

Atividade anticolinesterásica *in vitro* e *in silico* de compostos fitoquímicos: uma revisão sistemática

In vitro and *in silico* anticholinesterase activity of phytochemical compounds: a systematic review

Actividad anticolinesterásica *in vitro* e *in silico* de compuestos fitoquímicos: una revisión sistemática

Recebido: 27/06/2025 | Revisado: 05/07/2025 | Aceitado: 05/07/2025 | Publicado: 07/07/2025

Cléber José da Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9871-4228>
Universidade Federal de Pernambuco, Brasil
E-mail: cleber.josesilva@ufpe.br

Tamires Eronilda da Silva

ORCID: <https://orcid.org/0009-0007-0916-5812>
Faculdade Santíssima Trindade, Brasil
E-mail: tamireseronilda4@gmail.com

Vitor Ryan da Silva

ORCID: <https://orcid.org/0009-0002-1910-9383>
Faculdade Santíssima Trindade, Brasil
E-mail: vitorpharma25@gmail.com

Maria de Fátima Rodrigues

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7155-2185>
Universidade Federal de Pernambuco, Brasil
E-mail: fatima.rodrigues@ufpe.br

Resumo

A Doença de Alzheimer (DA) é uma condição neurodegenerativa progressiva e irreversível que afeta funções cognitivas, estando associada à diminuição dos níveis de acetilcolina. Embora não haja cura, inibidores da acetilcolinesterase (AChE) são utilizados para retardar os sintomas. Compostos fitoquímicos com atividade anticolinesterásica têm sido estudados como alternativas terapêuticas promissoras, especialmente por meio de técnicas *in vitro* e *in silico*. Esta revisão sistemática teve como objetivo identificar fitoquímicos com potencial inibitório da AChE em estudos publicados entre 2020 e 2025, nas bases PubMed e Science Direct. Seis artigos atenderam aos critérios de inclusão e exclusão. Os compostos investigados pertencem às classes dos alcaloides, flavonoides, isoflavonoides e taninos. Entre os alcaloides, lahorina, bulbocapnina e um derivado benzodioxólico apresentaram fortes afinidades com a AChE, com energias de ligação entre -11,26 e -12,65 kcal·mol⁻¹. A huperzina B destacou-se por resultados positivos em ensaios biológicos. Flavonoides como apigenina, amentoflavona e isoqueritrina demonstraram fortes interações, sobretudo via ligações de hidrogênio com resíduos catalíticos da enzima, sendo os flavonoides aglyconas mais eficazes que seus glicoconjungados. Isoflavonoides como genistina e vitexina mostraram energias de até -12,5 kcal·mol⁻¹. O ácido elágico, embora menos potente *in vitro*, exibiu múltiplas interações estruturais. Os achados destacam os alcaloides policíclicos e flavonoides aglyconas como classes promissoras no desenvolvimento de novos inibidores da AChE. Ressalta-se a importância da integração entre abordagens *in silico*, *in vitro* e estudos farmacocinéticos/toxicológicos para validação terapêutica e avanço no tratamento da DA.

Palavras-chave: Compostos fitoquímicos; Anticolinesterásico; *In silico*; *In vitro*.

Abstract

Alzheimer's disease (AD) is a progressive and irreversible neurodegenerative condition that affects cognitive functions, being associated with reduced acetylcholine levels. Although there is no cure, acetylcholinesterase (AChE) inhibitors are used to slow symptom progression. Phytochemical compounds with anticholinesterase activity have been studied as promising therapeutic alternatives, particularly through *in vitro* and *in silico* techniques. This systematic review aimed to identify phytochemicals with AChE inhibitory potential in studies published between 2020 and 2025, using the PubMed and Science Direct databases. Six articles met the inclusion and exclusion criteria. The compounds investigated belong to the classes of alkaloids, flavonoids, isoflavonoids, and tannins. Among the alkaloids, lahorine, bulbocapnine, and a benzodioxole derivative showed strong affinities with AChE, with binding energies ranging from -11.26 to -12.65 kcal·mol⁻¹. Huperzine B stood out for its positive results in biological assays. Flavonoids such as apigenin, amentoflavone, and isoquercitrin demonstrated strong interactions, especially through hydrogen bonding with the enzyme's catalytic residues. Aglycone flavonoids proved more effective than their glycosylated forms. Flavonoids such as apigenin, amentoflavone, and isoquercitrin demonstrated strong interactions, especially via hydrogen bonding with the enzyme's catalytic residues, with aglycone flavonoids proving more effective than their glycosylated forms. Isoflavonoids such as genistein and vitexin showed binding energies up to

–12.5 kcal·mol^{–1}. Although ellagic acid was less potent *in vitro*, it exhibited multiple structural interactions. The findings highlight polycyclic alkaloids and aglycone flavonoids as promising classes for the development of new AChE inhibitors. Integration of *silico*, *in vitro*, and pharmacokinetic/toxicological studies is essential for therapeutic validation and advances in AD treatment.

Keywords: Phytochemical compounds; Anticholinesterase; *In silico*; *In vitro*.

Resumen

La enfermedad de Alzheimer (EA) es una condición neurodegenerativa progresiva e irreversible que afecta las funciones cognitivas, asociada a una disminución de los niveles de acetilcolina. Aunque no existe cura, los inhibidores de la acetilcolinesterasa (AChE) se utilizan para ralentizar la progresión de los síntomas. Los compuestos fitoquímicos con actividad anticolinesterásica han sido estudiados como alternativas terapéuticas prometedoras, especialmente mediante técnicas *in vitro* e *in silico*. Esta revisión sistemática tuvo como objetivo identificar fitoquímicos con potencial inhibidor de la AChE en estudios publicados entre 2020 y 2025, en las bases de datos PubMed y Science Direct. Seis artículos cumplieron los criterios de inclusión y exclusión. Los compuestos investigados pertenecen a las clases de alcaloides, flavonoides, isoflavonoides y taninos. Entre los alcaloides, la lahorina, la bulbocapnina y un derivado benzodioxólico mostraron fuertes afinidades con la AChE, con energías de enlace entre –11.26 y –12.65 kcal·mol^{–1}. La huperzina B se destacó por sus resultados positivos en ensayos biológicos. Flavonoides como la apigenina, amentoflavona e isoqueritrina mostraron fuertes interacciones, especialmente mediante enlaces de hidrógeno con residuos catalíticos de la enzima, siendo los flavonoides agliconas más eficaces que sus formas glicosiladas. Isoflavonoides como la genistina y la vitexina mostraron energías de hasta –12.5 kcal·mol^{–1}. Aunque el ácido elágico fue menos potente *in vitro*, presentó múltiples interacciones estructurales. Los hallazgos destacan a los alcaloides policíclicos y flavonoides agliconas como clases prometedoras para el desarrollo de nuevos inhibidores de la AChE. La integración de estudios *in silico*, *in vitro* y farmacocinéticos/toxicológicos es esencial para la validación terapéutica y el avance en el tratamiento del EA.

