Applied molecular biology
Vol.3, issu.5, Winter. 2025
P.P 57-71

Bioinformatics Analysis of the Effects of Loperamide, Darifenacin, Tolterodine, and Aripiprazole in Inhibiting Acetylcholinesterase for the Treatment of Alzheimer's disease

Aida Taheri Khomami[1], **Malihe Jahani**[2*]
1. MS.c,Department of Cellular and Molecular Biology, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran.
2. Associate Professor, Department of Biology, Shandiz Institute of Higher Education, Mashhad, Iran (Corresponding Author; malihe.jahani2009@gmail.com).
Article history:
Received:15/01/2025 Revised:29/01/2025 Accepted:13/02/2025

Introduction: Alzheimer's disease is a chronic neurodegenerative disorder. As the disease progresses, symptoms such as speech difficulties, disorientation in time and place, lack of motivation, emotional fluctuations, inability to self-care, and behavioral problems manifest. This study aims to investigate the bioinformatics effects of loperamide, darifenacin, tolterodine, and aripiprazole in inhibiting the enzyme acetylcholinesterase, thereby identifying potential compounds effective in the treatment of Alzheimer's disease.
Methods: In this study, various tools and platforms were used for analyzing the binding of the compounds to the active site of the enzyme, drawing the chemical structures, energy optimization, docking studies, and final analyses. These included the online server http://hdock.phys.hust.edu.cn, and the software Discovery2024, Chimera1.17.1, HyperChem-8.0.10, and the server http://Pdbsum generate.
Results: The studied compounds demonstrated the ability to occupy the active site of the enzyme. The binding energy levels were found to be -220.78 for loperamide, -230.39 for darifenacin, -224.71 for tolterodine, and -215.90 for aripiprazole.
Conclusion: The docking results indicate that loperamide, darifenacin, tolterodine, and aripiprazole can bind to the active site of the acetylcholinesterase enzyme and inhibit its activity. Considering the efficacy of these compounds in the bioinformatics study, further

investigations under in vitro and in vivo conditions are recommended.

Keywords: Acetylcholinesterase, Molecular docking simulation, Alzheimer's disease, Enzyme Inhibitor.

زیست‌شناسی مولکولی کاربردی
سال سوم/ شماره ۵/ زمستان ۱۴۰۳
صفحات: ۵۷-۷۱

بررسی بیوانفورماتیکی اثر ترکیبات لوپرامید، داریفناسین، تولترودین،آریپی‌پرازول در مهار آنزیم استیل کولین استراز به منظور درمان بیماری آلزایمر

آیدا طاهری خمامی[۱]، ملیحه جهانی[۲*]
۱. کارشناسی ارشد، زیست‌شناسی سلولی و مولکولی، دانشگاه آزاد علوم و تحقیقات، تهران، ایران.
۲. استادیار،گروه زیست‌شناسی، مؤسسه آموزش عالی شاندیز، مشهد، ایران
(نویسنده مسئول؛ malihe.jahani2009@gmail.com).
تاریخ بارگزاری: ۱۴۰۳/۱۰/۲۶ تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۱۱/۱۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۱/۲۵

چکیده

مقدمه: آلزایمر یک بیماری مزمن تخریب‌کننده سلول‌های عصبی است. با پیشرفت بیماری آلزایمر علایمی مانند مشکلات تکلم، آگاه نبودن به زمان و مکان، نداشتن انگیزه، نوسان احساسات، نداشتن توان مراقبت از خود و مشکلات رفتاری بروز می‌کند. این مطالعه قصد دارد با هدف بررسی بیوانفورماتیکی اثر ترکیبات لوپرامید، داریفناسین، تولترودین، آریپی‌پرازول در مهار آنزیم استیل کولین استراز در جهت معرفی ترکیبات مؤثر در درمان بیماری آلزایمر گامی بردارد.

روش‌ها: در این مطالعه برای بررسی نحوه اتصال ترکیبات به جایگاه فعال آنزیم، ترسیم ساختار شیمیایی ترکیبات، بهینه‌سازی انرژی، مطالعه داکینگ و تجزیه و تحلیل‌های نهایی به ترتیب از سرور آنلاین http://hdock.phys.hust.edu.cn و نرم‌افزارهای Discovery2024، Chimera1.17.1، Hyperchem-8.0.10 و سرور http://Pdb sum generate استفاده شد.

