

ANÁLISE *IN SILICO* DE COMPOSTOS ANTIOXIDANTES E ANTIMICROBIANOS A PARTIR DA ESPÉCIE *Calendula officinalis*

IN SILICO ANALYSIS OF ANTIOXIDANT AND ANTIMICROBIAL COMPOUNDS FROM *Calendula officinalis* SPECIES

Antônio Leão Neto¹, Marcela Rodrigues Abdallah¹, Leonardo Luiz Borges¹

**¹ Escola de Ciências Médicas e da Vida, Pontifícia Universidade Católica de Goiás – PUC
Goiás**

RESUMO:

As plantas são uma riqueza fundamental na flora global, e seu uso para fins alimentares, medicinais e farmacêuticos tem se intensificado ao longo das décadas. A etnobotânica desempenha um papel crucial ao estudar a relação entre as populações humanas e as plantas, ajudando a compreender o uso diversificado de espécies vegetais. A crescente busca por inovações terapêuticas, principalmente relacionadas a utilização de plantas medicinais tem despertado o desenvolvimento de pesquisas *in silico*, visto que esses estudos constituem uma ferramenta fundamental para a construção de novos medicamentos de maneira mais rápida e ampla. Dentre as plantas medicinais mais utilizadas, a *Calendula officinalis* se destaca por suas propriedades anti-inflamatórias, antimicrobianas, antioxidantes, antineoplásicas e cicatrizantes. Nesse sentido, o presente estudo realizou uma análise bioquímica e funcional dos compostos encontrados na espécie *Calendula officinalis* por meio de ferramentas *in silico* elucidando os seus potenciais efeitos terapêuticos, com destaque para suas propriedades antioxidantes e antimicrobianas. Desse modo, através de pesquisas realizadas em artigos científicos, os compostos mais promissores da espécie foram catalogados e isolados com o intuito de estabelecer os compostos com maior destaque e com maiores efeitos terapêuticos. Mediante plataformas e softwares de metodologias *in silico*, foram analisadas as possíveis interações e mecanismos de ação dessas substâncias no organismo humano, ou seja, a predição de atividade biológica. Por conseguinte, houve a busca por possíveis similaridades farmacofóricas das substâncias estudadas e busca por alvos

moleculares dessas substâncias, afim de contribuir para a triagem de novos medicamentos com efeitos desejados.

PALAVRAS-CHAVE: plantas medicinais; *in silico*; antioxidantes; antimicrobianos.

ABSTRACT:

Plants are a fundamental richness in the global flora, and their use for food, medicinal and pharmaceutical purposes has intensified over the decades. Ethnobotany plays a crucial role in studying the relationship between human populations and plants, helping to understand the diverse use of plant species. The growing search for therapeutic innovations, mainly related to the use of medicinal plants, has sparked the development of *in silico* research, since these studies are a fundamental tool for building new medicines more quickly and widely. Among the most widely used medicinal plants, *Calendula officinalis* stands out for its anti-inflammatory, antimicrobial, antioxidant, antineoplastic and healing properties. With this in mind, this study carried out a biochemical and functional analysis of the compounds found in the *Calendula officinalis* species using *in silico* tools to elucidate their potential therapeutic effects, with emphasis on their antioxidant and antimicrobial properties. Thus, through research into scientific articles, the most promising compounds of the species were catalogued and isolated with the aim of establishing the most prominent compounds with the greatest therapeutic effects. Using *in silico* methodologies platforms and software, the possible interactions and mechanisms of action of these substances in the human organism were analyzed, in other words, the prediction of biological activity. Consequently, the search for possible pharmacophore similarities of the substances studied and the search for molecular targets of these substances were carried out, in order to contribute to the screening of new drugs with desired effects.

KEYWORDS: *Calendula Officinalis*; *in silico*; antioxidants; antimicrobials.

INTRODUÇÃO:

As plantas representam uma inestimável riqueza da flora de cada nação. Em escala global, independentemente dos continentes em que se encontram, a utilização de suas propriedades tem se intensificado. Paralelamente à domesticação e ao cultivo de plantas para fins alimentares e farmacêuticos, a incessante busca por suas propriedades biológicas constitui um dos maiores desafios das últimas décadas. (SILVA *et al.*, 2020)

A relação entre seres humanos e plantas começou com a utilização de vegetais para suprir necessidades essenciais de sobrevivência. Isso engloba o uso das plantas como fontes de alimento, medicamentos, calor, abrigo, matérias de construção e ornamentação. Nesse contexto, a etnobotânica se dedica ao estudo dessa interação mútua entre as populações humanas e as plantas, desempenhando um papel fundamental na compreensão do uso diversificado de várias espécies como alimentos, remédios e matérias-primas. (DEUSCHLE, 2013)