Palabras clave: Compuestos fitoquímicos; Anticolinesterásico; *In silico*; *In vitro*.

1. Introdução

A Doença de Alzheimer (DA) é uma desordem neurodegenerativa complexa, irreversível e progressiva que compromete gravemente as funções cognitivas, levando à perda de memória, desorientação e declínio nas capacidades de raciocínio e linguagem (Athar et al., 2021). Esse quadro está associado à perda substancial de neurônios colinérgicos em regiões específicas do cérebro, como o córtex cerebral e o hipocampo, que são cruciais para a memória e o aprendizado. O comprometimento da neurotransmissão mediada pela acetilcolina – um neurotransmissor fundamental nesse processo – agrava ainda mais o quadro clínico, afetando as funções cognitivas (Montoya et al., 2019).

Estima-se que, até 2050, cerca de 132 milhões de pessoas serão afetadas pela DA globalmente, tornando essa doença um dos principais desafios de saúde pública. Entre 2000 e 2018, a mortalidade por Alzheimer aumentou mais de 140%, superando o crescimento de óbitos por doenças cardíacas, AVC e HIV, especialmente em países como os Estados Unidos, onde o envelhecimento da população é significativo (Montoya et al., 2019; Souza et al., 2021).

Apesar da gravidade do cenário, ainda não existe uma cura para o DA. Contudo, tratamentos farmacológicos, incluindo inibidores da enzima acetilcolinesterase como rivastigmina, donepezila, galantamina e o antiglutamatérgico memantina, ajudam a retardar o declínio cognitivo e a mitigar os sintomas (Costa et al., 2019).

Paralelamente, a fitoterapia — prática milenar baseada no uso de plantas medicinais — tem ganhado destaque no contexto da Doença de Alzheimer. Reconhecida pela Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares do Ministério da Saúde, a fitoterapia é cada vez mais utilizada na atenção primária à saúde (Brasil, 2006). Pesquisas fitoquímicas e biológicas demonstram que várias espécies vegetais contêm compostos como alcaloides, flavonoides e terpenoides que oferecem efeitos neuroprotetores, como melhoria da circulação sanguínea cerebral, fortalecimento das paredes capilares, prevenção da formação de coágulos e proteção das células nervosas contra danos oxidativos (Neto et al., 2014).

Nesse contexto, o uso de ferramentas computacionais tem se destacado como uma abordagem promissora para aprofundar a compreensão dos mecanismos de ação desses compostos bioativos. Técnicas *in silico* têm se mostrado valiosas na investigação das interações químicas e dos efeitos biológicos dos compostos fitoquímicos frente à acetilcolinesterase. Esses

métodos computacionais permitem a modelagem molecular e a simulação de interações, proporcionando uma compreensão aprofundada das ligações entre fitoquímicos e a enzima. Com a utilização de ferramentas como *docking* molecular e dinâmicas moleculares, é possível prever como esses compostos podem inibir a atividade da acetilcolinesterase, aumentando assim a disponibilidade de acetilcolina na fenda sináptica e potencialmente melhorando as funções cognitivas em pacientes com DA (Souza et al., 2021).

Ao investigar a atividade anticolinesterásica dos compostos fitoquímicos, este estudo não apenas contribui para a compreensão dos mecanismos moleculares envolvidos, mas também para a identificação de novas substâncias que poderiam oferecer um perfil de segurança mais favorável em comparação aos medicamentos sintéticos. Portanto este estudo teve como objetivo avaliar a atividade anticolinesterásica *in vitro* e *in silico* de compostos fitoquímicos através de uma revisão sistemática. Buscou-se inicialmente revisar a literatura para identificar os principais compostos fitoquímicos com ação anticolinesterásica comprovada em estudos *in vitro* e *in silico*. Esses compostos foram classificados de acordo com seu grupo fitoquímico, o que permitiu uma análise mais detalhada de suas características estruturais e funcionais.

2. Metodologia

Foi realizada uma pesquisa do tipo revisão bibliográfica, com abordagem quantitativa, considerando a quantidade de artigos selecionados e as respectivas porcentagens (Gil, 2017; Pereira et al., 2018). A metodologia de pesquisa utilizada para a elaboração desta revisão sistemática foi baseada nos modelos propostos por Moura et al. (2015) e Montana et al. (2019), com as devidas adaptações. O objetivo desta revisão sistemática é avaliar a atividade anticolinesterásica de compostos fitoquímicos por meio de estudos *in vitro* e *in silico*. A busca por artigos científicos foi realizada considerando publicações disponíveis entre os anos de 2020 a 2025, nas seguintes bases de dados: *Science Direct* (<https://www.sciencedirect.com>) e *Pubmed* (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Para a construção de uma estratégia de busca eficiente, foram utilizadas as seguintes palavras-chave: Compostos fitoquímicos, Anticolinesterásico, *In silico* e *In vitro*.

2.1 Seleção dos dados

O processo de revisão teve início após a realização da busca e extração dos artigos nas bases de dados, com a aplicação dos critérios de inclusão e exclusão previamente definidos (Tabela 1).

Tabela 1 - Critérios de inclusão e exclusão.

