

The image features a central blue wireframe sphere composed of numerous small dots connected by thin lines, creating a mesh-like structure. This sphere is set against a background of concentric, semi-transparent blue circles. Scattered throughout the background are various faint, light blue letters and symbols, including 'BN', 'S', 'Y', 'R', 'J', 'F', 'A', 'B', 'L', 'O', and 'ADVE'. The overall color palette is a range of blues, from light to dark, giving it a technological and digital feel.

Comunicação Breve



<http://revistarebram.com/index.php/revistauniara>

PLANEJAMENTO E ESTUDO *IN SILICO* DE DERIVADOS DE 6-GINGEROL COMO INIBIDORES DE ACETILCOLINESTERASE COMPARADOS A DONEPEZILA

Felipe Vitório*

* Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ), Maracanã, Rio de Janeiro, Brasil.

*Autor para correspondência e-mail: vitorioch@gmail.com

PALAVRAS-CHAVE

Inibição Acetilcolinesterase
Admet
Doença de Alzheimer
Química Medicinal

KEYWORDS

Self-Medication
Medication Use
Prevalence
COVID-19

RESUMO: A doença de Alzheimer (DA) é atualmente uma das demências mais estudadas devido ao aumento de casos com o passar dos anos. Os inibidores de acetilcolinesterase (AChE) tem sido amplamente estudados com o intuito de obtermos novos candidatos a fármacos no combate a DA. Neste sentido novos derivados do produto natural 6-gingerol foram planejados e analisados frente a inibição da enzima acetilcolinesterase *in silico* e sua previsão sobre o modelo de Absorção, Distribuição, Metabolismo, Eliminação e Toxicidade (ADMET). Usando ferramentas de modelagem molecular para minimizar as estruturas do compostos estudados e então verificar as interações destes derivados em comparação com o padrão donepezila, devido sua semelhança estrutural, com a enzima AChE. Os resultados mostraram que dois compostos apresentam as melhores interações *in silico* e as melhores propriedades ADMET para um bom fármaco que pode atuar no Sistema Nervoso Central.

PLANNING AND *IN SILICO* STUDY OF 6-GINGEROL DERIVATIVES AS ACETYLCHOLINESTERASE INHIBITORS COMPARED TO DONEPEZIL

ABSTRACT: Alzheimer's disease (AD) is currently one of the most studied dementias due to the increase of cases over the years. Acetylcholinesterase (AChE) inhibitors have been widely studied to obtain new drug candidates to combat AD. In this sense, new derivatives of the natural product 6-gingerol were planned and analyzed against the inhibition of the acetylcholinesterase enzyme *in silico* and its prediction on the Absorption, Distribution, Metabolism, Elimination and Toxicity (ADMET) model. Using molecular modeling tools to minimize the structures of the studied compounds and then verify the interactions of these derivatives in comparison with the standard donepezyl, due to its structural similarity, with the AChE enzyme. The results showed that two compounds have the best *in silico* interactions and the best ADMET properties for a good drug that can act on the Central Nervous System.

