



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUTOS NATURAIS E
SINTÉTICOS BIOATIVOS**



ÉRIKA PAIVA DE MOURA

**ESTUDO *IN SILICO* DE FLAVONOIDES E COMPOSTOS
ANÁLOGOS PERTENCENTES À FAMÍLIA
ASTERACEAE CONTRA A DOENÇA DE ALZHEIMER**

João Pessoa – PB

2021

ÉRIKA PAIVA DE MOURA

**ESTUDO *IN SILICO* DE FLAVONOIDES E COMPOSTOS
ANÁLOGOS PERTENCENTES À FAMÍLIA ASTERACEAE
CONTRA A DOENÇA DE ALZHEIMER**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos do Centro de Ciências da Saúde, da Universidade Federal da Paraíba, em cumprimento às exigências para a obtenção do título de Mestre em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos. Área de Concentração: Farmacoquímica.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Luciana Scotti

FICHA CATALOGRÁFICA

Catálogo na publicação Seção de Catalogação e classificação

M929e Moura, Érika Paiva de.

Estudo *in silico* de flavonoides e compostos análogos
pertencentes à família Asteraceae contra a doença de
Alzheimer / Érika Paiva de Moura. - João Pessoa, 2021.
114 f.

Orientação: Luciana Scotti.

Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCS.

1. Doença de Alzheimer. 2. Flavonoides. 3. *Docking*
molecular. 4. Dinâmica molecular. I. Scotti, Luciana.
II. Título.

UFPB/BC

CDU 616.894(043)

FOLHA DE APROVAÇÃO

Érika Paiva de Moura

**Estudo *in silico* de flavonoides e compostos análogos pertencentes à família Asteraceae
contra a doença de Alzheimer**

Aprovada em: 30/08/2021

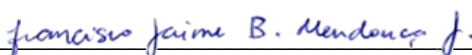
Banca examinadora



Profa. Dra. Luciana Scotti

Presidente da banca

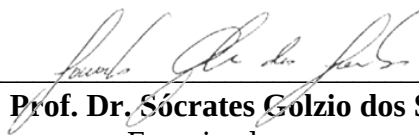
(Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, UFPB)



Prof. Dr. Francisco Jaime Bezerra Mendonça Júnior

Examinador interno

(Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, UFPB)



Prof. Dr. Sócrates Golzio dos Santos

Examinador externo

(Professor do magistério superior da UFPB)

Dedico, com muito amor, este trabalho ao meu noivo Natan Dias por todos os momentos de incentivo, atenção, carinho e por sempre estar ao meu lado quando precisei.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por seu amor, cuidado, pelo dom da vida e por permitir a realização deste trabalho mesmo durante a pandemia da COVID-19. Obrigada por me dar forças, coragem e esperança nesse momento tão difícil.

À minha família, por desejar o melhor pra mim e me apoiar nos meus estudos. Agradeço especialmente à minha mãe Heralda e minha vó Geralda, por toda dedicação que demonstraram para mim durante minha vida. Agradeço aos meus irmãos Jéssica e Renan, por todos os momentos alegres vividos juntos. Também agradeço ao meu pai Eliú, que mesmo distante sempre se preocupou com meu bem-estar e nunca deixou de me ajudar.

Ao meu noivo Natan, que é minha fonte de alegria desde que nos conhecemos. Sou grata por sua amizade, companheirismo, paciência e amor.

À minha querida amiga Vitória, por todas as conversas e por sua amizade desde o curso de graduação em Farmácia.

Aos meus colegas do laboratório de quimioinformática Gabriela, Natália e Alex por suas contribuições científicas para o desenvolvimento desta pesquisa. Agradeço particularmente à Mayara, por todas as vezes que me auxiliou durante as análises, por responder minhas dúvidas e pela sua atenção.

A todos do grupo de farmacoquímica do mestrado: Joice, Carlos, Jociano, Kimberly, Neves, Thiago e Severino. Sou grata pelas conversas, estudos e pela ajuda científica.

À minha orientadora Luciana Scotti, pelos conselhos, orientação e disponibilidade.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro e à Universidade Federal da Paraíba pelo apoio institucional.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

“Não importa quantos erros você cometa ou quão devagar é seu progresso, você ainda estará à frente daqueles que não estão tentando.”

Tony Robbins

RESUMO

A doença de Alzheimer é uma desordem neurodegenerativa que afeta mais de 20 milhões de pessoas no mundo. Atualmente, os fármacos disponíveis para o tratamento apresentam diversos efeitos colaterais e apenas reduzem as manifestações clínicas da doença, não sendo capazes de evitar que ela progrida. Assim, a pesquisa de novas alternativas terapêuticas que retardem o desenvolvimento da desordem é essencial. Uma das estratégias utilizadas no processo de descoberta de fármacos contra a doença de Alzheimer é a realização de um estudo *in silico*. Dessa forma, é possível prever as atividades biológicas e as propriedades físico-químicas de moléculas e contribuir para a redução do tempo e dos custos financeiros da pesquisa de medicamentos. Os flavonoides são metabólitos secundários de plantas que apresentam efeitos benéficos na prevenção de doenças, incluindo as doenças neurodegenerativas. Com base nisso, o objetivo deste trabalho foi desenvolver análises *in silico* e realizar uma triagem virtual de flavonoides e análogos da família Asteraceae contra os alvos da doença de Alzheimer. Neste estudo, foram selecionados 886 flavonoides para iniciar a triagem virtual e os seguintes métodos computacionais foram utilizados: construção de modelos de QSAR (*Quantitative Structure-Activity Relationship*), análise dos riscos de citotoxicidade, análise das violações à regra dos cinco de Lipinski, cálculos de parâmetros físico-químicos relacionados à atividade antioxidante, análise do componente principal por consenso (CPCA), análise do componente principal (PCA), *docking* molecular e simulações de dinâmica molecular. Os modelos de QSAR exibiram parâmetros estatísticos satisfatórios e indicaram moléculas possivelmente ativas contra acetilcolinesterase (AChE), peptídeo β -amilóide ($A\beta$) e glicogênio sintase quinase-3 β (GSK-3 β) que provavelmente atravessam a barreira hematoencefálica. Essas moléculas foram submetidas à análise dos riscos de citotoxicidade e entre aquelas que não apresentaram riscos, selecionou-se os flavonoides com provável atividade multialvo, obtendo-se: FL319, FL339, FL466, FL511, FL775 e FL807. Os metabólitos preditos para esses flavonoides também não demonstraram riscos de citotoxicidade, com exceção de apenas um metabólito proveniente da interação de FL511 com CYP2D6. Os seis flavonoides analisados mostraram no máximo 1 violação à regra dos cinco de Lipinski, demonstrando propriedades físico-químicas favoráveis à biodisponibilidade por via oral. Além disso, todos os flavonoides foram mais reativos e apresentaram maior capacidade de perder um elétron e neutralizar radicais livres em comparação com o antioxidante ácido ascórbico, sugerindo que eles possuem propriedades antioxidantes. Os resultados da CPCA e da PCA revelaram que todos os flavonoides, com exceção do FL319, formam interações hidrofóbicas altamente favoráveis com outras moléculas, e que FL466 e FL511 possuem um melhor perfil de solubilidade. Também foi observado que os flavonoides estudados têm regiões hidrofóbicas, hidrofílicas, grupos aceptores de ligação de hidrogênio e grupos doadores de ligação de hidrogênio. Os procedimentos de *docking* molecular forneceram dados sobre os possíveis mecanismos de ação dos flavonoides, nos quais notou-se que FL466, FL511, FL775 e FL807 interagiram com todos os resíduos de aminoácidos do sítio aniônico periférico da AChE. Os seis flavonoides formaram interações com os resíduos fundamentais para a agregação de $A\beta$, que são os resíduos do núcleo hidrofóbico central do peptídeo. FL319, FL339 e FL775 também participaram de interações com os resíduos do sítio de ligação do trifosfato de adenosina (ATP) de GSK-3 β . Nas simulações de dinâmica molecular, os flavonoides conseguiram estabilizar os alvos durante alguns nanossegundos. Portanto, acredita-se que os flavonoides investigados neste estudo são promissores contra os alvos da doença de Alzheimer e têm potencial para serem testados experimentalmente.

Palavras-chave: Doença de Alzheimer, Flavonoides, *Docking* molecular, Dinâmica molecular.

ABSTRACT

Alzheimer's disease is a neurodegenerative disorder that affects more than 20 million people worldwide. Currently, the drugs available for the treatment have several side effects and only reduce the clinical manifestations of the disease, not being able to prevent it from progressing. Hence, the search for new therapeutic alternatives that delay the development of the disorder is essential. One of the strategies used in the drug discovery process against Alzheimer's disease is to carry out an *in silico* study. Thus, it is possible to predict the biological activities and physicochemical properties of molecules and contribute to reducing the time and financial costs of drug research. Flavonoids are plant secondary metabolites that have beneficial effects in preventing diseases, including neurodegenerative diseases. Based on this, the aim of this work was to develop *in silico* analyzes and perform a virtual screening of flavonoids and analogues of the Asteraceae family against Alzheimer's disease targets. In this study, 886 flavonoids were selected to initiate the virtual screening and the following computational methods were used: construction of QSAR (Quantitative Structure-Activity Relationship) models, analysis of cytotoxicity risks, analysis of violations of Lipinski's rule of five, calculations of physicochemical parameters related to antioxidant activity, consensus principal component analysis (CPCA), principal component analysis (PCA), molecular docking and molecular dynamics simulations. The QSAR models exhibited satisfactory statistical parameters and indicated molecules possibly active against acetylcholinesterase (AChE), amyloid β peptide ($A\beta$) and glycogen synthase kinase-3 β (GSK-3 β), which probably cross the blood-brain barrier. These molecules were submitted to cytotoxicity risk analysis and among those that did not present risks, flavonoids with probable multitarget activity were selected, obtaining: FL319, FL339, FL466, FL511, FL775 and FL807. Predicted metabolites for these flavonoids also showed no cytotoxicity risks, with the exception of only one metabolite formed by the interaction of FL511 with CYP2D6. The six flavonoids analyzed showed at most 1 violation of Lipinski's rule of five, demonstrating physicochemical properties favorable to oral bioavailability. Furthermore, all flavonoids were more reactive and had a greater ability to lose an electron and neutralize free radicals compared to the antioxidant ascorbic acid, suggesting that they have antioxidant properties. The CPCA and PCA results revealed that all flavonoids, with the exception of FL319, form highly favorable hydrophobic interactions with other molecules, and that FL466 and FL511 have a better solubility profile. It was also observed that the studied flavonoids have hydrophobic and hydrophilic regions, hydrogen bond acceptor groups and hydrogen bond donor groups. Molecular docking procedures provided data on the possible mechanisms of action of flavonoids, in which it was noted that FL466, FL511, FL775 and FL807 interacted with all amino acid residues from the peripheral anionic site of AChE. The six flavonoids formed interactions with the fundamental residues for the aggregation of $A\beta$, which are the residues of the central hydrophobic core of the peptide. FL319, FL339 and FL775 also participated in interactions with the residues in the adenosine triphosphate (ATP) binding site of GSK-3 β . In molecular dynamics simulations, the flavonoids were able to stabilize the targets for a few nanoseconds. Therefore, it is believed that the flavonoids investigated in this study are promising molecules against the targets of Alzheimer's disease and have the potential to be tested experimentally.

Keywords: Alzheimer's disease, Flavonoids, Molecular docking, Molecular dynamics.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Prevalência padronizada por idade da doença de Alzheimer e outras demências por 100.000 habitantes.	22
Figura 2: Vias de clivagem de APP.	28
Figura 3: Estrutura básica dos flavonoides.	38
Figura 4: Curvas ROC dos modelos de AChE, BuChE e BACE1. A) Conjunto de teste de AChE; B) Validação cruzada de AChE; C) Conjunto de teste de BuChE; D) Validação cruzada de BuChE; E) Conjunto de teste de BACE1; F) Validação cruzada de BACE1.....	53
Figura 5: Curvas ROC dos modelos de A β , GSK-3 β e BHE. A) Conjunto de teste de A β ; B) Validação cruzada de A β ; C) Conjunto de teste de GSK-3 β ; D) Validação cruzada de GSK-3 β ; E) Conjunto de teste da BHE; F) Validação cruzada da BHE.....	54
Figura 6: Estruturas químicas dos flavonoides multialvo selecionados nas análises in silico.	56
Figura 7: Metabólitos preditos através da interação dos flavonoides e dos controles com CYP2D6.....	59
Figura 8: Gráfico do peso dos blocos do modelo da CPCA considerando PC1 e PC2.....	62
Figura 9: Distribuição das moléculas e dos descritores moleculares no modelo da PCA. A) Gráfico das moléculas; B) Gráfico dos descritores.	64
Figura 10: Campos de interação molecular dos flavonoides interagindo com as sondas H ₂ O (azul-claro), DRY (verde), NH (azul-escuro) e O de carbonila (vermelho). A) FL319; B) FL339; C) FL466; D) FL511; E) FL775; F) FL807. Níveis de energia de -3 kcal/mol (H ₂ O, NH e O) e -1 kcal/mol (DRY).....	65
Figura 11: Interações em 3D e em 2D dos flavonoides com AChE. A) FL466; B) FL511; C) FL775; D) FL807. As ligações de hidrogênio são destacadas por linhas tracejadas verdes, as interações hidrofóbicas são destacadas em rosa, as interações estéricas são marcadas em vermelho e as interações de van der Waals em verde.	69
Figura 12: Interações em 3D e em 2D dos controles com a enzima AChE. A) Donepezila; B) Galantamina; C) Rivastigmina; D) Diidrotansinona I. As ligações de hidrogênio são destacadas por linhas tracejadas verdes, as interações hidrofóbicas são destacadas em rosa, as interações estéricas são marcadas em vermelho, as interações de van der Waals em verde e as interações eletrostáticas em amarelo.....	70
Figura 13: Interações em 3D e em 2D dos flavonoides com A β . A) FL319; B) FL339; C) FL466. As ligações de hidrogênio são destacadas por linhas tracejadas verdes, as interações	

hidrofóbicas são destacadas em rosa, as interações de van der Waals em verde e as interações eletrostáticas em amarelo.....	74
Figura 14: Interações em 3D e em 2D dos flavonoides com A β . A) FL511; B) FL775; C) FL807. As ligações de hidrogênio são destacadas por linhas tracejadas verdes, as interações hidrofóbicas são destacadas em rosa, as interações estéricas são marcadas em vermelho, as interações de van der Waals em verde e as interações eletrostáticas em amarelo.....	75
Figura 15: Interações em 3D e em 2D dos controles com A β . A) Curcumina; B) EGCG; C) Resveratrol. As ligações de hidrogênio são destacadas por linhas tracejadas verdes, as interações hidrofóbicas são destacadas em rosa, as interações de van der Waals em verde e as interações eletrostáticas em amarelo.	76
Figura 16: Interações em 3D e em 2D dos flavonoides e do controle com GSK-3 β . A) FL319; B) FL339; C) FL775; D) Inibidor TMU. As ligações de hidrogênio são destacadas por linhas tracejadas verdes, as interações hidrofóbicas são destacadas em rosa, as interações de van der Waals em verde e as interações eletrostáticas em amarelo.	79
Figura 17: Valores do RMSD para os átomos de C α dos alvos complexados aos flavonoides e controles. A) AChE; B) A β ; C) GSK-3 β	82
Figura 18: Valores do RMSD para os átomos de C α dos flavonoides e dos controles complexados com os alvos. A) AChE; B) A β ; C) GSK-3 β	83
Figura 19: Valores da RMSF para os átomos de C α dos resíduos de aminoácidos dos alvos interagindo com os flavonoides e controles. A) AChE; B) A β ; C) GSK-3 β	85

LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Fatores de risco para a doença de Alzheimer.....	23
Quadro 2: Fatores de proteção para a doença de Alzheimer.....	25
Quadro 3: Dados de alvos da doença de Alzheimer encontrados no ChEMBL.	41
Quadro 4: Nomes e subclasses dos flavonoides promissores neste estudo.....	57

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Valores dos parâmetros estatísticos obtidos para todos os modelos.	52
Tabela 2: Dados das moléculas possivelmente ativas que fazem parte do domínio de aplicabilidade dos modelos.....	55
Tabela 3: Probabilidades de atividade (P_{ATV}) dos flavonoides multialvo para AChE, A β e GSK-3 β e riscos de citotoxicidade (carcinogenicidade, mutagenicidade, irritabilidade na pele e efeito tóxico no sistema reprodutor).	57
Tabela 4: Riscos de citotoxicidade e probabilidades dos metabólitos dos flavonoides e controles.....	58
Tabela 5: Propriedades calculadas para os flavonoides e quantidade de violações à regra dos cinco de Lipinski.	60
Tabela 6: Propriedades físico-químicas quânticas dos flavonoides e dos controles ácido ascórbico (AA), ácido gálico (AG), α -tocoferol (AT), γ -tocoferol (GT) e 4-nerolidilcatecol (NC).	61
Tabela 7: Variância explicada através dos blocos DRY e LOGS do modelo da CPCA.	63
Tabela 8: Variância explicada pelos componentes do modelo da PCA.	63
Tabela 9: Energias de ligação e interações dos flavonoides e dos controles com AChE.....	67
Tabela 10: Energias de ligação e interações dos flavonoides e dos controles com A β	72
Tabela 11: Energias de ligação e interações dos flavonoides e do controle com GSK-3 β	78

LISTA DE ABREVIATURAS

(H-L) _{GAP}	Diferença entre as energias dos orbitais HOMO e LUMO
AA	Ácido ascórbico
AC	Acurácia
ACh	Acetilcolina
AChE	Acetilcolinesterase
AG	Ácido gálico
AICD	<i>APP Intracellular Domain</i>
AM1	<i>Austin Model 1</i>
APOE	Apolipoproteína E
APP	<i>Amyloid Precursor Protein</i>
AT	α -tocoferol
ATP	trifosfato de adenosina
A β	β -amilóide
BACE1	<i>β-site APP-Cleaving Enzyme 1</i>
BDNF	<i>Brain-Derived Neurotrophic Factor</i>
BHE	Barreira hematoencefálica
BuChE	Butirilcolinesterase
CADD	<i>Computer-Aided Drug Design</i>
CAS	<i>Catalytic Anionic Site</i>
CCL	Comprometimento cognitivo leve
CHC	<i>Central Hydrophobic Core</i>
ChEs	Colinesterases
CI ₅₀	Concentração inibitória média
clogP	Coeficiente de partição octanol/água calculado
CPCA	<i>Consensus Principal Component Analysis</i>
DA	Doença de Alzheimer
DM	Dinâmica molecular
DM2	Diabetes mellitus tipo 2
EGCG	Epigallocatequina-galato
EOAD	<i>Early-Onset Alzheimer's Disease</i>
EROs	Espécies reativas de oxigênio
FA	Floresta aleatória
FN	Falso negativo
FP	Falso positivo
GAP	Intervalo
GSK-3 β	Glicogênio sintase quinase-3 β
GT	γ -tocoferol
Hc	Entalpia de formação da espécie catiônica
Hn	Entalpia de formação da espécie neutra
HOMO	<i>Highest Occupied Molecular Orbital</i>
Hr	Entalpia de formação da espécie radicalar
ID	Identificador
LBVS	<i>Ligand-Based Virtual Screening</i>
LOAD	<i>Late-Onset Alzheimer's Disease</i>
LUMO	<i>Lowest Unoccupied Molecular Orbital</i>
MCC	<i>Matthews Correlation Coefficient</i>
MIFs	<i>Molecular Interaction Fields</i>
MVD	Molegro Virtual Docker

NC	4-nerolidilcatecol
NGF	<i>Nerve Growth Factor</i>
NMDA	N-metil-D-aspartato
PAS	<i>Peripheral Anionic Site</i>
P _{ATV}	Probabilidade de atividade
PC	Componente principal
PCA	<i>Principal Component Analysis</i>
PDB	<i>Protein Data Bank</i>
PNs	Produtos naturais
PR	Precisão
PSEN1	Presenilina 1
PSEN2	Presenilina 2
QSAR	<i>Quantitative Structure-Activity Relationship</i>
RC	Reserva cognitiva
RHF	<i>Restricted Hartree-Fock</i>
RMSD	<i>Root Mean Square Deviation</i>
RMSF	<i>Root Mean Square Fluctuation</i>
ROC	<i>Receiver Operating Characteristic</i>
SBVS	<i>Structure-Based Virtual Screening</i>
SE	Sensibilidade
SMILES	<i>Simplified Molecular-Input Line-Entry System</i>
SP	Especificidade
TMU	<i>N-(4-methoxybenzyl)-n'-(5-nitro-1,3-thiazol-2-yl)urea</i>
UHF	<i>Unrestricted Hartree-Fock</i>
VEGF	<i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>
VN	Verdadeiro negativo
VP	Verdadeiro positivo
VS	<i>Virtual screening</i>
ΔH_f	Diferença entre as entalpias de formação das espécies radicalar e neutra
ΔH_{ox}	Diferença entre as entalpias de formação das espécies catiônica e neutra

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	18
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	21
2.1 A doença de Alzheimer	21
2.1.1 Histórico e prevalência	21
2.1.2 Caracterização patológica, fatores de risco e de proteção	22
2.1.3 Peptídeos, proteínas e processos relacionados com a patogênese	27
2.1.3.1 Peptídeo β -amilóide ($A\beta$) e β -secretase.....	27
2.1.3.2 Glicogênio sintase quinase-3 β (GSK-3 β) e tau	30
2.1.3.3 Colinesterases	31
2.1.3.4 Estresse oxidativo	32
2.1.4 Estágios da doença e manifestações clínicas	33
2.1.5 Diagnóstico e tratamento farmacológico	34
2.2 Planejamento de fármacos auxiliado por computador.....	35
2.3 O potencial terapêutico de flavonoides	38
3. OBJETIVOS	40
3.1 Objetivo geral	40
3.2 Objetivos específicos.....	40
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	41
4.1 Coleta de dados.....	41
4.2 Tratamento dos conjuntos de dados.....	42
4.3 Cálculos dos descritores moleculares	42
4.4 Construção de modelos de relação quantitativa entre a estrutura e a atividade (QSAR) ...	43
4.5 Análise dos riscos de citotoxicidade e das violações à regra dos cinco de Lipinski	46
4.6 Cálculos dos parâmetros físico-químicos quânticos relacionados à atividade antioxidante	47
4.7 Análise dos Componentes Principais por Consenso (CPCA) e Análise dos Componentes Principais (PCA).....	48
4.8 Ancoragem ligante-alvo ou <i>docking</i> molecular	49
4.9 Simulações de dinâmica molecular	51
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	52
5.1 Modelos de QSAR.....	52
5.2 Análise dos riscos de citotoxicidade e das violações à regra dos cinco de Lipinski	55
5.3 Cálculos dos parâmetros físico-químicos quânticos relacionados à atividade antioxidante	60
5.4 Análises do programa Volsurf+	62

5.5 <i>Docking</i> molecular.....	66
5.6 Simulações de dinâmica molecular	80
6. CONCLUSÃO.....	86
REFERÊNCIAS	88
APÊNDICES	116

1. INTRODUÇÃO

A doença de Alzheimer (DA) é uma desordem neurodegenerativa e a forma mais comum de demência, sendo responsável por 70% de todos os casos observados (CROUS-BOU *et al.*, 2017). Atualmente, mais de 20 milhões de pessoas têm a DA e estima-se que uma pessoa a cada 85 poderá apresentar essa doença no ano de 2050 (CUMMINGS *et al.*, 2018; JIN, Y.; TU; LIU, 2018). Existem diversos fatores de risco relacionados ao desenvolvimento da desordem, incluindo hipertensão, diabetes, obesidade, tabagismo e idade. Dentre eles, o mais importante é a idade, pois é relatado que pessoas com mais de 65 anos têm alto risco de desenvolver a DA (BURKE *et al.*, 2018; FAROOQ *et al.*, 2017).

A DA é caracterizada principalmente pela formação de placas extracelulares no cérebro constituídas por peptídeos β -amilóide ($A\beta$), além da presença de emaranhados neurofibrilares da proteína tau hiperfosforilada e da neurodegeneração (HONIG *et al.*, 2018). Relata-se que a clivagem da proteína precursora amilóide pelas enzimas β -secretase e γ -secretase gera as duas principais formas de $A\beta$: $A\beta_{40}$, a isoforma mais comum em condições fisiológicas normais; e $A\beta_{42}$, a isoforma mais abundante na DA e com a maior capacidade de se agregar. Assim, a agregação de $A\beta$ produz estruturas conhecidas como oligômeros, que são espécies neurotóxicas capazes de causar disfunções sinápticas e ocasionar as consequências fisiopatológicas da DA (FAUCHER *et al.*, 2016; GUIVERNAU *et al.*, 2016). Com relação ao desenvolvimento de emaranhados neurofibrilares, esse processo está relacionado à hiperfosforilação da proteína tau por quinases, principalmente pela glicogênio sintase quinase-3 β (TORAL-RIOS *et al.*, 2020). Dessa forma, ocorre uma diminuição dos níveis solúveis e funcionais de tau, que reduz o funcionamento adequado do transporte axonal e causa a degeneração de neurônios (GAO *et al.*, 2018).

A fisiopatologia da DA também está associada aos níveis diminuídos do neurotransmissor acetilcolina (ACh) e ao estresse oxidativo. A regulação dos níveis de ACh ocorre por meio de duas colinesterases: acetilcolinesterase (AChE) e butirilcolinesterase (BuChE). Essas duas enzimas hidrolisam a ACh mas geralmente a AChE é a principal responsável pela degradação do neurotransmissor, logo, BuChE desempenha um papel secundário (LIU, S. *et al.*, 2020). No entanto, durante a evolução da doença, acredita-se que a atividade da AChE diminui enquanto que a atividade da BuChE pode aumentar em até 165% em relação aos níveis normais (MARUCCI *et al.*, 2021). O processo de hidrólise de ACh pelas colinesterases pode ocasionar o déficit desse neurotransmissor e consequentemente provocar o

declínio cognitivo e a perda de memória observados na DA (XIE, S. S. *et al.*, 2015). No que se refere ao estresse oxidativo, ele é caracterizado pelo desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio e a defesa antioxidante do organismo (GELLA; DURANY, 2009). Como o cérebro é o órgão do organismo humano mais vulnerável ao estresse oxidativo, a oxidação de lipídeos, proteínas e ácidos nucleicos em neurônios é uma característica comum da DA (CHEN, Zhichun; ZHONG, 2014).

Nota-se que a patogênese da DA envolve vários alvos e processos, tornando-a complexa e aumentando a dificuldade de desenvolver compostos contra a doença, em razão disso, diversas moléculas têm falhado durante ensaios clínicos (ZHANG, P. *et al.*, 2019). Atualmente, as opções terapêuticas para pacientes com a DA incluem os inibidores de colinesterases donepezila, galantamina e rivastigmina e o antagonista do receptor N-metil-D-aspartato memantina (KABIR *et al.*, 2019). Esses fármacos apenas reduzem as manifestações clínicas da desordem e não afetam os mecanismos relacionados à sua progressão, portanto, a pesquisa de terapias eficazes contra a DA é essencial (COIMBRA *et al.*, 2018; PITON *et al.*, 2018).

O planejamento de fármacos auxiliado por computador (CADD - *Computer-Aided Drug Design*) envolve todas as técnicas empregadas em um computador para descobrir e otimizar moléculas com estruturas e propriedades desejadas (CERQUEIRA *et al.*, 2015). A triagem virtual é uma ferramenta comum de CADD usada para identificar moléculas promissoras a partir de bibliotecas de compostos no estágio inicial do processo de desenvolvimento de drogas (WANG, Shuai *et al.*, 2020). Essa ferramenta pode ser dividida em duas categorias: triagem virtual baseada no ligante (LBVS - *Ligand-Based Virtual Screening*) e triagem virtual baseada na estrutura do alvo biológico (SBVS - *Structure-Based Virtual Screening*) (SHIN *et al.*, 2016). Enquanto que a abordagem LBVS utiliza moléculas de atividade conhecida para selecionar compostos de interesse em um banco de dados através de medidas de similaridade ou pesquisa de farmacóforos, a abordagem SBVS inclui a ancoragem de compostos com o alvo biológico usando algoritmos computacionais (CLARK, D. E., 2008).

Observa-se que a triagem virtual está se tornando mais popular na área de descoberta de fármacos devido ao surgimento e aprimoramento de diversas técnicas *in silico*, ao aumento do número de programas disponíveis e ao sucesso de estudos que identificaram moléculas bioativas utilizando tecnologias virtuais (DA SILVA ROCHA *et al.*, 2019). Além disso, a utilização dessa estratégia permite o processamento de milhares de compostos em algumas horas e diminui a quantidade de moléculas sintetizadas e testadas, dessa forma, pode-se reduzir o tempo e o custo da pesquisa de fármacos (GIMENO *et al.*, 2019).

Produtos naturais são moléculas com diversidade estrutural que têm um papel fundamental na descoberta e desenvolvimento de drogas (BANERJEE, P. *et al.*, 2015). Os flavonoides são uma importante classe de compostos naturais amplamente encontrados nas folhas, sementes, cascas e flores das plantas, como também em chás, tomates, cebolas, maçãs e vinho vermelho. Esses compostos são caracterizados por um esqueleto de 15 átomos de carbono contendo dois anéis fenólicos ligados a uma cadeia de 3 carbonos, sendo relatada na literatura a existência de mais de 9000 flavonoides (TREML; ŠMEJKAL, 2016; WANG, T. yang; LI; BI, 2018; ZHANG, Z. *et al.*, 2019). Estudos têm demonstrado os efeitos protetores de flavonoides contra o câncer, doenças cardiovasculares, alterações gastrointestinais e síndromes relacionadas com o sistema nervoso como a epilepsia e a DA (PÉREZ-CANO; CASTELL, 2016). Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi desenvolver análises *in silico* e realizar uma triagem virtual de flavonoides e análogos da família Asteraceae contra alvos específicos da DA.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 A doença de Alzheimer

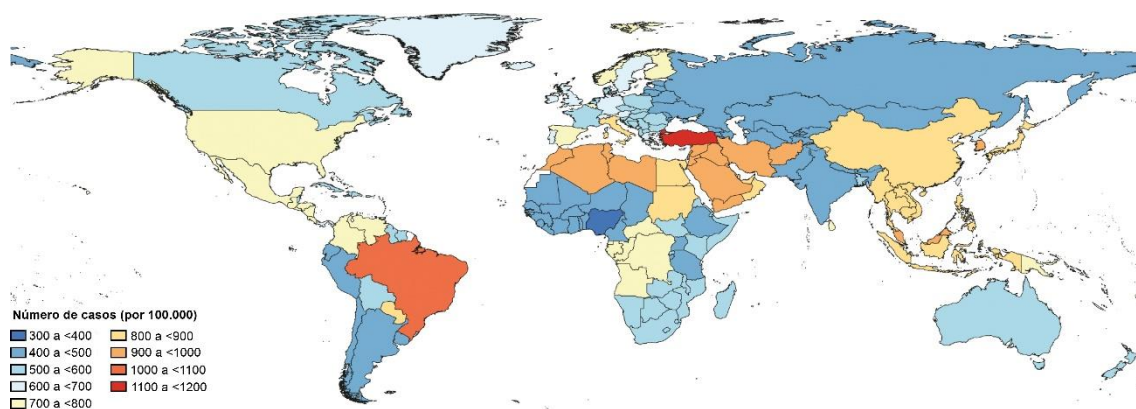
2.1.1 Histórico e prevalência

A doença de Alzheimer foi descrita primeiramente na 37ª conferência de psiquiatria do sudoeste da Alemanha realizada em Tübingen no ano de 1906, pelo médico alemão Alois Alzheimer, ao relatar os sintomas e os resultados da biópsia cerebral da sua paciente Auguste Deter (YANG, H. D. *et al.*, 2016). Os sintomas de Auguste surgiram em 1901 quando ela tinha 51 anos e estes envolviam mudanças progressivas de personalidade, sensação de ser perseguida pelos vizinhos, incapacidade de realizar tarefas de casa, delírio, esquecimento, entre outros. Dessa forma, Auguste foi admitida no asilo municipal de Frankfurt e foi acompanhada por Alzheimer, que registrou as características cognitivas da sua doença, incluindo os problemas de compreensão de linguagem apresentados pela paciente (CIPRIANI, Gabriele *et al.*, 2011; RAMIREZ-BERMUDEZ, 2012). A partir de 1906, Auguste exibiu deterioração física de forma progressiva e desenvolveu úlceras de decúbito, e no mês de março, apresentou febre de até 40 °C, sendo diagnosticada com pneumonia (AMINOFF, 2014). No dia 2 de abril de 1906, aproximadamente 4 anos e meio depois do início dos sintomas, Auguste faleceu e seu cérebro foi enviado posteriormente para Alzheimer (BOTCHWAY; IYER, 2017).

Após realizar uma análise microscópica do cérebro de Auguste, Alzheimer verificou que o órgão apresentava atrofia e diversas células nervosas do córtex cerebral tinham desaparecido, além disso, ele observou a presença de placas senis e emaranhados neurofibrilares. Outros pesquisadores já haviam descoberto alterações dessa natureza no cérebro, no entanto, Alzheimer foi o primeiro a relacioná-las com a demência de sua paciente, concluindo que se tratava de uma desordem diferente da doença mental ou da paralisia progressiva. Essa doença desconhecida demonstrava um quadro clínico incomum, uma progressão rápida, características neuropatológicas únicas e lesões graves, dessa forma ela não podia ser classificada em alguma doença conhecida da época (CIPRIANI, G.; DANTI; CARLESI, 2016; KUDO, 2016). Em 1910, o mentor de Alzheimer, Emil Kraepelin, nomeou a desordem como “doença de Alzheimer” no seu manual de psiquiatria, no entanto, somente na década de 1980 que pesquisadores identificaram as placas e emaranhados de fibras nervosas descritos por Alzheimer como placas constituídas de peptídeos β -amilóide ($A\beta$) e fibras neurofibrilares de tau (BONDI; EDMONDS; SALMON, 2017; MCGIRR; VENEGAS; SWAMINATHAN, 2020).

Atualmente, a doença de Alzheimer (DA) é uma epidemia global emergente que afeta mais de 20 milhões de pessoas no mundo, sendo relatado que 135 milhões de pessoas podem desenvolvê-la até 2050 (WISNIEWSKI; GOÑI, 2015). DA é a principal causa de demência, uma desordem fatal caracterizada pelo comprometimento cognitivo progressivo, amnésia e incapacidade de exercer atividades diárias, e que representa um dos maiores desafios médicos, econômicos e sociais da atualidade (DUNCAN; VALENZUELA, 2017). Conforme NICHOLS *et al.* (2019) o número global de pessoas que vivem com demência mais que dobrou de 1990 a 2016, com um aumento de 20,2 milhões para 43,8 milhões. Além disso, observou-se que em 2016 a Turquia apresentou a maior prevalência padronizada por idade (1192 casos por 100 mil habitantes), seguida do Brasil (1037 casos por 100 mil habitantes) (Figura 1). Com relação à prevalência da demência causada por DA nos Estados Unidos da América, estima-se que 6,2 milhões da população com 65 anos ou mais apresentam essa condição no ano de 2021 (ALZHEIMER'S ASSOCIATION, 2021).

Figura 1: Prevalência padronizada por idade da doença de Alzheimer e outras demências por 100.000 habitantes.



Fonte: Adaptada de NICHOLS *et al.*, 2019.

2.1.2 Caracterização patológica, fatores de risco e de proteção

A DA é uma desordem neurodegenerativa que pode ocorrer em 2 formas: na forma de início precoce (EOAD - *Early-Onset Alzheimer's Disease*), principalmente determinada pela genética e na forma de início tardio (LOAD - *Late-Onset Alzheimer's Disease*), que representa 95% de todos os casos de DA e cuja etiologia é desconhecida (BALIN; HUDSON, 2014). Essa desordem é caracterizada por placas extracelulares formadas pela agregação de A β , emaranhados neurofibrilares intracelulares compostos de tau hiperfosforilada e perda de

neurônios (EDLER *et al.*, 2017). A neurodegeneração ocorre porque as placas e oligômeros de A β interferem na comunicação interneuronal nas sinapses, enquanto que os emaranhados de tau prejudicam o transporte de nutrientes e outras moléculas dentro dos neurônios (ALZHEIMER'S ASSOCIATION, 2020). A patogênese de DA é multifatorial, dessa forma existem diversos fatores de risco que contribuem para a patologia relacionada ao peptídeo A β e tau (TAKEDA, 2019). Assim, existem os fatores genéticos que são herdados pelo indivíduo e os não-genéticos, tais como condições médicas pré-existent, fatores associados ao estilo de vida, fatores ambientais e a idade (Quadro 1). A idade avançada é o fator de risco mais significativa para DA, pois nota-se que a incidência da doença aumenta com a idade e que a grande maioria dos casos ocorre após os 65 anos (GUERREIRO; BRAS, 2015; JIANG *et al.*, 2013; YEGAMBARAM *et al.*, 2015).

Quadro 1: Fatores de risco para a doença de Alzheimer.