Parâmetros	Inclusão	Exclusão
Tipo de publicação	Artigos de pesquisa	Revisões de literatura, encyclopédias, capítulos de livros, resumos de conferências, discussões, comunicações breves, dissertações e teses.
Tipo de estudo	Estudos que abordam atividade anticolinesterásica <i>in silico</i> e <i>in vitro</i> associadas a compostos fitoquímicos isolados.	Estudos que não abordem diretamente a atividade anticolinesterásica <i>in silico</i> e <i>in vitro</i> associadas a compostos fitoquímicos isolados.
Linguagem	Inglês	Outra linguagem diferente do Inglês.

Fonte: Elaborado pelos Autores.

Os títulos e resumos foram posteriormente avaliados, além da eliminação de duplicatas encontradas nas bases de dados. Em seguida, foi realizada uma leitura minuciosa dos trabalhos selecionados, sendo eliminados os artigos que não se enquadravam no escopo deste estudo. As referências bibliográficas dos artigos selecionados também foram analisadas com o objetivo de identificar possíveis trabalhos que pudessem ser incluídos nesta pesquisa.

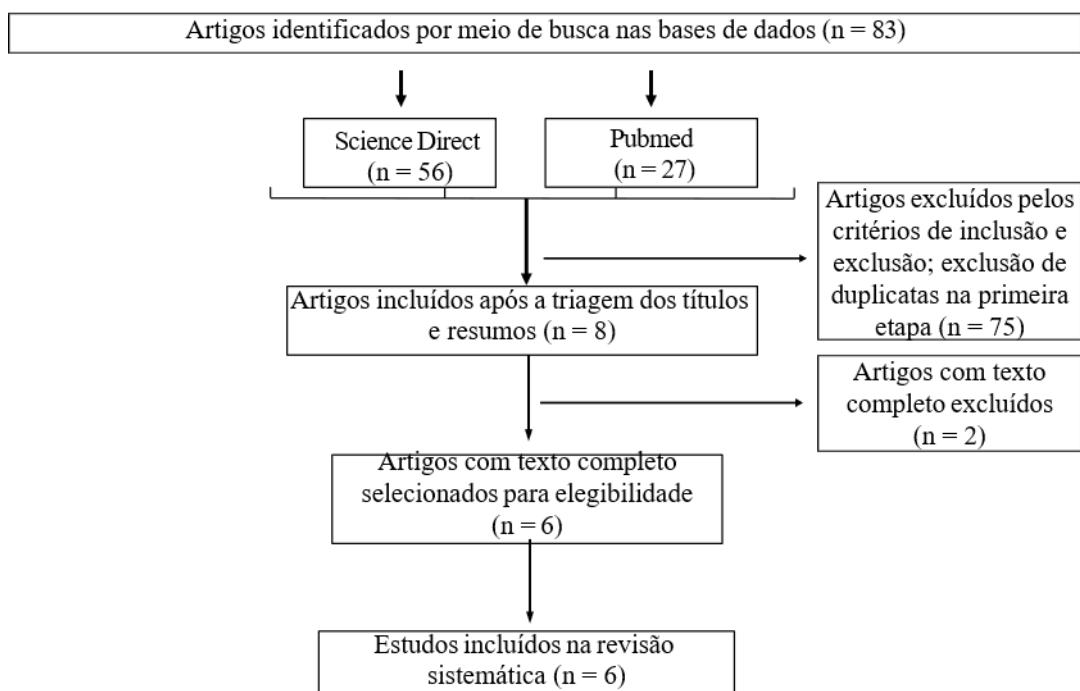
2.2 Extração de dados

Com base na leitura dos trabalhos selecionados, as informações buscadas foram os seguintes indicadores: compostos isolados, classe de compostos presentes e tipo de estudo.

3. Resultados e Discussão

Inicialmente, um total de 83 artigos foram encontrados na etapa inicial realizada nas bases de dados, mas, após a leitura dos títulos e resumos de acordo com os critérios de inclusão e exclusão, além da eliminação de artigos repetidos, 75 artigos foram descartados. Diante do exposto, apenas 8 artigos foram utilizados no desenvolvimento da etapa 2. Os textos foram posteriormente lidos na íntegra e apenas 6 artigos foram utilizados na construção da discussão (Figura 1).

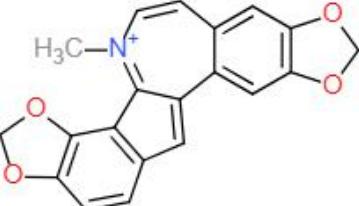
Figura 1 - Diagrama de fluxo do processo de seleção dos artigos.

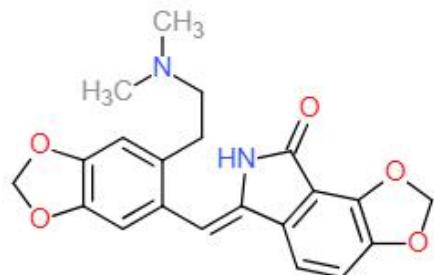


Fonte: Elaborado pelos Autores.

Os fitoquímicos possuem um papel relevante no manejo de variadas condições neurológicas. Investigações farmacológicas têm evidenciado atividades anti-inflamatórias, anticolinesterásicas e antioxidantes promissoras em extratos vegetais e metabólitos secundários isolados (Bui & Nguyen, 2017). Sob essa perspectiva, diversas espécies têm sido objeto de estudo (Almeida & Santos, 2018). Alguns metabólitos, inclusive, têm apresentado potencial para o tratamento de doenças neurológicas com ação anticolinesterásica, podendo favorecer a exploração de novos protótipos moleculares com propriedades biológicas inibitória colinérgica, conforme detalhado na Tabela 2 nos artigos selecionados para a apresentação dos dados (Noori, et al., 2021).

Tabela 2 - Resultado da triagem das pesquisas de fitoquímicos com atividade anticolinesterásica.

