

IDENTIFICAÇÃO *IN SILICO* DE FITOQUÍMICOS INIBIDORES DE NLRP3 PARA ALZHEIMER

IN SILICO IDENTIFICATION OF NLRP3-INHIBITING PHYTOCHEMICALS FOR ALZHEIMER DISEASE

Alejandro Leiva-Vargas ⁽¹⁾

Daniel Caballero-Soto ⁽²⁾

Jeremys Morales-Anaya ⁽³⁾

Samara Chavarro-Perez ⁽⁴⁾

Danilo Ariza-Rua ⁽⁵⁾

Edisson Chavarro-Mesa ⁽⁶⁾

Resumo

A doença de Alzheimer é uma condição neurodegenerativa progressiva associada à neuroinflamação crônica mediada pelo inflamassoma NLRP3 no sistema nervoso central, para a qual não existem inibidores específicos clinicamente aprovados. O presente trabalho realizou uma triagem computacional de 16 fitoquímicos de origem natural como candidatos a inibidores do NLRP3 (PDB: 7ALV), integrando acoplamento molecular com o AutoDock Vina, avaliação de propriedades farmacocinéticas com o SwissADME e análise toxicológica com o pkCSM. Os resultados do acoplamento molecular mostraram valores de energia livre de acoplamento entre $-10,668$ e $-7,342$ kcal/mol, com a Apigenina como o composto de maior afinidade energética. No entanto, a análise ADME revelou que a isoflavona constitui o candidato de maior viabilidade pré-clínica para uso no sistema nervoso central, ao combinar alta afinidade de ligação, penetração passiva da barreira hematoencefálica, zero violações da regra de Lipinski e perfil toxicológico inativo nas nove categorias avaliadas. Esses resultados posicionam a Isoflavona como um inibidor candidato de NLRP3 com potencial terapêutico para a doença de Alzheimer.

Palavras-chave: AutoDock Vina. Compostos Fitoquímicos. Doenças Neurodegenerativas. Inflamassoma NLRP3. Isoflavona.

Abstract

Alzheimer's disease is a progressive neurodegenerative disorder associated with chronic neuroinflammation mediated by the NLRP3 inflammasome in the central nervous system, for which no specific inhibitors have been clinically approved. This study performed a computational screening of 16 natural phytochemicals as NLRP3 inhibitor candidates (PDB: 7ALV), integrating molecular docking with AutoDock Vina, pharmacokinetic profiling with SwissADME, and toxicological analysis with pkCSM. Docking results showed binding free energy values between -10.668 and -7.342 kcal/mol, with apigenin as the highest-affinity compound. However, ADME analysis revealed that isoflavone represents the most preclinically viable candidate for central nervous system use, combining high binding affinity, passive blood-brain barrier penetration, zero Lipinski violations, and an inactive toxicological profile across nine evaluated endpoints. These results position isoflavone as a candidate NLRP3 inhibitor with therapeutic potential for Alzheimer's disease.

Keywords: AutoDock Vina. Phytochemical Compounds. Neurodegenerative Diseases. NLRP3 Inflammasome. Isoflavone.

^{1, 2, 3} Curso de Graduação em Engenharia Biomédica, Universidad Tecnológica de Bolívar-UTB, Cartagena de Indias-Colombia. ⁴ Curso de graduação em Zootecnia, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional da Colombia, Bogotá-Colombia. ^{5, 6} Professores, Dirección de Ciencias Básicas, Universidad Tecnológica de Bolívar-UTB, Cartagena de Indias-Colombia. E-mail de contato: echavarro@utb.edu.co

