

AValiação Farmacológica *in silico* e Docking Molecular de Análogos a Cumarina Frente ao SARS-COV-2

MARIA NALYM MENEZES DE MELO, THIAGO DE SOUSA FONSECA

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará - IFCE
<nalymmenezes18@gmail.com>, <thiago.fonseca@ifce.edu.br>
10.21439/conexoes.v16i0.2344

Resumo. A busca de fármacos que possam atuar contra o vírus causador da Covid-19 (Sars-Cov-2) possui extrema relevância, pois, atualmente, não existem medicamentos eficazes contra o vírus. Um dos métodos de prospecção de novos fármacos, é o estudo *in silico*, no qual possui algumas ferramentas de estudo, tais como as simulações com programas computacionais. Sendo assim, decidimos realizar o estudo experimental *in silico* e o *docking molecular* frente a uma proteína do Sars-Cov-2, por meio de softwares com livre acesso, de dez moléculas análogas à cumarina, uma vez que essa molécula possui relatos de atividade antiviral na literatura. Nenhuma molécula violou a regra de Lipinski, além da área superficial polar. Os valores de pKa dessas cumarinas foram de 3,38 - 48,45 e as cumarinas ionizadas foram as com os grupos carboxila de ácido (em pH 7 e 8) e outra com o grupo amina (em pH 2) ligado ao anel aromático. As moléculas apresentaram solubilidade aquosa de -4,10 - 0,00 em pH 2, 7 e 8, sendo que a cumarina com a carboxila de ácido apresentou o valor de 0,00 (não ideal) em pH 7 e 8. As cumarinas com os grupos nitro e amino apresentaram problemas relacionados a tumorigenicidade e mutagenicidade, e as que possuem os grupos nitro, éster e tiona apresentaram problemas relacionados ao sistema reprodutor. O *docking molecular* mostrou que a molécula com a carboxila de ácido apresentou o melhor valor de energia ligante/proteína S do Sars-Cov-2 (-23,8871 kcal/mol). Portanto, através da presente pesquisa, foi possível realizar a busca de moléculas promissoras no combate ao Sars-Cov-2.

Palavras-chaves: Covid-19. Cumarina. Estudo *in silico*. Novos fármacos.

PHARMACOLOGICAL EVALUATION IN SILICO AND MOLECULAR DOCKING OF ANALOGS TO COUMARIN AGAINST SARS-COV-2

Abstract. The search for drugs that can act against the virus that causes Covid-19 (Sars-Cov-2) is extremely relevant, as there are currently no effective drugs against the virus. One of the methods of prospecting for new drugs is the *in silico* study, in which it has some study tools, such as simulations with computer programs. Therefore, we decided to carry out the experimental *in silico* study and molecular docking against a Sars-Cov-2 protein, through free access software, of ten molecules analogous to coumarin, since this molecule has reports of antiviral activity in literature. No molecules violated Lipinski's rule, other than the polar surface area. The pKa values of these coumarins were 3.38 - 48.45 and the ionized coumarins were those with the acid carboxyl groups (at pH 7 and 8) and one with the amine group (at pH 2) attached to the aromatic ring. The molecules had an aqueous solubility of -4.10 - 0.00 at pH 2, 7 and 8, and coumarin with the acid carboxyl had a value of 0.00 (not ideal) at pH 7 and 8. Coumarins with nitro and amino groups had problems related to tumorigenicity and mutagenicity, and those with nitro, ester and thione groups had problems related to the reproductive system. Molecular docking showed that the molecule with the acid carboxyl had the best binding energy/protein S value of Sars-Cov-2 (-23.8871 kcal/mol). Therefore, through the present research, it was possible to search for promising molecules to combat Sars-Cov-2.

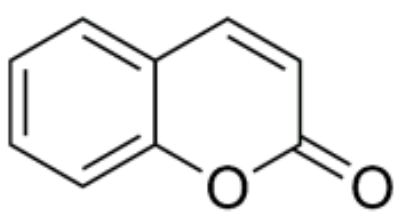
Keywords: Covid-19. Coumarin. *In silico* study. New drugs.

