

DOI: 10.35621/23587490.v7.n1.p1461-1479

## AVALIAÇÃO DAS POSSÍVEIS INTERAÇÕES POR *DOCKING* MOLECULAR DOS FITOCONSTITUINTES DO ÓLEO ESSENCIAL DE *ROSMARINUS OFFICINALIS* L. EM ENZIMAS DE *CANDIDA* SPP

*EVALUATION OF POSSIBLE INTERACTIONS BY MOLECULAR DOCKING OF PHYTOCHEMICALS OF THE ESSENTIAL OIL OF ROSMARINUS OFFICINALIS L. IN ENZYMES OF CANDIDA SPP*

Pedro Thiago Ramalho de Figueiredo<sup>1</sup>  
Laísa Vilar Cordeiro<sup>2</sup>  
Thamara Rodrigues de Melo<sup>3</sup>  
Giulian César da Silva Sá<sup>4</sup>  
Aleson Pereira de Sousa<sup>5</sup>

**RESUMO:** A grande biodiversidade de plantas medicinais encontradas no Brasil apresenta grande importância para a medicina popular, pois diversas espécies de plantas medicinais são utilizadas para o tratamento e cura de doenças. Dessa maneira, as plantas medicinais apresentam potencial na descoberta e desenvolvimento de novos fármacos. Para auxiliar nos estudos de desenvolvimentos de novos fármacos, as técnicas quimioinformáticas se tornaram uma aliada dos pesquisadores ao reduzir tempo e gastos durante este processo. Neste sentido, o óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* L. (Lamiaceae) é conhecida popularmente como alecrim-de-jardim, alecrim-de-cheiro e apresenta importante atividade antifúngica sendo um grande fator para a descoberta de novas substâncias químicas com potencial antifúngico. Este trabalho tem como objetivo, analisar por *docking* molecular as interações de metabólitos secundários encontrados no óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* em diferentes enzimas de *Candida* spp. Os metabólitos secundários do óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* foram obtidos da literatura, as enzimas foram adquiridas do Protein Data Bank sob código 5TZ1 (14 $\alpha$ -lanosterol-demetilase) e 1EQC (exo-beta-(1,3)-glucanase) com seus respectivos ligantes. O *docking* molecular foi realizado utilizando o software Molegro Virtual Docker. Após análise do *docking* molecular, as substâncias tiveram melhor afinidade pela enzima

<sup>1</sup> Doutorando em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, UFPB.

<sup>2</sup> Doutorando em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, UFPB.

<sup>3</sup> Doutorando em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, UFPB.

<sup>4</sup> Doutorando em Bioquímica, UFRN.

<sup>5</sup> Doutorando em Desenvolvimento e Inovação Tecnológica em Medicamentos, UFPB.

14 $\alpha$ -lanosterol-demetilase, destacando o clovenol que apresentou energia de ligação semelhante ao inibidor cocristalizado. Com esse estudo podemos mostrar a importância do *docking* para a identificar possíveis locais de atuação de metabólitos secundários e sugerir que as substâncias químicas do óleo essencial podem atuar a nível de membrana celular sendo necessários estudos *in vivo* e *in vitro* para confirmação.

**ABSTRACT:** *The wide biodiversity of medicinal plants found in Brazil has great importance to popular medicine, due several species of medicinal plants that are used to treat and cure diseases. In this way, medicinal plants have potential in the discovery and development of new drugs. To auxiliary in the study of new drug developments, chemoinformatics techniques have become an ally of researchers by reducing time and expenses during this process. In this sense regard, the essential oil of Rosmarinus officinalis L. (Lamiaceae), popularly known as alecrim-de-jardim, alecrim-de-cheiro, exhibits important antifungal activity, being an important factor in the discovery of new chemical substances with antifungal potential. This study aims to analyze by molecular docking the interactions of secondary metabolites found in the essential oil of Rosmarinus officinalis in different enzymes of Candida spp. The secondary metabolites of the essential oil of Rosmarinus officinalis were obtained from the literature, the enzymes were obtained from Protein Data Bank under code 5TZ1 (14 $\alpha$ -lanosterol-demethylase) and 1EQC (exo-beta- (1,3) -glucanase) with their respective ligands. The molecular docking was performed using the Molegro Virtual Docker software. After analyzing the results, the substances had better affinity for the enzyme 14 $\alpha$ -lanosterol-demethylase, highlighting that clovenol presented binding energy similar to the cocrystallized inhibitor. In this study, we showed the importance of docking to identify possible active sites of secondary metabolites and suggested that the chemicals in the essential oil can act in cell membranes, requiring in vivo and in vitro studies for confirmation.*

## **INTRODUÇÃO**

O reino vegetal apresenta uma grande importância etnomedicinal, pois as substâncias químicas produzidas pelos vegetais, a partir do seu metabolismo secundário, são responsáveis por causar os efeitos benéficos para o homem, porém da mesma forma que essas substâncias químicas causam benefícios podem ter efeitos tóxicos graves (BOUFRIDI; QUINN, 2017). Sabendo desta importância e observando a grande diversidade de substâncias químicas produzidas pelas espécies vegetais, estes metabólitos secundários podem servir como modelos de novas moléculas alvo para aplicações farmacológicas, assim podendo se tornar novos medicamentos (XIE *et al.*, 2018).

