



Artigo original

INIBIÇÃO DE SAP1 DE CANDIDA ALBICANS POR METABÓLITOS DE PLANTAS DO CERRADO: ESTUDO DE DOCKING MOLECULAR

Inhibition of candida albicans sap1 by metabolites from Cerrado plants: molecular docking study

Adenísio Vicente Martins¹, Thyago Silva Martins², Lorrany Kalliny Cardoso Queiroz³, Gunar Vingre da Silva Mota⁴, Rômulo Gomes de Oliveira Cabral⁵, Gustavo da Silva Prado⁶, Fabio Luiz Paranhos Costa^{7*}

RESUMO

Candidíase é uma infecção fúngica causada por uma levedura de *Candida*, está causa infecções na corrente sanguínea. Fatores como antibióticos e comprometimento da imunidade podem tornar essa levedura patogênica. As opções de medicamentos antifúngicas disponíveis no mercado são limitadas; ergosterol, azóis, polienos e equinocandinas. O cerrado apresenta espécies com propriedades medicinais. Constituintes químicos identificados nos óleos essenciais foram estudados e comparados ao fármaco fluconazol e pepstatina A. No presente estudo de docking molecular, os compostos espatulenol e (Z, E)-farnesol submetidos à análise apresentam um potencial promissor como candidatos para investigações futuras tendo a proteína SAP1 de C.A. como alvo..

Descritores: *Candida albican*; Docking; Cerrado.

ABSTRACT

Candidiasis, caused by *Candida* yeast, leads to bloodstream infections. Factors like antibiotics and weakened immunity render this yeast pathogenic. Antifungal medication options (ergosterol, azoles, polyenes, and echinocandins) are limited. Cerrado species offer medicinal properties. Chemical constituents in essential oils were compared to fluconazole and Pepstatin A. In this molecular docking study, compounds spathulenol and (Z, E)-farnesol show potential as candidates for future investigations targeting C.A.'s SAP1 protein.

Keywords: *Candida albicans*; Docking; Cerrado.

1. Discente da Universidade Federal de Jataí (UFJ), Brasil.
2. Docente da Faculdade Morgana Potrich (FAMP), Brasil.
3. Discente da Universidade Federal de Jataí (UFJ), Brasil.
4. Docente da Universidade Federal do Pará (UFPA), Brasil.
5. Discente da Universidade Federal de Jataí (UFJ), Brasil.
6. Discente da Universidade Federal de Jataí (UFJ), Brasil.
7. Docente da Universidade Federal de Jataí (UFJ), Brasil.

*Autor para Correspondência: e-mail: flpcosta@ufj.edu.br



INTRODUÇÃO

A *Cândida* é um comensal que vive na pele e dentro do corpo, como boca, garganta, intestino e vagina sem causar maiores danos à saúde do indivíduo, porém, quando cresce desordenadamente possui potencial infeccioso e pode penetrar órgãos e tecidos nobres do corpo humano, isso se faz através da corrente sanguínea, chegando está infecção a coração, rins ou cérebro.¹ Alguns fatores têm relação direta em tornar está levedura patógena, exemplo disto é gravidez, uso de alguns anticoncepcionais, uso indiscriminado de antibióticos fora de critérios médicos, doenças como diabetes melitos (DM), ingesta hídrica de água não tratada, uso de esteroides anabolizantes, certas patologias do sistema endócrino e até mesmo a idade, podem ser a causa desta levedura de *Cândida* causar infecção denominada candidíase, sendo a mais comum causadora do doenças a *C.A.* (*C.A.*).²⁻³

