



B1

ISSN: 2595-1661

ARTIGO

Listas de conteúdos disponíveis em [Portal de Periódicos CAPES](#)

Revista JRG de Estudos Acadêmicos

Página da revista:

<https://revistajrg.com/index.php/jrg>

ISSN: 2595-1661

Revista JRG de
Estudos Acadêmicos

Prospecção e identificação *in silico* de peptídeos bioativos com potencial antifúngico a partir da *Handroanthus impetiginosus*

In silico prospecting and identification of bioactive peptides with antifungal potential from *Handroanthus impetiginosus*

DOI: 10.55892/jrg.v9i20.3240

ARK: 57118/JRG.v9i20.3240

Recebido: 26/04/2026 | Aceito: 28/04/2026 | Publicado *on-line*: 30/04/2026

Luiz Carlos Silva Dias Neto¹

<https://orcid.org/0009-0000-0048-3397>

<http://lattes.cnpq.br/000000000000000000>

Centro Universitário CESMAC.

E-mail: ccdiasnetoo@gmail.com

Carlos André da Silva Santos²

<https://orcid.org/0000-0003-0020-9763>

<http://lattes.cnpq.br/3295949147368703>

Centro Universitário CESMAC, FEJAL, Brasil.

E-mail: carlos.biomedicina@gmail.com

Lívia Maria Batista Vilela³

<https://orcid.org/0000-0003-3579-9089>

<http://lattes.cnpq.br/9131024465339491>

Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, Brasil

E-mail: liviambvilela@gmail.com



Resumo

A resistência antimicrobiana representa um dos principais desafios contemporâneos para a saúde pública global, impulsionando a busca por novas moléculas bioativas com potencial terapêutico. Entre as alternativas promissoras, destacam-se os peptídeos antimicrobianos (AMPs) de origem vegetal, especialmente as defensinas, devido à sua ampla atividade antimicrobiana, elevada estabilidade estrutural e potencial biotecnológico. Neste estudo, foi aplicado um pipeline bioinformático para prospecção *in silico* de peptídeos do tipo defensina no proteoma de *Handroanthus impetiginosus*. Inicialmente, foi construído um banco de referência contendo 392 defensinas vegetais previamente caracterizadas, obtidas no UniProt, utilizado posteriormente em análises de similaridade por BLASTp contra o proteoma completo da espécie. As análises resultaram na identificação de 4.819 sequências com similaridade a defensinas vegetais, as quais foram submetidas à filtragem estrutural por meio da identificação de domínios conservados utilizando o Batch CD-Search. Essa etapa permitiu selecionar 18 sequências contendo domínios característicos de defensinas, incluindo Gamma-thionin, Knot-1, Knot-1 superfamily e Defensin-like. A caracterização físico-química revelou predominância de proteínas com caráter catiônico, elevados valores de ponto isoelétrico

¹ Graduando(a) em Biomedicina pelo Centro Universitário CESMAC.

² Graduado(a) em Biomedicina. Mestre(a) em Engenharia Biomédica; Doutor(a) em Genética.

³ Graduado(a) em Ciências Biológicas; Mestre(a) em Recursos Hídricos e Saneamento; Doutor(a) em Ciências Biológicas.



e índices GRAVY negativos, compatíveis com propriedades típicas de AMPs. A predição de peptídeos sinal reduziu o conjunto para sete sequências com arquitetura compatível com defensinas maduras secretadas. Todas as sequências selecionadas foram classificadas como peptídeos antimicrobianos com probabilidade máxima pelo Antimicrobial Peptide Scanner v2. Adicionalmente, as análises estruturais realizadas no HeliQuest evidenciaram hidrofobicidade moderada e organização anfipática compatível com interação com membranas biológicas. Em conjunto, os resultados demonstram que o proteoma de *H. impetiginosus* representa uma fonte promissora de defensinas vegetais com potencial antimicrobiano. Além disso, a estratégia computacional empregada mostrou-se eficiente para identificação e priorização de candidatos biologicamente plausíveis, fornecendo uma base robusta para futuras validações experimentais e aplicações biotecnológicas.

Palavras-chave: Peptídeos antimicrobianos; *Handroanthus impetiginosus*; prospecção *in silico*; bioinformática.

Abstract

Antimicrobial resistance represents one of the main contemporary challenges for global public health, driving the search for new bioactive molecules with therapeutic potential. Among the promising alternatives, antimicrobial peptides (AMPs) of plant origin stand out, especially defensins, due to their broad antimicrobial activity, high structural stability, and biotechnological potential. In this study, a bioinformatics pipeline was applied for in silico prospecting of defensin-like peptides in the proteome of Handroanthus impetiginosus. Initially, a reference bank containing 392 previously characterized plant defensins, obtained from UniProt, was constructed and subsequently used in similarity analyses by BLASTp against the complete proteome of the species. The analyses resulted in the identification of 4,819 sequences with similarity to plant defensins, which were subjected to structural filtering through the identification of conserved domains using Batch CD-Search. This step allowed the selection of 18 sequences containing domains characteristic of defensins, including Gamma-thionin, Knot-1, Knot-1 superfamily, and Defensin-like. Physicochemical characterization revealed a predominance of proteins with cationic character, high isoelectric point values, and negative GRAVY indices, consistent with typical AMP properties. Signal peptide prediction reduced the set to seven sequences with architecture compatible with mature secreted defensins. All selected sequences were classified as antimicrobial peptides with maximum probability by the Antimicrobial Peptide Scanner v2. Additionally, structural analyses performed in HeliQuest showed moderate hydrophobicity and amphipathic organization compatible with interaction with biological membranes. Taken together, the results demonstrate that the proteome of H. impetiginosus represents a promising source of plant defensins with antimicrobial potential. Furthermore, the computational strategy employed proved efficient in identifying and prioritizing biologically plausible candidates, providing a robust basis for future experimental validations and biotechnological applications.

Keywords: Antimicrobial peptides; *Handroanthus impetiginosus*; *in silico* screening; bioinformatics.



1. Introdução

A resistência antimicrobiana representa atualmente uma das maiores ameaças à saúde pública global. O aumento contínuo de patógenos resistentes a múltiplas classes de antibióticos tem comprometido a eficácia das terapias antimicrobianas convencionais, resultando em infecções cada vez mais difíceis de tratar e em aumento significativo da mortalidade associada a doenças infecciosas. Estimativas recentes indicam que milhões de mortes anuais podem estar associadas à resistência antimicrobiana nas próximas décadas caso novas estratégias terapêuticas não sejam desenvolvidas (Murray *et al.*, 2022). Diante desse cenário, a World Health Organization tem enfatizado a necessidade urgente de identificar novas moléculas antimicrobianas capazes de atuar contra patógenos resistentes.

