

## RESSALVA

Atendendo solicitação do autor, o texto completo desta **Dissertação** será disponibilizado somente a partir de 19/03/2026.

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE ARARAQUARA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA E BIOCÊNCIAS**  
**APLICADAS A FARMÁCIA**

CHRISTIAN SHLEIDER CARNERO CANALES

**Desenvolvimento e avaliação de peptídeos análogos da Plectasina: Síntese, Conjugação a Nanopartículas de Sílica Mesoporosas e Avaliação Biológica contra o *Mycobacterium tuberculosis***

**ARARAQUARA – SP**

**Fevereiro/2024**

CHRISTIAN SHLEIDER CARNERO CANALES

**Desenvolvimento e avaliação de peptídeos análogos da Plectasina: Síntese,  
Conjugação a Nanopartículas de Sílica Mesoporosas e Avaliação Biológica  
contra o *Mycobacterium tuberculosis***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociências e Biotecnologia aplicadas à Farmácia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestrado em Biociências e Biotecnologia aplicadas à Farmácia.

**Área de concentração:** Bacteriologia

**Orientador:** Prof. Dr. Fernando Rogério Pavan

**Coorientador:** Dr. Rafael Miguel Sábio

**ARARAQUARA – SP**

**Fevereiro/2024**

---

**C212d** Canales, Christian Shleider Carnero.  
Desenvolvimento e avaliação de peptídeos análogos da plectasina: síntese, conjugação a nanopartículas de sílica mesoporosas e avaliação biológica contra o *Mycobacterium tuberculosis* / Christian Shleider Carnero Canales. – Araraquara, 2024.  
73 f. : il.

Orientador: Fernando Rogério Pavan.  
Coorientador: Rafael Miguel Sábio.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista. “Júlio de Mesquita Filho”. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós-graduação em Biociências e Biotecnologia Aplicadas à Farmácia. Área de pesquisa: Bacteriologia.

1. Tuberculose. 2. *Mycobacterium tuberculosis*. 3. Peptídeos. 4. *In silico*. 5. Plectasina. I. Pavan, Fernando Rogério, orient. II. Sábio, Rafael Miguel, coorient. III. Título.

---

Diretoria do Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - Faculdade de Ciências Farmacêuticas  
UNESP - Campus de Araraquara

**CAPES: 33004030081P7**  
**Esta ficha não pode ser modificada**

**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

**TÍTULO DA DISSERTAÇÃO:** Desenvolvimento e avaliação de peptídeos análogos da Plectasina: Síntese, Conjugação a Nanopartículas de Sílica Mesoporosas e Avaliação Biológica contra o *Mycobacterium tuberculosis*

**AUTOR: CHRISTIAN SHLEIDER CARNERO CANALES**

**ORIENTADOR: FERNANDO ROGERIO PAVAN**

**COORIENTADOR: RAFAEL MIGUEL SÁBIO**

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Ciências, área de conhecimento: Saúde Pública pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. FERNANDO ROGERIO PAVAN (Participação Virtual)  
Departamento de Ciências Biológicas / Faculdade de Ciências Farmacêuticas do Câmpus de Araraquara da Unesp

Prof. Dr. NORIVAL ALVES SANTOS FILHO (Participação Virtual)  
Departamento de Bioquímica e Química Orgânica / Instituto de Química do Câmpus de Araraquara da Unesp

Profa. Dra. DANIELA FERNANDES RAMOS (Participação Virtual)  
Faculdade de Medicina / Universidade Federal do Rio Grande (FURG)

Araraquara, 19 de março de 2024

## **Dedicatória**

Aos meus irmãos Angel, Milagros e Luigi; Meus pais Aleyda e Moises

## **Agradecimentos**

Com profundo respeito e sincera gratidão, estendo meus agradecimentos àqueles cuja presença foi fundamental na realização deste trabalho.

Começo expressando minha mais profunda gratidão aos meus pais, verdadeiras fontes de inspiração e apoio incondicional em cada etapa da minha vida. Da mesma forma, aos meus irmãos, com quem compartilhei mais que a vida, que foram pilares de força e alegria constante.

Aos meus amigos da ciência, colegas de incontáveis jornadas de descoberta e aprendizado, agradeço por enriquecer minha trajetória acadêmica com sua amizade e colaboração. Cada um de vocês deixou uma marca indelével na minha formação.

Minha gratidão se estende aos colegas do Grupo de Pesquisa em Tuberculose, cuja companhia e colaboração mútua foram indispensáveis. Juntos, compartilhamos desafios e sucessos que fortaleceram nosso compromisso com a ciência.

À Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, ao Programa de Pós-Graduação em Biociências e Biotecnologia Aplicadas à Farmácia, incluindo tanto o corpo docente quanto discente, assim como à Secretaria de Pós-Graduação, agradeço enormemente por todo o apoio fornecido. Sua excelência acadêmica e administrativa foi essencial para minha formação e sucesso.

Finalmente, meu mais sincero agradecimento ao Professor Doutor Fernando Rogério Pavan, meu orientador, pela sua compreensão, orientação e apoio inabalável. Sua mentoria não só me permitiu superar desafios acadêmicos e pessoais, mas também facilitou meu crescimento em todos os aspectos da minha vida. Estou profundamente grato por ter tido a oportunidade de aprender e me desenvolver sob sua tutela.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001

.

.

## Resumo

A resistência antimicrobiana representa um dos maiores desafios para a saúde pública mundial, exigindo o desenvolvimento de novos agentes terapêuticos eficazes contra patógenos resistentes a múltiplos fármacos. Neste contexto, os peptídeos antimicrobianos (PAMs) emergem como promissores candidatos devido à sua especificidade e mecanismo de ação diferenciado. Este estudo focou na avaliação de análogos da Plectasina, particularmente o peptídeo DC05, para explorar sua atividade antimicrobiana, biocompatibilidade e capacidade de inibir bombas de efluxo em *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) e outras bactérias patogênicas. Os resultados demonstraram que o DC05 possui atividade antimicrobiana notável contra Mtb, com uma concentração inibitória mínima (CIM) de 12  $\mu\text{M}$ , além de eficácia contra *Pseudomonas aeruginosa* e *Salmonella Typhi*. Este perfil sugere a aplicabilidade do DC05 como um amplo espectro de agente antimicrobiano, com um foco particular em bactérias gram-negativas e micobactérias. Além disso, a análise da biocompatibilidade em diversas linhas celulares confirmou um perfil de segurança favorável, permitindo o uso terapêutico dos peptídeos sintetizados sem causar danos celulares significativos. Um achado crucial foi a capacidade do DC05 de aumentar o acúmulo de brometo de etídio em Mtb, indicando uma inibição efetiva das bombas de efluxo. Este mecanismo propõe o uso potencial de peptídeos como adjuvantes em terapias combinadas com antibióticos tradicionais, potencializando sua eficácia. A variabilidade na estabilidade dos peptídeos em diferentes modelos biológicos *in silico* ressalta a necessidade de otimização das sequências para aumentar sua meia-vida e eficácia terapêutica.

**Palavras chave:** Tuberculose; *Mycobacterium tuberculosis*; peptídeos; *in silico*; plectasina

## Abstract

Antimicrobial resistance represents one of the biggest challenges to global public health, necessitating the development of new therapeutic agents effective against pathogens resistant to multiple drugs. In this context, antimicrobial peptides (AMPs) emerge as promising candidates due to their specificity and differentiated mechanism of action. This study focused on the evaluation of plectasin analogs, particularly the DC05 peptide, to explore its antimicrobial activity, biocompatibility, and ability to inhibit efflux pumps in *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) and other pathogenic bacteria. The results demonstrated that DC05 possesses remarkable antimicrobial activity against Mtb, with a minimum inhibitory concentration (MIC) of 12  $\mu\text{M}$ , in addition to efficacy against *Pseudomonas aeruginosa* and *Salmonella Typhi*. This profile suggests the applicability of DC05 as a broad-spectrum antimicrobial agent, with a particular focus on gram-negative bacteria and mycobacteria. Furthermore, biocompatibility analysis in various cell lines confirmed a favorable safety profile, allowing for the therapeutic use of the synthesized peptides without causing significant cellular damage. A crucial finding was the ability of DC05 to increase the accumulation of ethidium bromide in Mtb, indicating effective inhibition of efflux pumps. This mechanism proposes the potential use of peptides as adjuvants in combination therapies with traditional antibiotics, enhancing their efficacy. The variability in peptide stability across different biological models *in silico* highlights the need for sequence optimization to increase their half-life and therapeutic efficacy.