یافته‌ها: ترکیبات مورد مطالعه قادر به اشغال جایگاه فعال آنزیم هستند و سطح انرژی

اتصال در لوپرامید -۲۲۰,۷۸ و در داریفناسین -۲۳۰,۳۹ و در تولترودین -۲۲۴,۷۱ ودر آریپی‌پرازول -۲۱۵,۹۰ است.

نتیجه‌گیری: نتایج حاصل از داکینگ نشان می‌دهد که ترکیبات لوپرامید، داریفناسین، تولترودین، آریپی‌پرازول می‌توانند به جایگاه فعال آنزیم استیل کولین استراز متصل و موجب مهار این آنزیم شوند. با توجه به اثربخشی ترکیبات در مطالعه‌ی بیوانفورماتیکی، برای بررسی‌های تکمیلی می‌توان اثر این ترکیبات را در شرایط in vitro وin vivo مورد آنالیز قرار داد.

کلمات کلیدی: استیل کولین استراز، شبیه‌سازی داکینگ مولکولی، آلزایمر، مهارکننده آنزیمی.

۱. مقدمه

بیماری آلزایمر یک بیماری مزمن عصبی است که با از دست دادن حافظه، اختلال عملکرد شناختی و بی‌ثباتی رفتاری، عمدتاً در میان جمعیت سالمندان مشخص می‌شود.[۱] بیماری آلزایمر مناطق خاصی از مغز مانند لوب‌های گیجگاهی، هیپوکامپ، بخشی از کورتکس و بخش کوچک‌تری از لوب پیشانی را درگیر می‌کند.[۲]

علت بیماری آلزایمر شناخته نشده است، اما آزمایش‌های میکروسکوپی صورت گرفته روی مغز افرادی که به علت این بیماری فوت کرده‌اند، تخریب سلول‌های بخش تفکر مغز را به‌ویژه سلول‌هایی که ماده‌های شیمیایی به نام استیل کولین را آزاد می‌کنند، نشان داده است.[۳]

امروزه نزدیک به ۴۴ میلیون نفر در سراسر جهان به بیماری آلزایمر مبتلا هستند که تخمین زده شده است شیوع آلزایمر و بیماری‌های دمانس مربوطه تا سال ۲۰۵۰ به بیش از ۱۳۰ میلیون مورد برسد که می‌تواند هزینه بسیار زیادی را به جوامع تحمیل کند. هزینه مربوط به نگهداری، درمان و از کار افتادگی این بیماری در سال ۲۰۱۶ در جهان، ۸۱۸ میلیارد دلار تخمین زده شده است.[۴]

در بیماری آلزایمر، تجمع غیرطبیعی پروتئینی به نام آمیلوئید بتا در خارج

سلول‌های عصبی و تجمع پروتئین تائو در داخل این سلول‌ها دیده می‌شود. تجمع بزرگ‌تر آمیلوئیدهای بتا را پلاک‌های آمیلوئیدی می‌نامند و به تجمع غیرطبیعی پروتئینی تائو در داخل سلول‌های عصبی را کلافه‌های نوروفیبریلاری (NFT) می‌گویند. تجمعات پروتئینی تشکیل‌شده در خارج و داخل سلول‌های عصبی، سبب ایجاد اختلال در ارتباطات شبکه نورونی و نهایتاً تخریب نورون‌های خاصی می‌شود.[۷-۵]

امروزه شواهد روزافزونی وجود دارد که بیماری آلزایمر را یک اختلال عروقی و یا اختلال در جریان خون مغز می‌دانند[۸]. لوپرامید در درمان اسهال ناشی از گاستروآنتریت، کاربرد ویژه دارد. این دارو، نوعی آگونیست گیرنده‌های مخدری است و به‌طور مستقیم بر پایانه‌های عصبی موجود در مخاط روده اثر کرده و تونیسیته عضلات صاف طولی روده را کاهش می‌دهد؛ بنابراین میزان دفع آب و نمک‌های بدن را کاهش می‌دهد.[۹]