O Brasil por ser constituído por uma vasta flora, compreendendo 22% do total da vegetação mundial, em que mais de 50.000 espécies de vegetais foram catalogadas, estão distribuídas nos principais ecossistemas brasileiros apresentando grande importância para a medicina popular, sendo utilizadas, pela população, para o combate e prevenção de doenças na forma de infusões, decoctos, garrafadas entre outros. (CARVALHO *et al.* 2014).

Diante deste potencial, destaca-se a espécie *Rosmarinus officinalis*, pertencente à família Lamiaceae, considerada uma planta medicinal, aromática, originária do Sul da Europa e do Norte da África. É cultivada em todo o mundo para fins medicinais, farmacêuticos, cosméticos e alimentares. É conhecida pelos nomes populares de alecrim-da-horta, alecrim-de jardim, alecrim-de-cheiro, alecrim-rosmarinho, roris marino (latim), rosemary (inglês), romero (espanhol), romarin (francês), ramerino (italiano), rosmarin (alemão). Seu óleo essencial apresenta uma grande variedade de metabólitos secundários desde os terpenoides até a presença de compostos fenólicos. São relatadas diversas atividades para o seu óleo essencial, destacando as atividades antifúngicas, antibacteriana como também são utilizado para fins industriais. (LOUASTÉ. B.; BOUDDINE, L.; ELOUTASSI, N. 2019; MAY, A. *et al*, 2010).

Neste sentido, os fungos leveduriformes do gênero *Candida* spp apresentam mecanismos de resistências aos antifúngicos e sabendo que esses microorganismos são causadores de infecções humanas, existe uma grande necessidade em descobrir novos fármacos para o seu combate (FORMIGA *et al.*, 2017; SURABHI; SINGH, 2018). Para superar as dificuldades no desenvolvimento de fármacos, as ferramentas computacionais, como o *docking* molecular, estão auxiliando os pesquisadores para a descoberta e desenvolvimento de novas substâncias químicas com potencial farmacológico. O *docking* molecular, analisa o ancoramento de substâncias químicas no sitio ativo de proteínas, para observar as propriedades físico-químicas envolvidas nas interações entre ligante-receptor e a energia de ligação gerada por essas interações, dessa maneira estes estudos diminuem tempo, gastos e auxilia no entendimento da importância de grupos farmacofóricos no desenvolvimento de novos protótipos a fármacos. (MALATHI; RAMAIAH, 2018).

Visto isso o presente estudo teve o objetivo de analisar as interações que possam ocorrer entre os metabólitos secundários encontradas no óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* L. com enzimas cristalográficas fúngicas para auxiliar o desenvolvimento de novos protótipos a fármacos. Além de obter enzimas fúngicas cristalográficas do banco de dados Protein Data Bank (PDB); desenhar as estruturas dos metabólitos secundários de *Rosmarinus officinalis*; realizar a minimização das moléculas; e realizar o ancoramento das substancias química de *Rosmarinus officinalis* com as enzimas fúngicas.