**Keywords:** Tuberculosis; *Mycobacterium tuberculosis*; peptides; *in silico*; plectasin

## Sumario

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	1
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	9
<b>2.1 Objetivo geral</b> .....	9
<b>2.2 Objetivos específicos</b> .....	9
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	10
<b>3.1 Análises <i>in silico</i></b> .....	10
<b>3.1.1 Seleção de PAMs com potencial contra Mtb e modelagem estrutural</b> .....	11
<b>3.1.2 Estudo <i>in silico</i> do potencial biológico de uma biblioteca de peptídeos análogos de plectasina</b> .....	12
<b>3.1.3 Predição de Propriedades Farmacocinéticas</b> .....	12
<b>3.1.4 Previsão do tempo de meia-vida</b> .....	13
<b>3.2 Análises <i>in vitro</i></b> .....	13
<b>3.2.1 Síntese de PAMs selecionados, purificação e caracterização</b> .....	13
<b>3.2.2 Ensaio de microtitulação de resazurina</b> .....	14
<b>3.2.3 Ensaios de citotoxicidade <i>in vitro</i></b> .....	14
<b>3.2.4 Acúmulo de brometo de etídio</b> .....	15
<b>3.2.5 Ensaios hemolíticos</b> .....	16
<b>3.2.6 Determinação de bolsões farmacológicos</b> .....	17
<b>3.2.7 Docking Molecular</b> .....	17
<b>3.2.8 Visualização e análise de interações</b> .....	17
<b>3.2.9 Quantificação de citocinas</b> .....	18
<b>3.2.10 Ensaio de mutação gênica reversa</b> .....	19
<b>3.2.11 Síntese de nanopartículas de sílica mesoporosas</b> .....	20
<b>3.2.12 Funcionalização de MSNs com 3-mercaptopropiltrimetoxisilano</b> .....	20
<b>3.2.13 Caracterização morfológica das MSNs, Potencial Z e tamanho hidrodinâmico das MSNs</b> .....	21
<b>3.2.14 Estudos FT-IR e Ensaios termogravimétricos</b> .....	21
<b>3.2.15 Quantificação de grupos tiol livres</b> .....	21
<b>3.2.16 Funcionalização de MSN-MTPES com tuftsina</b> .....	22
<b>3.2.17 Eficiência de Funcionalização</b> .....	22
<b>3.2.18 Eficiência de Encapsulação e Quantidade de Carga</b> .....	23

3.2.19 Liberação de DC05 em meio biológico simulado .....	23
3.3 Análises <i>in vivo</i> .....	24
3.3.1 Toxicidade em Larvas de <i>Galleria mellonella</i> .....	24
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	24
4.1 A Plectasina é um PAM extenso que pode ser reduzido .....	24
4.2 Os análogos da Plectasina analisados por métodos <i>in silico</i> são ativos contra Mtb .....	25
4.3 Previsão de propriedades farmacocinéticas dos PAMs .....	26
4.4 O tempo de meia-vida dos peptídeos sugere uma notável resistência à degradação .....	29
4.5 Síntese e caracterização dos PAMs .....	30
4.6 Apenas um análogo da Plectasina apresenta atividade considerável contra Mtb .....	31
4.7 Os análogos mostram ser biocompatíveis com diversas linhagens celulares .....	33
4.8 O acúmulo de brometo de etídio dentro do MTB indica inibição nas bombas de efluxo .....	34
4.9 PAMs não mostraram atividades hemolíticas .....	35
4.10 Determinação de bolsas farmacológicas .....	37
4.11 Docking molecular e análise de interação.....	37
4.12 Quantificação de citocinas .....	45
4.13 DC05 não é mutagênico.....	46
4.14 Síntese, funcionalização e caracterização de nanopartículas de sílica mesoporosas .....	47
4.15 Quantificação de grupos tiol livres.....	49
4.16 PPC é eficientemente funcionalizado na superfície do MSN-MTPES.....	49
4.17 Eficiência de encapsulamento e quantidade de carga .....	50
4.18 Liberação de DC05 em diferentes meios biológicos simulados .....	50
4.19 DC05 não causa toxicidade em <i>Galleria mellonella</i> .....	52
5 CONCLUSÃO.....	53
6 PERSPECTIVAS .....	54
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	56

## 1 INTRODUÇÃO

A tuberculose (TB) continua sendo uma das principais ameaças à saúde mundial, classificada como uma das doenças infecciosas mais letais e prevalentes causada por um único patógeno (Sankineni *et al.*, 2023; World Health Organization, 2023). Estima-se que, globalmente, 10,6 milhões de pessoas contraíram TB em 2022, o que representa uma tendência ascendente em comparação com os anos anteriores; especificamente, foram registrados 10,3 milhões de casos em 2021 e 10 milhões em 2020. Esse aumento indica uma mudança significativa, revertendo a tendência de declínio que havia sido mantida por muitos anos até 2020. Além disso, a taxa de incidência de TB registrou um aumento de 3,9% entre 2020 e 2022, após ter registrado uma diminuição aproximada de 2% ao ano entre 2010 e 2020. Esse aumento marca um ponto de inflexão importante no cenário global da TB (World Health Organization, 2023)

A primeira linha de defesa contra o *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) é a mucosa respiratória, que contém uma série de moléculas protetoras como imunoglobulinas A, peptídeos anti-microbianos (PAMs), anticorpos, citocinas e quimiocinas. Quando estas moléculas não conseguem controlar a invasão como primeira instância, o Mtb é disseminado nos alvéolos pulmonares logo em seguida os macrófagos alveolares, células dendríticas e neutrófilos são ativados para tentar erradicar a infecção (Lerner, Borel e Gutierrez, 2015).

Os macrófagos têm a capacidade de internalizar o Mtb, permitindo que viva dentro dos fagossomos; permanecendo inativo e podendo causar infecções recorrentes ou crônicas dependendo das condições imunológicas do hospedeiro (Buccini, Cardoso e Franco, 2021). Os macrófagos produzem principalmente PAMs e citocinas para eliminar este patógeno (Rao Muvva *et al.*, 2021). As citocinas, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , são capazes de inibir a proliferação das micobactérias, responsáveis pela TB. Essa resposta ocorre através da indução de apoptose e a geração de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio. Pelo contrário, algumas citocinas têm um efeito imunossupressor. Entre elas, encontram-se a IL-10 e o TGF- $\beta$ . Essas moléculas podem atenuar as funções protetoras dos macrófagos, o que resulta em uma maior proliferação bacteriana dentro dessas células. Além disso, reduz a produção de óxido nítrico, um poderoso agente antimicrobiano produzido pelos macrófagos que atuam dentro do fagossomo onde reside o Mtb. Em particular, o TGF- $\beta$  tem um papel relevante na regulação da resposta imune no granuloma tuberculoso, esta citocina pode limitar a expansão, sobrevivência e função das células T, componentes essenciais do sistema

imunológico. Por fim, a presença de TGF- $\beta$  pode resultar em uma resposta imune insuficiente frente à infecção por micobactérias. É por isso que a importância de analisar estas citocinas (Gern *et al.*, 2021; Shi *et al.*, 2016)

O tratamento convencional para a TB é poliquimioterápico, é tratado com uma combinação de 4 medicamentos por pelo menos 6 meses, nos primeiros 2 meses são fornecidos isoniazida, rifampicina, pirazinamida e etambutol, nos 4 meses seguintes apenas rifampicina e isoniazida são usados para alcançar a eliminação do patógeno e tentar prevenir a resistência aos medicamentos (Caminero Luna, 2016). A exposição ao longo prazo em concentrações não adequadas de agentes antimicobacterianos facilitaria a seleção de mutantes resistentes, e essa resistência nos levaria a usar fármacos de segunda linha, mais caros, tóxicos e menos tolerantes (Harouna Hamidou, Mamadou e Saad, 2021; Kwok *et al.*, 2015).