1. Introdução

A doença de Alzheimer (DA) caracteriza-se pelo acúmulo de placas β -amiloides, hiperfosforilação da proteína Tau e neuroinflamação crônica no sistema nervoso central (SNC), afetando cerca de 55 milhões de pessoas no mundo (HENEKA *et al.*, 2025). Nesse contexto, o inflamassoma NLRP3 destaca-se como um importante alvo terapêutico devido ao seu papel na ativação microglial e na liberação de citocinas pró-inflamatórias, contribuindo para a progressão do dano neuronal. Até o momento, nenhum inibidor específico do NLRP3 foi aprovado clinicamente; entretanto, diferentes compostos seguem em avaliação em estudos clínicos iniciais. (JIA *et al.*, 2025; LI; GONG, 2025). Assim, a triagem computacional de fitoquímicos representa uma estratégia promissora e de baixo custo para a identificação de candidatos terapêuticos. O presente estudo empregou acoplamento molecular no domínio NACHT da NLRP3 (PDB: 7ALV), aliado à avaliação *in silico* de propriedades ADME/Tox, visando selecionar compostos com potencial inibidor e viabilidade para aplicação no SNC (MCMANUS; LATZ, 2024; ISHABIYI *et al.*, 2023).

2. Materiais e Métodos

2.1 Obtenção e preparação de ligantes

Foram selecionados 16 fitoquímicos naturais com potencial atividade anti-inflamatória, obtidos das bases PubChem, ChEMBL e ZINC nos formatos SDF/MOL2. Os compostos foram avaliados segundo a regra de Lipinski para verificar seu potencial como fármacos orais. Em seguida, os ligantes passaram por otimização geométrica pelos métodos PM7/MMFF94, receberam cargas parciais de Gasteiger e foram convertidos para o formato PDBQT para os estudos de *molecular docking*.

2.2 Preparação da proteína-alvo

A estrutura cristalográfica do inflamassoma NLRP3 foi obtida do Protein Data Bank (PDB: 7ALV). Posteriormente, a proteína foi preparada por meio da remoção de moléculas de água e ligantes co-cristalizados, tendo-se identificado o domínio NACHT como o principal sítio de ligação para a análise. A estrutura processada foi exportada no formato PDBQT para os estudos de acoplamento molecular.

2.3 Acoplamento molecular (docking)

O docking dos 16 fitoquímicos no sítio ativo do NLRP3 foi realizado com o AutoDock

Vina, configurando uma caixa de busca de $25 \times 25 \times 25$ Å centrada no domínio NACHT. Para a cada composto, calculou-se a energia livre de acoplamento ΔG (kcal/mol) e analisaram-se as interações intermoleculares por meio do Discovery Studio, classificando-as em pontes de hidrogênio, contatos hidrofóbicos, interações π -stacking e pontes salinas.

2.4 Análise ADME/Tox *in silico*

As propriedades farmacocinéticas dos 16 ligantes foram avaliadas com o SwissADME e o pkCSM. Os parâmetros analisados incluíram: massa molecular (MW), número de aceptadores e doadores de hidrogênio (nHBA, nHBD), área de superfície polar topológica (TPSA), coeficientes de lipofilia (iLOGP, WLOGP), pontuação de biodisponibilidade oral (BS), permeabilidade da barreira hematoencefálica (BHE) pelo modelo BOILED-Egg, substrato da glicoproteína-P (PGP) e violações da regra de Lipinski. A toxicidade foi avaliada pelo pkCSM em seis categorias: hepatotoxicidade, neurotoxicidade, nefrotoxicidade, toxicidade respiratória, cardiotoxicidade, carcinogenicidade, imunotoxicidade, mutagenicidade e citotoxicidade.

3. Resultados e Discussão

3.1 Acoplamento molecular (docking)

O acoplamento molecular dos 16 fitoquímicos ao sítio ativo da NLRP3 revelou uma variabilidade significativa nos valores de ΔG , oscilando entre $-10,668$ kcal/mol (apigenina) e $-7,342$ kcal/mol (6,7-dimetoxicumarina). A Tabela 1 resume a classificação completa de afinidade de ligação, juntamente com o perfil de interações de cada composto.