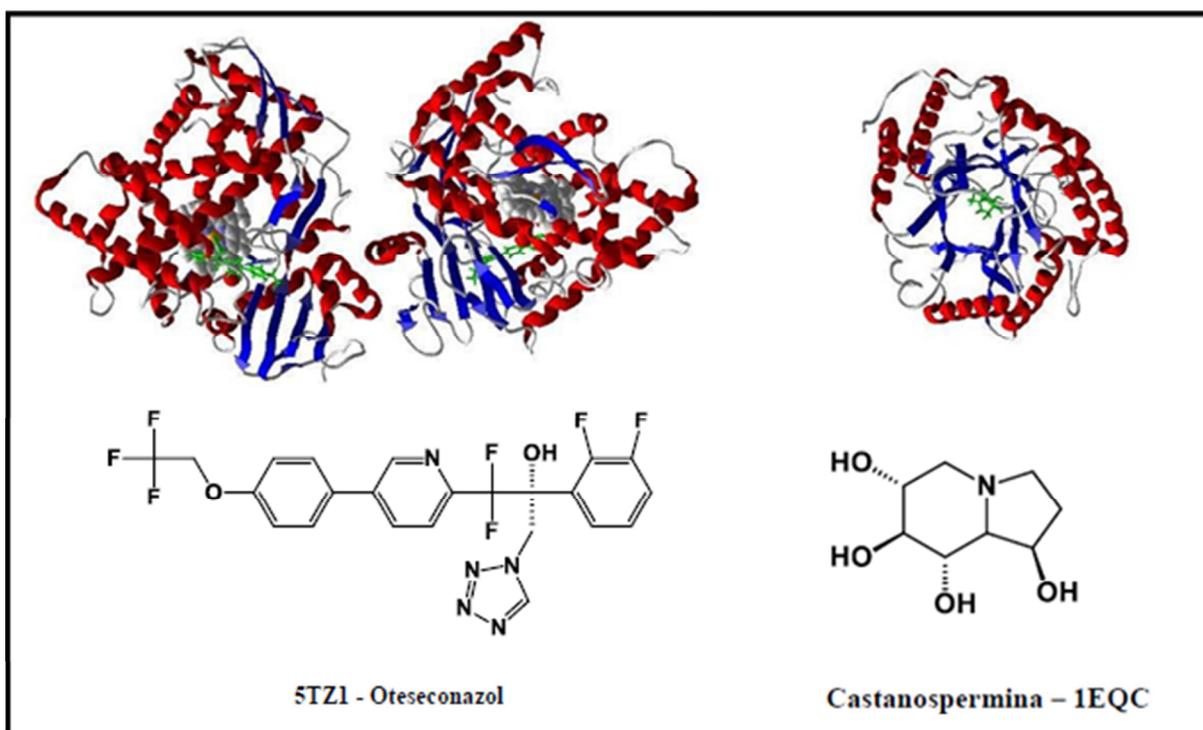
## MÉTODOS

### Obtenção das enzimas fúngicas complexadas com seus ligantes

Para a realização do *docking* molecular foram selecionadas duas enzimas fúngicas que estão localizadas em regiões diferentes de *Candida* spp. Uma localizada na parede celular (exo-beta-(1,3)-glucanase) e a outra na membrana

celular (14 $\alpha$ -lanosterol-demetilase). Todas as enzimas foram obtidas do Protein Data Bank (PDB, disponível em [www.pdb.org](http://www.pdb.org)) com códigos de acessos e suas respectivas resoluções, 5TZ1 (14 $\alpha$ -lanosterol-demetilase, R= 2 Å, Ligante: Oteseconazol, 1EQC (exo-beta-(1,3)-glucanase, R= 1,85 Å, Ligante: Castanospermine) (Figura 1).

**Figura 1.** Estrutura terciária das proteínas obtidas do Protein Data Bank e seus respectivos ligantes.



### Docking das enzimas fúngicas complexadas com os constituintes químicos de *Rosmarinus officinalis*

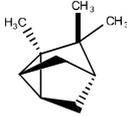
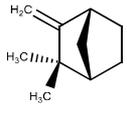
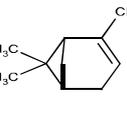
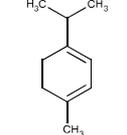
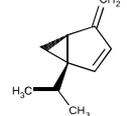
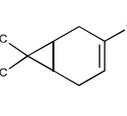
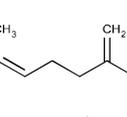
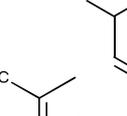
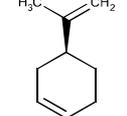
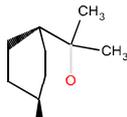
As substâncias químicas usadas para este estudo, foram selecionados do artigo científico Chemical Variability of *Rosmarinus officinalis* Essential Oil According to the Geographical Origin, realizado por Louasté; Bouddine; Eloutassi (2019). Que realizaram a identificação de 42 metabólitos secundários do óleo essencial de *Rosmarinus officinalis*, que pertencem a classe dos monoterpenos, sesquiterpenos e compostos fenólicos (Tabela 1).

As estruturas das substâncias químicas foram desenhadas no software MarvinSketch64, em seguida, para a minimização das energias das moléculas foi utilizado o Hyperchem 8.0, utilizando os métodos de Mecânica Molecular (MM+) e o método semi-empírico AM1 para obtenção das estruturas que apresentam conformação mais estável (DEWAR *et al*, 1985). Foram utilizados como grupo controle fármacos que são utilizados na terapia clínica: itraconazol, cetoconazol, fluconazol griseofulvina e terbinafina.

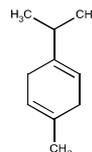
Para a realização do *docking*, os dados obtidos do PDB e as moléculas desenhadas com suas energias minimizadas, foram inseridos no software Molegro Virtual Docker (MVD) versão 2013.6.0.1 (MOTOHASHI *et al.*, 2013). MVD é um programa que realiza cálculos das interações entre ligantes e macromoléculas, que de acordo com Thomsen e Christensen (2006) seu algoritmo, o MolDock score, é baseado nas combinações dos algoritmos de evolução diferencial com um algoritmo de previsão de cavidades, sendo a energia de pontuação *Score* resultado das somas da interação energética entre ligante-proteína (*Einter*) e da energia interna do ligante (*Eintra*). Esses autores também mostraram que o MVD por possuir esses algoritmos apresenta uma precisão maior na predição dos resultados do que outros softwares que realizam *docking* molecular. Para a realização da ancoragem são criados templates sob o ligante das enzimas PDB escolhidas e retiradas as moléculas de água.

Os estudos de *docking* dos ligantes cristalográficos e das substâncias químicas presentes no óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* com as enzimas selecionadas foram realizados sob os mesmos parâmetros: função de pontuação: MolDock Score; avaliação do ligante: internal ES, H-bond internal, Sp2-Sp2 torsions, número de execuções: 10; algoritmo: MolDock SE; interações máximas: 1500; tamanho máximo da população: 50; máximos de passos: 300; fator de vizinhança: 1.00; número máximo de conformações: 5.

