

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

LUANA KAMAROWSKI LINS ALVES

INIBIDORES NATURAIS DE BUTIRILCOLINESTERASE A PARTIR DE ORGA-
NISMOS MARINHOS

CURITIBA

2021

LUANA KAMAROWSKI LINS ALVES

INIBIDORES NATURAIS DE BUTIRILCOLINESTERASE A PARTIR DE ORGANISMOS MARINHOS

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do título de Mestre, do Programa de Pós-Graduação em Genética, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

Orientadora: Prof^a Dra Lupe Furtado Alle

Co-orientadores: Prof. Dr. Ricardo Lehtonen
Rodrigues de Souza

Prof. Dr. Valdir Cechinel Filho

CURITIBA

2021

Universidade Federal do Paraná
Sistema de Bibliotecas
(Giana Mara Seniski Silva – CRB/9 1406)

Alves, Luana Kamarowski Lins
Inibidores naturais de butirilcolinesterase a partir de organismos marinhos. / Luana Kamarowski Lins Alves. – Curitiba, 2021.
111 p.: il.

Orientadora: Lupe Furtado Alle.
Coorientadores: Ricardo Lehtonen Rodrigues de Souza e
Valdir Cechinel Filho.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Genética.

1. Alzheimer, Doença de. 2. Inibidores da colinesterase. 3. Butirilcolinesterase. 4. Produtos naturais. I. Título. II. Alle, Lupe Furtado. III. Souza, Ricardo Lehtonen Rodrigues de, 1970-. IV. Cechinel Filho, Valdir. V. Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Genética.

CDD (22. ed.) 616.831



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO GENÉTICA -
40001016006P1

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação GENÉTICA da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de LUANA KAMAROWSKI LINS ALVES intitulada: *Inibidores naturais de Butirilcolinesterase a partir de organismos marinhos, sob orientação da Profa. Dra. LUPE FURTADO ALLE*, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de mestra está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 26 de Outubro de 2021.

Assinatura Eletrônica

28/10/2021 17:21:04.0

LUPE FURTADO ALLE

Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica

29/10/2021 08:52:56.0

LUIZ CARLOS KLEIN JÚNIOR

Avaliador Externo (41005015)

Assinatura Eletrônica

03/11/2021 23:09:23.0

VANESSA MERLO KAVA

Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Setor de Ciências Biológicas, Centro Politécnico - CURITIBA - Paraná - Brasil

CEP 81531-980 - Tel: (41) 3361-1587 - E-mail: ppg-gen@ufpr.br

Documento assinado eletronicamente de acordo com o disposto na legislação federal Decreto 8539 de 08 de outubro de 2015.

Gerado e autenticado pelo SIGA-UFPR, com a seguinte identificação única: 122936

Para autenticar este documento/assinatura, acesse <https://www.pppg.ufpr.br/siga/visitante/autenticacaoassinaturas.jsp> e insira o código 122936

Ao meu velho e invisível, Avôhai.

AGRADECIMENTOS

Escrever uma dissertação num período de pandemia, foi uma experiência extremamente forte e desafiadora. Todos os medos que poderiam surgir, surgiram. Todas as inseguranças que ficavam guardadas debaixo do tapete, também. Se fazer presente nunca foi tão difícil, então agradeço muito aos que me acompanharam nessa jornada.

Em primeiro lugar, gostaria de agradecer aos meus filhotes, minhas fontes de amor e alegria. E ao meu esposo, meu maior incentivador. Três pessoas que me viram nos meus piores momentos e sofreram as consequências deles também. Mas que sempre tinham um sorriso e palavras de amor prontinhas pra tirar do potinho.

À minha família, em especial a minha mãe, que acredita que eu sou capaz de tudo. E aos meus irmãos que fazem questão de deixar bem claro aquilo que sentem.

Aos meus amigos, que não sei como nunca desistiram de mim, mesmo com toda a minha ausência. Obrigada por todas as risadas, os choros, as mensagens e também, é claro, as cervejas. Em especial aos meus irmãos Trindade.

Não poderia deixar de agradecer também ao meu amigo Seu Luiz, que infelizmente nos deixou esse ano. Seu Luiz acompanhou toda a minha jornada acadêmica e sempre acreditou em mim. Me incentivou na minha monografia me entregando revistas do meu tema, me incentivou quando eu estudava pro mestrado, me ouviu quando eu estava em dúvidas em relação ao trabalho, sempre com muita sabedoria e palavras de carinho pra entregar, além de valorizar muito a família. O Biológicas nunca mais será o mesmo sem o seu sorriso amigo logo na entrada, vou te guardar no peito. Obrigada por tudo!

Agradeço também aos meus colegas de trabalho, que me acompanham acordando às 4 horas da manhã pra ir pro trabalho, sempre com muito bom humor e conversas boas. E também sempre me incentivando com o mestrado, ouvindo meus surtos, choros matinais e etc.

Aos meus orientadores, Lupe, Ricardo e Cechinel. Lupe por ser uma mulher inspiradora, que sempre fez eu me sentir segura. Ricardo por toda a sua disponibilidade e paciência. Cechinel por ser sempre complacente, disponível e aturar todas as minhas mensagens.

Agradeço também aos meus colegas da pós-graduação, tanto os do laboratório, quanto as companheiras de jornada, em especial Cris e Branca. Vocês têm toda a minha admiração.

E por fim, à UFPR, da qual tenho muito orgulho de ser filha. Agradeço novamente pela realização do meu sonho de me tornar uma bióloga e pelo acesso a conhecimentos muito profundos. Lembro de todas as vezes em que me emocionei durante as aulas ao me dar conta do privilégio que eu estava tendo.

RESUMO

A doença de Alzheimer, considerada como o mal do século XXI, é uma enfermidade complexa e de grande preocupação de saúde mundial. Existem diferentes alvos farmacêuticos para o tratamento da doença, como por exemplo a inibição das colinesterases. Porém, os medicamentos disponíveis atualmente possuem fortes efeitos colaterais, o que impulsiona a busca por um novo composto bioativo. O ambiente marinho é uma fonte de substâncias bioativas estruturalmente diversas, que tem sido extensivamente investigado nos últimos anos para diferentes fins, incluindo a atividade inibidora de colinesterases. O foco dos estudos normalmente é voltado para inibição da enzima acetilcolinesterase (AChE), tendo em vista que é a chave do sistema colinérgico. No entanto, pelo fato da enzima butirilcolinesterase (BChE) ter seus níveis aumentados durante a progressão da doença e com a idade do indivíduo, pode-se inferir que ela é a principal responsável pela diminuição dos níveis de acetilcolina observada na doença de Alzheimer. Assim, o presente trabalho busca revisar a literatura referente a investigação da atividade inibidora de BChE, a partir de produtos naturais provenientes de fontes marinhas. Para tal, foi construída uma estratégia de busca abrangente, que foi utilizada nas bases de dados: Science Direct, EMBASE, PUBMED e BVS (que inclui Lilacs, MEDLINE, Cochrane, entre outras), sem restrições em relação a data e idioma dos artigos. Após a triagem, restaram 26 artigos que testaram produtos naturais marinhos acerca de sua atividade inibidora de BChE. Os artigos resultantes pertencem ao período de 2003-2020 e tratam de extratos e/ou compostos isolados de espécies marinhas, desde algas até cordados. O valor de IC_{50} foi a medida mais utilizada para mensurar a atividade inibidora, porém, alguns artigos demonstram apenas percentuais de inibição. Em alguns dos artigos investigados, o potencial inibidor observado foi tão potente quanto o de inibidores colinesterásicos que são atualmente utilizados. Todavia, existe a necessidade da continuação dos estudos com experimentos mais robustos e bem desenhados, que demonstrem a toxicidade, segurança e eficácia dos mesmos.

Palavras-chave: Inibidores colinesterásicos. Butirilcolinesterase. Produtos naturais. Produtos naturais marinhos. Inibidores naturais de colinesterases.

ABSTRACT

Alzheimer's disease, considered the “Disease of the 21st century”, is a complex illness and a global health concern. There are different pharmaceutical targets for the treatment of the disease, such as inhibition of cholinesterases. However, currently available drugs have strong side effects, which directs the search for a new bioactive compound. The marine environment is a source of structurally diverse bioactive substances, which has been extensively investigated in recent years for different purposes, including cholinesterase-inhibiting activity. Usually, the focus of studies is on inhibition of the enzyme acetylcholinesterase (AChE), bearing in mind that it is the key of the cholinergic system. However, because of the fact that the enzyme butyrylcholinesterase (BChE) has its levels increased during the progression of the disease and with the age of the individual, it can be inferred that it is primarily responsible for the decrease in acetylcholine levels, observed in Alzheimer's disease. Thus, the present work aims to review the literature concerning the investigation of BChE inhibitory activity from natural products sourced by the marine environment. To this end, a comprehensive search strategy was constructed and used in the following databases: Science Direct, EMBASE, PUBMED, and BVS (which includes Lilacs, MEDLINE, Cochrane, and others), without restrictions regarding date and language of the articles. After screening, remained 26 articles that used marine natural products to assess their BChE inhibitory activity. The resulting articles are from the year 2003 to 2020 and they addressed extracts and/or compounds isolated from algae to chordates. The IC_{50} value was the most commonly used measure to indicate inhibitory activity, however, some articles demonstrated only percentage inhibition. In some of the articles investigated, the inhibitory potential observed was as potent as that of cholinesterase inhibitors that are currently used. However, there is a need for further studies with more solid and well-designed experiments that confirm their toxicity, safety and efficacy.

Key-words: Cholinesterase inhibitors. Butyrylcholinesterase. Natural Products. Marine natural products. Natural cholinesterase inhibitors.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - PLACAS DE BETA-AMILÓIDE E EMARANHADOS NEUROFIBRILARES ^A , BEM COMO SUA LOCALIZAÇÃO CEREBRAL CONFORME A GRAVIDADE DA DOENÇA ^B	17
FIGURA 2 -ESTRUTURA DO GENE BCHE	22
FIGURA 3 - ANÁLISE DE CORRELAÇÃO ENTRE A EXPRESSÃO DO mRNA DE BCHE E SOBREVIVÊNCIA DE PACIENTES COM CÂNCER DE CABEÇA E PESCOÇO	24
FIGURA 4 - FORMAS MOLECULARES DE BChE	26
FIGURA 5 - ATIVIDADE ENZIMÁTICA DA BChE USUAL E DE TRÊS DIFERENTES HAPLÓTIPOS DA VARIANTE K.....	29
FIGURA 6 - FLUXO DE TRABALHO PARA MONTAGEM DA ESTRATÉGIA DE BUSCA.....	40
FIGURA 7- ESTRUTURA QUÍMICA DO FLOROGLUCINOL.....	49
FIGURA 8 - ESTRUTURA QUÍMICA DO FITOL.....	50
FIGURA 9 - ESTRUTURA QUÍMICA DO DISCORHABDIN G	51
FIGURA 10 - ESTRUTURA MOLECULAR DA PSEUDOZOANTOXANTINA ..	52
FIGURA 11 - ESTRUTURA MOLECULAR DA PNEUMARINA B	53
FIGURA 12 - ESTRUTURA QUÍMICA DO ÁCIDO SARGAHIDROQUINÓICO	55
FIGURA 13 - ESTRUTURA QUÍMICA DO SARGACROMENOL	55
FIGURA 14 - ESTRUTURA QUÍMICA DO ÁCIDO SARGAQUINÓICO	55
FIGURA 15 - ESTRUTURA MOLECULAR DA FUCOXANTINA	60

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 - PALAVRAS-CHAVE RETIRADAS DOS PRINCIPAIS ARTIGOS DA ÁREA, QUE FORAM UTILIZADAS NA CONSTRUÇÃO DA ESTRATÉGIA DE BUSCA	40
QUADRO 2 - ESPÉCIES DE ALGAS UTILIZADAS E SEUS RESPECTIVOS STATUS DE INIBIÇÃO	45

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. DESEQUILÍBRIO DE LIGAÇÃO OBSERVADO ENTRE A VARIANTE -116A COM A VARIANTE K E COM A VARIANTE 1914G	30
TABELA 2 - NÚMERO DE ARTIGOS ENCONTRADOS DE ACORDO COM A BASE DE DADOS	42
TABELA 3 - POTENCIAIS INIBIDORES DE BChE, A PARTIR DE ESPÉCIES DE ALGAS	46
TABELA 4 - POTENCIAIS INIBIDORES DE BChE, A PARTIR DE ESPÉCIES DE PORÍFEROS	51
TABELA 5 - POTENCIAIS INIBIDORES DE BChE, A PARTIR DE ESPÉCIES DE CNIDÁRIOS	52
TABELA 6 - ALGAS E COMPOSTOS ISOLADOS QUE FORAM TESTADOS ACERCA DE SEU POTENCIAL INIBIDOR DE BChE.....	98
TABELA 7 - PORÍFEROS E COMPOSTOS ISOLADOS QUE FORAM TESTADOS ACERCA DE SEU POTENCIAL INIBIDOR DE BChE	108
TABELA 8 - CNIDÁRIOS E COMPOSTOS ISOLADOS QUE FORAM TESTADOS ACERCA DE SEU POTENCIAL INIBIDOR DE BChE	110
TABELA 9 - CORDADOS E COMPOSTOS ISOLADOS QUE FORAM TESTADOS ACERCA DE SEU POTENCIAL INIBIDOR DE BChE	111

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 REVISÃO DA LITERATURA	16
2.1 DOENÇA DE ALZHEIMER	16
2.2 TRATAMENTOS PARA A DOENÇA DE ALZHEIMER	19
2.3 SISTEMA COLINÉRGICO E COLINESTERASES.....	20
2.4 BUTIRILCOLINESTERASE (BChE).....	21
2.4.1 FORMAS MOLECULARES DE BChE.....	24
2.4.2 PRINCIPAIS VARIANTES GENÉTICAS DE BChE	26
2.4.3 O LOCO CHE2.....	31
2.5 BChE E SUA RELAÇÃO COM A DOENÇA DE ALZHEIMER.....	31
2.6 SUBSTÂNCIAS ANTICOLINESTERÁSICAS	32
2.7 INVESTIGAÇÃO DE COMPOSTOS NATURAIS COM POTENCIAL TERAPÊUTICO.....	34
2.7.1 ORGANISMOS MARINHOS COMO FONTES DE SUBSTÂNCIAS BIOATIVAS	35
3 OBJETIVOS	38
3.1 OBJETIVO GERAL	38
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	38
4 MATERIAIS E MÉTODOS	39
4.1 DEFINIÇÃO DE PALAVRAS-CHAVE E DESCRITORES	39
4.2 ESTRATÉGIA DE BUSCA UTILIZADA E SELEÇÃO DOS ARTIGOS	42
5 RESULTADOS	44
5.1 ALGAS	44
5.2 PORÍFEROS	50
5.3 CNIDÁRIOS	51
5.4 ARTRÓPODES	52

5.5 CORDADOS.....	53
6. DISCUSSÃO	54
6.1 ALGAS	54
6.2 PORÍFEROS E CNIDÁRIOS	67
6.3 ARTRÓPODES	70
6.4 CORDADOS.....	70
7. CONCLUSÕES	72
REFERÊNCIAS.....	74
APÊNDICE 1 – ALGAS	98
APÊNDICE 2 – PORÍFEROS	108
APÊNDICE 3 – CNIDÁRIOS	110
APÊNDICE 4 – CORDADOS	111

1 INTRODUÇÃO

A doença de Alzheimer (DA) é a doença neurodegenerativa mais comum e uma grande preocupação de saúde mundial. Primeiro, porque a doença pode ter início aproximadamente 20 anos antes dos sintomas surgirem e segundo, devido ao aumento da expectativa de vida. Estima-se que em 2050, o número de americanos com Alzheimer seja de 12,7 milhões (ALZHEIMER'S ASSOCIATION, 2021). Definida pela deterioração progressiva das funções cerebrais, a DA tem a agregação das proteínas beta-amilóide ($A\beta$) e os emaranhados neurofibrilares, como suas características principais (MASTERS et al., 2015). No decorrer da doença, estas são responsáveis pela morte de neurônios, perda de sinapses, stress oxidativo, diminuição no nível de determinados neurotransmissores e bloqueio do transporte cerebral de moléculas essenciais (ALZHEIMER'S ASSOCIATION, 2021; MASTERS et al., 2015; REITZ; BRAYNE; MAYEUX, 2012; WANG et al., 2017).

Por se tratar de uma doença complexa, existem diferentes alvos de estudo para o tratamento da doença. Porém, o que será ressaltado nesse trabalho são os inibidores de colinesterases, que atuam reestabelecendo os níveis adequados de acetilcolina, com destaque para os da enzima butirilcolinesterase (POHANKA, 2011). A acetilcolina é um neurotransmissor essencial para as funções cerebrais, que é degradado em colina e acetato pelas enzimas colinesterases: acetil e butirilcolinesterase (AUGUSTINSSON, 1948; POHANKA, 2011; LOCKRIDGE, 2015). Considerando que a disponibilidade de acetilcolina para as sinapses diminui na DA, as duas enzimas são alvos terapêuticos para o tratamento da doença. Inclusive, a "U.S. Food and Drug Administration" e a ANVISA já aprovaram o uso de alguns inibidores de colinesterases: donepezil, galantamina e rivastigmina. Os dois primeiros inibem especificamente a AChE e o último, inibe ambas as colinesterases (RABINS; LYKETSOS, 2006; HOWES; HOUGHTON, 2012; ANVISA, 2021). Porém, até o momento não temos nenhum medicamento aprovado que iniba especificamente a BChE, ainda que já tenha sido relatado na literatura que os níveis de BChE aumentam em portadores de DA, não apenas com a progressão da doença, mas também com a idade do

indivíduo; enquanto os níveis de AChE diminuem (PERRY et al., 1978). E também que ocorre atividade de BChE dentro das placas de agregados de A β e dos emaranhados neurofibrilares, demonstrando associação de BChE com estas (PERRY et al., 1978; DARVESH; HOPKINS; GEULA, 2003).

Como a DA é uma enfermidade incurável até o momento, os tratamentos atuais consistem apenas em atenuar os sintomas e prolongar a vida do indivíduo (ALZHEIMER'S ASSOCIATION, 2021; MATTSON, 2004). Não obstante, cabe ressaltar que um dos problemas dos medicamentos atualmente disponíveis para a DA, é que eles possuem fortes efeitos colaterais, tais como diarreia, náusea, vômitos, bradicardia, contrações musculares, vertigens, dor de cabeça, etc; o que impulsiona a busca por novos compostos bioativos (MASTERS et al., 2015). Os organismos marinhos, os fungos e os líquens, por exemplo, são fontes com grande potencial para a busca de moléculas bioativas com propriedades farmacológicas. Inclusive, muitas atividades terapêuticas a partir de seus compostos já foram relatadas na literatura, tais como neuroprotetoras, antioxidante, antifúngica, antiviral, citotóxica, etc (HU et al., 1985; BARBOSA; VALENTÃO; ANDRADE, 2014; DEY et al., 2017; AYZAZ et al., 2019; HABTEMARIAM, 2019; OLASEHINDE; OLANIRAN; OKOH, 2019a; ALAM et al., 2020; VELUCHAMY; PALANISWAMY, 2020; NOORI et al., 2021). Considerando que a inibição de BChE é uma estratégia adequada para o tratamento sintomático da DA, o presente trabalho, com foco em inibidores de BChE, objetiva revisar os compostos naturais que já foram estudados acerca de sua atividade inibidora e de quais fontes de origem marinha os mesmos foram extraídos, buscando sistematizar o conhecimento acumulado.

2 REVISÃO DA LITERATURA

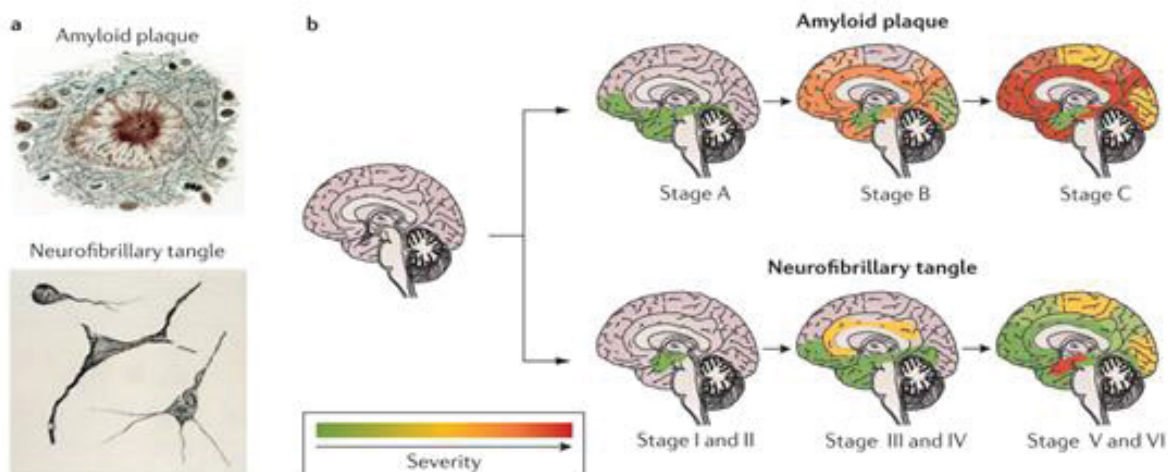
2.1 DOENÇA DE ALZHEIMER

As doenças neurodegenerativas são distúrbios que apresentam caráter complexo. Caracterizadas pela morte progressiva de neurônios, afetam eventos moleculares, anatômicos e sociais (ALZHEIMER'S ASSOCIATION, 2021; KOVACS, 2016). A doença de Alzheimer apresenta caráter neurodegenerativo e progressivo, capaz de afetar as atividades cotidianas do indivíduo, como caminhar e se alimentar. Com o desenvolvimento da doença, os pacientes podem até mesmo necessitar de cuidados 24 horas por dia, além de ficarem acamados (ALZHEIMER'S ASSOCIATION, 2021). Na grande maioria das vezes (aproximadamente 95%), a enfermidade é de início tardio, acima de 65 anos (ALZHEIMER'S ASSOCIATION, 2021). Porém existe uma pequena proporção de indivíduos que desenvolvem a doença precocemente, em torno dos 45 anos (MASTERS et al., 2015). A doença de Alzheimer (DA) é a doença neurodegenerativa mais comum, além de ser uma das principais causas de morte entre os idosos nos EUA, por exemplo (ALZHEIMER'S ASSOCIATION, 2021).

A deposição da proteína beta-amilóide ($A\beta$) e o acúmulo de proteína *tau* hiperfosforilada (p-tau) no cérebro (Figura 1), são as características patológicas mais marcantes da doença (ALZHEIMER'S ASSOCIATION, 2021; MASTERS et al., 2015). A proteína $A\beta$ é derivada da clivagem proteolítica da proteína precursora amilóide (APP), que é realizada sequencialmente pela β -secretase (BACE-1) e pela γ -secretase (SELKOE DJ., 1998; MATTSON, 2004). A deposição de $A\beta$ no ambiente extracelular, garante a formação de placas no córtex cerebral, o que prejudica as sinapses (REITZ; BRAYNE; MAYEUX, 2012; MASTERS et al., 2015). Por esse motivo, a inibição da enzima BACE-1 é uma das abordagens terapêuticas para a DA uma vez que resulta na prevenção da agregação da beta-amilóide e consequentemente, da formação das placas (DAS; YAN, 2019). Já em relação à proteína *tau* hiperfosforilada, a mesma é acumulada no interior celular, formando emaranhados neurofibrilares que desestabilizam a montagem dos microtúbulos (REITZ; BRAYNE; MAYEUX, 2012; MASTERS et al., 2015). A

deposição da placa amilóide normalmente ocorre primeiro, originando-se nos lobos frontal e temporal, hipocampo e sistema límbico (Figura 1- fileira superior). Enquanto os emaranhados neurofibrilares tem início nos lobos temporais mediais e hipocampo, e progressivamente se espalham para outras áreas do neocórtex (Figura 1- fileira inferior). As placas de A β e os emaranhados neurofibrilares em conjunto, são responsáveis pela morte de neurônios, perda de sinapses, diminuição no nível de determinados neurotransmissores e bloqueio do transporte de moléculas essenciais para o funcionamento cerebral normal (ALZHEIMER'S ASSOCIATION, 2021; MASTERS et al., 2015; REITZ; BRAYNE; MAYEUX, 2012; WANG et al., 2017)

FIGURA 1 - PLACAS DE BETA-AMILÓIDE E EMARANHADOS NEUROFIBRILARES^A, BEM COMO SUA LOCALIZAÇÃO CEREBRAL CONFORME A GRAVIDADE DA DOENÇA^B



FONTE: Retirado e adaptado de Masters et al. (2015)

As espécies reativas de oxigênio (ROS) também têm sua importância no decorrer da DA. ROS são compostos químicos, que decorrem do metabolismo celular dos organismos vivos. Quando ocorre um desbalanço entre a quantidade de ROS que é produzida e removida, observa-se o fenômeno conhecido como stress oxidativo. Existem vários mecanismos pelos quais a alta produção de ROS podem prejudicar moléculas biológicas importantes, tais como oxidação de ácidos nucleicos, lipídeos e proteínas, ativação das células gliais, disfunção mitocondrial, apoptose e outros. E estes, por sua vez, levam ao acontecimento do stress oxidativo (YARIBEYGI et al., 2018; BIRLA et al., 2020). A exposição contínua e/ou a longo prazo das células ao stress oxidativo, é considerada como um fator de risco para diversos tipos de doenças, incluindo as neurodegenerativas

(ANSARI; SCHEFF, 2010; DIAS; JUNN; MOURADIAN, 2013). Ansari e Scheff (2010), observaram uma diminuição de antioxidantes em amostras de cérebros *post mortem* de pacientes de AD, além do aumento de marcadores oxidativos. Como o stress oxidativo foi observado principalmente nas sinapses, os autores sugerem que ele está envolvido na perda das sinapses que ocorre na DA. Análogo a isso, a própria acumulação da proteína A β citada anteriormente, também induz um stress oxidativo que influencia no desenvolvimento de DA (BUTTERFIELD, 2003; BARROW; SMALL, 2007; BUTTERFIELD et al., 2010). Assim, para reduzir os danos do stress oxidativo, os compostos antioxidantes são também propostos como potenciais terapêuticos para DA (KIM et al., 2011; SINGH et al., 2018; VEURINK; PERRY; SINGH, 2020).

Além da formação das placas senis, dos emaranhados neurofibrilares e do stress oxidativo, outros fatores estão envolvidos no desenvolvimento da DA, incluindo a neuroinflamação, danos mitocondriais, diminuição dos níveis de acetilcolina, diabetes, hipertensão, fumo, doenças cerebrovasculares, depressão, entre outros (BUBBER et al., 2005; REITZ; BRAYNE; MAYEUX, 2012; MERZETTI; STAVELEY, 2013; HENEKA et al., 2015; LENG; EDISON, 2021). Também existem outros fatores ditos como protetivos, tais como dieta adequada, atividades físicas e intelectuais (KIVIPELTO; MANGIALASCHE; NGANDU, 2018). Dentre os fatores associados à DA, merece ser destacado o gene *APOE*, que determina a produção da apolipoproteína-E (participante do transporte de lipídeos no SNC), estando associado com a deposição de A β (MASTERS et al., 2015). Dentre os alelos do gene *APOE*, o alelo e4 é considerado como um fator de risco para o desenvolvimento da doença. A presença de apenas uma cópia do alelo aumenta em 2-3 vezes as chances para DA (REITZ; BRAYNE; MAYEUX, 2012). Mas, por se tratar de uma doença complexa, apenas a presença do alelo e4, ainda que em homozigose, não é suficiente ou necessária para o desenvolvimento da doença. Em contrapartida, o alelo e2 vem sendo relatado como um fator protetivo contra a doença (CORDER et al., 1994). De maneira interessante, os alelos diferem um do outro por apenas dois aminoácidos e isso é suficiente para mudar drasticamente a susceptibilidade do indivíduo a uma doença complexa (REITZ; BRAYNE; MAYEUX, 2012). Enquanto e2 tem uma cisteína na posição 112 e outra na posição 158, o alelo e4 tem arginina em ambas as posições (MASTERS et al., 2015).