A utilização de plantas medicinais para prevenção, tratamento ou cura de doenças representa uma das práticas medicinais mais antigas da humanidade. A Organização Mundial da Saúde (OMS), no início da década de 1990, divulgou que entre 65% a 80% da população em países em desenvolvimento dependiam exclusivamente de plantas medicinais como sua principal fonte de acesso aos cuidados básicos de saúde. (VOLPATO, 2005) (FERREIRA; CARVALHO; SANT'ANNA, 2022)

A planta cientificamente denominada *Calendula officinalis* L., cujo nome deriva do latim “Calendae”, que significa “primeiro dia de cada mês”, foi primeiramente descrita pelo botânico sueco Carl Von Linné, que a classificou com o binômio *Calendula officinalis* L. Atualmente, é popularmente conhecida como “maravilla”, “marigold” em inglês e, em Portugal, como “belas noites”, “maravilha”, “bem-me-quer” e “calêndula hortense”. Em outros países, é chamada de “ringelblume” ou “todtenblume” na Alemanha, “souci des jardins” na França, “calendola”, “calendula”, “callandria” e “calenzola” na Itália, “galbinele” na Romênia e “ringblomma” na Suécia. (CENTENO, 2004; MULEY; KHADABADI; BANARASE, 2009)

Popularmente chamada de calêndula ou margarida e pertencente à família Asteraceae, a *Calendula officinalis* trata-se de uma herbácea anual originária dos países mediterrâneos. A calêndula é amplamente reconhecida por suas diversas propriedades terapêuticas, incluindo atividades anti-inflamatórias, antimicrobianas, antioxidantes, antivirais, cicatrizantes e anti-neoplásicas. Historicamente, a calêndula teve um papel importante nas antigas civilizações da Grécia, Roma, Arábia e Índia, sendo utilizada não apenas como planta medicinal, mas também como corante têxtil, corante alimentar e ingrediente em produtos cosméticos. (DANIELSKI *et al.*, 2007) (MOREIRA, 2015)

As flores da calêndula contém substâncias que desempenham um papel importante na atividade farmacológica. Entre essas substâncias, os flavonoides se destacam por suas

diversas propriedades benéficas, incluindo ações cicatrizantes, antissépticas, emolientes, sudoríficas, colagogas, anti-inflamatórias, antivirais, antieméticas, vasodilatadoras e tonificantes da pele. Além disso, os flavonoides são conhecidos por suas propriedades antioxidantes, mostrando-se eficazes no combate a várias moléculas oxidantes que podem causar danos ao DNA e promover o desenvolvimento de tumores. (BORTOLO; MARQUES; PACHECO, 2009) (PAIM *et al.*, 2010) (SANTOS *et al.*, 2015)

Em virtude dos desafios advindos do uso excessivo de antibióticos convencionais prescritos, os microbiologistas clínicos têm demonstrado um interesse substancial na investigação de extratos vegetais com potencial antimicrobiano. Diferentemente dos agentes antibióticos e quimioterápicos, há uma escassez de registros na literatura sobre os possíveis mecanismos de ação dos produtos derivados de plantas. Os compostos isolados de plantas exibem estruturas químicas distintas dos antimicrobianos obtidos de bactérias, leveduras e fungos. Essas substâncias possuem a capacidade de atuar no metabolismo intermediário, ativando enzimas, modificando a ação de inibidores que afetam os nutrientes do meio, interferindo nos processos enzimáticos a nível nuclear ou ribossômico, provocando alterações nas membranas ou ainda intervindo no metabolismo secundário. (VOLPATO, 2005) (KOWALSKI *et al.*, 2020)

A *Calendula officinalis* é rica em uma diversidade de compostos bioativos, incluindo flavonoides, triterpenoides e carotenoides, que exibem notáveis propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias. Esses compostos desempenham um papel crucial na neutralização de radicais livres, protegendo assim as células dos danos oxidativos que podem culminar no desenvolvimento de câncer. Pesquisas indicam que os extratos de *Calendula officinalis* têm a capacidade de induzir a apoptose, ou morte celular programada, em células cancerígenas, sem causar danos significativos às células normais. Essa seletividade é fundamental para a criação de terapias antineoplásicas mais seguras e eficazes. Além disso, os extratos de calêndula demonstraram uma notável capacidade de inibir a proliferação de células tumorais, impedindo tanto o crescimento quanto a disseminação do câncer. Esse efeito é particularmente vital para o controle e a contenção do avanço da doença. (BORTOLO; MARQUES; PACHECO, 2009)

Nesse sentido, a Calêndula revela-se uma fonte notável de propriedades antimicrobianas e antioxidantes, destacando-se por suas contribuições significativas para a saúde e o bem-estar. Os estudos mencionados evidenciam a presença de flavonoides nas flores da *Calendula officinalis*, conferindo-lhes propriedades como cicatrizantes,

antissépticas, e até mesmo atividades antivirais. Além disso, a planta demonstra notável eficácia antioxidante, combatendo efetivamente diversas moléculas oxidantes associadas a danos celulares. Essas características tornam a *Calendula officinalis* uma alternativa promissora no campo da fitoterapia, oferecendo não apenas benefícios terapêuticos, mas também ressaltando seu potencial como uma opção natural para promover a saúde e prevenir doenças. Assim, no presente trabalho, buscou-se identificar os compostos ativos da planta, a fim de avaliar os aspectos farmacocinéticos *in silico* das moléculas selecionadas e realizar a predição da atividade biológica dos compostos, efetuando por fim, a busca por alvos moleculares para tais substâncias e posterior verificação da potencial interação entre ligante-receptor.