Genéticos	Condições médicas	Estilo de vida	Ambientais	Idade
<i>APP</i>	Diabetes	Alto consumo de álcool	Pesticidas	>65 anos
<i>PSEN1</i>	Dislipidemia	Fumar	Metais tóxicos	-
<i>PSEN2</i>	Hipertensão	-	-	-
ϵ 4 de <i>APOE</i>	-	-	-	-

Fonte: Adaptado de GUERREIRO; BRAS, 2015; JIANG *et al.*, 2013; YEGAMBARAM *et al.*, 2015.

Com relação aos fatores genéticos que promovem o desenvolvimento da DA, acredita-se que mutações nos genes que codificam a proteína precursora amilóide (*APP* - *Amyloid Precursor Protein*), a presenilina 1 (*PSEN1*) e a presenilina 2 (*PSEN2*) favorecem a produção excessiva de beta amilóide e causam a EOAD conhecida como DA familiar. É relatado que as mutações nesses genes são responsáveis por aproximadamente 1% de todos os casos de DA. Logo, o principal fator de risco genético para DA é o alelo ϵ 4 do gene apolipoproteína E (*APOE*) que pode ocasionar a forma mais comum da doença, a LOAD (ALONSO VILATELA; LÓPEZ-LÓPEZ; YESCAS-GÓMEZ, 2012; ZHAO, N. *et al.*, 2018).

O gene *APOE* existe nos humanos em 3 formas: ϵ 2, ϵ 3 e ϵ 4; e eles têm uma frequência mundial de 8,4%, 77,9% e 13,7%, respectivamente. Estudos relataram que os indivíduos que possuem duas cópias do alelo ϵ 4 apresentam um risco maior de desenvolver DA do que aqueles com apenas uma cópia de ϵ 4 em combinação com os outros alelos, e estes últimos possuem um risco maior do que as pessoas sem cópias de ϵ 4 (LIU, C. C. *et al.*, 2013; SINDI; MANGIALASCHE; KIVIPELTO, 2015). Outras pesquisas demonstraram que a quantidade de beta amilóide e de emaranhados neurofibrilares depende do alelo para ApoE (ϵ 4 > ϵ 3 > ϵ 2) e que

a proteína ApoE4 é associada à menor depuração de beta amiloide e ao aumento da formação de fibrilas amilóides, promovendo a neurodegeneração e consequentemente o desenvolvimento da DA (DEPYPERE *et al.*, 2016; HUANG, Y.; MAHLEY, 2014).

No que diz respeito à associação de DA com fatores não genéticos, tem sido observado que essa doença é duas vezes mais frequente em pacientes diabéticos e que ela está relacionada com a diabetes mellitus tipo 2 (DM2) através de processos como estresse oxidativo, alterações da mitocôndria e do metabolismo de A β (BLÁZQUEZ *et al.*, 2014). Na DM2, níveis elevados de glicose no sangue contribuem para o aumento do metabolismo de glicose que leva à sobrecarga da cadeia transportadora de elétrons, causando a produção excessiva de espécies reativas de oxigênio (EROs) pelas mitocôndrias. Assim, as EROs produzidas pelas mitocôndrias promovem a síntese de A β e favorecem o acúmulo deste peptídeo nas mitocôndrias, consequentemente, estas sofrem alterações morfológicas (CARVALHO; CARDOSO, 2021). Conforme CHA *et al.* (2012), grandes quantidades de A β mitocondrial têm sido detectadas em cérebros com DA e acredita-se que esse acúmulo de A β seja a condição necessária para que ocorra a disfunção da mitocôndria seguida da toxicidade e morte neuronal.

Um indivíduo também apresenta risco aumentado de desenvolver DA quando tem níveis altos de colesterol total sérico na meia-idade. Estudos sugerem que as concentrações altas de colesterol podem ocasionar doenças cerebrovasculares ou contribuir na deposição de A β no cérebro (IMTIAZ *et al.*, 2014). Outro fator de risco importante é a hipertensão, uma vez que pressão arterial elevada diminui a integridade vascular da barreira hematoencefálica (BHE), causando o extravasamento de proteínas para o tecido cerebral, logo, ocorre dano celular, apoptose e aumento do acúmulo de A β (CROUS-BOU *et al.*, 2017).

No que concerne aos fatores de risco da DA associados ao estilo de vida, o alto consumo de álcool pode favorecer o estresse oxidativo, causar dano cognitivo temporário ou permanente e possibilitar a atrofia cerebral. O ato de fumar também está relacionado com o estresse oxidativo cerebral, que contribui com o surgimento da DA ao induzir a via amiloidogênica envolvida na produção de A β e promover a fosforilação anormal da proteína tau (CAMPDELACREU, 2014; DURAZZO; MATTSSON; WEINER, 2014).

Além dos fatores de risco da DA já mencionados, existem diversos contaminantes ambientais envolvidos na patogênese da desordem por possuírem efeitos tóxicos. Dentre os contaminantes, os pesticidas organoclorados e organofosforados são conhecidos por comprometer a função mitocondrial, induzir o estresse oxidativo e a destruição de neurônios (YAN *et al.*, 2016). Ainda, a ingestão de metais tóxicos através da dieta pode também estar

relacionada com a etiologia da DA. Evidências têm demonstrado que a incidência da DA é maior em populações que consomem água contaminada com níveis altos de alumínio e que esse metal está envolvido na formação das características neuropatológicas da doença (CULQUI *et al.*, 2017; VIRK; ESLICK, 2015). Assim, acredita-se que um indivíduo possa adquirir a DA devido ao contato prolongado com esses contaminantes ambientais, que se acumulam no organismo durante a vida ao mesmo tempo que desencadeiam a neuroinflamação e a neuropatologia (YEGAMBARAM *et al.*, 2015).

Nota-se que durante o período de meia-idade, alguns dos fatores relatados aumentam o risco de um indivíduo apresentar a demência, sendo essencial analisar a perspectiva do curso de vida e executar medidas preventivas contra DA (SINDI; MANGIALASCHE; KIVIPELTO, 2015). Nesse sentido, diversas pesquisas sugerem fatores de proteção contra a DA, que podem ser psicossociais, relacionados à dieta e ao estilo de vida (Quadro 2)(SOLOMON *et al.*, 2014).

Quadro 2: Fatores de proteção para a doença de Alzheimer.

Psicossociais	Dieta	Estilo de vida
Níveis altos de escolaridade	Dieta mediterrânea	Atividade física
Atividades ocupacionais	Vitaminas antioxidantes (A, C e E)	Consumo moderado de álcool
-	Vitamina D	-
-	Vitaminas B6, B12 e folato	-

Fonte: Adaptado de SOLOMON *et al.*, 2014.

Segundo HOLTHOFF *et al.* (2015), os fatores de proteção associados ao estilo de vida contribuem significativamente para o envelhecimento adequado de pessoas que não possuem a demência e a atividade física é considerada como um dos principais fatores contra o declínio cognitivo. Acredita-se que a realização de exercícios físicos pode preservar a função cognitiva cerebral e o volume do hipocampo. Os mecanismos que explicam esses efeitos neuroprotetores envolvem o aumento de fatores neurotróficos responsáveis pelo desenvolvimento e sobrevivência do sistema nervoso central e periférico, como o fator de crescimento neural (NGF - *Nerve Growth Factor*), o fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF - *Brain-Derived Neurotrophic Factor*) e o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF - *Vascular Endothelial Growth Factor*); além do aumento da enzima superóxido dismutase e consequente redução das espécies reativas de oxigênio no hipocampo (MENDIOLA-PRECOMA *et al.*, 2016; SAMPAIO *et al.*, 2017; SMITH *et al.*, 2014). A atividade física também promove maior

fluxo sanguíneo cerebral e periférico, que permite o transporte adequado de nutrientes aos neurônios e atenua a neurodegeneração (COBIANCHI *et al.*, 2017).

Relata-se que exercícios físicos, níveis maiores de escolaridade, atividades ocupacionais e de lazer fortalecem a reserva cognitiva (RC), que representa a capacidade do cérebro adulto de resistir os efeitos da lesão neuronal e de minimizar as manifestações clínicas que caracterizam a demência (SILVA, M. V. F. *et al.*, 2019; SOBRAL; PESTANA; PAÚL, 2015). Os mecanismos relacionados à RC não são completamente entendidos, mas estudos sugerem que essa reserva permite o recrutamento de áreas extras do cérebro e promove a utilização mais eficaz dos recursos cerebrais (HOENIG *et al.*, 2017). Embora apresentar maior RC pode não evitar que um indivíduo desenvolva a DA, observa-se que pacientes com maior RC possuem redes neuronais mais eficientes e lidam melhor com a patologia, dessa forma as medidas que estimulam a função cognitiva podem desempenhar papéis importantes no envelhecimento saudável (WEILER *et al.*, 2018).

Os fatores protetivos relacionados à dieta também são estratégias importantes frente a DA. Entre eles, existe a dieta mediterrânea, caracterizada pelo consumo elevado de vegetais, legumes, frutas, gorduras monoinsaturadas, nozes, grãos, bem como o consumo moderado de álcool e baixo consumo de gorduras saturadas, carne vermelha, laticínios e grãos refinados (GARDENER; CAUNCA, 2018). Estudos têm demonstrado que a maior aderência à essa dieta está relacionada com menor risco de desenvolver a DA (BHUSHAN *et al.*, 2018; MOSCONI *et al.*, 2014; PELLETIER *et al.*, 2015). Acredita-se que a dieta mediterrânea pode apresentar efeitos benéficos na patologia através da diminuição dos riscos de comorbidades cardiovasculares (hipertensão, obesidade, entre outras) e de sua influência em mecanismos de oxidação e inflamação no organismo humano (OTAEGUI-ARRAZOLA *et al.*, 2014).

De acordo com KRYSCIO *et al.* (2017), tanto a dieta quanto o consumo de suplementos antioxidantes podem interferir no estresse oxidativo associado com o início ou progressão da DA. É sugerido que a suplementação da vitamina E oferece benefícios contra a doença por proteger lipídeos do processo de peroxidação e por exercer atividades anti-inflamatórias, neuroprotetivas e hipocolesterolêmicas (GRIMM; METT; HARTMANN, 2016). A vitamina A e seus derivados também apresentam potencial neuroprotetivo na DA por reduzir a produção e agregação de A β , prevenir o dano oxidativo e a disfunção mitocondrial, além de reduzir citocinas pro-inflamatórias (SODHI; SINGH, 2014). Outra vitamina antioxidante cujos efeitos são investigados na patogênese da DA é a vitamina C, que apresenta diversas funções: captura

de radicais livres, supressão de genes pro-inflamatórios e da fibrologênese de A β e quelação de metais que aumentam a citotoxicidade de A β , como cobre e ferro (MONACELLI *et al.*, 2017).

A vitamina D é um fator nutricional importante para a conservação de uma vida saudável devido às funções que desempenha no organismo, incluindo na DA, como: a modulação da homeostase do cálcio e da síntese de fatores neurotróficos; indução da fagocitose realizada por macrófagos e consequente depuração das placas amilóides; diminuição da citotoxicidade de A β ; e redução da resposta inflamatória e da apoptose em neurônios (BANERJEE, A. *et al.*, 2015; CHENG, J. *et al.*, 2016). Logo, evidências indicam que a vitamina D é um hormônio neuroesteróide cuja deficiência é prejudicial ao cérebro, sendo sugerido que a sua suplementação pode ser essencial para o envelhecimento saudável do órgão (KEENEY; BUTTERFIELD, 2015).

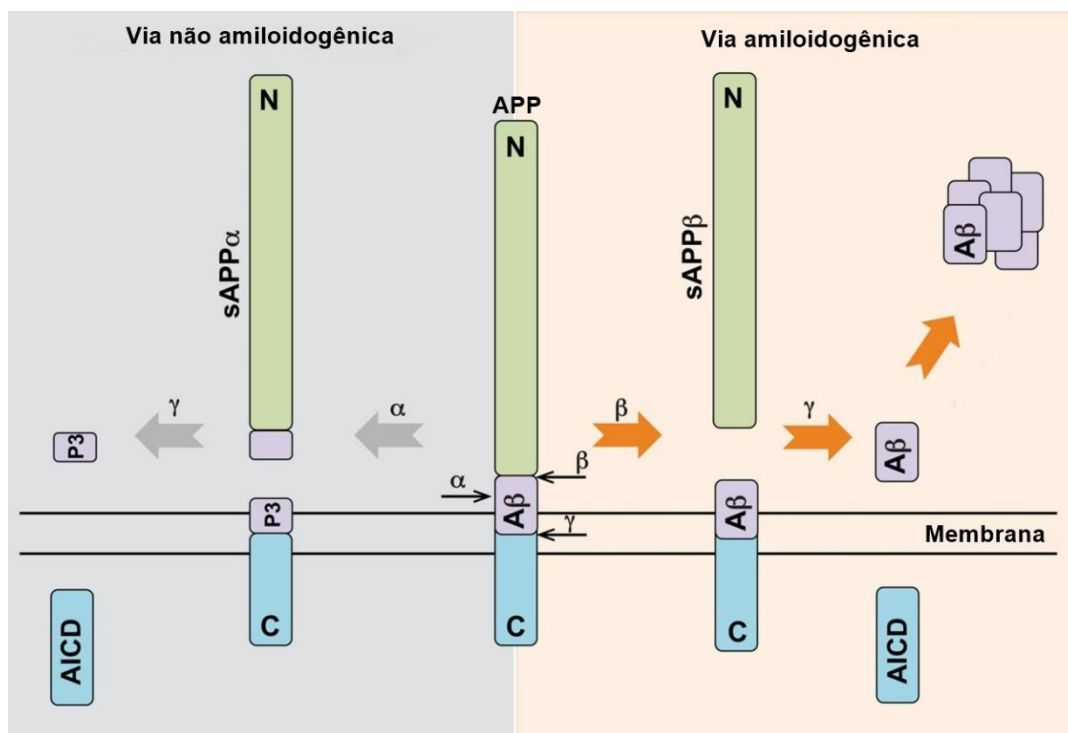
As vitaminas B6, B12 e folato são fatores nutricionais essenciais no metabolismo de um carbono, um processo metabólico que sintetiza componentes de células e que preserva a homeostase do organismo através de reações biológicas como a síntese de nucleotídeos e das reações de metilação (SUH; CHOI; FRISO, 2016; VAN WIJK *et al.*, 2014). Pesquisas têm demonstrado que as concentrações dessas vitaminas do complexo B encontram-se diminuídas em pacientes com a DA em comparação com indivíduos saudáveis (HOFFMANN *et al.*, 2021; RIJPMAN *et al.*, 2015). No estudo prospectivo realizado por AN *et al.* (2019), a ingestão adequada das vitaminas B6, B12 e folato foi significativamente associada a uma melhor RC, enquanto que a deficiência de vitamina B12 relacionou-se com o declínio cognitivo acelerado. Acredita-se que a deficiência das vitaminas do complexo B pode ocasionar a diminuição da atividade de enzimas envolvidas na via metabólica da homocisteína, aumentando as concentrações sanguíneas deste aminoácido (BONETTI *et al.*, 2015). Consequentemente, níveis altos de homocisteína contribuem para a formação de EROs e causam dano oxidativo, além de promoverem a apoptose neuronal através do dano ao DNA e indução da proteína supressora de tumor p53 (HOU *et al.*, 2010). Logo, nota-se a importância da ingestão adequada das vitaminas do complexo B durante a vida, que pode evitar a diminuição da atividade enzimática de processos metabólicos fundamentais e prevenir o declínio cognitivo observado na DA (TROESCH; WEBER; MOHAJERI, 2016).

2.1.3 Peptídeos, proteínas e processos relacionados com a patogênese

2.1.3.1 Peptídeo β -amilóide (A β) e β -secretase

Uma importante característica histopatológica da DA é a formação de placas senis constituídas de peptídeos A β , e estes são produzidos através da clivagem da proteína precursora amilóide (APP - *Amyloid Precursor Protein*). A APP é uma glicoproteína transmembrana do tipo I que pode sofrer processamento proteolítico pela via amiloidogênica ou pela via não amiloidogênica (Figura 2), dependendo das secretases envolvidas no processo: α -, β - e γ -secretases (GERAKIS; HETZ, 2018; NICOLAS; HASSAN, 2014). Na via não amiloidogênica, α -secretase cliva a APP no sítio α , liberando o fragmento solúvel sAPP α no espaço extracelular e originando o fragmento do terminal C com 83 aminoácidos (C-83). Em seguida, C-83 é degradado pela γ -secretase, resultando nos fragmentos do domínio intracelular de APP (AICD - *APP Intracellular Domain*) e p3, que são liberados no citosol e no espaço extracelular, respectivamente. Na via amiloidogênica, a β -secretase também conhecida como enzima 1 de clivagem de APP no sítio β (BACE1 - *β -site APP-Cleaving Enzyme 1*) cliva a APP levando à formação do fragmento solúvel sAPP β e do fragmento do terminal C com 99 resíduos de aminoácidos (C-99). Posteriormente, C-99 sofre clivagem pela γ -secretase dentro da bicamada lipídica, gerando AICD e o peptídeo A β com comprimento variando de 39-43 resíduos de aminoácidos (AGOSTINHO *et al.*, 2015; SEZGIN; DINCER, 2014; WILKINS; SWERDLOW, 2017).

Figura 2: Vias de clivagem de APP.



Fonte: Adaptada de NICOLAS; HASSAN, 2014.

Durante condições fisiológicas normais, A β 40 é o peptídeo mais produzido na via amiloidogênica, com A β 42 consistindo cerca de 10% do total de A β . Enquanto que A β 40 é considerado um peptídeo relativamente benigno, A β 42 possui a tendência de se agregar em culturas neuronais e modelos animais para formar oligômeros e fibrilas responsáveis pelos efeitos neurotóxicos observados na DA (CHEN, W. *et al.*, 2014; TCW; GOATE, 2017).

Os peptídeos A β são rapidamente degradados em indivíduos normais, mas em indivíduos idosos ou com patologias esses peptídeos podem se acumular mais facilmente por esses grupos apresentarem menor capacidade metabólica de degradar A β (KAMETANI; HASEGAWA, 2018). Assim, uma vez acumulados, os monômeros de A β se oligomerizam, formando oligômeros solúveis organizados em diferentes estruturas, como dímeros, trímeros, tetrameros, pentâmeros, entre outros (SENGUPTA; NILSON; KAYED, 2016; TAMAGNO *et al.*, 2018). Os oligômeros são comumente conhecidos como as formas de A β de baixo peso molecular que podem originar agregados maiores constituídos de várias centenas de polipeptídeos, as protofibrilas. Estas últimas se alongam e amadurecem em fibrilas insolúveis, que podem formar placas amilóides (BONITO-OLIVA *et al.*, 2017; MITTAG *et al.*, 2014). Embora o desenvolvimento dessas placas e o aumento da quantidade de monômeros de A β são consideradas como as características da DA, existem indícios que a severidade da doença em humanos está fortemente relacionada à presença de oligômeros no cérebro (BRODY; STRITTMATTER, 2018).

Os oligômeros são as espécies mais citotóxicas de A β e exibem vários mecanismos prejudiciais à célula: eles permeiam as membranas celulares aumentando a concentração de íons de cálcio no citosol devido à liberação desses íons do retículo endoplasmático, levando à apoptose; também se ligam à membrana, afinando-a e rompendo-a, e dessa forma provocam o vazamento de íons da célula (OW; DUNSTAN, 2014). Logo, estudos têm demonstrado que os oligômeros são os componentes patogênicos primários que causam alterações sinápticas na DA, diferentemente dos monômeros de A β , que em baixas concentrações são neuroprotetores. Dessa forma, é relatado que uma abordagem terapêutica capaz de bloquear a etapa inicial da agregação de A β é fundamental contra a doença (DUTTA; MATTAPARTHI, 2017; NHAN; CHIANG; KOO, 2015). Existem duas regiões do peptídeo que contribuem com sua agregação e que têm sido usadas como pontos de partida para o desenvolvimento de inibidores: a região do núcleo hidrofóbico central (CHC - *Central Hydrophobic Core*) e a região do terminal C (DOIG; DERREUMAUX, 2015; NEDDENRIEP *et al.*, 2011). Desse modo, diversas moléculas têm

sido testadas *in silico* e *in vitro* contra a agregação de A β , exibindo resultados promissores (HERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ *et al.*, 2014; PASIEKA *et al.*, 2021).

A enzima responsável pela produção de A β , BACE1, também tem se tornado um alvo importante na pesquisa de compostos contra a DA. Essa enzima é uma proteína transmembrana do tipo I amplamente encontrada no cérebro, principalmente nos neurônios, astrócitos e oligodendrócitos. Como a atividade e as concentrações de BACE1 encontram-se anormalmente elevadas nos cérebros de indivíduos com DA, acredita-se que essa proteína desempenha um papel significativo para o desenvolvimento da doença. Assim, diversos inibidores de BACE1 foram desenvolvidos e atingiram os ensaios clínicos, no entanto, foram descontinuados por diversos motivos, incluindo toxicidade e ausência de eficácia. Apesar disso, essa enzima ainda é um alvo consolidado no estudo de compostos para o tratamento da DA (HAMPEL *et al.*, 2020; ROMBOOTS *et al.*, 2021; YOUN *et al.*, 2020)

2.1.3.2 Glicogênio sintase quinase-3 β (GSK-3 β) e tau

A exposição do neurônio aos oligômeros de A β 42 permite a ativação da glicogênio sintase quinase-3 (GSK-3), uma serina/treonina quinase que existe em duas isoformas: GSK-3 α e GSK-3 β (KIROUAC *et al.*, 2017; MANCINELLI *et al.*, 2017). GSK-3 β é a isoforma que tem sido relacionada à fisiopatologia da DA, pois sua ativação desencadeia a hiperfosforilação da proteína tau (MARTIN *et al.*, 2018). Após a hiperfosforilação anormal, tau é agregada em filamentos helicoidais emparelhados ou filamentos retos, formando emaranhados neurofibrilares nos cérebros de pacientes com a DA (JIN, N. *et al.*, 2015). Normalmente, tau é uma proteína de ligação a microtúbulos presente nos axônios de neurônios maduros e que apresenta 6 isoformas diferentes, variando de 352 a 441 aminoácidos (COURADE *et al.*, 2018; SOTIROPOULOS *et al.*, 2017). A sua principal função biológica é estimular a montagem de microtúbulos e estabilizar a rede de microtúbulos, com essa função sendo regulada pela fosforilação. Dessa forma, além da hiperfosforilação promover o processo de agregação de tau, ela causa a perda de atividade desta proteína e aumenta sua citotoxicidade (WANG, Y. *et al.*, 2015).

GSK-3 β é a principal proteína de fosforilação de tau e estudos *in vitro* e *in vivo* comprovaram a contribuição desta enzima para o desenvolvimento da DA, que provoca a formação de fibras compostas de tau, a desestabilização do citoesqueleto e a neurodegeneração (XIE, C. L. *et al.*, 2016). Por conseguinte, variadas moléculas foram testadas com a finalidade

de desenvolver inibidores de GSK-3 que agem no sítio de ligação do trifosfato de adenosina (ATP) ou na cavidade alostérica da proteína, mas a maioria delas falhou por apresentar problemas na farmacocinética ou na toxicidade (LLORACH-PARES *et al.*, 2020). Portanto, há uma necessidade de identificar moléculas com potencial contra a enzima e que sejam seguras e eficazes para o tratamento da DA (ELANGO VAN *et al.*, 2020).

2.1.3.3 *Colinesterases*

Além da formação de placas de A β e emaranhados neurofibrilares, a disfunção colinérgica é outra característica importante da DA. A hipótese colinérgica desenvolvida há mais de 35 anos foi a primeira teoria baseada em evidências que tentou explicar a etiologia da desordem, ao sugerir que a depleção de acetilcolina (ACh) cerebral era a principal causa do declínio cognitivo em indivíduos com a DA e de idade avançada (DOUCHAMPS; MATHIS, 2017; JU; CHAKRAVARTY; TAM, 2020). Essa hipótese foi formulada conforme as descobertas de pesquisadores, que demonstraram que a maioria dos cérebros de pacientes com a DA exibiam uma redução de neurônios colinérgicos e que existia uma correlação positiva entre a severidade da doença e a deficiência de ACh (JOHANNSSON *et al.*, 2015).

A ACh é um neurotransmissor que desempenha diversas funções essenciais no organismo humano como a contração muscular e regulação da memória, da aprendizagem e da atenção (KANT; GUPTA, 2018). A ação da ACh é interrompida quando esta é degradada em acetato e colina através das colinesterases (ChEs) conhecidas como acetilcolinesterase (AChE) e butirilcolinesterase (BuChE) (JABIR; KHAN; TABREZ, 2018). Enquanto que a AChE é encontrada no sistema nervoso central e periférico, BuChE localiza-se nos tecidos cerebrais periféricos e no soro humano (REIS *et al.*, 2018).

Nas ChEs existem dois sítios de ligação ao substrato: o sítio aniônico catalítico (CAS - *Catalytic Anionic Site*) localizado no fundo de um desfiladeiro estreito de 20 Å e o sítio aniônico periférico (PAS - *Peripheral Anionic Site*) próximo à entrada deste desfiladeiro. É relatado que a ACh liga-se ao PAS da AChE por atração eletrostática e em seguida é direcionada para o centro catalítico do CAS. Assim, acredita-se que o PAS proporciona uma maior eficiência catalítica da enzima frente ACh. Além da hidrólise de ACh, a AChE exibe outra função: ela pode provocar o processo de agregação de A β por meio da interação formada entre o seu PAS e o peptídeo. Com relação à BuChE, nota-se que é uma colinesterase não específica

capaz de hidrolisar diversos ésteres de colina (CHEN, Yao *et al.*, 2018; PANG *et al.*, 2017; WONG, 2016; XIE, S. S. *et al.*, 2015).

Em indivíduos saudáveis, observa-se que a AChE é a principal enzima que regula os níveis de ACh e que BuChE exerce apenas um papel secundário. No entanto, em indivíduos que a DA está progredindo, a atividade da AChE diminui progressivamente enquanto que a atividade da BuChE permanece a mesma ou aumenta em até 165% em comparação com os níveis normais. Dessa forma, estudos propõem que uma estratégia de inibição dupla dessas enzimas é uma opção para aumentar a eficácia do tratamento. Logo, inibidores desenvolvidos contra as ChEs poderiam inibi-las através de um mecanismo competitivo (por interação com CAS), um mecanismo não-competitivo (por interação com PAS) ou um mecanismo misto (por interação dupla)(KUMAR, Suresh, 2015; SANG *et al.*, 2017; YERDELEN; TOSUN, 2015).

2.1.3.4 Estresse oxidativo

Vários estudos têm mostrado que a patogênese da DA também está associada ao estresse oxidativo, que representa um desequilíbrio entre as EROs e o sistema de defesa antioxidante (BUTTERFIELD; HALLIWELL, 2019). EROs (ânion superóxido, peróxido de hidrogênio, radical hidroxila, entre outros) são subprodutos naturais da via metabólica de fosforilação oxidativa durante a respiração celular (CLARK, T. A. *et al.*, 2010). No entanto, a produção excessiva de EROs e a falha do sistema de defesa antioxidante ao lidar com essas espécies ocasiona o dano oxidativo em lipídeos, proteínas e no material genético (SWOMLEY *et al.*, 2014).

O cérebro é o órgão do organismo humano mais vulnerável ao dano gerado pelos radicais livres devido a diversos fatores: ele possui conteúdo elevado de ácidos graxos que podem sofrer peroxidação; tem escassez de enzimas antioxidantes em comparação aos outros órgãos; apresenta alta taxa de consumo de oxigênio e estima-se que a quantidade de EROs produzida em um neurônio seja de 10^{11} EROs/célula/dia (BONDA *et al.*, 2010; NUNOMURA *et al.*, 2006). Portanto, o estresse oxidativo pode danificar seriamente o cérebro através de diversos mecanismos de interação, incluindo a liberação de aminoácidos excitatórios, o aumento da concentração de Ca^{2+} intracelular e a neurotoxicidade (HUANG, W. J.; ZHANG; CHEN, 2016).

A literatura relata que o estresse oxidativo está relacionado a vários processos patológicos observados na DA, como a neurotoxicidade induzida por A β , a patologia da

proteína tau, a acumulação de metais de transição e a disfunção da mitocôndria (ZHAO, Y.; ZHAO, 2013). EROs podem ativar as enzimas BACE1 e γ -secretase e assim aumentar a produção de A β , além disso, também podem ativar quinases provocando a fosforilação de tau na DA (CHAUHAN; CHAUHAN, 2006). Acredita-se que a deposição de metais como cobre, alumínio, zinco e ferro nas placas amilóides pode causar uma produção excessiva de EROs, e consequentemente, o estresse oxidativo (POHANKA, 2018). Ainda, a produção de radicais livres durante o desenvolvimento da DA também pode estar associada à disfunção mitocondrial, situação em que os elétrons escapam da cadeia de transporte de elétrons mitocondrial causando a geração do ânion superóxido (CHEIGNON *et al.*, 2018; TRAMUTOLA *et al.*, 2017). Em vista disso, evidências estão indicando que as EROs estão provavelmente envolvidas com a neurodegeneração na DA e que a defesa contra o estresse oxidativo que ocorre no cérebro é essencial para controlar a doença (ROJAS-GUTIERREZ *et al.*, 2017).

2.1.4 Estágios da doença e manifestações clínicas

A DA progride através de três estágios: pré-clínico, comprometimento cognitivo leve (CCL) e demência. No estágio pré-clínico, biomarcadores da doença estão presentes, mas os sintomas ainda não apareceram. Exemplos de biomarcadores incluem os níveis de A β e de tau fosforilada medidos na análise do líquido cefalorraquidiano (HALL; ROBERSON, 2012; SOLDAN *et al.*, 2013). O estágio do CCL é considerado como o período anterior à demência e representa o declínio parcial das funções cognitivas do indivíduo que não interfere na capacidade de realizar atividades diárias. Nesse estágio, as pessoas afetadas apresentam declínio cognitivo maior do que o esperado para a sua idade e demonstram mudanças nas habilidades de pensamento que são perceptíveis aos familiares e amigos (ASSOCIATION, 2019; BATUM *et al.*, 2015).

A demência é definida como o comprometimento de múltiplos domínios cognitivos de forma severa, prejudicando habilidades funcionais da vida cotidiana (sociais, ocupacionais, entre outras) (ARVANITAKIS; SHAH; BENNETT, 2019; BIESSELS; DESPA, 2018). Logo, diversas manifestações clínicas têm sido associadas à demência: perda de memória, problemas de aprendizado e linguagem, distúrbios de equilíbrio e do sono, irritabilidade, agitação, depressão, ansiedade e alucinações (PARK, J. *et al.*, 2019; TIBLE *et al.*, 2017). Na DA, a demência pode ser classificada em leve, moderada e grave. No estágio leve, a maioria dos indivíduos é capaz de exercer atividades de forma independente em muitas áreas (por exemplo,

ainda podem dirigir ou trabalhar), no entanto, eventualmente precisam de ajuda com algumas atividades. No estágio moderado, as pessoas afetadas começam a ficar confusas sobre onde estão e apresentam dificuldade de realizar tarefas diárias. Com relação ao estágio severo da demência, os indivíduos perdem a capacidade de falar e se mover e dependem de seus cuidadores para realizar tarefas simples. À medida que os sintomas da demência avançam, o cuidado torna-se extremamente difícil e complicações como desidratação, desnutrição e infecção podem ocasionar o óbito do indivíduo (ASSOCIATION, 2018; HAQUE; LEVEY, 2019).

2.1.5 Diagnóstico e tratamento farmacológico

O diagnóstico precoce da DA é fundamental para a realização do tratamento na fase inicial da doença, evitando sua progressão para estágios avançados com sintomas mais graves. Não existe um teste específico para diagnosticar a desordem, dessa forma médicos utilizam diversas abordagens para descobrir se um indivíduo apresenta a DA, como: testes mentais e comportamentais, ensaios laboratoriais e técnicas de neuroimagem (NAJEEB ULLAH, 2015). De acordo com ALZHEIMER'S ASSOCIATION (2021), as seguintes ferramentas e abordagens são empregadas no diagnóstico:

- Testes de memória e de resolução de problemas;
- Exames físicos e neurológicos;
- Histórico médico e familiar do indivíduo;
- Exames sanguíneos e técnicas de neuroimagem para descartar deficiências nutricionais e tumores cerebrais que podem ser a causa dos sintomas;
- Punção lombar para determinar os níveis de A β e de tau no líquido cefalorraquidiano;
- Tomografia por emissão de pósitrons para gerar imagens do cérebro e assim identificar se o paciente tem níveis altos de A β .

Os biomarcadores da DA previamente relatados estão sendo usados com frequência para restringir o diagnóstico diferencial e elaborar o tratamento de pacientes sintomáticos na prática clínica (KOENIG *et al.*, 2020). Atualmente, os medicamentos disponíveis para o tratamento da doença são os inibidores de ChEs donepezila, galantamina e rivastigmina e o antagonista do receptor N-metil-D-aspartato (NMDA) memantina. Donepezila e galantamina inibem a AChE, enquanto que rivastigmina inibe ambas as enzimas AChE e BuChE (KANDIAH *et al.*, 2017). Esses fármacos limitam a degradação de ACh, aumentando os níveis

desse neurotransmissor no cérebro e melhorando a memória (NOUFI *et al.*, 2019). Os inibidores de ChEs foram aprovados para o uso na DA leve ou moderada, possuem eficácia semelhante e diferem na farmacocinética (donepezila tem meia-vida mais longa que os outros e é administrada uma vez ao dia) e na formulação (rivastigmina está disponível como um adesivo transdérmico)(LONG; HOLTZMAN, 2019).

Memantina bloqueia o receptor NMDA e impede a ação do neurotransmissor excitatório glutamato, protegendo os neurônios dos efeitos tóxicos do glutamato e restaurando a homeostase do sistema glutamatérgico (STAZI; WIRTHS, 2021). Esse fármaco foi aprovado para o uso na demência moderada ou grave devido à DA, no entanto, memantina e os inibidores de ChEs têm sido frequentemente prescritos no início do curso da doença (KENNEDY *et al.*, 2018). Nota-se que memantina tem sido associada a diversos efeitos colaterais, como cefaléia, tonturas, agitação, constipação, sonolência e hipertensão (BLANCO-SILVENTE *et al.*, 2018). Os inibidores de ChEs também podem provocar efeitos adversos como náusea, vômitos, diarreia, bradicardia e aumentar o risco de síncope, sendo contraindicados em condições que incluem arritmias cardíacas graves e úlcera péptica ativa (YIANNOPOULOU; PAPAGEORGIOU, 2020).

Observa-se que os medicamentos usados na terapia da DA apresentam variados efeitos colaterais que surgem principalmente em altas doses e que eles apenas reduzem os sintomas da doença, não sendo capazes de interromper o processo de neurodegeneração, consequentemente, não impedem a progressão da desordem (LESZEK *et al.*, 2017; SHARMA, 2019). Logo, existe uma necessidade urgente de identificar novas alternativas terapêuticas que retardem o desenvolvimento da DA e que considerem os vários mecanismos patogênicos (BRANCA *et al.*, 2017; WANG, J. *et al.*, 2017). Uma estratégia considerada adequada para doenças complexas com múltiplos fatores patogênicos é o planejamento de ligantes multialvo, que busca obter uma única molécula capaz de agir seletivamente em diversos alvos importantes (BAJDA *et al.*, 2011). Dessa forma, como a fisiopatologia da DA envolve muitos alvos, a pesquisa de compostos multialvo é essencial para alcançar uma terapia mais potente (ZHANG, P. *et al.*, 2019). Nesse sentido, métodos *in silico* têm sido empregados com sucesso por pesquisadores para selecionar e projetar inibidores com potencial contra os diversos alvos da doença (KUMAR, Akhil; TIWARI; SHARMA, 2018).

2.2 Planejamento de fármacos auxiliado por computador

O planejamento de fármacos auxiliado por computador (CADD, *Computer-Aided Drug Design*) utiliza técnicas computacionais para a descoberta de novos agentes terapêuticos de forma mais rápida e econômica (GORE; DESAI, 2014). Relata-se que com o uso do CADD, o custo de desenvolvimento de medicamentos pode ser reduzido em até 50% (XIANG *et al.*, 2012). Além disso, as técnicas *in silico* demonstram diversas vantagens na pesquisa de fármacos: elas permitem a análise de estruturas químicas, a predição das propriedades físico-químicas e das atividades biológicas de compostos, a otimização do perfil farmacocinético ou farmacodinâmico de moléculas promissoras, a predição da absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade, a investigação da afinidade de ligação de um composto no sítio ativo de um alvo, entre outras (AL QARAGHULI; KUBIAK-OSSOWSKA; MULHERAN, 2018; DAR *et al.*, 2019). Até o momento, o uso de CADD no processo de desenvolvimento de drogas resultou em mais de 70 fármacos comercializados, inclusive captopril, norfloxacin, losartana potássica e ritonavir (SABE *et al.*, 2021).

