

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS - UFAM**  
**INSTITUTO DE CIÊNCIA EXATAS E TECNOLOGIA**  
**BACHAREL EM FARMÁCIA**

**KEVIN CHRISTOPHE PEIXOTO PEREIRA BARROS**

**ESTUDO *IN SILICO*: OTIMIZAÇÃO DO POTENCIAL  
ANTICOLINESTERÁSICO DO ÁCIDO VANÍLICO, COM VISTAS AO USO NA  
DOENÇA DE ALZHEIMER, DETERMINADO POR *DOCKING* MOLECULAR**

**ITACOATIARA**

**2024**

**KEVIN CHRISTOPHE PEIXOTO PEREIRA BARROS**

**ESTUDO *IN SILICO*: OTIMIZAÇÃO DO POTENCIAL  
ANTICOLINESTERÁSICO DO ÁCIDO VANÍLICO, COM VISTAS AO USO NA  
DOENÇA DE ALZHEIMER, DETERMINADO POR *DOCKING* MOLECULAR**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado ao Curso de Farmácia da  
Universidade Federal do Amazonas  
(UFAM), como requisito para obtenção do  
título de Bacharel em farmácia

Orientador: Prof. Dr. Flávio Nogueira

**ITACOATIARA**

**2024**

## Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

B277e Barros, Kevin Christophe Peixoto Pereira  
Estudo in silico: otimização do potencial anticolinesterásico do ácido vanílico, com vista ao uso na doença de Alzheimer, determinado por docking molecular / Kevin Christophe Peixoto Pereira Barros . 2024  
37 f.: il. color; 31 cm.

Orientador: Flávio Nogueira da Costa  
TCC de Graduação (Farmácia) - Universidade Federal do Amazonas.

1. Doença de Alzheimer. 2. docking molecular. 3. ácido vanílico. 4. modelagem computacional. 5. Thunbergia erecta. I. Costa, Flávio Nogueira da. II. Universidade Federal do Amazonas III. Título

**KEVIN CHRISTOPHE PEIXOTO PEREIRA BARROS**

**ESTUDO *IN SILICO*: OTIMIZAÇÃO DO POTENCIAL  
ANTICOLINESTERÁSICO DO ÁCIDO VANÍLICO, COM VISTAS AO USO NA  
DOENÇA DE ALZHEIMER, DETERMINADO POR *DOCKING* MOLECULAR**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado ao Curso de Farmácia da  
Universidade Federal do Amazonas  
(UFAM), como requisito para obtenção do  
título de Bacharel em farmácia

Este trabalho foi defendido e aprovado pela banca em 29/07/2024

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Flávio Nogueira da Costa - UFAM  
Orientador

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Stéfani Ferreira de Oliveira - UFAM  
Avaliadora

---

Prof.<sup>a</sup> MsC Rhanna Victória Amaral da Silva-UFAM  
Avaliadora

## **AGRADECIMENTOS**

Minha família, que foi e é meu alicerce e sustento das minhas decisões, não seria primeiramente agradecida nesse trabalho sem o incentivo do professor Dr. Adriano Márcio dos Santos, do curso de Licenciatura em Física da Universidade do Estado do Amazonas – campus Parintins.

Agradeço aos meus pais, Diane Barros e Ed Barros, que, mesmo diante das adversidades, não puseram limites ou condições em me amar, me ajudar e me apoiar nessa até então, curta, porém importante trajetória. Agradeço a minha irmã, Dayane Oyama, e seu marido, Ryan Oyama, que também não mediram esforços ao me ajudar de toda forma possível. De modo especial, agradeço à minha avó, que me incentivou nesta caminhada e não permitiu que eu desistisse enquanto estava sob seus cuidados.

Agradeço aos meus amigos de graduação, em especial Mateus Feitosa e Suelaine Gil, que de forma firme e descontraída, me forneceram apoio técnico e emocional durante a produção deste trabalho sem eles muito provavelmente teria desistido.

Agradeço ao meu orientador, Flávio Nogueira da Costa, quem primeiro me incentivou a trabalhar nessa área de pesquisa, também agradeço a Deus por tamanha paciência que ele teve comigo.

Agradeço à professora Rhanna Victória Amaral da Silva, que me introduziu a esse campo de pesquisa e me emprestando de seu vasto conhecimento de modo paciente e didático.

Agradeço aos amigos feitos durante o período de estágio no Laboratório de Vigilância Dr. Edvar dos Santos Fernandes, de modo especial à dona Marfisa Costa que com longas conversas tornou a difícil experiência do estágio mais leve e empolgante.

Agradeço aos meus amigos de caminhada, Aleksander Renê, Elenita Rhanna, Lucas Bettiol, Leonardo Marques, Matheus Reis e Jorge Beltrão que incentivaram e acompanharam durante toda essa caminhada.

Agradeço ao Professor Victor Celso Cavalcanti Capibaribe, que de modo alegre e empolgante me fez almejar novos horizontes como futuro profissional farmacêutico

Agradeço a Deus, pelos dons que me foi confiado, que nesse campo de atuação eu possa utilizar esses dons para cumprir minha missão como futuro farmacêutico: Salvar Vidas

*“Não se pode aprender nada de uma lição que não seja acompanhada por dor, já que não se pode conseguir nada sem um sacrifício. Mas quando você aguenta essa dor e a supera, as pessoas conseguem um coração forte que não perde para nada. Sim, um coração de aço.”*

- Fullmetal Alchemist: Brotherhood

## RESUMO

A doença de Alzheimer (DA) é um transtorno neurodegenerativo progressivo e a principal causa de demência e incapacidade em idosos. Apesar das extensas pesquisas, sua fisiopatologia completa permanece elusiva. Os tratamentos farmacológicos atuais visam principalmente a hipótese colinérgica para inibidores da acetilcolinesterase (AChEs) e antagonistas do receptor NMDA. Conhecida por seu rico conteúdo de antocianinas e compostos fenólicos, a *Thunbergia erecta* demonstrou potencial atividade inibitória da AChE, particularmente com ácido vanílico e apigenina. Este estudo teve o objetivo de avaliar a atividade anticolinesterásica do ácido vanílico de *T. erecta* por meio de testes *in silico* e propor otimizações estruturais utilizando modelagem molecular. Para isso, foi realizada uma triagem *in silico* utilizando técnicas de docking molecular para avaliar as interações entre derivados do ácido vanílico e a AChE. A estratégia de manutenção da porção hidroxil-fenil-carbonila nas estruturas propostas demonstraram eficácia, proporcionando melhores interações e ligações de hidrogênio. A adição de cadeias laterais aromáticas favoreceu interações do tipo  $\pi$ - $\pi$  stacking, e grupamentos aminas promoveram interações  $\pi$ -alquila. Entre os doze (12) ligantes propostos, seis (6) se mostraram promissores, destacando-se os compostos 5, 8 e 11.

Palavras-chave: doença de Alzheimer, docking molecular, ácido vanílico, modelagem computacional, *Thunbergia erecta*.

## ABSTRACT

Alzheimer's disease (AD) is a progressive neurodegenerative disorder and the leading cause of dementia and disability in the elderly. Despite extensive research, its complete pathophysiology remains elusive. Current pharmacological treatments primarily target the cholinergic hypothesis using acetylcholinesterase inhibitors (AChEIs) and NMDA receptor antagonists. Known for its rich content of anthocyanins and phenolic compounds, *Thunbergia erecta* has demonstrated potential AChE inhibitory activity, particularly with vanillic acid and apigenin. This study aims to evaluate the anticholinesterase activity of vanillic acid from *T. erecta* through in silico testing and propose structural optimizations using molecular modeling. An in silico screening was conducted using molecular docking techniques to evaluate the interactions between vanillic acid derivatives and AChE. The strategy of maintaining the hydroxyl-phenyl-carbonyl portion in the proposed structures proved effective, providing hydrogen bonding interactions. The addition of aromatic side chains favored  $\pi$ - $\pi$  stacking interactions, and amine groups promoted  $\pi$ -alkyl interactions. Among the 12 proposed ligands, 6 were found to be promising, with compounds 5, 8, and 11 standing out.