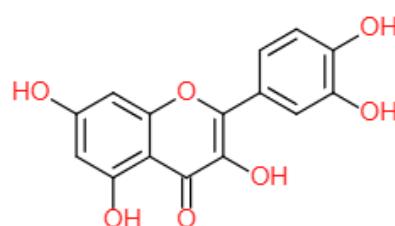
Estrutura	Nomenclatura	Classe fitoquímica	Resultados	Referências
	Lahorina	Alcalóide	A simulação sugeriu estabilidade estrutural da lahorina no sítio ativo da AChE, corroborando seu potencial como inibidor da enzima. O composto apresentou uma energia de ligação estimada em $-11,26 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$. Foram observadas interações hidrofílicas relevantes com os resíduos SER293 e HIS447. Além disso, o composto estabeleceu diversas outras interações com resíduos-chave do sítio catalítico e periférico da AChE, incluindo VAL294, PHE295, PHE297, TRP286, TYR341, PHE338, TYR337, TRP86, TYR124, TYR72, ASP74 e ARG296, o que reforça sua afinidade e possível eficácia inibitória.	Islam et al., 2024;
	Bulbocapnina	Alcalóide	A simulação sugeriu estabilidade estrutural da bulbocapnina no sítio ativo da AChE, corroborando seu potencial como inibidor da enzima. O composto apresentou uma energia de ligação estimada em $-11,44 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$, indicando forte afinidade pela AChE. Interações fortes, como ligações de hidrogênio, foram identificadas com o resíduo ASP74. Além disso, interações hidrofílicas significativas foram observadas com os resíduos HIS447, SER203, GLN71, SER125 e ASN87. O composto também estabeleceu interações adicionais com diversos resíduos do sítio catalítico e periférico da enzima, incluindo TYR341, TYR337, PHE338, GLY448, GLU202, ILE451, VAL73, TYR72, GLY126, TYR124, GLY121, GLY120, PRO88 e TRP86, reforçando sua afinidade com o alvo biológico e seu potencial efeito inibitório sobre a atividade da AChE.	Islam et al., 2024;



(6Z)-6-[[6-[2-(dimethylamino)ethyl]-1,3-benzodioxol-5-il]methylideno]-[1,3-dioxolo[4,5-g]isoindol-8-ona
Alcalóide

A simulação sugeriu estabilidade estrutural do composto no sítio ativo da AChE, corroborando seu potencial como inibidor da enzima, com uma energia de ligação estimada em $-12,65 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$. Interações fortes, como ligações de hidrogênio, foram identificadas com os resíduos PHE295 e ASN87. Além disso, interações hidrofílicas relevantes foram observadas com os resíduos SER293, HIS447, GLN71, ASN87 e SER125. O composto também estabeleceu interações adicionais com diversos resíduos pertencentes aos sítios catalítico e periférico da AChE, incluindo LEU289, TRP286, TYR72, VAL73, ASP74, GLY126, TYR124, VAL294, ARG296, PHE297, TYR341, PHE338, TYR337, TRP86 e PRO88, o que reforça sua afinidade pelo alvo enzimático e seu potencial efeito inibitório.

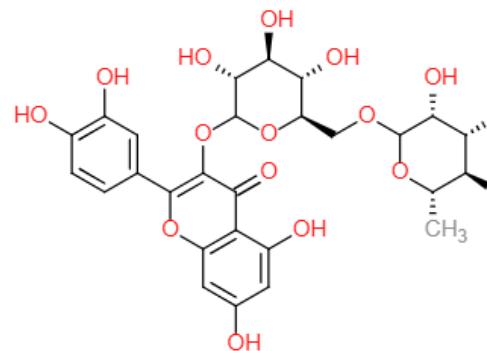
Islam et al., 2024;



Quercetina
Flavonoide

Neste estudo, a quercetina apresentou atividade inibitória frente a AChE, *in vitro*, com valor de IC_{50} de $6,28 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Na análise *in silico*, demonstrou afinidade com a enzima, com energia de ligação estimada em $-8,2 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$. No sítio catalítico da AChE, a quercetina estabeleceu duas ligações de hidrogênio com os resíduos LYS332 e ARG525, além de interações do tipo π -alquil com o resíduo ALA526.

Frota et al, 2022

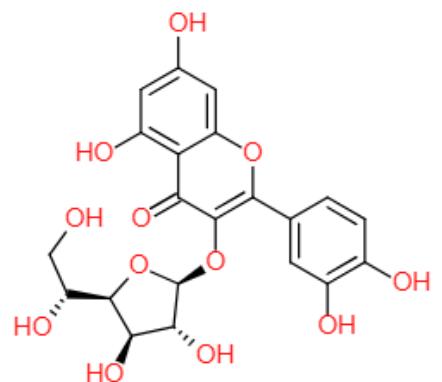


Rutina

Flavonoide

A rutina apresentou atividade inibitória frente a AChE, *in vitro*, com valor de IC_{50} de 12,00 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Na análise *in silico*, demonstrou afinidade com a enzima, com energia de ligação estimada em $-9,3 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$. No sítio catalítico da AChE, observou-se que a rutina estabeleceu uma ligação de hidrogênio convencional com o resíduo GLN527.

Frota et al, 2022

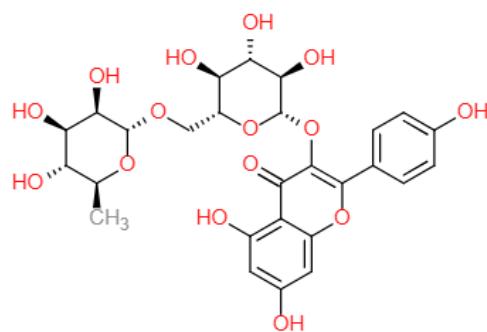


Isoquercitrina

Flavonoide

A isoquercitrina apresentou atividade inibitória frente a AChE, *in vitro*, com valor de IC_{50} de 3,15 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Na análise *in silico*, demonstrou afinidade com a enzima, com energia de ligação estimada em $-8,7 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$. No sítio catalítico da AChE, observou-se uma ligação de hidrogênio convencional entre a isoquercitrina e o resíduo ASP400.