Entre as alternativas promissoras aos antibióticos tradicionais, os peptídeos antimicrobianos (AMPs, *antimicrobial peptides*) têm recebido crescente atenção da comunidade científica. Os AMPs são moléculas curtas geralmente compostas por 10 a 100 aminoácidos que fazem parte do sistema imunológico inato de diversos organismos, incluindo bactérias, fungos, plantas e animais (Hancock & Sahl, 2017; Wang *et al.*, 2016). Esses peptídeos apresentam ampla atividade antimicrobiana contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, fungos, vírus e parasitas (Lei *et al.*, 2019). Diferentemente dos antibióticos convencionais, muitos AMPs atuam por meio da interação direta com membranas celulares microbianas, promovendo desestabilização da membrana, formação de poros e consequentemente lise celular (Mookherjee *et al.*, 2020).

Os AMPs apresentam propriedades físico-químicas específicas que favorecem sua atividade biológica. Em geral, esses peptídeos possuem carga líquida positiva, caráter anfipático e proporção significativa de resíduos hidrofóbicos, características que facilitam a interação com membranas microbianas negativamente carregadas (Lei *et al.*, 2019). Além disso, muitos AMPs apresentam estruturas secundárias bem definidas, como α -hélices ou folhas β estabilizadas por pontes dissulfeto, o que contribui para sua estabilidade estrutural e atividade antimicrobiana (Zhang *et al.*, 2021).

As plantas representam uma importante fonte natural de peptídeos antimicrobianos. Durante a evolução, esses organismos desenvolveram complexos sistemas de defesa química e molecular capazes de protegê-los contra uma ampla variedade de patógenos e estresses ambientais (Oliveira *et al.*, 2025; Ha-Tran & Huang, 2025). Entre os peptídeos antimicrobianos vegetais, destacam-se diferentes famílias estruturais, incluindo defensinas, tioninas, proteínas de transferência lipídica e ciclotídeos (Slezina & Odintsova, 2023).

As defensinas vegetais constituem uma das classes mais estudadas de AMPs de origem vegetal. Esses peptídeos são geralmente pequenos, ricos em resíduos de cisteína e caracterizados por uma estrutura tridimensional altamente conservada estabilizada por múltiplas pontes dissulfeto (Parisi *et al.*, 2019). Essa organização estrutural confere elevada estabilidade térmica e resistência à degradação proteolítica, características que tornam esses peptídeos particularmente interessantes para aplicações biotecnológicas e farmacêuticas (Carvalho & Gomes, 2020).

Diversos estudos demonstram que defensinas vegetais apresentam atividade contra uma ampla gama de microrganismos, incluindo fungos fitopatogênicos, bactérias e alguns vírus (Velivelli *et al.*, 2020). Os mecanismos de ação desses peptídeos podem envolver interação com componentes da membrana celular, permeabilização de membranas, geração de espécies reativas de oxigênio e interferência em processos metabólicos essenciais para a sobrevivência microbiana (Zou *et al.*, 2023). Além disso,



alguns AMPs derivados de defensinas também demonstram atividade antibiofilme e propriedades imunomoduladoras (Zhao et al., 2024).

Nos últimos anos, o avanço das tecnologias de sequenciamento e das ferramentas de bioinformática tem possibilitado a descoberta de novos peptídeos antimicrobianos por meio de abordagens *in silico*. A mineração de dados genômicos, transcriptômicos e proteômicos tornou-se uma estratégia eficiente para a identificação de novos AMPs, permitindo a triagem rápida de grandes conjuntos de sequências biológicas (Porto et al., 2017; Fjell et al., 2018). Ferramentas computacionais podem ser utilizadas para prever propriedades físico-químicas, atividade antimicrobiana potencial, presença de peptídeos sinal, estabilidade molecular e estrutura tridimensional dessas moléculas antes mesmo da validação experimental (Waghu & Idicula-Thomas, 2020).

Nesse contexto, o uso de dados proteômicos tem se destacado como uma abordagem particularmente útil para a prospecção de peptídeos bioativos. A análise sistemática de proteomas permite identificar proteínas precursoras capazes de gerar fragmentos peptídicos com potencial atividade biológica. A aplicação de pipelines bioinformáticos envolvendo filtragem por tamanho, análise de propriedades físico-químicas, identificação de peptídeos sinal e predição estrutural possibilita a seleção de candidatos promissores para desenvolvimento de novos agentes antimicrobianos.

A espécie *Handroanthus impetiginosus* (*H. impetiginosus*), popularmente conhecida como ipê-roxo, é uma árvore nativa da América do Sul pertencente à família *Bignoniaceae*. Essa espécie apresenta grande importância ecológica e medicinal, sendo amplamente utilizada na medicina tradicional devido às suas propriedades anti-inflamatórias, antimicrobianas e antioxidantes (Gómez-Castellanos et al., 2016). Diversos metabólitos secundários isolados dessa planta, incluindo naftoquinonas como o lapachol e a β -lapachona, apresentam atividade biológica relevante e têm sido investigados por seu potencial farmacológico (Silva et al., 2019).

Apesar do potencial biotecnológico de *H. impetiginosus*, estudos relacionados à identificação de peptídeos antimicrobianos derivados dessa espécie ainda são relativamente escassos, especialmente utilizando abordagens baseadas em bioinformática e análise proteômica. A exploração do proteoma dessa espécie pode revelar novas sequências peptídicas com propriedades estruturais compatíveis com AMPs, ampliando o repertório de moléculas bioativas disponíveis para investigação farmacológica.

Dessa forma, o presente estudo teve como objetivo realizar a predição e caracterização *in silico* de peptídeos bioativos candidatos com potencial atividade antimicrobiana a partir do proteoma de *H. impetiginosus*. Para isso, foi aplicado um pipeline bioinformático envolvendo filtragem de sequências proteicas, análise de propriedades físico-químicas, identificação de peptídeos sinal e predição estrutural, visando identificar candidatos promissores para estudos futuros de validação experimental.