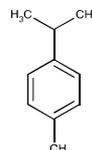
**Tabela 1. Fitoconstituintes de *Rosmarinus officinalis* utilizados para o docking molecular**

Nº	Nome	Estrutura química
1	Triciclono	
2	Canfeno	
3	$\alpha$ -Pineno	
4	$\alpha$ -terpineno	
5	Tuja-2,4(10)-dieno	
6	$\delta$ -3-careno	
7	Mirceno	
8	O-cimeno	
9	Limoneno	
10	1,8-cineol	

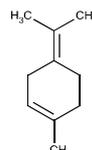
11  $\gamma$ -terpineno



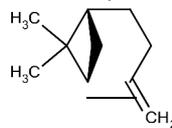
12 p-cimeno



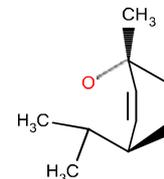
13 Terpinoleno



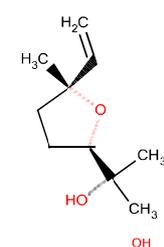
14  $\beta$ -Pineno



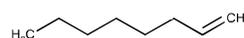
15 Dehidro-1,8- cineol



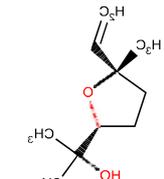
16 Óxido Trans- Linalol



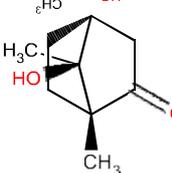
17 1-octen-3-ol



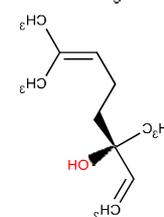
18 Óxido Cis- Linalol



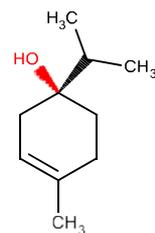
19 Canfora



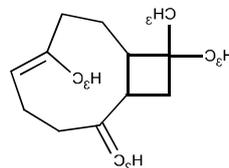
20 Linalol



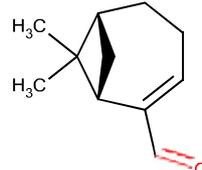
21 Terpinen-4-ol



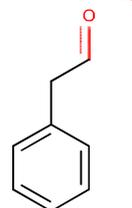
22  $\beta$ -cariofileno



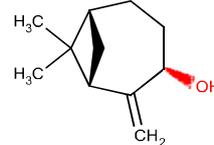
23 Myrtenal



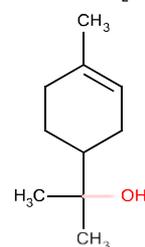
24 Fenilacetaldéido



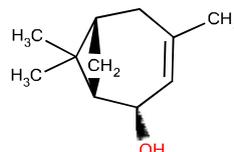
25 Trans-Pinocarveol



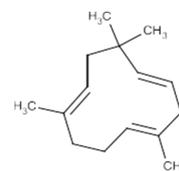
26  $\delta$ -terpineol



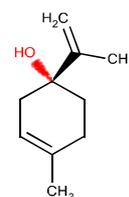
27 Trans-verbenol



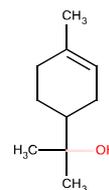
28  $\alpha$ -humuleno



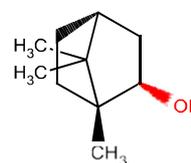
29 P-Menta-1,8- dien-4-ol



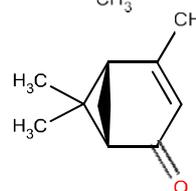
30  $\alpha$ -terpineol



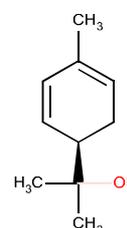
31 Borneol



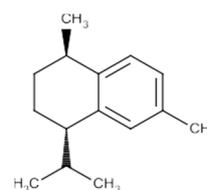
32 Verbenona



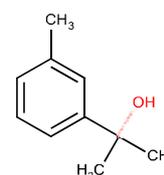
33 P-Menta-1,5- dien-8-ol



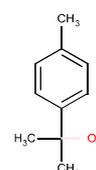
34 Cis-calameneno



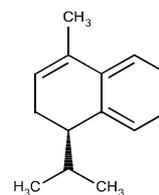
35 m-cimen-8-ol



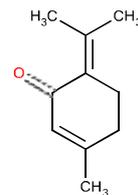
36 p-cimen-8-ol



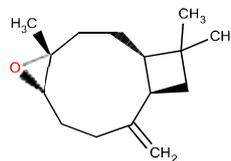
37  $\alpha$ -calacorene



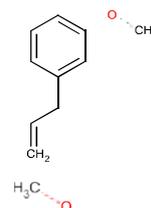
38 Piperitenone



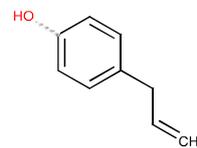
39 Óxido de cariofileno



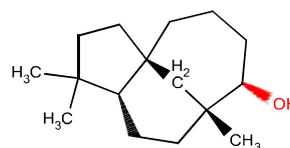
40 Metil eugenol



41 Eugenol



42 Clovenol



### Validação da metodologia do *docking* molecular

Para garantir um ancoramento preciso e uma *Moldock score* válido, foi realizado o *redocking* para a validação das análises realizadas no *docking*, para isso é usado como base os valores obtidos da Raiz do Desvio Quadrático Médio (Root Mean Square deviation-RMSD). Para considerar que as simulações do *docking* sejam válidas, o RMSD deve ter um valor na faixa de 0-2 Å validada (THOMSEN; CHRISTENSEN, 2006; KAUSHIK, 2014).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### *Redocking*