MÉTODOS:

Este é um estudo experimental computacional, no qual foi realizada uma triagem *in silico* dos compostos encontrados na *Calendula officinalis*. A busca por compostos químicos da planta foi feita através de um levantamento bibliográfico de literatura, a partir de artigos científicos publicados nas bases de dados ScienceDirect (<https://www.sciencedirect.com/>) e PubMed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>), por meio dos seguintes descritores e operadores booleanos: *Calendula officinalis* AND Chemical Compounds.

Os critérios de inclusão foram: artigos publicados com os operadores relatados, nos últimos 5 anos e os artigos gratuitos na íntegra. Foram encontrados 134 artigos na plataforma ScienceDirect e 18 artigos na plataforma PubMed.

Foram empregados métodos e ferramentas para investigar os elementos essenciais da Calêndula, visando realizar análises bioquímicas e funcionais das estruturas relevantes. Isso possibilitou demonstrar os impactos de cada componente no organismo humano. Este enfoque de pesquisa resultará em um aprimorado conhecimento sobre os efeitos terapêuticos das moléculas, contribuindo, por conseguinte, para a identificação e seleção de novos fármacos que contenham tais componentes.

Os compostos moleculares encontrados através da pesquisa bibliográfica, tiveram seu código canonical SMILES, que é a identificação de cada molécula, obtidos pelo programa PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>), disponível gratuitamente online. Posteriormente, esses códigos foram utilizados para pesquisar as características

farmacológicas através da plataforma Way 2 Drug, por meio da ferramenta Pass Prediction (<http://www.way2drug.com/passonline/predict.php>), foram filtradas as moléculas com $Pa > 0,7$, que por sua vez se traduz como moléculas com maior probabilidade de terem atividade biológica. (POROIKOV *et al.*, 2000; POROIKOV; FILIMONOV, 2002)

A farmacodinâmica e farmacocinética desses compostos foram analisados através das ferramentas Way 2 Drug e Swiss Target Prediction, juntamente com o SwissADME (<http://www.swissadme.ch/>) que, por sua vez, são servidores disponíveis online formados por uma base de dados com informações essenciais sobre os compostos pesquisados entre as quais temos: forma estrutural, permeabilidade na barreira hematoencefálica, absorção gastrointestinal, inibição de citocromos P450 e o filtro de Lipinski.

Além disso, análises de toxicidade foram realizadas utilizando as ferramentas Pred-hERG (<http://predherg.labmol.com.br/>) e ProTox-III (<https://tox.charite.de/protox3>). Após esses estudos, foram selecionadas as moléculas que apresentaram as melhores pontuações nos servidores utilizados, especialmente aquelas com atividades antimicrobianas e antioxidantes. Os compostos mais promissores tiveram suas representações em 2D e em 3D feitas pelo site MolView (<https://molview.org/>). (BANERJEE *et al.*, 2018, 2024; BRAGA *et al.*, 2015; DAINA; MICHIELIN; ZOETE, 2017, 2019)

O docking molecular é um método que realiza a predição das interações entre um ligante em potencial e o sítio ativo do seu alvo molecular. O alvo proteico utilizado foi obtido a partir do site PDB (Protein Data Bank; <https://www.rcsb.org/>) com o código PDB ID: 3NVY. Foi realizado o redocking com o ligante co-cristalizado e as 7 melhores poses apresentaram valores de RMSD (Root-Mean-Square Deviation) inferiores a 1,5 Å. A função de score utilizada foi CHEMPLP associada ao algoritmo genético. O programa utilizado foi o GOLD Suite 5.7.0. (CAO; PAUFF; HILLE, 2014; FAN; FU; ZHANG, 2019)

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Foram catalogadas as moléculas provenientes da espécie *Calendula officinalis* com seus respectivos códigos canonical SMILES, para a realização posterior das análises de predição *in silico*. E através das análises explicitadas anteriormete, vinte e seis substâncias principais foram isoladas e consideradas relevantes para a continuidade da pesquisa, substâncias essas apresentadas na tabela 1:

Tabela 1. Substâncias selecionadas da espécie *Calendula officinalis*.

