



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
CURSO DE GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

LUA SILVA

**DESENVOLVIMENTO *IN SILICO* DE PEPTÍDEOS COM POTENCIAL
ANTIFÚNGICO CONTRA *Candida glabrata***

FORTALEZA

2025

LUA SILVA

DESENVOLVIMENTO *IN SILICO* DE PEPTÍDEOS COM POTENCIAL
ANTIFÚNGICO CONTRA *Candida glabrata*

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Ciências Biológicas, do Departamento de Biologia, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientadora: Profa. Dra. Rossana de Aguiar Cordeiro.

Coorientador: Me. Franciso Eilton Lopes Sousa.

FORTALEZA

2025

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

S581d Silva, Lua.
Desenvolvimento in silico de peptídeos com potencial antifúngico contra *Candida glabrata* / Lua Silva. –
2025.
29 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências,
Curso de Ciências Biológicas, Fortaleza, 2025.

Orientação: Profa. Dra. Rossana de Aguiar Cordeiro.
Coorientação: Prof. Me. Franciso Eilton Lopes Sousa.

1. Resistência antifúngica. 2. Ancoragem molecular. 3. Peptídeos antimicrobianos. I. Título.
CDD 570

LUA SILVA

DESENVOLVIMENTO *IN SILICO* DE PEPTÍDEOS COM POTENCIAL
ANTIFÚNGICO CONTRA *Candida glabrata*

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Ciências Biológicas, do Departamento de Biologia, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientadora: Profa. Dra. Rossana de Aguiar Cordeiro.

Coorientador: Me. Franciso Eilton Lopes Sousa.

Aprovada em __/__/__

BANCA EXAMINADORA

Me. Francisco Eilton Lopes Sousa (Coorientador)

Universidade Federal do Ceará (UFC)

Dra. Maria Láina Silva

Faculdade ViaSapiens (FVS)

Me. Vinicius Carvalho Pereira

Universidade Federal do Ceará (UFC)

Às Mama África, Anquelique Abreu e
Terezinha Rosa.

AGRADECIMENTOS

À minha mãe, **Angélique Abreu**, por todo o esforço feito para que eu tivesse acesso à melhor educação, dentro e fora de casa; por ser meu ponto de apoio e meu exemplo de mulher guerreira e trabalhadora.

À minha avó, **Terezinha Rosa**, que desde sempre me estimulou a estudar, madrugava para fazer meu lanche e me acordar antes de eu atravessar a cidade para estudar; por todas as discussões assistindo ao Telecurso e por ter me dado a melhor família.

À minha família, vulgo **CAPS**, por ser minha grande rede de apoio. Ao meu pai, **Antônio Mesquita**, por topar todas as minhas invenções. Ao meu irmão **Darlan**, por ser meu maior confidente e orientador de decisões. Ao meu irmão **Vitor**, por sempre me lembrar de fazer exercícios físicos. As minhas melhores amigas, **Bianca e Ianca**, por todo o amor e apoio.

Ao **Matheus Henrique**, por ser meu companheiro de estudos, treino, perrengues, aventuras e de vida.

À **Linda, Filó e Mia Silva**, por alegrarem meus dias com sua presença e brincadeiras.

Aos amigos — **Allan Fontenelle, Ana Karoliny, Ayen Herrera, Elany Rodrigues, Francisco Marques, Heitor Citó, Italo Habermann, Larissa Rocha, Pedro Paulo, Reginaldo Hissa, Rhânia Serra, Sabrina Lourenço, Talita Cruz e Tiago Domingos** —, e aos irmãos que a biologia me deu, **Venício Sampaio e Samuel Ramon**, por todos os momentos vividos.

Aos meus companheiros do **Laboratório de Bioagentes Infecciosos**, por todo o aprendizado, conversas, bolos, cafés, risadas e momentos compartilhados. Agradecimento especial ao time Peptídeo — **Láina Silva e Francisco Eilton** —, pois, sem vocês, não existiria a Lua bioinformata. Muito obrigada por todo o apoio, paciência, carinho e conhecimento compartilhado.

À professora **Rossana Cordeiro**, que, com seu carinho e dedicação, sempre esteve disponível para me escutar e orientar da melhor maneira. Sou muito grata por me deixar fazer parte dessa grande família que é o BIOS.

Ao **Vinicius Perreira**, por todas as conversas e ajudas oferecidas nos corredores da biomedicina.

Aos membros da banca, que generosamente se dispuseram a contribuir para que este trabalho se tornasse mais completo.

Aos professores — **Carlos Cano, Erika Mota, Felipe Mesquita, Iracema Loiola, Jesús Fernández, Lorenzo Zannete, Marcio Mendes, Pedro Souza, Raphael Feitosa, Roberto Feitosa, Vânia Melo e Vicente Faria** —, por todos os conhecimentos ministrados.

RESUMO

O aumento da ocorrência de isolados clínicos de *Candida glabrata* multirresistente está associado, entre outros fatores, à capacidade do fungo de estimular a expressão da proteína CDR1 - transportador de efluxo ABC pleiotrópico de múltiplos fármacos, inclusive quando submetida a tratamentos com azóis, principais fármacos utilizados em infecções fúngicas. Este cenário requer a busca de novas estratégias terapêuticas. Este estudo objetivou identificar, em sequências de proteínas vegetais do tipo osmotina, potenciais peptídeos antimicrobianos capazes de atuar inibindo a bomba de efluxo CDR1 de *C. glabrata*. Utilizando para essa finalidade ferramentas *in silico* online, por exemplo Campr3 para triagem e PepFold3 para modelagem dos peptídeos. A partir disso, foram selecionados dois candidatos promissores: OsmPep2 e OsmPep4. Ambos apresentaram alta probabilidade antimicrobiana, baixa toxicidade e propriedades físico-químicas favoráveis. As estruturas tridimensionais dos peptídeos após modelagem e refinamento, sofreram ancoragem molecular com os modelos da CDR1 disponibilizados no AlphaFold e Swiss-Model. As análises após a ancoragem demonstraram que ambos os peptídeos foram capazes de realizar contatos não ligantes, pontes salinas e ligações de hidrogênio, tanto nos sítios ativos preditos no receptor, quanto na região transmembrana da bomba de efluxo. Dessa forma, verificou-se que a formação do complexo e a quantidade e qualidade de ligações indicam que os peptídeos derivados de osmotina podem atuar e bloquear a proteína CDR1 em *C. glabrata*, tornando-se uma possível alternativa às terapias tradicionais no cenário de crescente de resistência fúngica.

Palavras-chave: Resistência antifúngica; Ancoragem molecular; Peptídeos antimicrobianos

RESUMEN

El aumento en la ocurrencia de aislados clínicos de *Candida glabrata* multirresistente está asociado, entre otros factores, a la capacidad del hongo de estimular la expresión de la proteína CDR1, un transportador de eflujo ABC pleiotrópico de múltiples fármacos, incluso cuando es expuesto a tratamientos con azoles, los principales fármacos utilizados en infecciones fúngicas. Este escenario exige la búsqueda de nuevas estrategias terapéuticas. Este estudio tuvo como objetivo identificar, en secuencias de proteínas vegetales del tipo osmotina, posibles péptidos antimicrobianos capaces de actuar inhibiendo la bomba de eflujo CDR1 de *C. glabrata*. Para ello, se utilizaron herramientas *in silico* disponibles *in silico*, como Campr3 para el cribado y PepFold3 para el modelado de los péptidos. A partir de esto, se seleccionaron dos candidatos prometedores: OsmPep2 y OsmPep4. Ambos presentaron alta probabilidad de actividad antimicrobiana, baja toxicidad y propiedades fisicoquímicas favorables. Las estructuras tridimensionales de los péptidos, tras el modelado y refinamiento, fueron sometidas a acoplamiento molecular con los modelos de CDR1 disponibles en AlphaFold y Swiss-Model. Los análisis posteriores al acoplamiento demostraron que ambos péptidos fueron capaces de establecer contactos no covalentes, puentes salinos y enlaces de hidrógeno, tanto en los sitios activos predichos del receptor como en la región transmembrana de la bomba de eflujo. De esta manera, se verificó que la formación del complejo, así como la cantidad y calidad de los enlaces, indican que los péptidos derivados de osmotina pueden actuar bloqueando la proteína CDR1 en *C. glabrata*, constituyendo una posible alternativa a las terapias tradicionales en el contexto del aumento de la resistencia fúngica.