A Proteinase Aspártica Secretada (SAP) é uma enzima pertencente à família das proteases aspárticas, que se caracterizam pela presença de resíduos de ácido aspártico em seu sítio ativo.⁴ Essa enzima é secretada por diversas células do organismo, incluindo as epiteliais, células do sistema imunológico e células cancerígenas.⁴⁻⁵ As SAPs desempenham diversas funções no organismo, sendo uma delas a degradação de proteínas, quebrando ligações peptídicas, promovendo clivagem de proteínas em fragmentos menores e, além disso, também possuem papel na regulação de processos fisiológicos, como coagulação sanguínea, resposta imunológica e proliferação celular. Isso a torna alvo de diversos estudos, especialmente no contexto do câncer e infecções fúngicas, devido seu papel de potencial biomarcador e como alvo terapêutico, possibilitando o desenvolvimento de novas drogas.⁴⁻⁵

Existem dez espécies de SAPs (1-10), sendo que a expressão de SAP1-3 está ligada a alterações fenotípicas nas linhagens, aderência e infecções de mucosa.⁶ Os tratamentos convencionais contra fungos geralmente envolvem o uso de medicamentos tópicos e/ou orais. No entanto, é importante destacar que os medicamentos antifúngicos atualmente disponíveis no mercado possuem algumas limitações terapêuticas significativas.⁷ Um desses desafios é a ocorrência de efeitos colaterais, como a nefro e hepatotoxicidade, que podem afetar a saúde dos pacientes.⁷

Além disso, a resistência aos antifúngicos tornou-se uma preocupação crescente. Cepas de fungos, especialmente a *C.A.*, desenvolveram resistência a medicamentos comuns, como o fluconazol. Isso reduz a eficácia desses tratamentos, tornando essencial a busca por novos fármacos e abordagens terapêuticas.⁷ Nesse contexto, a exploração de alternativas menos agressivas e potencialmente mais eficazes, como produtos naturais e novos compostos, se torna fundamental. A pesquisa de novos tratamentos não apenas pode oferecer

opções terapêuticas mais seguras, mas também pode ajudar a superar as limitações dos tratamentos antifúngicos convencionais. Portanto, a busca por novos fármacos e a consideração de abordagens alternativas são essenciais para enfrentar os desafios da resistência a medicamentos e dos efeitos colaterais associados ao tratamento de infecções fúngicas, destacando a importância de estudos que explorem novas opções terapêuticas.

O Brasil possui a maior biodiversidade vegetal do mundo, os biomas Mata Atlântica e Cerrado, este último é a savana biologicamente mais rica do mundo com 4,4 mil espécies vegetais endêmicas e, dentre os imensuráveis recursos naturais do Cerrado, destacam-se os óleos essenciais presentes nas plantas aromáticas, substâncias de alto valor agregado, crescentemente utilizadas globalmente nos setores cosméticos, de higiene, alimentícios, agropecuários e principalmente medicinais.⁸ Os óleos essenciais são compostos químicos oriundos do metabolismo secundário das espécies vegetais, constituindo uma rica fonte de compostos biologicamente ativos.⁸ Estudos recentes relatam possível atividade antifúngica de três espécie do cerrado goiano, sendo elas a *Camponesia adamantium* (*C. adamantium*), sobre *C.A.*⁹⁻¹⁰ A técnica de *docking* molecular tem sido amplamente utilizada na descoberta e desenvolvimento de novos fármacos.¹¹⁻¹² Essa abordagem computacional pode, e.g., prever a interação entre um ligante e sua respectiva proteína alvo, fornecendo informações valiosas para o processo de design de fármacos.¹¹⁻¹² Uma das abordagens de estudos de *docking* molecular é fazer o redocking do ligante cocristalizado, quando possível, e também de fármacos líderes, quando eles existem. Este procedimento é útil para validar a metodologia e fornecer informações sobre com quais aminoácido de um sítio ativo há interação e fornecer a natureza desta.¹¹⁻¹²

A pepstatina A é um inibidor de proteases ácidas, especificamente da enzima pepsina, que está envolvida na digestão de proteínas no estômago. Sua estrutura complexa e sua potente atividade inibidora tornaram a pepstatina A uma molécula de interesse no desenvolvimento de terapias para doenças relacionadas a proteases.⁵ Por sua vez, o fluconazol é um antifúngico utilizado no tratamento de infecções fúngicas, especialmente as causadas pelo fungo *C.A.*. Esse composto é capaz de inibir a enzima responsável pela síntese do ergosterol, um componente essencial na membrana dos fungos.⁴