داروی داریفناسین هیدروبرومید یک آنتاگونیست انتخابی گیرنده موسکارینی M3 است که برای استفاده در درمان اختلال مثانه بیش‌فعال توصیه می‌شود.[۱۰]

داروی تولترودین متعلق به خانواده آنتاگونیست‌های گیرنده موسکارینی است و برای درمان سندرم مثانه بیش‌فعال توصیه می‌شود که در واقع با مسدود کردن یک ماده شیمیایی که باعث انقباض مثانه می‌شود کار می‌کند و اسپاسم عضلات مثانه را کاهش می‌دهد.[۱۱]

داروی آریپی‌پرازول یک آنتی‌سایکوتیک نسل سوم است که توسط سازمان غذا و داروی ایالات‌متحده (FDA) برای درمان اسکیزوفرنی تأیید شده است. این دارو با مکانیسم منحصربه‌فرد شامل آگونیسم جزئی D2، سروتونین HT1A-5 و آنتاگونیسم در گیرنده‌های سروتونین در دسترس است.[۱۲]

کولین استرازها خانواده‌ای از آنزیم‌ها هستند که هیدرولیز استیل کولین و تبدیل آن به کولین و استات را کاتالیز می‌کنند. این فرایند برای بازیابی نورون‌های کولینرژیک ضروری است. کولین استرازها شامل استیل کولین استراز و بوتیل کولین استراز هستند.[۱۵-۱۳]

این آنزیم با هیدرولیز استیل کولین، در انتقالات عصبی کولینرژیک ایفای نقش

می‌کند و نام این آنزیم نیز از همین سوبسترای طبیعی (استیل کولین) گرفته شده است. استیل کولین انتقال‌دهنده عصبی عمومی است و سیستم عصبی کولینرژیک بر پایه این انتقال‌دهنده عصبی استوار است.[۱۶]

در این مطالعه ما با هدف بررسی بیوانفورماتیکی اثر ترکیبات لوپرامید، داریفناسین، تولترودین، آریپی‌پرازول در مهار آنزیم استیل کولین استراز در جهت معرفی ترکیبات مؤثر در درمان بیماری آلزایمر پرداخته‌ایم.

۲. روش‌ها

در این تحقیق از سرور http://hdock.phys.hust.edu.cn برای انجام داکینگ مولکولی استفاده شده است که بدین‌منظور فایل لیگاند و پروتئین در سایت بارگذاری و نتیجه داکینگ مورد بررسی قرار گرفت. در این پژوهش، ترکیباتی با خاصیت دارویی به‌کار گرفته شد. ساختار ترکیبات مورد نظر از سایت http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov به‌دست آمد. نام و جزئیات ساختاری ترکیبات مورد مطالعه در جدول ۱ آورده شده است که ساختار کریستالی مناسب آنزیم حاوی بخش کاتالیتیکی مرکزی از سایت http://www.rcsb.org/pdb انتخاب و دانلود شد و کد آنزیم در این سایت 1AX9 با وضوح 2/8 آنگستروم قابل مشاهده است.

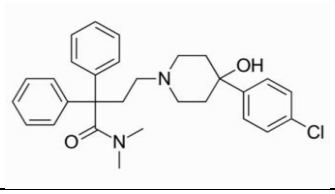
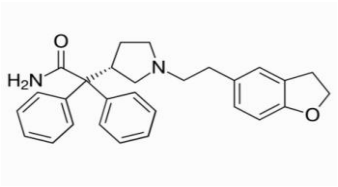
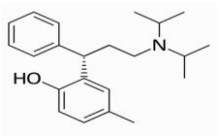
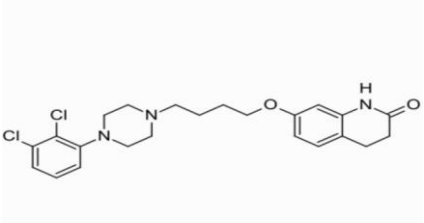
آماده کردن لیگاند و پروتئین استیل کولین استراز برای داکینگ: ساختار دو بعدی لیگاندهای مورد نظر توسط برنامه Hyperchem-8.0.10 ترسیم و سپس توسط همین نرم‌افزار از نظر انرژی بهینه شد. در مرحله بعد ساختارهای اضافی آنزیم شامل آب‌ها و بخش‌های غیرپروتئینی با استفاده از نرم‌افزار Discovery2024 حذف و بعد از آن، توسط برنامه Chimera1.17.1 کاملاً بهینه و آماده داکینگ مولکولی شد.