Palabras clave: Resistencia antifúngica; Acoplamiento molecular; Péptidos antimicrobianos.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	MATERIAL E MÉTODOS	13
2.1	Prospecção nos bancos de dados e caracterização química das osmotinas	13
2.2	Predição, caracterização química e seleção de potencial peptídeo antimicrobiano	13
2.3	Modelagem molecular	13
2.4	Ensaio de ancoragem molecular (docking molecular)	14
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	15
4	CONCLUSÃO	28
	REFERÊNCIAS	29

1 INTRODUÇÃO

O desenvolvimento dos primeiros antibióticos permitiu o tratamento eficaz de enfermidades que, até meados de 1940, eram consideradas mortais. A descoberta da penicilina foi um dos maiores marcos da medicina moderna no tratamento de infecções em um cenário pós-Primeira Guerra Mundial (Correia *et al.*, 2023). Contudo, a partir de 1946, a comercialização da droga, somada ao seu uso indiscriminado, ocasionou, em pouco tempo, o desenvolvimento de resistência bacteriana (Correia *et al.*, 2023). Exemplo disso é que, apenas 14 anos após a chegada do fármaco ao comércio, cerca de 80% das cepas de *Staphylococcus aureus* já apresentavam resistência aos medicamentos (Lowy, 2003 *apud* Lobanovska & Pilla, 2017).

Desde então, relatos sobre microrganismos multirresistentes, principalmente, superbactérias, se tornaram frequentes. Contudo, os fungos também têm ganhado destaque devido a sua patogenicidade e capacidade de causar manifestações clínicas graves em pacientes imunossuprimidos (Gupta *et al.*, 2015), esse fato foi reconhecido com a publicação do documento “lista de patógenos fúngicos prioritários da Organização Mundial da Saúde para orientar pesquisa, desenvolvimento e ações de saúde pública” (WHO fungal priority pathogens list to guide research, development and public health action) publicada em 2022. A seleção e o ranqueamento dos patógenos foram baseados em critérios como taxa de mortalidade, incidência anual, distribuição global e resistência a antifúngicos para a classificação nos grupos de prioridade crítica, alta e média da lista. Nela, destaca-se que entre os 19 patógenos listados, seis pertencem ao gênero *Candida*: *C. auris*, *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* e *C. krusei*.

Dentre essas espécies, a *C. albicans* continua sendo o patógeno de maior relevância epidemiológica do gênero, no entanto, o isolamento de espécies de *Candida* não *albicans* (NAC) está aumentando, em especial de *C. glabrata* (*Nakaseomyces glabrata*), a levedura mais isolada de candidíase dentre as NAC (Turner & Butler, 2014; Gómez-Gaviria *et al.*, 2022). Esse patógeno é uma levedura haploide emergente, colonizadora de mucosas como a cavidade oral e o trato gastrointestinal, considerada oportunista, especialmente em indivíduos imunocomprometidos, podendo causar infecções nessas regiões e também atingir a corrente sanguínea (López-Marmolejo *et al.*, 2024; Shantal *et al.*, 2022; Duggan & Usher, 2023; Conway *et al.*, 2024).

Embora *C. glabrata* não produza hifas verdadeiras (Pais et al., 2018), esta levedura possui outros fatores que potencializam sua virulência: adesinas codificadas, principalmente pelos genes *Epa*, que possibilitam a aderência em superfícies bióticas e abióticas (cateteres, por exemplo) e formação de biofilme (Shantal et al., 2022); tolerância a estresse ambiental ao ativar e secretar proteínas Msn2, Msn4 Gpd1, Gpd2 e Trx3; crescimento otimizado a 37 °C (Shantal et al., 2022; Duggan & Usher, 2023).

Outra característica importante da espécie é a sua menor sensibilidade intrínseca ao fluconazol – fármaco que atua na biossíntese do ergosterol da membrana fúngica – que está relacionada à ativação, pela droga, de fatores de transcrição como o Pdr1, os quais induzem aumento da expressão de bombas de efluxo (López-Marmolejo et al., 2024; Rasheed et al., 2020; Healey et al., 2016). Entre as principais bombas de efluxo sintetizadas pela *C. glabrata*, existem as da família de transportadores do cassete de ligação de ATP (ABC), com destaque especial para o transportador de efluxo ABC pleiotrópico de múltiplos fármacos CDR1, pois este, de acordo com Pais e colaboradores (2019), é o principal modelador de resistência em tratamentos com azóis.

Quando reguladas positivamente, essas bombas atuam na parede celular do fungo, promovendo a expulsão dos fármacos para o meio extracelular, o que impede que concentrações intracelulares alcancem níveis letais, permitindo assim a sobrevivência e disseminação do patógeno no hospedeiro (Pais et al., 2019). Tais mecanismos de defesa conferem à *C. glabrata* resistência a múltiplos medicamentos (MDR), o que torna necessário o desenvolvimento de estratégias terapêuticas combinadas com diferentes mecanismos de ação (Duggan & Usher, 2023).

Nesse contexto, os peptídeos antimicrobianos (PAMs) se destacam como uma das alternativas mais promissoras aos fármacos tradicionais. Os PAMs são moléculas de até 100 aminoácidos presentes, praticamente, no sistema imunológico inato de todos os seres vivos (Luo & Canção, 2021). Além da vantagem de poderem ser extraídas de diversas fontes, essas moléculas têm efeito em diversos alvos ao mesmo tempo, baixa toxicidade para células eucarióticas, podem ser combinadas com outros compostos químicos e ser modeladas para atingir estruturas com maior especificidade, promovendo, portanto, um aumento na eficácia de tratamentos a patógenos resistentes (Luo & Canção, 2021; Ji et al., 2024).

Outrossim, o uso de abordagens *in silico* no desenvolvimento de novos fármacos possibilita a redução de custos e de tempo, além de tornar o processo mais acessível, uma vez que podem ser empregadas plataformas e bancos de dados online e gratuitos (Keska *et al.*, 2021). Ademais, a disponibilidade de ferramentas capazes de prever características físico-químicas, potenciais sítios ativos, efeitos adversos e contraindicações dos compostos, sem a necessidade de experimentação *in vitro*, contribui para uma maior taxa de acerto em comparação com os métodos tradicionais (Barati *et al.*, 2023). Contribuindo, assim, para a descoberta de novos mecanismos terapêuticos.

Nessa perspectiva, o grupo de proteínas osmotina apresenta elevado potencial como fonte de PAMs, em razão de sua estreita relação com o sistema imunológico das plantas (Santos & Franco, 2023), atuando principalmente na resposta a estresses bióticos e abióticos. Além disso, essas proteínas pertencem ao grupo 5 das proteínas relacionadas à patogênese (PR-5), conhecido por seu destacado potencial antifúngico (Bashir *et al.*, 2020; Santos & Franco, 2023).

Nesse panorama, o presente trabalho objetivou, mediante abordagens *in silico*, desenvolver e analisar de PAMs derivados de osmotina com ação contra bombas de efluxo de *C. glabrata*, de forma a explorar novas estratégias no combate a esse patógeno multirresistente.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Prospecção nos bancos de dados e caracterização química das osmotinas

As sequências das proteínas osmotinas foram obtidas por uma busca extensiva nas bases de dados Uniprot (<http://www.uniprot.org/>) e PDB (<http://www.rcsb.org/>). As sequências proteicas foram selecionadas levando em consideração o potencial biotecnológico descrito na literatura. Além disso, foi utilizando o software MEGA (Kumar *et al.*, 2024) com a ferramenta ClustalW para alinhar as sequências e gerar uma árvore filogenética com o intuito de conhecer relações evolutivas das proteínas.