Substâncias isoladas da *Calendula officinalis*

Stigmasterols

Sitosterols

Faradiol-3-O-Palmitate

ψ -Taraxasterol

Lupeol

Erythrodiol

Faradiol-3-O-Myristate

Narcissin

Calendoflaside

Calendoflavoside

Calendoflavobioside

Rutin

Quercitrin

Neohesperidoside

Isorhamnetin-3-O-glucoside

Esculetin

Scopoletin

Umbelliferone

Plastoquinone

Ubiquinone

α - tocopherol

Phylloquinone

Neoxanthin

Lycopene

Lutein

Carotene

Fonte: elaborado pelos próprios autores

Através das análises obtidas por meio do servidor online Swiss Target Prediction e da ferramenta Pass prediction, foi possibilitado a descoberta e descrição de características farmacocinéticas como o potencial de absorção gastrointestinal, a permeabilidade quanto a barreira hematoencefálica, a inibição de citocromos p450, quais sejam: CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D e CYP3A4. Ademais, por meio do estudo das substâncias através das ferramentas computacionais, foi possível identificar e filtrar quais moléculas violavam a regra de Lipinski, e quantas violações eram presentes em cada uma delas.

Ademais, cabe ressaltar que o Way 2 Drug, compreende servidores adicionais de Pass Prediction que comunicam as probabilidades de interação com receptores em diversas regiões do corpo, indicando também as doenças nas quais esses pontos de ligação desempenham um papel direto. Ambas as plataformas desempenharam um papel crucial ao revelar as atividades biológicas predominantes dos compostos da Calêndula e identificar seus principais alvos farmacocinéticos.

Por meio dessas ferramentas anteriormente citadas, foi viável a categorização e filtragem das moléculas por meio do Pa (probabilidade de “ser ativa”), grandeza que estima a chance que o composto analisado tem de pertencer a subclasse de compostos ativos. Dessa forma foi possível filtrar os compostos com $Pa > 0,7$, e valores de $Pi < 0,05$.

A análise de toxicidade feita com os programas ProTox III e Pred-hERG, foi de extrema importância no processo de exclusão e filtragem das moléculas, pois a partir delas foi viável a exclusão de compostos que se mostraram bloqueadoras no consenso do Pred-hERG, além de mostrarem a classe de toxicidade, a predição do que seria essa toxicidade no organismo humano e a dose letal (LD50) dessas substâncias.

Com as análises, foram excluídas do seguimento do estudo as moléculas com a regra de Lipinski negativas, as que tiveram a regra positiva, tiveram seguimento da pesquisa nos

softwares ProTox III e Pred-hERG. Nisso, aquelas que se mostraram bloqueadoras, foram excluídas do seguimento do estudo. Posteriormente, foram analisadas através do programa Way2Drug aqueles compostos com $P_a > 0,7$ e $P_i < 0,05$ e que apresentaram maior probabilidade de apresentar características relevantes para os objetivos desse estudo, quais seja, propriedades de cunho antioxidante e antimicrobiano, o restante das moléculas foram excluídas do prosseguimento do estudo. Assim, foram selecionadas oito moléculas, das vinte e seis iniciais, que apresentam o maior potencial de possuírem características relevantes em processos antioxidantes e antimicrobianos, e com o menor grau de toxicidade para a espécie humana, categorizadas na tabela 2.

Tabela 2. Moléculas da *Calendula officinalis* que apresentaram maior potencial.

Moléculas com maior potencial da <i>Calendula Officinalis</i>
Stigmasterols
ψ -Taraxasterol
Lupeol
Erythrodiol
Neohesperidoside
Esculetin
Scopoletin
Umbelliferone

Fonte: elaborado pelos próprios autores

Posteriormente, foi feito a busca dos alvos farmacológicos através do Swiss Target Prediction das oito moléculas selecionadas. Dessa forma, os quinze primeiros resultados de alvos mais prováveis dessas moléculas foram analisados utilizando a ferramenta Uniprot (<https://www.uniprot.org/>) a fim de identificar possíveis efeitos antioxidantes e/ou antimicrobianos desses alvos em específico. Com isso, as moléculas que apresentam a maior quantidade de alvos promissores foram: Esculetin, Scopoletin e Umbelliferone. (BATEMAN *et al.*, 2023; DAINA; MICHELIN; ZOETE, 2019)

A molécula Esculetin (Figura 1), conforme relatado, demonstra uma forte capacidade de eliminar radicais do composto 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) relacionados a radicais livres no organismo, ademais a molécula também apresenta papel na proteção celular contra danos mediados por espécies reativas de oxigênio, sendo também eficaz na proteção de células contra danos ao DNA induzidos por estresse oxidativo. Ainda, foi documentado que a Esculetin apresenta redução da toxicidade da *Escherichia coli* O157:H7, o patógeno mais comum da colite hemorrágica, através da inibição da expressão do gene *stx2* da toxina semelhante à shiga, que é uma substância produzida pela bactéria *Escherichia coli* enterohemorrágica (EHEC) que causa diarreia sanguinolenta e, por vezes, síndrome hemolítico-urêmica. (LIANG *et al.*, 2017; ZHANG; XIE; LI, 2022)