Recebido em: 15/06/2022

Aprovação final em: 12/08/2022

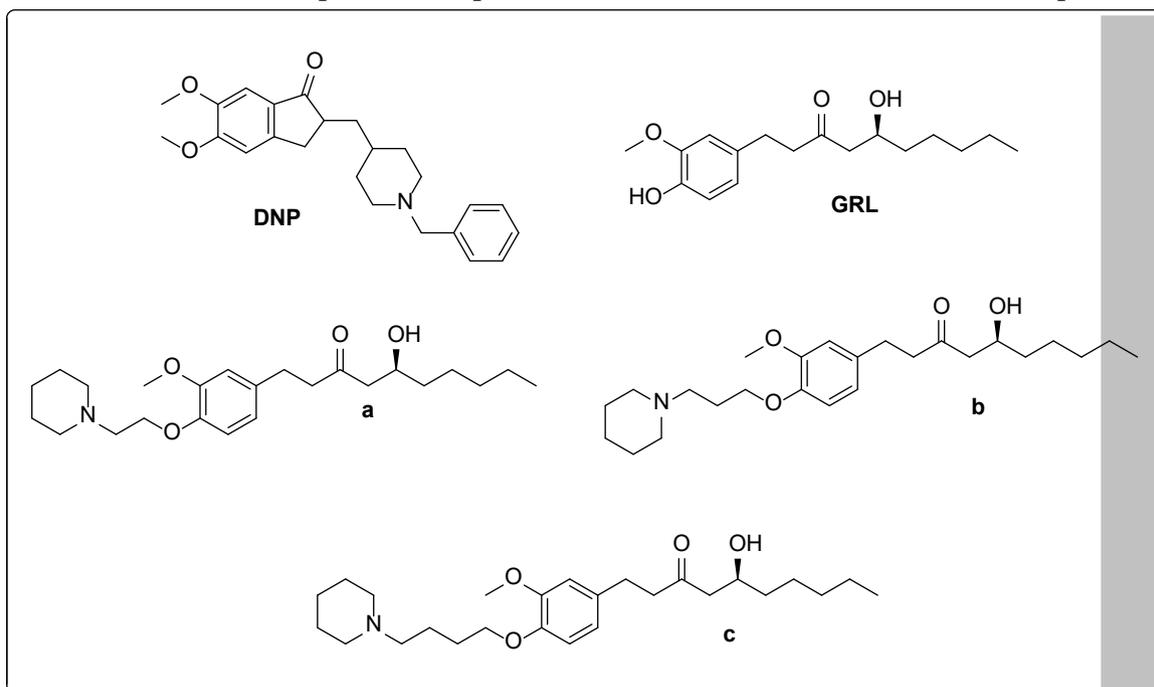
DOI: <https://doi.org/10.25061/2527-2675/ReBraM/2022.v25i3.1740>

INTRODUÇÃO

A doença de Alzheimer (DA) é uma doença neurodegenerativa crônica que causa perda progressiva da memória e de outras funções (LINDEBOOM & WEINSTEIN, 2004). Caracteriza-se por diminuição da atividade neuronal colinérgica, deposição anormal de agregados proteicos; neuro inflamação; disfunção da homeostase do metal e estresse oxidativo (CRAIG *et al.*, 2011; HOLMES *et al.*, 2011). A nível molecular, a hipótese colinérgica é a teoria mais estudada para explicar a fisiopatologia da DA. núcleo, base cerebral. As regiões hipocâmpais e neocorticais desempenham papéis funcionais importantes na consciência, atenção, aprendizagem, memória e outros processos cognitivos (SANABRIA-CASTRO *et al.*, 2017). Devido à neurodegeneração, observa-se diminuição da atividade dos neurônios colinérgicos (neurônios que utilizam o neurotransmissor acetilcolina - ACh). Essa hipótese levou ao desenvolvimento de uma abordagem terapêutica baseada em inibidores da enzima acetilcolinesterase (AChE) que restauram a função colinérgica bloqueando a enzima acetilcolinesterase (AChE) responsável pela ACh nas sinapses neurais, pois as enzimas hidrolisadas na fenda sináptica aumentam a disponibilidade da sinapse fenda, neurotransmissor ACh (FERRI *et al.*, 2006). Atualmente, o tratamento é baseado no controle dos sintomas, principalmente associado ao uso de inibidores da colinesterase. Como os resultados clínicos da maioria dos candidatos a fármacos anti-Alzheimer ainda não foram aprovados, estratégias usando compostos multidirecionados são de considerável interesse no campo. Uma das principais abordagens promissoras para o tratamento desta doença é reforçar o nível de acetilcolina dentro do cérebro usando inibidores de AChE (FISH *et al.*, 2019). Estes inibidores podem ser de origem exclusivamente sintética, de origem natural de folhas de plantas a microrganismos biologicamente ativos, ou de modificações sintéticas destes produtos naturais isolados (YUAN *et al.*, 2021).