Nesse contexto, o objetivo principal do presente estudo é avaliar o potencial inibitório de metabólitos secundários majoritários presentes nos óleos essenciais das plantas *C. adamantium*, *C. calophyllum* e *P. ovatum*, sobre *C.A.* por meio de *docking* molecular contra o sítio ativo da enzima SAP (SAP1) de *C.A.*. Além disso, busca-se descrever

quais aminoácidos podem estar envolvidos nessas interações, realizando um estudo comparativo com as interações da SAP1 (código PDB: 2QZW) com a Pepstatina A e o fluconazol. Isso proporcionará informações cruciais sobre os possíveis mecanismos de interação entre os metabólitos secundários e a SAP1, contribuindo para a busca de alternativas terapêuticas no combate às infecções por C.A. e evidenciando o potencial de produtos naturais como possíveis agentes antifúngicos eficazes. Além disso, a análise comparativa dessas interações com as observadas entre a SAP1 (código PDB: 2QZW) e a pepstatina A e o fluconazol permitirá identificar similaridades e diferenças significativas nos mecanismos de inibição. Esses resultados são fundamentais para ampliar o conhecimento sobre possíveis candidatos a fármacos que podem ser desenvolvidos a partir de compostos naturais, contribuindo para a busca de terapias mais seguras e eficazes no tratamento das infecções causadas por C.A..

MÉTODOS

Os estudos de acoplamento molecular (docking) foram realizados utilizando o programa AutoDock Vina 1.1.2,¹³ a fim de avaliar as interações entre os compostos naturais e o sítio ativo da enzima alvo. A estrutura tridimensional da enzima *secreted aspartic protease 1* (SAP1) de C.A. (código PDB: 2QZW) foi obtida do Protein Data Bank (PDB). Os ligantes, i.e., a pepstatina A, o fluconazol e os metabólitos secundários: viridiflorol, espatulenol, germacreno B, (*Z,E*)-farnesol, limoneno, β -mirceno, α -pireno foram desenhados e minimizados energeticamente no software Avogadro 1.2.0.¹⁴ As estruturas dos ligante e da enzima foram preparadas para o docking utilizando o AutoDock Tools 1.5.6,¹⁵ no qual foram adicionados os hidrogênios e calculados as cargas atômicas. A busca pelas conformações de ligação dos complexos enzima-ligante foi realizada configurando-se uma caixa de grid com dimensões 40 x 40 x 40 pontos e 0,375 Å de espaçamento, centralizada nas coordenadas x = -19,149927, y = -14,235491 e z = -19,839691. Foram geradas 20 conformações (poses) para cada complexo enzima-ligante, utilizando o algoritmo genético de busca como implementado no Autodock Vina 1.2.0. A seleção das melhores conformações (poses com menor energia de ligação) e a análise das interações moleculares enzima-ligante foram realizadas no software BIOVIA *Discovery Studio Visualizer* v21.1.0.20298.¹⁶ Foram priorizadas as poses com maior afinidade de ligação (menor valor de energia de ligação) e maior número de interações com aminoácidos catalíticos na região do sítio ativo da enzima.

RESULTADOS

A análise das interações moleculares por docking revela sobreposição considerável entre os aminoácidos do sítio ativo da enzima SAP1 que interagem com a pepstatina A, o fluconazol e os produtos naturais estudados. Isso sugere que esses compostos possivelmente se ligam na mesma região catalítica, indicando um mecanismo de inibição similar. A pepstatina A, inibidor de referência, forma ligações de hidrogênio com resíduos como Asp32, Asp86, Gly85 e Gly220, cruciais para a catálise.⁵ O fluconazol interage com Asp32 e Gly220, enquanto vários produtos naturais também apresentam interações de van der Waals ou ligação de hidrogênio com Asp86, Gly85 e Gly220. Outros aminoácidos-chave como Tyr84 e Ile123 interagem tanto com a pepstatina A quanto com os compostos naturais. A sobreposição nos resíduos de ligação reforça o potencial inibitório dos produtos naturais pelo compartilhamento de interações similares com inibidores conhecidos da SAP1 nestes mesmos sítios catalíticos.⁵ Os compostos 4, 6 e 10 se destacaram com as melhores energias de afinidade dentre os avaliados, próximas ao padrão fluconazol. Contudo, além de interações favoráveis, deve-se considerar também a seletividade dos compostos naturais pela SAP1, avaliando interações com outras proteínas, conforme descrito nas tabelas 1 e 2.