Frota et al, 2022

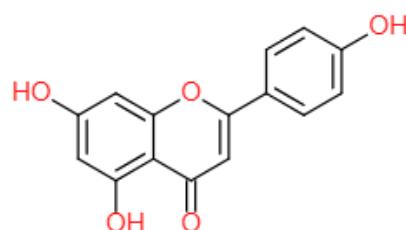


Kaempferol-3-O-rutinosídeo

Flavonoide

O kaempferol-3-O-rutinosídeo apresentou atividade inibitória frente a AChE, *in vitro*, com valor de IC_{50} de $8,94 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Na análise *in silico*, demonstrou afinidade com a enzima, com energia de ligação estimada em $-9,2 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$. No sítio catalítico da AChE, o ligante estabeleceu ligações convencionais de hidrogênio com ARG525 e GLN527.

Frota et al, 2022

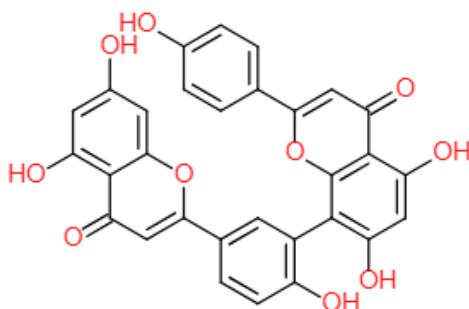


Apigenina

Flavonoide

A apigenina apresentou atividade inibitória frente a AChE, *in vitro*, com valor de IC_{50} de $3,12 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Na análise *in silico*, demonstrou afinidade com a enzima, com energia de ligação estimada em $-10,1 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$. No sítio catalítico da AChE, observou-se que o composto estabeleceu interações fortes com quatro resíduos-chave: TRP86, GLY120, GLY121 e TYR337.

Frota et al, 2022

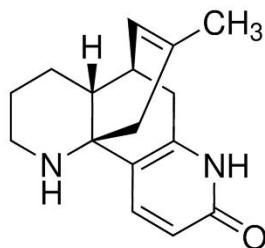


Amentoflavona

Flavonoide

A amentoflavona apresentou atividade inibitória frente a AChE, *in vitro*, com valor de IC_{50} de $8,68 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Na análise *in silico*, demonstrou afinidade com a enzima, com energia de ligação estimada em $-10,1 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$, além de apresentar nove interações com a AChE, incluindo quatro ligações de hidrogênio convencionais — uma com ASP74, outra com ARG296 e duas com SER293.

Frota et al, 2022

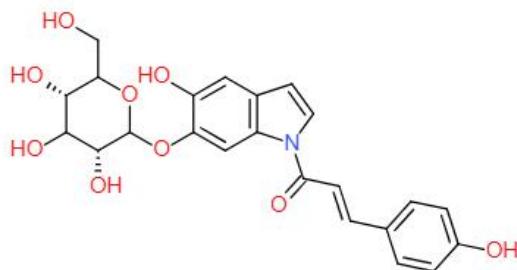


Huperzina B

Alcalóide

Na análise *in silico*, a huperzina B apresentou energia de ligação de $-8,13\text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ no sítio ativo da enzima, estabelecendo interações com os resíduos TRP285, TYR123, TYR71 e LEU71.

Azmal et al., 2024.

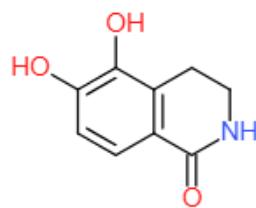


Oleraciamida G

Alcalóide

Neste estudo *in vitro*, a oleraciamida G apresentou atividade inibitória frente a AChE, com um valor de IC_{50} de $65,71 \pm 0,15\text{ }\mu\text{M}$.

Xu,et al., 2020.



Olerainadol D

Alcalóide

Neste estudo *in vitro*, o alcaloide olerainadol D apresentou atividade inibitória frente a AChE, com um valor de IC_{50} de $58,78 \pm 0,36\text{ }\mu\text{M}$.

Xu,et al., 2020.

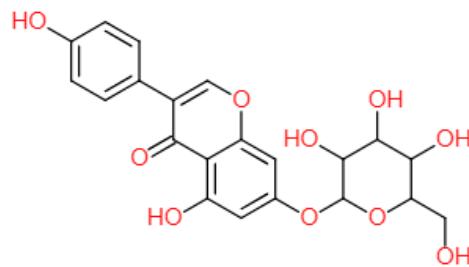


Ácido elágico

Tanino

O ácido elágico apresentou atividade inibitória frente a AChE, *in vitro*, com valor de IC_{50} de $1,927\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$. Na análise *in silico*, apresentou energia de ligação de $-9,39\text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$, interagindo através de ligações de ponte de hidrogênio com os resíduos HIS447, TYR124, GLU81, SER293, ARG296, ARG463 E VAL132 da AChE.

Abd El-Aziz et la., 2021.

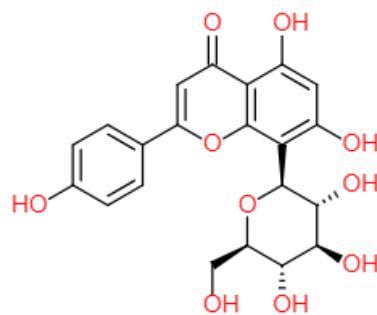


Genistina

Flavonoide

A genistina na análise *in silico*, demonstrou afinidade com a enzima, com energia de ligação estimada em $-12,5 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ e apresentou interações no sítio catalítico da AChE com ligações $\pi-\pi$ com PHE330 e TRP84, além de uma ligação π -hidrogênio com TYR121 e TRP84.

Adewole e Ishola, 2021.



Vitexina

flavonoide

A vitexina na análise *in silico*, demonstrou afinidade com a enzima, com energia de ligação estimada em $-12,4 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ e interagiu no sítio catalítico da AChE por meio de ligações de hidrogênio com TRP76, ILE126 e TYR198.

Adewole e Ishola, 2021.

Fonte: Elaborado pelos Autores.