فایل پروتئین و فایل لیگاند مورد مطالعه در سرور H Dock بارگذاری و سابمیت شد و در مرحله بعد، ده مدل برتر داکینگ مولکولی دانلود و مدلی که انرژی اتصال منفی‌تر داشت کاملاً بررسی شد.

مشاهده و آنالیز نتایج داکینگ: پس از انجام عملیات داکینگ، نتایج شامل انرژی اتصال لیگاندها، انواع برهمکنش‌های لیگاند با پروتئین شامل برهمکنش‌های هیدروژنی،

برهمکنش‌های هیدروفوبی، انواع برهمکنش‌های عدد پی، برهمکنش با یون‌های مس موجود در جایگاه فعال آنزیم و سایر موارد، قابل مشاهده و تجزیه و تحلیل هستند و به منظور دستیابی به اطلاعات مذکور از نرم‌افزار Discovery2024 و دو سرور http://hdock.phys.hust.edu.cn و http//:ebi.ac.uk/thornton-srv/databases/pdbsum استفاده شد.

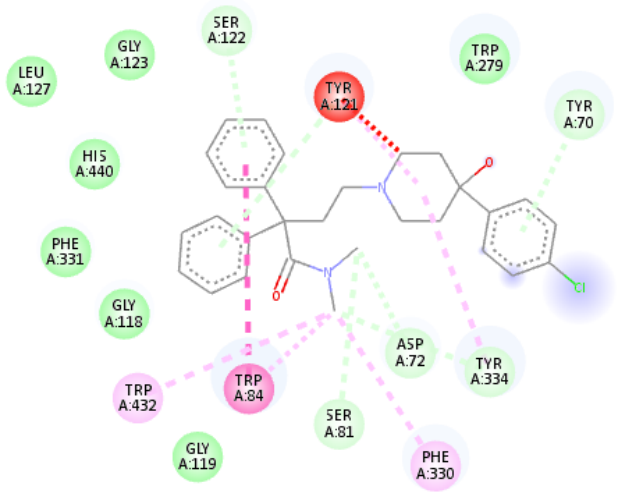
نام و جزئیات ساختاری ترکیبات مورد مطالعه

لوپرامید 4-[4-(4-Chlorophenyl)-4-hydroxypiperidin-1-yl]-N,N-dimethyl-2,2-diphenylbutanamide	
داریفناسین (S)-2-[1-[2-(2,3-dihydrobenzofuran-5-yl)ethyl] pyrrolidin-3-yl] -2,2-diphenyl-acetamide	
تولترودین (R)-2-[3-(diisopropylamino)-1-phenylpropyl]-4-methylphenol	
آریپی‌پرازول ۷-{4-[4-(2,3-Dichlorophenyl)piperazin-1-yl]butoxy}-3,4-dihydroquinolin-2(1H)-one	

