 8, p. 477-486, 1996. DOI: 10.1007/BF00228148.

LATREILLE, P. A. Histoire naturelle des fourmis, et recueil de mémoires et d'observations sur les abeilles, les araignées, les faucheurs, et autres insectes. **Paris**: [s.n.], 1802. 445 p. Disponível em: <https://doi.org/10.5962/bhl.title.65810>. Acesso em: 2 maio 2025.

LEMOES, A. S. M. et al. Microsatellites for the neotropical ant, *Odontomachus chelifer* (hymenoptera: Formicidae). **Journal of Insect Science**, v. 20, n. 5, p. 1–6, 1 set. 2020.

LI, T. et al. A foundation model identifies broad-spectrum antimicrobial peptides against drug-resistant bacterial infection. **Nature Communications**, v. 15, n. 1, p. 7538, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-024-51933-2>.

MARIANI, V. et al. IDDT: a local superposition-free score for comparing protein structures and models using distance difference tests. **Bioinformatics, Oxford**, v. 29, n. 21, p. 2722–2728, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btt473>.

MENEZES, R. DE P. et al. Antimicrobial, Antivirulence, and Antiparasitic Potential of *Capsicum chinense* Jacq. Extracts and Their Isolated Compound *Capsaicin*. **Antibiotics**, v. 11, n. 9, 1 set. 2022.

MENK, J. 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, 1 maio 2023.

MORRIS, A. L. et al. Stereochemical quality of protein structure coordinates. **Proteins: Structure, Function, and Genetics**, [S.l.], v. 12, p. 345–364, 1992.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of Immunological Methods**, v. 65, n. 1–2, p. 55–63, dez. 1983.

MULLER, Jessica A. I. et al. Antimicrobial and anticancer properties of synthetic peptides derived from the wasp *Parachartergus fraternus*. **ChemBioChem**, Weinheim, v. 22, n. 11, p. 1–17, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1002/cbic.202000716>.

NEVES, L. X. et al. Peptidomics-driven strategy reveals peptides and predicted proteases associated with oral cancer prognosis. **Molecular & Cellular Proteomics**, [S.l.], v. 20, p. 100004, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1074/mcp.RA120.002227>.

NIKOLAEV, D. M. et al. A comparative study of modern homology modeling algorithms for rhodopsin structure prediction. **ACS Omega**, [S.l.], v. 3, n. 7, p. 7555–7566, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1021/acsomega.8b00721>.

PAN, F. et al. Anticancer effect of rationally designed α -helical amphiphilic peptides. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 220, 1 dez. 2022.

RAMALHO, S. R. et al. The synthetic antimicrobial peptide IKR18 displays anti-infectious properties in *Galleria mellonella* in vivo model. **BBA - General Subjects**, Amsterdam, v. 1866, n. 12, p. 130244, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2022.130244>.

ROVERSI, D. et al. How many antimicrobial peptide molecules kill a bacterium? The case of PMAP-23. **ACS Chemical Biology**, v. 9, n. 9, p. 2003–2007, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1021/cb500426r>.

SCHÄGGER, H.; VON JAGOW, G. Tricine-sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis for the separation of proteins in the range from 1 to 100 kDa. **Analytical Biochemistry**, v. 166, n. 2, p. 368–379, nov. 1987.

SILVA, M. F. et al. Biological and enzymatic characterization of proteases from crude venom of the ant *Odontomachus bauri*. **Toxins**, v. 7, n. 12, p. 5114–5128, 30 nov. 2015.

STUDER, G. et al. QMEANDisCo—distance constraints applied on model quality estimation. **Bioinformatics**, v. 36, n. 6, p. 1765–1771, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btz828>.

TÉNÉ, Nathan; BONNAFÉ, Elsa; BERGER, Fanny; RIFFLET, Aline; GUILHAUDIS, Laure; SÉGALAS-MILAZZO, Isabelle; PIPY, Bernard; COSTE, Agnès; LEPRINCE, Jérôme; TREILHOU, Michel. Biochemical and biophysical combined study of bicarinalin, an ant venom antimicrobial peptide. **Peptides**, v. 79, p. 103-113, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2016.04.001>.

ZAHEDIFARD, F. et al. Comparative study of different forms of Jellein antimicrobial peptide on *Leishmania* parasite. **Experimental Parasitology**, v. 209, p. 107823, fev. 2020.

ZHANG, Zhenting; ZHU, Shunyi. Comparative genomics analysis of five families of antimicrobial peptide-like genes in seven ant species. **Developmental and Comparative Immunology**, v. 38, p. 262-274, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.dci.2012.05.003>

ZHOU, S.-L. et al. The role of ion channels in the regulation of dendritic cell function. *Cell Calcium*, [S.l.], v. 128, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ceca.2025.103031>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0143416025000405>. Acesso em: 2 maio 2025.