Tabela 1 – Energia de afinidade e a eficiência de ligação

Nº	LIGANTE	Kcal/mol	FÓRMULA	N.A.H	E. L.
1	Fluconazol	-6,1	C ₁₃ H ₁₂ F ₂ N ₆ O	22	0,28
2	Viridiflorol	-5,9	C ₁₅ H ₂₆ O	16	0,37
3	Espatulenol	-6,1	C ₁₅ H ₂₄ O	16	0,38
4	Germacreno B	-5,6	C ₁₅ H ₂₄	15	0,37
5	(<i>Z, E</i>)-Farnesol	-6,0	C ₁₅ H ₂₆ O	16	0,37
6	Limoneno	-5,5	C ₁₀ H ₁₆	10	0,55
7	β -Mirceno	-4,9	C ₁₀ H ₁₆	10	0,49
8	α -Pireno	-4,9	C ₂₀ H ₁₂	20	0,24
9	Pepstatina	-6,7	C ₃₄ H ₆₃ N ₅ O ₉	48	0,14

Fonte: os autores, 2024.

Tabela 2- Descrição das interações e energia de interação entre os complexos ligante-receptor.

Nº	Nome do composto	Energia de afinidade (Kcal/mol)	Interações de Van de Waals	Nº de ligações de hidrogênio	Aminoácido envolvido nas ligações de hidrogênio	Aminoácidos envolvidos nas interações
1.	Fluconazol	-6,1	LEU216; ILE305; SER301; THR222; GLY220; TYR84	1	THR 221	ASP86; ASP32; GLY34; SER35; ASP218; TYR225; GLY85; THR221
2.	Viridiflorol	-5,9	ASP86; SER88			ILE30; ILE123; ILE119; PRO120; VAL12
3.	Espatuleno	-6,1	SER13; SER88; ASP86; THR221; THR222	1	GLY220	PRO120; VAL12; TYR84; ILE30; ILE123 ILE119
4.	Germacreno B	-5,6	GLY220; THR222; SER13; ASP86; SER88			TYR84; ILE30; VAL12; PRO120; ILE119; ILE123
5.	(E,Z)-Farnesol	-6,0	ASP218; GLY34; THR221; GLY220; ASP86; THR222; SER13; SER18; SER88	1	ASP32	TYR84; ILE123; ILE30; PRO120; ILE119
6.	Limoneno	-5,5	GLY220; SER88; ASP86; ASP32			TYR84; ILE30; ILE123; ILE119; PRO120
7.	β -Miraceno	-4,9	ASP86; SER88; GLY220; ASP32; SER35			TYR 84; ILE 123; ILE 119; ILE 30
8.	α -Pireno	-4,9	ASP86; GLY220; SER13; ASP32; SER88			TYR 84; ILE 30; ILE 123; ILE 119
9.	Pepstatina A	-6,7	LEU216; GLY34; ILE305; THR221; TYR225; TYR222; SER88; ILE30; ILE223; TYR84	5	ASP86; GLY85; GLY220; ASP32	ILE123; ASP218; ASP32; VAL12;

Fonte: os autores, 2024.