Uma das técnicas mais utilizadas de CADD é a triagem virtual (VS - *virtual screening*), uma ferramenta que permite a seleção de moléculas com propriedades desejadas a partir da triagem de bibliotecas virtuais de compostos. A VS não substitui testes *in vitro* ou *in vivo*, ela é usada para identificar as moléculas mais promissoras e assim reduzir o número de candidatos a serem testados experimentalmente, além de acelerar o processo de descoberta (NEVES *et al.*, 2018; SCIOR *et al.*, 2012). Existem duas categorias de VS: triagem virtual baseada no ligante (LBVS - *Ligand-Based Virtual Screening*) e triagem virtual baseada na estrutura do alvo biológico (SBVS - *Structure-Based Virtual Screening*). A abordagem da LBVS é baseada no princípio de similaridade, no qual moléculas com estruturas químicas semelhantes apresentam atividades biológicas semelhantes, portanto, pode-se prever a atividade das moléculas em estudo a partir de ligantes com estruturas químicas similares e com propriedades biológicas conhecidas (LUO; WANG; TROPSHA, 2016; SHIN *et al.*, 2016). Exemplos da LBVS são os métodos baseados em farmacóforo e a relação quantitativa entre a estrutura e a atividade (QSAR - *Quantitative Structure-Activity Relationship*)(WU *et al.*, 2019).

A análise de QSAR estabelece uma relação matemática entre as características físico-químicas calculadas ou experimentais e a atividade biológica. No desenvolvimento de um modelo de QSAR, a primeira etapa consiste na coleta e tratamento dos dados, seguida pela etapa dos cálculos de descritores moleculares. Depois disso, são utilizados algoritmos de aprendizado de máquina para correlacionar os descritores moleculares com a atividade biológica (NEVES *et al.*, 2018; PANTALEAO *et al.*, 2017). Logo, o estudo de QSAR tem

como objetivo aumentar a probabilidade de encontrar compostos ativos de um conjunto de dados, sendo uma estratégia importante para a descoberta de drogas por reduzir significativamente o custo financeiro da abordagem tradicional que envolve a síntese e teste de inúmeros compostos (EBHOHIMEN *et al.*, 2019).

Com relação à abordagem SBVS, ela usa o conhecimento da estrutura tridimensional (3D) do alvo biológico e seu local de ligação para identificar as interações entre o ligante e o alvo e determinar a energia de ligação, envolvendo técnicas como *docking* molecular e dinâmica molecular (DM)(AMBURE *et al.*, 2019). O *docking* molecular é uma ferramenta que identifica a orientação preferida de um ligante no sítio ativo de um alvo e prevê a afinidade de ligação do complexo molecular, sendo fundamental para a compreensão das interações formadas pelos compostos (ABDOLMALEKI; GHASEMI; GHASEMI, 2017; LI; FU; ZHANG, 2019; LIU, Z. *et al.*, 2018). Assim, é possível prever o mecanismo de ação de compostos de interesse através dessa técnica (PHATAK *et al.*, 2019). O processo de ancoragem das moléculas pode ser realizado de três formas: *docking* rígido, no qual o ligante e o alvo são tratados como rígidos; acoplamento de ligante flexível, no qual apenas o alvo permanece rígido; ou *docking* flexível, no qual o ligante e o alvo estão flexíveis no sistema. É relatado que o procedimento de encaixe molecular menos complexo é o *docking* rígido, seguido por aquele que usa o ligante flexível (HASSAN BAIG *et al.*, 2016; MOHAN *et al.*, 2005).

A técnica de DM faz simulações do movimento dos átomos em um complexo formado pelo ligante e pelo alvo considerando fatores como solvente, íons, pressão e temperatura (OLGÇAÇ *et al.*, 2019). Durante as simulações, um campo de força é usado para estimar as forças entre os átomos em interação e calcular a energia geral do sistema. Posteriormente, são geradas configurações sucessivas do sistema em evolução, fornecendo trajetórias que especificam as posições e as velocidades das partículas ao longo do tempo (DE VIVO *et al.*, 2016). Logo, simulações de DM têm sido úteis para entender a estrutura e o comportamento de enzimas, além da estabilidade de complexos ligante-alvo (PARK, H. J. *et al.*, 2014; RAMPOGU *et al.*, 2018; ZHOU *et al.*, 2018). Dessa forma, é cada vez mais frequente o uso da DM em combinação com o *docking* molecular para obter informações sobre a estabilidade de complexos, modos de ligação e interações intermoleculares (NAQVI *et al.*, 2019).

Relata-se que diversos fatores têm contribuído para a utilização e o sucesso dos métodos da VS no processo de descoberta de drogas, incluindo: o surgimento de novas técnicas *in silico*, os avanços no poder de processamento de computadores, o aperfeiçoamento de programas computacionais e a identificação de moléculas ativas através da VS por vários estudos

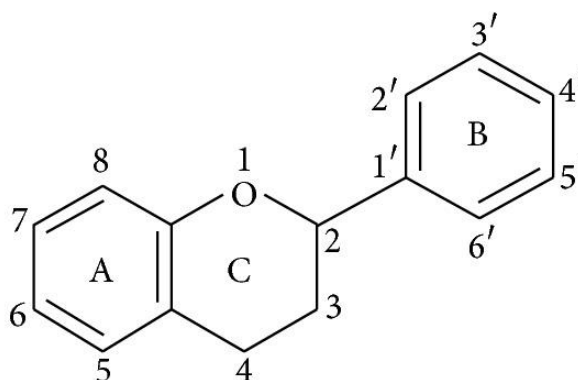
(KUMAR, Ashutosh; ZHANG, 2015; LOPEZ-VALLEJO *et al.*, 2011). Assim, métodos computacionais também têm sido empregados na pesquisa inicial de produtos naturais, facilitando o estudo das atividades farmacológicas dessas moléculas (LAURO *et al.*, 2011).

2.3 O potencial terapêutico de flavonoides

Produtos naturais (PNs) são moléculas provenientes de plantas, fungos, bactérias e outros organismos com estruturas químicas diversificadas, constituindo uma fonte essencial para a descoberta de novos fármacos. Atualmente, muitos medicamentos usados para tratar doenças são PNs ou derivados de PNs, incluindo penicilinas e macrolídeos, que são importantes classes de antibióticos baseados em PNs isolados de microrganismos (CHEN, Ya; DE BRUYN KOPS; KIRCHMAIR, 2017; NTIE-KANG *et al.*, 2017).

Flavonoides são polifenóis naturais encontrados em vegetais, frutas, sementes, nozes, especiarias, caules e flores, bem como no chá e no vinho tinto (ROMANO *et al.*, 2013). Esses metabólitos secundários desempenham diversas funções no reino das plantas, como: fornecer coloração de flores para atrair polinizadores, modular os níveis de EROs, absorver a luz ultravioleta e assim proteger as plantas contra a radiação, entre outras (BUER; IMIN; DJORDJEVIC, 2010). De acordo com dados da literatura, mais de 9000 flavonoides têm sido identificados em plantas (ABDEL-LATEIF; BOGUSZ; HOCHER, 2012). Estruturalmente, eles são caracterizados por um esqueleto de 15 átomos de carbono que consiste em dois anéis benzênicos (A e B) ligados por um anel de pirano heterocíclico (C) como demonstrado na Figura 3 (KUMAR, Shashank; PANDEY, 2013).

Figura 3: Estrutura básica dos flavonoides.



Fonte: KUMAR, Shashank; PANDEY, 2013.

Os flavonoides são classificados em 6 principais subclasses de acordo com a estrutura do anel C e a posição do anel B: flavonas, isoflavonas, flavonóis, flavanonas, flavanóis e antocianidinas. Também existem outras subclasses que representam os componentes minoritários da dieta, como chalconas, dihidrochalconas, dihidroflavonóis, auronas e flavan-3,4-diols (CHEN, Zhongjian *et al.*, 2014; FANTINI *et al.*, 2015). As principais formas desses PNs encontradas nas plantas são os glicosídeos de flavonoides, que apresentam mais comumente os monossacarídeos glicose e ramnose (YANG, B. *et al.*, 2018).

Relata-se que os flavonoides possuem propriedades anti-inflamatórias, antitumorais, antivirais, antibacterianas, antifúngicas e antioxidantes (JALILI-BALEH *et al.*, 2018; LANI *et al.*, 2016). Dessa forma, sugere-se que essas moléculas apresentam efeitos benéficos na prevenção de diversas doenças, incluindo câncer, doenças cardiovasculares e neurodegenerativas (PEREZ-VIZCAINO; DUARTE; SANTOS-BUELGA, 2012).

O flavonoide naringutina tem demonstrado efeitos *in vitro* contra os alvos da DA, exibindo capacidade de inibir a agregação do peptídeo A β e a atividade de BACE1, além de ser capaz de eliminar radicais livres (CHAKRABORTY; BASU, 2017). Outro flavonoide promissor frente a DA é a quercetina, que mostrou bons resultados em diversos estudos: reduziu o estresse oxidativo causado por 6-hidroxidopamina nos neurônios de ratos, diminuiu os níveis de A β 40 e A β 42 *in vivo* e melhorou o comprometimento cognitivo em camundongos (HALEAGRAHARA; SIEW; PONNUSAMY, 2013; SABOGAL-GUÁQUETA *et al.*, 2015)

Nota-se que flavonoides da família Asteraceae têm apresentado atividade farmacológica em diversas pesquisas (ADEBAYO *et al.*, 2010; OMOKHUA-UYI *et al.*, 2020). Asteraceae é a maior família de plantas com flores, compreendendo cerca de 1100 gêneros e mais de 20.000 espécies, sendo que algumas dessas espécies, como a camomila (*Matricaria recutita* L.), foram relatadas anteriormente como tendo aplicações medicinais (BESSADA; BARREIRA; OLIVEIRA, 2015; KOC *et al.*, 2015).

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Desenvolver análises *in silico* e realizar a triagem virtual de flavonoides e análogos encontrados em plantas da família Asteraceae contra alvos da doença de Alzheimer.

3.2 Objetivos específicos

- Obter os flavonoides e seus análogos através do banco de dados SistematiX;
- Construir modelos de QSAR utilizando o programa estatístico KNIME;
- Determinar os riscos de citotoxicidade da série em estudo e seus possíveis metabólitos pelo programa OSIRIS DataWarrior;
- Computar propriedades importantes das moléculas estudadas no OSIRIS DataWarrior para observar as violações à regra dos cinco de Lipinski;
- Calcular parâmetros físico-químicos relacionados à atividade antioxidante com o programa HyperChem;
- Desenvolver modelos da Análise do Componente Principal por Consenso (CPCA) e da Análise do Componente Principal (PCA), além de verificar os campos de interação molecular gerados pelo GRID usando o programa Volsurf+;
- Performar a ancoragem molecular dos flavonoides mais promissores com os alvos da doença de Alzheimer através do programa Molegro Virtual Docker;
- Realizar simulações de dinâmica molecular dos flavonoides multialvo usando o programa GROMACS.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Coleta de dados

Nesta pesquisa, foram selecionados 886 flavonoides e análogos do Sistemax (<http://sistemax.ufpb.br>), *website* que permite a pesquisa de metabólitos secundários de plantas através de códigos SMILES (*Simplified Molecular-Input Line-Entry System*), nome dos compostos, espécies ou estruturas químicas (SCOTTI, M. T. *et al.*, 2018). Códigos SMILES são representações de estruturas moleculares no formato linear amplamente utilizados para armazenar moléculas em bancos de dados químicos (CHUANG; GUNSALUS; KEISER, 2020; KLAIB *et al.*, 2007). Assim, obteve-se uma planilha contendo os SMILES dos flavonoides para iniciar as análises *in silico*.

As moléculas com atividade conhecida contra alvos da doença de Alzheimer foram pesquisadas no ChEMBL (<https://www.ebi.ac.uk/chembl>), um banco de dados de bioatividade que apresenta mais de 1,6 milhões de estruturas químicas diferentes e 14 milhões de valores de atividade (GAULTON *et al.*, 2017). Logo, foi possível obter cinco planilhas com informações de atividade para AChE, BuChE, BACE1, A β e GSK-3 β provenientes do organismo humano (Quadro 3). Com relação aos dados das moléculas que atravessam a BHE, eles foram obtidos através do servidor admetSAR (CHENG, F. *et al.*, 2012).

Quadro 3: Dados de alvos da doença de Alzheimer encontrados no ChEMBL.

Nome	ChEMBL ID	Tipo	Organismo
AChE	CHEMBL220	<i>Single protein</i>	<i>Homo sapiens</i>
BuChE	CHEMBL1914	<i>Single protein</i>	<i>Homo sapiens</i>
BACE1	CHEMBL4822	<i>Single protein</i>	<i>Homo sapiens</i>
A β	CHEMBL2487	<i>Single protein</i>	<i>Homo sapiens</i>
GSK-3 β	CHEMBL262	<i>Single protein</i>	<i>Homo sapiens</i>

Fonte: Elaborado pela autora.

Nas planilhas das moléculas bioativas, foram consideradas as moléculas com dados de atividade representados pela concentração inibitória média (CI₅₀) (SOUZA *et al.*, 2019). Após a obtenção da planilha com os flavonoides e análogos e das planilhas contendo os bioativos, realizou-se o tratamento dos dados.

4.2 Tratamento dos conjuntos de dados

Relata-se que dados extraídos de coleções virtuais ou da literatura podem apresentar qualidade inferior, principalmente nos casos em que a quantidade de dados obtida é elevada, sendo essencial sua acurácia para o sucesso de um estudo *in silico* (AMBURE *et al.*, 2019). Dessa forma, foram excluídas das planilhas moléculas duplicadas ou sem valores de atividade, garantindo que cada composto fosse estruturalmente diferente dos outros e que todos os dados importantes para as análises posteriores estivessem nas planilhas. Outro procedimento importante para o tratamento dos dados é a remoção de *outliers*, que são moléculas substancialmente diferentes daquelas do conjunto de dados e que podem afetar negativamente os resultados de modelos de QSAR (NGUYEN *et al.*, 2021; TA *et al.*, 2021). Deste modo, foram construídos gráficos que permitiram a visualização de *outliers* (representados como pontos distantes das demais moléculas) e em seguida estes foram removidos das planilhas.

Os valores de CI_{50} foram convertidos de nanomolar (nM) para molar (M) e posteriormente transformados em pCI_{50} ($-\log(CI_{50})$). A partir disso, cada planilha das moléculas bioativas foi dividida com base no seguinte critério: o conjunto das moléculas foi dividido ao meio, no qual aquelas que possuíram valores de pCI_{50} mais altos receberam a classificação “A” (indicando que são ativas) e as demais receberam “I” (inativas). Considerou-se aproximadamente um valor de pCI_{50} de 0,03 para separar as ativas das inativas. Todas essas ações com a finalidade de tratar os dados foram realizadas utilizando o programa *Microsoft Office Excel* (PINGPING; DANHAO; KONGLEI, 2020).

Na quimioinformática, também recomenda-se a padronização das estruturas químicas dos compostos, um procedimento que envolve a transformação dessas estruturas em representações customizadas e canônicas, evitando que um mesmo grupo funcional esteja representado de maneiras diferentes nas moléculas (AMBURE; DIAS SOEIRO CORDEIRO, 2020). Portanto, a série em estudo foi padronizada utilizando o programa Standardizer 20.19.0 da ChemAxon (TINKOV *et al.*, 2020). Os dados de entrada selecionados foram os SMILES e algumas ações foram escolhidas para a padronização das moléculas: adição de hidrogênios explícitos, *clean 3D*, aromatização e remoção de sais.

4.3 Cálculos dos descritores moleculares

Após a padronização dos flavonoides e análogos e das moléculas bioativas, foram calculados os descritores moleculares dessas moléculas. Os descritores moleculares são números que representam as características de uma molécula e podem ser classificados de acordo com vários critérios: são divididos em unidimensional (1D), bidimensional (2D) ou 3D quando se baseiam na estrutura geométrica do composto; e também podem ser definidos como constitucionais, topológicos, geométricos, eletrônicos, entre outros, de acordo com a natureza das características representadas (BANEGAS-LUNA; CERÓN-CARRASCO; PÉREZ-SÁNCHEZ, 2018). Os descritores podem ser calculados através de vários programas, como Dragon, CDK, VolSurf+, DryLab, Epiweb, PaDel (AMOS *et al.*, 2018; SETIAWAN; MUDASIR; WIJAYA, 2020). Neste trabalho, os descritores foram calculados através do programa Dragon 5.4, no qual foram importados os arquivos do tipo SDF gerados pelo Standardizer 20.19.0. Em seguida, os dados do Dragon 5.4 foram utilizados para o desenvolvimento de modelos de QSAR.

4.4 Construção de modelos de relação quantitativa entre a estrutura e a atividade (QSAR)

Desenvolveu-se modelos de QSAR no programa KNIME para prever a atividade biológica dos flavonoides. Também foi realizada a predição da permeabilidade dos flavonoides na BHE, pois os candidatos ao tratamento da DA necessitam atravessar a BHE para atingir os alvos no sistema nervoso central (BANKS, 2012). O KNIME é uma plataforma amplamente utilizada em pesquisas de quimioinformática que processa, analisa e explora dados (DIETZ *et al.*, 2020; ROUGHLEY, 2018). Ele permite a criação de fluxos de trabalho que possuem pequenas unidades de código (nós) com funções estabelecidas, testadas e padronizadas, podendo ser configuradas (SYDOW *et al.*, 2019). Dessa forma, os nós do KNIME executam diversas tarefas, como: leitura e escrita de dados, estudos estatísticos, visualização gráfica, aprendizado de máquina, entre outras (MAZANETZ; GOODE; CHUDYK, 2019). O fluxo de trabalho utilizado neste estudo com todos os nós necessários para a realização das predições foi atenciosamente fornecido por MONTEIRO, Alex France Messias; SCOTTI; SCOTTI (2020).

Os fluxos de trabalho desenvolvidos no KNIME possibilitam que modelos de aprendizado de máquina sejam criados, editados, treinados e testados (FALCÓN-CANO; CABRERA-PÉREZ; MOLINA, 2020). Modelos de aprendizado de máquina usam algoritmos que promovem equações matemáticas para analisar um conjunto de dados e prever valores a partir dele (ABUALKIBASH, 2019). Diversos algoritmos têm sido utilizados por

pesquisadores na construção de modelos, como Floresta Aleatória (FA), *Support Vector Machine*, WEKA, entre outros (V. RAMALINGAM; DANDAPATH; KARTHIK RAJA, 2018; YANG, H. *et al.*, 2018). Nesta pesquisa, o algoritmo FA foi utilizado para a classificação de compostos.

FA é um classificador de conjunto que elabora diversas árvores de decisão através da seleção aleatória de recursos (KUO *et al.*, 2018). Neste classificador, uma parte dos dados do treino é escolhida aleatoriamente para criar uma árvore de decisão, enquanto que a outra parte restante é utilizada na técnica *out-of-bag* (GHOSH; BEHERA, 2018). Nessa técnica, um terço dos dados é usado como um conjunto de validação que permite analisar a acurácia da classificação realizada (TELUGUNTLA *et al.*, 2018). O algoritmo FA é mais robusto e preciso que outros classificadores individuais, fornecendo várias vantagens: classificação de um banco de dados grande; o algoritmo determina a importância de cada variável para a classificação; e milhares de variáveis de entrada podem ser utilizadas sem que estas sejam excluídas (DOU *et al.*, 2019).

Desse modo, as planilhas das moléculas ativas e dos flavonoides foram importadas no KNIME para realizar a classificação dos compostos através da FA. Em seguida, os bioativos foram particionados em um conjunto de treino (80%) e um conjunto de teste (20%). Assim, o algoritmo do modelo iniciou a classificação dos compostos de atividade desconhecida baseando-se na similaridade com os compostos ativos, que foi avaliada através dos descritores moleculares. Logo, as moléculas com valores de descritores semelhantes provavelmente apresentam atividades similares (GRISONI; CONSONNI; TODESCHINI, 2018).

As predições da atividade biológica ou da permeabilidade na BHE dos modelos foram consideradas confiáveis quando as moléculas testadas estavam inseridas dentro do espaço químico definido pelo conjunto de dados do treino, o domínio de aplicabilidade (EGIEYEH *et al.*, 2018). Isso ocorreu com as moléculas que apresentaram semelhanças com os compostos do conjunto de treino no que diz respeito ao espaço de características estruturais e/ou propriedades físico-químicas (ROY; AMBURE; AHER, 2017).

Neste trabalho, também foram observados parâmetros estatísticos gerados por cada modelo para avaliar sua confiabilidade: sensibilidade, especificidade, precisão e acurácia (FALCÓN-CANO; MOLINA; CABRERA-PÉREZ, 2020). Conforme WANG *et al.* (2020) a sensibilidade (SE) mede a proporção de verdadeiros positivos identificados corretamente, a especificidade (SP) mede a proporção de verdadeiros negativos identificados corretamente, a acurácia (AC) indica o quão próximo uma medição se aproxima da verdade e a precisão (PR)

representa o quão perto uma medição está de outra. Esses parâmetros foram calculados nos modelos através das seguintes expressões matemáticas:

$$SE = \frac{VP}{(VP + FN)}$$

$$SP = \frac{VN}{(VN + FP)}$$

$$AC = \frac{(VP + VN)}{(VP + VN + FP + FN)}$$

$$PR = \frac{VP}{(VP + FP)}$$

nas quais, VP significa verdadeiro positivo, VN significa verdadeiro negativo, FP significa falso positivo e FN significa falso negativo (SATAPATHY; RAJINIKANTH, 2018). Após a obtenção dos resultados desses quatro parâmetros para cada modelo, foram considerados valores $\geq 0,7$ como indicativos da qualidade da predição realizada. Além desses parâmetros, outros foram observados para avaliar os modelos desenvolvidos: o coeficiente de correlação de Matthews (MCC - *Matthews Correlation Coefficient*) e a curva ROC (*Receiver Operating Characteristic*)(SACHS, 2017).

O MCC é uma medida estatística confiável que fornece um valor alto apenas se a predição do modelo apresentar bons resultados nas quatro categorias da matriz de confusão: VP, VN, FP e FN (CHICCO; JURMAN, 2020). De acordo com SANTOS *et al.* (2019) esse parâmetro é calculado através da seguinte fórmula:

$$MCC = \frac{(VP \times VN) - (FP \times FN)}{\sqrt{(VP + FP) \times (VP + FN) \times (VN + FP) \times (VN + FN)}}$$

Com relação à curva ROC, ela representa a taxa de verdadeiros positivos *versus* a taxa de falsos positivos (JAHANGIRI; JAHANGIRI; NAJAFGHOLIPOUR, 2020). Neste estudo, um determinado modelo foi considerado adequado quando o MCC exibiu um valor $\geq 0,5$ e quando os valores das curvas ROC do conjunto de dados do teste e da validação cruzada resultaram na faixa entre 0,7 e 1. Em seguida, os compostos que apresentaram bons resultados nos modelos foram avaliados quanto ao risco de citotoxicidade.

4.5 Análise dos riscos de citotoxicidade e das violações à regra dos cinco de Lipinski

A determinação da toxicidade de moléculas químicas é uma das principais etapas do processo de desenvolvimento de drogas, sendo fundamental para verificar seus efeitos adversos ou indesejáveis no organismo humano (RAIES; BAJIC, 2016). Assim, o programa gratuito OSIRIS DataWarrior 5.2.1 (<http://www.openmolecules.org/datawarrior>) foi utilizado neste trabalho para analisar os riscos de citotoxicidade dos flavonoides e análogos considerando aspectos de carcinogenicidade, mutagenicidade, irritabilidade para a pele e efeito tóxico no sistema reprodutor (MONTEIRO, Alex France M. *et al.*, 2018; ROMERO; MARCONDES; ROMERO, 2020). Esta análise teve como objetivo a seleção de moléculas que não exibem riscos à saúde humana nos parâmetros mencionados.

Em seguida, utilizou-se o programa MetaSite 6.0.1 da empresa Molecular Discovery Ltd. para prever os metabólitos dos flavonoides e dos fármacos da DA provenientes do metabolismo de fase 1 do citocromo P450 (T'JOLLYN *et al.*, 2011). Este programa é capaz de atribuir os sítios da estrutura molecular mais prováveis de ocorrer o metabolismo, realizando a predição de metabólitos originados em diversos tecidos humanos como fígado, pele, pulmões e cérebro (POTEÇA; ŻELASZCZYK; MAZERSKA, 2019). Dessa forma, a enzima do fígado escolhida no programa para estimar os metabólitos foi a CYP2D6, que é um importante membro da família de enzimas do citocromo P450 por estar envolvida no metabolismo de diversas drogas comerciais (EKINS; BERBAUM; HARRISON, 2003; LU *et al.*, 2020). O programa gerou variados metabólitos para os flavonoides e os controles, no entanto, somente os metabólitos mais abundantes, com probabilidades > 50% e massa molecular > 100 g/mol foram selecionados para a análise de citotoxicidade no OSIRIS DataWarrior 5.2.1.

A literatura relata que um dos maiores motivos para uma droga falhar durante o processo de pesquisa é a ausência de propriedades farmacocinéticas adequadas. Dessa forma, Lipinski desenvolveu uma regra conhecida como a regra dos cinco de Lipinski para auxiliar os pesquisadores nas decisões que envolvem modificações estruturais e para diminuir o número de moléculas com propriedades físico-químicas indesejadas (ASOKKUMAR *et al.*, 2012; SANTOS, V.; GONSALVES; ARAÚJO, 2017). Essa regra propõe que os compostos apresentam maiores chances de serem biodisponíveis por via oral quando cumprem alguns requisitos: peso molecular ≤ 500 daltons, coeficiente de partição octanol/água calculado ($\log P$) ≤ 5 , número de doadores de ligação de hidrogênio (soma de grupos OH e NH) ≤ 5 e número de aceptores de ligação de hidrogênio (soma de átomos de O e N) ≤ 10 (BRITO, 2011;

WALTERS, 2012). Assim, esses parâmetros foram calculados para as moléculas deste estudo através do programa OSIRIS DataWarrior 5.2.1, com o objetivo de verificar se elas possuem um perfil favorável para a absorção oral. Depois das análises de citotoxicidade e das violações à regra dos cinco de Lipinski, os flavonoides promissores foram submetidos aos cálculos de outros parâmetros para predizer sua atividade antioxidante.

4.6 Cálculos dos parâmetros físico-químicos quânticos relacionados à atividade antioxidante

Segundo SCOTTI, L. (2006) as propriedades físico-químicas das substâncias influenciam diretamente na sua atividade antioxidante, podendo ser determinadas em pesquisas de modelagem molecular através de cálculos de parâmetros, definidos a seguir:

- E_{HOMO} : Energia do orbital molecular ocupado de maior energia (HOMO - *Highest Occupied Molecular Orbital*), representando a capacidade que a molécula possui de doar elétrons;
- E_{LUMO} : Energia do orbital molecular desocupado de menor energia (LUMO - *Lowest Unoccupied Molecular Orbital*), que significa a capacidade da molécula de receber elétrons;
- ΔH_f : Diferença entre as entalpias de formação da espécie radicalar (Hr) e da espécie neutra (Hn). A espécie radicalar é gerada através da retirada de um hidrogênio da espécie neutra;
- ΔH_{OX} : Diferença entre as entalpias de formação da espécie catiônica (Hc) e da espécie neutra. A espécie catiônica é gerada pela transferência de um único elétron da espécie neutra;
- $(H-L)_{\text{GAP}}$: Diferença entre as energias dos orbitais HOMO e LUMO, representando a reatividade da molécula. Quanto menor o intervalo (GAP), mais reativa é a substância química.

Dessa forma, os parâmetros descritos acima foram calculados para os compostos em estudo utilizando o programa HyperChem 8.0.6. Para comprovar a influência desses parâmetros na atividade antioxidante, eles também foram calculados para compostos antioxidantes conhecidos: ácido ascórbico, ácido gálico, α -tocoferol, γ -tocoferol e 4-nerolidilcatecol (AYDEMIR *et al.*, 2004; BADHANI; SHARMA; KAKKAR, 2015; MENDANHA DA CUNHA *et al.*, 2013; NJUS *et al.*, 2020). Inicialmente, as moléculas foram otimizadas no HyperChem 8.0.6 com o uso do campo de força da mecânica molecular MM+ e em seguida uma segunda otimização foi feita através do método semi-empírico AM1 (*Austin Model 1*) (MOKHNACHE; MADOU; CHAREF, 2019). Esse método semi-empírico foi utilizado

devido aos relatos da literatura indicando que ele permite resultados excelentes na modelagem molecular de substâncias antioxidantes (SCOTTI, L. *et al.*, 2009).

No procedimento de otimização da geometria molecular pelo método AM1, foram selecionadas opções específicas para a carga, a multiplicidade e o nível do método de acordo com o tipo de espécie (REZAEI-SADABADY *et al.*, 2013). RIDDER *et al.* (1999) relatam que a multiplicidade do sistema representa o número de elétrons desemparelhados + 1 e determina o nível empregado no programa: para a multiplicidade 1 sugere-se o nível RHF (*Restricted Hartree-Fock*) e para a multiplicidade ≥ 2 recomenda-se o nível UHF (*Unrestricted Hartree-Fock*). Assim, as seguintes configurações foram escolhidas para cada espécie:

- Espécie neutra: carga 0, multiplicidade 1 e nível RHF;
- Espécie radicalar: carga 0, multiplicidade 2 e nível UHF;
- Espécie catiônica: carga 1, multiplicidade 2 e nível UHF.

Após a otimização da espécie neutra, foram registrados os valores das energias de HOMO e LUMO, o intervalo entre essas energias ($H-L_{GAP}$) e a entalpia de formação. Em seguida, o hidrogênio mais reativo da molécula foi retirado, dando origem à espécie radicalar. Esta espécie foi otimizada pelo método AM1 e sua entalpia de formação foi verificada. Com relação à espécie catiônica, ela foi formada a partir da espécie neutra ao empregar as configurações específicas para ela através do método AM1, e também foi registrada sua entalpia de formação. Finalmente, os dados obtidos foram utilizados para calcular ΔH_f e ΔH_{ox} . Todo esse procedimento foi feito para os flavonoides e os controles antioxidantes. Depois de gerar os resultados dos cálculos dos parâmetros físico-químicos, os flavonoides foram analisados por técnicas do programa Volsurf+.

4.7 Análise dos Componentes Principais por Consenso (CPCA) e Análise dos Componentes Principais (PCA)

A Análise dos Componentes Principais por Consenso (CPCA, *Consensus Principal Component Analysis*) e a Análise dos Componentes Principais (PCA, *Principal Component Analysis*) foram realizadas através do programa Volsurf+ (SILVA, V. B. *et al.*, 2017). CPCA e PCA são técnicas quimiométricas que organizam informações a partir da caracterização multivariada de um sistema biológico, indicando as principais variáveis dos modelos desenvolvidos (SCOTTI, L. *et al.*, 2014). Portanto, a análise de CPCA foi utilizada neste trabalho para verificar a importância dos blocos de descritores construídos no programa,

incluindo os blocos de descritores hidrofílicos, hidrofóbicos, de tamanho e forma, entre outros (FERNANDES, 2012).

Inicialmente, foi importado para o Volsurf+ o arquivo SDF contendo os flavonoides multialvo padronizados, sendo gerados os descritores moleculares dessas moléculas. Depois disso, criou-se o modelo da CPCA, que distribuiu os 128 descritores em 13 blocos. Foram observados quais os blocos que mais contribuíram para o componente principal (PC)1 e PC2 dos gráficos, e consequentemente, explicaram melhor a variância do modelo (FÉLIX *et al.*, 2016). O modelo da CPCA foi aceito quando PC1 e PC2 explicaram a variância dos dados a partir de 60% (SCOTTI, L. *et al.*, 2012).

O modelo de PCA foi criado ao selecionar os blocos de descritores mais importantes na análise anterior, sendo útil para fornecer dados sobre a relação entre os flavonoides e entre os descritores do programa. Assim, foram obtidos dois gráficos: o gráfico das moléculas, que demonstra como elas estão distribuídas; e o gráfico dos descritores, que informa o padrão dos descritores moleculares (SCOTTI, L. *et al.*, 2011). As propriedades do modelo de PCA também foram verificadas e o modelo foi aceito quando PC1 e PC2 explicaram em conjunto a variância dos dados a partir de 60%.

No programa Volsurf+, existe um campo de força GRID que identifica sítios polares e hidrofóbicos nas moléculas através de quatro sondas: sonda de água (H₂O), hidrofóbica (DRY), sonda de oxigênio de carbonila (O) e de nitrogênio de amida (N1); assim, a consequente interação dessas sondas com as moléculas permite a formação de campos de interação moleculares (MIFs - *molecular interaction fields*) em 3D (PATERNÒ *et al.*, 2016). Logo, o Volsurf+ também foi utilizado para verificar os MIFs dos flavonoides multialvo. Após as análises, os flavonoides foram submetidos ao *docking* molecular.

4.8 Ancoragem ligante-alvo ou *docking* molecular

Os procedimentos de ancoragem dos flavonoides e dos controles com AChE, A β e GSK-3 β foram performados no Molegro Virtual Docker (MVD), um programa que executa operações de *docking* de forma rápida e flexível e que prediz o modo de ligação de um composto no sítio do alvo (YA'U IBRAHIM *et al.*, 2020). Inicialmente, o *site* Protein Data Bank (PDB, www.rcsb.org) foi utilizado para a obtenção das estruturas da AChE (PDB ID: 4M0E), do peptídeo A β (PDB ID: 1IYT) e de GSK-3 β (PDB ID: 1Q5K). As estruturas selecionadas de AChE e GSK-3 β foram provenientes da técnica de difração de raios X e exibiram valores de

resolução de 2 Å e 1,94 Å, respectivamente. AChE estava acoplada com o inibidor diidrotansinona I, enquanto que GSK-3β apresentou o inibidor TMU (*n*-(4-methoxybenzyl)-*n'*-(5-nitro-1,3-thiazol-2-yl)urea)(BHAT *et al.*, 2003; CHEUNG *et al.*, 2013). Esses inibidores foram utilizados para a delimitação do sítio ativo das proteínas, além de servirem como controles. A estrutura de Aβ utilizada neste estudo foi determinada por ressonância magnética nuclear e não apresentou inibidor, dessa forma o sítio do peptídeo foi delimitado através da busca da cavidade com os resíduos do CHC.

Dentre os fármacos utilizados para o tratamento da DA, selecionou-se os inibidores da AChE como controles. Os polifenóis curcumina, epigallocatequina-galato (EGCG) e resveratrol foram escolhidos como controles da análise de *docking* com Aβ, pois eles são capazes de diminuir a formação de placas amilóides *in vivo* (PHAN *et al.*, 2019). Todos esses controles foram obtidos através do banco de dados PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) em arquivos do tipo SDF contendo as estruturas em 3D. O programa Standardizer 20.19.0 foi utilizado para gerar os arquivos SDF contendo os controles e os flavonoides padronizados para cada análise de ancoramento molecular (SILVA CAVALCANTI *et al.*, 2019).

Após a obtenção das estruturas dos alvos e dos arquivos com os ligantes, os alvos foram importados para o MVD. Cada alvo foi preparado e as moléculas de água e cofatores foram removidos, logo, iniciou-se o acoplamento molecular. Ao verificar os valores de energia de ligação, os valores mais baixos foram considerados como os melhores, pois um complexo ligante-alvo com baixa energia de ligação possui alta estabilidade (GUPTA; SHARMA; KUMAR, 2018).

A ancoragem molecular foi validada com a realização do *redocking*, uma análise nas mesmas condições computacionais que o *docking* original que utiliza o ligante complexado no alvo para estimar o desvio quadrático médio (RMSD - *Root Mean Square Deviation*)(SCHNEIDER *et al.*, 2012). O RMSD é calculado entre a conformação do ligante co-cristalizado e a conformação desse ligante após o *docking* (KUMAR, R.; LÅNGSTRÖM; DARREH-SHORI, 2016). Logo, foram obtidos os valores de RMSD para as análises com AChE e GSK-3β. Como a estrutura cristalina de Aβ é desprovida de um ligante co-cristalizado, a avaliação do programa MVD como uma ferramenta adequada para o *docking* foi feita com base nos valores de RMSD para AChE e GSK-3β, utilizando a mesma estratégia do estudo de AZAM *et al.* (2018). Assim, as análises de acoplamento molecular foram tratadas como confiáveis ao exibir valores de RMSD < 2 Å, indicando que os padrões de ligação e os sítios ativos de encaixe do ligante foram precisos e aceitáveis (MO *et al.*, 2018)

As figuras das interações em 3D e em 2D dos ligantes com os resíduos de aminoácidos dos alvos foram geradas no programa Biovia Discovery Studio Visualizer 19.1.0.18287 (UTAMI *et al.*, 2020). Desse modo, foram observados os resíduos de aminoácidos em comum entre os flavonoides e os controles, como também as interações dos flavonoides com os resíduos dos sítios ativos. Em seguida, realizou-se simulações de dinâmica molecular dos flavonoides multialvo e alguns controles.