A urgência crescente em encontrar novos compostos farmacêuticos para combater a TB destaca a necessidade de inovar nas estratégias de descoberta de medicamentos. Embora as técnicas tradicionais tenham sido fundamentais no desenvolvimento de novas terapias, o percurso desde a identificação inicial de candidatos até a sua validação em ensaios clínicos é frequentemente longo, ultrapassando muitas vezes uma década e acarretando um custo médio estimado em 1,8 bilhão de dólares (Shaker *et al.*, 2021). Esse cenário ganha relevância especial diante do "Relatório Mundial sobre Tuberculose 2023", que aponta que, do orçamento estimado necessário de 13 bilhões de dólares para combater a TB em 2022, apenas 5,8 bilhões foram efetivamente financiados. Ademais, dos 2 bilhões destinados à pesquisa, somente metade foi realmente investida (World Health Organization, 2023). Diante dessa realidade, o Desenho de Fármacos Assistido por Computador (CADD, na sigla em inglês) emerge como uma alternativa valiosa, com potencial para reduzir significativamente tanto o tempo de desenvolvimento quanto os custos associados (Yu, Wang e Wang, 2022).

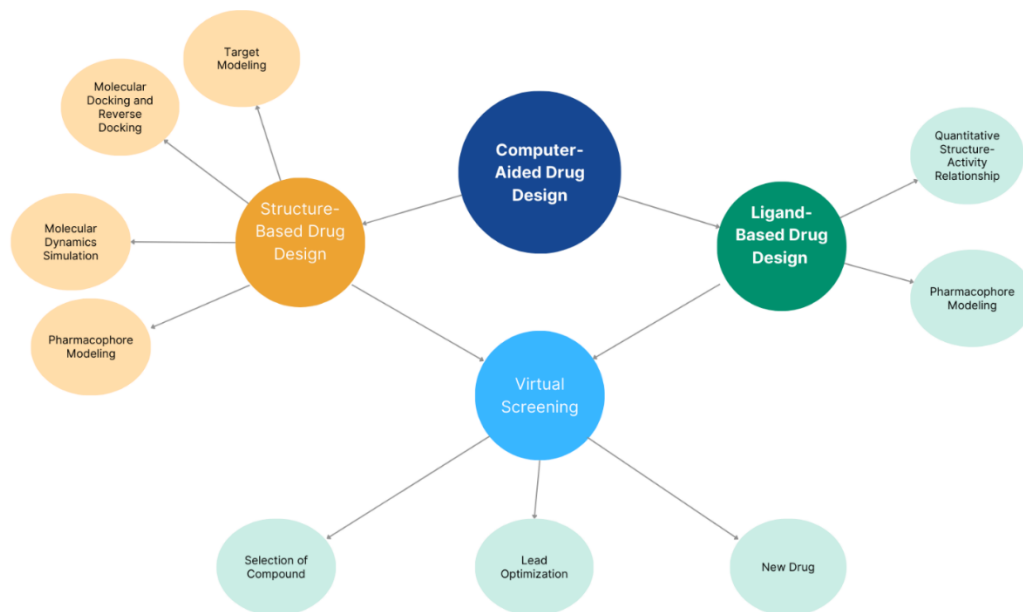
As metodologias de CADD se adaptam de forma eficaz à qualidade e quantidade dos dados experimentais disponíveis, oferecendo vantagens como redução de custos, a possibilidade de explorar virtualmente um amplo espectro de opções químicas, e um aumento na rapidez e eficiência do processo de desenho e desenvolvimento de novos medicamentos (Canales *et al.*, 2024). Predominantemente, há dois enfoques principais no CADD: o Desenho de Fármacos Baseado na Estrutura do Alvo (SBDD) e o Desenho Baseado em Ligantes (LBDD) (**Figura 1**). O SBDD utiliza

o conhecimento da estrutura tridimensional do alvo terapêutico para descobrir ou aprimorar compostos que interajam com alta afinidade e especificidade, sendo a disponibilidade de um modelo tridimensional do alvo essencial. Na ausência da estrutura experimental do alvo, a previsão *in silico*, por meio de modelos de homologia baseados em proteínas estruturalmente similares, torna-se uma prática comum. (Turzo, Hantz e Lindert, 2022)

Por outro lado, o LBDD foca na identificação de compostos ativos que se alinham com descritores químicos específicos de ligantes previamente caracterizados, embora sua precisão possa variar conforme a exatidão das aproximações e a confiabilidade das funções de pontuação utilizadas (Gautam *et al.*, 2023).

No cenário atual de descoberta de fármacos, com uma grande diversidade de ferramentas e dados estruturais disponíveis, tem-se adotado cada vez mais um enfoque híbrido que combina os métodos baseados na estrutura e em ligantes. Essa abordagem integrada geralmente produz resultados superiores, graças a uma exploração mais eficaz e abrangente do espaço químico e biológico disponível. Atualmente, existe uma ampla gama de ferramentas para o desenho de novos PAMs, como antiTBpred, pkCSM, Modeller, Autodock Vina, HADDOCK, que permitem prever a atividade anti-Mtb, farmacocinética, modelagem de moléculas e até simulação de docking molecular para estudar os sítios de acoplamento específicos ligante-receptor, respectivamente. Essas ferramentas simplificam o trabalho laboratorial, permitindo a análise simultânea de centenas de biomoléculas sem a necessidade de síntese prévia (Iman e Davood, 2014)

**Figura 1.** Ferramentas do Desenho de Fármacos Assistido por Computador



Fonte: (Canales *et al.*, 2024)

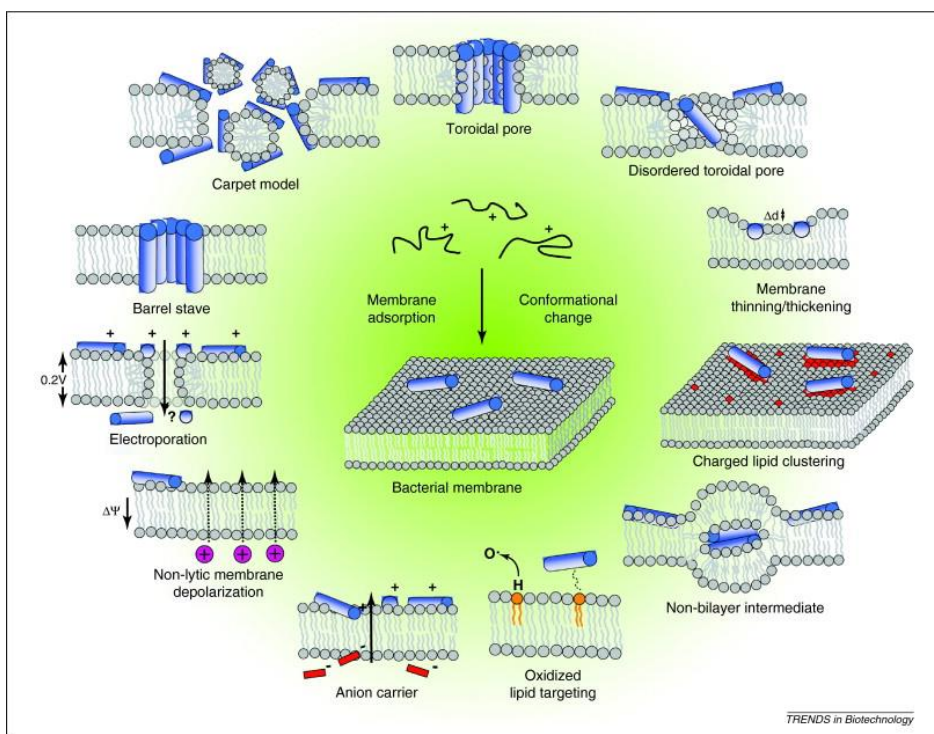
Os PAMs surgem como uma excelente alternativa contra a TB devido ao seu mecanismo de ação único e específico contra as bactérias, o que reduz significativamente a probabilidade de desenvolvimento de resistência. Além disso, sua capacidade de agir rapidamente e seu espectro de atividade potencialmente mais amplo os tornam candidatos ideais para superar as limitações dos tratamentos convencionais, oferecendo possibilidades para tratamentos mais curtos e com menos efeitos colaterais. (Chanci *et al.*, 2022; Huang *et al.*, 2021; Wang *et al.*, 2022)