1 INTRODUÇÃO

Os coronavírus (SARSr-CoV) são um grupo de vírus que causam doenças respiratórias, como o Sars-Cov-2, sendo o causador da COVID-19, a qual se disseminou pelo mundo em forma de pandemia gerando um surto de doenças respiratórias. As denominações dos coronavírus CoVs α e β são os mais suscetíveis a infectar mamíferos, sejam esses seres humanos ou animais. Tal doença, inicialmente relatada na região de Wuhan (China), foi primeiramente classificada como uma pneumonia e, mais tarde, por meio de investigações, constatou-se que essa era gerada pelos coronavírus da subfamília *Orthocoronaviridae*, surgindo em dezembro de 2019, e em março de 2020, foi considerada como pandemia (OLIVEIRA; MATOS; SIQUEIRA, 2020).

Desde o surgimento da pandemia são realizados estudos e pesquisas objetivando a produção de uma vacina e de fármacos que possam combater o novo coronavírus (OLIVEIRA; MATOS; SIQUEIRA, 2020). Dessa forma, este trabalho retrata um estudo *in silico* feito com objetivo de validar a possível atividade farmacológica de cumarinas (Figura 1) contra o novo coronavírus.

Figura 1: Estrutura da cumarina.



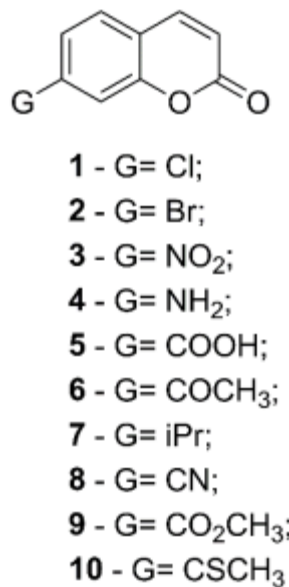
As cumarinas e seus derivados constituem uma classe de metabólitos secundários presente em várias espécies vegetais. Elas apresentam em suas estruturas os grupos fenóis e desenvolvem atividade antioxidante, além de possuírem participação nas atividades biológicas das plantas. Relatos do potencial da atividade antiviral das cumarinas são disseminados, tal como anti-HIV, além de estudos que indicam também as atividades antibacteriana, antifúngica, antioxidante, anti-inflamatória, antidiabética, anticoagulante, anti-neurodegenerativa e anticâncer (SOUZA, 2005; URQUHART et al., 2020).

O estudo *in silico* é uma técnica feita de forma computacional, que permite a descoberta de possíveis fármacos abrangendo o estudo da relação estrutura-atividade (SAR) até estudos que levam em consideração a farmacocinética de compostos, ou seja, absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade (ADMET), a partir do desenho de protótipos a fármacos (MARTINS et al., 2014; VIEGAS JÚNIOR; BOL-

ZANI; BARREIRO, 2006). Adicionalmente, existe um método de modelagem molecular, realizado por meio de programas, que têm como finalidade prever os complexos formados por moléculas, por meio de uma modelagem estrutural mais próxima da precisão e estabelecendo um prognóstico da atividade de um ligante, o chamado *docking molecular* (SOUZA, 2012).

Sendo assim, pela relevância em buscar novos tratamentos contra a Covid-19 aliada as atividades antivirais das cumarinas reportadas pela literatura, o presente trabalho realizou a busca de protótipos candidatos a fármacos eficientes no combate ao Sars-Cov-2. Essa pesquisa foi realizada com moléculas análogas a cumarina escolhidas aleatoriamente mudando apenas os grupos substituintes em uma das posições do anel aromático (1-10, Figura 2). Foram verificados os parâmetros da: regra de Lipinski (LIPINSKI et al., 2012), Área Superficial Polar (do inglês, *Polar Surface Area* ou PSA), pKa, solubilidade aquosa (log S) e toxicidade. Além disso, foi feito o estudo das interações de 1-10 por meio de *docking molecular* com o auxílio de softwares computacionais frente a proteína do Sars-Cov-2.