2.2 TRATAMENTOS PARA A DOENÇA DE ALZHEIMER

A Doença de Alzheimer é uma enfermidade incurável que deteriora as funções cerebrais. Os tratamentos disponíveis atualmente, consistem apenas em atenuar os sintomas e a progressão da doença, com vistas a prolongar a vida do indivíduo (ALZHEIMER'S ASSOCIATION, 2021; MATTSON, 2004).

Tendo em vista que a DA é uma doença muito complexa, na qual diversos mecanismos impactam em sua progressão, atualmente, tem sido proposto a busca de agentes multialvo. Ou seja, ao invés de buscar por compostos que atuem em apenas um alvo na DA, a busca seria por compostos que consigam atuar em mais de um alvo da doença, tais como colinesterases, placas de A β , radicais livres, etc (WANG et al., 2018).

É conhecido que, além das colinesterases e do stress oxidativo possuem um papel no desenvolvimento da doença, outros mecanismos neurotóxicos também surgem com a sua progressão. Porém, até o momento, não existe nenhum medicamento disponível com essa ação multialvo. E de acordo com Benek, Korabecny e Soukup (2020), um medicamento com esta abordagem está longe de cumprir as expectativas e de ser aprovado, tendo em vista que os ensaios clínicos não fornecem bons resultados.

Conforme apontado anteriormente, uma das estratégias utilizadas para o tratamento da DA é a restauração dos níveis adequados de acetilcolina, através do uso de inibidores de colinesterases (IChEs). A "U.S. Food and Drug Administration" (FDA) e a ANVISA já aprovaram o uso de donepezil, galantamina e rivastigmina como IChEs e a utilização de memantina como bloqueadora dos canais de cálcio (ALZHEIMER'S ASSOCIATION, 2021; ANVISA, 2021). Porém, os medicamentos disponíveis atualmente para o tratamento de DA apresentam fortes efeitos colaterais, o que levanta a discussão sobre tempo x qualidade de vida dos pacientes e desperta interesse na busca por novos agentes terapêuticos (MASTERS et al., 2015; AYAZ et al., 2019; NOORI et al., 2021).

A natureza é uma fonte de grande valor para a busca de compostos bioativos com potenciais farmacológicos, inclusive, de acordo com Alonso, Castro e Martinez (2005), estima-se que aproximadamente 50% dos medicamentos

descobertos entre 1985 e 2005 eram provenientes de origem natural ou derivados (ALONSO; CASTRO; MARTINEZ, 2005; CHOI; CHOI, 2014). Deste modo, a busca por compostos bioativos naturais que sejam capazes de inibir enzimas-chave da DA, se mostra como a estratégia terapêutica mais adequada para o desenvolvimento de novos medicamentos em comparação com a utilização de compostos sintéticos (OLASEHINDE; OLANIRAN; OKOH, 2019a; ATANASOV et al., 2021). Inclusive, dentre os medicamentos disponíveis atualmente para DA, dois deles, galantamina e rivastigmina são baseados ou provenientes de produtos naturais a partir de plantas. A galantamina foi isolada da espécie *Galanthus woronowii* e a rivastigmina foi baseada na estrutura da fisostigmina, substância isolada da planta *Physostigma venenosum* (POHANKA, 2011; DEY et al., 2017; AYAZ et al., 2019). Além disso, existem linhas de investigação em busca de novos tratamentos com base em produtos naturais, não somente a partir de plantas, mas também provenientes de organismos marinhos (tais como algas, esponjas, invertebrados, entre outros), fungos, líquens, etc (ALONSO; CASTRO; MARTINEZ, 2005; HOUGHTON; REN; HOWES, 2006; PANGESTUTI; KIM, 2011; MEHBUB et al., 2014; KEKUDA; LAVANYA; POOJA, 2019).

2.3 SISTEMA COLINÉRGICO E COLINESTERASES

O sistema colinérgico é formado pela acetilcolina, seus receptores e suas respectivas enzimas de síntese e degradação. A acetilcolina (ACh) é um tipo de neurotransmissor, responsável portanto, por passar informações através dos neurônios do sistema colinérgico. Pode se ligar tanto a receptores nicotínicos, quanto muscarínicos e está ligada a funções cognitivas, de memória e aprendizado. A acetilcolina está presente no sistema nervoso central (SNC), no sistema nervoso periférico (SNP) e na junção neuromuscular (VENTURA et al., 2010; JOHNSON; MOORE, 2012).

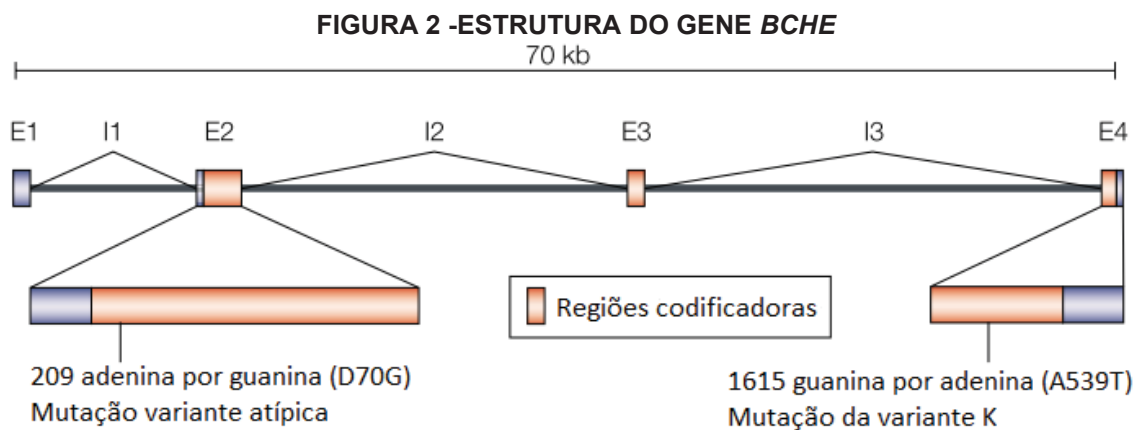
A ACh é hidrolisada pelas colinesterases, em colina e acetato. Existem dois tipos de colinesterases: a acetilcolinesterase (AChE) e a butirilcolinesterase (BChE); ambas capazes de hidrolisar acetilcolina, porém com diferenças em relação ao seu substrato preferencial e distribuição no organismo. A AChE tem a acetilcolina como substrato principal e a BChE é capaz de hidrolisar a butirilcolina

mais rapidamente do que a acetilcolina (AUGUSTINSSON, 1948; CLITHEROW; MITCHARD; HARPER, 1963; POHANKA, 2011; LOCKRIDGE, 2015). Considerando que essas enzimas são capazes de terminar a ação da acetilcolina, resalta-se que podem influenciar na quantidade de acetilcolina disponível para as funções colinérgicas. Sendo assim, em um cenário no qual as colinesterases estão muito abundantes, o nível de acetilcolina disponível pode não ser suficiente, levando a disfunções colinérgicas, que vem sendo amplamente relacionadas a doenças neurológicas e psiquiátricas (MENDEL; RUDNEY, 1943; KARCZMAR, 1993; MESULAM et al., 2002; LOCKRIDGE, 2015; MASTERS et al., 2015).

2.4 BUTIRILCOLINESTERASE (BChE)

Atualmente, sabemos que a BChE é uma enzima importante para o nosso organismo, apresentando papéis consideráveis nas próprias funções colinérgicas, em funções de desintoxicação e no metabolismo de lipídeos (MESULAM et al., 2002; DARVESH; HOPKINS, 2003; JOHNSON; MOORE, 2012; SILVA et al., 2012; LOCKRIDGE, 2015; DE OLIVEIRA et al., 2017). Porém, a BChE nem sempre recebeu a devida importância da comunidade acadêmica, sendo chamada durante algum tempo de pseudocolinesterase (AUGUSTINSSON, 1948; LIDDELL; NEWMAN; BROWN, 1963; KARCZMAR, 1993; DARVESH; HOPKINS; GEULA, 2003). Com base na revisão de Whittaker (1951) e nas conclusões de Clitherow, Mitchard e Harper (1963), que apontaram que a BChE hidrolisava butirilcolina em uma taxa muito mais rápida do que acetilcolina, a enzima passou então a ser chamada de butirilcolinesterase.

Presentemente, sabe-se que a BChE é produzida no fígado e codificada pelo gene *BCHE*, que é localizado no braço longo do cromossomo 3. O gene possui aproximadamente 70.000 pb na extensão de sua sequência total, sendo formado por três íntrons (I1, I2 e I3) e quatro éxons (E1, E2, E3 e E4). Os éxons 1, 2 e 4 contêm as regiões não traduzidas (em E1 e E2, 5'-UTR e em E4, 3'-UTR). O éxon 2 é responsável pela maior parte da proteína, conforme pode ser visto na figura 2 (HODGKIN et al., 1965; DARVESH; HOPKINS; GEULA, 2003; JOHNSON; MOORE, 2012; LOCKRIDGE, 2015; NCBI, 2019).



Fonte: Retirado e adaptado de Darvesh, Hopkins e Geula, 2003.

Nota: As regiões codificadoras e não-codificadoras estão identificadas pelas cores laranja e azul, respectivamente. Também estão indicadas as posições das duas mutações de ponto mais comuns associadas com o gene: alelo atípico e variante K.

Tanto em termos de estrutura, quanto na sequência de aminoácidos, a BChE apresenta em torno de 54% de similaridade com a AChE (LOCKRIDGE et al., 1987; CHATONNET; LOCKRIDGE, 1989; POHANKA, 2011). Com base nisso, acredita-se que o gene *BCHE* tenha surgido através de uma duplicação gênica e se mantido pelo processo de subfuncionalização, no qual os dois genes podem dividir as funções do gene original, bem como o duplicado pode adquirir novos papéis (JOHNSON; MOORE, 2012). No caso da BChE, os outros 46% de diferença na sequência de aminoácidos, podem explicar a multifuncionalidade que a enzima adquiriu em relação à AChE, visto que BChE é capaz de hidrolisar uma ampla gama de ésteres de colina (MENDEL; RUDNEY, 1943; LOCKRIDGE, 2015). O que concorda com o fato de estar presente em maiores concentrações do que a AChE em todos os tecidos e órgãos, com exceção dos músculos e cérebro (LI et al., 2000; MANOHARAN et al., 2007; LOCKRIDGE, 2015). Por outro lado, graças a algumas diferenças estruturais e no padrão de expressão, as duas enzimas atuam cooperativamente (JOHNSON; MOORE, 2012).

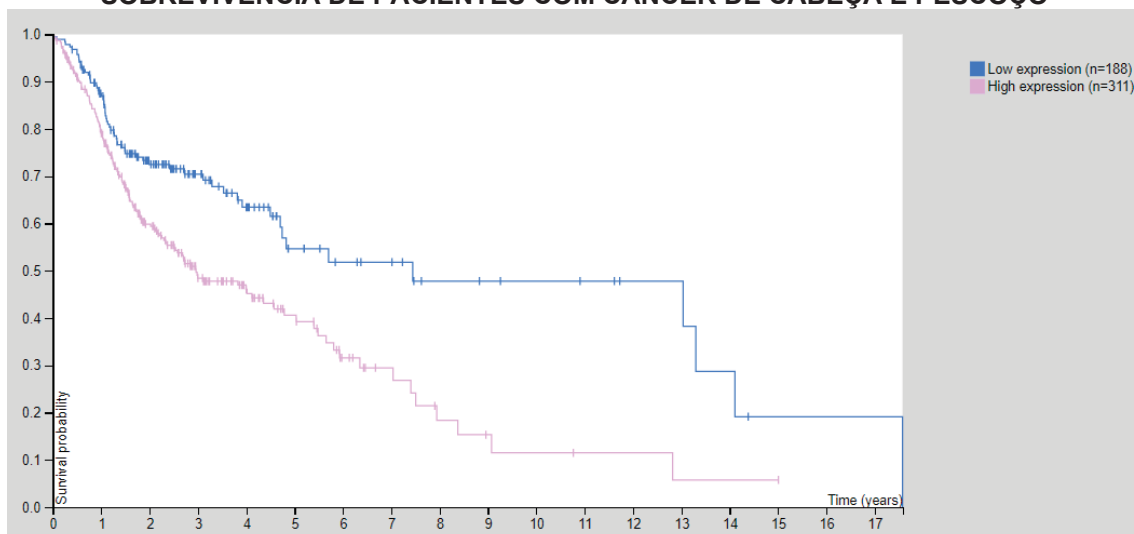
Outro fato interessante relatado na literatura, é a ocorrência de mutações de BChE silenciosa e/ou não funcionais e mesmo assim compatíveis com a vida (DOENICKE et al., 1963; HODGKIN et al., 1965; JOHNSON; MOORE, 2012). A existência de tais mutações, foi a causa de BChE ter sido considerada durante muitos anos como uma enzima acessória, dispensável e não essencial para a

vida. Visão que foi definitivamente modificada por Li et al. (2000), quando sugeriram que a BChE poderia ter um papel essencial para o organismo. Em primeiro lugar, os autores observaram que ocorriam níveis mais altos de BChE do que de AChE na maioria dos tecidos, sendo este um dos indicadores de que ela poderia ter um papel funcional. Além disso, eles propuseram que a BChE funciona também como um “back-up” para AChE, quando essa não está disponível. Os autores observaram que camundongos nulizigotos para a AChE, mantinham as funções colinérgicas preservadas nas junções neuromusculares, pelo menos a um nível mínimo, indicando que a BChE pode, portanto, fazer parte do sistema colinérgico, ao contrário do que antes acreditavam. Por fim, devido à capacidade de BChE para substituí-la, os autores sugeriram que AChE talvez não fosse uma enzima essencial para a vida (JOHNSON; MOORE, 2012; LI et al., 2000). E então, dois anos depois, um outro estudo utilizando também camundongos nulizigotos para AChE, chegou em conclusões semelhantes. Mesulam et al. (2002), analisaram apenas regiões cerebrais conhecidas por apresentarem atividade, neurônios e inervação colinérgica e foram os primeiros a fornecer evidências histoquímicas de que a BChE era capaz de hidrolisar acetilcolina no cérebro. Os autores afirmam que a função da BChE vai muito além do que apenas servir como um “back-up” para AChE; a atividade da BChE pode contribuir em todos os lugares nos quais ocorrem transmissão colinérgica. Desse modo, foi novamente indagado o fato da AChE não ser totalmente necessária para manutenção das funções colinérgicas, visto que a BChE pode substituí-la e manter a transmissão colinérgica. Porém, tendo em vista que ocorrem mutações de BChE silenciosas compatíveis com a vida, os autores concluem que por si só nenhuma das duas enzimas é “totalmente necessária”. Pois ambas podem atuar em conjunto no processamento colinérgico. Portanto, estes foram estudos importantes que contribuíram na consolidação da importância de BChE (LI et al., 2000; MESULAM et al., 2002).

Conforme apontado anteriormente, além do papel exercido no sistema colinérgico, a BChE realiza ou está relacionada com funções de desintoxicação, metabolismo de lipídeos, peso e índice de massa corporal e no desenvolvimento (KUTTY; REDHEENDRAN; MURPHY, 1977; CHATONNET; LOCKRIDGE, 1989; CHAUTARD-FREIRE-MAIA et al., 1991; FURTADO-ALLE et al., 2008; SILVA et al., 2012; LOCKRIDGE, 2015; DE OLIVEIRA et al., 2017; GASPARIN et al.,

2018). As colinesterases tem a expressão altamente regulada durante o desenvolvimento, exercendo papéis importantes tanto na proliferação, quanto na diferenciação celular (LAYER; WILLBOLD, 1995). A BChE tem relação com a proliferação celular (CHATONNET; LOCKRIDGE, 1989; JOHNSON; MOORE, 2012) e deste modo, pode exercer influência na tumorigênese. Por exemplo, em cânceres de cabeça e pescoço, ela funciona como um marcador de prognóstico desfavorável, nos quais a sua alta expressão está relacionada com a redução do tempo de vida, quando comparado a uma baixa expressão, conforme pode ser observado na figura 3 (THE HUMAN PROTEIN ATLAS, 2020). Enquanto no câncer de mama, o número de cópias do gene *BCHE* exibe correlação positiva com o grau de malignidade do tumor (BERNARDI et al., 2010). Ademais, em outras classes tumorais, como as pulmonares e do cólon, a enzima pode ter sua expressão alterada (VIDAL, 2005; MARTÍNEZ-MORENO et al., 2006).

FIGURA 3 - ANÁLISE DE CORRELAÇÃO ENTRE A EXPRESSÃO DO mRNA DE *BCHE* E SOBREVIVÊNCIA DE PACIENTES COM CÂNCER DE CABEÇA E PESCOÇO



Fonte: The Human Protein Atlas (2020). Disponível em: www.proteinatlas.org/ENSG00000114200-BCHE/pathology/head+and+neck+cancer.

Nota: É possível observar que uma baixa expressão do mRNA de BChE está relacionada com um aumento na probabilidade de sobrevivência do paciente e do tempo de vida, em relação a pacientes que apresentam uma alta expressão do mRNA de BChE.

2.4.1 FORMAS MOLECULARES DE BChE

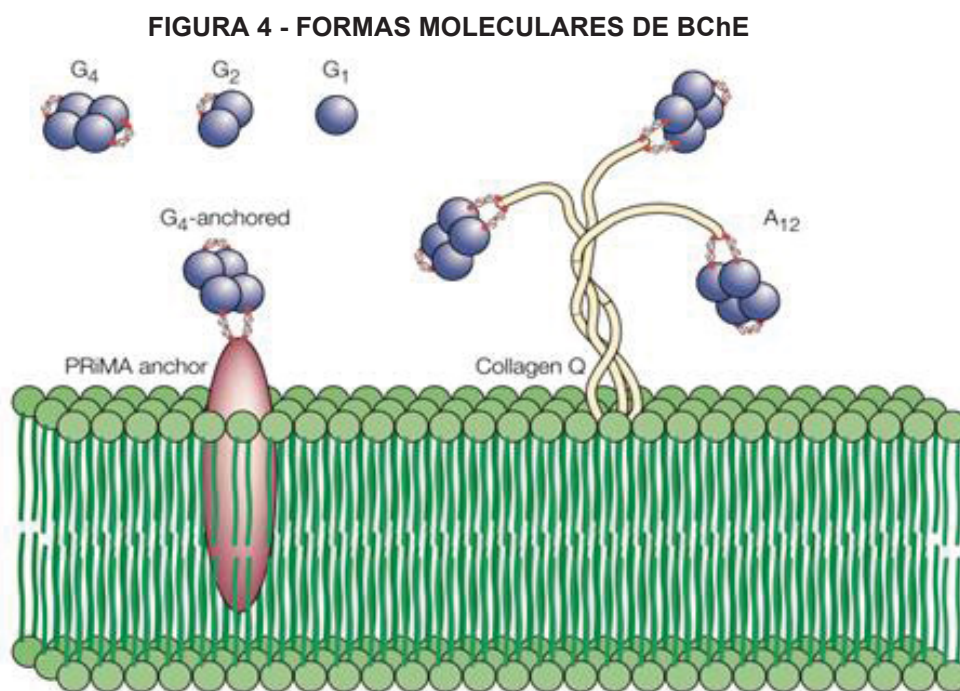
Harris, Hopkinson e Robson (1962), no intuito de demonstrar que a atividade colinesterásica encontrada no soro era mantida por diferentes componentes enzimáticos, realizaram eletroforese bidimensional e encontraram quatro

bandas com propriedades características, distinguíveis pela mobilidade. Tais formas foram chamadas de C₁, C₂, C₃ e C₄, sendo que a última sempre aparecia mais intensa do que as outras, visto que C₄ é a forma mais comum e com maior atividade, porém menor mobilidade. Quase uma década depois, foi sugerido por Lamotta e Woronick (1971) que estas diferentes formas fossem tratadas como isoenzimas, uma vez que compartilham seus substratos, apresentam sensibilidade ao mesmo inibidor e são interconvertíveis. O tamanho da molécula, que é diretamente afetado pela quantidade de subunidades iguais, foi dito como a provável causa das diferenças entre as quatro formas (DARVESH; HOPKINS; GEULA, 2003).

Em ordem decrescente de mobilidade eletroforética, temos: C₁, C₂, C₃ e C₄. Sendo as formas C₁ e C₂, monoméricas, a forma C₃, dimérica e a C₄ tetramérica, mais especificamente formada por um dímero de dímeros (Figura 4). A molécula C₂ não é um simples monômero de BChE, pois está conjugada à albumina. Com o envolvimento da cisteína 51, as subunidades da forma C₂ são ligadas por uma ligação dissulfeto (MASSON, 1989). No artigo de revisão de Darvesh, Hopkins e Geula (2003), os autores apontam que existe uma nomenclatura adicional. Na qual, a forma monomérica (C₁) é chamada de G₁, a forma dimérica (C₃) de G₂ e a forma tetramérica (C₄) de G₄, sendo que G vem da característica globular. Blong, Bedows e Lockridge (1997) tinham o intuito de compreender como a forma C₄ se mantinha estável e encontraram que o responsável pela tetramerização é um domínio localizado na região carboxi-terminal, no qual ocorrem sete resíduos aromáticos altamente conservados (ALTAMIRANO; LOCKRIDGE, 1999).

Normalmente, as formas moleculares de BChE são também simétricas, hidrofílicas e encontradas de forma solúvel. Porém, também são observadas formas tetraméricas assimétricas e não solúveis, ligadas à membrana celular. Uma delas é ancorada à membrana através da proteína nomeada PriMA (proteína ancoradora de membrana rica em prolina) e a outra é formada por três tetrâmeros ligados à membrana por uma tripla-hélice de colágeno (ColQ), conforme pode ser observado na figura 4 (DARVESH; HOPKINS; GEULA, 2003). Interessantemente, as duas formas assimétricas podem ser encontradas tanto para AChE, quanto para BChE. Sendo o tetrâmero de AChE associado à PriMA, a forma predominante encontrada no cérebro (MASSOULIE, 2002). PriMA é uma

proteína integral de membrana do tipo I, que contém seu domínio N-terminal voltado para o ambiente extracelular, o C-terminal para o citoplasmático e uma única região transmembrana (PERRIER; MASSOULIÉ; KREJCI, 2002). ColQ, por sua vez, contém um curto domínio de fixação rico em prolina (PRAD) na sua extremidade N-terminal (BON; COUSSEN; MASSOULIÉ, 1997; KREJCI et al., 1997).



Fonte: Darvesh, Hopkins e Geula, 2003.

NOTA: Formas solúveis (monomérica, dimérica e tetramérica) e as formas tetraméricas não-solúveis da BChE ligadas à PRiMA ou à cauda em tripla hélice de colágeno (ColQ), associada com três tetrâmeros.

2.4.2 PRINCIPAIS VARIANTES GENÉTICAS DE BChE

Existem muitas variantes descritas para BChE, muitas delas causadas por simples mutações de ponto. O alelo para BChE atípica (A) e a variante K são as mais estudadas (LOCKRIDGE, 2015).

A variante A (resistente à dibucaína ou atípica, rs1799807) foi identificada pela primeira vez após indivíduos receberem doses fisiológicas de succinilcolina e sofrerem de paralisia muscular prolongada e de apneia (LIDDELL; LEHMANN; SILK, 1962). Fenômeno observado devido à afinidade reduzida por ésteres de colina, que a variante A garante à enzima. O fenótipo atípico da BChE é causado

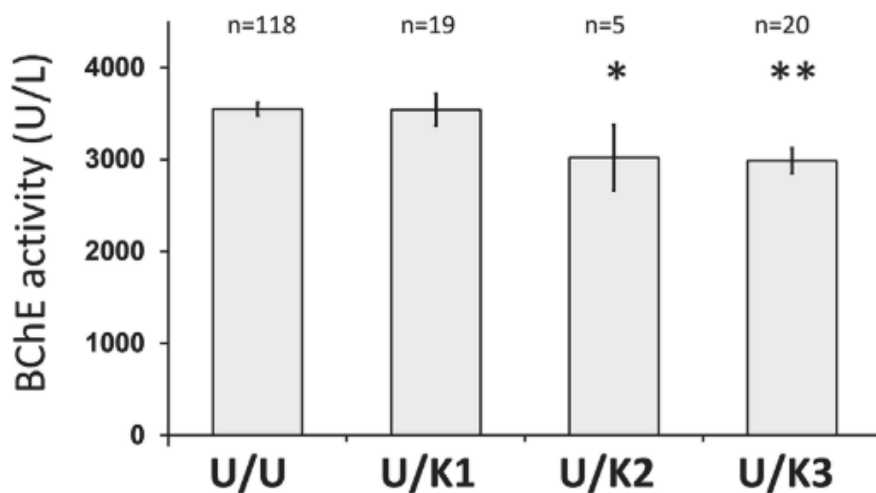
por uma mutação de ponto, que altera o nucleotídeo de adenina para guanina, na posição 209, levando à troca do aminoácido aspartato (Asp) por glicina (Gly) no 70º códon (MCGUIRE et al., 1989; LOCKRIDGE, 2015). A troca de um aminoácido de caráter ácido (Asp) por um aminoácido neutro (Gly) é o que leva à afinidade reduzida pelo substrato, pois a mutação ocorre justamente no local de ligação do substrato dentro do sítio aniônico periférico da enzima, no resíduo Asp70 (LOCKRIDGE, 2015; MCGUIRE et al., 1989). A variante atípica também é associada com características relacionadas à função pulmonar (GCST007080, 2018; GCST007431, 2019) e respiratórias, tais como débito expiratório máximo instantâneo (GCST007430, 2019) e volume expiratório forçado (GCST007432, 2019) de acordo com estudos de associação (GWAS CATALOG, 2019; KICHAEV et al., 2019; SHRINE et al., 2019). Também se sabe que além da succinilcolina, existe uma outra substância de interesse clínico hidrolisada por BChE, o mivacúrio. Esse relaxante muscular também é capaz de induzir paralisia muscular prolongada e apneia em indivíduos com o alelo atípico ou com variantes silenciosas de BChE (LOCKRIDGE, 2015).

A variante K (rs1803274) é originada por uma mutação de ponto no nucleotídeo 1615, que se localiza dentro do éxon 4 do gene *BCHE*. Na variante K, em termos de bases nitrogenadas, ocorre a substituição de uma adenina por uma guanina e, em termos de aminoácidos, leva à substituição de uma alanina por uma treonina (BARTELS et al., 1992). Indivíduos com o genótipo heterozigótico para a variante K (K/U, no qual U significa o alelo usual) apresentam atividade enzimática em torno de 20% mais baixa em relação aos indivíduos homozigotos para o alelo usual (U/U). Enquanto os indivíduos homozigóticos para a variante K (K/K) apresentam atividade em torno de 30% mais baixa, quando comparados aos homozigotos para o alelo usual (U/U) (BARTELS et al., 1992; LOCKRIDGE, 2015; LOCKRIDGE et al., 2016). Rubinstein, Dietz e Lubrano (1978) argumentaram que essa diminuição deveria ser observada ou por uma síntese reduzida ou por uma rápida degradação, levando à uma redução nos níveis circulantes da enzima usual. Enquanto outros autores argumentaram que a redução poderia ser causada também por uma instabilidade na estrutura quaternária da enzima (PODOLY et al., 2009). Devido ao fato da substituição da

variante K ocorrer no éxon 4, dentro da região c-terminal de BChE, que é responsável pela manutenção da forma tetramérica da enzima (BLONG; BEDOWS; LOCKRIDGE, 1997; ALTAMIRANO; LOCKRIDGE, 1999).