A natureza é uma rica fonte de diversidade biológica e química. As estruturas únicas e complexas dos produtos naturais não podem ser facilmente obtidas por síntese orgânica, mas podem ser modificadas para gerar novas entidades químicas. Várias plantas são utilizadas como medicamentos tradicionais no mundo (VIEGAS-JR *et al.*, 2006; YUAN *et al.*, 2021). Vários estudos sugeriram que os produtos naturais são fontes potenciais de inibidores da AChE (LEE *et al.*, 2019; LEE *et al.*, 2018; DOS SANTOS *et al.*, 2018; MOODIE *et al.*, 2019). Estudos retrospectivos mostraram que cerca de 70% dos extratos de mais de 300 plantas e mais de 2.500 substâncias isoladas de cerca de 90 famílias de plantas foram testadas para colinesterase, responsável pela colinesterase. BARBOSA-FILHO *et al.*, 2006; AHMED *et al.*, 2021). Alguns fármacos atualmente usados para tratar a DA, são inibidores de AChE, incluindo: galantamina, donepezila, tacrina, rivastigmina, sendo a galantamina um alcalóide natural isolado de *Galanthus spp.* Donepezila e tacrina foram sintetizados e aprovados pela FDA dos EUA. A rivastigmina foi planejada a partir do alcalóide natural fisstigmina. Outro alcaloide natural, Huperzina A, é um inibidor de AChE, que pode ser usado em suplementos alimentares para auxiliar a memória (AHMED *et al.*, 2021).

O objetivo deste trabalho é verificar interações *in silico* dos derivados do 6-gingerol (**a-c**, respectivamente, Figura 1), visto estudo (VITÓRIO *et al.*, 2021) recente sobre sua interação plausível com a AChE, em comparação com donepezila (**GNT**), que é um inibidor de AChE bem conhecido, e correlacioná-los com suas propriedades ADMET.

Figura 1 - Estruturas dos compostos donepezila (DNP), e os derivados do GRL (a-c, respectivamente).

Fonte: Elaborado pelos autores.

METODOLOGIA

Um estudo de ancoragem molecular foi realizado com a enzima acetilcolinesterase humana recombinante (AChEhr) em complexo com a donepezila (código PDB: 4EY7). Foram implementados experimentos de *redocking* como um teste preliminar a avaliar a capacidade do programa de ancoramento molecular GOLD 5.6 (CCDC Software Ltd., Cambridge, UK) para encontrar soluções confiáveis para o *docking* da colinesterase em questão. Átomos de hidrogênio foram adicionados a estruturas de proteínas baseadas na ionização e estados tautoméricos definidos pelo programa GOLD 5.6. Durante o procedimento de busca, foram utilizadas 100 operações genéticas (*crossover*, migração, mutação) para cada ancoramento. O raio de locais de ligação para as enzimas foi de 10Å. Todas as quatro funções de pontuação disponíveis no programa foram capazes de reproduzir a postura de ancoramento quando da donepezila com a enzima no ensaio de *redocking*, e os valores de RMSD foram inferiores a 1,00 Å. ChemPLP foi a função de pontuação escolhida com o menor valor RMSD (0,123 Å) e com a maior pontuação de ancoramento, por isso foi selecionada para procedimentos subsequentes neste estudo. No programa GOLD, a função de acoplamento produz uma "pontuação de aptidão", que é um valor adimensional. O valor da pontuação é um guia de quão boa é a postura de encaixe. Quanto maior a pontuação, melhor a interação entre o ligante e o local de ligação. Usou-se a função de pontuação de aptidão ChemPLP para prever a interação efetiva de todos os compostos naturais escolhidos para este trabalho com a enzima AChEhr. O Programa Spartan'14 (Wavefunction Inc.) foi utilizado para construir e otimizar as estruturas químicas em estudo, com o método PM6. Foram geradas as figuras mostrando a interação 3D dos ligantes e do AChEhr com o programa PyMol 0.99 (DeLano Scientific LLC).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As melhores pontuações de aptidão em comparação com a **DNP** e ao **GRL** foram apresentadas pelos derivados **b-c**. As pontuações de **b-c** foram maiores que o **DNP** e **GRL**, mas **b-c** apresentam interações distintas de ligação de hidrogênio e interações hidrofóbicas (Tabela 1). Enquanto a **DNP** interage por ligação hidrogênio com o resíduo de aminoácido Fen295, **a** interage apenas com Tir124, e **b-c** interagem com Tir72 e Tir124. Essas diferenças podem ser interessantes para outros modos de ligação e para estudar novos derivados sintéticos. As interações hidrofóbicas de **a-c** são próximas quando comparadas com a **DNZ** e **GRL** corroborando para as diferenças nos escores de aptidão, as interações em comum são com resíduos Tir341 e Trp286.