Keywords: Alzheimer's disease, molecular docking, vanillic acid, computational modeling.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

### FIGURAS

Figura 1 - Estrutura molecular da donepezila, galantamina e rivastigmina.....	12
Figura 2 - Estrutura molecular do ácido vanílico e da apigenina.....	13
Figura 3- Sobreposição entre ligante complexado e melhor posição obtida por redocking utilizando a função de pontuação ChemPLP com raio de 6Å.....	24
Figura 4 - Interação entre os resíduos de aminoácidos e o ligante donepezila.....	24
Figura 5 - Interação entre os resíduos de aminoácidos e os compostos 5, 6, 7, 8, 10 e 11.....	26
Figura 6 - Interação do tipo $\pi$ - $\pi$ <i>stacked</i> entre o anel aromático do composto 5 e o resíduo TRP86.....	31

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Média do RMSD() de 15 orientações diferente de cada função de pontuação .....	23
Tabela 2: Estruturas e pontuação <i>fitness</i> dos compostos modelados.....	25

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Ach	Acetilcolina
AChE	Acetilcolinesterase
hAChE	Acetilcolinesterase humana
DA	Doença de Alzheimer
PDB	Banco de Dados de Proteínas ( <i>Protein Data Bank</i> )
ChemPLP	Potencial Linear por Partes ( <i>Piecewise Linear Potential</i> )
ASP	Potencial Estatístico da Astex ( <i>Astex Statistical Potential</i> )
GA	Algoritmo Genético ( <i>Genetic Algorithm</i> )
CS	ChemScore
GS	GoldScore
RMSD	Desvio médio quadrático ( <i>Root Mean Square Deviation</i> )
NMDA	N-Metil-D-Aspartato
SAR	Relação Estrutura-Atividade ( <i>Structure-Activity Relationship</i> )
AV	Ácido Vanílico
PAS	Sítio Aniônico Periférico ( <i>Peripheral Anionic Site</i> )
GOLD	Otimização Genética para Encaixe de Ligantes ( <i>Genetic Optimization for Ligand Docking</i> )
$\beta$	Beta
$\tau$	Tau
$\pi$	Pi
Å	Angstrom
<	Menor
>	Maior

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>12</b>
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>15</b>
2.1 ALZHEIMER.....	15
2.2 ACETILCOLINESTERASE .....	15
2.3 PERFIL FITOQUÍMICO DE <i>THUNBERGIA ERECTA</i> .....	16
2.3.1 ÁCIDO VANÍLICO (Ácido 3-metoxi-4-hidroxibenzóico).....	17
2.4 DOCKING MOLECULAR.....	17
<b>3 OBJETIVOS</b> .....	<b>19</b>
3.1 OBJETIVO GERAL.....	19
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	19
<b>4 METODOLOGIA</b> .....	<b>20</b>
4.1 SELEÇÃO DO METABÓLITO SECUNDÁRIO.....	20
4.2 SELEÇÃO DA ESTRUTURA CRISTALOGRÁFICA.....	20
4.3 VALIDAÇÃO DO MÉTODO DE DOCKING.....	21
4.4 MODELAGEM E AVALIAÇÃO DOS DERIVADOS PROPOSTOS .....	21
4.5 ANÁLISE DOS RESULTADOS DO DOCKING.....	22
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>23</b>
5.1 REDOCKING.....	23
5.2 DOCKING .....	25
<b>6 CONCLUSÃO</b> .....	<b>33</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>34</b>

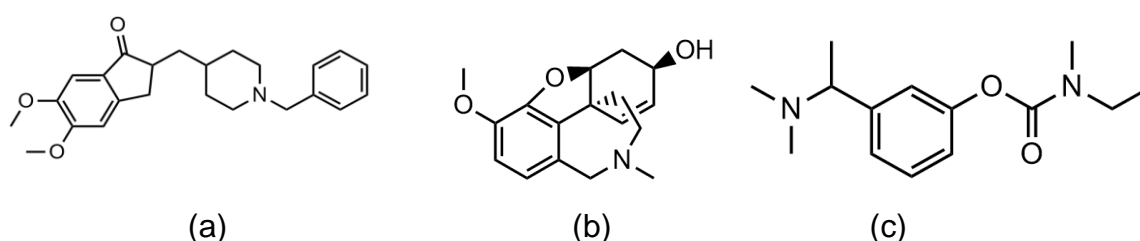
## 1 INTRODUÇÃO

A Doença de Alzheimer (DA) é uma enfermidade neurodegenerativa relacionada à idade e que resulta em uma deficiência progressiva e irreversível sendo a principal causa de demência e incapacitação em idosos (Smith, 1999). O sintoma inicial é representado pela perda da memória recente e tende a evoluir para dificuldades de atenção, desorientação no tempo e espaço, transtornos de humor, distúrbios comportamentais e entre outros (Liang, 2017; Rafaey, 2021).

Nos últimos anos, novas evidências acerca da origem e desenvolvimento da doença vem sendo investigadas pela comunidade científica, e apesar disso, não há uma total elucidação do aspecto fisiopatológico da DA. Fatores como a deposição extracelular de resíduos do peptídeo  $\beta$ -Amiloide ( $A\beta$ ), que levam ao desenvolvimento de placas senis, e a formação de emaranhados neurofibrilares intracelulares por meio da proteína Tau ( $\tau$ ), mostraram ser sinais positivos da DA (Calderon-Garciduenas, Duyckaerts, 2018). Assim como alterações na concentração de certos neurotransmissores, como acetilcolina (ACh) e glutamato, também são características fisiopatológicas da DA (Ayaz *et al*, 2019).

Atualmente, as terapias farmacológicas utilizadas para o tratamento de DA seguem as hipóteses colinérgicas e glutamatérgicas, fazendo-se uso de inibidores da AChE e antagonistas de N-Metil-D-Aspartato (NMDA) (Ayaz *et al*, 2018). Dentre os quatro medicamentos disponíveis para o tratamento de DA no Brasil, a Donepezila, Galantamina e Rivastigmina, representadas na fórmula estrutural plana na figura 1, pertencem à classe de inibidores da AchE, enquanto a Memantina atua como modulador do sistema glutamatérgico (Ayaz *et al*, 2019; Brasil, 2017).

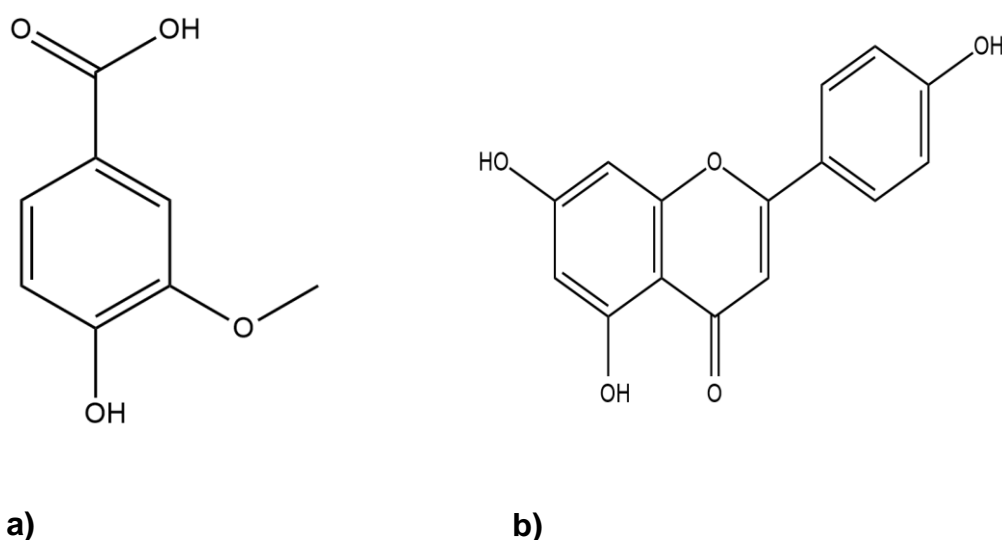
**Figura 1:** Ilustração das Estruturas moleculares de donepezila(a), galantamina(b) e rivastigmina(c)



Fonte: Cheung *et al*, 2012

Uma das espécies botânicas que vem despertando o interesse de pesquisadores da química produtos naturais é a *Thunbergia erecta* que pertence à família Acanthaceae, conhecida pelo nome popular de “Manto do rei” por conta da coloração violeta de suas pétalas ricas em antocianinas, flavonoides e compostos fenólicos (Refaey *et al.*,2021). Estudos realizados por Refaey e colaboradores (2021) demonstraram a potencial atividade inibitória da AChE por meio de testes *in silico* de compostos encontrados em *Thunbergia erecta*, sendo os principais o ácido 3-metoxi-4-hidroxibenzóico (Ácido vanílico) e apigenina (Figura 2).

**Figura 2:** Ilustração das estruturas moleculares do ácido vanílico(a) e da apigenina(b)



**Fonte:** O autor, 2024.

O desenvolvimento de novos fármacos é um processo notoriamente longo e oneroso, com múltiplas etapas que incluem a identificação de compostos candidatos, testes pré-clínicos, ensaios clínicos e aprovação regulatória. O planejamento de fármacos auxiliado por computador, ou modelagem molecular, emergiu como uma ferramenta poderosa para acelerar e otimizar este processo. A modelagem molecular envolve o uso de técnicas computacionais para construir e manipular protótipos de

fármacos, o que é essencial para a descoberta de novos agentes terapêuticos (Batista *et al.*, 2022; Harvey *et al.*, 2015).