Scopoletin (Figura 2) apresenta um efeito potente antioxidante ao ser testada contra radicais hidroxila e peroxidação lipídica através da eliminação de radicais livres, incluindo 2,2-difenil-1-picrilhidrazil, observado também na Esculetin e ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico (ABTS). A Scopoletin mostra atividade antifúngica máxima contra *Trichophyton mentagrophytes*, *Aspergillus niger* e *Candida albicans*. A scopoletin mostrou propriedades antifúngicas eficazes contra uma cepa multirresistente de *C. tropicalis*. O mecanismo de ação demonstrado é a interferência na síntese de componentes essenciais às células fúngicas, a ruptura das paredes celulares e membranas plasmáticas e o prejuízo na formação, desenvolvimento e proliferação do biofilme de *C. Tropicalis*. Ainda, estudos demonstraram a eficácia da molécula contra *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *P. aeruginosa* DMSC 37166, *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv, *Actinomyces israelii*, *Actinomyces naeslundii* e *Salmonella typhi*, além disso, foi relatado que a scopoletin inibe de maneira significativa o crescimento de *Plasmodium yoelii* e *Trypanosoma brucei brucei*. (ANTIKA *et al.*, 2022; GAO *et al.*, 2024)

Semelhante a Esculetin e a Scopoletin, a Umbelliferone (Figura 3) apresenta a capacidade de eliminar os radicais livres e de inibir a peroxidação lipídica. Conforme demonstrado, o efeito antioxidante da Umbelliferone pode ser resultado da ativação da via de sinalização Nrf2, o que leva a um aumento das atividades de substâncias antioxidantes endógenas, tais como: superóxido dismutase (SOD), glutatona (GSH), catalase (CAT) e NAD(P)H-quinona oxidoredutase. Ademais, foi mostrado que a Umbelliferone apresentou propriedades antibiofilme e antivirulência, contra *S. Epidermidis*, afetando a fixação inicial e adesividade entra as células, sendo a adesão e a agregação consideradas fenótipos cruciais do *S. Epidermidis* positivo para biofilme, cuja formação desse biofilme em substâncias animadas

e inanimadas é estudada como promotora de eventos desfavoráveis como surgimento de resistência a antibióticos e aumento de morbimortalidade de indivíduos. (KORNICKA *et al.*, 2023; SWETHA *et al.*, 2019)

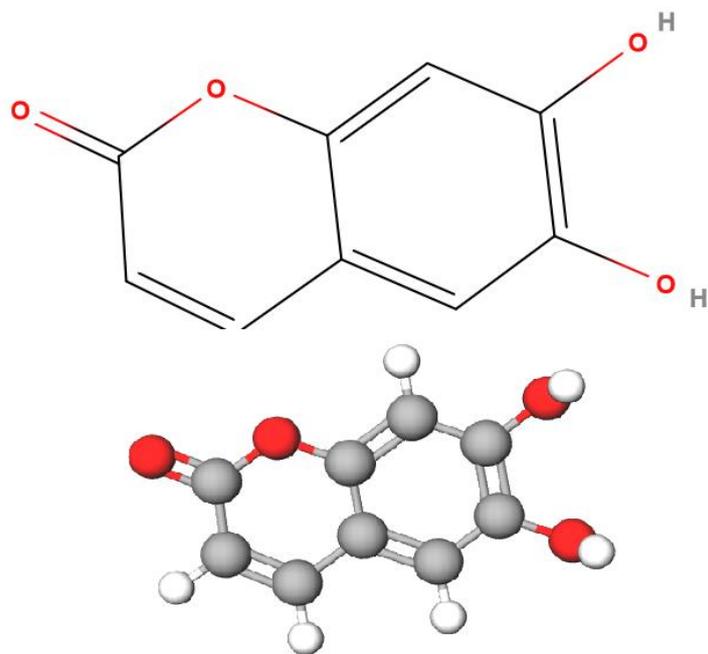


Figura 1. Representação em 2D e em 3D da molécula esculetin.