DISCUSSÃO

As ligações físico-químicas específicas com a enzima alvo, como ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas nos sítios S1-S4, são determinantes para a inibição seletiva.⁵ Portanto, a análise integrada dos padrões de interação por docking e seletividade é essencial para selecionar dentre os compostos naturais promissores aqueles com maior chance de sucesso como inibidores seletivos da SAP1 de C.A. O critério de eficiência de ligação (EL) normaliza a afinidade em relação ao número de átomos. É calculada dividindo a energia de ligação entre o composto e o receptor (ΔG) e o número de átomos diferentes de hidrogênio presentes no ligante (n ou NAH). De acordo com a equação abaixo, essa função classifica a eficiência do composto (EL) em relação ao seu tamanho.⁷

$$EL = \frac{\Delta G}{n}$$

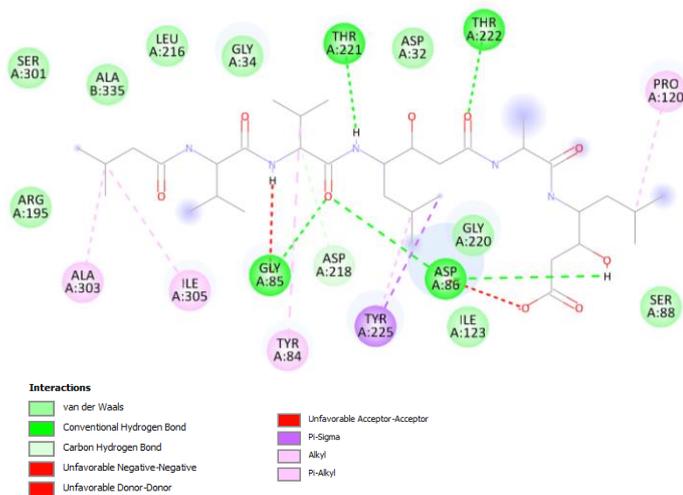
Como os compostos estudados apresentaram pesos moleculares diferentes, calcula-se a relação entre a afinidade de ligação (docking score) e o número de átomos pesados,

por meio da métrica de eficiência do ligante (EL).¹⁷ Pontuações de qualidade de ajuste próximas a 1,0 ou acima indicam uma ligação de ligante quase ideal, enquanto pontuações de qualidade de ajuste baixas são indicativas de ligação sub ótima. Em geral, um ligante pode ser considerado promissor para valores de $EL \geq 0,30$ kcal/mol/átomo, considerando um valor mínimo de 0,26. Critério de Eficiência de Ligação (EL) dos 10 ligantes selecionados, de acordo com a energia de afinidade (Kcal/mol) e o número de átomos não hidrogênio (NAH).¹⁷ Na tabela 2 são listados os valores das energias de interação e da EL, de acordo com os critérios descritos anteriormente os compostos 3 (espatuleno) e 5 ((E,Z)-farnesol) apresentaram um potencial promissor como candidatos para investigações futuras tendo a proteína SAP1 de CA como alvo. Nas figuras 1-4 são plotados os diagramas 2D para os complexos entre a 2QWZ e a Pepstatina A, fluconazol, espatuleno e (E,Z)-farnesol, respectivamente.

A atividade antifúngica observada através da simulação de docking molecular para compostos como viridiflorol, espatuleno, germacreno B, (Z,E)-farnesol, limoneno, β -miraceno, α -pireno precisa ser validada em condições de laboratório.