4.9 Simulações de dinâmica molecular

Simulações de DM de 10 ns foram realizadas para estimar a estabilidade dos complexos ligante-alvo usando o programa GROMACS 2021.2 (QUE *et al.*, 2021). Os arquivos PDB de AChE, A β e GSK-3 β foram tratados por meio da eliminação das moléculas de água, cofatores e inibidores para obter apenas as estruturas dos alvos. Usou-se o campo de força GROMOS96 43A1 para preparar a topologia dos alvos (MALDE *et al.*, 2011). A topologia dos ligantes e os parâmetros requeridos para as simulações foram gerados através do servidor PRODRG (<http://davapc1.bioch.dundee.ac.uk/cgi-bin/prodrg>).

Em seguida, definiu-se no GROMACS uma caixa cúbica para o sistema que foi preenchida com água utilizando o modelo de carga pontual simples (MARK; NILSSON, 2001). Íons de Cl⁻ ou de Na⁺ foram adicionados no sistema de acordo com a carga do alvo, neutralizando-o. A energia do sistema foi minimizada para assegurar que ele não tem geometria inadequada e efeitos estéricos antes de realizar a dinâmica, assim, a estrutura foi relaxada de tal forma que o movimento de todos os átomos permaneceu estável (VINCENT PEREZ *et al.*, 2014). Depois de aplicar a restrição ao ligante, o sistema foi equilibrado em duas fases. Na primeira fase, o equilíbrio NVT (número constante de partículas, volume e temperatura) foi realizado em uma temperatura de 300 K durante 100 ps usando o algoritmo V-Rescale (BUSSI; DONADIO; PARRINELLO, 2007; SCHMIDT; ULRICH, 2012). Na segunda fase, o equilíbrio NPT (número constante de partículas, pressão e temperatura) foi gerado em uma pressão de 1 bar durante 100 ps através do algoritmo Parrinello-Rahman (BHATTACHARJEE; DEVI; MISHRA, 2015; KLAUDA *et al.*, 2012).

Após as fases de equilíbrio, as simulações de DM foram realizadas e os valores do RMSD e da flutuação quadrática média (RMSF - *Root Mean Square Fluctuation*) foram calculados para analisar a estabilidade do complexo e para identificar os resíduos que contribuem para a mudança conformacional do alvo, respectivamente (DOS SANTOS MAIA

et al., 2020). Os gráficos do RMSD e da RMSF foram gerados no programa Grace (<http://plasma-gate.weizmann.ac.il/Grace/>).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Modelos de QSAR

A confiabilidade de todos os modelos desenvolvidos no KNIME foi avaliada através dos parâmetros estatísticos sensibilidade, especificidade, acurácia, precisão, MCC e da curva ROC. A Tabela 1 demonstra o desempenho de cada modelo por meio dos resultados dos parâmetros.

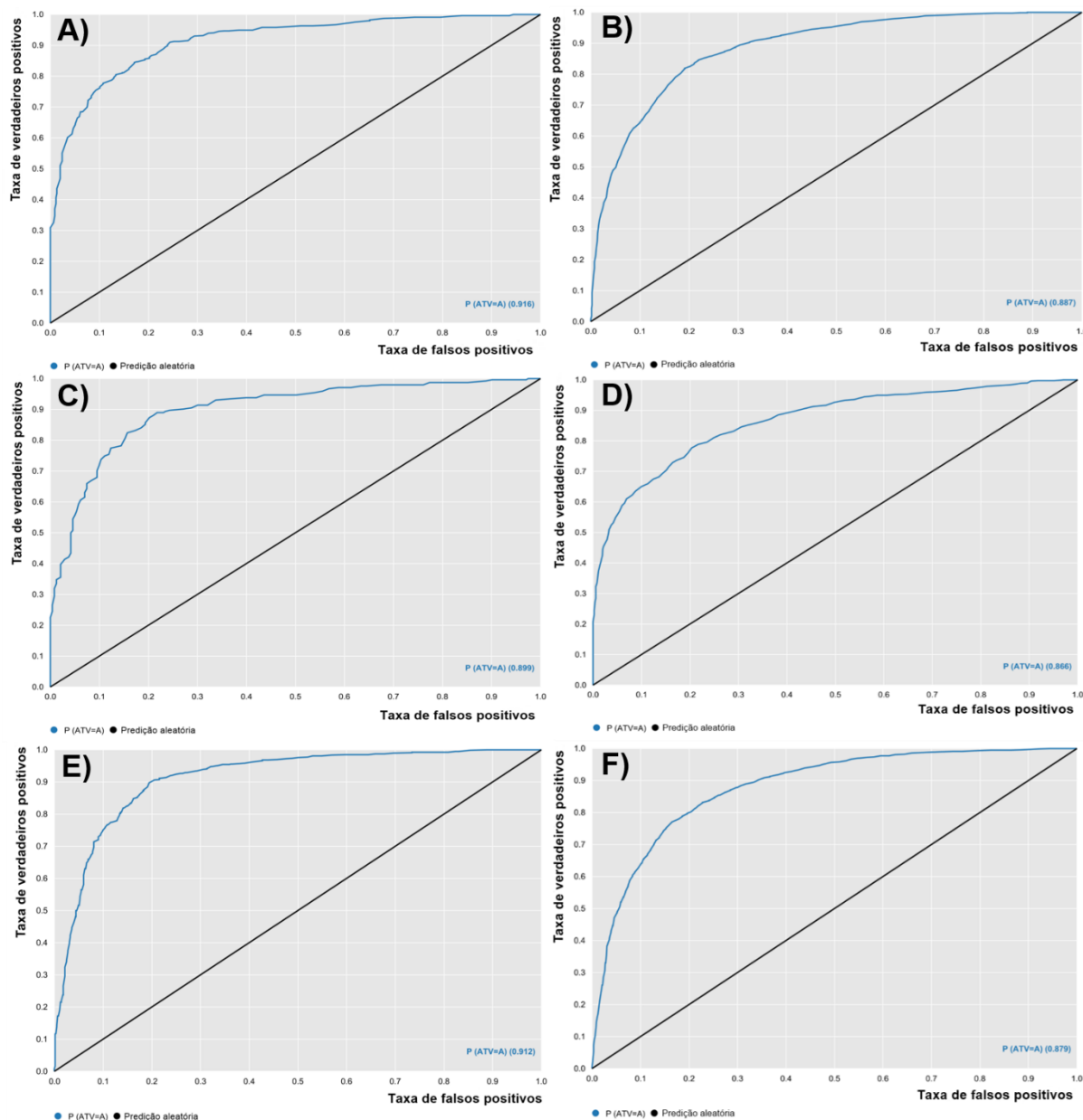
Tabela 1: Valores dos parâmetros estatísticos obtidos para todos os modelos.

Modelo	Validação	Sensibilidade	Especificidade	Acurácia	Precisão	MCC
AChE	Teste	0,84	0,82	0,83	0,82	0,67
	Cruzada	0,82	0,79	0,81	0,80	0,62
BuChE	Teste	0,83	0,82	0,82	0,82	0,65
	Cruzada	0,77	0,79	0,78	0,79	0,57
BACE1	Teste	0,84	0,83	0,84	0,83	0,68
	Cruzada	0,82	0,77	0,80	0,78	0,60
A β	Teste	0,88	0,92	0,90	0,92	0,81
	Cruzada	0,83	0,88	0,85	0,87	0,71
GSK-3 β	Teste	0,86	0,81	0,83	0,82	0,68
	Cruzada	0,83	0,72	0,77	0,75	0,56
BHE	Teste	1	0,75	0,94	0,93	0,83
	Cruzada	0,98	0,80	0,94	0,94	0,84

Fonte: Elaborada pela autora.

De acordo com a Tabela 1, os valores dos parâmetros variaram da seguinte forma: de 0,77 a 1 para sensibilidade, de 0,72 a 0,92 para especificidade, de 0,77 a 0,94 para acurácia, de 0,75 a 0,94 para precisão e de 0,56 a 0,84 para MCC. Observou-se que os quatro primeiros parâmetros apresentaram valores $> 0,7$ enquanto que o MCC exibiu valores $> 0,5$, consequentemente, pode-se dizer que todos os modelos gerados são robustos e tiveram desempenho excelente (RODRIGUES *et al.*, 2020). Os modelos também foram analisados através dos gráficos da curva ROC, que podem ser visualizados na Figura 4 e na Figura 5.

Figura 4: Curvas ROC dos modelos de AChE, BuChE e BACE1. A) Conjunto de teste de AChE; B) Validação cruzada de AChE; C) Conjunto de teste de BuChE; D) Validação cruzada de BuChE; E) Conjunto de teste de BACE1; F) Validação cruzada de BACE1.

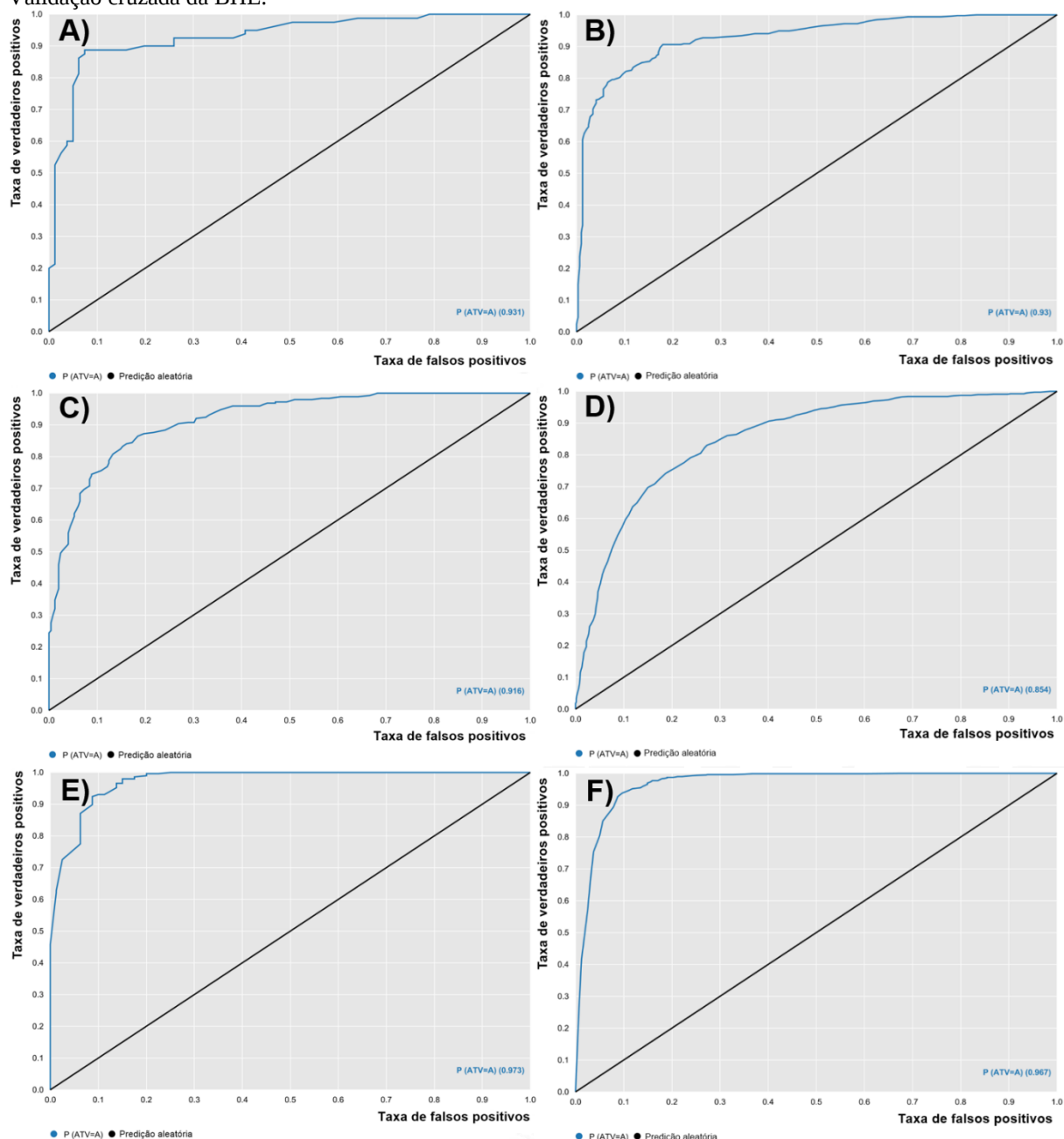


Fonte: Elaborada pela autora.

Conforme a Figura 4, os resultados das curvas ROC demonstraram valores $> 0,88$ para o modelo de AChE, valores $> 0,86$ para o modelo de BuChE e valores $> 0,87$ para o modelo de BACE1. Na Figura 5, os valores das curvas ROC foram $> 0,9$ para o modelo de $A\beta$, $> 0,85$ para o modelo de GSK-3 β e $> 0,96$ para o modelo da BHE. S. MAIA *et al.* (2020) relatam que um modelo é considerado como perfeito quando o valor da curva ROC é 1. Portanto, como todos os modelos desenvolvidos apresentaram valores superiores a 0,8, a probabilidade dos modelos classificarem corretamente as moléculas é alta. Assim, as moléculas preditas como ativas

através dos modelos possivelmente apresentam atividade contra os alvos da doença de Alzheimer.

Figura 5: Curvas ROC dos modelos de A β , GSK-3 β e BHE. A) Conjunto de teste de A β ; B) Validação cruzada de A β ; C) Conjunto de teste de GSK-3 β ; D) Validação cruzada de GSK-3 β ; E) Conjunto de teste da BHE; F) Validação cruzada da BHE.



Fonte: Elaborada pela autora.

Após observar que os modelos construídos têm performance adequada e são confiáveis, iniciou-se a triagem virtual a partir dos 886 flavonoides e análogos. Para isso, foram selecionadas as moléculas preditas como ativas e que estavam dentro do domínio de aplicabilidade, ou seja, aquelas que apresentavam semelhanças estruturais com os compostos

de referência, tornando a predição mais segura. Com base nisso, os resultados dos modelos de QSAR indicaram: 131 moléculas contra AChE, 1 contra BuChE, 6 contra BACE1, 285 contra a agregação de A β , 97 contra GSK-3 β e 504 moléculas que provavelmente atravessam a BHE (Tabela 2).

Tabela 2: Dados das moléculas possivelmente ativas que fazem parte do domínio de aplicabilidade dos modelos.

Modelo	Total	Domínio	Probabilidade de atividade
AChE	131	Confiável	50% a 70%
BuChE	1	Confiável	50%
BACE1	6	Confiável	50% a 60%
A β	285	Confiável	50% a 80%
GSK-3 β	97	Confiável	50% a 62%
BHE	504	Confiável	50% a 100%

Fonte: Elaborada pela autora.

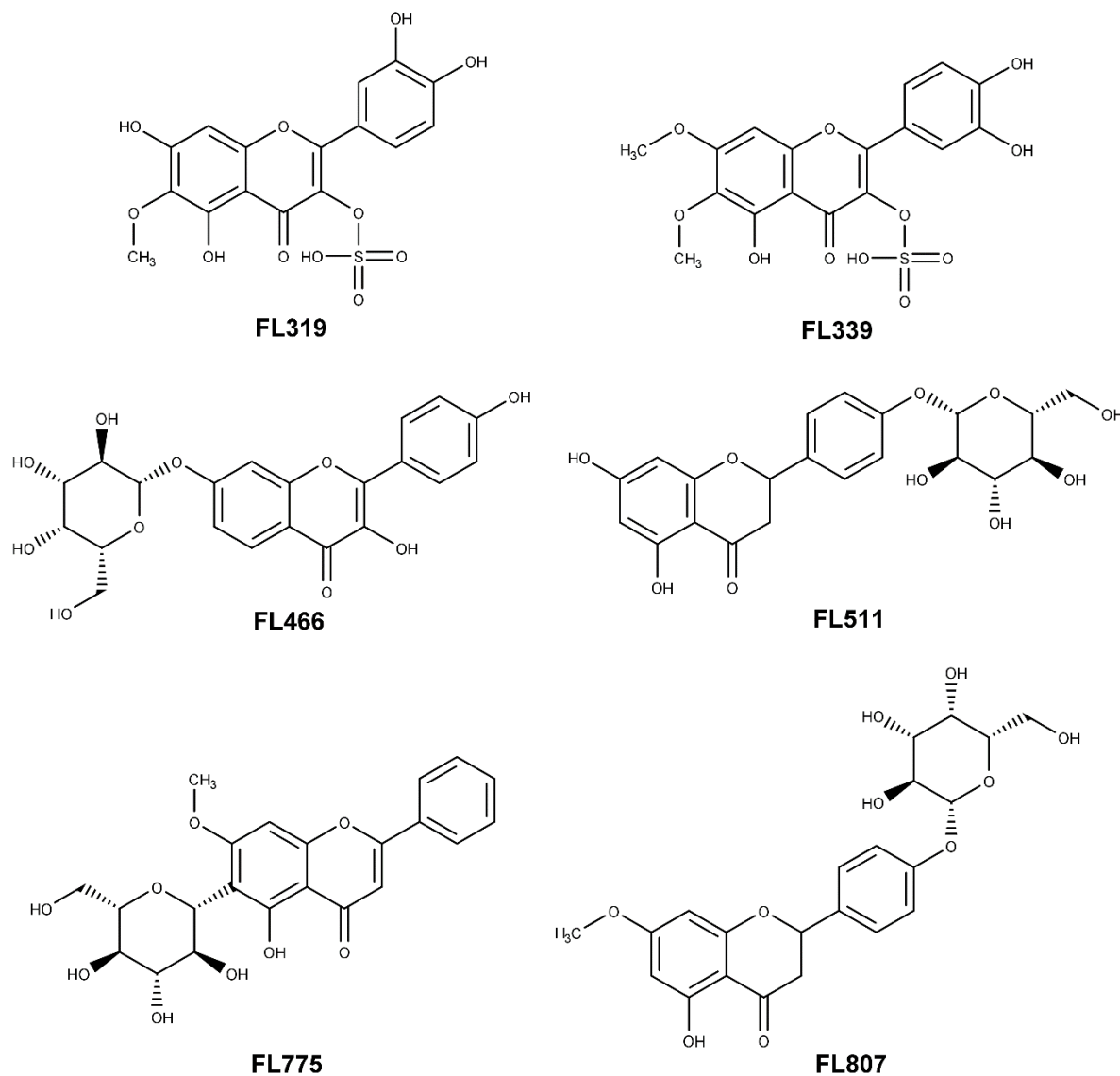
Depois de obter os resultados dos modelos, verificou-se quais foram as moléculas preditas como ativas contra os cinco alvos da doença que também passaram no modelo de permeabilidade na BHE. Das 131 moléculas ativas no modelo de AChE, somente 9 foram consideradas permeáveis na BHE. A molécula que foi ativa para o modelo de BuChE e as 6 ativas para BACE1 não apresentaram a permeabilidade esperada. Com relação as 285 moléculas ativas no modelo de A β , 39 delas apresentaram resultados positivos no modelo de permeabilidade. Finalmente, das 97 moléculas ativas no modelo de GSK-3 β , 92 foram preditas como ativas na BHE. Dessa forma, as moléculas ativas nos modelos de AChE, A β e GSK-3 β que provavelmente atravessam a BHE foram selecionadas para a próxima etapa da triagem virtual, a análise dos riscos de citotoxicidade.

5.2 Análise dos riscos de citotoxicidade e das violações à regra dos cinco de Lipinski

As moléculas previamente selecionadas foram submetidas à análise dos riscos de citotoxicidade no programa OSIRIS DataWarrior. Os resultados do programa demonstraram que 7 moléculas do modelo de AChE, 28 do modelo de A β e 83 do modelo de GSK-3 β não apresentaram riscos nos parâmetros analisados: carcinogenicidade, mutagenicidade, irritabilidade na pele e efeito tóxico no sistema reprodutor. Depois disso, foram investigadas as moléculas com atividade multialvo entre aquelas isentas de riscos, para reduzir o número de flavonoides nas análises e obter somente os mais promissores frente a doença. Assim, foram encontrados 6 flavonoides possivelmente ativos contra mais de um alvo da DA, provavelmente permeáveis na BHE e que não demonstraram riscos de citotoxicidade nas predições realizadas

(Figura 6). Os nomes e subclasses desses flavonoides estão representados no Quadro 4, no qual nota-se que alguns são análogos da patuletina, eupatolitina e naringenina. Na Tabela 3, pode-se observar que FL466, FL511 e FL807 apresentaram uma possível atividade contra dois alvos da DA: AChE e A β . Enquanto que FL319 e FL339 exibiram atividade *in silico* frente a A β e GSK-3 β . O FL775 teve melhores resultados nos modelos, pois estes indicaram que o flavonoide é provavelmente ativo contra os três alvos da DA, com probabilidades variando de 51 a 56%, sendo a molécula mais promissora neste trabalho.

Figura 6: Estruturas químicas dos flavonoides multialvo selecionados nas análises *in silico*.



Fonte: Elaborada pela autora.

Quadro 4: Nomes e subclasses dos flavonoides promissores neste estudo.

ID	Nome	Subclasse
FL319	Patuletina 3-O-sulfato	Flavonol
FL339	Eupatolitina 3-O-sulfato	Flavonol
FL466	3-hidroxi-2-(4-hidroxifenil)-7- {[(2S, 3R, 4S, 5R, 6R)-3,4,5- trihidroxi-6-(hidroximetil)oxan-2- il]oxi}-4H-cromen-4-ona	Flavonol
FL511	Naringenina 4'-O-glicosídeo	Flavanona
FL775	5-hidroxi-7-metoxi-2-fenil-6-[(2R, 3S, 4S, 5R, 6S)-3,4,5-trihidroxi-6- (hidroximetil)oxan-2-il]-4H- cromen-4-ona	Flavona
FL807	5-hidroxi-7-metoxi-2-(4- {[(2R, 3S, 4R, 5S, 6S)-3,4,5- trihidroxi-6-(hidroximetil)oxan-2- il]oxi}fenil)-3,4-dihidro-2H-1- benzopiran-4-ona	Flavanona

Fonte: Elaborada pela autora.

Tabela 3: Probabilidades de atividade (P_{ATV}) dos flavonoides multialvo para AChE, A β e GSK-3 β e riscos de citotoxicidade (carcinogenicidade, mutagenicidade, irritabilidade na pele e efeito tóxico no sistema reprodutor).

ID	P_{ATV} para AChE	P_{ATV} para A β	P_{ATV} para GSK-3 β	Riscos de citotoxicidade
FL319	-	63%	55%	Nenhum
FL339	-	62%	54%	Nenhum
FL466	54%	57%	-	Nenhum
FL511	59%	51%	-	Nenhum
FL775	51%	56%	56%	Nenhum
FL807	53%	56%	-	Nenhum

Fonte: Elaborada pela autora.

Os riscos de citotoxicidade também foram determinados para os metabólitos dos flavonoides e para os metabólitos dos controles obtidos no programa MetaSite. Na Tabela 4, verifica-se que os principais metabólitos gerados para os flavonoides, com probabilidades de 100%, não apresentaram riscos de citotoxicidade, com exceção do metabólito M4 proveniente da interação do FL511 com a enzima CYP2D6. Este metabólito demonstrou alto risco de exibir efeitos tóxicos no sistema reprodutor, entretanto, ele apresentou um melhor resultado que o metabólito M10 da rivastigmina. O metabólito M10 tem alta chance de ser carcinogênico, irritante para a pele e provocar efeitos no sistema reprodutor. Dessa forma, considerou-se que

os resultados dos riscos de citotoxicidade para os flavonoides como também para seus metabólitos foram satisfatórios.

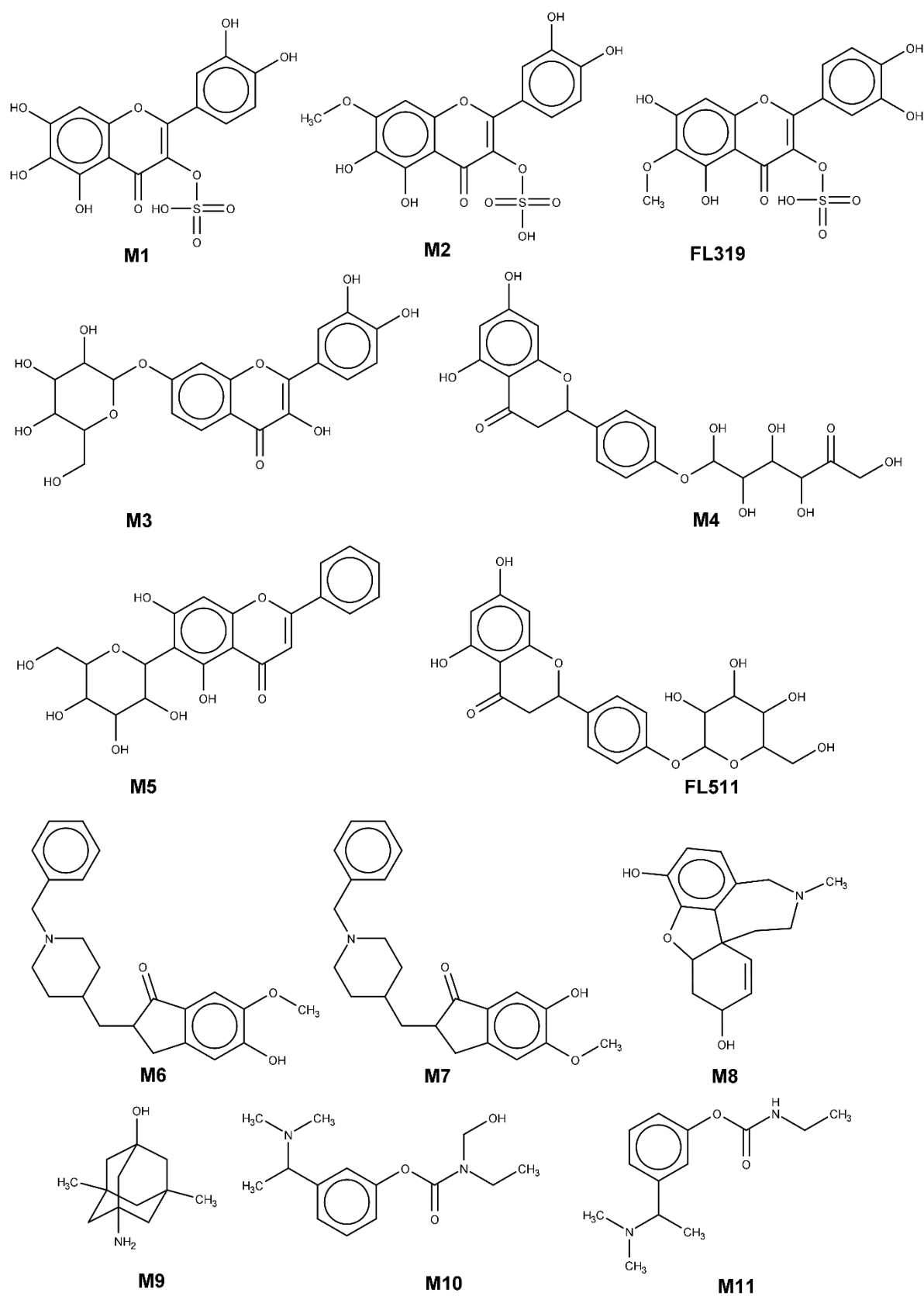
Tabela 4: Riscos de citotoxicidade e probabilidades dos metabólitos dos flavonoides e controles.

Substrato da CYP2D6	Metabólito	Classificação por probabilidade	Riscos de citotoxicidade dos metabólitos
FL319	M1	100%	Nenhum
FL339	M2	100%	Nenhum
	FL319	71,42%	Nenhum
FL466	M3	100%	Nenhum
FL511	M4	100%	Efeito no sistema reprodutor (Alto)
FL775	M5	100%	Nenhum
FL807	FL511	100%	Nenhum
Donepezila	M6	100%	Nenhum
	M7	93,54%	Nenhum
Galantamina	M8	100%	Nenhum
Memantina	M9	100%	Nenhum
Rivastigmina	M10	100%	Mutagênico (Baixo)
			Carcinogênico (Alto)
			Efeito tóxico no sistema reprodutor (Alto)
			Irritante (Alto)
	M11	100%	Nenhum

Fonte: Elaborada pela autora.

Notou-se também que os flavonoides FL319 e FL511 foram gerados entre os metabólitos preditos pelo programa MetaSite (Figura 7). FL319 resultou da interação de FL339 com CYP2D6, enquanto que FL511 surgiu da interação de FL807 com a enzima. Esse resultado demonstra o potencial do FL339 e do FL807 contra a DA, pois a biotransformação desses flavonoides por uma importante enzima do fígado provavelmente origina não só metabólitos isentos de toxicidade, como também possivelmente ativos.

Figura 7: Metabólitos preditos através da interação dos flavonoides e dos controles com CYP2D6.



Fonte: Elaborada pela autora.

Através do programa OSIRIS, também foram calculadas algumas propriedades dos flavonoides multialvo para verificar as violações à regra dos cinco de Lipinski (Tabela 5). Todos os flavonoides possuem peso molecular <500 g/mol, indicando que são moléculas pequenas que podem atravessar mais facilmente as membranas biológicas. Ainda, eles apresentaram valores de cLogP <5, cumprindo dois importantes requisitos estabelecidos por Lipinski. LogP é um parâmetro que representa a quantidade de espécies não ionizadas distribuídas em um sistema octanol/água que pode ser interpretado da seguinte forma: valor positivo sugere que existem mais espécies no solvente octanol do que na água, portanto, a molécula é mais lipofílica; valor negativo indica que as espécies se distribuem mais na água, assim, a molécula é mais hidrofílica (CIMATTI, 2013). Com base nisso, nota-se que FL511 e FL807 são mais lipofílicos, enquanto que FL319, FL339, FL466 e FL775 são mais hidrofílicos.

Tabela 5: Propriedades calculadas para os flavonoides e quantidade de violações à regra dos cinco de Lipinski.

ID	Peso molecular (g/mol)	cLogP	Aceptores de hidrogênio	Doadores de hidrogênio	Violações
FL319	413,334	-1,9015	11	5	1
FL339	427,361	-1,4736	11	4	1
FL466	433,388	-0,8541	10	6	1
FL511	434,396	0,1664	10	6	1
FL775	431,416	-0,8969	9	5	0
FL807	448,423	0,4421	10	5	0

Fonte: Elaborada pela autora.

FL319 e FL339 exibiram 11 aceptores de ligação de hidrogênio por causa dos 11 átomos de oxigênio em suas estruturas químicas, assim violaram um dos requisitos da regra de Lipinski. No que se refere ao FL466 e FL511, eles demonstraram 6 doadores de ligação de hidrogênio devido à presença de 6 hidroxilas na estrutura de cada, dessa forma também mostraram uma violação. Entretanto, a regra de Lipinski sugere que compostos podem demonstrar baixa solubilidade e/ou baixa permeabilidade quando eles violam dois ou mais parâmetros (BENET *et al.*, 2016). Portanto, os flavonoides multialvo tiveram excelentes resultados por apresentarem no máximo 1 violação, demonstrando propriedades físico-químicas favoráveis à biodisponibilidade oral. Em seguida, os flavonoides foram submetidos aos cálculos de propriedades quânticas associadas à atividade antioxidante.

5.3 Cálculos dos parâmetros físico-químicos quânticos relacionados à atividade antioxidante

Algumas propriedades físico-químicas dos flavonoides e dos controles antioxidantes foram calculadas no programa HyperChem para prever se os flavonoides apresentam capacidade de neutralizar espécies reativas de oxigênio (Tabela 6). Comparando-se os valores de ΔH_{ox} dos flavonoides e dos controles, nota-se que todos os flavonoides demonstraram valores menores que o do ácido ascórbico (191,4317) e do ácido gálico (202,1262). É relatado que ΔH_{ox} representa a energia de transferência de um único elétron, e quanto menor seu valor, maior é a capacidade da molécula de eliminar radicais livres (SCOTTI, L., 2006; SCOTTI, L. *et al.*, 2009). Assim, conforme esse parâmetro, os flavonoides poderiam neutralizar os radicais através da transferência de elétrons.

Com relação aos valores de ΔH_f obtidos para os compostos, verifica-se que todos os flavonoides exibiram valores menores que o valor do ácido gálico (59,1899). Ainda, FL339 apresentou o melhor resultado entre as moléculas estudadas, pois foi o único com valor de ΔH_f (21,4381) menor que os valores obtidos para os controles (de 21,9305 a 59,1899), com exceção do α -tocoferol. ΔH_f indica a força da ligação H-O, assim quanto menor for o seu valor, mais fraca é a ligação. A ligação mais fraca facilita a abstração do hidrogênio, que pode ser transferido para o radical, permitindo uma maior atividade antioxidante do composto fenólico (CHENG, Z. *et al.*, 2002). Portanto, como os flavonoides exibiram baixos valores de ΔH_f , acredita-se que eles possuam alta capacidade de perder os hidrogênios do grupo hidroxila, contribuindo para a atividade anti-radicalar.

Tabela 6: Propriedades físico-químicas quânticas dos flavonoides e dos controles ácido ascórbico (AA), ácido gálico (AG), α -tocoferol (AT), γ -tocoferol (GT) e 4-nerolidilcatecol (NC).

	E_{HOMO} (eV)	E_{LUMO} (eV)	(H- L) _{GAP} (eV)	H_n (kcal/mol)	H_r (kcal/mol)	H_c (kcal/mol)	ΔH_f (kcal/mol)	ΔH_{ox} (kcal/mol)
FL319	-9,0378	-1,5079	-7,5299	-369,5794	-345,3632	-184,6551	24,2162	184,9242
FL339	-9,0810	-1,3678	-7,7131	-359,8907	-338,4526	-178,6092	21,4381	181,2815
FL466	-8,7038	-1,0558	-7,6480	-354,8941	-331,1617	-180,0111	23,7324	174,8830
FL511	-9,3557	-0,6451	-8,7106	-382,9457	-333,7040	-194,3003	49,2417	188,6454
FL775	-9,2662	-1,0741	-8,1921	-312,1661	-263,2469	-125,6439	48,9192	186,5222
FL807	-9,2575	-0,5630	-8,6945	-374,8815	-327,9278	-190,7247	46,9537	184,1568
AA	-9,6357	-0,5529	-9,0828	-233,8522	-187,6315	-42,4205	46,2207	191,4317
AG	-9,4806	-0,8575	-8,6231	-197,7264	-138,5365	4,3998	59,1899	202,1262
AT	-8,3599	0,3261	-8,6860	-183,1622	-162,7514	-13,6582	20,4108	169,5040
GT	-8,3773	0,3168	-8,6941	-177,4785	-155,5480	-5,7916	21,9305	171,6869
NC	-8,6660	0,3074	-8,9734	-61,4141	-39,0341	116,7199	22,3800	178,1340

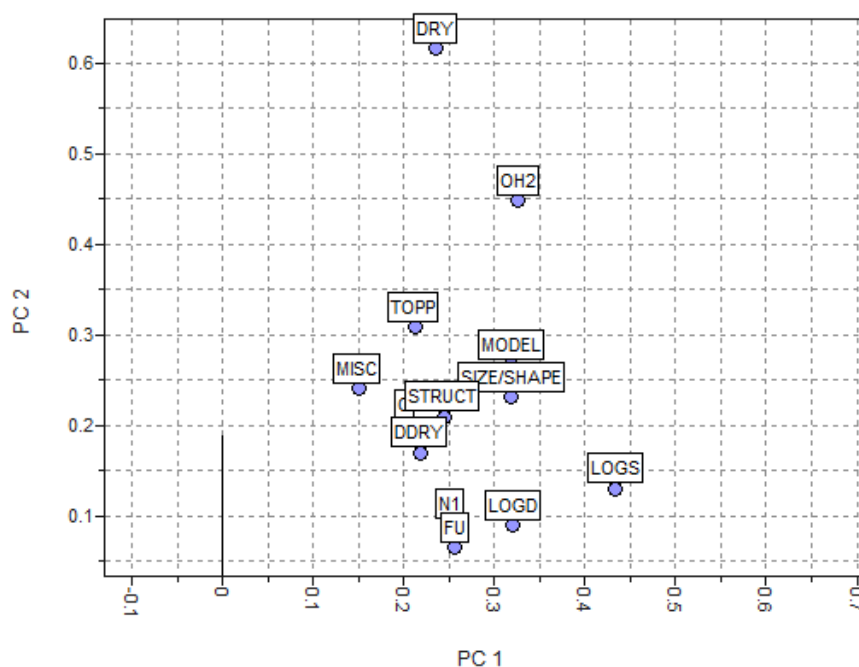
Fonte: Elaborada pela autora.

Analisou-se também o intervalo (GAP) entre as energias de HOMO e de LUMO para verificar a reatividade das moléculas, pois quanto maior é esse intervalo, mais estável e não reativa é a molécula, e quanto menor o intervalo, mais reativa ela é (ZHANG, G.; MUSGRAVE, 2007). Os dados obtidos para o GAP indicaram que todos os flavonoides foram mais reativos que o ácido ascórbico e 4-nerolidilcatecol. Além disso, pode-se observar a seguinte ordem de reatividade: FL319 > FL466 > FL339 > FL775 > FL807 > FL511. Logo, FL319, FL466 e FL339 foram as moléculas mais reativas da série em estudo, consequentemente, podem perder mais facilmente um elétron e neutralizar o radical livre, aumentando a probabilidade de apresentarem atividade antioxidante. Esses resultados foram compatíveis com dados da literatura, nos quais a presença de grupo hidroxila na posição 4' (*para*) no anel B e a presença da dupla ligação entre C₂-C₃ conjugada ao grupo carbonila na posição 4 no anel C favorecem a atividade antioxidante de flavonoides (SEKHER PANNALA *et al.*, 2001).