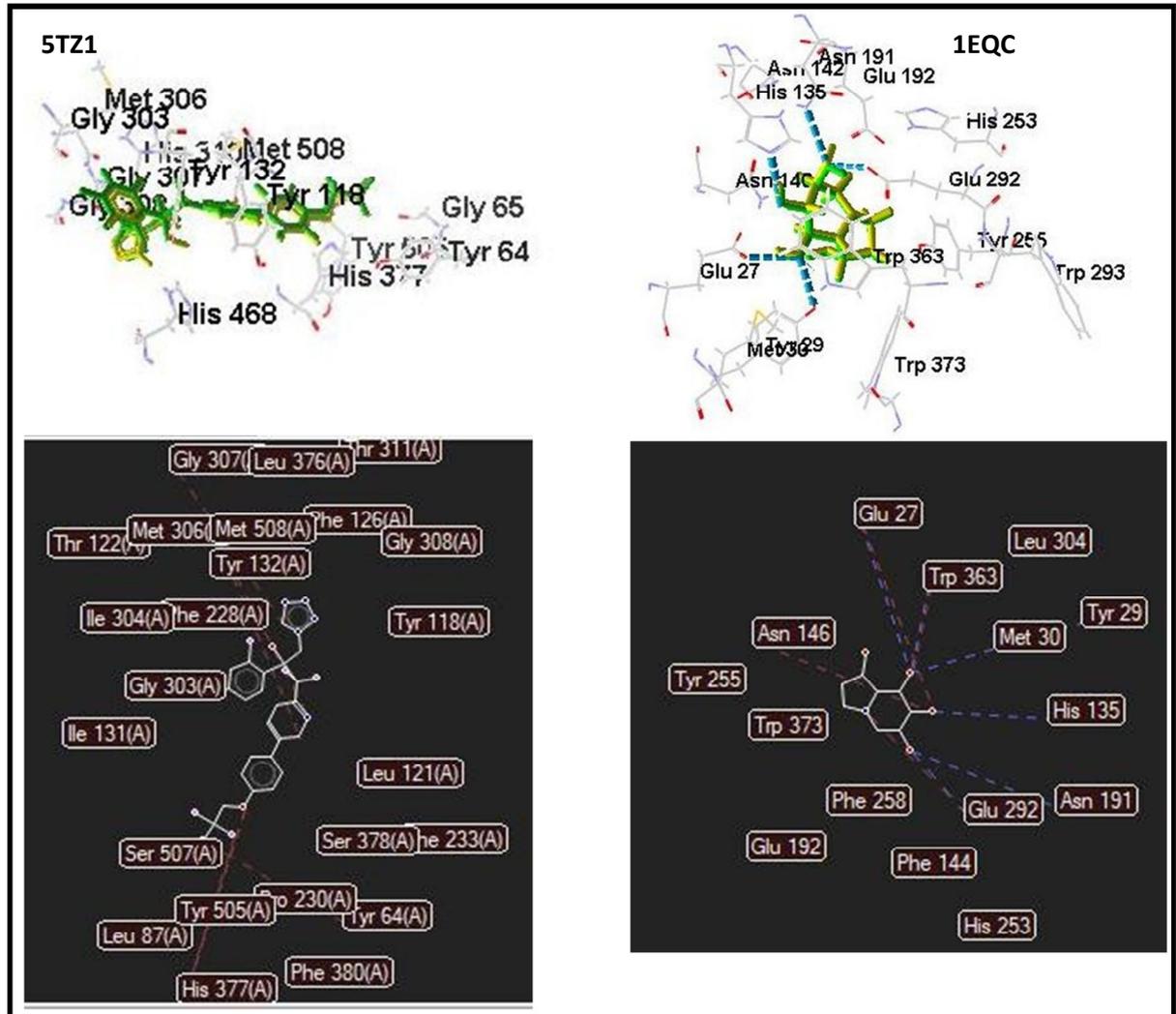
O *redocking* é a forma de analisar e validar os protocolos realizados durante o *docking* e garantir resultados confiáveis. Para isso o critério fundamental para descrever a qualidade de uma simulação do *docking* é a Raiz do Desvio Quadrático Médio (RMSD). (THOMSEN; CHRISTENSEN, 2006; KAUSHIK, 2014).

Foram realizados o *redocking* com as duas enzimas utilizadas neste estudo [14 $\alpha$ -lanosterol-demetilase (5TZ1) e a exo- $\beta$ -(1,3)-glucanase, (1EQC), em que seus valores foram 0,70 Å (5TZ1) e 0,14 Å (1EQC) (Tabela 2), confirmando que os protocolos realizados para o *docking* foram considerados válidos. Com o valor de RMSD abaixo de dois podemos observar que existe uma sobreposição do ligante cristalizado com o ligante minimizado, demonstrando sua proximidade de acoplamento, confirmado pelo RMSD (Figura 2).