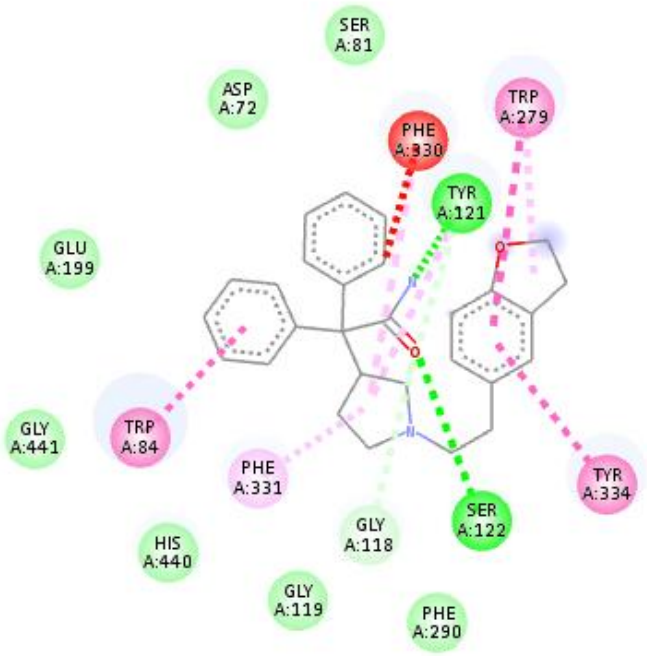
۳. یافته‌ها

نتایجی که در مطالعه حاصل از شبیه‌سازی مولکولی ما حاصل شد نشان می‌دهد که ترکیبات لوپرامید، داریفناسین، تولترودین، آریپی‌پرازول می‌توانند به جایگاه فعال آنزیم استیل کولین استراز متصل و موجب مهار این آنزیم شوند. لوپرامید دارای ۷ پیوند هیدروژنی با آنزیم استیل کولین استراز در جایگاه فعال آنزیم است و با آن اتصال یافته و نشان‌دهنده این است که به خوبی می‌تواند باعث مهار آنزیم شود. داریفناسین هم دارای ۴ پیوند هیدروژنی با آنزیم استیل کولین استراز در جایگاه فعال آنزیم است که می‌تواند باعث مهار آنزیم شود اما اثر آن کمتر از لوپرامید است. تولترودین همانند داریفناسین دارای ۴ پیوند هیدروژنی با آنزیم استیل کولین استراز در جایگاه فعال آنزیم است و می‌تواند سبب مهار آنزیم شود. آریپی‌پرازول همانند دو ترکیب داریفناسین و تولترودین دارای ۴ پیوند هیدروژنی با آنزیم استیل کولین استراز در جایگاه فعال آنزیم است که می‌تواند سبب مهار آنزیم شود. اتصال این ترکیبات به جایگاه فعال آنزیم استیل کولین استراز می‌توانند آنزیم را مهار کرده و در درمان بیماری آلزایمر اثربخش باشد.

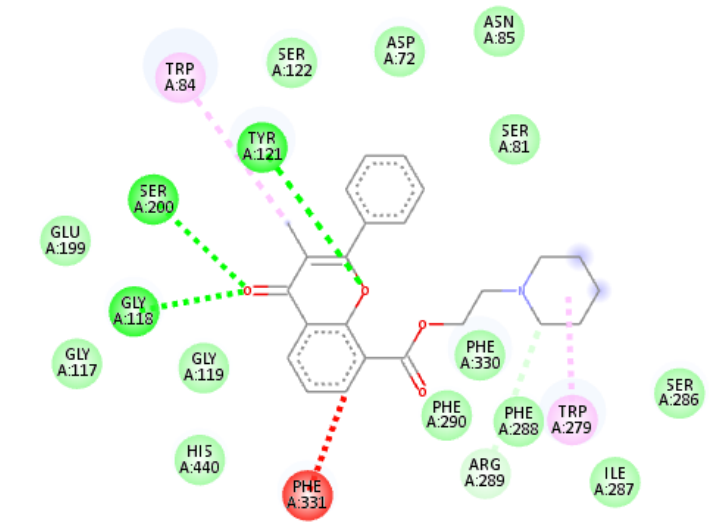
همان‌طور که در تصاویر الف تا ث نشان داده شده لوپرامید که با داکینگ در جایگاه فعال آنزیم قرار گرفته و با آمینواسید TYR121،ASP72، SER81، TYR70 TYR334، SER122،TYR121 در تشکیل پیوند هیدروژنی شرکت می‌کند و سطح انرژی اتصال -۲۲۰,۷۸ است و داریفناسین که با داکینگ در جایگاه فعال آنزیم قرار گرفته و با آمینواسید SER122،TYR121 ، GLY118، TYR121، در تشکیل پیوند هیدروژنی شرکت می‌کند و سطح انرژی اتصال -۲۳۰,۳۹ است و تولترودین که با داکینگ در جایگاه فعال آنزیم قرار گرفته و با آمینواسید GLY118،TYR121،SER200، ARG289 در تشکیل پیوند هیدروژنی شرکت می‌کند و سطح انرژی اتصال -۲۲۴,۷۱ است و آریپی‌پرازول که با داکینگ در جایگاه فعال آنزیم قرار گرفته و با آمینواسید TYR70، GLY441،TYR70، TYR121 در تشکیل پیوند هیدروژنی شرکت می‌کند و سطح انرژی اتصال -۲۱۵,۹۰ است و سپس کوکریستال که با داکینگ در جایگاه فعال آنزیم قرار گرفته و با آمینواسید HIS440، GLU199 در تشکیل پیوند هیدروژنی شرکت می‌کند.