Os PAMs são pequenas proteínas compostas por menos de 100 aminoácidos, também são conhecidos como peptídeos de defesa do hospedeiro, produzidos naturalmente por organismos vivos como proteção contra patógenos (Han e Wang, 2021; Priyadarshini *et al.*, 2022). Os PAMs fazem parte do sistema imunológico inato da maioria dos organismos vivos e eles tem como alvo penetrar a membrana microbiana interagindo de diversas formas (Silveira, Roque-Borda e Vicente, 2021; Zhang *et al.*, 2021).

Geralmente, os PAMs geram desestabilização da membrana, ligação de DNA e inibição da síntese proteica, a ação não só se limita a bactérias, também combate fungos e vírus (Silva-Carvalho *et al.*, 2021); inclusive podem eliminar bactérias resistentes a medicamentos, como *Staphylococcus*

*aureus* resistente à metilicina/vancomicina e *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a carbapenems. Foram descritas pelo menos 9 hipóteses de mecanismos de ação: 1) eletroporação; 2) modelo de tapete, 3) afinamento ou espessamento da membrana, 4) despolarização da membrana não lífica, 5) poros toroidais, 6) direção do lipídio oxidado 7) *barril-stave* 8) poros toroidal desordenados e 9) intermediário não bicamada (**Figura 2**) (Silveira, Roque-Borda e Vicente, 2021).

**Figura 2.** Principais mecanismos de ação dos PAMs baseados em perturbação de membranas



Fonte: (Nguyen, Haney e Vogel, 2011)

Dos mecanismos previamente descritos, os mais estudados são: o modelo de *barril-stave*, o modelo toroidal e o modelo de tapete; i) no modelo de *barril-stave* os peptídeos são agrupados em uma bicamada, peptídeos hidrofóbicos alinhados com o centro lipídico, e a extremidade hidrofílica cria uma abertura dentro da membrana ii) no modelo toroidal, os peptídeos se acumulam e fazem com que a camada lipídica se dobre para formar poros, iii) o modelo de tapete, os peptídeos criam uma abertura na membrana externa (AlMatar *et al.*, 2018; Huang *et al.*, 2021); mas a destruição das membranas não são os únicos mecanismos de ação, estudos recentes relatam a interação de PAMs com alvos de membrana e citoplasmáticos onde podem se ligar a RNA ou DNA (Haney, Straus e Hancock, 2019).

Os PAMs podem ativar um ou mais mecanismos de ação dependendo de fatores como temperatura, tempo de exposição, concentração de peptídeos, entre outros (Priyadarshini *et al.*, 2022). Os PAMs dependem de fatores como carga líquida, hidrofóbica, propensão estrutural e anfipaticidade, entre estas algumas são descritas a continuação:

A) O aumento da carga positiva nos peptídeos favorece a interação com lipopolissacarídeos, ácido lipoteicoico e manoproteínas, porém, uma carga de +7 a +10 tem sido demonstrada para reduzir a seletividade, além de aumentar a atividade hemolítica e a toxicidade. B) A hidrofobicidade deve ser mantida abaixo de 70%; ao exceder esse limite, os PAMs podem começar a interagir de forma não seletiva tanto com as membranas bacterianas quanto com as membranas celulares do hospedeiro. Além disso, observou-se que a alanina aumenta a atividade antimicrobiana, diferentemente de outros aminoácidos hidrofóbicos que diminuem a atividade. C) A destruição da estrutura secundária eleva a seletividade e diminui a toxicidade. D) Uma estrutura anfipática ideal potencializa a atividade antimicrobiana, mas também aumenta a citotoxicidade (Tan, Fu e Ma, 2021)

Além de ter um efeito antimicrobiano potencial, os PAMs também apresentam atividade antibiofilme, anticâncer, antitrombótica, cicatrizante, imunomodulatória, antioxidante e anti-inflamatória (Gera, Kankuri e Kogermann, 2021; Um *et al.*, 2021) . Os primeiros PAMs encontrados em organismos multicelulares (insetos e secreções de sapos) foram descobertos em 1980, atualmente as pesquisas aumentaram e nas últimas décadas foram registrados mais de 3.100 PAMs (Han *et al.*, 2021).

A plectasina, um peptídeo composto por 40 aminoácidos (GFGCNGPWDEDDMQCHNHCKSIKGYKGGYCAKGGFVCKCY), emerge como uma molécula fascinante. Originária de um fungo saprofítico, isolada inicialmente da *Pseudopectania nigrella* e integrante da família das defensinas, a plectasina possui uma carga líquida positiva de +1.8. Sua eficácia em inibir o crescimento de patógenos notórios como o *Streptococcus pneumoniae*, o *Staphylococcus aureus* resistente à metilina e o Mtb *in vitro* foi destacada por Brinch *et al.* (2009), colocando-a como um potencial agente antimicrobiano. Diante dessas descobertas, torna-se crucial aprimorar sua concentração inibitória mínima (CIM) e explorar a possibilidade de reduzir a extensão de sua sequência. Esse esforço de otimização visa não apenas

diminuir os custos de produção, mas também acelerar a descoberta de novos medicamentos, respondendo à constante demanda por terapias mais eficazes.

Além dos PAMs, existem também outros peptídeos notáveis por sua capacidade de penetrar nas membranas celulares. Estes são conhecidos como Peptídeos Penetrantes de Células (PPCs). O mecanismo de ação desses PPCs varia e é influenciado por diversos fatores, incluindo a natureza da carga elétrica do peptídeo, o tipo específico de célula-alvo, a composição da membrana celular e a concentração do peptídeo presente. A penetração dos PPCs através da membrana celular pode ocorrer por meio de diferentes vias: diretamente atravessando a membrana, através de processos de endocitose, ou pela formação de poros transitórios na membrana, permitindo assim sua entrada na célula. (Khan, Filipczak e Torchilin, 2021).

Dentro deste grupo, a tuftsina se destaca como um peptídeo tetrapeptídico (TKPR) com uma habilidade específica para atuar como vetor de entrega de fármacos. Sua ação é mediada através da ligação aos receptores de neuropilina (NRP), que não apenas permite sua entrada específica nas células, mas também confere propriedades imunoestimulantes ao peptídeo. A tuftsina não apenas facilita a ligação específica aos NRPs, mas também exerce um efeito potencializador sobre a fagocitose, ampliando significativamente suas aplicações potenciais (Borbála Horváth *et al.*, 2022). A abordagem combinada de utilizar a tuftsina juntamente com os PAMs oferece uma estratégia integrada para combater o Mtb intracelular. A tuftsina poderia induzir a fagocitose e melhorar a capacidade dos macrófagos de eliminar o patógeno de dentro, enquanto os PAMs poderiam agir destruindo diretamente as bactérias ou interferindo em sua capacidade de se replicar. Esta sinergia entre a indução da fagocitose pela tuftsina e a ação antimicrobiana direta dos PAMs sublinha o potencial de uma estratégia terapêutica combinada.