2 Metodologia

2.1 Banco de dados de defensinas vegetais

Sequências de defensinas vegetais foram obtidas a partir do UniProt Consortium (<https://www.uniprot.org/>) (release 2023_05) utilizando o descritor “defensin AND plant”, com priorização de entradas revisadas (Swiss-Prot) e inclusão complementar de registros TrEMBL com evidência funcional. Após exportação em formato FASTA, as sequências foram submetidas à curadoria manual para remoção de redundâncias e



exclusão de registros incompletos, considerando a presença de cisteínas conservadas e comprimento típico (45–60 aminoácidos). O conjunto final foi consolidado em arquivo FASTA e utilizado como base de referência.

2.2 Análise de similaridade contra o proteoma de *Handroanthus impetiginosus*

A análise de similaridade foi realizada com BLASTp (BLAST+ v2.13.0) em ambiente Linux. O proteoma de *Handroanthus impetiginosus* foi formatado como banco de dados local com *makeblastdb*. As sequências de referência foram utilizadas como *query*, adotando parâmetros padrão (BLOSUM62; gap open 11; gap extend 1; filtro de baixa complexidade ativado) e saída no formato tabular (-outfmt 7).

Foram considerados apenas alinhamentos com e-value $\leq 1e-5$, identidade $\geq 30\%$ e cobertura $\geq 50\%$, com limite de 5000 alinhamentos por sequência.

2.3 Integração das sequências candidatas

Os resultados do BLAST foram processados na plataforma Galaxy (v23.1) (<https://usegalaxy.org/>), com remoção de comentários e conversão para formato tabular. Os identificadores das sequências alvo foram extraídos, mantendo-se o melhor *hit* por entrada com base no menor e-value.

O proteoma foi convertido para formato tabular e integrado aos resultados por meio de *inner join*, utilizando correspondência exata entre identificadores. Sequências duplicadas foram removidas. O conjunto final (4.819 sequências) foi exportado em FASTA e subdividido em seis arquivos (~800 sequências cada) para otimização das análises subsequentes.

2.4 Identificação de domínios conservados

A identificação de domínios foi realizada com Batch CD-Search (v3.19; CDD v3.19) (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/bwrpsb/bwrpsb.cgi>), utilizando RPS-BLAST e e-value ≤ 0.01 . Apenas sequências contendo domínios característicos de defensinas, incluindo padrões ricos em cisteína e arquitetura CS $\alpha\beta$, foram selecionadas.

2.5 Caracterização físico-química das proteínas

As propriedades físico-químicas foram determinadas com ProtParam (ExPASy) (<https://web.expasy.org/protparam/>), incluindo peso molecular, ponto isoelétrico, resíduos carregados (positivos e negativos) e índice GRAVY, conforme o método de Kyte & Doolittle.

2.6 Predição de peptídeos sinal

A predição de peptídeos sinal foi conduzida com SignalP v5.0 (modo eucarioto; modelo DNN) (<https://services.healthtech.dtu.dk/services/SignalP-6.0/>), considerando como positivas sequências com alta probabilidade de secreção e sítio de clivagem definido.

2.7 Predição de atividade antimicrobiana

O potencial antimicrobiano foi avaliado com Antimicrobial Peptide Scanner v2 (<https://www.dveltri.com/ascan/v2/>), utilizando modelo de *deep learning*. Sequências com probabilidade $\geq 0,5$ foram classificadas como peptídeos antimicrobianos.

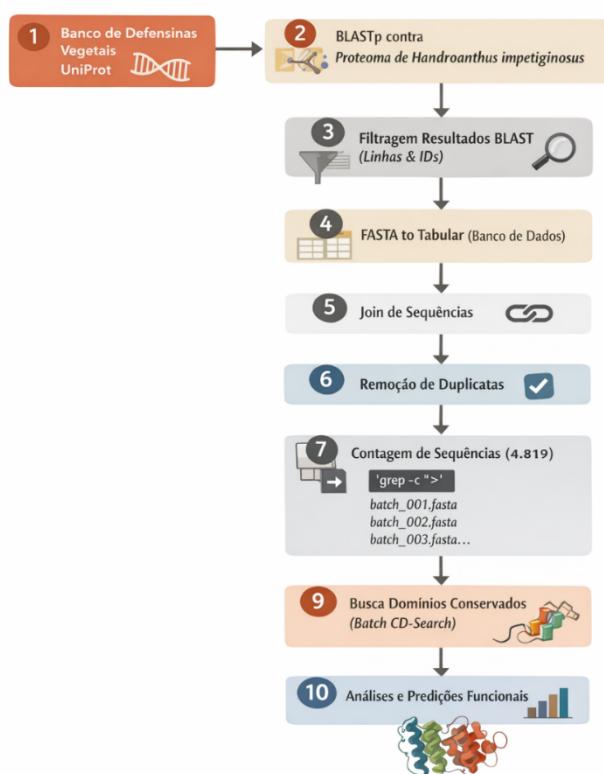
2.8 Análise estrutural de propriedades anfipáticas



A análise estrutural foi realizada no HeliQuest (<https://heliquest.ipmc.cnrs.fr/index.html>), utilizando janela de 18 resíduos e modelo α -hélice. Foram avaliados momento hidrofóbico, hidrofobicidade média e distribuição de cargas para inferência de propriedades anfipáticas.

O pipeline integrou etapas sequenciais de prospecção, filtragem e caracterização funcional, constituindo uma abordagem reprodutível para identificação *in silico* de defensas vegetais. A representação do fluxo metodológico encontra-se na Figura 1.

Figura 1 – Pipeline computacional para prospecção *in silico* de defensas no proteoma de *Handroanthus impetiginosus*.



O fluxo inclui a construção do banco de dados de referência a partir do UniProt, análise de similaridade por BLASTp, processamento e integração dos resultados na plataforma Galaxy, seguida por identificação de domínios conservados e análises funcionais e estruturais.

3. Resultados

3.1 Base de dados de defensas vegetais

A construção do banco de dados de referência resultou em um conjunto contendo 392 sequências de defensas vegetais previamente caracterizadas. Essas sequências foram obtidas a partir do banco de dados UniProt e organizadas em formato FASTA para utilização nas análises subsequentes de similaridade.

O conjunto de defensas vegetais foi utilizado como base comparativa para a identificação de proteínas potencialmente relacionadas a peptídeos antimicrobianos no



proteoma de *Handroanthus impetiginosus*, permitindo estabelecer um ponto de partida para a prospecção computacional dessas moléculas.