2.2 Predição, caracterização química e seleção de potencial peptídeo antimicrobiano

O servidor on-line CAMPr3 (<http://www.camp3.bicnirrh.res.in/prediction.php>) foi utilizado para realizar a identificação e predição de peptídeos antimicrobianos de 12 aminoácidos nas sequências proteicas. Esse programa gera informações químicas, tais como taxa total de hidrofobicidade, carga líquida total (presença de aminoácidos carregados positivamente), índice de Boman e índice de probabilidade de potencial antimicrobiano ($> 0,90$). Após a seleção dos peptídeos, a toxicidade foi avaliada pelo ToxinPred (<https://webs.iitd.edu.in/raghava/toxinpred/protein.php>), o tempo de meia-vida pelo ProtParam (<https://web.expasy.org/protparam/>) e os parâmetros físico-químicos pelo programa APD3 (<https://aps.unmc.edu/prediction>), e aqueles em que a carga líquida foi acima de +1, hidrofobicidade $> 40\%$, índice de Boman variando entre 1 e 2,5 e não tóxicos tiveram a sua qualidade estereoquímica analisada pelo gráfico de Ramachandran (Souza *et al.*, 2020; Isa & Kappo, 2025).

2.3 Modelagem molecular

Os peptídeos aprovados nas etapas anteriores foram modelados pelo PEP-FOLD3 (<https://mobylye.rpbs.univ-paris-diderot.fr/cgi-bin/portal.py#forms::PEP-FOLD3>) e os modelos tridimensionais do transportador de efluxo ABC pleiotrópico de múltiplos fármacos CDR1 foram obtidos dos bancos de dados do SWISS-MODEL (<https://swissmodel.expasy.org/repository/uniprot/Q6FK23>) e do AlphaFold Protein Structure Database (<https://alphafold.ebi.ac.uk/entry/Q6FK23>). Após a obtenção das estruturas, foi utilizado o MOLPROBITY (<http://molprobity.biochem.duke.edu/index.php/>) para analisar os resíduos e os ângulos

Phi e Psi dos modelos estruturais. Quando necessário, o refinamento das estruturas foi feito pelos servidores GalaxyWEBrefiner (<http://galaxy.seoklab.org/cgi-bin/submit.cgi?type=REFINE>) para os peptídeos e o PDB2PQR (<https://server.poissonboltzmann.org/pdb2pqr>) para o receptor. Esses programas, por possuírem algoritmos de refinamento de estrutura ao nível atômico, são capazes de minimizar a energia dos referidos modelos e ajustar ângulos estruturais.

2.4 Ensaios de ancoragem molecular (docking molecular)

Para a realização do ancoragem molecular utilizaram-se os servidores ClusPro 2.0 (<https://cluspro.bu.edu/>) e HDOCK (<http://hdock.phys.hust.edu.cn/>). Para estudos de interação peptídeo-proteína por ancoragem molecular entre os peptídeos sintéticos com o receptor CDR1, foi necessária a realização da predição dos sítios ativos pelos softwares PrankWeb (<https://prankweb.cz/>) e DrugRep: Virtual Screening Server for Drug Repurposing (<http://cao.labshare.cn/drugrep/>). Os resultados obtidos foram analisados pelos programas PDBsum (<https://www.ebi.ac.uk/thornton-srv/databases/pdbsum/Generate.html>) e LigPlot⁺ (Laskowski & Swindells, 2011), que fornecem diagramas esquemáticos de interações entre os receptores e ligantes. Adicionalmente, foi utilizado o programa de ancoragem proteína-ligante CB-Dock2 (<https://cadd.labshare.cn/cb-dock2/index.php>) para visualizar os sítios de interação do receptor com o fluconazol.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Vinte e uma proteínas semelhantes a osmotina e taumatina depositadas nos bancos de dados Uniprot e PDB foram relatadas com atividade antifúngica para vários microrganismos, como fungos, bactérias e vírus (Tabela 1). Essas proteínas foram purificadas de várias plantas, incluindo *Calotropis procera*, *Nicotiana tabacum*, *Zea mays*, *Triticum aestivum* e *Musa acuminata*.

Tabela 1. Proteínas osmotinas e taumatinas encontradas nos bancos de dados do Uniprot e PDB para a prospecção de peptídeos antimicrobianos.

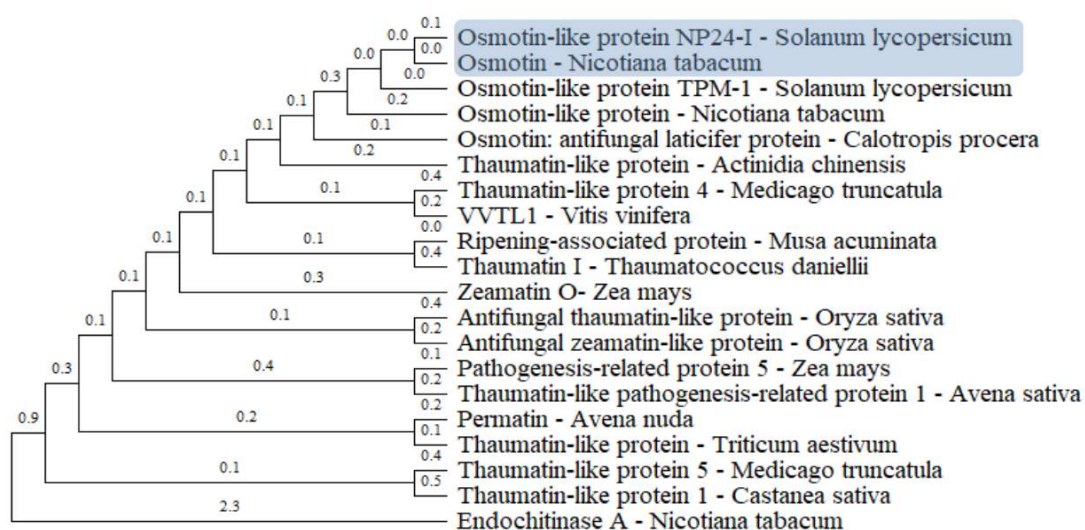
Código UniProt	Proteína	Tamanho (AA)	Score	Planta de Origem
P50695	Thaumatococcal pathogenesis-related protein 1	169	2/5	<i>Avena sativa</i>
D9IZY9	Pathogenesis-related protein 5	174	1/5	<i>Zea mays</i>
P14170	Osmotin	246	3/5	<i>Nicotiana tabacum</i>
O04708	VVTL1 (thaumatin like-protein)	198	1/5	<i>Vitis vinifera</i>
O22322	Thaumatococcal Protein	200	1/5	<i>Musa acuminata</i>
A0A067XG70	Osmotin	206	1/5	<i>Calotropis procera</i>
P12670	Protein NP24 (thaumatin-like protein)	207	5/5	<i>Solanum lycopersicum</i>
P02883	Thaumatococcal-1	207	3/5	<i>Thaumatococcus danielli</i>
P83958	Thaumatococcal protein	225	3/5	<i>Actinidia chinensis</i>
P33679	Zeamatin	227	3/5	<i>Zea mays</i>
Q01591	Osmotin-like protein TPM-1	238	2/5	<i>Solanum lycopersicum</i>
Q9SMH2	Thaumatococcal protein 1	243	2/5	<i>Castanea sativa</i>
2I0W	Osmotin-like protein NP24-I	247	5/5	<i>Solanum lycopersicum</i>
P08252	Endochitinase A	329	5/5	<i>Nicotiana tabacum</i>
A0A097NU55	Thaumatococcal protein 4	211	1/5	<i>Medicago truncatula</i>
A0A0P0W1N0	Antifungal thaumatin-like protein	222	1/5	<i>Oryza sativa</i>
A0A097NU74	Thaumatococcal protein 5	223	1/5	<i>Medicago truncatula</i>
A0A0A0YL24	Permatin	225	1/5	<i>Avena nuda</i>
Q8S4P7	Thaumatococcal protein	225	1/5	<i>Triticum aestivum</i>
A3AL39	Antifungal zeamatin-like protein	232	1/5	<i>Oryza sativa</i>
P25871	Osmotin-like protein	251	3/5	<i>Nicotiana tabacum</i>

Após as análises utilizando o servidor CAMPr3 e os servidores para triagem dos parâmetros químicos e biofísicos, apenas dois peptídeos foram selecionados para os

próximos ensaios de ancoragem molecular (Tabela 2): APRGTKMARVWG (OsmPep2) e APRGTKMARIWG (OsmPep4).