Figura 2: Estruturas dos análogos a cumarina.



2 METODOLOGIA

Os programas, de livre acesso, utilizados para o referido estudo das moléculas 1-10 foram os seguintes:

- i) Molinspiration Cheminformatics Software® (<http://www.molinspiration.com>) para as análises dos valores de log P, massa molar, número de

ceptores e receptores de ligação de hidrogênio e PSA;

- ii) MarvinSketch® (<https://chemaxon.com/products/marvin>) para as análises do log P, PSA, log S, pKa e forma ionizada ou não ionizada;
- iii) Osiris Property Explorer® (SANDER, 2017) para valores de log P, log S e análises de riscos de toxicidade das moléculas;
- iv) MedusaDock® (YIN et al, 2008) (<https://dokhlab.med.psu.edu/cpi/#/MedusaDock>) para o estudo de *docking molecular*.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Regra de Lipinski e PSA

A Tabela 1 apresenta os valores da regra de Lipinski e PSA para 1-10, em que foram analisados os parâmetros propostos pela regra de Lipinski: número de doadores de ligação de hidrogênio (nOHNH), número de receptores de ligação de hidrogênio (nON), massa molecular em Daltons e o log P.

Christopher A. Lipinski e colaboradores realizaram um estudo com vários fármacos e, de acordo com esse estudo, eles puderam criar a chamada regra do cinco de Lipinski. Essa consiste em regras baseadas em propriedades físico-químicas de suma importância para que seja configurado ao fármaco um boa solubilidade aquosa e uma boa permeabilidade intestinal, características estas indispensáveis para que este apresente um bom desempenho. Os parâmetros propostos pela regra dos cinco de Lipinski são: a molécula não deve apresentar mais de cinco doadores de ligação de hidrogênio (nOHNH), a molécula não deve apresentar mais de dez receptores de ligação de hidrogênio (nON), o peso molecular não deve ser maior que 500 Daltons e o log P não deve ser maior que 5 (SANDER, 2017).

Analisando os resultados da Tabela 1, observou-se que nenhuma das moléculas análogas à cumarina violaram a regra dos cinco. Além disso, em relação aos valores da extensão da regra de Lipinski, PSA, os valores foram menores que 140 Å² (Entradas 1-10, Tabela 1), podendo conferir um bom desempenho como um fármaco, através de um melhor desempenho na absorção gastrointestinal e garantindo sua passagem na barreira hematoencefálica (CRUZ et al., 2019).

3.2 Forma ionizada ou não ionizada e pKa

Foram realizadas análises de pKa nas moléculas e observadas suas formas ionizada ou não ionizada para os pH 2 (estômago), 7 (plasma sanguíneo) e 8 (intestino).

Como resultados, temos que os valores de pKa das moléculas foram encontrados em uma ampla faixa de 3,38 a 48,45. Já em relação a forma de ionização, apenas a molécula 5 (G= -COOH) se apresentou na forma ionizada nos pH 7 e 8. Por outro lado, as demais moléculas ficaram na forma não ionizada nos três valores de pH.

A capacidade dos fármacos de atravessarem as membranas, após sua administração, para que possa ocorrer sua absorção, está relacionada com sua lipofilia e grau de ionização. Os fármacos são, geralmente, ácidos ou bases fracas, que podem encontrar-se no organismo humano em suas formas ionizada, que possui maior solubilidade aquosa, o que compromete sua penetração nas membranas, visto que essas são formadas, em grande parte, por lipídios, ou não ionizadas, que possuem maior lipossolubilidade, o que configura uma melhor penetração nas membranas (CALHEIROS, 2013; MEDEIROS, 2013).