5.4 Análises do programa Volsurf+

Após a análise dos parâmetros físico-químicos dos flavonoides relacionados à atividade antioxidante, o programa Volsurf+ foi utilizado para desenvolver os modelos da CPCA, PCA e para gerar os campos de interação molecular (MIFs). O modelo da CPCA permitiu observar os blocos de descritores com maior peso através de um gráfico (Figura 8).

Figura 8: Gráfico do peso dos blocos do modelo da CPCA considerando PC1 e PC2.



Fonte: Elaborada pela autora.

Neste gráfico, os blocos de descritores estão representados no espaço, onde a posição de cada bloco é proporcional à sua contribuição para cada componente principal (PC). Blocos próximos da origem do gráfico contribuem pouco para o PC, enquanto que os blocos mais distantes mostram maiores contribuições. Assim, os blocos mais representativos foram DRY e LOGS. Essa informação também pode ser verificada na Tabela 7, na qual observa-se que PC1 e PC2 explicaram mais de 73% da variância total dos dados usando o bloco DRY e explicaram mais de 68% da variância total usando o bloco LOGS. Logo, como esses blocos contribuíram mais para o modelo da CPCA, seus descritores foram utilizados para construir o modelo da PCA.

Tabela 7: Variância explicada através dos blocos DRY e LOGS do modelo da CPCA.

Bloco	% da variância total explicada (PC1 + PC2)
DRY	73,817
LOGS	68,883

Fonte: Elaborada pela autora.

O modelo da PCA foi desenvolvido com 35 variáveis dos blocos DRY e LOGS e apresentou bons resultados, já que mais de 74% da variância total dos dados foi explicada por PC1 e PC2, conforme a Tabela 8.

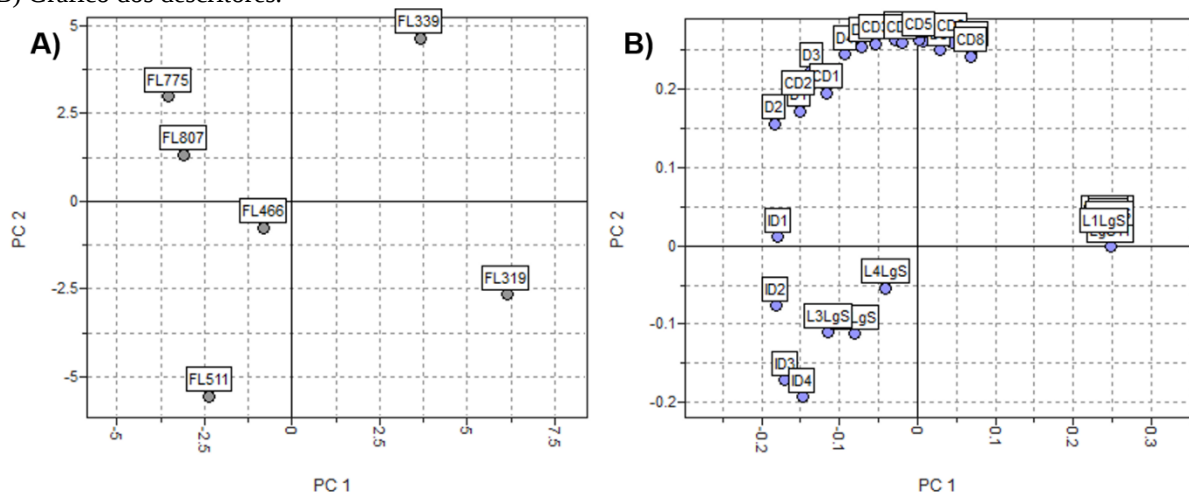
Tabela 8: Variância explicada pelos componentes do modelo da PCA.

PC	% da variância total explicada	% da variância total explicada e acumulada
1	29,496	29,496
2	44,983	74,479
3	6,683	81,118
4	11,359	92,476
5	7,524	100

Fonte: Elaborada pela autora.

Em sequência, foram produzidos os gráficos que demonstram a distribuição das moléculas e dos descritores no espaço, representados na Figura 9. O manual do Volsurf+ (<http://www.moldiscovery.com>) foi consultado para elucidar os significados dos descritores obtidos.

Figura 9: Distribuição das moléculas e dos descritores moleculares no modelo da PCA. A) Gráfico das moléculas; B) Gráfico dos descritores.



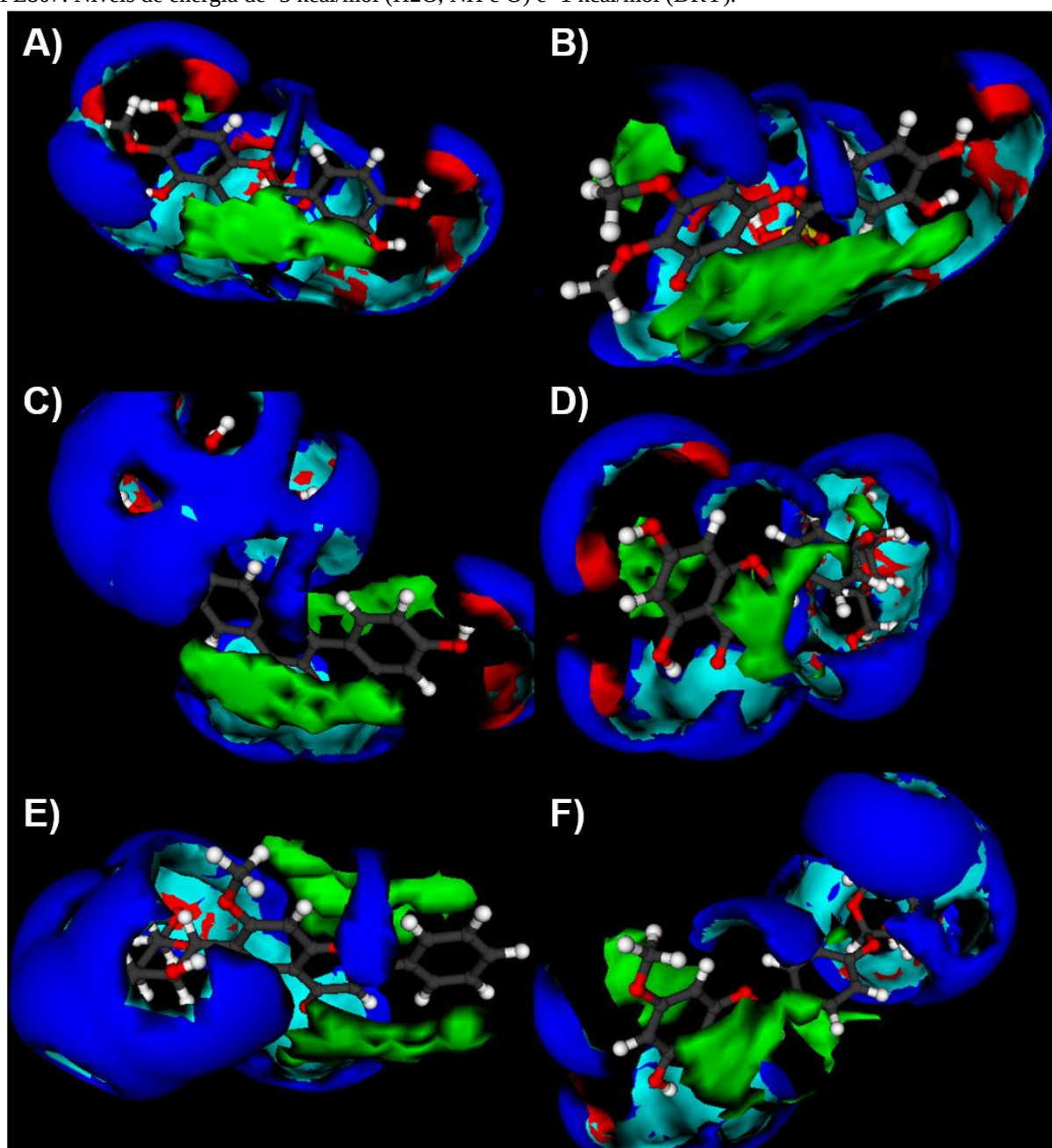
Fonte: Elaborada pela autora.

No gráfico B, nota-se que a maioria dos descritores foi produzida através da sonda hidrofóbica DRY: volumes hidrofóbicos (D1-D8), fatores de capacidade (CD1-CD8) e momento de energia de interação hidrofóbica (ID1-ID4). Desses descritores, os dois primeiros tipos descrevem regiões hidrofóbicas nas moléculas e foram calculados em 8 diferentes níveis de energia adaptados à faixa de energia padrão de interações hidrofóbicas (de -0,2 a -1,6 kcal/mol). Enquanto que D1-D8 se referem ao envelope molecular responsável por formar interações hidrofóbicas, CD1-CD8 representam a razão do volume hidrofóbico sobre a superfície molecular total. O terceiro grupo de descritores gerado pela sonda DRY, ID1-ID4, descreve a distância entre o centro de massa de uma molécula e o centro de regiões hidrofóbicas. Ao comparar a posição dos descritores da sonda DRY no gráfico B com a posição dos flavonoides no gráfico A, observa-se que esses descritores estão relacionados com todos os flavonoides, exceto FL319. Esse resultado sugere que FL339, FL466, FL511, FL775 e FL807 são capazes de formar interações hidrofóbicas de forma mais favorável com os átomos hidrofóbicos de outras moléculas.

O restante dos descritores do modelo da PCA caracterizou a solubilidade: solubilidades em vários pH (LgS3 - LgS11), sendo o logaritmo de solubilidades calculadas em diversos pH (de 3 a 11); e coeficientes de perfil de solubilidade (L0lgS - L4lgS), que são úteis para distinguir compostos com solubilidade semelhante, mas diferente perfil dependente de pH. Assim, como os descritores de solubilidade foram demonstrados em posições próximas aos flavonoides FL466 e FL511, acredita-se que estas moléculas possuam um melhor perfil de solubilidade em comparação as outras moléculas estudadas.

No Volsurf+, a função GRID foi utilizada para averiguar as regiões dos flavonoides que formam interações energeticamente favoráveis. Para isso, foram formados os MIFs dos flavonoides interagindo com a sonda água (H₂O), sonda hidrofóbica (DRY), sonda doadora de ligação de hidrogênio (NH) e sonda aceptora de ligação de hidrogênio (O de carbonila) (Figura 10).

Figura 10: Campos de interação molecular dos flavonoides interagindo com as sondas H₂O (azul-claro), DRY (verde), NH (azul-escuro) e O de carbonila (vermelho). A) FL319; B) FL339; C) FL466; D) FL511; E) FL775; F) FL807. Níveis de energia de -3 kcal/mol (H₂O, NH e O) e -1 kcal/mol (DRY).



Fonte: Elaborada pela autora.

Os resultados dos MIFs indicaram que os flavonoides apresentam tanto regiões hidrofóbicas (em verde) como regiões hidrofílicas (em azul-claro) em suas superfícies moleculares, sendo que as regiões responsáveis pelas interações hidrofóbicas estão concentradas principalmente nos anéis A, B e C. Ainda, pode-se perceber que ocorreram diversas interações entre os flavonoides e a sonda NH (em azul-escuro) devido ao número elevado de átomos de oxigênio em suas estruturas (de 9 a 11), gerando grandes MIFs que representam as regiões dos flavonoides que podem aceitar ligações de hidrogênio. Os MIFs resultantes das interações dos flavonoides com a sonda O de carbonila (em vermelho) foram menores, pois estes possuem no máximo 6 hidroxilas capazes de doar ligações de hidrogênio. Depois de obter os resultados do Volsurf+, os flavonoides foram submetidos ao estudo de *docking* molecular.

5.5 *Docking* molecular

A ancoragem molecular dos flavonoides e dos controles com os alvos da DA foi realizada no programa Molegro Virtual Docker. Os alvos escolhidos foram AChE (PDB ID: 4M0E), A β (PDB ID: 1IYT) e GSK-3 β (PDB ID: 1Q5K), pois os flavonoides multialvo demonstraram atividade contra eles nos modelos de QSAR. Essa análise teve o objetivo de investigar a afinidade e as interações dos flavonoides com esses alvos, e consequentemente, descobrir seus possíveis mecanismos de ação. O procedimento do *docking* foi validado com a realização do *redocking*, obtendo-se os seguintes valores de RMSD: 0,112597 Å na ancoragem com AChE e 0,234942 Å na ancoragem com GSK-3 β . Como os valores de RMSD foram menores que 2 Å, pode-se dizer que a função de pontuação do programa MVD foi aplicada com sucesso, demonstrando que esse programa é uma ferramenta de *docking* adequada. Assim, o estudo de *docking* molecular realizado neste trabalho é confiável.

Conforme a Tabela 9, os flavonoides testados exibiram excelentes energias de ligação com AChE: -164,467 kcal/mol (FL466), -156,261 kcal/mol (FL511), -154,829 kcal/mol (FL775) e -161,769 kcal/mol (FL807). Eles apresentaram energias de ligação mais baixas que as energias dos controles (de -110,546 a -130,159 kcal/mol), indicando que esses flavonoides têm maior afinidade com a proteína. No que diz respeito as interações com os resíduos de aminoácidos da proteína, nota-se que FL466 e FL511 formaram interações hidrofóbicas com os resíduos Trp286 e Tyr341 assim como todos os controles de AChE (Figura 11 e Figura 12). FL755 e FL807 interagiram com esses resíduos por meio de interações hidrofóbicas (Trp286) e forças de van der Waals (Tyr341). Ainda, os resíduos Tyr72 e Asp74 foram demonstrados

interagindo com todas as moléculas analisadas. Enquanto que FL466, FL511 e FL807 realizaram interações de van der Waals com esses resíduos, FL775 fez ligações de hidrogênio com eles. Outro resíduo que se destacou nos resultados do *docking* foi Tyr124, que também participou de interações com todos os flavonoides e os controles. Tyr 124 formou interações hidrofóbicas com FL466 e FL807, fez uma ligação de hidrogênio com FL775 e apresentou uma interação de van der Waals com FL511. Dados provenientes da literatura informam que os resíduos Tyr72, Asp74, Tyr124, Trp286 e Tyr341 consistem o PAS de AChE, enquanto que os resíduos Ser203, His447 e Glu334 representam o CAS de AChE (JOHNSON; MOORE, 2005). Logo, como os flavonoides FL466, FL511, FL775 e FL807 interagiram com todos os resíduos críticos do PAS da proteína, eles apresentam alta probabilidade de inibir a atividade proteica. Além disso, observa-se que FL511 e FL807 formaram ligações de hidrogênio com o resíduo Ser203 da tríade catalítica da enzima, assim esses flavonoides poderiam atuar através de um mecanismo misto, inibindo os dois sítios importantes para a atividade de AChE.

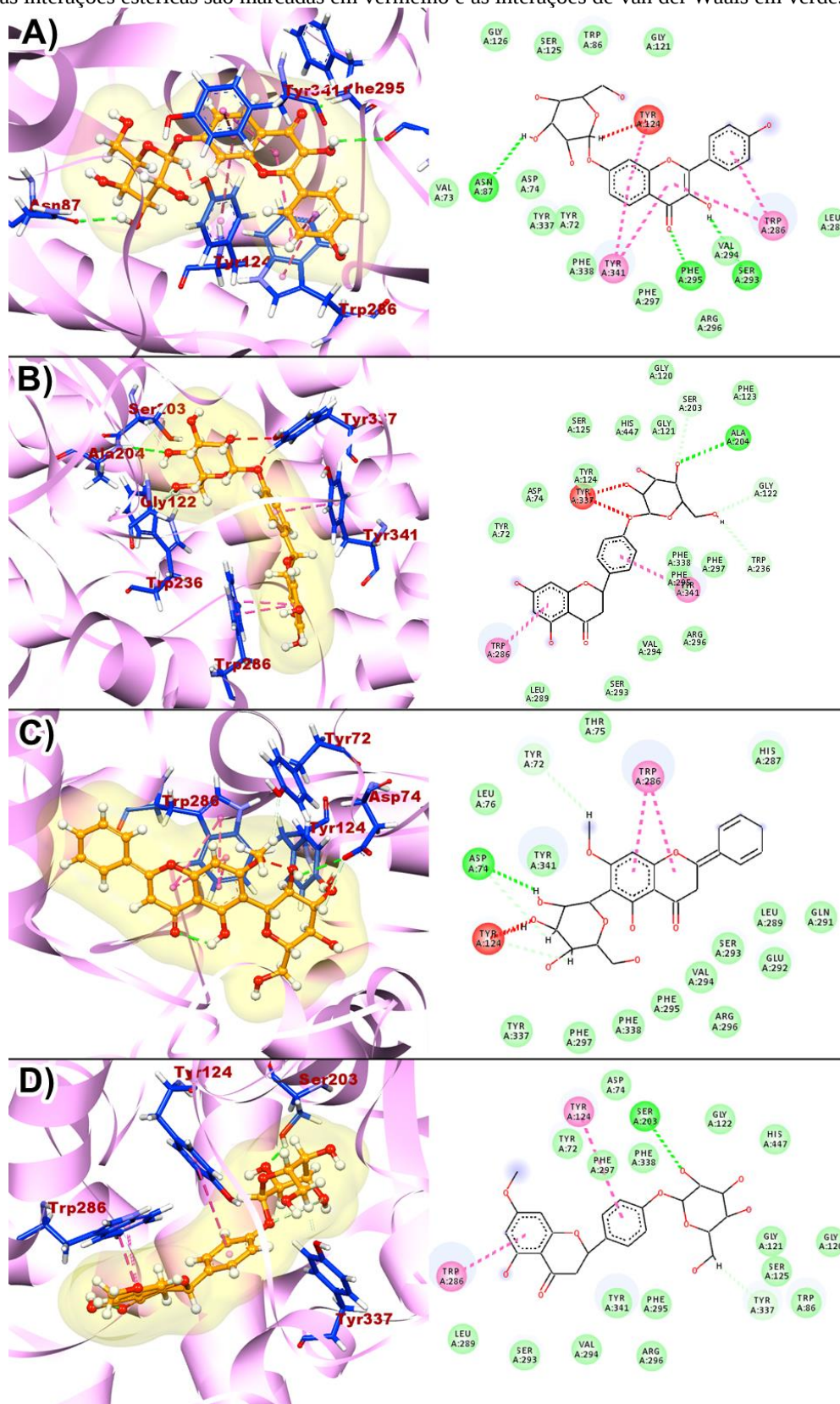
Tabela 9: Energias de ligação e interações dos flavonoides e dos controles com AChE.

Molécula	Energia (kcal/mol)	Interações	
		Tipos	Resíduos de aminoácidos
FL466	-164,467	Hidrogênio	Asn87, Ser293 e Phe295
		Hidrofóbica	Tyr124, Trp286 e Tyr341
		Van der Waals	Tyr72, Val73, Asp74, Trp86, Gly121, Ser125, Gly126, Leu289, Val294, Arg296, Phe297, Tyr337 e Phe338
		Estérica	Tyr124
		Eletrostática	-
FL511	-156,261	Hidrogênio	Gly122, Ser203, Ala204 e Trp236
		Hidrofóbica	Trp286 e Tyr341
		Van der Waals	Tyr72, Asp74, Gly120, Gly121, Phe123, Tyr124, Ser125, Leu289, Ser293, Val294, Phe295, Arg296, Phe297, Phe338 e His447
		Estérica	Tyr337
		Eletrostática	-
FL775	-154,829	Hidrogênio	Tyr72, Asp74 e Tyr124
		Hidrofóbica	Trp286
		Van der Waals	Thr75, Leu76, His287, Leu289, Gln291, Glu292, Ser293, Val294, Phe295, Arg296, Phe297, Tyr337, Phe338 e Tyr341
		Estérica	Tyr124

		Eletrostática	-
FL807	-161,769	Hidrogênio	Ser203 e Tyr337
		Hidrofóbica	Tyr124 e Trp286
		Van der Waals	Tyr72, Asp74, Trp86, Gly120, Gly121, Ser125, Leu289, Ser293, Val294, Phe295, Arg296, Phe297, Phe338 e Tyr341
		Estérica	-
		Eletrostática	-
Donepezila	-130,159	Hidrogênio	Asp74, Val294, Phe295 e Tyr337
		Hidrofóbica	Trp286, Tyr337 e Tyr341
		Van der Waals	Tyr72, Thr83, Trp86, Asn87, Pro88, Gly121, Tyr124, Ser125, Leu289, Glu292, Ser293, Arg296, Phe297 e Phe338
		Estérica	Tyr337
		Eletrostática	Asp74
Galantamina	-118,675	Hidrogênio	Tyr124 e Tyr 341
		Hidrofóbica	Trp286, Phe297 e Tyr341
		Van der Waals	Tyr72, Asp74, Leu289, Ser293, Val294, Phe295, Arg296, Tyr337 e Phe338
		Estérica	-
		Eletrostática	-
Rivastigmina	-110,546	Hidrogênio	Tyr124, Ser293 e Arg296
		Hidrofóbica	Trp286, Phe297, Tyr337, Phe338 e Tyr341
		Van der Waals	Tyr72, Asp74, Gly122, Leu289, Val294 e Phe295
		Estérica	-
		Eletrostática	-
Diidrotansinona I	-128,724	Hidrogênio	Ser293, Val294, Phe295 e Tyr337
		Hidrofóbica	Tyr72, Trp286, Phe297, Tyr 337, Phe338 e Tyr341
		Van der Waals	Asp74, Tyr124 e Arg296
		Estérica	-
		Eletrostática	-

Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 11: Interações em 3D e em 2D dos flavonoides com AChE. A) FL466; B) FL511; C) FL775; D) FL807. As ligações de hidrogênio são destacadas por linhas tracejadas verdes, as interações hidrofóbicas são destacadas em rosa, as interações estéricas são marcadas em vermelho e as interações de van der Waals em verde.



Fonte: Elaborada pela autora.

70

Com relação aos resultados do ancoramento com o peptídeo A β , os flavonoides demonstraram as seguintes energias de ligação: -57,879 kcal/mol (FL319), -53,7901 kcal/mol (FL339), -76,6393 kcal/mol (FL466), -73,5682 kcal/mol (FL511), -73,4800 kcal/mol (FL775) e -76,8417 kcal/mol (FL807) (Tabela 10). Todos exibiram energias de ligação mais baixas que a do controle resveratrol (-40,8924 kcal/mol), logo, eles possuem afinidade com o peptídeo. FL466 e FL807 mostraram maior afinidade entre os flavonoides, pois suas energias de ligação também foram mais baixas que as energias dos controles curcumina (-65,1864 kcal/mol) e EGCG (-76,3406 kcal/mol).

Em seguida, verificou-se as interações das moléculas com os resíduos de A β que participam do processo de agregação: Leu17-Ala21 (região do CHC) e Ala30-Ala42 (região hidrofóbica do terminal C)(SARAIVA *et al.*, 2010; XIE, H.; GUO, 2021). Pode-se observar que todos os flavonoides e controles interagiram com os resíduos Leu17, Phe20 e Ala21 da região do CHC. FL319, FL339 e FL775 fizeram ligações de hidrogênio com Leu17 e Ala21 e interações hidrofóbicas com Phe20. FL466 formou uma ligação de hidrogênio com Leu 17 e interações hidrofóbicas com Phe20 e Ala21 (Figura 13). Enquanto que FL511 fez uma ligação de hidrogênio com Ala21 e interações hidrofóbicas com Leu17 e Phe20 (Figura 14). A respeito do FL807, ele formou: uma ligação de hidrogênio com Phe20; interações hidrofóbicas com Phe20 e Ala21; e uma interação de van der Waals com Leu17. No que concerne as interações com os resíduos da região hidrofóbica do terminal C, nota-se que curcumina e resveratrol formaram interações de van der Waals com Leu34 (Figura 15). Ao comparar com as interações dos flavonoides, observa-se que todos eles também interagiram com Leu34 por meio de forças de van der Waals. Além disso, alguns flavonoides demonstraram afinidade com outros resíduos da região: FL319, FL339 e FL775 interagiram com Ile31; FL775 e FL807 interagiram com Met35. Esses resultados sugerem que os seis flavonoides analisados neste trabalho apresentam potencial na inibição da agregação de A β devido as suas interações com resíduos fundamentais para esse processo.

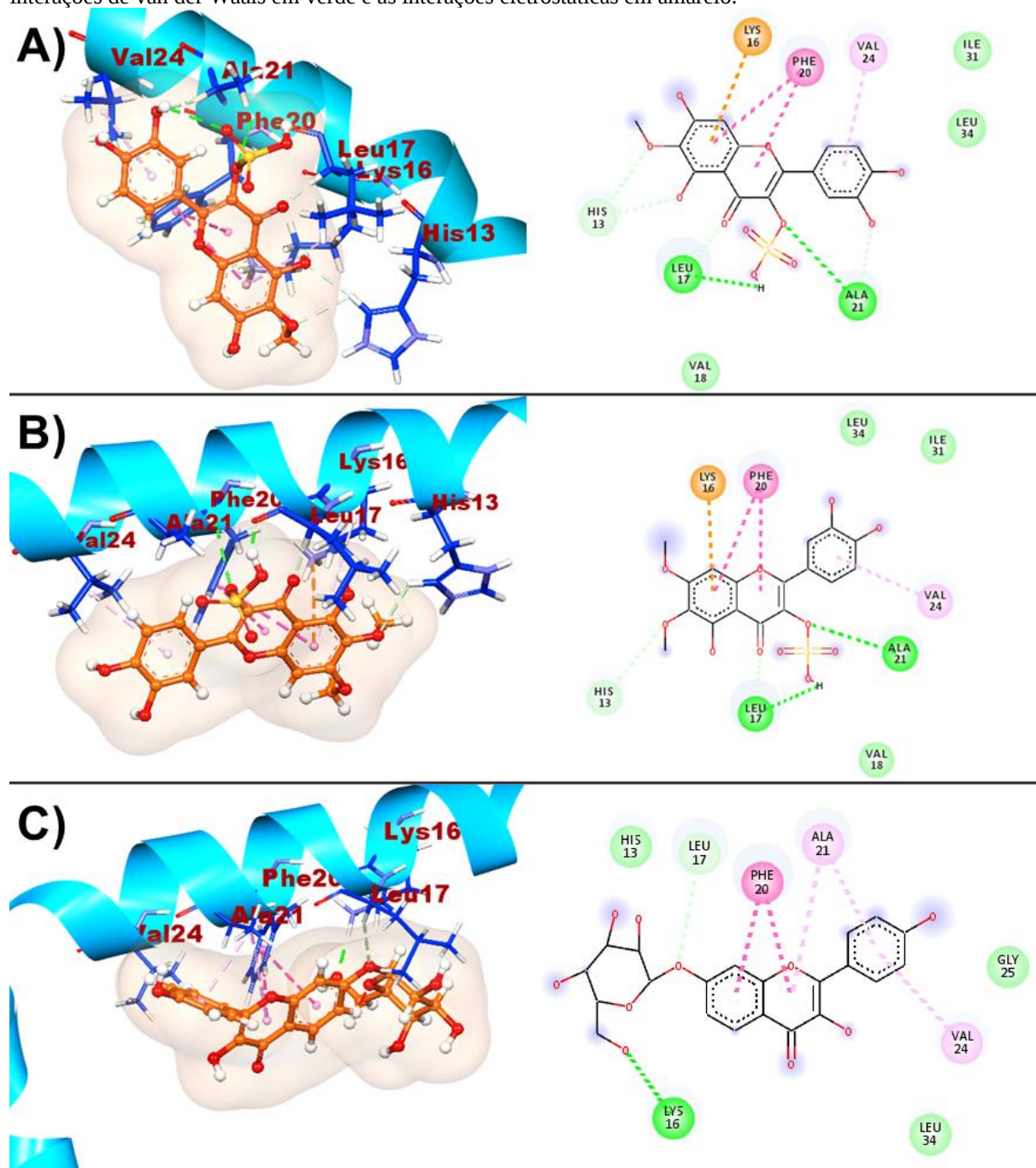
Tabela 10: Energias de ligação e interações dos flavonoides e dos controles com A β .

Molécula	Energia (kcal/mol)	Interações	
		Tipos	Resíduos de aminoácidos
FL319	-57,879	Hidrogênio	His13, Leu17 e Ala21
		Hidrofóbica	Phe20 e Val24
		Van der Waals	Val18, Ile31 e Leu34
		Estérica	-
		Eletrostática	Lys16
FL339	-53,7901	Hidrogênio	His13, Leu17 e Ala21
		Hidrofóbica	Phe20 e Val24
		Van der Waals	Val18, Ile31 e Leu34
		Estérica	-
		Eletrostática	Lys16
FL466	-76,6393	Hidrogênio	Lys16 e Leu17
		Hidrofóbica	Phe20, Ala21 e Val24
		Van der Waals	His13, Gly25 e Leu34
		Estérica	-
		Eletrostática	-
FL511	-73,5682	Hidrogênio	His13 e Ala21
		Hidrofóbica	Leu17, Phe20 e Val24
		Van der Waals	Leu34
		Estérica	-
		Eletrostática	Lys16
FL775	-73,4800	Hidrogênio	Leu17 e Ala21
		Hidrofóbica	Phe20, Ala21 e Val24
		Van der Waals	His13, Gly25, Lys28, Ile31 e Leu34
		Estérica	Lys16
		Eletrostática	Met35
FL807	-76,8417	Hidrogênio	Phe20
		Hidrofóbica	Phe20, Ala21 e Val24
		Van der Waals	His13, Lys16, Leu17, Gly25, Lys28, Leu34 e Met35
		Estérica	-
		Eletrostática	-
Curcumina	-65,1864	Hidrogênio	Ala21
		Hidrofóbica	Lys16 e Leu17
		Van der Waals	His13, Phe20, Val24 e Leu34
		Estérica	-
		Eletrostática	-

EGCG	-76,3406	Hidrogênio	Leu17, Phe20 e Ala21
		Hidrofóbica	Lys16, Leu17, Phe20, Ala21 e Val24
		Van der Waals	His13 e Gly25
		Estérica	-
		Eletrostática	-
Resveratrol	-40,8924	Hidrogênio	His13
		Hidrofóbica	Leu17, Phe20, Ala21 e Val24
		Van der Waals	Leu34
		Estérica	-
		Eletrostática	Lys16

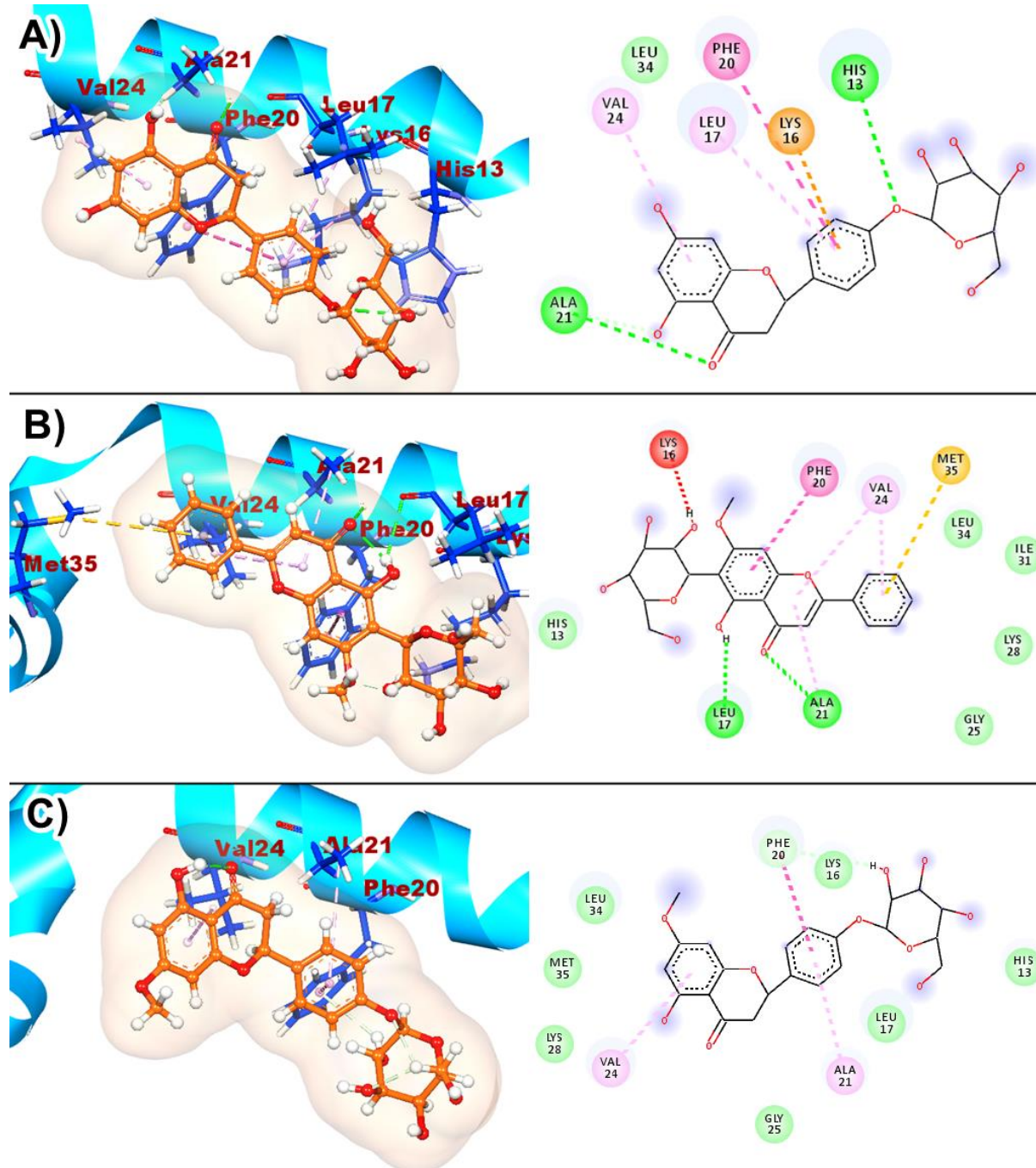
Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 13: Interações em 3D e em 2D dos flavonoides com A β . A) FL319; B) FL339; C) FL466. As ligações de hidrogênio são destacadas por linhas tracejadas verdes, as interações hidrofóbicas são destacadas em rosa, as interações de van der Waals em verde e as interações eletrostáticas em amarelo.



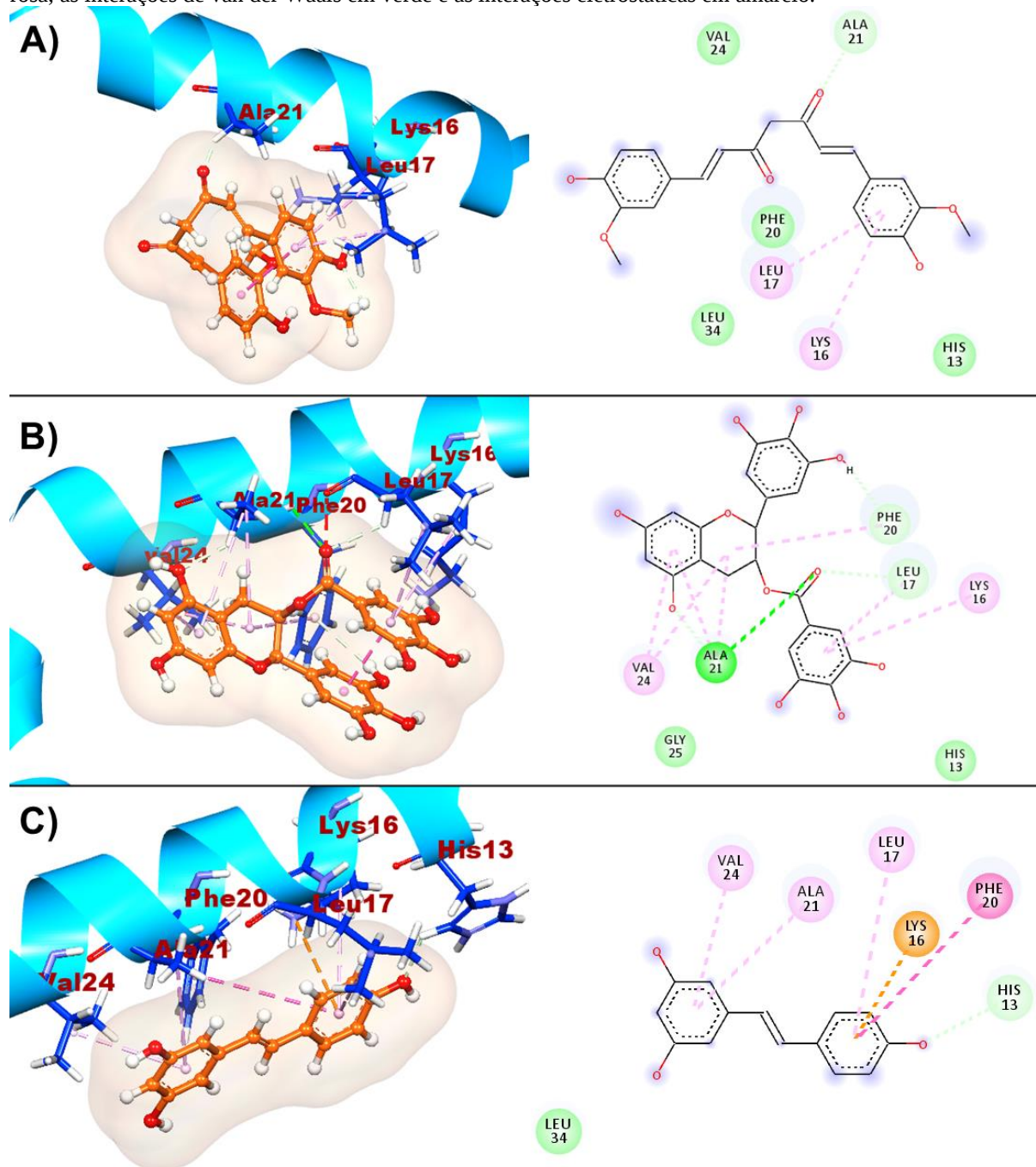
Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 14: Interações em 3D e em 2D dos flavonoides com A β . A) FL511; B) FL775; C) FL807. As ligações de hidrogênio são destacadas por linhas tracejadas verdes, as interações hidrofóbicas são destacadas em rosa, as interações estéricas são marcadas em vermelho, as interações de van der Waals em verde e as interações eletrostáticas em amarelo.



Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 15: Interações em 3D e em 2D dos controles com A β . A) Curcumina; B) EGCG; C) Resveratrol. As ligações de hidrogênio são destacadas por linhas tracejadas verdes, as interações hidrofóbicas são destacadas em rosa, as interações de van der Waals em verde e as interações eletrostáticas em amarelo.



Fonte: Elaborada pela autora.

No que se refere aos resultados do ancoramento com GSK-3 β , os flavonoides testados apresentaram as seguintes energias de ligação: -98,6166 kcal/mol (FL319), -101,2310 kcal/mol (FL339) e -101,9710 kcal/mol (FL775) (Tabela 11). Assim, FL339 e FL775 exibiram energias mais baixas que a do inibidor TMU (-99,5956 kcal/mol), enquanto que FL319 demonstrou um valor de energia próximo ao do inibidor. Dessa forma, acredita-se que os três flavonoides têm afinidade com GSK-3 β . Depois disso, foram analisadas as interações das moléculas com os

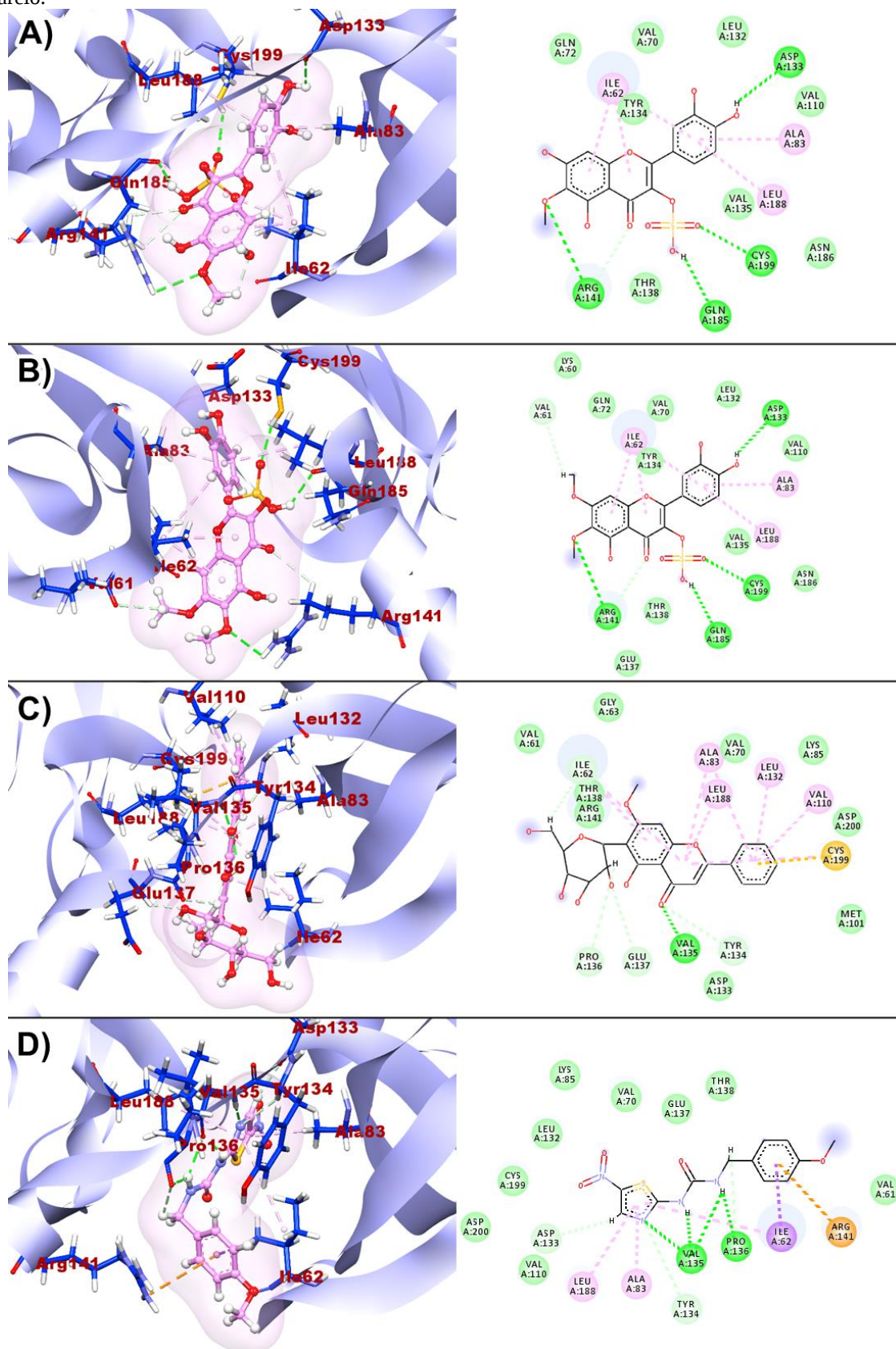
principais resíduos do sítio de ligação do ATP da proteína de acordo com a literatura científica. Relata-se que as interações com os resíduos Leu130-Glu137 potencializam a atividade contra GSK-3 β , enquanto que as interações com os resíduos Lys85, Glu97, Arg141, Gln185 e Asp200 contribuem para a atividade e seletividade de inibidores (KRAMER; SCHMIDT; LO MONTE, 2012). Verificou-se que todos os flavonoides testados e o controle mostraram interações com resíduos em comum: Leu132, Asp133, Tyr134, Val135 e Arg141 (Figura 16). Os tipos de interação dos flavonoides FL319 e FL339 com os resíduos foram: ligações de hidrogênio com Asp133 e interações de van der Waals com Leu132, Tyr134 e Val135. Ainda, eles exibiram ligações de hidrogênio com os resíduos Arg141 e Gln185, podendo favorecer sua seletividade para a proteína. Com relação ao FL775, ele formou ligações de hidrogênio com os resíduos Tyr134-Glu137, melhorando sua afinidade com a enzima. Essa afinidade também pode ser aumentada através da sua interação hidrofóbica com Leu132 e da sua interação de van der Waals com Asp133. Além disso, FL775 participou de interações de van der Waals com os resíduos Lys85, Arg141 e Asp200, envolvidos na seletividade de inibidores. Portanto, os resultados obtidos para GSK-3 β indicam que FL319, FL339 e FL775 interagem com o sítio de ligação do ATP e possivelmente possuem atividade e seletividade frente a proteína. Após a análise de *docking* molecular, foram realizadas simulações de dinâmica molecular com os flavonoides multialvo.

Tabela 11: Energias de ligação e interações dos flavonoides e do controle com GSK-3 β .

Molécula	Energia (kcal/mol)	Interações	
		Tipos	Resíduos de aminoácidos
FL319	-98,6166	Hidrogênio	Asp133, Arg141, Gln185 e Cys199
		Hidrofóbica	Ile62, Ala83 e Leu188
		Van der Waals	Val70, Gln72, Val110, Leu132, Tyr134, Val135, Thr138 e Asn186
		Estérica	-
		Eletrostática	-
FL339	-101,2310	Hidrogênio	Val61, Asp133, Arg141, Gln185 e Cys199
		Hidrofóbica	Ile62, Ala83 e Leu188
		Van der Waals	Lys 60, Val70, Gln72, Val110, Leu132, Tyr134, Val135, Glu137, Thr138 e Asn186
		Estérica	-
		Eletrostática	-
FL775	-101,9710	Hidrogênio	Ile62, Tyr134, Val135, Pro136 e Glu137
		Hidrofóbica	Ile62, Ala83, Val110, Leu132, Leu188 e Cys199
		Van der Waals	Val61, Gly63, Val70, Lys85, Met101, Asp133, Thr138, Arg141 e Asp200
		Estérica	-
		Eletrostática	Cys199
Inibidor TMU	-99,5956	Hidrogênio	Asp133, Tyr134, Val135 e Pro136
		Hidrofóbica	Ile62, Ala83 e Leu188
		Van der Waals	Val61, Val70, Lys85, Val110, Leu132, Glu137, Thr138, Cys199 e Asp200
		Estérica	-
		Eletrostática	Arg141

Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 16: Interações em 3D e em 2D dos flavonoides e do controle com GSK-3 β . A) FL319; B) FL339; C) FL775; D) Inibidor TMU. As ligações de hidrogênio são destacadas por linhas tracejadas verdes, as interações hidrofóbicas são destacadas em rosa, as interações de van der Waals em verde e as interações eletrostáticas em amarelo.



Fonte: Elaborada pela autora.

5.6 Simulações de dinâmica molecular

Os flavonoides multialvo e alguns controles foram selecionados para as simulações de dinâmica molecular performadas no programa GROMACS com o objetivo de analisar a estabilidade dos complexos formados. Assim, foram gerados gráficos do RMSD que informam sobre a flexibilidade do alvo e dos ligantes e gráficos da RMSF que demonstram os resíduos de aminoácidos que contribuem para as mudanças conformacionais dos alvos.

Os resultados do RMSD para AChE indicaram que sua conformação variou de 0,15 a aproximadamente 0,35 nm, apresentando alta estabilidade na presença dos ligantes durante a maior parte das simulações (Figura 17A). O complexo AChE-FL775 demonstrou instabilidade somente de 3 a 4 ns, em seguida manteve-se em equilíbrio. Para o complexo AChE-FL511, houve uma perda de estabilidade em aproximadamente 8 ns, mas após 1 ns a estabilidade foi recuperada. Pode-se dizer que AChE complexada com FL775 e FL511 foi mais estável que os complexos formados com FL466 e FL807, pois sua interação com estes últimos flavonoides permitiu uma maior variação nos valores do RMSD durante a simulação.

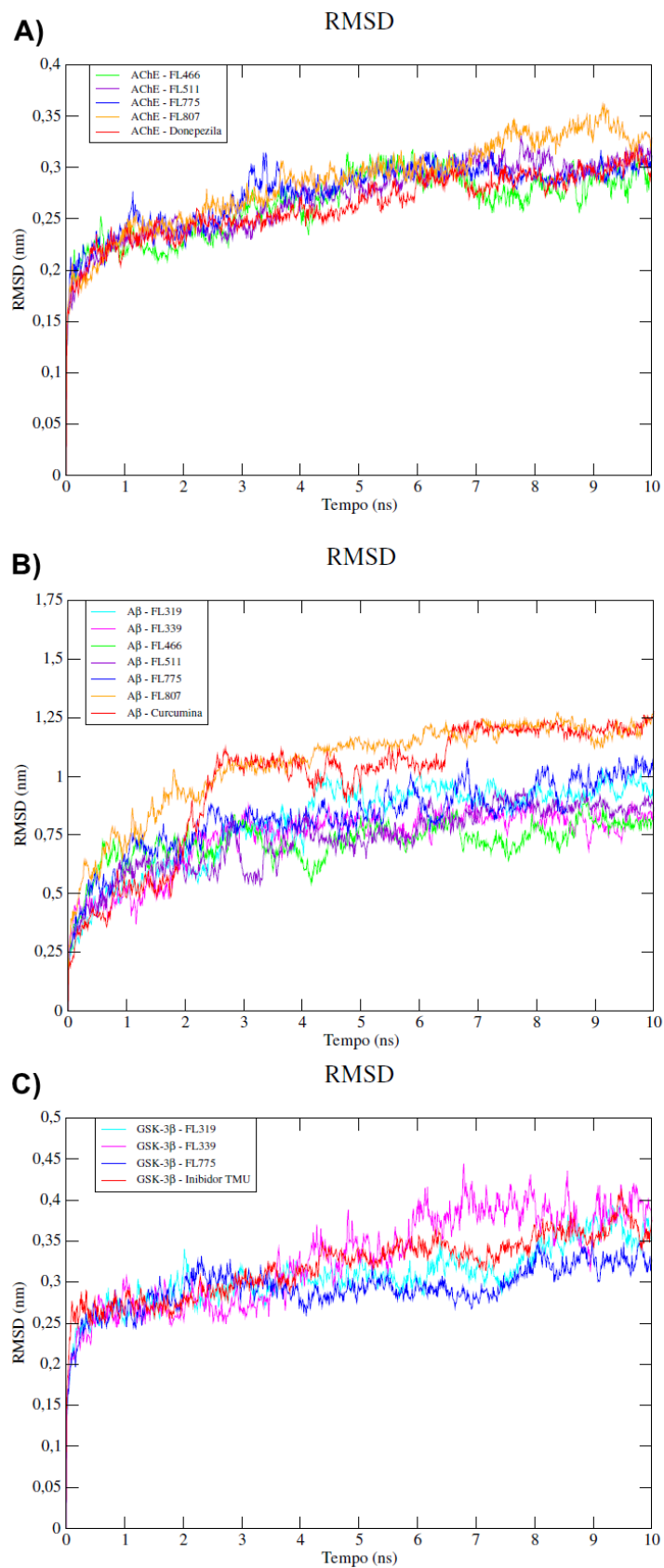
Com relação aos valores do RMSD obtidos para A β , nota-se que eles variaram de 0,25 a 1,25 nm, indicando que o peptídeo sofre mudanças conformacionais no decorrer da análise (Figura 17B). Nota-se que o complexo com FL807 exibe maior estabilidade do que aquele com curcumina, pois a conformação do alvo com o flavonoide ficou estável após 2 ns enquanto que a conformação com o inibidor apresentou instabilidade de 4 a 6 ns. Os complexos de A β com os outros flavonoides exibiram alguns picos de instabilidade: após 4 ns (FL319); em 8,5 ns (FL339); em 4 ns e de 7 a 9 ns (FL466); em 3 ns (FL511); e a partir de 5,5 ns (FL775). Observa-se também que entre os complexos do peptídeo com os flavonoides, aqueles com FL339, FL511 e FL807 foram os mais estáveis durante 6 ns da simulação (de 4 a 10 ns).

Os valores do RMSD para GSK-3 β foram demonstrados no gráfico variando entre 0,2 e 0,45 nm (Figura 17C). Ao comparar os resultados dos flavonoides com o do inibidor TMU, verifica-se que o complexo GSK-3 β -FL339 foi altamente instável principalmente após 4 ns de simulação. Os complexos com FL319 e com FL775 exibiram estabilidade satisfatória: entre 2 e 6 ns com FL319 e entre 4 e 8 ns com FL775.

A flexibilidade dos ligantes com os alvos também foi analisada através de gráficos do RMSD. O ligante que demonstrou maior estabilidade frente a AChE foi FL775, seguido pelo FL466 que perdeu a estabilidade somente após 8 ns do início da simulação de dinâmica (Figura 18A). FL511 e FL807 mostraram instabilidade assim como o controle donepezila. Quanto à flexibilidade das moléculas que interagiram com A β , constata-se que o FL775 foi o ligante mais

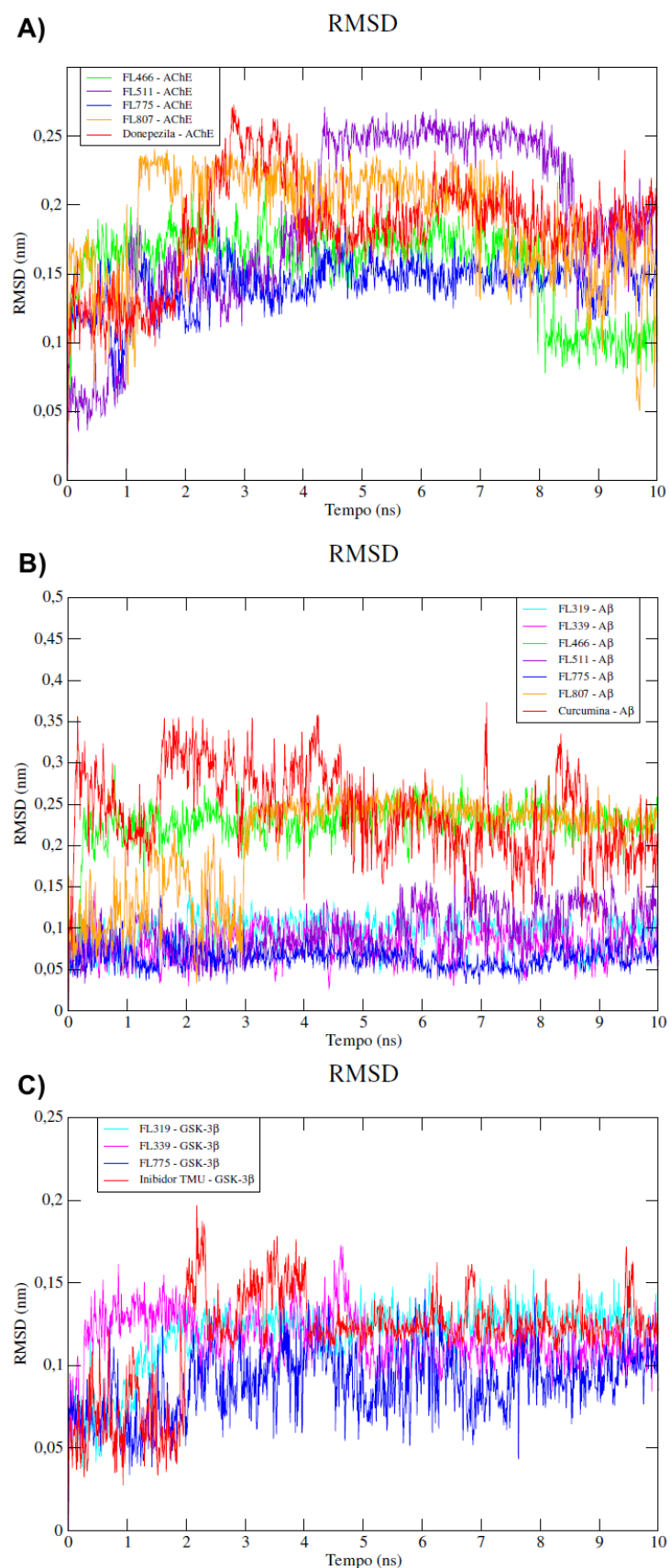
estável, seguido por FL319 e FL339 (Figura 18B). Os outros flavonoides demonstraram vários picos de instabilidade, entretanto, eles apresentaram melhores resultados que o controle curcumina, que foi o composto mais instável frente a A β . Acerca da estabilidade estrutural dos compostos complexados com GSK-3 β , o FL319 exibiu alta estabilidade a partir de 2 ns até o final da simulação (Figura 18C). FL339 foi mais estável que o inibidor TMU principalmente a partir de 6 ns, enquanto que FL775 foi instável entre 3 e 8 ns.

Figura 17: Valores do RMSD para os átomos de C α dos alvos complexados aos flavonoides e controles. A) AChE; B) A β ; C) GSK-3 β .



Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 18: Valores do RMSD para os átomos de C α dos flavonoides e dos controles complexados com os alvos. A) AChE; B) A β ; C) GSK-3 β .



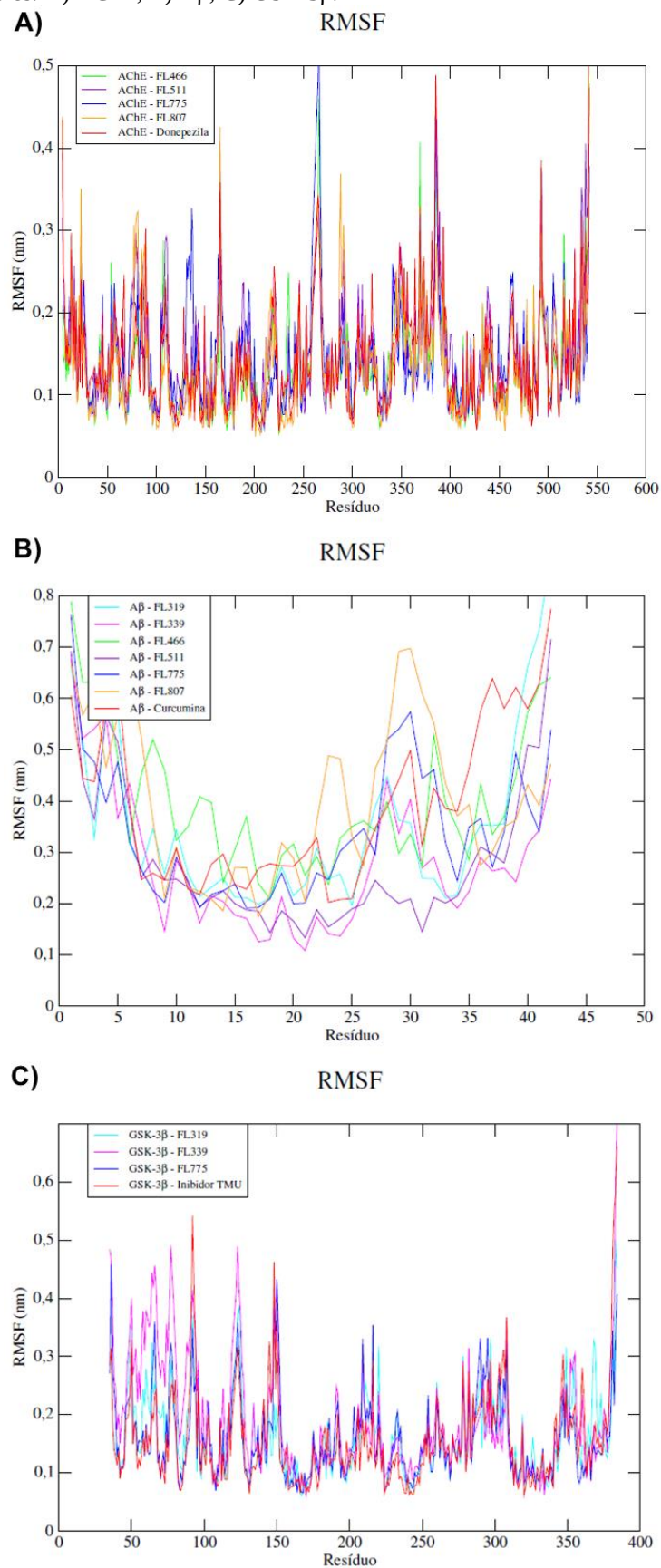
Fonte: Elaborada pela autora.

As flutuações dos resíduos de aminoácidos dos alvos complexados com os ligantes foram observadas através da análise da RMSF. Valores baixos da RMSF sugerem flexibilidade diminuída do resíduo, em contrapartida, valores altos indicam flexibilidade aumentada, sendo que resíduos com flutuações acima de 0,3 nm contribuem para as mudanças conformacionais dos alvos (DOS SANTOS MAIA *et al.*, 2020). Dessa forma, foram pesquisados os resíduos de aminoácidos com flutuações > 0,3 nm e se estes resíduos constituem ou não os sítios ativos dos alvos. Logo, foram analisados todos os resíduos da AChE que contribuíram com a flexibilidade da enzima: 4, 23, 77, 79, 80, 81, 89, 136, 165, 265-268, 288, 291, 369, 384-387, 389, 393, 493, 534, 535 e 538-542 (Figura 19A). Esses dados indicam que após a formação dos complexos da proteína com os ligantes, até 30 resíduos de um total de 542 favoreceram mudanças estruturais da AChE. Além disso, nenhum dos 30 resíduos constituem o CAS (resíduos 203, 334 e 447) ou o PAS (resíduos 72, 74, 124, 286 e 341) da enzima. Esses resultados sugerem que os flavonoides estabilizaram os resíduos do PAS da AChE.

No que se refere as flutuações dos resíduos em A β , verificou-se que os resíduos 1-6 estavam altamente flexíveis em todos os complexos formados (Figura 19B). Com relação aos resíduos da região CHC (17-21) do peptídeo, nota-se que apenas o resíduo 19 do complexo A β -FL807 demonstrou flutuação acima de 0,3 nm bem como o resíduo 20 do complexo A β -FL466. Os complexos com os outros flavonoides e com o controle não exibiram resíduos com flutuações elevadas nessa região. Ao verificar os resíduos da região hidrofóbica do terminal C (30-42), foi constatado que todos os complexos de A β com os ligantes apresentaram diversos resíduos dessa região com flutuações acima de 0,3 nm. Portanto, acredita-se que o peptídeo A β é estabilizado pelos flavonoides e pelo controle curcumina através da interação com a região CHC.

Os resíduos com flexibilidade elevada em GSK-3 β também foram investigados, obtendo-se os resíduos nas posições 35-37, 48-50, 53, 57-68, 74-80, 88-94, 119-125, 145, 148-151, 209, 216, 220, 278, 282, 290, 295, 297, 306, 308, 347, 349, 355, 368, 369, 380-384 (Figura 19C). Assim, entre 414 resíduos de GSK-3 β , 65 resíduos participaram de mudanças conformacionais da proteína. Os resultados obtidos para os complexos de GSK-3 β foram excelentes, visto que os resíduos do sítio de ligação do ATP que contribuem para a atividade e seletividade de inibidores (85, 97, 130-137, 141, 185 e 200) não apresentaram flutuações superiores a 0,3 nm. Assim, pode-se dizer que os flavonoides estabilizaram os resíduos do sítio ativo de GSK-3 β .

Figura 19: Valores da RMSF para os átomos de C α dos resíduos de aminoácidos dos alvos interagindo com os flavonoides e controles. A) AChE; B) A β ; C) GSK-3 β .



Fonte: Elaborada pela autora.

6. CONCLUSÃO

Através das análises computacionais realizadas neste estudo, foi possível selecionar seis flavonoides da família Asteraceae com potencial contra os alvos da doença de Alzheimer: FL319, FL339, FL466, FL511, FL775 e FL807. De acordo com os resultados obtidos *in silico*, as seguintes considerações podem ser feitas:

- Nos modelos de QSAR, os flavonoides demonstraram possível atividade multialvo: FL319 e FL339 provavelmente inibem a agregação do peptídeo A β e a atividade de GSK-3 β ; FL466, FL511 e FL807 poderiam inibir AChE e o processo de agregação de A β ; e FL775 foi indicado como provável inibidor dos três alvos. Além disso, os dados obtidos sugeriram que eles possivelmente atravessam a barreira hematoencefálica, sendo uma capacidade fundamental para atingir os alvos da doença e exercer atividade.
- Na avaliação dos riscos de citotoxicidade, os flavonoides relatados como também os metabólitos preditos para eles não exibiram riscos, com exceção do metabólito M4 originado da interação de FL511 com CYP2D6. No entanto, esse metabólito mostrou menor risco que o metabólito M10 da rivastigmina, dessa forma, considera-se que os flavonoides exibiram resultados excelentes na análise de citotoxicidade e praticamente não demonstram riscos à saúde humana.
- No estudo das violações à regra dos cinco de Lipinski, observou-se que os seis flavonoides são moléculas pequenas (peso molecular <500 g/mol), sendo uma característica que contribui para a sua permeabilidade nas membranas biológicas. Ainda, foi verificado que FL319, FL339, FL466 e FL775 são mais hidrofílicos, enquanto que FL511 e FL807 são mais lipofílicos. Como os flavonoides violaram no máximo 1 parâmetro da regra de Lipinski, acredita-se que eles têm alta probabilidade de serem biodisponíveis por via oral. Notou-se que esses flavonoides apresentam grupos doadores e aceptores de ligação de hidrogênio, que foram visualizados formando campos de interação molecular com as sondas NH e O de carbonila no programa Volsurf+. Esses resultados corroboram os dados da análise de *docking* molecular, na qual os flavonoides formaram ligações de hidrogênio com AChE, A β e GSK-3 β .
- No estudo dos parâmetros físico-químicos relacionados à atividade antioxidante, todos os seis flavonoides analisados foram mais reativos e apresentaram maior capacidade de perder um elétron e neutralizar radicais livres em comparação com o ácido ascórbico, indicando que eles possuem propriedades antioxidantes.

- Os procedimentos de *docking* molecular e de dinâmica molecular forneceram informações sobre os possíveis mecanismos de ação dos flavonoides e da estabilidade dos complexos ligante-alvo. No estudo de *docking*, FL466, FL511, FL775 e FL807 interagiram com os resíduos de aminoácidos do PAS (Tyr72, Asp74, Tyr124, Trp286 e Tyr341) da AChE. Na dinâmica, observou-se que esses resíduos não exibiram flutuações acima de 0,3 nm, indicando que eles foram estabilizados pelos flavonoides. Notou-se que os seis flavonoides interagiram com os resíduos Leu17 e Ala21 do CHC de A β , estabilizando-os. Também foi verificado que FL319, FL339 e FL775 interagiram com os resíduos Leu132, Tyr134, Val135 e Arg141 do sítio de ligação do ATP de GSK-3 β , estabilizando-os.
- Portanto, conclui-se que os flavonoides investigados neste trabalho possuem propriedades físico-químicas favoráveis e provavelmente apresentam atividade multialvo contra a doença de Alzheimer, demonstrando potencial para serem testados experimentalmente.

REFERÊNCIAS

- ABDEL-LATEIF, Khalid; BOGUSZ, Didier; HOCHER, Valérie. The role of flavonoids in the establishment of plant roots endosymbioses with arbuscular mycorrhiza fungi, rhizobia and Frankia bacteria. **Plant Signaling and Behavior**, [s. l.], v. 7, n. 6, p. 636–641, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.4161/psb.20039>
- ABDOLMALEKI, Azizeh; GHASEMI, Jahan; GHASEMI, Fatemeh. Computer Aided Drug Design for Multi-Target Drug Design: SAR /QSAR, Molecular Docking and Pharmacophore Methods. **Current Drug Targets**, [s. l.], v. 18, n. 5, p. 556–575, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.2174/1389450117666160101120822>
- ABUALKIBASH, Munther. Machine Learning in Network Security Using KNIME Analytics. **International Journal of Network Security & Its Applications**, [s. l.], v. 11, n. 5, p. 1–14, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.5121/ijnsa.2019.11501>
- ADEBAYO, A H *et al.* Anticancer and antiradical scavenging activity of *Ageratum conyzoides* L. (Asteraceae). **Pharmacognosy magazine**, [s. l.], v. 6, n. 21, p. 62–66, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.4103/0973-1296.59968>
- AGOSTINHO, Paula *et al.* Localization and Trafficking of Amyloid- β Protein Precursor and Secretases: Impact on Alzheimer's Disease. **Journal of Alzheimer's Disease**, [s. l.], v. 45, n. 2, p. 329–347, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.3233/JAD-142730>
- AL QARAGHULI, Mohammed; KUBIAK-OSSOWSKA, Karina; MULHERAN, Paul. Thinking outside the Laboratory: Analyses of Antibody Structure and Dynamics within Different Solvent Environments in Molecular Dynamics (MD) Simulations. **Antibodies**, [s. l.], v. 7, n. 3, p. 21, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/antib7030021>
- ALONSO VILATELA, María Elisa; LÓPEZ-LÓPEZ, Marisol; YESCAS-GÓMEZ, Petra. Genetics of Alzheimer's Disease. **Archives of Medical Research**, [s. l.], v. 43, n. 8, p. 622–631, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2012.10.017>
- ALZHEIMER'S ASSOCIATION. 2020 Alzheimer's disease facts and figures. **Alzheimer's & Dementia**, [s. l.], v. 16, n. 3, p. 391–460, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/alz.12068>
- ALZHEIMER'S ASSOCIATION. 2021 Alzheimer's disease facts and figures. **Alzheimer's & Dementia**, [s. l.], v. 17, n. 3, p. 327–406, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/alz.12328>
- AMBURE, Pravin *et al.* Identifying natural compounds as multi-target-directed ligands against Alzheimer's disease: an in silico approach. **Journal of Biomolecular Structure and Dynamics**, [s. l.], v. 37, n. 5, p. 1282–1306, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/07391102.2018.1456975>
- AMBURE, Pravin; DIAS SOEIRO CORDEIRO, Natália M. Importance of Data Curation in QSAR Studies Especially While Modeling Large-Size Datasets. In: ROY, Kunal (org.). **Ecotoxicological QSARs. Methods in Pharmacology and Toxicology**. New York: Humana Press, 2020. p. 97–109.