Além disso, com a construção da árvore filogenética (Figura 1), observou-se que as duas proteínas que derivaram os peptídeos selecionados, possuem alto grau de similaridade compartilhada (Thompson *et al.*, 1994). Inclusive, essa semelhança é superior à observada entre proteínas de uma mesma espécie. Outrossim, o tamanho reduzido das ramificações internas dos ramo da árvore (Figura 1) indica que há uma elevada taxa de conservação genética entre as sequências, o que corrobora com o fato dessas proteínas serem essencial para o sistema de defesa das plantas (Bashir *et al.*, 2020).

Figura 1: Árvore filogenética gerada pelo MEGA das proteínas osmotina e taumatina utilizadas para prospecção de peptídeo com atividade antifúngica. Em destaque as proteínas que derivaram o OsmPep2 e OsmPep4. Os números presentes na figura representam o nível de conservação genético entre as sequências, quanto menor mais conservado.



Fonte: Autora

Souza e colaboradores (2020) sugerem que peptídeos antimicrobianos devem possuir natureza anfipática, hidrofobicidade maior que 40%, índice de Boman entre 1 e 2.5 e um índice de probabilidade maior ou igual a um, porém um índice de Boman menor que 1 ainda é favorável, pois reflete uma molécula com pouca ou nenhuma toxicidade. Assim, os peptídeos OsmPep2 e OsmPep4 (Tabela 2), além de apresentarem estes critérios favoráveis para peptídeos antimicrobianos, também apresentam ausência de toxicidade e um tempo de meia-vida maior que 20 h, com probabilidade das redes neurais artificiais do CAMPR3 superiores a 0,97. Essa combinação pode sugerir um balanço

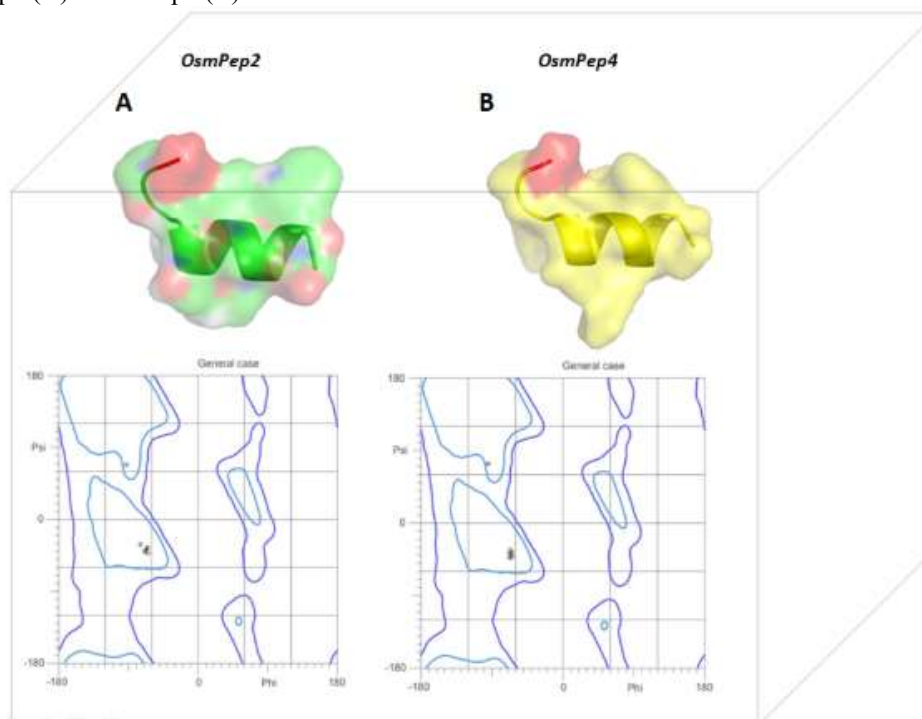
favorável entre penetração em membranas fúngicas e seletividade por alvos proteicos, reduzindo risco de hemólise ou citotoxicidade em células humanas.

Tabela 2. Parâmetros químicos e biofísicos dos peptídeos antimicrobianos derivados de proteínas osmotinas e taumatinas.

Código UniProt	Sequência	Probabilidade de CAMPr3	Hidrofobicidade	Carga	Índice de Boman	Toxicidade	Meia-vida
P14170	APRGTKMARVWG	0.977	42%	3+	1.97	NON-TOXIN	> 20h
210W	APRGTKMARIWG	0.976	42%	3+	1.90	NON-TOXIN	> 20h

As análises da qualidade da modelagem molecular e refinamento dos peptídeos pelo servidor MolProbity mostraram que 100,0% (10/10) de todos os resíduos estavam nas regiões favorecidas (98%) (Figura 2). Estes dados demonstram a especificidade do servidor PEP-FOLD3 para modelagem *ab initio* e do Galaxy *refine* para minimização de energia de peptídeos.

Figura 2: Estrutura tridimensional dos peptídeos antimicrobianos derivados das proteínas osmotinas. OsmPep2 (A) e OsmPep4 (B).



Fonte: Autora

Os modelos tridimensionais das bombas de efluxo já disponibilizados no banco de dados do AlphaFold e Swiss-Model foram analisados no MolProbity (Tabela 3), após a análise detectou-se a possibilidade de melhorar a estrutura, já que os valores dos índices de colisão, ou seja as sobreposições, poderiam ser melhorados. Para tanto, foi utilizado o PDB2PQR para realização do refinamento energético, adição de hidrogênios e cálculo de protonação. Ao analisar as novas estruturas observou-se que o principal índice modificado foi o *clash score*, indicador de sobreposição de átomos, quanto menor, mais estável é a estrutura, que no modelo do AlphaFold reduziu de 0.48 para 0 e do Swiss-Model de 0.86 para 0. Contudo, por se tratar de uma estrutura muito grande (1499 aminoácidos) e não ter a estrutura do cristal nos bancos de dados, é aceitável não possuir todos os parâmetros físico-químicos perfeitamente ordenados (Goh *et al.*, 2016).

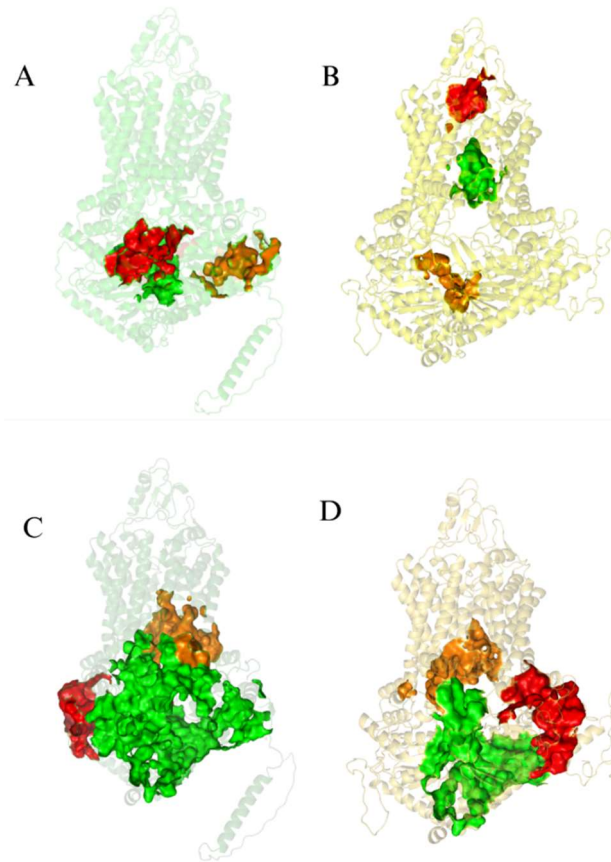
Tabela 3: Avaliação das estruturas terciárias das bombas de efluxo depositadas nos bancos de dados antes e após o refinamento pelo PDB2PQR.