TABELA 1. Ranking de afinidade de ligação (ΔG) e interações intermoleculares dos 16 fitoquímicos avaliados em relação ao NLRP3 (PDB: 7ALV).

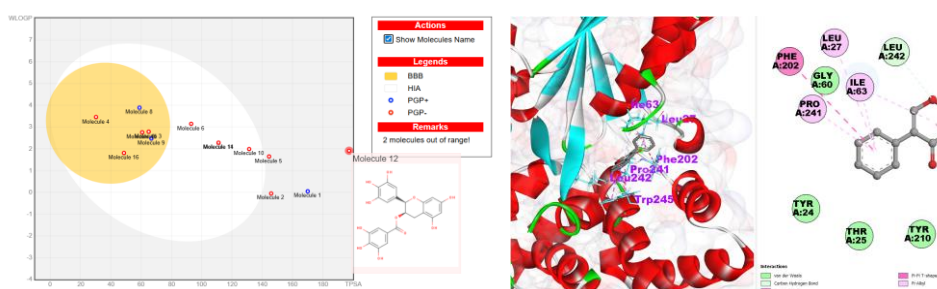
Ligantes	ΔG (kcal/mol)	H-bonds	Hidrofóbicas	Outras
Apigenina	-10.668	7	4	π -stacking + salt bridge
Liquiritin	-9.987	8	4	—
5-hydroxy-7,8-dimethoxyflavanone	-9.870	2	6	—
Isoflavone	-9.390	0	10	π -stacking
Rosmarinic acid	-9.356	8	6	Salt bridge
Curcumin	-9.341	7	7	—
Quercetin-3,7-di-O-rhamnoside	-9.210	11	4	Salt bridge
Glabridin	-9.193	2	4	—
Liquiritigenin	-8.936	3	6	—
Quercetin	-8.840	8	3	—
Luteolin	-8.798	3	3	—
Epigallocatechin-3-gallate	-8.735	12	4	π -stacking + salt bridge
Isorientin	-8.528	9	3	π -cación
Kaempferol	-8.325	5	4	—
Trans-resveratrol	-7.520	4	7	—
6,7-Dimethoxycoumarin	-7.342	1	3	π -stacking

Os compostos com $\Delta G \leq -9,0$ kcal/mol (Apigenina, Liquiritina, 5-hidroxi-7,8-dimetoxiflavanona, Isoflavona, Ácido rosmarínico, Curcumina, Quercetina-3,7-di-O-ranmosídeo e Glabridina) foram considerados candidatos de alta afinidade. Entre eles, a apigenina apresentou o maior potencial energético, sustentado por uma rede diversificada de interações que inclui sete pontes de hidrogênio com os resíduos THR25, ARG91 e GLN325, interação π -stacking com TYR210 e uma ponte salina com HIS335, o que gera um complexo altamente estável no sítio ativo.

3.2 Análise ADME/Tox e seleção do ligante-alvo

Apesar de sua afinidade energética superior, a análise ADME revelou limitações significativas da apigenina para sua aplicação como candidato terapêutico no SNC: ela não atravessa a barreira hematoencefálica (BHE) de acordo com o modelo BOILED-Egg e apresenta duas violações da regra de Lipinski (nHBD = 6, nHBA = 10), comprometendo sua biodisponibilidade oral e distribuição cerebral. Resultados semelhantes foram observados para a liquiritina e o ácido rosmarínico, cuja incapacidade de penetrar na BHE os descarta como candidatos viáveis para o SNC (Figura 1).