Sendo assim, podemos afirmar que 5 (G= -COOH) possui uma baixa absorção no plasma sanguíneo e intestino e os demais análogos à cumarina possuem boa absorção nos três meios: estômago, plasma sanguíneo e intestino.

3.3 Solubilidade aquosa (log S)

A solubilidade aquosa das moléculas foi analisada pelos programas *Marvin Sketch*® e *Osiris*® em pH 2 (estômago), 7 (plasma sanguíneo) e 8 (intestino) (Tabela 2).

A solubilidade aquosa, ou simplesmente log S (onde S é a concentração em mol/L de um composto), atua medindo a solubilidade de compostos orgânicos. Na prática, o log S de cerca de 85% dos fármacos está entre valores de -1 a -5, onde há tanto uma polaridade que permite uma satisfatória solubilidade aquosa quanto a lipofilia conveniente para uma boa passagem por entre as membranas. Caso haja valores de log S acima de -1, estes serão configurados a moléculas com uma maior polaridade, fazendo com que elas sejam menos permeáveis nas membranas, se não houver transporte ativo, mas não representam problemas (PEIXOTO, 2010; CALDEIRA, 2015).

Dessa forma, pode-se perceber então que, para os pH 2, 7 e 8, a maioria das moléculas estão dentro do padrão log S = -1 a - 5 (Entradas 1-4 e 6-10) (Tabela 3). Porém, a molécula 5 (G= -COOH) apresentou log S = 0,00 nos pH 7 e 8, no programa *Marvin Sketch*® (Entrada 5) (Tabela 3).

Tabela 1: Resultados da regra de Lipinski e PSA para os análogos a cumarina

Entrada	Molécula	MM (Da)	log P	nON	nOHNH	PSA (Å ²)
1	1	180,59	2,67 ^a	2	0	30,21 ^a
			2,39 ^b			26,30 ^{b,c}
			2,10 ^c			
2	2	225,04	2,80 ^a	2	0	30,21 ^a
			2,55 ^b			26,30 ^{b,c}
			2,22 ^c			
3	3	191,14	1,95 ^a	5	0	76,03 ^a
			1,72 ^b			72,12 ^{b,c}
			1,63 ^c			
4	4	161,16	1,07 ^a	3	2	56,23 ^a
			0,95 ^b			52,32 ^{b,c}
			0,82 ^c			
5	5	190,15	1,90 ^a	4	1	67,51 ^a
			1,44 ^b			63,60 ^{b,c}
			0,98 ^c			
6	6	188,18	1,89 ^a	3	0	47,28 ^a
			1,34 ^b			43,37 ^{b,c}
			1,37 ^c			
7	7	188,23	3,50 ^a	2	0	30,21 ^a
			3,03 ^b			26,30 ^{b,c}
			2,68 ^a			
8	8	171,16	1,75 ^a	3	0	54,00 ^a
			1,64 ^b			50,09 ^{b,c}
			1,33 ^c			
9	9	204,18	1,54 ^a	4	0	56,52 ^a
			1,39 ^b			52,60 ^{b,c}
			1,48 ^c			
10	10	204,25	2,77 ^a	2	0	30,21 ^a
			2,23 ^b			26,30 ^{b,c}
			1,95 ^c			

^a Valores encontrados no Molinspiration®.

^b Valores encontrados no MarvinSketch®.

^c Valores encontrados no Osiris®.

Tabela 2: Valores de log S em diferentes meios para os análogos da cumarina.