No entanto, a implementação eficaz desta estratégia requer a superação de desafios significativos, especialmente no que diz respeito à administração desses peptídeos. O desenvolvimento de um sistema de administração de fármacos capaz de entregar esses dois tipos de peptídeos de maneira eficiente e direcionada é crucial.

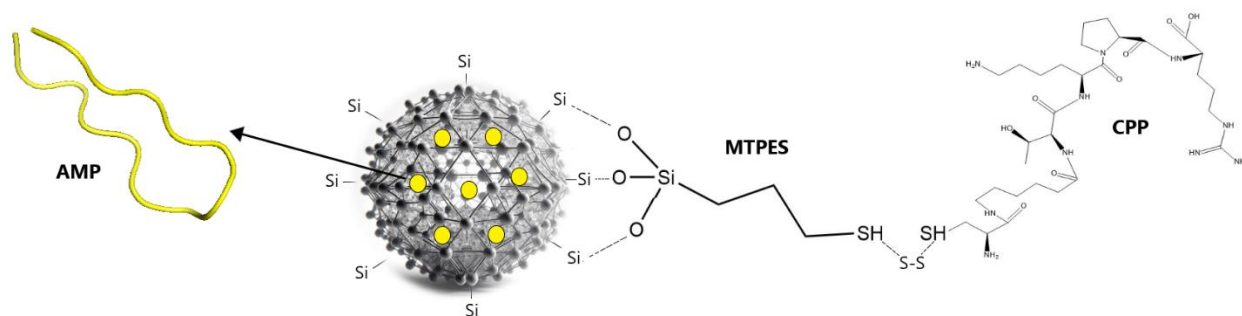
As nanopartículas de sílica mesoporosa (MSNs) possuem uma rica concentração de grupos silanol, que promovem a funcionalização com diversas moléculas, incluindo os PPCs. Elas também se destacam por uma disposição sistemática de poros, com tamanhos variando de 2 a 50 nm, um volume de poros significativo e uma vasta área de superfície específica. A estrutura das partículas

e dos poros pode ser facilmente ajustada de acordo com a escolha dos parâmetros de síntese (Gisbert-Garzarán, Lozano e Vallet-Regí, 2020; Gomes *et al.*, 2022). Esses nanossistemas ajustáveis podem carregar moléculas hidrofóbicas e hidrofílicas dentro dos mesoporos, além de serem facilmente funcionalizados para projetar plataformas nanotecnológicas de entrega de fármacos controlada e responsiva a estímulos (por exemplo, pH, enzimas, ultrassom e luz) para fins terapêuticos (Bakhshian Nik *et al.*, 2020; Mohamed Isa *et al.*, 2021; Stephen *et al.*, 2022). Graças à sua grande área de superfície e alta porosidade, elas podem realçar notavelmente as interações com membranas microbianas. Isso pode levar ao estresse oxidativo em microorganismos e à sua destruição por meio de contato físico e/ou liberação eficiente de agentes antimicrobianos (Miguel Sábio *et al.*, 2023).

Além disso, as MSNs são capazes de melhorar a imunomodulação de albuminas séricas visando as mitocôndrias em experimentos *in vitro* e *in vivo*. Essa atividade está associada à liberação de mediadores pró-inflamatórios, incluindo fator de necrose tumoral  $\alpha$ , óxido nítrico e espécies reativas de oxigênio (Li *et al.*, 2023). Essas moléculas desempenham um papel direto na eliminação do Mtb. As MSNs mostram alta capacidade de carregamento de drogas como os PAMs, boa biocompatibilidade, biodegradabilidade e eliminação (Ahmed *et al.*, 2022; Yong *et al.*, 2019).

Mas, o aspecto mais relevante dessas nanopartículas pode ser a estabilidade proteolítica que conferem ao peptídeo carregado, protegendo-o da degradação enzimática e prolongando sua vida útil no organismo. Essa característica é especialmente benéfica no contexto pulmonar, onde o peptídeo pode ser mais suscetível à degradação. Além disso, a capacidade de retenção das MSNs nos pulmões potencializa seu impacto terapêutico, permitindo uma liberação localizada e prolongada do agente terapêutico diretamente no sítio de infecção ou inflamação. Isso é particularmente importante para o tratamento de doenças respiratórias como a TB, onde a entrega direcionada e eficaz de fármacos aos pulmões pode significar um avanço significativo no tratamento. (Braun *et al.*, 2016; García-Fernández, Sancenón e Martínez-Máñez, 2021). Este estudo apresenta uma estratégia para o tratamento da infecção por Mtb, propondo a encapsulação de um peptídeo análogo da plectasina em nanopartículas de sílica mesoporosa, seguido de sua funcionalização com tuftsina (**Figura 3**).

**Figura 3.** Esquema de Encapsulação de peptídeos análogos da plectasina em carregados em MSNs com Funcionalização de tuftsina.



Fonte: autor

## 5 CONCLUSÃO

Em pesquisa, exploramos o potencial do peptídeo DC05, focando em sua viabilidade terapêutica contra a TB e sua aplicabilidade em sistemas avançados de entrega de fármacos utilizando MSN. Através dos estudos, revelamos que o DC05 não apenas possui uma notável capacidade imunomoduladora, mas também apresenta um perfil de segurança excepcionalmente alto, caracterizado pela ausência de toxicidade hemolítica e atividade mutagênica. A eficácia na funcionalização e encapsulamento do DC05 em MSN sublinha seu potencial como um inovador sistema de entrega de fármacos. A alta eficiência de funcionalização, superior a 78%, sugere que as MSN são veículos promissores para a administração específica e controlada do DC05, embora tenha sido observada uma diminuição na eficiência de encapsulamento do DC05 com o aumento da concentração do peptídeo, indicando a necessidade de otimização. A liberação controlada do DC05 em meios biológicos simulados demonstrou uma liberação acelerada em um ambiente simulado pulmonar, o que é particularmente relevante para o tratamento da TB, indicando a capacidade do sistema de liberar eficazmente o peptídeo no ambiente pulmonar. A segurança do DC05 foi confirmada pelo uso de *Galleria mellonella* como modelo de infecção, demonstrando a ausência de toxicidade significativa e a ativação de respostas imunológicas adversas. Paralelamente, este estudo demonstrou a eficácia dos análogos de plectasin, especialmente do peptídeo DC05, como agentes antimicrobianos contra Mtb e outras bactérias patogênicas, incluindo P.A e S.T. A atividade antimicrobiana do DC05 contra Mtb, com uma CIM de 12  $\mu\text{M}$ , e seu potencial significativo contra bactérias gram-negativas e micobactérias, destaca sua aplicabilidade como um agente antimicrobiano versátil. A biocompatibilidade favorável em diversas linhas celulares sugere uma alta viabilidade celular até concentrações de 1000  $\mu\text{M}/\text{ml}$ , reforçando seu potencial para uso terapêutico sem causar danos celulares significativos. Uma descoberta crucial foi a capacidade dos peptídeos de inibir as bombas de efluxo em Mtb, um mecanismo chave de resistência antimicrobiana, indicando sua utilidade potencial como adjuvantes para aumentar a eficácia dos antibióticos tradicionais. A estabilidade variável dos peptídeos em diferentes modelos biológicos in silico destaca a necessidade de otimização de sequências para melhorar sua meia-vida, essencial para o desenvolvimento de terapias antimicrobianas eficazes. A combinação de