Novas controvérsias a respeito da influência da variante K na atividade de BChE surgiram, quando Altamirano, Bartels e Lockridge (2000) encontraram resultados contrários ao que havia sido estabelecido anteriormente. Para eles, nenhuma diferença foi observada em termos de atividade enzimática, estabilidade da proteína e estrutura quaternária da variante K em comparação à usual. Ou seja, derrubaram a hipótese de que a variante K era suficiente para causar a diminuição na atividade da enzima, independente da causa. Os autores argumentaram que deveria ocorrer alguma mutação na região reguladora, que não havia sido observada. Mais tarde, Furtado-Alle et al. (2008) reforçaram que apenas a presença da variante K não era suficiente para diminuir a atividade da enzima, pois demonstraram que a redução da atividade só ocorria quando a variante K era encontrada em conjunto com a -116A, provavelmente por afetar a transcrição e/ou tradução do gene, visto que -116A está presente na região 5'-UTR do mRNA. A partir disto, Jasiński et al. (2019) resolveram estudar três haplótipos associados com a variante K, um deles contendo o haplótipo apontado por Furtado-Alle et al. (2008) como o responsável pela diminuição da atividade da enzima (haplótipo K3). O primeiro haplótipo estudado contém a variante K sozinha (K1), sem nenhuma outra alteração. O segundo contém a variante K em conjunto com a variante atípica (rs1799807) do éxon 2 (K2). E o terceiro contém a variante K em conjunto com dois outros SNPs: um presente na região 5' UTR (variante -116 A, rs1126680) e o outro presente no íntron 2 (rs55781031, haplótipo K3). Anteriormente, já havia sido demonstrada a associação entre a variante K e o alelo atípico de BChE (BARTELS et al., 1992). Os resultados encontrados foram de acordo com os de Altamirano, Bartels e Lockridge (2000) e com os de Furtado-Alle et al. (2008), respectivamente. O haplótipo K1 exibiu atividade enzimática similar ao encontrado para o tipo selvagem. Enquanto, os haplótipos K2 e K3 apresentavam atividade enzimática reduzida em comparação com a enzima usual (Figura 5).

FIGURA 5 - ATIVIDADE ENZIMÁTICA DA BChE USUAL E DE TRÊS DIFERENTES HAPLÓTIPOS DA VARIANTE K



Fonte: Jasiacki et al., 2019

Tratando-se das duas alterações encontradas em conjunto com o alelo da variante K no haplótipo K3, deve-se ressaltar que uma delas leva a uma mudança na extensão da região N-terminal do peptídeo sinal de BChE, e a outra, localizada no íntron 2, provavelmente impacta na regulação do splicing, visto que é localizada numa região que pode servir de ligação aos fatores de splicing. Com base nisso e na informação adicional de que essas duas alterações, foram sempre observadas em conjunto, os autores concluem que de fato, SNPs localizados fora da região codificadora da enzima, em conjunto com a variante K, são os responsáveis pela diminuição na produção da enzima e não a variante K por si só (JASIECKI et al., 2019).

Uma terceira variante de BChE conhecida como -116A (rs1126680), é a variante localizada dentro da região 5'-UTR do haplótipo K3 de que falamos anteriormente. A variante é conhecida como -116A pois é causada por uma substituição de guanina por adenina na posição -116 do gene. E se encontra em forte desequilíbrio de ligação com o alelo 1615G (variante K) (BARTELS et al., 1992). Outro desequilíbrio de ligação adicional foi observado por Bartels et al. (1992) entre a variante -116 A e a variante 1914G (rs3495), que possui uma guanina no lugar da adenina no nucleotídeo 1914. O polimorfismo 1914 também é localizado no éxon 4, assim como a variante K. Portanto, o fato de eles estarem a apenas 299 bases de distância, influencia a força do desequilíbrio de ligação em que eles também se encontram (BARTELS et al., 1992). De acordo com o estudo de

Bartels, Spek e Du (1990), a frequência populacional da variante -116 A é de 8%, a da variante 1914 é de 26% e a da variante K é de 13%. Furtado-Alle (2005) encontrou uma frequência de 8,8% para variante -116A em caucasóides de Curitiba, similar ao observado por Bartels, Spek e Du (1990). Tendo em vista que a variante -116 A tem frequência mais baixa e que além disso, ela se encontra em forte desequilíbrio de ligação com a K e a 1914 (BARTELS et al., 1992; FURTADO-ALLE et al., 2008), o estudo da sua influência de maneira isolada se torna uma tarefa muito difícil. De acordo com dados do Ensembl (2020) (Tabela 1), é possível observar o desequilíbrio de ligação praticamente completo entre a variante -116 A com a K e com a 1914G, em diferentes populações dos continentes americano, europeu e asiático. Em relação ao desequilíbrio de ligação para a variante -116A com a K, o menor valor observado é referente a uma população do Paquistão ($D' = 0.999985$), enquanto o menor para a variante -116A em conjunto com a 1914G é de uma população do Reino Unido ($D' = 0.999956$). Já o maior valor de desequilíbrio encontrado para as duas combinações é encontrado em uma população peruana ($D' = 1$). Dentre os continentes que tem dados disponíveis no Ensembl, apenas no africano a variante -116A não apresenta desequilíbrio de ligação com a K e a 1914G, sugerindo que as populações africanas poderiam ser a base para o estudo do efeito da variante -116 A. Porém, como a frequência da variante no continente africano é de apenas 1,7%, ainda assim existe a dificuldade relativa à sua frequência.

TABELA 1. DESEQUILÍBRIO DE LIGAÇÃO OBSERVADO ENTRE A VARIANTE -116A COM A VARIANTE K E COM A VARIANTE 1914G

Variantes	D'
-116A e K	0,999985 - 1
-116A e 1914G	0.999956 - 1

Fonte: Ensembl (2020)

Outra variante encontrada para BChE é a variante F, que recebeu esse nome pelo fato de ser resistente à inibição por fluoreto (HARRIS; WHITTAKER, 1961). Mais tarde, Nogueira et al. (1992) apontaram que existem duas mutações de ponto que causam a resistência ao fluoreto. A primeira delas, Fluoreto-1 ou F1, é causada por uma transição de C para T, o que leva a troca de uma treonina

para uma metionina, na posição 243 da proteína (ACG -> ATG). A segunda, Fluoreto-2 ou F2, é causada por uma transversão de G para T, o que leva a troca de uma glicina para uma valina, na posição 390 da proteína (GGT -> GTT). As variantes resistentes ao fluoreto codificam uma enzima com propriedade intermediária na hidrólise de succinilcolina, em comparação as enzimas atípica e usual. Visto que indivíduos heterozigotos para o alelo resistente ao fluoreto e para o alelo atípico A/F tem paralisia muscular prolongada e apneia com doses fisiológicas de succinilcolina em comparação a indivíduos de genótipo usual U/U, porém de menor duração comparada à de indivíduos com fenótipo atípico A/A (HARRIS; WHITTAKER, 1961).

2.4.3 O LOCO CHE2

O loco *CHE2* foi nomeado por Harris, Robson e Glen-Bott (1963), após identificarem uma banda adicional na eletroforese das formas moleculares de BChE (HARRIS; HOPKINSON; ROBSON, 1962). A banda adicional, denominada de C5, consistia de um tetrâmero de BChE ligado a uma substância desconhecida de aproximadamente 60 kDa (HARRIS; HOPKINSON; ROBSON, 1962; LOCKRIDGE, 2015). Ao contrário das diferentes formas moleculares de BChE, a banda C5 não é determinada apenas pelo gene *BCHE*, e sim em conjunto com o gene *CHE2*.

A presença do alelo CHE2 C5+ é o que determina a formação do complexo C5, enquanto a ausência deste é determinada pelo alelo CHE2 C5-. O alelo CHE2 C5+ é associado com um aumento de 30% na atividade da BChE (HARRIS, 1981) e com uma menor sensibilidade à succinilcolina. Desta forma, pacientes com o fenótipo C5+ tem a duração da ação da succinilcolina reduzida (SUGIMORI, 1986). De acordo com o estudo de Chautard-Freire-Maia et al. (1991) a frequência do fenótipo CHE2 C5+ foi de 10,3% em amostra da população da cidade de Curitiba, Paraná.

2.5 BChE E SUA RELAÇÃO COM A DOENÇA DE ALZHEIMER

De acordo com o estudo de Perry et al. (1978), no córtex e hipocampo de portadores da doença de Alzheimer, ocorre diminuição dos níveis de AChE, enquanto os níveis de BChE aumentam, não apenas com a doença, mas também com a idade do indivíduo. Além disso, a BChE é associada com as placas A β e com os emaranhados neurofibrilares (PERRY et al., 1978). Foi observada maior atividade de butirilcolinesterase dentro das placas A β , em cérebros de pacientes com DA (DARVESH; HOPKINS; GEULA, 2003), sugerindo inclusive que a BChE participa da maturação das placas. Conseqüentemente, a redução dos níveis de acetilcolina no hipocampo e no córtex cerebral de pacientes com DA é uma característica marcante da doença, tendo em vista a alta disponibilidade de BChE para degradá-la (CRAIG; HONG; MCDONALD, 2011). Portanto, a utilização de inibidores de colinesterases é uma das abordagens terapêuticas para o tratamento da Doença de Alzheimer.

Ademais, o desenvolvimento e progressão da doença também podem ser influenciados por algumas mutações do gene *BCHE* (REITZ; BRAYNE; MAYEUX, 2012; EL HAJ; KAPOGIANNIS, 2016; KIVIPELTO; MANGIALASCHE; NGANDU, 2018). Tendo em vista a capacidade da BChE para manter a transmissão colinérgica, já foi amplamente debatido que a variante K, por ser menos ativa, poderia funcionar como um fator protetivo contra a doença (PODOLY et al., 2009). No entanto, já foi demonstrado que a variante K por si só, não diminui a atividade da BChE, pois isso só ocorre quando está acompanhada da variante -116A (FURTADO-ALLE et al., 2008; JASIECKI et al., 2019). Por outro lado, a variante K também já foi relatada como um fator de risco para a patofisiologia da doença, considerando que ela é menos eficiente para barrar a formação das fibrilas dos emaranhados neurofibrilares, visto que afeta o domínio C-terminal da enzima, que é envolvido na atenuação da formação das mesmas (DIAMANT et al., 2006; PODOLY et al., 2009).

2.6 SUBSTÂNCIAS ANTICOLINESTERÁSICAS

Substâncias com potencial inibidor de colinesterases (IChEs) são um interessante alvo de estudo, podendo ser obtidas de fontes naturais ou sintéticas para o desenvolvimento dos medicamentos.

Já é bem estabelecido que muitas doenças neuropsiquiátricas são correlacionadas com a atividade das colinesterases, visto que elas influenciam diretamente a quantidade de acetilcolina disponível para as sinapses colinérgicas (POHANKA, 2011). Deste modo, já foram desenvolvidos alguns medicamentos anticolinesterásicos no intuito de restaurar os níveis adequados dos neurotransmissores colinérgicos. Para a Doença de Alzheimer leve a moderada, por exemplo, na qual ocorrem déficits nas funções colinérgicas, já existem disponíveis medicamentos que inibem especificamente a AChE (galantamina e donepezil) e outro que inibe ambas as colinesterases, AChE e BChE (rivastigmina) (RABINS; LYKETSOS, 2006; HOWES; HOUGHTON, 2012).

Além de medicamentos, existem outras substâncias com potencial anticolinesterásico que são alvo de estudo. Como por exemplo os organofosforados (pesticidas, armas químicas), os glicoalcalóides solanáceos e determinados hormônios de crescimento de plantas (HAUX; LOCKRIDGE; CASIDA, 2002; JOHNSON; MOORE, 2012; CAREY; DUNN; GASPARI, 2013; LOCKRIDGE, 2015). Os organofosforados (OP) são ésteres de ácido fosfórico capazes de inibir a AChE (CAREY; DUNN; GASPARI, 2013). Como essa enzima é de fundamental importância para a homeostase da função colinérgica, os OPs podem causar uma disfunção colinérgica. Com a inibição da AChE, a ação da acetilcolina não é finalizada e o seu acúmulo por consequência, também não é saudável para o sistema nervoso (RAUSHEL, 2011). Durante a segunda guerra mundial foram utilizados agentes nervosos compostos por OPs como arma química, como o gás Sarin. Os OPs também são utilizados na formulação de alguns agrotóxicos. No entanto, os agentes nervosos são muito mais tóxicos do que os OPs encontrados nos agrotóxicos, pois conseguem penetrar e se espalhar facilmente por todo o corpo humano (POHANKA, 2011). Além dos OPs, existe outro grupo de inibidores de colinesterases que é utilizado em agrotóxicos, os carbamatos. Estes também são capazes de inibir AChE fortemente e têm a fisostigmina como derivado natural (POHANKA, 2011; HOWES; HOUGHTON, 2012). A variante resistente ao fluoreto da BChE é também resistente a vários componentes capazes de inibir a BChE selvagem, como os glicoalcalóides solanáceos, representantes de OP e de carbamato (NEVILLE et al., 1992; POHANKA, 2011).

Os glicoalcalóides solanáceos são componentes anticolinesterásicos encontrados em determinados exemplares da família Solanaceae, que são amplamente presentes na culinária mundial, tais como batata, tomate e berinjela (HARRIS; WHITTAKER, 1962; ARKHYPPOVA et al., 2003; BARCELOUX, 2009). Krasowski, Mcgehee e Moss (1997) realizaram um estudo na tentativa de compreender como o consumo desses alimentos permaneceu, mesmo com seu potencial anticolinesterásico. Os autores relatam que muitas espécies ancestrais desses vegetais, possuíam níveis muito altos de glicoalcalóides solanáceos, superior ao suficiente para intoxicação. Deste modo, levantaram a hipótese de que o cultivo desses alimentos, poderia ser a força motriz evolutiva para a persistência de alelos não usuais de BChE, visto que eles são resistentes a inibição pelos glicoalcalóides. De fato, os autores demonstraram que o cultivo desses exemplares é congruente à distribuição de alelos não usuais de BChE. Ou seja, os locais nos quais são encontradas altas frequências destes alelos, são associados com a história do cultivo destes vegetais. Desse modo, a vantagem evolutiva que as variantes provavelmente exerceram durante a história, está associada à alta variação suportada pelo gene *BCHE* (KRASOWSKI; MCGEHEE; MOSS, 1997).

Por fim, já foi demonstrado também que a BChE é sensível à inibição pela serotonina vegetal e por dois hormônios que regulam o crescimento de plantas: ácido indol acético e etephon (HAUX; LOCKRIDGE; CASIDA, 2002; BODUR; COKUGRAS, 2005). Deste modo, infere-se que substâncias de origem natural podem servir como fontes de novos inibidores de colinesterases.

2.7 INVESTIGAÇÃO DE COMPOSTOS NATURAIS COM POTENCIAL TERAPÊUTICO

Nas últimas décadas, a investigação dos efeitos de compostos naturais para o tratamento de várias doenças, tem se destacado. A busca de compostos naturais voltados para a farmacologia, normalmente ocorreu em torno das plantas (ATANASOV et al., 2021). Inclusive, já são utilizadas substâncias provenientes ou derivadas destas para o tratamento de DA, como a galantamina e a rivastigmina (ALZHEIMER'S ASSOCIATION, 2021; DEY et al., 2017). Mas, conforme

já foi apontado anteriormente, os medicamentos utilizados atualmente, possuem fortes efeitos colaterais para os pacientes, o que impulsiona a busca por novos medicamentos (ALZHEIMER'S ASSOCIATION, 2021; HABTEMARIAM, 2019; MASTERS et al., 2015).

Por outro lado, existem outras classes de fontes de substâncias naturais que podem ser utilizadas na busca de moléculas bioativas, que merecem receber atenção, devido a sua grande diversidade de metabólitos secundários e propriedades medicinais, como os organismos marinhos, fungos, bactérias e líquens (HU et al., 1985; BARBOSA; VALENTÃO; ANDRADE, 2014; DEY et al., 2017; AYAZ et al., 2019; HABTEMARIAM, 2019; OLASEHINDE; OLANIRAN; OKOH, 2019a; ALAM et al., 2020; NOORI et al., 2021). Deste modo, o foco do presente trabalho está voltado aos organismos marinhos e substâncias naturais oriundas destes.

2.7.1 ORGANISMOS MARINHOS COMO FONTES DE SUBSTÂNCIAS BIOATIVAS

Os organismos marinhos (OM) são ricos em substâncias bioativas com potenciais farmacêuticos, sendo considerados como uma fonte de grande importância medicinal. Ainda, o ecossistema marinho é uma fonte abundante e inexplorada de substâncias bioativas e alimentos funcionais, que apresenta grande potencial para exploração (DONIA; HAMANN, 2003; BLUNT et al., 2014; ZHANG et al., 2017; JEEWON et al., 2019). Os OM fornecem agentes diferentes daqueles de fontes terrestres, pois as pressões ecológicas as quais são submetidos, levam à produção de metabólitos secundários únicos (KUMAR JHA; ZI-RONG, 2004; JEEWON et al., 2019). Dentre os organismos marinhos explorados para fins terapêuticos, farmacológicos ou alimentares, encontram-se as algas, as cianobactérias e até mesmo, os invertebrados (KUMAR JHA; ZI-RONG, 2004; BLUNT et al., 2014).

As algas marinhas são representadas por um grupo diverso de organismos, que são também utilizados como fonte alimentícia pelos humanos. São consideradas como alimentos muito saudáveis, pois funcionam como uma rica fonte de nutrientes, possuem vitaminas, aminoácidos, fibras, minerais, ácidos

graxos, entre outros (MACARTAIN et al., 2007; COFRADES et al., 2010; MOHAMED; HASHIM; RAHMAN, 2012). Podemos separar as algas em dois grandes grupos: as micro e as macroalgas. Sendo que os três filos de macroalgas que possuem representantes marinhos, são: Chlorophyta (algas verdes), Ochrophyta (algas castanhas, pardas ou marrons) e Rhodophyta (algas vermelhas) (EL GAMAL, 2010; LORDAN; ROSS; STANTON, 2011). Além de possuírem valor nutritivo, as macroalgas já foram alvo dos mais variados estudos e são conhecidas por possuírem uma ampla gama de propriedades farmacológicas, tais como anti-inflamatórias (BITENCOURT et al., 2015), antivirais (TAKEBE et al., 2013), antitumorais (NODA et al., 1990), neuroprotetoras (RAFIQUZZAMAN et al., 2015), antioxidantes (SHANURA FERNANDO et al., 2016; ADMASSU et al., 2018; KHALILI et al., 2018), anti-hipertensiva, antidiabética, entre outras (MOHAMED; HASHIM; RAHMAN, 2012; ADMASSU et al., 2018). Mais especificamente, a respeito das atividades neuroprotetoras de compostos isolados de certas espécies de macroalgas, os polissacarídeos sulfatados apresentaram eficácia contra a neurotoxicidade induzida pela beta-amilóide e como removedores de radicais livres (FLEITA; EL-SAYED; RIFAAT, 2015; ALGHAZWI et al., 2016; OLASEHINDE et al., 2019). Mas ainda assim, de acordo com Alghazwi et al. (2016) e Pangestuti e Kim (2011), ainda existe muito a ser aprofundado no estudo das atividades neuroprotetoras das macroalgas e uma infinidade de espécies a serem exploradas. As microalgas, por sua vez, são organismos microscópicos que contêm clorofila e são responsáveis por uma parte considerável da fotossíntese global. Dentro deste grupo, existem tantos organismos eucarióticos, quanto procarióticos, o que leva a certas confusões em termos de nomenclatura (SHIMIZU, 1996; GREQUE DE MORAIS et al., 2015). Por exemplo, as cianobactérias apresentam células procarióticas, mas, são consideradas como microalgas devido à presença de clorofila a e outros componentes da fotossíntese (GREQUE DE MORAIS et al., 2015). As cianobactérias são bem conhecidas pela sua atividade tóxica quando da sua floração em corpos d'água e assim, são organismos de interesse para a saúde pública. Pelo fato de produzirem toxinas, o interesse no estudo de seus metabólitos secundários é crescente (VAN APELDOORN et al., 2007). O interesse pelo estudo das microalgas em geral, se deve à grande diversidade do grupo e ao fato de que se encontram em diferentes habitats, incluindo ambientes extremos, o que proporciona uma vantagem para

a busca de metabólitos secundários de alto valor comercial (COESEL et al., 2008; BOROWITZKA, 2013). Além disso, o pequeno volume dos organismos facilita a manipulação e cultivo em grande escala em ambientes controlados (PLAZA et al., 2009). Por fim, também já foram relatadas atividades anti-hipertensivas, anti-inflamatórias, antioxidantes, neuroprotetivas, antimicrobianas e outras para as mesmas (GREQUE DE MORAIS et al., 2015; SATHASIVAM; KI, 2018).

Tratando de invertebrados marinhos, o filo Porifera abrange o grupo mais antigo de animais multicelulares, que são conhecidos como esponjas ou poríferos. As esponjas marinhas são fonte de moléculas bioativas com potenciais farmacológicos, sendo que na verdade, de todos os produtos naturais marinhos que já foram isolados, mais de 30% são originários dos poríferos (LEAL et al., 2012; MEHBUB et al., 2014; ANJUM et al., 2016). As esponjas marinhas são também ótimas fontes de microrganismos (GERWICK; MOORE, 2012). Já foi apontado na literatura, que as mesmas possuem atividades antivirais, antibióticas, anti-inflamatórias, antitumorais, imunossupressoras e neuroprotetoras (SIPKEMA et al., 2005; CHOI; CHOI, 2014; ANJUM et al., 2016). Mas, de acordo com Piel (2004), suspeita-se que muitos metabólitos bioativos derivados de esponjas, são na verdade provenientes de seus microrganismos simbiotes. Pois além de os microrganismos compreenderem boa parte do corpo das esponjas, alguns metabólitos se assemelham a produtos tipicamente bacterianos.

Por fim, além dos poríferos, outro grupo de invertebrados marinhos que também tem sido alvo de estudo, são os crustáceos. Esse grupo de animais é pertencente ao filo dos artrópodes e é utilizado como alimento através do mundo. Compostos derivados dos crustáceos, inclusive dos resíduos de suas cascas protetoras, possuem potencial para diferentes aplicações industriais, tais como cosméticas, farmacêuticas e agrícolas (HAMED et al., 2015; HAMED; ÖZOGUL; REGENSTEIN, 2016).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Revisar a literatura dos estudos primários que testaram diferentes substâncias naturais, com foco nos produtos de origem marinha, acerca de seu potencial inibidor de BChE, com vistas a sistematizar o conhecimento acumulado. Tem ainda o intuito de servir como base para que experimentos não sejam desnecessariamente repetidos e apontar eventuais necessidades de estudos adicionais.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Separar os estudos em classes de acordo com as fontes das substâncias naturais, visando a sistematização;
- Verificar as principais substâncias já isoladas e a quais organismos pertencem, visando sistematizar a classificação das substâncias inibitórias;
- Identificar a estrutura química das substâncias, visando sistematizar a classificação das substâncias inibitórias;
- Identificar as possíveis lacunas a serem preenchidas e sugerir possíveis estudos adicionais.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Para a elaboração da metodologia da revisão foi necessário delimitar qual seria o formato das fontes utilizadas, quais bases de dados seriam consultadas, quais palavras-chave e descritores seriam utilizados e como a estratégia de busca seria montada para as diferentes bases. Deste modo, as fontes selecionadas através das bases de dados estavam em formato de artigos científicos. A estratégia de busca construída foi utilizada nas principais bases de dados da área da saúde: Science Direct, EMBASE, PUBMED e BVS (que inclui as bases Lilacs, MEDLINE, Cochrane, entre outras). A seleção das palavras-chave e descritores foi realizada com base em artigos que tratavam da literatura de interesse. Como gerenciador de referências foi utilizado o programa Mendeley Desktop versão 1.19.4. Mais detalhes serão explicados a seguir.

4.1 DEFINIÇÃO DE PALAVRAS-CHAVE E DESCRITORES

O principal descritor do presente trabalho é “cholinesterase inhibitors”. Porém, utilizando apenas ele como estratégia, nota-se que a busca acaba retornando muitos estudos não relacionados ao foco de pesquisa. Deste modo, notou-se que deveria ser incorporada à estratégia de busca alguma palavra que trouxesse apenas estudos que efetivamente testaram algum composto a respeito de seu potencial IChE, através de análises de inibição enzimática. Assim, foram selecionados alguns estudos que realizaram tal teste, para entender como esta análise era descrita e quais eram as principais palavras-chave utilizadas.

Os estudos encontrados estavam disponíveis no portal de periódicos CAPES. A extração das palavras-chaves por ele utilizadas e a extração dos nomes das bases de dados a que eram pertencentes, foi realizada. Notou-se que sempre era utilizada alguma palavra-chave relacionada à enzima e outra relacionada ao teste utilizado para avaliar a inibição (Quadro 1), então esses dois grupos de palavras foram criados para junção na estratégia final (Figura 6).

FIGURA 6 - FLUXO DE TRABALHO PARA MONTAGEM DA ESTRATÉGIA DE BUSCA



QUADRO 1¹ - PALAVRAS-CHAVE RETIRADAS DOS PRINCIPAIS ARTIGOS DA ÁREA, QUE FORAM UTILIZADAS NA CONSTRUÇÃO DA ESTRATÉGIA DE BUSCA

Grupo de palavras

Palavras-chave utilizadas pelos artigos

Para indicar a enzima BChE

butylcholinesterase, time-dependent inhibitor, BChE, cholinesterase inhibitor/*chemistry, cholinesterase inhibitor/*pharmacology, anticholinesterase potential e cholinesterase inhibition

¹ Os asteriscos utilizados após as palavras-chave (neste caso, descritores) indicam que a palavra que vem a seguir é um qualificador contido dentro do descritor. Os qualificadores são utilizados para refinar as buscas dos artigos, tendo em vista que algumas palavras-chave são muito amplas e o interesse do pesquisador pode estar voltado a apenas algum ou alguns dos diferentes qualificadores.

Biological activity, biological action, activity of acetylcholinesterase, cholinesterase inhibition/pharmacology, cholinesterase inhibition/metabolism, acetylcholinesterase inhibition, acetylcholinesterase inhibitory activity, anti-cholinesterase activity, acetylcholinesterase inhibition essay, ChEI activity, CHE inhibition activity, acetylcholinesterase/*metabolism, cholinesterase inhibitors/*chemistry, cholinesterase inhibitors/*pharmacology, anticholinesterase potential, cholinesterase inhibition, acetylcholinesterase

Para indicar o teste

(conclusão)

4.2 ESTRATÉGIA DE BUSCA UTILIZADA E SELEÇÃO DOS ARTIGOS

Além da análise dos artigos selecionados, também foi realizada a consulta ao vocabulário MeSH para a seleção das palavras-chaves mais adequadas. A estratégia de busca construída foi adaptada para utilização em cada uma das bases de dados utilizadas, tendo em vista que elas possuem diferentes regras de organização. Durante a busca, não houveram restrições em relação ao idioma, data e campo do artigo. A estrutura base está indicada abaixo.

(butylcholinesterase OR butyrylcholinesterase OR BChE OR “cholinesterase inhibitor” OR “cholinesterase inhibitors” OR “cholinesterase inhibition”)

AND

(“biological action” OR “biological activity” OR “activity of butylcholinesterase” OR “activity of butyrylcholinesterase” OR “butylcholinesterase inhibition” OR “butyrylcholinesterase inhibition” OR “butylcholinesterase inhibitory activity” OR “butyrylcholinesterase inhibitory activity” OR “butylcholinesterase inhibition essay” OR “butyrylcholinesterase inhibition essay” OR “ChEI activity” OR “CHE inhibition activity” OR “anticholinesterase potential” OR “anti-cholinesterase activity”)

De acordo com a estratégia de busca utilizada, o resultado retornou um total de 20.736 artigos no mês de maio de 2020, conforme pode ser visualizado na tabela 2.