Na química medicinal contemporânea, a modelagem molecular desempenha um papel crucial na investigação de biomacromoléculas alvos, auxiliando no desenvolvimento de novos derivados funcionais e análogos sintéticos. Esta abordagem permite a triagem virtual de grandes bibliotecas de compostos, identificando ligantes potenciais para alvos terapêuticos específicos de maneira eficiente e econômica (Kroemer, 2007). Além disso, a modelagem molecular possibilita a previsão da interação entre ligantes e alvos, proporcionando *insights* detalhados sobre os mecanismos de ação e facilitando a otimização dos candidatos a fármacos.

A modelagem molecular tem sido amplamente utilizada na descoberta de ligantes e fármacos, incluindo inibidores da acetilcolinesterase (AChE), um alvo terapêutico relevante para o tratamento da Doença de Alzheimer. Estudos têm demonstrado sucesso na investigação dos mecanismos de interação com alvos terapêuticos e na relação estrutura-atividade (SAR, do inglês "Structure-Activity Relationship"), permitindo a otimização racional de compostos com base em suas propriedades moleculares (Morris *et al.*, 2013).

Desta forma, o presente estudo visa avaliar por meio de uma prospecção *in silico* o potencial anticolinesterásico do ácido 3-metoxi-4-hidroxibenzóico (ácido vanílico), e propor derivados estruturais hipotéticos que possam ter potencial inibitório da AChE melhorado, utilizando a ferramenta de *docking* molecular GOLD.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 ALZHEIMER

A Doença de Alzheimer (DA), um transtorno neurodegenerativo progressivo e irreversível, assola a mente e a vida de milhões de indivíduos ao redor do globo, representando uma das formas mais comuns de demência associada à idade (Graham, 2017), roubando da pessoa a capacidade de recordar, pensar e realizar tarefas cotidianas (Smith, 1999; Kumar, Singh, 2015). A fisiopatologia da DA é complexa e envolve múltiplos mecanismos, sendo os principais marcadores neuropatológicos da doença a formação de placas senis extracelulares compostas por resíduos de peptídeos  $\beta$ -amiloide ( $A\beta$ ) e/ou emaranhados neurofibrilares intracelulares constituídos por proteína tau hiperfosforilada (Knopman, 2021). Outros mecanismos associados a fisiopatologia da DA são baseados na alteração da concentração de acetilcolina e glutamato, onde o aumento da AChE diminui a concentração de ACh na fenda sináptica, diminuindo a transmissão colinérgica, assim impedidos, os neurônios atrofiam e morrem (Bishara *et al.*, 2015).

Os tratamentos atuais para a DA focam em aliviar sintomas e tentar atrasar sua progressão, embora ainda não exista uma cura definitiva (Sanabria-Castro, 2017). As abordagens terapêuticas incluem: farmacoterapia, intervenções não farmacológicas e estratégias emergentes baseadas em pesquisa. A farmacoterapia disponível, no Brasil, inclui inibidores da acetilcolinesterase (donepezila, rivastigmina, galantamina) e antagonistas do receptor NMDA (memantina). Esses medicamentos visam melhorar a neurotransmissão colinérgica e regular a excitotoxicidade glutamatérgica, respectivamente (Bishara *et al.*, 2015).

### 2.2 ACETILCOLINESTERASE

Trata-se de enzimas da classe das hidrolases presentes no sistema nervoso central que possui a função de regular a transmissão colinérgica, degradando Ach produzindo acetato e colina. É composta por duas subunidades A e B, possuindo um total de 542 resíduos de aminoácidos, sendo que em seu sítio ativo há 3 resíduos

de aminoácido que estão diretamente envolvidos no processo de hidrólise: Serina 203 (SER203), Histidina 447 (HIS447) e Glutamato 334 (GLU334), conhecidos como tríade catalítica, a conformação desses resíduos reforçam o caráter nucleofílico da serina devido a ligação de hidrogênio entre a histidina e serina (Cheung *et al*, 2012; Silman, Sussman, 2008). Seu sítio ativo encontra a ~20 Å de profundidade na enzima, e, localizada mais externamente em relação a esse, encontra-se o sítio aniônico periférico (PAS, do inglês “*Peripheral Anionic Site*”), composto por 5 resíduos: ASP74, TRP286, TYR72, TYR124 e TYR341 (Silman, Sussman, 2008). As principais estruturas cristalográficas da AChE encontrada em humanos, podem ser obtidas no banco de dados de proteínas (PDB, do inglês “*Protein Data Bank*”) (<https://www.rcsb.org/pdb/>) (Berman *et al.*, 2006).

### 2.3 PERFIL FITOQUÍMICO DE *THUNBERGIA ERECTA*

Popularmente conhecida como Manto-de-rei, a *Thunbergia erecta* é originária da África e pode ser encontrada no sul-asiático, América Central, Caribe e em algumas regiões do Brasil. Trata-se de um arbusto ereto, semi lenhoso, que pode chegar a 3 metros de altura (Marpaung, 2020). Suas folhas são opostas e possuem cor verde brilhante, enquanto as suas flores grandes, vistosas, apresentam um contraste de cores entre o roxo/azul e o amarelo, além de florescerem continuamente ao longo do ano, essa espécie de planta é comumente utilizada em jardins urbanos (Marpaung, 2020). Sua fragrância agradável atrai beija-flores e borboletas. Porém, não foram encontrados usos medicinais tradicionais para essa espécie. O nome popular, manto-de-rei, relaciona-se à aparência aveludada e às cores roxas ou violetas das flores, que são associadas à realeza, nobreza e espiritualidade elevada.

A cor violeta também possui significado religioso, sendo utilizada na Semana Santa e nas vestimentas dos cardeais da Igreja Católica. Tal coloração dá-se pela presença de antocianinas em sua composição (Marpaung, 2020). Além das antocianinas, a *T. erecta* também apresenta constituintes bioativos com potencial atividade anticolinesterase e propriedades antienvhecimento (Refaey *et al.*, 2021). A presença desses compostos bioativos na *T. erecta* sugere que a planta pode ser uma fonte promissora para o desenvolvimento de produtos terapêuticos. Além disso,

a fração rica em polifenóis da *T. erecta* tem demonstrado um potencial terapêutico significativo contra a deterioração cognitiva induzida por doxorrubicina e ciclofosfamida em ratos (Gamal El-Din, 2023).

### 2.3.1 ÁCIDO VANÍLICO (Ácido 3-metoxi-4-hidroxibenzóico).

O Ácido 3-metoxi-4-hidroxibenzóico, também conhecido como AV, é um composto fenólico que ocorre naturalmente em várias plantas e é um metabólito da vanilina. Este ácido carboxílico é caracterizado por uma estrutura química que contém um anel benzênico substituído por grupos hidroxila e metoxi. Suas propriedades físico-químicas incluem uma boa solubilidade em água e uma capacidade antioxidante significativa, o que o torna de interesse em diversas aplicações farmacêuticas e biotecnológicas (Makhmoor, 2010).

Para a descoberta e desenvolvimento de medicamentos, a avaliação das propriedades físico-químicas é essencial para determinar a viabilidade de um composto como candidato a fármaco. A regra dos 5 de Lipinski fornece diretrizes importantes para a biodisponibilidade oral dos compostos. De acordo com Lipinski (2016), um composto possui uma boa biodisponibilidade oral se não infringir mais que uma das seguintes regras: massa molecular  $\leq 500$ ,  $\log P \leq 5$ , número de aceptores de ligação de hidrogênio  $\leq 10$  e doadores de ligação de hidrogênio  $\leq 5$ . O AV cumpre estes critérios, apresentando uma massa molecular de 168,15 g/mol,  $\log P$  de 1,34 (Makhmoor, 2010), dois doadores de ligação de hidrogênio e quatro aceptores de ligação de hidrogênio, sugerindo boa biodisponibilidade oral, além de apresentar um tamanho reduzido em relação à apigenina.

## 2.4 DOCKING MOLECULAR

Os métodos de busca empregados no docking molecular podem ser sistemáticos, determinísticos ou randômicos. Os métodos sistemáticos exploram todas as conformações possíveis dos ligantes, enquanto os métodos determinísticos geram a mesma saída para um dado de entrada específico. Os métodos randômicos,

por outro lado, produzem diferentes saídas para o mesmo dado de entrada, aumentando a variabilidade das soluções encontradas (Giuliatti., 2006).