AMINOFF, Bechor Zvi. Mrs Auguste D{eter} demise in 1906 was in Aminoff Suffering Syndrome. **American Journal of Alzheimer's Disease & Other Dementias**, [s. l.], v. 29, n. 3, p. 199–200, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1177/1533317513511288>

AMOS, Ruth I.J. *et al.* Molecular modeling and prediction accuracy in Quantitative Structure-Retention Relationship calculations for chromatography. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, [s. l.], v. 105, p. 352–359, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.05.019>

AN, Yu *et al.* Dietary intakes and biomarker patterns of folate, Vitamin B6, and Vitamin B12 can be associated with cognitive impairment by hypermethylation of redox-related genes NUDT15 and TXNRD1. **Clinical Epigenetics**, [s. l.], v. 11, n. 1, p. 1–19, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s13148-019-0741-y>

ARVANITAKIS, Zoe; SHAH, Raj C.; BENNETT, David A. Diagnosis and Management of Dementia: Review. **JAMA**, [s. l.], v. 322, n. 16, p. 1589, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1001/jama.2019.4782>

ASOKKUMAR, Kuppusamy *et al.* Design, ADMET and docking studies on some novel chalcone derivatives as soluble epoxide hydrolase enzyme inhibitors. **Journal of the Chilean Chemical Society**, [s. l.], v. 57, n. 4, p. 1442–1446, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.4067/S0717-97072012000400022>

ASSOCIATION, Alzheimer. 2018 Alzheimer's disease facts and figures. **Alzheimer's & Dementia**, [s. l.], v. 14, n. 3, p. 367–429, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2018.02.001>

ASSOCIATION, Alzheimer. 2019 Alzheimer's disease facts and figures. **Alzheimer's & Dementia**, [s. l.], v. 15, n. 3, p. 321–387, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2019.01.010>

AYDEMIR, Orhan *et al.* Antioxidant effects of alpha-, gamma- and succinate-tocopherols in guinea pig retina during ischemia-reperfusion injury. **Pathophysiology**, [s. l.], v. 11, n. 3, p. 167–171, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.pathophys.2004.08.001>

AZAM, Faizul *et al.* NSAIDs as potential treatment option for preventing amyloid β toxicity in Alzheimer's disease: an investigation by docking, molecular dynamics, and DFT studies. **Journal of Biomolecular Structure and Dynamics**, [s. l.], v. 36, n. 8, p. 2099–2117, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/07391102.2017.1338164>

BADHANI, Bharti; SHARMA, Neha; KAKKAR, Rita. Gallic acid: A versatile antioxidant with promising therapeutic and industrial applications. **RSC Advances**, [s. l.], v. 5, n. 35, p. 27540–27557, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/c5ra01911g>

BAJDA, M. *et al.* Multi-Target-Directed Ligands in Alzheimer's Disease Treatment. **Current Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 18, n. 32, p. 4949–4975, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.2174/092986711797535245>

BALIN, Brian J.; HUDSON, Alan P. Etiology and Pathogenesis of Late-Onset Alzheimer's Disease. **Current Allergy and Asthma Reports**, [s. l.], v. 14, n. 3, p. 417, 2014. Disponível

em: <https://doi.org/10.1007/s11882-013-0417-1>

BANEGAS-LUNA, Antonio Jesús; CERÓN-CARRASCO, José P.; PÉREZ-SÁNCHEZ, Horacio. A review of ligand-based virtual screening web tools and screening algorithms in large molecular databases in the age of big data. **Future Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 10, n. 22, p. 2641–2658, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.4155/fmc-2018-0076>

BANERJEE, Anindita *et al.* Vitamin D and Alzheimer's Disease: Neurocognition to Therapeutics. **International Journal of Alzheimer's Disease**, [s. l.], v. 2015, p. 1–11, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2015/192747>

BANERJEE, Priyanka *et al.* Super Natural II-a database of natural products. **Nucleic Acids Research**, [s. l.], v. 43, n. D1, p. D935–D939, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/nar/gku886>

BANKS, William A. Drug delivery to the brain in Alzheimer's disease: Consideration of the blood-brain barrier. **Advanced Drug Delivery Reviews**, [s. l.], v. 64, n. 7, p. 629–639, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.addr.2011.12.005>

BATUM, Kübra *et al.* The connection between MCI and Alzheimer disease: Neurocognitive clues. **Turkish Journal of Medical Sciences**, [s. l.], v. 45, n. 5, p. 1137–1140, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.3906/sag-1404-179>

BENET, Leslie Z. *et al.* BDDCS, the Rule of 5 and drugability. **Advanced Drug Delivery Reviews**, [s. l.], v. 101, n. 5, p. 89–98, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.addr.2016.05.007>

BESSADA, Sílvia M.F.; BARREIRA, João C.M.; OLIVEIRA, M. Beatriz P.P. Asteraceae species with most prominent bioactivity and their potential applications: A review. **Industrial Crops and Products**, [s. l.], v. 76, p. 604–615, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.07.073>

BHAT, Ratan *et al.* Structural Insights and Biological Effects of Glycogen Synthase Kinase 3-specific Inhibitor AR-A014418. **Journal of Biological Chemistry**, [s. l.], v. 278, n. 46, p. 45937–45945, 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.1074/jbc.M306268200>

BHATTACHARJEE, Rituparna; DEVI, Arpita; MISHRA, Seema. Molecular docking and molecular dynamics studies reveal structural basis of inhibition and selectivity of inhibitors EGCG and OSU-03012 toward glucose regulated protein-78 (GRP78) overexpressed in glioblastoma. **Journal of Molecular Modeling**, [s. l.], v. 21, n. 10, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00894-015-2801-3>

BHUSHAN, Ambika *et al.* Adherence to Mediterranean diet and subjective cognitive function in men. **European Journal of Epidemiology**, [s. l.], v. 33, n. 2, p. 223–234, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10654-017-0330-3>

BIESSELS, Geert Jan; DESPA, Florin. Cognitive decline and dementia in diabetes mellitus: mechanisms and clinical implications. **Nature Reviews Endocrinology**, [s. l.], v. 14, n. 10, p. 591–604, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41574-018-0048-7>

BLANCO-SILVENTE, Lúdia *et al.* Predictors of discontinuation, efficacy, and safety of memantine treatment for Alzheimer's disease: meta-analysis and meta-regression of 18 randomized clinical trials involving 5004 patients. **BMC Geriatrics**, [s. l.], v. 18, n. 1, p. 168, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12877-018-0857-5>

BLÁZQUEZ, Enrique *et al.* Insulin in the brain: Its pathophysiological implications for states related with central insulin resistance, type 2 diabetes and alzheimer's disease. **Frontiers in Endocrinology**, [s. l.], v. 5, n. OCT, p. 1–21, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fendo.2014.00161>

BONDA, David J. *et al.* Oxidative stress in Alzheimer disease: A possibility for prevention. **Neuropharmacology**, [s. l.], v. 59, n. 4–5, p. 290–294, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2010.04.005>

BONDI, Mark W.; EDMONDS, Emily C.; SALMON, David P. Alzheimer's disease: Past, present, and future. **Journal of the International Neuropsychological Society**, [s. l.], v. 23, n. 9–10, p. 818–831, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1017/S135561771700100X>

BONETTI, Francesco *et al.* Cognitive status according to homocysteine and B-group vitamins in elderly adults. **Journal of the American Geriatrics Society**, [s. l.], v. 63, n. 6, p. 1158–1163, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/jgs.13431>

BONITO-OLIVA, Alessandra *et al.* Nucleobindin 1 binds to multiple types of pre-fibrillar amyloid and inhibits fibrillization. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 7, p. 1–12, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/srep42880>

BOTCHWAY, Benson Opare Asamoah; IYER, Ishwari Chandran. Alzheimer's Disease – The Past, the Present and the Future. **Science Journal of Clinical Medicine**, [s. l.], v. 6, n. 1, p. 1–19, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.11648/j.sjcm.20170601.11>

BRANCA, Caterina *et al.* Dyrk1 inhibition improves Alzheimer's disease-like pathology. **Aging Cell**, [s. l.], v. 16, n. 5, p. 1146–1154, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/acel.12648>

BRITO, Monique Araújo de. Pharmacokinetic study with computational tools in the medicinal chemistry course. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, [s. l.], v. 47, n. 4, p. 797–805, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1984-82502011000400017>

BRODY, A. Harrison; STRITTMATTER, Stephen M. **Synaptotoxic Signaling by Amyloid Beta Oligomers in Alzheimer's Disease Through Prion Protein and mGluR5**. 1. ed. [S. l.]: Elsevier Inc., 2018. ISSN 15578925.v. 82 Disponível em: <https://doi.org/10.1016/bs.apha.2017.09.007>

BUER, Charles S.; IMIN, Nijat; DJORDJEVIC, Michael A. Flavonoids: New Roles for Old Molecules. **Journal of Integrative Plant Biology**, [s. l.], v. 52, n. 1, p. 98–111, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1744-7909.2010.00905.x>

BURKE, Shanna L. *et al.* Psychosocial risk factors and Alzheimer's disease: the associative effect of depression, sleep disturbance, and anxiety. **Aging and Mental Health**, [s. l.], v. 22, n. 12, p. 1577–1584, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/13607863.2017.1387760>

BUSSI, Giovanni; DONADIO, Davide; PARRINELLO, Michele. Canonical sampling through velocity rescaling. **The Journal of Chemical Physics**, [s. l.], v. 126, n. 1, p. 014101, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1063/1.2408420>

BUTTERFIELD, D. Allan; HALLIWELL, Barry. Oxidative stress, dysfunctional glucose metabolism and Alzheimer disease. **Nature Reviews Neuroscience**, [s. l.], v. 20, n. 3, p. 148–160, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41583-019-0132-6>

CAMPDELAUREU, J. Parkinson's disease and Alzheimer disease: environmental risk factors. **Neurología (English Edition)**, [s. l.], v. 29, n. 9, p. 541–549, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.nrleng.2012.04.022>

CARVALHO, Cristina; CARDOSO, Susana. Diabetes-Alzheimer's Disease Link: Targeting Mitochondrial Dysfunction and Redox Imbalance. **Antioxidants and Redox Signaling**, [s. l.], v. 34, n. 8, p. 631–649, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1089/ars.2020.8056>

CERQUEIRA, Nuno M.F.S.A. *et al.* Receptor-based virtual screening protocol for drug discovery. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, [s. l.], v. 582, p. 56–67, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.abb.2015.05.011>

CHA, Moon Yong *et al.* Mitochondria-specific accumulation of amyloid β induces mitochondrial dysfunction leading to apoptotic cell death. **PLoS ONE**, [s. l.], v. 7, n. 4, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0034929>

CHAKRABORTY, Sandipan; BASU, Soumalee. Multi-functional activities of citrus flavonoid naringenin in Alzheimer's disease therapeutics: An integrated screening approach and in vitro validation. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s. l.], v. 103, p. 733–743, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.05.110>

CHAUHAN, Ved; CHAUHAN, Abha. Oxidative stress in Alzheimer's disease. **Pathophysiology**, [s. l.], v. 13, n. 3, p. 195–208, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.pathophys.2006.05.004>

CHEIGNON, C. *et al.* Oxidative stress and the amyloid beta peptide in Alzheimer's disease. **Redox Biology**, [s. l.], v. 14, n. September 2017, p. 450–464, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.redox.2017.10.014>

CHEN, Wen *et al.* Familial Alzheimer's mutations within APP^{T66E} increase A β 42 production by enhancing accessibility of ϵ -cleavage site. **Nature Communications**, [s. l.], v. 5, p. 1–7, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/ncomms4037>

CHEN, Ya; DE BRUYN KOPS, Christina; KIRCHMAIR, Johannes. Data Resources for the Computer-Guided Discovery of Bioactive Natural Products. **Journal of Chemical Information and Modeling**, [s. l.], v. 57, n. 9, p. 2099–2111, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.7b00341>

CHEN, Yao *et al.* Synthesis and bioevaluation of new tacrine-cinnamic acid hybrids as cholinesterase inhibitors against Alzheimer's disease. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 33, n. 1, p. 290–302, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/14756366.2017.1412314>

CHEN, Zhichun; ZHONG, Chunjiu. Oxidative stress in Alzheimer's disease. **Neuroscience Bulletin**, [s. l.], v. 30, n. 2, p. 271–281, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12264-013-1423-y>

CHEN, Zhongjian *et al.* Metabolism of Flavonoids in Human: A Comprehensive Review. **Current Drug Metabolism**, [s. l.], v. 15, n. 1, p. 48–61, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.2174/138920021501140218125020>

CHENG, Feixiong *et al.* admetSAR: A Comprehensive Source and Free Tool for Assessment of Chemical ADMET Properties. **Journal of Chemical Information and Modeling**, [s. l.], v. 52, n. 11, p. 3099–3105, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/ci300367a>

CHENG, Jinbo *et al.* The combination of 1 α ,25dihydroxyvitaminD3 with resveratrol improves neuronal degeneration by regulating endoplasmic reticulum stress, insulin signaling and inhibiting tau hyperphosphorylation in SH-SY5Y cells. **Food and Chemical Toxicology**, [s. l.], v. 93, p. 32–40, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2016.04.021>

CHENG, Zhiyong *et al.* Study on the multiple mechanisms underlying the reaction between hydroxyl radical and phenolic compounds by qualitative structure and activity relationship. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 10, n. 12, p. 4067–4073, 2002. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0968-0896\(02\)00267-5](https://doi.org/10.1016/S0968-0896(02)00267-5)

CHEUNG, Jonah *et al.* Structures of human acetylcholinesterase bound to dihydrotanshinone i and territrem B show peripheral site flexibility. **ACS Medicinal Chemistry Letters**, [s. l.], v. 4, n. 11, p. 1091–1096, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/ml400304w>

CHICCO, Davide; JURMAN, Giuseppe. The advantages of the Matthews correlation coefficient (MCC) over F1 score and accuracy in binary classification evaluation. **BMC Genomics**, [s. l.], v. 21, n. 1, p. 1–13, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12864-019-6413-7>

CHUANG, Kangway V.; GUNSALUS, Laura M.; KEISER, Michael J. Learning Molecular Representations for Medicinal Chemistry. **Journal of Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 63, n. 16, p. 8705–8722, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.0c00385>

CIMATTI, Helen Mariana Baldan. **Farmacocinética pré-clínica e avaliação toxicológica do novo composto α -2-adrenérgico 3- (2-cloro-6-fluorobenzil)-imidazolidina-2-4-diona - PT-31 GIRSUPAN**. 131 f. 2013. - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, [s. l.], 2013.

CIPRIANI, G.; DANTI, S.; CARLESÌ, C. Three men in a (same) boat: Alzheimer, Pick, Lewy. Historical notes. **European Geriatric Medicine**, [s. l.], v. 7, n. 6, p. 526–530, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.eurger.2016.08.001>

CIPRIANI, Gabriele *et al.* Alzheimer and his disease: A brief history. **Neurological Sciences**, [s. l.], v. 32, n. 2, p. 275–279, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10072-010-0454-7>

CLARK, David E. What has virtual screening ever done for drug discovery? **Expert Opinion on Drug Discovery**, [s. l.], v. 3, n. 8, p. 841–851, 2008. Disponível em:

<https://doi.org/10.1517/17460441.3.8.841>

CLARK, Timothy A. *et al.* Oxidative stress and its implications for future treatments and management of alzheimer disease. **International Journal of Biomedical Science**, [s. l.], v. 6, n. 3, p. 225–227, 2010.

COBIANCHI, Stefano *et al.* Neuroprotective Effects of Exercise Treatments After Injury: The Dual Role of Neurotrophic Factors. **Current Neuroparmacology**, [s. l.], v. 15, n. 4, p. 495–518, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.2174/1570159X14666160330105132>

COIMBRA, Judite R.M. *et al.* Highlights in BACE1 inhibitors for Alzheimer's disease treatment. **Frontiers in Chemistry**, [s. l.], v. 6, n. MAY, p. 1–10, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fchem.2018.00178>

COURADE, Jean Philippe *et al.* Epitope determines efficacy of therapeutic anti-Tau antibodies in a functional assay with human Alzheimer Tau. **Acta Neuropathologica**, [s. l.], v. 136, n. 5, p. 729–745, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00401-018-1911-2>

CROUS-BOU, Marta *et al.* Alzheimer's disease prevention: From risk factors to early intervention. **Alzheimer's Research and Therapy**, [s. l.], v. 9, n. 1, p. 1–9, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s13195-017-0297-z>

CULQUI, D. R. *et al.* Association between environmental factors and emergency hospital admissions due to Alzheimer's disease in Madrid. **Science of the Total Environment**, [s. l.], v. 592, p. 451–457, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.03.089>

CUMMINGS, Jeffrey *et al.* Alzheimer's disease drug development pipeline: 2018. **Alzheimer's and Dementia: Translational Research and Clinical Interventions**, [s. l.], v. 4, n. 2018, p. 195–214, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.trci.2018.03.009>

DA SILVA ROCHA, Sheisi F.L. *et al.* Virtual Screening Techniques in Drug Discovery: Review and Recent Applications. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 19, n. 19, p. 1751–1767, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.2174/1568026619666190816101948>

DAR, Khalid Bashir *et al.* Modern Computational Strategies for Designing Drugs to Curb Human Diseases: A Prospect. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 18, n. 31, p. 2702–2719, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.2174/1568026619666190119150741>

DE VIVO, Marco *et al.* Role of Molecular Dynamics and Related Methods in Drug Discovery. **Journal of Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 59, n. 9, p. 4035–4061, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.5b01684>

DEPYPERE, H. *et al.* Alzheimer's disease, apolipoprotein E and hormone replacement therapy. **Maturitas**, [s. l.], v. 94, p. 98–105, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.maturitas.2016.09.009>

DIETZ, Christian *et al.* Integration of the ImageJ Ecosystem in KNIME Analytics Platform. **Frontiers in Computer Science**, [s. l.], v. 2, n. March, p. 1–17, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fcomp.2020.00008>

DOIG, Andrew J.; DERREUMAUX, Philippe. Inhibition of protein aggregation and amyloid formation by small molecules. **Current Opinion in Structural Biology**, [s. l.], v. 30, p. 50–56, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2014.12.004>

DOS SANTOS MAIA, Mayara *et al.* Virtual Screening and the In Vitro Assessment of the Antileishmanial Activity of Lignans. **Molecules**, [s. l.], v. 25, n. 10, p. 2281, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules25102281>

DOU, Jie *et al.* Assessment of advanced random forest and decision tree algorithms for modeling rainfall-induced landslide susceptibility in the Izu-Oshima Volcanic Island, Japan. **Science of the Total Environment**, [s. l.], v. 662, p. 332–346, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.01.221>

DOUCHAMPS, Vincent; MATHIS, Chantal. A second wind for the cholinergic system in Alzheimer's therapy. **Behavioural Pharmacology**, [s. l.], v. 28, n. 2-3 Special Issue, p. 112–123, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1097/FBP.0000000000000300>

DUNCAN, Thomas; VALENZUELA, Michael. Alzheimer's disease, dementia, and stem cell therapy. **Stem Cell Research and Therapy**, [s. l.], v. 8, n. 1, p. 1–9, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s13287-017-0567-5>

DURAZZO, Timothy C.; MATTSSON, Niklas; WEINER, Michael W. Smoking and increased Alzheimer's disease risk: A review of potential mechanisms. **Alzheimer's and Dementia**, [s. l.], v. 10, n. 3 SUPPL., p. S122–S145, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2014.04.009>

DUTTA, Mary; MATTAPARTHI, Venkata Satish Kumar. Inhibition of A β 1–42 peptide aggregation using short ss-oligonucleotide as polyions: an in silico approach. **Journal of Biomolecular Structure and Dynamics**, [s. l.], v. 35, n. 7, p. 1401–1406, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/07391102.2016.1189358>

EBHOHIMEN, Israel Ehizuelen *et al.* Advances in computer-aided drug discovery. In: EGBUNA, Chukwuebuka *et al.* (org.). **Phytochemicals as Lead Compounds for New Drug Discovery**. [S. l.]: Elsevier Inc., 2019. p. 25–37. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817890-4.00003-2>

EDLER, Melissa K. *et al.* Aged chimpanzees exhibit pathologic hallmarks of Alzheimer's disease. **Neurobiology of Aging**, [s. l.], v. 59, p. 107–120, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2017.07.006>

EGIEYEH, Samuel *et al.* Predictive classifier models built from natural products with antimalarial bioactivity using machine learning approach. **PLoS ONE**, [s. l.], v. 13, n. 9, p. 1–15, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0204644>

EKINS, Sean; BERBAUM, Jennifer; HARRISON, Richard K. Generation and validation of rapid computational filters for CYP2D6 and CYP3A4. **Drug Metabolism and Disposition**, [s. l.], v. 31, n. 9, p. 1077–1080, 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.1124/dmd.31.9.1077>

ELANGO VAN, Nandha Devi *et al.* Screening of potential drug for Alzheimer's disease: a computational study with GSK-3 β inhibition through virtual screening, docking, and molecular

dynamics simulation. **Journal of Biomolecular Structure and Dynamics**, [s. l.], v. 0, n. 0, p. 1–15, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1805362>

FALCÓN-CANO, Gabriela; CABRERA-PÉREZ, Miguel Ángel; MOLINA, Christophe. ADME prediction with KNIME: In silico aqueous solubility consensus model based on supervised recursive random forest approaches. **ADMET and DMPK**, [s. l.], v. 8, n. 3, p. 251–273, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.5599/admet.852>

FALCÓN-CANO, Gabriela; MOLINA, Christophe; CABRERA-PÉREZ, Miguel Ángel. ADME Prediction with KNIME: Development and Validation of a Publicly Available Workflow for the Prediction of Human Oral Bioavailability. **Journal of Chemical Information and Modeling**, [s. l.], v. 60, n. 6, p. 2660–2667, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.0c00019>

FANTINI, Massimo *et al.* In vitro and in vivo antitumoral effects of combinations of polyphenols, or polyphenols and anticancer drugs: Perspectives on cancer treatment. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 16, n. 5, p. 9236–9282, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms16059236>

FAROOQ, Ammarah *et al.* A deep CNN based multi-class classification of Alzheimer's disease using MRI. In: , 2017. **2017 IEEE International Conference on Imaging Systems and Techniques (IST)**. [S. l.]: IEEE, 2017. p. 1–6. Disponível em: <https://doi.org/10.1109/IST.2017.8261460>

FAUCHER, Pierre *et al.* Hippocampal injections of oligomeric amyloid β -peptide (1-42) induce selective working memory deficits and long-lasting alterations of ERK signaling pathway. **Frontiers in Aging Neuroscience**, [s. l.], v. 7, n. JAN, p. 1–15, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fnagi.2015.00245>

FÉLIX, Mayara B. *et al.* Antileishmanial activity of new thiophene–indole hybrids: Design, synthesis, biological and cytotoxic evaluation, and chemometric studies. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 24, n. 18, p. 3972–3977, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2016.04.057>

FERNANDES, Mariane Ballerini. **Permeabilidade in vitro e in silico de análogos à nifuroxazida com atividade potencial frente a cepas multirresistentes de Staphylococcus aureus**. [S. l.]: Universidade de São Paulo, 2012.

GAO, Yong-Lei *et al.* Tau in neurodegenerative disease. **Annals of Translational Medicine**, [s. l.], v. 6, n. 10, p. 175–175, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.21037/atm.2018.04.23>

GARDENER, Hannah; CAUNCA, Michelle R. Mediterranean Diet in Preventing Neurodegenerative Diseases. **Current Nutrition Reports**, [s. l.], v. 7, n. 1, p. 10–20, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s13668-018-0222-5>

GAULTON, Anna *et al.* The ChEMBL database in 2017. **Nucleic Acids Research**, [s. l.], v. 45, n. D1, p. D945–D954, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/nar/gkw1074>

GELLA, Alejandro; DURANY, Nuria. Oxidative stress in Alzheimer disease. **Cell Adhesion and Migration**, [s. l.], v. 3, n. 1, p. 88–93, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.4161/cam.3.1.7402>

GERAKIS, Yannis; HETZ, Claudio. Emerging roles of ER stress in the etiology and pathogenesis of Alzheimer's disease. **FEBS Journal**, [s. l.], v. 285, n. 6, p. 995–1011, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/febs.14332>

GHOSH, Sujit Madhab; BEHERA, Mukunda Dev. Aboveground biomass estimation using multi-sensor data synergy and machine learning algorithms in a dense tropical forest. **Applied Geography**, [s. l.], v. 96, n. May, p. 29–40, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.apgeog.2018.05.011>

GIMENO, Aleix *et al.* The Light and Dark Sides of Virtual Screening: What Is There to Know? **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 20, n. 6, p. 1375, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms20061375>

GORE, Mohini; DESAI, Neetin S. Computer-Aided Drug Designing. In: TRENT, Ronald (org.). **Clinical Bioinformatics. Methods in Molecular Biology (Methods and Protocols)**. New York: Humana Press, 2014. v. 1168, p. 313–321. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-1-4939-0847-9_18

GRIMM, Marcus O.W.; METT, Janine; HARTMANN, Tobias. The impact of Vitamin E and other fat-soluble vitamins on Alzheimer's disease. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 17, n. 11, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms17111785>

GRISONI, Francesca; CONSONNI, Viviana; TODESCHINI, Roberto. Impact of Molecular Descriptors on Computational Models. In: BROWN, J. B. (org.). **Computational Chemogenomics. Methods in Molecular Biology**. New York: Humana Press, 2018. v. 1825, p. 171–209. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8639-2_5

GUERREIRO, Rita; BRAS, Jose. The age factor in Alzheimer's disease. **Genome Medicine**, [s. l.], v. 7, n. 1, p. 1–3, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s13073-015-0232-5>

GUIVERNAU, Biuse *et al.* Amyloid- β peptide nitrotyrosination stabilizes oligomers and enhances NMDAR-mediated toxicity. **Journal of Neuroscience**, [s. l.], v. 36, n. 46, p. 11693–11703, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1081-16.2016>

GUPTA, Meenakshi; SHARMA, Ruchika; KUMAR, Anoop. Docking techniques in pharmacology: How much promising? **Computational Biology and Chemistry**, [s. l.], v. 76, n. July, p. 210–217, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.compbiolchem.2018.06.005>

HALEAGRAHARA, Nagaraja; SIEW, Cheng Jun; PONNUSAMY, Kumar. Effect of quercetin and desferrioxamine on 6-hydroxydopamine (6-OHDA) induced neurotoxicity in striatum of rats. **The Journal of Toxicological Sciences**, [s. l.], v. 38, n. 1, p. 25–33, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.2131/jts.38.25>

HALL, Alicia M.; ROBERSON, Erik D. Mouse models of Alzheimer's disease. **Brain Research Bulletin**, [s. l.], v. 88, n. 1, p. 3–12, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2011.11.017>

HAMPEL, Harald *et al.* The β -Secretase BACE1 in Alzheimer's Disease. **Biological Psychiatry**, [s. l.], n. 11, p. 1–12, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2020.02.001>

HAQUE, Rafi U.; LEVEY, Allan I. Alzheimer's disease: A clinical perspective and future nonhuman primate research opportunities. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, [s. l.], v. 116, n. 52, p. 26224–26229, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1073/pnas.1912954116>

HASSAN BAIG, Mohammad *et al.* Computer Aided Drug Design: Success and Limitations. **Current Pharmaceutical Design**, [s. l.], v. 22, p. 572–581, 2016.

HERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ, Maricarmen *et al.* Design of multi-target compounds as AChE, BACE1, and amyloid- β 1-42 oligomerization inhibitors: In silico and in vitro studies. **Journal of Alzheimer's Disease**, [s. l.], v. 41, n. 4, p. 1073–1085, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.3233/JAD-140471>

HOENIG, Merle Christine *et al.* Tau pathology and cognitive reserve in Alzheimer's disease. **Neurobiology of Aging**, [s. l.], v. 57, p. 1–7, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2017.05.004>

HOFFMANN, Jessica *et al.* Association Between Homocysteine and Vitamin Levels in Demented Patients. **Journal of Alzheimer's Disease**, [s. l.], v. Preprint, p. 1–12, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3233/JAD-201481>

HOLTHOFF, Vjera A. *et al.* Effects of physical activity training in patients with alzheimer's dementia: Results of a pilot RCT study. **PLoS ONE**, [s. l.], v. 10, n. 4, p. 1–11, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0121478>

HONIG, Lawrence S. *et al.* Trial of solanezumab for mild dementia due to Alzheimer's disease. **New England Journal of Medicine**, [s. l.], v. 378, n. 4, p. 321–330, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1705971>

HOU, Yue *et al.* Neurotoxic mechanism of homocysteine in hippocampal neurons. **Nutritional Neuroscience**, [s. l.], v. 13, n. 5, p. 222–229, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1179/147683010X12611460764561>

HUANG, Wen Juan; ZHANG, Xia; CHEN, Wei Wei. Role of oxidative stress in Alzheimer's disease (review). **Biomedical Reports**, [s. l.], v. 4, n. 5, p. 519–522, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.3892/br.2016.630>

HUANG, Yadong; MAHLEY, Robert W. Apolipoprotein E: Structure and function in lipid metabolism, neurobiology, and Alzheimer's diseases. **Neurobiology of Disease**, [s. l.], v. 72, n. Part A, p. 3–12, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2014.08.025>

IMTIAZ, Bushra *et al.* Future directions in Alzheimer's disease from risk factors to prevention. **Biochemical Pharmacology**, [s. l.], v. 88, n. 4, p. 661–670, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2014.01.003>

JABIR, Nasimudeen R.; KHAN, Fayaz Rahman; TABREZ, Shams. Cholinesterase targeting by polyphenols: A therapeutic approach for the treatment of alzheimer's disease. **CNS Neuroscience and Therapeutics**, [s. l.], v. 24, n. 9, p. 753–762, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/cns.12971>

JAHANGIRI, Mehdi; JAHANGIRI, Milad; NAJAFGHOLIPOUR, Mohammadamir. The sensitivity and specificity analyses of ambient temperature and population size on the transmission rate of the novel coronavirus (COVID-19) in different provinces of Iran. **Science of the Total Environment**, [s. l.], v. 728, p. 138872, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138872>

JALILI-BALEH, Leili *et al.* A review on flavonoid-based scaffolds as multi-target-directed ligands (MTDLs) for Alzheimer's disease. **European Journal of Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 152, p. 570–589, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.05.004>

JIANG, Teng *et al.* Epidemiology and Etiology of Alzheimer's disease: From Genetic to Non-Genetic Factors. **Current Alzheimer Research**, [s. l.], v. 10, n. 8, p. 852–867, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.2174/15672050113109990155>

JIN, Nana *et al.* Truncation and activation of GSK-3 β by calpain I: A molecular mechanism links to tau hyperphosphorylation in Alzheimer's disease. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 5, p. 1–13, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/srep08187>

JIN, Yan; TU, Qiuyun; LIU, Min. MicroRNA-125b regulates Alzheimer's disease through SphK1 regulation. **Molecular Medicine Reports**, [s. l.], v. 18, n. 2, p. 2373–2380, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3892/mmr.2018.9156>

JOHANNSSON, Magnus *et al.* The acetylcholine index: An electroencephalographic marker of cholinergic activity in the living human brain applied to Alzheimer's disease and other dementias. **Dementia and Geriatric Cognitive Disorders**, [s. l.], v. 39, n. 3–4, p. 132–142, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1159/000367889>

JOHNSON, G.; MOORE, S. The Peripheral Anionic Site of Acetylcholinesterase: Structure, Functions and Potential Role in Rational Drug Design. **Current Pharmaceutical Design**, [s. l.], v. 12, n. 2, p. 217–225, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.2174/138161206775193127>

JU, Yaojun; CHAKRAVARTY, Harapriya; TAM, Kin Yip. An Isoquinolinium Dual Inhibitor of Cholinesterases and Amyloid β Aggregation Mitigates Neuropathological Changes in a Triple-Transgenic Mouse Model of Alzheimer's Disease. **ACS Chemical Neuroscience**, [s. l.], v. 11, n. 20, p. 3346–3357, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acscchemneuro.0c00464>

KABIR, Md. Tanvir *et al.* Cholinesterase Inhibitors for Alzheimer's Disease: Multitargeting Strategy Based on Anti-Alzheimer's Drugs Repositioning. **Current Pharmaceutical Design**, [s. l.], v. 25, n. 33, p. 3519–3535, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.2174/1381612825666191008103141>

KAMETANI, Fuyuki; HASEGAWA, Masato. Reconsideration of Amyloid Hypothesis and Tau Hypothesis in Alzheimer's Disease. **Frontiers in Neuroscience**, [s. l.], v. 12, n. JAN, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fnins.2018.00025>

KANDIAH, Nagaendran *et al.* Rivastigmine: the advantages of dual inhibition of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase and its role in subcortical vascular dementia and Parkinson's disease dementia. **Clinical Interventions in Aging**, [s. l.], v. Volume 12, p. 697–707, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.2147/CIA.S129145>

KANT, Ravi; GUPTA, Banshi D. Fiber-Optic SPR Based Acetylcholine Biosensor Using Enzyme Functionalized Ta₂O₅ Nanoflakes for Alzheimer's Disease Diagnosis. **Journal of Lightwave Technology**, [s. l.], v. 36, n. 18, p. 4018–4024, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1109/JLT.2018.2856924>

KEENEY, Jeriel T.; BUTTERFIELD, D. Allan. Vitamin D deficiency and Alzheimer disease: Common links. **Neurobiology of Disease**, [s. l.], v. 84, p. 84–98, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2015.06.020>

KENNEDY, Richard E. *et al.* Association of Concomitant Use of Cholinesterase Inhibitors or Memantine With Cognitive Decline in Alzheimer Clinical Trials. **JAMA Network Open**, [s. l.], v. 1, n. 7, p. e184080, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2018.4080>

KIROUAC, Lisa *et al.* Activation of Ras-ERK signaling and GSK-3 by amyloid precursor protein and amyloid beta facilitates neurodegeneration in Alzheimer's disease. **eNeuro**, [s. l.], v. 4, n. 2, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1523/ENEURO.0149-16.2017>

KLAIB, AF *et al.* Application Of Exact String Matching Algorithms Towards SMILES Representation Of Chemical Structure. **Journal of Engineering and Technology**, [s. l.], p. 36–40, 2007. Disponível em: <http://eprints.usm.my/9399/>

KLAUDA, Jeffery B. *et al.* Improving the CHARMM force field for polyunsaturated fatty acid chains. **Journal of Physical Chemistry B**, [s. l.], v. 116, n. 31, p. 9424–9431, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/jp304056p>

KOC, Suheda *et al.* The potential medicinal value of plants from Asteraceae family with antioxidant defense enzymes as biological targets. **Pharmaceutical Biology**, [s. l.], v. 53, n. 5, p. 746–751, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.3109/13880209.2014.942788>

KOENIG, Lauren N *et al.* Select Atrophied Regions in Alzheimer disease (SARA): An improved volumetric model for identifying Alzheimer disease dementia. **NeuroImage: Clinical**, [s. l.], v. 26, p. 102248, 2020. Disponível em: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.nicl.2020.102248>

KRAMER, Thomas; SCHMIDT, Boris; LO MONTE, Fabio. Small-Molecule Inhibitors of GSK-3: Structural Insights and Their Application to Alzheimer's Disease Models. **International Journal of Alzheimer's Disease**, [s. l.], v. 2012, p. 1–32, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2012/381029>

KRYSCIO, Richard J. *et al.* Association of antioxidant supplement use and dementia in the prevention of Alzheimer's disease by Vitamin E and selenium trial (PREADViSE). **JAMA Neurology**, [s. l.], v. 74, n. 5, p. 567–573, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2016.5778>

KUDO, Takashi. Basic Theory of Pharmacology for Alzheimer's Disease. In: KUDO, Takashi *et al.* (org.). **Practical Pharmacology for Alzheimer's Disease**. 1. ed. [S. l.]: Springer, Cham, 2016. p. 1–141. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/978-3-319-26206-2>

KUMAR, Akhil; TIWARI, Ashish; SHARMA, Ashok. Changing Paradigm from one Target

one Ligand Towards Multi-target Directed Ligand Design for Key Drug Targets of Alzheimer Disease: An Important Role of In Silico Methods in Multi-target Directed Ligands Design. **Current Neuropharmacology**, [s. l.], v. 16, n. 6, p. 726–739, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.2174/1570159X16666180315141643>

KUMAR, Ashutosh; ZHANG, Kam Y.J. Hierarchical virtual screening approaches in small molecule drug discovery. **Methods**, [s. l.], v. 71, n. C, p. 26–37, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2014.07.007>

KUMAR, Rajnish; LÅNGSTRÖM, Bengt; DARREH-SHORI, Taher. Novel ligands of Choline Acetyltransferase designed by in silico molecular docking, hologram QSAR and lead optimization. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 6, n. August, p. 1–14, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/srep31247>

KUMAR, Shashank; PANDEY, Abhay K. Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview. **The Scientific World Journal**, [s. l.], v. 2013, n. 4, p. 1–16, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2013/162750>

KUMAR, Suresh. Dual inhibition of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase enzymes by allicin. **Indian journal of pharmacology**, [s. l.], v. 47, n. 4, p. 444–446, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.4103/0253-7613.161274>

KUO, Ching Yen *et al.* Comparison of models for the prediction of medical costs of spinal fusion in Taiwan diagnosis-related groups by machine learning algorithms. **Healthcare Informatics Research**, [s. l.], v. 24, n. 1, p. 29–37, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.4258/hir.2018.24.1.29>

LANI, Rafidah *et al.* Antiviral activity of selected flavonoids against Chikungunya virus. **Antiviral Research**, [s. l.], v. 133, p. 50–61, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2016.07.009>

LAURO, Gianluigi *et al.* Inverse Virtual Screening of Antitumor Targets: Pilot Study on a Small Database of Natural Bioactive Compounds. **Journal of Natural Products**, [s. l.], v. 74, n. 6, p. 1401–1407, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/np100935s>

LESZEK, Jerzy *et al.* Nanotechnology for Alzheimer Disease. **Current Alzheimer Research**, [s. l.], v. 14, n. 11, p. 1182–1189, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.2174/1567205014666170203125008>

LI, Jin; FU, Ailing; ZHANG, Le. An Overview of Scoring Functions Used for Protein–Ligand Interactions in Molecular Docking. **Interdisciplinary Sciences: Computational Life Sciences**, [s. l.], v. 11, n. 2, p. 320–328, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12539-019-00327-w>

LIU, Chia Chan *et al.* Apolipoprotein E and Alzheimer disease: risk, mechanisms and therapy. **Nature Reviews Neurology**, [s. l.], v. 9, n. 2, p. 106–118, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2012.263>

LIU, Shu *et al.* Ajmalicine and its Analogues Against AChE and BuChE for the Management of Alzheimer’s Disease: An In-silico Study. **Current Pharmaceutical Design**, [s. l.], v. 26, n.

37, p. 4808–4814, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.2174/1381612826666200407161842>

LIU, Zhifeng *et al.* Application of molecular docking for the degradation of organic pollutants in the environmental remediation: A review. **Chemosphere**, [s. l.], v. 203, p. 139–150, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.03.179>

LLORACH-PARES, Laura *et al.* Meridianins and lignarenone B as potential GSK3 β inhibitors and inducers of structural neuronal plasticity. **Biomolecules**, [s. l.], v. 10, n. 4, p. 1–22, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/biom10040639>

LONG, Justin M.; HOLTZMAN, David M. Alzheimer Disease: An Update on Pathobiology and Treatment Strategies. **Cell**, [s. l.], v. 179, n. 2, p. 312–339, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.09.001>

LOPEZ-VALLEJO, Fabian *et al.* Integrating Virtual Screening and Combinatorial Chemistry for Accelerated Drug Discovery. **Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening**, [s. l.], v. 14, n. 6, p. 475–487, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.2174/138620711795767866>

LU, Justin Y. *et al.* Liver enzyme CYP2D6 gene and tardive dyskinesia. **Pharmacogenomics**, [s. l.], v. 21, n. 15, p. 1065–1072, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.2217/pgs-2020-0065>

LUO, Man; WANG, Xiang S.; TROPSHA, Alexander. Comparative Analysis of QSAR-based vs. Chemical Similarity Based Predictors of GPCRs Binding Affinity. **Molecular Informatics**, [s. l.], v. 35, n. 1, p. 36–41, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/minf.201500038>

MALDE, Alpeshkumar K. *et al.* An Automated force field Topology Builder (ATB) and repository: Version 1.0. **Journal of Chemical Theory and Computation**, [s. l.], v. 7, n. 12, p. 4026–4037, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/ct200196m>

MANCINELLI, Romina *et al.* Multifaceted roles of GSK-3 in cancer and autophagy-related diseases. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, [s. l.], v. 2017, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2017/4629495>

MARK, Pekka; NILSSON, Lennart. Structure and dynamics of the TIP3P, SPC, and SPC/E water models at 298 K. **Journal of Physical Chemistry A**, [s. l.], v. 105, n. 43, p. 9954–9960, 2001. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/jp003020w>

MARTIN, Stephen A. *et al.* GSK3 β Regulates Brain Energy Metabolism. **Cell Reports**, [s. l.], v. 23, n. 7, p. 1922–1931.e4, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.04.045>

MARUCCI, Gabriella *et al.* Efficacy of acetylcholinesterase inhibitors in Alzheimer's disease. **Neuropharmacology**, [s. l.], v. 190, p. 108352, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2020.108352>

MAZANETZ, Michael P.; GOODE, Charlotte H.F.; CHUDYK, Ewa I. Ligand- and Structure-Based Drug Design and Optimization using KNIME. **Current Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 27, n. 38, p. 6458–6479, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.2174/0929867326666190409141016>

MCGIRR, Samantha; VENEGAS, Courtney; SWAMINATHAN, Arun. Alzheimer's Disease : A Brief Review. **Journal of Experimental Neurology**, [s. l.], v. 1, n. 3, p. 89–98, 2020.