TABELA 2 - NÚMERO DE ARTIGOS ENCONTRADOS DE ACORDO COM A BASE DE DADOS

Base de Dados	Nº de Artigos	Data
PubMed	4197	14.05
EMBASE	1002	14.05
BVS	12949	13.05
ScienceDirect	2588	19.05
Total	20736	-

Após a realização de uma seleção inicial com base em título e resumo para identificar quais estudos tratavam de substâncias naturais, restaram 3670

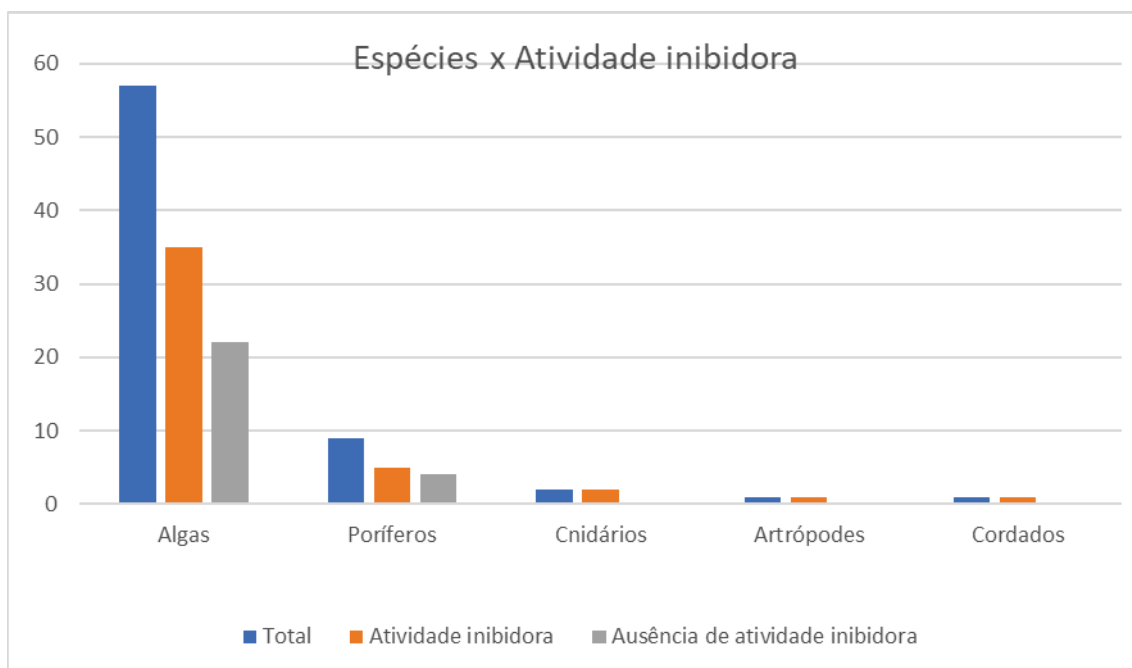
artigos. Depois, ocorreu uma seleção secundária para identificar quais tratavam de substâncias provenientes de organismos marinhos, da qual restaram 26 artigos. Os critérios de exclusão utilizados foram duplicidade de artigos, ausência de análise inibitória de BChE e/ou não demonstração dos valores de IC₅₀/porcentagem de inibição, impossibilidade de acesso ao PDF e artigos de revisão. Os dados retirados dos artigos foram: qual a espécie utilizada, qual o material que foi testado acerca da inibição (extrato da espécie ou substância isolada), o solvente utilizado para a extração, a concentração testada, o parâmetro utilizado para indicar a atividade inibitória e se houve ou não a inibição.

O valor de IC₅₀ é a medida que quantifica a concentração necessária de determinada substância, para reduzir pela metade a taxa de reação de uma enzima (BURLINGHAM; WIDLANSKI, 2003). Portanto, ele foi escolhido para mensurar o potencial inibidor dos organismos, tendo em vista que é o método mais comumente utilizado para analisar a relação enzima-inibidor. No entanto, como o mesmo não estava presente em todos os artigos analisados, na ausência do valor de IC₅₀, foram coletados os percentuais de inibição do extrato/composto.

5 RESULTADOS

Do total de artigos iniciais, 26 foram selecionados, em função da relevância técnico-científica, para construção da revisão. Destes, 18 eram de algas marinhas, 4 de poríferos, 2 de cnidários, 1 de artrópodes e 1 de cordados. Como dentro de um mesmo artigo, haviam dados sobre mais de uma espécie e/ou substâncias isoladas, alguns continham dados tanto de presença, quanto de ausência de inibição. A seguir, detalhes sobre os resultados encontrados para os diferentes grupos.

Gráfico 1. Número de espécies analisadas e seus respectivos status de inibição, separados por grupos de organismos marinhos



5.1 ALGAS

Dentre os artigos utilizados, 18 utilizaram algas para testar seu potencial IChE. Alguns dos artigos utilizaram apenas uma espécie, enquanto outros utilizaram mais de uma espécie pertencentes ao mesmo filo ou não. As espécies

utilizadas estão demonstradas no quadro 2, nele também é possível observar quais espécies demonstraram atividade inibidora ou não.

QUADRO 2 - ESPÉCIES DE ALGAS UTILIZADAS E SEUS RESPECTIVOS STATUS DE INIBIÇÃO

Filo	Espécie	Inibição
Ochrophyta	<i>Sargassum wightii</i>	✓
	<i>Cystoseira tamariscifolia</i>	
	<i>Cystoseira usneoides</i>	
	<i>Ecklonia cava</i>	
	<i>Saccharina latissima</i>	
	<i>Bifurcaria bifurcata</i>	
	<i>Cystoseira stricta</i>	
	<i>Fucus spiralis</i>	
	<i>Sargassum siliquastrum</i>	
	<i>Sargassum</i>	
	<i>Dictyota dichotoma</i>	
	<i>Ecklonia máxima</i>	
	<i>Sargassum sagamianum</i>	
	<i>Sargassum serratifolium</i>	
	<i>Padina gymnospora</i>	
	<i>Hizikia fusiformis</i>	
	<i>Cystoseira nodicaulis</i>	X
	<i>Cladostephus spongiosus</i>	
	<i>Halopteris filicina</i>	
	<i>Padina pavonica</i>	
	<i>Sargassum vulgare</i>	
	<i>Stypocaulon scoparium</i>	
	<i>Fucus guiryi</i>	
	<i>Fucus serratus</i>	
	<i>Laminaria ochroleuca</i>	
	<i>Saccorhiza polyschides</i>	
	<i>Cystoseira humilis</i>	
	<i>Turbinaria conoides</i>	
<i>Turbinaria ornata</i>		
Rhodophyta	<i>Spyridia hypnoides</i>	✓
	<i>Gracilaria fergusonii</i>	
	<i>Amphiroa anceps</i>	
	<i>Gracilaria gracilis</i>	
	<i>Gracilaria edulis</i>	
	<i>Gracilaria beckeri</i>	
	<i>Gelidium pristoides</i>	
	<i>Hypnea valentiae</i>	
	<i>Gelidiella acerosa</i>	
	<i>Asparagopsis armata</i>	X
	<i>Sphaerococcus coronopifolius</i>	
	<i>Plocamium cartilagineum</i>	

	<i>Osmundea pinnatifida</i>		
	<i>Schizymenia dubyi</i>		
	<i>Gelidium sequipedale</i>		
Chlorophyta	<i>Nannochloris sp SBL1</i>	✓	
	<i>Picochlorum sp SBL2</i>		
	<i>Desmochloris sp SBL3</i>		
	<i>Nannochloris sp SBL4</i>		
	<i>Halimeda spp.</i>		
	<i>Valoniopsis pachynema</i>		
	<i>Ulva reticulata</i>		
	<i>Enteromorpha intestinalis</i>		
	<i>Ulva rigida</i>	X	
	<i>Codium tomentosum</i>		
	<i>Codium adhaerens</i>		
	<i>Ulva lactuca</i>		
		<i>Cladophora fascicularis</i>	

Dentre elas, 29 são do filo Ochrophyta, 15 são do filo Rhodophyta e 13 do filo Chlorophyta. Sendo que o filo Ochrophyta esteve presente em 14 artigos, o filo Rhodophyta em 10 e o filo Chlorophyta em 8. Em relação ao material obtido, 15 artigos testaram o extrato bruto e 10 artigos testaram substâncias isoladas dos espécimes. Em relação a capacidade de inibir BChE, os 18 artigos demonstraram pelo menos um extrato ou substância isolada de determinado organismo com potencial inibidor de BChE e seis artigos apresentaram dados de ausência de inibição nas concentrações testadas. Os valores de IC₅₀ ou percentagem de inibição obtidos, assim como o tipo de material que foi utilizado estão resumidos na tabela 3. Nela é possível observar a substância ou o extrato da espécie que demonstrou o melhor potencial inibitório. Para informações mais detalhadas, consultar tabela 6 do apêndice Algas, na qual estão presentes todos os materiais analisados e seus valores de inibição; além de constar informações das espécies que não apresentaram potencial inibidor.

TABELA 3 - POTENCIAIS INIBIDORES DE BChE, A PARTIR DE ESPÉCIES DE ALGAS

ALGAS				
Espécie	Filo	Substância ou fração	IC₅₀ ou % de inibição	Autor
<i>Sargassum wightii</i>	Ochrophyta	Extrato acetônico	10,49 ± 0,03 µg/ml	Syad, Shunmugiah and Kasi, 2013
<i>Ecklonia cava</i>	Ochrophyta	Dieckol	2,7 ± 0,4 µM	Choi et al, 2015

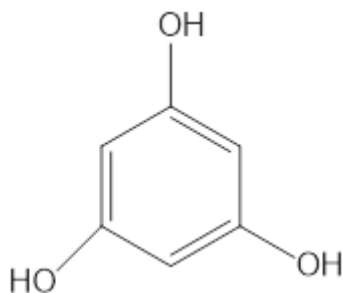
		PFF-A	0,9 ± 0,2 µM	
		6,6'-Bieckol	27,4 ± 5,3 µM	
		8,8'-Bieckol	10,9 ± 0,9 µM	
		Eckol	29,0 ± 5,1 µM	
<i>Saccharina latissima</i>	Ochrophyta	Extrato acetônico	22,7 ± 0,9%	Fernandes et al, 2018
		Fucoxantina	19,0 ± 2,6 %	
		Ácido hexadecanóico	>5 %	
<i>Fucus spiralis</i> (Linnaeus, 1753)	Ochrophyta	Extrato etanólico	11,7 ± 2,8 µg/ml	Grina et al, 2020
<i>Nannochloris sp</i> SBL1	Chlorophyta	Extrato metanólico	52 – 58 %	Pereira et al, 2015
<i>Picochlorum sp.</i> SBL2			66 – 69 %	
<i>Desmochloris sp</i> SBL3			55 -60 %	
<i>Nannochloris sp</i> SBL4			41,2 – 59 %	
<i>Sargassum siliquastrum</i>	Ochrophyta	Sargacromanol I	13,69 ± 5,07 µM	Lee et al, 2019
		Sargacromanol G	10,79 ± 0,65 µM	
<i>Halimeda spp.</i>	Chlorophyta	Extrato metanólico	7,82 ± 0,67 mg/ml	Mahomoodally et al, 2020
<i>Spyridia hypnoides</i>	Rhodophyta		7,96 ± 1,01 mg/ml	
<i>Valoniopsis pachynema</i> (G. Martens) Børgesen	Chlorophyta		8,75 ± 1,31 mg/ml	
<i>Gracilaria fergusonii</i> J. Agardh	Rhodophyta		7,43 ± 1,00 mg/ml	
<i>Amphiroa anceps</i> (Lamarck) Decaisne	Rhodophyta		6,68 ± 0,83 mg/ml	
<i>Ulva reticulata</i>	Chlorophyta		10 mg/ml	
<i>Hypnea valentiae</i>	Rhodophyta	3,9 mg/ml		
<i>Sargassum</i>	Ochrophyta	0,6 mg/ml		
<i>Enteromorpha intestinalis</i>	Chlorophyta	6,5 mg/ml		
<i>Gracilaria gracilis</i>	Rhodophyta	1,5 mg/ml		
<i>Gracilaria edulis</i>	Rhodophyta	1,25 mg/ml		
<i>Dictyota dichotoma</i>	Ochrophyta	6,5 mg/ml		
<i>Ecklonia maxima</i>	Ochrophyta	Polissacarídeos sulfatados	82,90 µg/mL ± 1,94	Olasehinde et al, 2019

<i>Ulva rigida</i>	Chlorophyta		118,90 µg/mL ± 1,65	
<i>Gracilaria beckeri</i> (J.Agardh) Papenfuss	Rhodophyta	Extrato aquoso	63,03 µg/mL ± 4,80	Olasehinde, Olaniran and Okoh, 2019
<i>Ecklonia maxima</i> (Osbeck) Papenfuss	Ochrophyta		52,11 µg/mL ± 2,82	
<i>Ulva rigida</i> (C.Agardh) Linnaeus	Chlorophyta		71,19 µg/mL ± 2,92	
<i>Gelidium pristoides</i> (Turner) Kützting	Rhodophyta		58,28 µg/mL ± 1,79	
<i>Sargassum sagaminum</i>	Ochrophyta	(5E, 10Z)-6,10,14-trimetilpentadeca-5,10-dien-2,12-dione	34,0 µM	Ryu, et al, 2003
		(5E,9E, 13E)-6,10,4-trimetil- pentadeca-5,9,13-trien-2,12-dione	23,0 µM	
<i>Sargassum serratifolium</i>	Ochrophyta	Extrato etanólico aquoso	2,2 ± 0,04 µg/mL	Seong et al, 2017
		Ácido sargahidroquinóico	15,2 ± 0,34 µM	
		Sargacromenol	9,4 ± 0,02 µM	
		Ácido sargaquinóico	10,5 ± 0,09 µM	
<i>Padina gymnospora</i>	Ochrophyta	Alfa-bisabolol	< 10µg/ml	Shanmuganathan, et al, 2015
<i>Hypnea valentiae</i>	Rhodophyta	Extrato metanólico	55,66 %	Natarajan, Shanmugiah ahtevar e Kasi, 2010
<i>Ulva reticulata</i>	Chlorophyta		51,78 %	
<i>Enteromorpha intestinalis</i>	Chlorophyta		60,02 %	
<i>Dictyota dichotoma</i>	Ochrophyta		54,42 %	
<i>Gelidiella acerosa</i> (Forsska 1) Feldmann & G. Hamel	Rhodophyta	Frações do extrato benzênico	44,80 – 153,12 µg/ml	Syad et al, 2016
		Fitol	5,798 ± 0,72 µg/ml	
<i>Gelidiella acerosa</i>	Rhodophyta	Extrato benzênico	163,01µg/m L	Syad, Shunmugiah and Kasi, 2012
<i>Hizikia fusiformis</i>	Ochorophyta	Extrato	> 400 µg/ml	Wagle et al, 2018
		Glicirrizina	>150 µM	
		18α-ácido glicirretínico	162,62 ± 2,51 µM	
		18β- ácido glicirretínico	216,78 ± 4,87 µM	

A atividade inibidora do extrato metanólico de *G. gracilis*, *G. edulis* e *Sargassum* podem ser destacadas, pois além de exibirem um valor de IC₅₀ menor do que o donepezil (1,5, 1,25 e 0,6 mg/ml contra 16 mg/ml), também apresentaram diferenças significativas quando comparadas com o controle (tampão Tris-HCl) a um nível de significância de P<0,01 (NATARAJAN; SHANMUGIAHTHEVAR; KASI, 2009). Além das espécies *U. reticulata*, *H. valentiae*, *E. intestinalis* e *D. dichotoma* que inibiram mais da metade da atividade de BChE (51.78, 55.66, 60,02 e 54.42%) a um nível de significância de P<0,05 quando comparadas com o controle donepezil (57.47%) (NATARAJAN; SHANMUGIAHTHEVAR; KASI, 2010). O donepezil, um inibidor colinesterásico reversível, é um dos fármacos aprovados para o tratamento da DA. Ele apresenta uma inibição seletiva para AChE, em relação a BChE, porém é utilizado em muitos estudos como inibidor controle de ambas (DOOLEY; LAMB, 2000).

Já em relação aos compostos bioativos de algas, podemos destacar as florotaninas, que são estruturas formadas por unidades de floroglucinol (figura 7). Além de estarem presentes nos extratos de várias espécies que demonstraram inibição de BChE (*G. beckeri*, *E. maxima*, *U. rigida*, *G. pristoides*) (OLASEHINDE; OLANIRAN; OKOH, 2019b); as florotaninas Dieckol e PFF-A (isolados de *E. cava*) apresentaram uma forte atividade anti-BChE, com IC₅₀ inferior ao do donepezil, além de inibição de outras enzimas-alvo para o tratamento da DA, BACE-1 e GSK3 β (CHOI et al., 2015).

FIGURA 7- ESTRUTURA QUÍMICA DO FLOROGLUCINOL



Fonte: Adaptado de Pádua et al. (2015)

Outro composto bioativo importante isolado de um extrato de *G. acerosa*, o qual demonstrou atividades antioxidantes, anti-amiloidogênicas e anti-BChE, foi o fitol (Figura 8). Através de ensaios para testar suas atividades biológicas, ele demonstrou significativas atividades antioxidante e inibitória de BChE, ainda que em baixas concentrações (SYAD et al., 2016).

FIGURA 8 - ESTRUTURA QUÍMICA DO FITOL



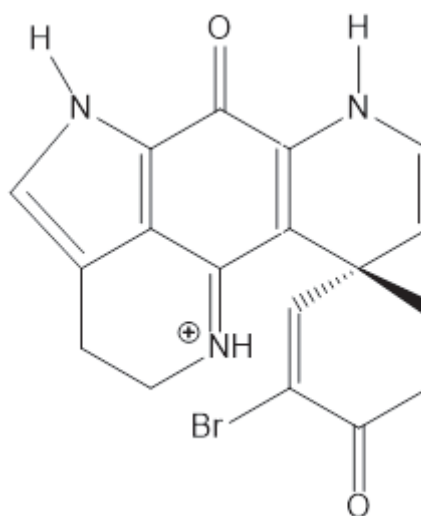
Fonte: Adaptado de PUBCHEM, (2021a)

5.2 PORÍFEROS

Dentre os artigos analisados, cinco utilizaram organismos do filo Porifera e apenas um deles utilizou mais de uma espécie. As espécies utilizadas nos artigos foram: *Latrunculia biformis*, *Latrunculia bocagei*, *Geodia barretti*, *Metania reticulata*, *Drulia uruguayensis*, *Drulia browni*, *Drulia cristata*, *Axinella verrucosa*, *Fascaplysinopsis Bergquist sp.* Em relação ao material obtido, a maioria dos artigos testaram o potencial IChE de substâncias isoladas, enquanto um artigo testou o extrato bruto, o mesmo que utilizou mais de uma espécie no artigo. Em relação à capacidade de inibir BChE, três artigos apresentaram resultados de inibição e três apresentaram resultados de ausência de inibição. Mais especificamente, em relação as espécies, três apresentaram atividade inibidora de BChE com a utilização de substâncias isoladas das mesmas, sendo elas: *Latrunculia biformis*, *Axinella verrucosa* e *Fascaplysinopsis*. Enquanto os extratos metanólicos de *Metania reticulata*, *Drulia uruguayensis*, *Drulia browni* e *Drulia cristata* não apresentaram atividade inibidora de BChE. Os valores de IC₅₀ obtidos com a utilização das substâncias isoladas estão resumidos na tabela 4, informações mais detalhadas acerca de espécies que não apresentaram atividade inibidora podem ser encontradas na tabela 7 presente nos apêndices.

O composto (+)-Discorhabdin G (Figura 9), isolado da esponja *L. biformis*, pode ser destacado, pois além de demonstrar uma forte atividade inibitória de BChE com valor de IC₅₀ inferior ao do controle fisostigmina, também demonstrou inibição de AChE, sem prejudicar as funções do músculo esquelético e transmissão neuromuscular (BOTIĆ et al., 2017).

FIGURA 9 - ESTRUTURA QUÍMICA DO DISCORHABDIN G



Fonte: Adaptado de BOTIĆ et al. (2017)

TABELA 4 - POTENCIAIS INIBIDORES DE BChE, A PARTIR DE ESPÉCIES DE PORÍFEROS

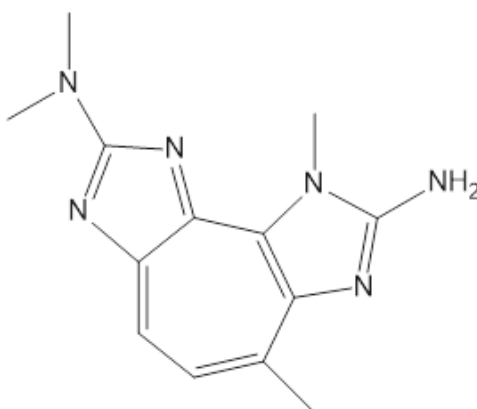
PORIFERA			
Espécie	Composto isolado	IC₅₀	Autor
<i>Latrunculia biformis</i>	(+)-Discorhabdin G	7,0 μM ± 1,0	Botic et al, 2017
	(-)-3-dihidro-7,8-dehidrodiscorhabdin C	15,8 μM ± 3,5	
<i>Axinella verrucosa</i>	Alcalóide bromo-pirrol	141,6 μM ± 34,0	Vitale et al, 2018
<i>Fascaplysinopsis</i> Bergquist sp.	Fascaplysin	90,47 mM	Bharate et al, 2012

5.3 CNIDÁRIOS

Dentre os artigos analisados, apenas dois utilizaram organismos do filo Cnidaria, sendo que um deles utilizou o extrato e um veneno isolado do organismo para testar a inibição, e, o outro testou apenas uma substância isolada.

As espécies utilizadas nos artigos foram *Pelagia noctiluca* e um coral não identificado e ambos os artigos apresentaram potencial inibidor. Os valores de IC₅₀ obtidos podem ser observados na tabela 5. A partir dos cnidários, o composto 2-amino-3,9-dimetil-5-metilamino-3H-1,3,4,6-tetrazacíclopente[*e*]azuleno (Figura 10), uma pseudozoantoxantina isolada do coral não identificado, pode ser destacado devido a uma atividade multi-alvo. A pseudozoantoxantina demonstrou atividade inibitória de BChE, AChE, BACE-1, potenciais amiloidogênicos e capacidade de restauração da conectividade funcional colinérgica corticohipocampal (VITALE et al., 2018).

FIGURA 10 - ESTRUTURA MOLECULAR DA PSEUDOZOANTOXANTINA



Fonte: Adaptado de VITALE et al. (2018)

TABELA 5 - POTENCIAIS INIBIDORES DE BChE, A PARTIR DE ESPÉCIES DE CNIDÁRIOS

CNIDARIA			
Espécie	Substância ou fração	IC₅₀	Autor
<i>Pelagia noctiluca</i>	Veneno	77,5 µg/ml	Ayed et al, 2012
	Frações	58 - 82 µg/ml	
<i>Unidentified coral</i>	Pseudozoantoxantina	14,6 µM ± 5,4	Vitale et al, 2018

5.4 ARTRÓPODES

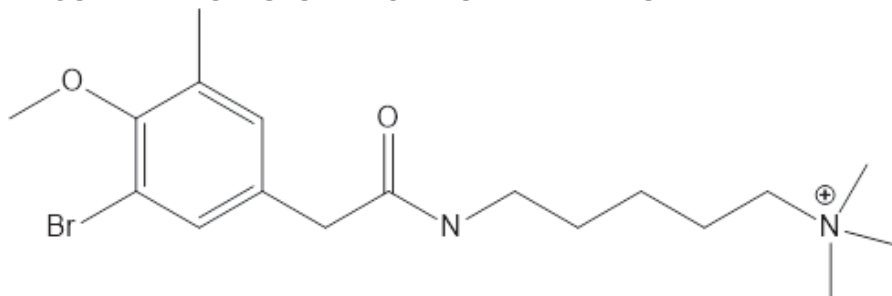
Dentre os artigos utilizados, apenas 1 artigo utilizou um organismo do Filo Arthropoda, mais especificamente *Lophozozymus incisus*, do subfilo Crustacea.

O artigo utilizou o extrato etanólico bruto do animal e o testou em diferentes concentrações, obtendo resultados positivos de inibição de maneira dose-dependente ($IC_{50} = 4,177$ mg/ml). O extrato etanólico de *L. incisus* demonstrou atividade inibitória de BChE, monoamina oxidase A e α -glucosidase, porém inferior à dos controles utilizados (OLIVEIRA et al., 2019).

5.5 CORDADOS

Dentre os artigos analisados, apenas um utilizou um organismo do Filo Chordata, mais especificamente *Synoicum pulmonaria*, do subfilo Tunicata. O artigo utilizou um componente isolado do animal (pneumarina B – Figura 11), que demonstrou um valor de IC_{50} de $30,70$ μ M e foi considerado como um inibidor fraco. Além da atividade anti-BChE o composto também demonstrou atividade contra a agregação de A β e não hepatotoxicidade contra células HepG2 (CHENG et al., 2018).

FIGURA 11 - ESTRUTURA MOLECULAR DA PNEUMARINA B



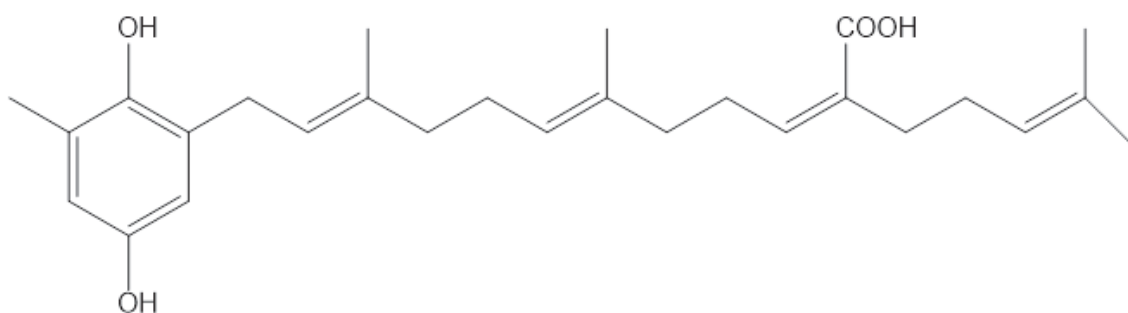
Fonte: Adaptado de CHENG et al. (2018)

6. DISCUSSÃO

6.1 ALGAS

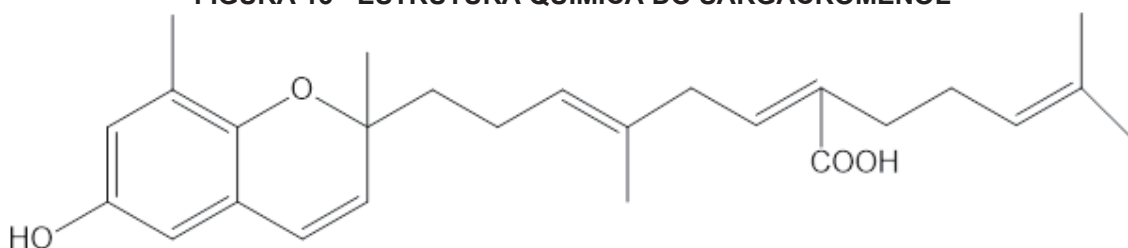
Dentre os artigos analisados, o gênero mais foi estudado foi o *Sargassum*, do filo Ochrophyta, presente em seis artigos (LEE et al., 2019; NATARAJAN; SHANMUGIAH THEVAR; KASI, 2009; RYU et al., 2003; SEONG et al., 2017; SYAD; SHUNMUGIAH; KASI, 2013a). Em todas as espécies utilizadas foram encontrados resultados positivos de inibição de BChE, exceto para *Sargassum vulgare*, no artigo de Andrade et al. (2013), no qual foi observado ausência de inibição. Para *Sargassum wightii*, *Sargassum siliquastrum*, *Sargassum sagami-anum*, *Sargassum serratifolium* e uma espécie não identificada de *Sargassum*, foi observado atividade inibidora de BChE. Mais especificamente, utilizando os extratos de *Sargassum wightii*, *Sargassum serratifolium* e *Sargassum*, os valores de IC₅₀ obtidos foram de 10,49 ± 0,03 µg/ml, 2,2 ± 0,04 µg/ml e 0,6 mg/ml, respectivamente. Dentre todos os componentes presentes no extrato de *S. wightii*, os triterpenos foram responsáveis por aproximadamente 70% de sua constituição. Embora os autores tenham atribuído a atividade inibidora observada à presença dos triterpenos, é necessário um maior detalhamento no estudo para identificar qual o componente responsável pela atividade (SYAD; SHUNMUGIAH; KASI, 2013a). Enquanto para *S. serratifolium*, além da atividade inibidora observada também foi demonstrada atividade anti-BChE em três meroterpenóides isolados da mesma (Figuras 12, 13 e 14): ácido sargahidroquinóico (IC₅₀= 15,2 ± 0,34 µM), sargacromenol (IC₅₀= 9,4 ± 0,02 µM) e ácido sargaquinóico (IC₅₀= 10,5 ± 0,09 µM). Para estes, também foi relatada atividade inibidora de BACE1, outra enzima chave no desenvolvimento da DA (SEONG et al., 2017). Em outro trabalho que não apareceu na estratégia de busca utilizada, o ácido sargaquinóico e o sargacromenol também apresentaram inibição de BChE (IC₅₀ 0,026 e 7,3 µg/mL, respectivamente), mas desta vez foram isolados de *S. sagamianum*. Sendo que o ácido sargaquinóico demonstrou uma atividade inibidora potente e seletiva para BChE, em relação a AChE (CHOI et al., 2007).