atividade antimicrobiana, biocompatibilidade, imunomodulação, segurança e eficácia em sistemas de entrega destaca o DC05 como um candidato excepcionalmente promissor para o desenvolvimento clínico no tratamento de doenças infecciosas, incluindo a TB. A sinergia entre a inovação em sistemas de entrega de fármacos e a descoberta de novos agentes terapêuticos, como demonstrado neste estudo, é fundamental para superar os desafios atuais no tratamento de doenças infecciosas e resistência aos antibióticos.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHMED, H. *et al.* Biomedical applications of mesoporous silica nanoparticles as a drug delivery carrier. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 76, p. 103729, out. 2022.
- ALLEGRA, E. *et al.* *Galleria mellonella* larvae allow the discrimination of toxic and non-toxic chemicals. **Chemosphere**, v. 198, p. 469–472, maio 2018.
- ALMATAR, M. *et al.* Antimicrobial peptides as an alternative to anti-tuberculosis drugs. **Pharmacological Research**, v. 128, p. 288–305, 1 fev. 2018.
- ASAI, M. *et al.* *Galleria mellonella* as an infection model for the virulent *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. **Virulence**, v. 13, n. 1, p. 1543–1557, 31 dez. 2022.
- AVALOS, E. *et al.* Frequency and Geographic Distribution of gyrA and gyrB Mutations Associated with Fluoroquinolone Resistance in Clinical Mycobacterium Tuberculosis Isolates: A Systematic Review. **PLOS ONE**, v. 10, n. 3, p. e0120470, 27 mar. 2015.
- BAKSHIAN NIK, A. *et al.* Smart drug delivery: Capping strategies for mesoporous silica nanoparticles. **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 299, p. 110115, jun. 2020.
- BERNSTEIN, L. *et al.* An empirical approach to the statistical analysis of mutagenesis data from the Salmonella test. **Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects**, v. 97, n. 4, p. 267–281, ago. 1982.
- BORBÁLA HORVÁTH, L. *et al.* Host cell targeting of novel antimycobacterial 4-aminosalicylic acid derivatives with tuftsin carrier peptides. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 174, p. 111–130, maio 2022.
- BRAUN, K. *et al.* Membrane interactions of mesoporous silica nanoparticles as carriers of antimicrobial peptides. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 475, p. 161–170, ago. 2016.
- BUCCINI, D. F.; CARDOSO, M. H.; FRANCO, O. L. Antimicrobial Peptides and Cell-Penetrating Peptides for Treating Intracellular Bacterial Infections. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 10, 5 fev. 2021.
- CAMINERO LUNA, J. A. Actualización en el diagnóstico y tratamiento de la tuberculosis pulmonar. **Revista Clínica Española**, v. 216, n. 2, p. 76–84, mar. 2016.
- CANALES, C. S. C. *et al.* In silico drug design strategies for discovering novel tuberculosis therapeutics. **Expert Opinion on Drug Discovery**, p. 1–21, 19 fev. 2024.
- CASTRO, M. S. *et al.* Hylin a1, the first cytolytic peptide isolated from the arboreal South American frog *Hypsiboas albopunctatus* (“spotted treefrog”). **Peptides**, v. 30, n. 2, p. 291–296, fev. 2009.
- CHANCI, K. *et al.* Physical behavior of KR-12 peptide on solid surfaces and Langmuir-Blodgett lipid films: Complementary approaches to its antimicrobial mode against *S. aureus*. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes**, v. 1864, n. 1, p. 183779, 1 fev. 2022.
- CUTRONA, K. J. *et al.* Role of arginine and lysine in the antimicrobial mechanism of histone-derived antimicrobial peptides. **FEBS Letters**, v. 589, n. 24PartB, p. 3915–3920, 21 dez. 2015.

- DASH, S. *et al.* Kinetic modeling on drug release from controlled drug delivery systems. **Acta Poloniae Pharmaceutica ñ Drug Research**, v. 67, n. 3, p. 217–223, 2010.
- DING, Y. *et al.* In vivo study of doxorubicin-loaded cell-penetrating peptide-modified pH-sensitive liposomes: biocompatibility, bio-distribution, and pharmacodynamics in BALB/c nude mice bearing human breast tumors. **Drug Design, Development and Therapy**, v. Volume 11, p. 3105–3117, out. 2017.
- DINH, H. *et al.* Microbiology's next top model: Galleria in the molecular age. **Pathogens and Disease**, 21 jan. 2021.
- ERDEMLI, S. B. *et al.* Targeting the Cell Wall of Mycobacterium tuberculosis: Structure and Mechanism of L,D-Transpeptidase 2. **Structure**, v. 20, n. 12, p. 2103–2115, dez. 2012.
- ERNST, J. D.; CORNELIUS, A.; BOLZ, M. Dynamics of Mycobacterium tuberculosis Ag85B Revealed by a Sensitive Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. **mBio**, v. 10, n. 2, 30 abr. 2019.
- FATIMA, S.; KUMARI, A.; DWIVEDI, V. P. Advances in adjunct therapy against tuberculosis: Deciphering the emerging role of phytochemicals. **MedComm**, v. 2, n. 4, p. 494–513, 5 dez. 2021.
- GALDOPÓRPORA, J. M. *et al.* Inhalable Mannosylated Rifampicin–Curcumin Co-Loaded Nanomicelles with Enhanced In Vitro Antimicrobial Efficacy for an Optimized Pulmonary Tuberculosis Therapy. **Pharmaceutics**, v. 14, n. 5, p. 959, 28 abr. 2022.
- GARCÍA-FERNÁNDEZ, A.; SANCENÓN, F.; MARTÍNEZ-MÁÑEZ, R. Mesoporous silica nanoparticles for pulmonary drug delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 177, p. 113953, out. 2021.
- GASTEIGER, E. *et al.* Protein Identification and Analysis Tools on the ExPASy Server. *Em: The Proteomics Protocols Handbook*. Totowa, NJ: Humana Press, 2005. p. 571–607.
- GAUTAM, V. *et al.* Artificial intelligence and machine-learning approaches in structure and ligand-based discovery of drugs affecting central nervous system. **Molecular Diversity**, v. 27, n. 2, p. 959–985, 11 abr. 2023.
- GERA, S.; KANKURI, E.; KOGERMANN, K. Antimicrobial peptides – Unleashing their therapeutic potential using nanotechnology. **Pharmacology & Therapeutics**, p. 107990, 28 set. 2021.
- GERN, B. H. *et al.* TGF $\beta$  restricts expansion, survival, and function of T cells within the tuberculous granuloma. **Cell Host & Microbe**, v. 29, n. 4, p. 594–606.e6, abr. 2021.
- GISBERT-GARZARÁN, M.; LOZANO, D.; VALLET-REGÍ, M. Mesoporous Silica Nanoparticles for Targeting Subcellular Organelles. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 24, p. 9696, 18 dez. 2020.
- GOMES, A. S. *et al.* Folic acid-mesoporous silicon nanoparticles enhance the anticancer activity of the p73-activating small molecule LEM2. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 624, p. 121959, ago. 2022.
- GOUNANI, Z. *et al.* Mesoporous silica nanoparticles carrying multiple antibiotics provide enhanced synergistic effect and improved biocompatibility. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 175, p. 498–508, mar. 2019.