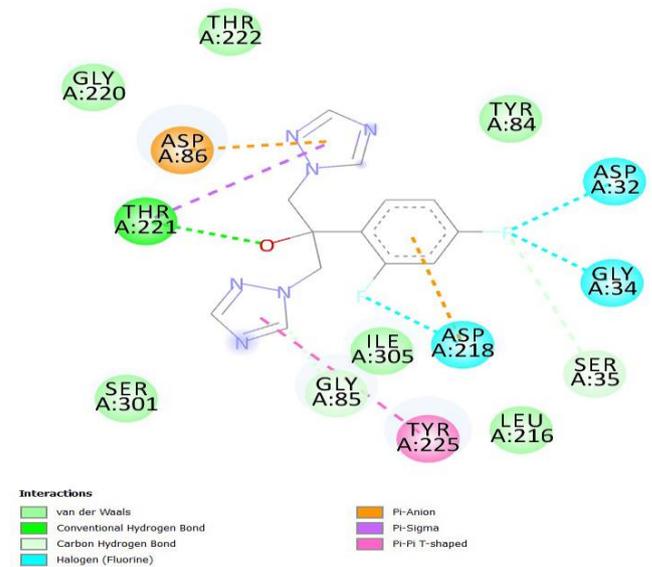
Esses testes são cruciais para estabelecer a eficácia inicial contra fungos em um ambiente controlado. Eles permitem a avaliação rápida da atividade dos compostos contra fungos alvo, e ajudam a determinar a concentração inibitória mínima (MIC) para cada composto. Casos de sucesso *in vitro* precisam ser testados em organismos vivos para avaliar tanto a eficácia quanto a toxicidade. Essas experiências permitem examinar efeitos metabólicos, farmacocinéticos, biodisponibilidade e possíveis efeitos adversos que não são evidentes nos testes *in vitro*. A seletividade de um composto para proteínas específicas do fungo é essencial para minimizar efeitos adversos em organismos não-alvo. É importante realizar estudos de ligação em proteínas que não são alvos para prevenir possíveis interações off-target que podem levar a efeitos colaterais indesejados. Técnicas adicionais, como análise de proteoma diferencial, podem ser utilizadas para verificar a afinidade dos compostos por outras proteínas e assim, prever possíveis efeitos colaterais. Comparar a eficácia dos compostos mencionados com antifúngicos já estabelecidos no mercado pode agregar valor significativo aos resultados. Isso pode envolver: Avaliar a potência relativa, segurança e perfil de resistência dos novos compostos em comparação com tratamentos existentes e identificação de vantagens potenciais, como menor toxicidade ou melhor penetração em tecidos. Além de confirmar achados *in silico*, expandir experimentos para incluir outras enzimas e patógenos pode abrir caminho para o desenvolvimento de tratamentos de amplo espectro ou multi-alvo. A investigação além das enzimas alvo pode revelar novos mecanismos de ação ou sinergias, potencialmente levando a desenvolvimentos inovadores no tratamento de infecções fúngicas. Avaliar esses compostos contra uma variedade de patógenos pode também identificar usos alternativos ou adicionais, aumentando o valor terapêutico dos compostos.

Figura 1 - Diagrama 2D para o complexo entre a 2QWZ e a Pepstatina A.



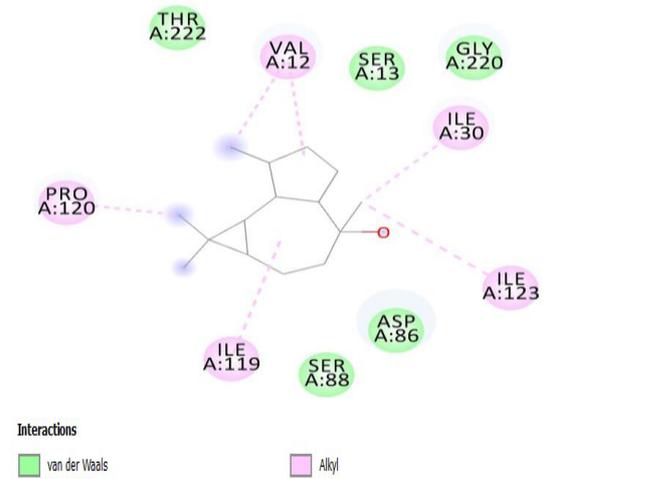
Fonte: os autores, 2024.

Figura 2 - Diagrama 2D para o complexo entre a 2QWZ e o fluconazol.