3.2 Análise de similaridade contra o proteoma de *h. Impetiginosus*

As análises de similaridade realizadas com o algoritmo BLAST permitiram identificar diversas proteínas no proteoma de *Handroanthus impetiginosus* contendo regiões homólogas às defensinas vegetais de referência. As buscas utilizaram o proteoma completo da espécie disponível no NCBI.

Os resultados evidenciaram um amplo conjunto de sequências com diferentes graus de similaridade às defensinas vegetais, sugerindo a presença de múltiplas proteínas no proteoma que compartilham características estruturais típicas dessa classe de peptídeos antimicrobianos.

3.3 Integração das sequências candidatas

Os resultados das análises de similaridade foram integrados ao banco de dados proteômico da espécie por meio da ferramenta Join, disponível na plataforma Galaxy. Esse processo possibilitou a associação dos identificadores obtidos no BLAST às sequências proteicas completas correspondentes no proteoma de *Handroanthus impetiginosus*.

Como resultado, foi gerado um conjunto contendo 4.819 sequências proteicas em formato FASTA, correspondente às proteínas que apresentaram algum grau de similaridade com defensinas vegetais previamente caracterizadas.

Devido ao elevado número de sequências, o conjunto foi subdividido em grupos com aproximadamente 800 sequências cada, a fim de viabilizar o processamento das análises subsequentes de domínios conservados.

3.4 Identificação de domínios conservados

Cada subconjunto de sequências foi submetido à análise de domínios conservados utilizando a ferramenta Batch CD-Search. Essa análise teve como objetivo identificar regiões estruturais características de proteínas pertencentes à família das defensinas vegetais.

A triagem estrutural revelou a presença de domínios conservados associados a peptídeos antimicrobianos em um subconjunto das proteínas analisadas. Em particular, foram identificadas sequências contendo domínios pertencentes às famílias Gamma-thionin, Knot-1, Knot-1 superfamily e Defensin-like, estruturas tipicamente associadas a proteínas ricas em resíduos de cisteína estabilizadas por pontes dissulfeto.

Ao final dessa etapa de filtragem estrutural foram identificadas 18 sequências proteicas contendo domínios compatíveis com defensinas vegetais, as quais foram selecionadas para análises subsequentes de caracterização molecular.

3.5 Caracterização físico-química das proteínas

As 18 sequências contendo domínios relacionados a defensinas vegetais foram submetidas à análise de propriedades físico-químicas, incluindo a determinação do ponto isoelétrico teórico (pI), o número de resíduos carregados negativamente e positivamente, além do índice GRAVY (Grand Average of Hydropathy), conforme apresentado na Tabela 1.

**Tabela 1 – Propriedades físico-químicas das sequências contendo domínios relacionados a defensinas vegetais**

ID	pI	Resíduos negativos	Resíduos positivos	GRAVY
PIM97690.1	9.14	2	8	-0.702
PIM99519.1	4.33	16	9	-0.515
PIM99520.1	4.55	18	11	-0.795
PIM99521.1	4.81	11	7	-0.037
PIM99587.1	9.17	4	10	-0.549
PIM99588.1	8.53	4	7	-0.249
PIN01663.1	9.00	7	13	-0.656
PIN01664.1	9.13	7	14	-0.702
PIN04961.1	9.63	2	11	-0.843
PIN06150.1	9.49	1	9	-0.532
PIN07346.1	8.22	6	8	-0.428
PIN07347.1	8.97	4	9	-1.053
PIN07348.1	8.69	9	17	-0.574
PIN14865.1	7.68	7	8	-0.298
PIN11367.1	7.13	6	6	-0.435
PIN15343.1	9.19	2	8	-0.637
PIN15344.1	9.19	2	8	-0.637
PIN20527.1	8.10	4	6	-0.741

A avaliação desses parâmetros evidenciou ampla variação nas propriedades físico-químicas das proteínas. Observou-se que diversas sequências apresentam valores elevados de pI, frequentemente superiores a 8,0, indicando caráter predominantemente catiônico. Adicionalmente, a maioria apresentou valores negativos de GRAVY, sugerindo caráter globalmente hidrofílico.

3.6 Predição de peptídeos sinal

As 18 sequências selecionadas foram submetidas à análise de peptídeo sinal por meio da ferramenta SignalP, com o objetivo de identificar proteínas potencialmente direcionadas à via secretória celular. Os peptídeos sinal correspondem a curtas sequências de aminoácidos, geralmente localizadas na extremidade N-terminal, responsáveis pelo direcionamento de proteínas para secreção ou inserção em membranas

A análise indicou a presença de regiões compatíveis com peptídeos sinal em diversas sequências. Contudo, após avaliação do comprimento das cadeias polipeptídicas e da posição do sítio de clivagem, apenas sete apresentaram arquitetura compatível com peptídeos antimicrobianos maduros.

As demais foram descartadas por exibirem cadeias polipeptídicas excessivamente longas ou regiões sinal incompatíveis com a identificação precisa do peptídeo maduro.

3.7 Predição de atividade antimicrobiana

As sete sequências selecionadas foram submetidas à predição de atividade antimicrobiana por meio da ferramenta Antimicrobial Peptide Scanner v2.



Todas as sequências foram classificadas como peptídeos antimicrobianos (AMP), apresentando probabilidade de predição igual a 1,0. As propriedades físico-químicas correspondentes estão apresentadas na Tabela 2.

Tabela 2 – Sequências selecionadas com potencial antimicrobiano

ID	Classificação	Probabilidade	pI	Resíduos negativos	Resíduos positivos	GRAVY
PIM97690.1	AMP	1.0	9.14	2	8	-0.702
PIN04961.1	AMP	1.0	9.63	2	11	-0.843
PIN06150.1	AMP	1.0	9.49	1	9	-0.532
PIN07346.1	AMP	1.0	8.22	6	8	-0.428
PIN07347.1	AMP	1.0	8.97	4	9	-1.053
PIN15343.1	AMP	1.0	9.19	2	8	-0.637
PIN15344.1	AMP	1.0	9.19	2	8	+0.637

3.8 Análise estrutural de propriedades anfipáticas

As sete sequências classificadas como peptídeos antimicrobianos foram submetidas à análise estrutural por meio da ferramenta HeliQuest.