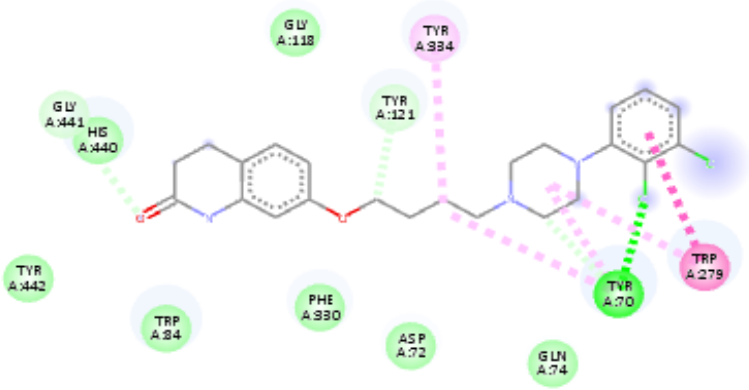
شکل ۱. ترکیب لوپرامید در جایگاه فعال آنزیم



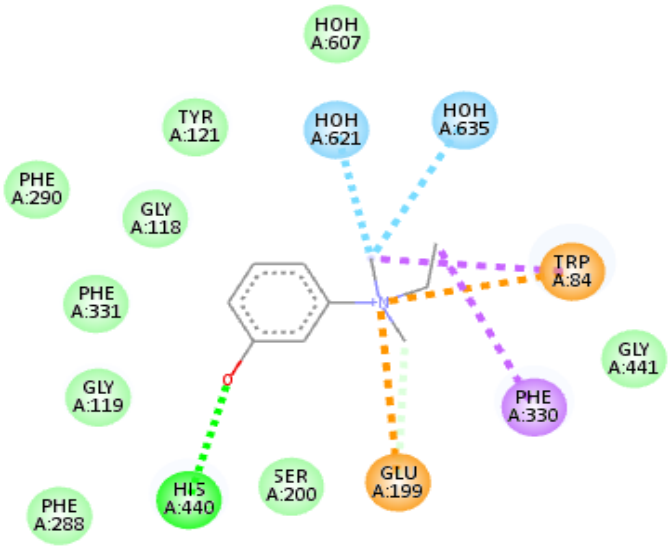
شکل ۲. ترکیب داریفناسین در جایگاه فعال آنزیم



شکل ۳. ترکیب تولترودین در جایگاه فعال آنزیم



شکل ۴. ترکیب آریپی‌پرازول در جایگاه فعال آنزیم



شکل ۵. ترکیب کوکریستال در جایگاه فعال آنزیم

۴. بحث

در مطالعه‌ای که Maram B.Alhawarri و همکارانش در سال ۲۰۲۳ برای درمان بیماری آلزایمر و مهار استیل کولین استراز انجام دادند چندین‌گونه Cassia که فعالیت ضد AchE قابل‌توجهی دارند ترکیبات گیاهی C. timoriensis flowers و C. grandis pods با آمینواسیدهای TRP279،PHE330، TRP84، HE331،TYR130، GLY 119، GLU327 در جایگاه فعال آنزیم پیوند هیدروژنی برقرار کرده است؛ درحالی‌که هیچ‌کدام از ترکیبات لوپرامید، داریفناسین، تولترودین و آریپی‌پرازول با این آمینواسیدها پیوند هیدروژنی برقرار نکرده و به جایگاه فعال آنزیم اتصال نیافته است.