Entre as ferramentas de docking molecular mais utilizadas estão AutoDock Vina, Glide e GOLD. O GOLD (*Genetic Optimization for Ligand Docking*) destaca-se por seu algoritmo genético, que permite a inclusão de flexibilidade parcial no receptor através de bibliotecas de rotâmeros. Este algoritmo recombina segmentos de modelos flexíveis de ligantes no sítio de ligação do receptor até gerar um conjunto convergente de estruturas (Giuliatti, 2013).

O GOLD permite a escolha entre quatro funções de pontuação diferentes, incluindo Goldscore, Chemscore, ASP (*Astex Statistical Potential*) e ChemPLP. Essas funções de pontuação, ou *score*, são essenciais para avaliar a qualidade das poses de docking, discriminando entre as diferentes interações ligante-receptor. Estas podem ser baseadas em campos de força, empíricas, semi-empíricas ou baseadas no conhecimento. Funções de pontuações baseadas em campos de força consideram interações intermoleculares clássicas, enquanto as empíricas e semi-empíricas utilizam ajustes teóricos para reproduzir dados experimentais. Já as funções baseadas no conhecimento utilizam dados estatísticos derivados de complexos cristalográficos. Dentre as funções citadas sendo, a ChemPLP, demonstra maior eficácia tanto para predição de poses quanto para triagem virtual (Liebeschuetz *et al.*, 2012; Giuliatti, 2013).

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a atividade anticolinesterásica do ácido vanílico em testes *in silico*, para caracterizá-lo e propor melhorias estruturais por modelagem computacional.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a capacidade do ácido vanílico em inibir a acetilcolinesterase por meio de *docking* molecular utilizando o programa GOLD;
- Propor derivados estruturais do ácido vanílico que possuam atividade anticolinesterase por meio de modelagem computacional;
- Identificar o derivado mais promissor quanto à atividade anticolinesterase dentre os compostos propostos.

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 SELEÇÃO DO METABÓLITO SECUNDÁRIO

A seleção do metabólito secundário presente em *Thunbergia erecta* foi baseada em análises químicas prévias reportadas na literatura de Rafeay *et al.*(2021), entre os quais o AV e apiginina foram os metabólitos que mais se destacaram pelo seu potencial anticolinesterásico. As estruturas moleculares foram desenhadas utilizando o programa ChemDraw Ultra 12.0 e salvas no formato \*.mol2 com o auxílio do Chem3D Pro12.0

Após a criação da estrutura molecular, a otimização geométrica foi realizada através da minimização da energia estérica utilizando o programa Mercury (Cambridge Crystallographic Data Centre), resultando em estruturas mais estáveis. Posteriormente, os confôrmeros mais estáveis foram gerados para garantir o equilíbrio conformacional e a similaridade com a molécula natural. Em seguida, foi aplicado o campo de força MMFF94 em cada molécula para a minimização da energia, etapa realizada no Chem3D 12.0.

### 4.2 SELEÇÃO DA ESTRUTURA CRISTALOGRÁFICA.

A estrutura tridimensional da acetilcolinesterase humana (hAChE) foi obtida do Protein Data Bank (PDB ID: 4EY7). Seguindo os critérios: Resolução até 2,5 Å, presença de ligantes, cadeia polipeptídica mais completa possível e ausência de mutações. A AChE foi preparada no programa GOLD (Bases de estruturas cristalinas), onde foram removidas moléculas de água e adicionados hidrogênios polares (Batista, 2022). O processo de docking é dividido em duas etapas principais: modelagem do modo de ligação e predição da afinidade do ligante pelo sítio. A área de busca foi definida com dimensões de 6 Å<sup>3</sup> centrada no sítio ativo da enzima AChE (Batista, 2022). Os parâmetros de redocking foram configurados para gerar 15 diferentes conformações para o composto, com base na energia de ligação e orientação no sítio ativo. Os resultados foram analisados em termos de pontuação Fitness e desvio médio

quadrático (RMSD – do inglês *Root Mean Square Deviation*), e, utilizando o software Discovery Studio (2024), as interações chave e a estabilidade das ligações foram visualizadas e comparadas.

#### 4.3 VALIDAÇÃO DO MÉTODO DE DOCKING

Para a validação do método de docking, foram testadas as duas subunidades da proteína isoladamente e em diferentes funções de pontuação, determinando, assim, o padrão de afinidade entre a proteína e o ligante donepezila ((RS)-2-[(1-benzyl-4-piperidyl)methyl]-5,6-dimethoxy-2,3-dihydroinden-1-one, PDB ID: E20605) encontrado em complexo com a enzima. O processo de *redocking* foi realizado retirando o ligante da estrutura cristalográfica e reinserindo a partir da metodologia de *docking*. Foram geradas 15 orientações em um raio de até 6 Å, cada conformação foi classificada de acordo com a estabilidade energética em relação ao sítio ligante da proteína. O sítio de ligação da donepezila foi utilizado como região de referência tanto para o *redocking* quanto para o *docking*.

A validação do teste é confirmada quando o RMSD entre a pose obtida pelo *redocking* e o cristal for menor que 2,0 Å e pela pontuação Fitness. As funções de pontuação testadas foram ChemScore, GOLDScore, ASP e ChemPLP, e os resultados foram agrupados, selecionados e analisados. Ao final dessa análise, foi selecionada a subunidade e a função de pontuação com os melhores valores.

#### 4.4 MODELAGEM E AVALIAÇÃO DOS DERIVADOS PROPOSTOS

Com base nos resultados obtidos no estudo de *redocking* e nos dados dos ligantes naturais disponíveis no PDB, foram propostas 12 estruturas autorais derivadas do AV onde a porção hidroxil-fenil-carbonila foi mantida, visando a atividade inibitória e o melhor acoplamento das moléculas com o sítio ativo da AChE. A adição das cadeias laterais foi orientada de acordo com a presença dessas estruturas análogas em outros compostos utilizados como inibidores da AChE no tratamento da DA, dentre os mais conhecidos presentes no mercado, foi utilizado como referência

o Donepezila, Galantamina e a Rivastigmina (Figura 1), suas estruturas foram otimizadas conforme descrito anteriormente.

Os derivados propostos foram submetidos ao docking utilizando o protocolo de redocking descrito anteriormente, mas com o ligante o natural sendo substituído pelos compostos propostos. As conformações de menor energia de ligação foram analisadas detalhadamente, focando nas interações químicas e na estabilidade no sítio ativo da AChE. Utilizou-se a donepezila como ligante para o protocolo de redocking. Para análise das estruturas propostas utilizou-se o ácido vanílico como controle positivo, efetuando-se o processo de docking para se obter a pontuação fitness, pela função escolhida, e os resíduos de aminoácido com quem o AV interage.

#### 4.5 ANÁLISE DOS RESULTADOS DO DOCKING

Os dados de cada molécula foram organizados do maior para o menor na coluna que apresenta a pontuação Fitness. Os arquivos de extensão .log foram abertos utilizando o bloco de notas. Ao final, foi apresentada uma matriz com a clusterização das poses obtidas, verificando-se os grupos de maior ocorrência e quais poses fazem parte desse grupo. Selecionou-se então a pose de maior pontuação dentro deste grupo, e em seguida o arquivo foi salvo, correspondendo a melhor pontuação dentro do cluster analisado.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 REDOCKING

Das diversas estruturas cristalizadas de AChE catalogadas no PDB, apenas 14 são de organismos humanos, dentre as enzimas que atendem aos critérios descritos no item 4.2, a AChE de código PDB: 4EY7 apresenta-se complexada como o Donepezila, medicamento padrão no tratamento da DA. A validação da metodologia pode ser confirmada pelo *redocking*, onde também pode-se estabelecer a subunidade com a melhor afinidade ao ligante, assim como a melhor função de pontuação para o processo de docking, dado que o RMSD é capaz de fornecer um valor numérico para o grau de semelhança entre as moléculas, sendo esse, maior quando o valor numérico referente ao RMSD for menor.