No estudo conduzido por Islam et al., (2024), três alcaloides isolados de plantas medicinais tradicionais — lahorina, bulbocapnina e um derivado benzodioxólico descrito como (6Z)-6-[[6-[2-(dimetilamino)etil]-1,3-benzodioxol-5-il]metilideno]-[1,3]dioxolo[4,5-g]isoindol-8-ona — demonstraram afinidades significativas com a enzima AChE, com energias de ligação variando entre $-11,26$ e $-12,65$ kcal·mol $^{-1}$. Essas interações *in silico* sugerem forte estabilidade estrutural dos compostos no sítio ativo da AChE, corroborando seu potencial como inibidores da enzima.

No estudo supracitado a lahorina apresentou energia de ligação de $-11,26$ kcal·mol $^{-1}$ e estabeleceu interações hidrofílicas relevantes com os resíduos SER293 e HIS447, além de múltiplas interações adicionais com resíduos do sítio catalítico e periférico da enzima, incluindo VAL294, PHE295, PHE297, TRP286, TYR341, PHE338, TYR337, TRP86, TYR124, TYR72, ASP74 e ARG296. A bulbocapnina exibiu energia de ligação de $-11,44$ kcal·mol $^{-1}$, formando ligações de hidrogênio com ASP74 e interações hidrofílicas com HIS447, SER203, GLN71, SER125 e ASN87. Outras interações estruturais estáveis foram observadas com os resíduos TYR341, TYR337, PHE338, GLY448, GLU202, ILE451, VAL73, TYR72, GLY126, TYR124, GLY121, GLY120, PRO88 e TRP86. Já o composto isoindólico apresentou a maior afinidade entre os três, com energia de ligação de $-12,65$ kcal·mol $^{-1}$. Foram identificadas ligações de hidrogênio com PHE295 e ASN87, além de interações hidrofílicas com SER293, HIS447, GLN71, SER125 e ASN87. Adicionalmente, estabeleceu contatos importantes com resíduos como LEU289, TRP286, TYR72, VAL73, ASP74, GLY126, TYR124, VAL294, ARG296, PHE297, TYR341, PHE338, TYR337, TRP86 e PRO88.

Diante destas informações, Islam et al., (2024) abordam que esses resultados reforçam a hipótese de que compostos com núcleos policíclicos contendo heteroátomos nitrogenados e sistemas aromáticos conjugados apresentam conformações estruturais favoráveis à interação com resíduos-chave da AChE, sendo promissores candidatos a inibidores dessa enzima associada à Doença de Alzheimer.

Tais achados estão de acordo com os dados relatados por Pang et al. (2020), que destacam o papel dos sistemas benzodioxólicos e das aminas terciárias na estabilização das interações com a AChE. Além disso, a literatura aponta que compostos contendo heteroátomos nitrogenados e estruturas rígidas tendem a apresentar melhor orientação no sítio catalítico, o que aumenta sua eficácia predita como inibidores, conforme discutido por Dias, Urban e Roessner (2018). No entanto, é fundamental considerar que os resultados de Islam et al., (2024) foram obtidos exclusivamente por modelagem molecular, o que impõe limitações quanto à sua correlação direta com a atividade biológica real.

Em contraponto, Xu et al., (2020) avaliaram *in vitro* dois alcaloides inéditos, Oleraciamida G e Oleraindol D, isolados de *Portulaca oleracea*, os quais demonstraram valores de CI_{50} de $65,71 \pm 0,15$ μM e $58,78 \pm 0,36$ μM , respectivamente. Esses dados experimentais, ainda que indiquem uma atividade moderada, contrastam com os valores mais expressivos observados nos estudos *in silico* de Islam et al., (2024). Essa diferença entre os dados preditivos e os obtidos experimentalmente sugere a necessidade de uma interpretação cuidadosa dos resultados computacionais, especialmente considerando que aspectos como biodisponibilidade, estabilidade metabólica e permeabilidade em barreiras biológicas não são diretamente avaliados nesse tipo de abordagem. Nesse sentido, Lionta et al., (2014) ressaltam que, embora a afinidade teórica entre ligante e receptor ofereça dados importantes sobre o potencial de interação, sua extrapolação para a eficácia biológica requer apoio de dados experimentais complementares, como os farmacocinéticos.

Um exemplo clássico da eficácia validada de alcaloides é a huperzina B, um composto amplamente investigado por sua atividade anticolinesterásica. Embora tenha apresentado energia de ligação inferior ($-8,13$ kcal·mol $^{-1}$) em análises *in silico*, seu desempenho em ensaios *in vitro* e *in vivo* é consideravelmente superior, com CI_{50} na faixa nanomolar, o que reforça a necessidade de integrar múltiplas abordagens na avaliação da atividade biológica. A huperzina B estabelece interações com resíduos como TRP285, TYR123, TYR71 e LEU71, que, embora distintos do sítio catalítico da AChE, podem influenciar significativamente o bloqueio enzimático, como discutido por Sussman et al., (1991).

Além dos alcaloides, flavonoides também têm sido vastamente estudados por sua capacidade de inibir a AChE. Frota et al., (2022) investigaram seis flavonoides isolados de *Ouratea fieldingiana* por meio de ensaios *in vitro* e *in silico*. Os resultados estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 - Resultados do ensaio *in silico* dos seis flavonoides estudados por Frota et al., (2022).

Flavonoide	CI ₅₀ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	Energia de ligação	Resíduos chave de interação através de ligações de hidrogênio
Quercetina	6,28	-8,2	LYS332, ARG525
Rutina	12,00	-9,3	GLN527
Isoquercitrina	3,15	-8,7	ASP400
Kaempferol-3-O-rutinosídeo	8,94	-9,2	ARG525, GLN527
Apigenina	3,12	-10,1	TRP86, GLY120, GLY121, TYR337
Amentoflavona	8,68	-10,1	ASP74, ARG296, SER293

Fonte: Frota et al. (2022).