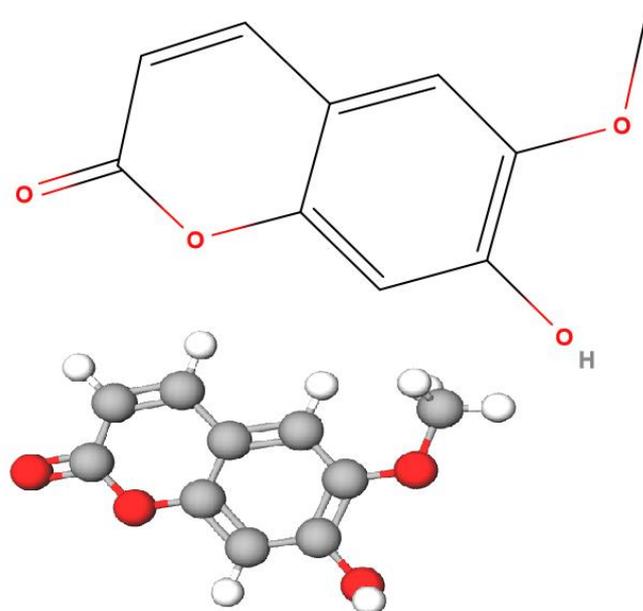


Figura 2. Representação em 2D e em 3D da molécula scopoletin.

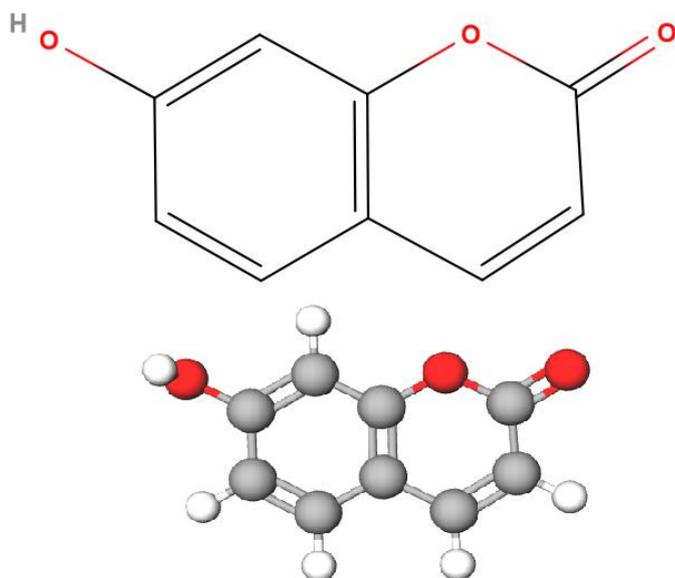


Figura 3. Representação em 2D e em 3D da molécula Umbelliferone

De acordo com as análises conduzidas através da plataforma Swiss Target Prediction, foi possível identificar um alvo presente na molécula de Esculetin, discutida acima, a Xantina desidrogenase (Figura 4). A xantina oxidorreductase (XOR) consiste em duas formas diferentes, xantina desidrogenase e xantina oxidase (XO), sendo uma flavoproteína típica e complexa contendo molibdênio. Esta enzima catalisa a oxidação de purinas, pterina e aldeídos com NAD⁺ ou NADP⁺ como acceptor de elétrons.

Dessa maneira, a literatura traz que além da NADPH oxidase, leucócitos polimorfonucleares e macrófagos demonstraram conter XOR, o que pode ser ligado à resposta dessas células à infecção microbiana. Assim, por meio do docking molecular foi possível observar diversas interações, com destaque para as interações de hidrogênio com a Arginina 880, Triptofano 1010 e Glutamato 802. As interações de hidrogênio possuem maior intensidade de atração e são as principais forças intermoleculares associadas a ancoragem da estrutura ligante ao sítio ativo da proteína investigada. Outras interações de menor intensidade também podem ser visualizadas, como as interações π - π T-shaped e π - π stacked (Figura 4) (FURUHASHI, 2020; MARTIN *et al.*, 2004; WANG *et al.*, 2016)