FIGURA 1. Modelo BOILED-Egg / afinidade de ligação (ΔG) e interações intermoleculares da Isoflavona



A Isoflavona destacou-se como o ligante principal do estudo, ao atender de forma ideal aos critérios de afinidade de ligação e viabilidade farmacológica para uso no SNC (Figura 1). Com um ΔG de -9.390 kcal/mol, a isoflavona estabelece dez contatos hidrofóbicos com os resíduos ILE18, LEU27, ILE63, PHE202, PRO241, LEU242 e TRP245, complementados por uma interação π -stacking com TRP245 que contribui para a estabilidade do complexo. Do ponto de vista ADME, apresenta zero violações de Lipinski, massa molecular reduzida (222,24 g/mol), TPSA de $30,21 \text{ \AA}^2$ e penetração passiva da BHE confirmada pelo modelo BOILED-Egg do SwissADME (Figura 1), o que garante a distribuição ao tecido cerebral sem depender

de transportadores ativos. Além disso, não é substrato da glicoproteína-P, eliminando o risco de expulsão ativa do SNC.

O perfil toxicológico avaliado pelo pkCSM mostrou que a isoflavona se revelou inativa em todos os parâmetros analisados, incluindo hepatotoxicidade, neurotoxicidade, nefrotoxicidade, cardiotoxicidade, carcinogenicidade, imunotoxicidade, mutagenicidade e citotoxicidade, com probabilidades de inatividade superiores a 0,55 em todos os casos. Esse perfil foi consistente com o observado nos demais compostos avaliados, confirmando a segurança geral do conjunto de fitoquímicos analisados. Em conjunto, a combinação de alta afinidade de ligação, penetração passiva do BHE, perfil de Lipinski sem violações e ausência de toxicidade prevista posiciona a isoflavona como o candidato a inibidor de NLRP3 com maior viabilidade pré-clínica dentro do conjunto avaliado.

Conclusão

O acoplamento molecular de 16 fitoquímicos ao domínio NACHT da NLRP3 (PDB: 7ALV) revelou diferenças significativas na afinidade de ligação (ΔG entre $-10,668$ e $-7,342$ kcal/mol). Embora a apigenina tenha apresentado a maior afinidade energética, sua incapacidade de atravessar a barreira hematoencefálica e suas duas violações de Lipinski limitam sua viabilidade como candidato para o SNC. A integração docking–ADME/Tox identificou a isoflavona como ligante estrela, ao combinar $\Delta G = -9,390$ kcal/mol, penetração passiva da BHE confirmada pelo BOILED-Egg, zero violações de Lipinski e perfil toxicológico inativo nos nove endpoints avaliados, posicionando-a como o candidato inibidor de NLRP3 com maior viabilidade pré-clínica. Como perspectiva futura, recomenda-se validar este complexo por meio de dinâmica molecular e ensaios *in vitro*.

Referências

1. HENEKA, M. T.; VAN DER FLIER, W. M.; JESSEN, F.; HOOZEMANNS, J.; THAL, D. R.; BOCHE, D.; *et al.* Neuroinflammation in Alzheimer disease. *Nature Reviews Immunology*, v. 25, p. 321–352, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41577-024-01104-7>.
2. ISHABIYI, F. O.; OGIDI, J. O.; OLUKADE, B. A.; *et al.* Computational evaluation of *Azadirachta indica*-derived bioactive compounds as potential inhibitors of NLRP3 in the treatment of Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, v. 94, suppl. 1, p. S139–S154, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3233/JAD-221020>.
3. JIA, S.; LAI, H.; CHEN, X.; LU, J.; DING, W.; CUI, D.; ZHAO, P.; ZHANG, Q.; WANG, Y.; CHENG, C. *In silico* identification of the NLRP3 inhibitors from traditional Chinese medicine. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 26, n. 21, p. 10569, 2025. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms262110569>.
4. LI, Z.; GONG, C. NLRP3 inflammasome in Alzheimer's disease: molecular mechanisms and emerging therapies. *Frontiers in Immunology*, v. 16, p. 1583886, 2025. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2025.1583886>.
5. MCMANUS, R. M.; LATZ, E. NLRP3 inflammasome signalling in Alzheimer's disease. *Neuropharmacology*, v. 252, p. 109941, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2024.109941>.