Entrada	Molécula	log S		
		pH 2	pH 7	pH 8
1	1	-3,37 ^a	-3,37 ^a	-3,37 ^a
		-3,11 ^b	-3,11 ^b	-3,11 ^b
2	2	-3,74 ^a	-3,74 ^a	-3,74 ^a
		-3,20 ^b	-3, ^b	-3,20 ^b
3	3	-3,04 ^a	-3,04 ^a	-3,04 ^a
		-3,01 ^b	-3,01 ^b	-3,01 ^b
4	4	-1,03 ^a	-2,43 ^a	-2,43 ^a
		-2,45 ^b	-2,45 ^b	-2,45 ^b
5	5	-2,72 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a
		-2,38 ^b	-2,38 ^b	-2,38 ^b
6	6	-2,98 ^a	-2,98 ^a	-2,98 ^a
		-3,05 ^b	-3,05 ^b	-3,05 ^b
7	7	-4,10 ^a	-4,10 ^a	-4,10 ^a
		-3,24 ^b	-3,24 ^b	-3,24 ^b
8	8	-2,89 ^a	-2,89 ^a	-2,89 ^a
		-3,14 ^b	-3,14 ^b	-3,14 ^b
9	9	-2,96 ^a	-2,96 ^a	-2,96 ^a
		-2,67 ^b	-2,67 ^b	-2,67 ^b
10	10	-3,37 ^a	-3,37 ^a	-3,37 ^a
		-3,11 ^b	-3,11 ^b	-3,11 ^b

^a Valores encontrados no MarvinSketch®.

^b Valores encontrados no Osiris®.

3.4 Toxicidade

As análises de toxicidade foram realizadas pelo programa de livre acesso Osiris e subdivididas em mutagenicidade (Gráfico 3(a)), tumorigenicidade (Gráfico 3(b)), irritante (Gráfico 3(c)) e efeito reprodutivo (Gráfico 3(d)). Essas apresentaram os seguintes resultados: 3 (G= -NO₂) apresentou altas probabilidades de mutagenicidade e efeito reprodutivo e probabilidade intermediária de tumorigenicidade, 4 (G= -NH₂) apresentou probabilidade alta de mutagenicidade e tumorigenicidade. 9 (G= -CO₂CH₃) apresentou alta probabilidade de efeito reprodutivo e 10 (G= -CSCH₃) apresentou probabilidade intermediária do efeito reprodutivo. Por fim, nenhuma molécula se mostrou com probabilidade irritante.

3.5 docking molecular

Nesta última etapa de pesquisa, foi realizado o estudo, por meio do programa *MedusaDock*® (Tabela 3), de *docking molecular* de 1-10 frente uma proteína do tipo S em sua conformação ativada com o código 7DWZ (YAN et al., 2021), cuja estrutura foi obtida através do banco de dados de proteínas - Protein Data Bank (PDB).

Os programas de *docking molecular* dispõem, para a realização da técnica, de um algoritmo de posicionamento, o qual realiza a amostragem de todos os modos de ligação entre ligante e alvo, e um sistema de pontuação, o qual classifica todas as soluções expressadas pelo algoritmo de posicionamento e aponta o modo de ligação mais provável do ligante, ou seja, o mais próximo do experimental e estima a afinidade de ligação entre ligante e alvo, em que quanto mais negativo for o valor, maior a afinidade entre ligante e alvo (SANTOS, 2021).

Desse modo, a Tabela 3 mostra que, dentre todas as moléculas analisadas, o análogo 5 (G= -COOH) possuiu a maior afinidade com o alvo, no caso a proteína de codificação 7DWZ, uma vez que apresentou o valor de energia entre ligante/proteína igual a -23,8871 kcal/mol (Entrada 5) (Tabela 3). A literatura relata que a Pefloxacin e uma molécula análoga a esse fármaco, cujos apresentam o grupo -COOH em suas estruturas, apresentaram alta afinidade com os resíduos de aminoácidos do SARS-CoV2, inferindo que o grupo carboxila interage por meio de ligações de hidrogênio com os resíduos de aminoácidos presentes no SARS-CoV2 (ADEDIRAN, 2022). A Figura 3 ilustra a interação de 5 (G= -COOH) com proteína de codificação 7DWZ.