Essa abordagem permitiu avaliar parâmetros relacionados à formação de hélices anfipáticas, incluindo hidrofobicidade média, momento hidrofóbico e a proporção de resíduos polares e não polares ao longo das regiões analisadas. Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 – Propriedades estruturais preditas por HeliQuest

ID	Hidrofobicidade média	Momento hidrofóbico	Resíduos polares (%)	Resíduos não polares (%)
PIM97690.1	0.41	0.22	67	33
PIN04961.1	0.55	0.30	61	39
PIN06150.1	0.34	0.18	65	35
PIN07346.1	0.17	0.02	72	28
PIN07347.1	0.29	0.14	70	30
PIN15343.1	0.46	0.25	66	34
PIN15344.1	0.46	0.25	66	34

Os resultados indicam que as sequências apresentam hidrofobicidade moderada e distribuição equilibrada entre resíduos polares e não polares, sugerindo potencial para a formação de superfícies anfipáticas, característica típica de peptídeos antimicrobianos com capacidade de interação com membranas celulares.

De forma integrada, os achados indicam que o proteoma de *Handroanthus impetiginosus* abriga um repertório consistente de proteínas com potencial função antimicrobiana. A estratégia de filtragem progressiva, baseada em similaridade de sequência, presença de domínios conservados, arquitetura compatível com secreção e propriedades físico-químicas, permitiu a seleção de um conjunto restrito de peptídeos que reúnem características clássicas de defensinas vegetais.



Destaca-se o predomínio de caráter catiônico, aliado à hidrofobicidade moderada e à organização anfipática, propriedades diretamente relacionadas à interação com membranas biológicas e à atividade antimicrobiana descrita para essa classe de moléculas. Adicionalmente, a presença de peptídeos sinal e a compatibilidade estrutural com formas maduras reforçam a possibilidade de atuação no ambiente extracelular, sugerindo envolvimento nos mecanismos de defesa da planta. Em conjunto, esses resultados não apenas validam a abordagem computacional empregada, como também apontam para o potencial funcional e biotecnológico das sequências identificadas, aspectos que serão explorados em maior profundidade na seção de discussão.

4. Discussão

A prospecção *in silico* de defensinas no proteoma de *Handroanthus impetiginosus* evidenciou um padrão recorrente em pipelines modernos de mineração de peptídeos antimicrobianos (AMPs), caracterizado por uma expansão inicial ampla de candidatos baseada em similaridade de sequência, seguida por um refinamento progressivo e altamente restritivo. A identificação de 4.819 sequências com similaridade a defensinas vegetais, conforme observado nos resultados, deve ser interpretada com cautela, uma vez que abordagens baseadas exclusivamente em homologia tendem a superestimar candidatos funcionais, especialmente em famílias proteicas ricas em cisteína amplamente distribuídas em genomas vegetais (Zou et al., 2023). Esse comportamento reflete a limitação intrínseca de ferramentas como o BLAST em discriminar função biológica diante de conservação estrutural associada à divergência funcional.

Nesse contexto, a identificação de domínios conservados desempenhou papel central na redução de falsos positivos, permitindo restringir o conjunto a sequências com assinaturas estruturais compatíveis com defensinas, como os domínios Gamma-thionin, Knot-1 e Defensin-like. Essas estruturas, ricas em resíduos de cisteína, formam pontes dissulfeto intramoleculares que conferem elevada estabilidade estrutural e resistência à degradação proteolítica, propriedades essenciais para atuação em ambientes extracelulares (Slezina & Odintsova, 2023). Além disso, tais domínios estão diretamente relacionados à manutenção da conformação tridimensional necessária para interação com alvos microbianos, reforçando a relevância funcional das sequências selecionadas.

A caracterização físico-química revelou um perfil amplamente consistente com o modelo clássico de AMPs, mas também evidenciou nuances relevantes. O predomínio de valores elevados de ponto isoelétrico ($pI > 8,0$), observado na maioria das sequências selecionadas, indica caráter catiônico e favorece a interação eletrostática com membranas microbianas negativamente carregadas. Esse mecanismo constitui uma etapa inicial crítica para a atividade antimicrobiana, promovendo o acúmulo dos peptídeos na superfície celular (Zou et al., 2023; Tang et al., 2023). No entanto, evidências recentes indicam que a carga positiva, isoladamente, não determina a atividade biológica, sendo necessária a integração com propriedades estruturais e dinâmicas (Farvardin et al., 2024).

Os valores negativos de GRAVY, predominantes nas sequências analisadas, indicam caráter globalmente hidrofílico, o que, à primeira vista, contrasta com modelos clássicos de AMPs altamente hidrofóbicos. Contudo, esse padrão é compatível com defensinas vegetais, que apresentam hidrofobicidade global moderada, mas organização espacial capaz de gerar superfícies anfipáticas funcionais (Slezina & Odintsova, 2023). Essa configuração permite manter solubilidade em meio aquoso, ao mesmo tempo em que preserva regiões aptas à interação com membranas. Além disso, defensinas vegetais podem atuar por mecanismos alternativos, como ligação a componentes da parede



celular, modulação metabólica e indução de respostas celulares em patógenos, ampliando seu espectro funcional (Tang et al., 2023; Montesinos, 2023).

A análise estrutural das propriedades anfipáticas reforça essa interpretação, evidenciando hidrofobicidade moderada e distribuição equilibrada entre resíduos polares e não polares, conforme descrito nos resultados. Esse perfil sugere que as sequências identificadas não dependem exclusivamente da formação de hélices anfipáticas clássicas, mas provavelmente adotam estruturas tridimensionais estabilizadas por pontes dissulfeto, nas quais a anfipaticidade emerge da organização global da molécula. Esse padrão é característico de defensinas vegetais e está associado a mecanismos de ação mais específicos e seletivos, frequentemente com menor citotoxicidade em células hospedeiras (Zou et al., 2023). Nesse contexto, variações no momento hidrofóbico, como observado para a sequência PIN04961.1 — podem refletir diferenças no modo de interação com membranas ou até indicar mecanismos alternativos de ação.