**Tabela 1:** Apresentação da Média do RMSD (Å) de 15 orientações diferente de cada função de pontuação do *redocking*.

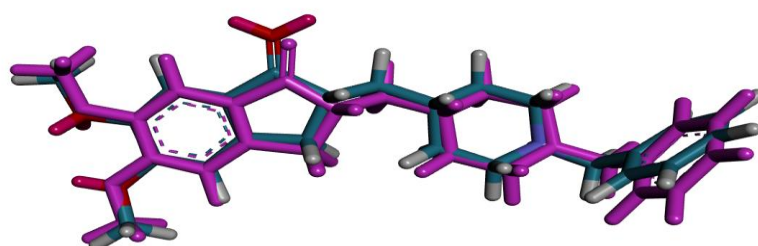
	ChemPLP Å	ASP Å	ChemScore Å	GoldScore Å
Subunidade A	0,4050	0,5476	1,1154	0,55793
Subunidade B	0,36486	0,57926	0,8916	0,58286

**Fonte:** O autor, 2024

Dado os resultados da tabela 1, obteve-se a ChemPLP como melhor função de pontuação para o processo de docking, apresentando um RMSD de 0,36486 Å. Na figura 3 é possível visualizar a sobreposição do ligante complexado à enzima com a posição de menor RMSD do ligante obtido por *redocking*. A figura 4 apresenta as interações entre o ligante E20 e os resíduos de aminoácido do sítio ativo da subunidade B da enzima E4Y7, onde constou uma interações de ligação de hidrogênio com o resíduo de aminoácido PHE295 (fenilalanina 295), duas interações carbono-hidrogênio com SER293 (serina 293) e TYR72 (tirosina 72), duas interações  $\pi$ - $\sigma$  com TYR341 (tirosina 341) E TRP286 (triptofano 286), duas interação do tipo  $\pi$ - $\pi$  stacked com TYR337 (tirosina 337) e PHE338 (fenilalanina 338), e uma interação do tipo  $\pi$ -alquil com o resíduo TRP86 (triptofano 86). A presença de interação por ligações de

hidrogênio no oxigênio do carbono 16 é evidenciada por ser crucial para a inibição da acetilcolinesterase, assim destacando a porção cetona-hidroxila-carbonila da molécula, por apresentar a característica farmacofórica (Rafaey *et al.*, 2021).

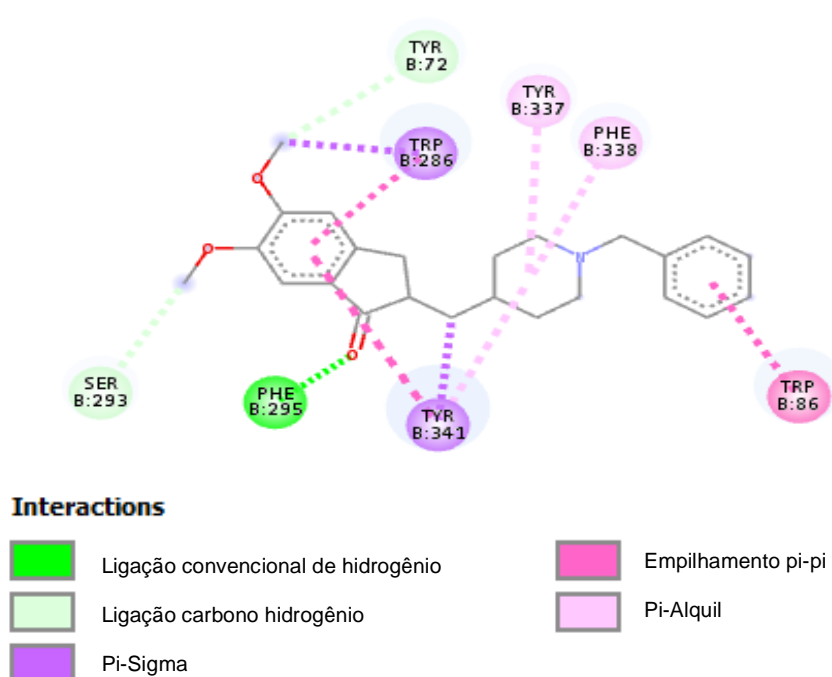
**Figura 3:** Representação Gráfica da sobreposição entre os ligantes (donepezila) complexado e a melhor posição obtida por *redocking* utilizando a função pontuação ChemPLP com raio de 6Å. (imagem gerada no *Discovery Studio*)



■ Pose obtida por *redocking*    ■ Ligante complexado com a enzima

Fonte: O autor, 2024

**Figura 4:** Ilustração da interação entre os resíduos de aminoácidos e o ligante donepezila (imagem gerada no *Discovery Studio*)

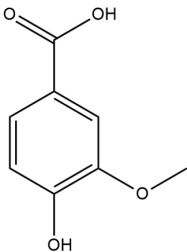
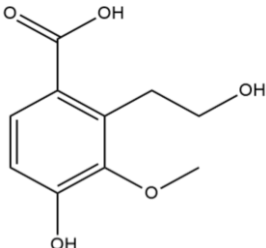


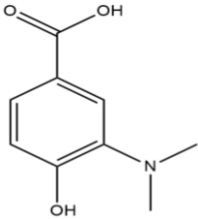
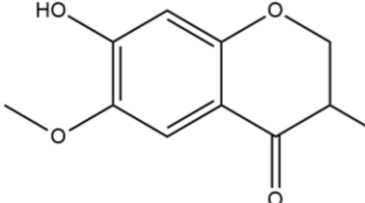
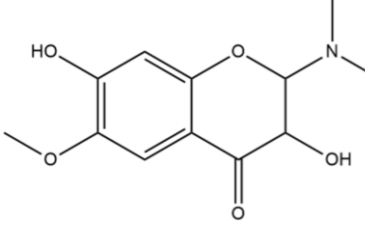
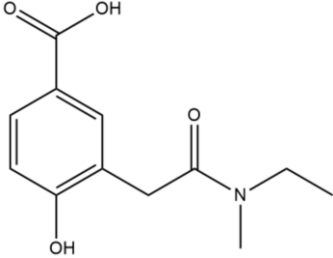
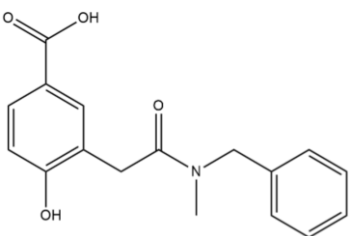
Fonte: O autor., 2024

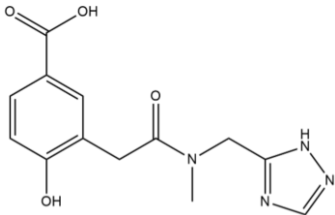
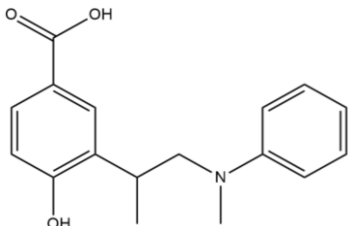
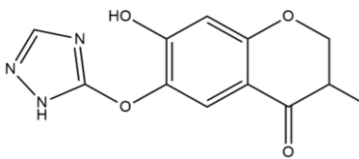
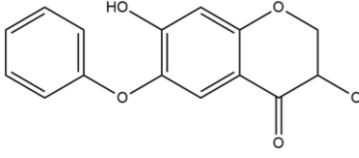
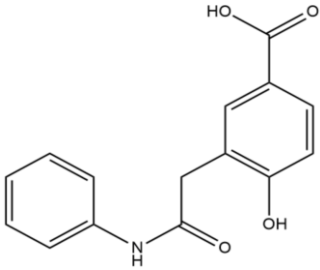
## 5.2 DOCKING

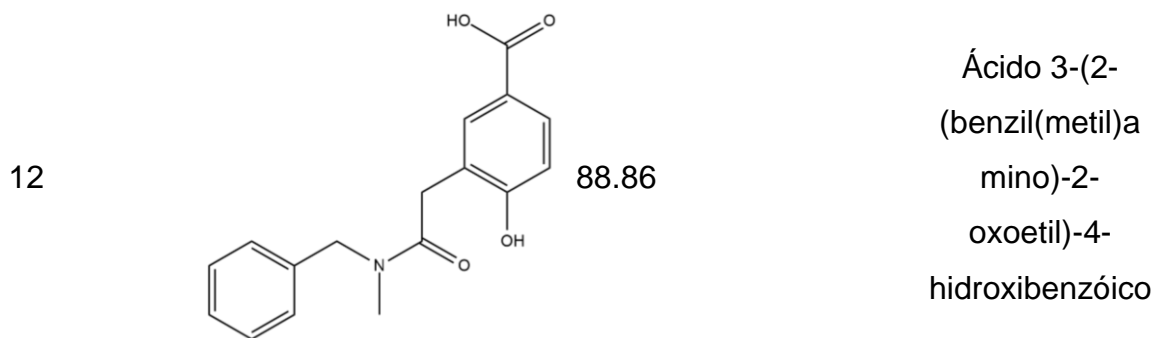
As 12 estruturas propostas avaliadas pelo método de *docking*, apresentaram pontuação *fitness* acima da pontuação do AV, utilizado como controle positivo, porém, para validar o melhor desempenho, selecionou-se compostos com pontuação *fitness* acima de 70, pontuação essa que mais se aproxima da pontuação *fitness* obtida no processo de *redocking* da donepezila (pontuação *fitness* 106). Assim, destacaram-se os compostos (5), (6), (7), (8), (10), (11) e (12), e após a triagem dos compostos as interações com os resíduos de aminoácidos foram avaliadas, como consta na figura 5.