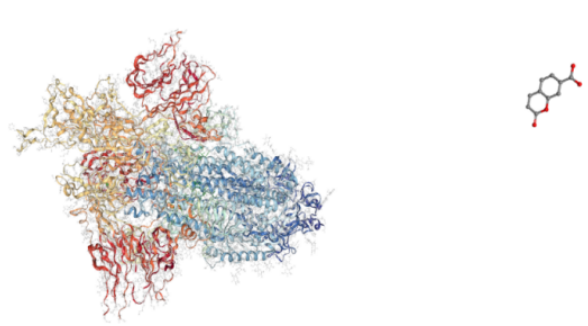
Por último, outro destaque que pode ser citado, é o análogo 1 (G= -Cl), cuja energia entre ligante/proteína foi igual a -21,2174 kcal/mol (Entrada 1) (Tabela 3).

Tabela 3: Resultados do *docking molecular* de 1-10.

Entrada	Molécula	Energia entre ligante/proteína (kcal/mol)
1	1	-21,2174
2	2	-10,7385
3	3	-17,6499
4	4	-17,053
5	5	-23,8871
6	6	-18,2812
7	7	-11,7307
8	8	-16,7996
9	9	-19,3398
10	10	-20,9667



Figura 3: Interação entre 5 (direita) e 7DWZ (esquerda).



4 CONCLUSÕES

Por meio deste trabalho, foram obtidos resultados relacionados ao estudo *in silico* e *docking molecular*, como por exemplo o análogo 5 (G= -COOH) que não violou a regra de Lipinski e PSA, não apresentou probabilidade de ser tóxica e mostrou ser a molécula que mais teve interação com a proteína codificada 7DWZ. Entretanto, 5 (G= -COOH) apresentou problemas relacionados a sua absorção pelo plasma sanguíneo e intestino,

confirmado pelo estudo de solubilidade aquosa (log S) com o programa *Marvin Sketch*®. Outro análogo interessante foi a molécula 1 (G= -Cl), a qual não violou a regra dos cinco e PSA, teve boa absorção e solubilidade aquosa nos diferentes meios: estômago, plasma sanguíneo e intestino, além de nenhum risco de toxicidade. Em relação ao *docking molecular*, 1 (G= -Cl) apresentou como a segunda molécula com mais afinidade com a proteína codificada 7DWZ, com valor bem próximo ao do análogo 5 (G= -COOH). Por fim, a presente pesquisa revelou moléculas que podem ser candidatas a atuarem como fármacos contra o vírus da Covid-19, encorajando a comunidade científica a realizar ensaios *in vitro* dessas moléculas.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará - *Campus Crateús* pelo apoio e incentivo a esta pesquisa. Vale ressaltar que este projeto foi fruto do Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) de um dos autores.