Modelo	Parâmetro	Antes	Depois	Valores de referência
AlphaFold	Índice de colisões, todos os átomos	0.46	0	>0.4
	Rotâmeros ruins	21	22	<0.3%
	Rotâmeros favoráveis	1240	1237	>98%
	Escore MolProbity	1.1	0.95	(0–99 Å)
ClusPro	Índice de colisões, todos os átomos	0.86	0	>0.4
	Rotâmeros ruins	4	4	<0.3%
	Rotâmeros favoráveis	1230	1229	>98%
	Escore MolProbity	1.05	0.79	(0Å - 99Å)

Fonte: Autora

Após a obtenção das estruturas finais dos receptores, os arquivos PDB foram analisados pelo P2RANK e DrugRep para prever os sítios de ligação (Figura 3), pois com essas informações, as análises do docking molecular cego são mais assertivas, poupando tempo nas verificações dos complexos gerados.

Figura 3. Predição dos sítios ativos da bomba de efluxo de *Candida glabrata* utilizando os servidores P2RANK (A e B) e DrugRep (C e D) aplicada aos modelos gerados pelo AlphaFold (A e C) e Swiss-Model (B e D). As cavidades destacadas em verde, laranja e vermelho correspondem às três principais regiões ativas previstas, em ordem decrescente de probabilidade.



Fonte: Autora

Os resultados da ancoragem molecular pelo ClusPro (Tabela 4) e HDOCK (tabela 5), sugerem que os peptídeos podem interagir com os receptores da bomba de efluxo de *C. glabrata* e formar complexos com bastantes interações e baixa energia, ou seja, mais estáveis. Os dois peptídeos desenhados conseguiram formar ligações de hidrogênio e pontes salinas independentemente do modelo do receptor e do software de ancoragem.

Neste contexto, os valores mais negativos da pontuação ponderada de menor energia (Tabela 4) revelam que OsmPep2 forma o complexo mais estável, sobretudo no modelo Swiss-Model (-1035,9) em comparação a OsmPep4 (-824,7). OsmPep2 também apresenta interfaces maiores, com 25 a 29 resíduos do receptor e 12 do ligante, e um número elevado de outros contatos, variando de 146 a 154, sugerindo encaixe bem distribuído. Somente o complexo OsmPep2/AlphaFold exibe quatro pontes salinas e dez ligações de hidrogênio, indicando contribuições eletrostáticas e de polarização adicionais para a afinidade,

fortalecendo-a. Já OsmPep4 interage com menos resíduos, variando de 15 a 16, e carece de ligações específicas, o que se reflete em seus escores menos favoráveis e apenas 73 outros contatos. Vale ressaltar que a concordância entre os modelos do Swiss-Model e do AlphaFold mostra que as diferenças conformacionais da bomba de efluxo CDR1 afetam a ancoragem, mas não alteram a afinidade de ligação de OsmPep2. Em conjunto, esses dados posicionam OsmPep2 como o peptídeo com maior potencial de bloquear funcionalmente a proteína CDR1, segundo a métrica do servidor ClusPro.

Tabela 4: Resultados do docking molecular pelo ClusPro e as interações entre as moléculas pelo PDBsum.

Modelo	Peptídeo	pontuação ponderada central	pontuação ponderada de menor energia	Resíduos Interface - receptor	Resíduos Interface - ligante	Pontes salinas	Ponte dissulfeto	Ligações de hidrogênio	Contatos não ligantes
Swiss-Model	OsmPep2	-729.7	-1035.9	25	12	-	-	8	154
	OsmPep4	-773.8	-824.7	16	9	-	-	-	73
Alpha-Fold	OsmPep2	-773.6	-819.6	29	12	4	-	10	146
	OsmPep4	-777.1	-898.1	15	10	-	-	-	73

Fonte: Autora

Ademais, os escores do HDOCK (Tabela 5) são semelhantes para todos os complexos, uma média de -215 kcal/mol, porém, realizando uma análise mais detalhada das interações observam-se algumas diferenças entre os peptídeos. No modelo Swiss-Model, OsmPep2 estabelece 244 contatos não ligantes, superando OsmPep4, que apresenta 125, apesar deste último formar três pontes salinas adicionais que podem compensar parcialmente a menor interface. No modelo AlphaFold, OsmPep4 leva vantagem em ligações de hidrogênio, seis contra cinco, e em outros contatos, 150 contra 117, sugerindo uma plasticidade conformacional dependente do receptor. As pontes salinas exclusivas de OsmPep4 observadas nos dois servidores garante especificidade mesmo possuindo uma menor área de interface. Além disso, as pontuações de confiança permanecem altos, entre 0,772 e 0,786, confirmando a eficiência de ambos os peptídeos.

Tabela 5: Resultados do docking molecular pelo HDOCK e as interações entre as moléculas pelo PDBsum.

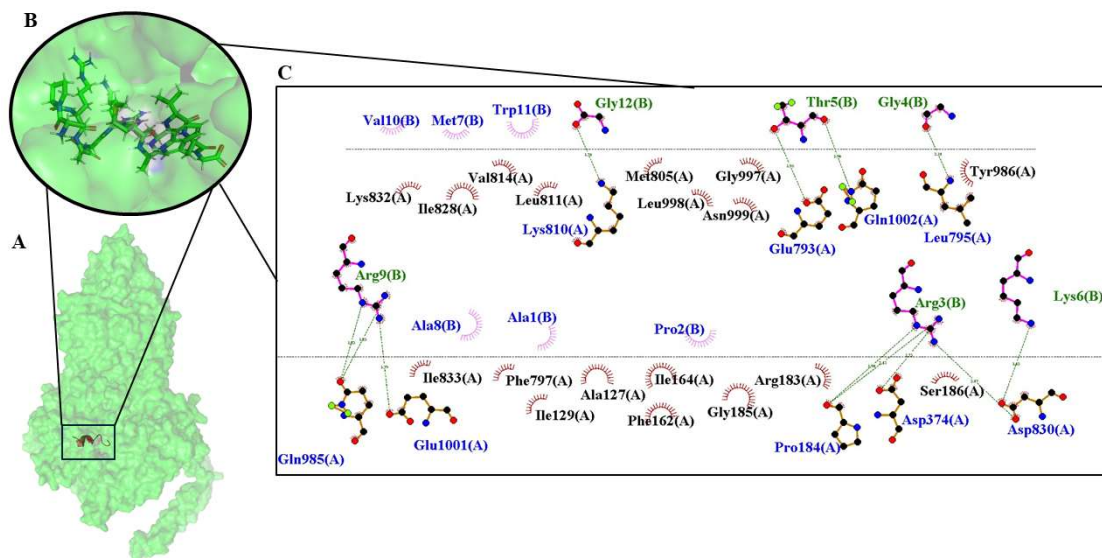
Modelo	Peptídeo	Pontuação de ancoragem	Pontuação de confiança	Resíduos Interface - receptor	Resíduos Interface - ligante	Pontes salinas	Ponte dissulfeto	Ligações de hidrogênio	Contatos não ligantes
Swiss-	OsmPep2	-214.95	0.7857	29	12	-	-	3	244

-Model	OsmPep4	-214.89	0.7855	29	8	3	-	4	125
Alpha-Fold	OsmPep2	-211.04	0.7722	22	10	2	-	5	117
	OsmPep4	-211.7	0.7745	19	11	2	-	6	150

Fonte: Autora

Os resíduos-chave de interação feita pelo Cluspro do OsmPep2 e do modelo do AlphaFold do CDR1 estão destacados na figura 4. A análise da região de interface geradas pelo LigPlot (Figura 4C) representam as ligações de hidrogênio como linhas tracejadas verdes, enquanto os contatos hidrofóbicos são mostrados como arcos espiculados. Interações específicas incluem ligações de hidrogênio entre Arg3 do peptídeo com o Pro184, Asp374 e Asp830 da bomba de efluxo; Gly4 com Leu795; Thr5 com Glu793 e Gln1002; Lys6 com Asp830; Arg9 com Gln985; e Gly12 com Lys810. Ademais, houve contatos hidrofóbicos envolvendo todos os outros aminoácidos do peptídeo com oito outros resíduos do receptor. Além disso, ocorreram quatro pontes salina: Arg3 do ligante com Asp374 e Asp830 da bomba; Lys6 com Asp830; e Arg9 com Glu1001. A figura 3A mostra a estrutura tridimensional do complexo OsmPep2/CDR1 no modelo do AlphaFold, enfatizando o sítio de ligação e o arranjo espacial do peptídeo dentro da estrutura do receptor (Figura 4B).