Um aspecto particularmente relevante evidenciado nos resultados foi a presença de sequências com propriedades físico-químicas idênticas, como PIN15343.1 e PIN15344.1. Essa duplicidade pode refletir tanto fenômenos biológicos quanto limitações técnicas. Em plantas, a expansão de famílias de defensinas por duplicação gênica é amplamente documentada e frequentemente associada à diversificação funcional e adaptação a pressões seletivas (Oliveira et al., 2024). No entanto, a identidade completa entre os parâmetros observados sugere também a possibilidade de redundância no banco de dados, como registros duplicados ou múltiplos identificadores atribuídos à mesma proteína. Dessa forma, essa ambiguidade deve ser considerada como uma limitação do estudo, uma vez que pode levar à superestimação do número de candidatos. Para mitigar esse viés, análises adicionais são recomendadas, incluindo alinhamento múltiplo de sequências, avaliação de identidade global, mapeamento em loci genômicos e análise de redundância em nível de proteoma. Essas abordagens permitirão distinguir entre isoformas verdadeiras e artefatos de anotação, refinando a interpretação dos dados e aumentando a robustez das conclusões.

A predição de peptídeo sinal foi determinante para a seleção final dos candidatos, reduzindo o conjunto para sete sequências com arquitetura compatível com peptídeos antimicrobianos maduros. Esse resultado é biologicamente coerente, considerando que defensinas vegetais são sintetizadas como pré-pró-peptídeos contendo peptídeo sinal, pró-domínio e peptídeo maduro ativo (Slezina & Odintsova, 2023). No entanto, a exclusão de sequências mais longas pode introduzir um viés metodológico, uma vez que fragmentos derivados de proteínas maiores também podem apresentar atividade antimicrobiana após processamento proteolítico (Montesinos, 2023), sugerindo que o pipeline adotado pode ter sido conservador.

A predição de atividade antimicrobiana com probabilidade máxima para todas as sete sequências indica alta consistência entre as ferramentas utilizadas. Ainda assim, modelos baseados em aprendizado de máquina podem apresentar viés em relação a conjuntos de treinamento enriquecidos em peptídeos catiônicos e ricos em cisteína, o que pode superestimar a atividade predita (Farvardin et al., 2024). Assim, a validação experimental permanece essencial.

De forma geral, os resultados obtidos em consonância com a interpretação apresentada na seção anterior reforçam que a atividade antimicrobiana em peptídeos vegetais emerge da integração entre carga, hidrofobicidade, distribuição de resíduos e organização estrutural tridimensional. A abordagem empregada demonstrou alta eficiência na priorização de candidatos com plausibilidade biológica, mas limitações



inerentes, como redundância de dados, viés de predição e ausência de validação experimental, devem ser consideradas. Nesse cenário, a combinação de refinamento bioinformático adicional e validação experimental representa o próximo passo fundamental para consolidar o potencial biotecnológico das sequências identificadas.

5. Conclusão

A prospecção *in silico* conduzida no proteoma de *Handroanthus impetiginosus* permitiu a identificação de um conjunto de peptídeos com características estruturais e funcionais compatíveis com defensinas vegetais. A abordagem integrativa empregada — combinando análise de similaridade, identificação de domínios conservados, caracterização físico-química, predição de peptídeo sinal e avaliação estrutural — mostrou-se eficaz na triagem e priorização de candidatos com elevada plausibilidade biológica.

A redução progressiva do conjunto inicial de sequências resultou na seleção de sete peptídeos com forte potencial antimicrobiano, os quais apresentam propriedades clássicas dessa classe, como caráter catiônico, hidrofobicidade moderada e organização anfipática. Essas características estão diretamente associadas à capacidade de interação com membranas celulares e à atividade antimicrobiana descrita para defensinas vegetais.

Entretanto, limitações inerentes à abordagem computacional devem ser consideradas, incluindo possíveis redundâncias no conjunto de dados, vieses associados a ferramentas preditivas e a ausência de validação experimental. Em particular, a presença de sequências com propriedades idênticas destaca a necessidade de análises adicionais para distinção entre duplicações gênicas reais e artefatos de anotação.

Dessa forma, os resultados obtidos fornecem uma base robusta para estudos futuros, incluindo validação experimental da atividade antimicrobiana, análises estruturais tridimensionais e investigação dos mecanismos de ação. Em conjunto, os peptídeos identificados representam candidatos promissores para aplicações biotecnológicas, especialmente no desenvolvimento de novos agentes antimicrobianos de origem vegetal.

Referências

- Aerts, A. M. et al. The mode of antifungal action of plant defensins. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 65, n. 13, p. 2069–2079, 2008.
- Almagro Armenteros, J. J. et al. SignalP 5.0 improves signal peptide predictions using deep neural networks. **Nature Biotechnology**, v. 37, n. 4, p. 420–423, 2019.
- Altschul, S. F. et al. Basic local alignment search tool. **Journal of Molecular Biology**, v. 215, n. 3, p. 403–410, 1990.
- APG IV. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 181, n. 1, p. 1–20, 2016.
- Bahar, A. A.; Ren, D. Antimicrobial peptides. **Pharmaceuticals**, v. 6, n. 12, p. 1543–1575, 2013.
- Bleackley, M. R.; Anderson, M. A. Plant defensins: structure, function and applications. **Plant Cell Reports**, v. 38, n. 5, p. 547–558, 2019.
- Broekaert, W. F. et al. Plant defensins: novel antimicrobial peptides as components of the host defense system. **Plant Physiology**, v. 108, n. 4, p. 1353–1358, 1995.
- Brogden, K. A. Antimicrobial peptides: pore formers or metabolic inhibitors in bacteria? **Nature Reviews Microbiology**, v. 3, n. 3, p. 238–250, 2005.