REFERÊNCIAS

- ADEDIRAN, E. O. Pefloxacin and its derivative, novel inhibitors of the sars-cov-2 main protease (3clpro) and their pharmacokinetics prediction: An in silico analysis. **Archives of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 6, n. 1, p. 13–18, 2022.
- CALDEIRA, T. G. **Avaliação da solubilidade em equilíbrio e da permeabilidade in vitro da erematolida C**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) — Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2015.
- CALHEIROS, A. M. C. d. G. **Relação ácido-base na absorção de fármacos**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) — Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz, Almada, 2013.
- CRUZ, J. H. d. A.; MOREIRA, I. C. d. S.; ALVES, M. d. F. V.; OLIVEIRA, H. M. B. F. de; FILHO, A. A. de O.; ALVES, M. A. S. G. Análise da atividade farmacológica e toxicológica do monoterpene relacionado à odontologia: estudo in silico. **Archives of Health Investigation**, v. 8, n. 11, p. 674–680, 2019.
- LIPINSKI, C. A.; LOMBARDO, F.; DOMINY, B. W.; FEENEY, P. J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. **Advanced drug delivery reviews**, Elsevier, v. 23, n. 1-3, p. 3–25, 1997.
- MARTINS, A. C. V.; NETO, P. d. L.; SILVA, M. G. d. V.; FREIRE, V. N. Estudo in silico de potenciais compostos anticâncer derivados de biflorina. In: **REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA**. Natal: SBQ, 2014. v. 37.
- MARVINSKETCH19.18. **MarvinSketch - Create and Design**; ChemAxon. 2021. Disponível em: <<https://chemaxon.com/products/marvin>>.
- MEDEIROS, G. C. R. d. **Determinação espectrofotométrica do pKa e desenvolvimento de dispersões sólidas da nova entidade química LPSF/FZ4: um promissor agente esquitossomicida**. Dissertação (Mestrado em Inovação Terapêutica) — Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2013.
- MOLINSPIRATION. **Universidade de Bratislava, Eslováquia**. 1986. Disponível em: <<http://www.molinspiration.com>>. Acesso em: 18 abr. 2022.
- OLIVEIRA, M. S. d.; MATOS, A. d. R.; SIQUEIRA, M. M. Conhecendo o sars-cov-2 e a covid-19. In: BUSS, P. M.; FONSECA, L. E. (Ed.). **Diplomacia da saúde e Covid-19: reflexões a meio caminho**. Rio de Janeiro: FIOCRUZ, 2020.
- PEIXOTO, E. P. **Previsão da solubilidade de fármacos orgânicos em água, baseado na relação quantitativa entre estrutura molecular e propriedades in silico**. Dissertação (Mestrado em Ciências Moleculares) — Universidade Estadual de Goiás, Anápolis, 2010.
- SANDER, T. **OSIRIS property explorer**. 1. ed. Suíça: Idorsia Pharmaceuticals Ltd., 2017.
- SANTOS, L. H. Docagem molecular: em busca do encaixe perfeito e acessível. **Bioinfo: Revista Brasileira de Bioinformática**, v. 1, n. 1, p. 152–157, 2021.
- SANTOS, V. L. d. A.; GONSALVES, A. d. A.; ARAÚJO, C. R. M. Abordagem didática para o desenvolvimento de moléculas bioativas: regra dos cinco de lipinski e preparação de heterociclo 1, 3, 4-oxadiazol em forno de micro-ondas doméstico. **Química Nova**, SciELO Brasil, v. 41, n. 1, p. 110–115, 2018.
- SOUZA, S. d. **Estudo de inibidores de colinesterases aplicando técnicas de QSAR-2D (HQSAR) e docking molecular**. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) — Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2012.
- SOUZA, S. M. d. **Atividade antibacteriana de cumarinas naturais e derivados**. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) — Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.
- URQUHART, C.; MOTA, A. D. da; ZARZICKI, F.; CASAGRANDE, C.; ALVES, C. F. dos S.; CLERECI, D. J.; PINHEIRO, T. da R.; BONEZ, P. C.; BARIN, T. de M.; SANTOS, R. C. V. Atividade antibiofilme da cumarina frente pseudomonas aeruginosa. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 10, p. 77261–77268, 2020.
- VIEGAS JÚNIOR, C.; BOLZANI, V. d. S.; BARREIRO, E. J. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. **Química nova**, SciELO Brasil, v. 29, n. 2, p. 326–337, 2006.
- YAN, R.; ZHANG, Y.; LI, Y.; YE, F.; GUO, Y.; XIA, L.; ZHONG, X.; CHI, X.; ZHOU, Q. Structural basis for the different states of the spike protein of

sars-cov-2 in complex with ace2. **Cell research**,
Nature Publishing Group, v. 31, n. 6, p. 717–719, 2021.

YIN, S.; BIEDERMANNNOVA, L.; VONDRASEK, J.;
DOKHOLYAN, N. V. Medusacore: an accurate force
field-based scoring function for virtual drug screening.
Journal of chemical information and modeling,
ACS Publications, v. 48, n. 8, p. 1656–1662, 2008.