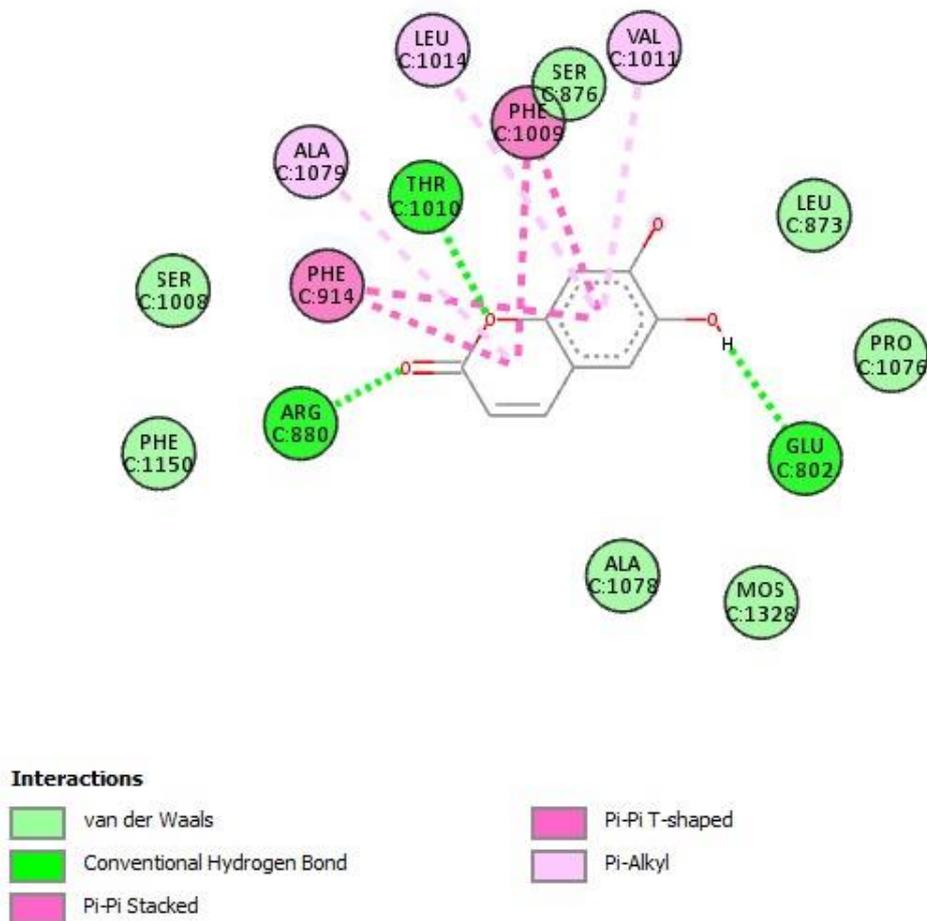


Figura 4. Representação gráfica 2D da molécula de Esculetin encontrada na espécie *Calendula officinalis* interagindo com o alvo Xantina desidrogenase.

CONCLUSÃO:

A busca incessante por inovações terapêuticas relacionadas a utilização de plantas medicinais está cada vez mais frequente e este estudo corroborou com o cenário de interesse global ao demonstrar o vasto potencial terapêutico dos compostos presentes na *Calendula officinalis*, especialmente suas propriedades antioxidantes, antimicrobianas e antitumorais. A pesquisa in silico permitiu a identificação de 26 substâncias iniciais, das quais 8 se destacaram por suas atividades biológicas promissoras e baixa toxicidade. Entre essas, esculetin, scopoletin e umbelliferone apresentaram os resultados mais expressivos, com capacidade de neutralizar radicais livres, proteger células contra danos oxidativos e combater microrganismos patogênicos. Esses achados reforçam o valor da *Calendula officinalis* como fonte natural de compostos bioativos, com grande potencial para o desenvolvimento de novos fármacos, oferecendo alternativas eficazes para tratar diversas condições de saúde. As

metodologias in sílico aplicadas no estudo permitiram um avanço significativo na compreensão dos mecanismos de ação dessas moléculas, fornecendo bases para futuras pesquisas experimentais e clínicas.

REFERÊNCIAS:

1. ANTIKA, L. D. et al. **Scopoletin: A review of its source, biosynthesis, methods of extraction, and pharmacological activities.** *Zeitschrift fur Naturforschung - Section C Journal of Biosciences* De Gruyter Open Ltd, , 1 jul. 2022.
2. BANERJEE, P. et al. ProTox-II: A webserver for the prediction of toxicity of chemicals. *Nucleic Acids Research*, v. 46, n. W1, p. W257–W263, 2 jul. 2018.
3. BANERJEE, P. et al. ProTox 3.0: A webserver for the prediction of toxicity of chemicals. *Nucleic Acids Research*, v. 52, n. W1, p. W513–W520, 5 jul. 2024.
4. BATEMAN, A. et al. UniProt: the Universal Protein Knowledgebase in 2023. *Nucleic Acids Research*, v. 51, n. D1, p. D523–D531, 6 jan. 2023.
5. BORTOLO, D. P. G.; MARQUES, P. A. A.; PACHECO, A. C. Teor e rendimento de flavonóides em calêndula (*Calendula officinalis* L.) cultivada com diferentes lâminas de irrigação. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v. 11, n. 4, p. 435–441, 2009.
6. BRAGA, R. C. et al. Pred-hERG: A Novel web-Accessible Computational Tool for Predicting Cardiac Toxicity. *Molecular Informatics*, v. 34, n. 10, p. 698–701, 1 out. 2015.
7. CAO, H.; PAUFF, J. M.; HILLE, R. X-ray crystal structure of a xanthine oxidase complex with the flavonoid inhibitor quercetin. *Journal of Natural Products*, v. 77, n. 7, p. 1693–1699, 25 jul. 2014.
8. CENTENO, L. Plantas medicinales españolas *Calendula officinalis* L. (Asteraceae). *MEDICINA NATURISTA*, p. 257–261, 2004.