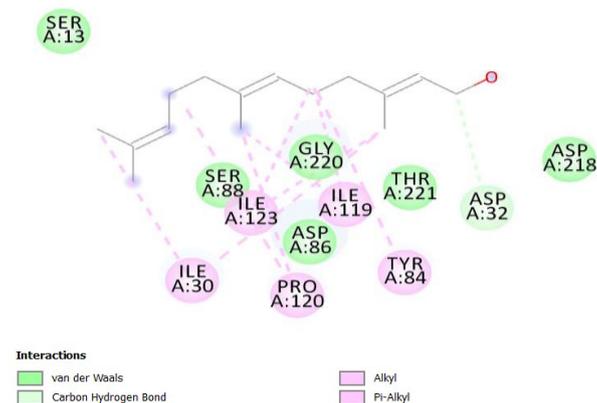
Fonte: os autores, 2024.

Figura 3 - Diagrama 2D para o complexo entre a 2QWZ e o espantulenol.



Fonte: os autores, 2024.

Figura 4 - Diagrama 2D para o complexo entre a 2QWZ e o (E,Z) - farnezol.



Fonte: os autores, 2024.

CONCLUSÃO

A utilização de simulações computacionais de docking molecular permitiu avaliar o potencial inibitório de diversos metabólitos secundários de plantas sobre a enzima SAP1 de *C.A.* A análise das interações moleculares destes compostos naturais com o sítio catalítico da enzima, em comparação com os padrões pepstatina A e fluconazol, forneceu insights relevantes sobre seus prováveis mecanismos de ação. Os produtos naturais espatulenol e *E,Z*-farnezol se destacaram por apresentar alta afinidade de ligação à SAP1, interagindo com aminoácidos-chave idênticos aos observados para os fármacos inibidores conhecidos. Isso sinaliza seu potencial aplicação como novos agentes antifúngicos, embora estudos adicionais de seletividade e atividade sejam necessários. Este trabalho pioneiro de avaliação *in silico* de produtos naturais contra uma enzima crucial na patogênese de *C.A.* expande as possibilidades terapêuticas no combate a esta importante infecção oportunista. Além disso, ressalta a utilidade de técnicas computacionais para acelerar a descoberta de novos compostos bioativos com atividade antifúngica a partir de fontes naturais. Validar compostos promissores como viridiflorol, espatulenol e outros em condições experimentais pode não apenas confirmar sua potencialidade antifúngica, mas também abrir novas avenidas para o tratamento de outras infecções fúngicas e microbianas. Isso é crítico para o avanço científico e clínico, de modo a fornecer soluções eficazes e seguras para o combate a infecções.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1.Tsui C, Kong EF, Jabra-Rizk MA. Pathogenesis of *Candida Albicans* Biofilm. Mobley H, editor. Pathogens and Disease [Internet]. 2016 Mar 9;74(4):ftw018. Available from: <https://academic.oup.com/femspd/article/74/4/ftw018/2389141>

2. Albrecht A, Felk A, Pichova I, Naglik JR, Schaller M, de Groot P et al. Glycosylphosphatidylinositol-anchored proteases of *Candida albicans* target proteins necessary for both cellular processes and host-pathogen interactions. *Journal of Biological Chemistry*. 2006 Jan 13;281(2):688 - 694. doi: 10.1074/jbc.M509297200

3.Oliveira C, Fischer G, Barbosa G, Wilson da Silva, Angela J, Kelly Cristina Massarolo. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFUNGICA DO ÁCIDO GÁLICO FRENTE ÀS LEVEDURAS *Candida albicans* E *Candida tropicalis*. Anais do(a) Anais do Congresso Brasileiro Interdisciplinar em Ciência e Tecnologia. 2023 Jan 1;

4.Rangel M, Santana C, Pinheiro A, Anjos L, Barth T, Júnior O, et al. Marine Dipeptides as Promising Pharmacotherapeutic Agents. *Current Protein & Peptide Science*. 2016 Nov 10;18(1):72–91.

5.Borelli C, Ruge E, Lee JH, Schaller M, Vogelsang A, Monod M, et al. X-ray structures of Sap1 and Sap5: Structural comparison of the secreted aspartic proteinases from *Candida albicans*. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*. 2008 Apr 2;72(4):1308–19.

6.Naglik JR, Challacombe SJ, Hube B. *Candida albicans* Secreted Aspartyl Proteinases in Virulence and Pathogenesis. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 2003 Sep 1;67(3):400–28.