MENDANHA DA CUNHA, Carla Rosane *et al.* 4-Nerolidylcatechol and its synthetic analogues: Antioxidant activity and toxicity evaluation. **European Journal of Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 62, p. 371–378, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2012.12.028>

MENDIOLA-PRECOMA, J. *et al.* Therapies for Prevention and Treatment of Alzheimer's Disease. **BioMed Research International**, [s. l.], v. 2016, n. 2, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2016/2589276>

MITTAG, Judith J. *et al.* Simultaneous measurement of a range of particle sizes during A β 1-42 fibrillogenesis quantified using fluorescence correlation spectroscopy. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, [s. l.], v. 448, n. 2, p. 195–199, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2014.04.088>

MO, Dan *et al.* Molecular docking simulation on the interactions of laccase from *Trametes versicolor* with nonylphenol and octylphenol isomers. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, [s. l.], v. 41, n. 3, p. 331–343, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00449-017-1866-z>

MOHAN, Venkatraman *et al.* Docking: Successes and Challenges. **Current Pharmaceutical Design**, [s. l.], v. 11, n. 3, p. 323–333, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.2174/1381612053382106>

MOKHNACHE, Kamel; MADOU, Soraya; CHAREF, Nouredine. Quantum Chemical Calculation , Hemolytic Effect and Anti-Denaturation Activity of Schiff Base Ligand. **International Journal of Scientific Engineering and Science**, [s. l.], v. 3, n. 5, p. 27–29, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.5281/zenodo.3238388>

MONACELLI, Fiammetta *et al.* Vitamin C, aging and Alzheimer's disease. **Nutrients**, [s. l.], v. 9, n. 7, p. 1–26, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/nu9070670>

MONTEIRO, Alex France M. *et al.* Computational Studies Applied to Flavonoids against Alzheimer's and Parkinson's Diseases. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, [s. l.], v. 2018, p. 1–21, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2018/7912765>

MONTEIRO, Alex France Messias; SCOTTI, Marcus Tullius; SCOTTI, Luciana. In Silico Studies of Potentially Active 2-Amino-Thiophenic Derivatives Against HIV-1. **International Journal of Quantitative Structure-Property Relationships**, [s. l.], v. 5, n. 2, p. 100–119, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.4018/IJQSPR.2020040104>

MOSCONI, L. *et al.* Mediterranean Diet and Magnetic Resonance Imaging-Assessed Brain Atrophy in Cognitively Normal Individuals at Risk for Alzheimer's Disease. **The journal of prevention of Alzheimer's disease**, [s. l.], v. 1, n. 1, p. 23–32, 2014. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25237654> <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC4165397>

NAJEEB ULLAH, Noor. Alzheimer's disease, Epidemiology, causes, diagnosis and novel

treatments: A review. **International Journal of Basic Medical Sciences and Pharmacy (IJBMS)**, [s. l.], v. 5, n. 2, p. 50–56, 2015.

NAQVI, Ahmad Abu Turab *et al.* Advancements in Docking and Molecular Dynamics Simulations Towards Ligand-receptor Interactions and Structure-function Relationships. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 18, n. 20, p. 1755–1768, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.2174/1568026618666181025114157>

NEDDENRIEP, Bradley *et al.* Short Peptides as Inhibitors of Amyloid Aggregation. **The Open Biotechnology Journal**, [s. l.], v. 5, n. 1, p. 39–46, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.2174/1874070701105010039>

NEVES, Bruno J. *et al.* QSAR-based virtual screening: Advances and applications in drug discovery. **Frontiers in Pharmacology**, [s. l.], v. 9, n. NOV, p. 1–7, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.01275>

NGUYEN, Phuong Thuy Viet *et al.* 2D-quantitative structure–activity relationships model using PLS method for anti-malarial activities of anti-haemozoin compounds. **Malaria Journal**, [s. l.], v. 20, n. 1, p. 1–15, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12936-021-03775-2>

NHAN, Hoang S.; CHIANG, Karen; KOO, Edward H. The multifaceted nature of amyloid precursor protein and its proteolytic fragments: friends and foes. **Acta Neuropathologica**, [s. l.], v. 129, n. 1, p. 1–19, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00401-014-1347-2>

NICHOLS, Emma *et al.* Global, regional, and national burden of Alzheimer’s disease and other dementias, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. **The Lancet Neurology**, [s. l.], v. 18, n. 1, p. 88–106, 2019. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(18\)30403-4](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(18)30403-4)

NICOLAS, Maya; HASSAN, Bassem A. Amyloid precursor protein and neural development. **Development**, [s. l.], v. 141, n. 13, p. 2543–2548, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1242/dev.108712>

NJUS, David *et al.* Ascorbic acid: The chemistry underlying its antioxidant properties. **Free Radical Biology and Medicine**, [s. l.], v. 159, n. May, p. 37–43, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2020.07.013>

NOUFI, Paul *et al.* Use of Cholinesterase Inhibitors in Non-Alzheimer’s Dementias. **Drugs & Aging**, [s. l.], v. 36, n. 8, p. 719–731, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s40266-019-00685-6>

NTIE-KANG, Fidele *et al.* NANPDB: A Resource for Natural Products from Northern African Sources. **Journal of Natural Products**, [s. l.], v. 80, n. 7, p. 2067–2076, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.7b00283>

NUNOMURA, Akihiko *et al.* Involvement of oxidative stress in Alzheimer disease. **Journal of Neuropathology and Experimental Neurology**, [s. l.], v. 65, n. 7, p. 631–641, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1097/01.jnen.0000228136.58062.bf>

OLĞAÇ, Abdurrahman *et al.* Cloud-Based High Throughput Virtual Screening in Novel Drug

Discovery. In: KOŁODZIEJ, Joanna; GONZÁLEZ-VÉLEZ, Horacio (org.). **High-Performance Modelling and Simulation for Big Data Applications. Lecture Notes in Computer Science**. Cham: Springer International Publishing, 2019. p. 250–278. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-3-030-16272-6_9

OMOKHUA-UYI, Aitebiremen G. *et al.* Flavonoids isolated from the South African weed *Chromolaena odorata* (Asteraceae) have pharmacological activity against uropathogens. **BMC complementary medicine and therapies**, [s. l.], v. 20, n. 1, p. 233, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12906-020-03024-0>

OTAEGUI-ARRAZOLA, Ane *et al.* Diet, cognition, and Alzheimer's disease: Food for thought. **European Journal of Nutrition**, [s. l.], v. 53, n. 1, p. 1–23, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00394-013-0561-3>

OW, Sian-Yang; DUNSTAN, Dave E. A brief overview of amyloids and Alzheimer's disease. **Protein Science**, [s. l.], v. 23, n. 10, p. 1315–1331, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/pro.2524>

PANG, Xiacong *et al.* Evaluation of novel dual Acetyl- and butyrylcholinesterase inhibitors as potential anti-Alzheimer's disease agents using pharmacophore, 3D-QSAR and molecular docking approaches. **Molecules**, [s. l.], v. 22, n. 8, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules22081254>

PANTALEAO, Simone Q. *et al.* The Role of QSAR and Virtual Screening Studies in Type 2 Diabetes Drug Discovery. **Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 13, n. 8, p. 706–720, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.2174/1573406413666170522152102>

PARK, Hyun June *et al.* Computational approach for designing thermostable *Candida antarctica* lipase B by molecular dynamics simulation. **Journal of Biotechnology**, [s. l.], v. 192, n. Part A, p. 66–70, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2014.09.014>

PARK, Juyoung *et al.* Self-efficacy and social support for psychological well-being of family caregivers of care recipients with dementia with Lewy bodies, Parkinson's disease dementia, or Alzheimer's disease. **Social Work in Mental Health**, [s. l.], v. 17, n. 3, p. 253–278, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/15332985.2018.1526756>

PASIEKA, Anna *et al.* Dual Inhibitors of Amyloid- β and Tau Aggregation with Amyloid- β Disaggregating Properties: Extended In Cellulo, In Silico, and Kinetic Studies of Multifunctional Anti-Alzheimer's Agents. **ACS Chemical Neuroscience**, [s. l.], v. 12, n. 11, p. 2057–2068, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acscchemneuro.1c00235>

PATERNÒ, A. *et al.* Modelling the aquatic toxicity of ionic liquids by means of VolSurf in silico descriptors. **SAR and QSAR in Environmental Research**, [s. l.], v. 27, n. 1, p. 1–15, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/1062936X.2015.1120778>

PELLETIER, Amandine *et al.* Mediterranean diet and preserved brain structural connectivity in older subjects. **Alzheimer's and Dementia**, [s. l.], v. 11, n. 9, p. 1023–1031, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2015.06.1888>

PÉREZ-CANO, Francisco J.; CASTELL, Margarida. Flavonoids, inflammation and immune

system. **Nutrients**, [s. l.], v. 8, n. 10, p. 8–11, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/nu8100659>

PEREZ-VIZCAINO, Francisco; DUARTE, Juan; SANTOS-BUELGA, Celestino. The flavonoid paradox: conjugation and deconjugation as key steps for the biological activity of flavonoids. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, [s. l.], v. 92, n. 9, p. 1822–1825, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jsfa.5697>

PHAN, Huong T.T. *et al.* Polyphenols modulate alzheimer's amyloid beta aggregation in a structure-dependent manner. **Nutrients**, [s. l.], v. 11, n. 4, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/nu11040756>

PHATAK, Pramod S. *et al.* Synthesis, antitubercular evaluation and molecular docking studies of phthalimide bearing 1,2,3-triazoles. **Synthetic Communications**, [s. l.], v. 49, n. 16, p. 2017–2028, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/00397911.2019.1614630>

PINGPING, Liu; DANHAO, Qian; KONGLEI, Zhu. Research of a macro program for bolt hole patterns based on EXCEL®. **Journal of Physics: Conference Series**, [s. l.], v. 1653, n. 1, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1653/1/012055>

PITON, Morgane *et al.* Alzheimer's disease: Advances in drug development. **Journal of Alzheimer's Disease**, [s. l.], v. 65, n. 1, p. 3–13, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3233/JAD-180145>

POHANKA, M. Oxidative stress in Alzheimer disease as a target for therapy. **Bratislava Medical Journal**, [s. l.], v. 119, n. 09, p. 535–543, 2018. Disponível em: https://doi.org/10.4149/BLL_2018_097

POTEGA, Agnieszka; ŻELASZCZYK, Dorota; MAZERSKA, Zofia. Electrochemical simulation of metabolism for antitumor-active imidazoacridinone C-1311 and in silico prediction of drug metabolic reactions. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, [s. l.], v. 169, p. 269–278, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2019.03.017>

QUE, Wancai *et al.* A network pharmacology-based investigation on the bioactive ingredients and molecular mechanisms of Gelsemium elegans Benth against colorectal cancer. **BMC Complementary Medicine and Therapies**, [s. l.], v. 21, n. 1, p. 99, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12906-021-03273-7>

RAIES, Arwa B.; BAJIC, Vladimir B. In silico toxicology: computational methods for the prediction of chemical toxicity. **Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science**, [s. l.], v. 6, n. April, p. 147–172, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/wcms.1240>

RAMIREZ-BERMUDEZ, Jesus. Alzheimer's Disease: Critical Notes on the History of a Medical Concept. **Archives of Medical Research**, [s. l.], v. 43, n. 8, p. 595–599, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2012.11.008>

RAMPOGU, Shailima *et al.* Exploration for novel inhibitors showing back-to-front approach against VEGFR-2 kinase domain (4AG8) employing molecular docking mechanism and molecular dynamics simulations. **BMC Cancer**, [s. l.], v. 18, n. 1, p. 264, 2018. Disponível em:

<https://doi.org/10.1186/s12885-018-4050-1>

REIS, Joana *et al.* Multi-target-directed ligands for Alzheimer's disease: Discovery of chromone-based monoamine oxidase/cholinesterase inhibitors. **European Journal of Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 158, p. 781–800, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.07.056>

REZAEI-SADABADY, Rogaie *et al.* Studies of the Relationship between Structure and Antioxidant Activity in Interesting Systems, Including Tyrosol, Hydroxytyrosol Derivatives Indicated by Quantum Chemical Calculations. **Soft**, [s. l.], v. 02, n. 03, p. 13–18, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.4236/soft.2013.23004>

RIDDER, Lars *et al.* Computational Methods in Flavin Research. In: FLAVOPROTEIN PROTOCOLS. New Jersey: Humana Press, 1999. v. 131, p. 207–228. Disponível em: <https://doi.org/10.1385/1-59259-266-X:207>

RIJPMAN, Anne *et al.* Effects of Souvenaid on plasma micronutrient levels and fatty acid profiles in mild and mild-to-moderate Alzheimer's disease. **Alzheimer's Research & Therapy**, [s. l.], v. 7, n. 1, p. 51, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s13195-015-0134-1>

RODRIGUES, Gabriela Cristina Soares *et al.* Ligand and Structure-based Virtual Screening of Lamiaceae Diterpenes with Potential Activity against a Novel Coronavirus (2019-nCoV). **Current Topics in Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 20, n. 24, p. 2126–2145, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.2174/1568026620666200716114546>

ROJAS-GUTIERREZ, Eduardo *et al.* Alzheimer's disease and metabolic syndrome: A link from oxidative stress and inflammation to neurodegeneration. **Synapse**, [s. l.], v. 71, n. 10, p. 1–21, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/syn.21990>

ROMANO, Barbara *et al.* Novel insights into the pharmacology of flavonoids. **Phytotherapy Research**, [s. l.], v. 27, n. 11, p. 1588–1596, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/ptr.5023>

ROMBOUTS, Frederik *et al.* Small-molecule BACE1 inhibitors: a patent literature review (2011 to 2020). **Expert Opinion on Therapeutic Patents**, [s. l.], v. 31, n. 1, p. 25–52, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/13543776.2021.1832463>

ROMERO, Adriano Lopes; MARCONDES, David Lucas Zegolan; ROMERO, Rafaelle Bonzanini. Conscientizando acerca da toxicidade de fármacos, inseticidas e corantes alimentícios artificiais por meio de ferramentas computacionais. **ACTIO: Docência em Ciências**, [s. l.], v. 5, n. 1, p. 1–18, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3895/actio.v5n1.10711>

ROUGHLEY, Stephen D. Five Years of the KNIME Vernalis Cheminformatics Community Contribution. **Current Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 27, n. 38, p. 6495–6522, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.2174/0929867325666180904113616>

ROY, Kunal; AMBURE, Pravin; AHER, Rahul B. How important is to detect systematic error in predictions and understand statistical applicability domain of QSAR models? **Chemometrics**

and Intelligent Laboratory Systems, [s. l.], v. 162, n. January, p. 44–54, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chemolab.2017.01.010>

S. MAIA, Mayara *et al.* Lignans and Neolignans Anti-tuberculosis Identified by QSAR and Molecular Modeling. **Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening**, [s. l.], v. 23, n. 6, p. 504–516, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.2174/1386207323666200226094940>

SABE, Victor T. *et al.* Current trends in computer aided drug design and a highlight of drugs discovered via computational techniques: A review. **European Journal of Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 224, p. 113705, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2021.113705>

SABOGAL-GUÁQUETA, Angélica Maria *et al.* The flavonoid quercetin ameliorates Alzheimer's disease pathology and protects cognitive and emotional function in aged triple transgenic Alzheimer's disease model mice. **Neuropharmacology**, [s. l.], v. 93, n. 32, p. 134–145, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2015.01.027>

SACHS, Michael C. Plotroc: A tool for plotting ROC curves. **Journal of Statistical Software**, [s. l.], v. 79, n. Table 1, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.18637/jss.v079.c02>

SAMPAIO, Tuane Bazanella *et al.* Neurotrophic factors in Alzheimer's and Parkinson's diseases: implications for pathogenesis and therapy. **Neural regeneration research**, [s. l.], v. 12, n. 4, p. 549–557, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.4103/1673-5374.205084>

SANG, Zhipei *et al.* Design, synthesis and evaluation of novel ferulic acid-O-alkylamine derivatives as potential multifunctional agents for the treatment of Alzheimer's disease. **European Journal of Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 130, p. 379–392, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.02.039>

SANTOS, Guto Leoni *et al.* Accelerometer-based human fall detection using convolutional neural networks. **Sensors (Switzerland)**, [s. l.], v. 19, n. 7, p. 1–12, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/s19071644>

SANTOS, Victória; GONSALVES, Arlan; ARAÚJO, Cleônia. 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**, [s. l.], v. 41, n. 1, p. 110–115, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170135>

SARAIVA, Ana M. *et al.* Controlling amyloid- β peptide(1-42) oligomerization and toxicity by fluorinated nanoparticles. **ChemBioChem**, [s. l.], v. 11, n. 13, p. 1905–1913, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/cbic.201000237>

SATAPATHY, Suresh Chandra; RAJINIKANTH, Venkatesan. Jaya Algorithm Guided Procedure to Segment Tumor from Brain MRI. **Journal of Optimization**, [s. l.], v. 2018, p. 1–12, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2018/3738049>

SCHMIDT, Christiane; ULRICH, Joachim. Predicting Crystal Morphology Grown from Solution. **Chemical Engineering and Technology**, [s. l.], v. 35, n. 6, p. 1009–1012, 2012.

Disponível em: <https://doi.org/10.1002/ceat.201100654>

SCHNEIDER, Nadine *et al.* Substantial improvements in large-scale redocking and screening using the novel HYDE scoring function. **Journal of Computer-Aided Molecular Design**, [s. l.], v. 26, n. 6, p. 701–723, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10822-011-9531-0>

SCIOR, Thomas *et al.* Recognizing pitfalls in virtual screening: A critical review. **Journal of Chemical Information and Modeling**, [s. l.], v. 52, n. 4, p. 867–881, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/ci200528d>

SCOTTI, Luciana *et al.* Chemometric studies on potential larvicidal compounds against *Aedes aegypti*. **Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 10, n. 2, p. 201–210, 2014.

SCOTTI, Luciana *et al.* Experimental methodologies and evaluations of computer-aided drug design methodologies applied to a series of 2-aminothiophene derivatives with antifungal activities. **Molecules**, [s. l.], v. 17, n. 3, p. 2298–2315, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules17032298>

SCOTTI, Luciana. **Modelagem molecular aplicada à cosmetologia: planejamento de compostos antienvhecimento**. 167 f. 2006. - Universidade de São Paulo, [s. l.], 2006.

SCOTTI, Luciana *et al.* Molecular physicochemical parameters predicting antioxidant activity of Brazilian natural products. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, [s. l.], v. 19, n. 4, p. 908–913, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2009000600020>

SCOTTI, Luciana *et al.* Self-organizing maps and VolSurf approach to predict aldose reductase inhibition by flavonoid compounds. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, [s. l.], v. 21, n. 1, p. 170–180, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2011005000028>

SCOTTI, Marcus Tullius *et al.* Sistematrix, an online web-based cheminformatics tool for data management of secondary metabolites. **Molecules**, [s. l.], v. 23, n. 1, p. 1–10, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules23010103>

SEKHER PANNALA, Ananth *et al.* Flavonoid B-Ring Chemistry and Antioxidant Activity: Fast Reaction Kinetics. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, [s. l.], v. 282, n. 5, p. 1161–1168, 2001. Disponível em: <https://doi.org/10.1006/bbrc.2001.4705>

SENGUPTA, Urmi; NILSON, Ashley N.; KAYED, Rakez. The Role of Amyloid- β Oligomers in Toxicity, Propagation, and Immunotherapy. **EBioMedicine**, [s. l.], v. 6, p. 42–49, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2016.03.035>

SETIAWAN, Ely; MUDASIR, Mudasir; WIJAYA, Karna. Qspr Models for Predicting Critical Micelle Concentration of Gemini Cationic Surfactants Combining Machine-Learning Methods and Molecular Descriptors. **ChemRxiv**, [s. l.], n. 1, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.26434/chemrxiv.11626068.v1>

SEZGIN, Zeynep; DINCER, Yildiz. Alzheimer's disease and epigenetic diet. **Neurochemistry International**, [s. l.], v. 78, p. 105–116, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2014.09.012>

SHARMA, Kamlesh. Cholinesterase inhibitors as Alzheimer's therapeutics (Review). **Molecular Medicine Reports**, [s. l.], v. 20, n. 2, p. 1479–1487, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3892/mmr.2019.10374>

SHIN, Woong-Hee *et al.* PL-PatchSurfer2: Improved Local Surface Matching-Based Virtual Screening Method That Is Tolerant to Target and Ligand Structure Variation. **Journal of Chemical Information and Modeling**, [s. l.], v. 56, n. 9, p. 1676–1691, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.6b00163>

SILVA CAVALCANTI, Andreza Barbosa *et al.* Computer-aided chemotaxonomy and bioprospecting study of diterpenes of the Lamiaceae family. **Molecules**, [s. l.], v. 24, n. 21, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules24213908>

SILVA, Marcos Vinícius Ferreira *et al.* Alzheimer's disease: risk factors and potentially protective measures. **Journal of Biomedical Science**, [s. l.], v. 26, n. 1, p. 33, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12929-019-0524-y>

SILVA, Viviane Barros *et al.* Synthesis and chemometrics of thymol and carvacrol derivatives as larvicides against *Aedes aegypti*. **Journal of Arthropod-Borne Diseases**, [s. l.], v. 11, n. 2, p. 305–320, 2017.

SINDI, Shireen; MANGIALASCHE, Francesca; KIVIPELTO, Miia. Advances in the prevention of Alzheimer's Disease. **F1000Prime Reports**, [s. l.], v. 7, n. May, p. 1–12, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.12703/P7-50>

SMITH, J. Carson *et al.* Physical activity reduces hippocampal atrophy in elders at genetic risk for Alzheimer's disease. **Frontiers in Aging Neuroscience**, [s. l.], v. 6, n. APR, p. 1–7, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fnagi.2014.00061>

SOBRAL, Margarida; PESTANA, Maria Helena; PAÚL, Constança. Cognitive reserve and the severity of Alzheimer's disease. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, [s. l.], v. 73, n. 6, p. 480–486, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0004-282X20150044>

SODHI, Rupinder K.; SINGH, Nirmal. Retinoids as potential targets for Alzheimer's disease. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, [s. l.], v. 120, p. 117–123, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2014.02.016>

SOLDAN, Anja *et al.* Relationship of cognitive reserve and cerebrospinal fluid biomarkers to the emergence of clinical symptoms in preclinical Alzheimer's disease. **Neurobiology of Aging**, [s. l.], v. 34, n. 12, p. 2827–2834, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2013.06.017>

SOLOMON, A. *et al.* Advances in the prevention of Alzheimer's disease and dementia. **Journal of Internal Medicine**, [s. l.], v. 275, n. 3, p. 229–250, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/joim.12178>

SOTIROPOULOS, Ioannis *et al.* Atypical, non-standard functions of the microtubule associated Tau protein. **Acta neuropathologica communications**, [s. l.], v. 5, n. 1, p. 91, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s40478-017-0489-6>

SOUZA, Débora *et al.* Síntese, Atividade Antileishmania E Citotóxica De Hidrazonas Derivadas De Aldeídos Naturais. **Química Nova**, [s. l.], v. 43, n. 1, p. 50–57, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170440>

STAZI, Martina; WIRTHS, Oliver. Chronic Memantine Treatment Ameliorates Behavioral Deficits, Neuron Loss, and Impaired Neurogenesis in a Model of Alzheimer's Disease. **Molecular Neurobiology**, [s. l.], v. 58, n. 1, p. 204–216, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12035-020-02120-z>

SUH, Eunkyung; CHOI, Sang-Woon; FRISO, Simonetta. One-Carbon Metabolism: An Unsung Hero for Healthy Aging. In: MALAVOLTA, Marco; MOCCHEGIANI, Eugenio B T - Molecular Basis of Nutrition and Aging (org.). **Molecular Basis of Nutrition and Aging**. San Diego: Elsevier, 2016. p. 513–522. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801816-3.00036-4>

SWOMLEY, Aaron M. *et al.* Abeta, oxidative stress in Alzheimer disease: Evidence based on proteomics studies. **Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease**, [s. l.], v. 1842, n. 8, p. 1248–1257, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2013.09.015>

SYDOW, Dominique *et al.* TeachOpenCADD-KNIME: A Teaching Platform for Computer-Aided Drug Design Using KNIME Workflows. **Journal of Chemical Information and Modeling**, [s. l.], v. 59, n. 10, p. 4083–4086, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.9b00662>

T'JOLLYN, H. *et al.* Evaluation of three state-of-the-art metabolite prediction software packages (Meteor, MetaSite, and StarDrop) through independent and synergistic use. **Drug Metabolism and Disposition**, [s. l.], v. 39, n. 11, p. 2066–2075, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1124/dmd.111.039982>

TA, Giang Huong *et al.* Development of a hierarchical support vector regression-based in silico model for Caco-2 permeability. **Pharmaceutics**, [s. l.], v. 13, n. 2, p. 1–26, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13020174>

TAKEDA, Shuko. Progression of Alzheimer's disease, tau propagation, and its modifiable risk factors. **Neuroscience Research**, [s. l.], v. 141, p. 36–42, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.neures.2018.08.005>

TAMAGNO, Elena *et al.* The Unexpected Role of A β 1-42 Monomers in the Pathogenesis of Alzheimer's Disease. **Journal of Alzheimer's Disease**, [s. l.], v. 62, n. 3, p. 1241–1245, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3233/JAD-170581>

TCW, Julia; GOATE, Alison M. Genetics of β -Amyloid Precursor Protein in Alzheimer's Disease. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, [s. l.], v. 7, n. 6, p. a024539, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a024539>

TELUGUNTLA, P. *et al.* A 30-m landsat-derived cropland extent product of Australia and China using random forest machine learning algorithm on Google Earth Engine cloud computing platform. **ISPRS Journal of Photogrammetry and Remote Sensing**, [s. l.], v. 144, n. February, p. 325–340, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.isprsjprs.2018.07.017>

TIBLE, Olivier Pierre *et al.* Best practice in the management of behavioural and psychological symptoms of dementia. **Therapeutic Advances in Neurological Disorders**, [s. l.], v. 10, n. 8, p. 297–309, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1177/1756285617712979>

TINKOV, Oleg *et al.* The Influence of Structural Patterns on Acute Aquatic Toxicity of Organic Compounds. **Molecular Informatics**, [s. l.], v. 2000209, p. 1–14, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/minf.202000209>

TORAL-RIOS, Danira *et al.* GSK3 β and Tau Protein in Alzheimer's Disease and Epilepsy. **Frontiers in Cellular Neuroscience**, [s. l.], v. 14, n. March, p. 1–9, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fncel.2020.00019>

TRAMUTOLA, A. *et al.* Oxidative stress, protein modification and Alzheimer disease. **Brain Research Bulletin**, [s. l.], v. 133, p. 88–96, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2016.06.005>

TREML, Jakub; ŠMEJKAL, Karel. Flavonoids as Potent Scavengers of Hydroxyl Radicals. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, [s. l.], v. 15, n. 4, p. 720–738, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12204>

TROESCH, Barbara; WEBER, Peter; MOHAJERI, M. Hasan. Potential links between impaired one-carbon metabolism due to polymorphisms, inadequate B-vitamin status, and the development of Alzheimer's disease. **Nutrients**, [s. l.], v. 8, n. 12, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/nu8120803>

UTAMI, W. *et al.* In silico anti-inflammatory activity evaluation of some bioactive compound from ficus religiosa through molecular docking approach. **Journal of Physics: Conference Series**, [s. l.], v. 1563, n. 1, p. 012024, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1563/1/012024>

V. RAMALINGAM, V; DANDAPATH, Ayantan; KARTHIK RAJA, M. Heart disease prediction using machine learning techniques: a survey. **International Journal of Engineering & Technology**, [s. l.], v. 7, n. 2.8, p. 684–687, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.14419/ijet.v7i2.8.10557>

VAN WIJK, Nick *et al.* Targeting Synaptic Dysfunction in Alzheimer's Disease by Administering a Specific Nutrient Combination. **Journal of Alzheimer's Disease**, [s. l.], v. 38, n. 3, p. 459–479, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.3233/JAD-130998>

VINCENT PEREZ, Darl *et al.* A Computational Study on the effects of Temperature and Osmotic Pressure on Water Extraction on Microalgae using Big Multipole Water-Martini Forcefield on GROMACS Simulation. In: , 2014. **De La Salle University Research Congress**. [S. l.: s. n.], 2014. p. 1–7.

VIRK, Sohaib A.; ESLICK, Guy D. Aluminum Levels in Brain, Serum, and Cerebrospinal Fluid are Higher in Alzheimer's Disease Cases than in Controls: A Series of Meta-Analyses. **Journal of Alzheimer's Disease**, [s. l.], v. 47, n. 3, p. 629–638, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.3233/JAD-150193>

WALTERS, W. Patrick. Going further than Lipinski's rule in drug design. **Expert Opinion on**

Drug Discovery, [s. l.], v. 7, n. 2, p. 99–107, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1517/17460441.2012.648612>

WANG, Jun *et al.* A systemic view of Alzheimer disease — insights from amyloid- β metabolism beyond the brain. **Nature Reviews Neurology**, [s. l.], v. 13, n. 10, p. 612–623, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2017.111>

WANG, Shuai *et al.* Docking-based virtual screening of T β R1 inhibitors: Evaluation of pose prediction and scoring functions. **BMC Chemistry**, [s. l.], v. 14, n. 1, p. 1–8, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s13065-020-00704-3>

WANG, Shuihua *et al.* Cerebral micro-bleeding identification based on a nine-layer convolutional neural network with stochastic pooling. **Concurrency Computation**, [s. l.], v. 32, n. 1, p. 1–16, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/cpe.5130>

WANG, Tian yang; LI, Qing; BI, Kai shun. Bioactive flavonoids in medicinal plants: Structure, activity and biological fate. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, [s. l.], v. 13, n. 1, p. 12–23, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ajps.2017.08.004>

WANG, Yixuan *et al.* Cross talk between PI3K-AKT-GSK-3 β and PP2A pathways determines tau hyperphosphorylation. **Neurobiology of Aging**, [s. l.], v. 36, n. 1, p. 188–200, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2014.07.035>

WEILER, Marina *et al.* Cognitive reserve relates to functional network efficiency in Alzheimer's disease. **Frontiers in Aging Neuroscience**, [s. l.], v. 10, n. AUG, p. 1–14, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fnagi.2018.00255>

WILKINS, Heather M; SWERDLOW, Russell H. Amyloid precursor protein processing and bioenergetics. **Brain Research Bulletin**, [s. l.], v. 133, p. 71–79, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2016.08.009>

WISNIEWSKI, Thomas; GOÑI, Fernando. Immunotherapeutic Approaches for Alzheimer's Disease. **Neuron**, [s. l.], v. 85, n. 6, p. 1162–1176, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2014.12.064>

WONG, Chit Wai. Pharmacotherapy for Dementia: A Practical Approach to the Use of Cholinesterase Inhibitors and Memantine. **Drugs and Aging**, [s. l.], v. 33, n. 7, p. 451–460, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s40266-016-0372-3>

WU, Ke Jia *et al.* Mimicking strategy for protein-protein interaction inhibitor discovery by virtual screening. **Molecules**, [s. l.], v. 24, n. 24, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules24244428>

XIANG, Mingli *et al.* Computer-Aided Drug Design: Lead Discovery and Optimization. **Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening**, [s. l.], v. 15, n. 4, p. 328–337, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.2174/138620712799361825>

XIE, Cheng Long *et al.* Inhibition of Glycogen Synthase Kinase-3 β (GSK-3 β) as potent therapeutic strategy to ameliorates L-dopa-induced dyskinesia in 6-OHDA parkinsonian rats. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 6, n. December 2015, p. 1–9, 2016. Disponível em:

<https://doi.org/10.1038/srep23527>

XIE, Huisi; GUO, Cong. Albumin Alters the Conformational Ensemble of Amyloid- β by Promiscuous Interactions: Implications for Amyloid Inhibition. **Frontiers in Molecular Biosciences**, [s. l.], v. 7, n. February, p. 1–14, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmolb.2020.629520>

XIE, Sai Sai *et al.* Multi-target tacrine-coumarin hybrids: Cholinesterase and monoamine oxidase B inhibition properties against Alzheimer's disease. **European Journal of Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 95, p. 153–165, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2015.03.040>

YA'U IBRAHIM, Zakari *et al.* Molecular docking studies, drug-likeness and in-silico ADMET prediction of some novel β -Amino alcohol grafted 1,4,5-trisubstituted 1,2,3-triazoles derivatives as elevators of p53 protein levels. **Scientific African**, [s. l.], v. 10, p. e00570, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2020.e00570>

YAN, Dandan *et al.* Pesticide exposure and risk of Alzheimer's disease: A systematic review and meta-analysis. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 6, n. February, p. 1–9, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/srep32222>

YANG, Bao *et al.* New insights on bioactivities and biosynthesis of flavonoid glycosides. **Trends in Food Science & Technology**, [s. l.], v. 79, n. July, p. 116–124, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.07.006>

YANG, Hongbin *et al.* In Silico Prediction of Chemical Toxicity for Drug Design Using Machine Learning Methods and Structural Alerts. **Frontiers in Chemistry**, [s. l.], v. 6, n. February, p. 1–12, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fchem.2018.00030>

YANG, Hyun Duk *et al.* History of Alzheimer's Disease. **Dementia and Neurocognitive Disorders**, [s. l.], v. 15, n. 4, p. 115, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.12779/dnd.2016.15.4.115>

YEGAMBARAM, Manivannan *et al.* Role of Environmental Contaminants in the Etiology of Alzheimer's Disease: A Review. **Current Alzheimer Research**, [s. l.], v. 12, n. 2, p. 116–146, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.2174/1567205012666150204121719>

YERDELEN, Kadir Ozden; TOSUN, Edip. Synthesis, docking and biological evaluation of oxamide and fumaramide analogs as potential AChE and BuChE inhibitors. **Medicinal Chemistry Research**, [s. l.], v. 24, n. 2, p. 588–602, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00044-014-1152-4>

YIANNPOULOU, Konstantina G; PAPAGEORGIOU, Sokratis G. Current and Future Treatments in Alzheimer Disease: An Update. **Journal of Central Nervous System Disease**, [s. l.], v. 12, p. 117957352090739, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1177/1179573520907397>

YOUN, Kumju *et al.* Discovery of sulforaphane as a potent bace1 inhibitor based on kinetics and computational studies. **Nutrients**, [s. l.], v. 12, n. 10, p. 1–8, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/nu12103026>

ZHANG, Gang; MUSGRAVE, Charles B. Comparison of DFT methods for molecular orbital eigenvalue calculations. **Journal of Physical Chemistry A**, [s. l.], v. 111, n. 8, p. 1554–1561, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/jp061633o>

ZHANG, Pengfei *et al.* Multi-target design strategies for the improved treatment of Alzheimer's disease. **European Journal of Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 176, p. 228–247, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.05.020>

ZHANG, Zhijie *et al.* Cocrystals of Natural Products: Improving the Dissolution Performance of Flavonoids Using Betaine. **Crystal Growth and Design**, [s. l.], v. 19, n. 7, p. 3851–3859, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.cgd.9b00294>

ZHAO, Na *et al.* Apolipoprotein E, Receptors, and Modulation of Alzheimer's Disease. **Biological Psychiatry**, [s. l.], v. 83, n. 4, p. 347–357, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2017.03.003>

ZHAO, Yan; ZHAO, Baolu. Oxidative Stress and the Pathogenesis of Alzheimer's Disease. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, [s. l.], v. 2013, p. 1–10, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2013/316523>

ZHOU, Hao *et al.* Novel urushiol derivatives as HDAC8 inhibitors: rational design, virtual screening, molecular docking and molecular dynamics studies. **Journal of Biomolecular Structure and Dynamics**, [s. l.], v. 36, n. 8, p. 1966–1978, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/07391102.2017.1344568>

APÊNDICES

PRODUÇÕES CIENTÍFICAS

1. *Machine Learning, Molecular Modeling, and QSAR Studies on Natural Products Against Alzheimer's Disease*

DOI: 10.2174/0929867328666210603104749

2. *Recent Neglected Drug Design Studies*

DOI: 10.2174/1568026621666210920155939

3. *Ligand and Structure-based Virtual Screening of Lamiaceae Diterpenes with Potential Activity against a Novel Coronavirus (2019-nCoV)*

DOI: 10.2174/1568026620666200716114546