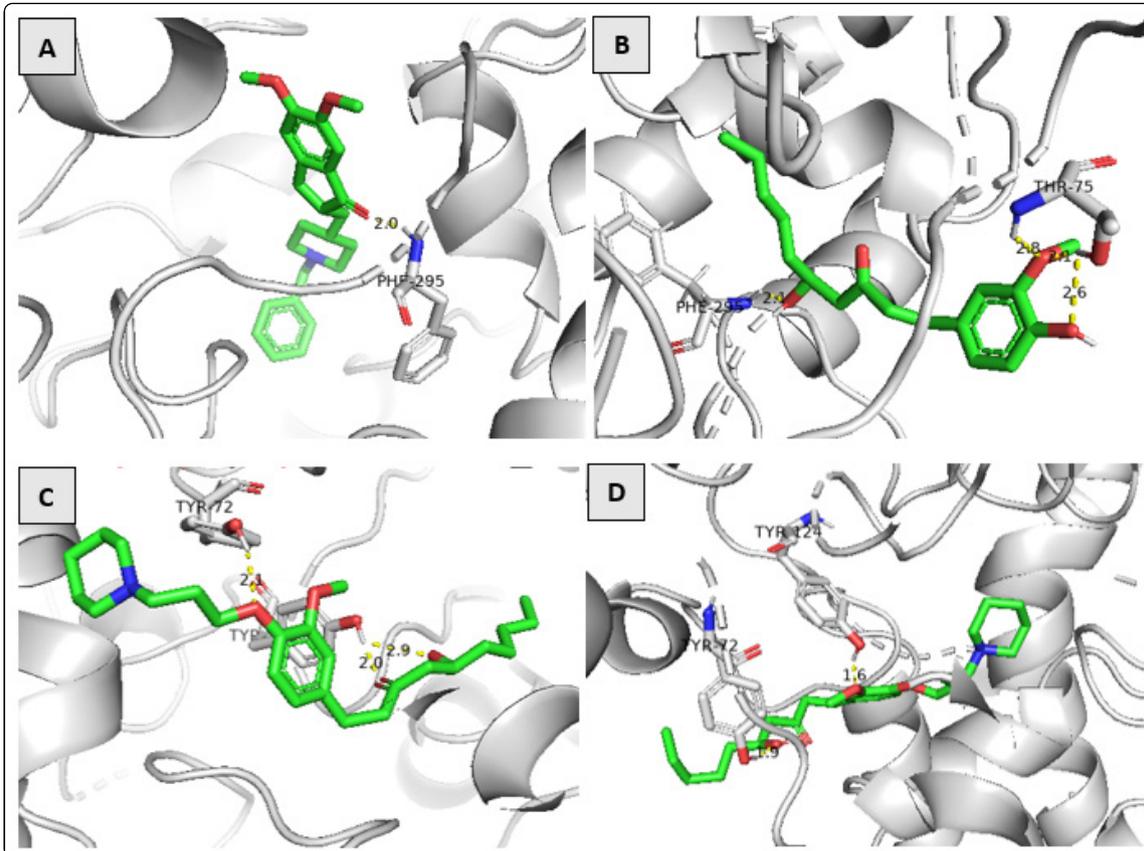
A Figura 2 apresenta as melhores posições de acoplamento do **DNP** e **GRL**, além de **b-c** no sítio ativo da enzima AchEhr. Na Figura 2 parte A pode ser visualizado o resíduo Fen295 doando uma ligação de hidrogênio à carbonila do heterocíclico da **DNZ**. A parte B é demonstrado o resíduo Tir75 realizando ligação de hidrogênio com o grupo hidroxila e o grupo de metoxila lateral do **GRL**, além de uma ligação de hidrogênio com o resíduo Fen295. A parte C mostra o resíduo Tir72 fazendo ligação de hidrogênio para o grupo de alcóxido de **b**, além da interação do resíduo Tir124 fazendo duas ligações de hidrogênio com a carbonila e hidroxila alifática de **b**. Por fim, na parte D da Figura 2, agora o resíduo Tir72 faz ligação de hidrogênio com a hidroxila alifática de **c**, e o resíduo o grupo metoxila do ligado ao anel aromático de **c**.