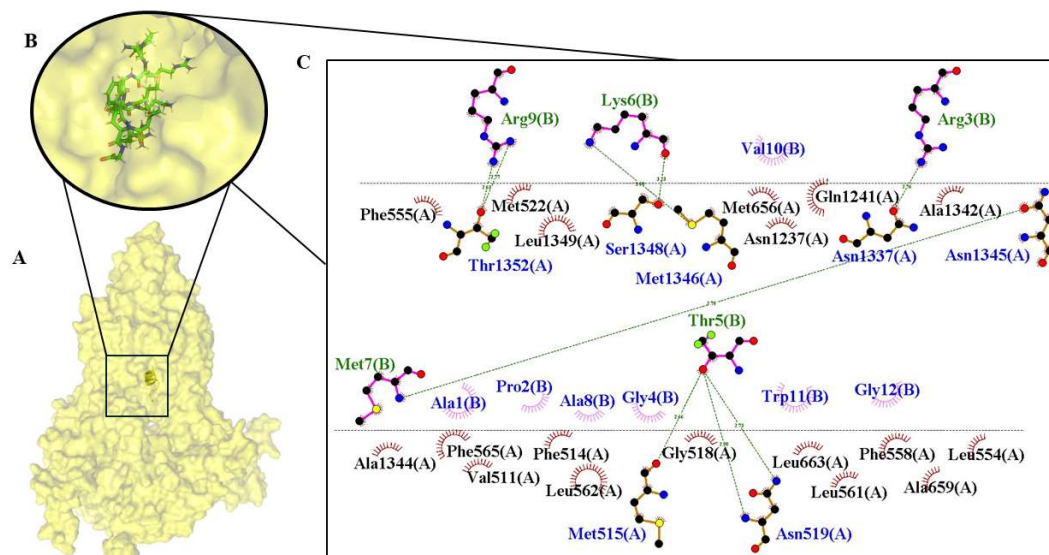
Figura 4: Principais interações entre o peptídeo OsmPep2 e a bomba de efluxo *Candida glabrata*. (A e B) Representação tridimensional do complexo OsmPep2/CDR1 no modelo gerado pelo AlphaFold, evidenciando o sítio de interação na porção extramembrana da proteína, visualizado no PyMOL. (C) Mapa bidimensional das interações gerado pelo LigPlot, com destaque para as ligações após o docking molecular realizado pelo ClusPro.



Fonte: Autora

As interações e localização do Osmpep2 após a ancoragem também pelo ClusPro, porém com o modelo do Swiss-Model estão expostas na figura 5C. As ligações de hidrogênio desse complexo envolvem os resíduos Arg3 do peptídeo com Asn1337 do receptor; Thr5 com Met515 e Asn519; Lys6 com Met1346 e Ser1348; Met7 com Asn1345; e Arg9 com Thr1352. Além disso, todos os outros 8 resíduos do OsmPep2 interagiram com outros 18 aminoácidos do CDR1 via contato hidrofóbico. A figura 4A mostra a estrutura tridimensional do complexo OsmPep2/CDR1 no modelo do Swiss-Model, enfatizando o sítio de ligação e o arranjo espacial do peptídeo dentro da estrutura do receptor (Figura 5B).

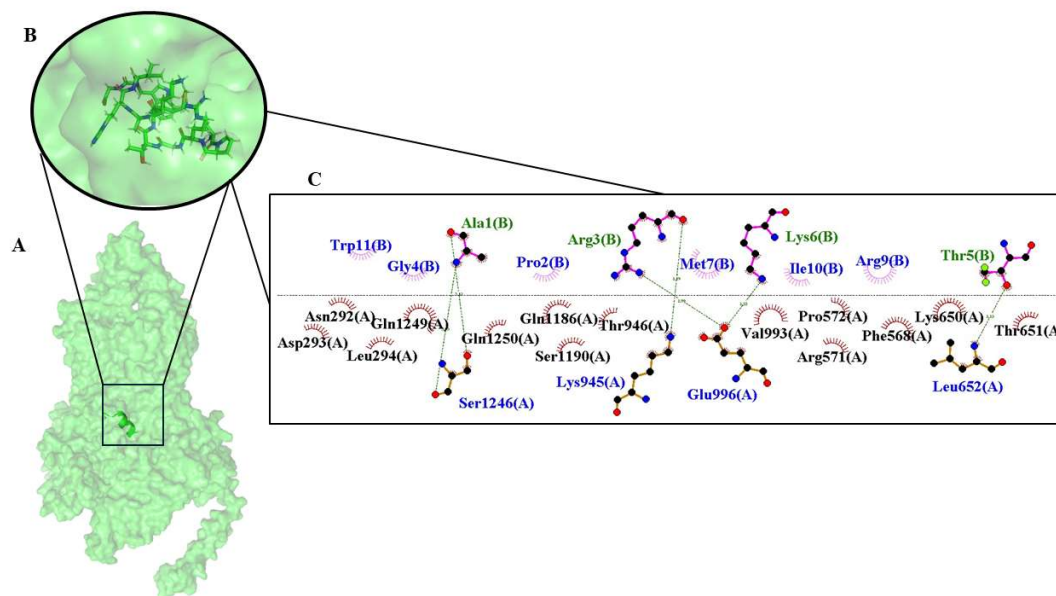
Figura 5: Principais interações entre o peptídeo OsmPep2 e a bomba de efluxo de *Candida glabrata*. (A e B) Representação tridimensional do complexo OsmPep2/CDR1 no modelo gerado pelo Swiss-Model, evidenciando o sítio de interação na porção transmembrana da proteína, visualizado no PyMOL. (C) Mapa bidimensional das interações gerado pelo LigPlot, com destaque para as ligações identificadas após o docking molecular realizado pelo ClusPro.



Fonte: Autora

Em relação à ancoragem molecular pelo HDOCK do Osmpep4 com a bomba de efluxo modelada pelo AlphaFold, os resultados também se mostraram promissores (Figura 6). Conforme ilustrado na Figura 6C, observaram-se ligações de hidrogênio entre os resíduos Ala1 do peptídeo e Ser1246 da proteína CDR1; Arg3 com Lys945 e Glu996; Thr5 com Leu652; e Lys6 com Glu996. Diferentemente das duas análises anteriores, nesta nem todos os resíduos do peptídeo participaram de interações hidrofóbicas — como foi o caso de Ala8 e Gly12. Ainda assim, os demais resíduos do peptídeo estabeleceram esse tipo de interação com quatorze diferentes aminoácidos da bomba de efluxo. Além disso, ocorreram duas pontes salina: Arg3 do ligante com Glu996 do receptor e Lys6 também com o Glu996. A figura 6A mostra a estrutura tridimensional do complexo OsmPep4/CDR1 no modelo do AlphaFold, enfatizando o sítio de ligação e o arranjo espacial do peptídeo dentro da estrutura do receptor (Figura 6B).