**Tabela 2:** Representação gráfica das estruturas e pontuação *fitness* dos compostos modelados.

Composto	Estrutura	Pontuação Fitness	Nome IUPAC
Ácido vanílico		56.31	Ácido 3-metoxi-4-hidroxibenzoico
1		58.59	Ácido 4-hidroxi-2-(2-hidroxi-3-metoxibenzóico

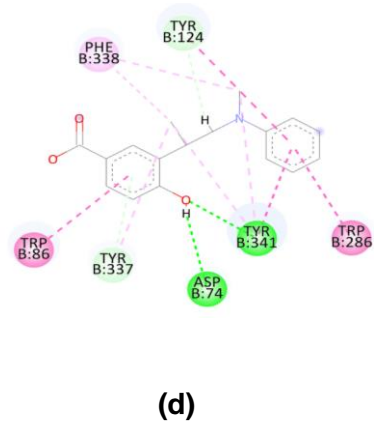
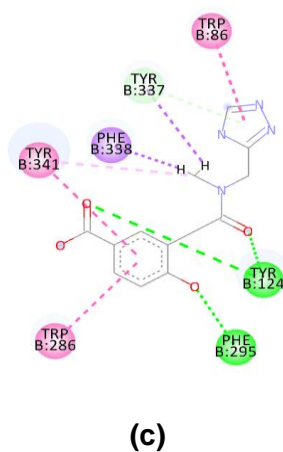
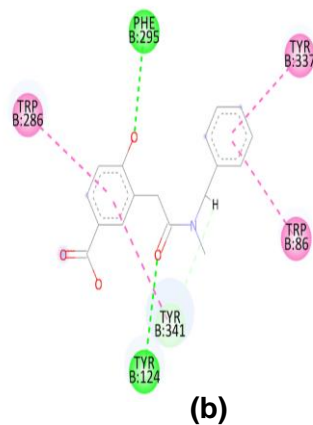
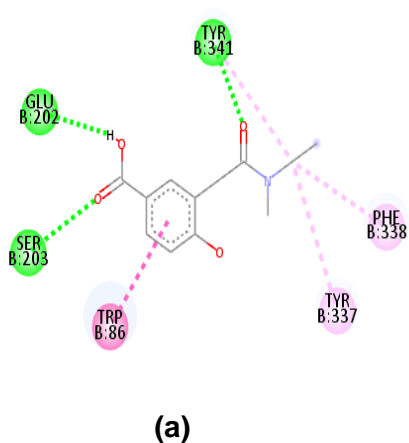
- 2  56.45 ácido 3-(dimetilamino)-4-hidroxibenzóico
- 3  59.48 3,7-dihidroxi-6-metoxicroman-4-ona
- 4  57.12 2-(dimetilamino)-3,7-diidroxi-6-metoxicroman-4-ona
- 5  70.26 ácido 3-(2-(etil(metilamino))-2-oxoetil)-4-hidroxibenzóico
- 6  86.63 Ácido 3-(2-(benzil(metilamino))-2-oxoetil)-4-hidroxibenzóico

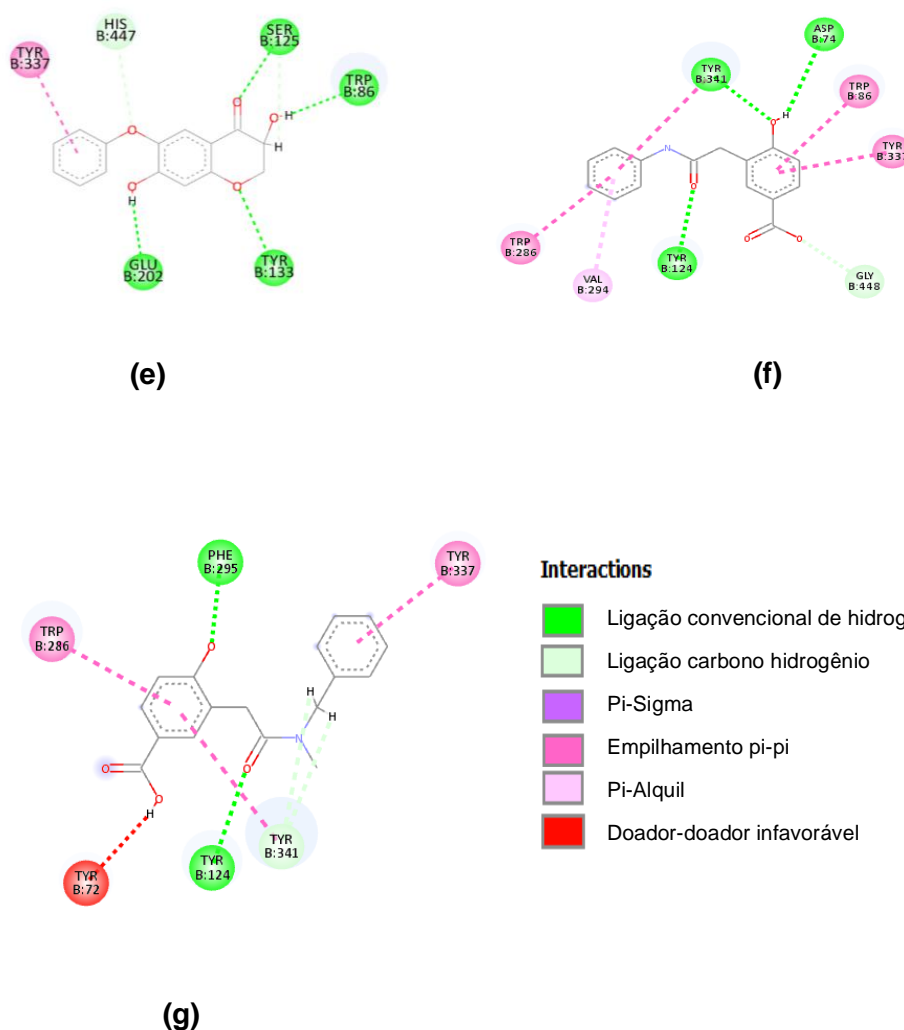
- 7  77.72 ácido 3-(2-(((1H-1,2,4-triazol-5-yl)methyl)(methyl)amino)-2-oxoetil)-4-hidroxibenzóico
- 8  78.98 Ácido 4-hidroxi-3-(1-(metil(fenil)amino)propan-2-il)benzóico
- 9  65.98 6-(((1H-1,2,4-triazol-5-il)oxi)-3,7-diidroxicroman-4-ona
- 10  80.19 3,7-dihidroxi-6-fenoxicroman-4-ona
- 11  74.66 Ácido 4-hidroxi-3-(2-oxo-2-(fenilamino)etil)benzóico



Fonte: O autor., 2024

**Figura 5:** Ilustrações das interações entre os resíduos de aminoácidos e os compostos 5 (a), 6 (b), 7 (c), 8 (d), 10 (e), 11 (f) e 12 (g).





Fonte: O autor, 2024.

A presença majoritária de interações de ligação de hidrogênio e do tipo  $\pi$ - $\pi$  *stacked*, favorece o acoplamento dos ligantes à proteína, uma vez que a tríade catalítica possui característica nucleofílica reforçada pela serina, enquanto interações do tipo  $\pi$ - $\pi$  *stacked* estabilizam conformações estruturais devido a agregação de cadeias laterais da proteína (Silman, Sussman, 2008; Dougherty, 2007). As interações do tipo  $\pi$ - $\pi$  *stacked* são caracterizadas como ligação não covalente entre duas moléculas aromáticas onde suas ligações  $\pi$  encontram-se paralelas ao plano (Dougherty, 2007) como ilustra a figura 6.