Tabela 1 - Pontuações de aptidão (função ChemPLP) obtidas por docking molecular em AChEhr e suas interação.

Ligante	Pontuação	Interações de ligação de hidrogênio	Interações hidrofóbicas
DNP	112,25	Fen295	Fen338, Tir341, Trp86, Trp286
GRL	66,53	Tir75, Fen295	Tir72
a	108,88	Tir124	Tir341, Trp286
b	113,42	Tir72, Tir124	Trp286
c	114,69	Tir72, Tir124	Tir337, Tir341, Trp286

Fonte: Elaborado pelos autores.

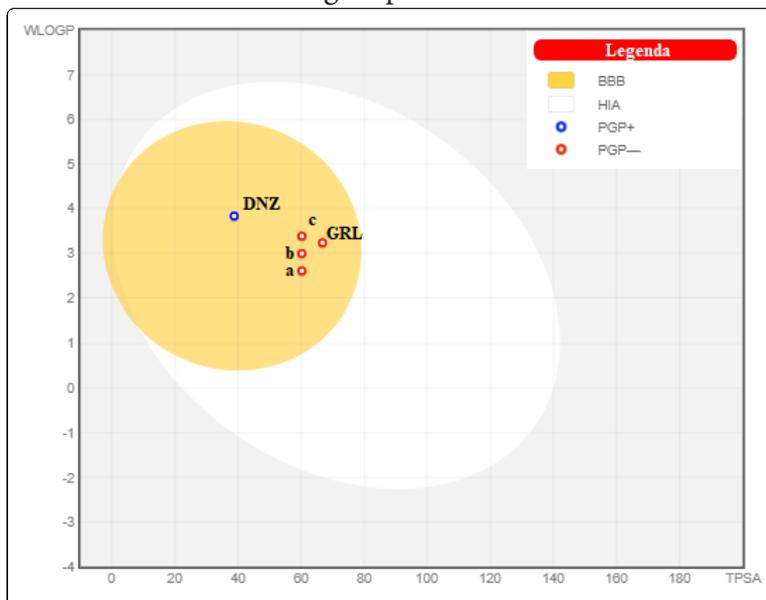
Figura 2 - Posições de interação de **DNZ** (parte A), **GRL** (parte B), **b** (parte C) e **c** (parte D) com AChEhr obtidas por ancoramento molecular (função *ChemPLP*). Código de cor: átomos de oxigênio, vermelho; átomos de nitrogênio, azul; átomos de hidrogênio, branco; átomos de carbono, verde. Linha amarela tracejada: distância de ligação de hidrogênio (Å). Figura gerada com o programa *PyMol* 0,99 (*DeLano Scientific* LLC).



Fonte: Elaborado pelos autores.

Para avaliar a drogabilidade dos derivados estudados, prosseguimos com avaliações *in silico* que mostravam um perfil ADMET interessante para esses compostos. Foram analisados parâmetros como área de superfície polar topológica (*TPSA*), registro de consenso log *P*, log *S*, absorção intestinal humana (*HIA*), permeação da barreira cerebral sanguínea (*BBB*) e substrato de glicoproteína *P* (*P-gP*) e o perfil de semelhança com fármacos – *ESM* (DAINA *et al.*, 2017). Os valores *TPSA* e o registro de consenso log *P* variam de 60,20 a 66,76 e 3,13 a 3,73, respectivamente. A polaridade moderada e as características lipofílicas relativas colocam os compostos **a-c** no compartimento amarelo do modelo *BOILED-Egg* (Figura 3), tendo alta probabilidade de absorção gastrointestinal e acesso ao sistema nervoso central – SNC (DAINA *et al.*, 2016 SANTOS *et al.*, 2019) que é fundamental para a distribuição de moléculas de ação central. Compostos **a-c** têm propriedades ADMET bem semelhantes a **DNZ**, que já é um fármaco utilizado no tratamento da DA, e seus derivados podem ser uma abordagem sintética interessante. Além disso, os compostos **b-c** com a melhor interação com a enzima AChE no estudo *in silico*, não foram considerados substratos *P-gP* e têm um bom perfil de semelhança com fármacos sem nenhuma violação nas regras Lipinski (LIPINSKI *et al.*, 2001), Ghose (GHOSE *et al.*, 1999), Veber (VEBER *et al.*, 2002), Egan (EGAN *et al.*, 2000) e Muegge (MUEGGE *et al.*, 2001).