As agliconas apigenina e amentoflavona se destacaram com energias de ligação de $-10,1 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$, enquanto os flavonoides glicoconjugados, como rutina, isoquercitrina e kaempferol-3-O-rutinosídeo, apresentaram valores entre $-8,2$ e $-9,3 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$. Essa diferença sugere que a ausência de grupos glicosídicos favorece a interação com o sítio ativo da enzima, aumentando a afinidade e, possivelmente, a eficácia. A apigenina, por exemplo, apresentou CI₅₀ de $3,12 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ e estabeleceu interações com TRP86, GLY120, GLY121 e TYR337, evidenciando que seu baixo peso molecular e estrutura planar são benéficos para o acoplamento eficaz à enzima, como também discutido por Orhan et al., (2007).

Apesar de possuir uma massa molecular elevada ($\sim 538 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$), a amentoflavona exibiu energia de ligação equivalente à da apigenina e CI₅₀ de $8,68 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ o que pode ser atribuído à sua estrutura bimérica e capacidade de formar múltiplas ligações de hidrogênio, facilitando o preenchimento do canal ativo. Entre os flavonoides glicoconjugados, a isoquercitrina mostrou CI₅₀ de $3,15 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, desempenho próximo ao da apigenina, sugerindo que a posição e o tipo de açúcar presente no flavonoide podem modular sua atividade, conforme observado por Rao et al., (2020).

Os isoflavonoides também apresentam atividade promissora como inibidores da AChE. Adewole e Ishola (2021) relataram que a genistina e a vitexina exibiram energias de ligação de $-12,5$ e $-12,4 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$, respectivamente. As interações com resíduos como PHE330, TRP84, TYR121 e ILE126 foram caracterizadas por ligações $\pi\text{-}\pi$ e ligações de hidrogênio, configurando um perfil estrutural favorável à estabilização no sítio ativo. Esses resultados corroboram os achados de Ali et al., (2016), que destacam o potencial dos sistemas aromáticos conjugados na interação com regiões hidrofóbicas da enzima.

Outro exemplo relevante é o ácido elágico, um tanino isolado da alcachofra (*Cynara scolymus*), que apresentou CI₅₀ de $1,927 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ e energia de docking de $-9,39 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$. Apesar da menor potência observada *in vitro*, esse composto estabeleceu múltiplas ligações de hidrogênio com resíduos como HIS447, TYR124, GLU81 e SER293. A alta polaridade observada no ácido elágico, associada à presença de diversos grupos hidroxila, pode dificultar sua passagem através da barreira hematoencefálica, todavia, ao mesmo tempo, permite sua interação com regiões periféricas da AChE, o que pode ser aproveitado no desenho de análogos com menor polaridade e maior seletividade, conforme sugerido por Fang et al. (2019).

Portanto, os dados reunidos demonstram que diferentes classes de compostos naturais – especialmente alcaloides policíclicos, flavonoides agliconas e isoflavonoides – apresentam potencial significativo como inibidores da AChE. A afinidade predita por docking, quando acompanhada de interações com resíduos catalíticos e periféricos da enzima, sugere que tais compostos podem ser considerados candidatos relevantes para o desenvolvimento de novos fármacos voltados ao tratamento da Doença de Alzheimer. Ainda assim, é imprescindível considerar os parâmetros farmacocinéticos e toxicológicos

que influenciam a eficácia *in vivo*, sendo recomendável a combinação de estratégias *in silico* e ensaios experimentais para validação de sua aplicabilidade terapêutica. Essa abordagem integrada, conforme relatam Daina et al., (2017) e Zhou et al., (2019), é essencial para a aplicação dos achados laboratoriais em soluções clínicas viáveis.

4. Conclusão

Os resultados desta revisão sistemática evidenciam o potencial terapêutico de compostos fitoquímicos com atividade anticolinesterásica, reforçando a importância da biodiversidade vegetal como fonte de novos candidatos a fármacos para o tratamento da Doença de Alzheimer. Diversas classes de metabólitos secundários, especialmente alcaloides e flavonoides, demonstraram interações significativas com o sítio ativo da enzima acetilcolinesterase, tanto em estudos *in silico* quanto em ensaios *in vitro*. Os alcaloides lahorina, bulbocapnina e (6Z)-6-[[6-[2-(dimetilamino)etil]-1,3-benzodioxol- 5-il]metilideno]-[1,3]dioxolo[4,5-g]isoindol-8-ona apresentaram energias de ligação favoráveis, superiores a muitos compostos sintéticos clássicos, indicando forte potencial inibitório.

No grupo dos flavonoides, compostos como apigenina, amentoflavona e isoqueritrina se destacaram pela baixa concentração inibitória (IC_{50}) e pela capacidade de formar múltiplas ligações de hidrogênio com resíduos catalíticos da AChE. Observou-se ainda que flavonoides agliconas tendem a apresentar melhor desempenho do que seus derivados glicosilados, o que pode estar relacionado à maior afinidade e melhor encaixe no sítio ativo da enzima. Isoflavonoides como genistina e vitexina também demonstraram baixas energias de ligação e interações estáveis, configurando-se como moléculas promissoras para futuras investigações.

Embora os dados de docking molecular forneçam informações importantes sobre a afinidade entre ligantes e alvos moleculares, a análise comparativa com dados *in vitro* revelou a necessidade de validação experimental para confirmar a eficácia biológica dos compostos. Discrepâncias entre os valores preditos e os observados *in vitro*, como nos casos de Oleraciamida G e Olerainadol D, indicam que fatores como solubilidade, biodisponibilidade e permeabilidade em barreiras fisiológicas precisam ser considerados em etapas posteriores de desenvolvimento.

Dessa forma, os achados deste estudo reforçam o valor da abordagem integrada entre modelagem computacional e experimentação laboratorial, visando à identificação e ao aperfeiçoamento de compostos naturais com perfil terapêutico promissor. A continuidade de pesquisas envolvendo análises farmacocinéticas, toxicológicas e ensaios *in vivo* será essencial para viabilizar a translação clínica desses fitoquímicos, contribuindo para o desenvolvimento de terapias mais seguras e eficazes no manejo da Doença de Alzheimer.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Faculdade Santíssima Trindade – FAST, localizada em Nazaré da Mata – PE, pelo apoio e incentivo para construção desse trabalho.