FIGURA 12 - ESTRUTURA QUÍMICA DO ÁCIDO SARGAHIDROQUINÓICO



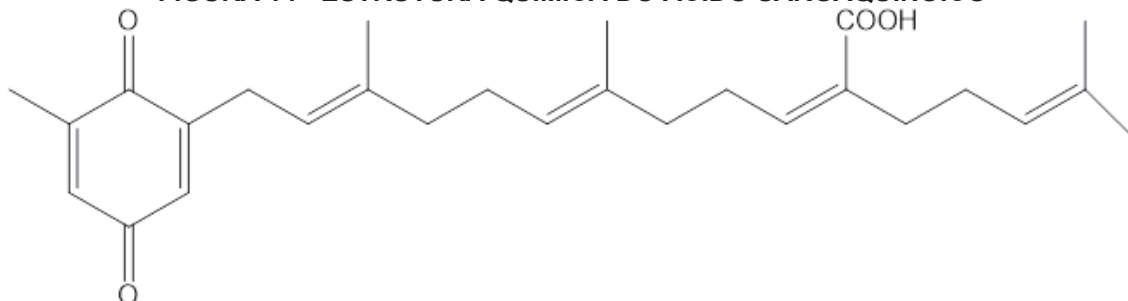
Fonte: Adaptado de SEONG et al. (2017)

FIGURA 13 - ESTRUTURA QUÍMICA DO SARGACROMENOL



Fonte: Adaptado de SEONG et al. (2017)

FIGURA 14 - ESTRUTURA QUÍMICA DO ÁCIDO SARGAQUINÓICO



Fonte: Adaptado de SEONG et al. (2017)

Na literatura ocorrem muitos artigos que demonstram atividades terapêuticas de espécies do gênero *Sargassum* (a partir de seus extratos ou de componentes isolados), tais como anti-inflamatórias, antitumorais, antiangiogênicas, analgésicas, antioxidantes, antimicrobianas, entre outras (YENDE; HARLE; CHAUGULE, 2014; SARASWATI et al., 2019; LIU et al., 2020). Além disso, também é conhecido o uso de *Sargassum* na medicina Chinesa para o tratamento de diversas condições, tais como edemas, doenças de pele e doenças relacionadas a tireoide (LIU et al., 2012). No entanto, de acordo com Seong et al.

(2017), apesar de ter sido demonstrado anteriormente que meroterpenóides isolados de diferentes espécies de *Sargassum* possuem atividade contra DA, os de *S. serratifolium* ainda não haviam sido totalmente explorados. Mas ainda que os autores tenham demonstrado a presença de atividade anti-BChE e BACE1 para *S. serratifolium*, os detalhes desta inibição permanecem a serem elucidados (SEONG et al., 2017). De *S. sagamianum* foram isolados também dois derivados de farnesylacetona: (5E, 10Z)-6,10,14-trimetilpentadeca-5,10-dien-2,12-dione e (5E,9E, 13E)-6,10,4-trimetil-pentadeca-5,9,13-trien-2,12-dione, que apresentaram inibição de BChE considerada como moderada pelos autores, com valores de IC₅₀ de 34,0 e 23,0 µM, respectivamente (RYU et al., 2003). De acordo com os autores, esses derivados de farnesylacetona possuem esqueleto similar ao das plastoquinonas: ácido sargaquinóico e sargacromenol (KUSUMI et al., 1979), que por sua vez, também foram isoladas de *S. sagamianum* e demonstraram atividade inibidora de BChE (relatado acima) (CHOI et al., 2007).

O gênero *Cystoseira* (também pertencente ao filo Ochrophyta) apareceu em dois artigos, porém com cinco espécies diferentes: *C. tamariscifolia*, *C. usneoides*, *C. nodicaulis*, *C. humilis* e *C. stricta* (ANDRADE et al., 2013; GRINA et al., 2020). *C. nodicaulis* e *C. humilis* não apresentaram resultados de inibição, enquanto *C. tamariscifolia*, *C. usneoides* e *C. stricta* apresentaram inibição de BChE, com valores de 0,67 mg/ml (EC₂₅), 0,23 mg/ml (EC₂₅) e 69,4 ± 1,9 µg/ml (IC₅₀). A atividade inibitória de BChE observada no extrato etanólico de *Cystoseira stricta*, foi considerada como moderada (GRINA et al., 2020). Além dela, outra espécie que apresentou inibição de BChE no mesmo artigo foi a *Bifurcaria bifurcata*, que não recebeu destaque pelo fato de ter apresentado uma baixa atividade, com valor de IC₅₀ de 177 ± 0,9 µg/ml (GRINA et al., 2020). No artigo de Andrade et al. (2013), foram obtidos extratos etanólicos de 18 macroalgas da costa portuguesa, pertencentes aos três diferentes filos de macroalgas e apenas as duas espécies pertencentes ao gênero *Cystoseira* (*C. tamariscifolia* e *C. usneoides*) demonstraram inibição de BChE. Os autores identificaram que os extratos de ambas as espécies continham prolina, floroglucinol, manitol, 2 ácidos graxos e fucosterol. No entanto, como não foram demonstrados valores de IC₅₀, nem percentagem de inibição, os dados não serão aprofundados para discussão.

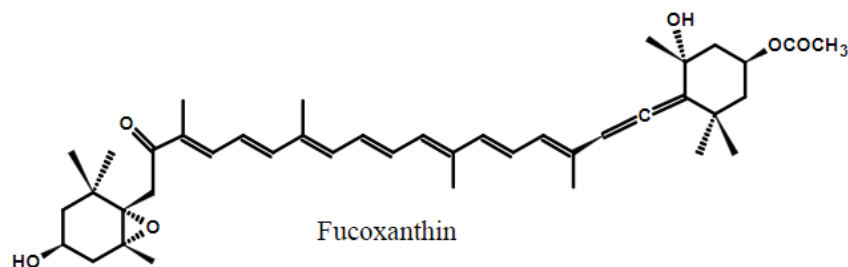
O gênero *Ecklonia*, pertencente ao filo Ochrophyta, também apareceu em três artigos diferentes com as espécies *Ecklonia maxima* e *Ecklonia cava* (CHOI et al., 2015; OLASEHINDE et al., 2019; OLASEHINDE; OLANIRAN; OKOH, 2019b). A espécie *Ecklonia maxima*, apresentou inibição de BChE tanto com a utilização de seu extrato de água (IC_{50} 52,11 $\mu\text{g/mL} \pm 2,82$), quanto com a utilização de polissacarídeos sulfatados isolados da mesma (IC_{50} 82,90 $\mu\text{g/mL} \pm 1,94$). Olasehinde, Olaniran e Okoh (2019b), obtiveram extratos aquosos não apenas de *Ecklonia maxima*, mas também de outras três espécies: *Gracilaria beckeri*, *Ulva rigida* e *Gelidium pristoides* e testaram sua capacidade de inibição de colinesterases, sua atividade anti-amiloidogênica e seu potencial antioxidante. A atividade inibidora de BChE mais potente foi observada para o extrato de *Ecklonia maxima*, que demonstrou um valor de $IC_{50} = 52,11 \mu\text{g/mL} \pm 2,82$. Embora esse valor não tenha superado a atividade inibidora do controle utilizado, galantamina, os extratos demonstraram também capacidade de sequestro de radicais livres, o que indica o seu potencial uso como antioxidante. A atividade observada foi atribuída à presença de compostos fenólicos identificados nos extratos, uma vez que alguns dos constituintes bioativos já haviam sido relatados como potentes antioxidantes. Os compostos identificados foram clorotaninas (floroglucinol), flavonóides (rutinose, ácido 1-caooyl-4-deoxiquínico, 3-hidroxi-flavona, epicatequina-3 glucosideo, catequina, quercetina, 3,7-dimetil quercetina, 5,7-dimetoxiflavona, 3,5,7-trimetilfavona e biochanina A) e ácidos fenólicos (ácido asvanílico e ácido xarínico). Além disso, os extratos também apresentaram atividade anti-amiloidogênica, pois foram capazes de inibir a formação e/ou a agregação de fibrilas. Sendo que o extrato de *Ecklonia maxima* foi um dos que apresentou o melhor efeito, junto com o de *Gelidium pristoides*. No mesmo ano, foram isolados polissacarídeos sulfatados de três espécies de algas presentes no artigo anterior, *E. maxima*, *Gelidium pristoides*, e *Ulva rigida* (OLASEHINDE et al., 2019). De acordo com os autores, os polissacarídeos sulfatados já haviam sido identificados em diferentes classes de algas marinhas e diferentes atividades biológicas já haviam sido demonstradas para os mesmos. Porém, as atividades neuroprotetoras ainda não haviam sido totalmente exploradas. Novamente, *E. maxima* exibiu a maior atividade inibidora de BChE, além de também exibir atividade inibitória de β -secretase, potencial antioxidante e capacidade de inibir a agregação de fibrilas. No entanto, o potencial inibidor de BChE foi maior

utilizando o extrato aquoso de *E. maxima*, do que utilizando polissacarídeos sulfatados isolados da mesma (52,11 µg/ml / 82,90 µg/ml), indicando que estes não são os principais responsáveis pela atividade inibidora observada ou que devem atuar em sinergia com outros compostos. Já em relação à espécie *Ecklonia cava*, desta foram isolados cinco polifenóis: Dieckol, 6,6'-Bieckol, 8,8'-Bieckol, eckol e PFF-A (CHOI et al., 2015). Dieckol e PFF-A apresentaram uma potente inibição de BChE, com valores de IC₅₀ de 2,7 ± 0,4 µM e 0,9 ± 0,2 µM, respectivamente; que são melhores do que o exibido por donepezil. E além da função IChE, os autores também relataram inibição de uma enzima relacionada com a fosforilação da proteína tau (GSK-3B), inibição da biossíntese da proteína precursora amilóide e inibição de β-secretase, demonstrando que os polifenóis são bons candidatos ao desenvolvimento de um medicamento anti-DA, pois atuam em diferentes alvos. Os polifenóis citados são florotaninas, estruturas formadas pela união de monômeros de floroglucinol, o mesmo composto fenólico encontrado nos extratos do artigo de Olasehinde, Olaniran e Okoh (2019b), que apresentaram inibição de BChE. O floroglucinol, é uma das formas isoméricas benzenotriol com grupos hidroxil na posição 1,3 e 5 e fórmula C₆H₃(OH)₃ (PUBCHEM, 2021b). De acordo com dados da literatura, o floroglucinol sozinho ou em conjunto com outras combinações é um composto de interesse para a síntese de medicamentos, tendo em vista que já foram conduzidos estudos demonstrando a sua segurança e eficácia *in vivo*, bem como seus efeitos como antiespasmódico, antiviral, anti-malarial, entre outros. Inclusive, ele já é utilizado comercialmente como analgésico, como corante de tinturas de cabelo e como um agente antiespasmódico (SINGH et al., 2009). Portanto, esta estrutura pode ser responsável por uma parte da inibição de BChE observada. Mas, é importante ressaltar que apesar de ter sido demonstrado potencial IChE a partir de florotaninas, o monômero de floroglucinol sozinho e seu trímero de cadeia aberta, o trifloretol-A, não demonstram inibição de colinesterases (YOON et al., 2008; YOON; LEE; KIM, 2009). Deste modo, especula-se que o volume da molécula de florotanina seja responsável por impedir o acesso dos substratos às ChEs. E que a estrutura de anel fechado também seja necessária para a inibição observada (YOON et al., 2008; PANGESTUTI; KIM, 2011; BARBOSA; VALENTÃO; ANDRADE, 2014).

Em relação ao gênero *Fucus*, foram encontrados três artigos, com resultados de três espécies diferentes: *Fucus spiralis*, *Fucus guiryi* e *Fucus serratus*,

sendo que a espécie *F. spiralis* apareceu em todos (ANDRADE et al., 2013; FERNANDES et al., 2018; GRINA et al., 2020). Para as espécies *F. guiryi* e *F. serratus*, nenhuma inibição foi observada utilizando extrato de acetona das mesmas (FERNANDES et al., 2018). Enquanto para *F. spiralis*, nos artigos de Andrade et al. (2013) e Fernandes et al. (2018), não foi observado inibição de BChE, utilizando seu extrato etanólico e acetônico. Porém, no artigo de Grina et al. (2020), o extrato etanólico de *F. spiralis* demonstrou atividade inibidora, com valor de $IC_{50} = 11,7 \pm 2,8 \mu\text{g/ml}$. Além disso, seu extrato etanólico também apresentou atividade inibidora de tirosinase, urease e AChE, e, apresentou um alto conteúdo fenólico e de flavonoides. Vale ressaltar que ainda que não tenha sido observada inibição de BChE no extrato de acetona do artigo de Fernandes et al. (2018), os autores observaram aproximadamente 19% de inibição de BChE utilizando fucoxantina, um composto encontrado em todos os extratos obtidos no artigo, incluindo de *F. spiralis*. De acordo com os autores, havia sido demonstrada anteriormente a capacidade da fucoxantina de prevenir a perda neuronal induzida por $A\beta$. Além de também possuir atividades antioxidantes, anti-inflamatórias, anticancerígenas, antidiabéticas, antiangiogênicas e etc (PENG et al., 2011; KUMAR; HOSOKAWA; MIYASHITA, 2013). A fucoxantina (figura 15) é um pigmento alaranjado do grupo das xantofilas, encontrado tanto em macro, quanto em microalgas. Possui uma estrutura única contendo alguns grupos funcionais oxigenados e uma ligação alênica incomum (PENG et al., 2011). Além da fucoxantina, os autores também isolaram ácido hexadecanóico, porém ele não foi encontrado nos extratos de *F. spiralis*, apenas em *Laminaria ochroleuca*, *Saccharina latissima* e em *Saccorhiza polyschidese* e demonstrou resultados muito baixos de inibição de BChE. O ácido hexadecanóico (ou ácido palmítico) é um ácido graxo saturado de cadeia longa que possui uma espinha dorsal de 16 carbonos (PUBCHEM, 2021c). Por sua vez, o extrato acetônico de *S. latissima*, demonstrou um potencial moderado de inibição de BChE, comparado ao ácido hexadecanóico sozinho, sendo de $22,7 \pm 0,9\%$ (FERNANDES et al., 2018).

FIGURA 15 - ESTRUTURA MOLECULAR DA FUCOXANTINA



Fonte: Adaptado de PENG et al. (2011)

O gênero *Gracilaria* apareceu em três artigos, com quatro espécies diferentes: *Gracilaria beckeri*, *Gracilaria fergussonii*, *Gracilaria gracilis* e *Gracilaria edulis* e todas apresentaram atividade inibitória de BChE (NATARAJAN; SHANMUGIAHTHEVAR; KASI, 2009; OLASEHINDE; OLANIRAN; OKOH, 2019b; MAHOMOODALLY et al., 2020). Da espécie *G. fergussonii*, Mahomoodally et al. (2020), obtiveram o extrato metanólico, juntamente com os das espécies *Halimeda spp.*, *Spyridia hypnoides*, *Valoniopsis pachynema* e *Amphiroa anceps*. Todos os extratos utilizados apresentaram atividade inibidora de BChE, com valores de IC₅₀ em uma faixa muito próxima (IC₅₀ = 6,68 – 8,75 mg/ml). Porém, os extratos de *A. anceps* e *G. fergussonii*, foram os que apresentaram o maior potencial inibidor, IC₅₀ de 6,68 ± 0,83 mg/ml e 7,43 ± 1 mg/ml, respectivamente. E conforme o esperado, *A. anceps* possuía o maior conteúdo fenólico (MAHOMOODALLY et al., 2020). O extrato da espécie *Gracilaria beckeri* demonstrou atividade inibidora de BChE, com IC₅₀ de 63,03 µg/mL, maior do que o observado para o controle galantamina (OLASEHINDE; OLANIRAN; OKOH, 2019b). Porém, é possível inferir que um extrato obtido com outro solvente, poderia apresentar uma melhor atividade. Tendo em vista os solventes extraem compostos distintos, em função das suas características físico-químicas e da solubilidade dos compostos (BALLESTEROS; TEIXEIRA; MUSSATTO, 2014; TRUONG et al., 2019; LEZOUL et al., 2020). *G. edulis* e *G. gracilis* apareceram junto com outras 9 algas marinhas que possuem aplicações farmacêuticas (NATARAJAN; SHANMUGIAHTHEVAR; KASI, 2009). Dos extratos metanólicos das 11 algas utilizadas, três espécies se destacaram na atividade inibidora de BChE, duas sendo as do gênero *Gracilaria* (IC₅₀ de 1,5 mg/ml para *G. gracilis* e de 1,25 mg/ml para *G. edulis*), juntamente com o gênero *Sargassum* (IC₅₀ 0,6

mg/ml). Por outro lado, outras quatro espécies apresentaram inibição que foi considerada como moderada: *Ulva reticulata*, *Hypnea valentine*, *Enteromorpha intestinalis* e *Dictyota dichotoma* com valores de IC₅₀ de 10, 3,9, 6,5 e 6,5 mg/ml, respectivamente. Ainda que seja possível notar que existe uma diferença entre as espécies que foram consideradas como de forte e de moderada inibição, poderia ser possível afirmar que todas possuem um bom potencial inibitório, uma vez que apresentaram IC₅₀ menor do que o observado para o donepezil (16 mg/ml). No entanto, nenhuma delas foi estatisticamente significativa. No entanto, os autores enfatizaram a atividade de *G. gracilis*, *G. edulis* e da espécie do gênero *Sargassum*, pois quando comparadas com o controle utilizado (tampão Tris-HCl) apresentaram diferenças estatísticas a um nível de significância de $P < 0,01$. Além de apresentar inibição de BChE, *G. gracilis* também foi destacada por apresentar inibição de AChE, juntamente com *Sargassum*. Em relação aos parâmetros cinéticos a inibição observada foi do tipo misto parcialmente não competitivo, pois ocorreram mudanças tanto nos valores de Km, quanto de Vmax. Esse tipo de inibição é similar à de outros inibidores de colinesterases já relatados na literatura (tacrina e fisostigmina).

Mais tarde, os autores escreveram outro artigo com as mesmas oito espécies de algas do anterior que demonstraram atividade considerada como moderada ou nula das colinesterases (NATARAJAN; SHANMUGIAHTHEVAR; KASI, 2010). A atividade inibidora de BChE foi testada utilizando diferentes concentrações dos extratos metanólicos e os parâmetros cinéticos foram relatados. Diferentemente do que encontraram no artigo anterior, *Ulva reticulata*, *Hypnea valentiae*, *Enteromorpha intestinalis* and *Dictyota dichotoma* apresentaram atividade anti-BChE de 51,78; 55,66; 60,02 e 54,42%, respectivamente com nível de significância de $P < 0,05$ quando comparada com donepezil. No artigo anterior, os autores haviam encontrado diferenças significativas para estas espécies apenas quando foram comparadas com o controle, a um nível de significância de $P < 0,05$ e nenhuma diferença significativa quando comparada com o donepezil para as 11 espécies estudadas (NATARAJAN; SHANMUGIAHTHEVAR; KASI, 2009). Em relação ao tipo de inibição, para *Ulva reticulata*, *Hypnea valentiae*, *Enteromorpha intestinalis* foi do tipo mista e para *D. dichotoma* foi inibição não-competitiva.

Além da espécie *Ulva reticulata*, cujos resultados já foram relatados (NATARAJAN; SHANMUGIAH THEVAR; KASI, 2009, 2010), outras duas espécies do gênero *Ulva* (Filo Chlorophyta) também retornaram na pesquisa. O extrato etanólico da espécie *Ulva lactuca* foi utilizado em um artigo, no qual não apresentou inibição de BChE (ANDRADE et al., 2013). Enquanto, *Ulva rigida* esteve presente em dois estudos. Em um deles, seu extrato aquoso apresentou inibição de BChE com IC₅₀ de 71,19 µg/ml (OLASEHINDE; OLANIRAN; OKOH, 2019b) e em outro, seus polissacarídeos sulfatados isolados apresentaram inibição de BChE com IC₅₀ de 118,90 µg/ml (OLASEHINDE et al., 2019). Como os compostos isolados apresentaram IC₅₀ maior do que o extrato bruto de *Ulva rigida*, é possível afirmar que eles não são os principais responsáveis pela atividade inibidora observada no extrato. Ainda, de acordo com Olasehinde, Olaniran e Okoh (2019b), a atividade inibidora observada para *U. rigida* se deve aos constituintes fenólicos presentes no extrato da mesma. Deste modo, é possível inferir que os compostos fenólicos em conjunto com os polissacarídeos sulfatados, podem atuar em sinergia para a atividade observada.

A espécie *Gelidiella acerosa* apareceu em dois estudos diferentes, apresentando atividade inibidora de BChE em ambos (SYAD; SHUNMUGIAH; KASI, 2012; SYAD et al., 2016). No primeiro, foram obtidos extratos de *G. acerosa* utilizando diferentes solventes (éter de petróleo, hexano, benzeno, diclorometano, clorofórmio, acetato de etila, acetona, metanol e água), que foram testados em diferentes concentrações, acerca da capacidade de inibição de BChE (SYAD; SHUNMUGIAH; KASI, 2012). Na concentração de 487,80 µg/ml os extratos de benzeno, clorofórmio, acetato de etilo, e éter de petróleo mostraram aproximadamente entre 32,85 e 78,43% de atividade inibitória. Enquanto os extratos de hexano, diclorometano, metanol e água não demonstraram inibição. Os extratos de benzeno e clorofórmio receberam destaque no trabalho, pois demonstraram inibição significativa ($p < 0,01$). Sendo de 78,43% de inibição para benzeno e $56,78 \pm 2,13\%$ para o clorofórmio, com IC₅₀ de $163,01 \pm 85,35$ µg/ml e $375 \pm 17,170$ µg/ml, respectivamente. Porém, um ponto negativo do artigo é que alguns dados foram apresentados de modo que não os deixou totalmente esclarecido, abrindo espaço para ambiguidades. Em primeiro lugar, foi apresentado a porcentagem de inibição para o extrato de acetona na tabela ($29,11 \pm 3,83\%$), mas

em nenhum momento houve menção sobre este no texto, nem comparação com o controle. Em segundo lugar, é descrito ao longo do texto que o nível de significância da atividade dos extratos de benzeno e clorofórmio foi de $P < 0,05$, porém na tabela está descrito como como $P < 0,01$. De qualquer modo, a conclusão a respeito da significância é a mesma, porém o nível ficou ambíguo. Outra questão é a respeito do controle utilizado, no texto não fica claro se a diferença significativa que foi observada em relação ao controle, diz respeito a um controle negativo ou positivo. Porém, pode-se deduzir que os autores estavam comparando com um controle negativo, pois na tabela apresentam o valor de inibição obtido com o controle positivo e relatam que ele demonstrou inibição significativamente maior do que os extratos. Em contrapartida, como o extrato de benzeno inibiu de modo significativo ambas as colinesterases, foi realizada uma análise de sua composição. Através de cromatografia em camada fina (TLC) foi possível observar a presença de alcaloides e terpenóides, enquanto uma análise mais refinada com a técnica GC-MS, demonstrou que o extrato possui uma quantidade considerável de diferentes tipos de terpenóides. Como terpenóides isolados de outros organismos já haviam demonstrado atividades biológicas distintas, incluindo neuroprotetoras, os autores atribuíram a atividade anti-BChE do extrato de *G. acerosa* à presença dos diferentes tipos de terpenóides do extrato. Posteriormente, o mesmo grupo realizou outros dois trabalhos que demonstraram o potencial antioxidante e anti-amiloidogênico de *G. acerosa* (SUGANTHY et al., 2013; SYAD; SHUNMUGIAH; KASI, 2013b). Pelo fato de o extrato apresentar tal atividade neuroprotetora, a investigação de *G. acerosa* foi estendida para fracionar o extrato de benzeno e identificar os compostos bioativos responsáveis pela atividade (SYAD et al., 2016). Utilizando as diferentes frações, foi possível obter uma inibição também significativa de BChE, com 5 frações obtidas com benzeno e acetato de etila em diferentes razões. O valor máximo de inibição de $72,39 \pm 10,05$ % foi atingido, com valor de IC_{50} de $44,80 \pm 2,02$ mg/ml, utilizando a fração de benzeno e acetato de etila na razão de 3:1. Como as mesmas frações (benzeno:acetato de etila) que demonstraram potencial anti-BChE, também exibiram potencial antioxidante, elas foram reunidas e suas atividades foram novamente mensuradas. Dessa maneira, também exibiram atividade antioxidante e inibitória de BChE significativa, porém foi obtido o máximo de $54,15 \pm 5,84$ % de inibição de BChE, na concentração de 200 μ g/ml. Depois, as frações bioativas agrupadas

foram analisadas por espectrometria líquida da cromatografia de massa (LC-MS), que identificou o fitol, o álcool cumarílico, o álcool sinapílico e o ácido citramálico como seus principais compostos. Devido ao fato de que já haviam sido descritas atividades biológicas para o fitol, o mesmo foi também sujeito a análise de atividade antioxidante e anti-BChE. Os resultados obtidos demonstraram que o fitol possui atividade antioxidante significativa e atividade inibitória de BChE de $74,21 \pm 3,57\%$, com valor de IC_{50} de $5,798 \pm 0,72 \mu\text{g/ml}$. O fitol é um álcool diterpenóide acíclico, sob fórmula molecular $C_{20}H_{40}O$, que faz parte da molécula de clorofila e é utilizado para a síntese de formas sintéticas das vitaminas K1 e E (PUBCHEM, 2021a; SYAD et al., 2016). Além de existirem várias atividades descritas para o fitol, tais como citotóxicas, antioxidante, anti-ansiolíticas, anti-inflamatórias, antimicrobianas, entre outras. Também já ocorre seu uso como fragrância na indústria cosmética (MCGINTY; LETIZIA; API, 2010; ISLAM et al., 2018). Assim, é possível afirmar que o fitol é um forte candidato ao desenvolvimento de medicamentos neuroprotetores, que atuem como inibidor de BChE. Pois o fitol isolado do extrato de *G. acerosa*, não apenas possui uma potente atividade numa baixa concentração, como também é um composto abundante na natureza e amplamente estudado (SYAD et al., 2016). Depois, os autores realizaram ainda um estudo *in vivo*, no qual administraram o peptídeo A β 25-35 em camundongos, para investigar o potencial neuroprotetivo do extrato de *G. acerosa*. Os resultados demonstraram que o extrato benzênico de *G. acerosa* exibiu capacidade antioxidante contra o stress oxidativo induzido por A β 25-35, reduziu e/ou inibiu a atividade das enzimas colinesterases, β -secretase e MAO-B, demonstrou potencial anti-apoptótico e não-toxicidade (SYAD; KASI, 2017).