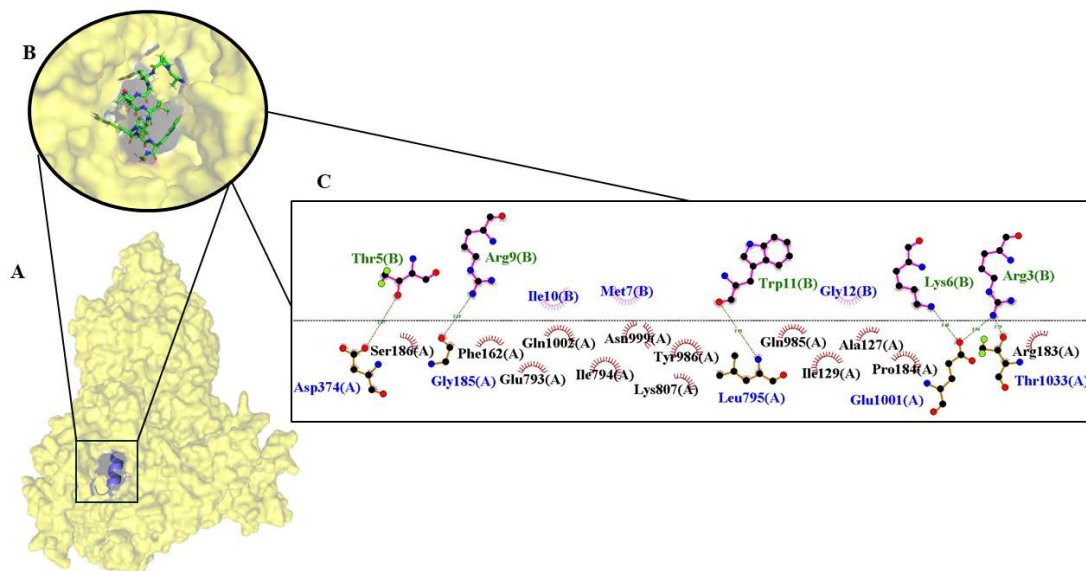
Figura 6: Principais interações entre o peptídeo OsmPep4 e a bomba de efluxo de *Candida glabrata*. (A e B) Representação tridimensional do complexo OsmPep4/CDR1 no modelo gerado pelo AlphaFold, evidenciando o sítio de interação na porção transmembrana da proteína, visualizado no PyMOL. (C) Mapa bidimensional das interações gerado pelo LigPlot, com destaque para as ligações identificadas após o docking molecular realizado pelo HDOCK.



Fonte: Autora

A Figura 7C mostra o mapa bidimensional das interações entre OsmPep4 e o receptor da *C. glabrata* modelado pelo Swiss-Model após a ancoragem realizada pelo HDOCK. Nela destacam-se as seguintes ligações de hidrogênio entre os resíduos do complexo: Arg3 do peptídeo com Glu1001 e Thr1033 da bomba de efluxo; Thr5 com Asp374; Lys6 com Glu1001; Arg9 com Gly185; e Trp11 com Leu795. Ademais, os aminoácidos Met7, Ile10 e Gly12 do ligante realizaram contatos hidrofóbicos envolvendo outros treze resíduos da bomba de efluxo. Além disso, ocorreram três pontes salina: Arg3 do ligante com Glu1001 do receptor; Arg3 com Asp1030; e Lys6 também com o Glu1001. A figura 6A mostra a estrutura tridimensional do complexo OsmPep4/CDR1 no modelo do Swiss-Model, enfatizando o sítio de ligação e o arranjo espacial do peptídeo dentro da estrutura do receptor (Figura 7B).

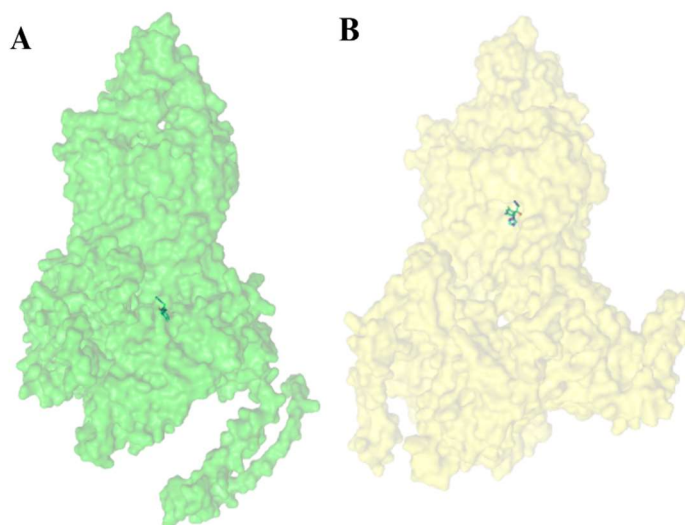
Figura 7: Principais interações entre o peptídeo OsmPep4 e a bomba de efluxo de *Candida glabrata*. (A e B) Representação tridimensional do complexo OsmPep4/CDR1 no modelo gerado pelo Swiss-Model, evidenciando o sítio de interação na porção extramembrana da proteína, visualizado no PyMOL. (C) Mapa bidimensional das interações gerado pelo LigPlot, com destaque para as ligações identificadas após o docking molecular realizado pelo HDock.



Fonte: Autora

A ancoragem molecular entre a proteína CDR1 do AlphaFold (Figura 8A) e do Swiss-Model (Figura 8B) com a molécula do fluconazol resultaram em interação com 45 e 16 resíduos, respectivamente.

Figura 8: Visualização pelo Pymol da ancoragem molecular entre a bomba de efluxo CDR1 de *Candida glabrata* nos modelos do AlphaFold (A) e do Swiss-Model (B) com fluconazol (icone pequeno no interior da estrutura) realizada pelo CB-Dock2.



Fonte: Autora

Ao realizar a comparação entre as regiões em que ocorreu o ancoramento dos peptídeos (Figuras 4A, 5A, 6A e 7A) com as regiões preditas pelo P2RANK e DrugRep (Figura 3), pode-se notar que as ligações ocorreram justamente nos sítios ativos prováveis de se obter uma interação verdadeira, ou seja, quando for realizado os experimentos *in vitro*, há boas chances dos peptídeos interferirem na bomba de efluxo CDR1 de *C. glabrata* (Balakrishnan *et al.*, 2024).

Quando as interações da droga e dos peptídeos foram comparadas, observou-se que apenas no complexo CDR1/OsmPep4 do AlphaFold não teve competição pelo sítio ativo em que o fluconazol se estabilizou. O CDR1/OsmPep2 modelo AlphaFold foi o que mais apresentou inibição competitiva – ou seja, quando há uma disputa entre os ligantes pela mesma porção no receptor (Pesari; 2023) –, pois os resíduos Leu554, Phe555, Phe558, Leu663, Asn1237, Ser1348 e Thr1352 foram detectados em ambas situações. Em relação aos modelos do Swiss-Model, CDR1/OsmPep2 competiu por 3 resíduos: Ile236, Pro572 e Ala788, e CDR1/OsmPep4 por apenas Pro572.

Apesar de nem todos os peptídeos terem conseguido competir com o fluconazol usando todos os 12 aminoácidos, é possível que a inibição da bomba de efluxo ocorra por meio inibição parcial (Buxbaum, 2015) ou utilização de um sítio alostérico mudando a conformação da proteína e, conseqüentemente, alterando sua função (Hardy & Wells; 2004).

Além disso, os fármacos propanil, cloranfenicol, benomil, voriconazol, tritilimidazol, cetoconazol, miconazol, tamoxifeno e gefitinibe competem com o fluconazol pelo mesmo sítio ativo (Puri *et al*, 2011). Logo, os peptídeos desenvolvidos nesse trabalho de interferir nessas conexões e atuar no combate a proliferação de *C. glabrata* multirresistente.

4 CONCLUSÃO

Os peptídeos derivados de osmotinas vegetais desenvolvidos neste estudo demonstraram, *in silico*, atividade contra a bomba de efluxo CDR1 de *C. glabrata*. OsmPep2 e OsmPep4 configuram-se como potenciais agentes terapêuticos no combate a cepas multirresistentes de *C. glabrata*, uma vez que, além de não apresentarem toxicidade para humanos *in silico*, mostraram-se capazes de estabelecer uma ampla rede de interações no sítio ativo da CDR1, independentemente do modelo tridimensional do receptor utilizado na ancoragem molecular. Diante desses achados promissores, torna-se indispensável a realização de experimentos *in vitro* para sua validação.