Contribuição dos Autores

Todos os autores contribuíram igualmente em todas as etapas da realização deste trabalho. Todos os autores leram e concordaram com a versão publicada do manuscrito.

Conflito de Interesses

Os autores declaram que não há conflitos de interesse.

Referências

- Adewole, K. E., & Ishola, A. A. (2021). BACE1 and cholinesterase inhibitory activities of compounds from Cajanus cajan and Citrus reticulata: An in-silico study. *In Silico Pharmacology*, 9(1), 1–17.
- Ali, M. Y., et al. (2016). Anticholinesterase and antioxidant constituents from the bark of Terminalia arjuna. *Natural Product Research*, 30(7), 799–804.
- Almeida, A. S. de, & Santos, A. F. dos. (2018). Potencial anticolinesterásico de plantas do bioma Caatinga: Uma revisão. *Diversitas Journal*, 3(2), 505–518.
- Athar, T., Al Balushi, K., & Khan, S. A. (2021). Recent advances on drug development and emerging therapeutic agents for Alzheimer's disease. *Molecular Biology Reports*, 48, 5629–5645.
- Abd El-Aziz, N. M., Awad, O. M. E., Shehata, M. G., & El-Sohaimy, S. A. (2021). Antioxidant and anti-acetylcholinesterase potential of artichoke phenolic compounds. *Food Bioscience*, 41, 101006.
- Azmal, M., Hossen, M. S., Shohan, M. N. H., Taqui, R., Malik, A., & Ghosh, A. (2024). A computational approach to identify phytochemicals as potential inhibitor of acetylcholinesterase: Molecular docking, ADME profiling and molecular dynamics simulations. *PLoS ONE*, 19(6), e0304490.
- Brasil. Ministério da Saúde. (2006, maio 4). Portaria n. 971, de 03 de maio de 2006. Aprova a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) no Sistema Único de Saúde. *Diário Oficial da União*, Seção I, p. 20.
- Bui, T. T., & Nguyen, T. H. (2017). Natural product for the treatment of Alzheimer's disease. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, 28(5), 413–423.
- Costa, B. G. L., et al. (2019). Métodos não farmacológicos para o tratamento do Alzheimer: Uma revisão integrativa. *Revista de Enfermagem do Centro-Oeste Mineiro*, 9.
- Daina, A., et al. (2017). SwissADME: A free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Scientific Reports*, 7, 42717.
- Dias, D. A., Urban, S., & Roessner, U. (2018). Current and future perspectives on the structural characterization of natural products by LC-MS. *Metabolites*, 8(1), 15.
- Fang, M., et al. (2019). Natural polyphenols as acetylcholinesterase inhibitors: Potential therapy for Alzheimer's disease. *Current Alzheimer Research*, 16(9), 847–856.
- Frota, S. L., & Alves, D. R., et al. (2022). In vitro Antioxidant and Anticholinesterase Activities of Ouratea fieldingiana (Gardner) Eng. Leaf Extract and Correlation with Its Phenolics Profile with an in silico Study in Relation to Alzheimer's Disease. *Journal of the Brazilian Chemical Society*.
- Gil, A. C. (2017). Como elaborar projetos de pesquisa. (6ed). Atlas.
- Islam, M. T., Aktaruzzaman, M., et al. (2024). Identification of acetylcholinesterase inhibitors from traditional medicinal plants for Alzheimer's disease using *in silico* and machine learning approaches. *RSC Advances*.
- Lionta, E., et al. (2014). Structure-based virtual screening for drug discovery: Principles, applications and recent advances. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 14(16), 1923–1938.
- Montana, M., Mathias, F., Terme, T., & Vanelle, P. (2019). Antitumoral activity of quinoxaline derivatives: A systematic review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 163, 136–147.
- Montoya, C. M. O., Pedrón, A. M., et al. (2019). Perfil clínico neuropsicológico del deterioro cognitivo subtipo posible Alzheimer. *Medisan*, 23(5), 83–110.
- Moura, F. A., de Andrade, K. Q., dos Santos, J. C. F., Araújo, O. R. P., & Goulart, M. O. F. (2015). Antioxidant therapy for treatment of inflammatory bowel disease: Does it work? *Redox Biology*, 6, 617–639.
- Neto, J. S., Bezerra, C. R. M., et al. (2014). A fitoterapia como terapêutica complementar no tratamento do Alzheimer. *Revista de Ciências da Saúde Nova Esperança*, João Pessoa-PB, dez. 2014.
- Noori, T., et al. (2021). Role of natural products for the treatment of Alzheimer's disease. *European Journal of Pharmacology*, 898, 173974.
- Orhan, I., et al. (2007). Acetylcholinesterase inhibitory and antioxidant properties of some flavonoids. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 62(11–12), 829–832.
- Pang, X., et al. (2020). Design, synthesis and biological evaluation of benzodioxole derivatives as potent AChE inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 193, 112236.
- Pereira A. S. et al. (2018). Metodologia da pesquisa científica. [free e-book]. Ed.UAB/NTE/UFSM.
- Rao, A. A., et al. (2020). Neuroprotective effects of polyphenols in aging and neurodegenerative diseases. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 12, 343.
- Snyder, H. (2019). Literature review as a research methodology: An overview and guidelines. *Journal of business research*, 104, 333–339.
- Souza, E. S., Santos, A. M. S., et al. (2021). Doença de Alzheimer: Abordagem sobre a fisiopatologia. *Revista Episteme Transversalis*, 12(2), 356–381.
- Sussman, J. L., et al. (1991). Atomic structure of acetylcholinesterase from Torpedo californica: A prototypic acetylcholine-binding protein. *Science*, 253(5022), 872–879.

World Health Organization. (2012). *Dementia: A public health priority*. Geneva: WHO.

Xu, J., et al. (2020). Two new amide alkaloids from *Portulaca oleracea* L. and their anticholinesterase activities. *Archives of Pharmacal Research*.

Zhou, Y., et al. (2019). Flavonoids: Potential therapeutic agents against neurodegenerative diseases. *CNS Neuroscience & Therapeutics*, 25(5), 471–482.