**Tabela 2.** Valores dos RMSD e Moldockscore do *redocking*.

Enzima	Código PDB	Moldockscore (kcal/mol)	RMSD
14 $\alpha$ -lanosterol-demetilase	5TZ1	-91,3	0,70
exo-beta-(1,3)-glucanase	1EQC	-99,3	0,14

**Figura 2.** Sobreposições dos ligantes (amarelo) após o *docking*, aos ligantes cocrystalizados das estruturas do PDB (Verde).



### **Docking molecular das substâncias químicas de *Rosmarinus officinalis***

A enzima 14 $\alpha$ -lanosterol-demetilase (CYP51) pertence à família do citocromo P450, necessária para a biossíntese do ergosterol esteroide essencial para manutenção da membrana celular, uma vez que está localizada na membrana do retículo endoplasmático. O grupo de antifúngico azóis, são considerados a maior classe de antifúngicos de uso clínico, sendo relatados sua atividade inibidora na

enzima 14 $\alpha$ -lanosterol-demetilase impedindo a formação do ergosterol. Este processo torna a membrana celular sensível, como também prevenindo a formação de esteróis intracelulares, que são necessários para a regulação do ciclo celular (HARGROVE, *et al.*, 2017).

A primeira análise observada é a energia de ligação do ligante oteseconazol com a enzima, apresentando um valor de -91.3 kcal/mol. Na tabela três podemos visualizar todas as energias de ligação das melhores conformações geradas para cada substâncias controle. Dessa maneira, os controles itraconazol e cetoconazol, apresentaram mais afinidade pelo sitio ativo do que o próprio ligante PDB (oteseconazol) (Tabela 3).

Em comparação com as energias de ligação dos compostos do óleo essencial foi possível visualizar que o único metabólito secundário encontrado em *Rosmarinus officinalis* que apresentou energia de ligação semelhante ao ligante PDB cristalizado foi o Clovenol, porém apresentou energias melhores que três fármacos de uso clínico o griseofulvina que atua nível de divisão celular fúngica, causando a inibição durante a mitose, produzindo ruptura da estrutura do fuso acromático, a terbinafina que pertence as classes das alilaminas, que atuam na inibição da produção do ergosterol, porém diferentemente dos azois, a terbinafina atua na enzima Esqualeno epoxidase e o fluconazol.

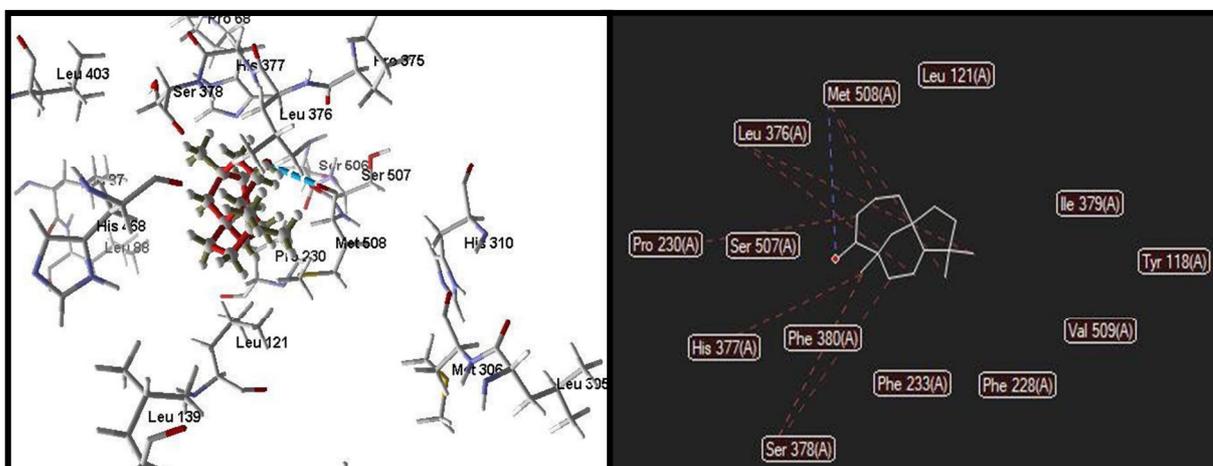
O antifúngico oteseconazol interage com os resíduos de aminoácido da glicina 307 (Gly 307), metionina 508 (Met 508), serina 378 (Ser 378) e histidina (His 377) através de interações estéricas (linhas vermelhas), que facilitam a inserção da molécula no sitio ativo. As demais interações observadas são consideradas de *van der walls* que são interações fracas que ocorrem em função da polarização transiente de ligações carbono-hidrogênio ou carbono- carbono (Figura 2). Em comparação com o Clovenol, foi observado apenas uma interação de hidrogênio com o resíduo de metionina 508, porém, foram visualizadas interações estéricas com os resíduos de aminoácido serina 378, histidina 377, prolina 320 e metionina 508. Porém, o clovenol não realizou a interação com glicina 307, sendo essencial para manutenção da substância no sitio ativo, mas a interação de hidrogênio realizado com metionina 508, compensou a falta da interação estérica permitindo

que o clovenol permanece mais tempo interagindo com este receptor e mostrando energia semelhante ao ligante PDB (Figura 3).