7.Bastos RW, Rossato L, Goldman GH, Santos DA. Fungicide effects on human fungal pathogens: Cross-resistance to medical drugs and beyond. Xue C, editor. *PLOS Pathogens*. 2021 Dec 9;17(12):e1010073.

8.Freire ICM, Pérez ALAL, Cardoso AMR, Mariz BALA, Almeida LFD, Cavalcanti YW, et al. Atividade antibacteriana de Óleos Essenciais sobre *Streptococcus mutans* e *Staphylococcus aureus*. *Revista Brasileira de Plantas Medicinai*s. 2014;16(2 suppl 1):372–7.

9.Alves CCF, Oliveira JD, Estevam EBB, Xavier MN, Nicolella HD, Furtado RA, et al. Antiproliferative activity of essential oils from three plants of the Brazilian Cerrado: *Campomanesia adamantium* (Myrtaceae), *Protium ovatum* (Burseraceae) and *Cardiopetalum calophyllum* (Annonaceae). *Brazilian Journal of Biology*. 2020 Jun;80(2):290–4.

10.Alqahtani S. In silicoADME-Tox modeling: progress and prospects. *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*. 2017 Oct 13;13(11):1147–58.

11.Pereira Vilhena do Nascimento G, Viegas de Oliveira J. Ação da atividade antifúngica in vitro dos óleos essenciais de *Copaifera officinalis*, *Eugenia caryophyllata*, *Melaleuca alternifolia*, *Rosmarinus officinalis* e *Thymus vulgaris* ante os agentes causais de oncomicosose. *REVISTA IBERO-AMERICANA DE PODOLOGIA*. 2019 Nov 17;1(2):56–64.

12.Meng XY, Zhang HX, Mezei M, Cui M. Molecular Docking: A Powerful Approach for Structure-Based Drug Discovery. *Current Computer Aided-Drug Design*. 2011 Jun 1;7(2):146–57.

13.Sulimov VB, Kutov DC, Sulimov AV. Advances in Docking. *Current Medicinal Chemistry*. 2018 Sep 4;25.

14.Eberhardt J, Santos-Martins D, Tillack AF, Forli S. AutoDock Vina 1.2.0: New Docking Methods, Expanded Force Field, and Python Bindings. *Journal of Chemical Information and Modeling*. 2021 Jul 19;61(8).

15.Hanwell MD, Curtis DE, Lonie DC, Vandermeersch T, Zurek E, Hutchison GR. Avogadro: an advanced semantic chemical editor,

visualization, and analysis platform. *Journal of Cheminformatics*. 2012 Aug 13;4(1).

16. Morris GM, Huey R, Lindstrom W, Sanner MF, Belew RK, Goodsell DS, et al. AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. *Journal of Computational Chemistry* [Internet]. 2009 Dec;30(16):2785–91. Available from: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jcc.21256/references>

17. Abad-Zapatero C. Ligand efficiency indices for effective drug discovery. *Expert Opinion on Drug Discovery*. 2007 Apr;2(4):469–88.

18. A. Guimarães, R., K. C. Queiroz, L., S. Prado, G., V. S. Mota, G., & Luiz Paranhos Costa, F. (2024). Estudo In Silico: Potencial Inibitório de Compostos Voláteis da *Callistemon Citrinus* Contra SAP3 de *Candida Albicans* por Ancoragem Molecular. *Revista Processos Químicos*, 18(35), 41-49. <https://doi.org/10.19142/rpq.v18i35.717>

19. M. Ferreira, V., K. C. Queiroz, L., S. Prado, G., V. S. Mota, G., & L. P. Costa, F. (2024). Prospecção in Silico de Metabólitos Secundários do *Syzygium Aromaticum* como Inibidores da Enzima SAP3 de *Candida Albicans*. *Revista Processos Químicos*, 18(35), 73-82. <https://doi.org/10.19142/rpq.v18i35.722>

20. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00957>