9. DAINA, A.; MICHIELIN, O.; ZOETE, V. SwissADME: A free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. **Scientific Reports**, v. 7, 3 mar. 2017.
10. DAINA, A.; MICHIELIN, O.; ZOETE, V. SwissTargetPrediction: updated data and new features for efficient prediction of protein targets of small molecules. **Nucleic Acids Research**, v. 47, n. W1, p. W357–W3664, 1 jul. 2019.
11. DANIELSKI, L. et al. Marigold (*Calendula officinalis* L.) oleoresin: Solubility in SC-CO₂ and composition profile. **Chemical Engineering and Processing: Process Intensification**, v. 46, n. 2, p. 99–106, fev. 2007.
12. DEUSCHLE, V. **AVALIAÇÃO FITOQUÍMICA, CAPACIDADE ANTIOXIDANTE E FOTOPROTETORA DO EXTRATO E FORMULAÇÕES DE *Calendula officinalis* L.** Santa Maria: [s.n.].
13. FAN, J.; FU, A.; ZHANG, L. **Progress in molecular docking. Quantitative Biology** Higher Education Press, , 1 jun. 2019.
14. FERREIRA, E. E.; CARVALHO, E. DOS S.; SANT'ANNA, C. DE C. A importância do uso de fitoterápicos como prática alternativa ou complementar na atenção básica: revisão da literatura. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 1, p. e44611124643, 11 jan. 2022.
15. FURUHASHI, M. **New insights into purine metabolism in metabolic diseases: Role of xanthine oxidoreductase activity.** **American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism** American Physiological Society, , 1 nov. 2020.
16. GAO, X. Y. et al. **Scopoletin: a review of its pharmacology, pharmacokinetics, and toxicity.** **Frontiers in Pharmacology** Frontiers Media SA, , 2024.
17. KORNICKA, A. et al. **Umbelliferone and Its Synthetic Derivatives as Suitable Molecules for the Development of Agents with Biological Activities: A Review of Their Pharmacological and Therapeutic Potential.** **Pharmaceuticals** Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI), , 1 dez. 2023.

18. KOWALSKI, L. et al. Atividade Antimicrobiana de Flavonoides: uma Revisão de Literatura. **Revista Interdisciplinar em Ciências da Saúde e Biológicas**, v. 4, n. 1, p. 51–65, 29 ago. 2020.
19. LIANG, C. et al. Pharmacological activities and synthesis of esculetin and its derivatives: A mini-review. **Journal of Lipid Research**, v. 58, n. 3, p. 519–528, 2017.
20. MARTIN, H. M. et al. **Role of xanthine oxidoreductase as an antimicrobial agent. Infection and Immunity**, set. 2004.
21. MOREIRA, S. **Estudo da aplicabilidade de pétalas de Calendula officinalis L. em produtos alimentares enriquecidos**. Porto: UNIVERSIDADE FERNANDO PESSOA, 2015.
22. MULEY, B. P.; KHADABADI, S. S.; BANARASE, N. B. **Phytochemical Constituents and Pharmacological Activities of Calendula officinalis Linn (Asteraceae): A Review** *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. [s.l: s.n.]. Disponível em: <<http://www.tjpr.org>>.
23. PAIM, L. F. N. A. et al. Assessment of plant development, morphology and flavonoid content in different cultivation treatments of *Calendula officinalis* L., Asteraceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 6, p. 974–980, 2010.
24. POROIKOV, V. V et al. Robustness of biological activity spectra predicting by computer program PASS for noncongeneric sets of chemical compounds. **Journal of chemical information and computer sciences**, v. 40, n. 6, p. 1349–55, nov. 2000.
25. POROIKOV, V. V; FILIMONOV, D. A. How to acquire new biological activities in old compounds by computer prediction. **Journal of computer-aided molecular design**, v. 16, n. 11, p. 819–24, nov. 2002.
26. SANTOS, L. et al. Análise de amostras de flores de Calêndula (*Calendula officinalis* L., Asteraceae) comercializadas na grande Curitiba. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, p. 251–258, 2015.

27. SILVA, E. F. et al. Aspectos botânicos e propriedades farmacológicas de calendula officinalis: uma revisão. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 5, p. 31125–31132, 2020.
28. SWETHA, T. K. et al. Umbelliferone Impedes Biofilm Formation and Virulence of Methicillin-Resistant Staphylococcus epidermidis via Impairment of Initial Attachment and Intercellular Adhesion. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 9, 18 out. 2019.
29. VOLPATO, A. **AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIBACTERIANO DE Calendula officinalis (ASTERACEAE) PARA SEU EMPREGO COMO FITOTERÁPICO**. Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 2005.
30. WANG, C. H. et al. Characterization of a novel Acinetobacter baumannii xanthine dehydrogenase expressed in Escherichia coli. **Biotechnology Letters**, v. 38, n. 2, p. 337–344, 1 fev. 2016.
31. ZHANG, L.; XIE, Q.; LI, X. Esculetin: A review of its pharmacology and pharmacokinetics. **Phytotherapy Research**, v. 36, n. 1, p. 279–298, 2022.