Figura 3 - Modelo de ADMET *BOILED-Egg* para os compostos **a-c**, respectivamente, em comparação com o padrão donepezila (**DNZ**) e o produto natural 6-gingerol (**GRL**). (*HIA*) absorção gastrointestinal; (*BBB*) penetração cerebral; (*PGP_b*) substrato para glicoproteína-P; (*PGP₋*) não é um substrato para P-glicoproteína.



Fonte: Elaborado pelos autores.

CONCLUSÕES

Os compostos **b-c** possuem ótimas interações *in silico* com a enzima AChEhr em comparação a donepezila (**DNZ**), além de possuírem excelentes propriedades ADMET. Estes resultados levam a um forte indicativo de que estudos mais aprofundados com estes compostos podem ser promissores e que a investigação de outros alvos moleculares *in silico* é possível utilizando metodologias análogas à usada neste trabalho. As avaliações de modelagem molecular indicam também a importância de substituintes piperidínicos, para a interação com sítio ativo da enzima alvo, mostrando potencial para esta classe de compostos como novos inibidores para esta atividade biológica. Além da técnica de hibridação molecular que foi aplicada com êxito neste trabalho indicando compostos com interações a nível molecular melhores que seus precursores.

REFERÊNCIAS

AHMED, S.; KHAN, S. T.; ZARGAHAM, M. K.; KHAN, A. U.; KHAN, S.; HUSSAIN, A.; UDDIN, J.; KHAN, A.; AL-HARRASI, A. Potential therapeutic natural products against Alzheimer's disease with Reference of Acetylcholinesterase. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 139, p. 111609-111620, 2021.

BARBOSA-FILHO, J. M.; MEDEIROS, K. C. P.; DINIZ, M. F. F. M.; BATISTA, L. M.; ATHAYDE-FILHO, P. F.; SILVA, M. S.; DA-CUNHA, E. V. L.; ALMEIDA, J. R. G. S.; QUINTANS-JÚNIOR, L. J. Natural products inhibitors of the enzyme acetylcholinesterase. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 16, p. 258-285, 2006.

CRAIG, L. A.; HONG, N. S.; MCDONALD, R. J. Revisiting the cholinergic hypothesis in the development

of Alzheimer's disease. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 35, p. 1397-1409, 2011.

DAINA, A.; MICHIELIN, O.; ZOETE, V. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. **Scientific Reports**, v. 7, p. 42717-42730, 2017.

DAINA, A.; ZOETE, V. A BOILED-Egg To Predict Gastrointestinal Absorption and Brain Penetration of Small Molecules. **ChemMedChem**, v. 11, p. 1117-1121, 2016.

DOS SANTOS, T. C.; GOMES, T. M.; PINTO, B. A. S.; CAMARA, A. L.; PAES, A. M. A. Naturally Occurring Acetylcholinesterase Inhibitors and Their Potential Use for Alzheimer's Disease Therapy. **Frontiers in Pharmacology**, v. 9, p. 1192-1196, 2018.

EGAN, W.J.; MERZ, K.M.; BALDWIN, J.J. Prediction of Drug Absorption Using Multivariate Statistics. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 43, p. 3867-3877, 2000.