در دو ترکیب timoriensis وgrandis با آمینواسیدهای TYR70، TYR 121، ASP72، TYR334، GLY118 در جایگاه فعال آنزیم پیوند هیدروژنی داشته است که در ترکیبات مورد مطالعه ما که شامل لوپرامید، داریفناسین، تولترودین و آریپی‌پرازول است نیز با همین آمینواسیدها در جایگاه فعال آنزیم پیوند هیدروژنی برقرار کرده است.[۱۷]

در مطالعه دیگری که A.Renugo Parameswari و همکارانش در سال ۲۰۱۵ بـرای مهار آنزیم استیل کولین استراز انجام دادند ترکیب کورکومین مورد بررسی قـرار گرفتـه بود که میل اتصال زیادی نسبت به AChE دارد.

ترکیـب کورکـومین بـا آمینواسـیدهای TRP84، GLU199، TYR130، SER122، ASP72، PHE330 در جایگاه فعال آنزیم پیوند هیدروژنی برقرار کرده است، درحالی‌کـه ترکیبات مورد بررسی در این مطالعه با هیچ‌کدام از آمینواسـیدهای TRP84،GLU199، TYR130، PHE330 پیوند هیدروژنی نداشته است؛ اما ترکیب لوپرامیـد بـا آمینواسـید ASP72 و دو ترکیب لوپرامید و داریفناسـین بـا آمینواسـید SER122 هماننـد ترکیـب کورکومین در این مطالعه در جایگاه فعال آنزیم پیوند هیدروژنی برقرار کرده است. اما دو ترکیب دیگر مورد مطالعه ما یعنی تولترودین و آریپی‌پرازول هیچ‌یک با این آمینواسیدها در جایگاه فعال آنزیم پیوند هیدروژنی نداشته‌اند.[۱۸]

نتایج حاصل از داکینگ نشان می‌دهد که ترکیبات لوپرامید، داریفناسین، تولترودین، آریپی‌پرازول می‌توانند به جایگاه فعال آنزیم استیل کولین استراز متصل و موجـب مهـار این آنزیم شوند. لوپرامید دارای ۷ پیوند هیـدروژنی بـا آنـزیم اسـتیل کـولین اسـتراز در جایگاه فعال آنزیم است و بسیار ترکیب مناسـبی بـرای اتصـال بـه جایگـاه فعـال آنـزیم می‌باشد. داریفناسین هم دارای ۴ پیوند هیدروژنی با آنزیم استیل‌کولین استراز در جایگاه فعال آنزیم است. تولترودین دارای ۴ پیوند هیدروژنی با آنزیم اسـتیل کـولین اسـتراز در جایگاه فعال آنزیم است. آریپی‌پرازول دارای ۴ پیوند هیدروژنی با آنـزیم اسـتیل کـولین استراز در جایگاه فعال آنزیم است.

در هـر چهـار ترکیـب لوپرامیـد، داریفناسـین، تـولترودین، آریپی‌پـرازول بـا توجـه بـا نتـایج داکینـگ و بررسـی توسـط سـرور آنلایـن http//:ebi.ac.uk/thornton-srv/databases/pdbsum/ آلفاهلیکس ۲۵ بود.

در این مطالعه نشـان داده شـد کـه ترکیبـات لوپرامیـد، داریفناسـین، تـولترودین و آریپی‌پرازول ترکیباتی هستند که توانایی اتصال به جایگـاه فعـال آنـزیم اسـتیل کـولین استراز را داشته و می‌توانند در مهار این آنزیم و در نتیجه درمان بیمـاری آلزایمـر نقـش داشته باشند.