A espécie *Padina gymnospora* apareceu em dois artigos da busca realizada. Em um deles, foi utilizado seu extrato metanólico, o qual não apresentou inibição de BChE (NATARAJAN; SHANMUGIAHTHEVAR; KASI, 2009). E, no segundo artigo em que apareceu, foi relatado que uma triagem inicial demonstrou que o extrato acetônico de *P. gymnospora* possuía atividade antioxidante e anticolinesterásica (SHANMUGANATHAN et al., 2015). Porém, os dados dessa triagem não foram apresentados. O que foi demonstrado no artigo, é que o extrato acetônico de *P. gymnospora*, exibiu propriedades anti-amiloidogênicas, através da inibição da agregação de A β . Além do fracionamento do extrato, com

vistas à investigação de suas respectivas atividades biológicas. Dentre as 18 frações que foram obtidas com solventes de polaridade crescente, a fração de acetato de etila e metanol (na razão de 9:1), foi a que demonstrou o melhor potencial inibidor colinesterásico, apresentando 88% de inibição de BChE, similar aos 91% obtidos com o controle positivo donepezil, na concentração de 1 mg/ml. Os percentuais de inibição das outras frações não foram apresentados, mas é possível obter um valor aproximado a partir de um gráfico que foi exposto no artigo. A fração ativa, que demonstrou o melhor potencial inibidor, foi sujeita à análise de cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas sequencial (LC-MS/MS), a qual identificou a presença de dipeptídeo L-Carnosina, óleo essencial alfa-bisabolol, analgésico propoxifeno, cafeína, plastificante ftalato de dibutilo, herbicida foramsulfuron e um metabólito humano d-manitol 1-fosfato. Os autores optaram por testar a atividade anti-ChE de alfa-bisabolol, L-carnosina e cafeína sozinhos e também, de alfa bisabolol em conjunto com L-carnosina (1:1) e alfa bisabolol em conjunto com cafeína (1:1). Não foram demonstrados os valores de inibição obtidos para todos os tratamentos, mas novamente é possível ter uma noção aproximada devido a um gráfico que foi apresentado. O tratamento com alfa-bisabolol foi destacado pois exibiu os melhores resultados. Na concentração de 50 µg/ml, o alfa-bisabolol atingiu sua atividade máxima, chegando a alcançar 66% de inibição. Porém, já na concentração de 10µg/ml o alfa-bisabolol chegou a atingir pelo menos 50% de inibição, tanto para AChE, quanto para BChE. Por outro lado, é possível observar que todos os tratamentos demonstraram inibição significativa de BChE, na concentração de 50µg/ml ($p < 0,1$), com exceção da cafeína. Como a cafeína sozinha demonstrou inibição desconsiderável de BChE, é possível inferir que a inibição observada no tratamento de cafeína em conjunto com alfa-bisabolol, se deve a atividade inibidora do alfa-bisabolol. Por fim, os autores atribuíram a atividade anti-amiloidogênica observada, ao alfa-bisabolol presente no extrato, devido a atividade por ele apresentada (SHANMUGANATHAN et al., 2015). O alfa-bisabolol é um álcool sesquiterpeno monocíclico que foi isolado pela primeira vez da planta da camomila (KAMATOU; VILJOEN, 2010).

A espécie *Hizikia fusiformis*, uma alga comestível que possui propriedades nutricionais e farmacológicas, apareceu em apenas um artigo. Embora o

foco principal estivesse voltado para a enzima BACE1, sua atividade anticolinérgica também foi mensurada, através da utilização tanto de seu extrato metanólico, quanto de compostos isolados do mesmo (WAGLE et al., 2018). O extrato de *H. fusiformis* não apresentou atividade inibidora de BChE até a concentração de 400 µg/ml, mas apresentou atividade inibitória de BACE1. Com o fracionamento do extrato, a atividade das frações isoladas foi testada apenas para a enzima BACE1. Porém, a glicirrizina isolada de *H. fusiformis* e seus metabólitos, ácidos 18α- e 18β-glicirretínico foram testados para inibição de BChE. Os autores consideraram que os três compostos demonstraram inibição moderada. No entanto, é possível considerar que os valores de IC₅₀ obtidos com os compostos isolados foram muito superiores aos do controle positivo utilizado: IC₅₀ > 150 µM para glicirrizina, 162,62 ± 2,51 µM para 18α- e 216,78 ± 4,87 µM para 18β-glicirretínico; comparados ao valor de 9,69 ± 0,18 µM obtidos com o controle positivo berberina. Já para BACE1, a glicirrizina e o ácido 18β-glicirretínico demonstraram valores de IC₅₀ muito próximos ou até mesmo melhores do que o controle quercetina (20,12 ± 1,87 µM, 8,93 ± 0,69 µM e 20,18 ± 0,79 µM, respectivamente). A glicirrizina é um ácido triterpenóide pentacíclico, comumente encontrado na raiz da leguminosa *Glycyrrhiza glabra* L (GRAEBIN; VERLI; GUIMARÃES, 2010). Utilizado mundialmente como adoçante e aromatizante, possui também relatos de seu uso na medicina tradicional para o tratamento de problemas do sistema respiratório, gastrointestinal, cardiovascular, urinário, de pele e dos olhos (FIORE et al., 2005; ZEECE, 2020). E de fato, muitas atividades farmacológicas já foram formalmente descritas para a glicirrizina e seus metabólitos, tais como expectorante, gastroprotetora, antioxidante, antiinflamatória, antidiabética, antiviral, entre outras (FIORE et al., 2005; ASL; HOSSEINZADEH, 2008; SEN; ROY; CHAKRABORTI, 2011; WAGLE et al., 2018).

Tratando de microalgas, foram obtidos extratos metanólicos da biomassa de quatro linhagens pertencentes ao filo Chlorophyta: duas do gênero *Nannochloris*, uma *Picochlorum* sp. e uma *Desmochloris* sp.; que já haviam sido apontadas como matérias-primas para biodiesel (PEREIRA et al., 2015). Todos os extratos foram testados em diferentes concentrações (1-10 mg/ml) e apresentaram atividade inibitória de BChE. Porém, os autores não apresentaram valores

de IC₅₀, apenas demonstraram as porcentagens de inibição obtidas com os diferentes extratos, que variou de 41,2% a 69%, resumidamente. A maior atividade inibitória, foi obtida com o extrato da biomassa de *Picochlorum sp.*, que variou de 66-69% e apresentou o maior conteúdo fenólico total. Através de HPLC de fase reversa, os ácidos gálico, cumárico e salicílico foram identificados nas amostras. Sendo que o ácido cumárico foi o único ácido fenólico comum a todas as cepas. Em relação aos carotenóides: neoxantina, violaxantina, zeaxantina, luteína e β-caroteno foram identificados nos extratos de todas as cepas também. Em *Picochlorum sp.*, a cepa que apresentou a maior inibição de BChE, o ácido salicílico foi o principal fenólico detectado e o carotenóide cantaxantina foi exclusivamente identificado neste. O ácido salicílico é um ácido monohidroxibenzoico, comumente utilizado em cosméticos devido a sua ação esfoliante e a cantaxantina é um pigmento carotenona comumente utilizado na alimentação (PUBCHEM, 2021d, 2021e). Logo, a biomassa de microalgas além de possuir compostos com alto valor de mercado, também pode fornecer compostos bioativos de interesse farmacêutico (PEREIRA et al., 2015).

6.2 PORÍFEROS E CNIDÁRIOS

O gênero *Latrunculia*, é conhecido por ter alcalóides do tipo discorhabdines e derivados, biologicamente ativos (SAMAAI; KELLY, 2002). Esses alcalóides são pigmentos nitrogenados, constituídos por unidades de piroloiminoquinona e espiro-ciclohexanona azacarbocíclica (HU et al., 2011). As espécies *Latrunculia biformis* e *Latrunculia bocagei*, pertencentes ao gênero, foram investigadas a respeito de seu potencial IChE (BOTIĆ et al., 2017). Mais especificamente, do extrato metanólico de *L. biformis* foram isolados os compostos (+)-Discorhabdin G e (-)-3-dihydro-7,8-dehydrodiscorhabdin C e, do extrato metanólico de *L. bocagei*, foram isolados os compostos discorhabdin B e L. Os dois últimos não apresentaram uma boa inibição de BChE, com valores de IC₅₀ próximos de 137 μM e 531 μM, respectivamente. Por outro lado, os compostos isolados de *L. biformis* apresentaram melhores resultados, com valores de IC₅₀ de aproximadamente 7,0 μM para (+)-Discorhabdin G e de 15,8 μM para (-)-3-dihydro-7,8-dehydrodiscorhabdin C. A análise cinética da inibição revelou que os

compostos atuam como inibidores reversíveis e competitivos. Em comparação com o inibidor controle que foi utilizado no estudo, o salicilato de fisostigmina (IC_{50} de 28,5 μ M), os compostos exibiram uma forte atividade contra BChE, especialmente o (+)-Discorhabdin G, que também foi capaz de inibir AChE. O discorhabdin G pertence a classe das discorhabdinas que apresentam ausência do átomo de enxofre em sua estrutura (Figura 9). E devido à atividade apresentada, foram conduzidos experimentos eletrofisiológicos, que demonstraram que o mesmo não prejudica a transmissão neuromuscular e a função do músculo esquelético, sendo um bom candidato para estudos posteriores *in vivo* (BOTIĆ et al., 2017). Além da inibição de colinesterases, já havia sido demonstrado anteriormente atividades citotóxicas, antimicrobianas, antivirais, antimaláricas, imunomoduladoras e entre outras, provenientes das discorhabdinas (HU et al., 2011).

Da esponja *Geodia barretti*, foram isolados quatro compostos monobrominados: baretin, 8,9-dihidrobaretin, bromoconicamina e um novo indol brominado (OLSEN et al., 2016). Os valores de IC_{50} obtidos a respeito da inibição de BChE foram de 26, 38, 14 e 222 μ M, respectivamente. E, para efeitos de comparação, foi utilizado o controle positivo fisostigmina, que exibiu um valor de IC_{50} de 4 μ M para BChE. Tendo em vista que a estrutura indol brominada é comum aos quatro compostos isolados, foram construídos análogos sintéticos para investigar sua atividade anti-BChE. No entanto, nenhum deles demonstrou atividade semelhante aos compostos naturais, demonstrando que a presença do indol brominado não é suficiente para uma alta atividade. Logo, considerando que o foco do trabalho era voltado para AChE e que os compostos baretin e 8,9-dihidrobaretin apresentaram atividade inibidora para ambas as enzimas, os dois foram destacados. Na tentativa de explicar a atividade observada, foi mencionado que ambos os compostos se comportam como antagonistas para subtipos do receptor de serotonina humana (HEDNER et al., 2006), e que somado a isto, é conhecida uma atividade inibitória de AChE, proveniente da serotonina (KHORANA et al., 2012). Desse modo, os autores especulam que esses mecanismos de inibição de colinesterases dos compostos encontrados na esponja, podem ter se desenvolvido como mecanismo de defesa (OLSEN et al., 2016).

A partir de uma triagem inicial *in silico*, dois compostos foram previstos para possuir uma atividade multi-alvo (AChE/BChE/BACE-1) para DA: 2-amino-

3,9-dimetil-5-metilamino-3H-1,3,4,6-tetrazacíclopente[e]azuleno (uma pseudozoantoxantina) e a estevensina (um alcaloide bromo-pirrol) (VITALE et al., 2018). O primeiro é proveniente de um cnidário zoantídeo que não foi identificado e o segundo é da esponja *Axinella verrucosa*. A pseudozoantoxantina demonstrou uma atividade inibitória de BChE, com valor de IC₅₀ de 14,6 µM, enquanto a estevensina teve IC₅₀ de 141,6 µM. Ambos os compostos também demonstraram atividade inibitória de AChE, de BACE-1 e potenciais amiloidogênicos, inibindo a formação de fibrilas Aβ e causando a desagregação das já formadas. No entanto, a pseudozoantoxantina, foi mais ativa na inibição de BChE e também em reduzir e reverter a agregação das fibrilas. Além disso, a pseudozoantoxantina também foi utilizada para uma investigação *in vivo*, que demonstrou sua capacidade de restaurar a conectividade funcional colinérgica corticohipocampal, após uma lesão do núcleo basal de Meynert; o qual é afetado na DA (VITALE et al., 2018). A pseudozoantoxantina (1,3,5,7-tetrazacyclopent[e]azulene) é uma das formas que os pigmentos fluorescentes conhecidos como zoantoxantinas possuem (BRAUN; BÜCHI, 1976). Pelo fato de demonstrar uma natureza multi-alvo, é um composto interessante para aprofundamento nos estudos.

O veneno da água viva *Pelagia noctiluca*, foi isolado a partir de seus nematocistos. Tanto o veneno bruto, quanto duas frações, separadas de acordo com seus picos de absorvância no perfil de eluição, foram testados acerca de seu potencial inibidor de BChE (AYED et al., 2012). A fração 2, que exibiu um pico maior, foi a que demonstrou o melhor potencial inibidor, com valor de IC₅₀ de 58 µg/ml, enquanto o veneno bruto demonstrou IC₅₀ de 77,5 µg/ml. Comparado aos 67,5% de inibição obtidos com o controle positivo galantamina, a percentagem de inibição obtida com a fração mais ativa foi consideravelmente elevada, atingindo aproximadamente 68% de inibição. No entanto, ao comparar os valores de IC₅₀, o da galantamina foi bem inferior (7,9 µg/ml). Por outro lado, através de análise realizada com camundongos, o veneno de *P. noctiluca* também exibiu efeitos analgésicos sem induzir toxicidade aguda. Porém, a purificação e elucidação dos compostos responsáveis pelas atividades observadas permanecem sob investigação (AYED et al., 2012).

Por fim, o fascalysin, um alcalóide bis-indol, anteriormente isolado de esponjas do gênero *Fascaplysinopsis*, foi testado acerca de seu potencial IChE.

Porém, o composto exibiu uma baixa atividade contra BChE, com valor de IC₅₀ de 90,47 µM, comparado com aproximadamente 5,52 µM de donepezil (BHARATE et al., 2012).

6.3 ARTRÓPODES

A espécie *Lophozozymus incisus*, conhecida como caranguejo de Montagu, foi a única do filo Arthropoda a ser testada como inibidora de BChE. A análise da composição de seu extrato etanólico revelou a presença de aminoácidos (tanto essenciais, quanto não essenciais), ácidos graxos (saturados, monosaturados e poliinsaturados), colesterol e carotenóides (fucoxantina, astaxantina, luteína, zeaxantina e b-caroteno) (OLIVEIRA et al., 2019).

O extrato etanólico de *L. incisus*, demonstrou atividade inibitória de colinesterases de maneira dose-dependente, sendo mais efetivo contra BChE, com valor de IC₅₀ de 4,177 mg/ml. A ocorrência da atividade inibidora observada foi explicada pela presença dos ácidos graxos e carotenóides, tendo em vista que outros estudos já demonstraram atividade IChE a partir de compostos encontrados no extrato, tais como ácidos palmítico e linoleico (FANG et al., 2010). Além da atividade anti-BChE, o extrato também demonstrou atividade inibitória de monoamina oxidase A e α-glucosidase. No entanto, a atividade do extrato foi inferior à dos controles positivos utilizados: galantamina, clorgilina e acarbose (OLIVEIRA et al., 2019).

6.4 CORDADOS

Um derivado do ácido fenilacético brominado, a pneumarina B, que havia sido anteriormente isolada da ascídia *Syonicum pulmonaria* e demonstrado atividade inibitória de AChE (TADESSE et al., 2014), foi sintetizada por outro grupo de estudo que estudou sua influência na atividade de BChE (CHENG et al., 2018). A pneumarina B possui a fórmula molecular C₁₇H₂₇Br₂N₂O₂⁺ e demonstrou atividade inibitória também para BChE, sob valor de IC₅₀ de aproximadamente 30,70 µM. Porém, apesar de a pneumarina B também ter demonstrado atividade

contra a agregação A β auto-induzida e induzida por AChE e não hepatotoxicidade contra células Hep-G2; a atividade anticolinesterásica observada foi muito inferior à do controle utilizado, tacrina ($IC_{50} = 0,046 \mu M$) (CHENG et al., 2018).

7. CONCLUSÕES

A natureza é uma fonte abundante de produtos naturais com potenciais farmacológicos. No entanto, observa-se que a grande maioria das pesquisas de interesse farmacológico buscam compostos bioativos provenientes de plantas, sendo que existem diferentes grupos de organismos que podem servir como modelo de estudo.

O ambiente marinho fornece uma ampla gama de produtos complexos e estruturalmente diversos. Muitas pesquisas já demonstraram diferentes atividades biológicas a partir de extratos ou de substâncias isoladas de algas, poríferos, cnidários, entre outros. Inclusive, a grande maioria dos organismos que foram utilizados nos artigos presentes na atual revisão, já tinham alguma bioatividade demonstrada a priori.

Dentre as espécies marinhas que foram investigadas a respeito de seu potencial inibidor de BChE, as algas representam o grupo com maior número de estudos, inclusive algumas espécies se repetem em diferentes artigos. Resultados consideráveis de inibição foram observados para os 3 filos de algas (Rhodophyta, Chlorophyta e Ochrophyta), tanto para extratos, quanto para substâncias isoladas. Com destaque para as substâncias florotaninas e para o fitol (isolados de algas) que além de demonstrarem boa inibição de BChE, também apresentam uma atividade multi-alvo para DA. Resultados interessantes de inibição também foram observados para organismos de outros grupos: as substâncias Discorhabdín G e pseudozoantoxantina (isoladas de poríferos e cnidários, respectivamente), além de apresentarem uma atividade inibidora de BChE considerável, também demonstraram uma atividade não prejudicial às funções colinérgicas.

Cabe ressaltar que alguns dos organismos marinhos relatados na revisão demonstraram potencial inibidor comparável e até mesmo mais forte, do que de inibidores colinesterásicos que estão disponíveis atualmente no mercado. No entanto, existe a necessidade da condução de experimentos mais aprofundados, que demonstrem a toxicidade, segurança e eficácia destes extratos ou substâncias isoladas, para que então possam ter suas atividades avaliadas clinicamente.

Os organismos que aqui foram destacados demonstram uma atividade interessante, o que justifica a continuação de seus estudos. Mas também existe ainda uma infinidade de organismos marinhos que podem ser investigados. Além disso, não foi encontrado nenhum trabalho que comparou o potencial inibidor dos organismos nas diferentes variantes de BChE. Como já é estabelecido que elas influenciam na atividade da enzima e também na sensibilidade a inibidores, sugere-se que os próximos trabalhos avaliem a atividade inibidora dos organismos também, nas principais variantes de BChE.

Considerando que a Doença de Alzheimer é dita como o mal do século XXI e que os tratamentos disponíveis atualmente possuem grandes efeitos colaterais, o estudo em busca de inibidores colinesterásicos pode levar ao preenchimento de lacunas importantes, que resultem em um novo medicamento não prejudicial a qualidade de vida dos pacientes.

REFERÊNCIAS

- ADMASU, H. et al. Bioactive Peptides Derived from Seaweed Protein and Their Health Benefits: Antihypertensive, Antioxidant, and Antidiabetic Properties. **Journal of Food Science**, v. 83, n. 1, p. 6–16, 1 jan. 2018.
- AGENCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA - ANVISA. Consulta a registro de medicamentos. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/sistemas/consulta-a-registro-de-medicamentos> 2021. Acesso em: 28 abr. 2021.
- ALAM, M. A. et al. Biotechnological Applications of Lichens. In: MOHD YUSUF (Ed.). **Lichen-Derived Products**. Wiley, 2020. p. 203–220.
- ALGHAZWI, M. et al. Neuroprotective activities of natural products from marine macroalgae during 1999–2015. **Journal of Applied Phycology**, v. 28, n. 6, p. 3599–3616, 1 dez. 2016.
- ALONSO, D.; CASTRO, A.; MARTINEZ, A. Marine compounds for the therapeutic treatment of neurological disorders. **Expert Opinion on Therapeutic Patents**, v. 15, n. 10, p. 1377–1386, 2005.
- ALTAMIRANO, C. V.; BARTELS, C. F.; LOCKRIDGE, O. The butyrylcholinesterase K-variant shows similar cellular protein turnover and quaternary interaction to the wild-type enzyme. **Journal of Neurochemistry**, v. 74, n. 2, p. 869–877, 2000.
- ALTAMIRANO, C. V.; LOCKRIDGE, O. Association of tetramers of human butyrylcholinesterase is mediated by conserved aromatic residues of the carboxy terminus. **Chemico-Biological Interactions**, v. 119–120, p. 53–60, 1999.
- ALZHEIMER'S ASSOCIATION. 2021 ALZHEIMER'S DISEASE FACTS AND FIGURES. **Alzheimers Dement**, 2021, v. 17, n. 3., p. 1-106, 2021.
- ANDRADE, P. et al. 02 - Valuable compounds in macroalgae extracts. **Food chemistry**, v. 138, n. 2–3, p. 1819–1828, 1 jun. 2013. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23411314/>>. Acesso em: 25 ago. 2021.

- ANJUM, K. et al. Marine sponges as a drug treasure. **Biomolecules and Therapeutics**, v. 24, n. 4, p. 347–362, 2016.
- ANSARI, M. A.; SCHEFF, S. W. Oxidative Stress in the Progression of Alzheimer Disease in the Frontal Cortex. **J Neuropathol Exp Neurol**, v. 69, n. 2, p. 155–167, 2010. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jnen/article/69/2/155/2917186>>. Acesso em: 12 abr. 2021.
- ARKHYPOVA, V. N. et al. Development and optimisation of biosensors based on pH-sensitive field effect transistors and cholinesterases for sensitive detection of solanaceous glycoalkaloids. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 18, n. 8, p. 1047–1053, 2003.
- ASL, M. N.; HOSSEINZADEH, H. Review of Pharmacological Effects of Glycyrrhiza sp. and its Bioactive Compounds. **Phytotherapy Research**, v. 22, p. 709–724, 2008. Disponível em: <www.interscience.wiley.com>.
- ATANASOV, A. G. et al. Natural products in drug discovery: advances and opportunities. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 20, n. 3, p. 200–216, 1 mar. 2021.
- AUGUSTINSSON, K.-B. Cholinesterases. **Nature**, v. 162, n. 4109, p. 194–195, 1948.
- AYAZ, M. et al. Natural products-based drugs: Potential therapeutics against Alzheimer's disease and other neurological disorders. **Frontiers in Pharmacology**, v. 10, 2019.
- AYED, Y. et al. 03 - Analgesic and anticholinesterasic activities of the venom prepared from the Mediterranean jellyfish *Pelagia noctiluca* (Forsskal, 1775). **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials**, v. 11, n. 15, 2012. Disponível em: <<http://www.ann-clinmicrob.com/content/11/1/15>>.
- BALLESTEROS, L. F.; TEIXEIRA, J. A.; MUSSATTO, S. I. Selection of the Solvent and Extraction Conditions for Maximum Recovery of Antioxidant Phenolic Compounds from Coffee Silverskin. **Food Bioprocess Technol**, v. 7, p. 1322–1332, 2014.

BARBOSA, M.; VALENTÃO, P.; ANDRADE, P. B. Bioactive compounds from macroalgae in the new millennium: Implications for neurodegenerative diseases. **Marine Drugs**, v. 12, n. 9, p. 4934–4972, 1 set. 2014.

BARCELOUX, D. G. Potatoes, Tomatoes, and Solanine Toxicity (*Solanum tuberosum* L., *Solanum lycopersicum* L.). **Disease-a-Month**, v. 55, n. 6, p. 391–402, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.disamonth.2009.03.009>>.

BARROW, C. J.; SMALL, D. H. **Abeta Peptide and Alzheimer ' s Disease**. Londres: Springer, 2007.

BARTELS, C. F. et al. DNA mutation associated with the human butyrylcholinesterase K-variant and its linkage to the atypical variant mutation and other polymorphic sites. **American Journal of Human Genetics**, v. 50, n. 5, p. 1086–1103, 1992.

BARTELS, C. F.; SPEK, A. F. L. Van Der; DU, B. N. La. Two polymorphisms in the non- coding regions of the BCHE gene. **Nucleic Acids Research**, v. 18, n. 20, p. 6171, 1990.

BENEK, O.; KORABECNY, J.; SOUKUP, O. A Perspective on Multi-target Drugs for Alzheimer's Disease. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 41, n. 7, p. 434–445, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.tips.2020.04.008>>.

BERNARDI, C. C. et al. Amplification and deletion of the ACHE and BCHE cholinesterase genes in sporadic breast cancer. **Cancer Genetics and Cytogenetics**, v. 197, n. 2, p. 158–165, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cancergencyto.2009.10.011>>.

BHARATE, S. B. et al. 22 - Total synthesis and anti-cholinesterase activity of marine-derived bis-indole alkaloid fascaplysin. **MedChemComm**, v. 3, n. 9, p. 1098–1103, 22 ago. 2012. Disponível em: <<https://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2012/md/c2md20076g>>. Acesso em: 25 ago. 2021.

BIRLA, H. et al. Role of Oxidative Stress and Metal Toxicity in the Progression of Alzheimer's Disease. **Current Neuropharmacology**, v. 18, n. 7, p. 552–562, 2020.

BITENCOURT, M. A. O. et al. Anti-inflammatory effects of methanolic extract of green algae *Caulerpa mexicana* in a murine model of ulcerative colitis. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 25, n. 6, p. 677–682, 1 nov. 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.bjp.2015.10.001>>. Acesso em: 13 abr. 2021.

BLONG, R. M.; BEDOWS, E.; LOCKRIDGE, O. Tetramerization domain of human butyrylcholinesterase is at the C-terminus. **Biochemical Journal**, v. 327, n. 3, p. 747–757, 1997.

BLUNT, J. W. et al. Marine natural products. **Nat. Prod. Rep.**, v. 31, p. 160–258, 2014. Disponível em: <www.rsc.org/npr>. Acesso em: 13 abr. 2021.

BODUR, E.; COKUGRAS, A. N. The effects of indole-3-acetic acid on human and horse serum butyrylcholinesterase. **Chemico-Biological Interactions**, v. 157–158, p. 353–434, 2005.

BON, S.; COUSSEN, F.; MASSOULIÉ, J. Quaternary Associations of Acetylcholinesterase. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 272, n. 5, p. 3016–3021, 1997.

BOROWITZKA, M. A. High-value products from microalgae-their development and commercialisation. **Journal of Applied Phycology**, v. 25, n. 3, p. 743–756, 2013.

BOTIĆ, T. et al. 05 - Discorhabdin alkaloids from Antarctic *Latrunculia* spp. sponges as a new class of cholinesterase inhibitors. **European journal of medicinal chemistry**, v. 136, p. 294–304, 2017. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28505534/>>. Acesso em: 25 ago. 2021.

BRAUN, M.; BÜCHI, G. The synthesis of zoanthoxanthins. **Journal of the American Chemical Society**, v. 98, n. 10, p. 3049–3050, 1976. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/ja00426a080>>. Acesso em: 12 set. 2021.

BUBBER, P. et al. Mitochondrial Abnormalities in Alzheimer Brain: Mechanistic Implications. **American Neurological Association**, v. 57, p. 695–703, 2005. Disponível em: <www.interscience.wiley.com>. Acesso em: 12 abr. 2021.

BUNIELLO, A. et al. GWAS CATALOG. **Nucleic Acids Research**, v. 47, 2019.

BURLINGHAM, B. T.; WIDLANSKI, T. S. An Intuitive Look at the Relationship of

Ki and IC50: A More General Use for the Dixon Plot. **J. Chem. Educ.**, v. 80, n. 2, p. 214, 2003.

BUTTERFIELD, D. A. Amyloid β -Peptide [1-42]-Associated Free Radical-Induced Oxidative Stress and Neurodegeneration in Alzheimer's Disease Brain: Mechanisms and Consequences. **Current Medicinal Chemistry**, v. 10, p. 2651–2659, 2003.