**Tabela 3.** Valores da energia de interação das substâncias químicas e controles para a enzima 5TZ1.

Substância químicas e controles	Energia kcal/mol	Substância químicas e controles	Energia kcal/mol	Substância químicas e controles	Energia kcal/mol
Itraconazol (Controle)	-169.6	δ-terpineol	-61.0	β-Pineno	-50.6
Cetoconazol (Controle)	-130.4	α-terpineol	-61.0	Terpinoleno	-50.3
Oteseconazol (Ligante)	-91.3	Canfora	-60.5	Piperitenona	-50.1
Cloveno	-90.9	Tuja-2,4(10)-dieno	-60.2	Dehidro-1,8-cineol	-49.7
Griseofulvina (Controle)	-90.3	Trans-verbenol	-59.3	α-Pineno	-46.8
Terbinafina (Controle)	-87.6	m-cimen-8-ol	-59.2	Fenilacetaldéido	-43.1
Fluconazol (Controle)	-86.1	p-cimen-8-ol	-58.8		
Óxido Cis-Linalol	-78.4	Metil eugenol	-58.6		
Óxido de cariofileno	-78.0	Camfeno	-58.5		
Óxido Trans-linalol	-75.3	1-octen-3-ol	-57.2		
β –cariofileno	-74.3	Terpinen-4-ol	-55.2		
α –humuleno	-71.4	Mirceno	-55.2		
Linalol	-69.7	Cis-calameneno	-54.7		
Trans-verbenol	-65.9	δ-3-careno	-54.1		
P-Menta-1,8-dien-4-ol	-65.9	O-cimeno	-53.5		
Eugenol	-65.1	1,8-cineol	-53.3		
Trans-Pinocarveol	-64.9	α-calacoreno	-53.2		
Triciclono	-63.6	α-terpineno	-52.5		
Borneol	-62.8	Limoneno	-52.0		
P-Menta-1,5-dien-8-ol	-62.1	γ-terpineno	-52.0		
Myrtenal	-61.4	P-cimeno	-51.6		

**Figura 3.** Interações do Clovenol na enzima PDB 5TZ1. Linha azuis Interações de Hidrogênio e Linhas Vermelhas Interações estérica.



A enzima *exo*- $\beta$ -(1,3)-glucanase (Exg), pertence à família das hidrolases, estão presentes na parede celular dos fungos. Esta enzima realiza a síntese do glucano, polímeros formados por monômeros de D-glicose que são essenciais para constituição e manutenção da parede celular fúngica. A castanopermina, ligante que está complexoado à enzima, é um alcaloide isolado nas sementes de *Castanopermium australe*, sendo considerado um inibidor competitivo da Exg atuando nos resíduos de aminoácidos tirosina 29, triptofano 363, glutamato 27 e 292, asparagina 146 e 191, histidina 135 (CUTFIELD, *et al.*, 1999). Para a inibição desta enzima é necessária a interação por ligação de hidrogênio com os resíduos glutamina 27 e 292, triptofano 303, tirosina 29, histidina 135 e asparagina 191. No estudo, o programa MVD gerou apenas uma conformação para a castanopermina apresentando energia de ligação de -99,3 kcal/mol (Tabela 4).

Nenhum dos metabólitos secundários encontrados não apresentou energia de ligação melhor que o ligante PDB, pois não realizavam essas interações descritas anteriormente para aumento da afinidade deste receptor.

**Tabela 6.** Valores da energia de interação das substâncias químicas e controles para a enzima 1EQC.

Substância químicas e controles	Energia kcal/mol	Substância químicas e controles	Energia kcal/mol	Substância químicas e controles	Energia kcal/mol
Terbinafina (Controle)	-108.2	P-Menta-1,8-dien-4-ol	-66.4	δ-terpineol	-57.3
Castanospermina (Ligante)	-99.3	Metil eugenol	-65.2	[02]P-Menta-1,5-dien-8-ol	-57.0
Cetoconazol (Controle)	-99.1	δ-3-careno	-64.6	p-cymen-8-ol	-56.4
Fluconazol (Controle)	-93.4	Mirceno	-64.0	1,8-cineol	-55.0
Eugenol	-78.8	Triciclono	-63.8	Borneol	-54.0
α-calacoreno	-72.0	[01]Griseofulvina	-61.9	Verbenona	-53.6
β-cariofileno	-71.2	α-humuleno	-61.9	α-Pineno	-50.4
Cis-calameneno	-70.7	Myrtenal	-61.4	Dehidro-1,8- cineol	-49.2
Terpinen-4-ol	-70.0	Clovenol	-61.0	β-Pineno	-47.8
Óxido de cariofileno	-68.4	γ-terpineno	-60.0	Canfora	-43.2
Tuja-2,4(10)-dieno	-68.2	α-terpineno	-59.8	Itraconazol	-32.9
1-octen-3-ol	-67.4	O-cimeno	-59.6		
óxido Trans-Linalol	-67.3	P-cimeno	-58.9		
m-cimen-8-ol	-67.1	Fenilacetaldéido	-58.7		