۵. مراجع

1. Minati, L., et al., Reviews (2009). current concepts in Alzheimer's disease: a multidisciplinary review**.** ***American Journal of Alzheimer's Disease & Other Dementias*****®, 24(2): p. 121-95.**

2. Ajeet K, Rahul DJ, Sneham T, Arti V, Madhavan N. (2016). Nano-biosensors to detect beta-amyloid Alzheimer's disease management**.** ***Biosense Bioelectron,*** **5:80:273-8. doi:10.1016/j. bios.2016.01.065.**

3. Kleijnen, J. and Knipschild, P. (**1992).** Ginkgo biloba**. The Lancet, 340(8828): p. .1139-1136.**

4. Prince MJ. (2015). World alzheimer report 2015: the global impact of dementia: an analysis of prevalence, incidence, cost and trends**. London:** ***Alzheimer's Disease International*****.**

5. Anand R, Gill KD, Mahdi AA. (2014). Therapeutics of Alzheimer's disease: past, present and future**.** ***Neuropharmacol*****, 76: 27-50.**

6. Alipour F, Oryan S, Sharifzadeh M, Karimzadeh F, Kafami L, Irannejad H, et al. (2015). The neuroprotective effect of a triazine derivative in an Alzheimer's rat model**.** ***Acta Med Iran*****, 53(1): 8-16.**

7. Alipour F, Karimzadeh F, Hasanzadeh G. (2015). P59: Triazine improved hippocampal injuries in animal model of Alzheimer's disease**.** ***Shefaye Khatam*****, 2(4): 109.**

8. den Dunnen WF, Brouwer WH, Bijlard E, Kamphuis J, van Linschoten K, Eggens-Meijer E, et al. (**2008).** No disease in the brain of a 115-year-old woman**.** ***Neurobiol Aging*****, 29(8): 1127-32.**

9. Croffie, J.M., Ellett, M.L., Lou, Q. and Fitzgerald, J.F. (1999) A comparision of the effect of three sedatives on esophageal sphincters in cats**.** ***Digestive Diseaases*****, 17(2): 113-120.**

10. The clinical pharmacokinetics of darifenacin**: Andrej skerjanec.** ***clin pharmacokinet*****, 2006.**

11. Tolterodine Tartrate**: Gennady Ananchenko et al.** ***profiles Drug subst Excip Relat Methodol*****, 2017.**

12. A safety evaluation of aripiprazole in the treatment of schizophrenia**: Adrian Preda et al .** ***Expert Opin Drug saf*****, 2020.**

۱۳. زمانی، پریچهر؛ ساجدی، رضا حسن؛ قدمیاری، محمد و معماری‌زاده، نرگس (۱۳۹۴). «بررسی ویژگی‌های بیوشیمیایی و سم‌شناسی آنزیم استیل کولین استراز در کنه‌های دو لکه‌ای مقاوم و حساس به کلرپایریفوس»، مجله *پژوهش‌های سلولی و مولکولی* (مجله *زیست‌شناسی ایران*)، سال ۲۸، ش ۱، ۶۵-۷۵.

14. **Massoulié, J., Pezzementi, L., Bon, S., Krejci, E., & Vallette, F.-M. (1993).** Molecular and cellular biology of cholinesterases**.** ***Progress in neurobiology*****, 41(1), 31-91.**

15. **Pohanka, M. (2011).** Cholinesterases, a target of pharmacology and toxicology**.** ***Biomedical Papers of the Medical Faculty of Palacky University in Olomouc*****, 155(3)**.
16. **Sussman, J. L., Harel, M., Frolow, F., Oefner, C., Goldman, A., Toker, L., & Silman, I. (1991).** Atomic structure of acetylcholinesterase from Torpedo californica: a prototypic acetylcholinebinding protein**.** ***Science*****, 253(5022), 87.**
17. **Potential Anti -Cholinesterase Activitiy of Bioactive Compounds Extracted from Cassia grandise L.f. and Cassia timoriensis DC.: Maram B.Alhawarri, Roza Dianita, Mira Syahfriena Amir Rawa, Toshihiko Nogawa and Habibih A. Wahab (2023).**
18. **Renuga Parameswari, A., Rajalakshmi, G., Kumaradhas, P. (2015)** A combined molecular docking and charge density analysis is a mew approach for medicinal research to understand drug -receptor interaction curcumin-AChE model.