BUTTERFIELD, D. A. et al. In vivo oxidative stress in brain of Alzheimer disease transgenic mice: Requirement for methionine 35 in amyloid β -peptide of APP. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 48, n. 1, p. 136–144, 2010.

CAREY, J. L.; DUNN, C.; GASPARI, R. J. Central respiratory failure during acute organophosphate poisoning. **Respiratory Physiology & Neurobiology**, v. 189, n. 2, p. 403–410, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.resp.2013.07.022>>.

CHATONNET, A.; LOCKRIDGE, O. Comparison of butyrylcholinesterase and acetylcholinesterase. **Biochem. J.**, v. 260, n. 3, p. 625–634, 1989.

CHAUTARD-FREIRE-MAIA, E. A. et al. The C5 Isozyme of Serum Cholinesterase and Adult Weight. **Hum Hered**, v. 41, p. 330–339, 1991.

CHENG, Z.-Q. et al. 06 - Total Synthesis of Pulmonarin B and Design of Brominated Phenylacetic Acid/Tacrine Hybrids: Marine Pharmacophore Inspired Discovery of New ChE and A β Aggregation Inhibitors. **Marine Drugs**, v. 16, n. 293, 2018. Disponível em: <www.mdpi.com/journal/marinedrugs>.

CHOI, B. W. et al. ANTICHOLINESTERASE ACTIVITY OF PLASTOQUINONES 423 Anticholinesterase Activity of Plastoquinones from *Sargassum sagamianum*: Lead Compounds for Alzheimer's Disease Therapy. **Phytother. Res**, v. 21, p. 423–426, 2007. Disponível em: <www.interscience.wiley.com>. Acesso em: 26 ago. 2021.

CHOI, B. W. et al. 08 - Multifunctional activity of polyphenolic compounds associated with a potential for Alzheimer's disease therapy from *Ecklonia cava*. **Phytotherapy research : PTR**, v. 29, n. 4, p. 549–553, 1 abr. 2015. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25640212/>>. Acesso em: 25 ago. 2021.

- CHOI, D.-Y.; CHOI, H. Natural products from marine organisms with neuroprotective activity in the experimental models of Alzheimer's disease, Parkinson's disease and ischemic brain stroke: their molecular targets and action mechanisms. **Archives of Pharmacal Research**, 2014.
- CLITHEROW, J. W.; MITCHARD, M.; HARPER, N. J. The Possible Biological Function of Pseudo-cholinesterase. **Nature**, v. 199, n. 4897, p. 1000–1001, 1963.
- COESEL, S. N. et al. Nutrient Limitation is the Main Regulatory Factor for Carotenoid Accumulation and for Psy and Pds Steady State Transcript Levels in *Dunaliella salina* (Chlorophyta) Exposed to High Light and Salt Stress. **Mar Biotechnol**, v. 10, p. 602–611, 2008.
- COFRADES, S. et al. Nutritional and Antioxidant Properties of Different Brown and Red Spanish Edible Seaweeds. **Food Sci Tech Int**, v. 16, n. 5, 2010.
- CORDER, E. H. et al. Protective effect of apolipoprotein E type 2 allele for late onset Alzheimer disease. **Nature Genetics**, v. 7, n. 2, p. 180–184, 1994.
- 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, n. 6, p. 1397–1409, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.neubiorev.2011.03.001>>.
- DARVESH, S.; HOPKINS, D. A. Differential distribution of butyrylcholinesterase and acetylcholinesterase in the human thalamus. **The Journal of Comparative Neurology**, v. 463, n. 1, p. 25–43, 2003.
- DARVESH, S.; HOPKINS, D. A.; GEULA, C. Neurobiology of butyrylcholinesterase. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 4, n. 2, p. 131–138, 2003.
- DAS, B.; YAN, R. A Close Look at BACE1 Inhibitors for Alzheimer's Disease Treatment. **CNS Drugs**, v. 33, n. 3, p. 251–263, 2019.
- DE OLIVEIRA, J. et al. Effect of BCHE single nucleotide polymorphisms on lipid metabolism markers in women. **Genetics and Molecular Biology**, v. 40, n. 2, p. 408–414, 2017.

- DEY, A. et al. Natural products against Alzheimer's disease: Pharmacotherapeutics and biotechnological interventions. **Biotechnology Advances**, v. 35, n. 2, p. 178–216, 1 mar. 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2016.12.0050734-9750/>>. Acesso em: 13 abr. 2021.
- DIAMANT, S. et al. Butyrylcholinesterase attenuates amyloid fibril formation in vitro. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 103, n. 23, p. 8628–8633, 2006.
- DIAS, V.; JUNN, E.; MOURADIAN, M. M. The Role of Oxidative Stress in Parkinson's Disease. **Journal of Parkinson's Disease**, v. 3, p. 461–491, 2013.
- DOENICKE, A. et al. SERUM CHOLINESTERASE ANENZYMIA Report of a Case Confirmed by Enzyme-histochemical Examination of Liver-Biopsy Specimen. **Acta Anaesthesiologica Scandinavica**, v. 7, n. 2, p. 59–68, 1963.
- DONIA, M.; HAMANN, M. T. Marine natural products and their potential applications as anti-infective agents. **Lancet Infectious Diseases**, v. 3, n. 6, p. 338–348, 2003.
- DOOLEY, M.; LAMB, H. M. Donepezil: a review of its use in Alzheimer's disease. **Drugs & aging**, v. 16, n. 3, p. 199–226, 2000. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10803860/>>. Acesso em: 25 ago. 2021.
- EL GAMAL, A. A. Biological importance of marine algae. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 18, n. 1, p. 1–25, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jsps.2009.12.001>>.
- EL HAJ, M.; KAPOGIANNIS, D. Time distortions in alzheimer's disease: A systematic review and theoretical integration. **npj Aging and Mechanisms of Disease**, v. 2, n. 1, p. 1–5, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/npjamd.2016.16>>.
- FANG, Z. et al. Anticholinesterase and Antioxidant Constituents from *Gloiopeltis furcata*. **Chem. Pharm. Bull**, v. 58, n. 9, p. 1236–1239, 2010.
- FERNANDES, F. et al. 04 - Chemical profiling of edible seaweed (Ochrophyta) extracts and assessment of their in vitro effects on cell-free enzyme systems

and on the viability of glutamate-injured SH-SY5Y cells. **Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association**, v. 116, p. 196–206, 1 jun. 2018. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29673862/>>. Acesso em: 25 ago. 2021.

FIORE, C. et al. A history of the therapeutic use of liquorice in Europe. **Journal of Ethnopharmacology**, p. 317–324, 2005. Disponível em: <<https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0378874105002941?token=E9A9946DAA2E9B8E5E065E76FE3B061441D9AF8A6BD3FAC88D01FB97E0D2DB19899E37AD43107E30660C8BAFEE5CD98B&originRegion=us-east-1&originCreation=20210924185050>>. Acesso em: 24 set. 2021.

FLEITA, D.; EL-SAYED, M.; RIFAAT, D. Evaluation of the antioxidant activity of enzymatically-hydrolyzed sulfated polysaccharides extracted from red algae; *Pterocladia capillacea*. **LWT - Food Science and Technology**, v. 63, n. 2, p. 1236–1244, 1 out. 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2015.04.024>>. Acesso em: 14 abr. 2021.

FURTADO-ALLE, L. **VARIABILIDADE GENÉTICA DA BUTIRILCOLINESTERASE E OBESIDADE**. 2005. 175 f. Tese (Doutorado em Genética) - Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005. Disponível em: https://acervodigital.ufpr.br/bitstream/handle/1884/2966/FURTADO_L_2005.pdf?sequence=1&isAllowed=y. Acesso em: 10 out. 2019.

FURTADO-ALLE, L. et al. Association of variants of the -116 site of the butyrylcholinesterase BCHE gene to enzyme activity and body mass index. **Chemico-Biological Interactions**, v. 175, n. 1–3, p. 115–118, 2008.

GASPARIN, C. C. et al. Effects of polymorphisms in APOB, APOE, HSD11 β 1, PLIN4, and ADIPOQ genes on lipid profile and anthropometric variables related to obesity in children and adolescents. **Genetics and Molecular Biology**, v. 41, n. 4, p. 735–741, 2018.

GERWICK, W. H.; MOORE, B. S. Lessons from the past and charting the future of marine natural products drug discovery and chemical biology. **Chemistry and Biology**, v. 19, n. 1, p. 85–98, 27 jan. 2012.

GRAEBIN, C. S.; VERLI, H.; GUIMARÃES, J. A. Glycyrrhizin and Glycyrrhetic Acid: Scaffolds to Promising New Pharmacologically Active Compounds. **J. Braz. Chem. Soc**, v. 21, n. 9, p. 1595–1615, 2010.

GREQUE DE MORAIS, M. et al. Biologically Active Metabolites Synthesized by Microalgae. **Biomed Research International**, v. 2015, p. 1–15, 2015.
Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1155/2015/835761>>.

GRINA, F. et al. 10 - In vitro enzyme inhibitory properties, antioxidant activities, and phytochemical fingerprints of five Moroccan seaweeds. **South African Journal of Botany**, v. 128, p. 152–160, 1 jan. 2020.

HABTEMARIAM, S. Natural Products in Alzheimer's Disease Therapy: Would Old Therapeutic Approaches Fix the Broken Promise of Modern Medicines? **Molecules**, v. 24, n. 1519, p. 1–17, 2019. Disponível em: <www.mdpi.com/journal/molecules>. Acesso em: 13 abr. 2021.

HAMED, I. et al. Marine Bioactive Compounds and Their Health Benefits: A Review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 14, n. 4, p. 446–465, 1 jul. 2015.

HAMED, I.; ÖZOGUL, F.; REGENSTEIN, J. M. Industrial applications of crustacean by-products (chitin, chitosan, and chitooligosaccharides): A review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 48, p. 40–50, 1 fev. 2016.
Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2015.11.007>>. Acesso em: 15 abr. 2021.

HARRIS, H. The principles of Human Biochemical Genetics. **American Journal of Medical Genetics**, v. 10, p. 205–206, 1981.

HARRIS, H.; HOPKINSON, D. A.; ROBSON, E. B. Two-dimensional electrophoresis of pseudocholinesterase components in normal human serum. **Nature**, v. 196, n. 4861, p. 1296–1298, 1962.

HARRIS, H.; ROBSON, E. B.; GLEN-BOTT, M. Evidence for non-allelism between genes affecting human serum cholinesterase. **Nature**, n. 4912, p. 1185–1187, 1963.

HARRIS, H.; WHITTAKER, M. Differential inhibition of human serum

cholinesterase with fluoride: Recognition of two new phenotypes. **Nature**, v. 191, p. 496–498, 1961.

HARRIS, H.; WHITTAKER, M. Differential inhibition of the serum cholinesterase phenotypes by solanine and solanidine. **Annals of Human Genetics**, v. 26, n. 1, p. 73–76, 1962.

HAUX, J. E.; LOCKRIDGE, O.; CASIDA, J. E. Specificity of ethephon as a butyrylcholinesterase inhibitor and phosphorylating agent. **Chemical Research in Toxicology**, v. 15, p. 1527–1533, 2002.

HEDNER, E. et al. Brominated Cyclodipeptides from the Marine Sponge *Geodia barretti* as Selective 5-HT Ligands. **J. Nat. Prod**, v. 69, p. 1421–1424, 2006.

HENEKA, M. T. et al. Neuroinflammation in Alzheimer's Disease HHS Public Access. **Lancet Neurol**, v. 14, n. 4, p. 388–405, 2015.

HODGKIN, W. et al. Complete Pseudocholinesterase Deficiency: Genetic and Immunologic Characterization. **The Journal of clinical investigation**, v. 44, n. 3, p. 486–493, 1965.

HOUGHTON, P. J.; REN, Y.; HOWES, M.-J. Acetylcholinesterase inhibitors from plants and fungi. **Natural Product Reports**, v. 23, n. 2, p. 181–199, 29 mar. 2006. Disponível em: <<https://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2006/np/b508966m>>. Acesso em: 1 set. 2021.

HOWES, M.-J. R.; HOUGHTON, P. J. Ethnobotanical Treatment Strategies Against Alzheimer's Disease. **Current Alzheimer Research**, v. 9, n. 1, p. 67–85, 2012.

HU, J.-F. et al. Discorhabdins and Pyrroloiminoquinone-Related Alkaloids. **Chem. Rev**, v. 111, p. 5465–5491, 2011.

HU, Y. et al. Statistical Research on the Bioactivity of New Marine Natural Products Discovered during the 28 Years from 1985 to 2012. **Mar. Drugs**, v. 13, p. 202–221, 1985. Disponível em: <www.mdpi.com/journal/marinedrugsArticle>.

ISLAM, M. T. et al. Phytol: A review of biomedical activities. *Food and Chemical Toxicology* | 10.1016/j.fct.2018.08.032. **Food and Chemical Toxicology**, v.

121, p. 82–94, 2018. Disponível em: <<https://sci-hub.se/https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30130593/>>. Acesso em: 27 ago. 2021.

JASIECKI, J. et al. Haplotypes of butyrylcholinesterase K-variant and their influence on the enzyme activity. **Chemico-Biological Interactions**, v. 307, n. October 2018, p. 154–157, 2019.

JEEWON, R. et al. Pharmaceutical Potential of Marine Fungal Endophytes. In: Jha, S. (eds). **Endophytes and Secondary Metabolites**. Kolkata: Springer, 2019. p. 1–23.

JOHNSON, G.; MOORE, S. W. Why has butyrylcholinesterase been retained? Structural and functional diversification in a duplicated gene. **Neurochemistry International**, v. 61, n. 5, p. 783–797, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.neuint.2012.06.016>>.

KAMATOU, G. P. P.; VILJOEN, A. M. A Review of the Application and Pharmacological Properties of α -Bisabolol and α -Bisabolol-Rich Oils. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 87, n. 1, p. 1–7, 1 jan. 2010. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1007/s11746-009-1483-3>>. Acesso em: 24 set. 2021.

KARCZMAR, A. G. Brief presentation of the story and present status of studies of the vertebrate cholinergic system. **Neuropsychopharmacology**, v. 9, n. 3, p. 181–199, 1993.

KEKUDA, P. T. R.; LAVANYA, D.; POOJA, R. Lichens as promising resources of enzyme inhibitors: A review. **Journal of Drug Delivery & Therapeutics**, v. 9, n. 2- s, p. 665–676, 2019. Disponível em: <<http://jddtonline.info/index.php/jddt/article/view/2546/1988>>. Acesso em: 1 set. 2021.

KHALILI, M. et al. Antioxidant activity of ethyl acetate and methanolic extracts of two marine algae, *Nannochloropsis oculata* and *Gracilaria gracilis*-an in vitro assay. **J. Pharm. Sci**, v. 54, n. 1, p. 17280, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/s2175-97902018000117280>>. Acesso em: 13 abr. 2021.

KHORANA, N. et al. Prospective acetylcholinesterase inhibitory activity of

indole and its analogs. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 22, n. 8, p. 2885–2888, 15 abr. 2012.

KICHAEV, G. et al. Leveraging Polygenic Functional Enrichment to Improve GWAS Power. **American Journal of Human Genetics**, v. 104, n. 1, p. 65–75, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2018.11.008>>.

KIM, M.-J. et al. Protective effects of a chalcone derivative against A β -induced oxidative stress and neuronal damage. **BMB Reports**, 2011.

KIM, S. et al. **PUBCHEM - Phytol**. Disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Phytol>>. Acesso em: 25 ago. 2021a.

KIM, S. et al. **PUBCHEM - Phloroglucinol**. Disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Phloroglucinol>>. Acesso em: 25 ago. 2021b.

KIM, S. et al. **PUBCHEM - Palmitic acid**. Disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Palmitic-acid>>. Acesso em: 20 set. 2021c.

KIM, S. et al. **PUBCHEM - Canthaxanthin**. Disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Canthaxanthin>>. Acesso em: 20 set. 2021d.

KIM, S. et al. **PUBCHEM - Salicylic acid**. Disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Salicylic-acid>>. Acesso em: 20 set. 2021e.

KIVIPERTO, M.; MANGIALASCHE, F.; NGANDU, T. Lifestyle interventions to prevent cognitive impairment, dementia and Alzheimer disease. **Nature Reviews Neurology**, v. 14, p. 653–666, 2018.

KOVACS, G. G. Molecular Pathological Classification of Neurodegenerative Diseases: Turning towards Precision Medicine. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 17, n. 189, p. 33, 2016. Disponível em: <www.mdpi.com/journal/ijms>. Acesso em: 8 abr. 2021.

KRASOWSKI, M. D.; MCGEHEE, D. S.; MOSS, J. Natural inhibitors of

cholinesterases: Implications for adverse drug reactions. **Canadian Journal of Anaesthesia**, v. 44, n. 5 I, p. 525–534, 1997.

KREJCI, E. et al. The mammalian gene of acetylcholinesterase-associated collagen. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 272, n. 36, p. 22840–22847, 1997.

KUMAR JHA, R.; ZI-RONG, X. Biomedical Compounds from Marine organisms. **Marine Drugs**, v. 2, p. 123–146, 2004. Disponível em: <www.mdpi.net/marinedrugs/>. Acesso em: 13 abr. 2021.

KUMAR, S. R.; HOSOKAWA, M.; MIYASHITA, K. Fucoxanthin: A Marine Carotenoid Exerting Anti-Cancer Effects by Affecting Multiple Mechanisms. **Marine Drugs**, v. 11, n. 12, p. 5130–5147, 16 dez. 2013. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1660-3397/11/12/5130/htm>>. Acesso em: 24 set. 2021.

KUSUMI, T. et al. STRUCTURES OF NEW PLASTOQUINONES FROM THE BROWN ALGA SARGASSUM SERRATIFOLIUM. **Chemistry Letters**, p. 277–278, 1979.

KUTTY, K. M.; REDHEENDRAN, R.; MURPHY, D. Serum cholinesterase: function in lipoprotein metabolism. **Experientia**, v. 33, n. 4, p. 420–422, 1977.

LAMOTTA, R. V.; WORONICK, C. L. Molecular heterogeneity of human serum cholinesterase. **Clinical Chemistry**, v. 17, n. 3, p. 135–144, 1971.

LAYER, P. G.; WILLBOLD, E. **Novel Functions of Cholinesterases in Development, Physiology and Disease**. Stuttgart, Jena, New York: Gustav Fischer Verlag, 1995.

LEAL, M. C. et al. Trends in the discovery of new marine natural products from invertebrates over the last two decades - where and what are we bioprospecting? **PLoS ONE**, v. 7, n. 1, 20 jan. 2012.

LEE, J. P. et al. 12 - Potent inhibition of acetylcholinesterase by sargachromanol I from *Sargassum siliquastrum* and by selected natural compounds. **Bioorganic Chemistry**, v. 89, p. 103043, 1 ago. 2019.

LENG, F.; EDISON, P. Neuroinflammation and microglial activation in Alzheimer disease: where do we go from here? **Nature reviews. Neurology**, v.

17, n. 3, p. 157–172, 1 mar. 2021.

LEZOUL, N. E. H. et al. Extraction processes with several solvents on total bioactive compounds in different organs of three medicinal plants. **Molecules**, v. 25, n. 4672, 2020.

LI, B. et al. Abundant Tissue Butyrylcholinesterase and Its Possible Function in the Acetylcholinesterase Knockout Mouse. **Journal of Neurochemistry**, v. 75, n. 3, p. 1320–1331, 2000.

LIDDELL, J.; LEHMANN, H.; SILK, E. A “silent” pseudo-cholinesterase gene. **Nature**, v. 193, n. 4815, p. 561–562, 1962.

LIDDELL, J.; NEWMAN, G. E.; BROWN, D. F. A pseudo-cholinesterase variant in human tissues. **Nature**, v. 198, n. 4885, p. 1090–1091, 1963.

LIU, J. et al. Therapeutic and nutraceutical potentials of a brown seaweed *Sargassum fusiforme*. **Food Science & Nutrition**, v. 8, p. 5195–5205, 2020. Disponível em: <www.foodscience-nutrition.com>.

LIU, L. et al. Towards a better understanding of medicinal uses of the brown seaweed *Sargassum* in Traditional Chinese Medicine: A phytochemical and pharmacological review. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 142, p. 591–619, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2012.05.046>>. Acesso em: 26 ago. 2021.

LOCKRIDGE, O. et al. Complete amino acid sequence of human serum cholinesterase. **Journal of Biological Chemistry**, v. 262, n. 2, p. 549–557, 1987.

LOCKRIDGE, O. Review of human butyrylcholinesterase structure, function, genetic variants, history of use in the clinic, and potential therapeutic uses. **Pharmacology and Therapeutics**, v. 148, p. 34–46, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.pharmthera.2014.11.011>>.

LOCKRIDGE, O. et al. Naturally Occurring Genetic Variants of Human Acetylcholinesterase and Butyrylcholinesterase and Their Potential Impact on the Risk of Toxicity from Cholinesterase Inhibitors. **Chemical Research in Toxicology**, v. 29, n. 9, p. 1381–1392, 2016.

- LORDAN, S.; ROSS, R. P.; STANTON, C. Marine Bioactives as Functional Food Ingredients: Potential to Reduce the Incidence of Chronic Diseases. **Marine Drugs**, v. 9, p. 1056–1100, 2011. Disponível em: <chrome-extension://dagcmkpagjllhakfdhnbomgmjdpkdklff/enhanced-reader.html?pdf=https%3A%2F%2Fbrxt.mendeley.com%2Fdocument%2Fcontent%2F0e43a030-1775-3b96-9199-d6794ab9ecff>. Acesso em: 14 abr. 2021.
- MACARTAIN, P. et al. Nutritional value of edible seaweeds. **Nutrition Reviews**, v. 65, n. 12, p. 535–543, 2007.
- MAHOMOODALLY, M. F. et al. 13 - In vitro enzyme inhibitory properties, secondary metabolites profiles and multivariate analysis of five seaweeds. **Marine Drugs**, v. 18, n. 4, 2020.
- MANOHARAN, I. et al. A medical health report on individuals with silent butyrylcholinesterase in the Vysya community of India. **Clinica Chimica Acta**, v. 378, n. 1–2, p. 128–135, 2007.
- MARTÍNEZ-MORENO, P. et al. Cholinesterase activity of human lung tumours varies according to their histological classification. **Carcinogenesis**, v. 27, n. 3, p. 429–436, 2006.
- MASSON, P. A naturally occurring molecular form of human plasma cholinesterase is an albumin conjugate. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)/Protein Structure and Molecular**, v. 988, n. 3, p. 258–266, 1989.
- MASSOULIE, J. The origin of the molecular diversity and functional anchoring of cholinesterases. **Neurosignals**, v. 11, n. 3, p. 130–143, 2002.
- MASTERS, C. L. et al. Alzheimer's Disease. **Nature Reviews**, v. 1, p. 1–18, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/nrdp.2015.56>>.
- MATTSON, M. P. Pathways towards and away from Alzheimer's disease. **Nature**, v. 430, p. 631–640, 2004. Disponível em: <www.nature.com/nature>. Acesso em: 8 abr. 2021.
- MCGINTY, D.; LETIZIA, C. S.; API, A. M. Fragrance material review on phytol. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, p. S59–S63, 2010.
- MCGUIRE, M. C. et al. Identification of the structural mutation responsible for

the dibucaine-resistant (atypical) variant form of human serum cholinesterase. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 86, n. 3, p. 953–957, 1989.

MEHBUB, M. F. et al. Marine sponge derived natural products between 2001 and 2010: Trends and opportunities for discovery of bioactives. **Marine Drugs**, v. 12, n. 8, p. 4539–4577, 1 ago. 2014.

MENDEL, B.; RUDNEY, H. ON THE TYPE OF CHOLINESTERASE PRESENT IN BRAIN TISSUE. **Science**, v. 98, n. 2539, p. 201–202, 1943.

MERZETTI, E. M.; STAVELEY, B. E. Mitochondrial dynamics in degenerative disease and disease models. **Neuroscience Discovery**, 2013. Disponível em: <<http://www.hoajonline.com/journals/pdf/2052-6946-1-8.pdf>>. Acesso em: 12 abr. 2021.

MESULAM, M.-M. et al. ACETYLCHOLINESTERASE KNOCKOUTS ESTABLISH CENTRAL CHOLINERGIC PATHWAYS AND CAN USE BUTYRYLCHOLINESTERASE TO HYDROLYZE ACETYLCHOLINE. **Neuroscience**, v. 110, n. 4, p. 627–639, 2002.

MOHAMED, S.; HASHIM, S. N.; RAHMAN, H. A. Seaweeds: A sustainable functional food for complementary and alternative therapy. **Trends in Food Science and Technology**, v. 23, n. 2, p. 83–96, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2011.09.001>>.

NATARAJAN, S. .; SHANMUGIAHTHEVAR, K. P.; KASI, P. D. 26 - Neuroprotective effect of seaweeds inhabiting South Indian coastal area (Hare Island, Gulf of Mannar Marine Biosphere Reserve): Cholinesterase inhibitory effect of *Hypnea valentiae* and *Ulva reticulata*. **Neuroscience Letters**, v. 468, n. 3, p. 216–219, 14 jan. 2010.

NATARAJAN, S.; SHANMUGIAHTHEVAR, K. P.; KASI, P. D. 14 - Cholinesterase inhibitors from *Sargassum* and *Gracilaria gracilis*: Seaweeds inhabiting South Indian coastal areas (Hare Island, Gulf of Mannar). **Natural Product Research**, v. 23, n. 4, p. 355–369, 2009. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/14786410802156036>>. Acesso em: 25 ago. 2021.

NCBI. **National Center for Biotechnology Information**. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>. Acesso em: 04 ago. 2019.

NEVILLE, L. F. et al. Intramolecular relationships in cholinesterases revealed by oocyte expression of site-directed and natural variants of human BCHE. **The EMBO Journal**, v. 11, n. 4, p. 1641–1649, 1992.

NODA, H. et al. Antitumor activity of marine algae. **Hydrobiologia**, v. 204, p. 577–584, 1990.

NOGUEIRA, C. P. et al. Identification of two different point mutations associated with the fluoride-resistant phenotype for human butyrylcholinesterase. **American Journal of Human Genetics**, v. 51, n. 4, p. 821–828, 1992.

NOORI, T. et al. Role of natural products for the treatment of Alzheimer's disease. **European Journal of Pharmacology**, v. 898, n. February, p. 173974, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2021.173974>>.

OLASEHINDE, T. A. et al. 16 - Chemical characterization, antioxidant properties, cholinesterase inhibitory and anti-amyloidogenic activities of sulfated polysaccharides from some seaweeds. **Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre**, v. 18, 1 abr. 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.bcdf.2019.100182>>. Acesso em: 14 abr. 2021.

OLASEHINDE, T. A.; OLANIRAN, A. O.; OKOH, A. I. 18 - Macroalgae as a Valuable Source of Naturally Occurring Bioactive Compounds for the Treatment of Alzheimer's Disease. **Marine Drugs**, v. 17, n. 609, 2019a. Disponível em: <www.mdpi.com/journal/marinedrugs>. Acesso em: 13 abr. 2021.

OLASEHINDE, T. A.; OLANIRAN, A. O.; OKOH, A. I. 18 - Phenolic composition, antioxidant activity, anticholinesterase potential and modulatory effects of aqueous extracts of some seaweeds on b-amyloid aggregation and disaggregation. **Pharmaceutical Biology**, v. 57, n. 1, p. 460–469, 2019b. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/13880209.2019.1634741>>.

OLIVEIRA, A. P. et al. 19 - Exploring Montagu's crab: Primary and secondary metabolites and enzyme inhibition. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 12, n. 8, p. 4017–4025, 1 dez. 2019.