- GRIESS, P. Bemerkungen zu der Abhandlung der HH. Weselsky und Benedikt „Ueber einige Azoverbindungen“. **Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft**, v. 12, n. 1, p. 426–428, 28 jan. 1879.
- HALICKI, P. C. B. *et al.* Intramacrophage potential of a tetrahydropyridine: A promising compound in combating *Mycobacterium tuberculosis*. **Tuberculosis**, v. 136, p. 102252, set. 2022.
- HAN, R.; WANG, S. Mechanisms of antimicrobial peptides as characterized by solid-state NMR. **Magnetic Resonance Letters**, 12 out. 2021.
- HAN, Y. *et al.* Chemical modifications to increase the therapeutic potential of antimicrobial peptides. **Peptides**, v. 146, p. 170666, 1 dez. 2021.
- HANEY, E. F.; STRAUS, S. K.; HANCOCK, R. E. W. Reassessing the Host Defense Peptide Landscape. **Frontiers in Chemistry**, v. 7, 4 fev. 2019.
- HAROUNA HAMIDOU, Z.; MAMADOU, S.; SAAD, J. Molecular detection of *Mycobacterium tuberculosis sensu stricto* in the soil of Niger. **New Microbes and New Infections**, v. 44, p. 100939, 1 nov. 2021.
- HEGETO, L. A. *et al.* In vitro combinatory activity of piperine and anti-tuberculosis drugs in *Mycobacterium tuberculosis*. **Tuberculosis**, v. 111, p. 35–40, jul. 2018.
- HONORATO, R. V. *et al.* Structural Biology in the Clouds: The WeNMR-EOSC Ecosystem. **Frontiers in Molecular Biosciences**, v. 8, 28 jul. 2021.
- HU, J.; XIAO, D.; ZHANG, X. Advances in Peptide Functionalization on Mesoporous Silica Nanoparticles for Controlled Drug Release. **Small**, v. 12, n. 25, p. 3344–3359, 6 jul. 2016.
- HUANG, Y. T. *et al.* Efficacy of antimicrobial peptides (AMPs) against *Escherichia coli* and bacteria morphology change after AMP exposure. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 126, p. 307–312, 1 set. 2021.
- IMAN, M.; DAVOOD, A. Homology modeling of lanosterol 14 $\alpha$ -demethylase of *Candida albicans* and insights into azole binding. **Medicinal Chemistry Research**, v. 23, n. 6, p. 2890–2899, 23 jun. 2014.
- JEAN, K. D. SAINT *et al.* Effects of Hydrophobic Amino Acid Substitutions on Antimicrobial Peptide Behavior. **Probiotics and Antimicrobial Proteins**, v. 10, n. 3, p. 408–419, 4 set. 2018.
- JIA, L. *et al.* Successfully tailoring the pore size of mesoporous silica nanoparticles: Exploitation of delivery systems for poorly water-soluble drugs. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 439, n. 1–2, p. 81–91, dez. 2012.
- KHAN, M. M.; FILIPCZAK, N.; TORCHILIN, V. P. Cell penetrating peptides: A versatile vector for co-delivery of drug and genes in cancer. **Journal of Controlled Release**, v. 330, p. 1220–1228, 10 fev. 2021.
- KWOK, P. C. L. *et al.* Inhalable spray-dried formulation of D-LAK antimicrobial peptides targeting tuberculosis. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 491, n. 1–2, p. 367–374, ago. 2015.
- LERNER, T. R.; BOREL, S.; GUTIERREZ, M. G. The innate immune response in human tuberculosis. **Cellular Microbiology**, v. 17, n. 9, p. 1277–1285, set. 2015.

- LI, JIALIANG *et al.* Porous Silicon Nanocarriers Boost the Immunomodulation of Mitochondria-Targeted Bovine Serum Albumins on Macrophage Polarization. **ACS Nano**, v. 17, n. 2, p. 1036–1053, 24 jan. 2023.
- LÓPEZ-GARCÍA, S. *et al.* Macrophage Activation by Ursolic and Oleanolic Acids during Mycobacterial Infection. **Molecules**, v. 20, n. 8, p. 14348–14364, 6 ago. 2015.
- MAMSA, S. S. A.; MELONI, B. P. Arginine and Arginine-Rich Peptides as Modulators of Protein Aggregation and Cytotoxicity Associated With Alzheimer's Disease. **Frontiers in Molecular Neuroscience**, v. 14, 28 out. 2021.
- MANAVALAN, B. *et al.* AtbPpred: A Robust Sequence-Based Prediction of Anti-Tubercular Peptides Using Extremely Randomized Trees. **Computational and Structural Biotechnology Journal**, v. 17, p. 972–981, 2019.
- MARON, D. M.; AMES, B. N. Revised methods for the Salmonella mutagenicity test. **Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects**, v. 113, n. 3–4, p. 173–215, mar. 1983.
- MATURI, F. *et al.* Luminescent Mesoporous Silica Nanohybrid Based on Drug Derivative Terbium Complex. **Materials**, v. 12, n. 6, p. 933, 21 mar. 2019.
- MAULINE, L. *et al.* Bifunctional silica nanoparticles for the exploration of biofilms of *Pseudomonas aeruginosa*. **Biofouling**, v. 29, n. 7, p. 775–788, ago. 2013.
- MIGUEL SÁBIO, R. *et al.* Advanced porous materials for antimicrobial treatment. **Nano Select**, 31 out. 2023.
- MOHAMED ISA, E. D. *et al.* Progress in Mesoporous Silica Nanoparticles as Drug Delivery Agents for Cancer Treatment. **Pharmaceutics**, v. 13, n. 2, p. 152, 24 jan. 2021.
- MORTELMANS, K.; ZEIGER, E. The Ames Salmonella/microsome mutagenicity assay. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 455, n. 1–2, p. 29–60, nov. 2000.
- NANDIYANTO, A. B. D. *et al.* Synthesis of spherical mesoporous silica nanoparticles with nanometer-size controllable pores and outer diameters. **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 120, n. 3, p. 447–453, abr. 2009.
- NGUYEN, L. T.; HANEY, E. F.; VOGEL, H. J. The expanding scope of antimicrobial peptide structures and their modes of action. **Trends in Biotechnology**, v. 29, n. 9, p. 464–472, set. 2011.
- NIÑO-CASTAÑO, V. E. *et al.* RIP2 Contributes to Expanded CD4+ T Cell IFN- $\gamma$  Production during Efferocytosis of *Streptococcus pneumoniae* –Infected Apoptotic Cells. **ImmunoHorizons**, v. 6, n. 7, p. 559–568, 1 jul. 2022.
- NISHINO, K. *et al.* Function and Inhibitory Mechanisms of Multidrug Efflux Pumps. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, 3 dez. 2021.
- OBA, M. *et al.* Secondary structures and cell-penetrating abilities of arginine-rich peptide foldamers. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 1349, 4 fev. 2019.

PALOMINO, J.-C. *et al.* Resazurin Microtiter Assay Plate: Simple and Inexpensive Method for Detection of Drug Resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 46, n. 8, p. 2720–2722, ago. 2002.

PARK, H.-E. *et al.* Modulating macrophage function to reinforce host innate resistance against *Mycobacterium avium* complex infection. **Frontiers in Immunology**, v. 13, 24 nov. 2022.

PAVAN, F. R. *et al.* Thiosemicarbazones, semicarbazones, dithiocarbazates and hydrazide/hydrazones: Anti – *Mycobacterium tuberculosis* activity and cytotoxicity. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45, n. 5, p. 1898–1905, maio 2010.

PAWAR, S. S.; ROHANE, S. H. Review on Discovery Studio: An important Tool for Molecular Docking. **Asian Journal Of Research in Chemistry**, v. 14, n. 1, p. 1–3, 2021.

PETRELLA, S. *et al.* Overall Structures of *Mycobacterium tuberculosis* DNA Gyrase Reveal the Role of a Corynebacteriales GyrB-Specific Insert in ATPase Activity. **Structure**, v. 27, n. 4, p. 579- 589.e5, abr. 2019.

PIRES, D. E. V.; BLUNDELL, T. L.; ASCHER, D. B. pkCSM: Predicting Small-Molecule Pharmacokinetic and Toxicity Properties Using Graph-Based Signatures. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 58, n. 9, p. 4066–4072, 14 maio 2015.

PRIMO, L. M. D. G. *et al.* Antimicrobial peptides grafted onto the surface of N-acetylcysteine-chitosan nanoparticles can revitalize drugs against clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis*. **Carbohydrate Polymers**, p. 121449, out. 2023.