- Brown, K. L.; Hancock, R. E. W. Cationic host defense peptides. **Current Opinion in Immunology**, v. 18, n. 1, p. 24–30, 2006.
- Campos, M. L. et al. The role of antimicrobial peptides in plant immunity. **Journal of Experimental Botany**, v. 69, n. 21, p. 4997–5011, 2018.
- Carvalho, A. O.; Gomes, V. M. Plant defensins—prospects for the biological functions and biotechnological properties. **Peptides**, v. 30, n. 5, p. 1007–1020, 2009.
- Carvalho, A. O.; Gomes, V. M. Plant defensins and defensin-like peptides: biological activities and biotechnological applications. **Current Pharmaceutical Design**, v. 17, n. 38, p. 4270–4293, 2011.
- De Coninck, B.; Cammue, B. P. A.; Thevissen, K. Modes of antifungal action and in planta functions of plant defensins. **Fungal Biology Reviews**, v. 26, n. 4, p. 109–120, 2013.
- Diamond, G.; Beckloff, N.; Ryan, L. K. Host defense peptides in the oral cavity and the lung: similarities and differences. **Journal of Dental Research**, v. 87, n. 10, p. 915–927, 2008.
- Eisenberg, D.; Weiss, R. M.; Terwilliger, T. C. The hydrophobic moment detects periodicity in protein hydrophobicity. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 81, n. 1, p. 140–144, 1984.
- Farvardin, A. et al. The dual role of antimicrobial proteins and peptides: exploring their direct impact and plant defense-enhancing abilities. **Plants**, v. 13, n. 15, p. 2059, 2024.
- Felicio, M. R. et al. Peptides with dual antimicrobial and anticancer activities. **Frontiers in Chemistry**, v. 5, p. 5, 2017.
- Finn, R. D.; Clements, J.; Eddy, S. R. HMMER web server: interactive sequence similarity searching. **Nucleic Acids Research**, v. 39, suppl. 2, p. W29–W37, 2011.
- Fjell, C. D. et al. Designing antimicrobial peptides: form follows function. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 11, n. 1, p. 37–51, 2012.
- Franco, O. L. Peptide promiscuity: an evolutionary concept for plant defense. **FEBS Letters**, v. 585, n. 7, p. 995–1000, 2011.
- Garcia-Olmedo, F. et al. Plant defense peptides. **Biopolymers**, v. 47, n. 6, p. 479–491, 1998.
- Gasteiger, E. et al. Protein identification and analysis tools on the ExPASy server. **Methods in Molecular Biology**, v. 112, p. 571–607, 2005.
- Gautier, R. et al. HELIQUEST: a web server to screen sequences with specific α -helical properties. **Bioinformatics**, v. 24, n. 18, p. 2101–2102, 2008.
- Ganz, T. Defensins: antimicrobial peptides of innate immunity. **Nature Reviews Immunology**, v. 3, n. 9, p. 710–720, 2003.
- Gentry, A. H. Bignoniaceae. **Flora Neotropica Monograph**, v. 25, p. 1–370, 1992.
- Gómez-Castellanos, J. R. et al. Medicinal properties of *Tabebuia impetiginosa*: a review. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 121, n. 1, p. 1–13, 2009.
- Grose, S. O.; Olmstead, R. G. Taxonomic revisions in Bignoniaceae. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v. 94, n. 3, p. 660–669, 2007.
- Hancock, R. E. W.; Chapple, D. S. Peptide antibiotics. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 43, n. 6, p. 1317–1323, 1999.
- Hancock, R. E. W.; Sahl, H. G. Antimicrobial and host-defense peptides as new anti-infective therapeutic strategies. **Nature Biotechnology**, v. 24, n. 12, p. 1551–1557, 2006.
- Ha-Tran, D. M.; Huang, E. Plant antimicrobial peptides and their potential applications. **Current Protein and Peptide Science**, v. 26, n. 1, p. 1–15, 2025.
- Hegedüs, N.; Marx, F. Antifungal proteins: more than antimicrobials? **Fungal Biology Reviews**, v. 26, n. 4, p. 132–145, 2013.



- Hilpert, K. et al. Screening and characterization of antimicrobial peptides. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 61, n. 3, p. 551–559, 2008.
- Hirt, H.; Shoffner, R. N. Plant defense peptides. **Trends in Plant Science**, v. 10, n. 6, p. 295–299, 2005.
- Jones, P. et al. InterProScan 5: genome-scale protein function classification. **Bioinformatics**, v. 30, n. 9, p. 1236–1240, 2014.
- Kang, X. et al. DRAMP 2.0, an updated data repository of antimicrobial peptides. **Nucleic Acids Research**, v. 47, n. D1, p. D260–D266, 2019.
- Kumar, S. et al. MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. **Molecular Biology and Evolution**, v. 35, n. 6, p. 1547–1549, 2018.
- Kyte, J.; Doolittle, R. F. A simple method for displaying the hydropathic character of a protein. **Journal of Molecular Biology**, v. 157, n. 1, p. 105–132, 1982.
- Lacerda, A. F. et al. Antifungal defensins and their role in plant defense. **Frontiers in Microbiology**, v. 5, p. 116, 2014.
- Lay, F. T.; Anderson, M. A. Defensins—components of the innate immune system in plants. **Current Protein and Peptide Science**, v. 6, n. 1, p. 85–101, 2005.
- Lei, J. et al. The antimicrobial peptides and their potential clinical applications. **American Journal of Translational Research**, v. 11, n. 7, p. 3919–3931, 2019.
- Lohmann, L. G. Bignoniaceae in the Neotropics. **Plant Systematics and Evolution**, v. 258, n. 1–2, p. 103–116, 2006.
- Mahlapuu, M. et al. Antimicrobial peptides: an emerging category of therapeutic agents. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 6, p. 194, 2016.
- Mangoni, M. L.; Shai, Y. Short native antimicrobial peptides and engineered ultrashort lipopeptides. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 66, n. 19, p. 3057–3066, 2009.
- Marchler-Bauer, A. et al. CDD/SPARCLE: functional classification of proteins via subfamily domain architectures. **Nucleic Acids Research**, v. 45, n. D1, p. D200–D203, 2017.
- Marr, A. K.; Gooderham, W. J.; Hancock, R. E. W. Antibacterial peptides for therapeutic use: obstacles and realistic outlook. **Current Opinion in Pharmacology**, v. 6, n. 5, p. 468–472, 2006.
- Mishra, B. et al. Host defense antimicrobial peptides as antibiotics: design and application strategies. **Drug Discovery Today**, v. 22, n. 5, p. 761–772, 2017.
- Montesinos, E. Functional peptides for plant disease control. **Annual Review of Phytopathology**, v. 61, p. 301–324, 2023.
- Mookherjee, N. et al. Immunomodulatory properties of antimicrobial peptides. **Biochemical Society Transactions**, v. 48, n. 1, p. 1–12, 2020.
- Müller, A. T. et al. modLAMP: Python for antimicrobial peptides. **Bioinformatics**, v. 33, n. 17, p. 2753–2755, 2017.
- Murray, C. J. L. et al. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. **The Lancet**, v. 399, n. 10325, p. 629–655, 2022.
- Nawrot, R. et al. Plant antimicrobial peptides. **Folia Microbiologica**, v. 59, n. 3, p. 181–196, 2014.
- 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, 2011.
- Odintsova, T. I.; Egorov, T. A. Plant defensins. **Russian Journal of Bioorganic Chemistry**, v. 31, n. 3, p. 273–285, 2005.
- Oliveira, S. S. S. et al. Plant antimicrobial peptides and their main families and roles: a review of the literature. **Current Issues in Molecular Biology**, v. 47, n. 1, p. 1, 2024.