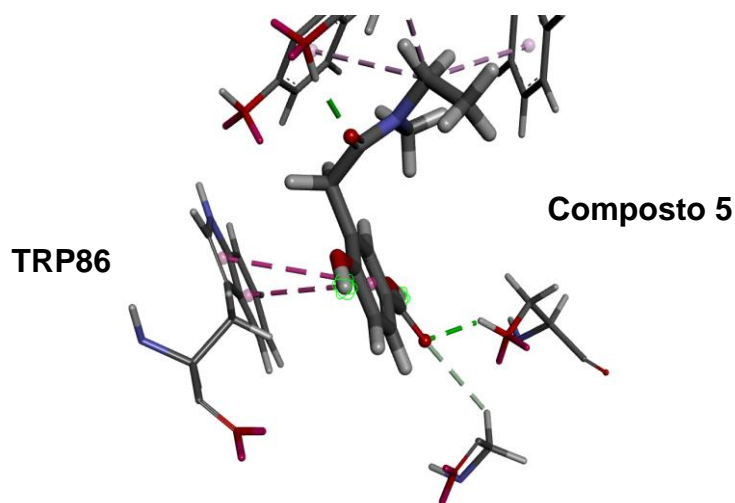
A adoção da metodologia de hibridizar compostos com a donepezila para o aumento da atividade inibitória da AChE foi adotada como no estudo de Samadi e colaboradores (2013). A utilização de cadeias laterais com a presença de

heteroátomo, como o nitrogênio, facilita a flexibilização da molécula, permitindo a melhor rotação dos grupamentos ligados a ela, promovendo o melhor acoplamento aos resíduos de aminoácidos (Fokoue *et al.*, 2020), como pode ser visto no grupamento triazol, observado no composto (7), e dos anéis aromáticos observados nos compostos (6), (8), (11) e (12), enquanto no composto (10), o heteroátomo é o oxigênio.

Como observado na figura 5, o composto (5) realizou 1 interação  $\pi$ - $\pi$  *stacked* com o resíduo TRP86, o composto (6) realizou 3 interações do tipo  $\pi$ - $\pi$  *stacked* com os resíduos TRP286, TYR337 e TRP86, o composto (7) realizou 3 interações do tipo  $\pi$ - $\pi$  *stacked* com os resíduos TRP86, TRP286 E TYR341, o composto (8) realizou 2 interações  $\pi$ - $\pi$  *stacked* com os resíduos TRP86 E TRP286, o composto (10) realizou 1 interação do tipo  $\pi$ - $\pi$  *stacked* com o resíduo TYR337, o composto (11) realizou 4 interações do tipo  $\pi$ - $\pi$  *stacked* com os resíduos TRP86, TRP286 e TYR337, e por último o composto (12) que realizou 2 interações do tipo  $\pi$ - $\pi$  *stacked* com os resíduos TRP286 e TYR337.

Para as interações de hidrogênio, as porções hidroxila e carbonila dos compostos possuem alta afinidade para esse tipo de interação, compondo majoritariamente o quadro de interações, sendo essa favorecida pela característica catalítica do receptor, que pertence à classe das hidrolases (Cheung *et al.*, 2012), assim, o composto (5) realizou 3 interações do tipo ligação de hidrogênio com os resíduos SER203, TYR341 e GLU202 (glutamato 202). O composto (6) duas interações do tipo ligação de hidrogênio com os resíduos PHE295 (fenilalanina 295) e TYR124 (tirosina 124). O composto (7) realizou 3 interações do tipo ligação de hidrogênio, sendo 2 com o resíduo TYR124 e uma com o resíduo PHE295. O composto (8) realizou 2 interações do tipo ligação de hidrogênio com os resíduos TYR341 e ASP74 (aspartato 74). O composto (10) realizou 4 interações do tipo ligação de hidrogênio com os resíduos SER125, TRP86, TYR133 e GLU202. O composto (11) realizou 3 interações do tipo ligação de hidrogênio com os resíduos TYR341, ASP74 e TYR124, já o composto (12) realizou 2 interações do tipo ligação de hidrogênio com os resíduos PHE295 e TYR124.

**Figura 6:** Ilustração da interação do tipo  $\pi$ - $\pi$  *stacked* entre o anel aromático do composto (5) e TRP86



Fonte: O autor, 2024.

As interações do tipo  $\pi$ -alquil também apresentam grande relevância para o processo de *docking* ao tornar mais eficaz o acoplamento do ligante com a proteína (Barreiro,2008). Os compostos (5), (7), (8) e (11) apresentaram as interações do tipo  $\pi$ -alquil, sendo que o composto 5 apresentou 3 interações, uma com os resíduos TYR337, outra com o TYR341 e outra com o PHE338. O composto (7) apresentou apenas 1 interação do tipo  $\pi$ -alquil com o resíduo TYR341. O composto (8) apresentou 2 interações do tipo  $\pi$ -alquil, sendo as 2 com o resíduo PHE338, já o composto (11) apresentou apenas 1 interação do tipo  $\pi$ -alquil com o resíduo VAL294 (valina 294).

As interações do tipo ligação carbono-hidrogênio podem possuir um papel significativo na conformação da estabilidade formação do complexo ligante-receptor, é caracterizada por ser um tipo de interação dipolo-dipolo induzido fraco (Fokoue *et al.*, 2020), dos compostos propostos o número (6), (7), (8) (10), (11) e (12) efetuam interações do tipo ligação carbono-hidrogênio, sendo o composto (6) e (12) com o resíduo TYR341, o composto (7) e (8) com o resíduo TYR337, o composto (10) com o resíduo HIS447 e o composto 11 com o resíduo GLY448 (glicina 448).

Das interações entre os ligantes e os resíduos de aminoácidos observadas, apenas o composto 10 não realiza interação com um algum resíduo presente no PAS, porém, possui uma interação direta com um dos resíduos da tríade catalítica (HIS447). Uma vez que há interação de ligantes ao Sitio Aniônico Periférico - PAS, a AChE sofre

uma alteração conformacional, bloqueando a entrada da Ach no sítio ativo (Romeiro *et al.*, 2008; Silman, Sussman, 2008), logo os ligantes que apresentam interação com algum resíduo presente no PAS possui potencial de inibir a AChE, o composto (5) (que apresenta interações com os resíduos de aminoácidos TYR341 do PAS, e SER203 da tríade catalítica), o composto (6) (que apresenta interações com os resíduos de aminoácidos TYR341, TYR124 e TRP286 do PAS), o composto (7) (que apresenta interações com os resíduos de aminoácidos TYR341, TYR124 e TRP286 do PAS), o composto (8) (que apresenta interações com os resíduos de aminoácidos ASP74, TYR341, TRP286 e TYR124 do PAS), o composto (10)(interação com HIS447 da tríade catalítica), o composto (11) (que apresenta interações com os resíduos de aminoácidos ASP74, TYR341, TYR124, TRP286 do PAS). O composto (12), apesar de efetuar interações com o PAS, apresentou uma interação desfavorável que possivelmente comprometeria a atividade proposta para os compostos, sendo preferível mantê-lo para estudos posteriores cujo a, modificação estrutural e criação de enantiômeros das moléculas modificadas podem ser usadas para esses testes, assim como testes com outras proteínas.

A hibridização de compostos que possuem potencial ação farmacológica vem se tornando temática central em muitas pesquisas, como a de Samadi e colaboradores (2013), a qual combinou a porção Nbenzilpiperidina, presente no donepezila com o ligante 2-amino-6-cloropiridina, e por meio de ancoragem molecular obtiveram resultados satisfatórios quanto a inibição da hAChE. Mesmo potencial observou-se no estudo de Bolea e colaboradores (2011), os quais utilizaram a porção benzilpiperidina da donepezila na hibridização com a porção indolilpropargilamino do inibido da monoamino oxidase e o N-[(5-benziloxi-1-metil-1H-indol-2-il)metil]-N-metilprop-2-yn-1-amina, obtendo resultados que sugerem que esses compostos são candidatos promissores a medicamentos para o tratamento da DA. O desenvolvimento *in silico* de novas estruturas também introduziu novas classes de moléculas para o tratamento da DA, como a ensaculina e o AP2238 pertencente à classe das cumarinas, que através do docking molecular conseguiu-se determinar sua atividade inibidora da AChE (Alipour, 2014).

## 6 CONCLUSÃO

A estratégia de manutenção da porção hidroxil-fenil-carbonila nas estruturas propostas mostraram-se eficazes, uma vez que todas as estruturas apresentaram pelo menos uma interação de ligação de hidrogênio. Em contrapartida, a adição de cadeias laterais contendo grupamentos aromáticos forneceu interações do tipo  $\pi$ - $\pi$  *stacke*, e a adição de grupamentos aminas também favoreceu a formação de interações do tipo  $\pi$ -alquila.

Todos os compostos propostos apresentaram pontuação fitness maior que a pontuação do ácido vanílico, o controle positivo, mas apenas 6 obtiveram pontuação que atendesse ao critério (pontuação fitness maior que 70), permitindo que fossem selecionados melhores ligantes à proteína, porém não sendo totalmente conclusivo, uma vez que, ao avaliar as interações, foi possível verificar a presença de mais grupamento ligantes que favorecem a ação de inibição da proteína. Portanto faz-se necessário os estudos *in vitro* e *in vivo* para determinar o real valor dessas modificações propostas.