FERRI, C.P.; PRINCE, M.; BRAYNE, C.; BRODATY, H.; FRATIGLIONI, L.; GANGULI, M.; HALL, K.; HASEGAWA, K.; HENDRIE, H.; HUANG, Y.; JORM, A.; MATHERS, C.; MENEZES, P. R.; RIMMER, E.; SCAZUFCA, M. Global prevalence of dementia: a Delphi consensus study. **Lancet**, v. 366, p. 2112-2117, 2006.

FISH, P.V.; STEADMAN, D.; BAYLE, E.; WHITING, P. New approaches for the treatment of Alzheimer's disease. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 29, p. 125-133, 2019.

GHOSE, A.K.; VISWANADHAN, V.N.; WENDOLOSKI, J.J. A knowledge-based approach in designing combinatorial or medicinal chemistry libraries for drug discovery. 1. A qualitative and quantitative characterization of known drug databases. **Journal of Combinatorial Chemistry**, v. 1, p. 55-68, 1999.

HOLMES, C.; CUNNINGHAM, C.; ZOTOVA, E.; CULLIFORD, D.; PERRY, V.H. Proinflammatory cytokines, sickness behavior, and Alzheimer disease. **Neurology**, v. 77, p. 212-218, 2011.

LEE, J.; JUN, M. Dual BACE1 and Cholinesterase Inhibitory Effects of Phlorotannins from *Ecklonia cava*—An In Vitro and *in Silico* Study. **Marine Drugs**, v. 17, p. 91-94, 2019.

LEE, S.; YOUN, K.; LIM, G.; LEE, J.; JUN, M. *In silico* docking and in vitro Approaches towards BACE1 and Cholinesterases Inhibitory Effect of Citrus Flavanones. **Molecules**, v. 23, p. 1509-1513, 2018.

LINDEBOOM, J.; WEINSTEIN, H. Neuropsychology of cognitive ageing, minimal cognitive impairment, Alzheimer's disease, and vascular cognitive impairment. **European Journal of Pharmacology**, v. 490, p. 83-86, 2004.

LIPINSKI, C.A.; LOMBARDO, F.; DOMINY, B.W. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 46, p. 3-26, 2001.

MOODIE, L. W. K.; SEPCIC, K.; TURK, T.; FRANGE, Ž. R.; SVENSON, J. Natural cholinesterase inhibitors

from marine organisms. **Natural product reports**, v. 36, p. 1053-1092, 2019.

MUEGGE, I.; HEALD, S.L.; BRITTELLI, D. Simple Selection Criteria for Drug-like Chemical Matter. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 44, p. 1841-1846, 2001.

SANABRIA-CASTRO, A.; ALVARADO-ECHEVERRÍA, I.; MONGE-BONILLA, C. Molecular Pathogenesis of Alzheimer's Disease: An Update. **Annals of neurosciences**, v. 24, p. 46-54, 2017.

SANTOS, S. N.; ALVES DE SOUZA, G.; PEREIRA, T. M.; FRANCO, D. P.; DE NIGRIS DEL CISTIA, C.; SANT'ANNA, C. M. R.; LACERDA, R. B.; KÜMMERLE, A. E. Regioselective microwave synthesis and derivatization of 1,5-diaryl-3-amino-1,2,4-triazoles and a study of their cholinesterase inhibition properties. **RSC Advances**, v. 9, p. 20356-20369, 2019.

VEBER, D.F.; STEPHEN, R.J.; HUNG-YUAN, C. Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45, p. 2615-2623, 2002.

VIEGAS-JR., C.; BOLZANI, V. S.; BARREIRO, E. J. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. **Química Nova**, v. 29, p. 326-337, 2006.

VITÓRIO, F.; SOUSA, G. L. S.; AZEVEDO-FRANÇA, J. A. Produtos Naturais como promissores inibidores da Acetilcolinesterase: Um estudo *in silico*. **Journal of Biology & Pharmacy and Agricultural Management**, v. 17, n. 4, out/dez, p. 797-809, 2021.

YUAN, H.; FANGLIN, X.; HENGMAO, L.; FEI, X.; XIAO-YU, L.; HAO, S.; YONG, Q. Asymmetric Total Synthesis of (+)-21-epi-Eburnamonine Via a Photocatalytic Radical Cascade Reaction. **Natural products and bioprospecting**, v. 11, p. 99-103, 2021.