- OLSEN, E. K. et al. 07 - Marine AChE inhibitors isolated from *Geodia barretti*: natural compounds and their synthetic analogs. **Organic & Biomolecular Chemistry**, v. 14, n. 5, p. 1629–1640, 27 jan. 2016. Disponível em: <<https://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2016/ob/c5ob02416a>>. Acesso em: 25 ago. 2021.
- PÁDUA, D. et al. Bioactive compounds from brown seaweeds: Phloroglucinol, fucoxanthin and fucoidan as promising therapeutic agents against breast cancer. **Phytochemistry Letters**, v. 14, p. 91–98, 2015. Disponível em: <<https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S1874390015300677?token=88EAE55910E895E9240358602A214755E1FF339D779A09AC09DE1EB2C75A17A1371B0DE863008BF4ADA955D5B2638A12&originRegion=us-east-1&originCreation=20210912171234>>. Acesso em: 12 set. 2021.
- PANGESTUTI, R.; KIM, S.-K. Neuroprotective Effects of Marine Algae. **Mar. Drugs**, v. 9, p. 803–818, 2011. Disponível em: <www.mdpi.com/journal/marinedrugs>. Acesso em: 8 abr. 2021.
- PENG, J. et al. Fucoxanthin, a marine carotenoid present in brown seaweeds and diatoms: Metabolism and bioactivities relevant to human health. **Marine Drugs**, v. 9, n. 10, p. 1806–1828, 2011.
- PEREIRA, H. et al. 11 - Biological Activities and Chemical Composition of Methanolic Extracts of Selected Autochthonous Microalgae Strains from the Red Sea. **Mar. Drugs**, v. 13, p. 3531–3549, 2015. Disponível em: <www.mdpi.com/journal/marinedrugsArticle>.
- PERRIER, A. L.; MASSOULIÉ, J.; KREJCI, E. PRiMA: The membrane anchor of acetylcholinesterase in the brain. **Neuron**, v. 33, n. 2, p. 275–285, 2002.
- PERRY, E. K. et al. Changes in Brain Cholinesterases in Senile Dementia of Alzheimer Type. **Neuropathology and Applied Neurobiology**, v. 4, n. 4, p. 273–277, 1978.
- PIEL, J. Metabolites from symbiotic bacteria. **Nat. Prod. R**, v. 21, p. 519–538, 2004.
- PLAZA, M. et al. Innovative natural functional ingredients from microalgae. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 16, p. 7159–7170,

2009.

PODOLY, E. et al. The butyrylcholinesterase K variant confers structurally derived risks for Alzheimer pathology. **Journal of Biological Chemistry**, v. 284, n. 25, p. 17170–17179, 2009.

POHANKA, M. CHOLINESTERASES, A TARGET OF PHARMACOLOGY AND TOXICOLOGY. **Biomedical Papers of the Medical Faculty of the University Palacky, Olomouc, Czechoslovakia**, v. 155, n. 3, p. 219–230, 2011.

RABINS, P. V.; LYKETSOS, C. G. Cholinesterase inhibitors and memantine have a role in the treatment of Alzheimer's disease. **Nature Clinical Practice Neurology**, v. 2, n. 11, p. 578–579, 2006.

RAFIQUZZAMAN, S. M. et al. Anti-Alzheimers and anti-inflammatory activities of a glycoprotein purified from the edible brown alga *Undaria pinnatifida*. **Food Research International**, v. 77, p. 118–124, 1 nov. 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2015.08.021>>. Acesso em: 13 abr. 2021.

RAUSHEL, F. M. Catalytic detoxification. **Nature**, v. 469, p. 310–311, 2011.

REITZ, C.; BRAYNE, C.; MAYEUX, R. Epidemiology of Alzheimer's disease. **Nat Rev Neurol**, v. 7, n. 3, p. 137–152, 2012.

RUBINSTEIN, H. M.; DIETZ, A. A.; LUBRANO, T. E1k, another quantitative variant at cholinesterase locus 1. **Journal of Medical Genetics**, v. 15, p. 27–29, 1978.

RYU, G. et al. 21 - Cholinesterase inhibitory activity of two farnesylacetone derivatives from the brown alga *Sargassum sagamianum*. **Archives of Pharmacal Research**, v. 26, n. 10, p. 796–799, 30 out. 2003. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/BF02980022>>. Acesso em: 25 ago. 2021.

SAMAAL, T.; KELLY, M. Family Latrunculiidae Topsent, 1922. In: HOOPER, J. N. A.; SOEST, R. W. M. VAN (Eds.). **Systema Porifera: A Guide to the Classification of Sponges**. 1. ed. New York: Springer US, 2002. p. 708–719.

SARASWATI et al. *Sargassum* Seaweed as a Source of Anti-Inflammatory Substances and the Potential Insight of the Tropical Species: A Review. **Marine**

Drugs, v. 17, n. 590, 2019. Disponível em:

<www.mdpi.com/journal/marinedrugs>.

SATHASIVAM, R.; KI, J.-S. A Review of the Biological Activities of Microalgal Carotenoids and Their Potential Use in Healthcare and Cosmetic Industries.

Marine Drugs, v. 16, n. 26, 2018. Disponível em: <www.bccresearch.com>.

Acesso em: 14 abr. 2021.

SELKOE DJ. The cell biology of beta-amyloid precursor protein and presenilin in Alzheimer's disease. **Trends in Cell Biology**, v. 8, n. 11, p. 447–53, 1998.

SEN, S.; ROY, M.; CHAKRABORTI, A. S. Ameliorative effects of glycyrrhizin on streptozotocin-induced diabetes in rats. **The Journal of pharmacy and pharmacology**, v. 63, n. 2, p. 287–296, fev. 2011. Disponível em:

<<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21235594/>>. Acesso em: 27 ago. 2021.

<<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21235594/>>. Acesso em: 27 ago. 2021.

SEONG, S. H. et al. 23 - BACE1 inhibitory activity and molecular docking analysis of meroterpenoids from *Sargassum serratifolium*. **Bioorganic & medicinal chemistry**, v. 25, n. 15, p. 3964–3970, 2017. Disponível em:

<<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28576634/>>. Acesso em: 25 ago. 2021.

SHANMUGANATHAN, B. et al. 25 - Antiaggregation Potential of *Padina gymnospora* against the Toxic Alzheimer's Beta-Amyloid Peptide 25-35 and Cholinesterase Inhibitory Property of Its Bioactive Compounds. **PLoS ONE**, v. 10, n. 11, 2015. Disponível em: <<http://www.dst.gov.in/>>.

SHANURA FERNANDO, I. P. et al. Antioxidant Activity of Marine Algal Polyphenolic Compounds: A Mechanistic Approach. **Journal of Medicinal Food**, v. 19, n. 7, p. 615–628, 2016.

SHIMIZU, Y. Microalgal metabolites: A new perspective. **Annual Review of Microbiology**, v. 50, p. 431–465, 1996.

SHRINE, N. et al. New genetic signals for lung function highlight pathways and chronic obstructive pulmonary disease associations across multiple ancestries.

Nature Genetics, v. 51, n. 6, p. 481–493, 2019.

SILVA, I. M. W. et al. Effects of physical exercise on butyrylcholinesterase in obese adolescents. **Genetics and Molecular Biology**, v. 35, n. 4, p. 741–742,

2012.

SINGH, I. P. et al. Phloroglucinol compounds of therapeutic interest: global patent and technology status. **Expert Opinion on Therapeutic Patents**, v. 19, n. 6, p. 847–866, 2009. Disponível em:

<<http://www.tandfonline.com/action/journalInformation?journalCode=ietp20>>.

Acesso em: 11 set. 2021.

SINGH, S. K. et al. Antioxidants in the prevention and treatment of alzheimer's disease. In: **Nutritional Antioxidant Therapies: Treatments and Perspectives**. [s.l.] Springer International Publishing, 2018. p. 523–553.

SIPKEMA, D. et al. Marine Sponges as Pharmacy. **Marine Biotechnology**, v. 7, p. 142–162, 2005.

SUGANTHY, N. et al. Evaluation of Gelidiella acerosa, the red algae inhabiting South Indian coastal area for antioxidant and metal chelating potential. **Biomedicine & Preventive Nutrition**, v. 3, n. 4, p. 399–406, 1 out. 2013.

SUGIMORI, T. Shortened action of succinylcholine in individuals with cholinesterase C5 isozyme. **Canadian Anaesthetists' Society Journal**, v. 33, n. 3, p. 321–327, 1986.

SYAD, A.; KASI, P. D. Gelidiella acerosa protects against A β 25-35-induced toxicity and memory impairment in Swiss Albino mice: an in vivo report. **Pharmaceutical Biology**, v. 55, n. 1, p. 1423–1435, 2017. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/action/journalInformation?journalCode=iphb20>>. Acesso em: 17 dez. 2021.

SYAD, A. N. et al. 27 - Neuroprotective effect of the marine macroalga Gelidiella acerosa: identification of active compounds through bioactivity-guided fractionation. **PHARMACEUTICAL BIOLOGY**, v. 54, n. 10, p. 2073–2081, 2016. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/action/journalInformation?journalCode=iphb20http://dx.doi.org/10.3109/13880209.2016.1145700>>.

SYAD, A. N.; SHUNMUGIAH, K. P.; KASI, P. D. Gelidiella acerosa: Implications for Its Therapeutic Potential against Alzheimer's Disease. **Article ID**, v. 2012, 2012.

SYAD, A. N.; SHUNMUGIAH, K. P.; KASI, P. D. 01 -Antioxidant and anti-cholinesterase activity of Sargassum wightii. **Pharmaceutical Biology**, v. 51, n. 11, p. 1401–1410, 2013a. Disponível em:

<<https://www.tandfonline.com/action/journalInformation?journalCode=ipbh20http://informahealthcare.com/phb>>. Acesso em: 25 ago. 2021.

SYAD, A. N.; SHUNMUGIAH, K. P.; KASI, P. D. Seaweeds as nutritional supplements: Analysis of nutritional profile, physicochemical properties and proximate composition of G.Acerosa and S.Wightii. **Biomedicine and Preventive Nutrition**, v. 3, n. 2, p. 139–144, abr. 2013b.

TADESSE, M. et al. Isolation and Synthesis of Pulmonarins A and B, Acetylcholinesterase Inhibitors from the Colonial Ascidian Synoicum pulmonaria. **Journal of Natural Products**, v. 77, p. 364–369, 2014.

TAKEBE, Y. et al. Antiviral Lectins from Red and Blue-Green Algae Show Potent In Vitro and In Vivo Activity against Hepatitis C Virus. **PLoS ONE**, v. 8, n. 5, 21 maio 2013.

THE HUMAN PROTEIN ATLAS. **The Human Protein Atlas**, 2020. Disponível em: <https://www.proteinatlas.org/>. Acesso em: 04 ago. 2019.

TRUONG, D. H. et al. Evaluation of the use of different solvents for phytochemical constituents, antioxidants, and in vitro anti-inflammatory activities of severinia buxifolia. **Journal of Food Quality**, 2019.

VAN APELDOORN, M. E. et al. Toxins of cyanobacteria. **Mol. Nutr. Food Res**, v. 51, p. 7–60, 2007. Disponível em: <www.ifremer.fr/envlit/documenta->. Acesso em: 15 abr. 2021.

VELUCHAMY, C.; PALANISWAMY, R. A Review on Marine Algae and Its Applications. **Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research**, v. 13, n. 3, p. 21–27, 2020.

VENTURA, A. L. M. et al. Sistema colinérgico : revisitando receptores , regulação e a relação com a doença de Alzheimer , esquizofrenia , epilepsia e tabagismo. **Rev. psiquiatr. clín.**, v. 37, n. 2, p. 66–72, 2010.

VEURINK, G.; PERRY, G.; SINGH, S. K. Role of antioxidants and a nutrient

rich diet in Alzheimer's disease: AD and Nutraceuticals. **Open Biology**, v. 10, n. 6, 2020.

VIDAL, C. J. Expression of cholinesterases in brain and non-brain tumours. **Chemico-Biological Interactions**, v. 157–158, n. January 2006, p. 227–232, 2005.

VITALE, R. M. et al. 20 - In Silico Identification and Experimental Validation of Novel Anti-Alzheimer's Multitargeted Ligands from a Marine Source Featuring a "2-Aminoimidazole plus Aromatic Group" Scaffold. **ACS Chemical Neuroscience**, v. 9, n. 6, p. 1290–1303, 20 jun. 2018. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acchemneuro.7b00416>>. Acesso em: 25 ago. 2021.

WAGLE, A. et al. 29 - Comparative study of selective in vitro and in silico BACE1 inhibitory potential of glycyrrhizin together with its metabolites, 18 α - and 18 β -glycyrrhetic acid, isolated from *Hizikia fusiformis*. **Archives of Pharmacal Research**, v. 41, n. 4, p. 409–418, 1 abr. 2018.

WANG, J. et al. A systemic view of Alzheimer disease - Insights from amyloid- β metabolism beyond the brain. **Nature Reviews Neurology**, v. 13, n. 10, p. 612–623, 2017.

WANG, N. et al. Recent Advances in Multi-target Anti-Alzheimer Disease Compounds (2013 Up to the Present). **Current Medicinal Chemistry**, v. 26, n. 30, p. 5684–5710, 3 dez. 2018. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30501591/>>. Acesso em: 13 abr. 2021.

WHITTAKER, V. P. Specificity, mode of action and distribution of cholinesterases. **Physiological reviews**, v. 31, n. 3, p. 312–343, 1951.

YARIBEYGI, H. et al. The Underlying Role of Oxidative Stress in Neurodegeneration: A Mechanistic Review. **CNS & Neurological Disorders - Drug Targets**, v. 17, n. 3, p. 207–215, 25 abr. 2018. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29692267/>>. Acesso em: 12 abr. 2021.

YATES, A. D. et al. ENSEMBL 2020. **Nucleic Acids Research**, v. 48, n. D1, p. D682–D688, 2019.

YENDE, S. R.; HARLE, U. N.; CHAUGULE, B. B. Therapeutic potential and health benefits of Sargassum species. **Pharmacognosy Reviews**, v. 8, n. 15, 2014. Disponível em: <www.phcogrev.com>. Acesso em: 26 ago. 2021.

YOON, N. Y. et al. Acetyl- and butyrylcholinesterase inhibitory activities of sterols and phlorotannins from *Ecklonia stolonifera*. **Fisheries Science**, v. 74, p. 200–207, 2008.

YOON, N. Y.; LEE, S.-H.; KIM, S.-K. Phlorotannins from *Ishige okamurae* and their acetyl- and butyrylcholinesterase inhibitory effects. **Journal of Functional Foods**, v. 1, p. 331–335, 2009.

ZEECE, M. Flavors. In: **Introduction to the Chemistry of Food**. [s.l.] Academic Press, 2020. p. 213–250.

ZHANG, J. et al. Synthesis and Structural Modification of Marine Natural Products. **Molecules**, v. 22, n. 882, 2017. Disponível em: <www.mdpi.com/journal/molecules>. Acesso em: 13 abr. 2021.

APÊNDICE 1 – ALGAS

TABELA 6 - ALGAS E COMPOSTOS ISOLADOS QUE FORAM TESTADOS ACERCA DE SEU POTENCIAL INIBIDOR DE BChE

ALGAS						
Espécie	Filo	Material/Tipo de extrato	Substância ou fração	IC ₅₀ ou % de inibição	Inibição	Autor
<i>Sargassum wightii</i>	Ochrophyta	Extrato de éter de petróleo	NA	17,91 ± 0,65 µg/ml	Sim	Syad, Shunmugiah and Kasi, 2013
		Extrato de hexano		32,75 ± 1,00 µg/ml	Sim	
		Extrato benzênico		12,98 ± 0,31 µg/ml	Sim	
		Extrato de diclorometano		36,16 ± 0,64 µg/ml	Sim	
		Extrato clorofórmico		-	-	
		Extrato de acetato de etila		72,23 ± 7,23 µg/ml	Modera	
		Extrato acetônico		10,49 ± 0,03 µg/ml	Sim	
		Extrato metanólico		-	-	
		Extrato aquoso		-	-	
		<i>Codium tomentosum</i> Stackhouse		Chlorophyta	Extrato etanólico	
<i>Codium adhaerens</i> C. Agardh	Chlorophyta			-	Não	

<i>Ulva lactuca</i> Linnaeus	Chlorophyta			-	Não	
<i>Asparagopsis ar- mata</i> Harvey	Rhodophyta			-	Não	
<i>Sphaerococcus coronopifolius</i> Stackhouse	Rhodophyta			-	Não	
<i>Plocamium car- tilagineum</i> (Lin- naeus) P. S. Di- xon	Rhodophyta			-	Não	
<i>Osmundea pin- natifida</i> (Hud- son) Stackhouse	Rhodophyta			-	Não	
<i>Schizymenia du- byi</i> (Chauv. ex Duby) J. Agardh	Rhodophyta			-	Não	
<i>Cystoseira tama- riscifolia</i> (Hud- son) Papenfuss	Ochrophyta			0,67 EC25	Sim	
<i>Cystoseira usne- oides</i> (Linnaeus) M. Roberts	Ochrophyta			0,23 EC25	Sim	
<i>Cystoseira nodi- caulis</i> (Wither- ing) M. Roberts	Ochrophyta			-	Não	
<i>Cladostephus spongiosus</i> (Huds.) C. Agardh	Ochrophyta			-	Não	

<i>Halopteris filicina</i> (Gratel.) Kütz.	Ochrophyta			-	Não	
<i>Saccorhiza polyschides</i> (Lightfoot) Batters	Ochrophyta			-	Não	
<i>Padina pavonica</i> (L.) Thivy	Ochrophyta			-	Não	
<i>Sargassum vulgare</i> C. Agardh	Ochrophyta			-	Não	
<i>Fucus spiralis</i> Linnaeus	Ochrophyta			-	Não	
<i>Stypocaulon scoparium</i> (Linnaeus) Kützting	Ochrophyta			-	Não	
<i>Ecklonia cava</i>	Ochrophyta	Substâncias isoladas	Dieckol 6,6'-Bieckol 8,8'-Bieckol Eckol PFF-A	2,7 ± 0,4 µM 27,4 ± 5,3 µM 10,9 ± 0,9 µM 29,0 ± 5,1 µM 0,9 ± 0,2 µM	Sim Sim Sim Sim Sim	Choi et al, 2015
<i>Fucus guiryi</i>	Ochrophyta	Extrato acetônico	NA	-	Não	Fernandes et al, 2018
<i>Fucus serratus</i>	Ochrophyta			-	Não	
<i>Fucus spiralis</i>	Ochrophyta			-	Não	
<i>Laminaria ochroleuca</i>	Ochrophyta			-	Não	

<i>Saccharina latissima</i>	Ochrophyta				22,7 ± 0,9%	Sim		
<i>Saccorhiza polyschides</i>	Ochrophyta				-	Não		
				Fucoxantina	19,0 ± 2,6 %	Sim		
				Ácido hexadecanóico	5 %	Sim		
<i>Bifurcaria bifurcata</i> (Ross, 1958)	Ochrophyta	Extrato etanólico		NA	177 ± 0,9 µg/ml	Sim		Grina et al, 2020
<i>Cystoseira humilis</i> (Schousboe ex Kützting, 1860)	Ochrophyta				>200 µg/ml	Não		
<i>Cystoseira stricta</i> (Sauvageau, 1911)	Ochrophyta				69,4 ± 1,9 µg/ml	Sim		
<i>Fucus spiralis</i> (Linnaeus, 1753)	Ochrophyta				11,7 ± 2,8 µg/ml	Sim		
<i>Gelidium sequepedale</i> (Thuret, 1876)	Rhodophyta				>200 µg/ml	Não		
<i>Nannochloris sp SBL1</i>	Chlorophyta	Extrato metanólico		NA	52.0 ± 8.4% (1 mg/ml) 58.0 ± 7.4% (10 mg/ml)	Sim		Pereira et al, 2015

<i>Picchlorum sp.</i> SBL2	Chlorophyta				66.1 ± 3.4% (1 mg/ml) 69.3 ± 2.5% (10mg/ml)	Sim	
<i>Desmochloris sp.</i> SBL3	Chlorophyta				55.2 ± 6.5% (1 mg/ml) 60.4 ± 5.2% (10 mg/ml)	Sim	
<i>Nannochloris sp.</i> SBL4	Chlorophyta				59.0 ± 8.2% (1 mg/ml) 41.2 ± 12.0% (10 mg/ml)	Sim	
<i>Sargassum siliquastrum</i>	Ochrophyta	Extrato etanólico, aquoso e de hexano	Sargacromanol I		13,69 ± 5,07 µM	Sim	Lee et al, 2019
<i>Halimeda spp.</i>	Chlorophyta	Extrato metanólico	NA		7,82 ± 0,67 mg/ml	Sim	Mahomoodally et al, 2020
<i>Spyridia hypnoides</i>	Rhodophyta				7,96 ± 1,01 mg/ml	Sim	
<i>Valoniopsis pachynema</i> (G. Martens) Børgesen	Chlorophyta				8,75 ± 1,31 mg/ml	Sim	
<i>Gracilaria fergusonii</i> J. Agardh	Rhodophyta				7,43 ± 1,00 mg/ml	Sim	

<i>Amphiroa anceps</i> (Lamarck) Decaisne	Rhodophyta			6,68 ± 0,83 mg/ml	Sim		
<i>Ulva reticulata</i>	Chlorophyta	Extrato metanólico	NA	10 mg/ml	Sim		Natarajan, Shanmugiahthevar and Kasi, 2009
<i>Turbinaria conoides</i>	Ochrophyta			-	Não		
<i>Turbinaria ornata</i>	Ochrophyta			-	Não		
<i>Hypnea valentiae</i>	Rhodophyta			3,9 mg/ml	Sim		
<i>Sargassum</i>	Ochrophyta			0,6 mg/ml	Sim		
<i>Enteromorpha intestinalis</i>	Chlorophyta			6,5 mg/ml	Sim		
<i>Gracilaria gracilis</i>	Rhodophyta			1,5 mg/ml	Sim		
<i>Gracilaria edulis</i>	Rhodophyta			1,25 mg/ml	Sim		
<i>Padina gymnospora</i>	Ochrophyta			-	Não		
<i>Cladophora fascicularis</i>	Chlorophyta			-	Não		
<i>Dicyyota dichotoma</i>	Ochrophyta			6,5 mg/ml	Sim		
<i>Ecklonia maxima</i>	Ochrophyta	Compostos isolados	Polissacarídeos sulfatados	82,90 µg/mL ± 1,94	Sim		Olasehinde et al, 2019
<i>Gelidium pristoides</i>	Rhodophyta			-	Não		

<i>Ulva rigida</i>	Chlorophyta				118,90 $\mu\text{g/mL}$ $\pm 1,65$	Sim		
<i>Gracilaria beckeri</i> (J.Agardh) Papenfuss	Rhodophyta	Extrato aquoso	NA		63,03 $\mu\text{g/mL}$ 4,80	Sim		Olasehinde, Olaniran and Okoh, 2019
<i>Ecklonia maxima</i> (Osbeck) Papenfuss	Ochrophyta				52,11 $\mu\text{g/mL}$ 2,82	Sim		
<i>Ulva rigida</i> (C.Agardh) Linnaeus	Chlorophyta				71,19 $\mu\text{g/mL}$ 2,92	Sim		
<i>Gelidium pristoides</i> (Turner) Kützting	Rhodophyta				58,28 $\mu\text{g/mL}$ 1,79	Sim		
<i>Sargassum sargamianum</i>	Ochrophyta	Composto isolado	(5E, 10Z)-6,10,14-trimetilpentadeca-5,10-dien-2,12-dione (5E,9E, 13E)-6,10,4-trimetilpentadeca-5,9,13-trien-2,12-dione		34,0 μM	Sim		Ryu, et al, 2003
<i>Sargassum ser-ratifolium</i>	Ochrophyta	Extratos etanólicos e aquosos / compostos isolados	Extrato Ácido sargahidroquinóico Sargacromenol		2,2 $\pm 0,04$ $\mu\text{g/mL}$ 15,2 $\pm 0,34$ μM 9,4 $\pm 0,02$ μM	Sim Sim Sim		Seong et al, 2017

				Ácido sargaquínico	10,5 ± 0,09 µM	Sim		
<i>Padina gymnopora</i>	Ochrophyta	Extrato de acetato de etila	L-carnosina	-			Shanmuganathan, et al, 2015	
			Caféina	-				
			Alfa-bisabolol	< 10µg/ml	Sim			
			Alfa bisabolol e L-carnosina (1:1)	-				
			Alfa bisabolol e caféina (1:1)	-				
<i>Hypnea valentiae</i>	Rhodophyta	Extrato metanólico	NA		55,66 %	Sim	Natarajan, Shanmugiahtavar e Kasi, 2010	
<i>Ulva reticulata</i>	Chlorophyta			51,78 %	Sim			
<i>Enteromorpha intestinalis</i>	Chlorophyta			60,02 %	Sim			
<i>Dictyota dichotoma</i>	Ochrophyta			54,42 %	Sim			
<i>Gelidiella acerosa</i> (Forsska 1) Feldmann & G. Hamel	Rhodophyta	Extrato benzênico	Frações	Benzeno: acetato de etila 4:1	48,36 ± 1,38 µg/ml	Sim	Syad et al, 2016	
				Benzeno: acetato de etila 3:1	44,80 ± 2,02 µg/ml			

			Extrato de acetona			> 487,80 µg/ml	Não	
			Extrato de metanol			> 487,80 µg/ml	Não	
			Extrato de água			> 487,80 µg/ml	Não	
<i>Hizikia fusiformis</i>	Ochrophyta	Extrato metanólico e compostos isolados	Extrato			> 400 µg/ml	Não	Wagle et al, 2018
			Glicirrizina			> 150 µM	Sim	
			18 α - Ácido glicirretínico			162,62 \pm 2,51 µM	Sim	
			18 β - Ácido glicirretínico			216,78 \pm 4,87 µM	Sim	

APÊNDICE 2 – PORÍFEROS

TABELA 7 - PORÍFEROS E COMPOSTOS ISOLADOS QUE FORAM TESTADOS ACERCA DE SEU POTENCIAL INIBIDOR DE BChE
PORÍFEROS

Espécie	Filo	Material/Tipo de extrato	Substância ou fração	IC ₅₀	Inibição	Autor
<i>Latrunculia biformis</i>	Porifera	Compostos isolados	(+)-Discorhabdin G	7,0 µM ± 1,0	Sim	Botic et al, 2017
			(-)-3-dihidro-7,8-dehidrodiscorhabdin C	15,8 µM ± 3,5	Sim	
<i>Latrunculia bocei</i>	Porifera	Compostos isolados	Discorhabdin B	137 µM ± 14,5	-	
			Discorhabdin L	531 µM ± 45,0	-	
<i>Geodia barretti</i>	Porifera	Compostos isolados	Barettin	26 µM	Sim	Olsen et al, 2016
			8,9-dihidrobarettin	38 µM	Sim	
			Bromoconicamina	14 µM	Sim	
			Novo composto - indol marinho brominado	222 µM	Sim	
<i>Metania reitculata</i>	Porifera	Extrato metanólico	NA	-	Não	Bolson et al, 2019
<i>Drulia uruguayensis</i>					Não	

APÊNDICE 3 – CNIDÁRIOS

TABELA 8 - CNIDÁRIOS E COMPOSTOS ISOLADOS QUE FORAM TESTADOS ACERCA DE SEU POTENCIAL INIBIDOR DE BChE

CNIDÁRIOS						
Espécie	Filo	Material/Tipo de extrato	Substância ou fração	IC ₅₀	Inibição	Autor
<i>Pelagia noctiluca</i>	Cnidaria	Veneno	Veneno bruto	77,5 µg/ml	Sim	Ayed et al, 2012
			Frações	58 - 82 µg/ml	Sim	
<i>Unidentified coral</i>	Cnidaria	Composto isolado	Pseudozoantoxantina	14,6 µM ± 5,4	Sim	Vitale et al, 2018

APÊNDICE 4 – CORDADOS

TABELA 9 - CORDADOS E COMPOSTOS ISOLADOS QUE FORAM TESTADOS ACERCA DE SEU POTENCIAL INIBIDOR DE BChE

CORDADOS						
Espécie	Filo	Material/Tipo de extrato	Substância ou fração	IC₅₀	Inibição	Autor
<i>Syngnathus nana</i>	Chordata	Composto isolado	Pneumarina B	30,70 ± 1,44 µM	Baixa	Cheng et al, 2018