\_\_\_\_. Antimicrobial peptides grafted onto the surface of N-acetylcysteine-chitosan nanoparticles can revitalize drugs against clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis*. **Carbohydrate Polymers**, v. 323, p. 121449, jan. 2024.

PRIYADARSHINI, D. *et al.* Characterisation of cell membrane interaction mechanisms of antimicrobial peptides by electrical bilayer recording. **Biophysical Chemistry**, v. 281, p. 106721, 1 fev. 2022.

PURCELL, D.; PACKER, M. A.; HAYES, M. Identification of Bioactive Peptides from a *Laminaria digitata* Protein Hydrolysate Using In Silico and In Vitro Methods to Identify Angiotensin-1-Converting Enzyme (ACE-1) Inhibitory Peptides. **Marine Drugs**, v. 21, n. 2, p. 90, 27 jan. 2023.

QUAN, G. *et al.* Lactosaminated mesoporous silica nanoparticles for asialoglycoprotein receptor targeted anticancer drug delivery. **Journal of Nanobiotechnology**, v. 13, n. 1, p. 7, 3 dez. 2015.

RAJPOOT, S. *et al.* In-Silico Design of a Novel Tridecapeptide Targeting Spike Protein of SARS-CoV-2 Variants of Concern. **International Journal of Peptide Research and Therapeutics**, v. 28, n. 1, p. 28, 13 jan. 2022.

RAO MUVVA, J. *et al.* Immunomodulatory Agents Combat Multidrug-Resistant Tuberculosis by Improving Antimicrobial Immunity. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 224, n. 2, p. 332–344, 15 jul. 2021.

ROQUE-BORDA, C. A. *et al.* Alginate-based microparticles coated with HPMCP/AS cellulose-derivatives enable the Ctx(Ile21)-Ha antimicrobial peptide application as a feed additive. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 183, p. 1236–1247, jul. 2021.

\_\_\_\_. Conjugation of Ctx(Ile<sup>21</sup>)-Ha Antimicrobial Peptides to Chitosan Ultrathin Films by *N*-Acetylcysteine Improves Peptide Physicochemical Properties and Enhances Biological Activity. **ACS Omega**, v. 7, n. 32, p. 28238–28247, 16 ago. 2022.

\_\_\_\_. Chitosan and HPMCAS double-coating as protective systems for alginate microparticles loaded with Ctx(Ile21)-Ha antimicrobial peptide to prevent intestinal infections. **Biomaterials**, v. 293, p. 121978, fev. 2023a.

\_\_\_\_. Chitosan and HPMCAS double-coating as protective systems for alginate microparticles loaded with Ctx(Ile21)-Ha antimicrobial peptide to prevent intestinal infections. **Biomaterials**, v. 293, n. March 2022, p. 121978, fev. 2023b.

SANKINENI, S. *et al.* Global Health and Tuberculosis; Past, Present, and Future. *Em: Tubercular Drug Delivery Systems*. Cham: Springer International Publishing, 2023. p. 1–13.

SERRANO, D. R. *et al.* Hemolytic and pharmacokinetic studies of liposomal and particulate amphotericin B formulations. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 447, n. 1–2, p. 38–46, abr. 2013.

SHAKER, B. *et al.* In silico methods and tools for drug discovery. **Computers in Biology and Medicine**, v. 137, p. 104851, out. 2021.

SHI, J. *et al.* Role of IL-10 and TNF- $\alpha$  during Mycobacterium tuberculosis infection in murine alveolar macrophages. **Genetics and Molecular Research**, v. 15, n. 3, 2016.

SILVA-CARVALHO, A. É. *et al.* Dissecting the relationship between antimicrobial peptides and mesenchymal stem cells. **Pharmacology & Therapeutics**, p. 108021, 9 out. 2021.

SILVEIRA, R. F.; ROQUE-BORDA, C. A.; VICENTE, E. F. Antimicrobial peptides as a feed additive alternative to animal production, food safety and public health implications: An overview. **Animal Nutrition**, v. 7, n. 3, p. 896–904, 1 set. 2021.

SIMPSON, R. J. Estimation of Free Thiols and Disulfide Bonds Using Ellman's Reagent. **Cold Spring Harbor Protocols**, v. 2008, n. 9, p. pdb.prot4699, set. 2008.

STEPHEN, S. *et al.* Exploring the role of mesoporous silica nanoparticle in the development of novel drug delivery systems. **Drug Delivery and Translational Research**, v. 12, n. 1, p. 105–123, 18 jan. 2022.

TAN, P.; FU, H.; MA, X. Design, optimization, and nanotechnology of antimicrobial peptides: From exploration to applications. **Nano Today**, v. 39, p. 101229, 1 ago. 2021.

TENLAND, E. *et al.* A novel derivative of the fungal antimicrobial peptide plectasin is active against Mycobacterium tuberculosis. **Tuberculosis**, v. 113, p. 231–238, dez. 2018.

\_\_\_\_. Effective delivery of the anti-mycobacterial peptide NZX in mesoporous silica nanoparticles. **PLOS ONE**, v. 14, n. 2, p. e0212858, 26 fev. 2019.

TURZO, S. B. A.; HANTZ, E. R.; LINDERT, S. Applications of machine learning in computer-aided drug discovery. **QRB Discovery**, v. 3, p. e14, 1 set. 2022.

TYAGI, P.; PECHENOV, S.; ANAND SUBRAMONY, J. Oral peptide delivery: Translational challenges due to physiological effects. **Journal of Controlled Release**, v. 287, p. 167–176, 10 out. 2018.

- UM, J. *et al.* Enriching antimicrobial peptides from milk hydrolysates using pectin/alginate food-gels. **Food Chemistry**, v. 352, p. 129220, 1 ago. 2021.
- WAGNER, J. T. *et al.* Peptide Controlled Assembly of Palladium Nanoparticles on High-Aspect-Ratio Gold Nanorods. **The Journal of Physical Chemistry C**, v. 124, n. 50, p. 27743–27753, 17 dez. 2020.
- WANG, Y. *et al.* Cetuximab-modified mesoporous silica nano-medicine specifically targets EGFR-mutant lung cancer and overcomes drug resistance. **Scientific Reports**, v. 6, n. 1, p. 25468, 6 maio 2016.
- WANG, Y. *et al.* Advances in the development of antimicrobial peptides and proteins for inhaled therapy. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 180, p. 114066, jan. 2022.
- WEBB, B.; SALI, A. Protein Structure Modeling with MODELLER. *Em*: [s.l: s.n.]. p. 239–255.
- WILLIAMS, H. D. *et al.* Strategies to Address Low Drug Solubility in Discovery and Development. **Pharmacological Reviews**, v. 65, n. 1, p. 315–499, 3 jan. 2013.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global tuberculosis report 2023**. Geneva: [s.n.]. Disponível em: <<https://www.who.int/publications/i/item/9789240083851>>. Acesso em: 6 nov. 2023.
- YE, X. *et al.* Characterization of the Hemolytic Activity of Mastoparan Family Peptides from Wasp Venoms. **Toxins**, v. 15, n. 10, p. 591, 28 set. 2023.
- YONG, T. *et al.* Tumor exosome-based nanoparticles are efficient drug carriers for chemotherapy. **Nature Communications**, v. 10, n. 1, p. 3838, 23 ago. 2019.
- YU, D.; WANG, L.; WANG, Y. Recent Advances in Application of Computer-Aided Drug Design in Anti-Influenza A Virus Drug Discovery. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 9, p. 4738, 25 abr. 2022.
- ZHANG, NA *et al.* Development of novel synthetic method of natural antimicrobial peptide TP4. **Tetrahedron Letters**, v. 79, p. 153299, 31 ago. 2021.
- ZUNDERT, G. C. P. VAN *et al.* The HADDOCK2.2 Web Server: User-Friendly Integrative Modeling of Biomolecular Complexes. **Journal of Molecular Biology**, v. 428, n. 4, p. 720–725, fev. 2016.