## CONCLUSÃO

Este estudo aborda a importância do uso de técnicas quimioinformáticas para o desenvolvimento de novos protótipos a fármacos para doenças infecciosas. Dessa maneira, os fitoconstituintes do óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* apresentaram melhor interação com a enzima da membrana celular de *Candida spp*, destacando o clovenol que apresentou interação semelhante ao ligante PDB (oteseconazol) e melhor que alguns fármacos de uso clínico. Sugerindo dessa forma

que clovenol pode atuar a nível de membrana celular, porém são necessários estudos *in vitro* e *in vivo* para confirmação desse mecanismo de ação.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BOUFRIDI, A.; QUINN, R. J. Harnessing the Properties of Natural Products, **Annual Review Pharmacology Toxicology**, v. 58, p. 17.1-17.20, 2017.

CARVALHO, A. C. B.; RAMALHO, L. S.; MARQUES, R. F. O.; PERFEITO, J. P. S. Regulation of herbal medicines in Brazil, **Journal of Ethnopharmacology**. in press 2014.

CUTFIELD, S. M.; DAVIES, G. J.; MURSHUDOV, G.; ANDERSON, B. F.; MOODY, P. C. E.; SULLIVAN, P. A.; CUTFIELD, J. F. The Structure of the Exo-b-(1,3)-Glucanase from *Candida albicans* in Native and Bound Forms: Relationship between a Pocket and Groove in Family 5 Glycosyl Hydrolases. **Journal of Molecular Biology**, v. 294, n. 3, p. 771-783, 1999.

DEWAR, M. J. S.; ZOEBSCH, E. G.; HEALY, E. F.; STEWART, J. P. A new general purpose quantum mechanical molecular model. **Journal of American Chemical Society**, v. 107, n. 13, p. 3902-3909, 1985.

FORMIGA, R. O.; QUIRINO, Z. G. M.; DINIZ, M. F. F. M.; MARINHO, A. F.; TAVARES, J. F.; BATISTA, L. M. *Maytenus erythroxylon* Reissek (Celastraceae) ethanol extract presents antidiarrheal activity via antimotility and antisecretory mechanisms, **World Journal of Gastroenterology**, v. 23, n. 24, p. 4381-4389, 2017.

HARGROVE, T. Y.; FRIGGERI, L.; WAWRZAK, Z.; QI, A.; HOEKSTRA, W. J.; SCHOTZINGER, R. J.; YORK, J. D.; GUENGERICH, F. P.; LEPESHEVA, G. L. Structural analyses of *Candida albicans* sterol 14-demethylase complexed with azole drugs address the molecular basis of azole-mediated inhibition of fungal sterol biosynthesis. **Journal of Biological Chemistry**, v. 292, n. 16, p. 6728-6743, 2017.

KAUSHIK MAGALHÃES, W. S. **Modo de interação dos ácidos oleanólico e ursólico com as isoformas da ciclooxygenase através de docking e dinâmica molecular**, 2010, Dissertação (Mestrado em Ciências farmacêuticas), Universidade Federal de Ouro Preto, Escola de farmácia, Ouro Preto.

LOUASTÉ, B.; BOUDDINE, L.; ELOUSTASSI, N. Chemical Variability of *Rosmarinus officinalis* Essential Oil According to the Geographical Origin. **Der Pharma Chemica**. v. 11, n.1, p. 50-55, 2019.

MALATHI, K.; RAMAIAH, S. Bioinformatics approaches for new drug discovery: a review. **Biotechnology and Genetic Engineering Reviews**, v. 34, n. 2, p. 243-260, 2018.

MAY, A.; SUGUINO, E.; MARTINS, A.N.; BARATA, L.E.S.; PINHEIRO, M.Q. Produção de biomassa e óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) em função da altura e intervalo entre cortes. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. v. 12, n. 2, p. 195-200, 2010.

MOTOHASHI, Y.; IGARASHI, M.; OKAMATSU, M.; NOSHI, T. SAKODA, Y.; YAMAMOTO, N.; ITO, K.; YOSHIDA, R.; KIDA, H. Antiviral activity of stachyflin on influenza A viruses of different hemagglutinin subtypes. **Journal of Virology**, v. 16, p. 10:118, 2013.

SURABHI. SINGH, B. K.; Computer aided drug design: an overview. **Journal of Drug Delivery**

**and Therapeutics Open**, v. 8, p. 504-509, 2018.

THOMSEN, R; CHRISTENSEN, M. H. MolDock: A New Technique for High-Accuracy Molecular Docking. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 49, n. 11, p. 3315-3321, 2006.

XIE, J.; ZHANG, A.; SUN, H.; YAN, G.; WANG, X. Recent advances and effective strategies in the discovery and applications of natural products. **Royal Society of Chemistry**, v. 8, p. 812-824, 2018.