A AChE, por possuir dois sítios passíveis de inibição (o sítio catalítico e o PAS), possui uma ampla gama de possibilidades sendo, que dos 12 ligantes propostos, 6 mostraram-se promissores, entre eles os compostos 5, 8, e 11. Mostraram-se promissores devido a quantidade interações com os resíduos de aminoácidos dos sítios ativos. O composto 5, apesar de realizar apenas 1 interação com o PAS, também realiza uma interação com o sítio catalítico principal, tendo potencial para um efeito inibitório melhorado, abrindo portas para outros estudos tanto da farmacodinâmica *in silico* dessas moléculas quanto de testes *in vitro*, visando o desenvolvimento de possíveis novos tratamentos da Doença Alzheimer.

## REFERÊNCIAS B

ALIPOUR, M., KHOOBI, M., MORADI, A., NADRI, H., HOMAYOUNI MOGHADAM, F., EMAMI, S., HASANPOUR, Z., FOROUMADI, A., SHAFIEE, A. 2014. Synthesis and anti-cholinesterase activity of new 7-hydroxycoumarin derivatives. **European journal of medicinal chemistry**, v 82, p. 536-544, 2014.

AYAZ, M.; ULLAH, F.; SADIQ, A.; KIM, M. O.; ALI, TAHIR. Editorial: Natural products-based drugs: Potential therapeutics against Alzheimer's disease and other neurological disord. **Journal Frontiers in Pharmacology**, v. 10, 2019.

BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M. **Química Medicinal: As bases moleculares da ação dos fármacos**. 2ª ed, Artmed. São Paulo, 2008.

BATISTA, V. S.; FARIAS, R. L.; SIMÕES, L. P. M.; NASCIMENTO-JUNIOR, N. M. Construção, otimização e ancoragem molecular de substâncias bioativas em biomacromoléculas: um tutorial prático. **Química nova**. V. 45, n. 2, p. 223-234, 2022.

BERMAN, H. M.; WESTBROOK, J.; FENG, Z.; GILLILAND, G.; BHAT, T. N.; WEISSIG, H.; SHINDYALOV, J. N.; BOURNE, P. E. The Protein Data Bank, 1999-. In: International Tables for Crystallography Volume F: Crystallography of biological macromolecules. **Springer Netherlands**, 2006. p. 675-684

BOLEA, I., JUÁREZ-JIMÉNEZ, J., DE LOS RÍOS, C., CHIOUA, M., POUPLANA, R., LUQUE, F.J., UNZETA, M., MARCO-CONTELLES, J., SAMADI, A. Synthesis, biological evaluation, and molecular modeling of donepezil and N-[(5-(benzyloxy)-1-methyl-1H-indol-2-yl)methyl]- N-methylprop-2-yn-1-amine hybrids as new multipotent cholinesterase/ monoamine oxidase inhibitors for the treatment of Alzheimer's disease. **Journal of medicinal chemistry**. v 54(24), p. 8251- 8270, 2011.

BISHARA, D.; SAUER, J.; TAYLOR, D. The pharmacological management of Alzheimer's disease. **Progress in Neurology and Psychiatry**, v. 19, n. 4, p. 9-16, 2015.

BRASIL, Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde. **Portaria conjunta nº 13**, de 28 de novembro de 2017. Brasília, 2017.

CALDERON-GARCIDUEÑAS, A. L.; DUYCKAERTS, C. Alzheimer disease. **Handbook of Clinical Neurology**, v. 145, p. 325-337, 2018.

CHEUNG, JONAH; LOVE, JAMES ; MATTHEW C. FRANKLIN; JUDE J. HEIGHT; MICHAEL J. RUDOLPH; FIANA BURSHTEYN; MICHAEL S. CASSIDY; EBONY N. GARY. Structures of human acetylcholinesterase in complex with pharmacologically important ligands. **Journal of medicinal chemistry**, v. 55, n. 22, p. 10282-10286, 2012.

DOUGHERTY, D. A. Cation- $\pi$  interactions involving aromatic amino acids. The Journal of nutrition, **Am Soc Nutrition**, v. 137, n. 6, p. 1504S–1508S, 2007.

FOKOUE, H. H.; PINHEIRO, P. S. M.; FRAGA, C. A. M.; SANT'ANNA, C. M. R. Há algo novo no reconhecimento molecular aplicado à química medicinal?. **Química nova**, v. 43, p.78-89, 2020.

GAMAL EL-DIN, M. I.; GEORGE, M. Y.; YOUSSEF, F. S. Chemical characterization of the polyphenolic rich fraction of *Thunbergia erecta* and its therapeutic potential against doxorubicin and cyclophosphamide-induced cognitive impairment in rats. **Journal of ethnopharmacology**. v. 307, 2023;

GRAHAM, W. V.; BONITO-OLIVA, A.; SAKMAR, T. P. Update on Alzheimer's disease therapy and prevention strategies. **Annual review of medicine**, v. 68, p. 413-430, 2017.

GIULIATTI, SILVANA. **Computer-Based methods of inhibitor prediction**. A integrated view of the molecular recognition and toxinology – From analytical procedures to biomedical applications. p 73-90, 2013. DOI: 10.5772/52334.

HARVEY, A. L.; EDRADA-EBEL, R.; QUINN, R. J. The re-emergence of natural products for drug discovery in the genomics era. **Nature Reviews Drug Discovery**. v. 14, n. 2, p. 111- 129, 2015.

KNOPMAN, D. S.; AMIECA, H.; PETERSEN, R. C.; CHÉTELAT, G.; HOLTZMAN, D. M.; HUMAN, B. T.; NIXON, R. A.; JONES, D. T. Alzheimer disease. **Nature reviews**. 2021.

KROEMER, R. T. Structure-based drug design: docking and scoring. **Current protein and peptide science**, v. 8, n. 4, p. 312-328, 2007.

KUMAR, A.; SINGH, A. A review on Alzheimer's disease pathophysiology and its management: an update. **Pharmacological Reports**, v. 67, n. 2, p. 195-203, 2015.

LIANG, Y., HUANG, M., JIANG, X., LIU, Q., CHANG, X., E GUO, Y. The neuroprotective effects of Berberine against amyloid  $\beta$ -protein-induced apoptosis in primary cultured hippocampal neurons via mitochondria-related caspase pathway. **Neuroscience Letters**, v. 655, p. 46-53, 2017.

LIEBESCHUETZ, J. W.; COLE, J. C.; KORB, O. Pose prediction and virtual screening performance of GOLD scoring functions in a standardized test. **Journal of computer-aided molecular design**. 2012.

LIPINSKI, C.A. Rule of five in 2015 and beyond: Target and ligand structural limitations, ligand chemistry structure and drug discovery project decisions, **Adv. Drug Deliv. Rev.** v. 101, 34–41. 2016.

MAKHMOOR, T.; CHOUDHARY, M. I.; Radical scavenging potential of compounds isolated from *Vitex agnus-castus*. **Turkish journal chemistry**; v, 34, p.119–126 , 2010.

MARPAUNG, A. M.; RAMDHANI, R. P. Color characteristics and stability of anthocyanin in fresh *Thunbergia erecta* flower extract. **Indonesian Journal of Natural Pigments**, v. 2, n. 2, p. 31-35, 2020.

MORRIS, G. M., GREEN, L. G., RADIC, Z., TAYLOR, P., SHARPLESS, K. B., OLSON, A. J., GRZYNSZPAN, F. Automated docking with protein flexibility in the design of femtomolar “click chemistry” inhibitors of acetylcholinesterase. **Journal of chemical information and modeling**, v. 53, n. 4, p. 898-906, 2013.

REFAEY, M.S.; ABDELHAMID, R.A.; ELIMAM, H.; ELSHAIER, YAMM; ALI, A.A.; ORABI, M.A.A. Constituintes bioativos da *Thunbergia erecta* como potenciais agentes anticolinesterásicos e antienvhecimento: Estudos experimentais e *in silico*. **Química Bioorgânica**, 108, 104643. 2021.

SAMADI, A.; REVENGA, M. F.; PÉREZ, C.; IRIEPA, I.; MORALEDA, I.; RODRÍGUEZ-FRANCO, M. I.; MARCO-CONTELLAS, J. Synthesis, pharmacological assessment, and molecular modeling of 6-chloro-pyridonepezils: New dual AChE

inhibitors as potential drugs for the treatment of Alzheimer's disease. **European journal of medicinal chemistry**, v. 67, p. 67-74, 2013.

SILMAN, I.; SUSSMAN, J.L. Acetylcholinesterase: How is structure related to function?. **Chemico-biological interactions**, v. 175, n. 1, p. 3-10, 2008

SMITH, M., Doença de Alzheimer, **Brazil Journal of Psychiatry**, v. 21, 1999.