REFERÊNCIAS

- BALAKRISHNAN, Anagha; MISHRA, Saurav K.; GEORRGE, John J. Insight into Protein Engineering: From *In silico* Modelling to In vitro Synthesis. **Current Pharmaceutical Design**, 2024.
- BARATI, Meisam; JABBARI, Masoumeh; DAVOODI, Sayed Hossein. In-silico methods for milk-derived bioactive peptide prediction. In: **Enzymes beyond traditional applications in dairy science and technology**. Academic Press, 2023. p. 137-162.
- BASHIR, Muhammad Ajmal *et al.* Osmotin: a cationic protein leads to improve biotic and abiotic stress tolerance in plants. **Plants**, Basel, v. 9, n. 8, p. 992, 2020.
- BUXBAUM, Engelbert. Inhibition and Inactivation of Enzymes. **Fundamentals of Protein Structure and Function**, p. 141-161, 2015.
- CONWAY, Thomas P. *et al.* Similarities and distinctions in the activation of the *Candida glabrata* Pdr1 regulatory pathway by azole and non-azole drugs. **Mosphere**, v. 9, n. 12, p. e00792-24, 2024
- CORREIA, João *et al.* Beyond Penicillin: the potential of filamentous fungi for drug discovery in the age of antibiotic resistance. **Antibiotics**, Basel, v. 12, n. 8, p. 1250, 2023.
- DOS SANTOS, Cristiane; FRANCO, Octávio Luiz. Pathogenesis-related proteins (PRs) with enzyme activity activating plant defense responses. **Plants**, Basel, v. 12, n. 11, p. 2226, 2023.
- DUGGAN, Seána; USHER, Jane. *Candida glabrata*: a powerhouse of resistance. **PLoS Pathogens**, San Francisco, v. 19, n. 10, p. e1011651, 2023.
- GAN, Jian-hong *et al.* DrugRep: an automatic virtual screening server for drug repurposing. **Acta Pharmacologica Sinica**, v. 44, n. 4, p. 888-896, 2023.
- GOH, Boon Chong *et al.* Computational methodologies for real-space structural refinement of large macromolecular complexes. **Annual Review of Biophysics**, Palo Alto, v. 45, n. 1, p. 253-278, 2016.
- GÓMEZ-GAVIRIA, Manuela *et al.* Non-albicans *Candida* species: immune response, evasion mechanisms, and new plant-derived alternative therapies. **Journal of Fungi**, v. 9, n. 1, p. 11, 2022.
- GUPTA, Ashish; GUPTA, Anu; VARMA, Amit. *Candida glabrata* candidemia: an emerging threat in critically ill patients. **Indian Journal of Critical Care Medicine**, Mumbai, v. 19, n. 3, p. 151, 2015.
- HARDY, Jeanne A.; WELLS, James A. Searching for new allosteric sites in enzymes. **Current opinion in structural biology**, v. 14, n. 6, p. 706-715, 2004.
- HEALEY, Kelley R. *et al.* Genetic drivers of multidrug resistance in *Candida glabrata*. **Frontiers in Microbiology**, Lausanne, v. 7, p. 1995, 2016.

ISA, Mustafa Alhaji; KAPPO, Abidemi Paul. Machine learning-driven discovery of antimicrobial peptides targeting the GAPDH-TPI protein-protein interaction in *Schistosoma mansoni* for novel anti schistosomal therapeutics. **Computational biology and chemistry**, p. 108501, 2025.

Jl, Shuaiqi *et al.* Antimicrobial peptides: an alternative to traditional antibiotics. **European Journal of Medicinal Chemistry**, Paris, v. 265, p. 116072, 2024.

JONES, George *et al.* Elucidation of protein function using computational docking and hotspot analysis by ClusPro and FTMap. **Biological Crystallography**, v. 78, n. 6, p. 690-697, 2022.

JURRUS, Elizabeth *et al.* Improvements to the APBS biomolecular solvation software suite. **Protein science**, v. 27, n. 1, p. 112-128, 2018.

KEŞKA, Paulina; GUSTAW, Waldemar; STADNIK, Joanna. Trends in *in silico* approaches to the prediction of biologically active peptides in meat and meat products as an important factor for preventing food-related chronic diseases. **Applied Sciences**, Basel, v. 11, n. 23, p. 11236, 2021.

LASKOWSKI, Roman A. Enhancing the functional annotation of PDB structures in PDBsum using key figures extracted from the literature. **Bioinformatics**, v. 23, n. 14, p. 1824-1827, 2007

LOBANOVSKA, Mariya; PILLA, Giulia. Penicillin's discovery and antibiotic resistance: lessons for the future?. **The Yale Journal of Biology and Medicine**, New Haven, v. 90, n. 1, p. 135, 2017.

LÓPEZ-MARMOLEJO, Ana L. *et al.* Microevolution of *Candida glabrata* (*Nakaseomyces glabrata*) during an infection. **Fungal Genetics and Biology**, Amsterdam, v. 172, p. 103891, 2024.

LUO, Ying; SONG, Yuzhu. Mechanism of antimicrobial peptides: antimicrobial, anti-inflammatory and antibiofilm activities. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 22, n. 21, p. 11401, 2021.

PAIS, Pedro; GALOCHA, Mónica; TEIXEIRA, Miguel Cacho. Genome-wide response to drugs and stress in the pathogenic yeast *Candida glabrata*. In: **Yeasts in biotechnology and human health: physiological genomic approaches**. [S.l.]: Springer, 2019. p. 155-193.

PESARESI, Alessandro. Mixed and non-competitive enzyme inhibition: underlying mechanisms and mechanistic irrelevance of the formal two-site model. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, v. 38, n. 1, p. 2245168, 2023.

PURI, Nidhi *et al.* Overcoming the heterologous bias: an *in vivo* functional analysis of multidrug efflux transporter, CgCdr1p in matched pair clinical isolates of *Candida glabrata*. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 404, n. 1, p. 357-363, 2011.

RASHEED, Mubashshir; BATTU, Anamika; KAUR, Rupinder. Host-pathogen interaction in *Candida glabrata* infection: current knowledge and implications for

antifungal therapy. **Expert Review of Anti-infective Therapy**, London, v. 18, n. 11, p. 1093-1103, 2020.

SANGLARD, Dominique *et al.* The ATP binding cassette transporter gene CgCDR1 from *Candida glabrata* is involved in the resistance of clinical isolates to azole antifungal agents. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Washington, v. 43, n. 11, p. 2753-2765, 1999.

SHANTAL, Castrejón-Jiménez Nayeli *et al.* *Candida glabrata* is a successful pathogen: an artist manipulating the immune response. **Microbiological Research**, Amsterdam, v. 260, p. 127038, 2022.

SOUZA, P. F. N. *et al.* Synthetic antimicrobial peptides: from choice of the best sequences to action mechanisms. **Biochimie**, Paris, v. 175, p. 132-145, 1 ago. 2020.

TAMURA, Koichiro; STECHER, Glen; KUMAR, Sudhir. MEGA11: molecular evolutionary genetics analysis, version 11. **Molecular biology and evolution**, v. 38, n. 7, p. 3022-3027, 2021.

THOMPSON, Julie D.; HIGGINS, Desmond G.; GIBSON, Toby J. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. **Nucleic Acids Research**, Oxford, v. 22, n. 22, p. 4673-4680, 1994.

TURNER, Siobhán A.; BUTLER, Geraldine. The *Candida* pathogenic species complex. **Cold Spring Harbor perspectives in medicine**, v. 4, n. 9, p. a019778, 2014.

VARADI, Mihaly *et al.* AlphaFold Protein Structure Database in 2024: providing structure coverage for over 214 million protein sequences. **Nucleic acids research**, v. 52, n. D1, p. D368-D375, 2024.

WALLACE, Andrew C *et al.* LIGPLOT: a program to generate schematic diagrams of protein-ligand interactions. **Protein engineering, design and selection**, v. 8, n. 2, p. 127-134, 1995.

WATERHOUSE, Andrew *et al.* SWISS-MODEL: homology modelling of protein structures and complexes. **Nucleic acids research**, v. 46, n. W1, p. W296-W303, 2018.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **WHO fungal priority pathogens list to guide research, development and public health action**. Geneva: World Health Organization, 2022.

YAN, Yumeng *et al.* The HDock server for integrated protein-protein docking. **Nature protocols**, v. 15, n. 5, p. 1829-1852, 2020.