- Parisi, K. et al. The evolution, function and mechanisms of action for plant defensins. **Seminars in Cell & Developmental Biology**, v. 88, p. 107–118, 2019.
- Pelegrini, P. B.; Franco, O. L. Plant gamma-thionins: novel insights on the mechanism of action of a multi-functional class of defense proteins. **International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 37, n. 11, p. 2239–2253, 2005.
- Pettersen, E. F. et al. UCSF Chimera—a visualization system for exploratory research and analysis. **Journal of Computational Chemistry**, v. 25, n. 13, p. 1605–1612, 2004.
- Pirtskhalava, M. et al. DBAASP v3: database of antimicrobial/cytotoxic activity and structure of peptides as a resource for development of new therapeutics. **Nucleic Acids Research**, v. 49, n. D1, p. D288–D297, 2021.
- Porto, W. F.; Franco, O. L. Computational tools for antimicrobial peptide discovery. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 19, n. 34, p. 309–323, 2019.
- Porto, W. F.; Pires, Á. S.; Franco, O. L. Computational tools for exploring sequence databases as a resource for antimicrobial peptides. **Biotechnology Advances**, v. 35, n. 3, p. 337–349, 2017.
- Postic, G.; van der Helm, E.; Bihel, F. Structure prediction of antimicrobial peptides. **Biochimie**, v. 151, p. 21–29, 2018.
- Ribeiro, S. M. et al. Plant antimicrobial peptides: an overview. **Protein and Peptide Letters**, v. 17, n. 10, p. 1287–1296, 2010.
- Saitou, N.; Nei, M. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. **Molecular Biology and Evolution**, v. 4, n. 4, p. 406–425, 1987.
- Schiffer, M.; Edmundson, A. B. Use of helical wheel diagrams to represent protein structures. **Biophysical Journal**, v. 7, n. 2, p. 121–135, 1967.
- Sels, J. et al. Plant pathogenesis-related proteins: a focus on PR peptides. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 46, n. 11, p. 941–950, 2008.
- Shafee, T. M. A. et al. Convergent evolution of defensin sequence, structure and function. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 74, n. 4, p. 663–682, 2017.
- Sievers, F.; Higgins, D. G. Clustal Omega for making accurate alignments of many protein sequences. **Protein Science**, v. 27, n. 1, p. 135–145, 2018.
- Silverstein, K. A. T. et al. Small cysteine-rich peptides resembling antimicrobial peptides have been under-predicted in plants. **The Plant Journal**, v. 51, n. 2, p. 262–280, 2007.
- Slezina, M. P.; Odintsova, T. I. Plant antimicrobial peptides: insights into structure-function relationships for practical applications. **Current Issues in Molecular Biology**, v. 45, n. 4, p. 3674–3704, 2023.
- Stotz, H. U.; Thomson, J. G.; Wang, Y. Plant defensins: defense, development and application. **Plant Signaling & Behavior**, v. 4, n. 11, p. 1010–1012, 2009.
- Tam, J. P. et al. Antimicrobial peptides from plants. **Pharmaceuticals**, v. 8, n. 4, p. 711–757, 2015.
- Tang, R. et al. Application of antimicrobial peptides in plant protection: making use of the overlooked merits. **Frontiers in Plant Science**, v. 14, p. 1139539, 2023.
- Thomma, B. P. H. J.; Cammue, B. P. A.; Thevissen, K. Plant defensins. **Planta**, v. 216, n. 2, p. 193–202, 2002.
- Torrent, M. et al. Connecting peptide physicochemical and antimicrobial properties by a rational prediction model. **PLoS ONE**, v. 6, n. 2, p. e16968, 2011.
- Tossi, A.; Sandri, L.; Giangaspero, A. Amphipathic, α -helical antimicrobial peptides. **Biopolymers**, v. 55, n. 1, p. 4–30, 2000.
- UniProt Consortium. UniProt: the Universal Protein Knowledgebase in 2023. **Nucleic Acids Research**, v. 51, n. D1, p. D523–D531, 2023.



- Van der Weerden, N. L.; Anderson, M. A. Plant defensins: common fold, multiple functions. **Fungal Biology Reviews**, v. 26, n. 4, p. 121–131, 2013.
- Velivelli, S. L. S. et al. Antifungal plant defensins and their mechanisms of action. **Molecules**, v. 25, n. 18, p. 4324, 2020.
- Waghu, F. H.; Barai, R. S.; Gurung, P.; Idicula-Thomas, S. CAMP: collection of sequences and structures of antimicrobial peptides. **Nucleic Acids Research**, v. 44, n. D1, p. D1094–D1097, 2016.
- Waghu, F. H.; Idicula-Thomas, S. Collection of antimicrobial peptides database and its applications. **Methods in Molecular Biology**, v. 2105, p. 39–51, 2020.
- Wang, G. Human antimicrobial peptides and proteins. **Pharmaceuticals**, v. 7, n. 5, p. 545–594, 2014.
- Wang, G.; Li, X.; Wang, Z. APD3: the antimicrobial peptide database as a tool for research and education. **Nucleic Acids Research**, v. 44, n. D1, p. D1087–D1093, 2016.
- Waterhouse, A. et al. SWISS-MODEL: homology modelling of protein structures and complexes. **Nucleic Acids Research**, v. 46, n. W1, p. W296–W303, 2018.
- Yeaman, M. R.; Yount, N. Y. Mechanisms of antimicrobial peptide action and resistance. **Pharmacological Reviews**, v. 55, n. 1, p. 27–55, 2003.
- Zasloff, M. Antimicrobial peptides of multicellular organisms. **Nature**, v. 415, n. 6870, p. 389–395, 2002.
- Zhang, L. et al. Antimicrobial peptides with therapeutic potential. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, v. 6, p. 1–15, 2021.
- Zhao, X. et al. Plant defensins and their applications in antimicrobial biotechnology. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 25, n. 2, p. 1021, 2024.
- Zou, F. et al. Plant antimicrobial peptides: a comprehensive review of their classification, production, mode of action, functions, applications, and challenges. **Food & Function**, v. 14, n. 12, p. 5492–5515, 2023.